

医研第323号

(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

Antioxidative and Modifying Effects of a Tropical Plant *Azadirachta indica* (Neem) on Azoxymethane-induced Preneoplastic Lesions in the Rat Colon

(ニーム葉のアゾキシメタン誘導ラット大腸発癌モデルにおける前癌病変に対する抗酸化能と修飾効果)

氏名 新田 淳也 (新田)

## 論 文 要 旨

【背景】ニーム（インドセンダン）は、インド北西部に起源を持ち、東南アジアから中近東に自生するセンダン科、センダン属の熱帯性常緑樹である。インドなどでは広くハーブ茶にして飲んでも害がないとされ、健康増進に寄与しているとされる。

【目的】ニーム葉抽出物による生物学的活性、特に大腸発癌予防に関して検討を行った。

【方法】ニーム葉抽出物は、ニーム葉を95℃の蒸留水で10分間煮沸し、濾紙でフィルターをかけて抽出し、以下の実験に利用した。

1) 42匹のF344雄ラットを6群(G1～G6)に分け、G1～G4にazoxymethane AOM(20mg/kg)が週1回計2回投与した。G1は基礎食をG4、G5に250mg/kg、G2に20mg/kg、G3に100mg/kgのニーム抽出物の量を与えた。実験開始5週目のラットを屠殺し大腸前癌病変とされる aberrant crypt foci (ACF) 及び mucin depleted foci (MDF) の抑制の有無を確認した。続いて大腸は粘膜面に水平な薄切標本を作成し、組織学的前癌病変のバイ

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 proliferating cell nuclear antigen (PCNA) を染色し細胞増殖能を検索した。

2) DPPH 還元試験 : 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 残存率 (%)

の測定を行い DPPH 残存率 (%) を算出し、DPPH を半分消去する濃度 (IC50) を求め、抗酸化能を測定した。

【結果】平均体重、肝臓重量、体重 100g あたりの肝臓重量において群間で有意差はなかった。G1 の ACF 総数は  $121.6 \pm 26.3$  であったのに対し、G2 で  $83.3 \pm 12.3$ 、G3 で  $76.0 \pm 14.0$ 、G4 で  $80.2 \pm 17.2$  と有意な減少があり、ACF の数が、G1 ~ G3 においても同様な結果、有意差を認めた。MDF は、G1 対し G2、G3、G4 は減少傾向があったが、有意差はなかった。PCNA labeling index は、G1:  $13.1 \pm 3.5$ 、G2:  $7.9 \pm 3.1$ 、G3:  $5.4 \pm 1.2$ 、G4:  $4.0 \pm 1.3$ 、G5:  $2.5 \pm 1.7$ 、G6:  $3.4 \pm 2.7$  でニーム抽出物投与群での細胞増殖活性が低下していた。ニーム抽出物は、DPPH を濃度依存的に消去し、10mg/ml の DPPH の IC50 は  $4348 \mu\text{g/ml}$ 、25mg/ml での IC50 は 5952 であった。ビ

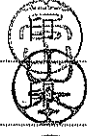

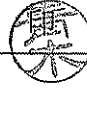
タミン C の IC50 は 101  $\mu$  g/ml で あ っ た 。

【 考 察 】 AOM な ど の 大 腸 癌 特 異 的 発 癌 物 質 は 、 鋸 歯 動 物 の 大 腸 粘 膜 に お け る 細 胞 増 殖 の 活 性 化 、 陰 窩 構 成 細 胞 の 増 加 、 陰 窩 の 丈 の 増 大 を 誘 発 し 、 そ の 細 胞 増 殖 の 活 性 化 が 大 腸 癌 前 癌 病 変 の バ イ オ マ ー カ ー と さ れ る ACF 、 MDF 、 DF と 密 接 に 関 係 し て お り 、 ニ ー ム 抽 出 物 に よ る 細 胞 増 殖 活 性 能 の 抑 制 が ACF 、 MDF 、 DF 形 成 抑 制 の 機 序 と 考 え ら れ た 。 フ リ ー ラ ジ カ ル は 発 癌 過 程 に 密 接 に 関 連 す る と 考 え ら れ る 。 ニ ー ム に は 、 ケ ル セ チ ン や リ モ ノ イ ド な ど 複 数 の 合 成 物 を 有 し て お り 、 本 研 究 に お い て も ニ ー ム 抽 出 物 が 抗 酸 化 活 性 を 持 つ こ と を 発 見 し 、 こ の 活 性 が 大 腸 で 前 癌 病 変 の 発 生 の 抑 制 に 貢 献 す る 可 能 性 が あ る こ と を 示 唆 し た 。

