

氏 名	Xu Yuhang		
授与した学位	博 士		
専攻分野の名称	学 術		
学位授与番号	博甲第	7 1 4 7	号
学位授与の日付	2 0 2 4 年 9 月 2 5 日		
学位授与の要件	環境生命科学研究科 農生命科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)		
学位論文の題目	Evaluation of quercetin and its intestinal catabolites as potential enhancers of acetaldehyde resistance (ケルセチンとその腸内異化物のアセトアルデヒド耐性増強剤としての評価)		
論文審査委員	教授 田村 隆	教授 中村 宜督	准教授 中村 俊之 教授 村田 芳行
学位論文内容の要旨			
<p>In the current research, the protective effect of quercetin was evaluated using the cultured hepatocyte model with aldehyde dehydrogenase (ALDH) isozyme deficiency unique to East Asian population. The ALDH isozyme-deficient mutants (<i>aldh2-kd</i> and <i>aldh1a1-kd</i>) were established via CRISPR/Cas9 genome editing and limiting dilution method. Because of the protein translation deficiency induced by genomic modification, the ALDH2 and ALDH1A1 protein was drastically lost in <i>aldh2-kd</i> and <i>aldh1a1-kd</i> cells. The pretreatment of quercetin significantly inhibited the acetaldehyde-induced cytotoxicity not only in wild type, but also in each mutant. The treatment of quercetin itself had an ability to enhance the total ALDH activity in <i>aldh2-kd</i> like wild type, but did not in <i>aldh1a1-kd</i>. ALDH1A1 might play an important role in the cytoprotection against acetaldehyde by quercetin in the ALDH2-deficient hepatocytes. Thus, quercetin is a potential candidate for improving the symptoms caused by ALDH2 polymorphism-dependent alcohol intolerance, which is unique to East Asians. In addition, the ALDH isozyme-deficient mutants are promising cultured cell models for region-specific alcohol intolerance.</p> <p>As the major microbiota catabolites of quercetin, 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) and 3-hydroxyphenylacetic acid (OPAC) significantly protected the cells from the acetaldehyde-induced cytotoxicity in three cell lines, despite of difference in the effective concentrations. DOPAC significantly increased the total ALDH activity in the WT and <i>aldh2-kd</i> cells, but not in <i>aldh1a1-kd</i> cells. These results suggested that ALDH1A1 is mainly involved in the DOPAC-enhanced total ALDH activity. The pretreatment of OPAC also enhanced the total ALDH activity in WT and <i>aldh2-kd</i> cells. Taken together, both DOPAC and OPAC may enhance ALDH enzyme activity dependent on the regulation of the ALDH1A1 expression.</p> <p>In conclusion, I provided new insights into quercetin research as follows: (1) Quercetin and its intestinal catabolites (DOPAC and OPAC) have a potential to protect the cells from the acetaldehyde-induced cytotoxicity; (2) Quercetin and its intestinal catabolites are potential enhancers of the ALDH activity; (3) ALDH1A1 mainly contributes to the cytoprotection as well as enhancement of the ALDH activity by quercetin and its intestinal catabolites compared to ALDH2.</p>			

論文審査結果の要旨

ケルセチンは、アルコールの過剰摂取によって誘発されるマウス肝障害を減弱させることから、アルコール関連疾患を改善する可能性が指摘されている。しかし、ケルセチンがアセトアルデヒドの毒性事象にどのような影響を及ぼすかについては、まだ不明な点が多い。そこで本研究では、ケルセチンやその腸内異化物の細胞保護作用を明らかにし、内因性アルデヒド代謝酵素系及び抗酸化システムの制御が保護作用にどのように関与するかを解明しようとしている。

まず、ケルセチンの細胞保護作用を、アルデヒド脱水素酵素（ALDH）アイソザイム欠損の培養肝細胞モデル（aldh2-kdおよびaldh1a1-kd細胞）を用いて評価した。まず、各変異体におけるアセトアルデヒド毒性は、野生株と比較して顕著であることを明らかにした。次に、ケルセチンの前処理は、野生株だけでなく各変異体においてもアセトアルデヒド毒性を有意に抑制したが、aldh1a1-kd細胞ではその効果が有意に減弱することを見出した。一方、ケルセチンは野生株やaldh2-kd細胞の全ALDH活性を増強したが、aldh1a1-kd細胞では変化がなかったことから、ALDH1A1は、ALDH2欠損肝細胞においてケルセチンの細胞保護作用に重要な役割を果たしていることが示唆された。続いて、ケルセチンの主要な腸内細菌異化物（DOPAC、OPAC）についても、野生株だけでなく各変異体においてもアセトアルデヒド毒性を有意に抑制すること、ALDH1A1がこれらの細胞保護作用に重要な役割を果たしていることを明らかにした。以上の結果から、ケルセチンが、東アジア人に特有のALDH2多型依存性アルコール不耐症の改善に有望であることが示唆された。

本研究成果は、ケルセチン及びその腸内細菌代謝物の細胞保護メカニズムについて、その科学的な根拠を提供すると共に、詳細な分子メカニズムを解明した。また、今後の研究の進展により、食品成分のもつ機能性・安全性への科学的理解に大きく貢献することが期待される。従って、本研究内容は、学術的な価値のみならず、実用に結びつく技術の礎となるものであり、本審査委員会は、本論文が博士（学術）の学位論文に値するものと判断した。