

NEWS LETTER

No.27 Mar. 2001

Japanese Society For Cancer Prevention

日本がん予防研究会

非栄養素機能性食品因子のデータベースづくり

渡辺 昌
(東京農業大学)



私が東京農業大学にうつって5年になる。この間、栄養学の勉強をしながら食料の生産現場としての農学部を面白さを満喫できた。農大は世田谷の主キャンパスに加え、網走に寒帯農・水産を研究する施設、宮古に熱帯農業を研究する施設、富士山麓に鶏の系統保存もしている大農場、厚木に農学、畜産の本拠があ

る。農大にうつって最初に生協でみつけて読んだ本が植物生理学であった。イソプレノイドからカロテンに至る合成経路など、新発見をしたようでわくわくした。イソプレノイドは30億年前の先カンブリア紀の化石からも発見されていて、生命のはじまりから関与している。医学で学ぶ薬やがん予防物質は単剤の形ででてくることが多いし、代謝にしても合成という部分はほとんどなく、分解、変容といった反応が多い。植物生理はまさに元素から生命を組上げるといふ面があり、動物は植物という生命体をたべて生かされているということを実感させられる。

三大栄養素、ビタミン・ミネラルの重要さはよく知られているが、食品中には何百種類もの化学物質が含まれ、1970年台からその健康影響が研究されるようになってきた。疫学研究で緑黄色野菜ががん予防に効果のあること、βカロテン等12種の物質を投与した林県の介入研究の成功したことがこの研究促進の機運を起こした。米国ではNCI主導でデザイナーフーズ計画が進められ、がん予防食品のブームを起こした。しかし、βカロテンによるフィンランドや米国での肺がん予防介入研究が予期せぬ結果となり、介入研究の反省期に入っている。単剤を5

年以上かけて介入研究し、結果を積み上げていく方法では理想的物質をみつけるのに100年もかかるであろう。新しいブレイクスルーが必要である。

食品因子(機能性化学物質)の効能としてさまざまなものが唱えられている。予防的観点から食成分に期待される疾病予防や生理機能の維持・増進は、がん、高血圧、高脂血症、肥満、糖尿病、白内障等の予防、脳機能の維持・改善、骨粗鬆症予防など幅広い。葉酸による脊髄分離症の奇形予防なども最近知られてきた食品機能である。しかし、その根拠となる科学的基盤としてヒトで実証されたものは少ない。多くの物質は酸化ストレス抑制活性(抗酸化活性)に行き着いている。試験管内での抗酸化能の証明、細胞系を用いたもの、実験動物の系、ヒトの系となるにしたがって、予期せぬ作用が現れてくる。私たちは大豆由来イソフラボンのがん予防効果を長年調べてきたが、濃度依存性にエストロゲン作用・/抗エストロゲン作用をあらわす。また、作用部位も末梢組織のエストロゲンレセプターのみではなく、視床下部-脳下垂体-卵巣の各段階に働き、フィードバック作用をもつ可能性を発見した。イソフラボン的一种ゲニスタインはがん化の初期に働くチロシンキナーゼ阻害作用をし

目次

非栄養素機能性食品因子のデータベースづくり(渡辺 昌)	1
フラボノイドのバイオアベイラビリティと機能性(下位香代子)	2
ポリフェノールの生体膜に対する親和性(中山 勉)	4
イソチオシアナート類による発がん修飾作用とそのメカニズム(中村宜督)	5
がん化学予防と茶カテキン(原 征彦)	6
チョコレート・ココアに含まれるポリフェノール類の機能性(越阪部奈緒美)	8
お詫びと訂正	9
第8回日本がん予防研究会のご案内	10

NEWS LETTER

めし、肝のSHBG産生刺激、血管新生の抑制、種々の性ステロイドホルモンの代謝酵素阻害など、多彩な作用が報告されている。

多種類の非栄養素機能性食品因子が生体内に入った場合に、生体内高分子と相乗作用、相加作用、拮抗作用、などさまざまな相互作用を起こすと思われる。肺癌予防を目指したβカロテンの過剰摂取は逆に肺癌を増加させ、心筋梗塞なども増加させた。単品の過剰摂取はかえって生体にとって危険となった良い例である。植物中で合成される種々の化学物質は当然それぞれの物質がバランスをとって完結するシステムを作っている筈であり、食品をして摂取された場合にもシステムとしてのバランスがより効果的と思われる。

食品中の脂肪、炭水化物、たんぱく質、ビタミン、ミネラル等の既知の栄養素のデータベースとしては食品成分表第5改訂版が最近出版された。食品によっては季節差や地域差が考慮されるようになった。私たちは一年間に1トン以上の食物を飲み食いしている。100g中に数mgしか含まれていないようなものでも場合によっては数10gの摂取になることもある。主たる栄養素に比べ、個人個人の機能性食品因子の摂取量の差は10倍以上になるものが多い。これが結果的に個々人の健康状態に反映している筈である。非栄養素機能性食品因子は食品成分表に含まれていず、研究レベルで食品中に含まれる個別のフィトケミカルの報告はあるが、総合的に食品に含まれる含量を定量し、健康への影響を示した研究はない。非栄養素機能性食品因子の重要性に

鑑み、栄養素と同じように摂取量を推定できるデータベースの作成が必要とされる所以である。幸い平成12年度から3年間の予定で東京農業大学の荒井惣一教授を主任研究者として科学技術庁の生活者ニーズ研究費によってこのデータベースづくりが支援されることになった。

とりえず食品因子としてはフラボノイド、イソフラボノイド、カテキン類を含むポリフェノール群、モノテルペン、ジテルペンを含むカロテノイド群、ジアリルスルフィドやイソチオシオネート等の含硫化合物や揮発性成分、ジペプチドやトリペプチド、ラクtofエリシン等のペプチド類について、食品番号、含量、化学構造、分子量、物理的性質、効果、測定系等についてデータベース化し、これによってヒトの摂取量を計算でき、健康影響を推定する栄養疫学的研究を推進できるようにするのがねらいである。

