

申請者	学科名	栄養学科	職名	准教授	氏名	川上 祐生
調査研究課題	炎症やアレルギー疾患に関与するロイコトリエン合成系を制御する食品の探索					
調査研究組織	氏名	所属・職		専門分野	役割分担	
	代表	川上祐生	栄養学科・准教授	食品生化学	研究全体の推進と統括	
	分担者	高橋吉孝 神崎圭太	栄養学科・教授 栄養学科・助教	病態栄養学 栄養生理学	酵素活性測定 動物実験	
調査研究実績の概要	<p>5-リポキシゲナーゼは、ロイコトリエンを生合成する最初の反応を触媒する酵素である。5-リポキシゲナーゼは、生体膜脂質を構成するアラキドン酸から5-ヒドロペルオキシ酸を合成し、さらにこれを脱水してロイコトリエンA₄に変換する。このロイコトリエンA₄は、ロイコトリエンC₄合成酵素によってグルタチオンが付加するとロイコトリエンC₄となり、グルタチオンを認識する細胞膜の輸送体であるMRP-1によって細胞外に輸送される。細胞外に出されたロイコトリエンC₄はγグルタミルトランスぺプチダーゼまたはγ-グルタミルロイコトリエンナーゼによりグルタチオンのグルタミン酸部分が遊離されロイコトリエンD₄となる。ロイコトリエンD₄はさらに膜結合型ジペプチダーゼによりグルタチオンのグリシン部分が遊離され比較的安定なロイコトリエンE₄へと変換される。一方、ロイコトリエンA₄にロイコトリエンA₄水解酵素が作用するとLTB₄が産生される。細胞内の5-リポキシゲナーゼは、通常、細胞質にあるが、刺激を受けると細胞内カルシウムの上昇とともに、核膜へと移動する。5-リポキシゲナーゼ活性化タンパク質は、刺激によって生体膜から遊離したアラキドン酸を5-リポキシゲナーゼに効率よく供給することによってロイコトリエンの産生を促進する。ロイコトリエンは、白血球遊走や気管支収縮、血管透過性亢進の作用を持つため、気管支喘息、関節炎などの炎症やアレルギー疾患に関与している。そのため、5-リポキシゲナーゼを中心とするロイコトリエン合成系を制御することができれば、これらの疾患を抑制できると考えられる。本研究では、食品や植物由来成分の5-リポキシゲナーゼ阻害効果を調べ、効果的にロイコトリエン合成系を制御できる新しい食素材の探索を行うことを目的とする。</p>					

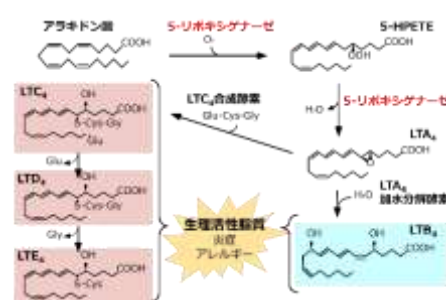


図1 ロイコトリエン生合成経路

各種植物抽出物の存在下にて、5-リポキシゲナーゼを発現しているラット好塩基球性白血球細胞RBLを培養した。その後、5-リポキシゲナーゼの基質であるアラキドン酸を添加し、培養上清中の5-リポキシゲナーゼ産物を高速液体クロマトグラフィにより定量することで、5-リポキシゲナーゼ活性への影響を検討した。

図2は、5-リポキシゲナーゼ活性の高速液体クロマトグラフィ分析のクロマトグラムである。図2右に示すように、植物抽出物を添加しない場合には5-リポキシゲナーゼ産物である5-HETEの明瞭なピークが認められた。一方、図2左に示すように、5-リポキシゲナーゼを阻害する抽出物の存在下では5-リポキシゲナーゼ産物の生成量が低下し、5-リポキシゲナーゼ産物である5-HETEのピークは小さくなった。

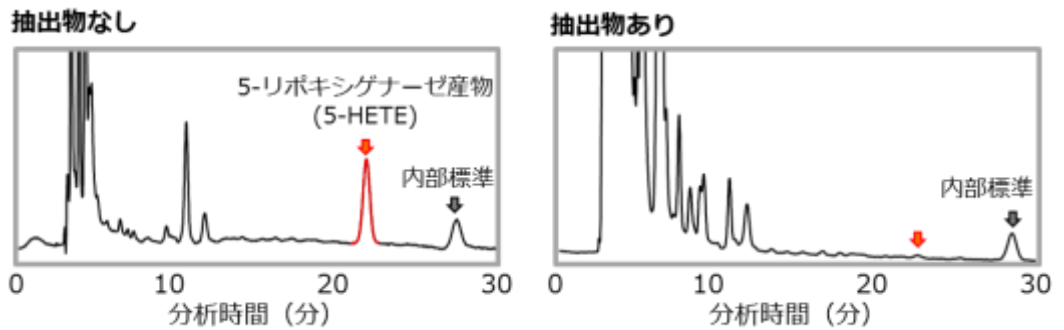


図2 5-リポキシゲナーゼ活性の高速液体クロマトグラフィ分析

調査研究実績
の概要

ここでは、6種類の植物について各種エタノール濃度の水-エタノール混液を使用して抽出し、その抽出物の存在下で、5-リポキシゲナーゼ活性を測定した結果を図3に示した。A、B、Cの50%エタノール抽出物、80%エタノール抽出物、100%エタノール抽出物において、5-リポキシゲナーゼ阻害効果が認められた。

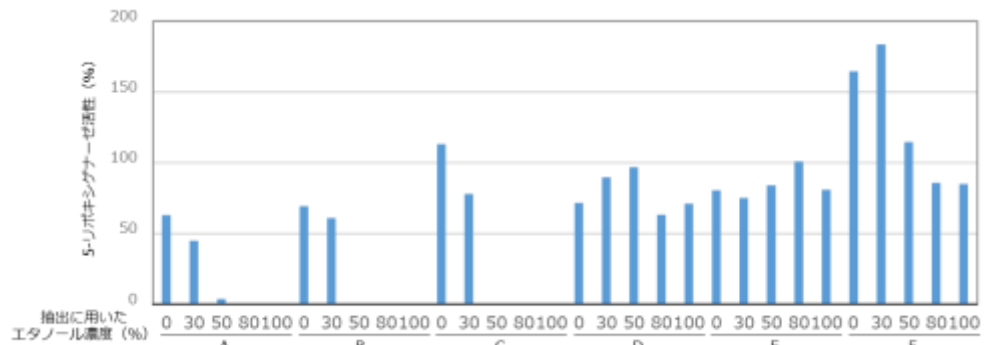


図3 種々の植物抽出物による5-リポキシゲナーゼ阻害効果

今後は、これら植物に含まれる有効成分の同定や生体内での有効性について検討していく予定である。

成果資料目録

Yuki Kawakami 他14名 「The Y54(L)W mutation of anti-leukotriene C4 single-chain antibody increases affinity to leukotriene E4」 The Journal of Biochemistry, 2017, 161(1), 79-86.