

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 (医学)	氏名	長谷井 竣
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目 Carnosic Acid and Carnosol Activate AMPK, Suppress Expressions of Gluconeogenic and Lipogenic Genes, and Inhibit Proliferation of HepG2 Cells (ローズマリー抽出物のカルノシン酸およびカルノソールは培養肝細胞において AMPK を活性化し、糖新生・脂質合成関連遺伝子の発現や細胞増殖を抑制する)			
論文審査担当者			
主査	教授	今泉 和則	印
審査委員	教授	酒井 規雄	
審査委員	准教授	相方 浩	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>近年、糖尿病や肥満などの生活習慣病を含む多様な疾患に対して、予防策としての天然物由来抽出物を用いた健康食品やサプリメントが注目されている。そこで、学位申請者は天然物由来の一つであるローズマリー抽出物の構成成分に関して、代謝や細胞増殖に対する影響を検証した。</p> <p>AMPK は細胞内エネルギー低下による AMP/ATP 比の増加に伴って活性化するキナーゼである。AMPK 活性化は、ATP 産生に繋がる異化経路(脂肪酸酸化、解糖系など)を亢進させ、一方、ATP を消費させる同化経路(糖新生、脂質合成など)や細胞増殖を抑制することが知られている。この作用によって、糖や脂質の代謝異常症が改善されるため、メタボリックシンドロームに対する治療標的と考えられている。</p> <p>ローズマリーは健康食品として販売されているが、その主要な構成成分であるカルノシン酸(CA)、カルノソール(CL)に関して AMPK 活性化への影響と共に、糖・脂質代謝や細胞増殖に関連する細胞現象への効果を検討した。</p> <p>まず、学位申請者は、ヒト肝癌細胞株 HepG2 に対して CA や CL を添加したところ、両者とも AMPK 及び、AMPK の直接的な基質である ACC のリン酸化が濃度依存的に有意に亢進することを見出した。肝における AMPK 活性化は糖新生の抑制に繋がることが報告されている。そこで、肝における糖代謝に対する影響をみるために、HepG2 に対して CA や CL を添加した後に、Forskolin によって糖新生酵素の発現を誘導したところ、CA、CL いずれの添加によっても糖新生酵素の発現誘導は有意に抑制された。また PCK1 プロモーター制御下のルシフェラーゼアッセイでも同様に、Forskolin による転写活性の増加が、CA や CL の添加によって抑制された。以上から CA と CL は糖新生を抑制する可能性が示唆された。</p> <p>次に、肝の脂質代謝に対する影響を評価するために、脂肪酸合成や脂肪酸酸化に関わる遺伝子発現に対する CA と CL の影響を検討した。CA や CL の添加によって ACC や FAS などの脂質合成に関わる遺伝子発現は抑制され、CPT1a や PGC1α といった脂肪酸酸化やミトコンドリア生合成に関わる遺伝子発現の増加が認められた。これらの結果から、CA や CL が肝における脂肪蓄積に対して改善作用を有する可能性が示唆された。</p>			

また、AMPK は細胞増殖を負に制御することから、癌発生を減少させることが近年、報告されている。そこで、肝癌細胞株 HepG2 の細胞増殖やオートファジーなどに対する CA と CL の効果を検討した。CA や CL の添加によって p-p53 や Cleaved-Caspase3 のタンパク発現量は増加し、p-S6K1 のタンパク発現量は減少した。これらは AMPK 阻害剤として知られる Compound C(CC)の添加によって部分的にキャンセルされた。さらに、MTT assay や Proliferation assay を用いて細胞増殖への影響を評価したところ、CA や CL は抑制効果を示し、添加後 24 h の検討では AMPK 阻害薬である Compound C によってキャンセルされた。しかし CA や CL の 48 h の長時間刺激では Compound C によるキャンセルは認められなかった。この理由は明らかでないが、学位申請者は、Compound C の阻害特異性の低さや、CA や CL が AMPK 非依存的な Apoptosis を誘導している可能性を考えている。以上から、CA や CL は、すべてが AMPK を介した機序ではないかもしれないが、HepG2 細胞の増殖を抑制することが示された。

以上をまとめると、本論文は、HepG2 肝癌細胞を用いて、CA 及び CL の糖・脂質代謝の作用を検討し、糖尿病や脂肪肝に対する CA、CL の有用性ととともに、癌の増殖を抑制する可能性があることを示唆するものである。この報告は、ローズマリー抽出物の主成分である CA や CL が、糖・脂質代謝異常や癌治療に対する新たな治療薬開発のリード化合物となりうる可能性を明らかにした点で高く評価される。よって審査委員会委員全員は、本論文が長谷井竣に博士（医学）の学位を授与するのに十分な価値があるものと認めた。