

学 位 論 文 要 旨	
氏 名	鶴留 奈津子
題 目	血管異常収縮の発症機構と桑葉由来成分による予防機序に関する研究 (Analysis of the triggering mechanism of vascular abnormal contraction and its preventive mechanism by mulberry leaves)
<p>世界の死因の多くを占めている心疾患や脳血管疾患の原因は血管異常収縮や動脈硬化、出血や炎症の3つに大きく分類される。中でも血管異常収縮は、老若男女問わず誰もが有る日発症するリスクを抱えているにもかかわらず、治療法も予防法もなく、長年、多くの人を苦しめてきた。その原因分子はスフィンゴシルホスホリルコリン (SPC) であることが解明されているが、作用機序が未解明なため、治療法や予防法の確立を困難にしてきた。一方、野菜や果物などには様々な生理機能を持つ成分が含有されていることが報告されており、食品を介した疾患予防が注目を集めている。そこで本研究では様々な生理機能が報告されているものの血管異常収縮に対する作用については未解明であった桑に着目し、血管異常収縮に対する予防法を確立するため、活性成分の同定や作用機序の解明を試みた。</p> <p>桑は、葉を樹齢や加工方法により分類し、各抽出物と共培養した血管平滑筋細胞における異常収縮予防効果を細胞イメージングにより評価したところ、樹齢20年以上の桑葉が有効であることを見出した。そのため、各種クロマトグラフィーにより分画・精製した活性画分を質量分析計や核磁気共鳴法などにより分析したところ、活性成分が Fisetin であることを見出した。Fisetin はこれまで報告のあったイチゴやリンゴより桑葉に多く含まれ、また類似化合物を用いた構造活性相関により C 環 3 位の水酸基が活性部位であることを特定した。</p> <p>次に、異常収縮の原因分子 SPC による発症機序と Fisetin による予防機序の解明に取り組んだ。これら作用機構の解明に当たっては、細胞近辺での反応上流系にあたる細胞膜周辺での作用機構に注目した。その結果、分子間相互作用解析により Fisetin は血管平滑筋細胞に直接作用して異常収縮を予防し、SPC の作用を阻害しないことを明らかにした。そこで SPC の作用機序を解明するため、SPC の蛍光付加体 NBD-SPC を活用し細胞近辺での NBD-SPC の局在解析を行ったところ、NBD-SPC がエンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれることを明らかにした。さらにエンドサイトーシスされた NBD-SPC は排出されないものの、異常収縮を起こした細胞では特異的にエキソサイトーシスが起きていることを明らかにした。これらは、Fisetin 処理によらず発生することから、SPC の細胞内取り込みは Fisetin の作用機構に関与していない可能性が考えられた。</p>	