



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Alleviation of arsenic-induced toxicity by curcumin and D-pinitol, the main components of the herbs commonly used in Bangladesh, and their mechanism [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Md., Shiblur Rahaman
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(環境科学)
Dissertation Number	甲第14188号
Issue Date	2020-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/79629
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Md._Rahaman_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士 (環境科学)

氏 名 Md. Shiblur Rahaman

審査委員	主査	特任准教授	藏 崎 正 明
	副査	教 授	沖 野 龍 文
	副査	教 授	野 呂 真一郎
	副査	准教授	豊 田 和 弘
	副査	准教授	根 岸 淳二郎
	副査	特任教授	斎 藤 健

学 位 論 文 題 名

Alleviation of arsenic-induced toxicity by curcumin and D-pinitol, the main components of the herbs commonly used in Bangladesh, and their mechanism

(バングラデシュで日常的に用いられているハーブの主成分であるクルクミンと D-ピニトールによるヒ素誘発毒性の緩和とそのメカニズム)

ヒ素毒性およびヒ素関連の健康への影響は、五大大陸全ての国に影響を及ぼしている公衆衛生上の重要な懸念であり地球規模の問題です。自然発生あるいは人為的活動による水環境におけるヒ素汚染は、人間の健康に脅威をもたらしています。飲料水や食品による急性および慢性のヒ素曝露は、細胞毒性、代謝毒性および生理学的毒性を引き起こす可能性があります。現在までのところ、ヒ素関連疾患に応用できる費用対効果の高い治療法はありません。キレート療法はヒ素関連疾患のよく知られた治療法ですが、コストがかかり、いくつかの望ましくない副作用が見られています。過去数十年の間に、栄養学分野への関心は深まり、ヒ素毒性を低減する能力を備えた新規の天然生物活性化合物が探索されています。本論文の仮説として、天然の栄養補助食品を含んだバランスの取れた食事は、ヒ素毒性に対する費用効果が高く安全な治療法に成り得ると考えています。本研究では、その候補としてバングラデシュで多く使われる食品に含まれ、抗酸化作用が知られているD-ピニトールとクルクミンを取り上げ、毒物学研究のモデル細胞株としてよく用いられるPC12細胞におけるヒ素毒性に対する効果が研究されました。

第2章では、ヒ素誘発毒性に対する大豆に含まれるD-ピニトールの改善効果がPC12細胞を用いて検討されています。D-ピニトール (1、5および50 μ M) とヒ素 (5 μ M) の同時曝露により、細胞生残率が向上し、DNA損傷が減少し、グルタチオン (GSH) レベルとグルタチオン還元酵素 (GR) が増加することにより、PC12細胞をヒ素誘発細胞毒性から保護しました。ウェスタンブロット分析によると、D-ピニトールとヒ素を同時曝露すると、生存因子、つまりmTOR, p-mTOR, Akt, p-Akt, NF- κ B, Nrf2, ERK1, GRおよびBcl-xを上方制御し、細胞死促進因子であるp53, Bax, 細胞質内チトクロームc量およびLC3を下方制御することでヒ素誘発のアポトーシスを抑制し、オートファジーを減少させることが明らか

になりました。

続いて、第3章ではヒ素誘発毒性に対するスパイスのターメリックの主成分であるクルクミンのヒ素誘発細胞毒性に対する保護効果が研究されています。PC12細胞を24時間ヒ素 (10 μ M) で処理すると、PC12細胞の細胞生残率および細胞内GSHレベルが有意に減少し、DNA断片化が増加することによりアポトーシス細胞死が誘導されました。このことは、アネキシンVを用いたフローサイトメトリーの結果からも確認されました。さらに、ヒ素 (10 μ M) 曝露は生存因子であるmTOR, Akt, Nrf2, ERK1およびBcl-xを大幅に下方制御し、細胞死促進因子であるULK, LC3, p53, Bax, カスパーゼ9および切断されたカスパーゼ3を上方制御しました。そのことで最終的にオートファジー由来のアポトーシスを引き起こしました。しかし、クルクミン (2.5 μ M) 前処理 (1時間) してヒ素 (10 μ M) を曝露すると、細胞生残率および抗酸化防御システムを増加させ、DNA損傷を減少させることにより、PC12細胞をヒ素誘発細胞毒性から保護しました。このことはウェスタンブロット解析においてヒ素曝露前のクルクミン処理により、生存因子を上方制御し、細胞死因子を下方制御していることから確かめられ、クルクミンがNrf2抗酸化シグナル伝達経路を通じて抗酸化特性を示し、オートファジー/アポトーシスの調節を介してPC12細胞におけるヒ素誘発毒性を低減することを示しました。

クルクミンとD-ピニトールは、しばしば例えばビーンズカレーと一緒に消費されています。このことから、クルクミンとD-ピニトールを同時曝露すると、ヒ素毒性に対し相加的あるいは相乗的に効果を発揮するのではないかという期待があります。したがって、第4章では、クルクミンとD-ピニトールの併用投与が、ヒ素毒性に対してどのような保護効果をもたらすのかが調べられました。結果として、クルクミンまたはD-ピニトールの共前投与により、ヒ素の誘発された細胞生残率の低下が改善され、DNA損傷が減少し、GSHレベルが増加することによりヒ素誘発細胞毒性を減少させることが確かめられました。ウェスタンブロット分析により、ヒ素曝露に先んじてクルクミンおよびD-ピニトールを共投与することで、生存因子であるmTOR, Akt, Nrf2, ERK1, Bcl2, Bcl-xおよびXIAPの上方制御および細胞死促進因子であるp53, Bax, カスパーゼ9および切断されたカスパーゼ3の下方制御されることによりヒ素誘発性細胞死を有意に阻害したことを示しました。これらの発見は、クルクミンとD-ピニトールがそれぞれ単独で投与されるより、より効果的にPC12細胞をヒ素誘発細胞毒性から保護することを示しました。しかしながら、クルクミンとD-ピニトールによる共投与の保護効果は、予想されたほど強力ではありませんでした。

ヒ素の曝露は深刻な健康被害をもたらし、バランスの取れた食事の欠如はヒ素の毒性効果を誇張する可能性があります。天然の生理活性化合物をバランスよく含んだ適切な食事摂取は、ヒ素毒性を軽減する可能性を示しました。本研究は、ヒ素毒性に苦しむバングラデシュにおいてよく用いられる食品に含まれる化合物クルクミンとD-ピニトールがヒ素の毒性を軽減する機構を明らかにしました。将来、この知見がバングラデシュでの生活改善に活かされることが期待されます。

審査委員一同は、これらの成果を評価し、また研究者として誠実かつ熱心な人柄であり、大学院博士課程における研鑽や修得単位などもあわせ、申請者が博士 (環境科学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定しました。