

# Proteo-stress を介したファイトケミカルの機能的発現機構

## ✓背景

1. ファイトケミカル(PC)は、植物が環境ストレスに適応するために生合成されているが、それらがなぜヒトを含めた動物に対して好ましい生理機能性を示すのか、本質的な理由は明らかではない。
2. 薬剤とは対照的に、PCは生体タンパク質に対して非特異的に作用すると想像されるが、それを実証した研究例は殆どない。

## ✓目的

PCと動物細胞タンパク質との結合特異性解析を行い、機能的発現機構との関連性を明らかにする。

## ✓方法

抗炎症・抗発がん性などを示す zerumbone (ZER、ハナショウガ由来のセスキテルペン)の結合タンパク質を解析するため、3種の分子プローブ(セファロースゲル・ビオチン標識体・ZERの抗チオール付加体抗体)を調製した。実験系としては、培養細胞、線虫、およびラットを使用した。

## ✓結果

1. 培養細胞において、ZERは解毒酵素誘導の鍵分子Keap1に結合し、この結合は機能発現に重要であった。
2. ZERは、細胞質や核を含む細胞内の広い範囲で付加体を形成し、さらにタンパク質に対する結合性は**非特異的**であることが判明した。
3. ZERを細胞添加後、一定時間培養し、その後、培地中からZERを除去すると付加タンパク質の量は時間依存的に減少した(最終的には無処理レベル近くにまで減少)。
4. ZERは、種々のタンパク質品質管理機構(PQCS)[heat shock proteins (HSPs)の発現、異常タンパク質の分解に関わるユビキチン・プロテアソーム系やオートファジーの誘導]を活性化した。
5. ZER付加タンパク質は、一般的な変性タンパク質をクライアントとするHSP90に結合した。また、ZERによるHSP70の発現は転写因子HSF1依存的であった。
6. 経口投与によって、ラットや線虫HSPsの発現は顕著に増加し、また線虫には熱耐性を賦与した。
7. ZERはタンパク毒性物質である4-hydroxy-2-nonenalのタンパク質付加や細胞毒性を緩和し、この作用はオートファジー関連タンパク質p62に依存的であった。
8. 様々なPCや栄養素のHSP70誘導活性を広く精査した結果、ほとんどの栄養素は不活性であったが、curcumin、ursolic acid、phenethyl isothiocyanate、 $\alpha$ -humuleneなどのPCには顕著な誘導能が認められた。

## ✓考察

1. 植物成分が動物細胞に対してストレス応答を示す事実に驚きはない。例えば、PCによる抗酸化・解毒酵素などの誘導は動物がPCを異物(xenobiotics)と認識し、適応を試みている証である。本研究は、一部のPCが酸化ストレスに加え、タンパク質変性ストレス(proteo-stress)を与えている可能性を示唆する最初の例である。
2. **PCが適度な proteo-stress を与えることで PQCS を活性し、結果としてストレス耐性を強化する**というユニークな作用機構を提示した。PQCSを高いレベルで維持することは神経変性疾患やがんなど種々の疾病予防にも寄与する。従って今後は、既知の生理機能性にPQCSが関与するの可否かを検証する。
3. 私たちの体は生涯にわたってPCの暴露を受け続けている。その**ケミカルストレスが適度**であれば、生体防御活性を高いレベルで維持することができ、真の毒性物質への備えは堅固となる。すなわち、適量のPCを摂取することは、ケミカルストレス耐性を鍛えることに繋がり、私たちはこの営みを「**ケミカルトレーニング**」と呼んでいる。

## ✓本研究に関連する原著論文・総説

- 1) Ohnishi K, *et al.*, In vitro covalent binding proteins of zerumbone, a chemopreventive food factor. *Biosci Biotechnol Biochem.*, 2009;**73**:1905-7
- 2) Ohnishi K, *et al.*, Zerumbone, an electrophilic sesquiterpene, induces cellular proteo-stress leading to activation of ubiquitin-proteasome system and autophagy. *Biochem Biophys Res Commun.*, 2013;**430**:616-22.
- 3) Ohnishi K, *et al.*, Non-specific protein modifications by a phytochemical induce heat shock response for self-defense., *PLoS ONE.*, in press.<http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0058641>
- 4) Murakami A, Ohnishi K., Target molecules of food phytochemicals: Food science bound for the next dimension. *Food Funct.*, 2012;**3**:462-76 (review).
- 5) Murakami A, Modulation of protein quality control systems by food phytochemicals., *J Clin Biochem Nutr.*, in press (review).