

# フードケミカルバイオロジー

—食品成分の特異的な“ふるまい”を読み解く—

日本栄養・食糧学会

監修

山崎 正夫・藤村 由紀

榊原 啓之・立花 宏文

責任編集

**建帛社**

KENPAKUSHA

# **Food Chemical Biology**

## **Deciphering the Specific Behavior of Food Factors**

Supervised by  
JAPAN SOCIETY OF  
NUTRITION AND FOOD SCIENCE

Edited by  
Masao Yamasaki  
Yoshinori Fujimura  
Hiroyuki Sakakibara  
Hirofumi Tachibana

©Masao Yamasaki et al. 2025, Printed in Japan

Published by  
**KENPAKUSHA Co., Ltd.**

2-15 Sengoku 4-chome, Bunkyo, Tokyo 112-0011, Japan

## 序 文

1993年にNature誌で「Japan explores the boundary between food and medicine (日本で食と薬の境界に切り込む)」と題した記事が発表されてから、約30年が経過した。この間、多くの食品と健康に関わる現象が発見され、「食品機能」という学術用語が一般化するともに、ひとつの科学を築いてきた。抗体医薬をはじめとして、薬は分子標的や作用機序を描きながら開発を進めていくのに対し、食品機能は得られた効果から作用機序を逆算する世界である。この30年間に、種々のオミクス解析を始めとする分析技術、イメージング技術、次世代シーケンシングによる網羅的な遺伝子解析など、多くの最先端技術が著しい進化を遂げてきた。これらの技術は、食品機能の作用機序を分子レベルで説明する手段として、科学から化学へと研究を加速させてきた。

近年では、食品機能を説明できる分子の特定も進み、その中でも植物由来の生理活性分子は「ファイトケミカル」と総称される。一部のファイトケミカルでは生体分子との相互作用が証明され、食品機能との関係性が明快に示されている。このような分子間の関係性を読み解くことは、食品機能研究を深化させるマイルストーンであり、食品中の化学物質（ケミカル）が生体機能を制御することを示す新たな学問分野「フードケミカルバイオロジー」における大きな柱となっている。また、新たなキープレイヤーとしてマイクロRNA（miRNA）のような核酸分子も注目されている。食品由来の異種miRNAの機能や、ヒトにおけるmiRNA発現調節を介した機能性の発現に関する研究が黎明期を迎えており、核酸分子の運搬体となりうる細胞外小胞の実態に迫る研究も進行中である。

2024年5月に福岡市で開催された第78回日本栄養・食糧学会大会（会頭：立花宏文）において、「食品機能性を担う細胞外小胞とマイクロRNA」、「ファイトケミカル研究の最前線」と銘打った2件のシンポジウムが企画された。これらのシンポジウムでは計8題の講演が行われ、食品機能研究の深化によって明らかになった「食品成分の特異的な“ふるまい”」が紹介され、多くの学会員との活発な質疑応答が繰り広げら

れた。

本書では、最初にフードケミカルバイオロジーの概説を行い、続いて上記のシンポジウムでの講演内容を中心に、最新的话题を具体的なデータとともに紹介する。本書の狙いは、化学の視点から食品機能研究の展望を伝えることにある。フードケミカルバイオロジーの今を最新の研究結果や動向とともに紹介することを通じて、本分野の魅力と可能性に触れていただきたい。ケミカルバイオロジーは化学と生物の境界・融合領域の学問であり、フードケミカルバイオロジーの進展には多様な学問分野の研究者が持つ叡智と技術の集結が欠かせない。ぜひ本書が多くの分野における学生、研究者の座右に置かれ、食品機能研究が大きな裾野を持つことを期待したい。

最後になりますが、本書の刊行に際し、ご多忙の中、快く執筆をお引き受けいただいたシンポジスト各位に深謝申し上げます。また、本書を刊行するにあたり多大なご尽力をいただいた、株式会社建帛社の筑紫和男氏をはじめとする関係者の皆様方に心より感謝を申し上げます。

