レダクトン類による細胞内 DNA 鎖の 切断に関する研究†

(昭和 57 年度農芸化学奨励賞受賞)

村 上 浩 紀

(九州大学農学部)

1. はじめに

レダクトンは狭義にはブドウ糖を苛性ソーダとともに加熱して得られる CH(OH)=C(OH)-CHO の構造を有する強い還元性の化合物のことである⁽¹⁾。現在ではこれと類似した強い還元性を有する化合物を指すようになった。この化合物の最も大きい特徴はその構造中にエンジオール基- C(OH)=C(OH)- を持っていることである。またエンジオール・オキシ基の 1 個または 2 個が $-\text{NH}_2$, $-\text{NHR}$, $-\text{SH}$ で置換されているものも強い還元性を示し、レダクトンに加えられている⁽²⁾。エンジオールレダクトンの代表的なものには上述のようなトリオースレダクトンやアスコルビン酸がある。これらに加えて *o*-および *p*-ジヒドロキシベンゼン誘導体のようなポリフェノール化合物もレダクトンとして分類される。これらのポリフェノールは単独あるいは配糖体として植物組織中に含まれており、したがって食品成分として他の栄養素に付随して摂取される物質である。著者らはこのようなポリフェノール化合物が腫瘍抑制作用を示すことをすでに明らかにしており^(3,4)、この原因がポリフェノール化合物による細胞 DNA の切断に起因することを想定して⁽⁵⁾、これを実証するため検討を重ね、各種ポリフェノール化合物が DNA を切断する様式を詳細に解明した。さらにこの化合物が細胞内 DNA を切断する機構についても調べ、この切断が細胞の形質に遺伝的变化を与えることを明らかにした。

2. 各種ポリフェノール化合物の DNA 切断活性

二本鎖構造に有する λ -ファージ DNA (分子量 3.2×10^7 ダルトン) を用いて、種々のポリフェノール化合物の DNA 切断活性を比較すると、表 1 の結果が得られる⁽⁶⁾。この反応には二価銅イオンの共存が必須である。ポリフェノール化合物が DNA 切断活性を有するためには、*o*-および *p*-ジヒドロキシル基が必要であり、*m*-ジヒドロキシル体は全く不活性である。また *o*-, *p*-であっても、その活性はフェニル基に置換した他の官能基の種類によって影響を受ける。これらの置換基はフェノール化合物が DNA 分子中のリン酸ジエステル結合に接近するための化学的あるいは物理的な促進あるいは抑制作用を示す。フェノール化合物がアルデヒド基を有する場合はアルデヒド基によって優先的に Cu^{2+} が還元され Cu^+ になるため、DNA 切断作用を示さない。ジフェノールのヒドロキシル基の一方がメトキシル基で置換されたグアヤコールは活性を示さないが、フェノールにメトキシル基が 2 個結合したピロガロール 1,3-ジメチルエーテルはピロカテコールの約 1/5 の活性がある。したがって、DNA 切断活性を有するフェノール化合物にはコーヒー酸、ピロガロール、没食子酸等のような比較的簡単な植物成分からフラボノイド類、各種フェノール配糖体、さらには生体内における神経伝達物質でもあるカテコールアミン類がある。これらの化合物は食品素材となる植物中に含有される場合や、チロシンから生体内で合成されるものもある。いずれにしても食品成分としてヒトに摂取される可能性が高いものばかりである。また食品成分中には現れないが *o*-および *p*-アミノフェノール、フェニレンジアミンも DNA 切断作用を有する。

この切断反応は Cu^{2+} の共存によって特異的に促進され他の二価金属イオンの影響はほとんど受けない。ポリ

† Studies on the Intracellular DNA Breaking Reaction with Reductones.

Hiroki MURAKAMI (Food Science and Technology Institute, Faculty of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka, 812).

