

解 説**プロポリスに含まれる生理活性物質と薬理活性****照屋俊明**

中部大学生物機能開発研究所

1. はじめに

ミツバチが作り出すもので、人間が有効利用できるものとしては、蜂蜜、ローヤルゼリー、花粉などが良く知られている。プロポリスは、さまざまな樹木から集めた樹脂を、ミツバチが唾液とともに噛み続け、ワックス状にしたものである。プロポリスの語源はギリシャ語に由来する。プロは前、前面というラテン語から、ポリスは都市の意味を持つギリシャ語であり、外敵から身を守る為の城壁のような使用目的から由来したと言われている。ミツバチはプロポリスを巣の出入り口や巣枠、巣箱の隙間、巣穴の壁などに塗り付けることによって、数万匹からなる過密な巣房をウイルスや外敵から守っている。ミツバチにとってプロポリスとは、巣の中を清潔に保ち、巣を守る、大切な補強材である。しかし、一番の目的は巣を無菌状態に保つことにある。外敵が侵入したとき、ミツバチは蜂毒を用いてそれを殺し、死骸は巣から運び出される。しかし、死骸が大きく巣の外へ運び出すのが不可能な場合、死骸をプロポリスで覆う。プロポリスで覆われた死骸は腐敗せずにミイラ化され、無菌状態で保たれる。このようにプロポリスには強力な殺菌作用があることから、昔から人々の健康のために使われてきた。プロポリスについては抗菌性以外にも、抗カビ作用、抗ウイルス作用、抗炎症作用、抗潰瘍作用、局所麻酔作用、肝臓保護作用、抗腫瘍作用、免疫刺激活性などさまざまな生理活性が報告されており、健康食品、バイオ化粧品原料として用いられている。

プロポリスの知名度はまだ低いが、現在さまざまな研究機関でプロポリスに関する研究が盛んにおこなわれ、プロポリスの薬理学的効果の解明が急速に進んでいる。プロポリスがもつ生理活性で、最もよく知られているのは抗菌作用であり、今世紀はじめから多くの研究報告例がある。またプロポリスが、人間のガン

に何らかの治療効果を示すことは、これまで一般的な話や記事を通して伝えられてきた。近年プロポリスの持つ抗腫瘍活性が分子レベルで解明されつつある。

本稿では、プロポリスについて今日までに報告されている含有成分、薬理活性、特に抗菌性、抗腫瘍活性について紹介する。さらに最近報告されたプロポリスに関する薬理活性について紹介する。

2. プロポリスの含有成分

プロポリスの成分は産地によって異なるので、必ずしも一定していない。しかし一般的に、主な成分比は、樹脂成分 50～55%、蜜ロウ 30%、精油 8～10%、花粉 5%と言われている。そのほかに、少量の脂肪酸、有機酸、微量のアミノ酸などの存在が認められる。

このなかでも樹脂成分については古くから研究がおこなわれ、数多くの成分について解明されている。グリーンナウェイらは、イギリス・イングランドの南部にある、オックスフォードシャー州のバックランドで、主として2種類のポプラを主材料としてつくられたプロポリスを対象に、ガスクロマトグラフィーを用いて成分物質の特定をおこなった。その結果、150 種類以上の成分を分離した。その成分の大半はいろいろな種類のアルコール、有機酸、エステル、フェノール性カルボン酸、フラボノイド類であることがわかったが、この中には構造が不明なものも含まれている (Greenaway et al. 1991)。このようにプロポリスの含有成分の数は極めて多い。グリーンナウェイらの分析結果から、プロポリスの成分のほとんどは植物由来であることがわかった。つまり、プロポリスの成分はその地域に生育する植物の種類に由来すると考えられる。異なる地域で採集したプロポリスの植物源と主な成分を表1に示す (Bankova et al. 2000)

表1 異なる地域で採集したプロポリスの植物源と主な成分

地域	植物源	主な成分
ヨーロッパ, アジア, 北アメリカ	<i>Populus</i> spp. (poplar)	pinocembrin, pinobanksin, pinobanksin-3-O-acetate, chriysin, garangin, cafferates (benzyl, phenylethyl, prenyl)
ロシア	<i>Betula verrucosa</i> (birch)	acaacetin, apigenin, ermanin, rhamnocitrin, kaempferid, α -acetoxybetulenol
ブラジル	<i>Baccahris</i> spp. <i>Araucaria</i> spp	prenylated <i>p</i> -coumaric acids, prenylated acetophenones, diterpenic acids
カナリア諸島	unknown	furoruran ligands

