



ブドウ・リンゴ・小豆等に含まれるプロアントシアニジン(植物ポリフェノール)の製法と機能性～信州大学農学部での取り組み

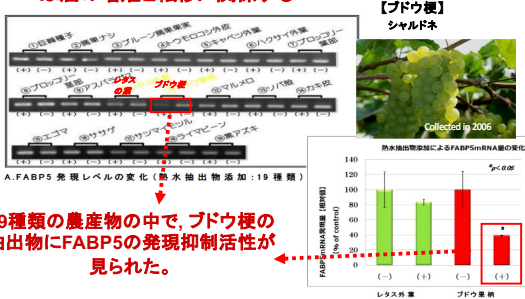


真壁 秀文^{1,2}、田中 沙智^{1,2}、河原 岳志²、濱渦 康範²、藤井 博²
 信州大学先鋭領域融合研究群 バイオメディカル研究所 生体分子イノベーション部門¹
 信州大学大学院総合理工学研究科 農学専攻 食品生命科学分野²

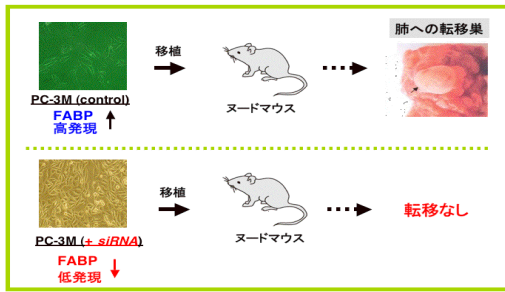
1. ブドウ梗抽出物に含まれるプロアントシアニジンの単離と抗腫瘍活性

(1) 転移原因遺伝子である脂肪酸結合タンパク質5 (FABP5)の遺伝子発現抑制活性を指標とした農産物抽出物のスクリーニング

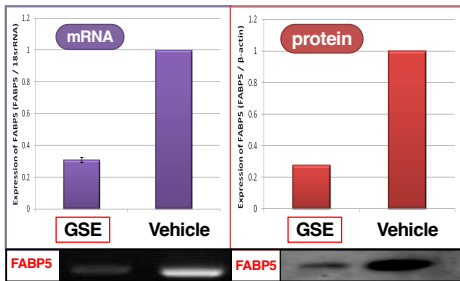
FABP5 (Fatty acid binding protein 5):
 は癌の増殖と転移に関係する



FABP遺伝子の発現抑制によって癌の転移が抑制される



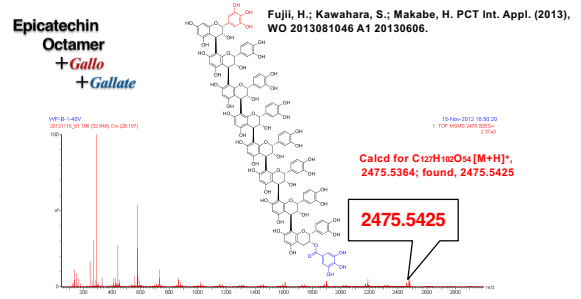
(2) ブドウ梗抽出物によるFABP5の発現抑制活性試験



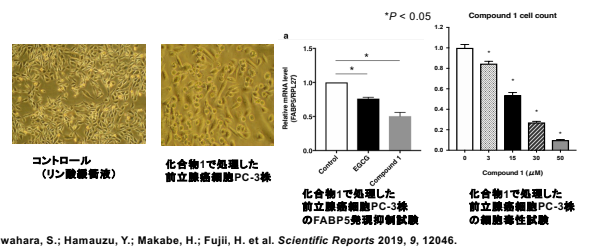
(3) ブドウ梗抽出物に含まれるプロアントシアニジンの精製



(4) 化合物1の推定構造 (ESI-TOFMS)