野菜などの植物性食品が健康・長寿に好ましいことは、歴史的にも明らかである。しかし、いくら食べてもよいという訳ではない。またどのような種類でもよいという訳でもない。輸入ものの野菜・果物が増え、日常食品があまりにも多彩になった日本では、一般生活者は、何を選べばいいのか混乱している。このデータベースによって栄養素以外の化学物質の摂取量も推定でき、多変量解析によってどのように組合せの摂取が健康に影響しているかを正しく分析できるようになるであろう。幸い、日本ではいくつかの前向きコホート研究が進行しているのでさまざまな食品因子の摂取パターンや量をエンドポイントの健康状態と関連づけて分析することができる。これは“食

による疾病予防”の科学的証拠を提供し、より効率的ながん予防物質探しにも貢献できる筈である。

NCIのデザイナーフード計画に参画した名古屋大学の澤田俊彦教授は、1995年にプログラムの延長として世界に先駆けInternational Conference for Food Factorsを浜松で開催した。約千名の参加者があり、Japanese Society for Food Factorsという学会をつくることができた。1999年末には京都大学の東肇教授を会長に第2回国際学会が開かれた。これを基礎に国際学会化し、2002年からはFunctional Food Factors-Chemistry, Nutrition, Health Promotion and Disease Preventionなる国際誌をElsevier Scienceから刊行できる運びとなった。

農芸化学を主とした食品因子に関する研究レベルは世界的にもレベルが高いが、日本の研究グループはさらに、医学、疫学、薬学等の分野から集学的にあつまっている点で世界的にもユニークである。このデータベースは3年後には公開される予定であり、世界の研究に貢献できると期待している。

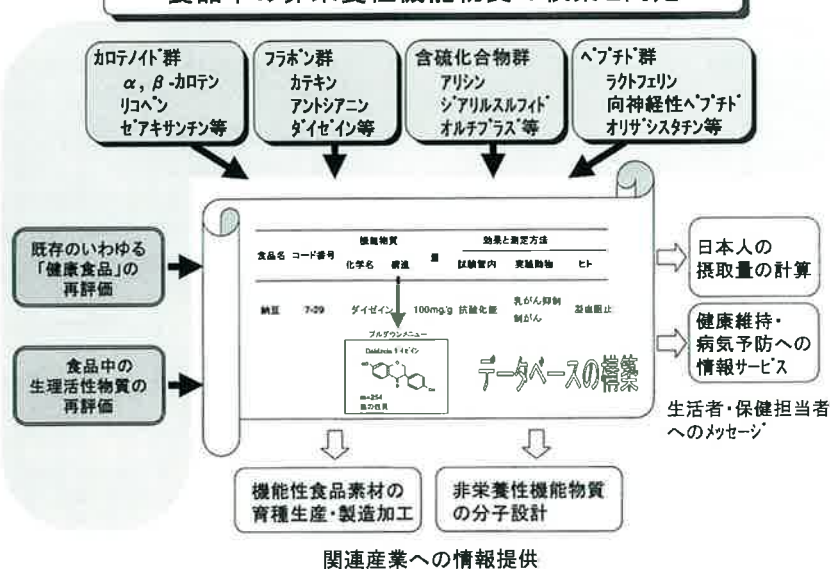
フラボノイドのバイオアベイラビリティと機能性

下位 香代子
(静岡県立大学食品栄養科学部)



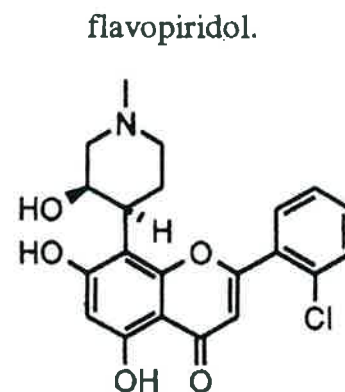
フラボノイド類の多くは配糖体として広く植物に分布しているが、その種類は4000を越える。C6-C3-C6の基本骨格を有し、化学構造の違いにより、フラボン、フラボノール、イソフラボン、カテキンなどに分類される。我々はこれらのフラボノイドを野菜、果物、茶などから毎日約1g摂取していると推定されている。摂取したフラボノイドが体内でどのように吸収され、どのような代謝物が血管内を循環しているのか、また、血中濃

食品中の非栄養性機能物質の検索と同定



度と機能性発現のための有効濃度、過剰摂取の影響などについて、筆者らの最近の研究結果も含め以下述べる。

フラボノイド類の吸収・代謝機構は、分子量（重合度）、溶解性、カテコール構造の有無、結合している糖の位置と種類など化学構造や化学的性質により多様である¹⁾。高重合化縮合型タンニンなどのような高分子量ものは吸収されにくく、多くが糞中に排泄される。カテキン類のEGCgやアントシアニン類のcyanidin-3-glucosideのように水溶性の高いフラボノイドは、摂取後、血中への移行が早く、胃からも吸収される。一方、フラボン、フラボノール、イソフラボンの7位や4'位のグルコース配糖体は腸の上皮細胞が有する β -glucosidase (lactase)により加水分解され、吸収後、腸上皮細胞内でただちにUDP-glucuronyl transferaseにより抱合化される。筆者らはラット個体および反転腸管を用いて luteolin-7-glucosideの吸収について検討し、腸管通過時に糖の加水分解とアグリコンの抱合化の2種類の酵素反応が起こることを明らかにした²⁾。rutinのような配糖体は腸内細菌の有する β -glucosidaseにより加水分解され、アグリコンになってから吸収される。吸収されなかったフラボノイドは腸内細菌により代謝され、フェノールカルボン酸などにまで分解され、それら代謝物も吸収される。フラボノイドは腸管から吸収されたあと肝臓で代謝を受けるため、血中では多くの場合、グルクロン酸や硫酸の抱合体、メチル化体の抱合体として存在している。一般に代謝物は後述するような生理活性は低下してしまうと考えられているが、事実、アグリコンに比べ抗酸化性は弱くなることが報告されている。また、水溶性が高くなるため、細胞内へは取り込まれにくくなると思われる。しかし、最近、筆者らは、好中球などの白血球が刺激を受けると放出する β -glucuronidaseにより抱合体が加水分解されることを見出し、炎症時に生体内で脱抱合が起こる可能性を示した。従って、フラボノイド類は、炎症部位ではアグリコンになって細胞に取り込まれやすくなること示唆された³⁾。血中濃度は、EGCgの遊離型は約100mg摂取後1-2時間後に0.3-0.5 μ M、約150mgのcyanidin-3-glucosideは0.02-0.03 μ M、玉葱(querctetinとして68mg)は0.7時間後にquerctetin抱合体として0.74 μ Mであったことが報告されている。querctetinをカプセルで28日間摂取すると血中濃度は1.5 μ Mになり、繰り返し摂取により血中濃度が増加することが示された⁴⁾。



