

氏 名（国籍）	はん 韓	じゅん 峻	ぎゅ 奎	（韓 国）
学 位 の 種 類	博	士	（農 学）	
学 位 記 番 号	博	甲	第 3727 号	
学位授与年月日	平成 17 年 3 月 25 月			
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当			
審 査 研 究 科	生命環境科学研究科			
学 位 論 文 題 目	<b>Analysis of the Mechanism of Tight-junction Permeability Increase and Recovery in the Capsaicin-treated Human Intestinal Caco-2 Cells</b> （カプサイシンによるヒト腸管上皮細胞の受動輸送制御機構の解析）			
主 査	筑波大学教授	農学博士	前 川 孝 昭	
副 査	筑波大学教授	農学博士	佐 竹 隆 顕	
副 査	筑波大学教授	農学博士	富 田 文一郎	
副 査	筑波大学助教授	農学博士	杉 浦 則 夫	

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

本論文はトウガラシの辛味成分であるカプサイシンが、細胞間密接接合（Tight Junction: TJ）の開放によって物質透過を制御することに着目し、このカプサイシンの新しい機能を明らかにすることを目的としている。腸管上皮細胞（Caco-2）の TJ の開放が、そのバリアー機能や栄養素吸収機能と密接にかかわっていることから、難吸収性物質の透過促進や経腸栄養剤投入時間の短縮には細胞間密接接合の開放や回復、カプサイシンの活性を活用した物質透過制御への展開が考えられる。本論文はこの可能性を明らかにすることを試みたものである。

### 1. カプサイシンによるヒト腸管上皮細胞のタイト結合の開放

カプサイシン処理により培養ヒト腸管上皮細胞に特定のタンパク質が発現し、それと共に TJ の開放が引き起こされることを明らかにした。また、この作用には脱分極によるカルシウムイオンの流入や乳酸脱水素酵素の放出が伴うことも見出した。更に、感覚神経細胞カプサイシン受容体である Vanilloid receptor subtype 1 (VR1) に対するポリクローナル抗体と反応するタンパク質が、経時的に発現することを明らかにした。しかし、VR1 のアンタゴニストを使用した実験で、ヒト腸管上皮細胞に発現するカプサイシン受容体が、感覚神経細胞由来のものとは異なる性質を持つ新規受容体であることが明らかとなった。これらの背景から、新規受容体の構造及び機能解析が必要となり、さらに、その受容体タンパク質機能の多岐にわたる栄養科学的活用への現実的な可能性も現れた。

また、カプサイシンにより腸管上皮細胞の物質透過度が増加されることを見出し、その透過度の増加において F-actin から G-actin への脱重合によるアクチンの再構築が引き起こされ、さらに、ストレス応答性タンパク質で、コラーゲン特異的分子シャペロンとしての役割をする Heat Shock Protein (HSP) 47 の活性化を伴うことを明らかにした。

### 2. カプサイシンによるヒト腸管上皮細胞のタイト結合開放後の回復

プロテオミクス解析により、Ribosomal Protein P2 がカプサイシンによるヒト腸管上皮細胞の物質透過度増加後の回復に関与するタンパク質と予測された。Ribosomal Protein P2 タンパク質は Elongation Factor-2

(EF-2) を介して F-actin を安定化させる作用をすることから、カプサイシン処理により発現が促進される Ribosomal Protein P2 は F-actin から G-actin への脱重合を阻害することにより TJ の安定化に寄与すると考えられた。すなわち、カプサイシンにより F-actin から G-actin への脱重合が起こり、TJ が開放されるが、Ribosomal Protein P2 が経時的に活性化され、G-actin から F-actin への重合を誘導することにより TJ を回復させる働きをすることと考えられた。

以上の研究成果はカプサイシンによるヒト腸管上皮細胞の TJ の開放と回復機構を明らかにし TJ の、開放では物質透過度には F-actin から G-actin への脱重合によるアクチンの再構築や HSP47 の活性化が生じることを見出し、回復には Ribosomal Protein P2 が関与し、このタンパクが F-actin から G-actin への脱重合を阻害することにより TJ の安定及び活性化を起こしていることを明らかにした。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文はトウガラシの辛味成分であるカプサイシンが、細胞間密接接合 (Tight Junction: TJ) の開放によって物質透過を制御することに着目し、このカプサイシンの新しい機能を明らかにすることを目的としている。カプサイシンによるヒト腸管上皮細胞のタイト結合の解放の機能について検討し、ついで、その開放後の回復について検討した。前者についてはカプサイシン処理により①培養ヒト腸管上皮細胞に特定のタンパク質の発現、②それと共に TJ の開放が引き起こされること、③ TJ の開放には脱分極によるカルシウムイオンの流入や乳酸脱水素酵素の放出が伴うこと、④感覚神経細胞カプサイシン受容体である Vanilloid receptor subtype 1 (VR1) に対するポリクローナル抗体と反応するタンパク質の、経時的発現、⑤ヒト腸管上皮細胞に発現するカプサイシン受容体が、感覚神経細胞由来のものとは異なる性質を持つ新規受容体であること、⑥腸管上皮細胞の物質透過度が増加を見出し、⑦その透過速度の増加において F-actin から G-actin への脱重合によるアクチンの再構築、⑧ストレス応答性タンパク質で、コラーゲン特異的分子シャペロンとしての役割をもつ Heat Shock Protein (HSP) 47 の活性化を伴うことを明らかにした。後者については①プロテオミクス解析により、Ribosomal Protein P2 がカプサイシンによるヒト腸管上皮細胞の物質透過度増加後の回復に関与するタンパク質と予測した。②この Ribosomal Protein P2 タンパク質は Elongation Factor-2 (EF-2) を介して F-actin を安定化させる作用をすることから、F-actin から G-actin への脱重合を阻害することにより TJ の安定化に寄与し、このタンパク質が経時的に活性化されることにより TJ が回復されると推測した。

以上の研究成果はカプサイシンによるヒト腸管上皮細胞の TJ を介した物質透過吸収では、消化酵素による分解やトランスポーターによる影響を大きく受けずに栄養物質や医薬成分などを吸収できると考えられる。また、カプサイシンによる TJ 透過度の増加はそのバリアー機能を失わないことから、生理活性成分及び難吸収性物質などの腸管における吸収促進への応用が可能と考えられた。これらの研究成果は食品科学や生物資源科学の研究分野への基礎的な情報の提供に貢献している。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。