

目次

第1章 緒論	1
1.1 背景目的	1
1.2 菊花の種類	2
1.3 フィトケミカルの生体調節作用	3
1.4 中枢神経の脆弱性・可塑性・炎症と神経疾患	4
1.5 引用文献	9
第2章 実験方法	11
2.1 試薬	11
2.2 実験材料と試料の調製	11
2.3 化学分析	12
2.3.1 フォーリン・デニス法	12
2.3.2 BCA 法	12
2.3.3 活性酸素消去能の評価 (SOD)	12
2.3.4 一酸化窒素	12
2.4 機器分析	13
2.4.1 LC-DAD 分析	13
2.4.2 GC-MS 分析	13
2.5 細胞培養	13
2.5.1 PC12	13
2.5.2 SH-SY5Y 細胞	14
2.5.3 RAW264.7 細胞	14
2.5.4 MG5 細胞・A1 細胞	14
2.5.5 L929 細胞	15
2.6 各種評価法	15
2.6.1 細胞生存率の測定法	15
2.6.2 神経突起伸長活性の評価	15
2.6.3 酸化傷害保護作用の評価	16
2.6.4 抗炎症作用の評価	16
2.6.5 TNF- α のバイオアッセイ	16
2.6.6 クロマチンヌクレオチド DNA 断片化試験	16
2.7 ウェスタンブロット法	17
2.7.1 タンパク質の抽出	17
2.7.2 電気泳動およびイムノブロット	17
2.7.3 各タンパクの WB に用いた一次抗体および希釈倍率	17
2.8 統計処理	18
2.9 引用文献	19
第3章 菊花に含まれるフェノール化合物に関する栽培品種の比較	21
3.1 緒言	21
3.2 結果と考察	22
3.2.1 栽培品種による菊花フェノール化合物の組成および含有量の比較	22
3.2.2 HPLC-DAD による菊花構成フェノール化合物の同定と栽培品種による比較	23
3.2.3 GC-MS による菊花トリテルペノイドの検討と栽培品種による比較	23

3.3 結言	25
3.4 引用文献	36
第4章 菊花抽出物の神経栄養因子様作用に関する栽培品種比較による検討	37
4.1 緒言	37
4.2 実験結果と考察	38
4.2.1 PC12細胞を用いた菊花抽出物の神経栄養因子様作用に関する栽培品種比較による検討	38
4.2.2 菊花抽出物の神経栄養因子様作用に係るシグナル伝達経路の活性化について	39
4.3 結言	41
4.4 引用文献	49
第5章 菊花抽出物の神経細胞に対する酸化傷害保護作用とその栽培品種による比較	51
5.1 緒言	51
5.2 実験結果と考察	53
5.2.1 菊花抽出物の活性酸素消去能における栽培品種の比較	53
5.2.2 菊花抽出物のニューロン細胞に対する酸化傷害保護作用とその栽培品種による比較	54
5.2.3 菊花抽出物による酸化傷害保護および細胞死誘導に関する検討	56
5.2.4 菊花抽出物の酸化傷害保護作用におけるNrf2依存抗酸化酵素誘導に関する検討	58
5.3 結言	60
5.4 引用文献	73
第6章 菊花抽出物の活性化ミクログリア細胞に対する抗炎症作用とその栽培品種による比較	75
6.1 緒言	75
6.2 実験結果と考察	76
6.2.1 免疫細胞における炎症反応誘発条件および菊抽出物の処理濃度条件	76
6.2.2 菊花各抽出画分のLPS刺激マクロファージに対する抗炎症作用の比較	77
6.2.3 栽培品種による菊花抽出画分のマクロファージに対する抗炎症作用の比較	78
6.2.4 栽培品種による菊花抽出画分のミクログリア細胞に対する抗炎症作用の比較	80
6.2.5 菊花抽出物の神経栄養因子分泌に対する作用	82
6.3 結言	82
6.4 引用文献	95
第7章 結論	97
謝辞	102

略語表

本論文において、次の略語を使用した

- AD: Alzheimer's disease, アルツハイマー病
ARE: antioxidant responsive element, 抗酸化物質応答配列
ATCC: American Type Culture Collection
AUC: area under curve, 曲線下面積
BDNF: brain-derived neurotrophic factor, 脳由来神経栄養因子
BSA: bovine serum albumin, 牛血清アルブミン
DMSO: dimethyl sulfoxide, ジメチルスルホキシド
ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay, 酵素免疫測定法
Erk1/2: extracellular-signal-regulated kinase 1/2, 細胞外シグナル調節キナーゼ 1/2
FBS: fetal bovine serum, 牛胎仔血清
GDNF: glial cell line-derived neurotrophic factor, グリア細胞由来神経栄養因子
GST: glutathione S-transferase, グルタチオン S-転移酵素
HPLC: highperformance liquid chromatography, 高速液体クロマトグラフィー
HS: horse serum, 馬血清
Keap1: Kelch-like ECH-associated protein 1, ECH-関連蛋白質 1 のようにケルチ
MEK: MAPK/ ERK1/2 kinase, MAPK/ ERK1/2 キナーゼ
NF: neurofilament, ニューロフィラメント
NGF: nerve growth factor, 神経成長因子
Nrf2: NF-E2-related factor 2 [NFE2L2], 2 関連因子
NT: nontreatment, 未処理
PD: Parkinson's disease, パーキンソン病
PI3K: phosphatidylinositol 3-kinase, ホスファチジルイノシトール 3-キナーゼ
PKC: protein kinase C, プロテインキナーゼ C
SDS-PAGE: sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動
TMS: trimethylsilyl, トリメチルシリル
TPA: 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-acetate
WB: Western blotting, ウェスタンブロッティング