

## 審査の結果の要旨

氏名 吉田 和敬

野菜の主要な生体調節作用として生体異物の解毒作用があり、それには多くの転写因子が関わっている。その中で、aryl hydrocarbon receptor (AhR) は、薬物代謝の調節の他、免疫調節などの生体調節機能にも深く関わっており、生体防御やホメオスタシスの維持において重要な役割を果たしている転写因子である。AhR は、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) などの毒性発現に関与するとされてきたが、近年は、野菜に含まれる AhR リガンドであるフラボノイドやインドール化合物などが、生体に有益な作用をもたらすことが分かってきている。そこで本研究は、野菜由来の成分が AhR をはじめとした薬物代謝関連転写因子に与える影響を明らかにすることを目的としている。本論文は序論に続き、第一章から第四章、および総合討論より構成されている。

第一章では、薬物代謝に影響を与える成分を豊富に含むブロッコリースプラウトを対象とし、その熱水抽出物 (BSEx) が肝臓の薬物代謝に与える影響を動物試験により解析している。DNA マイクロアレイや Real-Time PCR による遺伝子発現解析の結果、BSEx は、AhR や nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 (Nrf2) を介して、cytochrome P450 (CYP) や glutathione S-transferase (GST) などの薬物代謝関連酵素の遺伝子発現を亢進することを示唆している。さらに、BSEx はアセトアミノフェンにより誘導される肝障害を抑制することが示されている。BSEx を摂取した群では、摂取しなかった群と比較して肝臓中のグルタチオン濃度や GST 活性が高い値を示すことを明らかにし、遺伝子発現変化との関連を示唆した。以上より、BSEx は、これまでにブロッコリースプラウトの作用メカニズムとして知られていた Nrf2 だけではなく、AhR を介して肝臓での薬物代謝を亢進していることが示唆される。

第二章では、野菜由来成分による AhR 活性化作用を詳細に解析するため、AhR 依存的転写活性の評価系の確立を行っている。ヒト肝臓がん由来細胞である HepG2 細胞に、AhR 発現プラスミドベクターと、ルシフェラーゼ遺伝子上流に AhR の応答配列である xenobiotic responsive element (XRE) をタンデムに 3 つ並べた AhR 応答プラスミドベクターを共トランスフェクションし、AhR 応答性安定 HepG2 細胞株の樹立に成功し、さらにこの細胞株が、既知の AhR リガンドに対して応答することを証明している。以上より、本細胞株は AhR を活性化する成分を探索するのに有用な系であると考えている。

第三章では、AhR 応答性安定 HepG2 細胞株を用いて、ブロッコリースプラウトなどの 23 種類の野菜の熱水抽出物が AhR 依存的転写活性に与える影響を評価している。その結果、ショウガをはじめとする 5 種類の野菜の熱水抽出物に特に強い AhR 依存的転写活性の亢進が確認され、その活性はブロッコリースプラウトの熱水抽出物よりも強いものであることを明らかにしている。さらに、ショウガに含まれる活性成分として 6-ショウガオールを同定している。以上より、6-ショウガオールには、AhR を介した生理作用が期待される。一方で、TCDD のような毒性化合物との違いを見出すため、6-ショウガオールの AhR リガンドとしての特性をより詳細に解析することが重要であると考察している。

第四章では、6-ショウガオールの AhR 依存的転写活性や CYP1A1 遺伝子発現への影響を詳細に評価し、6-ショウガオールは毒性化合物と比べると、AhR への親和性は低く、CYP1A1 の遺伝子発現への影響は小さいことを明らかにしている。さらに、6-ショウガオールによる AhR 活性化機構を *in silico* シミュレーションにより解析し、AhR リガンド結合部位 (AhR-LBD) 中の His、Tyr、Phe との  $\pi$ - $\pi$  相互作用が、6-ショウガオールによる AhR 活性化に関与している可能性を示唆している。一方、親電子性の高い 6-ショウガオールが、AhR-LBD 中の His と共有結合することで AhR を活性化している可能性も見出されており、毒性化合物とは異なる結合様式で AhR を活性化しているものと考察している。

本研究では、生体防御やホメオスタシスにおいて重要な役割を果たしている AhR の活性化に野菜由来成分が与える影響を評価している。その結果、ショウガやブロッコリースプラウト等の野菜には AhR を活性化させる作用があることを明らかにしている。また、6-ショウガオールによる AhR 活性化を初めて明らかにし、そのリガンド特性の一端を解明している。

これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。