

博士学位論文審査要旨

2022年1月12日

論文題目： The anti-glycation potential of rice

(米の抗糖化能力)

学位申請者： URSULA PASANDEE PABASARA WICKRAMASINGHE

審査委員：

主査： 生命医科学研究科 教授 米井 嘉一
副査： 生命医科学研究科 教授 野口 範子
副査： 生命医科学研究科 教授 市川 寛

要旨：

研究内容は、米の抗糖化能力について、①スリランカにて伝統的に美容目的で使用されているライスウォーター (RW) および米抽出物の抗糖化作用の検討、②米抽出物の抗糖化作用成分の同定、③加工玄米摂取によるヒトの肌状態の評価を行った。① RW はジャポニカ米とインディカ米 (14 品種) を原料として 3 種類の伝統手法によって作成し、その抽出試料を得た。すべての試料に蛍光性 AGEs 生成抑制が認められ、中間体アルデヒド (deoxyglucosone, glyoxal, methylglyoxal) およびペントシジン生成抑制作用には品種差がみられた。東洋ライス社の特殊加工技術により玄米を構造的に層別に分けて抗糖化作用を検討した結果、精白米に抗糖化活性が認められるものの、糠層および亜糊粉層の活性がより強く、これらの層にはポリフェノール、アントシアニン、フェルラ酸、フィチン酸などの機能性成分が多く含まれていた。② 糠層抽出物を逆相 HPLC にて分画し、画分ごとの抗糖化作用を測定した結果、作用の約 50%を占める画分を得た。この画分より物質を単離し、質量分析を行った結果、グルタミン酸とグアノシンが同定された。ただし寄与率の検証より玄米の抗糖化作用には他の成分の関与も示唆された。③ 大学生を対象として、玄米から難消化性ロウ層を除去した加工玄米 (2 種類：ロウカット玄米・亜糊粉層残存無洗米) を 1 か月間摂取した時の肌状態の変化を観察した結果、非摂食者 (対照) に比べ、加工玄米摂食者ではシワ・シミの有意な改善を認めた。摂食遵守率は 84%以上であった。

以上、米に含まれる抗糖化成分が RW の美容作用に関与していること、糠層には機能性成分が多いこと、糠層残存加工玄米の摂取により肌状態が改善すること、そして関与成分の一部が明らかにされた。また、加工玄米は難消化性部位を除去し、機能性成分含有量が多いことから、機能性食品として有用である可能性が示唆された。これらの所見はすべて新規性が高く、日本の農業活性化にも貢献できるものと期待される。

よって、本論文は、博士 (理学) (同志社大学) の学位を授与するにふさわしいものであると認められる。

総合試験結果の要旨

2022年1月 12日

論文題目: The anti-glycation potential of rice

(米の抗糖化能力)

学位申請者: URSULA PASANDEE PABASARA WICKRAMASINGHE

審査委員:

主査: 生命医科学研究科 教授 米井 嘉一
副査: 生命医科学研究科 教授 野口 範子
副査: 生命医科学研究科 教授 市川 寛

要 旨:

上記審査委員は URSULA PASANDEE PABASARA WICKRAMASINGHE 氏に対する総合試験を 2022 年 1 月 12 日午後 6 時より約 1 時間 40 分実施した。時間構成は口頭発表 60 分、質疑応答 20 分、口頭試問 20 分であった。

総合試験において学位申請者は、提出された論文の内容に関する口頭試問に適切に回答し、研究内容と意義、研究方法、ヒト臨床試験の計画、解析法について深い理解を示すとともに、研究の背景について広範な専門知識を有していることを示した。

本研究は、日本およびアジア諸国の主食である米の機能性に関するものである。スリランカで美容目的に用いられてきたライスウォーター (RW) への興味からはじまり、作用機序には抗糖化作用が関与することが示された。さらには、東洋ライス社の特殊技術により、玄米からロウ層、糠層、亜糊粉層、精白米への分離が可能となり、部位別の機能性評価を試みた。糠層、亜糊粉層は抗糖化活性が強く、ポリフェノール、アントシアニン、フェルラ酸、フィチン酸の含有量が多かった。日本における玄米の摂食率は 3%未満であるが、難消化性のロウ層を除去した加工玄米であれば摂食遵守率は高く、肌状態の改善効果もみられた。抗糖化機能性成分として、今回、うまみ成分として知られるグルタミン酸とグアノシンが新たに加わった。本研究は極めて新規性が高く、国産米の付加価値を高め、農業活性化への貢献が期待できる。