表 1 各種ポリフェノール化合物の DNA 切断活性

Phenol compounds	DNA breaking activity
Phenol	—
Pyrocatechol	++
Resorcinol	—
<i>p</i> -Hydroquinone	++
Pyrogallol	++
Phloroglucinol	—
Hydroxyhydroquinone	++
Protocatechualdehyde	—
Gallic acid	++
Caffeic acid	++
Catechin	+
Quercetin	—
Chlorogenic acid	+
Dopa	+++
Dopamine	++
Epinephrine	+++
Norepinephrine	++
Adrenalone	++
Diphenylglyoxime	+
Pyrogallol-1, 3-dimethyl ether	+

フェノール化合物による DNA 切断反応はポリフェノールが Cu^{2+} によって酸化される過程において起るものである。反応系中にポリフェノールの酸化を抑制するジチオスレイトール等の還元剤が共存すると DNA 切断反応は停止する。またフェノール性水酸基の酸化に共役して $\text{Cu}^{2+} \rightarrow \text{Cu}^+$ の還元が起る。生成した Cu^+ は反応溶液中の溶存酸素によって再び酸化され Cu^{2+} となる。したがって DNA 切断反応を無酸素状態で行うと、高濃度のフェノール化合物存在下では、反応は溶液中に添加された Cu^{2+} 濃度に比例して進行し、 Cu^{2+} がすべて Cu^+ に還元されたときに停止する。

一方、酸素存在下では、フェノール化合物により還元されて生成した Cu^+ は分子状酸素により再び Cu^{2+} に酸化され、このものはフェノール化合物を酸化する。このように酸素存在下では酸化反応およびそれに伴う DNA 切断反応は見かけ上、フェノール化合物の濃度に依存する一次反応となる⁽⁷⁾。この酸化反応は種々の物質によって調節を受けるが、とくに核酸塩基、ヌクレオシド、ヌクレオチド類によって影響を受ける⁽⁸⁾。フェノール化合物と Cu^{2+} 混液中にアデニンを添加し、酸素存在下で酸化反応を観察すると、著しい反応の促進がみられる。この反応は無順序系逐次型機構で進行し、 Cu^{2+} 、塩基、フェノール化合物三種からなる混合錯体を經由するが、この経路の第一段階は塩基 $-\text{Cu}^{2+}$ 形成のほうへ、

フェノール化合物 $-\text{Cu}^{2+}$ 形成よりも約 10 倍、平衡がたむいている⁽⁹⁾。塩基、ヌクレオシド、ヌクレオチド間での酸化促進能に関する統一的な理解は得られていない。たとえば *p*-Guo、*p*-Urd は活性があるが、それらの塩基、ヌクレオシドは全く活性がない。またシトシンやそのヌクレオシドおよびヌクレオチドは、いずれも同様の活性があるが、チミン、チミジンは全く不活性であることなどである。アデニンの場合、この塩基は異常に酸化促進活性が強いが、そのヌクレオシドあるいはヌクレオチドの活性は低い。さらにはアデノシン-2-リン酸あるいは-3-リン酸はこの酸化反応を阻害する。しかし、3', 5'-サイクリック AMP はカテコールアミン類のようなフェノール化合物の酸化を急速に促進する。一方、ピロカテコールに対しては不活性である。ホルモンの第二伝達物質であるサイクリック AMP はカテコールアミンの刺激によって生成する。カテコールアミンのこの能力はそれが酸化されると消失する⁽¹⁰⁾。このことはカテコールアミン濃度がサイクリック AMP によって調節されている可能性を示唆している点で興味深い。

このようにフェノール化合物の Cu^{2+} による酸化反応は核酸関連物質によって種々の調節を受ける。生体内におけるこれらの物質の濃度は一般的にかなり高く、局部的には 0.1~0.3 mM 程度に上昇することが知られている⁽¹¹⁾。したがってフェノール化合物による DNA 切断反応が生体内でも起るとすれば、この反応は共存する核酸関連物質によって調節を受けていることになる。

