

学位論文題名

Studies on the functionality of
alk(en)yl thiosulfates derived from garlic and onion

(ニンニクおよびタマネギに由来する
有機チオ硫酸化合物の機能性に関する研究)

学位論文内容の要旨

近年、ヒトの健康維持の目的で、天然物を有効利用しようとする機運が高まってきている。天然物は、医薬品に比較して副作用が少ないために、医師や専門家の指示なしに誰もが手軽に利用できる利点を有しているからである。その中でも、ニンニクおよびタマネギの有用性や治療薬としての効果が注目されている。特に、これらの野菜に含まれる化合物の腫瘍や心血管系の疾患に対する治療および予防効果に、多くの注目が集まってきている。

一方、イヌおよびその他の家畜においては、ニンニクおよびタマネギを摂取することによって、赤血球の酸化傷害に起因する溶血性貧血が発症することが知られている。しかし、これらの野菜がヒトにはそのような毒性を示すという報告はない。本研究で使用された有機チオ硫酸化合物、すなわち sodium 2-propenyl thiosulfate (2PTS) および sodium n-propyl thiosulfate (NPTS) は、それぞれ、犬に溶血性貧血を惹起する因子として、ニンニクおよびタマネギの成分中から同定された天然物である。本研究の目的は、これら2種類の有機チオ硫酸化合物の有効な生理活性（機能性）を調べ、その発現メカニズムを明らかにすることであった。本研究では、ニンニクおよびタマネギが有していると考えられている効能に関連して、有機チオ硫酸化合物の機能性を順次調査した。

第1章では、有機チオ硫酸化合物の抗腫瘍効果について *in vitro* で検討した。その結果、これらの化合物が、ヒトの腫瘍細胞株 (WiDr, 293 および HL-60) の増殖を、濃度依存性に阻害することが明らかとなった。2PTS の抗腫瘍効果は、総じて NPTS よりも強かったが、WiDr 細胞に対しては両化合物の効果は同程度であった。また、2PTS および NPTS は、HL-60 細胞に酸化傷害を及ぼし、アポトーシスを誘導した。そのアポトーシスの程度は、酸化傷害および細胞毒性の程度と一致していたため、有機チオ硫酸化合物は、酸化傷害に起因するアポトーシスの誘導によって、腫瘍細胞の増殖を阻害すると考えられた。

第2章では、イヌおよびヒトの血小板を用いて、有機チオ硫酸化合物の血小板凝集阻害効果に

ついて *in vitro* で検討した。その結果、2PTS および NPTS を添加することによって、ADP 依存性血小板凝集が、イヌでは 0.01 mM ($P < 0.01$) で、ヒトでは 0.001-0.1 mM ($P < 0.05$) で、対照群と比較して有意に阻害された。しかし、有機チオ硫酸化合物の濃度が 1 mM に上昇すると、イヌおよびヒト血小板の凝集が、対照群のレベルまで回復する傾向が認められた。次に、血小板凝集に対するこのような調節機能のメカニズムを明らかにするために、2PTS による血小板中のシクロオキシゲナーゼ (COX) および還元型グルタチオン (GSH) に及ぼす効果を調べた。その結果、血小板の COX 活性は、2PTS の添加量が 0.1 mM までは濃度依存性に有意に減少し、2PTS が 1 mM に上昇すると対照群のレベルに回復する傾向を示した。一方、血小板の GSH 濃度は、2PTS の添加量に応じて減少しつづけ、0.1 mM ($P < 0.05$) および 1 mM ($P < 0.001$) で有意な低下が観察された。さらに、この血小板 GSH 濃度の低下が COX 活性に及ぼす影響を調べるため、市販の精製 COX-1 と GSH の相互作用を検討した結果、GSH が直接に COX-1 活性を阻害していることが明らかとなった。以上の成績から、有機チオ硫酸化合物には、ADP 依存性血小板凝集を阻害する効果があることが明らかとなり、この機能性は心血管系の疾患の予防に役立つと考えられた。2PTS の有する血小板凝集阻害効果は COX の阻害に起因のものであったが、同時に血小板 GSH 濃度に影響することにより、間接的に COX 活性に対する過剰な機能発現を抑制し、血小板凝集に対する調整機能を発揮していると推測された。

