

食品と生体の生理活性成分のスピアヘッド分析法の開発と応用



東北大学大学院農学研究科生物産業創成科学専攻 准教授 仲川 清 隆

はじめに

従来、分析が困難であった食品の機能性成分や疾病に深く関わる生体成分について、選択性の高い分析法、迅速なスクリーニング法、定量に必須な標準化合物の合成など一連の分析技術を構築し、“特徴的な生理活性成分を有する食品素材の生産性向上”および“疾病の発現や食品による予防の機構解明”に関する研究への応用を図ってきた。以下に、これらの研究成果の概略を記す。

1. 特徴的な生理活性を有する食品成分の分析技術：スクリーニングから生産まで

イミノ糖 1-デオキシノジリマイシン (1-deoxynojirimycin; DNJ, 図1) は、 α -グルコシダーゼを強く阻害する。生化学実験で阻害剤 (α -glucosidase inhibitor; α GI) として用いられるほど強力であり、HIV やゴースェ病、とくに糖尿病の予防・治療への活用が期待されている。しかしながら、DNJ を分析しようとすると、ODS カラムを通過してしまうほど高極性で、さらに分子内に検出に有利な官能基がなく、こうした分析の困難さが本研究領域の展開の足かせとなっていた。そこで、DNJ の分離を親水性相互作用クロマトグラフィー (hydrophilic interaction chromatography; HILIC) で達成し、蒸発型光散乱検出器 (ELSD) さらにはタンデム質量分析装置 (MS/MS) で検出を可能にして、定量性の高い分析法を構築した。本手法は DNJ の高度利用を実現できるとして、現在、国内外で広く活用されている。

次いで筆者らは、天然に DNJ が桑やカイコに特徴的に含まれていることに着目し、構築した分析法を駆使して、DNJ を高含有する桑品種を見いだした。また、カイコへ DNJ を濃縮させる方法を提唱した。DNJ 高含有桑葉を用いて、抽出・加工条件を検討し、DNJ 量を担保した桑食品を作出した。この食品の摂取は、血糖値が高めの方の食後高血糖を良好に改善することができた。このように DNJ の確固たる α GI 作用を確認できたことから、吸収代謝の解明や安全性の検証を経て、DNJ は高血糖改善トクホや糖尿病予防食への展開がいくつかの企業により試みられている。

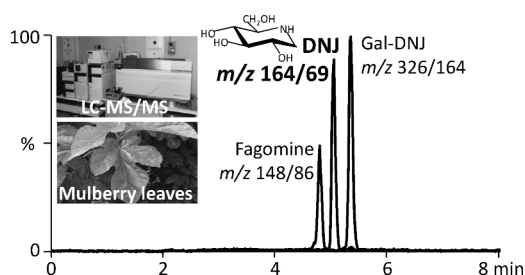


図1 桑 DNJ の LC-MS/MS 分析

将来の大量安定供給に向けては、これを可能にする基盤知見として、枯草菌とその近縁種が DNJ を生産できることを確認し、DNJ 高生産菌をいくつか同定した。これらの高生産菌では炭素源の種類によって DNJ 前駆体 (2-アミノ-2-デオキシ-D-マンニトール) の生合成量が顕著に高まり、ゆえにさらに多くの DNJ を生産させられる可能性を見いだした。

他方、社会の高齢化により癌や糖尿病性網膜症をはじめとする血管新生病が増加し、大きな社会問題となっている。そこで筆者らは、食品や農水産物、天然資源から抗血管新生活性を有する成分を探索し、不飽和ビタミン E であるトコトリエノール (tocotrienol; T3, 図2) に薬剤に匹敵する強い活性を見いだした。抗血管新生のメカニズムとして、T3 による血管内皮細胞の PI3K-Akt シグナル伝達経路の制御および癌細胞へのアポトーシス誘発を、細胞実験や腫瘍モデルマウスなどを用いた動物実験で明らかにした。

自然界で、T3 は米の糠部に特徴的に含まれている。そこで、T3 を活かした米糠の高度利用を目的に、T3 の四つの異性体 (α -, β -, γ -, or δ -T3) と通常のビタミン E (α -, β -, γ -, or δ -トコフェロール, tocopherol; Toc) をサンプル処理も含めて 20 分程度で迅速に分析できる高速液体クロマトグラフ-蛍光検出器 (HPLC-FL) スクリーニング法を構築し、数百種の在来品種の米糠 T3 と Toc 量を数年間かけて調査して、Milyang23 などの T3 高生産品種を特定した。コシヒカリやハバタキなどの品種との掛け合わせを進め、T3 高生産品種 (通常の 3~4 倍の T3 生産量) の登録を来年度に計画している。

本研究の過程で、なぜ米の糠部に T3 が特徴的に分布しているのかに興味を抱き、糠をはじめとするイネのいくつかの部位の T3 や Toc 量を経時的に調べ、加えてビタミン E 生合成酵素の遺伝子発現を評価して、ホモゲンチジン酸ゲラルニルゲラルニル転移酵素 (homogentisate geranylgeranyl transferase; HGGT) の糠部での働きがとくに重要であることを見いだした。本知見をさらに T3 を高生産できる品種の作成へとフィー

