

## 学位論文審査の結果の要旨

氏名	佐藤 彰彦
審査委員	主査 田村 啓敏 副査 岡崎 勝一郎 副査 川村 理 副査 首藤 義博 副査 柏木 丈弘

論文名 **Studies on antiallergic activities of edible plants and fruits**  
(食用植物、果実の抗アレルギー活性についての研究)

### 審査の結果の要旨

野菜や果物成分には、RBL2H3細胞の脱顆粒によるヒスタミン、セロトニンなどの化学メディエーターの放出を抑制する作用があり、I型アレルギーに対する抗アレルギー効果があることが知られている。日本では、3人に1人の割合で、なんらかのアレルギーを有するとの報告もあり、医薬品に頼らない食品を介したアレルギー予防に興味を持たれた。

野菜や果物中のフラボノイド類には、I型アレルギーを抑制する成分が幾つかあることが報告されている。また、お茶のカテキンなどフラボノイドには抗酸化作用があることはよく知られ、フラボノイドの化学構造と抗アレルギー活性や抗酸化活性との関連性に興味を持たれた。そこで、さまざまなフラボノイド類のRBL2H3細胞の脱顆粒抑制作用を調べたところ、フラボノール一種であるイソラムネチンには強い脱顆粒抑制効果 ( $IC_{50}$ :  $3.1\mu\text{mol/L}$ ) があり、フラボノイドアグリコンであるルテオリンおよびケルセチンも同様に高い脱顆粒抑制活性を示した。脱顆粒抑制作用に共通する化学構造上の必要条件是母核C環のC<sub>2</sub>及びC<sub>3</sub>位置の間に二重結合が存在すること、グルコースなどが配糖体化しないことが高活性には必須であることがわかった。一方、TBA値から算出した抗酸化活性は、フラボノイドのB環上の芳香族オルトジオールや1,2-メトキシヒドロキシ構造は効果的であり、その他の部位での配糖体の存在は、抗酸化活性に影響しないことが明らかになった。従って、抗アレルギー活性および抗酸化活性に必要なフラボノイドの部分構造は、両者で異なり、両活性への最適な物質を探索することは、新規食品開発には有益であると考えられた。

次に、香辛料、野菜、果実の中から、高い抗アレルギー活性を有する植物を探索したところ、ミント系植物には高い活性があることが分かった。そこで、オーデコロンミント葉から5,6,4'-トリヒドロキシ-7,8-dimethoxyflavone (M6)、5,6,4'-トリヒドロキシ-7,8,3'-trimethoxyflavone (M7)、5,6-ジ

ヒドロキシ-7,3', 4'- trimethoxyflavone (M8) 、5,6-ジヒドロキシ-7,8,3', 4'- tetramethoxyflavone (M9) 、及び5,6-ジヒドロキシ-7,8,4'- trimethoxyflavone (M10) などメトキシ置換基を多く有するフラボン類を単離した。RBL-2H3細胞に対する化合物M6-M10のIC<sub>50</sub>値はそれぞれ6.7、2.4、5.6、3.0、および6.1 μMであった。特に、化合物M7とM9は、これまで文献で報告されたフラボノイドより高い抗アレルギー活性 (IC<sub>50</sub> 2.4 μM および 3.0 μM) を示し、最も効果的なフラボノイドであることが明らかになった。また、ミント中のM7、M9、及びM10の含量は、それぞれ、177.7 mg / kg、278.0 mg / kg および179.7 mg / kgであり、ミントを1 g摂取したとして、抗アレルギー活性を発現するに十分な量含むと考えられた。次に、物質の毒性の指標であるLD<sub>50</sub>値とLD<sub>50</sub>/ IC<sub>50</sub>から、M7とM9は安全性の高い高機能物質であることが分かった。M6-M9の抽出には、ジクロロメタンと水との分配クロマトグラフィーにより、選択的に高含量の抽出物が得られたことから、飴やお菓子などへの応用への実用化の目処を立てることができた。

次に小豆島オリーブ残渣2着目し、ミッション、ルッカ、およびマンザニコなど4種のオリーブの抗アレルギー活性成分を探索したところ、オリーブポメスの主要成分である3,4-DHPEA-EAに強い抗アレルギー活性 (IC<sub>50</sub>:33.5±0.6 μg/mL) があることが明らかになった。3,4-DHPEA-EAは, secoiridoid の一種で、加水分解によりヒドロキシチロソールとエレノール酸に分解し、抗アレルギー活性は弱くなることから、両者のエステル化は、抗アレルギー活性に必須であることが判明した。10月に採取したミッション品種の緑のオリーブの搾りかすには5033±118 mg/kgの3,4- DHPEA-EAが存在し、ミッション品種は最も効果的な抗アレルギー特性をもつ品種であることが明らかになった。

毎日の食事の摂取量の多い、タマネギに着目し、11種のタマネギ (8品種、地元の市場から3種類) のQuEChERS抽出物の抗アレルギー活性を検討したところ、IC<sub>50</sub>=20.8から310.1μg/mLのばらつきが品種ごとにあり、抗アレルギー活性の観点から有用な品種があることが明らかになった。有効物質の探索には11種のQuEChERS抽出物のHPLCクロマトグラムに現れた34のピーク面積と粗抽出物の抗アレルギー活性との相関係数から、ケルセチン-4'-グルコシド (A22) で非常に高い相関性 (r =0.91) が確認できた。さつき種のタマネギからケルセチン-4'-グルコシド (A22) を分離したところ、抗アレルギー活性IC<sub>50</sub>は3.0±0.2μg/mLとなり、相関係数から予測した通りの高い活性が確認できた。タマネギの高抗アレルギー活性物質はケルセチン4'-グルコシドであり、配糖体である。配糖体にアグリコンに匹敵する抗アレルギー活性が見られたのは初めてであり、配糖体は体内吸収率も高いとの報告もあり、玉ねぎの利用面からも興味を持たれた。

以上、申請者は、本研究を通じ、フラボノイドの抗アレルギー活性に必要な化学構造上の特性を理解し、食品の素材からQuEChERS法により簡便に抽出物を単離し、活性値と存在量の相関係数により、抗アレルギー活性物質を特定、あるいは推定する手法を確立した。また、オリーブの未利用資源や玉ねぎやミントの特定品種から高抗アレルギー物質の単離に成功し、明らかになった物質をリード化合物とする新薬や健康補助食品の開発につながる糸口ができた。

学位論文の公開審査会は平成 27 年 2 月 7 日愛媛大学農学部で実施され、口頭発表と質疑応答が行なわれた。続いて学位論文審査委員会を開催して本論文の内容を審査した。その結果、全員一致して本論文が博士 (農学) の学位を授与するに値するものと判定した。