

氏 名	戸田 圭祐
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134号
学位授与の日付	令和2年3月24日
学位論文の題目	Functional ingredients derived from natural products targeting pro-inflammatory lipid mediator synthetic pathway
学位審査委員会	主査 山本 登志子 副査 高橋 吉孝 副査 伊東 秀之 副査 荻野 哲也 副査 高戸 仁郎

## 学位論文内容の要旨

本学位論文は、炎症性疾患の発症に関わるプロスタグランジン(PG)E<sub>2</sub>やロイコトリエン(LT)のような炎症誘導性脂質メディエーター合成系を標的とした、天然物由来新規機能性成分の探索を行ったものである。

病態に関わるPGE<sub>2</sub>の産生は誘導型のシクロオキシゲナーゼ(COX)-2とミクロソーム型PGE合成酵素-1(mPGES-1)の触媒によって生合成される。古くより使用されているCOX阻害剤の非ステロイド性抗炎症薬は、PGE<sub>2</sub>の産生を抑え、解熱鎮痛薬として使用されているが、恒常的に必要なPG類の産生も抑制するため、胃粘膜障害などの副作用を生じる。次いで、誘導型のCOX-2を選択的に阻害する薬も開発されたが、心血管系への重篤な副作用が報告されている。一方、5-リポキシゲナーゼ(5-LOX)は、白血球の活性化や平滑筋収縮、アレルギー性炎症などに関与するLT合成経路の初発酵素である。5-LOX阻害剤のzileutonは、喘息治療薬として使用されているが、副作用として肝障害を引き起こすことが報告されている。本研究では、慢性炎症予防を目指して、副作用を軽減した抗炎症効果を有する成分を見出すために、mPGES-1と5-LOXを標的とした天然物由来機能性成分の探索を行った。

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PGE<sub>2</sub>とLT合成に関わる酵素と、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細胞肺癌A549細胞を用いて、mPGES-1特異的な発現抑制効果を有する成分について検討した。その結果、ザクロ葉に含まれるエラジタンニンのGranatin AとGranatin B、構造類似体のGeraniinがmPGES-1の発現を抑

制し、炎症関連遺伝子の発現抑制と、癌細胞のアポトーシス誘導の効果有することを明らかにした。これらの結果から、これらエラジタンニン類の抗炎症・抗腫瘍効果が示された。

第3章では、赤米由来プロアントシアニジンの新規機能性として、*in vitro* での mPGES-1 と 5-LOX に対する阻害効果と、乾癬モデルマウスでの炎症予防効果について検討した。赤米プロアントシアニジンは mPGES-1 と 5-LOX を強く阻害し、A549 細胞での PGE<sub>2</sub> 産生、ならびに、ラット好塩基球様 RBL-2H3 細胞での LTB<sub>4</sub> 産生を抑制した。薬剤誘導による乾癬モデルマウスへの赤米プロアントシアニジン局所投与では、病理組織解析の結果から、乾癬誘導コントロール群と比べて、赤米プロアントシアニジン塗布群では、投与量依存的に表皮有棘層の肥厚が抑制され、好中球を含む炎症性細胞の浸潤が低下した。また、高速液体クロマトグラフ質量分析 (LC-MS/MS) の結果から、赤米プロアントシアニジンの投与によって、乾癬誘導コントロール群で上昇した耳介中の LTB<sub>4</sub> が、投与量依存的に有意に減少した。さらに、定量 PCR 法による遺伝子発現解析の結果から、赤米プロアントシアニジンの投与によって、乾癬の病態形成に重要な Th17 細胞産生サイトカインや乾癬皮膚炎症関連因子の発現が、有意に抑制された。以上の結果より、赤米プロアントシアニジンは、5-LOX 活性を阻害し、LTB<sub>4</sub> 量を減少させることで、乾癬の症状を改善することが示された。

