

カカオ成分のアポトーシス制御

田沼 靖一

東京理科大学薬学部生化学教室教授 ゲノム創薬研究センター長

はじめに

近年、遺伝子によって制御された細胞死の機構であるアポトーシス（Apoptosis）は、臨床医学、薬学の分野だけではなく、農学、水産学などを含めた生命科学の広い領域にわたって注目を集めている（図1）（1, 2）。その主な機能は、発生過程では、形態形成や神経ネットワークの確立、成体では、正常な細胞交替や内分泌系細胞による恒常性の維持、免疫系細胞のレパトリーの成立などの生体制御である。さらに、アポトーシスは、ウイルス感染細胞や発がん性物質の曝露により癌化する恐れのある細胞などの有害となる細胞を、生体内から消去する生体防御にも重要な役割を果たしている（3, 4）。



図1 アポトーシスとは何か

このように生命の維持に重要な細胞の基本機能であるアポトーシスの制御機構が異常をきたすと、癌、自己免疫疾患（アポトーシス抑制）、肝炎、エイズ、アルツハイマー病（アポトーシス亢進）などの重篤な疾患の発症原因となることも明らかになっている（図2）（4, 5）。そこで現在、ア

アポトーシスと疾患					
疾患	アポトーシス抑制による疾患			アポトーシス亢進による疾患	
	癌	自己免疫疾患	エイズ	肝炎	アルツハイマー病
原因	癌遺伝子変異	ウイルス？	HIV	ウイルス	アミロイドβ
機序	細胞異常増殖	自己免疫細胞放出	T細胞破壊	肝細胞脱落	神経細胞死
症状	臓器障害	自己免疫	免疫不全	肝不全	神経障害

図2 アポトーシスと疾患

ポトースを人為的に制御できる化合物の探索から、新規医薬品の開発が多くの製薬企業で精力的に行われている。

他方、チョコレートの主原料であるカカオ（アオイ科、*Theobroma cacao*）の種子カカオ豆には、エピカテキン、プロアントシアニジン、リグニン、 β -シトステロールなどのさまざまな成分が含まれており、健康増進に寄与していると考えられている。生理活性としては、抗酸化、抗菌、抗ウイルス、抗動脈硬化、抗炎症、抗肥満、インスリン抵抗性改善、アルコール性脂肪肝予防、紫外線傷害保護などの広範囲にわたる作用が報告されている。しかし、その本体や作用機序については、未だ不明な点が多く残されている。また、カカオからの抽出方法を変えることによって、種々の異なる生理活性成分を分画できることも知られている。私共は、これまでにカカオ由来成分にアポトースを正または負に制御できる活性があることを見出ししている。本稿では、その具体的な例を2つほど紹介する。

1. カカオマス由来リグニン配糖体（CLG）……制癌作用

カカオリグニン配糖体（CLG）は、ヘキサノール脱脂カカオマスより、アルカリ（0.3N NaOH）抽出→PH5.5可溶→50%エタノール不溶画分として得た。CLGの制癌作用について、グルココルチコイド感受性マウス乳癌ウイルス（MMTV）を導入したマウス34I細胞株を用いて評価した（図3）（6）。MMTV遺伝子の発現の制御には、クロマチンタンパク質のポリ（ADP-リボシル）化反応が重要な役割を果たしている（図4）。ポリ（ADP-リボース） $[(ADP-R)_n]$ は、主に合成酵素のポリ（ADP-リボース）ポリメラーゼ（PARP）と分解酵素ポリ（ADP-リボース）グリコヒドラーゼ（PARG）によって代謝回転している。遺伝子発現に対しては、 $(ADP-R)_n$ は負の制御因子として働いている

