

論文内容の要旨

氏名	藤田 忠 ^{ふし たな}
学位の種類	博士(薬学)
学位記番号	薬第81号
学位授与の日付	平成20年6月15日
学位授与の要件	学位規程第4条第2項該当
学位論文題目	抗アレルギー剤としての薬用利用を視野にいれたウンシュウミカン (<i>Citrus unshiu</i>) を中心とする柑橘類未熟果実の研究
論文審査委員 (主査)	教授 岩城 正宏
	(副主査) 教授 松尾 圭造
	(副主査) 教授 松田 秀秋

近年、アトピー性皮膚炎をはじめ、気管支喘息、アレルギー性鼻炎、食物アレルギー等、さまざまなアレルギー疾患の増加が社会問題として危惧される状況にある。厚生労働省による保健福祉動向調査(平成15年)によると、これらのアレルギー疾患を経験した者が全調査対象の36%に上るなど、国民にとっても関心の高い疾患となっており、アレルギー症状により医療機関に入通院する患者に対する調査結果として82.6%が「アレルギー疾患対策への要望がある」と答え、9項目の選択肢による重複回答調査の結果、同上回答者の41.9%が「アレルギーに対する医薬品の開発に力を入れてほしい」を選択回答したことが報告されている。

医療の現場においてアレルギー疾患については未だ根治的な治療法が確立されていないのが現状で、効果的な対症療法として副腎皮質ホルモン剤が多用されており、それが副作用発現など、新たな問題を引き起こす原因となっている。

一方、漢方薬や機能性食品素材を含めたさまざまな民間療法が幅広く普及していることが報告され一定の成果を挙げているものの、アレルギー疾患に関する民間医療の普及は、患者の立場から見て現行の医療が必ずしも充分満足しうるものでないことを物語っている。

昨今、健康増進を目的としてさまざまな機能性食品素材が開発され、その中でも柑橘類果実は注目素材のひとつである。しかしながら、柑橘類はわが国においても非常に多種類が栽培される上、交雑種をつくりやすく、また、産地により成分パターンに差が見られるなどの事情が加わり、柑橘類生薬の品質をさらに複雑化する要因となっていることなどから、必ずしも充分に研究が進んでいるとはいえないのが現状である。

そこで本研究では、柑橘類果実に着目し、アレルギー疾患に対する薬用利用を視野にいれ、種々の検討を行った。これまで、ウンシュウミカン *Citrus unshiu* MARKOVICH は抗アレルギー作用を有しており、それは含有フラボノイドの hesperidin が担っていることが報告されている。また、グレープフルーツジュースが薬物代謝酵素であるシトクロムP450 (CYP) を阻害することで相互作用の原因となることが広く知られている。このような柑橘類果実ごとの特徴を明らかにすることは、よりアレルギー疾患に対して有用な柑橘類果実を見出し、その有効性を最大限発揮させるうえで重要であると考えられる。

以下、各章の概略について示す。

第1章では、日常的に食される19種類の柑橘類果実中のフラバノン配糖体含量を高速液体クロマトグラフ（HPLC）法にて測定し、その抗アレルギー作用との関連性を示すとともに、季節的推移についても示した。また、柑橘類果実の主要フラバノン配糖体である hesperidin, naringin, neohesperidin ならびに narirutin を用いて、マスト細胞からのヒスタミン遊離抑制作用および dinitrofluorobenzene 誘発3相性皮膚（DNFB）反応抑制作用について検討した。さらに、フラバノン配糖体含量の高い8月初旬に採取した柑橘類の50%エタノール抽出エキスを用い、マスト細胞からのヒスタミン遊離抑制作用についても併せて検討した。その結果、*C. unshiu* 以外にも柑橘類果実の多くが抗アレルギー性の薬用資源として応用できる可能性を有しており、品質を向上させるために摘果される頃の果実が強い抗アレルギー作用を有することが明らかになった。これは産業利用の上で非常に意義のあることであり、農産物の未利用資源を有効に活用する可能性を示すものであると考えている。

第2章では、第1章において最も強い抗アレルギー作用の確認された未熟 *C. unshiu* の50%エタノール抽出エキス（CU-Ext）を用い、prednisolone との併用時の抗アレルギー作用および副作用に対する影響について明らかにした。Picryl chloride 誘発接触性皮膚炎（PC-CD）をモデルとして用い、耳浮腫抑制作用および免疫担当臓器である副腎、胸腺および脾臓重量の変化を prednisolone の作用に対する影響の指標とした。その結果、CU-Ext（p.o.）は prednisolone（s.c.）の副作用を増強させることなく、効果を高めることが示され、この点において CU-Ext の服用はステロイドホルモン剤による現在のアレルギー治療を補完できる可能性が示された。

