九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

緑茶ポリフェノールEpigallocatechin-3-o-gallateによるがん細胞特異的な細胞致死誘導機構に関する研究

熊添，基文

https://doi.org/10.15017/1441312

出版情報：九州大学，2013，博士（農学），課程博士
バージョン：
権利関係：全文ファイル公表済

KYUSHU UNIVERSITY

氏　　名　：熊添　基文

論文題目　：緑茶ポリフェノール Epigallocatechin-3-*O*-gallate によるがん細胞特異的な細胞致死誘導機構に関する研究

区　　分　：甲

論　文　内　容　の　要　旨

緑茶ポリフェノールの一種である Epigallocatechin-3-*O* -gallate（EGCG）が難治性血液がんである多発性骨髄腫に対し、EGCG センサーである 67-kDa Laminin Receptor (67LR)を介して選択的に細胞致死を誘導することが報告された。しかしながら、EGCG が 67LR に結合後どのような経路で細胞致死を誘導するのか、その詳細な機序は不明であった。そこで本研究では、EGCG が誘導する 67LR 依存的細胞致死機構の解明を目的とした。

67LR が shear stress 誘導性一酸化窒素（NO)産生に関与することが知られていたことから、EGCG による NO 産生への影響について検討したところ、EGCG は多発性骨髄腫に対して NO 産生を誘導することを見出した。この EGCG による NO 産生誘導は正常リンパ球では認められないことから、EGCG の多発性骨髄腫選択的な致死作用に関与していると予想し、EGCG による NO 産生誘導機構を検討した。免疫細胞における NO 産生には誘導性 NO 合成酵素の関与が一般的であるが、EGCG は 67LR を介して内皮型 NO 合成酵素（eNOS）の活性化を誘導し、eNOS をノックダウンすると EGCG による細胞致死作用が消失したことから、EGCG のがん細胞致死作用に eNOS が関与することを示した。また、EGCG は NO により誘導されることが知られている環状グアノシン一リン酸（cGMP）産生を誘導すること、EGCG のがん細胞致死誘導に関与する Protein Kinase Cδ (PKCδ)ならびに酸性スフィンゴミエリナーゼ（ASM)が cGMP により活性化されることを見出した。一方、NO 依存的 cGMP 合成酵素である可溶性グアニル酸環化酵素(sGC)を阻害することで EGCG のがん細胞致死作用が消失することを示した。以上の結果から、EGCG は 67LR を介して eNOS/NO/sGC/cGMP 経路を活性化し、PKCδおよび ASM を活性化することでがん細胞致死活性を発揮することを明らかにした。

EGCG はがん細胞致死作用を誘導しない濃度において NO 産生を誘導するが、cGMP の産生は誘導しなかったことから、cGMP 産生が EGCG のがん細胞致死経路の律速であると予想した。そこで、cGMP 分解酵素の発現について検討したところ、ホスホジエステラーゼ 5 (PDE5) が多発性骨髄腫細胞で高発現していることを見出した。また、PDE5 の阻害剤である vardenafil は EGCG の多発性骨髄腫に対する選択毒性を保持したまま、その活性を顕著に強めた。さらに、マウス多発性骨髄腫細胞株 MPC-11 を移植したマウス腫瘍モデルにおいて、vardenafil は EGCG の肝毒性を増悪させることなく EGCG の抗がん作用を増強させた。また、PDE5 の発現をノックダウンした MPC-11 は *in vivo* においても EGCG に対して強い感受性を示した。さらに、EGCG に耐性な膵臓がん、胃がん、乳がん、急性骨髄性白血病に由来する各細胞株に対する EGCG の細胞致死作用は vardenafil と組み合わせることで顕著に高まるとともに、ヒト乳がん細胞株 MDA-MB-231 を移植したマウス腫瘍移植モデルにおいてもその抗腫瘍作用を増強した。

本研究により、67LR は eNOS/NO/sGC/cGMP 経路を活性化し、PKCδならびに ASM を活性化することで細胞致死を誘導するという新規のがん細胞致死経路を発見した。また、cGMP 分解酵素である PDE5 が腫瘍組織において高発現しており,そのがん細胞致死誘導経路の抵抗因子であるこ

とを示した。さらに、PDE5 阻害剤と EGCG の併用は生体に障害を与えず顕著な抗腫瘍作用を示すことを明らかとした。