

大学共同利用機関法人 自然科学研究機構 研究会 （生理学研究所）
宿主防御機構としての上皮膜機能の調節因子

日時 2006 年 1 月 30 日 13 : 00- 31 日 12 : 00

場所 生理学研究所 一階 会議室

プログラムおよび要旨集

Session I (13:00 - 14:30)

座長 高橋信之 先生

1) 蝸牛内直流電位の発生に対する Ca^{2+} の役割

森 禎章¹、二村吉継²、乾 崇樹²、竹中 洋²、窪田隆裕¹ (¹大阪医科大学生理学教室、²同耳鼻咽喉科学教室)

2) 胃粘膜修復におけるイオントランスポーターの役割

中村英志^{1, 2, 3}、林 周作¹、遠藤拓也¹、久保儀和¹、Susan J Hagen³、竹内孝治 (京都薬科大学薬物治療学教室¹、横浜市大大学院医学研究科臓器再生医学² Dept. of Surgery, Beth Israel Deaconess Medical Center, Harvard Medical School³)

3) 顎下腺腺房細胞における振動性 Cl^- 分泌の律速過程を支配する NKCC 活性

杉田 誠、 広野 力、 柴 芳樹 (広島大学大学院医歯薬学総合研究科・創生医科学専攻・病態探究医学講座 (口腔生理学))

Session II (14:45 - 15:45)

座長 杉田 誠 先生

4) 高浸透圧条件下における上皮細胞の調節性細胞容積増大機構の解析

高橋信之、M V. V. Subramanyam、岡田泰伸 (自然科学研究機構 生理学研究所 機能協関部門)

5) 熱ショック応答と上皮系感覚器の維持

高木栄一、藤本充章、林田直樹、井上幸江、中井 彰 (山口大学大学院医学系研究科生体シグナル解析医学講座)

Session III (16:00 - 17:30)

座長 窪田隆裕 先生

6) 食塩感受性高血圧症とアルドステロンによる上皮型ナトリウムチャネル発現の異常制御

新里直美、青井渉、丸中良典 (京都府立医科大学大学院 生理機能制御学)

7) 腎尿細管上皮細胞管腔側における有機アニオントランスポーター OATs 機能発現の分子基盤: PDZ タンパク質の役割

安西尚彦¹、遠藤 仁^{1, 2} (¹杏林大学医学部薬理学教室、²株富士バイオメディックス)

8) Proteinase-activated receptor-1 活性化ペプチドのマウス盲腸壁内神経活性化

鈴木裕一、池原修 (静岡県立大学大学院生活健康科学研究科)

Session IV (8:45 - 10:15)

座長 室田佳恵子 先生

9) *Helicobacter pylori* 菌体毒素 CagA による胃粘膜上皮内活性酸素産生

半田 修¹、内藤裕二²、石井剛志³、高木智久¹、古倉 聡¹、吉田憲正⁴、吉川敏一³ (京都府立医科大学 生体安全医学講座¹、生体機能分析医学講座²、京都府立医科大学大学院生体機能制御学³、大学院消化器病態制御学⁴)

10) モルモット胃幽門腺粘膜における COX-1 と COX-2 の役割：プロスタグランジン E₂ (PGE₂) 放出

中張隆司 (大阪医科大学 生理学教室)

11) アラキドン酸カスケードの制御によるがん予防

西野輔翼 (京都府立医科大学大学院・医学研究科・分子生化学)

Session V (10:30 - 12:00)

座長 丸中良典 先生

12) 炎症組織特異的な脱抱合酵素誘導について

大井直美、橋本堂史、後藤美保、金沢和樹 (神戸大学大学院・自然科学研究科)

13) 骨シアロタンパク質遺伝子の発現に対するケルセチンの影響

金 東淳、小方 頼昌 (日本大学松戸歯学部歯周治療学講座)

14) ヒト小腸 Caco-2 細胞への吸収代謝におけるフラボノイドの構造特異性

室田佳恵子、吉田修治、清水寿美恵、寺尾純二 (徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部食品機能学分野)

1) 蝸牛内直流電位の発生に対する Ca^{2+} の役割

¹大阪医科大学生理学教室、²同耳鼻咽喉科学教室

森 禎章¹、二村吉継²、乾 崇樹²、竹中 洋²、窪田隆裕¹

目的: 蝸牛内リンパ腔の約+80mV の電位 (EP) は血管条上皮細胞で作られており、音の振動を電気変換する際に重要な役割を果たしている。本研究では Ca^{2+} キレート剤、 Ca^{2+} チャネル阻害剤および賦活剤を用いて、EP の発生に対する Ca^{2+} の役割を検討した。

