

氏名(本籍)	えい 永	つか 塚	たか 貴	ひろ 弘
学位の種類	博士 ( 農 学 )			
学位記番号	農 博 第 8 6 1 号			
学位授与年月日	平 成 1 8 年 3 月 2 4 日			
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当			
研究科専攻	農学研究科生物産業創成科学専攻 (博士課程)			
学位論文題目	脂質によるテロメラーゼ阻害とその作用機序に関する研究			
論文審査委員	(主 査)	教 授	宮 澤 陽 夫	
	(副 査)	教 授	山 下 ま り	
		教 授	桑 原 重 文	
		助教授	仲 川 清 隆	

# 論文内容要旨

## 緒言

細胞分裂の際、染色体末端に位置するテロメアは徐々に短縮するため、ある一定の長さ以下になると細胞は分裂できなくなって老化に陥る<sup>1)</sup>。テロメラーゼはテロメア DNA を延長する逆転写酵素であり (Fig. 1)、hTR (human telomerase RNA : テロメア配列を付加する際の鋳型)、hTERT (human telomerase reverse transcriptase : テロメラーゼ活性を司る触媒サブユニット)、TP1 (telomerase associated protein : 機能不明) の3つのサブユニットから成り立っている<sup>2)</sup>。hTR と TP1 は通常どの細胞にも発現が認められる。一方、hTERT はほとんどの正常細胞で発現していないが、癌細胞において特に高く発現している。したがって、癌細胞ではテロメラーゼが活性化しており、無限増殖能を示す<sup>2)</sup>。以上のことから、テロメラーゼは癌診断のマーカー、さらには癌治療の新たなターゲットとして注目されている。

現在までに、数多くのテロメラーゼ阻害剤が見出されている<sup>3)</sup>。しかし、食品成分に関する知見は極めて少ないのが現状であり、“食品で癌を抑える”という観点からも新たなテロメラーゼ阻害物質を見出すことに興味を持った。本研究では、食品の脂溶性成分に焦点を絞ってテロメラーゼ阻害物質をスクリーニングし、そのメカニズムを分子レベルで解明することにより、脂質と癌の関わりを明示することを目的とした。

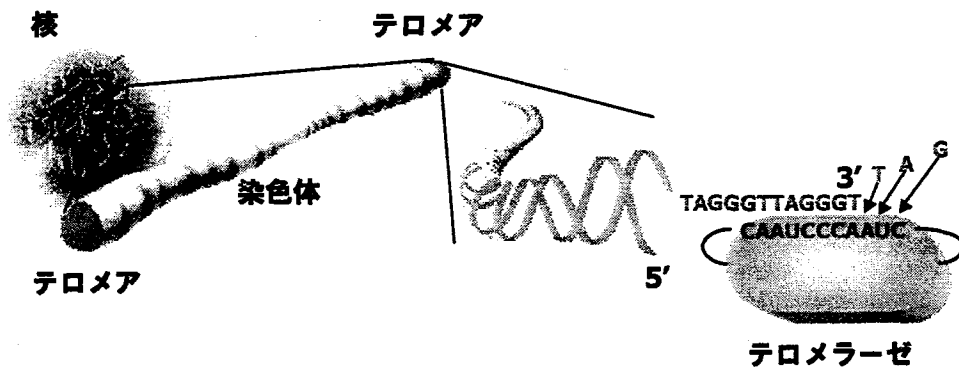


Fig 1. Telomere and telomerase.

## 第1章 スルホキノボシルジアシルグリセロールによるテロメラーゼ活性阻害

【目的】植物の光合成器官には、グリセロ糖脂質に属するモノガラクトシルジアシルグリセロール(MGDG)、ジガラクトシルジアシルグリセロール(DGDG)、スルホキノボシルジアシルグリセロール(SQDG)が多量に存在している。その中で、SQDGはグルコースの6位にスルホン酸が結合した特徴的な構造をしており(Fig. 2)、特に海藻やホウレン草に多く含まれている。これまでにSQDGは、細胞増殖抑制や抗ウィルスなどの生理作用が報告されている<sup>4,5)</sup>。そこで本章では、テロメラーゼ活性に与える影響を調べ、SQDGのテロメラーゼ阻害を介した抗癌活性の検証を目的とした。

【方法・結果】ヒト大腸癌由来培養細胞株DLD-1から調製したテロメラーゼを含む細胞抽出液に海苔由来のSQDGを添加し、stretch PCR法によりテロメラーゼ活性を測定した。本法では、テロメラーゼ活性は6塩基単位で長さの異なるDNAラダーとして検出される(Fig. 3A)。SQDG濃度に依存してDNAラダーが薄くなり、SQDGのテロメラーゼ活性阻害を確認した(Fig. 3A)。DNAラダーのシグナル強度を数値化した結果、SQDGのIC<sub>50</sub>(酵素活性を50%阻害する濃度)は約22 μMであった(Fig. 3B)。一方、SQDGと同じグリセロ糖脂質に属するMGDGとDGDGは100 μMの高濃度処理によってもテロメラーゼ活性を阻害しなかった(Fig. 4)。このことから、SQDGの阻害活性にはスルホン酸構造が必須であることが示唆された。ガスクロマトグラフ分析により、SQDGの主要構成脂肪酸はエイコサペンタエン酸(EPA, 20:5, 34 mol%)とパルミチン酸(16:0, 58 mol%)であることが確認され、EPAは効果的にテロメラーゼ活性を阻害した(IC<sub>50</sub>=19 μM)(Fig. 5)。SQDGのアルカリ処理で調製したスルホキノボシルグリセロール(SQG)はテロメラーゼ活性を阻害しなかった。これらの結果から、SQDGは糖(特にスルホン酸)、グリセロール、脂肪酸の全ての骨格が存在することでテロメラーゼ阻害を示すと考えられた。

以上より、含硫グリセロ糖脂質SQDGのテロメラーゼ活性阻害作用をはじめて明らかにした。

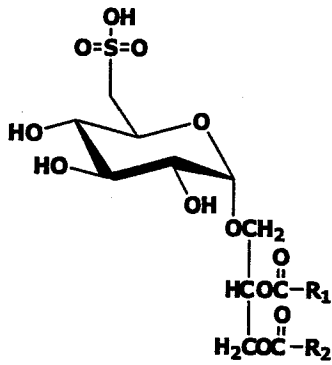


Fig 2. Chemical structure of sulfolipid, sulfoquinovosyl diacylglycerol from edible purple laver (*Porphyra yezoensis*).  $R_1$  and  $R_2$  indicate acyl chains of different length and degree of unsaturation.

