

氏名	かわ ばた きゅう いち 川 畑 球 一
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	農 博 第 1591 号
学位授与の日付	平 成 18 年 11 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	農 学 研 究 科 食 品 生 物 科 学 専 攻
学位論文題目	Suppressive Effects of Citrus Constituents on Matrix Metalloproteinase-7 Production and Underlying Molecular Mechanisms (カンキツ類成分のマトリックスメタロプロテイナーゼ-7産生抑制作用とその分子機構)
論文調査委員	(主 査) 教 授 大 東 肇 教 授 井 上 國 世 教 授 河 田 照 雄

論 文 内 容 の 要 旨

Matrix metalloproteinases (MMPs) は、細胞外マトリックス分解酵素として、生体組織の発生や創傷治癒など重要な生理的作用を担う一方、がん転移関連酵素としても広く知られている。なかでも、MMP-7 (matrilysin) は食道、胃および大腸など様々ながん組織で高発現しており、がん細胞の浸潤・転移に深く関与していると考えられている。さらに、がんの発生自体への寄与も報告されていることから、MMP-7 の産生を抑制する化合物は、発がんならびにがん転移を予防するものとして注目されている。本論文は、proMMP-7 産生抑制成分の探索とその分子機序の解明を目的としたもので、その内容は次のように要約することができる。

第 1 章では、proMMP-7 産生抑制活性成分の探索に関する研究成果が述べられている。ヒト大腸がん細胞株 6 種のなかで顕著な MMP-7 mRNA の発現を示した HT-29 細胞を用い、44 種の天然および合成化合物について proMMP-7 産生抑制活性を評価した。その結果、5 種の化合物 (nobiletin, auraptene, quercetin, sulindac sulfone および valeryl salicylate) に強力な抑制活性を見いだした。これらの活性成分のうち 2 種 (nobiletin および auraptene) がカンキツ類由来成分であることに着目し、これらの活性発現機序について、それぞれ第 2 章 (nobiletin) と第 3 章 (auraptene) で、次に要約されるように、論じている。

Nobiletin は濃度依存的に HT-29 細胞内外の proMMP-7 産生を抑制した。さらに、MMP-7 mRNA の発現をほぼ完全に抑制していたことから、転写段階での制御が予想された。次いで、MMP-7 mRNA の発現に重要な転写因子の一つである activator protein (AP)-1 の DNA 結合活性を nobiletin は顕著に抑制したことから、AP-1 の DNA 結合活性の低下による MMP-7 mRNA の発現阻害がその作用機序の一つであることを強く示唆した。

Auraptene は濃度依存的に HT-29 細胞内外の proMMP-7 産生量を減少させた。しかしながら、興味深いことに auraptene は、nobiletin とは異なり、MMP-7 mRNA の発現には影響を与えていなかったことから、翻訳段階でタンパク質合成量を低下させていることが示唆された。そこで、翻訳調節シグナルに対する影響を検討したところ、auraptene は 4E binding protein (4EBP) 1 および eukaryotic initiation factor (eIF) 4B のリン酸化を抑制したが、これらの上流因子である Akt/mammalian target of rapamycin 系の活性化には影響を与えていなかった。次に、4EBP1 のもう一つのリン酸化酵素として知られる extracellular signal-regulated kinase (ERK) 1/2 に着目し、siRNA 処理により ERK1 および 2 を個別に、または同時にノックダウンしたところ、ERK2 のそれにより proMMP-7 の産生量と eIF4B のリン酸化レベルが顕著に減少することが判明した。一方、別途 ERK に対する auraptene の影響を調べると、ERK1/2 の活性化は顕著に抑制される。以上の結果から、auraptene は、少なくとも、ERK2 を不活性化することによって proMMP-7 タンパク質の翻訳を抑制するというユニークなメカニズムが強く示唆された。

第 4 章では、動物実験における auraptene の活性評価に関する研究成果が述べられている。Dextran sulfate sodium 誘発

マウス潰瘍性大腸炎モデルの大腸粘膜において、MMP-2、-7 および -9 の活性増加が認められ、auraptene はこれらの増加をほぼ完全に抑制した。この結果は、auraptene が経口投与においても十分効果を発揮しうることを示したものである。

以上のように、本研究結果は、nobiletin および auraptene ががん転移抑制活性成分として期待できることをはじめて示したものであり、動物実験における結果をも踏まえ、著者は、これらを含むカンキツ系果実が発がんおよびがん転移予防を目指す上で非常に有望な機能性食素材であると提起している。

論文審査の結果の要旨

細胞外マトリクス分解酵素である matrix metalloproteinases (MMPs) は、創傷治癒や組織の再生といった生理的作用を担う一方で、がん転移への関与など病理的な一面も有している。MMP-7 (matrilysin) は多くのがん組織で高発現しており、がん細胞の浸潤・転移に加えて、発がん自体への寄与も報告されている。しかしながら、MMP-7 を標的分子とした発がんおよびがん転移予防に関する研究は少ない。本論文は、proMMP-7 産生抑制成分の探索と分子機序の解明を目的としたもので、成果として評価できる点は以下の通りである。

1. MMP-7 mRNA を高発現しているヒト大腸がん由来 HT-29 細胞を用いて、抗酸化もしくは抗炎症活性を有する食品をも含む天然および合成化合物を対象に、MMP-7 産生阻害活性のスクリーニングを行った。その結果、新規 proMMP-7 産生抑制成分として nobiletin, auraptene, quercetin, sulindac sulfone および valeryl salicylate の 5 種を見いだした。Nobiletin と auraptene の 2 種はカンキツ類由来成分であり、カンキツ類の機能性食素材としての重要性を示した点は意義深い。

2. Auraptene の proMMP-7 産生抑制作用の分子機序について詳細な解析を行った。その結果、auraptene は proMMP-7 の翻訳段階に ERK2 の不活性化を介して作用し、その発現を抑制するという極めてユニークな作用様式を見いだした。このような作用機序でタンパク質翻訳調節シグナルに影響を与える食品因子は auraptene がはじめての例であり、本成果は食品成分の生理機能性研究に大きく貢献するものと高く評価できる。

3. Dextran sulfate sodium 誘発マウス潰瘍性大腸炎モデル系により、経口投与による auraptene が MMP-7 (発がんに関連する proMMP-2 および -9 も同時に) の活性増強を抑制することを実証した。本成果は、auraptene が生体においても活性を発揮することを強く示唆したもので、その実用化に対する期待を高めるとともに、これまで動物実験で見いだされていた auraptene の発がん抑制作用の分子機構について新たな知見を与えるものである。

以上のように、本論文は、がん転移関連酵素 MMP-7 の産生抑制成分を探索・同定するとともに、カンキツ類由来成分 nobiletin および auraptene の proMMP-7 産生抑制機構や生体における有効性について新たな知見を見いだしており、その成果は、生命有機化学、天然物化学、酵素化学、食品機能学などの学術分野に貢献するところは大きい。

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18年10月19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。