

ポリフェノールの生理機能を高める酵素のチカラ ～イソフラボン代謝を中心に～

東京農業大学 応用生物科学部 教授 上原万里子

【略歴】

1988年 東京農業大学大学院農学研究科博士後期課程修了 農学博士
1988年 東京農業大学農学部助手
1993年 東京農業大学農学部講師
1997年 東京農業大学農学部助教授、ヘルシンキ大学医学部博士研究員
1999年 東京農業大学応用生物科学部助教授(後に准教授)
2008年 東京農業大学応用生物科学部教授

【はじめに】

食品中のポリフェノールは配糖体として存在しており、多くのポリフェノールは腸管で吸収される際には糖鎖を切断する酵素が、吸収後の主な移動形態である抱合体となる際には抱合化酵素が、腸肝循環後に再吸収される場合にも脱抱合酵素が必要となり、これらの酵素なくしては生理機能を発揮できない。また、主に腸肝循環中に親物質から代謝される代謝産物の方が高い生理機能を有することが報告されているものもある。本講演では、酵素によりその生理機能が高められるポリフェノールとして、大豆イソフラボン代謝産物を中心に紹介する。

【イソフラボン代謝産物 equol】

イソフラボンには主に大豆に含まれるポリフェノールの一種であるが、ほとんどが配糖体であり、その吸収には腸内細菌または小腸微絨毛膜上の glucosidase による糖鎖の切断が必要である。吸収部位はイソフラボン配糖体の場合、小腸下部もしくは大腸である。吸収後、殆どがグルクロン酸もしくは硫酸抱合体（一部メチル化体）で腸肝循環する間に一部が代謝産物へと変化する¹⁾。抱合化を受ける部位は吸収上皮細胞もしくは肝臓であるが、その構造により異なることが報告されている²⁾。イソフラボンはアグリコンのまま門脈を経て肝臓に送られた後、抱合化を受ける割合が高いことが示唆されている²⁾。

主要イソフラボンの daidzein は大豆の胚軸部分に多く、配糖体は daidzin と呼ばれ、糖鎖切断後にアグリコンの daidzein となる。Daidzein も抱合化・メチル化を受けて腸肝循環するが、その間に代謝産物の equol もしくは *o*-DMA となる。Equol は、齧歯目では殆どの個体で daidzein から代謝されるが、ヒトでは欧米人で 20～30%、日本人で 50%しか代謝できないと言われている³⁾。Daidzein から equol に代謝出来る者は equol 産生者と呼ばれ、非産生者と比較し、乳がんおよび前立腺がん罹患率の低減、更年期障害の軽減、閉経後の骨量減少抑制が確認されていることから^{1,3,4)}、ヒトにおける equol 産生の有無が様々な疾患の罹患率や健康状態に影響を及ぼす可能性が高い。

【Equol 産生菌と合成経路】

Equol 産生菌単離・同定に関する報告は 1997 年から現在まで 50 位である⁵⁾。そのうち daidzein の中間代謝産物の dihydrodaidzein (DHD) までと、DHD から equol に代謝する菌が異なるとした報告⁶⁾、daidzein から安定的に equol を産生するには 4 種の菌が必要であるとした報告等混在している⁷⁾。Equol 産生能のある乳酸菌として同定された *Lactococcus* (*Lc.*) 20-92 (*garvieae*) は、1 種の菌で配糖体 daidzin の糖鎖切断からアグリコンの daidzein、中間代謝産物の DHD を経て equol 産生を行うことが可能である⁸⁾。Equol には (*S*) (-) と (*R*) (+) の鏡像異性体が存在するが、大豆や大豆製品を摂取した後、ヒトの血・尿中に出現してくるのは (*S*) 体のみであることから、Setchell らは、equol の体内における生理作用は (*S*) 体が担っていることを推測している⁹⁾。Wang らは、DHD から (*S*)-equol への転換途中には *cis/trans*-tetrahydrodaidzein (THD) が存在することを報告している¹⁰⁾。Daidzein → (*R*)-DHD → (*S*)-DHD → *trans*-THD → (*S*)-equol の各転換ステージを触媒する reductase および racemase の同定も行われているが、(*S*)-equol と (*R*)-equol との間の racemase は存在せず、前述の生体試料で検出される equol は (*S*) 体のみであるとの Setchell らの推測を裏付けている^{4,11)}。このように生体内で高い生理機能を有する (*S*) 体は酵素が創り出している。

【Equol の骨代謝調節作用】

演者らの研究グループでは、この equol の、主としてエストロゲン受容体(ER)を介した骨代謝調節作用に着目し、鏡像異性体の効果の差異について *in vitro* および *in vivo* で検討してきた。