3. 亜熱帯産プロポリス由来の生理活性物質

近年, プロポリスに含まれる活性物質に関する研究が盛んにおこなわれている. プロポリスの成分は産地により異なるため, 数多くの化合物がプロポリスから単離, 構造決定されている. その中でも亜熱帯産,

特にブラジル産のプロポリスから新規生理活性物質が数多く単離されており, 注目を集めている. ブラジル産プロポリスから単離された新規化合物の例を図1に示す.

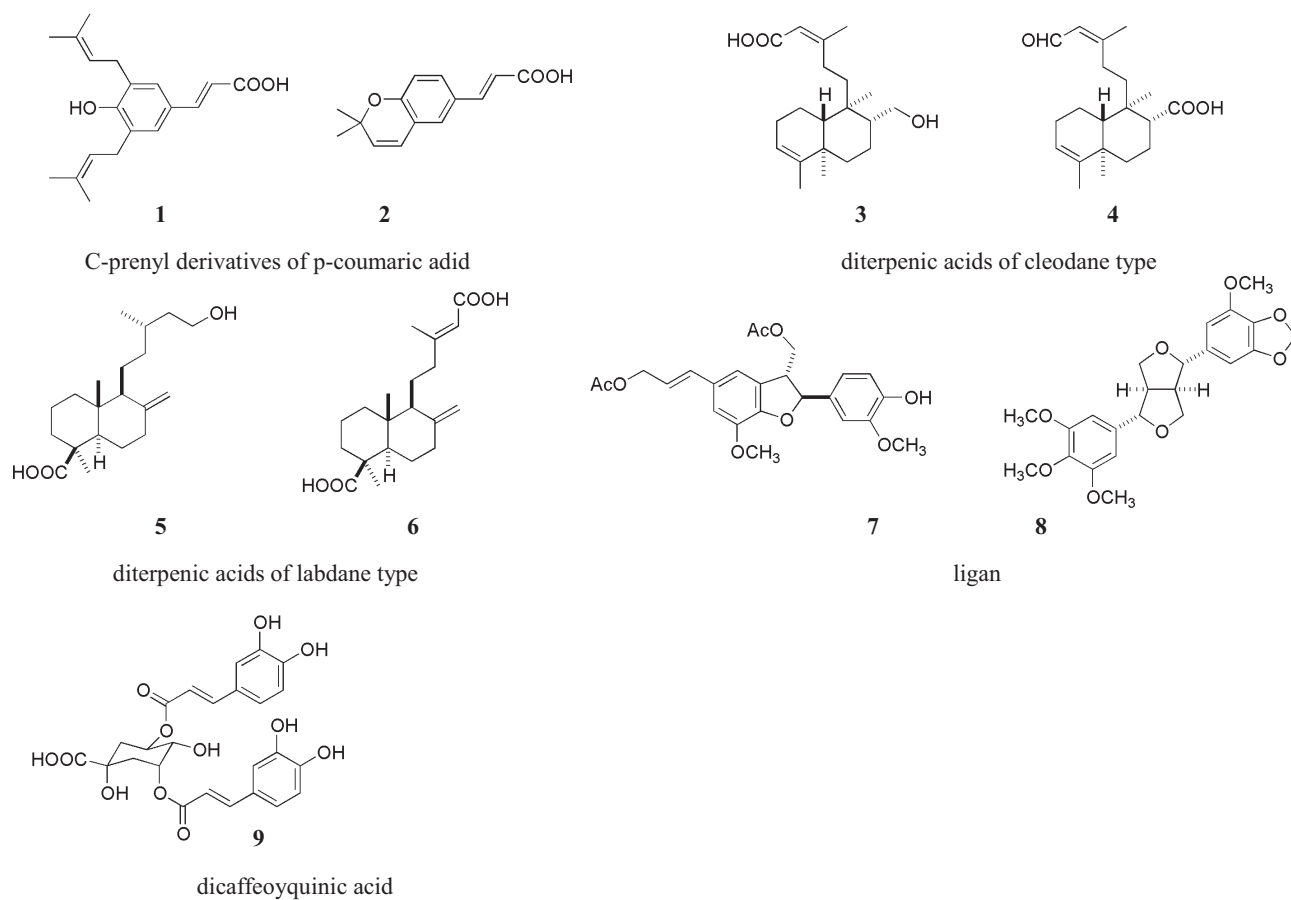


図1 ブラジル産プロポリスから単離された生理活性物質

1 artepillin C; 2 2,2-dimethyl-6-carboxyethenyl-2H-1-benzopyran; 3 ent-17-hydroxy-3,13Z-clerodadien-15-oic acid; 4 15-oxo-3,13Z-kolava-diene-17-oic acid; 5 imbricatoloic acid; 6 ent-17-hydroxy-3,13Z-clerodadien-15,19-dioic acid; 7 3-acetoxymethyl-5-[(E)-2-formylethen-1-yl]-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-7-methoxy-2,3-dihydrobenzofuran; 8 sesartein; 9 3,5-dicafeoylquinic acid.

化合物 1, 2(Aga et al. 1994; Boudourova-Krasteva et al. 1997; Matsuno et al. 1997), 4 (Matsuno et al. 1997), 5 (Bankova et al. 1996), 6 (Banskota et al. 1998), 7 (Bankova et al. 1996), 8 (Christov et al. 1999) は抗菌活性, 3 (Matsuno. 1995) は細胞毒性, 9 (Tatefuji et al. 1996) はマウスのマクロファージ活性化作用を示す。

4. プロポリスの抗菌作用

