

平成26年度 学内研究助成金 研究報告書

| | | |
|----------|---|---|
| 研究種目 | <input checked="" type="checkbox"/> 奨励研究助成金 | <input type="checkbox"/> 研究成果刊行助成金 |
| | <input type="checkbox"/> 21世紀研究開発奨励金 (共同研究助成金) | <input type="checkbox"/> 21世紀教育開発奨励金 (教育推進研究助成金) |
| 研究課題名 | 四季橘の抗アレルギー作用に関する研究 | |
| 研究者所属・氏名 | 研究代表者：附属農場 助教 伊藤 仁久 共同研究者：なし | |

1. 研究目的・内容

本研究は抗アレルギー素材としてこれまで見出している温州ミカンやハッサクと異なりフラバノン配糖体をほとんど含有しない四季橘果実に着目し、その抗アレルギー作用を追試し、さらに果実の熟度と活性強度との相関性を検討した。さらに、最も抗アレルギー作用が強い時期の果実については、その作用を担う有効成分を単離・同定することにより、新規の抗アレルギー剤になりうる素材の開発を目的とした。

2. 研究経過及び成果

シキキツ完熟果実の50% EtOH抽出エキスに200 µg/ml濃度で58.6%の脱顆粒抑制作用が認められた。さらに有効成分の探索を目的に、エキスの含有成分をHPLCにより評価したところ、これまで温州ミカンやハッサクの抗アレルギーあるいは美白成分として見出している4種フラバノン配糖体と保持時間が異なるピークが認められた。この主要なピークがシキキツ完熟果実の抗アレルギー成分であると推察された。そこで、オープンカラムに続きHPLCによる分取を用いて精製を行った結果、¹Hおよび¹³C-NMRにより、このピークは3', 5'-di-C-β-glucopyranosylphloretinに由来することを明らかにした。さらにその脱顆粒抑制作用は200 µM濃度で46.4%であり、脱顆粒抑制作用成分のひとつと同定した。

次に、四季橘の完熟果実エキスの抗アレルギー成分として同定した3', 5'-di-C-β-glucopyranosylphloretinがどのようにして脱顆粒遊離抑制作用を示すのかについて、その作用機序に関する検討を行った。

マスト細胞は、全身の外界に接する皮下、呼吸器、消化管、泌尿生殖器などの臓器に分布しており、外界の抗原がマスト細胞上にある受容体に結合し、抗原提示されると、各種リン酸化シグナルが活性化され、結果としてヒスタミンやセロトニンなどが脱顆粒により放出され、いわゆるアレルギー反応を引き起こす。リン酸化シグナルには、P38MAPK、AktおよびERKと称されるシグナルが関与していることが知られており、これらシグナルのリン酸化により脱顆粒が起こる。

そこで、3', 5'-di-C-β-glucopyranosylphloretinを細胞と共培養したところ、P38MAPK、Aktのリン酸化の促進をほとんど抑制したが、ERKのリン酸化レベルには変化は認められなかった。

このことから3', 5'-di-C-β-glucopyranosylphloretinは感作・誘発によって生じるリン酸化シグナルであるP38MAPKおよびAktのリン酸化の促進を抑制することにより脱顆粒を抑制していることが示唆された。

以上の結果から、シキキツの完熟した果実は苦みが少なく、甘い芳香があることから、これまでにない嗜好性が加味された抗アレルギー作用を有する柑橘類果実になり得ることが期待される。また、柑橘類果実は一般に古くから食されることから食経験に富み、一定の安全性も担保できると考えられ、本研究で見出した知見により、安全性に嗜好性が加味された新たな抗アレルギー素材になりうることを期待された。

3. 本研究と関連した今後の研究計画

本研究で得た知見により、シキキツ完熟果実が安全性と嗜好性に優れた新規抗アレルギー素材になりうることが期待された。シキキツ完熟果実の抗アレルギー成分の同定も行い、その作用機序解明のひとつとしては、同成分が感作・誘発によって生じるリン酸化シグナルである P38MAPK および Akt のリン酸化の促進を抑制することにより脱顆粒を抑制し、抗アレルギー作用を発現させることを明らかにした。

しかし、抗アレルギー作用を発現するターゲットはリン酸化シグナルのほかに、細胞膜の安定化、Ca²⁺の細胞内への流入などが挙げられ、シキキツ完熟果実の抗アレルギー作用の機序は完全には解明されていない。作用点が明確で、より安全な創薬を目指すべく、今後はさらなるメカニズムの解明に取り組む考えである。

4. 成果の発表等

| 発表機関名 | 種類(著書・雑誌・口頭) | 発表年月日(予定を含む) |
|--------------|--------------|--------------|
| 日本生薬学会第61回年会 | 口頭発表 | 2014年9月13日 |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |