

( 続紙 1 )

京都大学	博士 ( 農 学 )	氏名	関口 博太
論文題目	Suppressive Effects of Food Phytochemicals on Adhesion of <i>Helicobacter pylori</i> ( <i>Helicobacter pylori</i> の接着に対する食品因子の抑制効果)		
(論文内容の要旨)			
<p>1981 年以来、胃がんは長年にわたってわが国で死因の第 1 位を占めていた。近年では、減少傾向にはあるものの胃がんの死亡率は依然として高く、男女ともに第 2 位である。一方で、胃がんの主たる原因の一つと考えられている <i>Helicobacter pylori</i> の胃粘膜上皮への接着メカニズムは十分に解明されていない。最近、<i>H. pylori</i> の全タンパク質の約 10% を占めるウレアーゼが、胃上皮細胞の CD74 に結合することが報告された。既知の <i>H. pylori</i> のレセプターとは異なり、CD74 への結合は炎症反応を誘導することも指摘されている。CD74 は MHC class II の側鎖であり、フォールディングを制御する役割が知られているが、主に抗原提示細胞においてその機能の研究がなされてきた。その他にも、CD74 は胃がん、腎臓がんなどで過剰発現していることが知られており、腫瘍進行のマーカーとしても報告されている。そこで、本研究では CD74 の発現を制御する物質の探索を試み、その接着抑制効果並びに CD74 発現抑制機構の検討を行なった。本論文の主な内容は以下の通りである。</p> <p>第 1 章では、CD74 発現抑制因子を短期間で効率的に探索するため、ヒト胃がん NCI-N87 細胞における CD74 との親和性を指標とした新規 ELISA 系を構築した。次に、本アッセイ系を用いて、抗炎症作用を有する食品因子のスクリーニングを行なった結果、auraptene などのカンキツ類成分に顕著な活性を見いだした。</p> <p>第 2 章では、auraptene が、<i>H. pylori</i> の細胞接着と炎症細胞の遊走に重要なインターロイキン-8 (IL-8) の産生を有意に減少させるとともに、共培養モデルにおいて <i>H. pylori</i> の接着を抑制するという興味深い知見を得た。MAP キナーゼ (MEK) 阻害剤を用いた検討から、CD74 の発現には MEK/ERK 経路が関与していることが示唆され、auraptene は本経路を抑制した。一方、siRNA により CD74 の発現を低下させた結果、auraptene と同等の <i>H. pylori</i> 接着抑制効果を認めたと、IL-8 の産生は逆に増強した。CD74 の発現にはマクロファージ遊走阻止因子 (MIF) の分泌の関与が示唆されているが、近年 MIF は表皮成長因子受容体 (EGFR) とも結合することが報告されている。そこで、MEK 及び EGFR 阻害剤を用いて検討した結果、本細胞における IL-8 の産生には EGFR を介したバイパス経路の存在が示唆され、また EGFR の下流に ERK1/2 が存在することも推察された。</p> <p>第 3 章では、<i>H. pylori</i> 感染 C57BL/6 マウスを用いて、接着及び炎症関連因子の発現や産生に対する auraptene の抑制効果を検討した。<i>H. pylori</i> 感染 C57BL/6 マウスにおいて、感染前 auraptene 投与群では、低用量群でも生菌数の減少を認め、胃炎や潰瘍の形成を抑制した。また、感染マウスにおいて、CD74 mRNA 発現は増加したが、auraptene はそれを抑制し、生菌数の減少への寄与が推察された。同時に、種々の炎症性サイトカインの発現や産生の低下も認めた。</p> <p>以上のように、本研究では CD74 の発現を抑制する新たな食品因子を見だし、<i>H. pylori</i> の接着やケモカイン産生を制御する新規の作用機構を明らかにした。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

多くの疫学調査により、*H. pylori* の感染が胃炎や胃潰瘍、さらには胃がんの発症リスクを高めることが明らかになってきているが、*H. pylori* の接着メカニズムは十分に解明されていなかった。近年、CD74 が *H. pylori* のレセプターとして同定され、さらに炎症応答にも関与するため、CD74 の発現を抑制する食品因子の探索は接着のみならず、炎症も抑制する点からも有効である。*H. pylori* の接着に着目して胃がんの予防戦略を提唱している例は少なくないが、CD74 のような *H. pylori* に特異的な生体分子に着眼した研究例はこれまでに報告されていない。また、CD74 は抗原提示などの免疫系においても重要であり、近年では MIF のレセプターとしても知られ、がんや腫瘍のマーカーとしてもその汎用性が報告されている。本研究では、*H. pylori* の接着分子機構に基づいた予防法を提案し、多様な食品因子を評価することによりその有効性を提唱するに至った。今回の結果は、*H. pylori* に対する制御機構のみならず、がんなどの制御を考える上でも重要な知見を得ていると考えられる。評価すべき主要な点は以下の通りである。

1. ヒト胃がん培養細胞を用いて、auraptene、bergamottin、nobiletin などのカンキツ成分に CD74 の発現抑制効果を見いだした。食品因子などの低分子化合物に CD74 発現抑制物質を見いだしたのは本研究が最初である。
2. Auraptene の標的として ERK1/2 を見だし、それを介して CD74 の発現低下、*H. pylori* の接着と IL-8 産生を抑制したことを明らかにした。また、CD74 の発現低下によって、*H. pylori* の接着が減少する一方で、IL-8 産生は逆に増強したが、これはバイパス経路である EGFR/MEK/ERK の活性化に起因するというユニークなメカニズムを提唱した。
3. *H. pylori* 感染実験モデルにおいて、感染前 auraptene 投与群では、低用量群でも生菌数の減少を認め、胃炎や潰瘍の形成を抑制することを示した。また、感染マウスにおいて、CD74 mRNA 発現は増加したが、auraptene はそれを抑制し、生菌数の減少に寄与するというメカニズムに基づいた効果を実証した。胃炎や胃潰瘍の形成を抑制した原因として、auraptene の MIF、IL-1 $\beta$ 及び MIP-2 などの炎症性サイトカインの発現や産生の抑制がその一因であることを示した。

以上のように、カンキツ成分の一つである auraptene は、*H. pylori* の接着のみならず、炎症応答も抑制したので、胃がんリスクの低減に寄与できる可能性が提示された。CD74 を標的とした本研究のアプローチは、主として抗菌活性に焦点が当てられていた既存の *H. pylori* 対策に新たな視点を与える可能性があると考えられる。これらの結果は、*H. pylori* の胃がんリスク上昇に対する予防策を考える上での基盤的知見となることが期待され、天然物化学、酵素化学、食品機能学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成 22 年 2 月 12 日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

Webでの即日公開を希望しない場合は、以下に公開可能とする日付を記入すること。  
要旨公開可能日： 年 月 日以降