モデル生物線虫 *C. elegans* を用いた熟成ニンニクの機能解析 硫化アリル化合物は酸化ストレス応答経路を活性化し寿命延長に寄与する

ニンニク (*Allium sativum* L.) は、中央アジアが原産地とされるネギ科の多年草で、5,000年以上前から世界各国で栽培された記録が残る最も古い栽培植物の一つである。紀元前1,500年以前に書かれたとされる古代エジプトの薬物医学書に、疲労、衰弱、神経系疾患、心循環系疾患などに効果があるとして、ニンニクを使った22の処方が記されているように、古くから食用としてだけでなく医療用としても利用されてきたことがわかる。

ニンニクを切ったりつぶしたりすると特徴的な“ニンニク臭”がしてくる。この臭いは、ニンニクに特徴的な硫黄含有アミノ酸であるアリインに由来している。ニンニクが傷つけられると、アリインにアリイナーゼという酵素が作用してアリシンという硫黄化合物に変換させ、さらにアリシンからアリルスルフィド類などの疎水性の揮発性成分が生じ、これらが“ニンニク臭”の素となっている。アリルスルフィド類のうちジアリルトリスルフィドには、アポトーシスによるがん抑制作用や血栓の形成に関与する血小板凝集抑制作用があることが報告されている。また、同じくアリシンから生成するアホエンなどの疎水性硫黄化合物も血小板凝集抑制作用を有するという報告がある。

一方、ニンニクをアルコール水溶液中で長期熟成させると、S-アリルシステイン (SAC) やS-アリルメルカプトシステイン (SAMC) などの水溶性の硫黄含有アミノ酸が生成する。SACは優れた吸収性と血中安定性を有し、肝障害予防効果や大腸がん予防効果、抗酸化作用などさまざまな薬理作用が報告されている⁽¹⁾。SAMCも同様に、大腸がん細胞株の増殖抑制作用や肝保護、抗酸化作用を有するとの報告がなされてきた⁽²⁻⁴⁾。本稿では、ニンニクの熟成中に生成するSACとSAMCに着目し、これら化合物が生体にどのように作用し、その薬理作用を発揮しているかについて、特に抗酸化作用にスポットを当てて紹介したい。

ヒトを含め生物の多くは、呼吸や食餌によってエネルギーを産生し生命活動を維持しているが、同時に生体内では活性酸素種 (ROS) が生成され、タンパク質や脂質、DNAが損傷を受けている。生体はROSを直接除去したり、受けた損傷を修復したりすることで恒常性を維

持しているが、ROSによるダメージが長期間持続 (酸化ストレス) すると、細胞が老化し、アテローム性動脈硬化症や神経系疾患、がん、慢性疲労症候群などさまざまな疾患が引き起こされると言われている。つまり、細胞内の酸化ストレス状態を改善することは、老化や疾患の発症、進展を遅らせ、健康寿命を延ばすことにもつながると言える。近年、酵母、線虫、ショウジョウバエ、マウスなどの真核モデル生物を用いた老化・寿命研究が世界中で行われ、老化の基本的な仕組みには生物間で共通点が多いことがわかってきた。筆者らは、モデル生物の中でも多細胞で、短期間 (1カ月程度) で寿命解析ができ、さまざまな分子遺伝学的解析手法が利用可能な線虫 (*C. elegans*) を用いて、SACとSAMCが寿命や関連するシグナル伝達経路に及ぼす影響について調べた。