方法: 動物はモルモットを使用した。イオン選択性電極と KCl 電極を用いて、内リンパ腔または外リンパ腔に薬剤を投与した時の EP と内リンパ液 Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}]_e$) を測定した。

結果: 一過性の無呼吸負荷や CO_2 -free 溶液の外リンパ灌流にて、EP 低下と ($[\text{Ca}]_e$) の上昇が認められた。EGTA-AM (300 μM) 溶液や Ca^{2+} チャネル阻害剤のニフェジピン (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) を内リンパ腔に投与すると EP は軽度上昇し、一過性無呼吸負荷による EP の低下は 40-60%抑制された。逆に、高濃度の EGTA-AM ($\sim 1 \text{ mM}$) 投与では EP は低下した。さらに、 Ca^{2+} チャネル賦活剤の Bay K 8644 (10 μM) を内リンパ腔に投与すると緩やかに EP が低下した。一方、EGTA-AM やニフェジピンの外リンパ腔投与では、一過性無呼吸負荷による EP 低下は抑制されなかった。結論: EP の形成と維持には、内リンパ腔に面した細胞の細胞内 Ca^{2+} 濃度を適切に保つことが重要である。

2) 胃粘膜修復におけるイオントランスポーターの役割

京都薬科大学薬物治療学教室¹

横浜市大大学院医学研究科臓器再生医学²

Dept. of Surgery, Beth Israel Deaconess Medical Center, Harvard Medical School³

中村英志^{1, 2, 3}、林 周作¹、遠藤拓也¹、久保儀和¹、Susan J Hagen³、竹内孝治

¹

【目的】胃粘膜傷害の修復過程において、上皮細胞の遊走は重要であるが、この遊走を制御するイオントランスポーターの詳細については不明である。そこで関与するイオントランスポーターについて薬理学的に解析した。

【方法】ラット胃上皮細胞株 RGM1 をプレートにシードし、コンフルエントになった各 well の中央に円形の損傷を作製し、0、4 および 8 時間後における損傷面積の変化を測定した。また、RT-PCR 法により、イオントランスポーターの mRNA 発現を検討した。

【結果】生理的バッファー条件下において、RGM1 に惹起した損傷面積は経時的に縮小した。Monocarboxylate transporter (MCT) の阻害薬である phloretin (30–100 μ M)、並びに DIDS (10–300 μ M) は損傷面積の縮小を濃度依存的に抑制した。RGM1 は MCT サブタイプの中でも MCT1 を強く発現していた。

【結論】損傷の修復過程における胃粘膜上皮細胞の遊走には MCT1 が大きく関与していることが示唆された。

3) 顎下腺腺房細胞における振動性 Cl^- 分泌の律速過程を支配するNKCC活性

広島大学大学院医歯薬学総合研究科・創生医科学専攻・病態探究医科学講座（口腔生理学）

杉田 誠、 広野 力、 柴 芳樹

顎下腺腺房細胞では副交感神経刺激により細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇し、水分泌が引き起こされる。基底側方膜に存在する $\text{Na}^+-\text{K}^+-2\text{Cl}^-$ 共輸送体や $\text{Cl}^--\text{HCO}_3^-$ 交換体により、細胞内に輸送された Cl^- が Ca^{2+} 依存性 Cl^- チャンネルを介して腺腔側に分泌されることがその水分泌の引き金となる。しかし、 Cl^- 分泌量を決定するのは腺腔側の Cl^- チャンネル活性であるのか、 $\text{Na}^+-\text{K}^+-2\text{Cl}^-$ 共輸送体や $\text{Cl}^--\text{HCO}_3^-$ 交換体の活性であるか不明である。本研究ではグラミシジン穿孔パッチクランプ法を適用し、 Ca^{2+} 依存性の Cl^- 分泌の律速過程を支配する分子活性を明らかにすることを目的とする。グラミシジン穿孔パッチクランプ法では、細胞内の Cl^- を含むアニオン濃度は、細胞膜に発現するチャンネルおよび輸送体により調節され、生理的組成に近い状態で維持される。顎下腺腺房細胞において、グラミシジン穿孔パッチクランプ法により観察される Ca^{2+} 依存性の振動性 Cl^- 電流は、 $\text{Na}^+-\text{K}^+-2\text{Cl}^-$ 共輸送体の阻害剤である Bumetanide により顕著に抑制された。また $\text{Na}^+-\text{K}^+-2\text{Cl}^-$ 共輸送体活性を増強する Genistein は Ca^{2+} 依存性 Cl^- 電流量を増大させた。顎下腺腺房細胞では、 $\text{Na}^+-\text{K}^+-2\text{Cl}^-$ 共輸送体活性が副交感神経性刺激による Ca^{2+} 依存性の振動性 Cl^- 分泌の律速過程を支配することが示唆された。

