

## 腸管における食品因子の吸収及び機能性・安全性に関する細胞生物学的研究



東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻 助教 薩 秀 夫

## はじめに

腸管は体の中にありながら外界と広く接している器官であり、“内なる外”とも呼ばれる。なかでもその最前線に位置する腸管上皮細胞は、外界と生体内を隔てる重要な境界の場であり、多様な生理機能を有することが知られている。すなわち、(1) 食品栄養素の吸収機能、(2) 生体異物の侵入を妨げるバリアー機能、(3) 外来刺激を受容して生体内へ伝達するシグナル変換機能、など生体にとって重要な働きをしている。一方で腸管上皮細胞は食品成分などによって最も高濃度かつ高頻度にさらされることから、腸管上皮機能が食品因子によって制御・調節を受けることは十分に考えられる。そこで筆者らは腸管上皮における食品因子の吸収・透過機構及び腸管上皮細胞機能に対する食品因子の生理作用について、主にヒト腸管上皮モデル細胞株を用いて研究を進めた。また食品中に混入する外来異物が腸管上皮細胞に及ぼす作用についても同様に研究を進め、これまでいくつかの新たな知見を得た。以下にその概要を紹介する。

## 1. 腸管上皮モデル細胞を用いた食品因子の腸管上皮吸収・透過機構

腸管上皮細胞における食品因子の吸収・透過機構の解析には、ヒト結腸癌由来 Caco-2 細胞をモデル細胞として用いた。Caco-2 細胞を用いて腸管上皮におけるアミノ酸やグルコースなどさまざまな食品因子の吸収特性を解析した結果、それぞれの吸収に関わるトランスポーターの特性（イオン依存性、基質特異性、親和性など）を明らかにした。なかでも  $\beta$ -アミノ酸の一種であるタウリンのトランスポーター（TAUT）について注目し、TAUT が細胞外基質濃度・浸透圧等の環境条件、サイトカイン等の内因性因子、ある種の食品成分等によって制御されることを明らかにした。また抗酸化物質である  $\alpha$ -リボ酸がプロトン共輸送型の新規なトランスポーターを介して吸収されることを見いだすとともに、腸管上皮細胞においてより抗酸化能の強い還元型（デヒドロリボ酸）へと変換されることを示した。さらにフラボノイドの一種であるメトキシフラボノイド

の腸管上皮透過機構について解析したところ、ノビレチンとタンジェレチンは細胞内単純拡散によって透過するのに対し、ヘスペレチンはプロトン共輸送型のトランスポーターを介していることが示された。一方、ヒアルロン酸やコンドロイチン硫酸は、低分子化することによって腸管上皮細胞間経路を介して透過することが明らかとなった。これより食品因子は、多様な機構を介して腸管上皮を吸収・透過することが明らかとなった（図 1）。

## 2. 食品因子による腸管上皮トランスポーターの制御・調節

腸管上皮細胞には多様なトランスポーターが発現しているが、その活性が他の食品成分によって制御・調節される可能性を考え、腸管上皮トランスポーター活性を調節する食品成分の解析を進めた。その結果、腸管上皮での主要なグルコーストランスポーターである SGLT1 活性を緑茶抽出物が阻害することを見だし、その阻害因子の一つがエピカテキンガレートであることを明らかにした。また TAUT 活性が黒ゴマ抽出物に含まれるリゾフォスファチジルコリンによって、異物排出トランスポーターである MDR1 がニガウリ抽出物に含まれる 1-モノパルミチンによってそれぞれ阻害されることを見いだした。これらの結果から、腸管上皮トランスポーター活性は他の食品因子によって制御・調節されることが示された。

