

《農芸化学奨励賞》



求電子性食品成分の機能性/安全性に関する化学生物学的研究

岡山大学大学院自然科学研究科バイオサイエンス専攻 助教授 中村 宜 督

1. はじめに

野菜の摂取と健康に関する疫学研究は数多く、さまざまな疾患リスクの低減だけでなく、通常健康状態に関しても野菜摂取の有用性が示唆されている。その一方で近年、若年齢層の野菜消費量が減少の一途をたどっており、生活習慣病の若年齢化との相関から、社会問題として注目を浴びている。また、健康情報の氾濫と健康食品市場の急激な成長により、サプリメントを利用しておけば食生活はないがしろにしても構わないという風潮に歯止めがかからない。野菜の摂取を推奨していくためには、健康と野菜摂取との関連を科学的かつ体系的に解明・整理することが今一度必要である。野菜中の機能性成分の性質や分布を正確に理解できれば、より健全な「日本型食生活」への回帰と野菜の消費拡大の一助となることはいうまでもない。

以上の背景から、これまで生活習慣病発症にかかわる各種ストレスに対して、生体に抵抗性を賦与できる成分を植物性食品に求め、その探索・開発研究を行ってきた。その過程で、求電子反応性を有する成分に強力な特異な生理活性が認められたことを契機に、これらの機能性/安全性に関する化学生物学的研究へと展開してきた。一連の研究成果は、機能性食品成分の有効性のみならず、単一成分の過剰摂取によってもたらされる危険性の化学的理解を深め、機能性食品成分の薬理学・毒性学的研究の進展に大きく寄与できるものと考えている。本講演では、求電子性食品成分に関する研究成果の一部を紹介する。

2. 求電子性食品成分の第2相薬物代謝酵素誘導機構の解明

発がん物質に対する生体防御応答だけでなく、内因性脂質過酸化物質の還元反応も触媒する薬物代謝酵素である glutathione S-transferase (GST) の誘導は、がん予防だけでなく、種々のストレス抵抗性に寄与するものと考えられている。まず、培養細胞のスクリーニングから選出した高感受性肝細胞株 RL34 を用いて、GST 誘導活性の短期評価法を開発し、isothiocyanate (ITC) 類をはじめとする強力な求電子性 GST 誘導物質をさまざまな植物性食品や合成薬剤から同定した。これらの成果は、東南アジア産ハーブ、果物類が解毒酵素誘導物質の有望なソースであることを明らかにし、これまではラジカル消去物質が中心であった抗酸化素材研究に新たな方向性を与えた。

さらに分子機構研究を進め、1) 求電子反応受容体が共通の細胞内センサーであること、2) 転写因子 Nrf2 を介して、その他の抗酸化酵素遺伝子群を転写活性化すること、3) GST 誘導物質を投与した細胞や動物では、酸化損傷に対する抵抗性が上昇すること、4) その結果、発がんリスクが低減することを示し、GST 誘導物質が生体内ストレス抵抗性を賦与しうる実験的検証を蓄積しつつある。一方、フェノール性物質 (hydroquinone) の GST 遺伝子誘導機構の研究からは、酸化還元 (redox) 反応性ではなく、代謝により酸化的に生成する求電子性 benzoquinone が活性本体であることを証明し、GST 遺伝子エン

ハンサー領域の抗酸化物質/求電子物質応答配列論争に終止符を打つに至っている。

3. 求電子性食品成分の細胞死誘導機構の解明

求電子性 GST 誘導物質のなかでも、特に活性が顕著であったパパイヤ種子由来 benzyl ITC (BITC, 図1) に注目し、機能性に関する研究を進めた結果、求電子反応性に依存した活性酸素産生抑制作用や皮膚発がん抑制作用と並んで、がん細胞に対する強力なアポトーシス誘導作用を見いだした。現在、ITC 類のアポトーシス誘導に関する研究は、機能性食品の研究分野において世界的にもホットな領域の一つであるが、分子機構に関して不明な点が多く残されている。そこで、BITC の細胞内分子標的を明らかにする目的で研究を行った結果、以下に示すように3種の調節分子を同定することに成功した。まず、細胞周期同調法を用いた解析から、BITC によるアポトーシス誘導はS後期-G₂/M 期細胞に特異的な現象であることを見だし、この細胞周期特異的に活性化される cJun-N-terminal kinase が、抗アポトーシス分子 Bcl-2 の不活性化を直接担う調節分子であると同定した。また、BITC によるアポトーシス誘導は、正常細胞において p53 により負の制御を受けることを世界に先駆けて発見した。siRNA にて p53 が発現低下し、増殖性を示す正常細胞は、BITC に対する感受性が有意に増大していた。以上の結果は、増殖性がん細胞への選択的細胞死誘導の可能性を示唆し、食品成分による副作用の少ない新たながん治療・予防戦略を提唱するに至っている。しかし、アポトーシスを効果的に誘導できる濃度には閾値が存在し、細胞内 glutathione (GSH) 濃度の低下に伴い、その閾値は低濃度側にシフトした。また、BITC 高濃度投与では、細胞内活性酸素の顕著な生成とアポトーシスの抑制を観察している。さらに毒性機構の解析を進め、求電子反応の標的の一つがミトコンドリア膜タンパク質であり、細胞内 ATP 量に依存して細胞死様式がアポトーシスからネクローシスへと変化することも明らかにしている。以上の成果は、求電子性食品成分の安全で有効な利用を推進するうえで必須な基盤的知見を提供したという点で意義深い。現在、害作用のみを軽減する食品成分の探索とその有効性に関する研究へと展開している。