4) 高浸透圧条件下における上皮細胞の調節性細胞容積増大機構の解析

自然科学研究機構 生理学研究所 機能協関部門

高橋信之、M. V. V. Subramanyam、岡田泰伸

上皮細胞は、様々な細胞外高浸透圧ストレスにさらされている。それにも関わらず、それらは常にほぼ一定の細胞容積を維持している。これは、細胞外高浸透圧条件下での容積縮小後に、NaCl 取込とそれに伴う水の流入による調節性細胞容積増大 (regulatory volume increase: RVI) と呼ばれる容積調節能を上皮細胞が持っていることによる。そこで「細胞外高浸透圧刺激がどのようにして RVI が起こるのか」を明らかにする目的で次のような実験を行った。ヒト上皮 HeLa 細胞には様々なイオントランスポーターが発現しているが、高浸透圧条件下における RVI は、 Na^+/H^+ exchanger (NHE) の阻害剤および $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ exchanger (anion exchanger: AE) の阻害剤によって阻害された。他のトランスポーター阻害剤では抑制が見られなかったため、HeLa 細胞の RVI は NHE と AE が関与する NaCl の取込によるものであると考えられた。Amiloride と DIDS の共添加で HeLa 細胞の RVI はほぼ完全に抑制され、その結果、細胞縮小が長時間持続されれば、さらにカスパーゼ 3 の活性化が検出され、アポトーシスが誘導された。RVI 誘導のシグナル伝達系を解析する目的で各種リン酸化酵素阻害剤を添加したところ、Akt (PKB) の阻害剤で RVI が抑制された。高浸透圧条件下で Akt はリン酸化されており、活性化されていることから、HeLa 細胞での RVI は、高浸透圧条件により活性化された Akt が NHE/AE を介した NaCl 取込を促進させて達成されることが示唆された。

5) 熱ショック応答と上皮系感覚器の維持

山口大学大学院医学系研究科生体シグナル解析医学講座

高木栄一、藤本充章、林田直樹、井上幸江、中井 彰

熱ショック転写因子群(HSFs)は、一群の熱ショック蛋白質の発現を制御する転写因子群である。動物細胞は HSF1、HSF2、そして HSF4 の少なくとも3つの HSF 遺伝子産物を発現している。これまでに、熱ショック応答に必須の HSF1、そして HSF2 がともに生殖臓器の形成や脳形成に必須であることが明らかにされているが、その分子機構がストレスと関連したものであるのかについてまったく明らかにされていない。我々は、HSF1 と HSF4 の遺伝子欠損マウスを作成し、それらの個体レベルでの生理機能を明らかにしてきた。HSF4 遺伝子欠損マウスの解析から、HSF4 はレンズの維持に必須であり、発生時期特異的に分子シャペロンの発現誘導と維持、ならびにレンズ上皮細胞の増殖と分化を制御することが明らかになった。さらに、上皮系感覚臓器を調べたところ、HSF1 が嗅神経上皮の維持に必須であることがわかった。やはり、HSF1 は発生時期特異的に分子シャペロンの発現を誘導し、同時に細胞の増殖分化因子を制御していた。感覚器のなかでもレンズと嗅上皮は発生学的に密接に関連している。これらの研究により、熱ショック転写因子群が、上皮細胞から形成されるプラコードに由来する2つの感覚器の形成に関与していること、そしてそれらの器官の維持がストレスと関連したものであることが明らかとなった。

