

## 学位論文審査の結果の要旨

|      |   |
|------|---|
| 氏名   | 安永翔   |
| 審査委員 | 主査 菅原 卓也<br>副査 西 甲介<br>副査 岸田 太郎<br>副査 末吉 紀行<br>副査 受田 浩之 |

### 論文名

ノビレチンの保健機能とその作用機構の解明に関する研究

### 審査結果の要旨

近年、スギ花粉症に代表されるアレルギー疾患の罹患率の増加が社会的問題となっている。それに伴って、食品成分によるアレルギー症状の緩和作用の研究が盛んに行われており、機能性食品の活用がアレルギー症状の改善策として期待されている。一方、柑橘類に含まれるフラボノイド類は多様な生体調節機能を有しており、様々な疾病に対する緩和効果が注目されている。その中でも、柑橘類特有のポリメトキシフラボノイドであるノビレチンは、培養細胞の脱顆粒を抑制することが報告されており、抗アレルギー効果を有する機能性物質として期待されている。本研究では、ノビレチンの抗アレルギー効果とその作用機構を解明し、ノビレチンの機能性因子としての可能性を明らかにすることを目的として実施した。

ノビレチンはラット好塩基球細胞株 RBL-2H3 細胞とマウス骨髄由来マスト細胞の脱顆粒を抑制した。脱顆粒反応のシグナル伝達系に及ぼす影響について検討した結果、ノビレチンは、細胞質内へのカルシウムイオン流入を誘導する PLC $\gamma$ 1 の上流に位置する PI3K の活性化を抑制することが確認された。また、受動皮膚アナフィラキシー (PCA) モデルマウスにおける血管透過性亢進が、ノビレチンの経口投与により有意に抑制され、生体内においても脱顆粒抑制効果を示すことが明らかになった。これらのことから、ノビレチンの脱顆粒抑制効果に関する作用機構が明らかになり、ノビレチンの摂取はアレルギー症状の緩和に有効であることが示唆された。

ノビレチンを含有する柑橘果皮を用いた機能性食品を開発する場合、その効果を増強するような食品素材と組み合わせることが、機能面、及び商品価値を高める点において重要である。そこで、抗アレルギー効果を持つ他の食品成分と組み合わせることを着想し、ノビレチンと様々な因子との組み合わせ効果を検討した。その結果、ノビレチンと $\beta$ -ラクトグロブリンを同時に RBL-2H3 細胞に作用させることにより、それぞれ単独の脱顆粒抑制効果と比較して、より強い効果になることが明らかになった。この作用機構について検討した結果、ノビレチンと $\beta$ -ラクトグロブリンは、それぞれ異なるシグナル因子の活性化を抑制することで、共同的な脱顆粒抑制効果を示すことが示唆された。また、PCA モデルマウスにおける血管透過性の亢進が、ノビレチンと $\beta$ -ラクトグロブリンの混合投与により顕著に抑制され、生体内における両成分の共作用が確認された。さらに、ノビレチンと $\beta$ -ラクトグロブリンを含有する食品素材の有効性を評価したとこ

ろ、温州ミカン果皮とヨーグルト乳清の混合投与により、PCA モデルマウスの血管透過性の亢進、並びにスギ花粉症モデルマウスの症状が顕著に軽減された。これらのことから、ノビレチンと $\beta$ -ラクトグロブリンは共同的な抗アレルギー効果を発揮し、これらを含む温州ミカン果皮とヨーグルト乳清の同時摂取が、スギ花粉症の症状緩和に有効であることが確認された。

これまでに得られた知見をもとに試作された温州ミカン果皮配合ヨーグルトの摂取によるスギ花粉症既往者に対する症状緩和効果を、結膜抗原誘発試験により評価した。その結果、2週間の温州ミカン果皮配合ヨーグルトの摂取により、スギ花粉抗原の点眼により誘発されるアレルギー性結膜炎の自覚症状が有意に改善された。また、結膜炎誘発による結膜表面温度の上昇が有意に抑制された。これらのことから、温州ミカン果皮配合ヨーグルトの摂取は、スギ花粉症患者のアレルギー症状の緩和に有効であることが明らかになった。

さらに、接触性皮膚炎モデルマウスに対する症状緩和効果について検討したところ、温州ミカン果皮とヨーグルト乳清の混合投与による耳介組織の浮腫の軽減が認められた。また、MCP-1 や RANTES といった炎症性細胞の遊走を惹起するケモカインの遺伝子発現が混合投与により有意に低下したことから、炎症部位へのマクロファージの浸潤が抑制されていると推察された。さらに、NC/Nga マウスにおけるアトピー性皮膚炎の症状が、温州ミカン果皮の単独投与、及びヨーグルトとの混合投与により有意に改善された。これらのことから、温州ミカン果皮とヨーグルトの同時摂取は、炎症性細胞の遊走と浸潤を抑制することで、皮膚炎などの遅延型アレルギーや慢性炎症を緩和するのではないかと推察された。

本研究により、ノビレチンの抗アレルギー効果に関する作用機構を明らかにした。また、ノビレチンと $\beta$ -ラクトグロブリンを含む温州ミカン果皮とヨーグルトの組み合わせによる共同的な抗アレルギー効果がヒトにおいても確認され、スギ花粉症やアトピー性皮膚炎などのアレルギー症状の緩和に有効であることを明らかにした。さらに、本研究成果をもとに、花粉症改善効果が期待できる温州ミカン果皮配合ヨーグルトが開発され、すでに上市されている。以上のことから、本研究は、学術的観点だけでなく、研究成果の社会実装という観点からも高く評価できる。

本論文の公開審査会は、平成 29 年 2 月 4 日に愛媛大学農学部において開催され、申請者による口頭発表と質疑応答が行われた。引き続き、学位審査委員会を開催して論文の内容について慎重に審査した結果、審査委員全員一致して博士（農学）の学位を授与するに値するものと判定した。