野生型の線虫にSAC, SAMCを投与して寿命を調べた結果、SAC, SAMCは平均生存日数を有意に延長させることを見いだした⁽⁵⁾。さらに、SAC, SAMCをあらかじめ投与した線虫では、酸化剤や熱処理によりもたらされる細胞内のROSの蓄積と生存率の低下が顕著に抑制された。IIS (インスリン/IGF (insulin-like growth factors) シグナル伝達経路) は、多くの生物で広く保存され、糖や脂質の代謝を制御し細胞の生育に重要な役割を担う。線虫においてIISは、酸化ストレス応答転写因子であるDAF-16 (FOXOホモログ)⁽⁶⁾とSKN-1 (Nrfホモログ)⁽⁷⁾を直接抑制している。IISの構成因子であるDAF-2やPI3Kの機能を欠損させた線虫では、DAF-16とSKN-1が活性化され、酸化ストレス応答遺伝子群の発現増加と寿命延長が起こる。また近年、DAF-16とSKN-1がmTORC2 (哺乳類ラパマイシン標的タンパク質複合体2)-SGK-1経路の下流で、温度依存的に線虫の寿命を調節することも示された⁽⁸⁾。筆者らは、SAC, SAMCはDAF-16経路には関与しないが、SKN-1の標的遺伝子で第2相解毒酵素をコードする*gst-4* (グルタチオンS転移酵素) の発現を顕著に誘導することを見いだした。さらに、*skn-1*欠損変異株ではSAC, SAMCによる*gst-4*の発現誘導や寿命延長は認められないため、これらの化合物がSKN-1を介して寿命延長をもたらすと考えられた (図1)。転写因子Nrf2は、通常Keap1タンパ

図1 ■ SAC, SAMCによる酸化ストレス応答経路SKN-1/Nrfを介した線虫の寿命延長メカニズム

ニンニクを長期間熟成するとSACやSAMCのようなさまざまな水溶性硫黄含有アミノ酸が生成される。SAC, SAMCはSKN-1転写因子を活性化して下流の酸化ストレス応答遺伝子群の発現を促し、線虫のストレス抵抗性の向上と寿命延長をもたらすと考えられる。

ク質と相互作用して負に制御されている⁽⁹⁾。細胞が酸化ストレスや異物にさらされると、Keap1が外れNrf2のストレス応答スイッチが入る。線虫においてもWDR-23というタンパク質が、Nrf2-Keap1に似た制御機構によってSKN-1の活性を制御していると考えられている⁽¹⁰⁾。RNAi（RNA干渉）という手法を用いて*wdr-23*の発現を抑制するとSKN-1が活性化され*gst-4*の発現誘導が起こるが、SACやSAMCはさらなる*gst-4*の発現上昇をもたらさないことから、SKN-1あるいはWDR-23に作用してSKN-1タンパク量を調節することで、酸化ストレス抵抗性を付与し寿命を延長すると考えられる。

ニンニクやその加工物には、SACやSAMC以外にも多様な硫黄含有化合物が生成される。S-メチルシステインやS-1-プロベニルシステインなどいくつかの化合物も、さまざまな生物活性を有するとの報告がある。筆者らは、*gst-4*の発現誘導を指標にニンニクに由来する23種類の硫黄含有化合物のSKN-1経路活性化能を調べた。興味深いことに、SAC, SAMCのように硫化アリル基を有する5つの化合物のみが*gst-4*の発現を誘導した。また、化合物中のスルフィド結合を形成する硫黄原子の数と*gst-4*の発現量が相関することや、アリル基に結合した硫黄原子が活性に必須であること、システイン構造も活性に寄与することがわかった。各化合物の取り込み量や細胞内での2次的な代謝の影響など詳細に調べる必要があるが、ここで得られた知見は、SKN-1/Nrfを標的とした化合物創出の足がかりとなるかもしれない。

数千年も前から、人類はニンニクを食用または医療用として利用し、今日まで受け継いできた。科学技術の進歩により、多くの特徴的な成分やその生成機構が明らかにされ、長年経験的に利用されてきたニンニクがもつさまざまな薬理作用についても科学的に証明されてきた。現在、筆者らのグループを含め世界中で多くの研究者が、この魅力ある植物の多岐にわたる薬理作用の分子機構を顕かにする研究に取り組んでいる。

