

食品ポリフェノールの生体感知機構と 機能性増強技術に関する研究

藤村 由紀

九州大学大学院農学研究院生命機能科学部門
食料化学工学講座食糧化学分野 准教授

要 約

本研究では、疾病予防・改善効果が期待されている非栄養素の食品因子であるポリフェノールの多面的な挙動を捉え、特に、緑茶ポリフェノールの機能性を特異的に感知・評価・増強できる新たな概念・技術を見出した。すなわち、緑茶の主要カテキンである Epigallocatechin-3-O-gallate (EGCG) およびそのメチル化体である Epigallocatechin-3-O-(3"-O-methyl) gallate (EGCG3" Me) を特異的に感知し機能性発現を担う細胞膜上のセンサー分子67-kDa ラミニン受容体 (67LR) の発見と共に、そのシグナル伝達経路（緑茶カテキンセンシング経路）を世界に先駆けて明らかにした。一方、このような生体が食品因子を感知する仕組み（食品因子センシング）を含めた食機能評価に資する質量分析ベースの代謝物総体解析技術「フードメタボロミクス」の開発を試み、緑茶ポリフェノールの生体組織内代謝・分布を非標識で感知・可視化できる質量分析イメージング法を確立した。また、ポリフェノールを豊富に含む緑茶抽出物の機能性を「共存する多種成分の量比バランス」で簡便に評価できるメタボリック・プロファイリング法の開発にも成功した。本法は機能性関与成分の同定と共に、緑茶カテキンセンシング経路を増強することでEGCGの機能性を高める成分の同定や機能性を示す成分の組合せ提示にも有効であった。

はじめに

食品の生体調節機能に関与する成分にはポリフェノールに代表される非栄養素があり、いわば生体異物が少なくない。非栄養素は生体にとって異物であるが、急増する生活習慣病などの疾病予防・改善効果が期待されている。一方、こうしたポリフェノールの生体調節機能の解明に関する進展に比べ、そのメカニズムは必ずしも明確でない場合が多い。生体は様々な異物の侵入をTLR

(Toll様受容体) 等のセンサー分子で感知し応答することで恒常性を保持しているが、生体異物としてのポリフェノールを生体がどのように感知しその機能性発現に結びつくのかという観点で、本研究では機能性食品ポリフェノールの代表格である緑茶カテキンのセンシングメカニズムについて検討した。

また、一般的に食品の機能性は個々の成分の協調的作用で成り立つと考えられているが、その具体的成分間相互関係は未だ不明瞭であるため、機能性を複数の共存成分で理論的に解釈することが困難であると共に、特定の機能性成分の効果を高めたり弱めたりする科学的根拠も極めて乏しい。このような食機能の根幹となす課題を克服することは質の高い科学的根拠の提示と共に、効能を高めた機能性食品の開発や機能性を享受できる食べ合わせの提示につながる。そこで本研究では、多種成分同時分析法の一種であるメタボロミクス技術を駆使して、ポリフェノールが豊富な緑茶の多種成分情報から機能性を読み解き、ポリフェノールの機能を高める技術の構築を試みた。

1. 食品因子センシング

緑茶カテキンEGCGの細胞膜受容体（センサー分子）として、細胞膜マイクロドメインの脂質ラフトに局在する67LRの同定¹⁾と共に、その特異的シグナル伝達経路（緑茶カテキンセンシング経路）²⁻⁶⁾および細胞膜・センサー分子上での相互作用機序／EGCGセンシングモチーフ⁷⁻⁹⁾を世界に先駆けて明らかにしてきた（図1）。ポリフェノールとしては世界初となる細胞膜受容体の同定となり、多くの注目を集めた。また、通常の緑茶カテキンよりも生体利用性が高く、ヒトでの抗アレルギー効果などが知られている「べにふうき緑茶」に豊富に含まれる機能性成分であるメチル化カテキンEGCG3"Meの作用機序の解明を試み、67LRを介して抗アレルギー作用（脱顆粒抑制作用）を示すことを見出した¹⁰⁾。現在、本成果

