

京都の伝統野菜桂ウリから得られたがん抑制物質メチルチオ酢酸の
作用機序に関する一考察

○上村美優・田中志歩¹⁾・佐々木梓沙¹⁾・中村考志¹⁾・大谷 結・松尾友明・岡本繁久
(鹿児島大農・¹⁾京都府大生環)

【目的】

栽培農家数の減少に伴い、京都の伝統野菜・桂ウリ (*Cucumis melo var. conomon*) の生産量は低下の一途をたどり、今日では絶滅の危機に直面している。このことを打開する方策として、食品の第三次機能(健康性機能・生体調節機能)を見つけることが考えられる。メチルチオ酢酸(Methylthio acetic acid, MTA)は、桂ウリの完熟果由来の香気性エステル化合物の加水分解物である。これまでの研究により MTA は高分化型ヒト大腸がん(RCM-1)細胞に対して高い分化誘導作用を示すこと、細胞周期制御因子である CyclinE2 タンパク質の量を低下させることが分かっている(中村ら, 未発表)が、これらに関する作用機序はほとんど不明のままである。そこで本研究では, MTA が示す分化誘導作用の分子基盤を明らかにするため, 本化合物が CyclinE2 の遺伝子である *CCNE2* のプロモーター領域の DNA メチル化状態に与える影響を解析した。

【材料および方法】

ヒト大腸がん細胞・RCM-1 に MTA を経時的に処理した(0, 6, 30, 48h)後, ゲノム DNA を調製してバイサルファイト(BS)シーケンス解析を行った(図1)。なお, 標的とした *CCNE2* 遺伝子のプロモーター領域は転写開始地点の上流-888 bp ~ -867 bp に位置し, 10 個の CpG 配列を持つ。続いて, MTA を 48h 処理した RCM-1 細胞から生じた分化細胞(ダクト細胞)とそれ以外の未分化細胞(非ダクト細胞)に分け, それぞれからゲノム DNA を調製して, 上記と同様に BS シーケンス解析を行った。

【結果および考察】

経時的な解析から, MTA の有無及び処理時間に関わらず, すべての実験区(処理区と対照区)で *CCNE2* 遺伝子のプロモーター領域は非メチル化状態にあることがわかった(表1)。また, 非ダクト細胞とダクト細胞の分取に基づいた解析から, 分化程度に関わらず *CCNE2* 遺伝子のプロモーター領域はどちらも非メチル化状態にあることがわかった(表2)。以上の結果は, MTA が RCM-1 細

胞の *CCNE2* 遺伝子プロモーター領域のメチル化を誘導しないことを示唆する。したがって, MTA は DNA メチル化促進以外の未知の機構で, CyclinE2 タンパク質量の低下, また, 分化誘導作用を誘起していると考えられる。

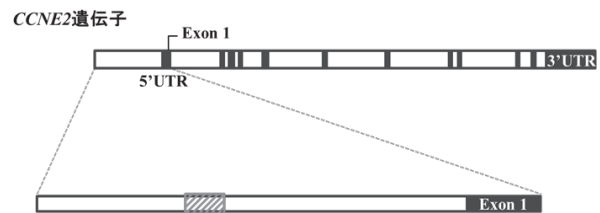


図1 *CCNE2* 遺伝子の構造と BS シーケンス解析に供試したゲノム領域

注) 斜線部が BS シーケンスに供試した領域で, 転写開始点から -888~-867 bp に位置する。

表1 RCM-1 細胞に由来する *CCNE2* プロモーターのメチル化に対する MTA の影響

処理時間(h)	MTA	供試クローン数	クローン数		メチル化したCpG配列の数	メチル化CpG
			非メチル化	メチル化		
0	n.t.	20	20	0		
6	-	22	20	2	1/10, 1/10	⑧, ⑨
	+	21	18	3	1/10, 1/10, 2/10	①, ⑤, ④⑩
30	-	23	23	0		
	+	21	20	1	1/10	①
48	-	20	19	1	1/10	③
	+	20	19	1	1/10	⑨

表2 分化程度の異なる2つの細胞(非ダクト細胞及びダクト細胞)に由来する *CCNE2* プロモーターのメチル化に対する MTA の影響

	処理時間(h)	MTA	供試クローン数	クローン数	
				非メチル化	メチル化
非ダクト	48	+	23	23	0
ダクト		+	21	21	0