

[成果情報名]ノビレチン等ポリメトキシフラボノイド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ノイドは、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。

[キーワード]ノビレチン、ポリメトキシフラボノイド、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 0877-62-0800

[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を攻撃（傷害）するリンパ球であり、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、培養細胞を用いた評価系によりNK細胞の機能を強化する食品成分を探し出し、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. ポリメトキシフラボノイド（ノビレチン、タンゲレチンあるいはシネンセチン）を含む培地であらかじめ培養した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 の産生を促進する（図2A）。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（標的細胞内に侵入して細胞死を誘導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2B）。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2C）。
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ノイドの多くも、KHYG-1細胞の細胞傷害活性を強めることから、この機能はポリメトキシフラボノイドに共通した構造が関与していると推定される。
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 Z-AAD-CMK の添加により減弱することから、グランザイム B の発現亢進作用が細胞傷害活性の増強に大きく寄与していると示唆される（図4）。

[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、動物あるいはヒトでのNK細胞の活性化作用を直接示すものではない。
2. ノビレチン等ポリメトキシフラボノイドは、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、廃棄されることが多い果皮の機能性食素材としての有効活用が期待される。
3. 本成果は、ヒトNK細胞の活性化によるがん細胞療法などの医学分野での基礎データとなる。

[具体的データ]

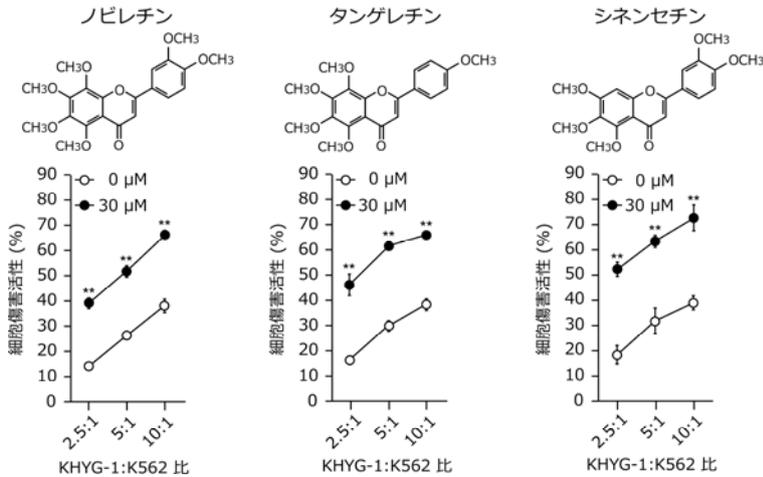


図1 ポリメトキシフラボンによる細胞傷害活性の増強効果

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. 無処理 (0 μM). $n = 3$.

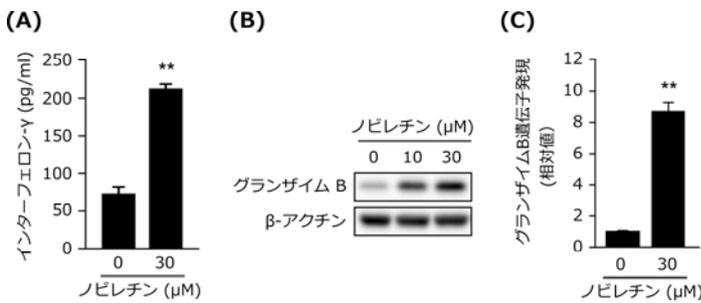


図2 ノビレチンによる細胞傷害関連因子の発現制御

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 のタンパク発現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. 無処理 (0 μM). $n = 3$.

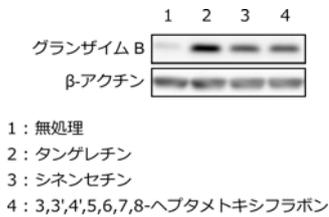


図3 各種ポリメトキシフラボンによるグランザイム B の増加

KHYG-1 細胞を各 30 μM の試験成分で 72 時間処理した。

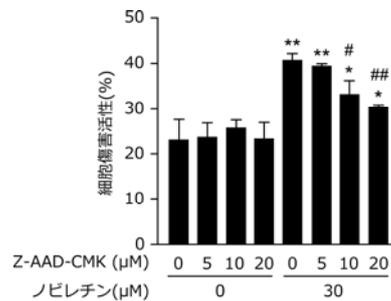


図4 細胞傷害活性に対するグランザイム B 阻害剤の影響
KHYG-1 細胞を図中に示す濃度の試験成分で 24 時間処理した。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, vs. Z-AAD-CMK(-)ノビレチン(-). # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, vs. Z-AAD-CMK(-)ノビレチン(+). $n = 3$.

(齋藤武)

[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)