

博士論文審査の結果の要旨

氏名	河原 誠一
学位名	博士（農学）
学位番号	甲 第88号
論文題目	抗腫瘍活性を有するプロアントシアニジンオリゴマーに関する研究
論文審査委員	主査 藤井 博 福田 正樹 真壁 秀文 濱渦 康範 松田 一彦 (近畿大学)

(博士論文審査の結果の要旨)

本論文は、抗腫瘍活性を有するプロアントシアニジンオリゴマーをブドウ梗由来残渣及び小豆抽出物から精製する方法を開発し、活性成分の推定構造を決定したものである。

ワイン用のブドウは今や世界中で栽培されるようになったが、ジュースと異なり搾汁率は70%程度であるため残りが残渣として廃棄されている。これまで、この残渣（産業廃棄物）の有効活用法の開発はワイン企業にとって重要な課題となっていた。また、廃棄資源の有効利用法の開発は、持続可能な社会を実現するために社会的にも求められている。

このような背景の中で、信州大学との共同研究から、ブドウ果柄残渣成分に顕著な抗腫瘍活性があることを見出した。この成分には、ヒト前立腺がん細胞株（PC-3）において、がん細胞増殖抑制活性だけではなく、浸潤や転移促進遺伝子FABP5（Fatty acid-binding protein 5）の発現を顕著に抑制する活性を見出した。本研究では、活性成分を同定するために、シャルドネ (*Vitis vinifera*) の果柄からポ Amberlite XAD を用いることによって、抗腫瘍活性を有するプロアントシアニジンオリゴマーを効率よく濃縮することに成功した。また、FABP5 遺伝子の発現を抑制する化合物が (Epi) catechin の 5 量体以上であることを明らかにした。精製した活性画分を LC-TOF-MS により詳細に分析し、重合度の異なるプロアントシアニジンオリゴマーを検出したが、主要な活性分子の推定構造は、(Epi) gallicatechin、gallate 基を 1 つずつ含んだ 8 量体と 10 量体であることを明らかにした。

次に、上記抗腫瘍活性を有するプロアントシアニジンオリゴマーの生体に対する安全性を評価した。その結果、プロアントシアニジンオリゴマーには有意な細胞毒性は検出されなかった。また、*in vivo* (PC-3 担がんマウスを用いた実験) において、ブドウ果柄残渣由来プロアントシアニジンオリゴマーの抗腫瘍活性（細胞増殖抑制）の評価を行い、*in vitro* の結果が *in vivo* でも再現されることを確認した。

次に、小豆抽出物由来抗腫瘍性プロアントシアニジンを同定するために、活性分子の精製に取り組んだ。各精製画分を抗腫瘍活性試験に供したところ、ブドウの場合と同様に、プロアントシアニジンオリゴマーに富む分画に顕著なFABP5 遺伝子の発現抑制活性が認められた。上記の活性画分を LC-TOF-MS で分析したところ、ブドウの場合と同様に 5 量体以上のオリゴマー (< 7 量体) の存在が示唆された。

次に、PC-3 担がんマウスを用いて、小豆由来プロアントシアニジンオリゴマー含有飲料水 (2% w/v) を 4 週間経口投与したところ、有意な体重変化もなく、がん細胞の大きさがコントロール群に比べて面積で 35.5%、重量で 50% の縮小がみられた。このように、小豆由来プロアントシアニジンオリゴマーの有意な抗腫瘍活性（細胞増殖抑制）が細胞および個体（マウス）レベルで確認できた。

本論文は、顕著な抗腫瘍活性を有する新規プロアントシアニジンオリゴマーをブドウ残渣及び小豆の抽出物から濃縮する方法を見出し、活性分子の推定構造を決定しており、近年増加傾向にあるがんの予防法や治療法の開発において、有用で新規な知見を提供するものである。また本研究の成果が、ブドウ残渣（産業廃棄物）の有効活用法としてワイン企業に広まれば、持続可能な社会の実現にも貢献が期待される。さらに、本研究の成果は既に国際誌へ 2 報掲載済みであり、学位論文として認められることを確認した。

以上のように、本研究によって抗腫瘍活性を有するプロアントシアニジンオリゴマーに関する有益な知見とその重要性が示されており、本論文は信州大学大学院の博士（農学）の学位に値すると審査委員会は判断した。

(公表主要論文名)

- 1) Sei-ichi Kawahara, Kazuya Toda, Kiriko Matsumoto, Chisato Ishihara, Shuhei Nonobe, Chisato Matsunaga, Yoshika K. Gomi, Shogo Senga, Koichiro Kawaguchi, Ayaka Yamamoto, Jutalak Suwannachot, Reiko Noda, Shuhei Kobayashi, Yasunori Hamauzu, Hidefumi Makabe, Hiroshi Fujii Isolation and characterization of a novel oligomeric proanthocyanidin with significant anti-cancer activities from grape stems (*Vitis vinifera*). *Scientific Reports* 9, 12046, 2019
- 2) Sei-ichi Kawahara, Chisato Ishihara, Kiriko Matsumoto, Shogo Senga, Koichiro Kawaguchi, Ayaka Yamamoto, Jutalak Suwannachot, Yasunori Hamauzu, Hidefumi Makabe, Hiroshi Fujii Identification and characterization of oligomeric proanthocyanidins with significant anti-cancer activity in adzuki beans (*Vigna angularis*). *Heliyon* 5, e02610, 2019