
食品由来成分による構造活性相関に基づく 抗老化戦略の構築：老化細胞を標的として

京都工芸繊維大学応用生物学系・講師 川口 耕一郎

■ 目 的

加齢に伴い組織に蓄積する老化細胞は、がんなどの加齢性疾患の病態進行に極めて重要な因子である。我々は、加齢に伴う脂質代謝制御異常の分子メカニズムを脂肪酸結合タンパク質 FABP5 に着目して解析を進める過程で、ブドウ果柄抽出物に含まれる低分子化合物(Grape stem extract：GSE, カテキン類の重合体)が FABP5 の発現を顕著に低下させ、老化細胞にアポトーシスを誘導することを見出していた。本研究では、GSE の重合度の違いによる老化細胞特異的なアポトーシス誘導活性の違いを検証し、構造活性相関に基づく老化細胞特異的なアポトーシス誘導機構の分子基盤構築を目的とした。

■ 方 法

重合度の異なる GSE の老化細胞に対する影響評価

ブレオマイシンもしくはドキシソルビシン処理により細胞老化を誘導した A549 細胞(ヒト肺基底上皮腺がん細胞)と、継代培養により細胞老化を誘導した IMR-90 細胞(ヒト胎児肺由来正常線維芽細胞)の培養培地に重合度の異なる GSE を添加し、その影響を評価した。具体的には、MTT アッセイ、遺伝子発現解析(qPCR 法及び WB 法)により、老化細胞に対しどの重合度のエピカテキン重合体がアポトーシス誘導活性を有するか検証した。

GSE に依存的な遺伝子プロファイルの発現変動解析

上記の実験により同定した最も高い抗老化細胞作用をもつ分子を用いて、GSE に依存的な遺伝子発現プロファイルの変動を明らかにするため RNA-seq 解析を行った。また、解析結果に対して Gene Set Enrichment Analysis などを行い、抗老化細胞作用に関わる遺伝子群を検証した。

■ 結果および考察

カテキン類単量体であるエピガロカテキン(EGC)、二量体のプロシアニジン B2(PCB2)もしくは三量体のプロシアニジン C1(PCC1)を培養培地に添加し肺組織由来の老化細胞に対する影響を調べたところ、PCC1 が老化 IMR-90 細胞に対し細胞増殖抑制活性を示すことがわかった。EGC と PCB2 に関しては、A549 細胞及び IMR-90 細胞のどちらにも老化細胞特異的な細胞増殖抑制活性を示さなかった。PCC1 の老化 IMR-90 細胞に対する細胞増殖抑制活性が老化細胞特異的なアポトーシス誘導によるものなのかを検証するため、細胞老化マーカーの一つである p21 とアポトーシスマーカーである切断型カスパーゼ 3 の発現を WB 法で確認したところ、PCC1 処理による p21 発現量の低下と切断型カスパーゼ 3 発現量の増加が見られた。また、PCC1 依存的な遺伝子発現変動解析の結果から、PCC1 処理により細胞分裂や DNA 修復に関与する遺伝子群の発現が上昇することがわかった。以上の結果から、PCC1 は老化 IMR-90 細胞に対し特異的にアポトーシスを誘導する活性をもつことが強く示唆された。

■ 結 語

エピカテキン三量体の PCC1 が老化した IMR-90 細胞に対し特異的にアポトーシス誘導活性を示すことが明らかになった。今後、このアポトーシス誘導活性の詳細な分子機構を解析し、マウス等を用いて加齢性疾患予防・治療への応用可能性を検討していく必要がある。