T2R2 東京工業大学リサーチリポジトリ
Tokyo Tech Research Repository

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	植物由来12-オキソ-フィトジエン酸の植物ならびに動物細胞における機能に関する研究
Title(English)	
著者(和文)	中野希
Author(English)	Nozomi Taki-Nakano
出典(和文)	学位:博士（理学）, 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第10294号, 授与年月日:2016年9月20日, 学位の種別:課程博士, 審査員:太田 啓之,久堀 徹,駒田 雅之,中戸川 仁,増田 真二,下嶋 美恵
Citation(English)	Degree:, Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10294号, Conferred date:2016/9/20, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

Powered by T2R2 (Tokyo Institute Research Repository)

（博士課程）
Doctoral Program

論 文 要 旨

THESIS SUMMARY

専攻： Department of	生体システム　　専攻	申請学位（専攻分野）： Academic Degree Requested	博士　（　理学　） Doctor of
学生氏名： Student's Name	中野　希	指導教員（主）： Academic Advisor(main)	太田　啓之　教授
		指導教員（副）： Academic Advisor(sub)	

要旨（和文 2000 字程度）
Thesis Summary（approx.2000 Japanese Characters ）

本論文は「植物由来 12-オキソ-フィトジエン酸の植物ならびに動物細胞における機能に関する研究」と題し、12-オキソ-フィトジエン酸（OPDA）が植物ではジャスモン酸（JA）やその類縁体とは異なる遺伝子発現制御を担うこと、動物細胞においては抗酸化作用と抗炎症作用を持つことを明らかにしたものである。

植物ホルモンの 1 つである JA やジャスモン酸メチル（MeJA）は、病傷害応答や葯の開裂など多様な生理現象に関与することが知られている。一方、JA や MeJA の生合成前駆体である OPDA に関しては、詳細な生理機能の解析はなされていないため、植物ならびに動物における OPDA の生理機能の解明を目的とし研究を行った。

1. 植物シロイヌナズナにおける OPDA による JA/MeJA 非依存の遺伝子群発現制御

シロイヌナズナへ OPDA、JA、MeJA を処理し、DNA マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析からそれぞれの処理で発現制御を受ける遺伝子を抽出したところ、JA や MeJA には発現の制御を受けず、OPDA にのみ制御を受ける OPDA 特異的応答遺伝子群（ORG 群）が存在することが明らかとなった。次に、傷害処理時において発現が変化する遺伝子群を DNA マイクロアレイにより同定し、ORG 群と比較したところ ORG 群の約半数が傷害時に応答しており、OPDA が傷害応答時に何らかの役割を果たすことが示唆された。そこで OPDA 及び JA、MeJA を合成できない *aos* 変異体、OPDA は合成できるが JA と MeJA を合成できない *opr3* 変異体に対して傷害処理を行い ORG の発現を調べたところ、*aos* 変異体の場合のみ、野生型と比較して発現量に差が認められ、OPDA が傷害応答時に ORG の発現を制御するシグナル伝達因子として機能していることが示唆された。JA と MeJA の情報伝達に必要不可欠な因子として coronatine insensitive 1（COI1）がある。そこで OPDA による情報伝達に COI1 が関与しているかを調べるために *coi1* 変異体に対して OPDA 処理を行い ORG の発現を調べた。その結果、野生型と同様の応答が認められ OPDA の情報伝達は COI1 非依存的であることが示唆された。以上のことから、OPDA が傷害応答時に JA や MeJA とは異なる独自のシグナル情報伝達因子として機能することが示唆された。

2. ヒト神経細胞における酸化ストレス誘発細胞障害に対する OPDA の保護作用

ヒト神経芽細胞腫由来 SH-SY5Y 細胞に対して、ジャスモン酸類を処理した後、過酸化水素刺激を行い、細胞障害性を測定した。その結果、OPDA を処理した細胞でのみ過酸化水素刺激による細胞死が抑制された。さらに OPDA は、過酸化水素刺激によるミトコンドリア膜電位の低下や活性酸素の産生を抑制し、酸化ストレスに対して保護的な作用を示した。OPDA の保護作用メカ

ニズムを解明するために、酸化ストレスに対する防御機構において重要な役割を担う転写因子 nuclear factor erythriod2 related factor 2（Nrf2）との関わりを検討した。SH-SY5Y 細胞に対して OPDA 処理を行うと Nrf2 の活性化が認められ、グルタチオンの蓄積や、抗酸化酵素である heme oxygenase-1、NADPH quinone oxidoreductase 1 の発現誘導といった Nrf2 経路下流の抗酸化ストレス応答の誘導が認められた。さらに SH-SY5Y 細胞へ Nrf2 の siRNA を導入したところ、OPDA による過酸化水素刺激に対する細胞死の抑制効果が減弱した。以上のことから、OPDA は神経細胞において Nrf2 経路を活性化することにより、酸化ストレスに対する保護作用を持つことが示唆された。