3. ポリフェノール化合物による DNA 切断の機構

高分子 DNA は上記のようにポリフェノール化合物と Cu^{2+} の共存下に中性溶液中で切断を受ける。この機構を検討するために λ -ファージ DNA にポリフェノール化合物としてエピネフリン- Cu^{2+} 混液を作用させた系を用いた⁽⁶⁾。3.2×10⁷ ダルトンの二本鎖からなる λ -DNA は 250 μM のフェノール化合物および Cu^{2+} 混液とともに、37°C で保温すると急速に分解され、10 分後には 1.3×10⁵ ダルトンの分子断片が主成分として、2.4 % ポリアクリルアミド電気泳動ゲル上に蓄積する。残余の高分子成分は時間の経過とともに上記の分子種にまで断片化される。約 10⁵ ダルトンにまで切断された DNA 分子種を分離し、再び新鮮なフェノール化合物- Cu^{2+} 混液で処理しても、その分子量に著しい変化は認められない。この混液によるポリヌクレオチド鎖の切断

は DNA にのみ特異的ではなく、RNA、ポリリボヌクレオチド、ポリデオキシリボヌクレオチドも分解する。ホモポリシトシンリボヌクレオチド（ポリ C）を用いてヌクレオチド鎖の切断を詳しく検討した⁽¹²⁾。この切断反応は pH 7 付近で最もよく起り、pH 5 以下および pH 10 以上では非常に弱くなった。

ポリヌクレオチド鎖の切断方式は大きく 2 大別される。一つは脱塩基反応が引き起こされたのち、 β -エリミネーションによりホスホジエステル結合が加水分解され 3'-OH 基末端が生成する方式である。この例は過酸化水素やヒドロキシルアミンが DNA を切断する機構として考えられ、これらの薬剤によって生成する $\cdot\text{OH}$ ラジカルが核酸の糖部分を攻撃し脱塩基を引き起こす⁽¹³⁾。他の一つは直接ホスホジエステルが切断される場合である。もしフェノール化合物によるポリヌクレオチド鎖の切断が前者の方式で起るならば、脱塩基による *N*-グリコシド結合の開裂はアルデヒド基を生成させる。生成したアルデヒド基を NaB^3H_4 で還元すれば、脱塩基部位 1 個につき 1 個の ^3H 原子が導入されることになる。この方法をエビネフリン- Cu^{2+} 混液で低分子化したポリ C に用いても、アルデヒド基の還元に基づく ^3H の特異的な取込みは認められなかった。したがって切断反応を受けたポリ C 分子の末端にはアルデヒド基は存在せず、この切断が脱塩基反応を経由したものではないことが確かめられた。ポリリボヌクレオチドの切断末端に 3'-OH が存在する場合には、2',3'-シスジオールに特異的な過ヨウ素酸酸化を行った後、 NaB^3H_4 で還元すると末端部位を 2 個の ^3H 原子で標識できる。一方、切断部位が 3'-末端にリン酸基を有する場合には、アルカリホスファターゼで末端モノリン酸を除去したのち初めて標識できるようになる。フェノール化合物による切断反応を行ったポリ C にこの反応を実施するとポリ C の切断末端のすべてが 3'-OH であると仮定した場合の 30% 弱の放射能の取込みが認められたにすぎなかった。また切断ポリ C をアルカリホスファターゼ処理後に放射能で標識しても、その数値は変化しなかった。このことはフェノール化合物- Cu^{2+} 混液はリン酸ジエステル結合を切断して等量の 3'-OH, 5'-OH 末端を作るであろうこと（したがって 3'-OH は全末端の 25%）、およびそれらに対応して生ずる 5'-P, 3'-P 末端のうち少なくとも 3'-P 末端は上記のホスホモノエステラーゼでは作用を受けない構造になっていることが考えられる。