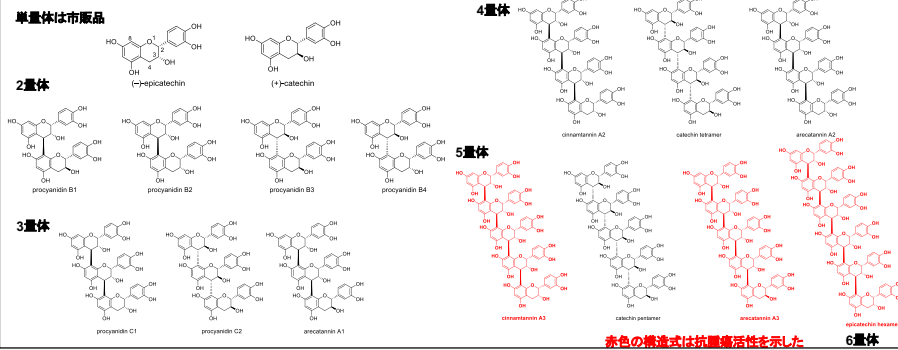


(5) 化合物1は前立腺癌細胞PC-3株の増殖と転移関連遺伝子FABP5の発現を抑制した

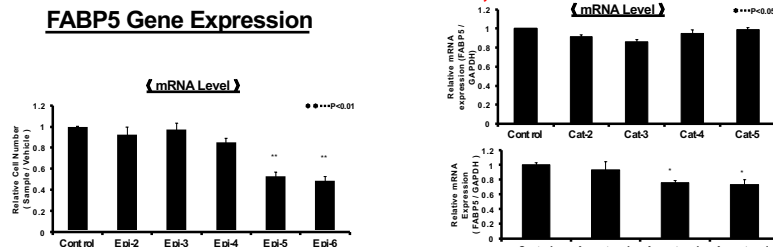


2. エピカテキンおよびカテキン重合体の前立腺癌細胞におけるFABP5発現抑制活性と浸潤抑制活性

(1) 化学合成を行ったカテキンまたはエピカテキンの重合体

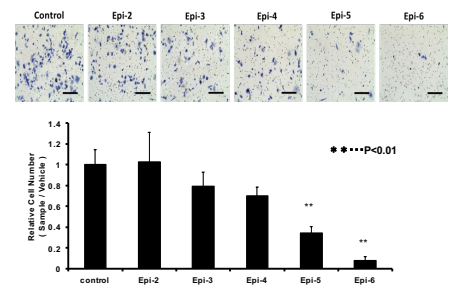
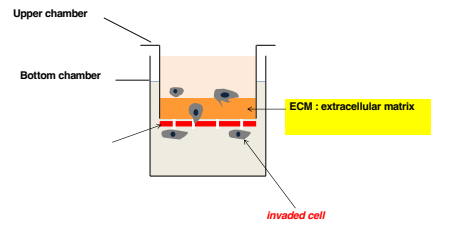


(2) 合成したエピカテキンやカテキンの重合体のヒト前立腺癌細胞PC-3に対するFABP5発現抑制活性試験→エピカテキン5, 6量体が活性を有する



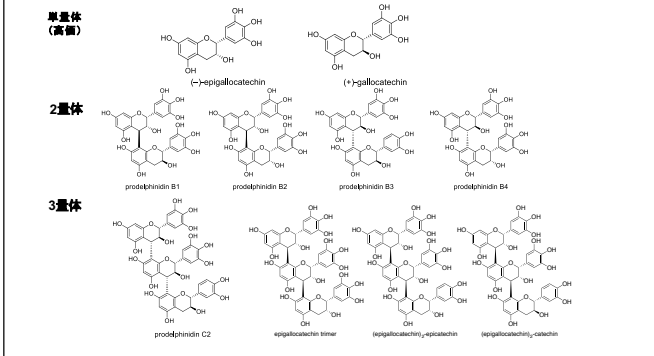
(3) 合成したflavan-3-ol重合体のヒト前立腺癌細胞PC-3に対する浸潤阻害活性試験→エピカテキン5, 6量体が顕著な活性を有する

エピカテキン重合体における癌浸潤能評価試験

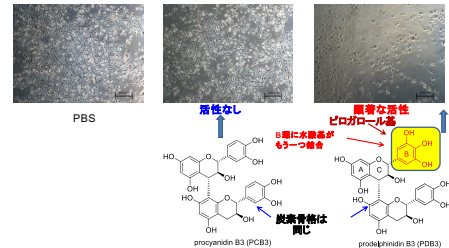


3. ガロカテキンまたはエピガロカテキン重合体の合成と癌細胞増殖抑制活性

(1) 合成を行ったガロカテキンまたはエピガロカテキンの重合体



(2) 前立腺癌細胞に対するプロシアニジンB3とプロデルフィニジンB3の癌細胞増殖阻害活性試験 (Cell Count法)



Fuji, H., Makabe, H. et al. *Tetrahedron* 2013, 69, 8349.

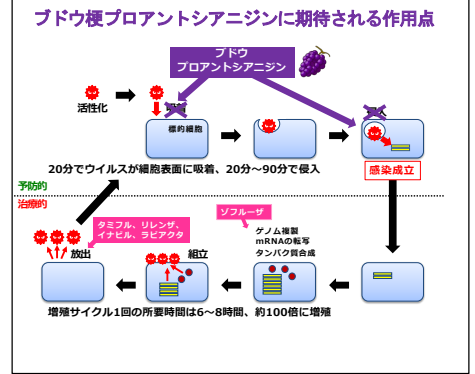
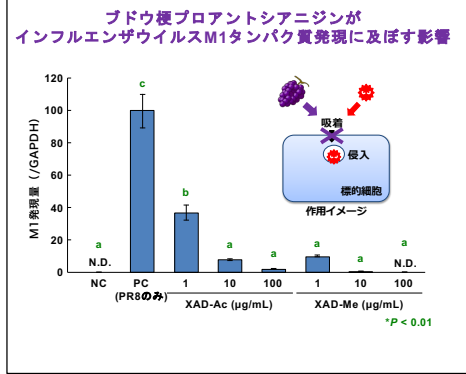
4. ブドウ梗抽出物の抗インフルエンザウイルス活性

