

論文内容の要旨

氏 名 平 田 規 子
 学位の種類 博士(薬学)
 学位記番号 薬 第 80 号
 学位授与の日付 平成 20 年 3 月 22 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 ヘアケア用剤としてのコショウ (*Piper nigrum*)
 葉に関する研究

論文審査委員 (主 査) 教授 松 田 秀 秋
 (副主査) 教授 松 尾 圭 造
 (副主査) 教授 益 子 高

近年、高齢人口の急激な増加や若年や中年の人々に対する環境的ストレスの増大に伴い、白髪、抜け毛、薄毛に悩む人々が増加している。そのため、毛染めや抗白髪剤、育毛剤などのヘアケア用剤の市場が拡大している。

白髪は遺伝的素因、加齢、環境的ストレスなどによるメラノサイトの減少やメラニン色素の生合成の低下が原因とされている。白髪への対処法としては染毛剤で染めるのがほとんどであり、抗白髪剤もいくつか開発途上にあるが、それらの薬剤の効果は不十分であり染毛剤による副作用も問題になっている。そのため安全で、十分な効果を持つ抗白髪剤の開発が切望されている。

一方、抜け毛や薄毛は加齢、遺伝的素因、環境的ストレスなどが原因とされている。特に男性型薄毛症は androgen (testosterone) が関与し、それが標的細胞である毛乳頭細胞において、毛の増殖因子の発現を抑制することに起因するといわれている。Testosterone は細胞内で酵素 testosterone 5 α -reductase により活性型の 5 α -dihydrotestosterone (DHT) に変換され、DHT は androgen 受容体に結合しホルモン作用を示す。そのため、testosterone 5 α -reductase 阻害作用を有す抗 androgen 剤は脱毛予防や男性型薄毛症に利用できると考えられる。

今回、著者はメラニン産生促進作用とともに testosterone 5 α -reductase 阻害作用を有する望ましい薬剤があれば、白髪予防とともに抜け毛や薄毛予防に薬用利用できる新規ヘアケア用剤に成り得ると考えた。そこで、メラニン産生促進作用と抗 androgen 作用を有す素材を天然資源に求めた。天然資源としては、近畿大学薬学部薬用資源学研究室で南洋諸国の薬用資源調査の一環として 2001 年 10 月に南太平洋にあるトンガ王国で採取された薬用植物を一次スクリーニングに用いた。

第 1 章第 1 節では、トンガ王国で採取された 27 種の薬用植物の抽出エキスについて、白髪予防効果を示す素材の探索を目的に、ヒトのメラニン産生の実験モデルとして広く使用されているマウス由来 B16 メラノーマ細胞を用いて、メラニン産生促進作用を指標にスクリーニングした。その結果、カワ (*Piper methysticum*) の根茎の抽出エキスにメラニン産生促進活性が認められた。

第 2 節では、カワ (*P. methysticum*) はコショウ科 *Piper* 属であることから、*Piper* 属植物 6 種 (*P. nigrum*, *P. methysticum*, *P. betle*, *P. kadsura*, *P. longum* 及び *P. cubeba*) の

種々の部位の抽出エキスについて、B16メラノーマ細胞を用いてメラニン産生促進作用を指標にスクリーニングした。その結果、カワヤコシヨウ (*Piper nigrum*) の葉の抽出エキスに活性が認められた。これらのうちコシヨウ葉の抽出エキスが最も強い活性を示し、B16メラノーマ細胞の増殖に影響を及ぼさなかった。

第3節では、カワヤコシヨウの抽出エキスについて活性を指標に有効成分の探索を行った。その結果、活性成分として2種の kavalactone、yangonin (3) と 7,8-epoxyyangonin (6) を単離し、他に活性を示さない3種の kavalactone、5,6-dehydrokawain (2)、(+)-methysticin (4) と(+)-kawain (5) 及び glucosylsterol の daucosterin (7) を単離した。Kavalactone 類のメラニン産生促進作用は今回初めて見出された。