2025年5月

責任編集者 山崎 正夫  
藤村 由紀  
榊原 啓之  
立花 宏文

# 目 次

## 序章 ケミカルバイオロジーと食品機能

〔山崎正夫・藤村由紀・榊原啓之〕

1. 食生活と食品の機能…………… 1
2. ケミカルバイオロジーと三次機能…………… 2
3. 細胞外小胞とケミカルバイオロジー…………… 7

## 第1編 食品を基盤とするケミカルバイオロジー

### 第1章 緑茶カテキンを生体が感知するしくみとその応用展開

〔藤村由紀・熊添基文・立花宏文〕

1. はじめに…………… 17
2. 緑茶カテキンEGCGのセンシング機構…………… 17
  - (1) 緑茶カテキンEGCGを特異的に感知するセンサー分子の同定…………… 17
  - (2) EGCGのがん細胞増殖抑制作用のメカニズム…………… 22
  - (3) EGCGのがん細胞致死誘導作用のメカニズム…………… 23
  - (4) EGCGの抗炎症作用のメカニズム…………… 26
  - (5) EGCGの抗アレルギー作用のメカニズム…………… 28
3. EGCGセンシングに着目した機能性フードペアリング…………… 29
  - (1) 食品因子間の機能的相互作用「機能性フードペアリング」…………… 29
  - (2) EGCGの感知能力の調節によるEGCGの抗がん作用の増強…………… 30
  - (3) 柑橘ポリフェノールによるEGCG作用の増強…………… 32
  - (4) スルフィドによるEGCG作用の増強…………… 34
  - (5) 脂肪酸による緑茶の抗肥満作用の調節…………… 35
4. おわりに…………… 35

## 第2章 ビタミンEの非抗酸化的な生理作用を仲介する受容体

[白井康仁・林 大輝]

1. 抗酸化能以外のビタミンEの機能 ..... 41
2. 糖尿病性腎症とジアシルグリセロールシグナリング ..... 42
3.  $\alpha$  Tocによる糖尿病性腎症に関与するDGKとクロマン環の重要性 ..... 43
4.  $\alpha$  Tocによる糖尿病性腎症改善におけるDGK  $\alpha$  の重要性 ..... 44
5. ガレート型カテキンによるDGK  $\alpha$  の活性化と糖尿病性腎症の改善 ..... 46
6. EGCGおよび  $\alpha$  TocによるDGK  $\alpha$  の活性化における  
67kDaラミニン受容体の重要性 ..... 49
7. EGCGおよび  $\alpha$  Tocによる糖尿病性腎症の改善機構 ..... 51
8. 67LRにおける  $\alpha$  Tocの結合サイトの同定 ..... 53
9. ビタミンE受容体としての67LR ..... 56

## 第3章 ファイトケミカルの生体内での分子挙動と機能性

[中村 宜 督]

1. はじめに ..... 61
2. イソチオシアネートの化学 ..... 62
3. イソチオシアネートの代謝機構 ..... 64
4. イソチオシアネートの代謝制御による生理活性の増強 ..... 65
5. ケルセチン配糖体とその代謝機構 ..... 67
6. ケルセチン異化代謝物の生理活性 ..... 70
  - (1) 抗酸化作用 ..... 70
  - (2) アセトアルデヒド耐性増強作用 ..... 71
7. おわりに ..... 73

## 第4章 システイン残基の酸化修飾によるニンニク香気成分の

### 生理作用発現機構

[細野 崇]

1. はじめに ..... 79
2. タンパク質の酸化修飾の種類 ..... 79
3. タンパク質の酸化修飾による細胞機能の制御 ..... 80
  - (1) シグナル伝達の制御 ..... 81
  - (2) タンパク質の品質管理と分解機構 ..... 81
  - (3) 酸化ストレスと神経変性疾患 ..... 83

4. ニンニク香気成分の生成機構とその種類	85
5. ニンニク香気成分のがん細胞増殖抑制活性とタンパク質酸化修飾	86
6. ニンニク香気成分の薬物代謝酵素の誘導と活性阻害および タンパク質酸化修飾	91
7. ニンニク香気成分の血小板凝集阻害とタンパク質酸化修飾	93
8. おわりに	96

## 第5章 体内時計が刻む内因性リズムに対する食品成分の制御機構

[榊原啓之]

1. はじめに	99
2. 約24時間周期で刻まれる内因性リズムの発見	99
3. 言葉としての「概日リズム」の誕生とヒトにおける 概日リズムの確認	101
4. 哺乳類の体内時計遺伝子の発見	102
5. 転写翻訳フィードバックループが作り出す約24時間周期のリズム	103
6. 中枢時計が刻む概日リズムの調節機構	105
7. 体内時計を分子ターゲットとしたケミカルバイオロジー研究	106
(1) ROR $\alpha$ を分子ターゲットとしたノビレチンの調節効果	107
(2) インスリンシグナル伝達経路を介した概日リズムの制御	110
(3) 転写翻訳フィードバックループに作用するその他の化学物質	112
8. おわりに	113

## 第2編 フードケミカルバイオロジーに関わる 細胞外小胞とマイクロRNA

### 第6章 食品因子の機能性発現におけるマイクロRNAの役割

[熊添基文・立花宏文]

1. はじめに	119
2. マイクロRNAとその合成経路	120
(1) マイクロRNAとは	120
(2) マイクロRNAの構造と生成メカニズム	120
(3) マイクロRNAによる遺伝子発現抑制メカニズム	121

