

氏 名：三岳 麻衣子  
学位の種類：博士（栄養学）  
学位記番号：博甲第1号  
学位授与年月日：平成24年2月21日  
学位授与の要件：学位規程第3条第3項該当  
論文題目：Biosynthesis and metabolism of cancer-preventive isoprenoids in mammalian cells  
哺乳動物細胞における発癌抑制性イソプレノイドの生合成と代謝  
論文審査委員：主査 教授 田中 一成  
副査 教授 森田 茂樹  
副査 教授 古場 一哲

## 哺乳動物細胞における発癌抑制性イソプレノイドの生合成と代謝

Biosynthesis and metabolism of cancer-preventive isoprenoids in mammalian cells

人間健康科学研究科 栄養科学専攻  
三岳 麻衣子

イソプレノイドは、イソプレン(C<sub>5</sub>)を基本単位とする天然有機化合物の総称である。数万種を超えるこの一群の化合物は、電子輸送体、生体膜、光合成、昆虫の変態、動物の視覚などにおいて、分子レベルで多彩な生物学的機能を示す。その生合成経路には、細胞質に局在するメバロン酸経路とプラスチド局在のメチルエリスリトールリン酸経路の二種があり、基本構造であるイソペンテニルピロリン酸(IPP)とその異性体ジメチルアリルピロリン酸(DMAPP)が合成される。DMAPPとIPPが縮合しC<sub>10</sub>ゲラニルピロリン酸(GPP)を生成、GPPを頭として1単位のIPPが縮合しC<sub>15</sub>ファルネシルピロリン酸(FPP)、同様にC<sub>20</sub>のゲラニルゲラニルピロリン酸(GGPP)が合成される。FPPからはコレステロール、GGPPからはユビキノンやドリコールなどが最終産物として生合成されることが知られており、またFPPとGGPPはどちらもタンパク質の翻訳後修飾に使われる。イソプレノイドの中間体から合成される二次代謝産物にも、種々の生理活性が報告されている。GGPPから合成されるジベレリン酸は天然植物ホルモンで、様々な植物に対して発育、開花、発芽、着花、着果などの促進作用がある。昆虫においてはFPPから幼若ホルモンが合成され、昆虫の成長および変態を調節することが知られている。

ゲラニルゲラニン酸(GGA)は、非環式レチノイドとして肝癌の二次発癌抑制剤として開発されている。合成物質と考えられていたGGAは薬用ハーブ中に見出され、天然の化合物であることが報告された(Shidoji & Ogawa; *J. Lipid Res.*, 2004)。その化学構造から推測するとGGPP由来の二次代謝産物と考えられるが、その生合成経路は未解明である。また、植物ばかりでなくヒトを含めた動物細胞にも内因性のGGAが存在するか否かは現在のところ確認されていない。

本研究では、肝発癌抑制作用をもつGGAに関して、

- (1)天然 GGA の経口摂取による体内利用の可能性
  - (2)ヒトを含めた動物細胞における生合成の可能性
  - (3)その生合成反応における酵素の同定と発癌過程におけるその活性変動
- に焦点を絞り研究を行った。得られた成果の概要は以下の通りである。

(1)食品中の天然 GGA の経口摂取による体内利用の可能性を調べるため、GGA 含量の高いウコンのサプリメントを健康な大学生に経口投与し、摂取前後の血清 GGA 濃度を評価した。ウコン錠摂取前の空腹時血清中に、LC/MS(液体クロマトグラフィ・マスマスペクトロメトリー)法にて GGA を検出することができた。これは、ヒト血清中に GGA の存在を認めた初めての観察である。摂取後 2 時間に血清 GGA 濃度の上昇を観察した。その上昇した濃度は摂取後 4 時間まで維持され、その後摂取前のレベルに戻った。この結果より、食品中に含まれる GGA が腸管から吸収されることが示唆された。

(2)次に、GGA 前駆物質としてメバロン酸代謝の中間体であり、カロテノイドの出発物質である GGPP に注目した。GGPP は市販のウシ小腸アルカリホスファターゼによりゲラニルゲラニオール(GGOH)に脱リン酸化された。さらに、ラット肝のホモジネートにより GGOH から GGA が合成されたが、GGOH からゲラニルゲラニール(GGal)への反応は NAD 非依存性であった。一方、GGal から GGA への酸化は NAD 依存性の脱水素酵素によるものであった。これより GGOH から GGal への酸化は脱水素酵素ではなく、GGOH オキシダーゼによるものと考えられた。また、市販の白米のいくつかのブランドに GGPP や GGOH が検出されたことから、食品中の GGPP や GGOH も体内において GGA の前駆物質となり得ることが示唆された。

(3)ヒト肝癌由来細胞株 HuH-7 細胞破碎液を酵素源として、GGOH から GGal への酸化反応が酸素を基質とする GGOH オキシダーゼによるものか否かを検討した。可逆的蛍光性酸素プローブとして開発された MitoXpress により GGOH から GGal への反応において酸素消費の増加を観察した。GGOH 依存的な GGal の合成とそれに伴う酸素消費は、プロテイナーゼ K 前処理により予想とは逆に増加した。GGOH オキシダーゼ活性はミトコンドリア画分に最も高い活性が認められた。さらに、GGOH から GGal への反応は、組み換え型ヒト MAO-B (monoamine oxidase-B) によって触媒された。これらの結果は、ミトコンドリア GGOH オキシダーゼが発癌抑制作用を持つ GGA の生合成に関与していることを示唆する。さらに、実際の発癌過程においてどのような変動をするか調べるため予備的な実験を行った。肝癌自然発症モデルマウスの肝癌組織と、その周辺正常組織の酵素活性を比較した。GGOH オキシダーゼ活性は、正常組織と比較して癌組織で有意な低下が観られた。この結果から肝癌組織では GGOH の酸化酵素反応が低下し、それに伴う GGA 濃度の低下が予測された。

以上を要約すると、ハーブ中の天然 GGA の生体への利用が示唆され、一般食品中の GGPP や GGOH が、体内において酵素反応により GGA へ変換される可能性が示された。さらにヒトを含めた動物細胞において、ミトコンドリア外膜に局在する GGOH オキシダーゼ、あるいは MAO-B が GGA の生合成に関与し得ることが明らかとなった。