第4節では、コシヨウの葉の抽出エキスについて活性を指標に有効成分の探索を行った。その結果、活性成分として(-)-cubebin (8) と (-)-3,4-dimethoxy-3,4-desmethylenedioxcubebin (9) の2種の既知 lignan に加え、新規 lignan、(-)-3-desmethoxycubebin (10) を単離・構造決定した。これら3種の lignan のうち、8 は B16メラノーマ細胞の増殖に影響を及ぼすことなく最も強い活性を示した。Lignan 類のメラニン産生促進作用は今回初めて見出された。

第5節では、8のメラニン産生促進のメカニズムについて B16メラノーマ細胞を用いて検討した。その結果、8は B16メラノーマ細胞の増殖に影響を及ぼすことなく、濃度依存的にメラニン産生を促進した。8の添加24から72時間後に tyrosinase 活性が上昇し、さらに48から96時間後に細胞内メラニン量が増加した。Tyrosinase の発現量は8の添加後、時間の経過とともに増加し、同時に tyrosinase mRNA の発現量も増加した。メラニンの産生過程では MITF (小眼球症関連転写因子、microphthalmia-associated transcription factor、tyrosinase 遺伝子の発現を制御する特異的な転写因子) の活性化によりメラニンが産生される。細胞内シグナル p38 MAPK (p38 mitogen-activated protein kinase) カスケードは MITF を活性化し、ERK 1/2 (extracellular signal-regulated kinase) と p70 S6K1 (S6 kinase) カスケードは MITF を抑制する。今回、Western blot 法を用いて検討した結果、8の添加により p38 MAPK のリン酸化の亢進による活性化が認められたが、ERK 1/2 と p70 S6K1 のリン酸化は亢進しなかった。p38 MAPK の特異的阻害剤 SB203580 は8による tyrosinase mRNA の発現量を抑制した。これらの結果から、8の B16メラノーマ細胞におけるメラニン産生促進の作用メカニ

ズムとしては、8による p38 MAPK の活性化を介して MITF が活性化され tyrosinase の発現が増加すると示唆された。

第2章第1節では、第1章で見出したメラニン産生促進作用を有す植物を含む *Piper* 属植物の中から薄毛予防の育毛剤としても薬用利用できる植物資源を探索するため、*Piper* 属植物6種 (*P. nigrum*, *P. methysticum*, *P. betle*, *P. kadsura*, *P. longum* 及び *P. cubeba*) の種々の部位の抽出エキスについて、*in vitro* testosterone 5 α -reductase 阻害作用を指標にスクリーニングした。その結果、コシヨウの葉と果実、ヒッコウウカ (*P. cubeba*) の果実の各抽出エキスに活性が認められた。これらのうち、第1章でコシヨウ葉抽出エキスに最も強いメラニン産生促進作用を見出していたので、このエキスに育毛効果があれば望ましいヘアケア用剤に成り得ると期待された。そこで、毛再生障害モデルとして testosterone 処置 C57BL マウスを用いてコシヨウ葉抽出エキスの作用を検討した結果、コシヨウ葉抽出エキスの局所塗布による *in vivo* 抗 androgen 作用が認められた。

第2節ではコシヨウ葉の抽出エキスについて *in vitro* testosterone 5 α -reductase 阻害作用を指標に有効成分の探索を行った。その結果、化合物 8 (IC₅₀; 0.44 mM) と 9 (IC₅₀; 1.03 mM) に活性が認められた。8はヒッコウウカ果実の主要 lignan であることから、ヒッコウウカ果実の 5 α -reductase 阻害活性は8に基づくと考えられる。また今回、コシヨウ果実の主要成分である piperine (1) (IC₅₀; 0.48 mM) に強い 5 α -reductase 阻害活性を見出したことから、この成分がコシヨウ果実の活性の一部を担っているものと思われる。8、9及び1の testosterone 5 α -reductase 阻害作用は今回初めて見出された。

