

アポトーシスに関する研究 (8) 加工によるアポトーシスへの影響

Study on Apoptosis (8) Effect of Food Processing on the Apoptotic Cells in Mice

道家 晶子

Shoko DOKE

Abstract

The present study was evaluated the effects of food on an alcohol-induced apoptosis for the food processing in mice. Ethanol has long been implicated in triggering apoptotic cells in immune system. Ethanol was also damaged to the liver in order to metabolize some alcohol to H_2O and CO_2 . The most effective inhibition from the induction of apoptosis in spleen lymphocytes and liver cells treated with an ethanol were observed in tomatoes and onions among eight food materials. It is important to be cooked with the raw status as soon as possible for the food processing which may influence the apoptotic reactions in the case of an onion.

Keywords :apoptosis lymphocytes food processing lycopene

はじめに

食品とアポトーシスに関する一連の研究で、紫外線、抗がん剤などによる正常な細胞のアポトーシスの誘導に食品成分が及ぼす影響について、主にマウスの脾臓から調製したリンパ球を使って実験してきた。¹⁾今回は、アルコールで誘導されたアポトーシスを抑制する食品や成分を見出し、効果的な利用法について検討した。

アルコールを含む酒類は、百薬の長とも呼ばれ健康に役立つ印象がある。実際、まったく飲まない群より少し嗜む群の方が長生きという結果もあるが、二日酔いの原因となるアセトアルデヒドを発生する。このアセトアルデヒドを無害な酢酸に分解する能力が遺伝的に低い日本人は欧米人より多く、酒によって引き起こされる健康障害は、特に女性や若者で多く見られるようになっている。

酒のアルコールは、約 90% 肝臓で代謝され、アセトアルデヒドを水や二酸化炭素まで分解する脱水素酵素が少ないいわゆる酒の弱い人にとって、肝臓の負担を軽くする方法が見出されることは有益である。

従来より二日酔い対策に、魚・豆腐・枝豆などをつまみにすると不快な症状を緩和したり、ぬるま湯を飲んだり、温めた牛乳と糖、果物で補給するとよい旨、提言されていて、良質なたんぱく質やビタミン B 群や C などの栄養や水分補給が効果的で、特に各種つまみの重要性が強調されている。

そこで、アルコールによる肝臓への影響と免疫系への影響を科学的に明らかにするため、マウスの肝細胞とリンパ球を用い

て、アルコールでアポトーシスを誘導し、二日酔いによいと言われる各種食品に加工を施し、このアポトーシスの反応を抑制できるかどうか検討したので、以下に報告する。

方法

実験用動物は、BALB/C 7 週令メスのマウスを中部科学資材(株)から購入し、成長に必要な栄養素をすべて必要量含んだ餌で飼育した後、肝臓と脾臓を採取して、肝細胞とリンパ球をリンパ球機能検索法²⁾に記述の手順に従い調製して 1 回あたり 2×10^6 個に調整して実験に供した。アルコールは Wako 製試薬特級エチルアルコールを 4% 濃度に希釈した。培養液は SIGMA 製 RPMI-1640 MEDIUM with L-glutamine and $NaHCO_3$ (STERILE) を用い、アポトーシスの判定には、Kyokuto Pharmaceutical Industrial Co., Ltd. 製の乳酸脱水素酵素活性 (LDH) 測定キットを使用した。

二日酔いに効くと一般的に言われている食品から、トマト、玉ねぎ、生姜、ニンニク、ココア、きな粉、ウコン、ごまを調達し、市販品各 1 g をエタノールで抽出後、3000rpm、5 分間遠心分離して上澄みを試料とした。また、食品成分のうち、リコピンは、Wako 製試薬特級粉末をエタノールに溶かして各種濃度に調製後、添加試料とした。

測定に使用した実験機器は、マイクロプレートリーダー (IWAKI Wellreader SME3400)、位相差顕微鏡 (OLYMPUS CK40) で、試験管とピペット類は NALGE NUNC INTERNATIONAL 社、シャーレは IWAKI 社から購入しすべて

滅菌済みのものを使用した。

結果および考察

調製した4%アルコールでマウスのリンパ球と肝細胞を誘導する前処理で、各種試料を1mg%になるよう添加して、アポトーシスを起こした細胞から発生するLDH活性を測定した結果Fig1(脾臓リンパ球の場合)とFig2(肝細胞)となった。

