

## 食品成分の体調調節機能に関する統合的研究



崇城大学生物生命学部応用微生物工学科 教授 山田 耕 路

## 1. はじめに

食品中にはさまざまな生理活性成分が存在しており、その多くは複数の疾病を予防する多機能性を示す。これらの多機能性成分を組み合わせることで、作用スペクトルの広い多機能性食品を構築することができる。多機能性食品の設計を行うためには、種々の食品成分の多様な生理活性を明らかにする必要がある。すなわち、統合的な研究が必要となる。

食品成分の生体調節機能を明らかにするためには、最終的にはヒト摂食試験が必要となる。しかし、機能性因子のスクリーニングおよび作用機作の解明にヒトを利用することはできない。したがって、生化学試験、微生物試験、動物培養細胞試験、動物実験などを駆使して研究を行う必要がある。したがって、研究の手法においても統合的な取り組みが必要となる。

ここでは、食品成分の体調調節機能の解明に利用した種々の実験系とそれを用いて得られた結果を紹介する。

## 2. 食品成分の制がん機能に関する研究

本研究は、糖質の分解に際して生じるレダクトン類の制がん機能の解明研究に端を発する。当時、エンジオール構造を有するレダクトン類は、抗酸化活性を有するとともにDNA切断機能を有することが知られていた。また、がん細胞を移植したマウスのがん組織に注射することにより、がん組織を縮退させることが知られていた。しかし、*in vitro*のDNA切断試験と動物実験のみではその生理作用発現機構を解明することは不可能であった。そこで、動物培養細胞を機能検定系として導入することとした。このレダクトン類の生理機能に関する研究では、糖質の褐変中間体であるエンジオール化合物が主として用いられていた。しかし、それらの化合物は不安定であり、大量に作成して保存することが困難であった。そこで、作用機構の解明を開始する時点で芳香環を有するエンジオール化合物に研究の対象を移すこととした。

まず、副腎髄質ホルモンの制がん機能の解明を行うこととし、エピネフィリン(Ep)等のカテコールアミン類が*in vitro*と同様に細胞DNAに二重鎖切断を導入することを明らかにした。当時、細胞DNAの二重鎖切断は致死的に作用すると考えられていたが、実験に用いたラットRFL細胞は二重鎖切断の一部を保持したまま増殖を続けることができ、それに伴い分化機能の変化が誘導されることを明らかにした。

カテコールアミン類は、細胞膜表面に結合してアデニルシクラーゼを活性化し、それによって生じるcAMPをセカンドメッセンジャーとして機能を発現すると考えられていた。しかし、<sup>3</sup>H-Epを細胞に投与すると、細胞内に取り込まれ、核内に輸送され、DNAと結合して存在することが明らかとなった。Epの細胞DNA切断能は細胞の種類により異なったが、その強さはEpのDNA結合量と比例したことから、細胞外に投与したEpが細胞

DNAと結合して直接DNAを切断する新規生理活性発現機構を提唱することができた。

食品成分の動物細胞増殖制御機能に関する研究では、水溶性食物繊維の分解物の一つである酪酸がラット正常3Y1細胞の細胞周期移行をG1期とG2期の2か所で停止させること、G2で増殖を停止した2倍体細胞は速やかに4倍体G1期細胞に変化することを明らかにした。この手法を用いて8倍体細胞も作成することができたが、正常に増殖を続けることができたのは4倍体細胞までであった。また、3Y1細胞を種々のがん遺伝子で形質転換した細胞の細胞周期移行に及ぼす酪酸の影響についても検討し、がん化した細胞ではG2期の増殖制御が効かなくなり、細胞死をもたらしやすいことを明らかにした。この3Y1細胞と形質転換3Y1細胞を比較する実験系は、種々の制がん物質の機能検定に有効であった。

食品成分の制がん機構に関する研究では、遺伝子工学技術を導入し、種々の食品成分のがん細胞致死機構の解明に活用した。カテコールアミン類の制がん作用に関する研究は、茶ポリフェノールをはじめとするポリフェノール化合物の生理活性発現機構の解明に発展し、エピガロカテキンガレート(EGCg)のがん細胞致死機構を明らかにすることができた。また、同様の手法を用いてビタミンE誘導体や共役リノール酸(CLA)のがん細胞致死機構の解明を行った。

## 3. 食品成分の免疫調節機能の解明

本研究は、ヒト型ハイブリドーマの無血清大量培養によるヒト型モノクローナル抗体(MoAb)の大量生産に関する研究が発端となった。まず、MoAbの生産能を増強する因子を検索し、種々のタンパク質が抗体産生増強作用を有することを明らかにした。この作用は抗体のクラスにより異なることが明らかとなり、以後のアレルギー研究の端緒となった。ヒト型ハイブリドーマを用いたスクリーニング系では、それぞれのクラスの抗体産生に及ぼす食品成分の影響しか見ることができない。しかし、ヒトや実験動物由来のリンパ球を用いるとすべてのクラスの抗体産生に及ぼす食品成分の効果を同時に検定することができる。また、共存するリンパ球の細胞間相互作用の解明にも有効であった。

