食品に由来するポリフェノール関連成分の生物活性に関する研究

氏　　　　　名	高田　尊信
学 位 の 種 類	博士（薬学）
学 位 記 番 号	博甲第１０２５号
学位授与の日付	平成20年3月22日
学位授与の要件	課程博士(学位規則第４条第１項)
学位授与の題目	Isolation of polyphenolic constituents from food and their biological activities（食品に由来するポリフェノール関連成分の生物活性に関する研究）
論文審査委員（主査）	太田　富久（自然科学研究科・教授）
論文審査委員（副査）	御影　雅幸（自然科学研究科・教授），垣内　信子（自然科学研究科・准教授），塚本　佐知子（自然科学研究科・准教授），石垣　靖人（金沢医科大学・講師）

In this study, we investigated the effects of an aqueous extract of peanut (*Arachis hypogaea*) seed skin (PSE) and its main constituent procyanidin A1 (PA) on the allergic response to allergen ovalbumin (OVA) in a mouse model. Mice immunized interaperitoneally with OVA dramatically increased anti-OVA IgE and total IgG1 levels in serum compared with non-treated control mice. Oral injection of PSE decreased anti-OVA IgE and IgG1 levels 21 days after OVA-immunization. Oral injection of PA purified from PSE resulted in a suppression of IgE and total IgG1 levels in serum.

These findings suggest that intake of PSE or its main active constituent PA may prevent an allergic reaction by inhibiting immunoglobulin synthesis, and the mechanism of this action of PSE and PA is in part due to their regulation of T helper cytokine production.

Ethanolic extract of *Gynura bicolor* inhibited melanogenesis in culucuterd HMV-II. Some fractions isolated from the extract also inhibited melanogenesis, and one of the active constituens was cyanin. The ectract and cyanin inhibited TRP-1 and TRP-2 (DCT) mRNA expression but not inhibit tyrosinase.These results indecated that *Gynura bicolor* pigment, cyanin, were useful for cosmetic compound and medicine on skin injury.

学論文概要

本研究において筆者は、2種類の食品から薬理学的機能性がある、ポリフェノールを単離するとともに、それらの抗アレルギーおよび美白に関する生物活性について評価した。

落花生は種子を食用とするほかに、これを包む種皮を止血や咳止めのとして薬用利用する。そこで、落花生の種皮を水抽出することにより得られたエキス(PSE)について、アレルギー予防効果を卵白ラルブミン（OVA)で免疫感作したマウスを用いて評価した。その結果、PSEにはOVAにより誘導されるOVA-特異的IgE産生を低下させるとともに、T helper-1関連サイトカインであるIFN-γレベルの低下を回復させる効果があることが判明した。落花生種皮に含まれるアレルギー予防効果を有する活性成分を調べる目的で、これに豊富に含まれるAタイプのprocyanidin A1 (PA) を用いて、同様の実験を行ったところ、PSEよりも強いIgEレベルの低下とIFN-γ低下抑制活性が認められた。このことから、PSEにはアレルギ

ー予防効果が認められるとともにPAが活性成分の一つと考えられた。そこで、PSEのアレルギー関連物質の生体内メディエーター変動効果について、ブドウ及びリンゴポリフェノールと比較した結果、Bタイプのprocyanidinを多く含有するブドウとリンゴポリフェノールにも穏やかなOVA特異的IgE産生の低下が認められたが、その効果はPSEよりも弱く、かつIFN-γ産生の低下については、これらのポリフェノールはリカバーできなかった。このことから、強い抗アレルギー効果が期待できるのはAタイプのprocyanidinとこれを含有するPSEであるといえた。

落花生種皮は、その特有の渋みから種子を食用とする場合に倦厭されるが、落花生種子にはアレルギーを誘発するレクチンが含まれることもあり、種皮ごと摂取することが望ましいと考えられる。今後、この種子に含まれるレクチンとPAによるアレルギー関連について、より詳細な研究が望まれる。

次に、加賀野菜として石川県に古くから食用とされている「金時草(*Gynura bicolor* DC)」について、葉の裏面に高濃度に含まれるポリフェノール関連色素とその生理活性について調べた。

金時草のエキスには、PKCの非特異的活性化物質であるPMAで刺激したヒトメラノーマ（HMV-II）細胞からのメラニン産生を細胞外および細胞内レベルで抑える効果があることが判明した。そこで、金時草に含まれるメラニン合成阻害活性を示す成分について探索したところ、これに含まれる特有の青紫色素であるcyaninに活性が移行していることが判明した。このことは金時草エキスには美白効果があることを示唆するとともに、その活性成分の一つは色素成分のcyaninであることを示している。

そこで、cyaninおよび金時草エキスのmelanin産生阻害効果に関連するメカニズムについて調べたところ、メラニン合成経路の一つでdopachromeからmelaninへの生合成経路に関与する酵素であるTRP-1およびTRP-2のmRNA発現を抑制した。このことからcyaninおよび金時草エキスには、dopaからdopacrhomeへの生合成経路上で翻訳および糖鎖修飾後のtyrosinaseの活性を阻害する選択的な機序があることを明らかにすることができた。

このように、金時草とこれに含まれるポリフェノール色素のcyaninにはメラニン産生を抑える効果とメラニン合成経路において選択的なメカニズムを明らかにできたことから、金時草の香粧品や皮膚科領域の治療に役立つ医薬品開発にも役立つ可能性を示唆できた。

ポリフェノール類にはその化学構造や酸化還元への反応性の高さから、抗酸化に関連した研究が大勢を占める。しかし、筆者の研究成果のように、落花生種皮に含まれるポリフェノール類はアレルギーを予防があるとともに、金時草のポリフェノールには効果や美白に役立つ効果があることがあるなど、抗酸化によらない種々の生理活性もあることがわかった。したがって、植物由来ポリフェノール化合物について新規性分の探索や生理活性を調べることにより、医薬品利用可能な物質を見出せる可能性があるので、今後の研究に期待したい。

学位論文審査結果の要旨

本研究はフラボノイド系ポリフェノール成分の生物活性、すなわち、落花生（*Arachis hypogaea*）のプロシアニジンが示した化合物特異的抗アレルギー作用、スイゼンジナ（*Gynura bicolor*）の赤紫色成分 cyanin が示した複合経路に基づくメラニン産生抑制作用についてまとめたものである。

漢方で補血類と分類される落花生は咳止めや貧血改善、止血作用などが知られている。本研究においては咳止め効果から類推される作用として抗アレルギー効果を検討したところ、水抽出エキスおよび procyanidin A 1 (PA) が、卵白アルブミン(OVA) により誘導される OVA－特異的 IgE 産生を減少させるとともに、T helper-1 関連サイトカインである IFN-γレベルの低下を回復させた。また他の食品由来類似化合物と比較して PA に強い抗アレルギー効果が期待できることが判明した。

スイゼンジナ（キンジソウ）は加賀野菜として知られており、本研究においてはその一成分 cyanin にメラニン産生抑制作用を見いだした。その作用機序はチロシナーゼの mRNA 発現抑制ではなく翻訳後の酵素活性抑制、さらには、メラニン生合成経路上の酵素 TRP-1（DHICA oxidase）および TRP-2 の mRNA 発現の抑制という複合的なものであることが明らかになった。

本研究は抗酸化作用を持つポリフェノールの研究に新たな視点を示したことにおいて、天然物化学の基礎、応用研究における意義は大きく，博士（薬学）に相当すると判断する。