

[成果情報名]ノビレチン等ポリメトキシフラボンはナチュラルキラー細胞を活性化する

[要約]カンキツ果皮に含まれるノビレチン等ポリメトキシフラボンは、ナチュラルキラー細胞を活性化し、がん細胞に対する細胞傷害活性を強める働きを持つ。その作用機序としては、細胞傷害活性に重要なプロテアーゼの発現を亢進することにあると推定される。

[キーワード]ノビレチン、ポリメトキシフラボン、ナチュラルキラー細胞、グランザイム B

[担当]食品機能性・生体防御利用技術

[代表連絡先]電話 029-838-8687

[研究所名]近畿中国四国農業研究センター・作物機能開発研究領域

[分類]研究成果情報

[背景・ねらい]

高齢化社会への対策として、健康寿命の延伸による生産人口の確保、および医療・福祉コストの抑制は重要な課題である。ナチュラルキラー（NK）細胞は、がん細胞やウイルス感染細胞に対して傷害性を示すリンパ球であり、NK細胞の機能を強化することは健康・長寿につながる事が期待できる。本研究は、NK細胞の機能を強化する食品成分を、培養細胞を用いた評価系により探し出し、あわせて作用機序を明らかにすることを目的とする。

[成果の内容・特徴]

1. ノビレチン、タンゲレチンあるいはシネンセチンを含む培地で培養した NK 様培養細胞株 KHYG-1 は、白血病細胞株 K562（NK 細胞に対する感受性が高いことから、NK 細胞の標的細胞として繁用される）に対する細胞傷害活性が強まる（図 1）。
2. ノビレチンは、NK 細胞の抗ウイルス活性に関与するサイトカインであるインターフェロン- γ の産生も促進する（図 2 A）。また、ノビレチンを添加することにより、KHYG-1 細胞におけるグランザイム B（がん細胞等の標的細胞内に侵入して作用するプロテアーゼの一種）のタンパク発現量が顕著に増加する（図 2 B）。このタンパク量の増加は、ノビレチン処理によるグランザイム B 遺伝子の転写量の増加を反映しているものであると考えられる（図 2 C）。
3. タンゲレチン、シネンセチン、3,3',4',5,6,7,8-ヘプタメトキシフラボンも、ノビレチンと同様にグランザイム B の発現を促進する（図 3）。さらに、天然には存在しない合成ポリメトキシフラボンの多くも、KHYG-1 細胞の細胞傷害活性を強めることを確認している。したがって、KHYG-1 細胞においてグランザイム B の発現を促進する作用は、ポリメトキシフラボンに共通した特徴であるといえる。
4. ノビレチンが KHYG-1 細胞の細胞傷害活性を増強させる効果は、グランザイム B の阻害剤の添加により失われる（図 4）。すなわち、KHYG-1 細胞に対するノビレチンの最も重要な作用は、グランザイム B の発現を亢進することであると示唆される。

[成果の活用面・留意点]

1. 本結果は培養細胞を用いた実験の結果であり、マウス、ヒトでも NK 細胞の活性化効果があるかどうかは今後詳しく調べなければならない。
2. ノビレチン等ポリメトキシフラボンは、ポンカンやシイクワシャーといったカンキツの果皮に存在するが、果肉にはほとんど含まれない。したがって、果皮の加工製品や、抽出成分を添加物として利用・摂取するなどといった活用が考えられる。また、ヒト NK 細胞の活性化剤として、細胞療法等の医学分野での応用も期待できる。

[具体的データ]