3. 緑茶ポリフェノールの作用を仲介するマイクロRNA	122
(1) 緑茶の機能性	122
(2) EGCGとその受容体67LR	123
(3) 緑茶カテキンEGCGのマイクロRNAを介した生体調節作用	123
4. イソフラボンの作用を仲介するマイクロRNA	127
(1) 大豆イソフラボン代謝物エクオールとその機能性	127
(2) 大豆イソフラボン代謝物エクオールの抗線維化作用を担う マイクロRNA	129
5. アントシアニンの機能性発現を仲介するマイクロRNA	131
(1) アントシアニンの筋萎縮抑制作用	131
(2) デルフィニジンの廃用性筋萎縮マウスモデルにおける筋萎縮抑制作用	132
6. おわりに	133

## 第7章 乳酸菌メンブランベシクルの免疫調節機能 〔山崎 思乃〕

1. はじめに	137
2. 腸管免疫系を活性化する乳酸菌MV	140
3. 乳酸菌MVを介したIgA産生促進のメカニズム	142
4. 乳酸菌MVに含まれる免疫調節成分	145
5. 乳酸菌によるMVの高産生化	149
6. 乳酸菌MVを介した抗炎症作用	152
7. おわりに	154

## 第8章 細胞外小胞によるポリフェノールの安定性・輸送性・機能性の向上 〔石坂 朱里〕

1. はじめに	159
2. ポリフェノール	159
3. 細胞外小胞	160
4. 細胞外小胞を介したポリフェノールの多彩な効能	161
(1) クルクミン	162
(2) レスベラトロール	169
(3) カテキン類	170
(4) アントシアニンおよびアントシアニン類	171

(5) ケルセチン	172
5. まとめと今後の展望	175

## 第9章 食用植物中に存在する機能性ナノ小胞 [山崎正夫・山崎有美]

1. 種を超えた機能の伝達	179
2. 情報伝達物質としてのRNA	180
3. 食品のmiRNAが持つ可能性	181
4. miRNAと植物細胞外小胞	183
5. 食品中ナノ小胞の単離と解析	186
6. 植物ナノ小胞の細胞への取り込み	190
7. タマネギナノ小胞の機能	192
8. miRNAと細胞外小胞	194
9. おわりに	197

## 第10章 食用植物由来エクソソーム様ナノ小胞の機能特性 [片山 茂]

1. はじめに	203
2. 植物由来ELNs	204
(1) 生合成経路	204
(2) 植物における生理的役割	205
3. 植物由来ELNsの構成成分と機能特性	206
(1) タンパク質	206
(2) 脂質	208
(3) 核酸	208
(4) 植物由来の生理活性物質	209
4. 食用植物由来ELNsの応用特性	210
(1) ELNsの単離	210
(2) 安定性	211
(3) 生体移行性	212
(4) 安全性	213
5. 品種改良ケール由来ELNsの皮膚アンチエイジング作用	213
(1) 皮膚の老化	214
(2) 品種改良ケールの皮膚アンチエイジング作用	214

(3) 品種改良ケール由来ELNsのコラーゲン産生促進作用 ..... 215

(4) 品種改良ケール由来ELNsが細胞外マトリックスに与える影響 ..... 217

6. おわりに ..... 218

索引 ..... 223

# 第1章 緑茶カテキンを生体が感知するしくみとその応用展開

藤村由紀\*, 熊添基文\*, 立花宏文\*

## 1. はじめに

緑茶を始めとした機能性を有する食品は多彩な成分から構成されており、特に、非栄養素であるポリフェノールは生体にとって異物であるが、健康維持・増進効果や疾病リスク低減効果が期待されている。一方、このようなポリフェノールの生体調節機能の解明に関する研究と比べて、その生体調節メカニズムは必ずしも明確でない点が多い。生体はさまざまな外来異物の侵入をToll様受容体 (TLR) 等のセンサー分子で感知し応答することで恒常性を保持しているが、本章では、われわれの体が生体異物としてのポリフェノールを感知し、その機能性を発現するという観点から、機能性食品因子の代表格である緑茶カテキンのエピガロカテキン-3-O-ガレート (epigallocatechin-3-O-gallate : EGCG) のセンシング機構を紹介する。また、このようなEGCGセンシングに着目して、生体調節機能のある食品因子とその作用を高めるほかの食品因子とを組み合わせる「機能性フードペアリング」についても言及する。

## 2. 緑茶カテキンEGCGのセンシング機構

### (1) 緑茶カテキンEGCGを特異的に感知するセンサー分子の同定

緑茶 (*Camellia sinensis*) は紀元前の中国で発見され、唐時代には薬として利

---

\* 九州大学大学院農学研究院

## 18 第1章 緑茶カテキンを生体が感知するしくみとその応用展開

用されていたと考えられている。日本においては鎌倉時代に栄西禪師ようさいぜんじが『喫茶養生記』で、「茶は養生の仙薬なり。延齢の妙術なり」と記していることから、古くから茶が薬として重宝されてきたことがうかがえる。現在、体脂肪低減作用、コレステロール低下作用、血圧降下作用、脳卒中予防作用、抗アレルギー作用など緑茶の多彩な生理活性が明らかにされている<sup>1)</sup>。