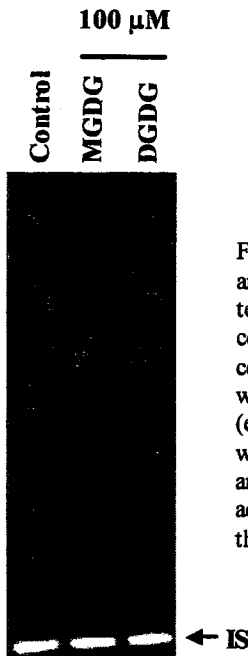


Fig 4. Effects of MGDG and DGDG on telomerase activity in a cell-free system. DLD-1 cell lysate was mixed with MGDG, DGDG (each 100  $\mu$ M), or without sample (control), and then telomerase activity was evaluated by the stretch PCR assay.

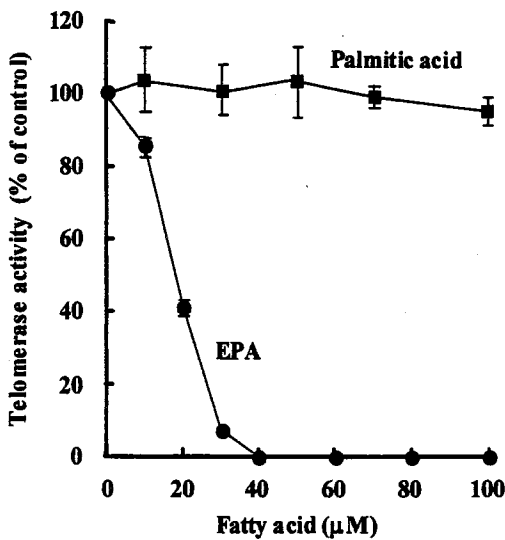


Fig 5. Effects of EPA and palmitic acid on telomerase activity in a cell-free system. DLD-1 cell lysate was mixed with EPA (10-100  $\mu$ M), palmitic acid (10-100  $\mu$ M) or without sample (control). Telomerase activity was evaluated by the stretch PCR assay, and is expressed as percentage of the control. Values are expressed as mean  $\pm$  SD from three independent experiments.

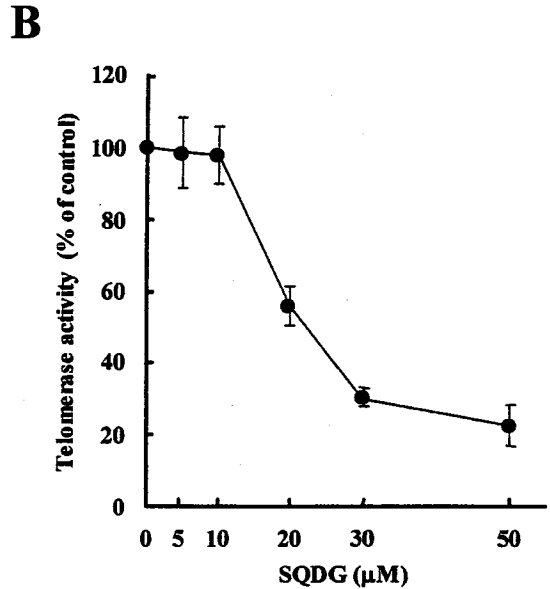
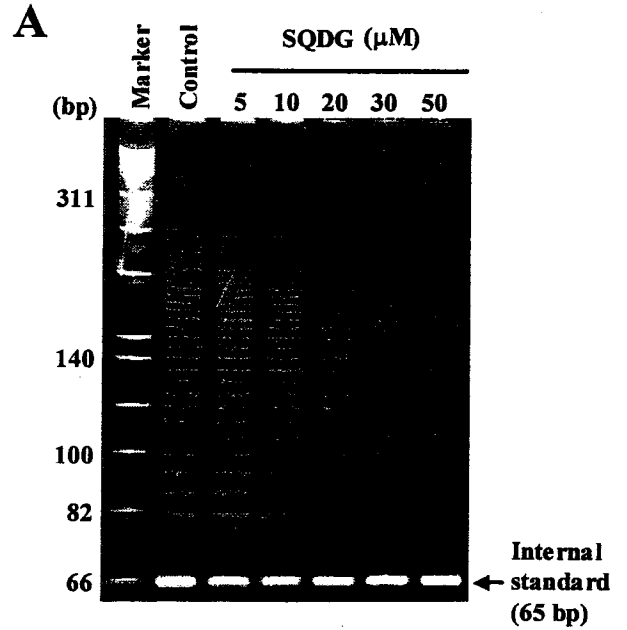


Fig 3. Inhibition of telomerase activity by SQDG as assessed by a semi-quantitative telomerase assay (stretch PCR) in a cell-free system. A, Cell lysate of DLD-1 was mixed with SQDG (5-50  $\mu$ M) or without sample (control), and then telomerase activity was evaluated by the stretch PCR assay. B, telomerase activity is expressed as percentage of the control. Values are expressed as mean  $\pm$  SD from three independent experiments.

