

学位論文審査結果の要旨	
学位申請者 氏名	章 超
審査委員	主査 鹿児島大学 教授 侯 徳興
	副査 鹿児島大学 教授 高峯和則
	副査 琉球大学 教授 和田浩二
	副査 鹿児島大学 教授 橋本文雄
	副査 琉球大学 教授 屋 宏典
審査協力者	印
題 目	サツマイモ焼酎の冬虫夏草スピリッツの機能性解析及び作用機序に関する研究 (The bioactive functions and underlying mechanisms of <i>Cordyceps militaris</i> spirits soaked in sweetpotato shochu)
<p>アルコール飲料は、生活に楽しみをもたらす嗜好品であると同時に、健康に悪影響を及ぼすこともある。その悪影響を低減させ、生体調節機能を持つ健康アルコール飲料の開発が求められている。ミリタリス冬虫夏草は、コルジセピン、D-マンニトール、<math>\beta</math>-D-グルカン、核酸及びポリフェノール等の生理活性成分を豊富に含み、抗炎症効果、抗腫瘍、免疫賦活等の様々な生理活性を有し、機能性素材として注目されている。しかしながら、ミリタリス冬虫夏草をスピリッツに使用する場合にはこれらの機能性が保たれているか、また、その活性成分が保持もしくは変換されているか等が不明である。本研究では、ミリタリス冬虫夏草子実体をサツマイモ焼酎に浸漬して造った冬虫夏草スピリッツについてその機能性の解析及び活性成分の同定を行った。</p> <p>冬虫夏草スピリッツの活性成分の分離は、HP20 カラム、Sephadex G-25 カラム及び高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 等の分画方法により行った。得られた各画分の炎症抑制効果及びがん細胞増殖抑制機能をそれぞれ検討した。</p> <p>炎症抑制効果について、培養細胞モデル及び動物モデルを用いて検討した。まず、炎</p>	

症モデル細胞であるマウスマクロファージ様細胞 (RAW 264. 7) において、画分 1C-III が細菌リポ多糖 (LPS) 誘導性酵素シクロオキシゲナーゼ-2 (COX-2) の発現を顕著に抑制した。また、炎症動物モデル (炎症性マウス足浮腫実験) においては、画分 1C-III の投与で炎症性因子 IL-6 や TNF- $\alpha$  の血清中レベルが有意に低減し、足浮腫症状も顕著に緩和された。

次に、冬虫夏草スピリッツ分画の抗がん作用を検討するため、ヒト急性前骨髄性白血病細胞 (HL-60) 及びヒト大腸がん細胞 (HCT-116) に対する増殖抑制効果及びアポトーシス誘導機能を調べた。画分 1C-III は HL-60 細胞の増殖を顕著に抑制し、その IC<sub>50</sub> 値 (細胞増殖を 50% 抑える濃度) は 1.1  $\mu$ g/ml であった。また、画分 1C-III は HL-60 細胞において細胞アポトーシス特徴とする DNA 断片化、カスパーゼ-3 の活性化及び PARP の不活性化等を引き起こした。さらに、細胞を Annexin V-FITC / PI の二重染色で解析した結果、画分 1C-III で処理した HL-60 細胞 (4.0  $\mu$ g/ml, 24 時間) では、未処理細胞より 4.9 倍のアポトーシス細胞が検出された。HCT-116 細胞においても、画分 1C-III が HCT-116 細胞の増殖を顕著に抑制し、その IC<sub>50</sub> 値は 1.8  $\mu$ g/ml であった。同様に、画分 1C-III が HCT-116 細胞の DNA 断片化、カスパーゼ-3 の活性化及び PARP の不活性化等も引き起こした。よって、画分 1C-III は、ヒト急性前骨髄性白血病細胞及びヒト大腸がん細胞のアポトーシスを引き起し、それぞれの細胞増殖を抑制することが明らかとなった。

最後に各種分析機器 (HPLC、FT-IR、NMR 及び LC/MS-IT-TOF) を用いて画分 1C-III の活性物質の構造解析を行った。その結果、画分 1C-III の主要活性成分をコルジセピンと同定した。

以上のことから、サツマイモ焼酎の冬虫夏草スピリッツには、活性成分コルジセピンが存在し、抗炎症機能や抗がん機能を発揮することが明らかになった。これらの成果は、サツマイモ焼酎の冬虫夏草スピリッツの機能性に関して科学的エビデンスを提供するとともに、機能性素材の付加価値を生かした新たな健康アルコール飲料の開発に資するものである。よって、本論文は、博士 (農学) の学位論文として十分に価値のあるものと判定した。