

ふりがな氏名	こうの たかこ 河野 多香子
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	甲 第 724 号
学位授与の日付	平成 26 年 3 月 7 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項に該当
学位論文題目	Chemopreventive effect of green tea catechin on rat tongue carcinogenesis induced by 4-nitroquinoline 1-oxide (4NQO 誘発ラット舌癌に対する緑茶カテキンの化学的予防効果)
学位論文掲載誌	Journal of Osaka Dental University 第 48 巻 第 1 号 平成 26 年 4 月
論文調査委員	主査 森田 章介 教授 副査 田中 昭男 教授 副査 覚道 健治 教授

### 論文内容要旨

口腔癌治療は患者の ADL および QOL を著しく低下させることが懸念され、食品による化学的予防が注目されている。緑茶カテキンの約半数を占める(-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) は、強い抗酸化作用を有するとともに抗腫瘍作用や発癌抑制作用が報告されている。口腔粘膜は緑茶と直接に接触するため、より効果的な口腔癌の発癌抑制作用が期待できる。

Nuclear factor  $\kappa$  B (NF- $\kappa$  B) p65 は、細胞の増殖や分化に関与するタンパク質複合体であり、NF- $\kappa$  B p65 の活性化は細胞の癌化に関与している。一方、I $\kappa$ B kinase  $\alpha$  (IKK $\alpha$ ) 遺伝子は、NF- $\kappa$  B p65 活性化因子であり、扁平上皮癌における IKK $\alpha$  と活性化 NF- $\kappa$  B p65 の動態が、腫瘍の進展に関与するとして注目されている。近年、EGCG による NF- $\kappa$  B p65 の活性化抑制が報告され、EGCG は発癌の重要な制御因子であると考えられているが、口腔扁平上皮癌における活性化 NF- $\kappa$  B p65 の発現が、EGCG 投与によってどのように変化するのか明確になっていない。そこで今回、4-nitroquinoline 1-oxide (4NQO) 誘発ラット舌癌を用いて発癌過程における EGCG の発癌抑制作用を検討した。

実験には Sprague-Dawley (SD) 系ラットを用い、50ppm の 4NQO 水溶液を飲水投与した 4NQO 誘発ラット舌癌グループと、4NQO 水溶液とともに 500ppm の EGCG 水溶液を与えたグループとを実験群とし、蒸留水のみを与えたグループを対照群とした。投与開始から 8 週、12 週、16 週、20 週および 24 週で舌背部の肉眼的観察を行うとともに、病理組織学的に比較検討した。また、癌化過程における活性化 Nuclear factor  $\kappa$  B (NF- $\kappa$  B) p65 および I $\kappa$ B kinase  $\alpha$  (IKK $\alpha$ ) の発現と細胞増殖との関連性を、免疫組織化学および immunoblotting により観察した。

EGCG を投与することで、4NQO 誘発ラット舌癌グループに比べ上皮性異形成および扁平上皮癌の発生

が有意に抑制されるとともに、活性化 NF- $\kappa$ B p65 と IKK $\alpha$  の発現が抑制された。また、Ki-67 陽性細胞率も減少し、舌における細胞増殖活性を抑制した。それぞれのタンパクについて Western blotting を行い、免疫染色での発現と同様な結果を得た。

以上のことから、EGCG の発癌抑制作用は、活性化 NF- $\kappa$ B p65 の抑制による可能性が高く、EGCG を長期間投与することで IKK $\alpha$  の発現を減少させ、発癌プロモーション抑制作用が亢進し、多段階発癌を抑制する可能性が示唆された。このように多面的な発癌抑制作用を示す食品成分は他になく、臨床応用上の利点は多いが、今後さらに EGCG の詳細な発癌プロモーション抑制作用の解明や、IKK $\alpha$  と NF- $\kappa$ B p65 の活性化機構に関して検討を加える必要があると考えられる。

### 論文審査結果要旨

緑茶カテキンの約半数を占める(-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) は、強い抗酸化作用を有するとともに抗腫瘍作用や発癌抑制作用が報告されている。口腔粘膜は緑茶と直に接触するため、より効果的な口腔癌の発癌抑制作用が期待できる。Nuclear factor  $\kappa$  B (NF- $\kappa$ B) p65 は、細胞の増殖や分化に関与するタンパク複合体であり、NF- $\kappa$ B p65 の活性化は細胞の癌化に関与している。一方、I $\kappa$ B kinase  $\alpha$  (IKK $\alpha$ ) 遺伝子は、NF- $\kappa$ B p65 活性化因子であり、扁平上皮癌における IKK $\alpha$  と活性化 NF- $\kappa$ B p65 の動態が、腫瘍の進展に関与するとして注目されている。著者はこの研究で、4-nitroquinoline 1-oxide (4NQO) 誘発ラット舌癌を用いて、口腔扁平上皮癌における活性化 NF- $\kappa$ B p65 の発現が、EGCG 投与によってどのように変化するのかを調べ、EGCG は IKK $\alpha$  と活性化 NF- $\kappa$ B p65 の発現を抑制し、発癌プロモーション抑制作用を発揮することを明らかにしている。

実験には Sprague-Dawley (SD) 系ラットを用い、50ppm の 4NQO 水溶液を飲水投与した 4NQO 誘発ラット舌癌グループと、4NQO 水溶液とともに 500ppm の EGCG 水溶液を与えたグループとを実験群とし、蒸留水のみを与えたグループを対照群とした。投与開始から 8 週、12 週、16 週、20 週および 24 週で舌背部の肉眼的観察を行うとともに、病理組織学的に比較検討した。また、癌化過程における活性化 NF- $\kappa$ B p65 および IKK $\alpha$  の発現と細胞増殖との関連性を、免疫組織化学および immunoblotting により観察している。

その結果、EGCG を投与することで、4NQO 誘発ラット舌癌グループに比べ上皮性異形成および扁平上皮癌の発生が有意に抑制されるとともに、活性化 NF- $\kappa$ B p65 と IKK $\alpha$  の発現が抑制されることを明らかにした。また、EGCG 投与によって Ki-67 陽性細胞率が減少し舌における細胞増殖活性を抑制すること、EGCG 長期投与によって発癌プロモーション抑制作用が亢進することを明らかにした。

以上、EGCG 投与によって、発癌過程における活性化 NF- $\kappa$ B p65 と IKK $\alpha$  の発現は抑制され、EGCG を長期間投与することで発癌プロモーション抑制作用が亢進し、多段階発癌を効果的に抑制することを証明した点において、本論文は博士（歯学）の学位を授与するに値すると判定した。