

氏名	Asma Ben Hmidene		
学位の種類	博 士 (生物工学)		
学位記番号	博 甲 第	8168	号
学位授与年月日	平成 29年 3月 24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 Phytochemicals and Bioactivities of the Medicinal Halophyte <i>Tamarix gallica</i> (薬用塩生植物 <i>Tamarix gallica</i> 由来の化学物質と生物活性に関する研究)		
主査	筑波大学教授	理学博士	繁森 英幸
副査	筑波大学教授	博士 (農学)	磯田 博子
副査	筑波大学准教授	博士 (理学)	内海 真生
副査	筑波大学准教授	博士 (理学)	山田 小須弥

論 文 の 要 旨

審査対象論文では、第1章として以下のような研究背景および目的が述べられている。2型糖尿病 (T2D) は末梢代謝障害として、また、アルツハイマー型認知症 (AD) は中枢神経系の変性疾患としてそれぞれ特徴づけられている。両者の発生率は年々増加しており、先進国の多くで懸念事項となっている。最近の研究から、T2DおよびADはともに酸化ストレスおよびアミロイド凝集の増加を含む多くの病態生理学的特徴を有することが示唆されている。アミロイドベータ ($A\beta$) は、AD脳におけるアミロイド沈着の成分であり、一方でランゲルハンスの膵島におけるアミロイド形成性ペプチド沈着物の成分は、ヒト膵島アミロイドポリペプチド (hIAPP) として知られている。これらの2つのタンパク質は、アミロイド前駆体タンパク質に由来し、高い配列類似性を有している。アミロイド形成タンパク質のアミノ酸配列は多様であるが、それらはすべてクロス- β 型背骨構造と呼ばれる同様の凝集体を形成する。それに加えて、 $A\beta$ と同様にhIAPPが初期の中間体集合体を球状オリゴマーとして形成し、これらのオリゴマーが共通の折りたたみパターンまたは立体配座を有することが見出されている。当研究室の先行研究において、カテコール構造を有する抗酸化ポリフェノール化合物に顕著な $A\beta$ 凝集阻害活性を見出していることから、 β 細胞死の原因となるhIAPPの凝集も同様の化合物により阻害できるのではないかと想定された。一方で、チュニジア産薬用塩生植物である*Tamarix gallica*は強力な抗酸化活性を有する植物の1つであり、ポリフェノール化合物を含んでいることが知られている。そこで著者は、本植物から α -グルコシダーゼ阻害活性を有する化合物の探索を行い、得られた化合物についてhIAPPおよび $A\beta$ 凝集阻害活性を調べることを目的とした。

第2章では、*T. gallica*の地上部の乾燥粉碎物を70%エタノールで抽出し、次いで $CHCl_3$ 、EtOAc、BuOHおよび H_2O で分配した。これらの可溶部について α -グルコシダーゼ阻害活性を調べた結果、 $CHCl_3$ およびEtOAc

可溶部に顕著な活性を見出したことから、両可溶部について活性試験を指標にして、カラムクロマトグラフィーや逆相HPLCを用いて10種類の活性物質を単離した。NMRおよびMS等の機器分析により、これらの活性物質はフラボノイド化合物であるQuercetinやKaempferolのO-メチル体やグルクロン酸結合体であることを明らかにした。

得られた10種のフラボノイド化合物について、p-ニトロフェノール- α -D-グルコピラノシド (p-NPG) アッセイおよびグルコースオキシダーゼアッセイを用いて α -グルコシダーゼ阻害活性を調べた結果、グルクロン酸結合型化合物が顕著な活性を示すことを見出した。そこで著者は、第3章において、これらの化合物の作用機構を解明するために酵素反応速度論を用いて解析した結果、フラボノイド化合物の構造上の特徴 (O-メチル体やグルクロン酸結合体) により、作用機構が異なることを見出した。さらに既存の抗糖尿病薬であるアカルボースを用いて α -グルコシダーゼ阻害活性に対する相乗効果を調べた結果、O-メチル体やグルクロン酸結合体に顕著な相乗効果が認められた。また、第4章では、Th-TアッセイならびにTEM観察を用いて、これらのフラボノイド化合物のhIAPP凝集阻害活性ならびにA β 凝集阻害活性を調べた結果、カテコール構造を有すること、ならびにフェノール性水酸基が多い化合物やグルクロン酸結合型化合物の方がより強い活性を示すことを見出した。

以上のことから、第5章の総括において、*T. gallica*から単離したフラボノイド化合物に α -グルコシダーゼ阻害活性、アカルボースとの相乗効果、また、hIAPPならびにA β 凝集阻害活性を併せ持つことを初めて見出し、構造活性相関研究からこれらの活性発現に重要な構造部位が特定された。

審 査 の 要 旨

本論文は、チュニジア産薬用塩生植物である*Tamarix gallica*を用いて、 α -グルコシダーゼ阻害活性を指標にして10種のフラボノイド化合物を見出した。これらのフラボノイド化合物の構造活性相関研究から、活性発現に重要な構造部位を特定し、酵素反応速度論を用いて構造の特徴によって作用機構が異なることを見出した。また、既存の抗糖尿病薬アカルボースとの併用で相乗効果のあることを明らかにした。さらに、T2Dに関わるhIAPPやADに関わるA β の凝集阻害活性試験を行い、これらのフラボノイド化合物にいずれも顕著な活性があることを見出した。これまで、フラボノイド化合物に α -グルコシダーゼ阻害活性を有することは知られていたが、hIAPP凝集阻害活性についてはほとんど報告されていない。これらのフラボノイド化合物が、両者の活性に影響を及ぼす可能性が示唆されたことから、*in vitro*の活性試験結果ではあるが、T2DとADの治療や予防に関する基礎的研究に貢献するものと考えられる。すでに本研究内容について4件の国際学会等での発表ならびに2報の学術論文を報告していることから、博士論文研究として高く評価される。

平成 29年 1月 26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 (生物工学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。