
卵黄に含まれるカロテノイド色素による オートファジー誘導活性の解析

名古屋大学大学院生命農学研究科・准教授 河合 慶親

■ 目的

オートファジーは、様々な疾病や老化を負に制御することで近年注目を集めている重要な細胞内分解経路であることから、我々は新たな食品の機能性としてのオートファジー誘導活性に着目して研究を進めてきた。卵は日本人の食習慣に根付いた安全性の高い食材であり、様々な食品製品への応用が可能であることから本研究において評価対象とした。オートファジーにおいては細胞内に特徴的な脂質膜(オートファゴソーム)形成を伴うことから、我々は卵黄中の含まれる脂質成分の効果を予想した。そこで、本研究では卵黄色素であるカロテノイド類やその他脂溶性成分によるオートファジー誘導活性について培養細胞を用いた検討を行うこととした。

■ 方法

申請者はこれまでにヒト子宮頸がん由来上皮細胞(HeLa)をはじめとする培養細胞系でオートファジーの指標となるタンパク質の検出系を確立してきた。そこで、本研究では HeLa を用いてオートファジー分解基質である p62 タンパク質の分解を指標に、種々のカロテノイド類および脂溶性成分のオートファジー誘導活性を評価することとした。各種カロテノイド類は 25 μ M となるように 10% FBS 含有 DMEM 培地に添加したものを HeLa 細胞に投与し 8 時間培養した。培養後、細胞溶解液を回収し、ウェスタンブロット法により p62 ならびに対照タンパク質として β -アクチンあるいはチューブリン量を評価した。評価に用いるカロテノイド類は、カロテン類(β -カロテンおよびリコペン)とキサントフィル類(β -クリプトキサンチン)などに分類し、細胞へ投与可能なジメチルスルホキシドあるいはテトラヒドロフラン溶液を調製した。

■ 結果および考察

まず、各種カロテノイド類の投与条件について検討した。 β -カロテン、リコペン、 β -クリプトキサンチンのテトラヒドロフラン溶液(10mM)を最終濃度 10 μ M あるいは 25 μ M となるように 10%FBS 含有 DMEM 培地に添加したところ、いずれの濃度においても不溶化が認められた。一方で、これらのジメチルスルホキシド溶液を用いて同様の調製を行なったところ、いずれの濃度においても不溶化は認められず培地に溶解した。また、FBS を含まない培地にはこれらのカロテノイドは十分溶解しなかった。そこで、以降の実験においては、ジメチルスルホキシド溶液を 10%FBS 含有 DMEM 培地に添加することとした。この条件で、8 時間培養した HeLa 細胞の p62 タンパク質発現量を検討したところ、いずれのカロテノイドにおいても p62 タンパク質量の変化は認められなかった。一方で、同じく脂溶性の植物性色素であるフラボノイド類では、ルテオリンをはじめとする様々な化合物において p62 分解促進活性が認められている。さらに、アミノリン脂質を含むリポソーム試薬を細胞に投与したところ、オートファゴソーム形成の指標である LC3-II の有意な増加が認められたが、コレステロールを主成分とするリポソームでは変化は認められなかった。

■ 結語

脂溶性の植物性成分のうちフラボノイド類やアミノリン脂質は細胞内でオートファジー機構を活性化する可能性が示唆されたことから、これらを高含有することによる卵黄の機能性強化が期待される。カロテノイド類については、本条件下では効果が認められなかったが、カロテノイドのもつ抗酸化作用や脂質膜への直接的な影響とオートファジーの関連について、今後さらに検討を行う余地がある。