緑茶の生理活性を担う代表的な成分として、ポリフェノールの一種であるカテキンがあり、EGCG、エピガロカテキン (epigallocatechin : EGC)、エピカテキン-3-O-ガレート (epicatechin-3-O-gallate : ECG)、エピカテキン (epicatechin : EC) が知られている (図1-1)。これら4つのカテキンのうち、EGCGはほかのカテキンと比較して最も含量が多く、強い生理活性を示すとともに、茶以外の植物には見いだされていないことから、緑茶を特徴づける成分である<sup>1)</sup>。EGCGを主成分とするカテキン製剤ポリフェノンEによる前立腺がんの予防作用<sup>2)</sup> やコンジローマの治療 [米国食品医薬品局 (FDA) から植物製剤第一号として承認]<sup>3)</sup>、EGCGのメチル化体であるエピガロカテキン-3-O-(3-O'-メチル)ガレート [epigallocatechin-3-O-(3-O'-methyl)gallate : EGCG3' Me] を含む品種「べにふうき」緑茶の摂取による花粉症の症状軽減効果などが報告され<sup>4)</sup>、EGCGの作用メカニズムに関する研究が活発に行われている。ヒトを対象とした薬物動態学的研究から、日常生活におけるEGCG摂取後の最大血中濃度は通常1.0  $\mu$ M未満であると報告されているが、EGCGサプリメント、またはEGCGを60%含有する緑茶抽出物ポリフェノンEの経口投与では、EGCGの血中濃度が7  $\mu$ Mにも達することが示されている<sup>5)</sup>。

これまで*in vitro*で観察されたEGCGの薬理学的効果のほとんどは、緑茶やEGCGの摂取後に生体内で観察された生理的濃度よりもかなり高い濃度 (10~100  $\mu$ M) で得られたものである。EGCGの生理活性発現メカニズムの解明のためには、EGCGの生体内標的分子の同定が必須であり、現在までに多数の細胞内タンパク質が報告されているが<sup>6)</sup>、それらはいずれも生理的濃度からかけ離れた量のEGCGを使用して得られた結果となっている。

こうした既存研究の問題点を踏まえて、筆者らは生理的濃度のEGCGの活性

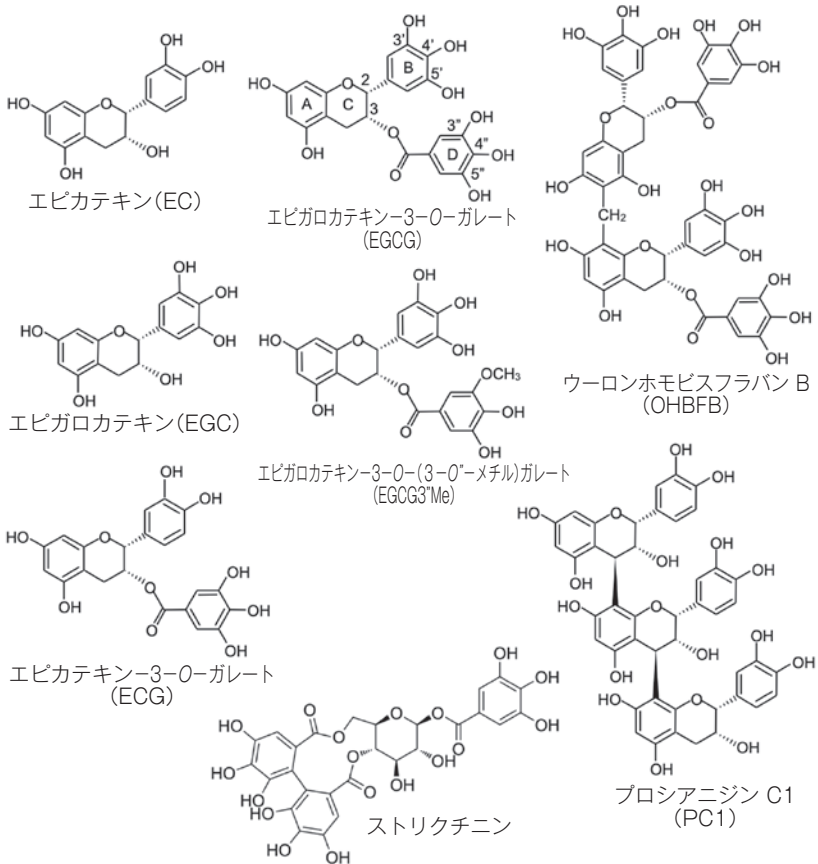


図 1-1 茶カテキンとそれら類似物の化学構造

発現に関与する真の標的分子を探索した結果、2004年にEGCGの細胞表面への結合とがん細胞増殖抑制作用を仲介する細胞膜受容体として67kDaのラミニンレセプター (67LR) を見いだした ( $K_a=40 \text{ nM}$ )<sup>7)</sup>。67LRは、非コラーゲン性の基底膜糖タンパク質の一種であるラミニンに結合する細胞膜タンパク質として同定された、非インテグリン型ラミニンレセプターである。本レセプターは悪性度の高いがん細胞に高発現し、その増殖、接着、遊走、浸潤、転移などと関連している<sup>8)</sup>。血管内皮細胞、T細胞、マクロファージなどさまざまな細胞