3. マウスミクログリア細胞における lipopolysaccharide 誘発炎症に対する OPDA の保護作用

マウスミクログリア MG5 細胞に対して、ジャスモン酸類を処理した後、lipopolysaccharide（LPS）により刺激を行い、炎症を惹起させ、炎症性サイトカインである interleukin-1β（IL-1β）、interleukin-6（IL-6）、tumor necrosis factor-α（TNF-α）や神経障害性因子である nitric oxide（NO）の産生量を測定した。その結果、OPDA を処理した細胞でのみこれらの産生が抑制された。炎症反応において、IL-1β、IL-6、TNF-α 等の発現制御を担う重要な転写因子として NF-κB がある。NF-κB は IκBα の分解により活性化されるが、OPDA は MG5 細胞において LPS 刺激による IκBα の分解を抑制し、NF-κB シグナル経路の活性化を抑制した。また、LPS 刺激誘発性の炎症に、MAPK シグナルの活性化が関与することが報告されている。ミクログリア MG5 細胞において、LPS 刺激を行うと MAPK の 1 つである p38 のリン酸化が生じたが、OPDA はこれを抑制した。SOCS ファミリーは炎症性サイトカイン分泌を負に制御する重要な制御因子であるが、MG5 細胞に対し OPDA を処理したところ、SOCS-1 の発現誘導が認められた。以上のことから、OPDA はミクログリア細胞において、NF-κB 活性化の抑制と p38 リン酸化の抑制、ならびに SOCS-1 発現誘導を引き起こし、LPS 刺激による炎症性サイトカインや神経障害性因子の産生の抑制といった、抗炎症作用を持つことが示唆された。

動物細胞において、酸化ストレスと炎症は種々の疾患の発症や進展につながると考えられている。特に神経変性疾患においては、神経細胞とミクログリアにおける酸化ストレスと炎症がそれぞれ作用しあうことで、神経細胞の障害とミクログリアにおける炎症が増悪化し、疾患の発症や進展に関与していることが知られている。従って、抗酸化ストレス作用ならびに抗炎症作用を併せ持つ OPDA は神経変性疾患に有効である可能性が考えられる。

以上の結果から、OPDA は植物ならびに動物細胞において独自の生理活性作用を持つことが明らかとなった。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。
Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ（T2R2）にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。
Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

（博士課程）
Doctoral Program

論 文 要 旨

THESIS SUMMARY

専攻： Department of	生体システム　　専攻	申請学位（専攻分野）： Academic Degree Requested	博士　（　理学　） Doctor of
学生氏名： Student's Name	中野　希	指導教員（主）： Academic Advisor(main)	太田　啓之　教授
		指導教員（副）： Academic Advisor(sub)	

要旨（英文 300 語程度）
Thesis Summary（approx.300 English Words ）

Jasmonic acid (JA) and methyl jasmonate (MeJA) are well known plant-derived oxylipins that act as key signaling compounds in plant immunity, germination, and development. 12-oxo-phytodienoic acid (OPDA) is a cyclopentenone precursor of jasmonic acid. However, little is known about the physiological function of OPDA in plants and mammalian cells.

First, I studied about OPDA-dependent gene expression in plant Arabidopsis. I used microarray analysis to compare responses to JA, MeJA, or OPDA treatment, and identified a set of genes (ORGs) that specifically responded to OPDA but not to JA/MeJA. One-half of the ORGs were induced by wounding. Analysis using mutants deficient in the biosynthesis of OPDA or JA revealed that OPDA functions as a signaling molecule in the wounding response. Unlike signaling via JA/MeJA, OPDA signaling was CORONATINE INSENSITIVE 1 independent. These results indicate that an OPDA signaling pathway functions independently of JA/MeJA signaling and is required for the wounding response in Arabidopsis.

Next, I investigated whether OPDA could protect human neuroblastoma SH-SY5Y cells against oxidative stress-induced toxicity. OPDA suppressed H_2O_2-induced- cytotoxicity, ROS increase, and mitochondrial membrane potential decrease. In addition, OPDA induced the nuclear translocation of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) and increased intracellular glutathione level and the expression of the Nrf2-regulated phase II antioxidant enzymes including heme oxygenase-1, NADPH quinone oxidoreductase 1, and glutathione reductase. These results demonstrate that OPDA suppresses oxidative stress-induced death of human neuroblastoma cells via activation of the Nrf2 pathway.

Finally, I investigated whether OPDA could protect mouse microglial MG5 cells against lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation. OPDA suppressed LPS-induced expression of the typical inflammatory cytokines such as interleukin-1β, interleukin-6, and tumor necrosis factor α. In addition, OPDA reduced LPS-induced nitric oxide production through a decrease in the level of inducible nitric oxide synthase. Further mechanistic studies showed that OPDA suppressed neuroinflammation via multiple pathways, including suppression of nuclear factor κB, inhibition of p38, and activation of SOCS-1 signaling.

Therefore, OPDA, which has both antioxidative and anti-inflammatory effects in mammalian cells, is a potential therapeutic compound for treatment of inflammatory- and oxidative stress-related diseases.

備考 ： 論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。
Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ（T2R2）にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。
Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).