グランジェらはプロポリスのエタノール抽出液を用いて, 病原細菌 20 株に対する効果を調べた (Grange et al. 1990). 用いた病原細菌は, 黄色ブドウ球菌 6 株 (MRSA 3 株を含む. グラム陽性), 表皮ブドウ球菌 2 株 (グラム陽性), 腸内連鎖球菌 2 株 (グラム陽性), *Bacillus cereus* 2 株 (グラム陽性), *Branhamella catarrhalis* 1 株 (グラム陽性), *Corynebacterium* sp. 1 株 (グラム陽性), *Pseudomonas aeruginosa* 3 株 (グラム陰性), 大腸菌 2 株 (グラム陰性). これら病原菌を用いて抗菌活性を調べたところ, すべてのグラム陽性菌の増殖を阻害することがわかった. しかし, グラム陰性菌に対しては, ほとんど効果は見られなかった. また, 彼らはプロポリスの抽出液が結核菌に対しても明らかな殺菌作用を示すことを報告している.

またメツナーら (Metzner et al. 1979) はプロポリスに含まれる成分を用いて, 微生物に対する生物活性を調

べた. プロポリスに含まれる成分のうち, 25 種類の成分を用いて, 枯草菌, 黄色ブドウ球菌, 鷲口瘡カンジダ, 毛瘡白癬菌に対する増殖阻害活性試験をおこなった. その結果, ピノセンブリン, 3-アセチルピノバクシン, 桂皮酸, p-クマル酸ベンジルエステル, カフェイン酸などに活性があることを確認した. これらの成分と, 他の抗生物質との効力をまとめたものを表 2 に示す. この結果から, 抗生物質は特定の種類の菌に対して選択的に低濃度で活性を示すのに対し, プロポリスに含まれる成分の抗菌活性の特徴として, 作用はやや弱いものの, 抗菌作用が及ぶ微生物の種類が広く, 効力が真菌, とくに毛瘡白癬菌のような皮膚糸状菌にまで及ぶことがわかる.

林原生物化学研究所のグループは, ブラジル産プロポリスのエタノール抽出物から抗菌活性を示す化合物を探索し, 3,5-diprenyl-4-hydroxycinnamic acid, 3-prenyl-4-dihydro cinnamic acid, 2-dimethyl-6-carboxyetenyl-2H-1-benzopyran, を得た. 18 種類の微生物に対して, これらの抗菌作用を調べたところ, アルテピシン C (図1, 1) がプロポリスのもっとも主要な抗菌物質のひとつであることを解明した. さらにメツナーらが報告しているドイツ産のプロポリスの抗菌作用と比較しても, ブラジル産のもののこれらの物質が, 同等, もしくはそれ以上の抗菌活性を示すことを明らかにした (Aga et al. 1994).

