

解毒・排出器官としての消化管—食品因子による
その制御機構の分子基盤解析

Intestinal tract as an organ for detoxication and excretion
— Molecular analyses of its regulation by food factors

清水 誠 (simizu makoto)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授



研究の概要

消化管は栄養素吸収や免疫調節のほかに、食品を含む異物の代謝・排出という重要な機能を持っている。この機能が様々な食品成分によって制御されていることを、主として培養細胞実験系を用いて明らかにするとともに、制御の基盤となる食品成分—腸管細胞間相互作用の詳細を分子生物学的手法を用いて明らかにした。

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：解毒酵素、排出トランスポーター、腸管上皮、食品因子

1. 研究開始当初の背景・動機

解毒排出は、栄養素吸収、免疫応答と並んで消化管の持つ重要な機能であるが、それが食品成分によってどのように制御されているのかについての情報は限られていた。これを分子レベルで解析することは食の機能性・安全性の理解に役立つと考えた。

2. 研究の目的

腸管上皮細胞及び肝細胞を対象に、異物排出トランスポーターの調節機能を明らかにするとともに、第1相、第2相解毒代謝酵素との関連についても解析し、解毒酵素系と排出トランスポーター系がどのように連携しながら調節されているか、また調節因子として食品成分がどのように関わるのかを明らかにするのが目的である。

3. 研究の方法

腸管上皮細胞株を用いて、解毒排出に関わる解毒酵素、トランスポーターの mRNA レベル、タンパクレベル、活性レベルでの発現を分子細胞生物学的手法で解析するとともに、その調節に関わる生体分子（転写因子など）と外来因子（食品成分や、食品関連の有害物質）を探索し、その構造や機能を解析する。その目的で、DNA シークエンサーやクロマト装置を購入した。

4. 研究の主な成果

(1) 異物排出トランスポーターMDR1 の活性に影響を及ぼす新規食品因子として、ニガウリ抽出物中にモノパルミチンを同定した。この発見は、各種食品用乳化剤が腸管の異物排出または取り込みに及ぼす影響を探る研究に発展した。一方、食品中への混入が危惧されている内分泌かく乱物質トリブチルスズによって、MDR1 の発現上昇が誘導されることを発見した。MDR1 の調節には核内受容体 PXR が関わるという知見をもとに、PXR を介して MDR1 の発現に影響すると考えられる食品因子をレポーターアッセイ系を用いて探索した結果、フラボノイド（タンジェレチン等）やテルペノイド（ギンコライド等）を見出すことが出来た。これらは mRNA レベル、タンパク質レベル、活性レベルで MDR1 亢進作用を示すことを初めて明らかにした。

(2) ダイオキシンのような有害化学物質に応答して誘導される第1相解毒酵素 CYP1A1 の発現に影響する食品因子の探索を、肝細胞 HepG2 を用いたレポーターアッセイ系によって行い、フラボン、ガランギン、タンジェレチンなどのフラボノイドが転写因子 AhR を介してダイオキシン毒性を抑制することを示唆する結果を得た。また、第1相解毒酵素 CYP3A4 の発現がギンコライドによって強く誘導されることも見出された。

(3) フラボノイドやテルペノイド類が第2相解毒酵素系に及ぼす影響を UGT1A1 発現

を指標にして解析し、これらの食品因子がUGT1A1の発現をmRNAレベル、タンパク質レベル、及び活性レベルで上昇させることを認めた。また香気物質フムレンの研究から、解毒系と炎症系の間には何らかの相互作用があることを見出した。

さらに、腸管上皮細胞の分化の過程で起こる第2相解毒酵素 GSTP1 の発現が、ワサビ由来のイソチオシアネート (6-HITC) によって影響されること、その作用にはプロテアソーム阻害や転写因子 CDX-2 が関わるという新しい調節機構を明らかにした。

(4) 抗酸化物質である α -リポ酸が腸管上皮に発現している排出トランスポーターMRP-2、BCRPの発現をmRNAレベルで亢進すること、その発現調節には転写因子Nrf2が関与していることを明らかにした。

