



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on antitumor and anti-cachectic activities of eicosapentaenoic acid-enriched phospholipids derived from marine echinoderms [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	杜, 磊
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(水産科学)
Dissertation Number	甲第12213号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/61623
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Lei_Du_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（水産科学）

氏名：杜 磊

審査委員	主査	教授	宮 下 和 夫
	副査	特任教授	高 橋 是 太 郎
	副査	准教授	栗 原 秀 幸

学 位 論 文 題 目

Studies on antitumor and anti-cachectic activities of eicosapentaenoic acid-enriched phospholipids derived from marine echinoderms

（棘皮動物に豊富な EPA 結合型リン脂質の抗腫瘍ならびに抗悪液質作用に関する研究）

血液性状を改善する水産物の機能性成分としてエイコサペンタエン酸 (EPA) が広く一般にも知られるようになり、また EPA の抗腫瘍ならびに抗悪液質作用についても注目され始めている。しかし、これらの作用はトリアシルグリセロールやエチルエステル形態の EPA について調べられたものであり、より生体親和性が高いリン脂質形態の EPA については殆ど調べられていない。

本研究では、著しく EPA の組成比が高いリン脂質である EPA 結合型リン脂質を含有する棘皮動物のヒトデとナマコのリン脂質に着目し、その *in vitro* 及び *in vivo* における EPA 結合型リン脂質の抗腫瘍及び悪液質に対する緩和作用について明らかにしたものである。

第 1 章ではヒトデ及びナマコの EPA 結合型リン脂質のリポソーム（小胞）を調製し、小腸上皮細胞モデルにおける透過と取込みについて、大豆リン脂質リポソームを比較対照としながら調べた。その結果、当該 EPA 結合型リン脂質リポソームは大豆リン脂質リポソームよりも透過及び取込みの何れにおいても優れていることがわかり、その理由についても一部明らかにできた。

第 2 章では EPA 結合型リン脂質が S180 腹水腫ガン細胞、P388 白血病細胞、HepG2 ヒト肝ガン由来細胞、HeLa ヒト子宮頸ガン由来細胞に対し、濃度依存的に増殖抑制効果を示すことを明らかにした。また、マウスを用いた動物実験において、14 日間の 100mg/kg/日の EPA 結合型リン脂質の投与が S180 腹水腫ガンに対して、腹水量の増加を抑えると

ともに、腫瘍細胞数を減らし、生残率を向上させることを示した。そしてこの抗腫瘍作用機序の一つとして、ガンによって低下したグルタチオン(GSH)、スーパーオキシドディスムターゼ(SOD)、カタラーゼ(CAT)の活性を部分的にはあるが、復活させることが明らかになった。また、アクリジンオレンジ及びエチジウムブロミドによる染色において、EPA 結合型リン脂質が S180 ガン細胞をアポトーシス誘導していることを示し、ミトコンドリアのアポトーシス誘導経路に作用している可能性の一端を示した。

第3章では14日間における100mg/kg/日のEPA結合型リン脂質のマウスへの投与が、体重及び白色脂肪細胞(WAT)の減少を抑制し、また非エステル態脂肪酸(NEFA)の増大を抑制することを示した。そしてこれらのことが、悪液質に伴って起こる著しい脂質分解をEPA結合型リン脂質が抑制していることによる可能性が高いと考えた。さらにこの現象は、本質的にはEPA結合型リン脂質が有する抗炎症作用に基づくものと考えられた。EPA結合型リン脂質は、組織に脂肪を取り込ませる働きをするリポタンパク質リパーゼの活性を低下させるleukemia inhibitory factor (LIF)の発現抑制や、限定的にはあるが、脂質合成を一部復活させるので、このことも悪液質緩和の理由の一端と考えられた。

第3章ではEPA結合型リン脂質が脂肪組織の減少を抑制することが明らかになったが、同リン脂質がサイトカインを介した脂肪組織における脂肪分解を抑制するか否かについてはそれまで明らかになっていなかった。そこで第4章では成熟した3T3-L1脂肪細胞における炎症性サイトカインである腫瘍壊死因子 α (TNF- α)及びインターロイキン6 (IL-6)を介した脂肪分解反応について調べた。その結果、EPA結合型リン脂質は効果的にTNF- α 及びIL-6によって誘導される脂質分解を抑制することが明らかになった。また、TNF- α によって誘導される脂肪分解に対するEPA結合型リン脂質の抑制作用は、脂質分解の律速段階である脂肪組織トリアシルグリセロールリパーゼ(ATGL)を阻害するG0/G1 switch gene 2 (G0S2)及びペリリピンの発現を上昇させることに基づくものと考えられた。さらに、TNF- α の存否に関わらず、EPA結合型リン脂質は、3T3-L1脂肪細胞においてホスホイノシトール3リン酸 (PI3K)の活性化とグルコーストランスポータータイプ4(GLUT 4)の発現を上昇させることが認められた。このことは、EPA結合型リン脂質が脂肪細胞において、TNF- α によって誘導されるインスリン抵抗性を緩和していることを示唆している。

以上のように、ヒトデやナマコのような水産棘皮動物に豊富な EPA 結合型リン脂質に、ガン悪液質に対する緩和作用があることをエビデンスを持って明らかにした本研究は、今後の水産物の利用に新しい可能性を切り開くものである。

よって審査員一同は申請者が博士（水産科学）の学位を授与される資格のあるものと判定した。