

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：51101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24780136

研究課題名(和文)がん・生活習慣病予防のための新規ゲノムディフェンダー食品の開発

研究課題名(英文)Development of new genomedefender foods for the prevention of cancer and lifestyle-related diseases

研究代表者

山本 歩 (Yamamoto, Ayumi)

八戸工業高等専門学校・その他部局等・助教

研究者番号：60523800

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、青森県産カシスが出芽酵母やヒト培養細胞にてゲノムディフェンダー活性を示すことを明らかにした。出芽酵母では過酸化水素、メチルメタンサルホン酸、紫外線によって生じる突然変異に対する抑制効果が確認された。また、ヒト培養細胞では完熟および未完熟カシス並びにそれぞれの加熱処理済カシスからの抽出物が過酸化水素によって生じるDNA損傷や染色体異常を抑制することを明らかにした。更に、in vitroおよびin vivoでの抗酸化活性試験ではいずれも高い抗酸化活性が確認されており、ゲノムディフェンダー食品として高い可能性を有していることが示された。今後は、マウスを用いて生体内での活性を明らかにする。

研究成果の概要(英文)：We investigated the genome defense activity of extract from blackcurrant using the yeast loss of heterozygosity (LOH) system and the human genotoxicity assays including DNA damage, chromosomal aberration and gene mutation. In the yeast mutation assay, induction of mutations by several mutagens, namely, H₂O₂, MMS and UV was significantly suppressed by the combined treatment of the two types blackcurrant extracts which were extracted from mature and premature fruits. In the human genotoxicity assays, additionally, DNA damage and chromosomal aberration induced by H₂O₂-treatment significantly decreased in the each blackcurrant extract treated condition, which were raw and cooked blackcurrant extract. These results suggest that blackcurrant extract treatment can reduce the genomic instability induced by several mutagens. Our findings clearly support the genome defense potential of blackcurrant as a useful food supplement.

研究分野：細胞生物学

キーワード：機能性食品 ゲノムディフェンダー 抗変異原 抗酸化活性

1. 研究開始当初の背景

死因第一位であるがんに対する意識の向上、メタボリックシンドロームや糖尿病などの生活習慣病への注目度の高まりといった社会背景から、近年、日常的に摂取する食品によるがんや生活習慣病の予防が大きな注目を集めており、そのような効果を有する食品の探索・機構解析・利用が重要な研究課題となっている。がんや生活習慣病は遺伝子が正常に機能しないことで誘発されると考えられている。遺伝子の機能不全は、化学物質や物理的因子によりDNA損傷やDNA修飾、更には突然変異や染色体異常が生じることで引き起こされる。そのため、いかにして様々なストレスからゲノムDNAを防御するかが、がんや生活習慣病の予防にとって重要な鍵となる。申請者はこの様なゲノムDNAを防御する食品のことをゲノムディフェンダーと呼ぶことを提案する(従来、DNA損傷や突然変異を抑制する物質として抗変異原性物質という用語が用いられているが、一般消費者でも理解しやすい言葉として本用語を提案する)。ゲノムディフェンダーに関する基礎研究には多くの未解明なことが残されており、ゲノムディフェンダーを用いたゲノムDNAの防御という観点からのヘルスケア(ゲノムディフェンスヘルスケア)に向けての応用展開に関して検討すべきことが多い状況である。

2. 研究の目的

本研究は申請者がこれまで取り組んできた出芽酵母やヒト培養細胞のDNA損傷、突然変異、染色体異常、そして放射線障害応答機構に関するゲノム情報維持機構の安定化・活性化という視点から、ゲノムディフェンダーとして機能する新規食品の開発を目的とし、そのための新規食品の探索ならびにその防御機構の解明を行う。本研究は将来的なゲノムディフェンスヘルスケアに展開するための基盤研究として位置付けられるものである。