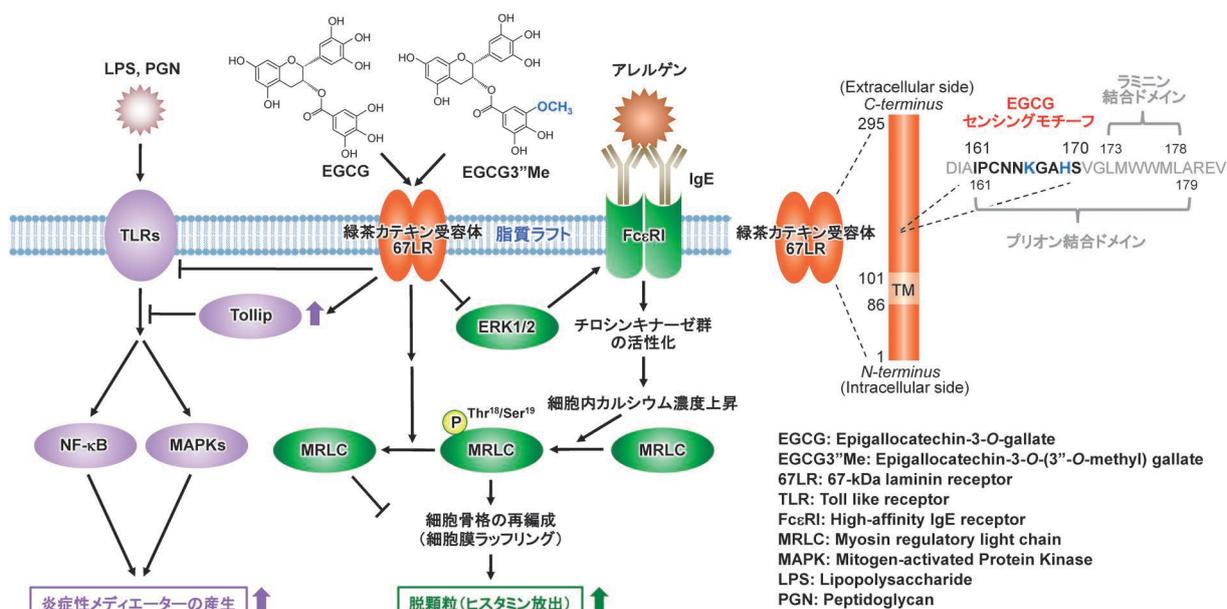


図1 センサー分子67LRを介した緑茶カテキンセンシング経路

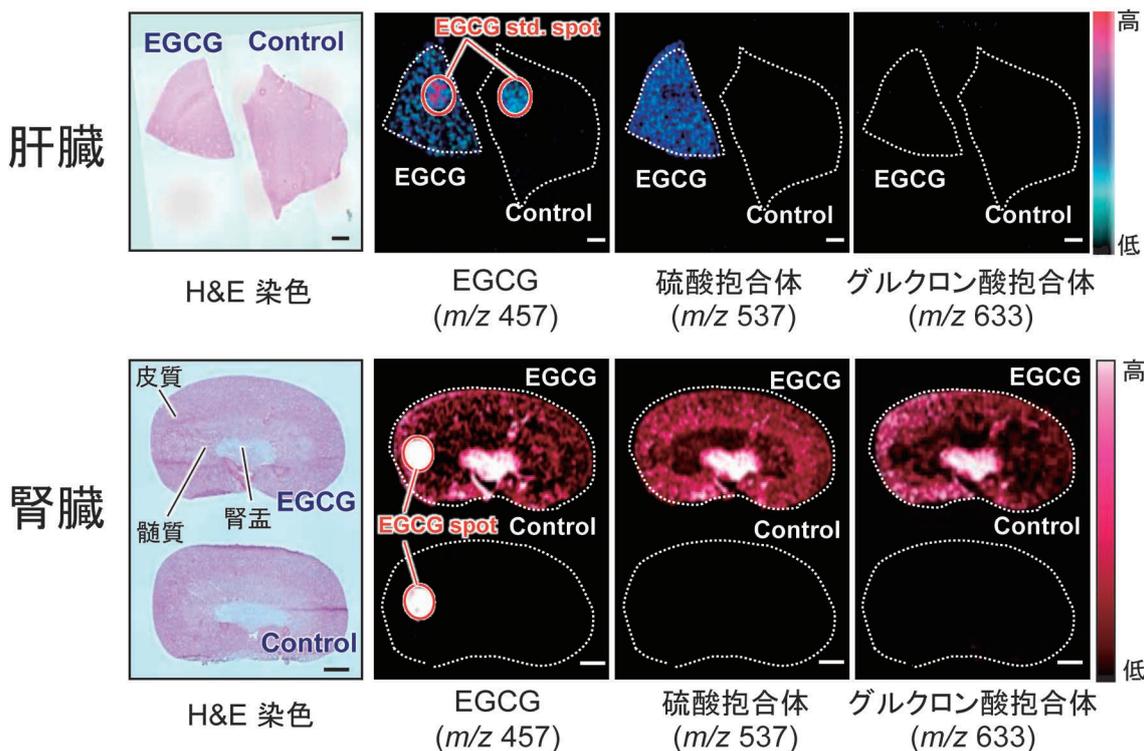


図2 質量分析イメージング法による緑茶カテキンEGCGとその代謝物の生体組織内分布の非標識可視化

1,5-DAN を用いたMALDI-MS によるEGCG を投与したマウス各組織切片におけるEGCG イオンの可視化を行った。2,000 mg/kg body weight となるようにEGCG を経口投与したマウス肝臓と腎臓組織切片へ1,5-DAN 溶液 (10 mg/mL acetone) を塗布し、MALDI-MS のnegative ion mode で測定した。得られたデータのBiomap 解析により、各種イオンイメージング画像を取得した。

