

## 分子疫学とケミカルバイオロジーを駆動力とする 食品因子感知システムの解明

Elucidation of Sensory Systems for Food Factors in View  
of Molecular Epidemiology and Chemical Biology

立花 宏文 (TACHIBANA HIROFUMI)

九州大学・大学院農学研究院・教授



### 研究の概要

生体が機能性食品因子を感知するための遺伝子（食品因子感知関連遺伝子）を同定するとともに食品因子の機能性発現機序との関係を解明した。食品因子摂取後の生体組織における食品因子ならびにその代謝物の *in situ* 質量分析イメージングに成功した。食品因子感知関連遺伝子の発現が、摂取する食品因子やその摂取方法によって調節が可能であることを明らかにした。

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：食品因子、分子疫学、感知分子、ケミカルバイオロジー

### 1. 研究開始当初の背景

我々の体は、さまざまな生体外シグナルに適切に応答しながら生体の恒常性を維持しており、病原細菌の侵入といった生体外シグナルは Toll 様受容体などによって分子認識され、自然免疫系が発動する。これに倣えば、機能性食品因子も生体内の標的分子に相互作用することで、生体恒常性の維持に影響を及ぼす生体シグナル因子と捉えることができる。しかしながら、機能性食品因子の感知機構は未解明の状態であった。

### 2. 研究の目的

機能性食品因子を生体調節シグナル因子として捉え、その生体内における感知システムを明らかにすることで食品因子の保健作用のメカニズムを明らかにするとともに分子疫学的手法により食品因子の感知システムをヒトレベルにおいて実証することが目的である。

### 3. 研究の方法

- (1) 機能性食品因子の感知メカニズムの解明  
機能性食品因子の生体内標的分子とその関連分子（機能性食品因子感知分子）を同定し、感知分子を介した食品因子の機能性発現機構を明らかにする。
- (2) 機能性食品因子の生理機能発現の生体内イメージング  
機能性食品因子がその感知分子にどのように分子認識されその作用が伝達されるのかを、

細胞や生体組織においてリアルタイムで可視化する技術を開発する。

- (3) 機能性食品因子のメタボロミクスと感知メカニズムの統合解析

機能性食品因子とその代謝物の時間・空間的な存在状態を解明する。

- (4) 機能性食品因子感知システムの分子疫学的検証

機能性食品因子感知分子の発現と、その発現に対する食・生活習慣の影響を介入試験やコホート調査において明らかにする。

### 4. これまでの成果

- (1) 代表的な機能性食品因子の一つである緑茶カテキン EGCG がその感知レセプターである 67LR に結合後どのように感知されるのか、その細胞内シグナル伝達機構を解析し、cGMP が EGCG センシングにおけるセカンドメッセンジャーとしての役割を担っていることを明らかにした。また、EGCG のがん細胞致死作用の誘導メカニズムに基づいた、従来の抗がん剤とは全く異なるコンセプトのがん治療法を発見した（本成果は掲載誌 J. Clin. Invest. の表紙に採択された）。一方、遺伝子断片ライブラリーを用いた表現型スクリーニングから、大豆イソフラボン（ダイゼイン、イコール）、共役リノール酸（10*t*, 12*c*-CLA）ならびにトコトリエノールの機能性発現に関与する感知関連遺伝子を同定することに成功した。

(2) EGCG の各水酸基をメトキシ基に置換した EGCG ライブラリーを作製し、これら EGCG 誘導体のがん細胞増殖抑制作用ならびに EGCG 感知レセプター-67LR 依存性のシグナリング誘導能から、5 位ならびに 7 位の水酸基が EGCG の活性発現に関与していないことを見出した。また、EGCG の活性に関与しないこれら水酸基にリンカーを介して蛍光物質を付加することで、EGCG 感知レセプター陰性の細胞には結合せず、感知レセプター陽性細胞にのみ特異的に結合する蛍光標識化 EGCG の作製に成功した。