表2 プロポリス抽出液, プロポリスに含まれる主な成分と抗生物質の抗菌活性の比較

化合物	最少増殖阻止濃度 (μ g/mL)			
	枯草菌	黄色ブドウ球菌	鷲口瘡カンジダ	毛瘡白癬菌
プロポリス抽出液	375	1500	3000	188
ピノセンブリン	75	300	150	38
p-クマル酸ベンジルエステル	150	300	300	38
3-アセチルピノバクシン	300	300	300	75
カフェイン酸エステル	150	300	300	75
カフェイン酸	600	300	1200	75
桂皮酸	400	600	300	19
「抗生物質」				
ストレプトマイシン	10	30		
オキシテトラサイクリン	1	30		
クロラムフェニコール	1	100		
スルファメラジン	300	1000		
ニスタチン			10	
グリセオフルビン				1000

5. プロポリス由来の抗腫瘍活性物質

ポーランドのシェラー (Scheller et al. 1989) らは、胆ガンマウスに、プロポリスのエタノール抽出物を投与すると、延命効果が見られたと報告している。

松野らは人間の肝ガン由来の HuH13 細胞に対する増殖阻害と細胞傷害作用を指標として、ブラジル産プロポリスの抽出液から活性成分の単離を試みた。その結果、活性物質として既知化合物であるケルセチンとカフェイン酸フェネチルエステル、クレロダン系ジテルペンに分類される新規化合物 ent-17-hydroxy-3,13Z-clerodadien-15-oic acid (図 1, 3) を単離した (Matsuno, 1995)。

ケルセチンは、細胞の増殖を、遺伝子を複製する前の段階でストップさせるはたらきがある。また、高濃度になるとガン細胞を死滅させるように作用する。さらにケルセチンには、動物実験で自然発生腫瘍や発ガン剤誘発腫瘍の発生を抑制するデータも得られている。実際、この化合物を扁平上皮ガンや急性白血病の治療に用いる試験もなされている (松野, 1995)。

カフェイン酸フェネチルエステルは、正常な細胞よりも、ガン細胞に強い細胞毒性を示すことがわかっている (Grunberger et al. 1988; Su et al. 1991; Beis et al. 1992; Frenkel et al. 1993; Bhimani et al. 1993)。アメリカ健康財団 B. S. レディー博士らのグループは、カフェイン酸フェネチルエステルと、その誘導体であるカフェイン酸ジフェネチルエステル、カフェイン酸メチルエステルを化学合成し、それらの作用について報告している。その結果は (1) サルモネラ菌で、突然変異原性をみるエームテストを行なっても、変異原性を示さない。 (2) 結腸ガンや乳ガンを誘発する化学発ガン剤、ジメチルアミノビスフェニルが、サルモネラ菌に突然変異をおこさせるのを阻害する。 (3) 結腸ガン HT-29 細胞の増殖や、その DNA, RNA, タンパク合成を抑制する。ガン細胞で高い酵素活性を示すオルニチンデカルボキシラーゼや、チロシンキナーゼの活性を阻害する。 (4) これらの化合物は、カフェイン酸ジメチルフェネチル、カフェイン酸フェネチル

エステル、カフェイン酸メチルエステルの順に活性が弱くなることがわかった (Reddy et al. 1992)。

ent-17-hydroxy-3,13Z-clerodadien-15-oic acid は人間の肝ガン細胞、子宮頸ガン細胞、肺ガン細胞、バーキットリンパ腫細胞などに強い細胞毒性をしめす。この化合物は、細胞が増殖し、遺伝子を複製するときに働く、DNA ポリメラーゼ α の特異的な阻害剤であることがわかった。また、この化合物をマウスの皮膚に塗っておくと、強力な発ガン剤 DMBA を塗布することによって生じる、皮膚ガンの誘発が抑えられることもわかった (松野, 1995)。