生理活性としては、抗酸化性の他に、tyrosine kinase、protein kinase C、CYP、逆転写酵素、lipoxygenase、cyclooxygenase、hyaluronidaseなどの酵素阻害作用、活性酸素消去作用、抗菌作用、抗変異原作用、細胞周期抑制作用、悪性腫瘍細胞(乳癌、大腸癌、白血病等)の増殖抑制作用、アポトーシス誘導作用、サイトカイン過剰産生抑制作用、抗アレルギー作用、ホルモンに対するアンタゴニストおよびアゴニスト作用など多くの作用が報告された。培養細胞を用いたin vitro試験で示された有効濃度(EC50)はおよそ0.1~100 μ Mの範囲にあり、有効濃度が血中濃度を上回る活性がほとんどである。微量で有効な活性としては、lipoxygenase阻害(0.1 μ M)、CYP阻害(0.1-10 μ M)、ダイオキシンによるAhRの形質転換阻害(0.14-10 μ M)⁵⁾などがある。NF- κ Bは、炎症や免疫反応に関連する遺伝子の発現調節を行う転写因子であるが、その活性化はI κ Bの解離・分解を介して起こる。最近、筆者らはluteolinが2 μ Mの濃度で、TNF- α によるI κ Bの分解を抑制することを見出した。従って、生体内濃度で遺伝子発現調節に対しても影響を与える可能性があると思われる。

ところで、catechin、genistein、flavopiridol(インドの植物由来のリード化合物・フラボンアナログ)は、いずれも臨床試験にはいつているが、治療剤としての可能性についてレビューされている⁶⁾。flavopiridolは43-83nMでCDK阻害効果を示し、アポトーシスも誘発する。CDK阻害剤として初めてPhase II臨床試験にはいつた化合物である。一方、querctetinやbaicaleinは、DNA topoisomerase IIの阻害を介してDNA切断を生じることが以前より知られていたが、昨年、乳児白血病の原因と考えられるMLL遺伝子をDNA topoisomerase II阻害剤であるVP16と同様な作用機序で切断することが報告された⁷⁾。胎児期の特に感受性の高い時

期にフラボノイドの過剰摂取と複数の要因が重なって乳児白血病がおこる可能性が示唆された。通常血中濃度からするとほとんどおこりえないと思われる。しかし、フラボノイドを臨床応用する場合には、過剰摂取となりうるためトポ誘導白血病を考慮することは大切である。

フラボノイドの生体内での機能性を考えるにあたっては、(1)代謝物の生理活性、(2)吸収されたあとの体内濃度の有効性、(3)他の生体成分との複合作用、(4)過剰摂取の影響をさらに検討していくことが重要だと思われる。今後、フラボノイドの生体内での有効性を明らかにするために、炎症反応時のサイトカインの情報伝達経路への影響についてさらに研究を進めていきたいと思っている。

〈参考文献〉

- 1) A. Scalbert and G. Williamson, J. Nutr., 130, 2073S-2085S (2000)
- 2) K. Shimoi et al., FEBS Lett., 438, 220-224 (1998)
- 3) K. Shimoi et al., BioFactors, 12, 181-186 (2000)
- 4) J. A. Conquer et al., J. Nutr., 128, 593-597 (1998)
- 5) H. Ashida et al., FEBS Lett., 476, 213-217 (2000)
- 6) H-K. Wang, Exp. Opin. Invest. Drugs, 9, 2103-2119 (2000)
- 7) R. Strick et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 97, 4790-4795 (2000)

賛助会員継続のお礼とお願い

(株)アミノアップ化学、エーザイ(株)、江崎グリコ(株)、協和発酵工業(株)、三共(株)、堀井薬品工業(株)、山之内製薬(株)、湧永製薬(株)、(株)ヤクルト本社中央研究所
その他の各社もぜひ継続賜りますようお願いをかりてお願い申し上げます。新規加入も大歓迎致します。

ポリフェノールの生体膜に対する親和性

中山 勉

(静岡県立大学食品栄養科学部教授)



植物性食品に含まれるポリフェノールが、がんをはじめとする様々な疾病の予防に効果があると期待され、疫学・ヒト・動物・培養細胞・微生物・酵素・化学反応などの、様々なレベルで精力的に研究されている。特に動物培養細胞や微生物を使った *in vitro* 系でのアッセイは、活性を持つ成分のスクリーニングや *in vivo* 系で示された効果のメカニズム解明に欠かせない手段である。植物ポリフェノールはフラボノイド系（カテキン類、フラボン類、フラボノール類、アントシアン類など）や非フラボノイド系（リグナン類、桂皮酸誘導体、クルクミンなど）に分類され、さらにそれぞれ多種多様の物質に分類されている。ある食品に含まれるポリフェノールが一成りだけで予防効果を担うというよりは、多成分の効果の総和として考えられている。このような背景から、*in vitro* 系のアッセイは一連のポリフェノールを対象と行われることが多いが、このとき比較される「活性の強さ」は以下二つの因子を反映していると考えられる。