実験概要

- **サンプル**
ブドウ果柄プロアントシアニジン画分XAD-Ac, XAD-Me (60%EtOHに溶解)
- **ウイルス**
A/Puerto Rico/8/34 (略称: PR8)
*フェルトリコで1934年に単離されたヒトA型H1N1ウイルス株。感染性を持つヒトA型インフルエンザウイルスのモデルとして広く用いられている。
- **細胞**
MDCK (Madin-Darby Canine Kidney) 細胞
*イスラエル腎臓癌管上皮由来細胞株であるが、ヒトインフルエンザウイルスに高い感染性を示すことで知られ、感染標的モデルとして最も一般的に用いられている細胞株
- **実験タイムコース**

MDCK細胞播種 (2x10⁶ cells/mL) → サンプル添加 (1, 10, 100 µg/mL) → ウイルス添加 → サンプル、ウイルス洗浄除去 → 定量的RT-PCR法によるM1タンパク質発現解析

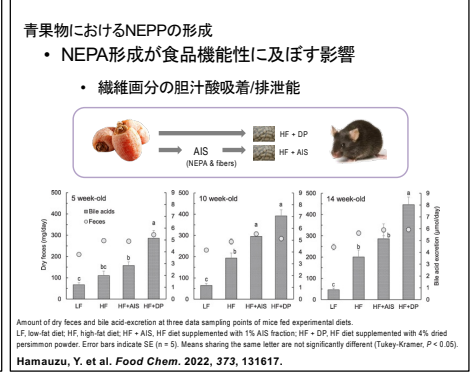
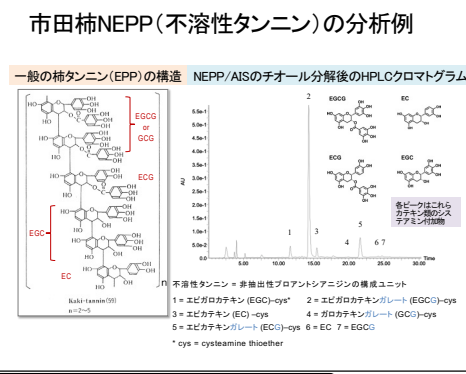
● **統計**
Tukey-Kramer多重比較検定



5. 柿に含まれる非抽出性プロアントシアニジンとその機能性

市田柿(干柿)の不溶性タンニン

- 干柿果肉切片における不溶性タンニンの染色 (左上)
- 不溶性タンニン塊の顕微鏡観察 (上段 無染色および染色100倍, 下段 染色400倍)



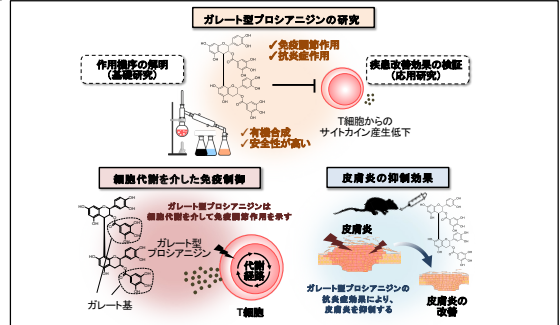
6. 免疫調節機能を有するprocyranidin B2 3,3''-ガレート

プロシアニジンB2 3,3''-ジガレートは炎症性のサイトカイン (IFN-g, IL-17) の産生を抑える。
Tanaka, S., Makabe et al. *Int. Immunopharmacol.* 2017, 44, 87.

T細胞における解糖系の抑制を介して、TNF-αの産生を抑える。
Endo, K., Makabe, H., Tanaka, S. et al. *Biochem Pharmacol.* 2020, 177, 113952.

樹状細胞からのサイトカイン産生の抑制を介してT細胞のIL-17の産生を抑える。
Endo, K., Makabe, H., Tanaka, S. et al. *Biochem Pharmacother.* 2021, 137, 111346.

ガレート型プロシアニジン (PCB2 3,3''-di-O-gallate)



本研究のまとめ

1. 抗腫瘍活性
 - ① ブドウ(シャルドネ)の梗由来のプロアントシアニジンはヒト前立腺癌細胞に対する細胞毒性、癌転移関連遺伝子であるFABP5発現抑制活性、浸潤試験において顕著な活性が見られた。
 - ② 化学合成を行ったプロアントシアニジンのうちエピカテキンの5, 6量体は癌転移関連遺伝子であるFABP5発現抑制活性と癌細胞の浸潤抑制試験において顕著な活性が見られた。
 - ③ 化学合成を行ったプロアントシアニジンのうちピロガロール基を持つプロデルフィニジン類はヒト前立腺癌細胞に対する顕著な細胞毒性が見られた。
2. ブドウ(シャルドネ)の梗由来のプロアントシアニジンは強い抗インフルエンザウイルス活性が見られた。
3. ブドウの種子に含まれるプロシアニジンB2 3,3''-ガレートは免疫調節活性を示した。
4. 柿に含まれる不溶性プロアントシアニジン類は胆汁酸排泄促進作用を持つことを明らかにした。