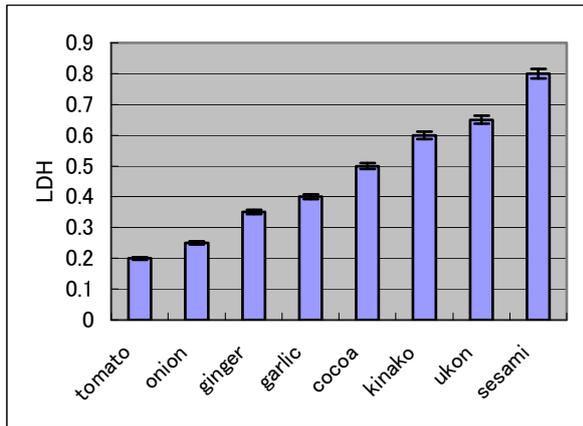


Fig.1 脾臓リンパ球のアポトーシスに及ぼす食品の影響

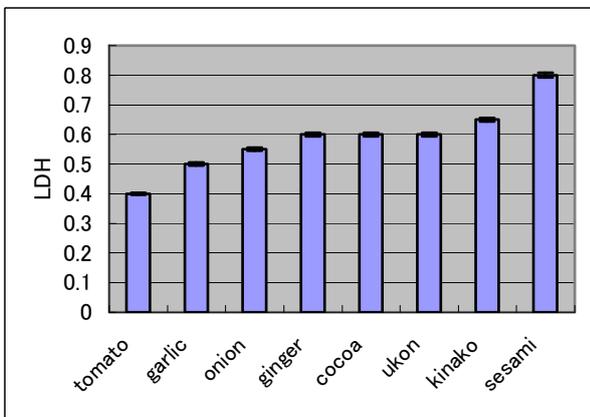


Fig.2 肝細胞のアポトーシスに及ぼす食品の影響

脾臓リンパ球と肝細胞では、アルコールによる感受性が異なり、アポトーシスを大きく誘導したのは、脾臓リンパ球の方であった。肝細胞は、アポトーシスを生じたが脾臓リンパ球に比べ誘導割合は小さかった。また、添加した各種食品のうち、もっともLDH活性が低く、アポトーシスの誘導が抑制されたのは、トマトの抽出物で、リンパ球でも肝細胞でも両方に最も効果的な食品であると考えられた。リンパ球では、トマトに次いで、玉ねぎ、生姜の効果が高く、以下、ニンニク、ココア、きな粉、ウコン、ごまの順に効果的であった。一方、肝細胞では、

トマト以外は差異がほとんど見受けられなかった。

トマトではリコピン、玉ねぎはケルセチン、生姜はショウガオール、ニンニクはアリシン、ココアはカカオポリフェノール、きな粉はイソフラボン、ウコンはクルクミン、ごまはセサミンを有効成分と想定したが、とりわけニンニク、ココア、きな粉、ウコン、ごまは健康食材として重宝されているにもかかわらず今回の実験系では有効濃度に達していないせいか予想した効果が得られなかった。さらに高濃度あるいは低濃度での試みが必要であろう。

そこで、リンパ球にも肝細胞にも共通して効果の高かったトマトについてさらに詳しく検討した。トマトに特有の成分であるカロテノイドのリコピンを1~5mg/100mlになるよう濃度希釈して、リンパ球に加えた結果をFig3に、同様に肝細胞に加えた結果をFig.4に示した。

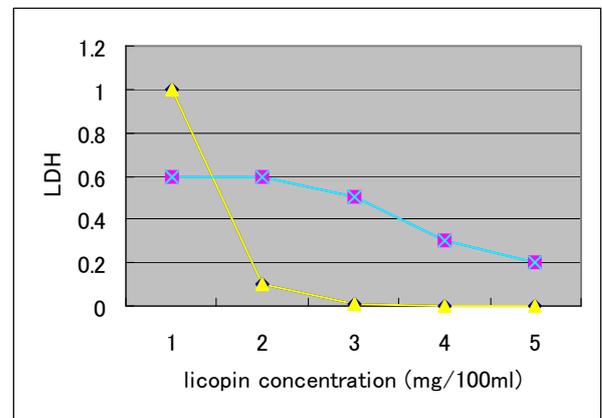


Fig. 3 リコピンが脾臓リンパ球のアポトーシスに及ぼす影響 (△は細胞とリコピンだけのコントロール群)

