

カカオポリフェノールの作用メカニズム

立花 宏文

(九州大学 大学院農学研究院主幹教授)

はじめに

カカオポリフェノールはカカオの動脈硬化予防作用、血圧降下作用、脳活性化作用などの生理作用に関与していることが知られているが、その作用メカニズムについては不明な点が多い。私たちの体は生体外のさまざまな因子に対してセンサー分子を介して認識・応答することで生体の恒常性を維持している。演者らは、生体外因子であるポリフェノールもセンサー分子に相互作用することで生体に影響を及ぼしていると考え、緑茶ポリフェノールの一種であるエピガロカテキンガレート（EGCG）の生理機能を仲介するセンサー分子として67kDaラミニンレセプター（67LR）を同定した。さらに、67LRは烏龍茶ポリフェノールやカカオポリフェノールの一種であるプロシアニジンC1のセンサー分子としても働くことを明らかにした。本講演では、カカオポリフェノールの生理作用の分子メカニズムについて紹介する。

ポリフェノールセンサーとしての67LR

食品の生体調節機能には食品由来のポリフェノールが関与している場合が少なくない。私たちの体はさまざまな生体外シグナル因子に適切に応答しながら生体の恒常性を維持しており、病原細菌の侵入といった生体外シグナル因子はToll様受容体といった細胞表面に存在するセンサーによって分子認識され、自然免疫系を発動させる。これに倣えば、ポリフェノールも生体内のセンサー分子に相互作用することで、生体恒常性の維持に影響を及ぼす因子と捉えることができる。演者らはこうした考えに基づき、ポリフェノールの感知機構（ポリフェノールセンシング）からその生理作用が発現するしくみの解明に取り組み、緑茶の主要なポリフェノールの一種である(-)-エピガロカテキンガレート（EGCG）のがん細胞増殖抑制作用を仲介する「細胞膜センサー」としてラミニン受容体の一種である67-kDaラミニンレセプター（67LR）を同定した¹⁾。これまでに、EGCGの抗アレルギー作用²⁾、抗炎症作用^{3, 4)}、動脈硬化予防作用⁵⁾、抗がん作用⁶⁻⁸⁾などに67LRが関与していることが報告されている。67LRは基底膜の主要な構成成分であるラミニンに結合する細胞膜タンパク質として同定されていた分子であり、悪性度の高いがん細胞に高発現し、その増殖、浸潤、転移などに関与することが知られている。その他にも病原性プリオンタンパク質の受容体としての機能やSindbis virus、Dengue virusといったウイルスの受容体として機能することが報告されている。アシル化された37kDaの前駆体が67kDaのダイマーを形成し、67LR分子として細胞膜上の脂質ラフトに局在している⁹⁾。血管内皮細胞、T細胞、マクロファージなど様々な細胞において発現しているが、その機能については未だ不明な点が多い。67LRはウーロン茶ポリフェノールの一種であるウーロンホモビスフラバンBはEGCGと同様、67LRに結合するとともに、67LR依存的にcAMP産生ならびにPP2Aの活性化を介してミオシン軽鎖の脱リン酸化することで抗メラノーマ作用を発揮する¹⁰⁾。

67LRを介したカカオポリフェノールの作用

エピカテキンやカテキンが重合したプロシアニジン（プロシアニジンB1、プロシアニジンB2ならびに三量体のプロシアニジンC1）の抗メラノーマ作用とその作用機構に関する研究から、これら3種類のプロシアニジンはいずれもメラノーマの細胞増殖抑制作用を示すもののその作用機構は大きく異なることを明らかにした。プロシアニジンC1はプロシアニジンB1やB2と異なり、メラノーマ細胞表面に発現している67LRを介して細胞に結合し、67LR依存的にAC/PKA/PP2A/CPI17経路を活性化することでミオシン軽鎖の脱リン酸化を誘導し、細胞増殖を抑制することを見出した¹¹⁾。これに対して、プロシアニジンB1ならびにB2は67LRへの結合性およびミオシン軽鎖の脱リン酸化誘導能はなく、プロシアニジンC1とは異なるメカニズムで抗メラノーマ作用を発揮することが示された。また、メラノーマ細胞にプロシアニジンC1を直接作用させたことで誘導された一連の細胞内イベントは、プロシアニジンC1を経口投与したマウスのメラノーマ腫瘍組織においても観察された。以上の結果から、67LRがプロシアニジンC1の細胞膜上のセンサーとして機能することが示された（図1）。

