

機関番号：36301

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008 年度～2010 年度

課題番号：20500733

研究課題名 (和文) アリル炭化水素受容体活性を指標にした機能性食品の安全性評価に関する基礎検討

研究課題名 (英文) Fundamental study on safety estimation of functional foods with the guidance of aryl hydrocarbon receptor activation

研究代表者

天倉 吉章 (AMAKURA YOSHIAKI)

松山大学・薬学部・准教授

研究者番号：50321857

研究成果の概要 (和文)：天然由来のアリル炭化水素レセプター (AhR) リガンドは、高濃度でダイオキシン様活性を示すことを明らかにしている。そこで本研究では、天然 AhR リガンドについて、高濃度での摂取が想定される機能性食品の安全性評価プローブとしての可能性を追求するために、機能性食品原料の AhR 活性を評価した。その結果、数種にダイオキシンと比較すると $10^6 \sim 10^9$ 倍の高濃度領域で AhR 活性が認められた。それら活性本体を精査し、新たな天然 AhR リガンドを明らかにすることが出来た。

研究成果の概要 (英文)：The aryl hydrocarbon receptor (AhR) mediates the toxic and biological actions of dioxins. We previously demonstrated that several natural aryl hydrocarbon receptor ligands from foods showed a dioxin-like activity at high concentration levels. In this study, to pursue the possible use as a probe for estimating the safety of functional foods, which predicts an excess intake of food constituents, the influence of health food materials on the AhR was evaluated. As a result, most tested samples did not show any AhR activation at high concentration levels, but some samples promoted the AhR activity in the range of high concentration levels at 10^6 - 10^9 -fold compared to that of dioxin. Furthermore, several new natural AhR ligands were characterized from the AhR activated fractions of health food materials.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2009 年度	700,000	210,000	910,000
2010 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：健康と食生活

1. 研究開始当初の背景

「食の安全と安心」という言葉は定着しつつあるが、食に関する社会問題は絶えずマスコミを賑わし、“安心”へ至るには様々なシステムの構築が急務とされる。我が国は高齢化社会を向かえ、健康に関する国民の興味は

年々増加傾向にあり、その対象の一つとして“食”が取り上げられている。今後、健康志向の上昇とともに、特に健康増進法に定められる保険機能食品やいわゆる健康食品（機能性食品）の需要がさらに伸びることが予測さ

れる。機能性食品は、食品中の有効成分のみを効率的に摂取できることが特長であるが、食品であることから、用量以上を過量に摂取していることも多い。健康人の長期にわたる有効成分の過剰摂取が、危惧されているのも事実であり、そのリスクについては議論の余地がある。しかし、特にいわゆる健康食品については、行政的制約が少ないこともあり、有効性に関する情報に比べてリスク情報は不明な部分が多く、その評価法も少ない。また高齢化社会では、薬の多種併用がさらに進み、これに加えて機能性食品の過剰摂取が予測され、それらの相互作用も問題視される。今後、“安心”のためには様々な角度からのリスク評価が必要不可欠で、その提案が望まれる。

2. 研究の目的

研究代表者らは、P450系酵素の遺伝子を誘導し、ダイオキシンの有害影響発現に必須なアрил炭化水素受容体(AhR)と食品成分の相互作用に関する研究を実施している。これまでの結果から、大豆イソフラボンなどをはじめとするいわゆる植物エストロゲンが食品中の天然AhRアゴニスト(ダイオキシン様物質)であることを明らかにし、これらは通常の食事レベルでは問題はなく、非現実的な過剰摂取によりダイオキシン様活性を引き起こす可能性があると考えしている。一方で特定成分の過剰摂取が想定される機能性食品においてはその可能性が否定できない。そこで本研究では、機能性食品の安全性評価法の確立を目指し、“AhR活性化”の機能性食品のリスク評価への応用について基礎的検討を実施する。AhRはダイオキシン受容体として様々な研究が実施されている一方で、従来の生理機能がわかっていないオーファンレセプターの一つとしてあげられている。新たなタイプの天然AhR活性化物質を明らかにす

ることで、AhRの従来機能の解明への展開も目指した。

3. 研究の方法

(1) 市販健康食品のAhR活性の検討

①試料調製：健康増進法に定められる保険機能食品やいわゆる健康食品(機能性食品)を含め、様々な用途の範囲から、健康食品素材約50種の試料を選択した。それぞれを粉砕機により粉末にし、含水エタノール中で超音波処理による抽出を行い、ろ過後、ろ液を減圧濃縮した。濃縮物を凍結乾燥し、得られた乾燥物を試料とした。

②活性評価：アッセイはダイオキシンの毒性評価に使用され、ダイオキシン量測定バイオアッセイとしても使用されているレポータージーンアッセイにより評価した。

(2) 機能性食品中のAhR活性成分の検索

(1)でAhR活性を示した機能性食品試料から、AhR活性成分を単離、構造解析を行った。

①分画、精製：原料の含水アルコール抽出物を*n*-ヘキサン、酢酸エチル、*n*-ブタノールで順次分配し、各分画物を得た。AhR活性を指標に各種カラムクロマト(Diaion HP-20, MCI-gel CHP20Pなど)による分離精製を繰り返す。単離した化合物について構造解析を行った。同定された化合物について、(1)-(2)の評価法によりAhR活性を評価した。

