

最終試験結果の要旨

学位申請者 氏名	久永 絢美
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 大塚 彰
	副査 琉球大学 教授 屋 宏典
	副査 鹿児島大学 教授 橋本文雄
	副査 琉球大学 教授 和田浩二
審査協力者	印
実施年月日	平成 28 年 8 月 3 日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。) <input checked="" type="radio"/> 口答 <input type="radio"/> 筆答	
<p>主査及び副査は、平成 28 年 8 月 3 日の公開審査会において学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について試問を行った。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることができた。</p> <p>以上の結果から、審査委員会は申請者が博士（農学）の学位を受けるに必要な十分の学力ならびに識見を有すると認めた。</p>	

学位申請者 氏名	久永 絢美
[質問 1]	プレニル化ケルセチンとケルセチンの効果を比較するための動物への投与量を統一されていないのはなぜですか？
[回答 1]	プレニル化ケルセチンを 2 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ で投与した際に副作用がみられ、マウスが正常な状態を保てませんでした。また、ケルセチンを 1 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ の投与に下げた場合、顕著な効果がみられませんでした。一方、細胞実験で、プレニル化ケルセチンはケルセチンの半分の濃度で、ケルセチンと同等の効果を示していたことから、動物実験においてもこの濃度設定での検討を行いました。
[質問 2]	ケルセチンでは、2 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ では副作用はあらわれないのですか？
[回答 2]	マウスによって個体差はありますが、通常の飼育状態に影響があらわれるような副作用はみられませんでした。
[質問 3]	動物実験の濃度表記が“M”となっているのは“mol”の間違いではありませんか？また、2種類の実験において濃度表記が“mg/kg”になっているので、これは統一した方がわかりやすいのではないですか？
[回答 3]	“mol”の間違いのため、修正致します。濃度表記についても、“mol”に統一致します。
[質問 4]	足浮腫モデルでの LPS 投与は、1 回目は足のみ、2 回目は腹腔内と足の両方に投与していますが、足のみでの投与ではサイトカインを見ることはできないのですか？
[回答 4]	LPS 投与を、1 回目の足のみで投与した場合には、LPS 誘導性炎症反応が顕著にあらわれず、足浮腫と血中のサイトカインレベルには有意な変化はみられませんでした。そのため、より顕著な応答を確認したいため、2 回目は腹腔内と足の両方に投与しました。
[質問 5]	プレニル化ケルセチンのプレニル基が特に 8 位についているものを選んだ理由がありますか？また、この 8-プレニルケルセチンが天然に存在する場合には、アグリコンと配糖体のどちらの形で存在しているのですか？
[回答 5]	本研究では、普段口にする食品等に含まれているフラボノイドに焦点をあてておりますが、8-プレニルケルセチンは、食用ハーブの一種から同定されており、天然に存在している化合物であるため用いることとしました。また、微量ではありますが、アグリコンの形で同定されているという報告があります。
[質問 6]	疎水性のプレニル基がつくだけで機能性の向上に関与していると理解しても良いのですか？逆に、疎水性基があることによって、結合する際の邪魔になる事はないのですか？
[回答 6]	プレニル基がつくことにより脂溶性が高まり、細胞内へ取り込みやすくなり、細胞内での保持時間が長くなることで機能性が向上した、という報告があります。本研究において、細胞膜上の受容体に対する相互作用は、両者の間に差は

ありませんが、細胞シグナリングの抑制効果やプロテインキナーゼに対する直接的結合能はプレニル化ケルセチンが顕著に強いことが示されております。このことから、ケルセチンにプレニル基が付加されることによって細胞内取り込みが向上し、プロテインキナーゼへの直接的相互作用をすることで機能が向上したと考えられます。

[質問 7] モデリングは、全体のスクリーニングをしたのですか？それとも ATP 結合部位だけを狙って行ったのですか？

[回答 7] プロテインキナーゼのすべての結合部位に対して、結合に係るエネルギーを算出して、モデリングを行いました。

[質問 8] 食品は実際、単一の成分ではなく、複数の分子を混ぜて摂取していることから、プレニル化ケルセチンとケルセチンのような結合部位等が異なる 2 種類の化合物を混ぜて一緒に作用させたら、効果が倍増したという経験や、他の論文での報告があれば教えてください。

[回答 8] 本研究では共処理をしたことはありませんが、そのような可能性はあります。抗炎症作用を示す化合物でも、異なるシグナルを介する化合物を混ぜ合わせることで、相乗効果が認められた報告はあります。

[質問 9] NF- κ B のシグナリングは特に調べていないのですか？

[回答 9] NF- κ B のシグナリングに対する抑制作用の検討は行っており、MAPK シグナリングと同様に顕著な抑制作用は認められております。今後、別の論文でまとめたいと思います。

[質問 10] TLR4 に結合するということは、活性部位に競合しなくても、TLR4 そのものの機能に影響を及ぼして、それがシグナル伝達系に影響している可能性はないのですか？

[回答 10] 可能性はあります。その理由として、LPS が TLR4 に作用して下流に信号を送る仕組みとして、TLR4 に LPS が結合後、TLR4/MD2 複合体のダイマー形成する必要があります。本研究で用いたサンプルは、LPS との競合結合が認められませんでした。ダイマー形成への阻害作用は明らかにしていなかったため、可能性は否めません。