

氏名(本籍)	さ さ き か ず の り 佐々木 一 憲 (神奈川県)			
学位の種類	博 士 (農 学)			
学位記番号	博 甲 第 6505 号			
学位授与年月日	平成 25 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>Study on the Neuroprotective Effect of Caffeic Acid Derivatives and Their Mechanisms</b> (食資源由来カフェ酸誘導体による神経保護作用メカニズムの解明)			
主査	筑波大学教授	博士(農学)	磯 田 博 子	
副査	筑波大学教授	Ph.D.(家畜生理学)	田 島 淳 史	
副査	筑波大学教授	理学博士	繁 森 英 幸	
副査	筑波大学准教授	博士(農学)	韓 峻 奎	

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

神経変性疾患は様々な原因により脳内の様々な部位で神経細胞が徐々に死滅してしまうために生じる疾患の総称である。代表的な神経変性疾患としてアルツハイマー病 (AD)、パーキンソン病 (PD) が挙げられ、これら疾患ごとに障害を受けやすい神経細胞の種類が決まっており、AD では記憶を担当する神経細胞、PD ではドーパミン神経細胞の障害が原因で起こることが知られている。様々な神経変性疾患の中でも AD 及び PD は有病率が高い。また、興味深いことに AD 及び PD は原因毒素及び症状は異なるが、発症メカニズムには共通性があり、どちらの疾患も酸化ストレスが原因となり発症する。これらのことから、本研究では AD 及び PD に有用であると考えられる抗酸化性に着目し、様々な食資源の中からこれら神経変性疾患に有用な活性成分の探索及びその作用メカニズムの解明を目的とした。

種子島産ムラサキ芋搾汁液 (アントシアニンを含む PSPEa 及びアントシアニンを含まない PSPEb) のアルツハイマー病の症状である学習記憶障害への影響及びその作用メカニズムを解明するために、老化促進モデルマウス (SAMP8) を用いて検討した。その結果、PSPEa 及び PSPEb の経口投与を行った SAMP8 マウスにおいて空間学習記憶改善効果が認められ、アルツハイマー病特有の神経伝達物質の減少を改善する効果も PSPEb 経口投与 SAMP8 マウス脳及びヒト神経 SH-SY5Y 細胞において認められた。また、空間学習記憶改善効果のメカニズム解析としてプロテオミクス解析を行ったところ、抗酸化性関連、エネルギー代謝関連、及び神経可塑性関連タンパク質の発現増加が PSPEa 経口投与 SAMP8 マウス脳において認められた。個体レベルにおけるムラサキ芋の空間学習記憶改善効果の主要メカニズムとして考えられる神経細胞保護作用効果及びそのメカニズムを解明するために、ヒト神経 SH-SY5Y 細胞に A $\beta$  を処理する系を用いて検討した。結果として、PSPEa 及び PSPEb が A $\beta$  誘導細胞死を有意に抑制することが認められ、そのメカニズムとして PSPEa 及び PSPEb 処理により A $\beta$  が誘導する活性酸素種 (ROS) 産生の抑制効果が認められた。また、個体レベルにおいても確認されたエネルギー代謝に関わる影響評価を行ったところ、細胞内 ATP 産生促進効果、さらに PSPEa およびカフェ酸誘導体である 3,5-di-カフェオイルキナ酸、3,4,5-tri-カフェオイルキナ酸において解糖系及び TCA 回路関連代謝物の増加がメタボロミクス解析により明らかになった。個体レベル及び細

胞レベルの研究において PSPEb 及びカフェオイルキナ酸が神経細胞保護作用及び空間学習記憶改善作用を示したこと、先行研究からカフェオイルキナ酸類が同様の効果を示したことから、カフェオイルキナ酸がムラサキ芋の活性成分であることが示唆された。

ローズマリーエタノール抽出液 (EERO) における PD の代表的な症状であるうつ病への影響評価及びその作用メカニズムを解明するために、尾部懸垂試験法 (TST) を用いて検討した。結果、EERO 経口投与群において抗うつ効果が認められ、うつ病特有の神経伝達物質の異常も改善される効果も認められた (神経伝達物質の増加及びドーパミン産生酵素である Tyrosine hydroxylase の遺伝子発現の増加)。また抗うつ効果メカニズムとして、エネルギー代謝関連酵素 (TCA 回路活性化酵素) である Pyruvate carboxylase (PC) の遺伝子レベルにおける発現及びうつ原因遺伝子であり、酸化ストレスにより発現が誘導される Mitogen-activated protein kinase (MKP-1) の遺伝子レベルにおける発現減少が認められ、抗酸化作用が示唆された。個体レベルにおける抗うつ効果の作用メカニズムを解明するために、細胞レベルにおけるうつモデルの実験系 (PC12 細胞にコルチコステロンを処理した) を用いて、EERO 及びその活性ポリフェノール (カルノシン酸、ルテオリン、ロズマリン酸) の神経細胞保護作用効果を検討した。結果として、EERO 及びその活性ポリフェノールが神経細胞保護作用効果を示すことが認められた。またそのメカニズムとして先行研究で EERO 活性ポリフェノールが TH 及び PC をタンパク、遺伝子レベルで発現増加させることも明らかとなっている。興味深いことに、タンパクレベル及び遺伝子レベルの両方において PC の発現増加が認められたのはロズマリン酸のみであったこと、ロズマリン酸がローズマリー中に最も豊富に含まれていることから、ロズマリン酸が EERO の示す抗うつ効果の活性成分であることが示唆された。また実際にロズマリン酸経口投与マウスにおいて EERO と同様の抗うつ効果及びその作用メカニズムが認められている。

## 審査の結果の要旨

本研究において、ムラサキ芋及びローズマリーが神経変性疾患改善効果 {AD 及び PD (うつ病)} を示すことが個体レベルにより明らかとなり、それらの効果はカフェ酸誘導体であるカフェオイルキナ酸及びロズマリン酸に由来するものであることが解明された。異なる食資源由来のカフェ酸誘導体であっても神経保護作用効果を示し、共通メカニズムとして抗酸化作用から導かれる神経細胞のエネルギー代謝促進作用や、神経可塑性の誘導を示すことを新規に見出したことは高く評価される。また本研究は、神経変性疾患改善効果を有する機能性食品という新たなコンセプト素材のエビデンス研究として、社会に大きく貢献するものと期待される。

平成 25 年 1 月 21 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

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。