

| | |
|---------|-------------------------------------|
| 氏名 | 大西 令子 |
| 授与した学位 | 博士 |
| 専攻分野の名称 | 薬学 |
| 学位授与番号 | 博乙第4143号 |
| 学位授与の日付 | 平成18年 9月30日 |
| 学位授与の要件 | 博士の学位論文提出者 (学位規則第4条第2項該当) |
| 学位論文の題目 | クランベリーポリフェノールの尿中代謝物およびその機能性に関する基礎研究 |
| 論文審査委員 | 教授 波多野 力 教授 齋藤 寛 教授 亀井千晃 |

学位論文内容の要旨

クランベリー (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) は古くから北米で尿路感染症の予防、治療を目的に民間療法として用いられ、プロアントシアニジン、フラボノイド、アントシアニンなどの多様なポリフェノールが豊富に含まれている。本研究では、クランベリージュース飲用後のヒト尿中ポリフェノール由来代謝物を探索し、その機能性についても検討した。

まず、クランベリージュース飲用後のヒト尿中代謝物について HPLC-ESI-MS-MS 法および HPLC-UV 法によって定性、定量分析を行った。ジュース中には検出されなかった物質を尿中排泄物として明らかにし、クランベリーの尿路感染症の治療、予防に対して、ジュース中の成分のみならず生体内代謝物もその効果に寄与している可能性を示すことができた。本研究で検討した物質のうち、Vanillic acid はクランベリージュース成分として含まれるが、見かけ上、最も高い尿中排泄率を示した。これは、本物質がクランベリーに多量含まれているプロアントシアニジンポリマーの代謝物として尿中に排泄されているためと考えられる。

さらに尿中排泄量が増加した化合物およびその関連化合物 22 種について、大腸菌性バイオフィーム形成に及ぼす影響を検討した。Vanillic acid, Homovanillic acid, 4-Coumaric acid, Ferulic acid, Isoferulic acid にバイオフィーム形成抑制を認めた。特に 4-Coumaric acid と Homovanillic acid は尿中に高濃度に排泄されることから、この 2 つの代謝物がクランベリージュース飲用の効果に寄与していると考えられる。

他方、クランベリージュースの主ポリフェノールの 1 つ、Chlorogenic acid については、中枢神経系への作用が報告されているが、その効果はいまだ不明確であったので以下のように検討を進めた。まず、Chlorogenic acid をラットおよびマウス腸内細菌をインキュベートし、生成物として Caffeic acid, Dihydrocaffeic acid, 3-Hydroxyphenylpropionic acid を認めた。また、Chlorogenic acid をラットに経口投与し、3-Hydroxyphenylpropionic acid, Ferulic acid, 3-Coumaric acid などを尿中代謝物として認めた。そこでこれら代謝物などを含め Chlorogenic acid および関連構造の、計 7 種の化合物をそれぞれマウスに経口投与し、投与 30 分後より 1 時間の自発運動量を測定した。陽性対照としては Caffeine を用いた。その結果、Chlorogenic acid, Caffeic acid, および 3-Coumaric acid はマウスに対して Caffeine 類似の自発運動量増加を濃度依存的に示した。Chlorogenic acid は生体内においてそのままの形、もしくは代謝されて Caffeic acid, 3-Coumaric acid となり、Caffeine 様の中枢神経作用を示すと考えられる。

論文審査結果の要旨

本研究は、多種多様なポリフェノールを含むクランベリーについて、その成分が尿中にどのようなかたちで出現するのかを明らかにし、さらにそうした成分および代謝物の機能性として、大腸菌によるバイオフィーム形成に対する抑制作用、および中枢神経系への作用を解明しようとしている。

本研究ではまずクランベリージュース飲用後のヒト尿中のポリフェノール等の由来物質について、ジュース中の成分と比較しながらHPLC-ESI-MS-MS法およびHPLC-UV法によって定性・定量分析を行い、vanillic acid, isovanillic acid, 3-coumaric acidおよび3-hydroxyphenylacetic acid等を、より高分子のポリフェノールの代謝産物とみなしうる物質として検出している。またquercetin 3-O-galactosideやmyricetin 3-O-galactosideなどのフラボノイド配糖体が尿中に排泄されていることを示し、これらが配糖体の状態で消化管から吸収されることを明確にしている。さらにcyanidin 3-O-galactosideやpeonidin 3-O-galactosideなどアントシアニン類についても尿中排泄を認めており、これらの定量的な検討に基づいて生体内でのメチル化の可能性を示している。他方、大腸菌の尿路上皮細胞への付着阻害作用が報告されているproanthocyanidin A-2についても、モノメチル化物として尿中に排泄されることを見出している。

次にバイオフィーム形成に対する抑制物質探索のための実験系を新たに確立するとともに、ポリフェノール由来代謝産物等の大腸菌性バイオフィーム形成抑制作用を検討し、クランベリージュース飲用時に尿中排泄量の高いhomovanillic acidおよび4-coumaric acidの他、vanillic acid, ferulic acid, isoferulic acidに濃度依存的な抑制作用を見出している。

他方、クランベリーの主ポリフェノール成分の一つであるchlorogenic acidと、そのラットおよびマウス腸内細菌による代謝物として見出した化合物等についてマウス自発運動量に対する影響を検討し、chlorogenic acid, caffeic acid, 3-coumaric acid等に自発運動量の増加を認め、中枢神経系に対する興奮作用があることを明らかにしている。

以上のように、本研究はポリフェノールを多量含有するクランベリーについてその尿中代謝物を明らかにするとともに、それらの大腸菌性バイオフィーム形成抑制作用、および中枢興奮作用をも明らかにしたものであり、博士の学位にふさわしいものと考えられる。