

氏 名	金 外 京
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1084 号
学位授与の日付	平成 11 年 9 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 工 学 専 攻
学位論文題目	Food Factors Inhibiting Nitric Oxide Generation in Macrophages: Screening of Vegetables and Fruits, and Inhibitors from Avocado Fruit (マクロファージにおける一酸化窒素の産生を阻害する食品因子：野菜や果物の活性評価とアボガド中の阻害物質)

論文調査委員 (主 査) 教 授 大 東 肇 教 授 伏 木 亨 教 授 吉 川 正 明

論 文 内 容 の 要 旨

一酸化窒素 (NO) は生体内で種々の重要な役割を担う生理活性物質であるが、一方ではその過剰産生が炎症やがんなど多彩な疾病と関連していることが知られている。本研究では、新しいがん予防物質を開発する一アプローチとして、誘導型 NO 合成酵素 (NOS) に起因する過剰な NO 産生を抑制する植物性食素材の総合的評価や、顕著な活性を示したアボカドに含まれる活性物質について、その化学的・機能的特性を解明している。その主な内容は以下のとおりである。

1. マウス由来のマクロファージ RAW 264.7 細胞では、リポ多糖および interferon- γ の刺激で iNOS が誘導され NO が産生される。そこで先ず、日本で食されている野菜や果物 60 種について、この NO 産生に対する抑制活性スクリーニングを行った。その結果、一般にアブラナ科、ユリ科およびセリ科の多くの種には NO 産生抑制物質が広く含まれていることを指摘した。また、同時に、アボカド、バジル、セレベス、コイモ、アカカブおよびチンゲンサイの 6 種を、特に強力な活性をもつ興味ある種として選抜することができた。

2. アボカドには NO 産生抑制活性ばかりでなく、発がんプロモーション抑制活性と相関するエプスタインバーウイルス (EBV) 早期抗原誘導抑制活性も強く認められた。そこで、アボカドに着目し、その NO 産生抑制物質の精製を試みた。その結果、PA-1～PA-3 の 3 種の活性成分の単離に成功した。PA-3 は既知化合物であったが、PA-1 および PA-2 は新規であり、それぞれ persenone A および persenone B と命名し、両化合物の構造を NMR や MS などの機器分析法、ならびに化学合成法により確認した。

3. PA 類について NO 産生抑制活性を詳しく検討し、PA-1 が最も強い活性 (IC_{50} : 1.2 μ M) をもち、この活性は既存の iNOS 阻害剤である *N*-iminoethyl-L-ornithine (合成品) や docosahexaenoic acid (食品由来成分) のそれらに比しそれぞれ約 8 倍および 4 倍強いものと評価できた。

一方、PA-2 や PA-3 の活性は PA-1 の 1/3 程度であった。PA 類ならびに関連化合物数種の活性を相互に比較した結果、PA-1 の強い活性発現には、シス-ジェン、共役エノンならびに酸素官能基をも含む C_1 ～ C_3 部の構造が重要であることを明らかにした。また、RAW 264.7 細胞の PA-1 処理では iNOS 蛋白質の発現が阻害されていることをウェスタンブロッティング法により確認し、PA 類の NO 産生抑制が iNOS の誘導阻害によりもたらされていることを示した。

4. PA 類について、NO 産生抑制作用のみならず、発がん抑制に関連する種々の *in vitro* よび *in vivo* 活性を検討した。その結果、PA-1～PA-3 では発がんプロモーターによる EBV 早期抗原の誘導を強く抑制すること (それぞれ IC_{50} : 1.8, 5.0 および 3.4 μ M)、さらには、分化 HL-60 細胞において発がんプロモーターで誘起される O_2^- 産生に対し、特に PA-1 と PA-2 が顕著な抑制活性 (それぞれ IC_{50} : 1.4 および 1.8 μ M) をもつことを見いだした。この *in vitro* での O_2^- 産生抑制は、PA-1 を用いたマウス皮膚における発がんプロモーター誘起二段階炎症抑制実験によっても確認でき、PA 類には炎症性白血球

を介した酸化ストレスの軽減効果があることを強く示唆することができた。さらに、RAW 264.7 細胞レベルで、PA-1 は誘導型シクロオキシゲナーゼ (COX-2) の発現を 2.5 μ M の濃度において約 50% 阻害することを見いだした。

以上の結果を総合して、PA 類は、皮膚、胃、大腸など炎症が関与する上皮系組織におけるがん予防物質として大きな期待がもてる化合物群であると結論した。

論文審査の結果の要旨

近年、がんや動脈硬化など、いわゆる生活習慣病と位置付けられる疾病が食品成分で予防可能であるとの疫学ならびに動物実験的研究成果が蓄積されつつある。社会の高齢化が進むなか、健康の維持・増進を図る上で食品に期待されるところは大きい。各種生活習慣病の要因は多種多様であるが、最近、生体内での一酸化窒素 (NO) の過剰産生もその一つとして注目されている。このような背景下、本論文は、新しいがん予防性食品由来因子を探索する一アプローチとして、誘導型 NO 合成酵素 (iNOS) による NO 産生への抑制効果を視点とした天然物化学的・食品機能学的研究成果をとりまとめたものである。評価される点は以下のとおりである。

1. マウス・マクロファージ RAW 264.7 細胞を用いる簡便な *in vitro* 試験法により、わが国における常食野菜や果物 60 種の NO 産生抑制活性を検討した。その結果、抑制物質を広く含む植物科 (アブラナ、ユリおよびセリ科) を指摘すると共に、アボカドを初めとする 6 種を、特に強い活性をもつ種として選抜した。ここで得られた結果は、野菜や果物の NO 産生に与える影響について初めて総合的な評価を下した成果として注目される。

2. アボカドより NO 産生抑制物質 3 種 (PA-1 ~ PA-3) を単離・構造決定した。特に、新規物質である PA-1 および PA-2 (それぞれ persenone A および B と命名) の構造を、各種機器分析法ならびに有機合成法により確認したことは、新しい天然物の化学的研究成果として評価できる。

3. PA 類のうち、PA-1 が最も強い活性を示し、この活性は既存の NO 産生阻害剤に比べてはるかに強いことを明らかにした。また、構造-活性相関の検討から、PA-1 の活性発現に重要な構造因子を提示した。この結果は、より有効な NO 産生抑制剤の開発に寄与するものと期待できる。

4. PA-1 を用いた実験から、RAW 264.7 細胞における PA 類の NO 産生抑制は iNOS 蛋白質の誘導阻害によりもたらされていることを示した。また、発がん抑制に関連する種々の *in vitro* および *in vivo* 活性の評価から、PA 類には発がんプロモーション抑制活性が期待でき、これには炎症性白血球の活性化の阻害を介した酸化ストレスの軽減効果が大きく関与していることを示唆した。PA-1 には、さらに、シクロオキシゲナーゼ 2 の誘導抑制作用があることも見いだしている。以上の作用特性から、PA 類が上皮系組織におけるがん予防物質として期待できることを示した。

以上のように、本論文は、野菜や果物の NO 産生抑制能を広く評価する一方、アボカド中の強力な活性成分の単離・構造決定とがん予防物質としての有効性を示したものである。得られた知見は生命有機化学や食品機能学の発展に、さらには、がん予防の実際に大きく貢献するものである。

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 11 年 7 月 14 日、論文ならびにそれに関連した分野にわたって試問した結果、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。