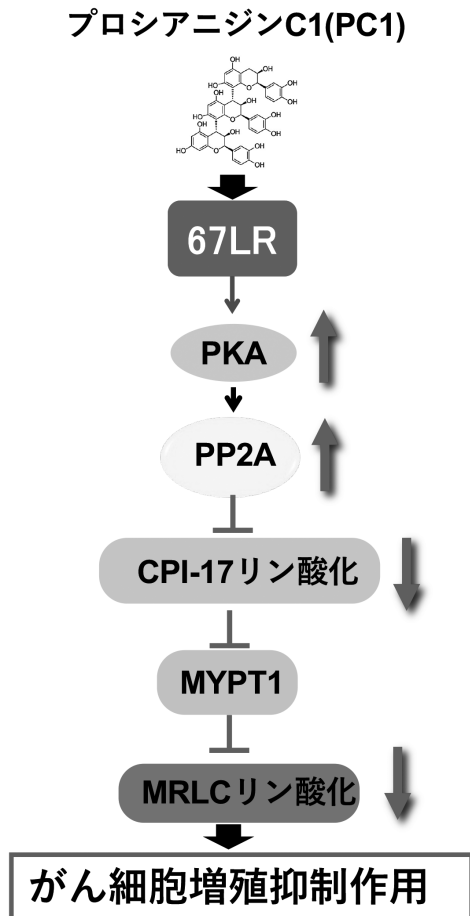


図1 プロシアニジンC1の67LR依存的ながん細胞増殖抑制メカニズム

カカオポリフェノールの生体調節作用におけるマイクロRNAの関与

プロシアニジンC1は難吸収性であることから吸収を経ない作用経路もあると考え、プロシアニジンC1誘導性の腸上皮細胞由来因子に着目した。腸上皮様細胞に分化させたCaco-2細胞の頂端側にプロシアニジンC1を作用させることで基底膜側において分泌量が増加する液性因子としてマイクロRNA(miRNA)を見出した。miRNAは約20塩基の一本鎖ノンコーディングRNAであり、標的mRNAに相補的に結合することでその遺伝子の発現を負に制御することが知られている。また、miRNAは細胞外小胞に内包され、血液を介して脳を含む様々な臓器に送達されることで生体調節機能を発揮する。そこで、プロシアニジンC1が脳機能に与える影響ならびにその作用におけるmiRNAの関与について検討した。マウスにプロシアニジンC1を経口投与し、新規物体認識試験にて認知機

能を評価した後、脳の海馬における神経伝達性関連タンパク質の発現量を測定した。また、血漿中のmiRNA発現を次世代シーケンスにて解析した。その結果、プロシアニジンC1を摂取させたマウスの認知機能が向上するとともに、海馬における神経伝達性関連タンパク質の発現量が増加した。また、プロシアニジンC1の投与により血漿中のmiRNA-Xの発現が上昇した。このmiRNA-XはプロシアニジンC1を作用させた腸上皮様細胞からの分泌量が増加したmiRNAと一致した。そこで、miRNA-X阻害剤ならびにプロシアニジンC1を併用投与したところ、プロシアニジンC1による認知機能の向上ならびに海馬における神経伝達性タンパク質の発現量の増加がmiRNA-X阻害剤により抑制された。以上の結果より、プロシアニジンC1がmiRNA-Xを介して海馬における神経伝達性を活性化し、認知機能を向上させる可能性が示された（図2）。