## 3. 腸炎症に対する食品因子の作用解析

近年炎症性腸疾患（Inflammatory bowel disease; IBD）をはじめとする腸炎症が急増しているが、その一因として異常亢進したマクロファージが分泌する炎症性サイトカインが腸管上皮細胞層に傷害を引き起こすことが知られている。そこで筆者らは、腸管上皮モデル Caco-2 細胞と活性化マクロファージモデル THP-1 細胞の複合培養系（共培養系）の構築を試みた。その結果 THP-1 が分泌する TNF- $\alpha$  によって Caco-2 細胞は傷害を受け、その傷害は TNF- $\alpha$  に対する中和抗体や 5-アミノサルチル酸（5-ASA）といった IBD 治療薬によって抑制された。そこで本複合培養系を IBD の *in vitro* モデル系として抗炎症食品因子の探索評価系に応用し、THP-1 による腸管上皮 Caco-2 細胞傷害を抑制する食品因子の探索を行った。その結果、タウリンとカフェインが Caco-2 細胞傷害を抑制することが見いだされ、さらにタウリンは DSS 誘導大腸炎モデルマウスを用いた *in vivo* 評価系においても抗炎症作用を示した。これより腸炎症抑制作用というタウリンの新たな機能が見いだされるとともに、本複合培養系が腸炎症を予防・改善する食品因子の探索評価系として有効であることが実証された（図 2）。また、腸管上皮細胞は様々なストレス刺激によってケモカインの一種であるインターロイキン 8（IL-8）を分泌し、それが好中球などを誘引し腸炎症を引き起こすことが知られている。そこで腸管上皮細胞におけるストレス刺激による IL-8 の分泌を抑制する食品因子を探索したところ、クロロゲン酸などのポリフェノール

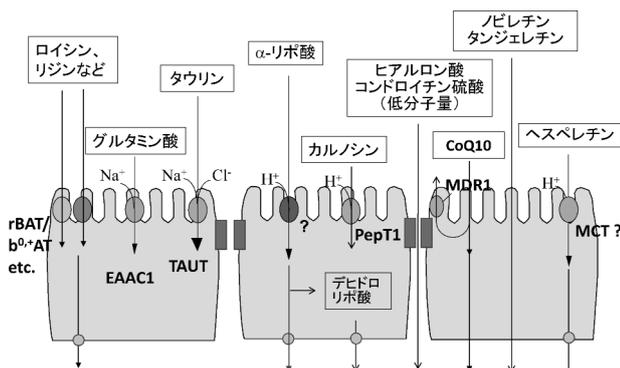


図 1 さまざまな食品因子の腸管上皮透過機構及び動態

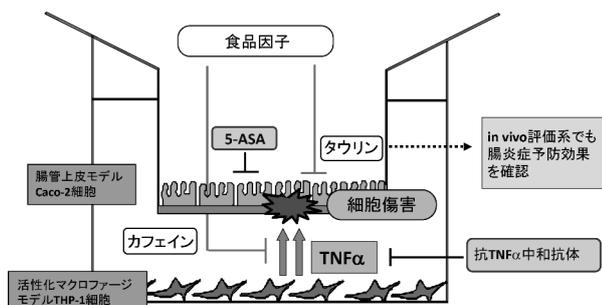


図2 複合培養系を用いた腸炎症を抑制する食品因子探索のための簡便な *in vitro* 評価系

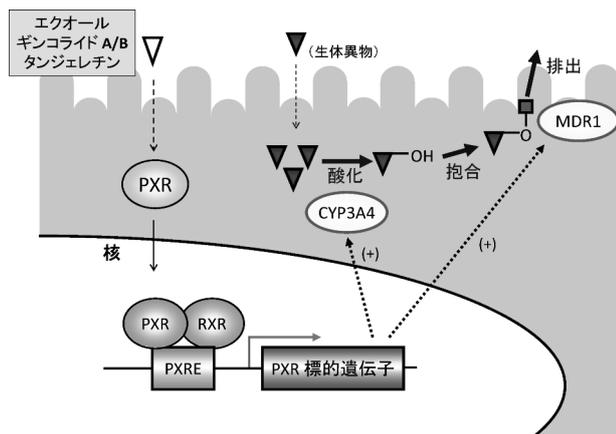


図3 食品因子による PXR の活性化

類、大豆イソフラボン、ヒスチジンなどさまざまな食品因子が抑制作用を有することを見いだした。特にクロロゲン酸については、ストレス刺激による PKD- $\text{IKK}$ - $\text{NF}\kappa\text{B}$  経路の活性化を阻害することで IL-8 産生を抑制するといった細胞内作用メカニズムを明らかにするとともに、DSS 誘導大腸炎モデルマウスの腸炎症状を軽減するなど *in vivo* でも抗炎症作用を示すことが確認された。