学位申請者は、本研究科修了に必要な所定の単位を修得していること、修了要件を満たしていることを成績原簿より確認した。語学能力については、申請者は母国スリランカにおいて高等教育をすべて英語で受け、英文原著論文を 4 編執筆、国際学会での発表経験 (1 回) があり、英語の資質は十分備わっていると判断した。

よって、総合試験の結果は合格であると認める。

博士学位論文要旨

論文題目： The anti-glycation potential of rice (米の抗糖化能力)

氏名： Ursula Pasandee Pabasara Wickramasinghe

要旨：

Introduction: Glycation is a non-enzymatic reaction between reducing sugars and amino group proteins which leads to the formation of advanced glycation end products (AGEs). The buildup of AGEs in the body is a key factor in the onset of aging and lifestyle-related diseases. *Oryza sativa*, or rice is one of the most widely consumed staple food for a large part of the world's population. It contains two major subspecies; *Japonica* and *Indica*. Rice water is the water left over after you cook rice, or obtained by soaking rice in water. It has long been used traditionally in some Asian countries for improving skin, face and hair. However, the benefits of rice water are not supported by enough scientific research although cosmetic manufacturers greatly assert its benefits. The main aim of this study was to investigate the anti-glycation potential of rice water, and to identify the substances responsible for the anti-glycation property of rice.

Chapter 1: Rice water was prepared following three traditional methods; type 1, type 2, and type 3. The human serum albumin (HSA) glycation model was used to evaluate the inhibitory effect on the formation of fluorescent AGEs by rice water. The total phenolic content (TPC) in rice water was determined according to the Folin–Ciocalteu procedure. All rice water samples showed an inhibitory effect on the formation of fluorescent AGEs, and positive correlations were observed between the inhibitory effect and TPC; type 1 ($r = 0.906$), type 2 ($r = 0.918$), type 3 ($r = 0.765$).

Chapter 2: Rice water extracts were prepared and the HSA glycation model was used to measure the inhibition of the production of fluorescent AGEs, pentosidine, and glycation intermediates; 3-deoxyglucosone (3-DG), methylglyoxal (MGO), and glyoxal (GO). Pentosidine and glycation intermediates

were analyzed by high-performance liquid chromatography (HPLC). One sample each of *Japonica* black, *Japonica* red, and *Indica* red was selected for further investigation after initial screening. It was found that the bran layer's contribution towards inhibition was higher than the endosperm. The bran samples were fractionated by fractional purification using Oasis HLB Plus to water, 5% acetonitrile (ACN), 10% ACN, and 75% ACN fractions. The inhibition of pentosidine was stronger by the 5% ACN fraction of *Indica* red rice bran, therefore clean-cut peaks were collected and purified. Two stable fractions were identified, and their contribution towards the inhibition of fluorescent AGEs was calculated at 20.1% and 22.8%, and towards the inhibition of pentosidine was calculated at 25.0% and 31.2% respectively. These fractions are to be further purified and analyzed by mass spectrometry.

Chapter 3: The subjective symptoms and changes in skin condition of university students that consumed sub-aleurone layer residual rinse-free rice (SARFR) for one month was compared with polished rice. There were 37 subjects in the SARFR group (24 males, 13 females 21.0 ± 1.5 years), and 22 in the control group (13 males, 9 females 22.0 ± 1.2 years). In the SARFR group, 150 g or more of the test meal was ingested once a day for one month. In the control group, polished rice was taken freely. Skin age was significantly improved in the SARFR. This effect was remarkable in male and home students, and was not observed in boarding house students. There was no significant difference in skin AGEs fluorescence.

Chapter 4: The subjective symptoms and changes in skin condition of university students and staff that consumed dewaxed brown rice (DBR) for one month was compared in comparison with polished rice. There were 43 subjects in the DBR group (25 males, 18 females 23.8 ± 8.8 years) and 22 in the control group (13 males, 9 females 22.0 ± 1.2 years). In the DBR group, a test meal of 150 g or more was ingested once a day for one month. In the control group, polished rice was taken freely. Skin age was significantly improved in the DBR group but there was no significant difference in skin AGE fluorescence. Gender analysis showed

that wrinkles and porphyrin levels were significantly improved in the DBR group in women.

Conclusion: The study shows that rice water has a strong inhibitory efficacy against various AGEs and the bran layer of rice is mainly responsible for its anti-glycation activity. There are many unknown bioactive compounds in bran with anti-glycation potential. Thus, stable bioactive compounds responsible for anti-glycation of rice bran are yet to be identified. The clinical data suggests that DBR or SARFR when compared with polished rice, contributes to health promotion, including skin condition, by reducing the indigestibility of brown rice and ensuring nutrition, which facilitates continuous intake.