

褐藻カロテノイドの生活習慣病予防基盤となるミトコンドリア機能調節の解明

北海道大学大学院水産科学研究院 細川雅史

【目的】

近年、肥満に起因した生活習慣病の発症が増加する中、生体内のエネルギー代謝の活性化や低下抑制が予防をはかるうえで重要と考えられている。特に、細胞内ではミトコンドリアがエネルギー代謝調節において重要な役割を担っている。申請者らは、代表的な水産物であるマコブなどの褐藻に特徴的なカロテノイドであるフコキサンチンが、肥満予防や血糖値改善効果を有することを見出してきた^{1,2)}。本研究では、その作用機構に一端を明らかにするため、ミトコンドリアの機能調節に着目して、フコキサンチンの有効性を明らかにすることを目的とした。

【2. 実験方法】

2.1. 細胞培養

THP-1 単球細胞は、10%FBS を含む RPMI1640 培地を用いて、37℃、5% CO₂ 存在下で培養した。その後、ホルボール 12-ミリスタート 13-アセタートを用いてマクロファージに分化誘導した。ヒト肝臓癌 HepG2 細胞は、10%FBS を含む DMEM 培地を用いて、37℃、5% CO₂ 存在下で培養した。前培養した両細胞の培養液にフコキサンチンの生体内代謝物であるフコキサンチノールをそれぞれ添加し、一定時間培養後に細胞を回収した。一部の細胞を用いて遠心分画法によりミトコンドリア画分を分画した。

2.2. 炎症性因子の mRNA 発現、タンパク質分泌およびミトコンドリア膜電位の測定

細胞から total RNA を抽出し、cDNA を合成後、定量 PCR 法により炎症性因子の mRNA 発現量を測定した。細胞培養液中のサイトカイン分泌量は、市販の ELISA Kit を用いて定量した。また、ミトコンドリア膜電位は、JC-1 MitoMP Detection Kit (同仁化学研究所 (株)) を用いて測定した。

2.3. 動物実験

C57BL/6J マウス (5 週齢雄性) を 1 週間予備飼育の後、コリン欠乏メチオニン減量高脂肪飼料を 4 週間自由摂取にて経口投与し、非アルコール性脂肪性肝疾患/脂肪肝炎を誘導した。安楽死処置後、肝臓を摘出し、total RNA を抽出して RNA-seq 解析に使用した。

【3. 結果および考察】

3.1. フコキサンチン代謝物のミトコンドリアへの移行、蓄積

褐藻カロテノイドであるフコキサンチンのミトコンドリア機能調節を明らかにするうえで、主要な生体内代謝物であるフコキサンチノールのミトコンドリア移行を明らかにすることは基盤知見として重要である。そこでフコキサンチノールで処理した細胞中のミトコンドリアを分画し、細胞内

への移行、蓄積を調べた。あらかじめ検討した遠心分画条件によってミトコンドリア画分、ミクロソーム画分および細胞質画分を分画し、それぞれフコキサンチノールの蓄積量を測定した。THP-1 マクロファージおよび HepG2 細胞のいずれの細胞においても、ミトコンドリア画分、ミクロソーム画分の順で蓄積量が多く見られ、サイトゾル画分にはほとんど蓄積しないことが分かった。すなわち、フコキサンチノールは細胞膜を透過してミトコンドリアまで移行して蓄積するとともに、直接ミトコンドリア機能に影響を及ぼす可能性が示唆された。

3.2. インフラマソームの活性化抑制

フコキサンチノールがミトコンドリアやミクロソーム画分に蓄積することが明らかになったことから、炎症に関わるミトコンドリア機能として NLRP3 インフラマソームへの影響を検討した。分化誘導した THP-1 マクロファージに対してリポポリサッカライド (LPS) +ATP 処理を行い、炎症を誘導した。フコキサンチノール 2.5 μ M 処理は、炎症性サイトカインである IL-1 β の mRNA 発現および IL-1 β タンパク質の培地中への分泌を抑制した。さらに、JC-1 色素を用いてミトコンドリア膜電位の蛍光検出を行ったところ、LPS+ATP 処理によって膜電位の低下が見られたのに対し、フコキサンチノール添加によって膜電位の低下が緩和され、ミトコンドリアの機能低下の抑制が推察された。これらの知見は、褐藻カロテノイドであるフコキサンチンの細胞内オルガネラ機能制御を明らかにした興味深い知見である。

3.3. 非アルコール性脂肪性肝疾患/脂肪肝炎誘導マウスにおける脂肪酸代謝およびミトコンドリア関連遺伝子の発現調節

フコキサンチンを経口投与した非アルコール性脂肪性肝疾患/脂肪肝炎誘導マウスでは、その発症が抑制されることを報告してきた³⁾。本研究では、肝臓における RNA-seq データを解析した結果、無添加の非アルコール性脂肪性肝疾患/脂肪肝炎誘導群と比較して、フコキサンチン投与群では CYP および電子伝達系因子の mRNA 発現が亢進しており、生体内の脂肪酸代謝およびエネルギー代謝の活性化または疾患誘導過程における代謝低下に対する抑制作用が示された。これらの知見は、フコキサンチンによるミトコンドリア機能調節が、非アルコール性脂肪性肝疾患/脂肪肝炎予防効果の作用機構の一端であることを示唆するものである。

【謝辞】

本研究を遂行するにあたる多大なるご支援を賜りました公益社団法人 南北海道振興財団に厚くお礼申し上げます。

【引用】

1. Biochem. Biophys. Res. Commun., 332, 392-397 (2005)
2. Phytomedicine, 19, 389-394 (2012)
3. Biochem. Biophys. Res. Commun., 528, 305-310 (2020)