

氏 名	いっほう し かつ なり 一 法 師 克 成
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	論 農 博 第 2623 号
学位授与の日付	平 成 18 年 11 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	The Inhibitory Effects of Vegetable Compounds on Nitric Oxide Production and Peroxynitrite-induced Oxidation and Nitration (一酸化窒素産生およびパーオキシナイトライトによる酸化およびニトロ化 に対する野菜成分の阻害効果)
論文調査委員	(主 査) 教 授 大 東 肇 教 授 吉 川 正 明 教 授 河 田 照 雄

論 文 内 容 の 要 旨

生体が細菌やウイルスの感染を受けるとマクロファージなどで誘導型一酸化窒素合成酵素 (iNOS) が誘導され、一酸化窒素 (NO) の産生が起こる。NO および NO から派生するパーオキシナイトライト (ONOO⁻) などの活性窒素種は、過剰に発生すると、侵入しようとする外敵だけでなく宿主にも酸化およびニトロ化反応などによる損傷を与え、この作用が慢性化するとがんなどを誘発することが知られている。本研究は野菜成分の NO 産生阻害作用および ONOO⁻ 捕捉作用を究明し、また、これら成分を含む野菜の *in vivo* における抗酸化作用を明らかにしたもので、その主たる内容は以下のように要約される。

1. 野菜成分の NO 産生阻害作用および ONOO⁻ に対する抗酸化作用

J774.1 マクロファージをリポ多糖で刺激すると iNOS による NO 産生が起こる。本アッセイ系を用いて、各種野菜成分の NO 産生阻害活性をスクリーニングした結果、アブラナ科野菜に広く存在するアリルイソチオシアネート (AITC) やベンジルイソチオシアネート (BITC)、さらにはショウガの成分である[6]-ジンゲロール (GIN) において、培地中の NO 産生マーカーである亜硝酸イオン量の顕著な低下が認められた。また、これらの低下作用は抗 iNOS 抗体を用いたウェスタンブロッティング法により、iNOS の誘導阻害によるものと確認できた。一方、ONOO⁻ によるジクロロジヒドロフルオレセインの酸化に対する抑制効果をスクリーニングしたところ、GIN およびイチゴの成分であるエラグ酸 (ELA) に強い活性を見いだした。GIN や ELA では、ONOO⁻ による DNA 鎖の酸化的切断およびタンパク質中のチロシン残基のニトロ化を抑制することをも明らかにした。

2. ONOO⁻ の酸化およびニトロ化反応に対する GIN や ELA の抑制機構

GIN と ONOO⁻ との反応から生成する物質を単離し構造解析した結果、反応生成物質が、二つの GIN の芳香環上で互いに対称に結合してできた二量体であることが判明した。この事実から、GIN は ONOO⁻ 由来のラジカルを捕捉し、自身が一電子酸化を受けたフェノキシルラジカルとなり、本ラジカル由来のフェニルラジカルがカップリングすることにより二量体化するものと考えられた。一方、ELA では、GIN の場合と異なり、ONOO⁻ 由来のラジカルを捕捉し、自身が二電子酸化を受けたオルトキノン体を経て、様々な重合体に変化することが示唆された。このように、GIN や ELA が ONOO⁻ による酸化やニトロ化を阻害する過程を、ONOO⁻ に由来するラジカルの捕捉に始まる一連の化学的変化の解析により合理的に説明した。

3. シニグリン (SIN) のラットにおける NO 産生阻害作用

AITC の前駆体 (グルコシノレート) である SIN が、経口投与により、リポ多糖で炎症を誘導したラットの尿中硝酸イオン+亜硝酸イオン (NO 産生マーカー) の濃度を有意に低下させることを実証した。

4. カイワレダイコンおよびショウガのラットにおける抗酸化作用

アブラナ科野菜のなかで、イソチオシアネートの前駆体であるグルコシノレートを豊富に含むカイワレダイコン、および

GINを含むショウガについて、それぞれの抗酸化効果をラットにより検討した。その結果、これら野菜を摂取することにより、過酸化脂質生成マーカーである尿中のチオバルビツール酸反応物質（TBARS）が顕著に減少することを確認した。さらにまた、リボ多糖で炎症を誘導したラットの TBARS および DNA 酸化傷害マーカーである 8-ヒドロキシデオキシグアノシンが減少することも確認し、これら野菜の摂取が動物実験レベルで抗酸化作用を示すことを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

近年、急速な高齢社会を迎えたわが国では、各種生活習慣病への対処が重要な課題となっている。日頃の生活を律することにより病気を未然に防ぐ“予防”の重要性もその対処法の一つとして注視されている。特に、食によるそれには多大な期待が集まっていよう。本論文は、がんをはじめとする各種生活習慣病の発症に密接に関与する活性窒素種に対する野菜成分の効能に関して、多面的な解析を行ったもので、成果として評価すべき点は以下のとおりである。

1. アリルイソチオシアネート（AITC）やベンジルイソチオシアネート（BITC）、さらにはショウガ由来の [6]-ジンゲロール（GIN）が J774.1 マクロファージによる一酸化窒素（NO）の産生を、誘導型 NO 合成酵素（iNOS）の発現阻害によって、顕著に抑制すること、また、GIN およびエラグ酸（ELA）がパーオキシナイトライト（ONOO⁻）による生体成分の酸化やニトロ化反応を強く抑制することを明解に示した。これらの成分は、われわれが通常摂取しているアブラナ科野菜やショウガの成分であることは興味深い。

2. GIN や ELA の作用性を、ONOO⁻ に由来するラジカルの捕捉から始まる一連の化学反応で合理的に説明した点は、関連分野に新しい視点を提供したものと高く評価される。

3. AITC の前駆体（グルコシノレート）であるシニグリン（SIN）が *in vivo* で NO 産生阻害作用を示すことをはじめて明らかにした。また、グルコシノレートを豊富に含むカイワレダイコン、およびショウガが *in vivo* で顕著な抗酸化作用を示すことを明解に示した。以上の結果は、これらが機能性食素材として大きく期待できることを指摘したもので、今後の関連分野へ示唆するところは大きい。

以上のように、本論文は、AITC（SIN）、BITC、GIN および ELA などの野菜成分が、がんなどの生活習慣病の発症に関与する活性窒素種の諸作用に対して有益な効果が期待できることを示したもので、その成果は食品科学や健康科学の発展に貢献するとともに、機能性食品の創製にも寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成18年10月19日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。