3. 研究の方法

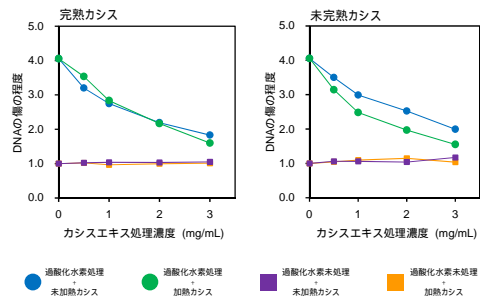
本研究では、出芽酵母突然変異検出系(Loss of Heterozygosity系)ヒト培養細胞DNA損傷検出系(Comet assay)ヒト培養細胞染色体異常検出系(小核試験)ヒト細胞突然変異検出系(TK assay)やin vitro抗酸化試験(DPPH assay)in vivo抗酸化試験(BES-H2O2 assay)などを用いて様々な視点からゲノムディフェンダー食品の探索ならびに機能解析を試みた。

4. 研究成果

(1)青森県産カシスの出芽酵母突然変異検出系による活性評価 完熟ならびに未完熟の青森県産カシスの果実から抽出したカシスエキスを用い、出芽酵母突然変異検出系にて過酸化水素、メチルメタンスルホン酸、紫外

線によって誘発される突然変異に対する抑制効果を調べた。その結果、いずれの因子に対しても両カシスエキスが突然変異抑制効果を示すことを明らかにした。

(2)ヒト培養細胞を用いた青森県産カシスの過酸化水素に起因するDNA損傷、染色体異常に対する抑制効果の検証 出芽酵母で確認されたカシスの突然変異抑制効果がヒト細胞においても確認されるかどうかを明らかにするために、ヒトリンパ芽球由来培養細胞(TK6株)を用いて過酸化水素によって生じるDNA損傷、染色体異常(小核)に対する抑制効果を調べた。使用したカシスエキスは完熟、未完熟ならびに電子レンジによる加熱処理を施した完熟、未完熟果実からの抽出物を用いた。いずれのカシスエキスも過酸化水素に起因するDNA損傷(図1)や小核の発生頻度を抑制することが示された。また、過酸化水素による細胞内活性酸素についてもカシスエキス処理により大幅に抑制できることを明らかにした。以上の結果より、カシスエキスがヒト細胞内でも効果を有することが示唆された。



DNAに酸化損傷を形成する過酸化水素に対するカシスエキスの効果。過酸化水素未処理のDNAの傷の程度を「1」として表示。

(3)ゲノムディフェンダー食品候補の探索

本研究では青森県産カシス以外の食品でゲノムディフェンダーとしての活性を有しているものがあるか出芽酵母突然変異検出系を用いて探索した。対象としては青森県八戸を中心に青森県南地方で古くから食されている食用菊(阿房宮、他2品種)や古くから生薬として利用されているセンキュウ(葉抽出物)について調べた。その結果、いずれの抽出物においても突然変異抑制効果が確認された。特に興味深いのは菊抽出物のアルキル化剤に対する効果が品種間で差が見られたことである。今後、本成果についてはヒト細胞やマウス等を用いて更なる活性評価を試みていく予定である。

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4件)

Ayumi Yamamoto, Kana Nakashima, Saori

Kawamorita, Atena Sugiyama, Masanori Miura, Yoshihiro Kamitai, Yoji Kato, Protective effects of raw and cooked blackcurrant extract on DNA damage induced by hydrogen peroxide in human lymphoblastoid cells, *Pharmaceutical Biology*, 査読有, vol.52, 2014, 782-788 DOI: 10.3109/13880209.2013.836721

Zorigtobaatar Manal, Ayumi Yamamoto, Induction of DNA damage, chromosomal aberration, and oxidative stress in human lymphoblastoid cells exposed to phenyl hydroquinone, an Ames test-negative carcinogen, *Proceedings of International Symposium on Technology for Sustainability 2013*, 査読有, 2013, CD-ROM:1-4,

