

学位論文題名

ANTIOXIDANT PROPERTIES AND SOME BIOLOGICAL EFFECTS OF SELECTED SPECIES OF POLYGONACEAE GROWN IN MONGOLIA

(モンゴル産野生タデ科植物の抗酸化性および生物学的効果に関する研究)

学位論文内容の要旨

Some unique wild species of the Polygonaceae (Buckwheat) family have been widely used in Mongolian folk medicines for treating various infections, inflammations, etc. However, their complicated and multiple pharmacological effects were not understood until recently. These herbs are rich in flavonoids and this polyphenolic compounds can present the main biological function for Polygonaceae species. The purpose of this study was to characterize the beneficial antioxidant phytonutrients present in these medicinal species and the mechanisms responsible for their physiologic functional effects.

The antioxidant capacities (AOCs), total phenolic (TP), and total quercetin (TQ) content in 11 plants from Polygonaceae were evaluated. These plant extracts showed high AOCs and high TP contents. AOCs were positively correlated with TP contents. Moderate correlations were observed between AOCs and TQ contents. These results suggest that quercetin glycosides may be one of the important contributors to AOCs of Mongolian Polygonaceae plants. In addition, TP content and AOC of all Polygonaceae plants were higher at in the end of full flowering, and decreased as the matured stage depending on their species during vegetative period by dynamic study. TP contents were positively correlated with AOCs during growing. The AOC and the contents of TP and TQ of *P. sibiricum*, *R. gmelinii*, *P. angustifolium*, and *P. divaricatum* were higher than those of other Polygonaceae species. They might be a good source of antioxidants that can be used in foods and nutritional supplement formulation.

The effects of various Polygonaceae on mast cell-mediated allergic reaction and anti- α -glucosidase activities were screened. Among them, water soluble compounds of *P. sibiricum*, *P. divaricatum*, *P. angustifolium*, *R. acetosella*, *R. gmelinii*, and *P. alopecuroides* showed potent inhibitory activities on α -glucosidase and hydrolyzed extracts of *F. tataricum*, *P. sibiricum*, *R. gmelinii*, *R. acetosella*, *P. angustifolium* and *P. divaricatum* showed high inhibitory activity on antigen-induced degranulation in RBL-2H3 mast cells. Total quercetin contents were positively correlated with the anti- α -glucosidase and anti- β -hexosaminidase-release activities. The author concluded that those Polygonaceae species may be used clinically to treat various allergic diseases and diabetes mellitus.

The effects of some phenolic compounds, which are abundant in Polygonaceae plants, on hepatic fatty acid synthesis in mice were investigated. Male ICR mice were fed an experimental diet containing 1% quercetin dihydrate, rutin, or ferulic acid or a control diet free of phenolic compounds for 15 days. Quercetin

significantly lowered serum cholesterol and phospholipid levels in mice. Also, the serum triacylglycerol level was considerably lower in mice fed the quercetin diet than in those fed a diet free of phenolic compounds though the difference was not significant. Rutin and ferulic acid did not affect these parameters. Quercetin significantly reduced the activity and mRNA levels of various enzymes involved in hepatic fatty acid synthesis. Rutin reduced a few of the parameters for lipogenesis, but ferulic acid did not affect any of the parameters. It suggested that a reduction in hepatic lipogenesis is the mechanism underlying the hypolipidemic effect of quercetin.

The impact of quercetin on the mRNA expression of hepatic enzymes involved in drug metabolism was evaluated with a DNA microarray and real-time PCR. Male Sprague–Dawley rats were fed an experimental diet containing either 0, 2.5, 5, 10, or 20 g/kg of quercetin for 15 days. Dietary quercetin increased the mRNA expression of Gst and Akr involved in drug metabolism in an isoenzyme-specific manner. Quercetin dose-dependently increased the mRNA expression of Gsta3, Gstp1, and Gstm3 among the Gst isoenzymes. Some moderate increases also occurred for Gstm isoenzymes. However, quercetin was totally ineffective on the other Gst isoenzymes. The flavonoid also up-regulated the mRNA expression of Akr1b8 and Akr7a3, but not that of any other Akr isoenzyme. It is apparent that quercetin increases the mRNA expression of Gst and Akr involved in drug metabolism in an isoenzyme-specific manner. Inasmuch as Gst and Akr isoenzymes up-regulated in their gene expression are involved in the prevention and attenuation of cancer development, this consequence may account for the chemopreventive propensity of quercetin.

In conclusion, these results scientifically support the possibility that these Polygonaceae plants, which are mainly consumed in national medicine, contribute to health. The health-promoting activities of Polygonaceae plants, such as anti-cancer (or chemopreventive propensity), anti-diabetic, and anti-allergic effects, may be related to their AOCs.

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 木 村 俊 範

副 査 教 授 川 端 潤

副 査 教 授 原 博

副 査 准教授 川 村 周 三

副 査 教 授 井 手 隆 (十文字学園女子大学)

学 位 論 文 題 名

ANTIOXIDANT PROPERTIES AND SOME BIOLOGICAL EFFECTS OF SELECTED SPECIES OF POLYGONACEAE GROWN IN MONGOLIA

(モンゴル産野生タデ科植物の抗酸化性および生物学的効果に関する研究)

本論文は7章からなり、図 11、表 17、写真1、引用文献数 173 を含む総頁数 132 の英文論文であり、別に5編の参考論文が添えられている。なお、本論文は日本学術振興会論文博士号取得希望者に対する支援事業(2005～2009年度)による成果である。

