

## 論文の内容の要旨

論文題目 高重合度プロシアニジンの自己免疫疾患改善作用

氏名 三宅 美加

免疫のインバランスが原因である疾患は数多くあるが、特に自己免疫疾患は難治性の疾患であり、治療法としては、副作用が懸念されるステロイド剤の投与や高額な費用を必要とする抗体療法が主であり、QOL改善が大きな課題となっている。

医薬品開発が進む一方で、フードケミカルバイオロジーという概念が提唱されはじめ、食品中に含まれる成分と生体との相互作用に関する研究も盛んになってきた。特に植物抽出物中に豊富に含まれるポリフェノール類の機能性研究は、素材の身近さと機能性の多様性のためか多くの研究がなされ、様々な知見が得られている。ポリフェノールは緑茶やワイン、ココアなど様々な食物にも見出され、その作用として抗動脈硬化、抗高血圧、抗腫瘍などが良く知られている。

本研究では、ハーブの一種であるサマンバイアが民間伝承的に抗炎症剤として使用されていたことや、自己免疫疾患の一種である乾癬の治療に利用されてきたことに着目し、ハーブ抽出物に自己免疫疾患を改善するような作用がないか選抜することにした。結果、豆

科の樹木であるジャトバの抽出物に自己免疫疾患を改善するような作用を見出し、その活性本体が 5 量体以上のプロシアニジンであることを明らかにした。得られた成果の概要は以下の通りである。

## **1. 自己免疫疾患抑制活性の検出**

6 種類のハーブ（キャットクロー、ジャトバ、ヘルゴンサッチャ、ムリヤカ、サマンバイア、シジューム）からエタノール抽出物を調製し、多発性硬化症のモデルマウスである実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE) について抑制効果を評価した。結果、これらのうちの 1 つ、ジャトバと呼ばれる豆科の樹木からの抽出物に、発症率を 50%、平均スコアを 90%抑制するという強い EAE 抑制活性が見出された。また、用量依存性、及び本疾患に特徴的な脱髄の抑制もあわせて確認された。更に、脾細胞、及びリンパ節細胞において抗原特異的サイトカイン産生(IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) の抑制も認められたため、脾細胞における IFN- $\gamma$ 、及び TNF- $\alpha$  産生細胞の存在比率を調べたところ、ジャトバ抽出物投与でこれらの Th1 サイトカイン産生細胞の存在比率が顕著に低下していた。以上のことから、ジャトバ抽出物は抗原特異的な Th1 細胞を抑制し、疾患の改善に寄与していることが示唆された。

## **2. プロシアニジン活性本体の精製**

ジャトバはもともと豆科に属することから、抽出物中にポリフェノール類が多く含まれることが予想された。そこで EAE 抑制活性に対するポリフェノール類の寄与を調べることにした。ポリフェノールを吸着、除去する目的でジャトバ抽出物を PVPP 膜で処理し、活性を測定したところ、顕著な活性低下がみられた。このことから、抽出物中のポリフェノール類が免疫調節作用に関与していることが示唆された。しかしながら、同じ系で緑茶から抽出したポリフェノール類を評価したところ、EAE 抑制活性は認められず、同じポリフェノール類でも自己免疫疾患の制御には構造特異性があることが示唆された。樹木に含まれ

るポリフェノールは高度に重合しており、プロシアニジンの構造を有していることが知られている。このため、ジャトバ抽出物中のポリフェノール含量、及びその平均重合度を調べた。その結果、ジャトバ抽出物中のポリフェノール含量は 71%に及び、その平均重合度は 8.2 と非常に高いことが明らかとなった。そこで、どの程度の重合度が本活性に必要であるかを調べるために、抽出物中のプロシアニジンを重合度毎に分画することにした。しかしながら、プロシアニジンを動物実験に供することができるほどの量を、高純度で重合度別に分画する技術は無かった。そこで、種々の分画条件を検討した結果、Rapid fractionation法と PEG カラムを用いることで、3 量体から 9 量体までのプロシアニジンを非常に純度高く、大量に精製することができた。得られた単量体から 6 量体までの精製標品を EAE モデルマウスを用いて評価し、脾臓細胞の抗原特異的サイトカイン産生能を測定した。結果、サイトカイン産生は 5 量体で 50%程度、6 量体では完全に消失したが、4 量体以下のプロシアニジンでは全く抑制作用が認められなかった。これらのことから 5 量体以上のプロシアニジンが EAE 抑制活性を有していることが示された。

### **3. 関節炎モデルでの効果**

最後に、ジャトバ抽出物の食品への応用、及び汎用性を考え、比較的患者の多い慢性関節炎リウマチのモデルであるコラーゲン誘導性関節炎モデルマウスを用いて経口投与での評価を行った。その結果、ジャトバ抽出物を経口投与することによって、血漿中の抗体価が抑制され、リウマチの疾患スコアが改善された。更に、慢性関節炎リウマチにおける活性抑制も単量体のポリフェノールでは認められず、重合度に依存した活性抑制がみられた。

以上、本研究により、植物抽出物中に含まれるプロシアニジンに免疫調節活性が認められることが明らかとなった。更にプロシアニジンの活性には構造特異性があり、5 量体以上が活性に寄与すること、経口摂取によって関節炎などの発症、症状緩和に効果があることが示唆された。食品素材の生体との相互作用を探る上で重要な知見となった。