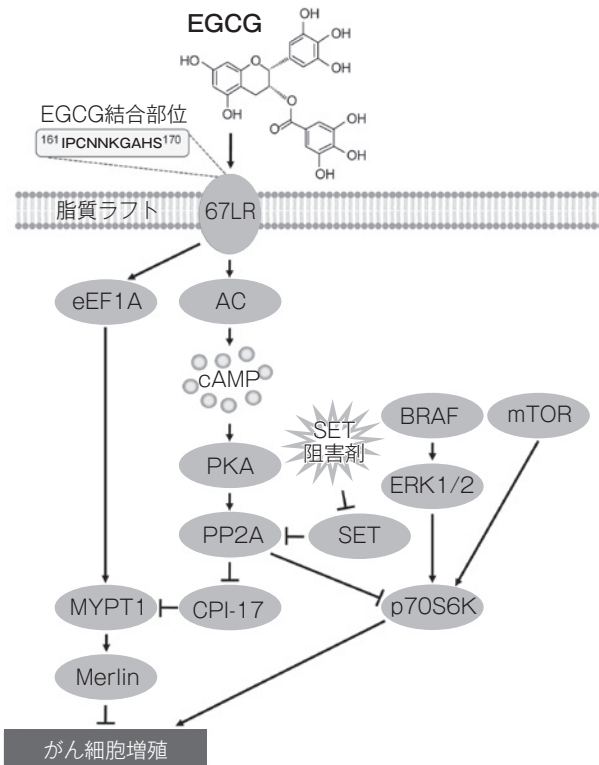


図1-2 EGCG感知レセプター67LRを介したEGCGのがん細胞増殖抑制作用機序

67LR：67kDaラミニンレセプター，eEF1A：翻訳伸長因子1  $\alpha$ ，MYPT1：ミオシンホスファターゼ標的サブユニット1，AC：アデニル酸シクラーゼ，PKA：プロテインキナーゼA，PP2A：プロテインホスファターゼ2A，CPI-17：プロテインキナーゼC活性化プロテインホスファターゼ1阻害剤-17kDa，SET：Su (var) 3-9, Enhancer of zeste, Trithorax，BRAF：急速進行性線維肉腫Bタイプ，p70S6K：70kDaリボソームプロテインS6キナーゼ，ERK1/2：細胞外シグナル調節キナーゼ1/2，mTOR：哺乳類ラバマイシン標的タンパク質。

において発現しているが，その機能についてはいまだ不明な点が多い。一方，病原性プリオンタンパク質とともに，シンドビスウイルス，デングウイルス，アデノ随伴ウイルスなどのウイルスのレセプターとしても機能している<sup>9)</sup>。

67LR発現を抑制したメラノーマ細胞を移植したマウス腫瘍モデル実験では，EGCGの経口摂取による腫瘍成長抑制作用が67LR発現抑制により完全に消失

したことから<sup>10)</sup>、67LRが生体内におけるEGCGの抗がん作用を仲介するレセプターであることが明らかとなった。EGCG結合部位は67LRの細胞外ドメインに位置し、161～170番目のアミノ酸残基から成る配列であり(図1-2)、配列中の塩基性アミノ酸がEGCGとの結合に重要であった<sup>11)</sup>。このEGCG結合配列はラミニンの結合部位173-178と隣接するとともに、プリオンの結合部位161-179とも重複している。67LRはコレステロールとスフィンゴ脂質に富む細胞膜マイクロドメインである脂質ラフトに局在しており、脂質ラフトを介したさまざまな細胞内イベントへの関与が示唆されている<sup>9)</sup>。

緑茶にはカテキン以外にもカフェインなどの生理活性成分が含まれているが、EGCG以外の成分(EC, EGC, カフェイン, ケルセチン)は67LRと結合せず、がん細胞増殖作用も示さなかった<sup>7)</sup>。また、EGCGを含むガレート型カテキンの細胞表面への結合には67LRが関与することが示唆されたが<sup>9)</sup>、EGCGと同様にガレート基を有する茶葉成分ストリクチニン(図1-1)は細胞表面には結合するが、67LRが局在する脂質ラフトではなく、非ラフト領域に結合することから、67LRに結合しないと考えられた<sup>9)</sup>。したがって、EGCGと67LRとの結合には、フラバン-3-オール構造とガレート基の関与が示唆されている。最近では、がん細胞表面に高発現する67LRにEGCGが特異的に結合する性質を利用することでがん細胞にEGCG-抗がん剤複合体を集積させて殺傷するドラッグデリバリーシステムも考案されている<sup>12)</sup>。