【 結 語 】 ニ ー ム 葉 抽 出 物 は 、 細 胞 増 殖 能 抑 制 効 果 を 有 し 抗 酸 化 能 を 認 め た 。 大 腸 癌 に 対 す る が ん 化 学 予 防 剤 へ の 利 用 の 可 能 性 が 考 え ら れ た 。

(別紙様式第7号)

## 論文審査結果の要旨

報告番号	* 課程博 論文博	第323号	氏名	新垣 淳也
論文審査委員	審査日	平成 20 年 7 月 30 日		
	主査教授	高山 千利		
	副査教授	山本 秀幸		
	副査教授	青木 浩一		
(論文題目)				
<p>Antioxidative and Modifying Effects of a Tropical Plant <i>Azadirachta indica</i> (Neem) on Azoxymethane-induced Preneoplastic Lesions in the Rat Colon</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、学術的水準等につき慎重かつ公正に検討し、以下のような審査結果を得た。</p>				
<p>1. 研究の背景と目的</p> <p>ニーム(インドセンダン)は、インド北西部に起源を持ち、東南アジアから中近東に自生するセンダン科アザディラクタ属の熱帯・亜熱帯性常緑樹である。インドでは数千年も昔から生活に愛用される植物で、樹液や樹皮、葉や種子にいたるまであますことなく活用されている。そのニームは特徴として天然害虫防除として虫除けに利用されているが、ハーブ茶にして飲んでも害がなく健康増進に寄与している。本研究ではニームのがん化学予防効果を検討し、その作用機序の解明を目的とした。</p>				
<p>2. 研究内容</p> <p>ニーム葉の熱水抽出物を作成し、以下のことを検討した。</p> <p>ニーム葉抽出物を azoxymethane (AOM) 誘導ラット大腸発癌モデルに経口投与し大腸癌の前癌病変と提唱されている aberrant crypt foci (ACF) と mucin depleted foci (MDF)の2つの病変に対する抑制効果の有無を検討した。あわせて大腸粘膜における細胞増殖活性 PCNA labeling index (PLI) に対する影響を検討した。</p>				

1) ニーム葉抽出物投与群による体重、肝重量への影響は認められなかった。

2) ラット一匹当たりの ACF 数は、ニーム非投与群は  $121.6 \pm 26.3$  であったのに対し、ニーム葉抽出物(20mg/kg)で  $83.3 \pm 12.3$ 、(100mg/kg)で  $76.0 \pm 14.0$ 、(250mg/kg)で  $80.2 \pm 17.2$  と有意な減少があった。MDF は、ニーム葉抽出物投与群で減少傾向はあったが、有意差は認めなかった。PCNA labeling index は、コントロール群:  $13.1 \pm 3.5$ 、ニーム葉抽出物(20mg/kg):  $7.9 \pm 3.1$ 、(100mg/kg):  $5.4 \pm 1.2$ 、(250mg/kg):  $4.0 \pm 1.3$  で、ニーム葉抽出物投与群での細胞増殖活性が低下していた。

3) ニーム葉抽出物が抗酸化能を有しているか DPPH 法を用いて検討した。DPPH の IC50 値は、ニーム葉抽出物で  $7321.1 \mu\text{g/ml}$  であり、VitaminC と比べ低い値であったが抗酸化能を有していた。

以上の結果から、その効果は抗酸化能を介して発現され、ニーム葉抽出物は細胞増殖能抑制効果を有し、大腸癌に対するがん予防剤として機能する可能性が示唆された。

### 3. 研究結果の意義と学術水準

ニーム葉抽出物による大腸癌の前癌病変に対する抑制効果を検討した研究は過去には無く、本研究が世界初の報告である。ニーム葉は複数の化合物を含んでおり、その作用を有する物質の同定には到っていないものの、がん予防の観点に立てば、大腸癌予防物質候補としての新たな知見を示した。また、その抑制メカニズムの一端として、抗酸化能と細胞増殖能の抑制の関与を明らかにしたことは国際的にも評価されるものであると判断した。

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。

- 備考
- 1 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書きとすること。
  - 2 要旨は800字～1200字以内にまとめること。
  - 3 \*印は記入しないこと。