図 1 ポリフェノール化合物によるポリヌクレオチド鎖切断の様式

●はリン酸とエステル結合したフェニル基で、それが 3'-P, 5'-P に等しい割合で結合することを示す。

蛇毒ホスホジエステラーゼはポリヌクレオチドの 3' 末端にリン酸が結合している場合には無効であるが、このリン酸がフェニルリン酸エステルとして存在しているときには、ポリヌクレオチドを完全に分解する。 ^3H -エビネフリン- Cu^{2+} 混液で処理したポリ C を 5 時間後に全ヌクレオチドが酸可溶性となるような条件で蛇毒ホスホジエステラーゼで処理すると、加水分解がほとんど起っていない反応のごく初期（5 分後）に全放射能の 50% が酸可溶性となった。残りの放射能は加水分解の中期には認められず、終期にすべてが酸可溶性画分に検出された。これらの結果はフェノール化合物- Cu^{2+} 混液はポリヌクレオチドのリン酸ジエステル結合を直接攻撃して等量の 3'-P, 5'-P（したがって 5'-OH, 3'-OH）を作ること示している（図 1）。このリン酸は遊離ではなく、フェノール化合物とのフェニルリン酸エステルとして存在する。事実フォスホジエステラーゼによって 3'-末端から遊離した放射性物質はそのほとんどがエビネフリン、あるいはそれらが酸化されたアドレノクローム、アドレノルチンであった。

化学薬剤による核酸切断反応は発がんおよび制がん機構の解明とも関連し、多くの研究者によって調べられているが、詳細な切断機構が明らかにされている薬剤は多くはない。過酸化水素およびヒドロキシルアミンによる DNA 切断の場合⁽¹⁴⁾は、 $\cdot\text{OH}$ ラジカルが糖部分を攻撃し、脱塩基を引き起こした後、糖リン酸骨格が開裂すると考えられている。また、制がん剤として知られているブレオマイシン⁽¹⁵⁾、フレオマイシン⁽¹⁶⁾の場合でも、その DNA 切断作用は $\cdot\text{O}_2$ ラジカルまたは $\cdot\text{OH}$ ラジカル

表2 ^{14}C -エピネフリンの細胞内分布

Subcellular fraction	RFL		Radioactivity in HeLa		L	
	cpm/ 10^6 cells(%)		cpm/ 10^6 cells(%)		cpm/ 10^6 cells(%)	
Whole cells	14,300	100	2,837	100	3,250	100
Trypsin sup.	2,400	17	805	28	1,580	49
Trypsinized cells	11,900	83	2,032	72	1,670	51
Protein	6,300	44	b. d.	—	491	15
DNA	4,100	29	b. d.	—	b. d.	—
Soluble	b. d.	—	1,916	68	1,315	40

b. d.: Below the limit of detection.

による、間接的なものであると推定されている。X線やUV照射による切断の場合でも、70%以上は $\cdot\text{OH}$ ラジカルに起因するとされている⁽¹⁷⁾。ほかの薬剤には塩基の修飾に伴う脱塩基反応により⁽¹⁸⁾、あるいはDNA二重らせんに挿入されることにより単鎖切断を引き起こすものもある⁽¹⁹⁾。しかし核酸のリン酸ジエステル結合を直接攻撃して切断を引き起こす薬剤の報告はほとんどない。この点でフェノール化合物- Cu^{2+} 混液のDNA切断作用は特異な反応であるといえよう。

λ -ファージDNAがフェノール化合物- Cu^{2+} 混液によって切断されて生ずるDNA断片の末端塩基組成は均一ではなく、しかもその組成は λ -ファージDNAのそれとは著しく異なっている。この切断はDNA上のGCに富む部分とATに富む部分が隣接する箇所によく起りやすく、この切断反応に感受性の部位がDNAの立体構造と関連があることを推定させる。4種のホモポリリボヌクレオチドはいずれも速やかに $1.6\sim 2.3\times 10^5$ ダルトンの低分子に分解される。

一方、デオキシリボ重合体ではポリdA、ポリdCのみが切断を受ける。二本鎖重合体では、ポリ(dGC)は切断を受けたがポリ(dG, dC)は分解を受けない。ポリ(dAT)、ポリ(dA, dT)はいずれも分解された。しかし、このような塩基組成の均質なヌクレオチドであっても、切断反応物中にはモノあるいはジヌクレオチドが検出されないことはこの反応の特徴的な性質の一つである。