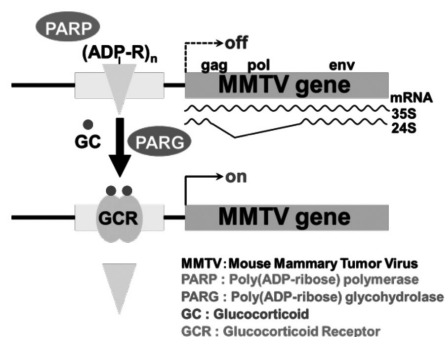


図3 MMTV遺伝子発現とクロマチンタンパク質のポリ（ADP-リボシル）化

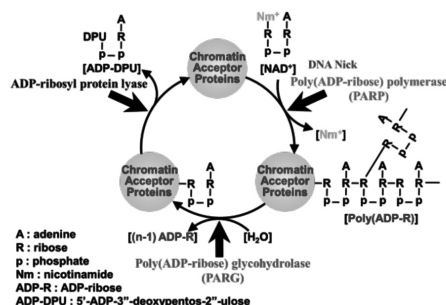


図4 ポリ（ADP-リボース）代謝

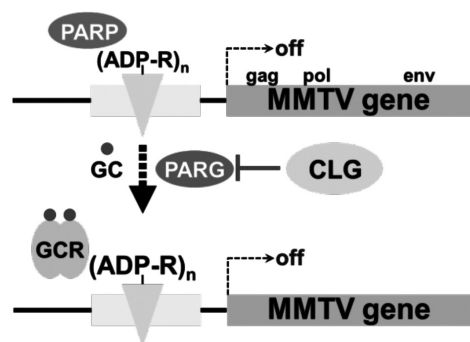


図5 CLGによるMMTV遺伝子発現の抑制

ことが知られている (6)。つまり、PARGを阻害すると、(ADP-R)_nが蓄積して、遺伝子発現が抑制され、ひいてはアポトーシスが誘導されることが考えられる (図5)。

図6に示すように、PARGの阻害剤であるCLG (IC₅₀=3 μg/ml) を前投与した34I細胞では、グルココチコイドによる乳癌ウイルスの発現が濃度依存的に抑制された。さらに (ADP-R)_nが蓄積されることによって、処理2日目には約50%の細胞がアポトーシスを起こし、4日目には80%以上にアポトーシスが観察された。一方、ヒト膵臓癌MIA PaCa-2細胞株を用いた浸潤・転移能評価系においては、癌細胞の浸潤抑制効果が認められた (図7)。

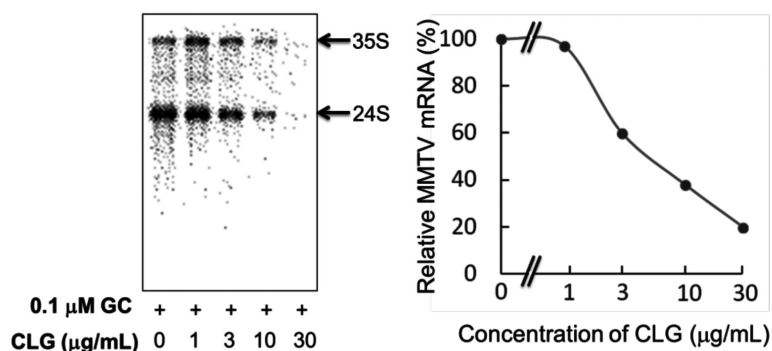


図6 CLGによるMMTV遺伝子発現抑制メカニズムとポリ (ADP-リボース) の蓄積

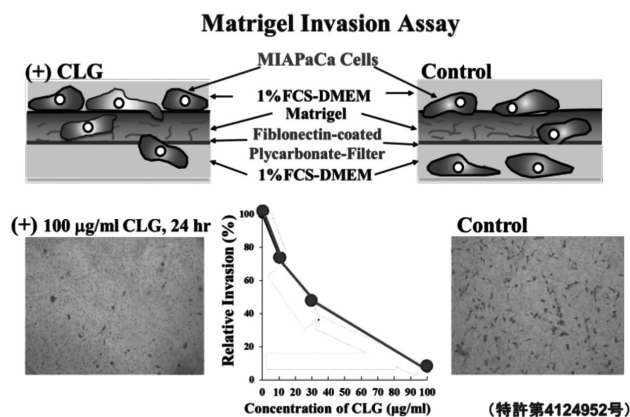


図7 CLGによる癌細胞浸潤の抑制

2. カカオマス由来プロアントシアニジン (CPA) ……神経細胞保護作用

カカオプロアントシアニジン (CPA) は、ヘキサノ脱脂カカオマスよりアセトン／水 (70 : 30v/v) 抽出→水層酢酸エチル抽出→セファデックスLH20カラムクロマトグラフィー→MCICHP20Pカラムクロマトグラフィーによって得た。CPAの神経細胞保護作用について、SH-SY5Y神経様細胞を用いて、過酸化水素 (H_2O_2) 及びアミロイド β ($A\beta$) 処理による神経細胞死への影響を調べた (図8) (7, 8)。 H_2O_2 や $A\beta$ による神経細胞死誘導には、HtrA2というセリンプロテアーゼの活性化からGSK3 β の分解によるエネルギー代謝の変調が関与していることが私共の研究で明らかになっている。この系にCPAを処理すると、濃度依存的に H_2O_2 及び $A\beta$ による神経細胞死を抑制し、生細胞が回復した (図9)。