を科学的根拠の一つとして、メチル化カテキンを関与成分とする機能性表示食品が十数社から上市されている。

2. フードメタボロミクス

食機能評価に資する質量分析ベースの代謝物総体解析技術「フードメタボロミクス」の開発に挑み、緑茶ポリ

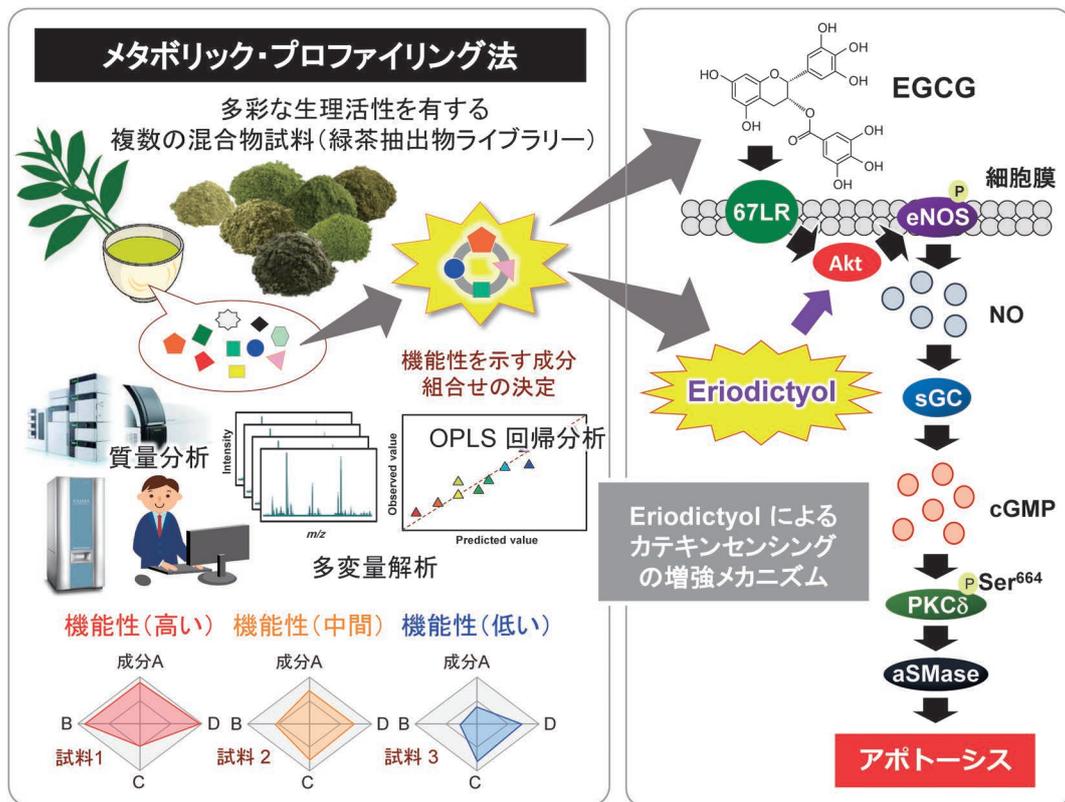


図3 メタボリック・プロファイリング法による緑茶の機能性評価と緑茶カテキンEGGの機能性増強成分の同定

直行型部分最小二乗法 (OPLS) 回帰分析で抗がん作用と成分プロファイル間に相関のある機能性予測回帰モデルを構築し、本モデルの形成に高く寄与する成分を複数抽出可能であった。その中でも緑茶中で低含量であり、カテキン生合成の中間代謝物である Eriodictyol は、単独処理では抗がん作用を示さなかったが、67LR 依存性の細胞致死誘導経路 (アポトーシス) を担う Akt の活性化促進により EGCG の抗がん作用を増強した。なお、EGCG は 67LR/Akt/内皮型一酸化窒素合成酵素 (eNOS)/一酸化窒素 (NO) 産生/可溶性グアニル酸シクラーゼ (sGC)/環状グアノシンーリン酸 (cGMP)/プロテインキナーゼ C δ (PKC δ)/酸性スフィンゴミエリナーゼ (aSMase) から構成される経路を活性化する。

フェノールの組織内代謝・分布の可視化法を新たに見出した。すなわち、独自のマトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析法 (MALDI-MS)¹¹⁾ を駆使したメタボロミクス技術を先鋭化し、世界に先駆けて生体組織微小領域における代謝動態の可視化に成功すると共に¹²⁾、経口摂取した緑茶カテキン EGCG の未変化体およびその第二相代謝物の組織内分布を非標識で同時に感知・可視化できる MALDI-MS イメージング法を確立した¹³⁾ (図2)。本法の実現にはポリフェノール類を高感度に検出可能なマトリックス (イオン化助剤) である 1,5-Diaminonaphthalene (1,5-DAN) の発見が不可欠であった。