

氏名(本籍)	ディディック プリヤンドコ (インドネシア)			
学位の種類	博士(環境学)			
学位記番号	博甲第 6157 号			
学位授与年月日	平成 24 年 3 月 23 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>Molecular Functions of Ashwagandha Leaf Extract and Withanone in Protection of Human Cells from Stress Agents</b> (アシュワガンダ葉抽出物とウィザノンによるストレス剤からのヒト細胞保護機構)			
主査	筑波大学教授	理学博士	石井哲郎	
副査	筑波大学教授	理学博士	野本信也	
副査	筑波大学教授	博士(医学)	土屋尚之	
副査	筑波大学講師	博士(農学)	蕨栄治	
副査	筑波大学助教	博士(医学)	新開泰弘	

## 論文の内容の要旨

### (目的)

合成化合物であるフタル酸エステル類は、プラスチック軟化剤あるいは可塑剤として知られ、建材、布地、防臭剤、塗料、農薬、化粧品、電気器具、医薬品など幅広い身近な工業製品に汎用され生活環境中に存在している。しかしながら、現代社会で大量に合成され日用品に利用されているフタル酸エステル類の持つ健康障害性について胎児や子供への影響が最近注目されつつあり、毒性の強い一部化合物の利用が規制されつつある。しかし、身近な生活環境に存在するフタル酸エステル類の毒性の分子機構については不明な点が多く、その予防法については知見が乏しい。一方、アシュワガンダはインド古代医術(アーユルヴェーダ)で知られる植物で、インド人参としても知られ、健康や生活の質を促進する伝統的な医薬品や多目的な薬剤として広く使用されている。最近の研究で、その葉の抽出物がガンの治療を含む広範囲の健康促進効果を有していることが示されている。そこで、本研究の目的は、フタル酸エステルの主要な酸化代謝産物であり、遺伝毒性や生物毒性が明らかになりつつあるメトキシ酢酸(MAA)の毒性分子機構について培養細胞を用いて検討し、さらにその毒性に対してアシュワガンダ葉抽出物やその構成成分が細胞保護効果を持つかどうか検討する事である。

### (対象と方法)

正常ヒト線維芽細胞(TIG-1)を用いて、MAAの毒性をミトコンドリア傷害性、活性酸素の産生能、DNA傷害およびプロテアソーム活性への影響について検証し、アシュワガンダの葉やその構成成分であるウィザノン、ウィザノイドおよびウィザフェリンAと呼ばれるステロイド性ラクトンなどのMAAに対する細胞保護作用を調べる。

### (結果)

ヒト正常細胞のMAA処理は、濃度依存的に老化促進効果をもたらす事を見いだした。MAA(10 mM)処

理は、細胞内で活性酸素の産生を促進し、DNA 障害を増やし、ミトコンドリアを傷害した。MAA は細胞内でアポトーシスを誘導する p53 および p21 タンパクの発現増加を誘導した。また、MAA はプロテアソーム活性を低下させた。MAA 処理は細胞増殖を阻害し G<sub>1</sub> の割合を増加させた。MAA 処理は、DNA 傷害の指標である  $\gamma$ H2AX の発現を誘導した。一方、興味深いことにアシュワガンダ葉抽出物 (6  $\mu$ g/ml) やその含有化合物ウィザノン (10  $\mu$ g/ml) は、MAA のこれらの細胞毒性をいずれも顕著に緩和する事を見出した。アシュワガンダ葉抽出物とウィザノンの細胞保護作用は、MAA と同時に培養液に添加しても、MAA 処理後に添加してもかなり保護効果が見られることである。また、ウィザノンは、MAA 以外の細胞障害性物質である過酸化水素からも細胞を保護し、生体防御系の調節因子である Nrf2 の核内蓄積を誘導する事を見出した。

#### (考察)

家庭用品、日用品、化粧品などに多くのフタル酸エステルが使用されているが、それらの健康障害性について注目されつつあり、実証的な毒性評価法が求められている。フタル酸エステルの主要な生体代謝物の一つであるメトキシ酸 (MAA) は、マウス胚の発達異常、生殖機能障害、造血異常などを引き起こすことが知られている。本研究は、MAA がヒト正常細胞に障害をもたらす仕組みについて明らかにし、さらにアシュワガンダ葉の有効成分のステロイドラクトンであるウィザノンが MAA の種々の毒性から細胞を防御する興味深い作用を見いだした。MAA の細胞毒性とともにウィザノンの細胞障害を軽減するメカニズムの解明は今後の重要な研究課題となり得る。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、フタル酸エステル類の代表的な代謝産物であるメトキシ酸の細胞毒性を丁寧に解析し、さらにアシュワガンダ葉成分がその毒性から細胞を保護する作用を発見した点は高く評価できる。これらの研究成果はすでに国際誌に発表し高い評価を受けている。本研究は、アシュワガンダ成分が環境汚染化学物質に対する幅広い防御作用があることを示唆しており、関連分野における今後の研究の発展が期待できる。

平成 24 年 1 月 16 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 (環境学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。