#### 4. 腸管上皮における解毒排出系に対する食品因子の作用

腸管上皮ではさまざまな解毒排出（薬物代謝）酵素が発現しており、食品中に混入する生体異物の解毒排出に関与している。そこで異物の侵入に対する腸管のバリア能を高めることを目的として、解毒排出酵素の発現・活性を亢進する食品因子の探索・解析を行った。その結果、解毒排出酵素の発現制御を担う核内受容体 Pregnane X receptor (PXR) を大豆イソフラボンの代謝物であるエクオール、タンジェレチンやギンコライド A/B などのフィトケミカル類が活性化し、CYP3A4 や MDR1 などその標的遺伝子の発現を亢進することを見いだした（図3）。またアミノ酸の一種であるシステインが、発癌抑制に関与する解毒排出酵素の一種である NQO1 の発現を転写因子 Nrf2 の活性化を介して亢進することを見だし、この現象は *in vivo* でも観察された。これらの結果より、食品因子は腸管上皮における解毒排出酵素の発現をさまざまなメカニズムを介して誘導しうることを新規に見いだした。

#### 5. 食品中に混入する外来異物が腸管上皮細胞機能に及ぼす影響

食品中には食品成分とともに生体にとって有害な外来異物も混入しており、腸管上皮細胞はそれら外来異物にもさらされる環境にある。そこで筆者らは、社会問題にもなったダイオキシンに注目し、レポーターアッセイ系を用いてダイオキシン類の腸管上皮透過・毒性発現評価系を構築することに成功した。これを用いてダイオキシン類の透過・毒性発現を抑制する食品因子を探索し、タンジェレチンなどある種のフラボノイド類が抑制作用を示すことを見いだした。また環境ホルモンの一種であるトリブチルスズが、腸管上皮の単層形成を阻害するとともに MDR1 の発現を亢進するといった知見を得た。さらに重金属の一種であるカドミウムを腸管上皮細胞に添加した際の遺伝子発現変化について DNA マイクロアレイを用いて解析した結果、IL-8 の mRNA 発現が亢進することを見いだした。カドミウムは  $\text{NF}\kappa\text{B}$  を活性化することで IL-8 産生を亢進すること、実際にカドミウムをマウスに投与すると腸炎症が誘発されることが示された。

おわりに

以上本研究では、主に腸管上皮モデル細胞株を用いてさまざまな食品因子の腸管上皮吸収・透過機構について明らかにするとともに、腸管上皮における主要な細胞機能、すなわちトランスポーターを中心とした吸収機能、サイトカイン産生制御などを中心とする免疫機能、解毒排出系を介した生物学的バリア機能、に対する食品因子の生理作用についてそれぞれ分子・細胞レベルで新規な知見を得るに至った。また一部の食品中に混入する外来異物についても、腸管上皮細胞への作用に関する新たな知見を得ることができた。今後さらに食品因子とそれを受容・認識する生体側分子との相互作用などを中心に、より詳細な分子レベルでの研究を進展し、食品因子の機能性・安全性に関する科学的エビデンスを深めることに貢献していきたいと考えている。

本研究は、東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻食糧化学研究室で行われたものです。本研究を遂行するにあたり終始ご指導いただき本奨励賞にご推薦いただきました。清水 誠先生に深く感謝申し上げます。また本研究を開始するにあたり多大なご指導ご助言を賜りました。荒井綜一先生に心より感謝申し上げます。また学生時代より今日に至るまで食糧化学研究室にてご指導いただきました。阿部啓子先生、西村敏英先生、宮本有正先生、佐藤隆一郎先生、渡辺寛人先生、戸塚護先生に厚く御礼申し上げます。ポスドク時代に食品総合研究所にてご指導いただきました。越智幸三先生、戸澤 譲先生、留学時に米国スクリップス研究所にてご指導いただきました。Hugh Rosen 先生に深謝申し上げます。またこれまでご指導ならびにご協力を賜りました非常に多くの大学をはじめとする研究機関・企業の諸先生方と共同研究者の皆様にも深く感謝申し上げます。最後になりましたが、東京大学大学院農学生命科学研究科食糧化学研究室での共同研究者である研究員、技術補佐員、ならびに大学院・学部卒業生、在校生の皆さんに深く感謝いたします。