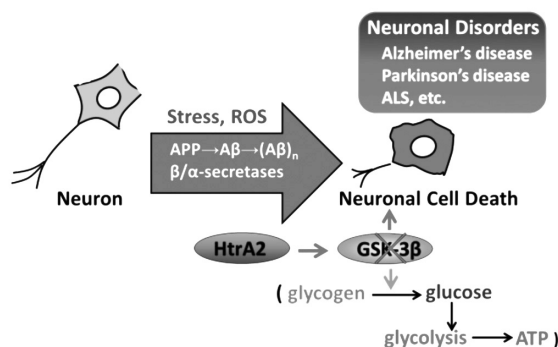


図8 神経細胞死におけるHtrA2- GSK-3 β 経路の関与

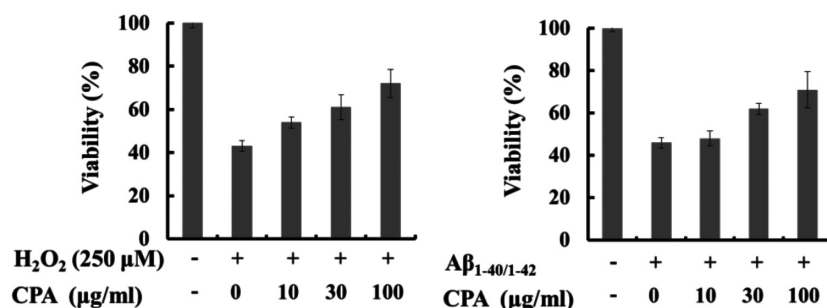


図9 CPAによる神経細胞死の抑制・保護作用

おわりに

私共の研究により、カカオマス由来成分の生理活性物質 (CLG, CPA) には、アポトーシス制御を介する制癌作用や神経細胞死抑制・保護作用などがあることが新たに判明した (図10)。今後、その作用メカニズムの分子レベルでの解析、及び *in vivo* での評価が必要であるが、これまでにない全く新しいアポトーシス制御性治療薬がカカオ成分の構造式情報から新たな分子設計によって、開発されることが期待される。今回、このようなカカオ由来植物成分の構造と薬理効果の研究から、細胞死をコントロールできる化合物を見い出すことができたことは、予防医学の観点からも重要な

カカオ成分の新規生理活性

- CLG: カカオリグニン配糖体
 PARC阻害 - (ADP-R)_n蓄積 →
 アポトーシス誘導 → 制癌作用
 癌細胞浸潤抑制 →
- CPA: カカオプロアントシアニジン
 HtrA2阻害 - GSK-3β分解抑制
 → 神経細胞死抑制・保護作用

図10 カカオ成分の新規生理活性

コンセプトを提供することになると考えられる。また、植物と動物の相互依存の関係を新たな観点で捉えるきっかけにもなることだろう。

近年、細胞死の研究からは、死は生来、生命体の一つひとつの細胞にプログラムされていることがわかってきた。死によって古いゲノムは生命体とともに消去され、新たなゲノムとして新しい生命体が生まれる循環のなかで、生命体はある時間を生きている。この目には見えない自然のダイナミックな大循環のなかで、死を意識することが生の確かな理解に必要なことだろう。自然の根底にある死を科学の面から理解することによって、21世紀に必要とされる新たな生命観、死生観が生まれてくるのではないだろうか (9, 10)。

参考文献

1. Kerr, J.F. R. et al. : Apoptosis, a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue Kinetics. Br. J. Cancer. 26, 239-257, 1972
2. Tanuma, S. : Molecular mechanisms of apoptosis. in Apoptosis in Normal Development and Cancer (Sluyser, M, ed.) pp39-59, Taylor & Francis.London, 1996
3. Green, D. R. Means to an Endo:Apoptosis and Other Death Mechanisma. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2011
4. 田沼靖一: 「アポトーシスとは何か」 講談社現代新書, 講談社, 1996
5. 田沼靖一編: 「アポトーシスがわかる」 羊土社, 2001
6. Tsai, Y-J. et al. : Mouse Mammary Tumor Virus Gene Expression is suppressed by Oligomeric Ellagitannins, Nonel Inhibitors of Poly (ADP-ribose) Glycohydrolase. J. Biol. Chem, 267, 14436-14442, 1992
7. Hardy, J. A. and Higgins, G. A. : A Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. Science 256, 184-185, 1992
8. Mucke, L. and Selkoe, D. J. : Neurotoxicity of amyloid beta-protein:synaptic and network dysfunction. Cold Spring Harb. Perspect. Med.2 : a006338.doi : 10.1101 / cshperspect. a006338, 2012
9. 田沼靖一: 「死の起源」 朝日選書, 朝日新聞社, 2001
10. 田沼靖一: 「ヒトはどうして死ぬのか」 幻冬舎, 2010