食品成分の抗体産生調節機能をヒトで活用する場合、実験動物を用いた摂食実験の実施が不可欠となる。そこで、摂食実験に用いる動物から採取したリンパ球を用いて予備スクリーニングを行うことにより、生理活性成分のスクリーニング効率を高めることにした。実験動物由来のリンパ球を利用することにより、全身免疫系に属するリンパ球と腸管免疫系に属するリンパ球の間の応答の違いを明らかにすることも可能となった。また、摂食実験に供したラットからリンパ球を無菌的に回収して摂食記憶を確認する*ex vivo*実験系を開発し、種々の食品成分の免疫調節

機能の解明に利用した。*ex vivo*実験系は、血清中の抗体やサイトカインのレベルに影響が出ない場合でも産生能の変化を検出することができる、より高感度の実験系であった。また、全身免疫系と腸管免疫系への作用の違いを明確にするための手段を提供した。

食品成分のアレルギー調節機能に関する研究では、アレルギー反応を促進もしくは抑制する因子について検討を行い、脂質の酸化がアレルギー応答を促進し、脂溶性抗酸化成分がその促進効果の発現を抑制することを見出した。すなわち、ラットリンパ球を不飽和脂肪酸の存在下で培養するとIgEの産生が促進され、その他の抗体の産生は抑制された。このIgE産生促進効果はビタミンE共存下では発現が抑制されたが、水溶性のビタミンCは抑制効果を示さなかった。これらの結果は、食品中にはアレルギー促進物質と抑制物質が存在しており、その量を調節することにより抗アレルギー食品を創ることが可能であることを意味している。

また、食物繊維を摂食させるとIgAの産生が強く促進され、リンパ球に摂食記憶が残ることを明らかにした。しかし、この効果は細胞実験では再現することができず、食物繊維と腸内細菌との相互作用を介して生理活性を発現している可能性が考えられた。本研究では、若齢ラットでは食物繊維の効果が強く認められるが、加齢ラットでは感受性が低下することも明らかとなった。

本研究では、ケミカルメディエーター放出抑制作用に関する検討も行った。ヒスタミン放出抑制効果はトリフェノール化合物に強く認められ、ロイコトリエン(LT)放出抑制効果は抗酸化成分および多価不飽和脂肪酸(PUFA)に強く認められた。また、これらの機能性因子の間で相乗効果が存在することを明らかにすることができた。この相乗効果を利用すると、より低用量で生理活性を誘導することが可能となり、健康志向食品の安全性の向上と製造コストの削減に大きく貢献することが期待されている。

#### 4. 食品成分の脂質代謝調節機能に関する研究

食品成分の免疫調節機能を解明するための摂食実験では、脂質代謝調節機能の検定を同時に実施し、食品成分の多機能性の発現についても検討した。たとえば、n-3系PUFAを含むエゴマ油や魚油を摂食させると、アラキドン酸由来の4-シリーズ

LTの産生が抑制されるとともに、血清中のコレステロールおよびトリグリセリドのレベルが低下する。このように、摂食実験系を用いると、食品成分の多機能性の発現を確認することが可能になる。

食物繊維は抗体産生調節機能と脂質代謝調節機能を同時に発現するが、これらの効果の発現がラットの週齢に依存することが明らかとなった。成長期のラットでは、水溶性食物繊維は不溶性食物繊維より強い血清脂質改善効果を示すが、加齢ラットではこの効果が全く認められなくなる。この結果は、食物繊維の脂質代謝調節機能が免疫調節機能と類似したメカニズムを通じて発現していることを示唆している。しかし、これらの活性の発現強度は水溶性食物繊維の種類や分子量により異なることが明らかになっている。たとえば、グァーガムのIgA産生促進効果は高分子のグァーガムでは認められるが、サイズを100分の1にした酵素分解グァーガムでは効果が認められなくなる。一方、脂質代謝改善効果では酵素分解グァーガムは高分子グァーガムと同等の生理活性を発現する。したがって、これらの生理機能の発現調節機構は完全に同じではないものと考えられる。

#### 5. 最後に

本研究では、上記の機能に加えて糖尿病予防効果、ホルモン調節機能等についても検討を行った。また、消化性の糖質、アミノ酸・ペプチド、ビタミン類を含む低分子生理活性物質についても検討を行った。食品中の機能性物質は単独で使われることは少なく、他の生理活性物質と同時に摂取されることが多い。そのため、体調調節因子の同時摂取について検討を行ったが、幸い相乗効果を発見することができ、健康志向食品の安全性の強化および製造コストの削減に貢献することとなった。これらの体調調節因子は医薬としても利用可能であるが、食品として摂取される場合はその安全性の確保に留意する必要がある。食品は多様な体調調節因子を含んでおり、ヒトは多種の臓器から構成される複雑な生命体である。この複雑さが、食品成分の体調調節機能を解明するためには統合的取り組みが必要となる理由である。本研究の内容は多岐にわたっているため、多くの人たちの協力を得て達成された。研究にあたった学生たち、協力をいただいた多くの研究者および企業の研究開発担当者にこの場を借りて深甚な謝意を表す。