6) 食塩感受性高血圧症とアルドステロンによる上皮型ナトリウムチャンネル発現の異常制御

京都府立医科大学大学院 生理機能制御学
新里直美、青井渉、丸中良典

正常人では、高食塩食を摂取してもアルドステロンの分泌を抑制してナトリウムを排泄し、高血圧症を引き起こさないよう恒常性が維持されている。この恒常性維持には、腎臓の遠位尿細管／皮質集合管での上皮型ナトリウムチャンネル (ENaC) を介するナトリウム再吸収が重要な役割を担っていることが知られている。しかし、食塩感受性高血圧症患者では、このような恒常性維持が破綻し、血圧が上昇すると考えられる。このメカニズムを解明するために、食塩感受性高血圧症モデル動物の Dahl salt-sensitive (DS) と Dahl salt-resistant (DR) ラット を用いてアルドステロンによる ENaC の発現制御について検討した。ラットは副腎を摘出した後に、アルドステロンを腹腔内に注入し、6 時間後に腎臓を摘出して ENaC の発現やその発現制御に関わる因子の活性を測定した。その結果、DS ラットにおいて ENaC の alpha サブユニットはアルドステロンの増大に伴って発現が増大したが、beta と gamma サブユニットは発現が減少し、血漿アルドステロン濃度と逆相関した。以上のことから、アルドステロンによる ENaC の発現制御異常が食塩感受性高血圧症発症の一因であることが示唆された。

7) 腎尿細管上皮細胞管腔側における有機アニオントランスポーター OATs 機能発現の分子基盤：PDZ タンパク質の役割

¹杏林大学医学部薬理学教室、²(株)富士バイオメディックス

安西尚彦¹、遠藤 仁^{1,2}

SLC22 に分類される有機アニオントランスポーター OATs は主として腎尿細管に存在し、薬物や毒素などの生体異物の解毒・排泄に関与するだけでなく、ラジカルスカベンジャー作用を持つ尿酸などの内因性物質の再吸収等を介して生体の防御に重要な役割を果たしている。近年腎尿細管上皮細胞頂上膜（管腔側）に存在するトランスポーターは、その細胞内 C 末端の PDZ モチーフを介し、NHERF family と呼ばれるタンパク質と結合して、PDZ ネットワーク上に存在し、機能を発現させることが報告されている (Anzai et al., *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2005)。我々の同定した OATs である尿酸トランスポーター URAT1 及び有機アニオントランスポーター OAT4 も、酵母ツーハイブリッド法を用いた解析により、PDZ タンパク質と結合することが明らかになり、その結合が細胞膜上発現を安定化・増加させ、輸送活性の増加につながることを報告した (Anzai et al., *J Biol Chem*, 2004; Miyazaki et al., *J Am Soc Nephrol*, 2005)。その後有機アニオン輸送に関与する他の分子も PDZ タンパク質と結合することが明らかになり、PDZ ネットワークを介して形成された分子複合体が一機能ユニットとして腎臓における有機アニオン輸送に関与するという可能性が示唆された。

8) Proteinase-activated receptor-1 活性化ペプチドのマウス盲腸壁内神経活性化

静岡県立大学大学院生活健康科学研究科
鈴木裕一、池原修

Proteinase-activated receptor (PAR) は生体に広く分布し、様々な protease により活性化され、炎症反応を始め多くの生体調節にかかわっている。PAR はタイプ 1 から 4 まで知られているが、本研究はタイプ 1 の PAR を活性化するペプチド、PAR1-AP を用い、マウス盲腸粘膜下神経に対する効果を検討した。Ussing chamber を用い短絡電流 (Isc) 測定を行ったところ、PAR1-AP の漿膜側投与は TTX 感受性の Isc の上昇を引き起こした。この上昇に対する阻害剤の効果を検討した結果、粘膜下神経に PAR1 受容体が存在し、その活性化により主として tachykinergic neuron を介した CI 分泌が引き起こされること、また cholinergic neuron も一部関与すること、さらに、ヒスタミン、アラキドン酸カスケードの活性化も起こすこと、が示唆された。PAR1 は thrombin で活性化されることが知られているので、この効果は腸組織の炎症反応（血漿成分の浸出）に伴う腸液分泌亢進反応に関与していると考えられる。

9) *Helicobacter pylori* 菌体毒素 CagA による胃粘膜上皮内活性酸素産生

京都府立医科大学生体安全医学講座¹、生体機能分析医学講座²、京都府立医科大学大学院生体機能制御学³、大学院消化器病態制御学⁴

半田 修¹、内藤裕二²、石井剛志³、高木智久¹、古倉 聡¹、吉田憲正⁴、
吉川敏一³

Helicobacter pylori (*H. pylori*) 特に CagA 陽性菌株の感染は萎縮性胃炎や胃癌の危険因子である。しかし CagA による胃粘膜上皮細胞応答に関しては未だ不明な点が多い。今回我々は CagA が胃上皮細胞の活性酸素産生に及ぼす影響について *in vitro* で検討をおこなった。ラット胃粘膜上皮由来の RGM1 細胞に *cagA* 遺伝子をテトラサイクリン制御下 (Tet-off system) に発現させ、細胞内 CagA 発現、活性酸素産生、NFκB 活性化などにつき検討を行った。Non-transfected RGM1 と Mock では Tetracyclin の有無にかかわらず CagA 発現は認めず、活性酸素産生、NFκB 活性化も認めなかった。CagA transfected RGM1 では Tet-off により CagA 発現を認め、活性酸素産生、NFκB 活性化を認めた。蛍光色素を用いた検討では CagA の発現により主にミトコンドリアから活性酸素産生がおこっていることが推測された。