- 1) H. Amano, D. Kazamori, K. Itoh & Y. Koder: *Drug Metab. Dispos.*, **43**, 5 (2015).
- 2) H. Shirin, J. T. Pinto, Y. Kawabata, J. W. Soh, T. Delohery, S. F. Moss, V. Murty, R. S. Rivlin, P. R. Holt & I. B. Weinstein: *Cancer Res.*, **61**, 2 (2001).
- 3) I. Sumioka, T. Matsuura, S. Kasuga, Y. Itakura & K. Yamada: *Jpn. J. Pharmacol.*, **78**, 2 (1998).
- 4) N. Ide, H. Matsuura & Y. Itakura: *Phytother. Res.*, **10**, 4 (1996).
- 5) T. Ogawa, Y. Koder, D. Hirata, T. K. Blackwell & M. Mizunuma: *Sci. Rep.*, **6**, 21611 (2016).
- 6) C. Kenyon, J. Chang, E. Gensch, A. Rudner & R. Tabtiang: *Nature*, **366**, 6454 (1993).
- 7) J. H. An & T. K. Blackwell: *Genes Dev.*, **17**, 15 (2003).
- 8) M. Mizunuma, E. Neumann-Haefelin, N. Moroz, Y. Li & T. K. Blackwell: *Aging Cell*, **13**, 5 (2014).
- 9) G. P. Sykietis & D. Bohmann: *Sci. Signal.*, **3**, 112 (2010).
- 10) K. P. Choe, A. J. Przybysz & K. Strange: *Mol. Cell. Biol.*, **29**, 10 (2009).

(小川貴裕^{*1}, 小寺幸広^{*2}, 水沼正樹^{*3,4}, ^{*1}湧永製薬株式会社試薬・診断薬事業部, ^{*2}湧永製薬株式会社創薬研究所, ^{*3}広島大学大学院先端物質科学研究科, ^{*4}広島大学健康長寿拠点)

プロフィール

小川 貴裕 (Takahiro OGAWA)
 <略歴>1996年東京理科大学基礎工学部
 生物工学科卒業/1998年同大学院基礎工
 学研究科修士課程修了/同年湧永製薬(株)
 入社, 現在に至る (この間2002~2004年
 米国City of Hope, Beckman Research In-
 stituteに研究出向, 2013~2016年広島
 大学大学院先端物質科学研究科博士課程修
 了, 博士(理学))<研究テーマと抱負>臓
 器移植分野における研究用試薬, 診断薬の
 開発<趣味>バドミントン, 旅行(温泉)

小寺 幸広 (Yukihiro KODERA)
 <略歴>1983年広島大学工学部応用化学
 科卒業/1985年同大学院工業生化学科修
 士課程修了/同年湧永製薬(株)入社, 現在
 に至る (この間1991~1993年米国Univer-
 sity of California, Irvineに研究出向, 1999
 ~2002年広島大学大学院先端物質科学研
 究科博士課程修了, 博士(工学))<研究
 テーマと抱負>天然物中の有用化合物の探
 索とその評価, 包括予防(Comprevention)
 の探求<趣味>ジョギング, 百姓と
 料理

水沼 正樹 (Masaki MIZUNUMA)
 <略歴>1996年広島大学工学部第三類
 (化学系)卒業/1998年同大学院工学研究
 科博士前期課程修了/2001年同大学院工
 学研究科博士後期課程修了, 博士(工学)
 (指導教官: 宮川都吉広島大学名誉教授)/
 1998~2001年日本学術振興会特別研究員
 (DC1), 2001年日本学術振興会特別研究
 員(PD), 2001年8月~2007年4月広島大
 学大学院先端物質科学研究科助手/2007
 年4月~2011年1月広島大学大学院先端物
 質科学研究科助教/2011年2月~現在, 広
 島大学大学院先端物質科学研究科准教授
 (2009年3月~2011年1月米国・ハーバ
 ード大学医学部客員研究員(T. Keith Black-
 well教授))<研究テーマと抱負>モデル生
 物(酵母・線虫)を使った寿命・老化研究,
 私たちの健康長寿に役立つような新しいア
 ンチエイジング法を提唱したい<趣味>生
 き物の飼育, 犬の散歩<所属研究室ホーム
 ページ><https://www.hiroshima-u.ac.jp/adsm/graduateschool/bio/cellbio> (細胞生
 物学研究室), <http://hiha.hiroshima-u.ac.jp/>
 (広島大学健康長寿拠点)

Copyright © 2017 公益社団法人日本農芸化学会
 DOI: 10.1271/kagakutoseibutsu.55.372