

氏名（本籍）	田中潤司（岐阜県）
学位の種類	博士（薬学）
学位記番号	乙 第350号
学位授与年月日	平成25年7月10日
学位授与の条件	学位規則第4条第2項該当者
学位論文の題名	網膜障害および血管新生に対する黒米アントシアニンの作用に関する薬理学的研究
論文審査委員	主査 古川 昭 栄 副査 稲垣 直 樹 副査 足立 哲 夫

## 論文内容の要旨

黒米 [*Oryza sativa* L. (Gramineae)] は、有色米であり、東南アジアおよび日本等で栽培されている。黒米糠にはアントシアニン (cyanidin 3-*O*-glucoside, peonidin 3-*O*-glucoside および cyanidin 3-*O*-gentiobioside) が含まれており、薬理活性としてこれまでに抗酸化作用、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害作用、抗変異原活性、肝保護作用、ヒアルロニダーゼ阻害作用、抗糖尿病作用および抗炎症作用等が報告されている。本研究では、後眼部疾患に対する黒米エキス (purple rice bran extract; PRE) およびその構成成分 (cyanidin および peonidin) の有効性を立証するため、可視光誘発網膜障害、小胞体ストレス誘発網膜障害および血管内皮増殖因子 (vascular endothelial growth factor: VEGF) 誘発網膜血管新生に対する作用について検討した。

### 1. 可視光誘発網膜障害に対する黒米エキスおよびその構成成分の作用

PRE, cyanidin および peonidin の可視光誘発視細胞障害に対する作用について、マウス由来視細胞である 661W およびマウス光障害モデルを用いて検討した。PRE, cyanidin および peonidin は、可視光誘発視細胞死に対して濃度依存的かつ有意な抑制作用を示した。また、可視光誘発マウス網膜障害に対しても有意な改善作用を示した。その作用機序解明のために可視光誘発の ROS (reactive oxygen species) 産生に対する作用と共に、電子スピン共鳴法 (electron spin resonance: ESR) を用いて、抗酸化活性を測定した。PRE, cyanidin および peonidin は、可視光誘発 ROS 産生に対して濃度依存的かつ有意な抑制作用を示し、trolox よりも高い抗酸化活性を示した。

### 2. 小胞体ストレス誘発網膜障害に対する黒米エキスおよびその構成成分の作用

PRE, cyanidin および peonidin の過酸化水素誘発およびツニカマイシンによる小胞体ストレス誘発細胞死に対する作用を網膜神経節細胞 (RGC-5) を用いて検討した。さらに、ツニカマイシン硝子体内投与によるマウス網膜障害に対する作用についても併せて検討

した。PRE, cyanidin および peonidin は、過酸化水素およびツニカマイシン誘発網膜神経節細胞死に対して有意な抑制作用を示した。また、ツニカマイシン誘発マウス網膜障害に対しても有意な改善作用を示した。その作用機序として caspase3 の活性化抑制が関与している事が明らかとなった。

### 3. 網膜血管新生に対する黒米エキスおよびその構成成分の作用

PRE, cyanidin および peonidin の網膜血管新生阻害活性について、VEGF 誘発管腔形成、細胞増殖および細胞遊走に対する作用をヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (human umbilical vein endothelial cells: HUVECs) およびヒト網膜毛細血管内皮細胞 (human retinal microvascular endothelial cells: HRMECs) を用いて検討した。PRE は VEGF 誘発管腔形成に対して濃度依存的かつ有意な抑制作用を示した。PRE, cyanidin および peonidin は、VEGF 誘発 HRMECs の増殖および遊走に対しても有意な抑制作用を示した。その作用機序として PRE は ERK1/2 および p38 のリン酸化を有意に抑制した。

以上、本研究では、PRE およびその構成成分であるアントシアニンは、加齢黄斑変性症、緑内障および糖尿病網膜症等に関与する後眼部疾患モデルに対する有効性を明らかにした。このことより、PRE およびアントシアニンは、後眼部疾患に対して予防および治療効果が期待される。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、黒米エキスとその成分であるアントシアニンが網膜障害及び網膜血管新生に及ぼす作用を薬理的に検討したものである。

黒米エキス及びその成分である cyanidin と peonidin は、可視光誘発視細胞障害を抑制する働きをもつこと、その作用機構として、高い抗酸化能による reactive oxygen species 産生抑制作用が関与することが明らかにされた。また、黒米エキスは、caspase-3 の活性化抑制を介して小胞体ストレス誘発網膜神経節細胞障害の抑制作用を示すことが明らかにされ、その活性成分として 2-hydroxy-5-(3S)-3-hydroxybutyl phenyl-β-D-glucoside が同定された。さらに黒米エキス及び cyanidin と peonidin は、血管内皮細胞の mitogen-activated protein kinases (ERK1/2 及び p38) のリン酸化を抑制して細胞増殖と遊走を抑制し、vascular endothelial growth factor 誘発性の網膜血管新生を抑制する作用をもつことが明らかにされた。

以上、本論文では加齢黄斑変性症、緑内障及び糖尿病網膜症等に関与する網膜疾患モデルに対する黒米エキスの有効性を薬理的に明らかにし、各種後眼部疾患に対する予防法及び治療法としての新たな可能性を示唆しており、博士 (薬学) 論文として価値あるものと認める。