10) モルモット胃幽門腺粘膜における COX-1 と COX-2 の役割：プロスタグランジン E₂ (PGE₂) 放出

大阪医科大学 生理学教室

中張隆司

モルモット胃幽門粘膜におけるプロスタグランジン E₂ (PGE₂) 放出について検討した。胃幽門粘膜は非刺激時に PGE₂ を放出していた (基礎放出)。Acetylcholine (ACh) はこの PGE₂ 放出を $[Ca^{2+}]_i$ の上昇を介して約 3 倍に増加させた (ACh 刺激性放出)。PGE₂ 放出はアラキドン酸により増加し、PLA₂ 阻害剤、COX 阻害剤 (aspirin and indomethacin) により抑制された。COX-1 阻害剤 (SC560, 100nM) は基礎 PGE₂ 放出は抑制しなかったが、ACh 刺激性 PGE₂ 放出は抑制した。反対に COX-2 阻害剤 (NS398, 20 μM) は基礎 PGE₂ 放出を抑制したが、ACh 刺激性 PGE₂ 放出は抑制しなかった。さらに単離幽門上皮細胞では COX-1 阻害剤のみが PGE₂ 放出を阻害し、COX-2 阻害剤による抑制は認められなかった。これらの結果は基礎 PGE₂ 放出は間質細胞の COX-2 により維持されており、ACh 刺激性 PGE₂ 放出は粘膜上皮細胞の COX-1 により維持されていることを示している。本研究の結果から、胃幽門粘膜では、間質細胞の COX-2 により産生された PGE₂ により粘膜の恒常性が維持され、上皮細胞の COX-1 により産生された PGE₂ により粘膜分泌の autocrine mechanism が維持されていることが明らかになった。

11) アラキドン酸カスケードの制御によるがん予防

京都府立医科大学大学院・医学研究科・分子生化学

西野輔翼

宿主防御機構として上皮膜のリン脂質から供給されるアラキドン酸の代謝産物が重要な役割を果たしているが、その過剰産生は逆にがん等の疾患の原因となることが明らかとなっている。そこで、アラキドン酸カスケードを進行させるホスホリパーゼ A2 (PLaseA2)、シクロオキシゲナーゼ (COX)、リポキシゲナーゼ (LOX) 等の過剰亢進を抑制することによってがん予防を行う戦略が提案され、多彩な研究が進められてきた。

たとえば、大腸発がん過程においては、COX が重要な役割を果たしていることが知られている。そして COX 阻害作用を示すアスピリン投与によって大腸がんの発生が抑制されることを示唆する結果がヒトを対象とした研究によって得られたことをきっかけとして、実用化へ向けた試みが展開されるようになった。現時点では合成薬剤を用いた研究が先行しているが、天然化合物の応用も今後の課題である。そこで、甘草やラッキョウなどに含まれている天然フラボノイドの一種であるイソリクイリチゲニン（抗炎症作用を示し、皮膚発がんを抑制することが以前に報告されていることに加えて、最近になって前立腺がんの増殖抑制効果を示すことも明らかとなっている）を取り上げて検討した。その結果、アゾキシメタン (AOM) で誘導される大腸前がん病変および大腸がんの発生が抑制され、また誘導型 COX (COX-2) の発現亢進が抑制されることも明らかとなった。

