

重 研 252

(別紙様式第3号)

## 論 文 要 旨

### 論文題目

**Inhibitory Effects of Crude  $\alpha$ -Mangostin, a Xanthone Derivative, on Two Different Categories of Colon Preneoplastic Lesions Induced by 1,2-dimethylhydrazine in the Rat**

(ラットの 1,2-dimethylhydrazine 誘導による大腸前癌病変に対するキサントン誘導体天然抽出物 $\alpha$ -mangostin の抑制効果)

氏 名 VIENG VANSAY NABANDITH (印)

## 論文要旨




〔はじめに〕 果実マンゴスチンは、フルーツの女王と呼ばれ、熱帯地域特に東南アジアの国々に自生し、食されている。その果皮は古くから、やけど、皮膚炎、口内炎、腸炎、下痢、赤痢などに対し民間療法薬として使用されてきたとともに、その抽出物による抗炎症、抗菌・抗ウィルス、抗アレルギー、抗腫瘍作用が科学的に報告されている。果皮抽出物には抗酸化作用を呈する xanthone 骨格からなる多くの誘導体を含含有しており、 $\alpha$ -mangostin ( $\alpha$ M) はその誘導体の一つである。 $\alpha$ M は既に共同研究者の赤尾らによりヒト白血病、大腸癌細胞株において抗腫瘍効果が報告されている。今回、マンゴスチン果皮からの粗精製物 (Crude  $\alpha$ -mangostin (CaM) ;  $\alpha$ M 80%、 $\gamma$ -mangostin 16%) を用いて、ラット化学大腸発癌モデル前癌病変に対する修飾効果を検討した。〔方法〕 5週齢雄 F344 ラット計 33 匹を第 1 群 : 1,2-dimethylhydrazine (DMH) + 基礎食 (CE-2)、第 2 群 : DMH + 0.02% CaM 含有食、第 3 群 : DMH + 0.05% CaM 含有食、第 4 群 : 0.05% CaM 含有食単独、第

5 群 : CE-2 単独投与の 5 群に分け、第 1~3 群は、実験開始後 1 週目と 2 週目に DMH (40mg/kg body weight) を計 2 回皮下投与した。CaM は実験開始直後より連続して混餌投与した。全群とも実験開始から 5 週で屠殺し、大腸を摘出した。大腸は、0.5% methylene blue 染色を行い、前癌病変である aberrant crypt foci (ACF) の発生数を計測した。続いて大腸は粘膜面に水平な薄切標本を作製し、組織学的に新規前癌病変のバイオマーカー - dysplastic foci (DF) の発生頻度を計測した。加えて同一標本上で免疫組織学的に  $\beta$ -catenin 及び proliferating cell nuclear antigen (PCNA) を染色し、前者は第 3 の前癌病変である  $\beta$ -catenin accumulated crypts (BCAC) 発生数を測定し、後者は組織学的な ACF と BCAC における細胞増殖能を検索した。〔結果〕第 1 群 (対照群) の ACF 数は  $174.4 \pm 21.2$  であったのに対し、第 2 群 (DMH+0.02% CaM 投与群) では 28% ( $126.0 \pm 45.9$ )、第 3 群 (DMH+0.05% CaM 投与群) では 46% ( $94.6 \pm 35.1$ ) の有意な減少を認めた ( $P < 0.05$  及び  $P < 0.01$ )。第 1 群における DF 及び BCAC 数はそれぞれ  $7.1 \pm 4.0$ 、 $1.05 \pm 0.87$  であったのに対し、第 3 群の DF

及び BCAC 数はそれぞれ 66% (2.4 ± 2.8) 、 64% (0.38 ± 0.34) の有意な減少を認めた ( $P < 0.05$ ) 。 さらに ACF 及び BCAC における PCNA labeling index は第 1 群で 4.26 ± 6.34 及び 8.75 ± 6.46 に対し、第 2 群 54% (1.97 ± 4.01) 及び 51% (4.30 ± 4.19) で有意に抑制した ( $P < 0.0001$  、  $P < 0.01$ ) 、 また第 3 群 81% (0.81 ± 1.96) 及び 60% (3.48 ± 2.75) で有意に抑制した ( $P < 0.0001$  、  $P < 0.001$ ) 。 また正常形態を呈する大腸陰窩における index は第 1 群 (7.85 ± 2.18) に対して、第 2 群 49% (3.98 ± 1.69) 及び第 3 群 61 % (3.03 ± 1.10) の有意に減少していた ( $P < 0.01$ ) 。

〔考察と結語〕今回、CaM がラット大腸癌発生のバイオマーカーである ACF 、 DF 、 BCAC 発生率の抑制することを見いだした。その作用機序の可能性として、CaM が細胞増殖活性を抑制する事が考えられた。この結果は既報である *in vitro* の抗腫瘍効果での癌細胞の増殖抑制の結果に合致すると思われた。本研究の結果はマンゴスチン果皮由来の  $\alpha$ M ががん化学予防 (chemoprevention) 機能を有している事を示唆し、機能性食品として有用性が期待されるところと思われる。