## 第2章 脂肪酸とくに長鎖不飽和脂肪酸によるテロメラーゼ抑制作用

### 第1節 脂肪酸によるテロメラーゼ阻害と構造活性相関

【目的】第1章では、含硫糖脂質である SQDG が癌テロメラーゼ活性を阻害することを見出した。この阻害メカニズムを解析する過程で、遊離型の脂肪酸、特に EPA などの長鎖不飽和脂肪酸は、単独でもテロメラーゼ活性を強く阻害することがわかった (Fig. 5)。古くから長鎖脂肪酸には癌抑制作用があると言われるが、その作用機序にテロメラーゼ阻害の関わりが新たに示唆された。そこで、種々の脂肪酸を用いてテロメラーゼの阻害活性を詳細に比較・検討した。

【方法・結果】DLD-1 から調製したテロメラーゼを含む細胞抽出液に各種脂肪酸を添加し、stretch PCR 法により酵素活性を測定した。その結果、代表的な長鎖不飽和脂肪酸である EPA とドコサヘキサエン酸 (DHA) は、高いテロメラーゼ阻害活性を示した (Fig. 6)。次に、種々の脂肪酸を用いて構造活性相関を調べた。炭素数 18 の脂肪酸のテロメラーゼ阻害活性を比較した結果 (Fig. 7)、下記の特徴を見出した。① cis 型構造をとる脂肪酸は高い阻害作用を有する。② 不飽和度が高くなるにつれて阻害活性が強くなる。これらの特徴は、炭素数 20 と 22 の脂肪酸でも認められた。すなわち、EPA と DHA は他の脂肪酸より極めて強くテロメラーゼ活性を阻害することが明らかになった。一方、炭素数が 12-20 の飽和脂肪酸の影響を調べたが、テロメラーゼを阻害しなかった。二重結合を 1 つ持つモノエン脂肪酸は、16 以上の炭素数の場合に阻害を示した。このことから、脂肪酸の鎖長がテロメラーゼの阻害活性に影響を与えることが示唆された。さらに、脂肪酸の類縁体の阻害効果を検証した。ヒドロキシ脂肪酸は通常の脂肪酸と比較してテロメラーゼ阻害活性が弱く、脂肪酸の炭化水素鎖の極性が重要になると考えられた (Fig. 8)。EPA のメチルエステル・エチルエステルはテロメラーゼ阻害作用が全くなかったことから、遊離型のカルボキシル基が阻害に必須であることが示唆された。また、Lineweaver-Burk plot によりテロメラーゼの阻害様式を調べた結果、EPA は基質プライマーに対して拮抗阻害を示したことから (Fig. 9)、長鎖不飽和脂肪酸は DNA 結合サイトに作用して競争的に酵素活性を阻害することが明らかになった。

以上により、脂肪酸のなかでも EPA や DHA のような長鎖不飽和脂肪酸が極めて強い阻害活性を有し、テロメラーゼの DNA 結合サイトに作用することで酵素活性を阻害することを見出した。

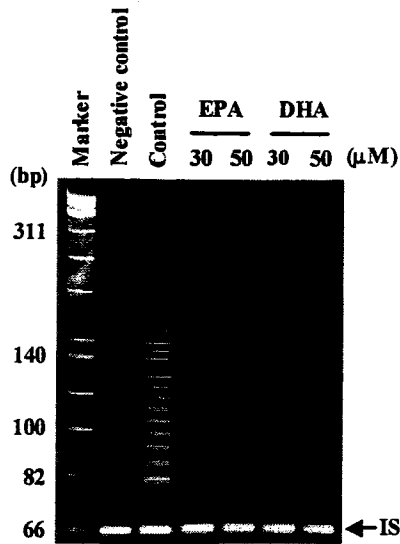


Fig. 6. Inhibition of telomerase activity by fatty acids in a cell-free system. DLD-1 cell lysate was treated with fatty acids (EPA or DHA; 30 and 50  $\mu\text{M}$  each) or without sample (control), and then telomerase activity was evaluated by the stretch PCR assay.

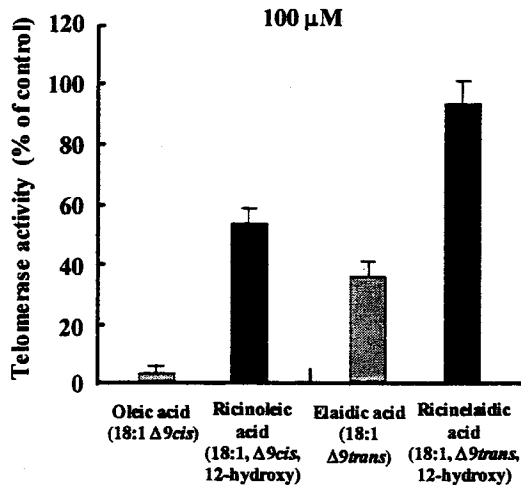


Fig. 8. Effect of fatty acid derivatives on telomerase activity in a cell-free system. DLD-1 lysate was mixed with hydroxy-fatty acids (ricinoleic acid and ricinelaiddic acid; 100  $\mu\text{M}$  each), non-hydroxy-fatty acids (oleic acid and elaidic acid; 100  $\mu\text{M}$  each) or without sample (control). Telomerase activity was evaluated by the stretch PCR assay and is expressed as a percentage of the control. Values are means  $\pm$  SD from three independent experiments.

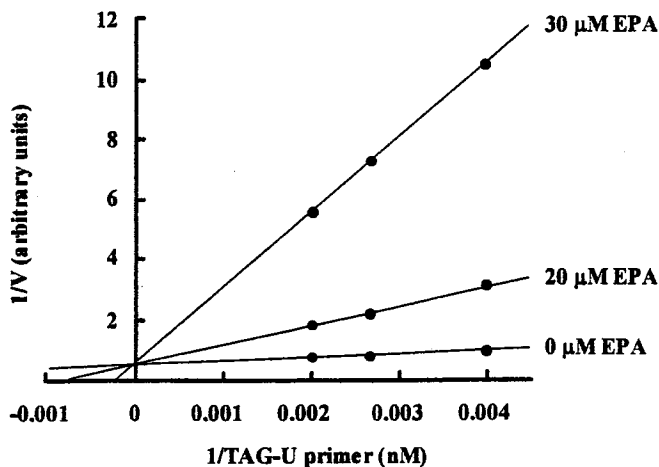


Fig. 9. Lineweaver-Burk plot analysis of telomerase inhibition by EPA. Telomerase activity was evaluated by the stretch PCR assay with DLD-1 lysate and various concentrations of the TAG-U primer in the absence or presence of EPA.