第3章では、*C. unshiu* の主要フラバノン配糖体である hesperidin の消化管吸収について検討するため、まず hesperidin およびそのアグリコンである hesperetin の HPLC 法による同時定量条件を確立した。本定量法を用いて、抗アレルギー作用が認められた50%エタノール抽出エキスをラットに投与後の hesperidin および hesperetin の消化管吸収性について hesperidin 溶液および hesperidin 懸濁液と比較検討した。これらにより、活性成分 hesperidin は消化管でアグリコンである hesperetin に加水分解されたのち吸収されることを示し、また hesperidin の消化管吸収効率はエキス剤の形態にすることで懸濁状態に比べ、上昇することを明らかにした。このことは、ウンシュウミカンが効率よく抗アレルギー作用を発揮するための投与形態として、エキス剤が最も適してい

ることを示唆すると考えられる。

第4章では、未熟 *C. unshiu* を含む未熟な柑橘類果実12種に関し、薬物代謝酵素 CYP の分子種 CYP2C9, CYP2D6 および CYP3A4 の阻害作用についてヒト肝ミクロソームを用いた検討を行った。また、各種柑橘類エキス中に含まれるフラボノイドおよびフラノクマリン量を測定し、成分含量と薬効および CYP 阻害に対する寄与についても考察した。この結果、ウンシュウミカンは CYP 活性の阻害作用も比較的強く、抗アレルギー活性を示す柑橘類として理想的なものの一つである可能性が示された。

さらに、CYP 活性の阻害にはフラノクマリンが関与していることが確認され、また、競合的阻害作用の強さにおいて、CYP3A4 活性の阻害と CYP2C9 活性の阻害との間に強い正の相関が認められた。なお、後者については極めて興味深い知見であり、この点については阻害機序の確認を含め、今後研究を続けてゆく予定である。

以上4章の実験において、*C. unshiu* を中心に各種柑橘の薬理・薬剤学的検討を行い、薬用利用を視野にいれた実用化に向けて、さまざまな有用な情報が得られた。これら一連の実験により得られた知見は、今後、柑橘類を薬用資源として利用する上で重要な基礎的資料となるものと考えられる。

論文審査結果の要旨

本論文は、近年、罹患者数の増加とともに社会問題としても危惧されているアレルギー疾患について、天然資源である未熟柑橘類の有用性について薬理学的および薬剤学的観点から評価したもので、現在の副腎皮質ホルモン剤に偏ったアレルギー疾患の治療手段を補完する可能性があり、極めて重要性が高い内容であると考えられる。また、品質管理上摘果される未熟期の柑橘類の有用性を明らかにした点においては、未利用資源の有効活用という点からも評価できる。

今回検討の対象である柑橘類果実は、これまでも注目素材の一つではあるものの、非常に多種類が栽培される上、交雑種をつくりやすく、また、産地により成分パターンに差が見られるなどの事情により、必ずしも十分に研究が進んでいるとはいえなかった。また、これまで、ウンシュウミカン *Citrus unshiu* MARKOVICH については抗アレルギー作用を有しており、それは含有フラボノイドの hesperidin が担っていることが報告されていたが、他の柑橘類の抗アレルギー作用については不明な点も多いのが現状であった。

著者は、第1章で、日常的に食される19種類の柑橘類果実中のフラバノン配糖体含量を測定し、その抗アレルギー作用との関連性を示すとともに、季節的推移についても示している。また、柑橘類果実の50%エタノール抽出エキスおよび主要フラバノン配糖体を用いて、抗アレルギー作用を評価している。その結果、*C. unshiu* 以外にも未熟柑橘類果実の多くが抗アレルギー性の薬用資源として応用できる可能性を示している。

第2章では、CU-Ext を用い、prednisolone との併用時の抗アレルギー作用および副作用に対する影響について評価している。その結果、CU-Ext (p.o.) は prednisolone (s.c.) の副作用を増強させることなく、効果を高めることが示され、この点において CU-Ext の服用はステロイドホルモン剤による現在のアレルギー治療を補完できる可能性が示されている。

第3章では、*C. unshiu* の主要フラバノン配糖体である hesperidin の消化管吸収について検討するため、ラットに hesperidin 投与後の hesperidin および hesperetin の消化管吸収性について他の投与形態と比較検討している。その結果、hesperidin は消化管で hesperetin に加水分解されたのち吸収されることが明らかとなり、エキス剤の形態が hesperidin 吸収を効率的にすることが示された。

第4章では、未熟な柑橘果実12種に関し、薬物代謝酵素 CYP の分子種 CYP2C9, CYP2D6 および CYP3A4 の阻害作用についてヒト肝ミクロソームを用いた検討を行っている。また、各種柑橘類エキス中に含まれるフラボノイドおよびフラノクマリン量を測定し、成分含量と薬効および CYP 阻害に対する寄与についても考察している。

以上4章にわたり得られた知見は、今後、柑橘類を薬用資源として応用していく上で有用な情報を提供するものと判断する。よって、本論文は博士（薬学）の学位論文に十分値するものと認める。