

学位論文審査の結果の要旨

氏名	Yurika Kitai
審査委員	主査 田村 啓敏 副査 川村 理 副査 岸田 太郎 副査 島村 智子 副査 Yonekura Lina

論文名

Studies on anti-cancer activity of a new dimer sesquiterpene lactone from yacon leaves
(ヤーコン葉に含まれる新規ダイマーセスキテルペンラクトンの抗がん活性に関する研究)

審査結果の要旨

ヤーコン (学名: *Smallanthus sonchifolius*) はキク科多年生草本のアンデス地方原産の植物である。ヤーコンはヨーロッパ、アメリカ、アジアなど多くの国で栽培されている。ヤーコンの塊根には整腸作用のあるフルクトオリゴ糖が多く含まれている。一方、葉にはポリフェノール、ジテルペンやセスキテルペンラクトンなど多くの二次代謝物が含まれている。一章では、ヤーコン葉には、数種のガン細胞に低濃度で毒性を示すセスキテルペンラクトンは、豊富にあり、この種の物質は、多様な機能性を発揮すること、セスキテルペンラクトンには数種のダイマーが存在することなど、セスキテルペン類の化学構造の特性や機能性の多様性を概説した。

二章ではヤーコン葉抽出物から uvedafolin (1) を単離し、化学構造を IR, NMR 及び MS を用い解析することに成功した。その構造はセスキテルペンラクトンのダイマーであり、本物質は新規物質であることがわかったため、単結晶 X 線構造解析により再度化学構造の確認を行った。uvedafolin (1) は、HeLa 細胞(子宮頸がん)、HL-60 白血病細胞株、マウスメラノーマ細胞株に対し高い細胞毒性(IC₅₀: 0.2-1.69 μ M)を示した。次に、日本で入手可能な品種の異なるヤーコン葉中のダイマー uvedafolin (1) の含有量を定量分析したところ、特定の品種(サラダオトメ 0.064 mg/g 新鮮重、サラダオカメ 0.045 mg/g 新鮮重)にのみ存在することが明らかになった。次にダイマーセスキテルペンラクトンの HeLa 細胞に対する細胞毒性を評価したところ、既知のモノマーセスキテルペンラクトンよりも数倍高い活性を示した。また、ダイマーを構成するモノマー2 種類を混合させた物はダイマーほどの強い活性を示さなかった。従って、ダイマーの架橋構造が活性に大いに寄与していることがわかった。

三章ではダイマー uvedafolin (1) の HeLa 細胞に対する細胞毒性メカニズムを推定するため細胞周期及びアポトーシス誘導を評価した。細胞周期解析結果から、SLs の G₂/M 期での停止、DNA 断片化の指標である subG1 ピークが観察されたことからアポトーシス誘導が示唆された。そして、アポトーシス誘導は形態学的観察、カスパーゼ酵素活性、ミトコンドリア膜電位観察、アポトーシス促進タンパク質 cytochrome c の検出などから、ミトコンドリア経路であることを明らかにした。

従って、**uedafolin (1)**は HeLa 細胞にミトコンドリア経路アポトーシス誘導の促進作用を示すことから、抗がん活性を示す化合物であると結論付けた。

四章では既知のモノマーセスキテルペンラクトン1つであるが、誘導体化が可能なことから、リード化合物の1つとして側鎖にカルボン酸基を持つ **sonchifolinic acid (7)**を単離・同定した。SLsの構造活性相関の探索研究の一環として、**sonchifolinic acid (7)**、**sonchifolinic acid** 側鎖の化学修飾を行ったアルキルエステル SLs (**7a-7d**)を合成し、それらの物質の HeLa 細胞毒性を評価した。細胞毒性活性(IC₅₀)は **butyl (7b)**, 5.29 μM > **propyl (7a)**, 5.39 μM > **pentyl (7c)**, 8.94 μM > **sonchifolin (6)**, 15.11 μM > **2-Methoxy-ethyl sonchifolin (7d)**, 21.07 μM > **sonchifolinic acid (7)**, >40 μM の順に強い活性を示すことが明らかになった。化合物 **7d** は **6** 以上の活性を示さなかったことからメトキシ基の活性寄与は小さいことがわかった。アルキルエステル SLs (**7a-7c**)は **sonchifolinic acid (7)**と比較すると5倍以上の強い活性を示したことから、炭素側鎖数増加に伴う親油性の増加は活性増強に寄与する因子であることがわかった。これらアルキルエステル SLs (**7a-7c**, Log *P* 4.04-5.11)とダイマーSLs **uedafolin (1)**, Log *P* 4.53) と **enhydrofolin (2)**, Log *P* 3.73)の Log *P* は互いに近い値であるにも拘らず、ダイマーはこれらアルキルエステル SLs (**7a-7c**) の約 2 倍強い活性を示した。**Sonchifolin** や **sonchifolinic acid** が 15.11 μM 以上の濃度で IC₅₀ を示すこと、及び **butyl sonchifolinic acid ester** が **polymatinB** と同程度の高い活性を示すことから、**sonchifolinic acid (7)**の C-14 位の修飾は活性増強に重要な因子であることが明らかになった。また、ダイマーを構成する架橋構造や立体構造はより活性を高める要因であると示唆される。今後の研究は **sonchifolinic acid (7)**に代わる **uedalinic acid** や **enhydrinic acid** が単離できれば、さらに高い活性を示す誘導体を合成することが可能ではないかと推察できた。

以上の一連の研究から、ヤーコン葉のセスキテルペンラクトンの新規物質である **uedafolin (1)**を単離し、ガン細胞に対し、高い毒性活性を示すこと、がん予防に効果の期待できるアポトーシス誘導が引き金になっていることを明らかにした。誘導体の活性試験から構造活性相関を検討し、C-14 位の修飾は活性に重要な影響を与えることを明らかにした。今後、リード化合物としてさまざまな誘導体が合成されれば、医薬品原料としてこれら代謝物の価値が高くなることが期待された。

学位論文の公開審査会は平成 29 年 2 月 4 日愛媛大学農学部で実施され、口頭発表と質疑応答が行なわれた。続いて学位論文審査委員会を開催して本論文の内容を審査した。その結果、全員一致して本論文が博士（農学）の学位を授与するに値するものと判定した。