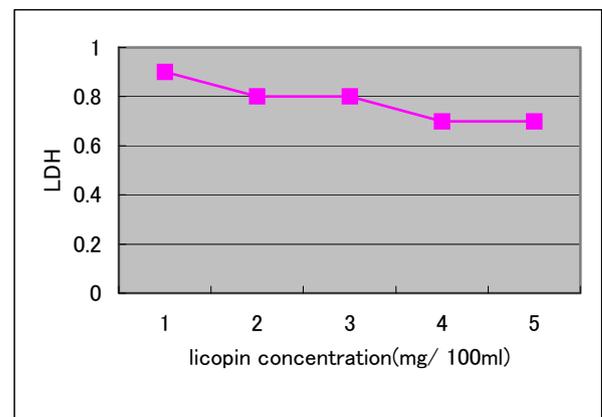


Fig.4 リコピンが肝細胞のアポトーシスに及ぼす影響

アポトーシスに関する研究(8) 加工によるアポトーシスへの影響

リコピンは、食物に含まれる主要カロテノイドの仲間で、 α -カロテン、 β -カロテン、 β -クリプトキサンチン、ルテイン、ゼアキサンチン、アスタキサンチンと共に知られ、特にトマト、トマト加工品、スイカ、グレープフルーツ(赤肉種)、柿、アブリコット、グアバ、パパイアに0.1mg/100g以上含まれている。

Fig.3 よりリンパ球に対しリコピンとLDH活性の間に明らかな濃度依存性が見られたが、肝細胞に対しては元々アポトーシスの誘導が少ないため濃度依存が見られずアポトーシスの抑制につながっているとは認められなかった。(Fig.4)

次いで、実際の有効利用法を探るため、調理加工後の影響をトマトと玉ねぎについて検討した。トマトと玉ねぎを生、加熱15分、生を60分放置したものの3群に分けて、同様な条件で比較したところ、表1(玉ねぎの場合)、表2(トマトの場合)で違いが見られた。

表1. 玉ねぎの加工法によるアポトーシスへの影響

Food Process	Raw	Heating	Laps of time
Spleen Lymphocytes	0.12±0.02	0.36±0.03	0.59±0.03
Liver cells	0.29±0.02	0.86±0.03	0.91±0.02

*数値はLDH活性をn=3±標準偏差で示したもの。

表2. トマトの加工法によるアポトーシスへの影響

Food Process	Raw	Heating	Laps of time
Spleen Lymphocytes	0.51±0.01	0.55±0.03	0.58±0.01
Liver cells	0.72±0.02	0.76±0.01	0.78±0.02

表1の玉ねぎを使用した実験系で、明らかにLDH活性に違いが見られ、最も効果的な加工法は玉ねぎを生にすりおろした群で、リンパ球も肝細胞もアルコールによるアポトーシスの誘導を効果的に抑制した。加熱後は、効果はあるものの、生に比べ3分の1に減少した。また、生の状態で60分経過すると効力が失われ加熱したものよりいっそう低下した。次いで、表2に示したようにトマトの実験も同様に比較したところ、生、加熱後、生の状態で6時間経過したもの間で効果の違いが予想に反して見られなかった。リコピンなどのカロテノイド類は、

調理方法での損失は、煮る>蒸す>炒めるの順に大きいとされるが、ゆでることで大きく成分が減少することはない³⁾とされるため、違いが認められなかったと考えられた。

ケルセチンは、野菜や果物に広く分布するフラボノイドの仲間で、フェノール化合物であるので抗酸化力があり、加工法により、この抗酸化力が減少したものと推察した。

食品は多成分混合系なため、どの成分が効いているのか特定することは難しいが、食品丸ごとで効果があっても特定の成分を加えると必ずしも大きなアポトーシスの抑制効果が得られているとは限らないため、サプリメント等で単品を高濃度に取り込んでも予想以上の効果が期待できないことが十分に示唆された。摂取エネルギーに気をつけながら、さまざまな食品の利用から健康効果を期待する方が無害で効果的であることを示している結果となった。

近年、アルコールフリー、アルコール度数ゼロのビール風飲料が開発され需要が高まっている。やがて、ビール以外の飲料にも発展するかもしれない。精神的安らぎだけでなく動脈硬化を抑え、善玉コレステロールを減らさない食べ方でアルコールによる害を極力抑えていく肝臓を傷めない食品の取り方が大事である。リコピンなどのカロテノイド類、ケルセチンなどのフラボノイド類の栄養的意義を見直す結論となった。

本研究を行うにあたり測定に一部ご協力いただきました岐阜市立女子短期大学食物栄養学科 2009年度卒業生の石川綾美さん、古田英里さんに感謝いたします。

参考文献

- 1) 道家晶子 アポトーシスに関する研究(7) 岐阜市立女子短期大学紀要 第56輯 pp.35-38 2006
- 2) 矢田純一 藤原道夫 編 改訂版リンパ球機能検査法 中外医学社 2000
- 3) 西川研次郎監修 食品機能性の科学 株式会社 産業技術サービスセンター 2008

(提出期日 平成21年11月30日)