

氏名	岩崎 健一		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	博甲第 8389 号		
学位授与年月	平成 29 年 9 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	Anticancer effect of linalool <i>via</i> cancer-specific hydroxyl radical generation in human colon cancer（リナロールは腫瘍特異的なヒドロキシラジカルの産生を通じてヒト大腸癌への抗癌作用を示す）		
主査	筑波大学教授	医学博士	正田 純一
副査	筑波大学教授	博士（医学）	関根 郁夫
副査	筑波大学講師	博士（医学）	加野 准子
副査	筑波大学助教	博士（医学）	小田ちぐさ

論文の内容の要旨

岩崎健一氏の博士論文は、赤ワインの有効成分であるリナロールに関する大腸癌への抗癌作用について検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

(目的)

日本では大腸癌の罹患率は増加傾向にある。治療では手術、化学療法に加え、分子標的薬剤など新規抗癌剤の開発も活発な状況にある。抗癌剤の医療上の問題点として主に価格と有害事象があり、その観点より、近年では植物に由来する自然化合物の抗腫瘍作用が着目されている。新規抗癌剤の候補の一つには、赤ワインに含まれるリナロールというモノテルペンがある。2010 年ごろから皮膚癌や造血系腫瘍に対する効果が報告されてきた。しかし、その抗癌作用のメカニズムには不明な点が多かった。そこで本論文において著者は、リナロールが腫瘍特異的な酸化ストレスを惹起するという仮説をたて、リナロールの大腸癌に対する抗癌作用について検討している。

(対象と方法)

In vitro 実験：著者は、大腸癌細胞として HCT 116, WiDr, RKO, HCT-15, SW480, 正常細胞の代用として CCD18Co を用いている。リナロール投与後の細胞生存率を WST-8 の手法を用いて評価した。また、

TUNEL 染色, フローサイトメーターを用いた Annexin-V アッセイによりアポトーシスの解析を行なった. 酸化ストレスの評価として, 即時的なヒドロキシラジカルの産生を検出できる電子スピン共鳴の手法, さらに, 過酸化脂質を検出する DPPP アッセイを行った.

In Vivo 実験: 著者は, 16 匹の SCID マウスの大腿部に 1×10^6 の HCT 116 を皮下移植し, コントロール, リナロール $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ 投与, リナロール $200 \mu\text{g}/\text{kg}$ 投与の 3 群に分け, 3 日毎にリナロールを経口投与した. 21 日後に犠牲死させ, 腫瘍を摘出して重量を測定している. 胃, 肝臓, 腫瘍のそれぞれについて過酸化脂質である 4-ヒドロキシノネナールの免疫染色を行った. リナロールの肝臓に対する副作用を検討するために AST, ALT の測定を行った.

(結果)

リナロールは大腸癌細胞に用量依存性に殺細胞効果を示し, また, 用量依存性にアポトーシスを誘導した. 皮下移植腫瘍に対して, 投与量の増大に比例して腫瘍の増加速度が減少し, コントロール群と $200 \mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群では, 有意に後者の腫瘍重量が小さかった. リナロール投与による肝機能障害は 3 群間で, 著者は差を認めなかった. 電子スピン共鳴アッセイにおいて, リナロール投与 30 分後の HCT 116 からヒドロキシラジカルを検出した. ヒドロキシラジカルは投与 10 分, 1 時間, 2 時間の時点では認められなかった. 正常細胞の代用である CCD18Co においては, いずれの時点においてもヒドロキシラジカルの検出は認められなかった. DPPP アッセイにおいて, リナロール投与により HCT 116 の細胞膜には過酸化が認められたが, CCD18Co の細胞膜には変化が見られなかった. 摘出した皮下移植腫瘍, 胃, 肝臓の免疫染色では, リナロールの投与量が増加すると腫瘍組織の 4-ヒドロキシノネナールの染色性が増大したが, 胃と肝臓では変化が認められなかった. 著者はこのことより, リナロールにより腫瘍特異的に脂質過酸化が生じたことが示唆された, としている.

(考察)

リナロールは, 投与後短時間で腫瘍細胞選択的なヒドロキシラジカルの産生を通じて細胞膜脂質の過酸化を引き起こし, 続いて, アポトーシスを誘導した. 著者は, これによりヒト大腸癌移植マウスモデルにおいて抗癌作用を示すことが明らかとなったとしている. 一方, 肝機能や胃粘膜傷害を始めとする有害事象は認められなかったことより, 将来, 新規抗癌剤として有望である可能性が示唆されたとしている. さらに著者は, 今回, 実験に用いた電子スピン共鳴という手法は, 酸化ストレスという新たなメカニズムに着目した新規抗癌剤の開発ならびに評価への応用が期待される, としている.

審査の結果の要旨

(批評)

最近では, 機能性食品成分の有する抗癌作用について, 多くの論文報告がされている. 赤ワインの成分としてレスベラトロールは盛んにがん研究の分野において使用されてきたが, 現在のところ臨床応用はされていない. 一方, 小分子であるリナロールはバイオアベイラビリティが高く, 本論文にて示された腫瘍特異的な生物学的な効果の観点から, 抗癌剤として有用である可能性が期待される. リナロールのような自然植物由来化合物の抗癌効果は, 酸化ストレスで説明されることが多かった. これまでは酸化ストレスを直接確認することは困難であり, 過酸化物の測定, Keap1-Nrf2 システムなど生体の抗酸化

ストレス系の標的遺伝子の測定など、間接的な証明に依存して来た経緯がある。しかし、本論文において著者は、電子スピン共鳴という画期的な手法をリナロールの抗癌作用の解明に応用した。リナロール投与後の分単位でのヒドロキシラジカルの産生、時間単位での細胞膜脂質過酸化、日単位での腫瘍細胞のアポトーシスという一連の流れで抗癌作用を説明することを可能とした点は評価に値する。

平成 29 年 6 月 30 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。