(1) すべての物質が同じ量だけ細胞に取り込まれることを前提とした場合の真の活性

(2) インキュベーションの間に細胞に取り込まれる物質量

この二つの因子を区別するには、細胞に取り込まれた量を測定すればよいが、³Hや¹⁴Cでラベルされているか、HPLC-ECDのような感度と選択性の高い検出方法が個々の物質ごとに確立されている必要がある。しかし、取り込まれたポリフェノールがすぐに細胞内で代謝・分解

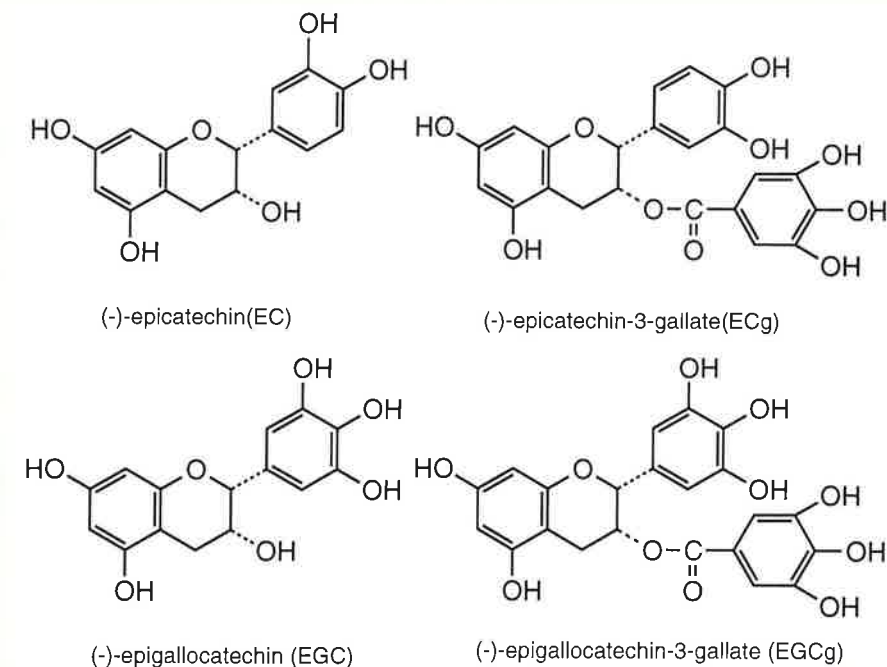


図1 茶に含まれるカテキンの構造

されたり、細胞外に排出されたりすることもあって、報告例はあまり多くない。また個々の細胞の違いを考慮するより、一般的な方法で比較できたら便利であるとも思われる。そこで我々はモデル生体膜であるリポソーム (small unilamellar vesicles: SUV) を用いて、ポリフェノールのリン脂質二重層に対する親和性を調べることにした。まずリポソーム溶液 (実際は懸濁液) にポリフェノールを加え、一定時間インキュベート後、リポソームと周りの水相を分離し、リポソームに含まれるポリフェノールをHPLC等により定量することを試みた。しかし、分離の段階に難点があり、ゲル濾過の場合はポリフェノールがリポソームから離れてゲル濾過基材に吸着され、超遠心の場合には一回の分離に一晩かかった。そこで、リポソーム内部の水相を高濃度のブドウ糖溶液にすることで、リポソームの比重を高くし、短時間 (5分) の超遠心で周りの水相と分離した。取り込まれたポリフェノールをHPLCで定量し、加えた量との比率から親和性を数値化することに成功した¹⁾。

我々はすでに、カフェ酸エステルや没食子酸エステルが過酸化水素の細胞毒性を抑制し、エステルの炭素数が多いほど低濃度で効果がある (つまり活性が高い) ことを見いだしていた²⁾。これが取り込み量を反映した結果であることは予想していたが、リポソームを用いた方法で裏付けることができた³⁾。次に茶に含まれるカテキン類について調べた。茶の

カテキン類によるがん予防効果については前号の本ニュースレターで関西大学の上里先生が解説されている⁴⁾。詳細はそちらに譲るが、図1のような4種類のカテキン類を用いて、様々な *in vitro* 系での活性が比較されている。活性の高さの順番はアッセイによって異なるが、EGCgとECgが対応するEGCとECよりも高いことが多い。我々はこの理由がEGCgとECgのリン脂質二重層に対する親和性の差に起因するのではないかと考え、リポソームを用いた取り込み実験を行った。すると予想通り、ECg>EGCg>>EC>EGCの順に親和性が高いことが明らかになっ

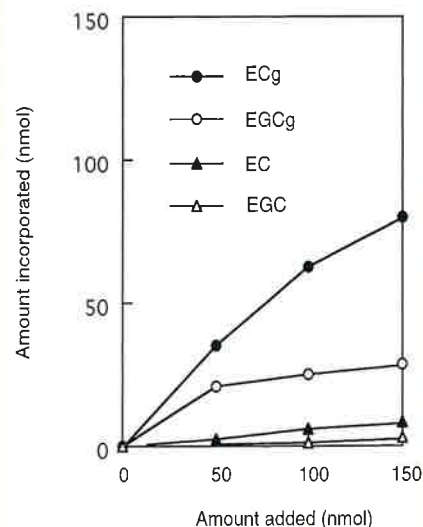


図2 カテキン類のリポソームへの取り込み量

た⁴⁾ (図2)。EGCとECはC環の3位の位置に水酸基を持ち、これは分子構造のほぼ中央に位置することもあって、脂質に対する親和性を大きく低下させていると考えられる。一方ガロイル基はベンゼン環に水酸基を3個持ち、一見水溶性を増加させるように見えるが、EGCやECの3位の水酸基にエステル結合してEGCgやECgになると、エステル結合の周辺が疎水領域になると思われる (図3)。一