緑茶中のエラグタンニンの一種である Strictinin は EGCG とは異なり、脂質ラフトに局在する 67LR を介さずに非ラフト領域との相互作用を介して強い抗アレルギー作用 (IgE 産生抑制作用) を示すが¹⁴⁾、生体における動態は未解明であった。これに対して、独自の 1,5-DAN-MALDI-MS イメージング法を改良することで、Strictinin の生体組織内分布の

画像化に成功した¹⁵⁾。本成果は、ポリフェノールの精密な生体調節作用メカニズムを理解する上で極めて重要な知見であった。

一方、ポリフェノールを豊富に含む緑茶抽出物の機能性を従来着目されていなかった「共存する多種成分の量比バランス」で簡便に評価できる液体クロマトグラフ質量分析 (LC-MS)-メタボリック・プロファイリング法を開発した¹⁶⁾ (図3)。本法は機能性関与成分の同定を可能とし、例えば、緑茶中の食後血糖上昇抑制作用に資する新たな α -グルコシダーゼ活性阻害成分としてメチル化カテキン EGCG3"Me および Epicatechin-3-(3"-O-methyl)gallate (ECG3"Me) を見出した¹⁷⁾。また、本法は単独では活性を示さないが同様に活性を示さない緑茶抽出物に加えることで新たに機能性を付与できる成分を提示できる画期的手法であった¹⁶⁾。さらに、本法は緑茶カテキンセンシングを増強することで EGCG の抗ガン作用を高める成分 (Eriodictyol) の同定にも有効であった¹⁸⁾

(図3)。このようなEriodyctiolやそのアナログはメチル化カテキンEGCG3"Meの抗ガン作用を増強することも明らかとなった。本研究を端緒として、緑茶カテキンセンシングに着目した機能性増強研究がさらに進展しつつある¹⁹⁾。

1,5-DAN-MALDI-MS技術により、ポリフェノールを多く含む食品の多検体迅速分析に基づくメタボリック・プロファイリングが初めて可能となり、一連の緑茶抽出物パネルの抗酸化活性を成分量バランスに基づいて高精度に判別・評価できることを見出した²⁰⁾。さらに、本技法により、複数の含有成分の中から抗酸化活性を高精度に予測できる成分組合せの簡便な抽出・同定が可能となることが示された。