第4章では、第2章と第3章で得られた結果をまとめている。COX-2 を標的とした天然物由来機能性の研究は数多くあるが、mPGES-1 を特異的に発現抑制する天然物由来成分の報告は非常に少ない。本研究では、ザクロ葉由来のエラジタンニンと Geraniin にその効果を見出し、既に報告されている成分よりも強い効果を認めた。赤米プロアントシアニジンの機能性については、酵素学的な解析から 5-LOX に対する阻害効果を見出し、その機能性は乾癬モデルマウスの病態改善で検証された。本研究結果は、天然物由来成分による炎症誘導に関わる主要な脂質メディエーターの合成を抑制する新規機能性を明らかにしたものであり、副作用を回避した慢性炎症予防に寄与する成果である。

### 主業績

No.1	
論文題目	Ellagitannins from <i>Punica granatum</i> leaves suppress microsomal prostaglandin E synthase-1 expression and induce lung cancer cells to undergo apoptosis
著者名	Keisuke Toda, Mai Ueyama, Shomu Tanaka, Izumi Tsukayama, Takuto Mega, Yuka Konoike, Asako Tamenobu, Februadi Bastian, Iria Akai, Hideyuki Ito, Yuki Kawakami, Yoshitaka Takahashi, Toshiko Suzuki-Yamamoto
発表誌名	Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 84(4), 757-63, 2020.

### 副業績

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 <sub>2</sub> 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, 62(2), 139-47, 2018.
No.2	
論文題目	
著者名	
発表誌名	

### 関連業績

No.1	
論文題目	自然薯の保存方法の検討とその高機能性をいかしたレシピの開発
著者名	目賀拓斗, 田中小百合, 津嘉山泉, 大本安梨紗, 田中充樹, 戸田圭祐, 川井恵梨佳, 吉尾壯兒, 木本眞順美, 山本登志子
発表誌名	岡山県立大学保健福祉学紀要, 22 (1), 39-46, 2016.
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, 22(1), 47-56, 2016.
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	岡山県立大学保健福祉学紀要, 22(1), 47-56, 2016.

## 論文審査結果の要旨

本論文は、炎症誘導に関わる $\omega$ 6系不飽和脂肪酸アラキドン酸より生合成される脂質メディエーター合成酵素を標的とした天然物由来成分の新規機能性を明らかにしたものである。

主要な炎症誘導性脂質メディエーターのプロスタグランジン (PG)  $E_2$  やロイコトリエン (LT) 類は、急性炎症だけでなく慢性炎症性疾患の誘導にも関与する。炎症を惹起する  $PGE_2$  は、誘導型のシクロオキシゲナーゼ (COX)-2 とミクロソーム型 PGE 合成酵素 (mPGES)-1 の触媒により産生され、発熱、疼痛、癌などに関与する。LT は、初発酵素の 5-リポキシゲナーゼ (5-LOX) の触媒で産生が上昇し、白血球の活性化や平滑筋収縮、アレルギー性炎症を引き起こす。本研究では、天然物由来の mPGES-1 と 5-LOX を標的とした炎症抑制成分を調査した。

ザクロ葉に含まれるエラジタンニンの Granatin A と Granatin B、構造類似体の Geraniin が mPGES-1 や炎症関連因子の発現を抑制し、癌細胞をアポトーシスへ誘導することを明らかにした。よって、これら成分による mPGES-1 発現抑制を介した抗炎症と抗腫瘍効果が示された。

赤米由来プロアントシアニジンが mPGES-1 を  $IC_{50}$  7.7 $\mu$ M で非拮抗阻害し、5-LOX を  $IC_{50}$  7 $\mu$ M で混合型非拮抗阻害することを見出した。さらに、慢性炎症性皮膚疾患の乾癬モデルマウスにおいて、赤米由来プロアントシアニジン塗布は、乾癬で上昇した  $LTB_4$  を著しく減少させ、表皮の肥厚や炎症性細胞の浸潤を抑制し、乾癬関連遺伝子の発現を抑制した。よって、赤米由来プロアントシアニジンは、5-LOX 活性を阻害し、 $LTB_4$  産生を抑制することで、乾癬症状を改善することが示された。

本研究は、炎症誘導に関わる主要な脂質メディエーター合成を抑制する天然物由来成分の新規機能性を明らかにしたものであり、慢性炎症予防への応用が期待できる成果である。

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。