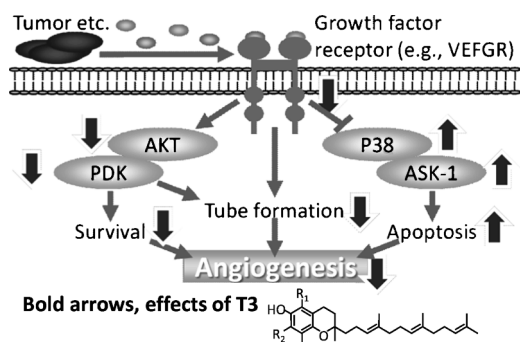


図2 T3 による血管新生阻害

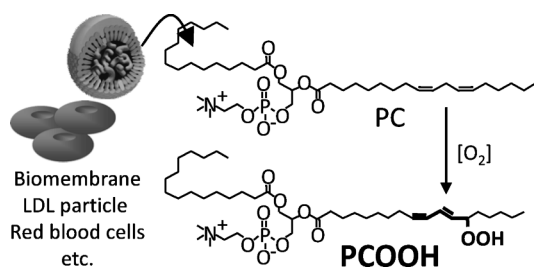


図3 PC 過酸化による PCOOH 生成

ドバックしている。

こうした研究成果は、特徴的な生理活性を有するものの、従来技術では分析が難しく、分子機能の基盤的理解が困難であった食品成分 (DNJ と T3) について、分析化学を重視しつつ、存在量と生理機能を明確にして、農芸化学・分析化学的手法で大量生産等の高度利用を可能にしようとするものであり、実生活への貢献が大きいと考えられる。

2. 疾病に深く関わる生体成分の分析技術：生体膜脂質の過酸化・糖化修飾，食品成分による制御

認知症や動脈硬化などの疾病では、これらと脂質過酸化の関係が古くから示唆されている。この証明には、生体内の過酸化脂質 (脂質ヒドロペルオキシド) の正確な定量が必須である。しかし、高純度・安定なヒドロペルオキシド標準品は利用できず、長年の懸案であった。そこで筆者らは、2-メトキシプロペンなどのビニルエテル化合物を活用し、ヒドロペルオキシド基を保護する高純度脂質ヒドロペルオキシド標準品の調製法を構築して、液体クロマトグラフ-タンデム質量分析装置 (LC-MS/MS) や高速液体クロマトグラフ-化学発光検出器 (CL-HPLC) による生体過酸化脂質の精密定量を可能にした。

これら LC-MS/MS と CL-HPLC 法を駆使して、アルツハイマー病患者の赤血球には過酸化リン脂質 (ホスファチジルコリンヒドロペルオキシド, phosphatidylcholine hydroperoxide; PCOOH, 図3) の顕著な蓄積があり、逆にキサントフィル (極性カロテノイドのとくにルテイン) は低値であることを見いだした。この逆相関のメカニズムには血中に漏出してくる β -アミロイドの関わりがあることを提唱し、キサントフィルの補給は赤血球過酸化の防御に有用であることを動物実験とヒト試験で明らかにした。

動脈硬化患者では、血漿で PCOOH が高く、酸化低密度リポタンパク質 (OxLDL) 中の PCOOH が単球の内皮細胞への接着を亢進して、および内皮細胞の血管新生を惹起して、動脈硬化を悪化させる機構を提唱した。血漿 PCOOH の抑制にはカテキンが有効であることを認めた。また、C 型肝炎における脂質過酸化を介した肝炎機構を示すとともに、皮膚の過酸化に

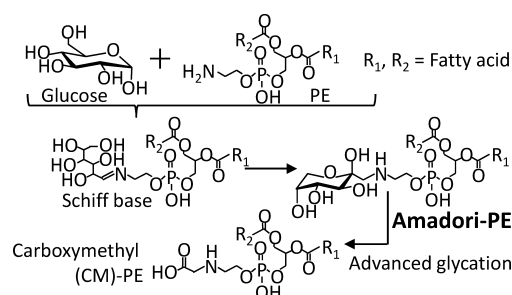


図4 PE グリケーションによる Amadori-PE 生成

も興味を抱き、生活環境下の太陽光曝露によるヒト皮膚でのスクアレンヒドロペルオキシド (squalene hydroperoxide; SQOOH) の生成とその炎症作用を明らかにした。

過酸化脂質 (PCOOH) に加え、新たな変性脂質として生体膜のホスファチジルエタノールアミン (phosphatidylethanolamine, PE) と糖のメイラード産物であるアマドリ型糖化 PE (Amadori-glycated phosphatidylethanolamine; Amadori-PE, 図4) をヒト血中から見いだした。この Amadori-PE や後期脂質グリケーション産物の LC-MS/MS 分析法を構築し、高血糖下ではとくに Amadori-PE が増加することを明らかにした。Amadori-PE は糖尿病の初期で顕著に増えるため、新たな疾病マーカーとしての期待が大きい。次いで、Amadori-PE と糖尿病進展の関わりを調べ、Amadori-PE が脂質過酸化や血管新生を誘発して、糖尿病の増悪化に関与することを提唱した。加えて、脂質のグリケーションを抑制するためには、ビタミン B6 群のピリドキサルやピリドキサルリン酸が有効であることを示した。

こうした研究成果は、過酸化脂質 (PCOOH と SQOOH) や糖化脂質 (Amadori-PE) による細胞障害と疾病、これら疾病の食品成分による予防についての研究の開拓と発展に貢献するものと考えられる。

本研究は、東北大学大学院農学研究科生物産業創成科学専攻機能分子解析学分野において行ったものです。本研究を行う機会を与えていただき、学生時代から温かいご指導ご鞭撻を賜りました東北大学大学院農学研究科教授 宮澤陽夫先生に心より御礼申し上げます。本研究の成果は、ともに研究を行わせていただいた大学や研究機関、産業界の研究者・技術者の皆様をはじめ、多くの関係の方々のご指導やご支援の賜物です。そして、卒業生・在学生の協力によって成し遂げたもので、この場を借りて深く感謝いたします。最後になりましたが、本奨励賞の受賞にあたり、ご支援賜りました日本農芸化学会東北支部長 桑原重文先生をはじめとする諸先生に厚く御礼申し上げます。