図3 EGCgの疎水領域

方、ECg>EGCg および EC>EGCの理由は、B環の水酸基の数を単純に反映したものであると思われる。我々はさらにリポソーム溶液にEGCgやECgを加えた時に、脂質二重層のどこに位置するかを調べた。その結果、二重層内部まで深く入らず、表層近くでとどまっていることを示唆する結果を得た。以上のことを総合すると、EGCgやECgはその疎水領域を先端にしてさびのように脂質二重層に入り込むものの、親水領域は二重層表面に残っているのではないかと考えられる。以上述べた内容は、カテキン類が細胞表層につくまでの様子を推定するのに有効であると考えているが、細胞内への取り込み機構の推定には無力である (動物細胞の細胞膜が植物ポリフェノールに対する特定の受容体あるいは輸送機構を持っているという報告はなく、受動輸送による取り込みが考えられている)。また食品成分は消化・吸収の問題を考える必要がある。この場合は血管内あるいは標的臓器内での代謝産物の化学構造が明らかになれば、それらの親和性を数値化することができる。いずれにしても、この分野の研

究を疾病予防にささやかながらも役立つようにすることが筆者の願いである。

引用文献

- 1) Nakayama, T.; Ono, K.; Hashimoto, K., Biosci. Biotechnol. Biochem., 1998, 62, 1005.
- 2) Nakayama, T.; Niimi, T.; Osawa, T.; Kawakishi, S. Mutat. Res., 1992, 281, 77.
- 3) 上里新一, 日本がん予防研究会 New Letter, 2000, 26, 5.
- 4) Hashimoto, T.; Kumazawa, S.; Nanjo, F.; Hara, Y.; Nakayama, T., Biosci. Biotech. Biochem., 1999, 63, 2252.

イソチオシアナート類による 発がん修飾作用とそのメカニズム

中村 宜督

(名古屋大学大学院生命農学研究科)



1. はじめに

辛子油という名で古くから知られる isothiocyanate (ITC; R-N=C=S) は、アブラナ科植物の組織を磨砕した時に生ずる刺激性の強い香味性成分である¹⁾。その強い辛味と風味はヒトの食欲を増進させるものであり、特に辛味の強いワサビやマスタードは香辛料として食用に供されている。最近では、キャベツ、ブロッコリーなどのアブラナ科野菜も ITC の摂取源として重要視されている。黒マスタード、ワサビに多く含まれる allyl ITC、白マスタードの p-hydroxybenzyl ITC、キャベツ、クレソンの phenethyl ITC、ブロッコリーの sulforaphane (SF) などが著明な ITC である (図1)。筆者らも最近、果物類のスクリーニングにより、benzyl ITC (BITC) をパパイヤから見出ししている²⁾。古くから ITC 類は、含有する香辛料の食品衛生的な目的性から抗菌作用を有することが知られていたが、アブラナ

科植物の抽出物、或いはある種の ITC 類のがん予防効果が疫学及び動物実験より示唆され、がんの化学予防が最も期待されるフードファクターの一つとして注目されてきた。本稿では ITC 類の発がん修飾効果について概説する。

2. イソチオシアナートの化学

ITC 類は、glucosinolate (辛子油配糖体) から thioglucosidase の働きによって、糖の脱離、Lossen 型転位反応を経て生成する³⁾。ITC 類はその特異的な構造から容易に想像されるように、-N=C=S の炭素原子の電子不足状態から求核試薬、即ちアミンや水などの付加を受けやすく、このような付加反応を経て辛味や生理活性を失う。一方で、ITC 類は cysteine、glutathione (GSH) などチオール化合物とも容易に付加物を形成し、BITC によるプロテアーゼ papain の活性阻害は活性中心の cysteine 残基の修飾によるものが古くから知られている³⁾。この可逆的な生体内チオールとの反応が、ITC 類の抗がんに関連する生理活性においても重要な役割を果たしていることが明らかとなりつつある。

3. イソチオシアナートの発がん抑制作用

疫学的研究から、アブラナ科野菜の摂取は大腸がんや前立腺がんのリスクを軽減しうることが示唆されている。動物実験からは、タバコ特異的 nitrosamine 誘発肺がんをはじめとして、肝がん、前胃がん、大腸 aberrant crypt foci 生成に対する顕著な抑制効果が報告されている。その一方で、腎臓や膀胱においては逆に腫瘍発生を促進するという報告⁴⁾もなされており、発がん修飾作用には、発がん誘導剤或いは臓器に対する特異性が示唆されている。これらは、発がん物質の代謝活性化過程、及び ITC 自体の代謝・体内動態と密接に関連しているようである。