筆者らは67LR上におけるEGCGの分子集合体形成がEGCGによる67LRの活性化に重要なファーストステップであることを明らかにした<sup>13)</sup>。フラバン-3-オールにおける分子集合体として、カカオ、黒大豆、リンゴ、グレープシードに多く含まれる縮合型タンニン的一种であるプロシアニジン類が知られている。ECの三量体であるプロシアニジン C 1 (PC 1) (図1-1)の抗がん作用が報告されているが<sup>14)</sup>、その分子メカニズムは長らく不明であった。これに対して筆者らは、PC 1が細胞表面への結合性を示すと同時に67LRに結合し、その $K_d$ 値は2.8  $\mu$ Mであることを明らかにした<sup>15)</sup>。また、PC 1の抗メラノーマ作用が67LRを介したプロテインキナーゼA (protein kinase A : PKA) とプロテ

ンホスファターゼ 2 A (protein phosphatase 2 A : PP 2 A) の活性化に基づく細胞増殖抑制が重要であることが示された。一方、ウーロンホモビスフラバン B (OHBFB) は、EGCGの二量体でウーロン茶に特徴的なポリフェノールであるが (図 1-1), その抗メラノーマ作用にも67LRへの結合 ( $K_d = 3.7 \mu M$ ) を介したPKA/PP 2 A経路の活性化が重要であることが見いだされた<sup>16)</sup>。

## (2) EGCGのがん細胞増殖抑制作用のメカニズム

がん細胞増殖抑制作用を有するEGCGは67LRを介して細胞内ストレスファイバー (細胞骨格を形成するアクチンとミオシンの複合体で細胞に張力を与えている) を消失させるとともに, ストレスファイバーや細胞分裂期の収縮環の形成に重要なミオシン軽鎖 (myosin regulatory light chain : MRLC) のリン酸化レベル低下作用を有する<sup>17)</sup>。そこで67LRを介したEGCGのシグナル伝達関与分子の同定を目的とし, 遺伝子断片ライブラリーを導入発現させることで表現型に関与する遺伝子を探索する手法であるGSE (genetic suppressor elements) 法を用いて, EGCGのメラノーマ細胞の増殖抑制作用に関与する遺伝子を網羅的にスクリーニングした。その結果, 翻訳伸長因子 1  $\alpha$  (eEF 1 A) ならびにPP 2 AがEGCGの67LRを介した細胞増殖抑制作用の発現に不可欠な遺伝子として見いだされた (図 1-2) <sup>10, 18)</sup>。

EGCGが67LRに結合すると, MRLCのThr18/Ser19リン酸化が抑制される結果, がん細胞増殖が阻害されるが<sup>17)</sup>, これはEGCGがミオシンホスファターゼ活性を負に調節するミオシンホスファターゼ標的サブユニット 1 (MYPT 1) のThr696リン酸化レベルを低下させること (ミオシンホスファターゼを活性化させること) に起因していることが示唆されている。実際に, MYPT 1 発現を抑制すると, EGCGによるMRLCリン酸化レベル低下作用ならびに細胞増殖抑制作用は損なわれた<sup>10)</sup>。一方, EGCGによるMYPT 1 の活性化は67LRもしくはeEF 1 Aの発現抑制により打ち消されたことから, EGCGのがん細胞増殖抑制作用には67LR/eEF 1 Aを介したMYPT 1 活性化の関与が明らかとなった (図 1-2)。

EGCGのメラノーマ細胞増殖抑制作用の発現に関与する分子として同定されたPP2Aは、正常な皮膚組織に比べてメラノーマ腫瘍組織において高発現しており、PP2A発現を抑制したメラノーマ細胞を移植したマウスではEGCGの腫瘍抑制作用ならびに延命効果が顕著に減弱した<sup>18)</sup>。また、EGCGを投与したマウスの腫瘍組織ではMYPT1の阻害分子であるCPI-17のリン酸化レベルが低下するとともに、がん抑制タンパク質であるMerlinのリン酸化レベルも低下していた。一方、PP2A発現を抑制した腫瘍では、EGCGによるCPI-17およびMerlinのリン酸化低下作用は観察されなかった。また、PP2Aの活性化阻害タンパク質であるSETのメラノーマにおける発現が正常皮膚組織に比べて異常に亢進していることを見いだした<sup>19)</sup>。さらに、SET発現を抑制したメラノーマに対してEGCGの腫瘍成長抑制作用は顕著であった。PP2Aの活性はPKAにより正に制御されていることから、EGCGによるPP2A活性化におけるPKAならびにその活性化調節因子であるcAMPの関与を検討したところ、PKA阻害剤ならびにcAMP合成酵素であるアデニル酸シクラーゼ (adenylate cyclase : AC) 阻害剤によってEGCGによるPP2Aの活性化は阻害されること、また、EGCGは67LR依存的に細胞内cAMP量を増加させることが明らかとなった。EGCGが67LRに結合すると、AC/cAMP軸を介してPP2Aが活性化され、メラノーマに特異的な哺乳類ラパマイシン標的タンパク質 (mammalian target of rapamycin : mTOR) 経路の阻害とともに、CPI-17を負に活性化することでMRLCの脱リン酸化が誘導され、さらに、腫瘍抑制に関連するMerlinの活性化が引き起こされる (図1-2)。また、EGCGによって誘導されるPP2A/Merlin活性化経路はp70S6Kを阻害し、BRAF (rapidly accelerated fibrosarcoma B-type) 阻害剤との併用はBRAF耐性メラノーマに対して顕著な腫瘍抑制作用を示す<sup>19)</sup>。