1) 破骨細胞(OC)分化に対する equol の影響

マウス由来の骨髄細胞(BMC)、マクロファージ細胞 RAW 264.7 を活性型ビタミンD₃または RANKL 刺激により OC に分化させ、同時に(S)-equol または(R)-equol を添加し、OC 数を TRAP 染色により測定し、OC 分化関連遺伝子およびタンパク質発現を解析した。その結果、BMC 及び RAW 264.7 における OC 数は(S)-equol または(R)-equol 添加で有意に減少し、30 μM では(R)体と比較して(S)体で強い抑制作用を示した。OC 分化関連遺伝子及びタンパク質発現量、上流因子である JNK 1/2, IκB, NFκB のリン酸化も equol により抑制され、OC 多核化に関与する OC-STAMP は特に(S)体で強い発現抑制がみられた。さらに ER 阻害剤添加により equol の OC 分化抑制作用が阻害された。以上の結果より、equol 鏡像異性体は破骨細胞分化を抑制し、特に(S)体の寄与が大きい可能性が示唆された。

2) 卵巣摘出(OVX)骨粗鬆症モデルマウスの骨量減少に対する equol の影響

8 週齢雌マウスに偽手術(Sham)もしくは OVX を施し、各マウスの背部皮下に浸透圧ポンプを挿入し、溶媒に溶解した(S)-, (R)- または racemic equol (0.5mg/day)投与を 4 週間行ったところ、OVX による骨量減少は(S)-equol 投与で(R)- 及び racemic equol よりも強く抑制された。また、この時の血中および脛骨中の鏡像異性体濃度でも(S)体の方が(R)体やラセミ体よりも高値を示し、皮下投与後の生体内代謝が(S)体と(R)体では異なることが示唆され、構造の違いにより脱抱合酵素の作用が異なることが推測された。

【カテキンによる Senescence Marker Protein 30(SMP30)の調節機構】

老化の指標として知られるタンパク質 SMP30 がビタミンCの合成に必須の酵素であり、SMP30 を作れないマウスではビタミンCが減少し老化が進行することが報告されている。演者らの研究グループでは、ポリフェノールであるカテキン(EGCG)が、逆に SMP30 の発現を調節することを見出した。実際に EGCG は SMP30 のタンパク質発現を増加させたが、mRNA 発現は変化させなかった。タンパク質合成阻害剤を用いた実験により、EGCG は SMP30 遺伝子の発現調節を介さず、SMP30 タンパク質の安定化(翻訳後調節)を制御していること、また、EGCG は ROS-ERK1/2 シグナルの抑制を介して SMP30 の発現を増加させることも示唆された¹²⁾。

【おわりに】

イソフラボン代謝産物が示すようにポリフェノールの生理機能は酵素により高められるが、SMP30 のように酵素の発現をポリフェノールが高める場合もある。また、柑橘系ポリフェノールであるヘスペリジンを酵素処理(糖転移)することにより水溶性が 2 万倍以上に高まり、特に飲料への用途が広がることで、トクホの関与成分にもなっている。我々の骨粗鬆症モデルマウスによる実験結果でも、通常のヘスペリジンより糖転移 αG ヘスペリジン投与の方が、血中アグリコン濃度が高値傾向となり、OC 数が減少する結果となった¹³⁾。今後お互いの機能を高め合うポリフェノールと酵素の新しい関係に期待したい。

【参考文献】

- 1) Adlercreutz H, Mazur W, *Ann. Med.*, 29, 95-120 (1997).
- 2) Murota K, Shimizu S, Terao J *et al.*, *J. Nutr.*, 132, 1956-1961 (2002).
- 3) Atkinson C, Frankenfeld CL, Lampe JW, *Exp. Biol. Med.*, 230, 155-170 (2005).
- 4) Murota K, Nakamura Y, Uehara M. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 82, 600-610 (2018).
- 5) Mayo B, Vázquez L, Flórez AB, *Nutrients*, 11: 2231(1-20) (2019).
- 6) Tamura M, Tsushida T, Shinohara, K *et al.*, *Anaerobe*; 13, 32-35 (2007).
- 7) Decroos K, Vanhemmens S, Cattoir S *et al.*, *Arch. Microbiol.*, 183, 45-55 (2005).
- 8) Uchiyama S, Ueno T, Suzuki T, *J. Intest. Microbiol.*, 21, 217-220 (2007).
- 9) Setchell KD, Clerici C, Lephart ED *et al.*, *Am. J. Clin. Nutr.*, 81, 1072-1079 (2005).
- 10) Wang XL, Kim HJ, Kang SI *et al.*, *Arch. Microbiol.*, 187, 155-160 (2007).
- 11) Shimada Y, Takahashi M, Miyazawa N *et al.*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 78, 4902-4907 (2012)
- 12) Inoue H, Arakawa K, Uehara M *et al.*, *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 68, 51-57 (2021).
- 13) Chiba H, Ishimi Y, Uehara M *et al.*, *Phytother. Res.*, 28, 289-295 (2014).