

研究種目：若手研究 (A)

研究期間：2007～2010

課題番号：19668007

研究課題名 (和文) ポリフェノール類の機能性と安全性評価のための標的分子の解析

研究課題名 (英文) Analysis of molecular targets of polyphenols for investigating their functions and safety.

研究代表者

河合慶親 (KAWAI YOSHICHIKA)

徳島大学・大学院ヘルパバイオサイエンス研究部・助教

研究者番号：50380027

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：ポリフェノール、標的分子、疾病予防、酸化ストレス、プロテオミクス

### 1. 研究計画の概要

本研究では、ポリフェノールやその代謝物を検出する新規プローブとしての抗体開発とその応用手法を構築し、食品として摂取したポリフェノール類の体内動態および生体内標的分子・標的分子を解析することにより、その機能性発現機構と安全性を評価する基礎的情報を得ることを目的としている。

### 2. 研究の進捗状況

平成 19-21 年度の研究からケルセチンやカテキンなど食品中に多く含まれるポリフェノールが動脈硬化病変部位においてマクロファージ細胞へ特異的に相互作用し、マクロファージの炎症作用を制御していることを、抗ポリフェノール抗体や培養細胞実験から明らかとした。このように、食品由来のポリフェノールは生体内で選択的に標的となる細胞へ作用することが示唆されたが、この選択性に寄与する分子については不明であった。21 年度においては、マクロファージ細胞以外にも、脳組織への移行に重要な役割を担う血液脳関門細胞へのケルセチンの特異的な蓄積を免疫組織化学的に見出した。そこで脳関門モデル細胞 (脳血管内皮細胞) を対象とし、ポリフェノール類の標的細胞への蓄積機構を検討したところ細胞膜表面に存在するアニオン結合タンパク質の存在を示唆するに至った。結合タンパクの同定を試みるためのポリフェノールプロテオミクスの開発を試み、ケルセチン代謝物をプローブとしたタンパク質の同定が可能となりつつある。一方、ポリフェノール類の新たな機能性として

ミトコンドリア機能やオートファジーに対する影響に着目した。近年、オートファジー欠損は種々の疾病の発症に関わることが示唆されており、食品成分の新たな標的として期待される。そこで、オートファジー評価系について、米国国立衛生研究所 (Toren Finkel 博士との共同研究) に滞在し、その手法についての習得を行った。今後、本評価系を用いたスクリーニングを実施し、オートファジー制御能を有する新規食品素材の探索を試みる予定である。

### 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している

(理由) 本研究経費によって購入した試薬・設備によって、ポリフェノール抗体の開発および生体・細胞内からの検出法を確立することができ、ポリフェノールの機能性を制御する生体内動態が明らかになりつつあり、3 年間で計画していた課題を達成しつつある。

### 4. 今後の研究の推進方策

本研究課題の最終年となる平成 22 年度においては、ポリフェノール類 (特にフラボノイドとカテキン) についてその機能性に関わる生体内動態を最終解析し提案することを目指している。また、食品の新規機能としてのミトコンドリア・オートファジー経路への作用をスクリーニングし、新たな機能性食品素材を探索することを計画している。

### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計5件)

① Kawai Y., Saito S, Nishikawa T, Ishisaka A, Murota K, Terao J. Different profiles of quercetin metabolites in rat plasma: comparison of two administration methods. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2009, 73, 517-23 (査読有).

② Kawai Y., Tanaka H, Murota K, Naito M, Terao J. (-)-Epicatechin gallate accumulates in foamy macrophages in human atherosclerotic aorta: implication in the anti-atherosclerotic actions of tea catechins. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008, 374, 527-32 (査読有)

③ Shiba Y, Kinoshita T, Chuman H, Taketani Y, Takeda E, Kato Y, Naito M, Kawabata K, Ishisaka A, Terao J, Kawai Y. Flavonoids as substrates and inhibitors of myeloperoxidase: molecular actions of aglycone and metabolites. *Chem Res Toxicol.* 2008, 21, 1600-9 (査読有).

④ Kawai Y., Ishisaka A, Saito S, Uchida K, Shibata N, Kobayashi M, Fukuchi Y, Naito M, Terao J. Immunochemical detection of flavonoid glycosides: development, specificity, and application of novel monoclonal antibodies. *Arch Biochem Biophys.* 2008, 476, 124-32 (査読有).

⑤ Kawai Y., Nishikawa T, Shiba Y, Saito S, Murota K, Shibata N, Kobayashi M, Kanayama M, Uchida K, Terao J. Macrophage as a target of quercetin glucuronides in human atherosclerotic arteries: implication in the anti-atherosclerotic mechanism of

dietary flavonoids. *J Biol Chem.* 2008, 283, 9424-34 (査読有).

〔学会発表〕 (計3件)

① 河合慶親、Immunochemical characterization of flavonoid metabolites in aorta: implication in the anti-atherosclerotic effect、3rd International Conference on Polyphenol and Health (ICPH)、平成19年11月26日、京都

② 河合慶親、寺尾純二、機能性ポリフェノールの標的部位と作用機構: 抗ポリフェノール抗体の開発から見えてきたこと、日本農芸化学会2009年度大会シンポジウム、平成21年3月28日、福岡

③ 河合慶親、抗酸化食品因子の生体内標的部位と酸化ストレス制御機構に関する研究、日本農芸化学会中四国支部第26回講演会、2010年1月23日、松山

〔図書〕 (計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

〔その他〕