### (3) EGCGのがん細胞致死誘導作用のメカニズム

多発性骨髄腫細胞では67LRが正常リンパ球と比較して高発現しており、EGCGが多発性骨髄腫細胞に対して選択的にアポトーシスを誘導する<sup>20)</sup>。EGCGはアポトーシスに特徴的に観察されるイベントのひとつである脂質ラフ

トのクラスタリングを多発性骨髄腫細胞において誘導したが、メラノーマ細胞ではこうした作用は観察されなかった<sup>21)</sup>。脂質ラフトのクラスター形成には細胞膜におけるセラミド産生が関与していることが示唆されている。そこでセラミド産生酵素の一種である酸性スフィンゴミエリナーゼ (acid sphingomyelinase : ASM) 活性に対する影響を検討したところ、EGCGはASM酵素活性を顕著に上昇させるとともに、その局在の一部を細胞質から細胞膜へ移行させた。また、EGCGのアポトーシス誘導作用はASM発現の抑制により消失した。さらに、EGCGはASMの活性化への関与が報告されているプロテインキナーゼC $\delta$  (PKC $\delta$ ) のSer664リン酸化を促進するとともに、PKC $\delta$ 特異的阻害剤がEGCGのASM活性化作用を阻害した。EGCGのPKC $\delta$ およびASM活性化作用は細胞を抗67LR抗体で前処理することでブロックされたことから、EGCGは67LRを介したPKC $\delta$ /ASM/脂質ラフトクラスタリング経路の活性化によりアポトーシスを誘導することが示された<sup>21)</sup> (図1-3)。また、多発性骨髄腫細胞株をマウスの背部皮下に移植した腫瘍モデルにおいて、EGCGはPKC $\delta$ /ASMを活性化することで多発性骨髄腫にアポトーシスを誘導することが明らかとなった<sup>21)</sup>。

67LRは血管内皮に対するずり応力を感知するセンサーとして一酸化窒素 (nitric oxide : NO) の産生に関与するとの報告<sup>22)</sup>に基づいて、多発性骨髄腫細胞の致死作用におけるNOの関与を調べたところ、EGCGが67LRを介して産生誘導するNOが細胞致死活性を示すこと、また、そのNO産生はAktならびに内皮型NO合成酵素 (endothelial NO synthase : eNOS) の活性化が関与することを見いだした。産生されたNOは可溶性グアニル酸シクラーゼ (soluble guanylate cyclase : sGC) を活性化してcGMP産生を誘導するが、EGCGは多発性骨髄腫細胞特異的にcGMP産生を誘導し、このcGMPがPKC $\delta$ ならびにASMの両酵素を活性化してアポトーシスを誘導した<sup>23)</sup> (図1-3)。

EGCGによるアポトーシス誘導作用は67LR陽性の多発性骨髄腫細胞に特異的であるが、生理的濃度では誘導されない。多発性骨髄腫細胞では正常細胞と比較してcGMP量を負に調節するcGMP分解酵素ホスホジエステラーゼ5

