

氏名	津嘉山 泉
授与した学位	博士
専攻分野の名称	栄養学
学位授与番号	博甲第122号
学位授与の日付	平成30年3月23日
学位論文の題目	Food functionality of <i>Dioscorea japonica</i> targeting to prostaglandin E ₂ synthetic pathway
学位審査委員会	主査 山本 登志子 副査 伊東 秀之 副査 高橋 吉孝 副査 荻野 哲也 副査 中村 孝文

学位論文内容の要旨

本学位論文は、慢性炎症予防を目指し、その素因となるプロスタグランジン(PG)E₂合成系を標的とした、自然薯の食品機能性の探索を行ったものである。

炎症性脂質メディエーターのPGE₂は、不飽和脂肪酸のアラキドン酸代謝産物の一つであり、生体の恒常性維持にも重要である一方、急性炎症だけでなく慢性炎症の誘導にも関与する。病態に関わるPGE₂は、誘導型酵素のシクロオキシゲナーゼ(COX)-2とミクロソームPGE合成酵素(mPGES)-1の触媒によって過剰に生合成される。COX阻害薬である非ステロイド性抗炎症薬(NSAIDs)は、解熱鎮痛薬として広く臨床応用されているが、恒常性維持に必要なエイコサノイドの産生も抑制するため、胃粘膜障害や心血管系障害などの重篤な副作用が懸念され、長期服用は難しい。そこで、慢性炎症予防のために、COX-2とmPGES-1を標的としたPGE₂産生抑制効果を有する、副作用の少ない食品機能性の探索は意義あるものである。本学位論文では、PGE₂合成系を標的とした自然薯の食品機能性について、癌や炎症のモデル細胞を用いた*in vitro*実験と、皮膚癌モデルマウスを用いた*in vivo*実験により実証した。本論文の内容は以下の通りである。

第1章では、本研究の標的であるPGE₂合成系酵素と、研究の意義について述べた。

第2章では、恒常的なCOX-2とmPGES-1の発現が認められるヒト非小肺癌A549細胞と、ヒト大腸癌Caco-2細胞を用いて、自然薯の効果について検討した。mRNA発現解析やタンパク質発現解析、COX-2の転写調節因子の解析とプロモーターアッセイにより、自然薯抽出物は、COX-2とmPGES-1の発現を抑制し、COX-2に対しては、転写レ

ベルで制御することを明らかにした。さらに、自然薯抽出物による PGE₂ 産生抑制効果により、癌細胞をアポトーシスに誘導することが示された。

第 3 章では、第 2 章で示した自然薯の新規食品機能性について *in vivo* での検証を行った。2 段階化学物質誘発皮膚癌モデルマウスを作製し、自然薯粉末含有食摂取による経口投与と、自然薯の 50%エタノール抽出物塗布による効果を検討した。癌誘導開始より 22 週間経過した後に、各実験群のマウスにおける腫瘍の数と体積を計測し、病理組織化学的な観察を行った。その結果、皮膚癌誘導コントロール群に比べて、自然薯の経口摂取と抽出物塗布のいずれにおいても、有意な腫瘍形成抑制が認められた。病理組織観察でも、自然薯の経口あるいは塗布により、癌化した角化細胞の増殖による表皮の肥厚が抑制され、癌組織周辺への炎症性細胞の浸潤が減少した。また、定量 PCR 法による遺伝子発現解析から、自然薯投与で、COX-2 と mPGES-1 だけでなく、炎症性サイトカインの発現も抑制した。さらに、高速液体クロマトグラフ質量分析 (LC-MS/MS) を用いた脂質メタボローム解析から、皮膚中の PGE₂ と PGD₂ の産生量の低下も確認した。また、免疫組織化学解析のから、本モデルの皮膚癌において、COX-2 と mPGES-1 は、増殖した癌細胞に共存し、加えて、COX-2 と造血器型 PGD 合成酵素の強い発現が表皮の樹状細胞であるランゲルハンス細胞に認められた。また、COX-2 と mPGES-1 は、自然薯投与により免疫組織染色の陽性強度の低下が認められた。以上の結果より、自然薯は PGE₂ 合成系酵素の発現を抑制し、抗炎症・抗腫瘍効果を有することが示唆された。

最終章では、第 2 章と 3 章で得られた結果をまとめている。自然薯の効果は局所塗布のみならず、経口摂取によっても抗炎症・抗腫瘍効果が実証され、自然薯が、安全な機能性食品であることが明らかとなった。COX-2 を標的とした食品機能性の研究の多くは *in vitro* 検証のみであることに加え、mPGES-1 を標的とした報告は非常に少ない。本研究では、自然薯の 2 つの酵素に対する効果を明らかにし、*in vivo* 実験での経口ならびに局所塗布のいずれにおいても有意な効果が認められたことは意義深い。以上の結果より、自然薯は PGE₂ 合成を抑制し、慢性炎症抑制効果を有する機能性食品であることが明らかとなった。

主業績

No.1	
論文題目	Preventive effect of <i>Dioscorea japonica</i> on squamous cell carcinoma of mouse skin involving down-regulation of prostaglandin E ₂ synthetic pathway
著者名	Izumi Tsukayama , Keisuke Toda, Yasunori Takeda, Takuto Mega, Mitsuki Tanaka, Yuki Kawakami, Yoshitaka Takahashi, Masumi Kimoto, Kei Yamamoto, Yoshimi Miki, Makoto Murakami, Toshiko Suzuki-Yamamoto
発表誌名	Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition Volume 62, Issues 2, 139-147, March 2018.

