

最終試験結果の要旨	
学位申請者 氏名	PHOEBE ZAPANTA TRIO (フィービー ザパンタ トリオ)
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 橋本文雄
	副査 佐賀大学 教授 永尾晃治
	副査 琉球大学 教授 屋 宏典
	副査 鹿児島大学 助教 坂尾こず枝
審査協力者	印
実施年月日	平成 29 年 1 月 7 日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。) <span style="float: right;">(口答)・筆答</span>	
<p>主査及び副査は、平成 29 年 1 月 7 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

PHOEBE ZAPANTA TRIO (フィービー ザパンタ トリオ)

[質問 1] イソチオシアネート (ITC) のメチレン基の数と硫黄の酸化状態は、抗酸化遺伝子の発現誘導を向上させると書いてあるが、それは、ITC のメチレン基の数が多いほど、あるいは硫黄に酸素の付加は発現誘導能が増強することを意味するか。

[回答 1] はい、本研究で解析した 3 種類の ITC の構造と活性の結果からそのような関係が認められた。これからは、他のイソチオシアネートの構造と活性の関係を調べ、一層な解析も必要である。

[質問 2] 3 種類 ITC による遺伝子発現の変動倍率は、2、3、4 倍で 3 つのグループに分類されたが、最終的にその影響の強さをどのような基準で判断したか？

[回答 2] 本研究は、ゲノム全体のレベルで 3 種類 ITC による遺伝子発現への挙動を明らかにするため、2 倍以上の発現変化を受けた遺伝子の数で影響の強さを判断した。即ち、2 倍以上の発現変化を受けた遺伝子の数が多いほど、その影響が強い。肝臓細胞 HepG2 では 6-MTITC が一番強かった。

[質問 3] 本研究は Nrf2 経路の活性化に絞って ITC の機能を解析しているが、ITC による下方制御経路も存在するか。

[回答 3] はい、ITC による下方制御経路も複数存在する。例えば、神経細胞 IMR-32 において 6-MSITC が Wnt /  $\beta$  カテニンと PTEN 経路を下方制御していた。

[質問 4] ビタミン D 受容体の阻害作用に興味がある、さらなる情報があるか。

[回答 4] 今回の DNA マクロアレイで 6-MSITC と 6-MTITC 等のイソチオシアネート化合物は、肝臓細胞 HepG2 においてビタミン D 受容体遺伝子の発現に阻害作用があり、神経細胞 IMR-32 にはそのような効果がなかったことをはじめに明らかにした。本研究はイソチオシアネート化合物の抗酸化作用と機構を中心として解析したが、今後、ビタミン D 受容体遺伝子の発現阻害機構をさらに解析していきたいと思う。

[質問 5] これらのイソチオシアネート化合物は生体内で血液脳関門を通過することができるか？ これは脳に機能するのが非常に重要であるが、データはあるか。

[回答 5] 先行のラット及びマウスの代謝実験により、イソチオシアネート化合物が胃

腸管より速やかに吸収され、肝臓、腎臓、脾、物臓、脳、膀胱等に広く分布することが明らかになったので、これらのイソチオシアネート化合物が血液脳関門を通過することができると考えられる。

[質問 6] データには CNS について言及したが、説明はなかった。本研究との関連は。

[回答 6] CNS は中枢神経系の略である。CNS の機能に関わる遺伝子は、分化された神経機能にも関連し、様々なバイオマーカーを利用して調べることができる。本研究は、神経細胞のマウスモデル IMR-32 細胞を用いてこれらのイソチオシアネート化合物の効果と作用機構について DNA マクロアレイで解析した。

[質問 7] Nrf2 経路の細胞保護作用の主な要因は。

[回答 7] 正常な状態では、Nrf2 は抗酸化や解毒酵素に関連する遺伝子群の発現を誘導し、酸化ストレスにより誘導される活性酸素等を消去し、細胞損傷を防ぐことで癌の発生を防止することが主要な原因である。

[質問 8] Nrf2 経路による細胞保護の場合、細胞をまず損傷あるいは創傷の状態にすることが必要か。

[回答 8] いいえ、必ずしもそうでは限らない。なぜなら、細胞損傷は外部因子または内部因子で引き起こされることがある。Nrf2 経路は、外的因子なしにも細胞内代謝で生じる活性酸素等を感知し、活性化されることによって細胞損傷を未然に防ぐことができる。また、外部因子によって細胞損傷を与えた場合に、Nrf2 経路も活性化され、細胞保護に関する遺伝子群の発現を誘導し、細胞を損傷から回復させる。このように Nrf2 経路は、細胞内外のストレスとも感知し、必要に応じて活性化し、細胞の酸化還元バランスを維持することで、細胞損傷を未然に防いだり、損傷した細胞を回復したりすることができる。

[質問 9] 細胞への処置時間を変更すると、遺伝子の発現とその制御経路も変わるだろうか。

[回答 9] はい、細胞への処置時間を変更すれば、遺伝子の発現とその制御経路に影響を及ぼすと思われる。例えば、神経細胞 IMR-32 への処置時間を長くすると、細胞損傷や細胞死のシグナル伝達経路が活性化される。したがって、本研究は、これらのイソチオシアネート化合物が細胞生存に影響しない処理時間と濃度を予備実験で明らかにしてから、DNA マクロアレイの解析に用いた。