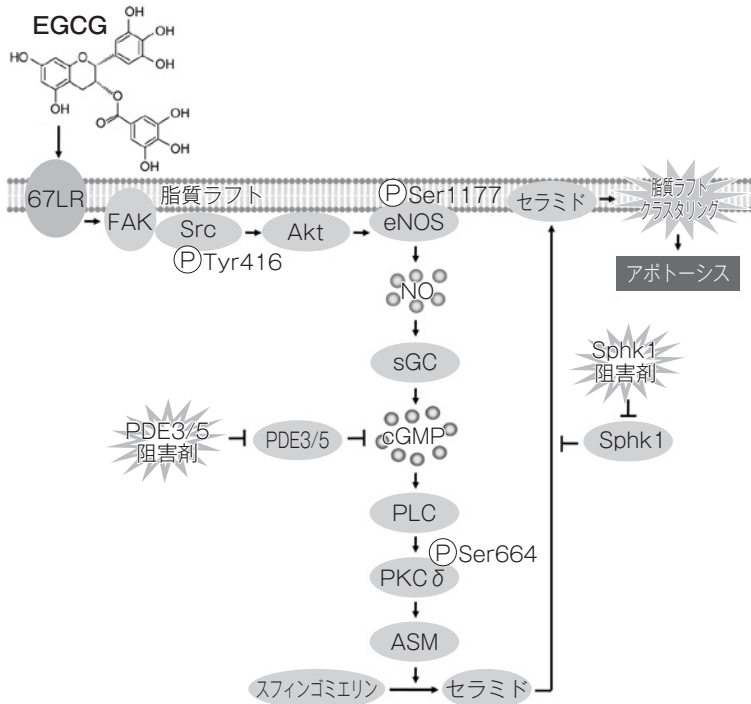


図 1-3 EGCG感知レセプター67LRを介したEGCGのがん細胞致死作用機序

FAK：接着斑キナーゼ，NO：一酸化窒素，eNOS：内皮型NO合成酵素，sGC：可溶性グアニル酸シクラーゼ，PDE：ホスホジエステラーゼ，PLC：ホスホリパーゼC，PKC $\delta$ ：プロテインキナーゼC $\delta$ ，ASM：酸性スフィンゴミエリナーゼ，SphK1：スフィンゴシンキナーゼ1。

(phosphodiesterase 5：PDE5)の発現量が著しく高いために、PDE5阻害剤を併用したところ、EGCGは正常リンパ球を傷害することなく多発性骨髄腫細胞に対して67LR依存的なアポトーシスを強力に誘導した<sup>23)</sup>。PDE5は多発性骨髄腫細胞以外にもさまざまながん細胞に高発現しており、PDE5阻害剤はEGCGのがん細胞致死作用を顕著に増強する<sup>23)</sup>。PDE3阻害剤とEGCGの併用は膀胱がん幹細胞形質発現を強力に阻害するとともに、その肝転移を抑制する<sup>9)</sup>。

cGMP誘導後のメカニズムを検討したところ、EGCGによるcGMPの増加がPKC $\delta$ のSer664リン酸化を誘導し、その結果、ASMが活性化されるとともに、

ホスホリパーゼC (phospholipase C : PLC) 活性も上昇させた<sup>9)</sup>。PLC阻害剤はEGCG誘導性のASM活性化を抑制するとともに、PKC  $\delta$  の活性化に必要なジアシルグリセロールの産生阻害剤はEGCGの活性を強く増加させることが明らかとなった。これらの結果は、EGCGがcGMP/PLC/PKC  $\delta$  /ASMシグナル伝達経路の活性化によりアポトーシスを誘導することを示唆した(図1-3)。また、EGCGはがん原遺伝子である*c-src*の活性化 (SrcのTyr416リン酸化) を促進することを見いだした<sup>9)</sup>。Srcリン酸化の制御因子である接着斑キナーゼ (focal adhesion kinase : FAK) は67LRと共局在しており、EGCGはFAKと67LRの相互作用を増強した<sup>9)</sup>。さらに、SrcとFAKの薬理的阻害により、EGCGによるアポトーシスの初期メカニズムであるAkt活性、cGMPレベル、ASM活性の上昇が抑制された。これらの結果から、FAK/SrcがEGCG誘発性Akt/cGMP/ASM活性化の最上流のシグナル伝達に関与すると考えられる(図1-3)。

#### (4) EGCGの抗炎症作用のメカニズム

EGCGはマクロファージにおけるグラム陰性菌由来のリポ多糖 (lipopolysaccharide : LPS) のTLR 4 を介して誘導される炎症反応を阻害する。EGCGによる炎症メディエーターの産生阻害作用は67LR発現の抑制により消失する<sup>24)</sup>。LPSによる炎症メディエーター産生はTLR 4 を介したシグナル伝達経路を経て誘導されるが、EGCGはLPS誘導性の核内因子  $\kappa$ B (nuclear factor  $\kappa$ B : NF- $\kappa$ B) 経路および分裂促進因子活性化プロテインキナーゼ (mitogen-activated protein kinase : MAPK) 経路を阻害すること、また、TLR 4 発現を転写レベルで抑制することを見いだした(図1-4)。さらに、EGCGは67LRを介してTLR 4 発現を抑制するとともに、TLR 4 シグナリングの抑制性分子であるToll相互作用タンパク質 (Tollip) 発現を増加させることでLPS誘導性のTLR 4 シグナリングを阻害し、炎症応答を抑制することが明らかとなった。グラム陽性菌由来のペプチドグリカン(TLR 2 を介して炎症誘導するが、こうしたペプチドグリカン誘導性のTLR 2 シグナリングもEGCGは67LRを介したTollip発現の増強に基づいて阻害する<sup>25)</sup>。EGCGは、PP 2 A/cGMP依存的機