最後の第 3 章では、イヌおよびヒト多形核白血球の活性酸素生成に対する効果を調べた。その結果、有機チオ硫酸化合物は、phorbol 12-myristate 13-acetate によって刺激されたイヌ多形核白血球の活性酸素生成量を、対照群と比較して有意に (0.1 および 1 mM 2PTS; $P < 0.005$, 1 mM NPTS; $P < 0.05$) 増加させ、その反応速度を有意に (1 mM 2PTS および 0.01-1 mM; $P < 0.05$) 増加させた。しかし、有機チオ硫酸化合物の添加量が 10 mM に上昇すると、逆に対照群のレベルに回復する傾向が認められた。一方、ヒト多形核白血球を用いた場合には、2PTS および NPTS の活性酸素生成量に及ぼす有意な変化が認められなかったものの、2PTS による反応速度の増加 (1 および 10 mM; $P < 0.05$) が認められたため、2PTS はヒト多形核白血球に対しても活性酸素生成機能を刺激すると推測された。以上の成績から、有機チオ硫酸化合物は、イヌおよびヒト多形核白血球の活性酸素生成機能を刺激増強する効果があることが明らかとなった。

本研究の成績から、有機チオ硫酸化合物である 2PTS および NPTS が、抗腫瘍効果、血小板凝集阻害効果および白血球の活性酸素生成刺激効果 (免疫賦活効果) を有していることが明らかとなった。有機チオ硫酸化合物が有するこれらの複数の機能性は、ヒトの健康増進や福利に役立つと考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 前 出 吉 光
副 査 教 授 藤 田 正 一
副 査 助 教 授 稲 波 修
副 査 助 教 授 大 和 修

学 位 論 文 題 名

Studies on the functionality of alk(en)yl thiosulfates derived from garlic and onion

(ニンニクおよびタマネギに由来する
有機チオ硫酸化合物の機能性に関する研究)

本論文は、犬に溶血性貧血を惹起する因子として、ニンニクおよびタマネギの成分中から同定された有機チオ硫酸化合物、すなわち sodium 2-propenyl thiosulfate (2PTS) および sodium *n*-propyl thiosulfate (NPTS) の有効な生理活性（機能性）を調べ、その発現メカニズムの解明を試みたものである。

論文提出者は、はじめに、有機チオ硫酸化合物の抗腫瘍効果について検討した。その結果、これらの化合物が、3種類のヒト腫瘍細胞株の増殖を、濃度依存性に阻害することを明らかにした。また、有機チオ硫酸化合物は、腫瘍細胞に酸化傷害を及ぼし、アポトーシスを誘導したことから有機チオ硫酸化合物は、酸化傷害に起因するアポトーシスの誘導によって、腫瘍細胞の増殖を阻害すると推測した。次に、イヌおよびヒトの血小板を用いて、有機チオ硫酸化合物の血小板凝集阻害効果について検討した結果、低濃度（0.001-0.1 mM）の有機チオ硫酸化合物を添加することによって、ADP 依存性血小板凝集が阻害された。しかし、有機チオ硫酸化合物の濃度が 1 mM に上昇すると、血小板凝集が対照群のレベルまで回復する傾向が認められた。有機チオ硫酸化合物の有する血小板凝集阻害効果は、シクロオキシゲナーゼ（COX）の阻害に起因するものであった。さらに、高濃度域においては、血小板の還元型グルタチオン濃度を低下させることにより、間接的に COX 活性を回復させて、血小板凝集に対する調整機能を発揮した。最後に、イヌおよびヒト多形核白血球の活性酸素生成に対する効果を調べた結果、有機チオ硫酸化合物は、比較的低濃度（1 mM 以下）で多形核白血球の活性酸素生成を刺激し、その反応速度を増加させたことから、有機チオ硫酸化合物は、イヌおよびヒト多形核白血球の活性酸素生成機能を刺激増強する効果があることを明らかにした。

以上のように、本論文は有機チオ硫酸化合物である 2PTS および NPTS が、抗腫瘍効果、血小板凝集阻害効果および白血球の活性酸素生成刺激効果（免疫賦活効果）を有していることを明らかにしたものであり、博士論文にふさわしい内容と認められた。また論文提出者は関連分野の口答試問にも的確に応答した。よって審査委員一同は、上記博士論文提出者張慧淑氏の博士論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第 6 条の規程による本研究科の行う博士論文の審査等に合格と認めた。