

学位論文審査結果の要旨

令和 7 年 2 月 17 日

学位論文題目： シソ及び 2 品種のエゴマの薬理的機能性と関連成分に関する研究

学位申請者 齋藤 貴弘

審査委員 主 査 松田 佳和



副 査 井上 裕子



副 査 岡田 直子



(論文の内容の要旨)

本研究では、変種の関係にある薬用のシソと 2 品種の食用のエゴマの種子及び葉について含まれる成分の特徴と抗炎症作用の比較検討を行った。その結果、エゴマの種子及び薬用のシソの種子成分は脂質成分、機能性成分共に類似していることを明らかとした。また、エゴマ種子のメタノール抽出物は薬用のシソのメタノール抽出物と同様に LPS の刺激による炎症因子の産生を有意に抑制した。その活性成分としてカフェ酸及びロスマリン酸等のフィトケミカルが関与していることを示唆している。

エゴマは α -リノレン酸を豊富に含むために近年その健康機能性が着目され、種子を圧搾したエゴマ油として市場に出回っている。しかし、不飽和脂肪酸を多く含み、酸化されやすいため加熱調理に不向きであるなど、その用途が限られる。また、エゴマ油には、 α -リノレン酸といった機能性に優れる脂肪酸を含むが、種子に含まれるロスマリン酸やカフェ酸といったシソ科特有のフィトケミカルが含まれていない。したがって、圧搾後に廃棄される残滓の部分やエゴマを種子の形で食生活に利用することで搾油によって廃棄される機能性成分の摂取が可能になる。また、種子は種皮に覆われており、脂質が酸化しにくい点も優れている。

エゴマを日常の食生活に取り入れることの重要性及びエゴマをシーズとした医薬品開発に関わる有用な知見が得られたと考えられる。

また、今回は食用のエゴマが薬用のシソと同様の抗炎症作用を有するかの初期段階での検討としてメタノール抽出物による生理活性を検討したが、メタノール抽出物には親水性の成分と親油性の成分が含まれ、どちらが抗炎症作用により強く寄与するかはわかっていない。今後は活性本体を検討するためにメタノール抽出物を親水性、新油性のものにフラクション分けを行い、それらでの生理活性試験を行うことで、エゴマの活性本体を詳細に調査していく必要がある。

以上の研究結果は、これまで食品として利用されていたエゴマに機能性成分が含まれていることを示唆したものであり、本邦における健康志向にニーズを広く応用できる可能性を示唆している。

(論文審査の結果の要旨)

本研究では、エゴマ(黒エゴマ及び白エゴマ)の葉及び種子に含まれる成分を分析し、その抗炎症作用を中心に評価を行った。同じシソ科シソ属で種も同じであるシソを比較対象として用いることで、エゴマの持つ独自の特性をより明確にするとともに、両者の成分構成や薬効の違いを科学的に検討している。

GC/MS による分析では、黒エゴマ種子(BSP)、白エゴマ種子(WSP)、シソ種子(PS)のアセトン抽出物から、 α -リノレン酸やスクワレン、オクタコサノール、高級脂肪族アルコール、ビタミン E(トコフェロール)および植物ステロール類(カンペステロール、ステリグマステロール、 β -シトステロール)が共通して検出された。これらの中で、PS では α -リノレン酸の含量が最も高く、BSP がこれに続き、WSP ではやや低い値を示した。また、植物ステロールのうち β -シトステロールの含量が最も多く検出された。

次に LC/MS によるメタノール抽出物の分析を行い、カフェ酸、ロスマリン酸、アピゲニン、ルテオリンが主要なフィトケミカルとして検出された。ポリフェノール含量を比較すると、カフェ酸は PS で最も高く、次いで BSP、WSP の順であった。ロスマリン酸の含量は BSP で最も高く、WSP と PS ではほぼ同程度であった。さらに、WSP ではアピゲニンおよびルテオリンの含量が黒エゴマ BSP や PS と比較して高い値を示した。

これらの結果から、シソとエゴマ種子の成分には共通点が見られる一方で、 α -リノレン酸やポリフェノール含量においてそれぞれ特徴的な違いが確認された。特に、黒エゴマはロスマリン酸を多く含み、白エゴマではフラボノイド成分であるアピゲニンやルテオリンが豊富に含まれていることが明らかとなった。

BSP、WSP、及び PS のメタノール抽出物の抗炎症作用を評価するため、LPS 刺激による RAW264.7 細胞における NO および IL-1 β の産生抑制効果を比較した。

