

学位論文審査結果の要旨

| | |
|--|--|
| 学位申請者 氏名 | 鶴留 奈津子 |
| 審査委員 | 主査 鹿児島 大学 准教授 加治屋 勝子 |
| | 副査 鹿児島 大学 教授 北原 兼文 |
| | 副査 鹿児島 大学 准教授 塩崎 一弘 |
| | 副査 琉球 大学 教授 和田 浩二 |
| | 副査 鹿児島 大学 准教授 南 雄二 |
| 審査協力者 | |
| 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>循環器疾患の原因は、血管異常収縮、動脈硬化、出血や炎症の3つに大別される。特に血管異常収縮は突然死の主原因とされ、誰もが発症するリスクを抱えているにもかかわらず、治療法も予防法も確立されていない。血管異常収縮の原因分子としては、スフィンゴ脂質の代謝異常により産生されるスフィンゴシルホスホリルコリン (SPC) が既に発見されているが、作用機序の全容が解明されておらず、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体調節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。これらを踏まえ、血管異常収縮に対する予防法を確立するため、本研究では桑の血管異常収縮予防作用とその活性成分の同定、さらには血管異常収縮の発症機構の解明を目的とした。</p> <p>桑はアジアやヨーロッパを中心に主に桑茶として飲食されており、その生体調節機能については多数の報告があるにもかかわらず、本研究で見出した樹齢20年以上の桑葉が血管の異常収縮に対する予防効果を示すことについては新たな発見となった。また、樹齢20年以上の桑葉に含まれる血管異常収縮の予防成分がフラボノイド類のFisetinであることを同定し、その活性部位がフラボノイド骨格C環3位の水酸基であることも明らかにした。これは、桑にFisetinが含まれて</p> | |

いることを示す最初の報告となっただけではなく、これまでFisetinの供給源とされてきたイチゴやリンゴに比べて桑葉の方が多く含んでいることから、血管異常収縮を予防する食品として桑葉の有効活用が期待される。さらに、Fisetinをはじめとしたフラボノイド類は、通常、天然物に配糖体で含有されているが、樹齢20年以上の桑葉には配糖体ではなくアグリコンとして含有されていることを明らかにした。本研究で明らかにした至適濃度(1 μ M以上)での異常収縮予防効果は、マウスやラットでの最大血中濃度の報告から予想すると、生体内での活用可能なものと考えられた。また、Fisetinが血管に作用する際には、血管の最も内側に位置している内皮細胞層を透過して平滑筋細胞層に到達する必要がある。そこで、Fisetinの血管内皮細胞層透過性について調べたところ、1時間で全体の53.3%、84時間までに85.2%が内皮細胞を透過し、Fisetinが血管平滑筋細胞に直接作用可能なことを明らかにした。しかしながら、わずかな濃度で発生する異常収縮に対して、Fisetinは約半量の内皮細胞層を透過するのに1時間近く要しており、Fisetinにより異常収縮を予防するには、最大血中濃度や共培養時間を考慮しても、異常収縮が起こってから摂取するのではなく、日常的に摂取しておく必要があると考えられた。

続いて、血管異常収縮を予防するFisetinの作用機序を解明するため、FisetinとSPC及び血管平滑筋細胞の相互作用を確認し作用点を探索した。まず、FisetinとSPCの分子間相互作用を解析したところ、FisetinはSPCと相互作用することなく血管平滑筋細胞に直接作用している可能性が示唆された。また、これまで血管異常収縮の反応の場とされてきた細胞膜上マイクロドメインは、異常収縮の発症機構やFisetinによる異常収縮予防機序に直接関与することなく、SPCがエンドサイトーシスによって細胞に取り込まれることから異常収縮が始まることを明らかにした。さらに、血管平滑筋細胞に取り込まれたSPCはそのまま排出されず細胞内に留まる一方で、血管異常収縮を起した細胞自体が不要なタンパク質などを排出するためにエキソサイトーシスを起こしていることを明らかにした。またこれらはFisetin処理細胞でも発生したことから、エンドサイトーシスによるSPCの細胞内移行やエキソサイトーシスの産生はFisetinによる予防機序ではなく、血管平滑筋細胞に作用した異物の排除機構として機能している可能性が考えられた。

以上のように、本研究では、血管異常収縮の予防成分として桑葉由来のFisetinを同定すると共にその活性部位を明らかにしたこと、さらには、SPCがエンドサイトーシスによって血管平滑筋細胞に取り込まれることがトリガーとなり血管異常収縮を引き起こすことを明らかにした。これらの新たな知見は学術的な貢献度が高く、本研究が博士(農学)の学位を与えるのに十分な価値を有するものと判断した。