

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：25301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K11080

研究課題名(和文) アラキドン酸代謝酵素に対して食品成分の変化が及ぼす影響に関する研究

研究課題名(英文) Study on effect of changes in food ingredients on the catalytic activities of arachidonic acid-metabolizing enzymes

研究代表者

川上 祐生 (Kawakami, Yuki)

岡山県立大学・保健福祉学部・准教授

研究者番号：30453202

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：食品を加熱処理することにより起こる成分変化が、様々な疾患の発症や病態形成に関わるアラキドン酸代謝酵素に対してどのような影響を及ぼすかについて検討した。調べた食品の中で、加熱したマイタケは未加熱のもの比べて、アレルギー疾患の増悪に関わる5-リポキシゲナーゼのはたらきを強く阻害した。この加熱したマイタケに含まれる有効成分の解明に向けて検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アラキドン酸代謝酵素とその代謝生成物は、種々の慢性疾患の病態形成や増悪化に関わることが知られる。これらの経路を標的とする薬物や食品成分は、幅広い疾患の治療と予防に役立つ可能性がある。調理加工後の食品の作用として、アラキドン酸代謝酵素の働きに対する影響を検討した研究はない。薬物ではなく、食品によりアラキドン酸代謝酵素の制御を達成することは、副作用という点だけでなく、一次予防の視点から考えても理想的である。調理加工後の食品についての科学的な検討は、その成果を実際の生活に応用しやすいものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：We investigated how the changes in food ingredients caused by heat treatment of foods affect the catalytic activities of arachidonic acid-metabolizing enzymes. Heated *Grifola frondosa* strongly inhibited the catalytic activity of 5-lipoxygenase, which is involved in the exacerbation of allergic diseases, as compared with the unheated *Grifola frondosa*. And then, we tried to examine the elucidation of active component(s) contained in the heated *Grifola frondosa*.

研究分野：食品生化学

キーワード：リポキシゲナーゼ 加熱処理 食品

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

栄養学的に重要な不飽和脂肪酸であるアラキドン酸は、アラキドン酸代謝酵素であるシクロオキシゲナーゼやリポキシゲナーゼの作用を受けて、プロスタグランジン、ロイコトリエンあるいはトロンボキサンなどの強力な生理活性物質に代謝されるが、これらは特異的受容体と結合して炎症、アレルギーのような急性疾患だけでなく、動脈硬化、線維化、発癌、神経変性などの慢性疾患の病態形成にも重要な役割を果たすことが明らかにされつつある(図1)。従って、これらの経路を標的とする薬物や

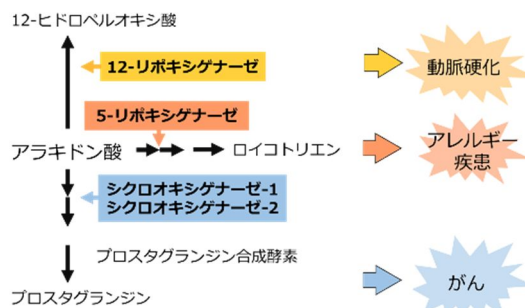


図1 アラキドン酸代謝酵素と病態の関係

食品成分は、幅広い疾患の治療と予防に役立つ可能性がある。これまでに私たちは、アラキドン酸代謝酵素を標的に、動脈硬化や癌、アレルギー疾患などの予防・改善を目指して、アラキドン酸代謝酵素を阻害することができる食品成分の探索研究を進めてきた。

食品由来の機能性成分は、医薬品と比べて、日常の食生活において習慣的に摂取することが可能であり、疾患の予防から緩和、治療へと幅広く対応できると考えられる。食品由来の機能性成分に関する研究では、食品素材自体に含まれている成分の同定および含有量の測定、それらの機能性評価などがなされる場合が多い。このような機能性成分を含む食品素材は、果物などのように生の状態で食されるものばかりではなく、実際には調理加工を必要とする食品素材も少なくない。しかしながら、食品素材自体に含まれている機能性成分と比べて、調理加工後の食品成分がどのような働きをしているかに関する情報は多いとは言えないのが現状である。

