HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	慢性炎症疾患の予防基盤となるカロテノイドおよびアポカロテノイドの細胞機能調節作用に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	高谷, 直己
Citation	北海道大学. 博士(水産科学) 甲第14329号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/81867
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Naoki_Takatani_abstract.pdf (論文内容の要旨)

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（水産科学）　　氏名：高　谷　直　己

学 位 論 文 題 目

慢性炎症疾患の予防基盤となる
カロテノイドおよびアポカロテノイドの細胞機能調節作用に関する研究

近年、がんや生活習慣病に代表される非感染性疾患(non-communicable diseases, NCD)は世界の死因の 70%以上を占めており、医学・保健衛生上の解決すべき重要課題に位置付けられる。しかしながら、NCD の病態について依然不明な点が多いことに加え、自覚症状がないまま病態が進行して臨床的な症状が顕性化したときには重症化していることも稀ではない。そのため、発症予防が第一義的に重要となる。それには運動習慣や健康的な食事が不可欠であり、日々の食事から摂取される食品因子によって NCD 発症予防に繋げることができればその意義は大きい。一方、NCD の発症・進行基盤として「慢性炎症」が注目されている。慢性炎症とは組織において低レベルの炎症反応が長期間持続・遷延化している状態を指し、組織浸潤したマクロファージなどの免疫細胞と実質細胞間の相互作用を介して組織機能不全が生じる。本研究では、慢性炎症を制御するための食品因子として、多様な健康機能性が報告されているカロテノイドに着目した。

カロテノイドを摂取した動物の生体組織中には、様々な修飾を受けたカロテノイド代謝物が認められる。また近年、哺乳類においてカロテノイド分子中のポリエン鎖中央部位(C-15,15’位)を切断する β-carotene 15, 15’-oxigenase に加えて、C-9’,10’位を切断する β-carotene 9’, 10’-oxigenase が新たに同定された。さらに最近、血中などの生体組織において多様なカロテノイド開裂物(アポカロテノイド)が見出されるとともに、生鮮および加工食品中にもアポカロテノイドが含まれることが明らかとなっている。このように、アポカロテノイドの代謝に関わる酵素や分布に関する理解が少しずつ進む一方で、その生理的役割に関する研究はほとんど見られない。カロテノイドによる真の生理作用メカニズムを理解するためには、アポカロテノイドをはじめとした代謝物の観点からの研究も必要であると考える。そこで本研究では、慢性炎症疾患に対するカロテノイドの発症予防効果を調べるとともに、アポカロテノイドによる炎症制御機能をはじめとした生物活性について明らかにすることを目的とした。

第 1 章では、世界的に増加の一途にある非アルコール性脂肪肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis, NASH)に着目した。NASH は肝硬変や肝がんの発症基盤病態と考えられており、前段階である脂肪肝や NASH の抑制が臨床的に重要である。肝臓での炎症に加えて線維化を伴う NASH に対する、海洋性カロテノイドであるフコキサンチン(Fx)の発症予防作用を検討するため、コリン欠乏メチオニン減量食による食餌誘導性 NASH モデルマウスを用いて評価を行った。健常タイプ C57BL/6J 雄性マウスにおいて、NASH 食によって誘導される肝臓障害をはじめ肝脂肪化や肝酸化ストレスは Fx 摂取により大きく低減した。さらに、NASH 肝で見られる肝臓での炎症や免疫細胞の浸潤亢進は Fx 摂取により抑制された。また、Fx 摂取群では肝硬変の初期段階である肝臓組織中の線維化関連因子の発現増加および肝星細胞の活性化が大きく減弱した。一方、Fx 摂取したマウス肝臓組織中に蓄積が認められたフコキサンチノール、アマロウシアキサンチン A、そして Fx 由来アポカロテノイド

であるパラセントロンは、培養肝細胞およびマクロファージにおける脂質蓄積や炎症に対して阻害作用を示すことが明らかとなった。以上より、経口摂取された Fx は生体内にて種々の代謝物に変換され、これらが活性本体として NASH の発症に対して抑制的に作用する機序が推察される。