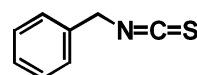


図1 BITC の構造

4. 食品成分の求電子性物質への代謝的変換と毒性発現機構

ラジカル消去型抗酸化物質には catechol 型 diphenol 構造を有するものも多く含まれており、これらが発がん抑制効果を示すことは、これまでに多くの報告がある。演者は、protocatechuic acid をモデルとして、皮膚発がんに対する作用の、特に

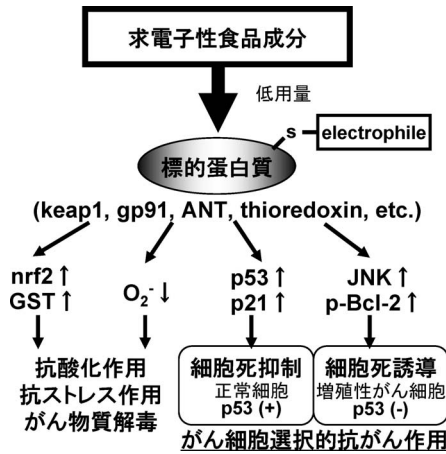


図2 求電子性食品成分の機能性の分子機構

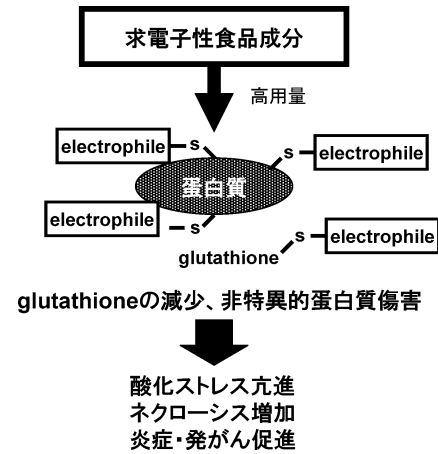


図3 求電子性食品成分の害作用の分子機構

高用量域での濃度依存性を検討した。その結果、極めて低用量では抑制効果を示す一方で、高用量ではコントロールと比べて発がんを有意に促進する結果を得た。この害作用には代謝活性化が必要であること、phenol oxidase (tyrosinase) 阻害剤は、GSH レベルの低下や酸化ストレスの亢進を中和することが明らかとなった。また、非特異的タンパク質修飾による接触過敏症の発症が炎症増悪化に寄与することも証明し、同様の害作用は肝臓、腎臓といった皮膚以外の臓器でも起こること、catechin などのカテコール型物質に普遍的な現象であることも確認している。以上の結果は、これまで機能性のみが強調されてきた polyphenol 類の安全性に関して、懸念の一石を投じるだけでなく、diphenol 類の求電子性物質への代謝活性化とその病因的意義を食品成分で初めて明らかにした点で意義深い。

5. 結 語

本研究は、食品成分の「機能性」という良い面だけでなく、特徴的な化学反応性がゆえに生じる「害作用」という裏の側面にも焦点を当てて行ってきた (図 2, 3)。現在、ITC 類をはじめとする求電子性解毒酵素誘導物質が、少なくともがんの予防に関して、最も期待される食品成分の一つである。それゆえ、解毒酵素誘導の観点からの野菜の再評価、新規物質の探索、誘導物質高含有野菜の創成が期待される。今回紹介した生理作用の発現には、求電子性官能基が重要な役割を果たしているが、その反面、細胞内に高濃度に存在すると非特異的反応により、毒

性が発現する危険性が高いことは明白である。近年、不十分な野菜の摂取を有効成分のサプリメントで補おうという観点が定着しつつあるが、機能性食品成分に関する代謝・体内動態を含めた毒性学的研究が立ち後れていることも事実である。それゆえ、「サプリメントがあるゆえに普段の食生活を疎かにしても構わない」という考え方に警鐘を鳴らしながら、基礎的な研究では求電子性食品成分代謝物が示す細胞応答や毒性発現に関するさらなる分子機構研究を今後行っていきたい。

本研究は、名古屋大学大学院生命農学研究科食品機能化学研究室、および岡山大学大学院自然科学研究科食品生物化学研究室において行われたものであり、その間、終始ご指導ご鞭撻を賜りました大澤俊彦先生、内田浩二先生 (名古屋大学)、多田幹郎先生 (岡山大学名誉教授・現 中国学園大学) に深く感謝いたします。本課題は実に多くの先生方や学生・卒業生に支えられており、謝意を表したい方は多数おられますが、紙面の都合上、学生時代の恩師である小清水弘一先生 (京都大学名誉教授)、大東 肇先生、村上 明先生 (京都大学)、研究の進展に多大な貢献をいただいた三好規之博士 (現静岡県立大学) に深く感謝いたします。最後になりましたが、本賞に推薦くださいました日本農芸化学会中四国支部長の海老原 清先生および関連の諸先生方に御礼申し上げます。