イソリクイリチゲニンは肺発がんを抑制することも確認しているので、がん予防に極めて有望な天然化合物と考えられる。

12) 炎症組織特異的な脱抱合酵素誘導について

神戸大学大学院・自然科学研究科

大井直美、橋本堂史、後藤美保、金沢和樹

フラボノイドは抗酸化能や抗炎症活性などを有すると報告されているが、生体内ではその水酸基の一部がグルクロン酸あるいは硫酸抱合された形態で血流を循環している。抱合体は体細胞内には取込まれず、タンパク質にも作用しないので、生理活性はない。しかし下位らの報告によると、リポポリサッカライドなどで炎症を誘発した場合に、脱抱合酵素の β -グルクロニダーゼ活性が上昇する。したがって、生体異物であるフラボノイドは、生体が健常な場合は生理活性を示さない抱合体として循環して尿に排泄されるが、炎症組織が存在すると脱抱合されてその炎症修復に機能する可能性が高いと考えられる。本報告では、これを証明するために、ラットにジエチルニトロソアミンとフェノバルビタールで肝臓特異的に前がん病変を誘導し、 β -グルクロニダーゼ活性と、フラボノイドの脱抱合を測定した。 β -グルクロニダーゼ活性は、前がん病変を誘導した肝臓で特異的に、対照群の 452.3 ± 31.7 nmol/mg protein/h から 624.3 ± 97.0 nmol に有意に上昇していた。この活性上昇は、腎、心、脾臓、胸腺、血漿など他の臓組織では観察されなかった。また、肝臓では、ケルセチンの抱合体量が減少し、アグリコン量が対照群の 69.9 ± 8.1 nmols/g から、前がん病変群 149.5 ± 60.5 nmols/g に有意に増加していた。一方、前がん病変誘導と同時にケルセチンを連続経口投与したときには、GST-P 陽性細胞巢の発生数が75%に抑制された。前がん病変形成組織は特異的に β -グルクロニダーゼ活性を上昇させ、血中のケルセチン抱合体を脱抱合して病変組織にアグリコンとして取込んでいると考えられた。

13) 骨シアロタンパク質遺伝子の発現に対するケルセチンの影響

日本大学松戸歯学部歯周治療学講座

金 東淳, 小方 頼昌

骨シアロタンパク質 (BSP) は石灰化組織特異的に発現し, アパタイト結晶形成能を有することから, 初期の石灰化における役割が注目されている。ケルセチンはフラボノイドの 1 種で, 骨代謝に対する効果が報告されているが, その機序は明らかではない。そこで今回我々は, BSP の転写に対するケルセチンの効果に関して検索を行った。

ラット骨芽細胞様細胞 (ROS17/2.8) に 5 μ M のケルセチンを作用させ, BSP mRNA 発現に対する影響をノーザンブロット法にて検索を行った結果, 12 時間刺激後に BSP mRNA 量は増加した。BSP プロモーターを挿入したルシフェラーゼプラスミドを上記細胞に導入し, BSP の転写活性に対するケルセチンの効果を検索した結果, 転写開始点よりも-116 塩基対上流までの BSP プロモーター配列を含むコンストラクトにおいて, 転写活性の上昇が認められた。プロモーター配列と核内タンパク質との結合をゲルシフトアッセイにて検索した結果, cAMP 応答配列, FGF2 応答配列およびホメオボックス応答配列への核内タンパク質の結合量がケルセチン刺激後に上昇した。以上の結果は, 以前に我々が報告したイソフラボンの結果と異なることから, その差異に関して今後検討の予定である。

14) ヒト小腸 Caco-2 細胞への吸収代謝におけるフラボノイドの構造特異性

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部食品機能学分野

室田佳恵子、吉田修治、清水寿美恵、寺尾純二

植物性食品中に広く存在するフラボノイドは主に小腸において吸収され、腸管細胞内で解毒代謝を受けグルクロン酸／硫酸抱合体として体内へと輸送される。本研究では、ヒト結腸ガン由来ながら小腸吸収細胞のモデルとして汎用されている Caco-2 細胞を用いて、異なる構造をもつフラボノイドの腸管吸収と代謝を比較し、その構造の違いによる特性について検討した。

代表的なフラボノール型フラボノイドであるケルセチンは、Caco-2 細胞内でグルクロン酸／硫酸抱合化やメチル化を受けた代謝物として刷子縁側から排出される一方で、基底膜側への輸送、すなわち吸収がおこる。この特徴はフラボン／フラボノール型の分子種に共通してみられたが、イソフラボノイドでは細胞内代謝を受けていないアグリコンが基底膜側へ輸送される割合が高かった。そこで、フラボノイド類とイソフラボノイド類を同時に細胞に添加し、吸収代謝に与える影響を調べたところ、フラボノイドの共存によりイソフラボノイドアグリコンの吸収量が増加した。またフラボノイド同士の同時添加は総吸収量を増加させる一方、イソフラボノイド同士の同時添加は代謝物生成を抑制しアグリコンの吸収量を増加させることが示唆された。

以上の結果より、Caco-2 細胞内の第二相解毒酵素群はイソフラボノイド型分子よりフラボノイド型分子を好んで代謝することが推定された。