

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	Chow Yit Lai
論文題目	<i>Caenorhabditis elegans</i> as a whole organism screening system for isoquinoline alkaloid bioactivities (個体の線虫を用いたイソキノリンアルカロイド生理活性スクリーニングシステムに関する研究)		
(論文内容の要旨)			
<p>植物が産生する様々な二次代謝産物、特に、アルカロイド類は、医薬品として活用されているが、その生理活性評価には、迅速かつ効率的スクリーニングシステムの開発が不可欠である。本研究では、線虫 (<i>Caenorhabditis elegans</i>) を材料としたイソキノリンアルカロイド生理活性評価系の開発を試みた。</p> <p>まず、脂質蓄積抑制効果が知られているイソキノリンアルカロイド、ベルベリンをモデルとして、線虫における脂質蓄積抑制活性の評価が可能であることを実証するとともに、類縁イソキノリンアルカロイド化合物の活性評価を行い、ベルベリンとは構造の異なるベンゾフェナンスリジン型アルカロイド、サンギナリンがベルベリンを上回る脂質蓄積抑制活性を持つことを明らかにした。</p> <p>引き続き、サンギナリンの脂質蓄積抑制機構を明らかにするために、ベルベリンの標的として知られているAMPキナーゼ (AMPK) の活性化がサンギナリンでも生じていることを明らかにした。また、線虫のAMPKのαサブユニット遺伝子である<i>aak-1</i>、<i>aak-2</i>の発現抑制株を用いた解析により、サンギナリンの効果は<i>aak-2</i>に依存していることを明らかにした。一方、脂質分解を制御する転写因子、<i>nhr-49</i>の発現抑制株を用いた解析から、サンギナリンは、<i>nhr-49</i>の発現を抑制し、脂質の蓄積を促進した場合にも、線虫における脂質の蓄積を顕著に抑制することを明らかにした。なお、サンギナリンは<i>nhr-49</i>遺伝子の発現を抑制することも明らかとなったが、脂質分解抑制よりも、脂質生合成阻害の効果が優先することも明らかにした。</p> <p>線虫を用いた活性評価において、ベルベリンとともにサンギナリンの脂質蓄積抑制効果が明らかになったが、それぞれの効果を細胞抽出液と比較し、天然物からの生理活性物質スクリーニングの可能性を検討した。その結果、サンギナリンの場合、サンギナリンを含むハナビシソウ培養細胞抽出液では、サンギナリンの効果が抑制される一方、ベルベリンを含むオウレン培養細胞抽出液では、ベルベリンの濃度以上の効果が認められることを明らかにした。</p> <p>なお、線虫を用いた生理活性評価においては、比較的高濃度のアルカロイドが必要であることから、線虫における生体異物代謝がアルカロイド感受性に及ぼす影響を<i>nhr-8</i>遺伝子発現抑制株において評価した。その結果、線虫におけるベルベリンの生理活性は<i>nhr-8</i>遺伝子発現抑制株において顕著に増強されることを認め、生体異物代謝の制御が生理活性評価において重要であることを明らかにした。なお、<i>nhr-8</i>遺伝子発現抑制株におけるサンギナリンの効果の向上は限定的であり、化合物による違いがあることも明らかにした。</p> <p>以上、線虫を用いたアルカロイド類の生理活性評価系を確立するとともに、新規な脂質蓄積抑制物質としてサンギナリンを同定し、その作用機構を明らかにした。さらに、細胞抽出液からのスクリーニングにおいて注意すべき点を明白にするとともに、より効率的なスクリーニング系を確立し、今後のイソキノリンアルカロイドの生理活性評価の基盤を構築した。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

脂肪の細胞蓄積はメタボリックシンドロームの要因であり、脂質蓄積を抑制する天然物の探索が進められている。植物が産生するアルカロイド類のなかにも、脂質蓄積抑制活性を持つものが知られているが、簡便、かつ、迅速なスクリーニングシステムの開発が希求されていた。本研究は、線虫 (*Caenorhabditis elegans*) を材料として、イソキノリンアルカロイド生理活性評価系の開発を試みたものであり、以下のような価値ある新規な知見をえている。

1) 脂質蓄積抑制効果が知られているイソキノリンアルカロイド、ベルベリンをモデルとして、線虫における脂質蓄積抑制活性の評価が可能であることを実証するとともに、類縁イソキノリンアルカロイド化合物のなかから、ベルベリンとは構造の異なるベンゾフェナンスリジン型アルカロイド、サンギナリンがベルベリンを上回る脂質蓄積抑制活性を持つことを明らかにしている。

2) サンギナリンが脂肪合成の鍵レギュレータであるAMPキナーゼ (AMPK) を活性化していること、その活性化は、線虫のAMPKの α サブユニット遺伝子である*aak-2*に依存していることを明らかにしている。

3) サンギナリンの効果は、*nhr-49*の発現を抑制し、脂質の蓄積を促進した場合にも有効であることを明らかにしている。

4) 線虫におけるベルベリンの生理活性は、生体異物代謝制御因子である*nhr-8*遺伝子発現抑制株において顕著に増強されることを明らかにし、線虫における生理活性評価においては、生体異物代謝を抑制することが重要であることを明らかにしている。

以上、線虫を用いたアルカロイド類の生理活性評価系を確立するとともに、新規な脂質蓄積抑制物質としてサンギナリンを新たに見出し、その作用機構を明らかにした。さらに、より効率的なスクリーニング系を確立し、今後のイソキノリンアルカロイドの生理活性評価の基盤を構築したものとして、植物天然物化学、代謝工学に貢献するところが大きい。

なお、本論文は、薬物開発において重要な生命科学に関する高度で幅広い学識と、申請者の優れた研究能力に裏打ちされ、生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見を論理的かつ一貫性をもって記述しており、博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。

また、平成26年2月7日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日