木本らはアルテピリン C の抗ガン作用について報告している。アルテピリン C は通常用いられる抗ガン剤に比べると抗ガン作用は弱い動物に対する副作用はほとんど見られない。また、培養細胞を使った in vitro の実験ではヒトの各種ガン細胞や白血病細胞を 50~100 $\mu\text{g/mL}$ で 24 時間処理するとほとんどの細胞が死滅する。これは、DNA 合成を阻害してアポトーシスを誘発し、ガン細胞を消失させるからである。増殖の顕著なガン細胞ほど早く死にいたる。悪性黒色腫 (特にマウス B-16 細胞)、ヒト未分化癌、白血病ラットやラット 4 NQO 発ガンの肝ガン (HTSA) などがあげられる。また興味深いことに、動物実験では殺ガン作用だけでなく免疫賦活作用も見られる。これが、免疫細胞などの正常細胞をも犠牲にする化学療法と大きく異なる点である (Kimoto et al. 1998; 木本, 1999)。

6. 最近のプロポリスに関する研究

プロポリスの生理活性としては抗菌活性、抗腫瘍活性が有名だが、それ以外にも、抗カビ作用、抗ウイルス作用、抗炎症作用、抗潰瘍作用、局所麻酔作用、肝臓保護作用、免疫刺激活性などが報告されている。このような生理活性のほか、最近長良川リサーチセンターの研究でプロポリスの 25% エタノール抽出物に血圧効果作用があることがわかり、活性物質として 3,5-Dicaffeoylquinic acid, 3,4-Dicaffeoylquinic acid, 3,4,5-tricaffeoylquinic acid を単離した

(Mishima et al. 2005). Yoo らはラットを用いた実験で、内分泌攪乱物質のひとつであるベンゾピランの薬物動態に関して研究した。その結果 500 mg/kg の経口投与で、ベンゾピランの排出が促進されることを見出した(Yoo et al. 2005)。Peterson らはプロポリスの抽出液に抗 HIV 活性があることを報告している。さらにプロポリスはエイズウイルスの増殖を抑える抗ウイルス薬であるジドブジンの薬効を高める効果もあると報告している(Peterson et al. 2005)。

我々の研究室はプロポリスのエタノール抽出物に、破骨細胞初期分化阻害活性を見出した。プロポリスのエタノール抽出物について破骨細胞初期分化阻害活性を指標として各種クロマトグラフィーを用いて精製した結果、破骨細胞初期分化阻害物質として 4 種類のフラボノイドを単離・構造決定に成功している(未発表)。

7. おわりに

プロポリスの生理活性について抗菌活性、抗腫瘍活性を中心に紹介した。これらの薬理活性については、その鍵となる化合物が単離され、分子レベルで解明されつつある。抗菌活性については、プロポリスの抗菌作用はそれほど強くないが、注目すべき点はプロポリス成分の効き方が抗生物質のそれとは異なる点である。確かに抗生物質は大きな効果があるが、むやみに使うと耐性菌ができて、効果がなくなってしまう。プロポリスは人体にとって常におだやかで、有効に作用すると考えられる。抗腫瘍活性に関しては、現在多くの動物実験がおこなわれており、今後の研究に期待したい。またプロポリスに含まれる成分は極めて多岐にわたるため、新しい薬理活性が期待できる。実際、近年の研究ではこれまで報告されていない新しい薬理活性が次々と報告されている。同時に化合物の解明も進み、薬理活性が分子レベルで解明されつつある。我々の研究室の結果は、プロポリスが骨粗鬆症予防、症状改善のための機能性食品となる可能性を示している。

ブラジル産プロポリスから、顕著な生物活性を示す新規化合物が数多く発見されているのも大変興味深

い。プロポリスの成分はその地域の植物源に由来すると考えられおり、活性成分の真の生産者を特定することが今後の重要な課題だと考えられる。

近年プロポリスに関する研究がますます盛んにおこなわれており、新しい薬理活性、新規生理活性物質が次々と報告されている。プロポリスにはまだ多くの新規化合物が含まれている可能性がある。薬理活性を分子レベルで解明することで、いままで‘言い伝え’とされてきたプロポリスの薬理活性が明らかとなる。今後のプロポリスの研究に期待したい。