NO の産生抑制効果については、LPS 投与後 24 時間における NO 濃度を測定した結果、BSP、WSP およびシソのメタノール抽出物は 1~100 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で、いずれの濃度においてもコントロール群と比較して有意に NO 産生を抑制した。特に BSP および WSP は、薬用として用いられる PS のメタノール抽出物と同等の抑制効果を示した。

IL-18 の産生抑制効果については、LPS 投与後 3 時間における IL-18 の値を測定した。10~100 $\mu\text{g/mL}$ の濃度において、BSP、WSP、PS のメタノール抽出物はコントロール群と比較して有意に IL-18 産生を抑制し、BSP および WSP は PS と同様の抑制効果を示した。

次に、LC/MS により検出されたシソ科植物やキク科植物に含まれるフィトケミカルであるカフェ酸、ロスマリン酸、アピゲニン、及びルテオリンの抗炎症作用を検討するために LPS 添加後の NO 及び IL-1 β を測定した。その結果を Fig.4 に示した。これら 3 $\mu\text{g/mL}$ の濃度のフィトケミカルはいずれも NO 及び IL-1 β の産生をコントロール群と比較し有意に抑制した。

シソおよび 2 品種のエゴマの葉のメタノール抽出物について、RAW264.7 細胞を用いた LPS 刺激後の NO および IL-1 β 産生抑制効果を比較した。いずれの抽出物もコントロール群と比較して有意に NO および IL-1 β の産生を抑制したが、薬用の PL は NO 産生抑制率が最も高く、一方で WLP は IL-1 β の抑制率が最も高い結果となった。

本研究では、エゴマ(黒エゴマ及び白エゴマ)の葉及び種子に含まれる成分を分析し、その抗炎症作用を中心に評価を行った。同じシソ科シソ属で種も同じであるシソを比較対象として用いることで、エゴマの持つ独自の特性をより明確にするとともに、両者の成分構成や薬効の違いを科学的に検討している。

以上のことから主査、副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。

(最終試験の結果の要旨)

最初に主査は、「齋藤貴弘」に本研究の概略を述べさせた。次いで、主査・副査と「齋藤貴弘」との間に次のような質疑応答が行われた。

問: エゴマの抗炎症作用に濃度依存性が認められていないが、その理由はどの様に考えているか?

答: 当初は DMSO の影響を考えたが、最終濃度が 0.01% 以下であり細胞への影響は極めて低いと考えられた。また、LPS 単独刺激群にも DMSO を添加しているので、その影響は低いと思われる。したがって、一番可能性が高いと思われるのはタンパク質測定による誤差を考えている。実験を行っていくなかで、タンパク質測定の手技は煩雑で難しく、NO 濃度とタンパク量が相関しない事も多々あった。このことを改善するために、今後は例数を増やす必要があるものと考えている。

問: 本研究の結果から、結論としてはエゴマの葉と種子どちらを用いるべきと考えているか?

答: 本研究の趣旨の一つとしてエゴマが油として用いられる現状に対し、種子及び葉の利用の可能性について研究を行った。種子と葉の優位性はこれから検討を行っていく予定である。しかしながら、種子は種皮に覆われていることから、脂質が酸化しないと言う利点はあると考えている。

問: 今回比較対象として用いたシソは一般的なシソか?

答: 今回用いたシソは、専ら薬用に用いられる赤シソを用いた。

問: 葉の研究において白エゴマは IL-1 β 、シソは NO を最も下げている。これらの成分の差異と関与している LPS の下流シグナル経路については考察しているか?

答: IL-1 β や NO に相関がみられないケースにおいて NF κ B や NF- κ B や MAPK 経路の測定も行っていることから、これらの計測を行っていくことで明らかにできるのではないかと考えています。

問: 本研究で認められた抗炎症作用の作用機序は、どの様に考えているか?

答: NF- κ B や MAPK 経路を考えており、現在は LPS 刺激による TNF- α の測定を行っている。これらの結果によって、より詳細な考察ができるものと考えています。

問: 今後、動物実験によって、これらの効果を検証したいとのことであるが、動物実験を行う際の投与量はどの様に考えているか?

答: 動物に投与できる溶液にして、マウスであれば 10 mL/kg の用量で効果を確認したいと考えています。それで効果が確認できた際は、用量依存性や投与タイミングの確認まで進められればと思います

以上のように質問に対する応答は概ね適切であり、本研究の遂行に十分な学力を有しているものと認めた。