

	れ たん だつと <b>LE TUAN DAT</b>
氏 名	博 士 ( 学 術 )
学位(専攻分野)	博 甲 第 1011 号
学 位 記 番 号	令和 3 年 9 月 24 日
学 位 授 与 の 日 付	学位規則第 4 条第 1 項該当
学 位 授 与 の 要 件	工芸科学研究科 バイオテクノロジー専攻
研 究 科 ・ 専 攻	<b>Genetic studies to identify the anti-aging effects of sesamin and to reveal the molecular mechanisms underlying the effects in <i>Drosophila</i> adults</b>
学 位 论 文 題 目	(リグナン類化合物セサミンの抗老化効果ならびにその作用メカニズムに関するショウジョウバエを用いた遺伝学的研究)
審 査 委 員	(主査)教授 井上 喜博 教授 伊藤 雅信 教授 小谷 英治

### 論文内容の要旨

抗老化効果を謳う健康食品や化学物質は多いが、生体に与えた際にその老化の進行を抑制できるという十分な証拠が得られているものは極めて少ない。老化メカニズムや抗老化物質の研究には哺乳類のモデルが多く使われて来たが、結果を得るのに数年を要するという問題点があった。このため抗老化物質の研究は期待されるほど進んでいない。そこで哺乳類モデルにかえて、寿命が短く、哺乳類より短期間で老化を観察できるショウジョウバエのモデルを用いて、その成虫寿命を延長させる効果のある天然物および化学物質の探索がおこなわれている。その結果、ゴマ種皮に多く含まれるリグナン類化合物の 1 種 sesamin が同定された。sesamin には哺乳類培養細胞における抗酸化効果、ラット肝の酸化損傷を抑制する効果も報告されていたが、生体老化に対する効果については十分な検討がなされていなかった。そこで本研究では、同物質にショウジョウバエの成虫寿命を延長させる効果があることを証明するとともに、加齢に伴う成虫の行動量低下に及ぼす影響、筋肉、神経および消化管の細胞に表れる老化表現型に対する抑制効果についても調べた。さらに老化の主原因と考えられている酸化ストレスの蓄積を抑える遺伝子の発現に影響を与えないか調べた。その結果をもとに、sesamin が Nrf2 転写因子（酸化ストレスを除去する遺伝子群の転写に必要）を活性化しないか、成虫消化管と神経細胞内で検討した結果をまとめた。本申請論文は全編英語で書かれており、General Abstract に続いて、序論である Chapter 1、「ショウジョウバエ成虫モデルの筋肉、神経および消化管に表れた老化表現型に対する sesamin の抑制効果」についてまとめた Chapter 2、「sesamin によるショウジョウバエ成虫脳内の特定神経細胞内における Nrf2 転写因子の活性化と酸化ストレス蓄積による神経細胞の減少の抑制」について述べた Chapter 3、両章の結果に基づく総合考察である Chapter 4、総合結論が述べられた Chapter 5 から構成されている。

序論の Chapter 1 では、生体老化の原因に関する仮説を紹介し、生体内で生じた活性酸素種などによる細胞成分の酸化損傷とそれらを除去する遺伝子群について解説し、加齢に伴いそれらの発現あるいは機能が低下することにより酸化損傷が増加し、それが老化の進行に関与することを説

明している。

Chapter2 では、sesamin を摂食させた成虫の体内で哺乳類と同じように代謝産物 SG-1 が作られていることを示している。次に sesamin を継続して与えることにより、ショウジョウバエの成虫寿命が有意に延長すること、成虫の加齢に伴う行動量低下を抑制できること、加齢に伴い筋肉内に形成されるユビキチン化タンパク質凝集体の蓄積、ドーパミン神経細胞の減少、消化管上皮にある消化管幹細胞の異常増殖という 3 種類の老化関連表現型を抑制できることを示している。さらに sesamin の継続摂食により、酸化ストレスの除去や DNA 損傷修復に必要な遺伝子群の mRNA レベルが有意に上昇することをリアルタイム PCR 法で明らかにしている。摂食により老化の主原因のひとつとされる活性酸素種が減少していることを GFP レポータ法で示している。その結果、生体老化の進行が遅延したと考察している。

Chapter3 では、sesamin 摂食により酸化ストレスを除去する複数の遺伝子群の発現が上昇する原因を明らかにするため、これらの遺伝子群の転写を誘導できる Nrf2 転写因子に注目している。この因子による転写をモニターできる ARE-GFP レポータを用いて、sesamin が吸収される際に、消化管の中腸で最初に Nrf2 が活性化し、続いて脳内のドーパミン、コリン、グルタミン酸作動性神経で Nrf2 が活性化すること、GABA 作動性神経などでは活性化が見られないことを示した。Nrf2 の活性化が見られた神経特異的に活性酸素種の除去を阻害するとそれらの神経細胞が減少するが、これを sesamin 摂食により抑えることができることを明らかにしている。