### 2. 研究の目的

本研究では、調理加工後の食品に含まれる成分が、様々な疾患の発症や病態形成に関わるアラキドン酸代謝酵素の働きにどのように影響するかを明らかにすることを目的とする。ここでは、アレルギー疾患の増悪化に関わる5-リポキシゲナーゼ活性への影響を中心に検討する。

### 3. 研究の方法

#### (1) 試料の調製

試料として用いたマイタケ、シイタケ、エリンギ、カボチャ、ニンジン、タマネギ、レンコン、ゴボウを0.5 cm角に切り、凍結乾燥後、加熱処理を行った。各試料を80%エタノールで振とう抽出し、抽出液を得た。

#### (2) 酵素活性測定

5-リポキシゲナーゼ活性は、ラット好塩基球性白血病細胞のサイトゾル画分を酵素標品として使用し、基質であるアラキドン酸と30分で5分間反応させた。白血球型12-リポキシゲナーゼ活性は、ブタ由来白血球型12-リポキシゲナーゼを過剰発現させたマウスマクロファージ様J774A.1細胞のサイトゾル画分を硫酸分画した部分精製酵素を使用し、基質であるアラキドン酸と30分で5分間反応させた。血小板型12-リポキシゲナーゼ活性は、ヒト血小板由来のサイトゾル画分を酵素標品として使用し、基質であるアラキドン酸と37分で5分間反応させた。シクロオキシゲナーゼ-1活性およびシクロオキシゲナーゼ-2活性は、それぞれの酵素を過剰発現させたヒト大腸がん由来細胞株COLO320DMのミクロソーム画分の可溶性酵素を使用し、基質としてリノール酸を用い、24分で5分間反応させた。5-リポキシゲナーゼ、白血球型12-リポキシゲナーゼ、血小板型12-リポキシゲナーゼの反応では、生成物であるヒドロペルオキシ酸が不安定なためヒドロキシ酸に還元したものを逆相高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて定量分析した(図2)。

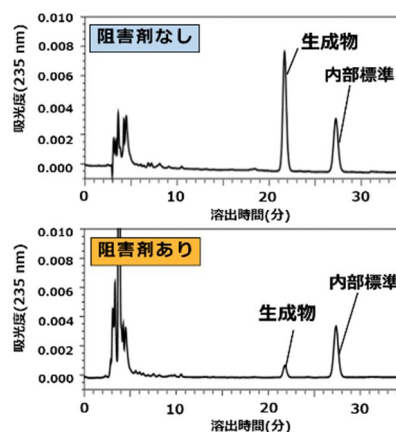


図2 5-リポキシゲナーゼ活性の測定

#### (3) 有効成分の探索

各種溶媒に対する可溶性の違いを利用して分画した。また、薄層クロマトグラフィー(TLC)を用いて分画した。得られた画分は、酵素活性測定の方法に従って酵素活性への影響を調べた。

## 4. 研究成果

### (1) 各種食品試料の酵素活性への影響

マイタケ、シイタケ、エリンギ、カボチャ、ニンジン、タマネギ、レンコン、ゴボウの加熱試料（190℃、4分加熱）と非加熱試料について、5-リポキシゲナーゼ活性への影響を検討した。その結果、マイタケにおいて非加熱試料と加熱試料で5-リポキシゲナーゼ活性に大きな差が認められ、非加熱試料が80%ほどまでの阻害であったのに対し、加熱試料では50%ほどまで5-リポキシゲナーゼ活性を阻害した（図3）。マイタケを加熱処理することにより、マイタケ内部の成分が変化し、5-リポキシゲナーゼ活性へ影響したものと考えられる。以降は、マイタケに焦点を絞って検討した。

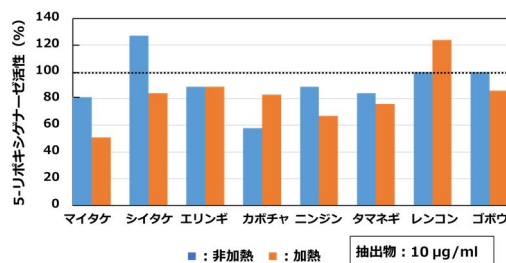


図3 加熱処理した食品の5-リポキシゲナーゼ活性への影響

### (2) 加熱条件の影響

マイタケを60℃～210℃でそれぞれ2分あるいは4分加熱し、加熱条件の違いが酵素活性へ及ぼす影響について検討した。60℃で加熱した試料では5-リポキシゲナーゼ活性を75%ほどまで阻害し、210℃で加熱した試料では5-リポキシゲナーゼ活性を45%ほどまで阻害した。加熱温度依存的に5-リポキシゲナーゼ活性は阻害され、加熱時間の大きな違いは認められなかった。以降は、210℃、2分加熱処理した試料について検討した。