以上の研究から、コシヨウ葉及び含有される(-)-cubebin (8) はメラニン産生促進作用と抗 androgen 作用を有すことを見出した。従って、コシヨウ葉は白髪予防作用に加えて、抜け毛、薄毛予防にも薬用利用できる望ましい新規ヘアケア用剤の素材に成り得る可能性が示唆された。

論文審査結果の要旨

白髪は遺伝的素因、加齢、環境的ストレスなどによるメラノサイトの減少やメラニン色素の生合成の低下が原因とされている。一方、抜け毛、薄毛、特に男性型薄毛症は androgen (testosterone) が関与し、それが標的細胞である毛乳頭細胞において、毛の増殖因子の発現を抑制することに起因するといわれている。

学位申請者はメラニン産生促進作用とともに testosterone 5 α -reductase 阻害作用を有する薬剤があれば、白髪予防とともに抜け毛や薄毛予防に薬用利用できる新規ヘアケア用剤に成り得ると考えている。

先ず、トンガ王国で採取された 27 種の薬用植物について、マウス由来 B16 メラノーマ細胞を用いたメラニン産生促進作用を指標に探索した結果、コショウ科 *Piper* 属植物カワ (*Piper methysticum*) 根茎、さらにコショウ (*P. nigrum*) 葉の抽出エキスに活性を見出している。さらに、有効成分の探索を行った結果、カワ根茎からは yangonin と 7,8-epoxyyangonin の既知 kavalactone を、コショウ葉からは (-)-cubebin と (-)-3,4-dimethoxy-3,4-desmethylenedioxycubebin の既知 lignan を単離・同定するとともに、新規 lignan、(-)-3-desmethoxycubebin を単離・構造決定している。これらのうち、(-)-cubebin に最も強いメラニン産生促進活性を見出し、メラニン産生促進のメカニズムについて細胞内のシグナル伝達における詳細な研究を行っている。

次に、*Piper* 属植物の中から薄毛予防の育毛剤としても薬用利用できる植物資源を探索するため、*in vitro* testosterone 5 α -reductase 阻害作用を指標に探索した結果、コショウの葉と果実、ヒッコウカ (*P. cubeba*) の果実の各抽出エキスに活性を見出している。コショウ葉抽出エキスは *in vitro* だけでなく *in vivo* においても抗 androgen 作用を有し、さらに、*in vitro* testosterone 5 α -reductase 阻害作用を指標に有効成分の探索を行っている。その結果、メラニン産生促進作用を示す (-)-cubebin と (-)-3,4-dimethoxy-3,4-desmethylenedioxycubebin を単離している。

以上の研究から、コショウ葉抽出エキス及び含有される (-)-cubebin はメラニン産生促進作用と抗 androgen 作用を有することを見出しているため、白髪予防作用に加えて、抜け毛、薄毛予防に適応し得るものと思われる。

本論文は天然薬用資源から、白髪予防作用に加えて、抜け毛、薄毛予防にも薬用利用が可能と考えられる望ましい新規ヘアケア用剤の素材としてコショウ葉が見出され、さらに有効成分を明らかにするという「薬用資源学」が目指す基本的な研究の姿勢を示したもので、極めて価値ある論文である。

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。

氏名	おうす せち れえ べね ざーる Owusu-Sekyere Ebenezer			
学位の種類	博士（農学）			
学位記番号	農 第 1 2 2 号			
学位授与の日付	平成 20 年 3 月 22 日			
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当			
学位論文題目	Integrated Agroforestry for Sustainable Development in Small Inland Valleys in Ghana (ガーナ内陸小低地集水域の持続可能な開発のための総合アグロフォレストリー研究)			
論文審査委員	(主査)	教授	若 月 利 之	
	(副主査)	教授	櫻 谷 保 之	
	(副主査)	教授	池 上 甲 一	