Chapter 4, 5 では、以上のショウジョウバエにおける結果と哺乳類の培養細胞に sesamin を与えた既報の結果も加えて考察をおこない、sesamin 摂食により、脳内の特定の神経細胞で Nrf2 転写因子が活性化し、その結果、酸化ストレス除去遺伝子の発現が促進され、それが生体老化の遅延につながるというモデルを提唱している。最後に、Nrf2 の活性化が見られた神経細胞はショウジョウバエの臭覚などの感覚中枢および記憶中枢として重要な役割を果たしていることから、ヒトでも同じような効果があれば、sesamin には加齢とともに認知機能などの低下を防ぐ予防効果が期待できると考察している。

## 論文審査の結果の要旨

老化を抑制する効果を謳う健康食品や化学物質は多いが、生体に投与した際にその老化の進行を抑制するという証明がなされている例は極めて少ない。老化研究には哺乳類のモデルが多く使われて来たが、結果を得るのに数年を要する。それがネックになって抗老化物質の研究は期待されるようには進んでいない。申請者は哺乳類より寿命が短く、より短期間で老化症状を観察できるショウジョウバエの早期老化モデルを用いることにより、この問題点を回避している。第 1 章では、抗老化物質の研究が直面している問題点を言及するとともにショウジョウバエを老化研究に用いることの利点を述べている。第 2 章では、ゴマ種皮に多く含まれるリグナン類化合物の 1 種 sesamin にショウジョウバエ成虫の寿命を延長させる効果があるという結果を示している。sesamin には哺乳類培養細胞における抗酸化効果、マウス乳がんに対する抗腫瘍効果、ラット肝の酸化損傷を抑制する効果が報告されてきたが、生体老化に対する効果について精査した研究例はなかった。申請者は、成虫寿命の延長効果だけでなく、sesamin には成虫の加齢に伴う行動量

低下を抑制する効果があること、さらに筋肉、神経系および消化管の細胞に表れる老化表現型を抑制する効果があることを示している。第2章に述べられた結果は、sesamin が生体老化に対する抑制効果を持つことを示した最初の報告になり、新規性が認められる。さらに同化合物を継続して摂食させた成虫では、老化の原因物質のひとつとされる活性酸素種を除去する遺伝子群の発現が上昇しており、このためそれらの蓄積が抑えられた結果、老化が遅延したのではないかと考えている。さらに申請者は sesamin の抗老化効果を示しただけでなく、その抗老化効果が現れるメカニズムについても研究している。これには独創性が認められる。第3章では、sesamin 摂食により、活性酸素種を除去する遺伝子群の転写を促進する Nrf2 が成虫脳内にある特定の神経細胞内で活性化されることを明らかにした。第4章、5章の総合考察、結論では、sesamin が Nrf2 の抑制因子 Keap1 に作用する可能性も論じている。Keap1 が阻害されると Nrf2 が活性化し、活性酸素種を除去する遺伝子群の転写が誘導されるため、老化の原因物質候補が除かれ、最終的に加齢に伴う神経細胞の減少が抑えられるというモデルを提唱している。最後に、ヒトでも同じような効果があれば、sesamin には加齢にともなう認知機能などの低下を防ぐ予防効果が期待できると考察している。よって、本学位申請論文は生体老化を抑制できる化学物質の同定とその作用メカニズムを明らかにしている点で学術的意義が非常に高い研究であるといえる。また、これらの研究は、医学・薬学的意義も大きく、今後の抗老化物質の探索、それらのメカニズム解明、抗老化効果のある薬剤等の開発にも貢献する可能性がある。

学位論文の内容は、申請者が筆頭著者である原著論文として、査読制度の確立されている下記の国際科学雑誌 2 誌に掲載されている。

#### [基礎論文]

1. T.D. Le, Y. Nakahara, M. Ueda, K. Okumura, J. Hirai, Y. Sato, D. Takemoto, N. Tomimori, Y. Ono, M. Nakai, H. Shibata, Y.H. Inoue. Sesamin suppresses aging phenotypes in adult muscular and nervous systems and intestines in a *Drosophila* senescence-accelerated model. European Review for Medical and Pharmacological Sciences. 2019, 23, 1826-1839.
2. T.D. Le, Y.H. Inoue. Sesamin activates Nrf2/Cnc-dependent transcription in the absence of oxidative stress in *Drosophila* adult brains. Antioxidants. 2021, 10, 924.

参考論文として、以下の原著論文 1 編が、査読制度の確立されている国際科学雑誌に掲載されている。

#### [参考論文]

1. M. Azuma, T.D. Le, Y. Yoshimoto, N. Hiraki, M. Yamanaka, F. Omura, Y.H. Inoue. RNA-seq analysis of diet-driven obesity and anti-obesity effects of quercetin glucoside or epigallocatechin gallate in *Drosophila* adults. European Review for Medical and Pharmacological Sciences. 2019, 23, 857-876.