### (3) 各種アラキドン酸代謝酵素活性への影響

5-リポキシゲナーゼ活性では、マイタケの非加熱試料、加熱試料いずれも濃度依存的に阻害し、非加熱試料では調べた濃度では酵素活性を50%まで阻害しなかったが、加熱試料ではその50%阻害濃度（IC<sub>50</sub>）は、12.8 µg/mlであった（表1）。白血球型12-リポキシゲナーゼ活性では、非加熱試料、加熱試料いずれも濃度依存的に阻害し、そのIC<sub>50</sub>は非加熱試料で8.2 µg/ml、加熱試料で49.7 µg/mlであり、加熱処理によって白血球型12-リポキシゲナーゼ活性に対する阻害効果は低下した（表1）。一方、血小板型12-リポキシゲナーゼ活性では、非加熱試料および加熱試料の両方で活性が上昇した（表1）。活性を上昇させた理由について今後検討を進めていく予定である。シクロオキシゲナーゼ-1とシクロオキシゲナーゼ-2においては、非加熱試料および加熱試料の両方も活性に影響を及ぼさなかった（表1）。マイタケの各種酵素活性への影響は、対象とする酵素の種類によって異なったため、それぞれの酵素に対して、どのような影響を及ぼしているのかについて明らかにしていきたい。

表1 各種アラキドン酸代謝酵素活性への影響

	非加熱試料	加熱試料
5-リポキシゲナーゼ	—	IC <sub>50</sub> 12.8 µg/ml
白血球型12-リポキシゲナーゼ	IC <sub>50</sub> 8.2 µg/ml	IC <sub>50</sub> 49.7 µg/ml
血小板型12-リポキシゲナーゼ	活性上昇	活性上昇
シクロオキシゲナーゼ-1	影響なし	影響なし
シクロオキシゲナーゼ-2	影響なし	影響なし

### (4) 有効成分の探索に向けた検討

これまでの検討で、マイタケを加熱処理すると、5-リポキシゲナーゼ活性の阻害効果が高まることを確認した。そこで、5-リポキシゲナーゼ活性阻害効果を指標に有効成分の探索を試みた。マイタケ抽出物をヘキサンと水によって分配すると、ヘキサン画分に5-リポキシゲナーゼ阻害効果が認められ、有効成分は比較的極性の低いものであることが示唆された。次に、このヘキサン画分をTLCで4つの画分に分画したところ、画分Bでは非加熱試料と比べて、加熱試料で比較的強い5-リポキシゲナーゼ阻害効果が確認された（図4）。

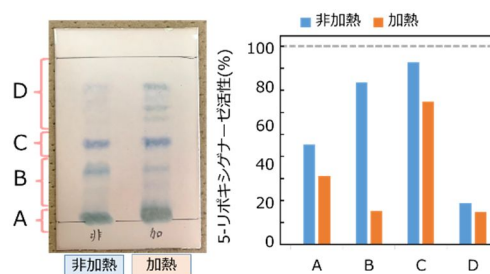


図4 TLCによる分画と各画分の5-リポキシゲナーゼ阻害効果

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 川上祐生、吉岡裕美、津嘉山泉、山本登志子、高橋吉孝
2. 発表標題 食品によるアラキドン酸代謝酵素の活性制御に及ぼす加熱の影響
3. 学会等名 第74回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 川上祐生、早川稜、戸田圭祐、津嘉山泉、山本登志子、高橋吉孝
2. 発表標題 加熱処理がマイタケ抽出物の5-リボキシゲナーゼ活性阻害に及ぼす影響
3. 学会等名 第76回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	高橋 吉孝  (Takahashi Yoshitaka)  (10236333)	岡山県立大学・保健福祉学部・教授    (25301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------