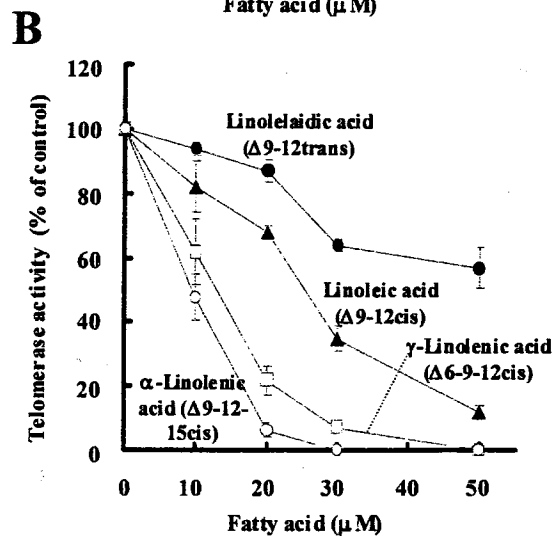
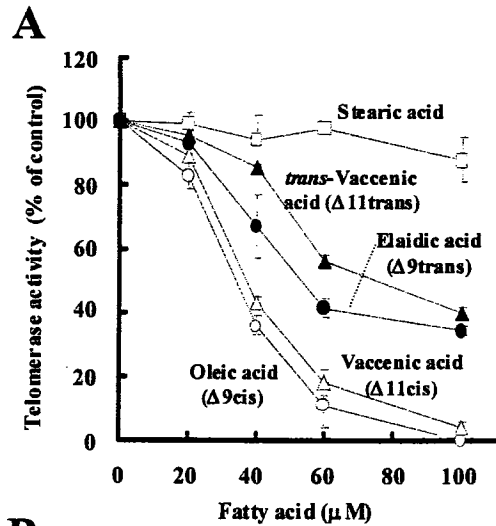


Fig. 7. Inhibitory effect of C18 fatty acids on telomerase activity in a cell-free system. DLD-1 lysate was mixed with 10-100  $\mu\text{M}$  fatty acid (20-100  $\mu\text{M}$ ; panel A or 10-50  $\mu\text{M}$ ; panel B) or without sample (control). Telomerase activity was evaluated by the stretch PCR assay, and is expressed as a percentage of the control.

## 第2節 長鎖不飽和脂肪酸の細胞内シグナル伝達を介したテロメラーゼ阻害

【目的】第1節では、長鎖不飽和脂肪酸が DNA 結合サイトに作用してテロメラーゼの酵素活性を阻害することを確認した。一方、テロメラーゼ活性を司る hTERT の遺伝子発現を抑制することで、テロメラーゼを阻害する物質が見出されている<sup>3)</sup>。そこで、長鎖不飽和脂肪酸が hTERT の遺伝子発現に影響を与えるか否かを培養細胞試験で検討し、その作用機序を解明することを目的とした。

【方法】脂肪酸を培地に添加して DLD-1 細胞を最大で7日間培養後、テロメラーゼ活性を stretch PCR 法で測定した。阻害のメカニズムを調べるために、細胞から total RNA を抽出し、リアルタイム RT-PCR により遺伝子発現の変動を調べた。また、プロテインキナーゼ C (PKC) 活性を測定した。全ての実験において培地に遊離した乳酸脱水素酵素 (LDH) 活性を調べ、試験に用いた脂肪酸濃度では細胞毒性が現れないことを確認した。

【結果】n-3 系の脂肪酸である EPA と DHA は濃度・時間依存的にテロメラーゼ活性を顕著に阻害し、DHA の阻害活性は EPA よりも強かった (Fig. 10)。一方、n-6 系の脂肪酸であるリノール酸、 $\gamma$ -リノレン酸、アラキドン酸には抑制効果がなかった。テロメラーゼ阻害のメカニズムを明らかにするために、リアルタイム RT-PCR でテロメラーゼ関連遺伝子の発現レベルを調べると、EPA と DHA は触媒サブユニット hTERT の発現を効果的に抑制することがわかった (Fig. 11A)。一方、癌遺伝子である c-myc は、hTERT プロモーターに作用してテロメラーゼの活性を調節することが報告されているが<sup>6)</sup>、両脂肪酸は c-myc mRNA の発現をも顕著に抑制した (Fig. 11B)。PKC は c-myc の mRNA 発現を誘導することが知られている<sup>7)</sup>。また、PKC が hTERT の遺伝子発現を制御するという報告もある<sup>8)</sup>。そこで、EPA と DHA の PKC に与える影響を調べた結果、濃度依存的に PKC 活性を抑制した (Fig. 11C)。以上より、EPA と DHA にはシグナル伝達を介してテロメラーゼを阻害する作用があることを確認した。そのメカニズムとして、EPA と DHA が PKC を阻害することで、c-myc と hTERT の mRNA 発現がダウンレギュレートされ、その結果、テロメラーゼ活性が抑制されることが示唆された (Fig. 12)。

第2章の結論として、長鎖不飽和脂肪酸、とくに n-3 系脂肪酸の EPA と DHA にはテロメラーゼの酵素活性を阻害するだけでなく、シグナル伝達を介してテロメラーゼを抑制する極めてユニークな作用のあることがわかった。

