

氏名（本籍）	小川 健二郎（大阪府）
学位の種類	博士（薬学）
学位記番号	乙 第358号
学位授与年月日	平成26年7月8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	ベリー果実のアントシアニン分析と各種細胞障害に対するビルベリーの保護作用に関する薬理学的研究
論文審査委員	主査 稲垣 直樹 副査 大山 雅義 副査 北市 清幸

## 論文内容の要旨

ツツジ科スノキ属にするブルーベリーやビルベリー (*Vaccinium myrtillus* L.) は、欧州や米国を初め食経験豊富な果実である。アントシアニンが豊富に含まれ、抗酸化作用、抗炎症作用、抗ガン作用、視機能改善作用など様々な生理活性が知られているが、さらなる機能性研究が求められている。本研究では、10種類のベリー果実についてアントシアニン成分の定性定量分析並びに抗酸化作用を測定した。さらにビルベリーエキスについて、紫外線や青色光など有害抗に対する網膜保護作用、並びにマウス胃潰瘍モデルを作成してビルベリーエキスの保護作用を検討した。

### 1. ベリー系果実に含まれるアントシアニンの定性および定量

ビルベリー、ブルーベリー、カシス、クローベリー (*Empetrum nigrum*) を始めとする計10種の果実を選択した。各果実は凍結乾燥粉碎後、0.5%酢酸含有80%メタノール水溶液にてアントシアニンを抽出した。HPLC-ESI-MS/MSによるアントシアニンの定性定量、並びにDPPH、ABTSラジカル捕捉活性、FRAP鉄還元力を測定した。結果、総アントシアニン量および各抗酸化作用において最も高い数値を示したのはクローベリーであり、次いでビルベリーの順であった。

### 2. 紫外線誘発網膜視細胞障害に対するビルベリーおよびリンゴンベリーの作用

我々は日常的に太陽や照明の光に曝露されているが、紫外線や青色光など短波長の光の一部は網膜にまで達することが示唆されている。そこで、網膜視細胞培養系を用いたUVA誘発視細胞障害in vitroモデルを作成し、ビルベリーエキスおよびリンゴンベリーエキスについて有効性を検討した。結果、ビルベリー、リンゴンベリーエキス並びに主成分であるアントシアニン、レスベラトロール、プロシアニジンは、紫外線や青色光による活性酸素種 (reactive oxygen species :ROS) 産生および細胞障害を抑制した。ビルベリーはアポトーシス誘導に関わるp38 MAPKの活性化を抑制し、一方リンゴンベリーは細胞生存に関与するAktのリン酸化低下を抑制することを解明し、さらに両エキスの同時

添加は細胞保護作用をより高めることを明らかにした。

### 3. 青色LED光誘発網膜視細胞障害に対するビルベリーおよびリンゴンベリーの作用

可視光の中で470 nmに波長ピークを示す青色光は高エネルギー可視光線と呼ばれ、加齢黄斑変性症や網膜色素変性症の発症や病態進行に関与している。そこで2.と同様に、青色LED光誘発視細胞障害*in vitro*モデルに対するビルベリーおよびリンゴンベリーエキスの有効性を検討した。結果、ビルベリー、リンゴンベリーエキスは青色LED光照射によるROS産生、炎症に関与するNF- $\kappa$ B活性化、p38 MAPKのリン酸化、アポトーシス誘導因子であるcaspase3/7の活性化を抑制することを明らかにした。

### 4. ビルベリーエキスの胃潰瘍抑制作用

ビルベリーは古くから消化管に対する効果が民間療法として取り入れられてきた。そこで、マウスを用いた塩酸エタノール誘発胃潰瘍モデルを作成し、ビルベリーエキスの抗胃潰瘍作用の検討、並びにその作用機序解明を行った。結果、ビルベリーエキスの経口投与により塩酸エタノール誘発胃潰瘍は用量依存的に改善されることを明らかにした。さらにマウス胃ホモジネートを用いた脂質過酸化反応TBARS法およびESR法にて、ビルベリーエキスおよび主要なアントシアニジンの過酸化脂質抑制作用並びにラジカル捕捉活性を明らかにした。

以上、本研究によりビルベリーを始めとするベリー系果実に含まれるポリフェノール成分の抗酸化作用が、様々な疾患の発症予防に有用である可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、ツツジ科スノキ属のビルベリー (*Vaccinium myrtillus* L.) が含有するポリフェノールの一種アントシアニンについて、各種細胞障害に対する保護作用の検討を目的として行われた。はじめに、ビルベリーやブルーベリーを含む10種類のベリー果実についてアントシアニン成分の定性定量分析を行い、ビルベリー生果実が他のベリーと比較してアントシアニンを高含有することを明らかにした。つぎに、太陽光に含まれる紫外線 (UVA) 並びに青色 light-emitting diode (LED) 光など短波長の光が網膜視細胞に及ぼす影響とビルベリーの薬理作用を検討した。マウス網膜視細胞を用いた *in vitro* モデルにおいて、健康食品で利用されるビルベリーエキス並びに主成分のアントシアニジンは、UVA および青色 LED 光誘発網膜視細胞障害を抑制することを明らかにした。最後に、ビルベリーの抗潰瘍作用メカニズム解明を目的とし、エタノール誘発マウス胃潰瘍モデルを用いてビルベリーエキスの薬理作用を検討した。その結果、ビルベリーエキスはフリーラジカル捕捉作用並びに脂質過酸化抑制作用を介して抗潰瘍作用を有することが示唆された。以上、本研究は各種細胞障害に対するビルベリーとアントシアニンの有用性を示し、これら食品成分が予防医療に大きく寄与することが期待されたことから、博士 (薬学) 論文として価値あるものと認める。