(5) CYP3A4(第1相解毒酵素)、UGT1A1(第2相解毒酵素)、MDR1(第3相解毒酵素=トランスポーター)の発現が食品成分によってどのような連携の下で制御されるのかを、転写因子との関わりの中で検討した。その結果、PXRリガンド様活性あるいはMDR1転写促進活性が見出された各種ポリフェノールやテルペノイドが解毒酵素系に及ぼす影響は単純ではなく、そこには多様な相互作用が存在することが示唆された。

(6) UGT1A1の発現を亢進した3種の食品因子がどのような転写因子を活性化するかをレポーターアッセイ系で調べた結果、バイカレインはPXR, AhR, Nrf2を、フラボノールとフムレンはPXRのみを活性化することを明らかにした。また、バイカレインやフラボノールがこれらの転写因子と直接結合し、その核内移行を誘導することを明確に示した。

(7) 機能性食品因子は消化管で酸化、還元、抱合化などを受けるが、カテコール環形成、シス化などの新規な修飾を受けることも見出した。またそれらの修飾反応が食品因子の機能性を増強させる例を多数見出した。消化管の解毒系は、食品の生理機能発現においても重要な役割を担っていることが明らかになった。

上記のように、腸管上皮細胞を中心にした実験系を用い、解毒代謝・排出系分子の発現や活性を制御する因子として、食品因子の重要性を示す実例を多数見出すことが出来た。また、食品因子の作用機構を分子レベルで解明することにも成功し、食品による生体調節機能のあり方についての、新しい概念を提示することが出来た。

5. 得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

本研究は「腸管での解毒排出機能」という生物にとって根源的に重要な機能を例にとって、食品成分による生体系制御の分子機構を明らかにしたもので、独創性や学術的な価値が高い。異物を認識する転写因子が腸管機能を制御するという本研究の知見は、国内外の会議等で大きな関心を持って迎えられている。生体による食分子認識は、今後の食品機能研究、食品安全性研究の主要なテーマと考えられており、本研究はその道筋を切り開いたものと考えている。

6. 主な発表論文

(研究代表者は太字、研究分担者には下線)

- 1) Satsu H, Hiura Y, Mochizuki K, Hamada M, **Shimizu M**. Activation of the Pregnane X Receptor and Induction of MDR1 by Dietary Phytochemicals. *J. Agric. Food Chem.* in press
- 2) Kusano Y, Horie S, Shibata T, Satsu H, **Shimizu M**, Hitomi E, Nishida M, Kurose H, Itoh K, Kobayashi A, Yamamoto M, Uchida K. Keap1 regulates the constitutive expression of GST A1 during differentiation of Caco-2 cells. *Biochemistry*, in press
- 3) Takaishi M, Yoshida K, Satsu H, **Shimizu M**. Transepithelial transport of α -lipoic acid across human intestinal Caco-2 cell monolayers. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 5253-5259 (2007)
- 4) Hamada M, Satsu H, Natsume Y, Nishiumi S, Fukuda I, Ashida H, **Shimizu M**, TCDD-induced CYP1A1 expression, an index of dioxin toxicity, is suppressed by flavonoids permeating the human intestinal Caco-2 cells monolayers. *J. Agric. Food Chem.* 54(23) 8891-8898 (2006)
- 5) Tsukazaki M, Satsu H, Konishi Y. and **Shimizu M.**, Effects of tributyltin on barrier functions in human intestinal Caco-2 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 315(4), 991-997 (2004)
- 6) Konishi T, Satsu H, Hatsugai Y, Aizawa K, Inakuma T, Nagata S, Sakuda S, Nagasawa H and **Shimizu M.**, Inhibitory effect of a bitter melon extract on the P-glycoprotein activity in human intestinal Caco-2 cells: Monoglyceride as an active compound. *Br. J. Pharmacol.*, 143, 379-387 (2004)

ホームページ等

<http://www.bt.a.u-tokyo.ac.jp/>