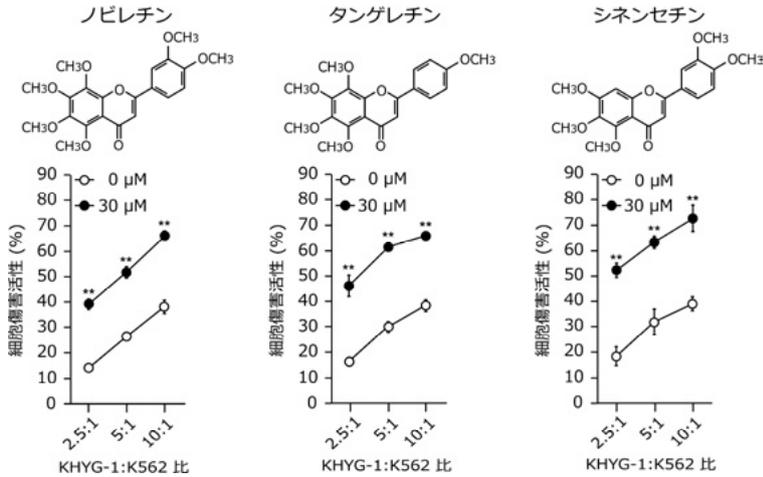


図1 ポリメトキシフラボンによる細胞傷害活性の増強効果

KHYG-1 細胞を各種ポリメトキシフラボンで 72 時間処理したのち細胞傷害活性を測定した。細胞傷害活性とは、KHYG-1 細胞によって傷害された K562 細胞から漏出した乳酸脱水素酵素の活性を示す。グラフの縦軸は、最大活性 (K562 細胞がすべて傷害されたときの活性) に対する百分率を表している。** $P < 0.01$, vs. vehicle control (0 μM). $n = 3$.

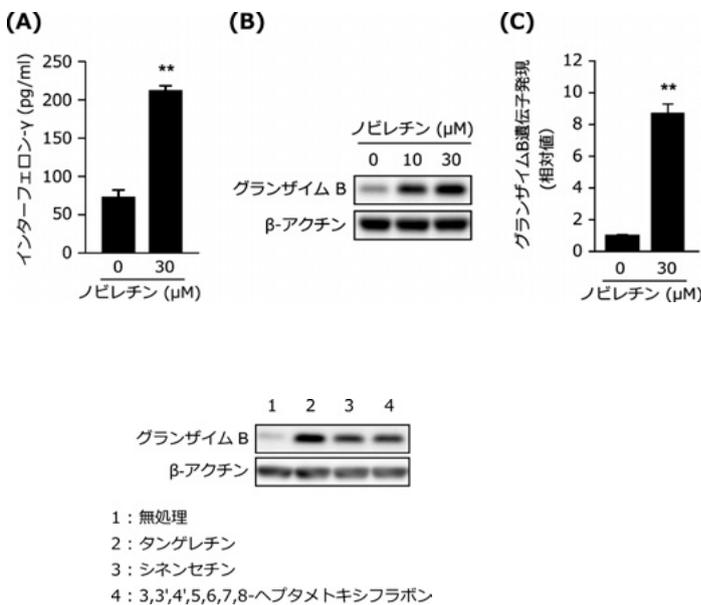
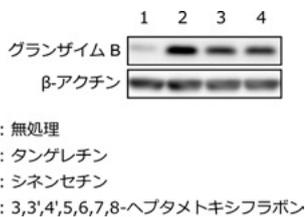


図2 ノビレチンによる細胞傷害関連因子の発現制御

KHYG-1 細胞をノビレチンで 24 時間処理した。(A)培養上清中のインターフェロン- γ を ELISA 法で定量した。(B)グランザイム B のタンパク量をウエスタンブロット法で検出した。(C)グランザイム B の mRNA レベルをリアルタイム PCR 法で定量した。** $P < 0.01$, vs. vehicle control (0 μM). $n = 3$.

図3 各種ポリメトキシフラボンによるグランザイム B の増加

KHYG-1 細胞を各 30 μM の試験成分で 72 時間処理した。



[その他]

中課題名：生体防御作用に関する健康機能性解明と有効利用技術の開発

中課題番号：310c0

予算区分：交付金

研究期間：2011～2014 年度

研究担当者：齋藤武、阿部大吾、野方洋一

発表論文等：

1) Saito T. et al. (2015) Biochem. Biophys. Res. Commun. 456(3): 799-803

2) 齋藤「NK 細胞活性化剤、NK 細胞活性化方法及びスクリーニング方法」特開 2012-180307 (2012 年 9 月 20 日)

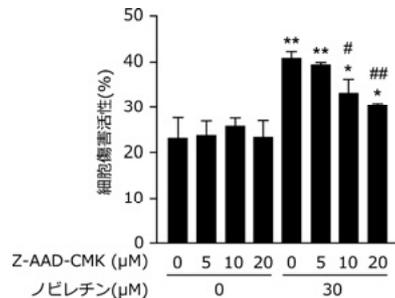


図4 細胞傷害活性に対するグランザイム B 阻害剤の影響

KHYG-1 細胞を図中に示す濃度の試験成分で 24 時間処理した。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, vs. Z-AAD-CMK(-)nobiletin(-). # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, vs. Z-AAD-CMK(-)nobiletin(+). $n =$

(齋藤武)