4. 研究成果

(1) 市販健康食品のAhR活性の検討

試料の含水アルコール抽出物について、AhR活性を評価した。その結果、大半は100 mg/mLの高濃度においてもAhRの活性化は認められなかった。一方で、一部試料は1~100 mg/mLの濃度領域でAhR活性化を示した。図1にAhR活性を示した試料と比較に用いたダ

イオキシシ [2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (2378-TCDD)] の用量-反応曲線を示すが、2378-TCDD と比較すると約 $10^6 \sim 10^9$ 倍の高濃度領域で AhR 活性を示すことがわかる。特に、エビスグサ種子 (ケツメイシ) 抽出物は $1 \sim 10$ mg/mL において TCDD と同等の AhR の活性化が認められた。また、ウイキョウ、アマチャヅル、アシタバ、オオバコ、ハマボウフウにおいても、高濃度領域で AhR 活性が認められた。

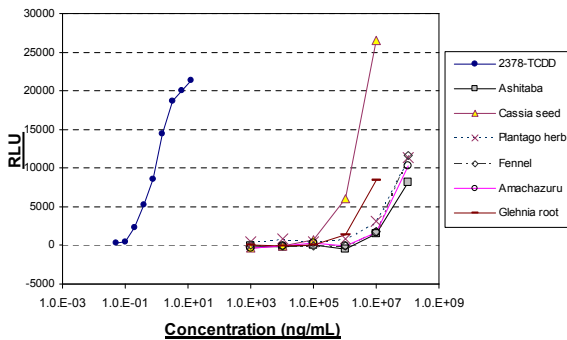


図 1. 機能性食品原料の AhR 活性

(2) 機能性食品中の AhR 活性成分の検索

(1) のスクリーニングに基づき、AhR 活性の最も強かったケツメイシ抽出物について、AhR 活性を指標に天然 AhR リガンドの精査を行った。ケツメイシの含水アルコール抽出物を *n*-ヘキサン、酢酸エチルで順次分配し、各分画物を得た。分画物について AhR 活性を評価した結果、酢酸エチル分画物が強い AhR 活性を示した (図 2)。酢酸エチル分画物を Sephadex LH-20 により 9 画分 (CO-1~9) に分け、それらの AhR 活性を測定したところ、CO-2, 3 および 5 に顕著な AhR 活性が認められた (図 3)。それら活性画分中の成分を精査したところ、7 種の化合物 (chrysoobutusin, obtusifolin, obtusinin, aurantioobutusin, obtusifolin, glucoobutusin, obtusin) を単離、

同定した。得られた化合物について AhR 活性を評価した結果、obtusinin などのアントラキノに AhR 活性が認められた。特に aurantioobutusin は顕著な AhR 活性を示した (図 4)。一方、配糖体には AhR 活性は認められなかった。

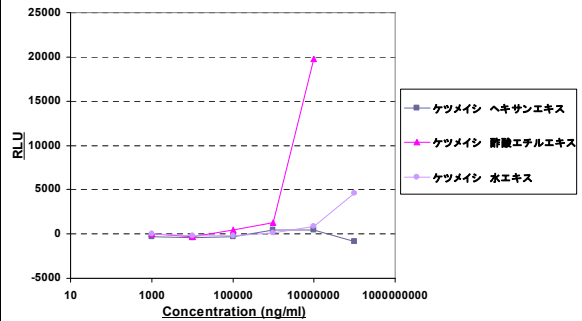


図 2. ケツメイシ分画物の AhR 活性

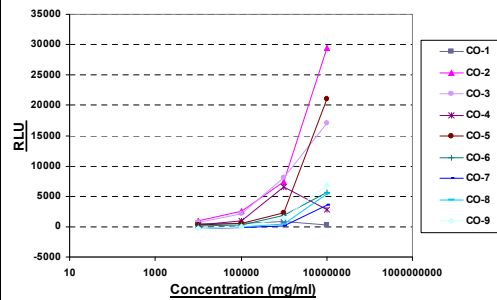


図 3. 酢酸エチル分画物の AhR 活性

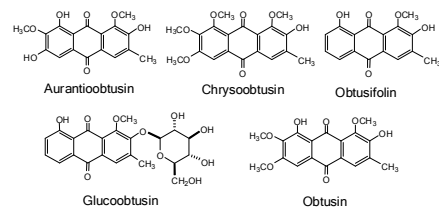
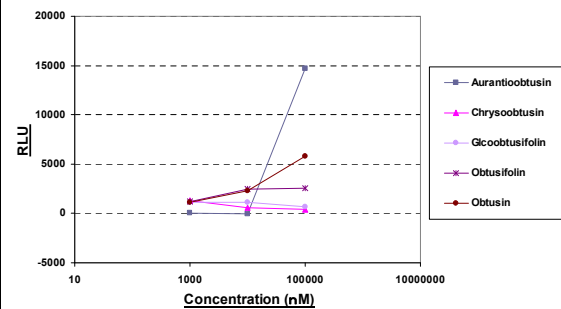