4. ポリフェノール化合物による細胞内染色体DNAの切断

各種のポリフェノール化合物が Cu^{2+} の共存下にDNAなどのポリヌクレオチド鎖のリン酸ジエステルを直接攻撃する可能性はすでに指摘していたところである

が⁽¹⁹⁾、上記の結果はそれを明確に支持する。この反応が細胞内でも起りうる事が明らかになれば細胞内DNAの切断によって生ずる制がん、発がん等の種々の重要な現象にポリフェノール化合物が関与していることを証明することになる。動物細胞培養法を利用すると、動物細胞内での現象をより定量的に、しかも再現性よく追究することができる。また、生体組織のように多種類の機能の異なった細胞の協同作用の結果ではなく、単一種の細胞の機能のみが検出されうる利点がある。このような理由で各種の培養細胞にポリフェノール化合物を添加し、その染色体DNAの切断の様相を超遠心沈降法により調べた⁽²⁰⁾。ポリフェノール化合物は Cu^{2+} と共同してDNAを切断する能力を持つのであるから、この化合物が細胞内DNAを切断する場合もこれと同様な反応が起ることが期待される。そのためにはポリフェノール化合物が細胞核内DNA中に検出される必要がある。表2に示すように ^{14}C -エピネフリンを6時間添加したRFL(rat fetal lung)、HeLa、L細胞の各部位中の放射能活性には著しい差がある⁽²¹⁾。RFLでは約30%の放射能がDNA画分に検出され、このものは酸処理によって遊離し、エピネフリンあるいはその酸化物としてクロマトグラム上に回収された。HeLa細胞に取り込まれたエピネフリンの大部分はこの細胞の膜表面をトリプシン処理することによって除去され、このフェノール化合物の大部分が細胞表面に存在することがわかる。L細胞では細胞質中にも放射能の分布が認められたが、DNA部分にははっきりと確認できるほどは存在しなかった。ポリフェノール化合物の細胞内分布がこのような異なるこれら3種の細胞内DNAの切断状況をアルカリ性および中性 NaCl 濃度勾配法により調べると図2のようになり、細胞内DNA切断の受けやすさは細胞内DNAへのポリフェノール化合物の到達量に比例する結果が得られ

図2 エピネフリンによるRFL, HeLa および L 細胞の染色体 DNA の切断
細胞に 25~2500 μM のエピネフリンを添加 6 時間
後の細胞内染色体 DNA の切断状態をアルカリ
および中性ショ糖濃度勾配超遠心法で測定。

た。従来からカテコールアミンのようなポリフェノール化合物は細胞膜表面において情報伝達に与するものであって、細胞外から加えられたこの物質が細胞質部分に到達することはあっても、細胞核中に取り込まれるとは考えられていなかった⁽²²⁾。またエピネフリンの DNA 切断作用に感受性の強い RFL 細胞の DNA は 25 μM のこの物質によってすでに一本鎖、二本鎖切断を受ける。この濃度はエピネフリンの生体濃度にきわめて近く、*in vivo* で生成したエピネフリンが生体内でこの種の DNA 切断反応に参与している可能性を強く示唆する。

細胞外から加えられたポリフェノール物質が染色体 DNA に到達するためには細胞膜および核膜の通過の難易、細胞質中での酵素的酸化などの障壁を越えなければならない。RFL 細胞核内へのエピネフリンの取込み量は培地中の ATP によって促進され、細胞のおかれた生理環境に大きく支配される。すべてのポリフェノールに対して細胞が同一の応答を示すのではなく、ポリフェノール化合物の種類によっても異なっている。たとえば 3,4-dihydroxyglyoxime (DPG) は RFL 細胞の DNA に対してよく切断を起こすが、エピネフリンが全く無効であった HeLa 細胞の DNA に対しても著しい切断を引き起こす⁽²³⁾。このことはポリフェノール化合物の部分構造を修飾することによって、DNA 切断作用の細胞特異性を改変できる可能性を示すものであり、ポリフェノール化合物を制がん物質として利用する場合には部分構造を改変することによって、標的とする細胞にのみ有効な化合物を作り出すための良いモデルになりうると考えられる⁽²⁴⁾。