第 2 章では、Fx 由来アポカロテノイド(アポフコキサンチノイド)による新たな生物活性として、生体防御に関わる抗酸化酵素の発現とその制御因子 nuclear factor, erythroid derived 2, like 2 (Nrf2)活性化に与える影響について調べた。分子内にエポキシドを持つ apo-fucoxanthinal をマウスマクロファージ様 RAW264.7 細胞に処置したところ、heme oxygenase-1 をはじめとした抗酸化酵素の mRNA 発現の促進とともに、その発現制御に関わる転写因子 Nrf2 タンパク質の核内移行の増加を認めた。Nrf2 活性化を阻害する *N*-アセチルシステイン(NAC)存在下ではこれらの作用が消失したことから、apo-fucoxanthinal による抗酸化酵素発現誘導の機序として Nrf2 の翻訳後制御を介することが推察された。さらに、NAC 存在下では RAW264.7 細胞に対する apo-fucoxanthinal の炎症抑制能がキャンセルされたことから、本アポカロテノイドによる抗炎症作用に Nrf2 が関与することが示唆された。近年、Nrf2 の活性化により慢性炎症疾患の治療や予防に繋がる可能性が示されている。アポフコキサンチノイドの生体内分布と組織中 Nrf2 の活性化との関連を明らかにすることで、抗肥満や抗炎症作用などをはじめとする Fx の多様な生理作用に関する本質の理解に繋がることが期待される。

第 3 章では、自然界に最も豊富なカロテノイドである β-カロテンに着目した。β-カロテン由来アポカロテノイド(β-アポカロテノイド)について、発生や視覚に極めて重要なレチノイドに関する研究は進んでいるものの、その他の β-アポカロテノイドの生物活性に関する報告は少ない。β-カロテンを過マンガン酸カリウム($KMnO_4$)によって酸化分解した反応物中に、ポリエン鎖上 C-7’,8’位での開裂と β-イオノン環の C-5,6 位で開環した構造を持つ seco-β-apo-8’-carotenal (seco)を同定した。さらに、炎症誘導した RAW264.7 細胞に対して、seco が nuclear factor-*κ*B (NF-*κ*B)シグナル経路の阻害を介して抗炎症作用を示すことを見出した。対照的に、閉環 β-イオノン環を持つ β-apo-8’-carotenal ではこのような炎症抑制能を示さなかったことから、seco 分子内の β-イオノン環の開環部分構造が抗炎症活性に寄与することが推察された。現時点で seco をはじめとする開環型カロテノイドの組織蓄積に関する報告はない。本化合物を標品として利用することにより、生体組織での分布ならびに β-アポカロテノイドによる生理機能の解明が進展すると期待される。

第 4 章では、食品や化粧品などの用途が拡がっているアスタキサンチンに着目した。アスタキサンチン由来アポカロテノイド(アポアスタキサンチノイド)について、ヒト血中や培養肝細胞を用いた検討からいくつかのアポアスタキサンチノイドが見出されているが、その生物活性に関する研究は未だない。$KMnO_4$ によりアスタキサンチンを酸化開裂させ、反応生成物の質量分析および NMR 解析したところ、6 種の鎖長の異なるアポアスタキサンチノイドを同定した。さらに、これらアポアスタキサンチノイドは RAW264.7 細胞における炎症性因子の過剰発現に対して抑制作用を示すことが明らかとなった。一方、肥満病態下の脂肪組織では、細胞内に多量の脂肪滴を貯留した成熟脂肪細胞の増加や、脂肪組織へのマクロファージの浸潤増加ならびに脂肪-免疫細胞の相互作用による脂肪組織炎症の亢進が認められる。マクロファージと脂肪細胞との共培養により誘導される炎症性サイトカイン interleukin-6 の過剰産生に対して、apo-14’-astaxanthinal や apo-10’-astaxanthinal が強い阻害作用を示した。また、3T3-L1 前駆脂肪細胞の成熟脂肪細胞への分化に対する影響を調べたところ、ポリエン鎖の中央部位で開裂した apo-15-astaxanthinal に強い分化抑制能を認めた。さらに合成アゴニストによる分化促進作用を apo-15-astaxanthinal が減弱させたことから、本アポカロテノイドは PPARγ のアンタゴニストとして作用する可能性が示唆された。以上、各々のアポアスタキサンチノイドは種々の細胞に対して炎症制御能や分化抑制作用を示すことが明らかとなった。

以上、本研究成果は NASH 発症予防に対する Fx の有効性とともに、未だ知見の少ないアポカロテノイドについての調製法と新たな生物活性を見出した。これらの知見は、生体内におけるカロテノイドの代謝の意義や健康機能の作用メカニズムを明らかにするうえで意義深いものである。