副業績

No.1	
論文題目	<i>Dioscorea japonica</i> extract down-regulates prostaglandin E ₂ synthetic pathway and induces apoptosis in lung cancer cells
著者名	Toshiko Suzuki-Yamamoto, Sayuri Tanaka, Izumi Tsukayama, Miki Takafuji, Takae Hanada , Toshiya Arakawa , Yuki Kawakami, Masumi Kimoto, Yoshitaka Takahashi
発表誌名	Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition Volume 55, Issues 3, 162-167, November 2014.
No.2	
論文題目	
著者名	
発表誌名	

関連業績

No.1	
論文題目	生理活性脂質合成系をターゲットとした自然薯粉含有食の食品機能性の解析
著者名	山本登志子, 田中小百合, 津嘉山泉, 大本安梨紗, 吉尾壯兒, 川上祐生, 木本眞順美, 高橋吉孝
発表誌名	岡山県立大学保健福祉学紀要 第20巻, 1号, 37-43, 2014年3月.

No.2	
論文題目	高齢者嚥下食の開発に向けた自然薯のレオロジー解析
著者名	山本登志子, 野村奈央, 山本沙也加, 田中充樹, 目賀拓斗, 津嘉山泉, 戸田圭祐, 川井恵梨佳, 大野智子, 木本眞順美
発表誌名	岡山県立大学保健福祉学紀要 第22巻, 1号, 47-56, 2016年3月.
No.3	
論文題目	岡山県産自然薯の新規食品機能性の探索とその高機能性をいかした嚥下食の開発
著者名	山本登志子, 津嘉山泉, 田中充樹, 戸田圭祐, 目賀拓斗, 中村孝文, 木本眞順美
発表誌名	山陽技術雑誌 63巻, 16号, 6-11, 2016年4月.

論文審査結果の要旨

本論文は、炎症惹起に関わるプロスタグランジン E₂ 合成系を標的とした自然薯の新規食品機能性を明らかにしたものである。

炎症性脂質メディエーターの PGE₂ は、不飽和脂肪酸のアラキドン酸代謝産物の一つであり、生体の恒常性維持にも重要である一方、急性炎症あるいは慢性炎症に関連する病態を誘導する。病態時に過剰産生される PGE₂ は、誘導型酵素のシクロオキシゲナーゼ(COX)-2 とミクロソーム PGE 合成酵素(mPGES)-1 の触媒によって生合成されるので、慢性炎症予防のために、両酵素を標的とした PGE₂ 産生抑制効果を有する食品機能性の探索は意義がある。

論文では、まず、ヒト非小細胞肺癌 A549 細胞を用いて、自然薯抽出物の COX-2 と mPGES-1 の発現抑制と、癌細胞のアポトーシス誘導を明らかにした。

次に、皮膚癌モデルマウスを用いた検証から、自然薯の経口投与ならびに局所への塗布投与によって、COX-2 と mPGES-1 の発現を抑制し、有意な腫瘍形成抑制効果を示した。組織化学解析より、自然薯投与は、癌細胞増殖による表皮有棘層の肥厚を軽減させ、病変部への炎症性細胞の浸潤を抑制と炎症性サイトカインの発現の低下を明らかにした。脂質メタボローム解析では、皮膚中の炎症性脂質メディエーターの PGE₂ と PGD₂ 量の低下が確認された。免疫組織化学解析では、COX-2 と mPGES-1 は、増殖した癌細胞に共存し、加えて、COX-2 と造血器型 PGD 合成酵素は表皮樹状細胞のランゲルハンス細胞に強く発現することが観察され、それら細胞における COX-2 と mPGES-1 の発現は、自然薯投与により低下していることが観察された。

本研究では、自然薯 COX-2 と mPGES-1 の発現抑制とそれに伴う PGE₂ 産生低下による抗炎症・抗腫瘍効果が示され、慢性炎症予防が期待できる食品であることを明らかにした。この食品機能性は、*in vitro* と *in vivo* の両方の実験系で検証され、加えて、経口や塗布などの異なる投与方法でその効果が示されたことは非常に有意義であり、さらなる応用研究が期待できる内容と判断された。また、予備審査会において適切なプレゼンテーションと質疑応答がなされ、申請者は当該分野における十分な専門知識と研究能力を有していると判断された。

以上の結果より、学術上、實際上寄与するところが少なくない。よって、本論文は博士（栄養学）の学位論文として価値あるものと認める。