HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ケルセチン高含有タマネギから単離同定したピネリン酸による核内受容体PPARα/γ活性化に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	土居, 幹生
Citation	北海道大学. 博士(農学) 甲第14385号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/81165
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Doi_Mikio_review.pdf (審査の要旨)

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

（記入例８）【課程博士・論文博士】

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称　博　士（農学）　　氏名　　土居　幹生

審査担当者　主　査　教　授　松浦　英幸
副　査　教　授　橋本　誠
副　査　客員准教授　森田　直樹
副　査　講　師　崎浜　靖子
副　査　助　教　北岡　直樹
副　査　客員教授　藤森　嶺（東京農業大学）

学位論文題名
ケルセチン高含有タマネギから単離同定したピネリン酸による
核内受容体PPARα/γ活性化に関する研究

本論文は、和文 67 頁、図 26、表 7、チャート 57 からなり、参考文献 1 編が添えられている。ケルセチンはタマネギに含まれるフラボノールの 1 種であり、抗酸化作用と抗炎症作用を有することが知られている。ケルセチンとその配糖体は、核内受容体の 1 種である Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) α のリガンドとして機能し、PPARγ を活性化させる機能はないことが報告されている。PPAR は脂質及びグルコースの代謝に関連する遺伝子の発現を調節する転写因子として作用する。リガンドが特定部位に結合することで PPAR は活性化され、PPAR はプロモータ領域上にある PPAR 応答配列 (PPRE) を認識、核内受容体の 1 種である Retinoid X receptor (RXR) とヘテロダイマーを形成することで、mRNA の転写を促し種々の遺伝子の発現を変動させ、様々な生理機能の発現に関わっている。

提出の学位論文では、実験材料として用いたケルセチン高含有タマネギの水抽出液について PPAR の活性化を評価したところ、PPARα と PPARγ に対して高い活性化能が発見された。上述のようにケルセチンには PPARγ を活性化させる機能はないことが報告されているので、当該のタマネギの水抽出液に PPARγ を活性化する未知のリガンドが含まれていると考えられた。本研究は、ケルセチン高含有タマネギの水抽出液に含まれる未知の PPARγ 活性化因子の化学構造とその生理活性を明らかにすることを目的に行われた。

1. タマネギ抽出物による PPAR（α, δ 及び γ）活性化の評価

タマネギ水抽出物が核内受容体 PPAR（α、δ 及び γ）を活性化するか評価するために、ルシフェラーゼリガンドアッセイを行った。その結果、 タマネギ水抽出物は、PPARα 及び PPARγ を活性化し、その活性は濃度依存的に上昇した。一方で、PPARδ は活性化しなかった。この結果から、タマネギ水抽出物には PPARα, PPARγ を活性化する因子(生理活性化合物)が含まれると考えられた。

2. PPARγ を活性化する化合物の単離と構造決定

生重量 13 kg のタマネギをスライスし、大型凍結乾燥機で凍結乾燥した。得られた凍結乾燥サンプル（1.2 kg）を超純水（8 L）に浸漬し、4° C で 3 日間静置による抽出を行った。水溶液はガーゼろ過し、得られたろ液をブフナー漏斗でろ過した。ろ液の水抽出物を種々のカラムクロマトグラフィーに供し、化合物 **1**（60 mg）を白色固体として得た。化合物 **1** の HRESIMS 分析の結果、*m/z* 353 に $[M+Na]^+$ の疑似分子イオンピークが確認され、精密分子量の測定結果からその分子式は $C_{18}H_{34}O_5$ であると決定した。化合物 1 の化学構造を決定するために ^{1}H-NMR 及び ^{13}C-NMR による観測を実施し、COSY、HMQC、HMBC 及び NOESY による二次元 NMR による相関を確認した。化合物 1 のアンモニウム塩を調製し比較したところ、報告のピネリン酸のアンモニウム塩と ^{1}H、^{13}C-NMR データ、ならびに比旋光度値（$[\alpha]^{25}_D$ -8.8（c 1.0, MeOH））に良い一致を確認した。よって、化合物 **1** の化学構造を (9*S*,12*S*,13*S*)-(10*E*)-9,12,13-trihydroxyoctadec-10-enoic acid（ピネリン酸）であると、本研究によって同定された。

3. ピネリン酸(1)による PPARγ 及び PPARα 活性化の評価

前述のように、活性化分画の主成分としてピネリン酸(**1**)を単離精製したが、ピネリン酸(**1**)が核内受容体 PPARs のリガンドとして機能し活性化するという報告はなく、PPAR 活性化に関しては未検定であった。そこでルシフェラーゼリガンドアッセイにより、ピネリン酸(**1**)が核内受容体 PPAR を活性化するか否かを評価した。その結果、ピネリン酸(**1**)は PPARα ならびに PPARγ を活性化すること、また、濃度依存的に高い活性化能を示し 1000μM で非常に高い活性化を示すことが、本研究によって明らかにされた。

ピネリン酸(**1**)の生物活性に関する研究は、ワクチンの免疫作用を高める免疫賦活化作用(アジュバント作用)について詳細な研究がなされている。さらに本研究によって、ピネリン酸(**1**)が PPARα 及び PPARγ を活性化することが初めて明らかにされた。本結果は、食品に含まれる機能性成分についての新たな知見を与えたものであると言える。よって、審査員一同は、土居幹生が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。