

博士論文要旨

酸化ストレス応答におけるオートファジー制御機構に関する薬理学的研究

齋藤 祐一

酸化ストレスは慢性的に暴露することにより加齢性疾患を引き起こすが、これを薬理的に制御する方法はいまだ確立されていない。酸化ストレス応答を制御する転写因子のひとつである NF-E2-related factor 2 (Nrf2) は加齢性疾患の発症・進展に密接に関与することが知られており、その薬理的な活性化は細胞保護作用を介した有用な対処法となり得ることが考えられる。しかしながら、Nrf2 活性化による抗酸化応答因子以外の機序による細胞保護作用については、十分に明らかにされていない。そこで本研究では、Nrf2 活性化薬の抗酸化応答因子誘導以外の作用について、すなわちオートファジーの誘導及びファゴサイトーシスの活性化について検討を行った。また、親電子剤以外の Nrf2 活性化薬の作用機序の関与についても併せて検討を行った。

1. Nrf2 活性化薬による網膜色素上皮 (RPE) 保護作用へのオートファジーの関与

Nrf2 活性化薬 RS9 の RPE 細胞保護作用は、オートファジーの阻害によって抑制された。Nrf2 を介さない抗酸化薬である *N*-acetyl-L-cysteine の細胞保護作用は、オートファジーの阻害では抑制されなかった。以上のことから、Nrf2 活性化薬 RS9 の細胞保護作用機序の一部にオートファジーの活性化が関与することを明らかにした。

2. Nrf2 活性化薬による視細胞外節ファゴサイトーシスの活性化作用

RPE 細胞による網膜の恒常性維持機構である視細胞外節のファゴサイトーシスに対して、Nrf2 が及ぼす影響を検討した。Nrf2 活性化薬 RS9 は、RPE 細胞のファゴサイトーシスを活性化させた。Nrf2 活性化薬によるファゴサイトーシス活性化作用は、p62 によるオートファジーの活性化に非依存的であった。親電子性 Nrf2 活性化薬は、AMPK 活性化作用によってファゴサイトーシス及びオートファジーの活性化を誘導することを明らかにした。

3. プロポリス有効成分による酸化ストレス依存的 Nrf2 活性化促進作用

親電子性 Nrf2 活性化薬とは異なる Nrf2 活性化薬として、グリーンプロポリス水抽出物 (WEP) による抗酸化応答因子誘導作用に関して皮膚線維芽細胞を用いて検討した。WEP は紫外線 A 波 (UVA) 照射後においてのみ抗酸化応答因子の発現を促進し、Nrf2 を活性化させた。WEP の主要有効成分のうち、カテコール骨格を有する 3,5-ジカフェオイルキナ酸、3,4-ジカフェオイルキナ酸及びクロロゲン酸は、抗酸化応答因子の発現を促進した。

以上より、親電子性 Nrf2 活性化薬は、抗酸化応答因子誘導とは関係なくオートファジーを介した RPE 細胞の機能維持機構を亢進させ、細胞保護作用を示すことが明らかになった。さらに、Nrf2 活性化薬は抗酸化薬と異なり、加齢性疾患の元となる代謝不全を是正し、慢性的な酸化ストレスや過剰な代謝要求による病態進展を抑制する可能性が示唆された。

【略語】

AMPK : AMP-activated protein kinase

Nrf2 : NF-E2-related factor 2

UVA : ultra violet A

RPE : retinal pigment epithelium

RS9 : methyl (1 α ,2 α ,21 β)-2-cyano-21-hydroxy-3,12-dioxo-1,2-epoxyolean-9
(11)-en-28-oate

WEP : water extract of green propolis

論文審査結果の要旨

氏名（本籍）	齋藤 祐一（ 東京都 ）
学位の種類	博士（薬学）
学位記番号	甲 第 179号
学位授与年月日	令和2年3月10日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項該当者
学位論文の題名	酸化ストレス応答におけるオートファジー制御機構に関する薬理学的研究
論文審査委員	（主査） 五十里 彰
	（副査） 井上 直樹
	（副査） 田中 宏幸

本論文は、酸化ストレス応答における転写制御を担う転写因子の一つである NF-E2-related factor 2 (Nrf2) に着目し、その活性化薬による細胞内の代謝制御への作用を検討し、その成績をまとめたものである。

ヒト網膜色素上皮細胞への Nrf2 活性化薬 RS9 の投与により、酸化ストレスからの細胞保護作用が認められた。この保護作用はオートファジーに依存的であったが、Nrf2 活性化を介さない抗酸化薬である *N*-acetyl-L-cysteine による保護作用は、オートファジーに非依存的であった。ゼブラフィッシュ網膜光障害モデルにおいても、RS9 の硝子体内投与による網膜障害保護作用が認められ、その作用がオートファジーを介したものであることが示唆された。また、RS9 はヒト網膜色素上皮細胞において視細胞外節のファゴサイトーシス分解を活性化させた。視細胞外節のファゴサイトーシス活性化作用は、Nrf2 活性化の下流で転写誘導される p62 によるオートファジー活性化作用に非依存的であり、AMPK 活性化作用に依存することを明らかにした。

これらの結果は、Nrf2 活性化薬のオートファジーを介した細胞代謝制御作用を示したものであり、従来の抗酸化薬とは異なる形での臨床応用の可能性を示唆することから、博士（薬学）論文として価値あるものと認める。