

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（薬科学）	氏名	岡本 知子
学位授与の条件	学位規則第4条第1項該当		
論文題目			
植物乳酸菌による生薬発酵で生ずる抗炎症性物質の構造と機能に関する研究			
論文審査担当者			
主査	教授	松尾 裕彰	印
審査委員	教授	古武 弥一郎	
審査委員	准教授	山野 幸子	
<p>〔論文審査の結果の要旨〕</p> <p>生薬は、長い歴史のなかで、その薬効と安全性が評価されてきた。その薬効成分は医薬品のリード化合物となっているが、生薬に含まれる有効成分量は低い。生薬に含まれる薬効成分の多くは植物の二次代謝物であり、これらは元の薬用植物では配糖体として保存されていることが多い。さらに、配糖体は糖鎖が切断された形の活性型「アグリコン」よりも生物学的利用率が低いため、弱い生物活性しか示さない。すなわち、植物二次代謝物の生物活性を最大限に活かすためには活性型アグリコンへの変換が鍵を握っている。</p> <p>近年、漢方医学研究が功を奏し、植物二次代謝物が、腸内細菌が主導する配糖体の加水分解を受け、活性型に変換されるものがあることが明らかとなってきた。更に、これらの活性型への変換には、特定の腸内細菌が関わっていることがわかってきた。このように、植物二次代謝物を活性型アグリコンに変換する腸内細菌は、薬効を上昇させるために大きな役割を果たしている。また、通常、配糖体を加水分解する酵素として知られる「<math>\beta</math>-グルコシダーゼ」を持つ微生物による生薬の発酵は、配糖体からの生物活性物質を大量に取得するための技術になることが示唆されるようになった。</p> <p>植物から分離された乳酸菌（以後、植物乳酸菌と略す）の1つ <i>Lactobacillus (Lb.) plantarum</i> SN13T は、予備実験から、生薬の水抽出液を培地として増殖できることが判明した。すなわち、SN13T 株は 生薬エキスを発酵させることができると判断した。そこで、「SN13T 株による生薬の発酵によって、新たな生物活性物質を生成させる」との仮説を立て、その検証を本研究の目的とした。その際、非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) モデル細胞における炎症反応を抑制するか否かを指標として、生薬醗酵液中に含まれる抗炎症性物質のスクリーニングを行った。この細胞モデルにおいて、脂肪酸の投与により、Interleukin (IL)-8 の産生が増加することが確認されたことから、発酵した生薬エキスの生物活性を IL-8 の産生量の阻害度を測定することで評価した。</p> <p>SN13T 株を用いて 10 種類の生薬エキスを発酵させ、その発酵液の抗炎症活性を</p>			

調査した結果、艾葉 (ガイヨウ) の発酵液に抗炎症活性が確認された。次に、全ゲノム配列が解読された SN13T 株, SN35N 株および LP28 株の 3 種類の乳酸菌株で発酵させた艾葉抽出物の抗炎症活性を比較してみた。その結果、SN13T 株および SN35N 株で発酵させた場合は、未発酵の艾葉抽出物よりも抗炎症活性が上昇したが、LP28 株では、未発酵艾葉抽出物と同程度であることが分かった。また、SN13T 株で発酵させた艾葉抽出物の抗炎症活性は、SN35N 株のそれより強かった。

3 株の植物乳酸菌の全ゲノム情報を比較した結果、SN13T 株, SN35N 株, LP28 株の順に、 $\beta$ -グルコシダーゼをコードする Open Reading Frame (ORF) の数が多かった。さらに、これらの ORF のアミノ酸配列に基づいて本酵素の類似性に関する系統樹を作成した結果、SN13T 株は、他の 2 株とは異なり、本菌株に特異的な  $\beta$ -グルコシダーゼを保持する可能性が高いことが分かった。すなわち、SN13T 株のように、多様性に富んだ  $\beta$ -グルコシダーゼを持つ乳酸菌株は、より多くの植物二次代謝物を基質として認識し、配糖体を加水分解できると考えられる。

次に、SN13T 株による発酵艾葉抽出物からの抗炎症性物質の単離を試みた。活性を有する 90% (v/v) メタノール画分の成分を HPLC にて分析した結果、発酵艾葉抽出物では、未発酵艾葉抽出物にはない 2 つのピークが確認された。これらのピークは、SN35N 株で発酵させたものでも僅かながら検出されたが、LP28 株で発酵させた場合には全く検出されなかった。この結果は、抗炎症活性試験の結果と相関しており、活性の増強は発酵により新たに生成した 2 つのピークに由来する化合物であると強く示唆された。

活性物質の更なる精製を続けた結果、これら 2 つのピークに由来する活性化合物は、catechol と seco-tanaparholide C であると同定された。ちなみに、両化合物の量は、185 g の乾燥艾葉粉末から、それぞれ 22.3 mg および 18 mg であった。得られた 2 つの化合物はいずれも、キク科植物に豊富に含まれる物質であり、配糖体の構成成分としてもその植物に存在する。したがって、catechol と seco-tanaparholide C は、SN13T 株が保有する  $\beta$ -グルコシダーゼによる配糖体加水分解で生じた化合物であると推測された。

以上、SN13T 株によって、生薬艾葉中に含まれる配糖体が加水分解された結果、活性物質へと変換された結果、活性物質本体の量が増加したと結論した。すなわち、植物乳酸菌 *Lb. plantarum* SN13T による生薬の発酵は、生薬中の活性物質を大量に生成させる有用な方法であると言える。

以上の結果から、本論文は植物乳酸菌を用いた生薬の発酵による生理活性物質の大量生産研究において極めて重要な知見を与えるものであり、薬学研究の発展に資するところ大である。

よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士 (薬科学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。