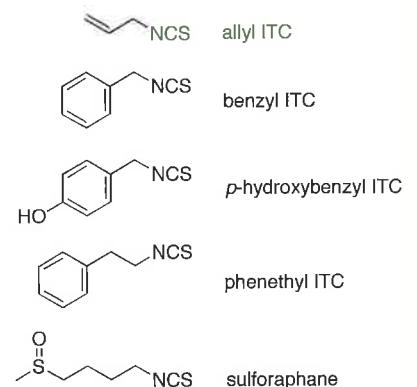


図1 食用植物に含まれる ITC 類

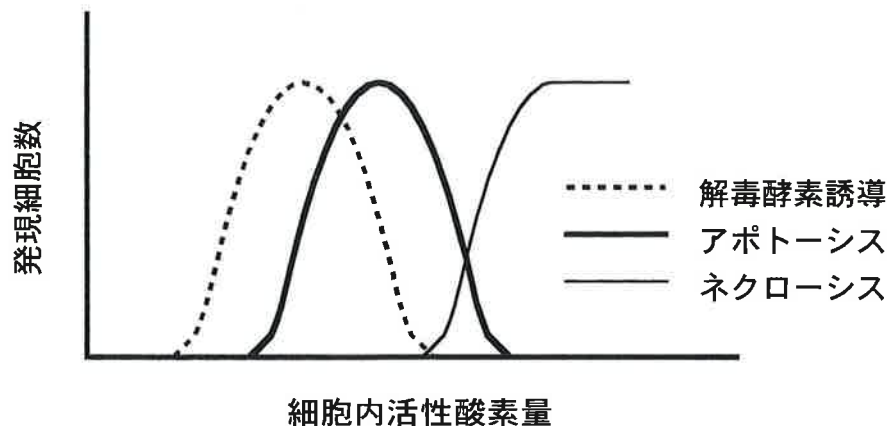


図2 生体防御反応における細胞内活性酸素量の閾値

4. イソチオシアネートの解毒酵素誘導作用

最も理解しやすい発がん抑制メカニズムとして、発がん物質の代謝活性化、或いはその結果生成した究極発がん物質の無毒化が挙げられる。前者はphase I酵素(シトクローム P450)の抑制、後者はquinone reductaseやGSH transferase (GST)など、phase II酵素の誘導による。即ち、Talalayらによってphase II酵素誘導能と発がん抑制効果との正の相関が明らかとなり、遺伝子損傷からの保護作用の関与が認められるようになった。また、Talalayらは、多様な化合物のスクリーニングから、phase II酵素誘導物質を、phase I酵素誘導を伴うもの(bifunctional)、伴わないもの(monofunctional)に分類し⁶⁾、特にITC類も属するmonofunctional inducerが遺伝子保護作用に関してより効果的であることを提唱している。その一方で最近、筆者らはBITCの顕著なGST誘導活性を見出すとともに、誘導メカニズム解析から、GSTの一分子種であるGSTP1遺伝子発現が主要なエンハンサーであるGSTP1 enhancer 1 (GPE1)を介すること、BITC投与後速やかに細胞内GSHレベルが顕著に低下すること、あらかじめGSHレベルと低下させた細胞ではGST誘導が増強されること、活性酸素特異的蛍光プローブを用いたフローサイトメトリーにより細胞内での活性酸素量とGST誘導能がよく相関することなどを明らかにした⁶⁾。この結果は適度な酸化ストレスは細胞にとって保護的に働くという仮説を支持し興味深い。

5. イソチオシアネートのアポトーシス誘導作用

GSTなどの解毒酵素誘導と並んで、最近注目されている発がん抑制に関連する生理作用としてアポトーシスが挙げられる。特に1998年、ITC類によるアポト

シス誘導作用が相次いで報告され、MAP kinase⁷⁾、caspase-3⁸⁾などの関与が示唆されている。筆者らもBITCによるcaspase-3依存性アポトーシスの誘導機構を解析したところ、本経路もレドックス(細胞内酸化還元状態)感受性であること、また細胞内の活性酸素濃度が高くなり過ぎると細胞死形式がネクローシスへと移行することを明らかにした(投稿中)。以上の結果から、細胞内活性酸素には、大量であると壊死、量が減少するとアポトーシス、解毒酵素誘導とそれぞれ閾値が存在することが示唆された(図2)。特に、高濃度投与での過剰な活性酸素産生によるネクローシス誘導は、ITC類の臓器特異的な発がん促進作用のメカニズムとして注目に値する。

6. おわりに

緑黄色野菜の摂取が発がん予防に有効であることはかなり信憑性の高いものになりつつあるが、その一方で低い野菜摂取を有効成分のサプリメントで補おうという観点も定着しつつある。特定の野菜の主要成分である単一の化合物を用いた様々な研究がその追い風になっているが、その反面、それらに関する代謝・体内動態を含めた毒性学的研究は立ち後れている。ITC類も例にもれず、高用量での臓器特異的な毒性が明らかになりつつあることから、ITC類の示す細胞応答や活性酸素産生作用を含めた分子機構解析研究は、がん予防食品の確立には必須であると考えている。

7. 謝辞

本稿で述べた研究結果は次の先生方(敬称略)との共同研究によるものです。紙面を借りて感謝致します。内田浩二、大澤俊彦(名古屋大学)、大東肇(京都

大学)、村上明(近畿大学)、今川正良(名古屋市大)、森光康次郎(お茶の水女子大学)、河合清(中京女子大学)。本研究の一部は学術振興会特別研究員奨励費および生研機構基礎研究推進機構の補助金によって行われた。

文献

- 1) 川岸舜朗、日本食品工業学会誌、32 (1985) 836.
- 2) Nakamura, Y., et al., Cancer Lett. 157 (2000) 193.
- 3) Tang, C. S., J. Food Sci. 39 (1974) 94.
- 4) Hirose, M., et. al., Int. J. Cancer 77 (1998) 773.
- 5) Talalay, P., Adv. Enzyme Regul. 28 (1989) 149.
- 6) Nakamura, Y., et. al., Cancer Res. 60 (2000) 219.
- 7) Chen, Y.-R., et. al., J. Biol. Chem. 273 (1998) 1769.
- 8) Yu, R., et. al., Cancer Res. 58 (1998) 402.

がん化学予防と茶カテキン

原 征彦
(東京フードテクノ(株))



茶カテキンがヒトのがん化学予防に有効である可能性を示唆する知見は多く、いくつかの総説に纏められている^{1,2,3,4)}。茶カテキン、なかでも主要成分であるエピガロカテキンガレート(EGCG)は強い抗酸化能、ラジカル消去作用を示すこと、発がんに関与する酵素類を抑制ないし誘導すること、また極めて低濃度で、ある種のウイルスに対して不活化作用を示すこと、などの作用が挙げられる。発がん要因を物理的、化学的、生物的としたとき、それら発がん要因に対し茶カテキンのもつ諸特性をヒト生体内において

如何に効果的に働かせるか、ということが課題である。それらの関連を「発がん」、「茶カテキン」、「ヒト」の3要因として図示した。ヒト要因としては、カテキン経口摂取後の吸収、分布、代謝、排泄の様態や、カテキンを皮膚や粘膜に塗布した後の働きなどが含まれる。これらの要因を組み合わせ、動物実験において、a) 放射線照射に対し茶カテキンを塗布ないし経口投与する、b) 発がん物質を投与する一方、茶カテキンを投与する、c) ウイルス発がん系マウスに茶カテキンを投与する、などが試みられ効果が検証されてきた。

