

【研究目的】

食品機能の発現には細胞が食品因子を分子認識しその作用を伝達する仕組みである食品因子センシングが重要な役割を果たしているが、難吸収性で末梢組織・細胞への直接的な作用が困難な食品因子の機能性発現メカニズムについては依然多くが不明である。一方、マイクロ RNA (miRNA) はタンパク質に翻訳されない約 20 塩基長の一本鎖 RNA であり、標的となる mRNA の 3' 非翻訳領域に相補的に結合し mRNA の分解を誘導する、あるいはタンパク質への翻訳を阻害することで標的遺伝子の発現を制御している (図 1)。miRNA は長い前駆体 RNA が RNaseIII 型酵素である Dicer によりプロセシングされることにより二本鎖 RNA の形で生み出される。二本鎖 miRNA は Argonaute (AGO) に取り込まれ、一方の RNA 鎖だけが AGO に残り、RISC (RNA-induced silencing complex) とよばれる RNA-タンパク質複合体を形成する。AGO は RNaseH 様の活性を有しており、miRNA と相補的な標的 mRNA を切断することができる。植物および動物に広く存在し、ヒトゲノムには 2000 以上の miRNA がコードされている。ヒト生体内において約半分の遺伝子の発現が miRNA によって制御されているといわれており、細胞増殖やアポトーシス、脂質代謝、炎症反応など多岐にわたる生命現象に miRNA が関与している。例えば、視床下部における miR-33 は適応熱産生に重要であり、miR-33 の発現をノックアウトしたマウスでは褐色脂肪細胞の熱産生機能が弱まり、肥満になりやすいことが示されている。また、抗炎症性の M2 型マクロファージが分泌する miR-690 が肥満誘導マウスにおけるインスリン感受性を改善することが報告されている。また、がんや関節リウマチなどの疾患で miRNA の異常発現がみられることが報告されている。そのため、特定の miRNA を補充する、あるいは miRNA を阻害するというコンセプトで疾患を治療する核酸医薬の開発も精力的に行われている。マイクロ RNA はヒト生体内において約 3 分の 1 の遺伝子発現を制御することで多岐にわたる生命現象に関与している。そこで本研究では、食品因子の機能性発現におけるマイクロ RNA の関与について明らかにすることを目的とした。

【方法 結果】

ウーロン茶ポリフェノール的一种であるウーロンホモビスフラバン B (OHBFB) (図 2) は肝臓における脂質代謝調節作用を示す。しかしながら、OHBFB は難吸収性であり、脂質代謝調節作用を発揮するメカニズムに関しては不明な点が多い。そこで我々は、腸上皮細胞から分泌される miRNA が難吸収性である OHBFB の作用に関与していると考え、OHBFB の脂質代謝調節作用メカニズムについて検討した。ヒト肝癌細胞株 HepG2 に OHBFB を直接添加したところ、脂質代謝関連遺伝子である APOA1 や CPT1A の mRNA 発現量に有意な変動は見られなかった。一方、腸管上皮細胞に分化させた Caco2 細胞を介して OHBFB を作用させたところ、HepG2 細胞における APOA1, CPT1A の mRNA 発現量が上昇した。次に、OHBFB が Caco2 細胞の細胞内、管腔側及び基底膜側の miRNA 発現に与える影響を次世代シーケンサーにて解析したところ、基底膜側において let-7f-5p のみの発現上昇が認められた。そこで、HepG2 細胞に let-7f-5p mimic あるいは let-7f-5p inhibitor を導入し APOA1 ならびに CPT1A の mRNA 発現量を評価したところ、これらの遺伝子は let-7f-5p mimic 導入により上昇し、let-7f-5p inhibitor 導入により低下した。

また、OHBFB を経口投与した C57BL/6J マウスにおいて、血漿及び肝臓における let-7f-5p 発現量の上昇、ならびに肝臓における Apoa1、Cpt1a の mRNA 発現量の上昇が認められた。以上の結果より、OHBFB は let-7f-5p を介して肝臓における脂質代謝関連遺伝子の発現を調節する可能性が示された。

ゴマリグナン (図 3) はゴマ油に豊富に含まれるフェニルプロパノイド系化合物であり、主要成分としてセサミンやエピセサミンが知られている。ゴマリグナンはグルタチオン S-トランスフェラーゼ (GST) 活性を増加させることで肝保護作用を発揮するが、その作用機構は不明な点が多い。そこで本研究では、ゴマリグナンによる GST 活性化作用における miRNA の関与について検討した。C57BL/6J マウスにゴマリグナン (20 mg/kg b.w.) を経口投与し、肝臓における GST 活性、GST mRNA 並びにタンパク質発現量を測定したところ、ゴマリグナン投与により、マウス肝臓における GST 活性ならびにタンパク質発現量が増加した。マイクロアレイ解析により肝臓における miRNA の発現を評価した結果、miRNA の発現量に変化が観察された (増加 : 84、減少 : 19)。さらに、データベース解析を行ったところ、ゴマリグナン投与により発現が減少した miR-669c-3p が GST の発現を負に制御することが示唆された。また、miR-669c-3p mimic の導入は、GST mRNA ならびにタンパク質発現量を抑制した。以上より、ゴマリグナンは miR-669c-3p をはじめとした miRNA の発現を調節するとともに、GST タンパク質ならびに活性を増加させ、肝保護作用を発揮する可能性が示された。

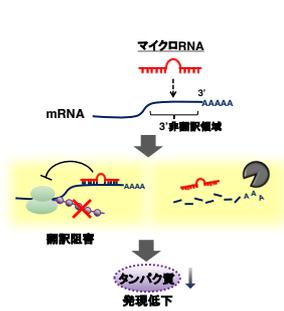


図1 miRNAの標的遺伝子発現抑制メカニズム

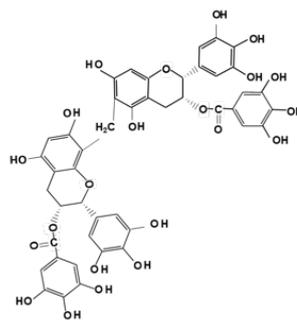


図2 ウーロンホモビスフラバンB

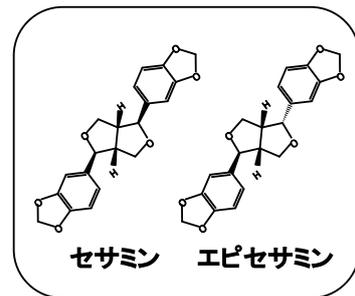


図3 ゴマリグナン

【考察】

ポリフェノールに代表される機能性食品因子の生体調節作用の発現に関与する生体分子が明らかになりつつある。中でも特に、miRNA が機能性食品因子の作用を担う実行分子としての側面が浮上してきた。特に、難吸収性の機能性食品因子が機能性を発現する仕組みにおいて、miRNA とそれを内包するエクソソームの果たす役割は小さくないのではないかとと思われる。