細胞核内にまで到達したポリフェノール化合物はどのようにして染色体 DNA を切断するのであろうか。ポリフェノール化合物が λ -DNA などの細胞外に取り出した DNA を切断できるためには Cu^{2+} の共存が必須であった。しかし細胞核内染色体 DNA 切断反応を検討する場合には細胞培養液にポリフェノール化合物を添加したのみで Cu^{2+} は加えなかった。培地中には細胞の増殖を支持するための血清中にごく微量の Cu^{2+} が存在するが、この量はポリフェノール化合物が DNA 切断反応を起こすには不十分である。さらに後述するように細胞を無血清培地で繰り返し継代した場合には、培地構成試薬中の極微量狭雑物質としての Cu^{2+} が存在するのみである。ポリフェノール化合物が DNA 切断を起こすた

図3 ν -body のポリフェノール酸化促進活性

めには、ポリフェノールが酸化される必要があることはすでに述べた。したがって細胞核内に取り込まれたポリフェノールが染色体 DNA の近傍で酸化を受ける機構が存在しなければならない。われわれはこの酸化反応がヌクレオソームを形成する ν -body によって著しく促進されることを見出した(図3)。染色体を DNase で部分加水分解して得られる ν -body の酸化促進活性は比較的不安定であるが、 Ca^{2+} の添加によって安定化することができる。 ν -body をタンパク質と DNA 部分に分離すると活性が消失することから、タンパク質と DNA の複合体がこの酸化反応の触媒としての機能を作り出していることになる。このように核内に到達したポリフェノールが DNA のごく近傍で酸化されることになり、このことが細胞核内 DNA が λ -DNA に対するよりもより低濃度のポリフェノール化合物によって切断を受ける理由である。したがって培地中に加えられたポリフェノール化合物のうち細胞膜を通過し、細胞質でフェノールオキシダーゼにより酸化されることなく核膜を経て ν -body に到達したものが染色体 DNA の切断に関与することになる。

このような機構の切断反応によって細胞内 DNA はどのような過程をたどって低分子化するのであろうか。細胞培養液にポリフェノール化合物を添加して後3時間目までは一本鎖切断のみが検出される。この切断はポリフェノール化合物を培地から除去すると DNA の不定期合成を伴って2時間以内に速やかに修復される⁽²¹⁾。4時間以上になると一本鎖切断に加えて二本鎖切断も検出されるようになる。二本鎖切断が生じた細胞を、ポリフェノールを除去して通常の培養を続けても、そのすべてが修復されるわけではない(図4)。この修復されない二本鎖切断は細胞に致死的ではなく。しかも約100世代の

図4 ポリフェノール化合物による細胞内 DNA 切断の様式

DNA の一本鎖切断(B)に続いて二本鎖切断が起る(C)。一本鎖切断は短時間で修復されるが(C)、二本鎖切断の一部は約100世代ののちでも修復されない(D)。

後でも細胞内の DNA 切断箇所は修復されることなく依然として保持される。エビネフリンで RFL 細胞を5時間処理した後、通常培地で24時間培養すると二本鎖切断の部分的修復が認められた。しかし、DPG で同様の処理を行うと、細胞を通常培地に移して4日後までに二本鎖切断の部分的修復が検出され、同時に細胞の増殖も再び始まる。その過程で細胞機能にも著しい変化が生じる。すなわち、ポリフェノール化合物で5時間処理した後、通常の培地で約100世代継代した細胞の乳酸およびビルビン酸脱水素酵素のレベルはそれぞれ40、60%低下するが、カタラーゼ活性は変動しない。またマウス白血病ウイルスに対する感受性も通常の30%に減少する。これらの機能変化はDNAが一本鎖切断を受け、その修復がなされた段階では認められないが、不可逆的な二本鎖切断の生成によって初めて検出されるようになる。すでにわれわれは種々のポリフェノール化合物が動物腫瘍に対して抑制作用を有していることを明らかにしている^(3,4)。その作用は化合物の持つ酸化還元電位と密接な関連があり、特定の電位を持つ化合物のみが有効であることを明らかにしている⁽²⁵⁾。