そこで、次なるステップとして茶カテキンを用いたヒト介入試験が関心事となり、それなりの取り組みが行われるようになってきた。しかしながら、たとえ効果を検証しようとも、行政的に所定の要件を満たしていない介入試験は単なるエピソードにしか過ぎない。ある「植物抽出成分」のがん予防効果がヒト集団において検証された、としてもそれは単に研究上の一事績であり、極めて貴重なデータではあるが、それをもってその抽出物を「がん予防剤」として世に流通させることはできない。それはある抽出ロットで得られた1データである、という認識である。行政的な認知を求めようとするれば、有効成分の組成、不純物、安全性、薬理動態などの詳細や製造保証、品質保証などの諸点が厳しく問われる。かくして、素晴らしい研究発表とマスコミによる紹介。そしてその繰り返し。しかし、そればかりではよいのであろうか。

これら問題意識のもと米国NCIがん予防部と小生らは過去4年来、茶カテキンを用いたがん予防試験に普遍性を与えるための戦略を練り、それに沿って仕事を進めてきた。第1に、有効成分をEGCgと指定し、「EGCg」純品とEGCgを主成分とする「ポリフェノン®E」なる茶カテキン高濃度粉末の両者を同時に試験対象とすることである。通常の薬剤は上述の諸点を鑑み100%純物質であることが要請される。しかしながらEGCg純品はあまりに高価であり商品性がない。「ポリフェノンE」であれば医薬品素材として流通可能である。そこで、「EGCg」と「ポリフェノンE」両者を並行して試験を進め、両者の働きがほぼ同等であることを確認し、ある段階から「ポリフェノンE」単独に切り替える、という戦略である。「ポリフェノンE」はEGCgを約60%（規格50%以上）、その他カテキンを約30%含む天然茶抽出物である。準備段階である前臨床試験および臨床第1

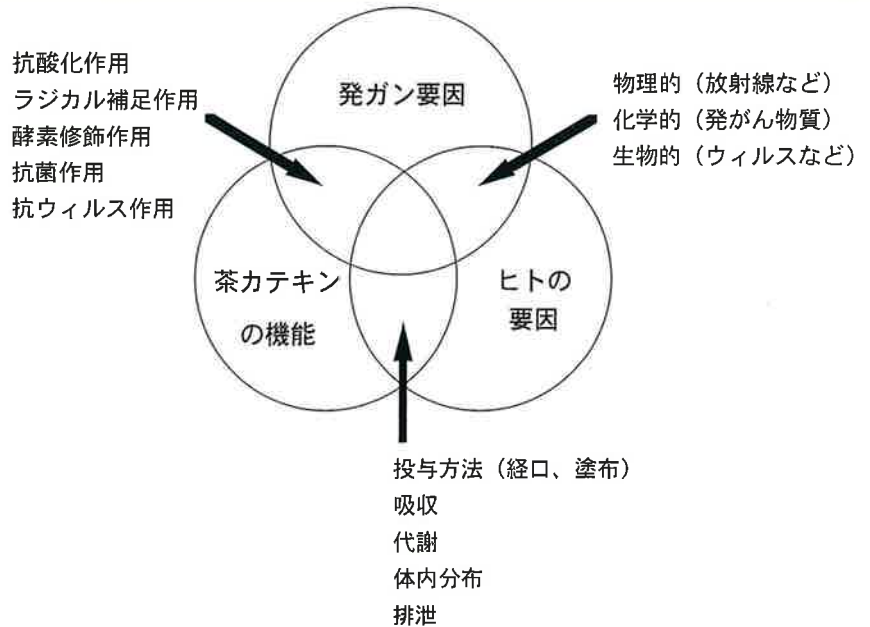


図. ガン予防における茶カテキンの役割

相試験において要請される諸試験の一部を表に示した。

表. 一般医薬品の承認申請に際し添付すべき資料 (厚生省法令より一部抜粋)

**急性毒性、亜急性毒性、慢性毒性、
催奇形性その他の毒性に関する資料**

- | | |
|-----------|--------|
| 1. 単回投与毒性 | に関する資料 |
| 2. 反復投与毒性 | 〃 |
| 3. 生殖発生毒性 | 〃 |
| 4. 変異原性 | 〃 |
| 5. がん原性 | 〃 |
| 6. 局所刺激性 | 〃 |
| 7. その他の毒性 | 〃 |

薬理作用に関する資料

- | | |
|--------------|---|
| 1. 効力を裏付ける試験 | 〃 |
| 2. 一般薬理 | 〃 |

吸収、分布、代謝、排泄に関する資料

- | | |
|------------|---|
| 1. 吸収 | 〃 |
| 2. 分布 | 〃 |
| 3. 代謝 | 〃 |
| 4. 排泄 | 〃 |
| 5. 生物学的同等性 | 〃 |

実際、これら試験を純品と複合物とで並行して進めてきた。一方、「ポリフェノンE」のCMC (Chemistry, Manufacture, Control) もほぼ完璧にせねばならない。すなわち、「ポリフェノンE」の原料段階から最終製品に至るまで関与するあらゆる材料、資材、製造プロセス、製造装置、環境、測定法と機器、最終製品の各成分プロフィール等々が常に正しく一定の指示範囲内に入るように指図書を作成し、さらに得られたデータをチェックす