図 4. 化合物の構造と AhR 活性

(3) 今後の展望

今回、機能的食品原料由来の天然 AhR 活性成分としてアントラキノン類が明らかとなった。これらはダイオキシンと同等の分子サイズを有するが、ダイオキシンの様な蓄積性はないものと考えられる。一方で、アントラキノン類は瀉下作用が知られており、大量摂取による健康影響の可能性も否めない。今後さらに多くの天然 AhR リガンドを明らかにし、その化合物特性を追究する必要性が考察される。また最近、AhR 活性の免疫調節への関与が報告されていることから考えると、食品由来の天然 AhR 活性化成分は、免疫系制御に有効的に作用している可能性も示唆される。アントラキノン類は腸内粘膜を刺激する作用が知られており、今回の結果から、AhR を介した腸管免疫作用への寄与なども考察される

5. 主な発表論文等

(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 2 件)

- ① Yoshiaki Amakura, Tomoaki Tsutsumi, Masafumi Nakamura, Hiroshi Handa, Morio Yoshimura, Rieko Matsuda, Takashi Yoshida, Aryl hydrocarbon receptor ligand activity of commercial health foods, Food Chemistry, 査読有, 126, 2011, 1515-1520.
- ② Yoshiaki Amakura, Tomoaki Tsutsumi, Masafumi Nakamura, Hiroshi Handa, Morio Yoshimura, Rieko Matsuda, Takashi Yoshida, Tectochrysin in propolis is a potent natural aryl hydrocarbon receptor ligand, Planta Medica, 査読無, 76, 2010, 1380.

[学会発表] (計 10 件)

- ① 天倉吉章, 高岡昌司, 堤 智昭, 中村昌文, 半田洋士, 好村守生, 松田りえ子, 吉田隆志, ケツメイシに含まれる天然 AhR 活性化成分, 日本薬学会第 131 年会, 2011 年 3 月 (静岡).
- ② 天倉吉章, 堤 智昭, 中村昌文, 半田洋士, 好村守生, 松田りえ子, 吉田隆志, フラボノイドの AhR 活性について, 日本薬学会第 131 年会, 2011 年 3 月 (静岡).
- ③ Yoshiaki Amakura, Characterization of Natural Ligands for Aryl Hydrocarbon Receptor Using a Reporter Gene Assay, 2010 FIP (International Pharmaceutical Federation) PSWC (Pharmaceutical Sciences World Congress) /AAPS (American Associate of Pharmaceutical Scientists) Annual Meeting, 2010/11 (New Orleans, Louisiana, USA).
- ④ 天倉吉章, 堤 智昭, 中村昌文, 半田洋士, 好村守生, 松田りえ子, 吉田隆志, 生薬主要成分の AhR 結合活性, 日本生薬学会第 57 回年会, 2010 年 9 月 (徳島).
- ⑤ Yoshiaki Amakura, Tomoaki Tsutsumi, Masafumi Nakamura, Hiroshi Handa, Morio Yoshimura, Rieko Matsuda, Takashi Yoshida, Tectochrysin in propolis is a potent natural aryl hydrocarbon receptor ligand, 58th International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research and the 7th Tannin Conference (Presymposium), 2010. 8 (Berlin, Germany).
- ⑥ 天倉吉章, 堤 智昭, 中村昌文, 半田洋

士, 好村守生, 松田りえ子, 吉田隆志,
天然濃縮加工食品の AhR 結合活性と成分
分析, 日本薬学会第 130 年会, 2010 年 3
月 (岡山).

⑦ 天倉吉章, 堤 智昭, 中村昌文, 半田洋
士, 好村守生, 松田りえ子, 吉田隆志,
健康食品素材の AhR 結合活性について,
第 3 回食品薬学シンポジウム, 2009 年 11
月 (大阪).

⑧ Yoshiaki Amakura, Tomoaki Tsutsumi,
Masafumi Nakamura, Hiroshi Handa,
Morio Yoshimura, Rieko Matsuda,
Takashi Yoshida, Estimation of aryl
hydrocarbon receptor binding activity
of health food extracts using in vitro
reporter gene assay, The 50th
Anniversary Meeting of the American
Society of Pharmacognosy (ASP), 2009.
9 (Honolulu, Hawaii, USA).

⑨ 天倉吉章, 堤 智昭, 中村昌文, 好村守
生, 米谷民雄, 吉田隆志, 天然物濃縮加
工食品の AhR 結合活性について, 日本生
薬学会第 55 年会, 2008 年 9 月 (長崎).

⑩ 天倉吉章, AhR シグナル伝達経路に作用
する生薬, 植物性食品成分の探索研究,
日本生薬学会第 55 年会, 2008 年 9 月 (長
崎).

[図書]

現在のところなし

[産業財産権]

現在のところなし

[その他]

現在のところなし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

天倉 吉章 (AMAKURA YOSHIKI)

研究者番号: 50321857

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者
なし