

生物機能応用科学専攻

氏名	高木 啓二
学位記番号	生博 甲第 128 号
学位記授与の日付け	平成 14 年 12 月 18 日
学位論文題目	樹木抽出成分の化粧品への利用に関する研究
論文審査委員	主査 教授・船岡 正光 教授・徳田 迪夫 教授・古市 幸生 教授・今井 邦雄 助教授・光永 徹

要 旨

森林資源の有効利用と生活の質の向上をキーワードに、美白作用を持つ樹木抽出成分を探究し、活性物質の構造と作用メカニズムおよび構造活性相関について考究した。特に人類の約半数を占める女性の悩みの一つであるメラニン色素の生成について、その生合成酵素であるチロシナーゼの活性を阻害する成分、またはメラニン生産細胞である B16 マウスメラノーマ細胞におけるメラニン生成を抑制する成分の構造と作用機序、さらにチロシナーゼ阻害成分となり得る物質の構造特性に関する基礎的知見を得ることを目的に本研究を行った。

広大な森林資源を持つブラジルで生育した薬用植物の一つである Jatoba (*Hymenaea courbaril* L.) の果皮抽出成分についてチロシナーゼ活性阻害試験およびメラニン生成抑制試験を行い、有効成分の構造解析と作用機序の検討を行った。その結果、顕著なチロシナーゼ活性阻害を示した成分はプロシアニジン型で平均 12 量体の分子を有する proanthocyanidin (PAC) であること、これらの PAC が tanning によって強いチロシナーゼ阻害を発現することを初めて明らかにした。また、チロシナーゼ阻害とは異なる作用により、B16 マウスメラノーマ細胞のメラニン生成を細胞毒性を示さず顕著に抑制する成分 (EE1) を得た。さらに 50%エタノール水抽出物と EE1 について抗炎症試験および色素沈着抑制試験を行った。その結果、これらの成分はカラゲニンにより惹起されたキニン類またはプロスタグランジン類の遊離、生成による炎症反応に対して顕著な抑制効果を示し、時間の経過と共に高い効果が現れること、また、紫外線照射により惹起された色素沈着に対して早い時間帯から顕著な抑制

効果を示し、sunburn 後の suntan、特に遅延型黒化における melanogenesis を伴う色素沈着に対して抑制効果を持つことを初めて明らかにした。

次に、東南アジアの森林地帯で生育する南洋材の一つである Asam (*Mangifera quadrifida* J.) の材抽出成分についてチロシナーゼ活性阻害試験およびメラニン生成抑制試験を行い、有効成分を単離して作用メカニズムの解明と構造決定を行った。その結果、顕著なチロシナーゼ活性阻害を示した成分 (Compound 1) はタンパク吸着作用によるチロシナーゼ阻害ではなく、チロシンからドーパキノンへの変換過程において、ドーパからドーパキノンへの変換よりチロシンからドーパに変換される過程の monophenol monooxygenase 活性を特異的に阻害すること、また、B16 マウスメラノーマ細胞に対して濃度依存的に細胞内メラニン生成を抑制し、低濃度では細胞毒性を発現せずに白色化作用を示すことを初めて明らかにした。さらに Compound 1 は構造解析により 5,7,2',4'-Tetrahydroxyisoflavanone すなわち Dalbergioidin であることを Asam から初めて明らかにした。

一方、カラマツ樹皮、アカシア樹皮およびケブラコ心材の抽出物についてチロシナーゼ活性阻害試験および PAC 成分の性状分析と構造解析を行い構造活性相関を検討した。その結果、フラバノール量が多い抽出物ほど強いチロシナーゼ阻害を示すことが仮定されたが、フラバノール量とチロシナーゼ阻害との間には相関がないことを明らかにした。また、分子量が大きく重合度が高い抽出物ほど強いチロシナーゼ阻害を示すことが期待されたが、PAC の重合度とチロシナーゼ阻害との間には相関がないことを明らかにした。一方、核交換法による樹

木抽出物の PAC の分析によりカラマツはプロシアニジンタイプ、ケブラコはプロフィゼチニジンタイプ、アカシアは主にプロロビネチニジン型を多く含むプロフィゼチニジン型との混合型 PAC で構成されていることが判明した。さらに PAC のチロシナーゼ阻害活性はフェノール性水酸基の置換パターンと密接に関連すること、PAC の構造において A 環ではフロログルシノール核、

B 環ではピロガロール核がチロシナーゼ阻害に寄与すること、B 環構成核は A 環構成核より大きな影響を及ぼすことを初めて明らかにした。

特に生体に対して高い美白作用が示された Jatoba の抽出成分は、化粧品原料あるいは医薬部外品原料として期待できた。

生物資源開発科学専攻

氏名	石橋 亮
学位記番号	生博甲 129 号
学位記授与の日付け	平成 15 年 3 月 25 日
学位論文題目	移入シジミ及び日本産シジミの初期発生過程と系統類縁関係に関する研究
論文審査委員主査	教授・柏木 正章 教授・荒木 利芳 教授・神原 淳 助教授・古丸 明

要 旨

日本にもともと生息していた *Corbicula* 属のシジミは三種であるといわれおり、汽水種で雌雄異体のヤマトシジミ *Corbicula japonica*、雌雄異体で琵琶湖固有種のセタシジミ *C. sandai*、淡水域に広く分布するマシジミ *C. leana* である。

ところが近年、外国産のシジミが日本国内に侵入し各地で繁殖している。河口域のヤマトシジミ漁場においても、漁獲物の中に外国産シジミが多数見出されており、産業上も大きな問題となっている。日本三種との雑種形成、さらには、餌や場所の競合が想定される。しかし、外国産シジミについては、繁殖法、雌雄性、日本産との系統類縁関係等不明な点が多い。

本研究では、日本産シジミと外国産シジミの分布や繁殖方法を調べた。特に、雌雄同体種マシジミ、台湾シジミが雄性発生していることを明らかにした。詳細な卵の雄性発生過程について染色体紡錘体中心体の動きを免疫組織化学的手法で明らかにした。さらにミトコンドリア DNA (mt-DNA) の塩基配列を解析し、日本産シジミと外国産シジミの系統類縁関係の推定を行った。

1) 日本国内の日本産シジミ、外国産シジミの分布状況を調査し、繁殖特性や雌雄性等の調査を行った。国内に

は日本産シジミ三種の他に、少なくとも二種の外国産シジミ (台湾シジミ *C. fluminea*, ウスシジミ *C. papyracea*) が移入しており、その多くが台湾シジミであることがわかった。台湾シジミは貝殻の色彩変異に富み、淡水域から汽水域まで幅広く分布していた。

2) 利根川河口域では、雌雄同体の台湾シジミが 2 タイプ分布していた。この台湾シジミは、本来淡水産と考えられていたが、生息場所から判断して塩分耐性があるものと考えられた。また、この種のほかに雌雄異体の汽水産韓国産ウスシジミと思われる種が分布していることがわかった。

3) 近畿地方の二水系の分布調査をした結果、琵琶湖を起源とする淀川水系では、台湾シジミが幅広く分布し、マシジミは支流でのみ確認された。一方、大和川水系においては、台湾シジミは見出されず、マシジミのみが分布していた。この結果から、台湾シジミが移入すると、マシジミは消失すると考えられた。

4) マシジミ、台湾シジミ両種とも、雄性発生していることを明らかにした。受精卵は、第一減数分裂で、全ての卵染色体を、二個の第一極体として放出し、第二減数分裂は起こらなかった。極体形成後、非減数精子の核由来の染色体のみで発生が進行した。中心体が二個と