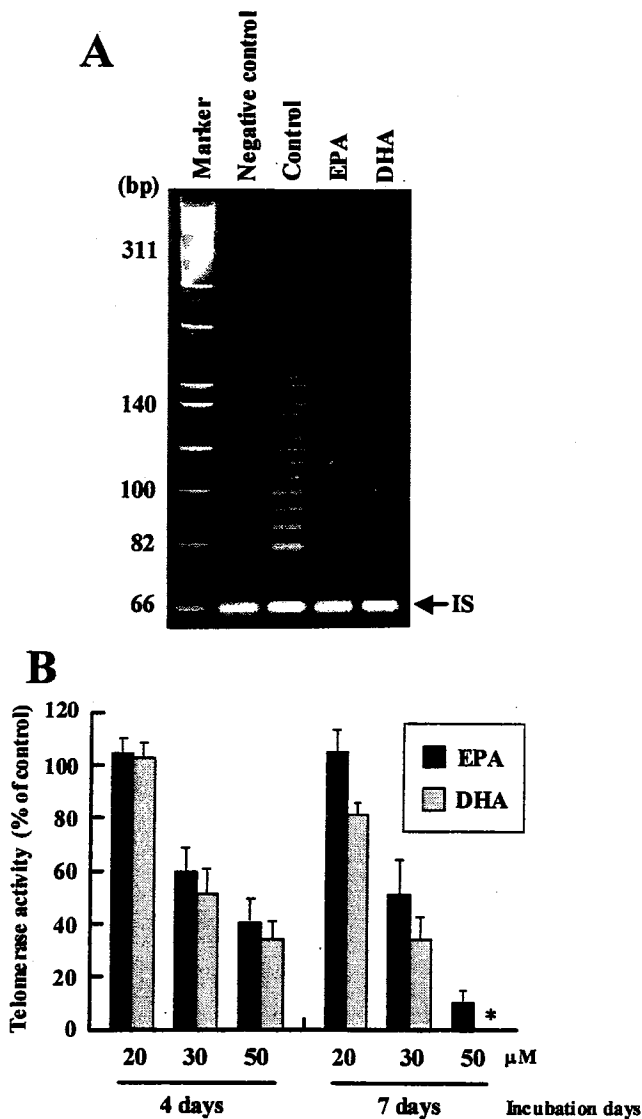


Fig 10. Cellular telomerase activity is decreased by treatment with fatty acids. A, DLD-1 cells were cultured with fatty acids (EPA or DHA; 50  $\mu$ M each) or without sample (control) for 4 days. Subsequently, telomerase activity in the cell extracts was measured by the stretch PCR assay. B, The time and dose dependence of telomerase inhibition was evaluated by treating DLD-1 cells with 20-50  $\mu$ M fatty acids (EPA or DHA) or without sample (control) for 4 or 7 days. Telomerase activity is expressed as a percentage of the control. \*Telomerase activity could not be analyzed, since cytotoxicity was observed after the cultivation of DLD-1 with 50  $\mu$ M DHA for 7 days. Values are means  $\pm$  SD from three independent experiments.

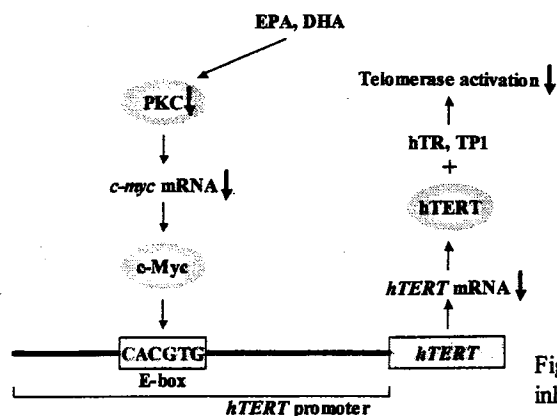


Fig 12. A possible mechanism for telomerase inhibition by EPA and DHA.

