

学位論文の内容の要約

氏名	芦田 則之
学位の種類	博士（生命科学）
学府又は研究科・専攻	大学院工学府 共同先進健康科学専攻
指導を受けた大学	東京農工大学
学位論文題目	天然物質による炎症・疼痛・行動の制御に関する研究

【論文の内容の要約】

現代は、健康志向が高まり、サプリメントや健康に寄与する食品の開発は重要な課題となっている。そこで、本研究では、生活の質を改善する天然物質の研究を目的に、抗ストレス、抗炎症、および痛みへの制御に関する物質についての解析結果を報告する。

先行研究で、RNAの構成成分であるウリジンが、隔離飼育ストレス負荷マウスで生じる多動や攻撃行動といった異常行動を正常化することを見出した。ウリジンは、トマトなどの食品に含まれているが、ウリジン単体としては、食品でも食品添加物でもない。従って、ヒトに摂取してもらうことができなかった。そこで、ウリジンの誘導体であり、乳児用粉ミルクにも添加され、安全が担保されている食品添加物である5'-ウリジン-リン酸(UMP)が、ウリジンの前駆物質となり、抗ストレス効果を示すのではないかと考えた。第2章では、UMPの抗ストレス効果をヒトで検証した結果を示す。試験はランダム化二重盲検法を採用し、プラセボ対照の2試験区クロスオーバー試験とした。質問票によるスクリーニングで、日常生活でストレスを感じている健康人男女(男性12名、女性12名 合計24名)を被験者として選択した。なお、スクリーニングの段階で月経前症候群の既往のある女性は除外した。また、月経周期による影響を最低限にするため、1回目の試験開始後2回目の試験開始までの間隔を4週間とした。UMPを1日1回1gあるいはプラセボを8日間摂取させた。摂取前と8日目の摂取前に、ストレスの表出を4種類の質問票で評価した。また、8日目の摂取後、4時間の精神作業負荷および4時間の回復期を設け、作業能率に及ぼすUMPの影響についても検討した。結果、視覚的アナログ尺度であるVAS検査では、UMP群とプラセボ群とで差は認められなかった。しかし、UMP群では摂取前値との比較で8日目の摂取前(7日間摂取後)においてストレス反応尺度であるPHRF-SCL-SFの自律神経症状、うつ気分・不全感、Totalの有意な低下、疲労の診察に推奨されるChalder Fatigue Scaleの有意な低下がみられた。また、気分プロフィール検査であるPOMS短縮版において、UMP群はプラセボ群に対して8日目の摂取前において緊張・不安、疲労が有意に低値であった。これらのことから、UMPは7日間摂取により、日常のストレスを軽減することが示された。精神作業負荷条件下でのストレスに対する効果について、負荷時のATMTにおいて、UMP群はプラセボ群に対して負荷2セット目のエラー数の有意な増加抑制と正答率の有意な低下抑制がみられ、負荷による作業能率の低下を抑制することが示唆された。さらに、加速度脈波検査では、負荷時の変化での変化量(4hr-0hr)において、LF/HF-MEMおよびLF/HF-FFTの有意な上昇抑制がみられた。LFは主に交感神経活動、HFは副交感神経活動を反映し、交感神経優位な状態ではLF/HFが上昇する。ストレスあるいは疲労でLF/HFが上昇することが知られており、UMPの作用機序のひとつは自律神経の調節であると考えられた。UMPが日常のストレスを緩和する食品として有望であることが示された。

第3章では、炎症に着目した。ベータクリプトキサンチンは、温州みかんに多く含まれるカロテノイドで、骨形成を亢進し、破骨細胞の分化と生存を抑制すると報告されている。また、炎症

性サイトカインの産生抑制効果も知られていることから、研究室で確立していた炎症性骨疾患モデルである歯周病モデルで抗炎症作用を検討した。マウス初代骨芽細胞と骨髄細胞との共存培養において、リポポリサッカライド(LPS)誘導性の破骨細胞の形成をベータクリプトキサンチンが濃度依存的に抑制した。また、歯槽骨の器官培養系を用いた *in vitro* の検討で、LPS 誘導性骨吸収活性をベータクリプトキサンチンが抑制した。さらに、実験的歯周炎モデルを用いた *in vivo* の検討で、ベータクリプトキサンチンが下顎の歯槽骨の骨量の低下を抑制することを示した。ベータクリプトキサンチンが、歯周病の予防あるいは治療に有用であることを示した。

第4章では、炎症と関連する痛みの制御について検討した。果実や野菜に多く含まれるフラボノイドで、玉ねぎの黄色色素として知られているケルセチンには、抗酸化作用、細胞増殖抑制作用、抗炎症作用といった様々な生理的作用が報告されている。しかし、痛みに関する効果についての報告はほとんどない。そこで、ケルセチンの鎮痛効果について検討した。マウスの後肢の足蹠皮下にカラゲニンを投与すると顕著な浮腫が認められた。浮腫を生じた足底部は、プランターテストで熱による侵害刺激に対する閾値が低下することが認められ、温熱性疼痛過敏を呈した。カラゲニン浮腫モデルにおいて、ケルセチンの経口投与は、熱による侵害刺激への閾値を改善した。細胞膜に存在するプロスタグランジン(PG)合成酵素を欠損し、PGE2 を産生できない *mPGESKO-1* マウスでは、カラゲニン浮腫における疼痛過敏が抑制されたことから、カラゲニン浮腫で生じる痛覚過敏に PGE2 の関与が示唆された。そこで、*in vitro* で PGE2 産生に及ぼす効果を検討した。骨芽細胞を用いた実験で、IL-1 誘導性の PGE2 産生をケルセチンは、濃度依存的に抑制した。ケルセチンのカラゲニン浮腫における痛覚過敏に対する抑制効果の少なくとも一部は、PGE2 の産生抑制によるものと考えられた。ケルセチンが、炎症に起因した痛みの抑制に有効である可能性を示した。

細胞内の分布や標的分子の同定など、検討した3種類の天然物質の作用機序を明らかにするとともに、詳細な *in vivo* 解析が今後の課題である。