る体制を文書で確保せねばならない。詰まるところ、「ポリフェノンE」が常に一定の組成と安定性をもち、adulterationやmisbrandと無縁であり、しかも何年後でもtraceableであることである。すなわち上記諸条件を満たすFDA規格のcGMP製造施設の確保である。以上は須らく米国厚生省対応であり、大部な書類は全て英文である。以上の態勢を整え、臨床第2相試験のプロトコルをFDA宛提出し、受理されて後、漸く効果試験に進める。現在われわれは米国人被験者のActinic keratosisなる皮膚がん前駆疾患を対象とし「ポリフェノンE」塗布剤による臨床第2相試験に入っている。第2点は、「予防」に関わることである。予防が真に予防であることを証するためには、前駆症状が段階的に確定している症状を対象とする、ということである。従って、病理所見、細胞診、各種バイオマーカー、画像診断等でステージが確定され得る症状に関し被験者を選定する。NCIでは次なるターゲットとして大腸がん、前立腺がん、食道がん、さらに子宮頸部がんなどの前駆症状を想定している。よい結果が得られるまで、それなりの時間と困難も予想されるが、NCI主導プロジェクトに茶カテキンを本邦ブランド (ポリフェノン®E) として供与する、という意義をお汲み置き長期的視点でご理解を賜りたい。また、犬における生体内動態試験では、弊社作成のトリチウムラベル化EGCgが大きな役割を果たしたことを附記したい。この一連のプロジェクトにcollaboratorとして小生どもが加わるこ

につきお見守り頂いた諸先生に深く感謝致します。以上、貴重な紙面をおこがましくもお借りしました。引き続きご指導のことお願い申し上げます。

(文献)

- 1) CS Yang, ZY Wang. Review - Tea and Cancer. *J Nat Cancer Inst* 85: 1038-1049, 1993
- 2) S Katiyar, H Mukhtar. Tea in Chemoprevention of Cancer: Epidemiologic and Experimental Studies (Review). *Int J Onc* 8: 221-238, 1996
- 3) LA Mitscher, M Jung, D Shankel, JH Dou, L Steele, SP Pillai. Chemoprotection; A Review of the Potential Therapeutic Antioxidant Properties of Green Tea (*Camellia sinensis*) and Certain of its Constituents. *Med Res Rev* 17: 327-365, 1997
- 4) Y Kuroda, Y Hara. Antimutagenic and Anticarcinogenic Activity of Tea Polyphenols. *Mutation Research* 436: 69-97, 1999

チョコレート・ココアに含まれるポリフェノール類の機能性

越阪部 奈緒美

(明治製菓(株) 栄養機能開発研究所)



チョコレート・ココアの原料であるカカオ豆 (*Theobroma cacao*) はアマゾン川流域原産であり、アステカやマヤといった古代文明時代から不老長寿の薬として王侯貴族に珍重されてきたと言われている。生のカカオ豆には実に約11~13%のポリフェノール類が含まれているが、複雑な製造プロセス中で変化を受け減少してしまうことが知られている。実際に、市販されているスイートチョコレート及び純ココア (いずれもミルク分を含まないもの) を分析したところ、そのポリフェノール含有量は平均 $1.58 \pm 0.61\%$ 及び $3.78 \pm 0.69\%$ であった¹⁾。この値は

ポリフェノールが多く含まれていると言われている食品の中でも飛びぬけて高い数値である。このカカオに含まれるポリフェノールの主成分はcatechin及びそのoligomer (procyanidin: PC) で、10量体までの存在が報告されており²⁾、その中でも生体利用性に優れていると推察される1~4量体の比率が高いことがわかっている³⁾。同様にPCが多く含まれる食品に赤ワインがあるが、その組成は配糖体の割合が多く結合様式も多岐にわたっているため、カカオ比べ複雑である。

次に生体利用性についてであるが、主成分の一つであるepicatechin (EC) に関しては、これまでに幾つか吸収・代謝の報告がある。しかしながら食品として摂取した場合についての詳細な報告は少ない。そこで、ラット及び健常人ボランティアを用いカカオ製品を摂取した場合のECのbioavailabilityを検討したところ、投与量によって若干のパラッキはあるが、約30%の吸収率を示した⁴⁾。この値はquercetin glucosideやepigallocatechin gallateといった他のフラボノイド類に比べると非常に高く、またEC単独で摂取した場合とほぼ同等であることから、吸収に対する他の食品成分の影響は少ないことが示唆される。しかしながら、2量体以上のprocyanidin類の生体内における挙動に関しては未だ解明されていない。

これらPCは強い抗酸化能を持つことが知られており、O₂⁻、OH[·]、ONOO[·]に対する強力なscavengerであることが報告されている。またカカオから抽出したPCを主体とするポリフェノール画分が*in vivo*においてもビタミンE欠乏ラットの酸化ストレスを顕著に抑制すること

を確認している⁵⁾。そこで、高コレステロール血症ウサギ⁶⁾及び健常人ボランティア¹⁰⁾を用い、ポリフェノール画分及びココアを摂取した場合のLDL被酸化能に及ぼす影響について検討した。銅又はアゾ化合物によってLDLを酸化誘導した場合に先役ジェンが生成されるまでの時間すなわちLag timeを指標としたところ、いずれの場合もカカオ摂取によって有意にLag timeの延長が認められ、カカオポリフェノールのLDLに対する酸化抵抗性の増強が確認できた。また最近Keenらはココアを摂取した健常人の血小板凝集能低下し、これらはeicosanoideの生成阻害によることを報告している^{11,12)}。

一方、procyanidin類のガン予防へのアプローチは抗変異原作用や抗プロモーション作用を中心に進められている。Heterocyclic aminに対する抗変異原性は幾つか報告があるが、我々のカカオポリフェノールを用いた検討では*in vitro*においてTrp-P-2やMeIQで誘導される*Salmonera Typhimvrium*の変異に対して用量依存的に顕著な抑制効果を持つこと、またHost mediate assayを用いた*ex vivo*の実験系においても、Trp-P-2による変異を低下させることを確認している¹³⁾。またDMBA及びTPAを用いたマウスの皮膚二段階発ガンモデルにおいては、incidence及び固体当たりのpappilomaの発生数を抑制した¹⁴⁾。これらのことから発ガン予防においても、カカオポリフェノールの有効性が期待されるが、更に詳細な検討が必要であると思われる。

