

氏名(本籍)	アブデルファッテー エル オムリ (チュニア)			
学位の種類	博士(農学)			
学位記番号	博甲第 5735 号			
学位授与年月日	平成 23 年 3 月 25 日			
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当			
審査研究科	生命環境科学研究科			
学位論文題目	<b>Neuronal Differentiation Induction by <i>Rosmarinus officinalis</i> polyphenols and Their Molecular Mechanisms</b> ( <i>Rosmarinus officinalis</i> 由来ポリフェノールによる神経分化誘導メカニズムに関する研究)			
主査	筑波大学教授	博士(農学)	磯田博子	
副査	筑波大学教授	農学博士	奥野員敏	
副査	筑波大学教授	工学博士	中嶋光敏	
副査	筑波大学准教授(連携大学院)	博士(農学)	渡辺純	

### 論文の内容の要旨

神経細胞の分化は、神経系の発生において重要な役割を果たし、神経分化が可能な PC12 細胞などを用いて分子ニューロサイエンスのメカニズムを解析することができる。特に、神経細胞分化を誘導する神経成長因子 (NGF) などは神経系疾患を予防する効果を有する。しかし、NGF は血液脳関門 (Blood-Brain barrier ; BBB) を通過しないため、神経系疾患治療への利用は制限される。疫学的研究から、抗酸化物質が豊富に含まれる植物は神経疾患に対して改善効果を示す可能性が高いことが報告されている。このようなことから、抗酸化物質が豊富に含まれる植物である *Rosmarinus officinalis* も神経機能保護・改善効果を有する可能性が高い。長い間、地中海地域において *R. officinalis* は料理の香辛料への利用だけではなく抗菌や抗酸化性をもつ食品保存剤として広く利用されて来た。さらに、*R. officinalis* は記憶・学習能力改善効果を誘導する物質として伝承的に使用されている。

本研究では *R. officinalis* 抽出物の PC12 細胞の分化に及ぼす影響を調べた。その結果、*R. officinalis* 抽出物が PC12 細胞の分化や神経分化のマーカーであるアセチルコリンエステラーゼ (AChE) の活性化を誘導することを見出した。さらに、HPLC 分析法を用いて *R. officinalis* 抽出物に含まれる、フェルラ酸、p-クマル酸、コーヒー酸、ロズマリン酸、アピジェニン、ケルセチン、ルテオリン、カルノジン酸、カルノソールの測定を行い、ロズマリン酸、カルノジン酸、ルテオリンが PC12 細胞の分化及び神経コリン活性を誘導することを明らかにした。これら成分の PC12 細胞の分化誘導メカニズムを明らかにするため、ウェスタンブロッティングを行った。その結果、ロズマリン酸、カルノジン酸は MAPK : ERK1/1 カスケードを介し、ルテオリンでは MAPK : ERK1/1 カスケードおよび PI3k/Akt シグナル経路を介して PC12 細胞の分化を誘導することを見出した。詳細な作用メカニズムを解明するため、プロテオミクス手法やリアルタイム-PCR 手法を用いた。その結果、ロズマリン酸、カルノジン酸、ルテオリンのそれぞれの処理により、1) ドーパミンと GABA の合成に関わるタンパク質である Tyrosine hydroxylase と Pyruvate carboxylase の発現増加を誘導した。2) シャペロン分子として働く小胞体ストレス応答系関連タンパク質である Heat shock protein、Valosin containing

protein、Hypoxia upregulated-1、Nucleoside diphosphate kinase の発現を抑制した。3) 神経分化と関係ある Vinculin、Eukaryotic elongation factor 2 のような転写因子により、分化が制御されることを明らかにした。

本研究から、*R. officinalis* 抽出物およびその成分が神経細胞の分化を MAPK : ERK1/1 或いは PI3k/Akt シグナル経路を介することにより誘導することを明らかにした。この神経分化誘導作用には、ドーパミンと GABA の合成に関わるタンパク質、小胞体ストレス応答系関連タンパク質、転写因子等が関わることを明らかにした。本研究成果より、*R. officinalis* の伝統的な利用に関する科学的エビデンスを解明したことから、*R. officinalis* 成分の神経疾患用医薬品としての可能性が示唆された。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本申請論文は、*R. officinalis* 抽出物およびその成分の神経分化誘導作用およびその詳細なメカニズムの解析を行ったものであり、*R. officinalis* の成分である、ロズマリン酸、カルノジン酸、ルテオリンのそれぞれの作用について、ドーパミンと GABA の合成に関わるタンパク質の発現増加の誘導、シャペロン分子として働く小胞体ストレス応答系関連タンパク質の発現抑制、神経分化と関係ある転写因子による分化が制御されることを明らかにした。

本研究は、*R. officinalis* 由来の化合物について臨床薬剤としての可能性を発展させるのみだけでなく、副作用の少ない天然物由来新薬の開発に繋がる研究として期待されることから、神経疾患改善用医薬品等のマテリアル開発にも多大な貢献を与えるものと評価できる。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。