論文審査結果の要旨

報告番号	課程博 * 第 号 論文博	氏名	VIENGVANSAY NABANDITH
論文審査委員	審査日	平成17年 1月 27日	
	主査教授	安仁屋 洋子	 印
	副査教授	西巻 正	 印
	副査教授	研川 元	 印
(論文題目)			
<p>Inhibitory Effects of Crude <math>\alpha</math>-Mangostin, a Xanthone Derivative, on Two Different Categories of Colon Preneoplastic Lesions Induced by 1,2-dimethylhydrazine in the Rat (ラットの 1,2-dimethylhydrazine 誘導による大腸前癌病変に対するキサントン誘導体天然抽出物 <math>\alpha</math>-mangostin の抑制効果)</p>			
(論文審査結果の要旨)			
<p>上記の論文に関して、研究に至る背景と目的、研究内容、研究成果の意義と学術的水準について慎重に検討し、以下のような審査結果を得た。</p>			
<p>1. 研究の背景と目的 マンゴスチンは熱帯地域である東南アジアの国々でみられ、主に(マレーシア、インドネシア、カンボジア、ベトナム、タイ)などで栽培されており、その果皮は古くから、やけど、皮膚炎、口内炎、腸炎、下痢、赤痢などに対し民間療法薬として使用されてきたとともに、その抽出物による抗炎症、抗菌・抗ウィルス、抗アレルギー、抗腫瘍作用が科学的に報告されている。その果皮抽出物にはキサントン骨格を有する多くの誘導体を含有しており、<math>\alpha</math>、<math>\beta</math>、<math>\gamma</math>-mangostin を主成分とし、<math>\alpha</math>-mangostin (<math>\alpha</math>M)は既に共同研究者の赤尾らにより、ヒト白血病、大腸癌細胞株において抗腫瘍効果が報告されている。本実験は、in vivo system を用いて、crude <math>\alpha</math>-mangostin (C<math>\alpha</math>M)がラット大腸発癌モデルにおける前癌病変のaberrant crypt foci (ACF)及び dysphasic foci (DF)または <math>\beta</math>-catenin accumulated crypts (BCAC)の抑制効果の有無を検討し、その化学予防剤としての可能性をみた。</p>			
<p>2. 研究内容 【材料と方法】 ラット、33匹を第1、2、3群ラットは9匹ずつ、第4と5群は3匹ずつに分けた。第1～3</p>			

群には 1,2-dimethylhydrazine (DMH)を実験開始後一週目と二週目の計 2 回(40mg/kg体重/回)皮下投与し、第 2~4 群のラットには、それぞれ 0.02%, 0.05%, 0.05%のC $\alpha$ Mを基礎食(CE-2)に混餌して実験開始直後から与えた。第 1 と 5 群にはCE-2のみを与えた。実験開始から 5 週間後に全匹を屠殺した。切除した大腸は 10%中性緩衝ホルマリン固定後 0.5% methylene blueで 30 秒間染色を行い、大腸粘膜上観察されるACFを測定した。続いて大腸を長軸方向で 2 分割し、一方のスイスロール標本を作製し細胞増殖能を抑制するためproliferating cell nuclear antigen (PCNA)免疫染色を行い、labeling index (LI)を求めた。一方は 2cmごとに粘膜面に水平な薄切標本を作製し、H・E染色に加えて $\beta$ -catenin及びPCNA免疫染色を行った。H・E染色にてDFと $\beta$ -catenin染色でBCACを同定してそれらの発生数を測定した、また、PCNA染色ではACFとBCACの細胞増殖能を検索した。

#### 【結果】

① DMH 及び C $\alpha$ M 投与による体重等への影響はみられず、また肝臓・腎臓での組織学的にも急性毒性は認めなかった。

② DMH で誘導された ACF 数は第 1 群(DMH 投与群)に対し、第 2 群(DMH + 0.02 %C $\alpha$ M 投与群)では 28%,第 3 群(DMH + 0.05%C $\alpha$ M 投与群)では 46%の有意な減少を認めた(P<0.05, P<0.01)。

③ DF 及び BCAC 数は第 1 群に対して、第 3 群ではそれぞれ 66%及び 64%の有意な減少を認めた(P<0.05)。

④ ACF 及び BCAC における PCNA-LI は第 1 群に対し、第 2 群では 54%及び 51%の有意な減少を認めた(P<0.0001, P<0.01)。第 3 群では 81%及び 60%の有意な減少を認めた(P<0.0001, P<0.001)。

⑤ 正常形態を呈する大腸陰窩における PCNA-LI は第 1 群に対して、第 2 群では 49%及び第 3 群 61%の有意な減少を認めた(P<0.01)。

#### 【考察と結語】

今回、C $\alpha$ M がラット大腸癌発生のバイオマーカーである ACF、DF、BCAC 発生率の抑制することを見出した。その作用機序の可能性として、C $\alpha$ M が細胞増殖活性を抑制する事が考えられた。この結果は既報である in vitro の抗腫瘍効果での癌細胞の増殖抑制の結果に合致した。本研究の結果はマンゴスチン果皮由来の $\alpha$ M ががん化学予防(chemoprevention)機能を有している事を示唆し、機能性物質として利用が期待されると考えられた。

#### 3. 研究成果の意義と学術水準

本研究では、マンゴスチン果皮由来 C $\alpha$ M が DMH で誘発された前癌病変である ACF, DF, BCAC の発生を抑制し、さらに細胞増殖活性も減少させることを明らかにした。これらの結果は $\alpha$ M が大腸発癌に対するがん化学予防剤としての可能性を示唆するものであり、将来ヒト大腸癌の予防に利用されるべき有意義な知見であり、その研究成果は国際的に認められる雑誌に発表され、一定の学術水準に達していると判断される。

以上により、本論文は学位授与に十分に値するものであると判断した。