

学位論文審査の結果の要旨

氏名	Arita Dewi Nugrahini
審査委員	主査 菅原卓也 副査 西 甲介 副査 小川雅廣 副査 島村智子 副査 関藤孝之

論文名

Anti-allergic activity of bioactive compounds in coffee beans (*Coffea arabica* L.)
(コーヒー (*Coffea arabica* L.) 豆に含まれる生理活性成分の抗アレルギー効果)

審査結果の要旨

コーヒーは世界中で愛飲されている嗜好飲料であり、日常的に飲まれている。近年、コーヒーに含有される保健機能成分が注目され、日本では機能性食品としても注目を集めている。中でも、ポリフェノール的一种であるクロロゲン酸には血圧を抑制する効果や血糖値を抑える効果があることから、機能性表示食品における機能性関与成分として認められている。

本研究では、コーヒーに含まれる機能性成分として、カフェインおよびトリゴネリンに注目した。カフェインおよびトリゴネリンはいずれもアルカロイド的一种であり、カフェインには、覚醒作用、抗酸化作用、抗炎症効果などの保健機能があることが知られている。一方、トリゴネリンについては、近年、認知機能改善効果が期待されている。しかし、両成分ともに抗アレルギー効果に関する知見はないことから、白血球の一种である好塩基球のケミカルメディエーター放出を抑制することによる抗アレルギー効果に着目し、研究に着手した。

免疫細胞である好塩基球やマスト細胞は、細胞表面上の受容体に結合した IgE を介してアレルギー誘発物質(アレルゲン)による刺激を受けると、ヒスタミンなどのケミカルメディエーターを内包する顆粒を細胞外に放出する。この現象を脱顆粒という。脱顆粒により細胞外に放出されたヒスタミンやロイコトリエンが粘膜や血管等を刺激し、花粉症に代表されるようなアレルギー症状を引き起こす。本研究では、ラット好塩基球細胞株 RBL-2H3 細胞を用い、抗原誘導性の脱顆粒に及ぼす影響を指標として、カフェインおよびトリゴネリンの抗アレルギー効果を評価した。

まず、抗原誘導性脱顆粒に及ぼすカフェインの効果を評価した。その結果、カフェインは、細胞毒性なく濃度依存的に RBL-2H3 細胞の脱顆粒を抑制することを明らかにした。作用機構を解明するため、まず、脱顆粒において抗原刺激により誘導される細胞内カルシウムイオン濃度の上昇

に対するカフェインの効果を検討した。その結果、カフェインは濃度依存的に細胞内カルシウムイオン濃度の上昇を抑制し、その要因として、脱顆粒誘導に関わる細胞内シグナル物質のうち、Syk、Btk および PLC γ など、カルシウムイオン濃度依存経路に対する下方制御による効果であることを明らかにした。一方、カルシウムイオン濃度非依存経路においても、PI3K や Akt といったシグナル分子の活性を下方制御し、微小管形成を抑制することによっても脱顆粒を抑制する可能性を示した。さらに、生体内におけるカフェインの抗アレルギー効果を明らかにするため、脱顆粒モデルである受動皮膚アナフィラキシー (PCA) モデルマウスに対するカフェイン投与の影響を検討した。その結果、カフェインの経口投与により PCA 反応が有意に抑制され、生体内においても脱顆粒抑制効果を示すことを明らかにした。

一方、トリゴネリンの脱顆粒抑制効果についても詳細に検討した。その結果、カフェインよりもわずかに比活性が低いものの、トリゴネリンも細胞毒性なく RBL-2H3 細胞の脱顆粒を抑制することを示した。作用機構について検討した結果、カフェインとほぼ同様に、カルシウムイオン濃度依存経路および非依存経路の双方を抑制することで脱顆粒抑制効果を示すことを明らかにした。しかし、高親和性 IgE 受容体 (Fc ϵ RI) の下流に存在する抗原誘導性脱顆粒シグナル伝達経路へ影響については差異が認められ、カフェインが Syk のリン酸化抑制を起点としているのに対し、トリゴネリンは PI3K のリン酸化抑制を起点としていることを示し、両者の作用機構に違いがあることを見出した。生体内における効果に関しては、カフェイン同様、トリゴネリンの経口投与は PCA 応答を顕著に抑制することを確認した。

以上の結果より、コーヒーの主要な成分であるカフェインおよびトリゴネリンの新規生理機能として、好塩基球やマスト細胞に対する脱顆粒抑制による抗アレルギー効果を明らかにし、その作用機構の解明に成功したことから、博士論文として十分なレベルにあると評価できる。

本論文の公開審査会は、令和2年2月8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。引き続いて開催された学位審査委員会におい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 (学術) の学位を授与するに値するものと判定した。