

(論文内容の要旨)

現在、先進諸国を中心として肥満者数は急増しており、世界保健機関による 2000 年の調査では、その数は約 11 億人に達している。肥満状態では、高脂血症、高血圧および糖尿病などの様々な生活習慣病の発症リスクが上昇することが知られている。さらに近年の疫学調査によって、大腸をはじめとする多くの組織における発がんリスクの上昇も肥満と関連していることが明らかになっており、肥満モデルマウスを用いた研究によっていくつかの肥満関連因子の関与が指摘されている。しかしながら、肥満状態では摂取エネルギーの増加のみならず多くの肥満関連因子が変動するため、どの因子が大腸発がんリスクを上昇させているのかは不明である。一方で、非肥満状態における大腸発がん過程に寄与する肥満関連因子を解析した例もこれまでにない。そこで本研究では、肥満および非肥満状態において、発がん剤処理時に共通して変動する肥満関連因子の探索を行ない、血中レプチン濃度が上昇していることを初めて見いだした。さらにその変動メカニズムを解析するとともに、大腸腺がん形成および血中レプチン濃度に対する天然フラボノイド類の作用を検討した。その主な内容は以下の通りである。

第 1 章では、遺伝的に高レプチン血症を呈する肥満モデルである *db/db* マウスを大腸特異的発がんイニシエーターであるアゾキシメタン (AOM) で処理すると、アディポサイトカインの一つであるレプチンの血中濃度が無処理群に比べて有意に上昇することを見いだした。

第 2 章では、*db/db* マウスの血中レプチン濃度が無処理状態においても野生型マウスに比べて既に 10 倍以上高いことに鑑み、野生型 ICR マウスを用いた大腸化学発がんモデルにおける血中レプチン濃度の推移と、その変動メカニズムについて検討した。AOM および発がんプロモーターであるデキストラン硫酸塩 (DSS) を投与する実験系において、AOM と DSS で処理した群では、20 週後の血中レプチン濃度が無処理群に比べて約 3 倍上昇した。さらに、レプチンの主な産生源の一つである精巣上体周囲脂肪重量の増加と本組織におけるレプチンタンパク質発現の上昇を見いだした。レプチンは、摂食抑制ホルモンとして著名であるが、肥満状態ではその血中濃度が上昇することが知られている。一方で、本ホルモンは培養細胞系において様々ながん細胞の増殖を促進させることが明らかになってきている。以上の結果は、過剰な血中のレプチンが大腸発がん

に促進的に作用している可能性を示唆している。

第 3 章では、血中レプチン濃度と大腸腺がん形成との相関を検討するため、培養細胞系において最も強いレプチン分泌抑制活性を示したノビレチンと、同程度の分子疎水性を有するが抑制活性の低かったクリシンを大腸化学発がんモデルに供した。その結果、ノビレチン（100 ppm）混餌投与群では、血中レプチン濃度が無処理群とほぼ同程度にまで低下し、大腸腺がん数および発生率も有意に抑制されたが、クリシンにはそのような作用は認められなかった。また、動物実験で確認された血中濃度の範囲で、レプチンが濃度依存的および時間依存的にヒト大腸がん細胞 HT-29 の増殖を促進させることも見いだした。以上の結果から、ノビレチンは血中レプチン濃度の上昇を抑制することで、腺がんの形成を抑制している可能性が示唆された。

第 4 章では、脂肪細胞におけるレプチンの産生および分泌に関わる mTOR 経路に対する天然フラボノイド類の作用について解析した。その結果、ノビレチンは mTOR 経路には作用せず、Raf もしくは MEK を不活性化することで mTOR の下流に存在する eIF4B のリン酸化を抑制し、レプチン分泌を制御するという新規メカニズムを提示した。

第 5 章では、クリシンの発がん予防作用について検討した。第 4 章の大腸化学発がんモデル実験の結果とは異なり、クリシンを発がん剤処理前から投与すると、前がん病変の形成に対して抑制作用を示すことが明らかとなった。

以上のように、レプチンは生体の恒常性維持に必須なホルモンであるが、その血中濃度が極度に上昇すると、エストロゲンやインスリンと同様に、発がんに促進的に作用する可能性が示唆された。従って、レプチンの主な産生源である内臓脂肪の過剰な生成は、メタボリックシンドロームのみならず、大腸がんの病態発症基盤としても重要と考えられる。

(論文審査の結果の要旨)

多くの疫学調査により、肥満は大腸がんを含む様々な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、その詳細なメカニズムは不明であった。その理由の一つとして、肥満状態では摂取エネルギーの増加のみならず多くの因子が肥満によって変動するために、大腸発がんリスクを上昇させる因子を特定することが困難であることが挙げられる。この問題を解消するため、本研究は従来とは逆のアプローチを選択した。すなわち、大腸発がん剤で野生型マウスを処理した際に変動する肥満関連因子が究明できれば、その因子が肥満による大腸発がんリスクの上昇に関与している可能性があると思定した。このアプローチによって、血中のレプチン濃度が発がん剤処理で上昇することを見いだし、大腸発がんに関与している可能性を示唆するに至った。評価すべき主要な点は以下の通りである。

1. 肥満および非肥満状態で発がん剤を処理した際に、共通して血中レプチン濃度が上昇することを初めて明らかにした。さらに、非肥満状態における大腸化学発がんモデルで、レプチンを含むアディポサイトカインの主な産生源となる内臓脂肪の重量および単位組織当たりのレプチン発現量の増加を見い出した。本結果は、内臓脂肪がメタボリックシンドロームだけでなく、大腸がんの発症にも関与する可能性を示唆しており、肥満による大腸発がんを予防する上で有用な知見と考えられる。
2. 培養細胞系で脂肪細胞からのレプチン分泌を抑制するノビレチンが、大腸化学発がんモデルにおいても血中レプチン濃度を適正な範囲に制御しており、大腸腺がんの形成に対しても抑制作用を示すことを明らかにした。これまでの食品因子による大腸発がん抑制作用を検討した研究のほとんどは、炎症や酸化ストレスなどの要因に対する作用を重点的に検討していた。それに対して本研究は、食品因子が脂肪細胞に作用することで大腸発がんを抑制するという、新たな観点に立脚したメカニズムを提案している点で高く評価できる。
3. 培養細胞系におけるレプチン分泌抑制メカニズムとして、ノビレチンはラパマイシン（mTOR 阻害剤）とは異なり、mTOR 経路には作用せず MEK/ERK 経路を抑制することでレプチンタンパク質の翻訳を低下させるというユニークなメカニズムを提示するに至った。

以上のように本研究は、血中のレプチン濃度が発がん剤処理で上昇することを見いだすとともに、培養細胞系で強いレプチン分泌抑制活性を示したノビレチンが、動物実験においても大腸発がん抑制作用を有することを立証した。これらの結果は、肥満の大腸発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、栄養化学、天然物化学、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 21 年 4 月 9 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。