おわりに

現在、緑茶カテキンセンシングの増強によりEGCGの機能性を高める研究を幅広く展開しており、前述の抗ガン作用以外にも、抗肥満作用、抗炎症作用、抗アレルギー作用など多様な機能にも適用できることが明らかになりつつある。今後、ポリフェノールセンシング機構に基づいた食機能の増強戦略が他の食品因子にも活用され、適切な食品因子を組合せることで機能性を高めるよう設計した食品など新しいタイプの機能性食品の開発にもつながることを期待したい。本研究の両輪をなす食品因子センシングとフードメタボミクス研究のさらなる発展は、疾病予防・健康寿命の延伸効果を狙った食を通じた健康システムの確立に大きく寄与できるものと考えている。

謝 辞

この度は、栄誉ある三島海雲学術賞を賜り、公益財団法人三島海雲記念財団の関係者の皆様、選考委員の先生

方に厚く御礼申し上げます。また、本学術賞にご推薦いただきました九州大学大学院農学研究院長の福田晋教授に厚く御礼申し上げます。本研究は、九州大学で行われたものであり、格別のご指導とご高配を賜りました、同農学研究院の立花宏文主幹教授に心から感謝申し上げます。また、本研究に多大なるご助言、ご協力をいただきました農業・食品産業技術総合研究機構の山本万里博士、産業技術総合研究所の三浦大典主任研究員に心より御礼申し上げます。本研究の実施にあたり、ご指導とご協力をいただきました諸先生方と研究に従事していただいたスタッフや学生の皆様に深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) H. Tachibana, et al.: *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **11**, 380–381, 2004.
- 2) Y. Fujimura, et al.: *FEBS Lett.*, **556**, 204–210, 2004.
- 3) Y. Fujimura, et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **336**, 674–681, 2005.
- 4) Y. Fujimura, et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **348**, 524–531, 2006.
- 5) E. H. Byun, et al.: *J. Immunol.*, **185**, 33–45, 2010.
- 6) S. Tsukamoto, et al.: *Mol. Cancer Ther.*, **14**, 2303–2312, 2015.
- 7) Y. Fujimura, et al.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **476**, 133–138, 2008.
- 8) Y. Fujimura, et al.: *PLoS One*, **7**, e37942, 2012.
- 9) Y. Hang, et al.: *Chem. Commun.*, **53**, 1941–1944, 2017.
- 10) Y. Fujimura, et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **364**, 79–85, 2007.
- 11) D. Miura, et al.: *Anal. Chem.*, **82**, 498–504, 2010.
- 12) D. Miura, et al.: *Anal. Chem.*, **82**, 9789–9796, 2010.
- 13) Y. H. Kim, et al.: *Sci. Rep.*, **3**, 2805, 2013.
- 14) Y. H. Kim, et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **450**, 824–830, 2014.
- 15) Y. H. Kim, et al.: *J. Agric. Food Chem.*, **62**, 9279–9285, 2014.
- 16) Y. Fujimura, et al.: *PLoS One*, **6**, e23426, 2011.
- 17) M. Wasai, et al.: *Sci. Rep.*, **8**, 16041, 2018.
- 18) M. Kumazoe, et al.: *Sci. Rep.*, **5**, 9474, 2015.
- 19) J. Bae, et al.: *J. Nutr. Biochem.*, **64**, 152–161, 2019.
- 20) Y. Fujimura, et al.: *Sci. Rep.*, **7**, 2257, 2017.

著者紹介



藤村 由紀 (フジムラ ヨシノリ)

1975年 福岡県出身
1998年 3月 九州大学 農学部 卒
2003年 3月 九州大学大学院 生物資源環境科学府 博士課程修了
2003年 3月 博士(農学)の学位取得(九州大学)
2003年 4月 日本学術振興会 特別研究員(PD)(九州大学)
2005年 4月 九州大学大学院 農学研究院 特任助手
2010年 4月 九州大学先端融合医療レドックスナビ研究拠点 准教授
2018年 9月 九州大学大学院 農学研究院 生命機能科学部門 准教授

研究テーマ

フードケミカルバイオロジーとフードメタボロミクスのアプローチで、生体がポリフェノールなどの食品因子を感知するしくみを解明するとともに、機能性を顕在化させる食品・食べ合わせにおける成分同士の協調的ふるまいを可視化することを目指しています。

趣味など

映画鑑賞、食べ歩き、サイクリング