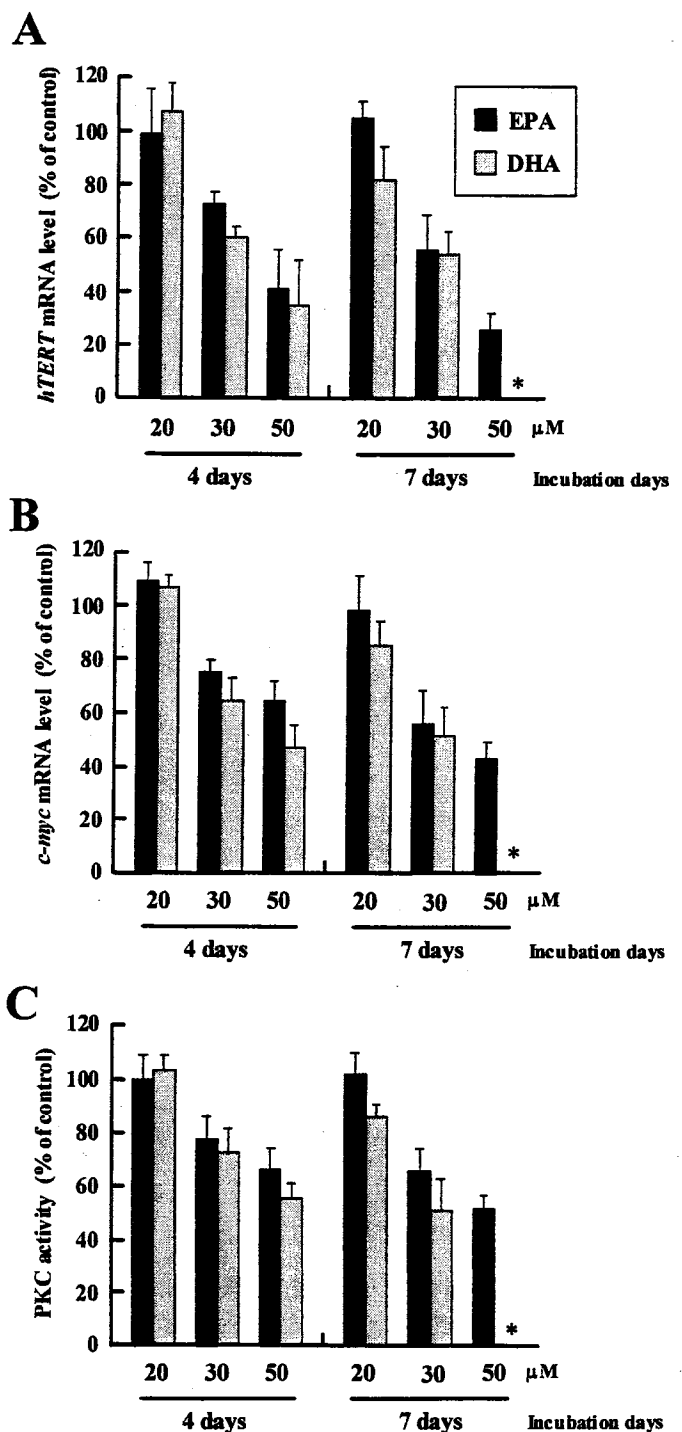


Fig 11. Inhibitory effect of EPA and DHA on mRNA expression of *hTERT* and *c-myc* and on cellular PKC activity. DLD-1 cells were cultured with 20-50  $\mu$ M fatty acids (EPA or DHA) or without sample (control) for 4 or 7 days. The mRNA expression levels of *hTERT* (A) and *c-myc* (B) were then measured by real-time RT-PCR and is expressed as a percentage of the control. C, PKC activity in DLD-1 cells following treatment of EPA and DHA was evaluated. Values are means  $\pm$  SD from three independent experiments. \*Expression of *hTERT* and *c-myc* mRNA and PKC activity could not be analyzed, since cytotoxicity was observed after the cultivation of DLD-1 with 50  $\mu$ M DHA for 7 days.



### 第3章 不飽和ビタミンE トコトリエノールによるテロメラーゼ抑制作用

【目的】第2章では、長鎖不飽和脂肪酸のPKC活性阻害を介したテロメラーゼ抑制作用を確認した。不飽和ビタミンEであるトコトリエノール (T3, Fig. 13) にはPKCの阻害作用が報告されており<sup>9)</sup>、T3がテロメラーゼ制御に関わる可能性が考えられた。そこで本章では、T3によるテロメラーゼ阻害作用を培養細胞試験で検証することを目的とした。

【方法・結果】T3の細胞増殖に与える影響をMTT法で調べた。T3はDLD-1の増殖を阻害し、その阻害活性の強さは $\delta > \beta > \gamma > \alpha$ -T3であった (Fig. 14)。培地に遊離したLDH活性を調べたところ、30  $\mu$ M以上の $\delta$ -T3が細胞毒性を示した。これらの結果から、20  $\mu$ M以下のT3を以後の実験に用いた。T3の存在下でDLD-1を培養後、テロメラーゼ活性をstretch PCR法で測定した。その結果、T3はテロメラーゼを濃度依存的に抑制し、阻害活性は $\delta > \beta > \alpha = \gamma$ -T3であった (Fig. 15)。一方、トコフェロールの阻害効果はT3より弱かった。T3の阻害メカニズムを明らかにするために、第2章2節と同様にリアルタイムRT-PCRでmRNAの発現レベルを評価し、PKC活性への影響についても検討した。T3はPKC活性の阻害を介してc-mycとhTERTのmRNA発現をダウンレギュレートし、結果、テロメラーゼの活性を抑制することがわかった。さらに、PKC活性阻害のメカニズムを調べるため、プロテインホスファターゼ (PP) に着目した。PKCは自己リン酸化により活性型となり、PPはそれを脱リン酸化することで不活化させるが<sup>10)</sup>、T3にはPPを活性化させる作用のあることを見出した (Fig. 16)。

以上の結果から、T3のテロメラーゼ抑制作用をはじめて発見し、その阻害メカニズムの一端が明らかになった (Fig. 17)。

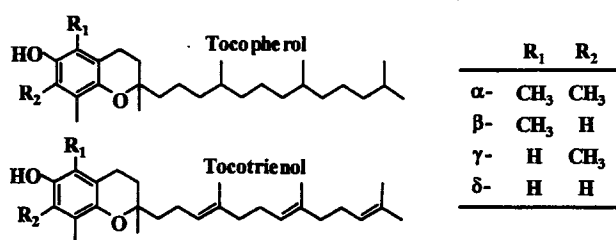


Fig 13. Chemical structures of vitamin E.

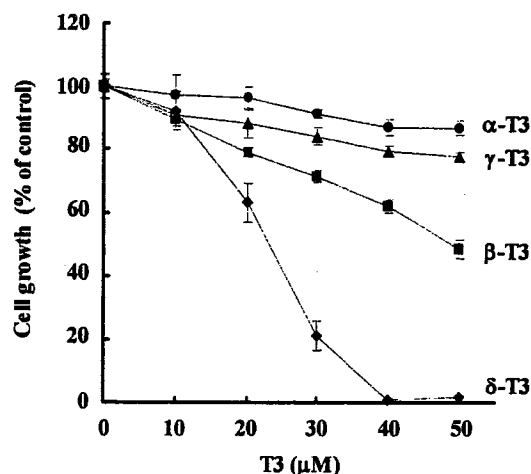


Fig 14. Effect of tocotrienol on the DLD-1 proliferation. DLD-1 cells grown in 96-well plates were treated with 10-50 μM tocotrienol or without sample (control) for 48 h. The viable cells were then evaluated by MTT assay and are expressed as a percentage of the control. Values are means ± S.D. from five independent experiments.