生物的反応は、その環境とのかかわりにおいて発現、制御されるわけであるから、ポリフェノール化合物による培養細胞染色体 DNA 切断反応に関しても、このことを考慮する必要がある。動物細胞の培養には通常、10%程度の血清が添加される。血清は数百種のタンパク質、ホルモン等の混合物であるから血清培地中の細胞の反応を詳細に検討するためにはおのずから限界がある。この

困難を除去するために細胞の無血清培養法について研究を行い、リン脂質、エタノールアミン等が細胞増殖促進作用を有することを発見し、これらと既知のホルモン類を組み合わせ、多種の細胞を無血清下に培養することに成功した⁽²⁷⁻³²⁾。これによって細胞の培養がより生体環境に近い条件で可能となったのみならず、培地中の因子を変化させることにより細胞の生理状態を任意に調節できるようになった。従来から、動物細胞の培養にはその組成が複雑で変動する血清を使用してきたので、動物細胞の栄養素要求性ないしはこれに関連する詳細な検討は不可能であった。無血清培養法の導入によって初めてこの種の研究が可能となりつつある。この無血清培地を用いた細胞培養法の開発は細胞の大量培養による有用物質大量生産への道を拓いた。

無血清培地で培養された細胞は上述のように、より生体内の環境に近い条件で生育しており、このような細胞に対してフェノール化合物はより低い濃度で作用を示すことが明らかになった。したがってその細胞に対する作用は血清の存在下でのみ起る現象ではないことが明らかである。さらに培地成分を調節して細胞を特定の生理状態においたときのフェノール化合物の機能についての研究が展開されつつある。

5. む す び

以上述べてきたようにポリフェノール化合物は Cu^{2+} の共存下に高分子 DNA のリン酸ジエステル結合を切断することができる。この反応は細胞内の染色体 DNA に対しても起り、それに伴って種々の細胞機能の遺伝的变化が生ずる。これがポリフェノール化合物の制がん機能発現の一つの機構であろう。このようにポリフェノール化合物は核酸切断剤の一つである⁽²⁶⁾。しかしながら強調すべき点は DNA 切断活性を有する種々のポリフェノール化合物の多くが植物常成分として含有され、食品成分として常時摂取されており、また従来から摂取されてきた物質であり、これらの物質を含む食品を継続的に摂取することによって腫瘍発生の防御を図りうる可能性があることである。ポリフェノール化合物は栄養的に価値の低い物質であるとされ、いわゆる組立て食品を製造する際には構成成分としては考慮されないものの一つである⁽³³⁾。食品成分中に存在するポリフェノールは上述のように生物反応に対する機能物質としての性質を有しており、その機能に関してのさらに広範な研究が期待され