引用文献

- Aga, H., Shibuya, T., Sugimoto, T., Kurimoto, M., Nakajima, S. 1994, *Biosci. Biotech. Biochem.* 1994, 58, 945-946.
- Banskota, A. H., Tezuka, Y., Prasain, J. K., Matsushige, K., Saiki, I., Kadota, Sh. *J. Nat. Prod.* 1998, 61, 896-900.
- Bankova, V., Marcucci, M. C., Simova, S., Nikolova, N., Kujumgiev, A., Popov, S. 1996, *Z. Naturforsch.*, 51c, 277-280.
- Bankova, V., Nikolova, N., Marcucci, M. C. 1996, *Z. Naturforsch.*, 51b, 735-737.
- Bankova, V., Castro, S. L., Marcucci, M. C. 2000, *Apidologie*, 31, 3-15.
- Beis, A., Lazou, A., Kontogianni, E. 1992, *Cell. Mol. Biol.*, 38, 513-523.
- Bhimani, R. S., Troll, W., Grunberger, D., Frenkel, K. 1993, *Cancer Research*, 53, 4528-4533.
- Boudourova-Krasteva, G., Bankova, V., Sforcin, J. M., Nikolova, N., Popov, S. 1997, *Z. Naturforsch.*, 51c, 676-679.
- Cao, D., Yoon, C. H., Shin, B. S., Kim, C. H., Park, E. S., Yoo, S. D. 2005, *J. Toxicol. Environ. Health A*, 68(23-24), 2227-2238.
- Christov, R., Bankova, V., Tsvetkova, I., Kujumgiev, A., Delgado Tejera, A. 1999, *Fitoterapia*, 70, 89-92.
- Frenkel, K., Wei, H., Bhimani, R., Ye, J., Zadunaisky,

- J. A., Huang, M. T., Ferraro, T., Conney, A. H., Grunberger, D. 1993, *Cancer Research*, 53, 1255-1261.
- Gekker, G., Hu, S., Spivak, M., Lokensgard, J. R., Peterson, P. K. 2005, *J. Ethnopharmacol.* 102(2), 158-163.
- Grange, J. M., Davey, R. W. 1990, *J. R. Soc. Med.* 83, 159-160.
- Greenaway, W., May, J., Scaysbrook, T., Whatley, F. R. 1991, *Z. Naturforsch.*, 46c, 111-121.
- Grunberger, D., Banerjee, R., Eisinger, K., Oltz, E. M., Efros, L., Caldwell, M., Estevez, V., Nakanishi, K. 1988, *Experientia*, 44, 230-232.
- Kimoto, T., Arai, S., Kohguchi, M., Aga, M., Nomura, Y., Micallef, M. J., Kurimoto, M., Mito, K. 1998, *Cancer Detect. Prev.* 22(6), 506-515.
- Matsuno, T. 1995, *Z. Naturforsch.*, 50c, 93-97.
- Matsuno, T., Jung, S. H., Matsumoto, Y., Saito, M., Morilawa, J. 1997, *Anticancer Rev.*, 17, 3565-3568.
- Matsuno, T., Matsumoto, Y., Saito, M., Morikawa, J. *Z. Naturforsch.*, 1997, 52c, 702-704.
- Metzner, J., Bekemeier, H., Paintz, M., Schneidewin, E., 1979, *Pharmazie*, 97-102.
- Mishima, S., Yoshida, C., Akino, S., Sakamoto, T. 2005, *Biol. Pharm. Bull.* 28(10), 1909-1914.
- Rao, C. V., Desai, D., Kaul, B., Amin, S., Reddy, B. S. 1992, *Chem. Biol. Interact.*, 84(3), 277-290.
- Scheller, S., Krol, W., Swiacik, J., Owczarek, S., Gabrys, J., Shani, J. 1989, *Z. Naturforsch.*, 44c, 1063-1065.
- Su, Z. Z., Grunberger, D., Fisher, P. B. 1991, *Mol. Carcinog.*, 4, 231-242.
- Tatefuji, T., Izumi, N., Ohta, T., Arai, Sh., Ikeda, M., Kurimoto, M. 1996, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 19, 966-970.
- 木本哲夫, 栗本雅司 1999. *ミツバチ科学* 20(2), 67-74.
- 松野哲也 1995. *いまなぜプロポリスか*. 壮光舎印刷株式会社, 東京.

Title : Bioactive compounds isolated from propolis.

Author(s) : Toshiaki Teruya

Address(es) Chubu University Institute for Biological Function

Keywords :Propoplis, Bioactive Compound, Antitumor Activity, Antimicrobial Activity