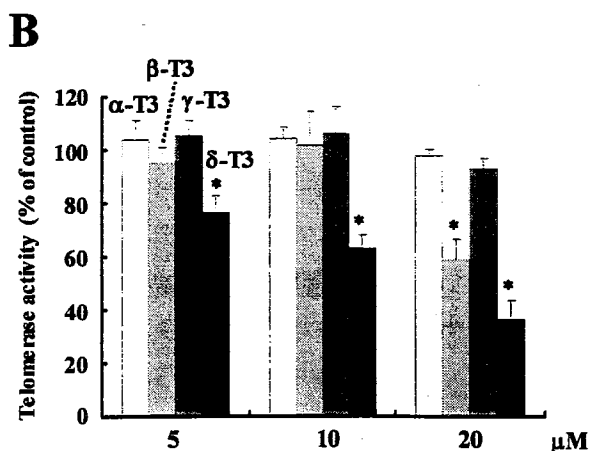
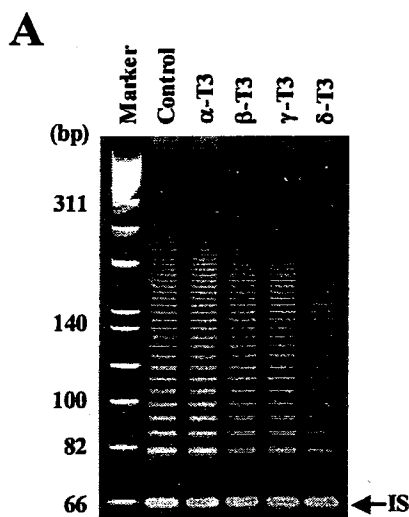


Fig 15. Cellular telomerase activity is decreased by treatment with T3. A, DLD-1 cells were cultured with 20 μM T3 or without sample (control) for 24 h. Subsequently, telomerase activity in the cell extracts was measured by the stretch PCR assay. B, The dose-dependent inhibition of telomerase activity was evaluated by treating DLD-1 cells with 5-20 μM T3 or without sample (control) for 24 h. Telomerase activity is expressed as a percentage of the control. Values are means ± S.D. from three independent experiments; \**P* < 0.05 compared with control.

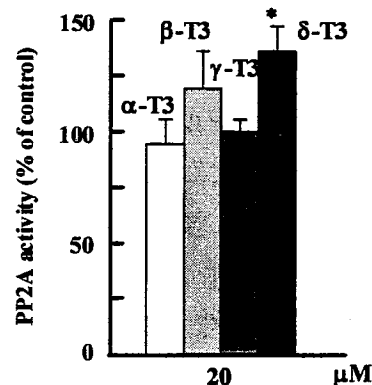


Fig 16. PP is activated by treatment of T3. DLD-1 cells were cultured with 20 μM T3 or without sample (control) for 24 h. Subsequently, PP activity in the cell extracts was measured. PP activity is expressed as a percentage of the control. Values are means ± S.D. from three independent experiments; \**P* < 0.05 compared with control.

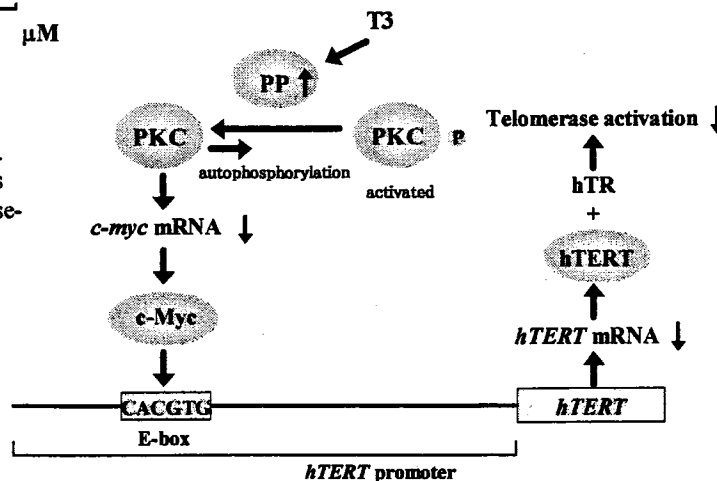


Fig 17. A possible mechanism for telomerase inhibition by T3.

## 総括

本研究では、癌細胞に高く発現し、無限増殖能を与える酵素テロメラーゼの阻害物質を食品の脂質成分から見出して、その阻害機構を明らかにすることを目的とした。

第 1 章では、植物の光合成器官に多く存在する含硫グリセロ糖脂質スルホキノボシルジアシルグリセロールが、テロメラーゼ活性を阻害することを確認し、スルホン酸基が阻害に重要であることがわかった。

第 2 章では、長鎖不飽和脂肪酸、とくにエイコサペンタエン酸 (EPA) やドコサヘキサエン酸 (DHA) が、DNA 結合サイトに作用してテロメラーゼの活性を阻害することを発見した。また、プロテインキナーゼ C (PKC) 阻害を介してテロメラーゼをダウンレギュレートする作用もあることを明らかにした。古くから、長鎖不飽和脂肪酸の抗癌作用が疫学的に認められている。今回、EPA と DHA は低濃度でテロメラーゼを阻害したことから、長鎖不飽和脂肪酸の癌抑制機構のひとつとして、テロメラーゼ阻害の関与が新たに示唆された。

第 3 章では、PKC 阻害作用が報告されているトコトリエノールは、トコフェロールよりも強くテロメラーゼを阻害することがわかった。テロメラーゼ制御因子 (PKC や *c-myc*) に影響を与える成分から阻害物質をスクリーニングすることは、非常に有効な手段であると考えられた。

以上より、これまでに報告の少なかった食品成分から新たなテロメラーゼ阻害物質を見出し、そのメカニズムの一端を解明した。テロメラーゼ阻害の研究はまだ歴史が浅く、*in vivo* での有効性を確認した論文は数報のみであり、その試験方法も未だ確立されていないのが現状である。今後、それらの課題を克服する必要があるものの、今回見出した食品脂質成分は、テロメラーゼをターゲットとした癌予防に応用できる可能性が示唆された。