(3) 非標識で低分子化合物を可視化できるマトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析イメージング法 (MALDI-MSI) を開発し、これまで追跡不可能であった 緑茶カテキン EGCG の組織内微小領域における分布情報の可視化を試み、低分子化合物の可視化で汎用されるマトリックスを含む 41 種類の化合物の中で、naphthalene 誘導体のみが EGCG を組織切片上で可視化できることを見出した。また、この naphthalene 誘導体を用い、EGCG を経口投与したマウスの肝臓と腎臓において EGCG ならびに EGCG 代謝物 (グルクロン酸抱合体および硫酸抱合体) を同時に *in situ* イメージングすることに世界に先駆けて成功した。また、この手法を用いて他のカテキン類、アントシアニン類、大豆イソフラボン類の質量分析イメージングが可能であることを示した。

(4) 個人の生活習慣や生体パラメータ (血中脂質レベル、酸化ストレスマーカーレベルなど) とその発現量に相関のある食品因子感知関連遺伝子が存在することを明らかにした。また、緑茶の摂取形態、緑茶と併せて摂取する食品因子、緑茶の摂取制限、摂取する緑茶の品種が緑茶カテキン EGCG の感知システムに関与する 67LR、eEF1a、MYPT1 の各遺伝子発現量に影響を与えることを発見した。

## 5. 今後の計画

緑茶カテキン、大豆イソフラボン、共役リノール酸、トコトリエノールといった食品因子の機能性発現において、これまでに同定した感知関連遺伝子がどのように関与するのかを明らかにし、食品因子の機能性発現機構の分子的基盤を確立する。また、ポリフェノール性食品因子の可視化に成功した質量分析イメージング法を活用し、他の機能性食品因子を生体組織内で質量分析イメージングする手法を確立する。さらに、食品因子の感知と機能性発現に関与する遺伝子発現に対する食事、生体パラメータ、生活習慣の影響を介入試験および健康寿命の長い地域 (静岡県) のコホートから得られたヒト血液サンプルの解析に基づき明らかにする。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

1) Kumazoe, M., Sugihara, K., Tsukamoto, S., Huang, Y., Tsurudome, Y., Suzuki, T., Suemasu, Y., Ueda, N., Yamashita, S., Kim, Y.-H., Yamada, K., and Tachibana, H. 67-kDa laminin receptor increases cGMP to induce cancer-selective apoptosis.

*J. Clin. Invest.*, 123, 787-799 (2013).

2) Tsukamoto, S., Yamashita, S., Kim, Y.H., Kumazoe, M., Huang, Y., Yamada, K., and Tachibana, H. Oxygen partial pressure modulates 67-kDa laminin receptor expression, leading to altered activity of the green tea polyphenol, EGCG.

*FEBS Lett.*, 586, 3441-3447 (2012).

3) Tsukamoto, S., Hirotsu, K., Kumazoe, M., Goto, Y., Sugihara, K., Suda, T., Tsurudome, Y., Suzuki, T., Yamashita, S., Kim, Y., Huang, Y., Yamada, K., and Tachibana, H. Green tea polyphenol EGCG induces lipid raft clustering and apoptotic cell death by activating protein kinase C $\delta$  and acid sphingomyelinase through 67-kDa laminin receptor in multiple myeloma cells.

*Biochem. J.*, 443, 525-534 (2012).

4) Fujimura, Y., Sumida, M., Sugihara, K., Tsukamoto, S., Yamada, K., and Tachibana, H.

Green tea polyphenol EGCG sensing motif on the 67-kDa laminin receptor.

*PLoS ONE*, e37942, 7(5) (2012).

5) Byun, E.-H., Omura, T., Yamada, K., and Tachibana, H.

Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate inhibits TLR2 signaling induced by peptidoglycan through the polyphenol sensing molecule 67-kDa laminin receptor.

*FEBS Lett.*, 585, 814-820 (2011).

## 立花宏文

・日本農芸化学会トピックス賞 (2013) 「質量分析イメージング法による緑茶カテキンおよびその代謝物の生体組織内布情報の非標識可視化」

・日本農芸化学会トピックス賞 (2013) 「蛍光プローブ化緑茶カテキン EGCG を用いたがん細胞の特異的可視化」

・O-CHA パイオニア賞学術研究大賞 (2012) 「緑茶の生活習慣病予防研究に関する取り組み」

・日本食品免疫学会賞 (2010)

ホームページ等

<http://www.agr.kyushu-u.ac.jp/biosci-biotech/syokuryo/>