Atena Sugiyama, Ayumi Yamamoto, The Antimutagenic Activities of *Cnidii rhizome* leaf extract: Evaluation using *Saccharomyces cerevisiae* mutation System, *Proceedings of International Symposium on Technology for Sustainability 2012*, 査読有, 2012, 91-94,

Ayumi Yamamoto, Satomi Kawaguchi, Kana Nakashima, Yoshihiro Kamitai, Yoji Kato, The antimutagenic activities of blackcurrant extract: Evaluation using *Saccharomyces cerevisiae* LOH system, *Genes and Environment*, 査読有, vol.34, 2012, 115-122, <http://doi.org/10.3123/jemsge.34.115>

〔学会発表〕(計 件)

山本歩、廣内篤久、中嶋奏、川守田早織、奥谷悠吾、上平好弘、加藤陽治、青森県産カシスの in vitro および in vivo 試験系による ゲノムディフェンダー活性評価、日本農芸化学会 2015 年度大会、2015

Ayumi Yamamoto, Tokuhisa Hirouchi, Kana Nakashima, Saori Kawamorita, Yugo Okuya, Yoshihiro Kamitai, Yoji Kato, In vitro and In vivo Evaluations of the Genomedefender activities of blackcurrant produced in Aomori prefecture, 日本環境変異原学会第 43 回大会、2014

ゾリグトバートル マナル, 山本 歩, Ames 試験陰性発がん物質フェニルヒドロキノンによる活性酸素の発生を介した DNA 損傷・染色体異常の誘発、日本遺伝学会第 86 回大会、2014

Zorigtobaatar Manal, Ayumi Yamamoto, Induction of DNA damage, chromosomal aberration, and oxidative stress in human lymphoblastoid cells exposed to phenyl hydroquinone, an Ames test-negative carcinogen, 日本環境変異原学会第 42 回大会、2013

Zorigtobaatar Manal, Ayumi Yamamoto, Induction of DNA damage, chromosomal aberration, and oxidative stress in human lymphoblastoid cells exposed to phenyl hydroquinone, an Ames test-negative carcinogen, *International Symposium on Technology for Sustainability 2013*, 2013

山本歩、廣内篤久、中嶋奏、川守田早織、上平好弘、加藤陽治、ヒト培養細胞・マウスを用いた青森県産カシスの DNA 損傷抑制効果の解析、日本カシス協会第 8 回総会、2013

Atena Sugiyama, Ayumi Yamamoto, The Antimutagenic Activities of *Cnidii rhizome* leaf extract: Evaluation using *Saccharomyces cerevisiae* mutation System, *International Symposium on Technology for Sustainability 2012*, 2012

杉山あてな、山本歩, The Antimutagenic Activities of *Cnidii rhizome* leaf extract: Evaluation using *Saccharomyces cerevisiae* mutation System、日本環境変異原学会第 41 回大会、2012

山本歩、廣内篤久、中嶋奏、川守田早織、上平好弘、加藤陽治、The Genomedefender activities of Aomori prefecture blackcurrant against cellular damages caused by hydrogen peroxide and ionizing radiation、日本環境変異原学会第 41 回大会、2012

山本歩、機能性食品の大きな可能性 ~ 遺伝子損傷の緩和によるがん・生活習慣病の日常的予防~、第 12 回青森糖質研究会、2012

山本歩、廣内篤久、中嶋奏、川守田早織、上平好弘、加藤陽治、Evaluation of the Antimutagenic and Radioprotection Effect of Blackcurrant extract、日本放射線影響学会第 55 回大会、2012

山本歩、ゲノムディフェンダーとしてのカシスの新たな可能性、カシスシンポジウム in 青森、2012

〔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：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
研究室ホームページ：
http://www.hachinohe-ct.ac.jp/~cuser/yama_lab/index.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 歩 (YAMAMOTO, Ayumi)
八戸工業高等専門学校・物質工学科・助教
研究者番号：60523800

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：