## 引用文献

- 1) McEachern, M.J., Krauskopf, A. and Blackburn, E.H. (2000) *Annu. Rev. Genet.* 34, 331-358.
- 2) Liu, J.-P. (1999) *FASEB J.* 13, 2091-2104.
- 3) White, L.K., Wright, W.E. and Shay, J.W. (2001) *Trends Biotechnol.* 19, 114-120.
- 4) Sahara, H., Ishikawa, M., Takahashi, N., Ohtani, S., Sato, N., Gasa, S., Akino, T. and Kikuchi, K. (1997) *Br. J. Cancer* 75, 324-332.
- 5) Ogawa, A., Murate, T., Izuta, S., Takemura, M., Furuta, K., Kobayashi, J., Kamikawa, T., Nimura, Y. and Yoshida, S. (1998) *Int. J. Cancer* 76, 512-518.
- 6) Wu, K.J., Grandori, C., Amacker, M., Simon-Vermot, N., Polack, A., Lingner, J. and Dalla-Favera, R. (1999) *Nat. Genet.* 21, 220-224.
- 7) Coughlin, S.R., Lee, W.M.F., Williams, P.W., Giels, G.M. and Williams, L.T. (1985) *Cell* 43, 243-251.
- 8) Sheng, W.Y., Chien, Y.L. and Wang, T.C.V. (2003) *FEBS Lett.* 540, 91-95.
- 9) Sylvester, P.W., McIntyre, B.S., Gapor, A. and Briski, K.P. (2001) *Cell Prolif.* 34, 347-357.
- 10) Dutil, E.M., Keranen, L.M., DePaoli-Roach, A.A. and Newton, A.C. (1994) *J. Biol. Chem.* 269, 29359-29362.

## 国際学会での発表

- 1) The 3rd International Conference on Food Factors, Tokyo, 1-4 December 2003.  
Eitsuka, T., Nakagawa, K. and Miyazawa, T.  
“Dual mechanisms for telomerase inhibition in DLD-1 human colorectal adenocarcinoma cells by polyunsaturated fatty acids.”
- 2) 96th AOCS Annual Meeting & Expo, Salt Lake City, USA, 1-4 May 2005.  
Eitsuka, T., Nakagawa, K. and Miyazawa, T.  
“Inhibition of telomerase activity by unsaturated vitamin E, tocotrienol.”
- 3) 96th AOCS Annual Meeting & Expo, Salt Lake City, USA, 1-4 May 2005.  
Miyazawa, T., Eitsuka, T., Nakagawa, K. and Oak, J.-H.  
“MS/MS analysis of Amadori-glycated phosphatidylethanolamine in human plasma.”
- 4) 96th AOCS Annual Meeting & Expo, Salt Lake City, USA, 1-4 May 2005.  
Miyazawa, T., Tsuzuki, T. and Eitsuka, T.  
“Oxidation rate of conjugated fatty acids is slowed by triacylglycerol esterification and  $\alpha$ -tocopherol.”
- 5) 96th AOCS Annual Meeting & Expo, Salt Lake City, USA, 1-4 May 2005.  
Miyazawa, T., Eitsuka, T., Igarashi, M. and Tsuzuki, T.  
“ $\alpha$ -Eleostearic acid is quickly converted to conjugated linoleic acid in rats.”

## 論文審査結果要旨

近年、無限の細胞分裂能を与える酵素テロメラーゼが癌組織に高頻度に検出されたことで、その活性阻害による癌治療が注目を集めている。現在までに数多くのテロメラーゼ阻害剤が見出されているが、食品成分に関しての知見は極めて少ないのが現状である。“食品で癌を予防する”という観点からも、新たなテロメラーゼ阻害物質を見出すことは重要である。本研究では、食品の脂溶性成分に焦点を絞ってテロメラーゼ阻害物質をスクリーニングし、そのメカニズムを分子レベルで解明することを目的とした。

食品脂質成分からのスクリーニングの結果、植物の光合成器官に多く存在する含硫グリセロ糖脂質スルホキノボシルジアシルグリセロール (SQDG) が、テロメラーゼ活性を阻害することを初めて見出し、スルホン酸基が阻害に重要であることを明らかにした。

SQDGの阻害メカニズムを解析する過程で、脂肪酸がテロメラーゼ活性を強く阻害することを発見した。そこで、種々の脂肪酸を用いてテロメラーゼの阻害活性を詳細に比較・検討した結果、エイコサペンタエン酸 (EPA) やドコサヘキサエン酸 (DHA) のような長鎖不飽和脂肪酸が、DNA結合サイトに作用してテロメラーゼの酵素活性を効果的に阻害することを見出した。また、EPAとDHAはプロテインキナーゼC(PKC)阻害により、細胞内シグナル伝達を介してテロメラーゼをダウンレギュレートすることを明らかにした。古くから、長鎖不飽和脂肪酸の抗癌作用が疫学的に認められている。今回、EPAとDHAは生理的な濃度でテロメラーゼを抑制したことから、長鎖不飽和脂肪酸の癌抑制機構のひとつとして、テロメラーゼ阻害の関与を新たに明らかにした。

長鎖不飽和脂肪酸がPKC阻害を介してテロメラーゼを抑制したことから、過去にPKC阻害作用が報告されている不飽和ビタミンEトコトリエノールもテロメラーゼを抑制すると推定した。その結果、トコトリエノールはテロメラーゼ抑制作用を有し、その阻害活性はトコフェロールよりも強かった。テロメラーゼ制御因子(PKCなど)に影響を与える成分から阻害物質をスクリーニングすることの有効性を確認した。

以上より、これまでに報告例の少なかった食品成分から新規のテロメラーゼ阻害物質として、SQDG、長鎖不飽和脂肪酸、トコトリエノールを見出し、そのメカニズムを解明した。これらの研究は、食品脂質成分のテロメラーゼ阻害を介した癌予防に関して独創的かつ新知見を含むものとして高く評価された。したがって審査員一同は、本研究者に博士(農学)の学位を授与するに値するものと認定した。