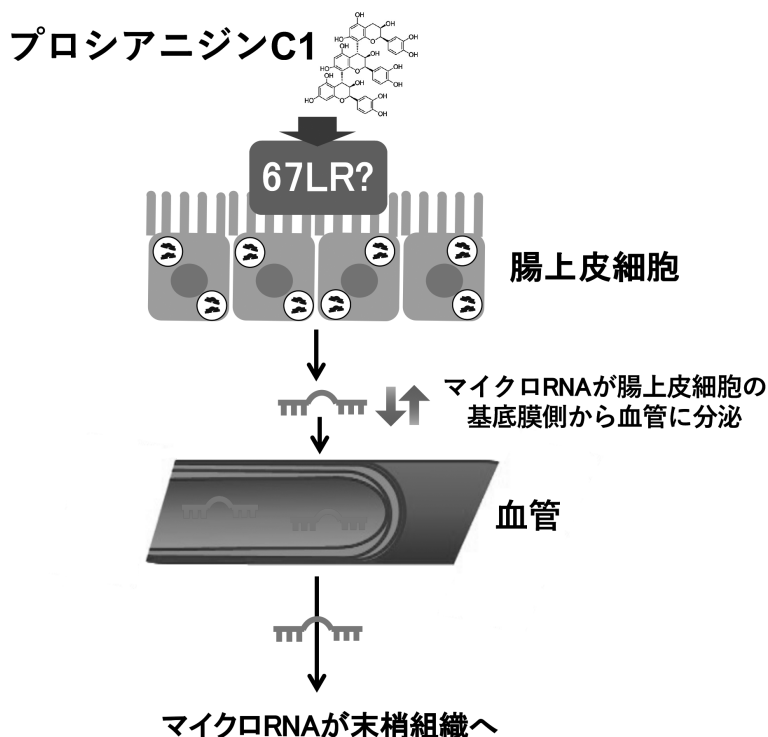


図2 プロシアニジンC1のマイクロRNA依存的な生体調節メカニズム

おわりに

本講演において、プロシアニジンC1はEGCGやウーロンホモビスフラバンBと同様に、その機能性発現に67LRシグナリングの活性化が関与していることを紹介した。一方、食品中には様々な成分が含まれており、それらが食品因子センシングに作用することで食品因子の機能性に影響を及ぼすことが明らかとなりつつある。演者らはこうした食品因子間の機能的な相互作用を機能性フードペアリングと呼んでいる。EGCGの機能性は67LRシグナリングに作用する食品因子（ビタミンA¹²⁾、柑橘ポリフェノール^{13, 14)}、含硫化合物¹⁵⁾）と機能性フードペアリングの関係にあり、これら食品因子と組み合わせることでEGCGの生理活性（抗がん作用、抗肥満作用、抗アレルギー作用、筋萎縮予

防作用) が増強されることが明らかになってきた。カカオポリフェノールもEGCGと機能性フードペアリングの関係にある食品因子と組み合わせることでカカオポリフェノールの機能性が増強されるのか、今後の検討課題である。

文献

- 1) Tachibana H, et al: A receptor for green tea polyphenol EGCG. *Nat Struct Mol Biol*, 11:380-381 (2004)
- 2) Fujimura Y, et al: The involvement of the 67 kDa laminin receptor-mediated modulation of cytoskeleton in the degranulation inhibition induced by epigallocatechin-3-*O*-gallate. *Biochem Biophys Res Commun*, 348: 524-531 (2006)
- 3) Byun H, et al: TLR4 signaling inhibitory pathway induced by green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate through 67-kDa laminin receptor. *J Immunol*, 185:33-45 (2010)
- 4) Kumazoe M, et al: Green Tea Polyphenol EGCG Upregulates Tollip Expression by Suppressing Elf-1 Expression. *J Immunol*, 199:3261-3269 (2017)
- 5) Holy EW, et al: Laminin receptor activation inhibits endothelial tissue factor expression. *J Mol Cell Cardiol*, 48:1138-1145 (2010)
- 6) Shammas MA, et al: Specific killing of multiple myeloma cells by (-)-epigallocatechin-3-gallate extracted from green tea: biologic activity and therapeutic implications. *Blood*, 108:2804-2810 (2006)
- 7) Umeda D, et al: Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate signaling pathway through 67-kDa laminin receptor. *J Biol Chem*, 283:3050-3058 (2008)
- 8) Kumazoe M, et al: 67-kDa laminin receptor increases cGMP to induce cancer-selective apoptosis. *J Clin Invest*, 123:787-799 (2013)
- 9) Fujimura Y, et al: Lipid raft-associated catechin suppresses the FcepsilonRI expression by inhibiting phosphorylation of the extracellular signal-regulated kinase1/2. *FEBS Lett*, 556: 204-210 (2004)
- 10) Bae J, et al: 67-kDa laminin receptor mediates oolonghomobisflavan B-induced cell growth inhibition in melanoma. *Phytomedicine*, 118: 154970 (2023)
- 11) Bae J, et al: Procyanidin C1 inhibits melanoma cell growth by activating 67-kDa laminin receptor signaling. *Mol Nutr Food Res*, 64, 1900986 (2020)
- 12) Lee JH, et al: Vitamin A enhances antitumor effect of a green tea polyphenol on melanoma by upregulating the polyphenol sensing molecule 67-kDa laminin receptor. *PLoS ONE*, 5:e11051 (2010)
- 13) Kumazoe M, et al: Glucosyl-hesperidin enhances the cyclic guanosine monophosphate-inducing effect of a green tea polyphenol EGCG. *J Nat Med*, 75:1037-1042 (2021)
- 14) Yoshitomi R, et al: Combined effect of green tea and α -glucosyl hesperidin in preventing obesity:a randomized placebo-controlled clinical trial. *Sci Rep*,11:19067 (2021)
- 15) Bae J, et al: Diallyl disulfide potentiates anti-obesity effect of green tea in high-fat/high-sucrose diet-induced obesity. *J Nutr Biochem*, 64:152-161 (2019)