

氏名(本籍)	かん	てき	関	笛	(中 国)
学位の種類	博 士 (環 境 学)				
学位記番号	博 甲 第 5763 号				
学位授与年月日	平成 23 年 3 月 25 日				
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当				
審査研究科	生命環境科学研究科				
学位論文題目	<b>Study on Physiological Activity of <i>Actinidia kolomikta</i> Roots Extracts</b> ( <i>Actinidia kolomikta</i> の根の抽出物における生理活性とその評価に関する研究)				
主 査	筑波大学教授	博士(農学)	張	振	亜
副 査	筑波大学教授	農学博士	杉	浦	則 夫
副 査	筑波大学教授	学術博士	水	鉦	揚四郎
副 査	筑波大学准教授	博士(生物工学)	楊	英	男

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

*Actinidia kolomikta* (Rupr. et Maxim.) は *Actinidia* 中の落葉性の植物の一種で、その根はラオスで伝統的に糖尿病の治療薬として使用されてきた。本論文はバイオマスや植物資源の利活用の視点で、*A. kolomikta* の抽出物に対して、抗酸化活性、ガンの抑制活性及び免疫増強活性について検討し、低利用植物資源である *A. kolomikta* から健康促進や病気治療のための新規医薬または機能性食品素材の開発を目的とした。本研究では、ラオス国から入手した *Actinidia kolomikta* の根を用いそれぞれの抽出物の総炭水化物とポリフェノールの含有量を測定し、抗酸化活性、DLD-1 ガン細胞の増殖抑制作用及びマクロファージの免疫調節活性について評価を行った。

結果として、100℃での抽出物は 40℃の抽出物と比べ、より高い抗酸化活性を持つことがわかった。同じ温度での WE-EP 中の総炭水化物は WE-ES より高かったが、ポリフェノールの含有量は WE-ES のほうが高かった。さらに、SOD 様活性と DPPH ラジカル捕捉活性について、WE-ES のほうが高かった。よって、ポリフェノール含有量が高いほど抗酸化活性が高いと考えられる。また、WE-ES は DLD-1 ガン細胞の増殖の抑制作用が抽出物の添加濃度及び添加時間に依存することがわかった。よって、WE-EP と比べ、WE-ES のガン細胞の増殖抑制活性が高かった。

DLD-1 ガン細胞のアポトーシスを誘導する実験では、WE-ES によりガン細胞のアポトーシスが確認された。免疫細胞であるマクロファージ細胞を用いて、WE-EP、DEAE-W と DEAE-NaCl の免疫調節活性を評価したところ、2.5 µg/ml-25 µg/ml の濃度範囲で、抽出物はマクロファージの増殖、NO 産生と異物貪食を促進したことが判明した。さらに、汎用されている抗ガン剤である Doxorubicin (DOX) による免疫細胞へのダメージや副作用に対する緩和や保護効果について、実験を行ったところ、DOX (5 µM) の添加でマクロファージの増殖が 80%以上抑制され、36%のアポトーシス誘導も確認されたことに対し、抽出物の添加 (25 µg/ml) の場合、DOX によるマクロファージ細胞へのダメージが緩和され、マクロファージの増殖の抑制率は 5%、アポトーシス誘導率は 20%までに改善されたことから、WE-EP、DEAE-W と DEAE-NaCl はマクロファージの免疫強化活性を持っていることが認められた。

さらに、DEAE-W と DEAE-NaCl は DEAE-Sephadex A-50 カラムクロマトグラフィーを用いて分離を行ったところ、100℃ WE-EP から得た多糖類のうち、DEAE-W は中性多糖、DEAE-NaCl は酸性多糖であり、DEAE-NaCl により DEAE-W のほうは免疫調節活性が高いことがわかった。WE-EP はマクロファージに対して免疫調節活性を持つことが明らかとなった。また、粗多糖類に比べると、分離した多糖類のほうは活性が高いことがわかった。それらの抽出物について、汎用されている抗ガン剤である Doxorubicin による免疫細胞へのダメージや副作用に対する高い緩和や保護効果が確認された。

## 審査の結果の要旨

本論文はバイオマスや植物資源の利活用の視点から、*Actinidia* 中の落葉性の植物の一種である *Actinidia kolomikta* (*A. kolomikta*) の抽出物に対して、抗酸化活性、ガンの抑制活性及び免疫増強活性について検討し、低利用植物資源である *A. kolomikta* から健康促進や病気治療のための新規医薬または機能性食品素材の開発に科学的根拠を提供したものである。体内に過剰に作られた「活性酸素」はさまざまな病気の原因と言われており、正常な細胞を攻撃し、酸化させ、細胞内の DNA を傷つけたりすることにより、ガン細胞を発生させることもある。先行の研究ではカロテノイド類やフラボノイド類などの多くの天然植物由来物質はガンの予防や治療に有効であることが判明した。本研究では、まず、*Actinidia kolomikta* の根の水抽出物である WE-EP と WE-ES は高い抗酸化活性を持ち、DLD-1 ガン細胞に対して増殖抑制活性も有することが判明した。100℃での抽出物は40℃の抽出物と比べ、より高い抗酸化活性を持つことが明らかとなった。ポリフェノール含有量が高いほど抗酸化活性が高いと認められた。そして、WE-EP は DLD-1 ガン細胞の増殖に抑制作用があり、その抑制効果は濃度依存的であり、WE-ES は DLD-1 ガン細胞の増殖の抑制作用が抽出物の添加濃度及び添加時間に依存するという貴重な知見が得られた。よって、WE-EP と比べ、WE-ES のガン細胞の増殖抑制活性が高かったことが示唆された。また、WE-EP はマクロファージに対する免疫強化活性を持つことが明らかとなった。粗多糖類に比べると、分離した多糖類のほうは活性が高いことがわかった。それらの抽出物について、汎用されている抗ガン剤である Doxorubicin による免疫細胞へのダメージや副作用に対する高い緩和や保護効果が確認され、非常に重要な知見であると判断される。*A. kolomikta* の根の抽出物に対して、貴重な実験データが得られ、今後、生物資源の利活用の視点から、*A. kolomikta* から糖尿病の治療薬をはじめ、ガンの治療と免疫強化活性のある新規医薬品の開発への応用に科学的かつ技術的助言が提供できた点をオリジナリティに富む研究として高く評価できる。

よって、著者は博士（環境学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。