タデ科(ソバ)に属するいくつかの野生植物は、モンゴルの民間療法で様々な感染症や炎症等の治療に広く使用されてきた。しかし、その複雑で複合的な薬理効果は最近まで解明されていなかった。これらの薬草はフラボノイドを豊富に含有しており、このポリフェノール化合物はタデ科植物の主要な生物学的機能に関与していると思われる。本研究は、これら薬効種に存在する有益な抗酸化植物栄養素の特性を明らかにするとともに、生理機能効果に関与するメカニズムを明らかにすることを目的とした。

11種のタデ科に属する植物の抗酸化能(AOC)、全フェノール(TP)含有量、全ケルセチン(TQ)含有量を調べた。これら植物の抽出物は、高いAOCsと高いTP含有量を示した。AOCsとTP含有量との間には、正の相関関係が認められた。AOCsとTQ含有量との間にもかなりの相関関係がみられた。これらの結果は、ケルセチン配糖体はモンゴル産タデ科植物のAOCsの重要な寄与因子のひとつである可能性を示唆している。さらに、すべてのタデ科植物のTP含有量とAOCsは、開花期終盤に上昇した。また、種によって異なるものの、これらの値は生育期間中に成熟段階ともに低下した。*P. sibiricum*、*R. gmelinii*、*P. angustifolium*、*P. divaricatum*におけるAOCs、TP含有量、TQ含有量は、他のタデ科植物に比べ高かった。これらは、食品や栄養補助剤(サプリメント)に使用可能な優れた抗酸化物質の供給源となるかもしれない。

様々なタデ科植物が肥満細胞の関与するアレルギー反応や α -グルコシダーゼ活性へ与える影響について調べた。タデ科植物の中でも、*P. sibiricum*、*P. divaricatum*、*P. angustifolium*、*R. acetosella*、*R. gmelinii*、*P. dopecuroides* の水溶性化合物は α -グルコシダーゼに対し強力な阻害活性を示し、*F. tataticum*、*P. sibiricum*、*R. gmelinii*、*R. acetosella*、*P. angustifolium*、*P. divaricatum* の加水分解抽出物は RBL-2H3 肥満細胞において抗原で誘導される脱顆粒に対し高い阻害活性を示した。全ケルセチン含有量と α -グルコシダーゼ阻害活性および β -ヘキソサミニダーゼ放出阻害活性との間には正の相関が認められた。従って、これらのタデ科植物は様々なアレルギー疾患や糖尿病の治療に対し、臨床的に使用できる可能性がある。

タデ科植物に豊富に含まれるフェノール化合物がマウスの肝臓脂肪酸合成に与える影響について調べた。オスの ICR マウスに、10 g/kg のケルセチン二水和物、ルチンあるいはフェルラ酸を含む実験食あるいはフェノール化合物を含まない対照食を 15 日間与えた。ケルセチンは、マウスの血清のコレステロールとリン脂質濃度を著しく低下させた。また、著しい差ではなかったものの、ケルセチン食を与えたマウスは、フェノール化合物を含まない食餌を与えられたマウスに比べてリアシルグリセロール値がかなり低かった。ルチンとフェルラ酸はこれらのパラメータに影響を与えなかった。ケルセチンは、肝臓脂肪酸合成に関わる様々な酵素の活性と mRNA 値を著しく低下させた。ルチンは脂質合成に関するパラメータのいくつかを減少させたが、フェルラ酸の効果はいずれのパラメータも減少させなかった。これらの結果から、肝臓脂肪酸合成の減少はケルセチンの脂質低下作用の主要なメカニズムであることを示唆している。

DNA マイクロアレイとリアルタイム PCR を用い、薬物代謝に関与する肝臓酵素の mRNA 発現に与えるケルセチンの影響を評価した。オスの SD ラットに、1kg 当たりケルセチンを 0 g、2.5 g、5 g、10 g あるいは 20 g を含む実験食を 15 日間与えた。食餌ケルセチンは薬物代謝酵素であるグルタチオン転移酵素 (Gst) とアルドケト還元酵素 (Akr) の mRNA 発現を特異的に増加させた。ケルセチンは、Gst アイソザイムの中で Gata3、Gstp1、Gstt3 の mRNA 発現を用量依存的に増加させた。Gstm アイソザイムにも、わずかな増加がみられた。しかし、ケルセチンはその他の Gst アイソザイムの遺伝子発現に影響を与えなかった。ケルセチンはまた Akr1b8 と Akr7a3 の mRNA 発現を増加させたが、その他の Akr アイソザイムの遺伝子発現には影響を与えなかった。このように、ケルセチンが薬物代謝に関与する Gst と Akr の mRNA 発現をアイソザイム特異的に増加させることは明白である。ケルセチンにより遺伝子発現が誘導される Gst アイソザイムと Akr アイソザイムは癌の抑制・防止に役割を果たすことが知られている。従って、ここで観察された結果はケルセチンに報告されている癌予防効果を説明するものである。

結論として、これらの研究結果は、主に伝統薬として使われているタデ科植物が健康に貢献する可能性を持つことを科学的に支持している。抗癌、抗糖尿病、抗アレルギー効果といったタデ科植物の健康増進作用は、その抗酸化能 (AOC) に関連している可能性がある。

本研究では、モンゴルにおける民間療法に古くから用いられている野生タデ科植物の抗酸化性を始めとする幾つかの生物学的有効性を実験的に検証しており、その結果、それらが有望な機能性を有することを示した。この研究成果は、関連情報に乏しかったモンゴル産野草の有効活用に大きく貢献でき、学術、実用の両観点から高く評価できるものである。

よって審査員一同は、Odbayar Tseye-Oidov が博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。