る。

本研究を行うにあたり終始、ご指導、ご鞭撻をいただいた九州大学名誉教授山藤一雄先生、大村浩久教授に深く感謝いたします。また共同研究者の諸氏に厚く御礼申し上げます。

- (1) H. von Euler and C. Martius : *Liebigs. Ann. Chem.*, **505**, 73 (1933).
- (2) 大村浩久, 野村男次 : 「レダクトンの化学」, 内田老鶴圃新社, 1969, p.1.
- (3) K. Yamafuji and H. Murakami : *Enzymologia*, **35**, 139 (1968).
- (4) K. Yamafuji, H. Murakami and M. Shinozuka : *Z. Krebsforsch.*, **73**, 195 (1970).
- (5) 山藤一雄 : 「食物, 癌, 分化」, 秀巧社, 1970, p.1.
- (6) H. Murakami, S. Shirahata, C. Hori, H. Yoshii, K. Yamada, K. Shinohara and H. Omura : *Agric. Biol. Chem.*, **43**, 1619 (1979).
- (7) 村上浩紀, 白畑実隆, 山田耕路, 大村浩久 : 農化, **49**, 475 (1975).
- (8) 白畑実隆, 村上浩紀, 山田耕路, 尊田民喜, 篠原和毅, 大村浩久 : 農化, **52**, 1 (1978).
- (9) S. Shirahata, H. Murakami, H. Ikuta, K. Yamada and H. Omura : *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 1111, (1978).
- (10) J. W. Rall and E. W. Sutherland : *J. Biol. Chem.*, **232**, 1065 (1958).
- (11) D. Garfield and B. Hess : *J. Biol. Chem.*, **239**, 971 (1961).
- (12) 白畑実隆, 村上浩紀, 生田久人, 山田耕路, 篠原和毅, 大村浩久 : 農化, **51**, 631 (1977).
- (13) H. J. Phaese and E. Freese : *Biochim. Biophys. Acta*, **155**, 476 (1968).
- (14) R. Ishida, T. Takahashi : *Nucleic Acid Res., Spec. Publ.*, **2**, 135 (1976).
- (15) M. J. Sleight : *Nucleic Acid Res.*, **3**, 891 (1976).
- (16) R. Roots and S. Okada : *Int. J. Radiat. Biol.*, **21**, 329 (1972).
- (17) B. Strauss and T. Hill : *Biochim. Biophys. Acta*, **213**, 14 (1970).
- (18) I. S. Deniss and A. R. Morgan : *Nucleic Acid Res.*, **3**, 315 (1976).
- (19) H. Murakami and K. Yamafuji : *Enzymologia*, **38**, 337 (1970).
- (20) H. Murakami, T. Miyoshi, M. Koga, K. Yamada and H. Omura : *Agric. Biol. Chem.*, **39**, 795 (1975).
- (21) K. Yamada, H. Murakami, H. Nishiguchi, S. Shirahata, K. Shinohara and H. Omura :

- Agric. Biol. Chem.*, **43**, 901 (1979).
- (22) G. Robinson, R. Butcher and E. Sutherland :
"Cyclic AMP," Academic Press Inc., New
York and London, 1971, p. 23.
- (23) K. Yamada, H. Murakami, S. Shirahata and
H. Omura : *Agric. Biol. Chem.*, **41**, 2319
(1977).
- (24) H. Murakami, K. Yamada, S. Shirahata, H.
Nishiguchi, K. Shinohara and H. Omura :
Agric. Biol. Chem., **42**, 1019 (1978).
- (25) 村上浩紀, 山藤一雄 : 九大農学芸誌, **24**, 19
(1969).
- (26) 飯山 悟, 村上浩紀, 久良木倫生, 大村浩久 :
農化, **47**, 455 (1973).
- (27) H. Murakami and H. Masui : *Proc. Natl.*
Acad. Sci. U. S. A., **77**, 3464 (1980).
- (28) F. J. Darfler, H. Murakami and P. A. Insel :
Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., **77**, 5993
(1980).
- (29) H. Murakami, H. Masui, G. Sato and W. C.
Raschke : *Anal. Biochem.*, **114**, 422 (1981).
- (30) H. Murakami, H. Masui, G. H. Sato, N.
Sueoka, T. P. Chow and T. Kano-Sueoka :
Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. **79**, 1158
(1982).
- (31) H. Murakami, H. Masui and G. Sato : *Proc.*
Cold Spring Harbor Lab. in press.
- (32) H. Murakami, T. Edamaoto, H. Nakamura
and H. Omura : *Agric. Biol. Chem.*, **46**, 1831
- (33) 村上浩紀 : 栄養と食糧, **33**, 49 (1980).