

氏名(本籍)	フウデ ズレリ (チュニジア)			
学位の種類	博士 (生物資源工学)			
学位記番号	博 甲 第 5920 号			
学位授与年月日	平成 23 年 9 月 30 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	Study on Atheroprotective Effects of Hydroxytyrosol: Relevance of the Antioxidant/Detoxifying Defense System (ヒドロキシチロソールの抗動脈硬化作用に関する研究：血管系における酸化／解毒防御システムとの関連)			
主査	筑波大学教授	農学博士	宮 崎 均	
副査	筑波大学教授	理学博士	藤 村 達 人	
副査	筑波大学准教授	理学博士	坂 本 和 一	
副査	筑波大学准教授	博士 (農学)	吉 田 滋 樹	

論 文 の 内 容 の 要 旨

地中海沿岸の乾燥・半乾燥地域は長年に渡り独特の食文化を持ち、その食文化が種々の疾病の予防に役立ってきたと考えられている。オリーブオイルや赤ワインはその代表例である。しかし、これらの成分を含め、多くの機能性化合物の生体への効果に関する分子レベルの解析は十分に進んでいないのが現状である。著者が所属する研究室では、既にオリーブの葉の主成分の一つヒドロキシチロソールが、血管平滑筋細胞の増殖と遊走を抑えることで、動脈硬化の発症・進展を負に制御できることを示唆している。本研究では、平滑筋細胞と共に動脈を構成する主要な細胞である血管内皮細胞に着目し、ヒドロキシチロソールの内皮細胞に対する作用及びその分子機序を明らかにすることを目的とした。

高血圧などによる物理的ストレスや酸化ストレスによる血管内皮細胞の傷害は、動脈硬化の発症・進展に密接に関わることが知られている。従って、内皮細胞の創傷治癒効果を示す化合物、及び内皮細胞に酸化ストレス抵抗性を付与できる化合物は、動脈硬化の発症・進展を抑える潜在性を持っていると考えられる。本研究論文の前半部では、ヒドロキシチロソールが内皮細胞の創傷治癒を誘導すること、及び酸化ストレスによる内皮細胞の細胞死を抑制できることを示すと共に、抗酸化酵素の一つヘムオキシゲナーゼ1遺伝子の発現を誘導することを明らかにした。さらに、ヒドロキシチロソールによるヘムオキシゲナーゼ1発現誘導活性の分子機序とその生理的意義について、ウェスタンブロットティング法、Polymerase chain reaction法、免疫染色法、などの手法を駆使し、詳細な検討を加えた。その結果、まずヒドロキシチロソールは、リン酸化酵素 Extracellular-regulated protein kinase (ERK) と Akt を活性化することにより転写因子 NF-E2-related factor 2 (Nrf2) の核内移行を促進し、核移行した Nrf2 がヘムオキシゲナーゼ1遺伝子のプロモーター領域に結合し転写を誘導することが示された。また、Nrf2 やヘムオキシゲナーゼ1の siRNA によるノックダウンあるいはヘムオキシゲナーゼ1の阻害剤が、ヒドロキシチロソールによる創傷治癒効果と酸化ストレス抵抗性付与効果を抑えることから、Nrf2 によるヘムオキシゲナーゼ1発現上昇が、これらヒドロキシチロソール効果の少なくとも一端を担うことが示された。さらに、ヘムオキシゲナーゼ1阻害剤を用いた実験から、ヒドロ

キシチロソールの酸化ストレス抵抗性付与に関しては、細胞内活性酸素種の上昇を発現増加したヘムオキシゲナーゼ1が抑えた結果であることが分かった。

本研究論文の後半部では、ヘムオキシゲナーゼ1同様、抗酸化酵素として知られるカタラーゼの発現をヒドロキシチロソールが誘導することを明らかにした。この経路に関しては、リン酸化酵素 AMP-activated protein kinase (AMPK) の阻害剤と siRNA、及び転写因子 Forkhead transcription factor 3a (FOXO3a) の siRNA を用いた実験から、ヒドロキシチロソールによる AMPK の活性化が転写因子 FOXO3a の全タンパク量及び核内量の増加をもたらし、その結果カタラーゼの発現が誘導されることが示された。また、カタラーゼの siRNA を用いたノックダウン実験から、ヒドロキシチロソールは、酸化ストレスによる細胞内活性酸素種の上昇をカタラーゼの発現誘導を介して抑えることが判明した。

以上のことは、オリーブ葉成分であるヒドロキシチロソールが、少なくとも2つの異なる経路を通して、血管内皮細胞に対して抗酸化活性を付与すること、即ち血管内皮細胞の保護効果を通して動脈硬化の発症・進展を負に制御できることを示すものである。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究において、オリーブの主成分の一つヒドロキシチロソールの血管内皮細胞に対する効果を詳細に検討し、ヒドロキシチロソールが動脈硬化の発症・進展を抑える可能性を示すと同時に、その分子機序の主要経路が明らかにされた。オリーブオイルや赤ワインを多用する地中海沿岸諸国の食文化が様々な疾病の予防や健康維持に貢献してきたと考えられているが、それらの分子レベルでの作用機序の解析は遅れていた。本研究において、その一部ではあるが、作用の分子機序が明らかにされ、この分野における学問的および応用的な発展に大きく寄与する、価値の高い業績と評価できる。

平成23年7月11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（生物資源工学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。