

氏 名	金 美 恵
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1658 号
学位授与の日付	平 成 19 年 9 月 25 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 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	Studies on Potential Side-effects of Green Tea Catechins on Colitis and Colon Carcinogenesis (大腸炎及び大腸がんに対する緑茶のカテキン類の潜在的副作用に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 入 江 一 浩 教 授 吉 川 正 明 教 授 伏 木 亨

論 文 内 容 の 要 旨

緑茶由来のポリフェノール（GTP）あるいはその主成分であるエピガロカテキン-3-ガレート（EGCG）は、動物実験系などにおいて、抗酸化、抗炎症及び発がん抑制作用を示すことが報告されている。また、多くの疫学調査もこれらの生理作用を支持している。しかしながら近年、EGCGが炎症メディエーターの産生を誘導するという、抗炎症性とは逆の作用も見いだされている。

マトリックスメタロプロテイナーゼ（MMP）は、がん細胞の転移や浸潤に関わる24種類以上のアイソザイムからなる細胞外マトリックス分解酵素である。これらの中で特にMMP-7は、大腸などにおいて、がんの転移のみならず、その発生段階でも重要な役割を果たす特異な酵素であり、proMMP-7としてがん細胞などから分泌され活性型MMP-7へと変換される。これまでにEGCGは、MMP-2及びMMP-9の誘導を抑制することが報告されていたが、MMP-7に関する作用の研究はなかった。そこで本研究では、ヒト大腸がん細胞株HT-29におけるproMMP-7産生に対する影響を検討したところ、予想とは異なりEGCGはその産生を増強した。そこで、その分子機構を解析するとともに、EGCGによるproMMP-7誘導に対する様々な食品因子の効果を検討した。さらに、マウス大腸発がんや大腸炎におけるGTPの潜在的副作用に関する新知見を得た。その主な内容は以下の通りである。

第1章では、EGCGのヒト大腸がん細胞株HT-29に対する作用について述べている。EGCGは、HT-29細胞内外のproMMP-7産生やMMP-7 mRNAの発現を、濃度及び時間依存的に増強した。その分子機構として、EGCGによる自発的なスーパーオキシドアニオンの生成（プロオキシダント的作用）を初発段階として、酸化ストレスシグナル伝達経路におけるJNK1/2, c-JUN/c-FOS, 及びAP-1の活性化が関与していることが示唆された。

GTP及びEGCGは、普段の食生活において単独で摂取することはほとんどないことに鑑み、第2章では、EGCGのproMMP-7産生増強に対する9種の食品因子及びN-アセチル-L-システイン（NAC）の組み合わせ効果を検討した結果について述べている。これらの試料のうち、ベンジルイソチオシアナート（アブラナ科植物由来）、没食子酸（イチゴなどの多彩な植物由来）、クルクミン（ターメリック由来）及びNACは、proMMP-7産生やMMP-7 mRNAの発現を強く抑制したことから、EGCGのプロオキシダント的作用は、これらの抗酸化性食品因子で消去できる可能性が示唆された。

第3章では、ICRマウスの炎症性大腸発がんモデルにおけるGTPの影響について検討した結果について述べている。ジメチルヒドラジン（DMH）を発がんイニシエーター、デキストラン硫酸塩（DSS）を発がんプロモーターとする実験系において、食餌中0.01%GTPは大腸腫瘍の発生数を減少させたが、0.1%, 0.5%及び1%GTP投与は逆に、発生数を増加させた。一方、DSS未処理のDMH+1%GTP群では大腸腫瘍の発生は全く認められなかったが、DMH単独群に比べ、前がん病変数を増加させた。これより、高用量のGTPが大腸がんの進行を促進する可能性が示唆された。

第4章では、DSS誘発大腸炎マウスにおけるGTPの影響について述べている。第3章で述べた結果と同様に、+0.1%GTP処理は大腸炎改善効果を示したが、用量の増加に従ってその効果は低下し、+0.5%及び+1%GTPでは悪化が認めら

れた。一方、DSS 未処理の 1 % GTP 単独群では、大腸粘膜における抗酸化活性は無処理群より有意に低下したが、本実験条件においては炎症反応を誘導することはなかった。従って、高用量の GTP 投与は、炎症が生じている大腸に対して炎症を悪化させる効果があることが明らかになった。

以上のように、本研究は、緑茶の抗酸化成分として広く認知されている GTP や EGCG は、高用量においては逆に、大腸がん及び大腸炎の進行を促進することを動物実験で示した。本実験結果は、大腸がん及び大腸炎の術後や進行中の患者に対して、高濃度の緑茶あるいはその成分を濃縮した錠剤を投与する場合には、その副作用を考慮して慎重に行なう必要があることを示している。

論文審査の結果の要旨

抗炎症及び抗発がん作用をもつ緑茶由来のポリフェノール（GTP）とその主成分であるエピガロカテキン-3-ガレート（EGCG）は、近年、プロオキシダント的作用を示す例が報告されており、このことが緑茶の安全性にどのような影響を与えるかという問題が広く議論されている。最近 EGCG は、がん転移酵素である一群のマトリックスメタロプロテイナーゼ（MMP）の中で MMP-2 及び MMP-9 の誘導を抑制することが報告されたが、がんの転移のみならずその発生段階においても重要な役割を果たしている MMP-7 に関する研究例はなかった。そこで本研究では、EGCG の大腸がん細胞における作用を詳細に検討した結果、proMMP-7 の産生増強という EGCG の副作用的側面を初めて見いだした。さらに、その分子機序を解明するとともに、GTP の潜在的な副作用（大腸炎の悪化や大腸発がんの促進作用）を *in vivo* において立証した。評価すべき主要な点は以下の通りである。

1. ヒト大腸がん細胞株 HT-29 において、EGCG は酸化ストレスシグナル伝達経路の活性化を介し、細胞内外の proMMP-7 産生を増強した。本成果は、EGCG のプロオキシダントとしての一面を明らかにした点で高く評価できる。
2. HT-29 細胞における EGCG 誘導性 proMMP-7 産生増強に対する食品因子の組み合わせを検討した結果、4 種の因子が proMMP-7 及び MMP-7 mRNA のレベルを有意に低下させた。本結果は、EGCG の proMMP-7 産生増強作用を他の抗酸化性食品成分で抑制できる可能性を示唆し、機能性食品因子の組み合わせ効果を論ずる上で有用な知見を与えるものである。
3. 炎症性大腸がんマウスにおける GTP の影響を検討した結果、日常摂取量に近い GTP 用量（0.01%）では腫瘍数の抑制効果が見られたが、用量が増加すると逆に腫瘍発生が促進された。この結果は、高用量の GTP 投与は大腸発がんのリスクを高める可能性を強く示唆するものである。また、デキストラン硫酸塩（DSS）誘発性マウス大腸炎モデル実験系により、DSS 単独群に比べ、低用量（0.1%）の GTP は大腸炎症を抑制する傾向にあったが、用量が増加するとともに抑制効果が消失し、高用量（0.5-1%）では逆に炎症は悪化した。以上の結果は、GTP 以外の抗酸化性食品成分の安全性を評価する際に、高用量における実験の必要性を提示するものである。

以上のように本論文は、緑茶に含まれるポリフェノール類の *in vitro* でのプロオキシダント的作用を明らかにするとともに、動物実験において高用量のポリフェノール類が大腸炎や大腸発がんを増悪化することを初めて見いだしたものであり、食品機能学及びがん予防医学などの学術分野に貢献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19年7月19日、論文なら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。