平成 26 年度水産学奨励賞

藍藻類イシクラゲをはじめとする天然物に含まれる機能性成分について^a

伊 藤 智 広

近畿大学農学部

Functional components in natural bioresources including *Nostoc commune*, a kind of blue-green algae

TOMOHIRO ITOH

Laboratory of Aquatic Food Science, Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Kindai University, Nakamachi, Nara 631-8505, Japan

平成 20 年に閣議決定された海洋基本計画では、ゼロエミッション型社会の構築、海洋産業の振興および国際競争力の強化に資する機能性食品の開発が盛り込まれた（海洋基本計画平成 20 年 3 月；[http://www.kantei.go.jp/jp/singi/kaiyou/kihonkeikaku/080318kihonkeikaku.pdf#search=‘平成 20 年 + 海洋基本計画’](http://www.kantei.go.jp/jp/singi/kaiyou/kihonkeikaku/080318kihonkeikaku.pdf#search=‘平成20年+海洋基本計画’)）。著者らは、この「ゼロエミッション型社会の構築および国際競争力の強化に資する機能性食品の開発」をキーワードに、水生生物を中心とした天然物や食品加工残滓に含まれる成分の各種機能性評価を行ってきた。本稿では、これまでの研究成果の一部ではあるが、藍藻類のイシクラゲおよびムラサキウニ殻に含まれる成分の各種機能性について紹介する。

1. イシクラゲの機能性

1.1. イシクラゲについて

イシクラゲ *Nostoc commune* は、ネンジュモ科ネンジュモ属に属する藍藻類の一種であり、細胞糸によってコロニーを形成する（図 1A および 1B）。雨により水を含むと、地表やコンクリート面で藍緑色寒天質の膨潤した群体となる。乾燥に強く、除草剤が効かないため難防除雑草とされているが、清浄栽培を行えば工場生産も可能であり、未来の食糧としての利用が期待されている。近年、イシクラゲに含まれる抗酸化物質の報告¹⁾や多糖類の抗腫瘍活性²⁾などが報告されているが、種々の機能性に関する知見は未だ乏しい。本研究では、岐阜県中央部を南流する長良川の河川敷に自生するイシクラゲから単離した scytonemin (Scy) をはじめとする 6 種類の化合物（図 1C）の機能評価を行った。

1.2. ガン細胞増殖抑制作用^{3,4)}

我が国では現在もガンによる死亡者数は年間 30 万人を超え、日本人の総死亡者数の約 30% を占めている。この背景としては、たばこや飲酒、食生活の偏りなどが挙げられ、発症するガンの種類が国によって違いがあることも分かってきた。^{5,6)} したがって、日常的に抗腫瘍効果のある成分を含んだ食材を摂取することが、ガンの発症（ガン細胞の増殖）のリスク低減に貢献するといえる。そこで、イシクラゲから単離した 6 種類の化合物にガン細胞の増殖を抑制する効果があるか、ヒト急性 T 細胞性白血病細胞株 Jurkat 細胞を用いて検討した。その結果、還元型 scytonemin (R-scy; reduced scytonemin, IC₅₀ = 1.8 μM), Nostocionone (Nost, IC₅₀ = 2.9 μM) に強い Jurkat 細胞の増殖抑制を確認した。

細胞死はプログラム細胞死タイプ I 型のアポトーシス誘導死、II 型のオートファジー誘導死および III 型のネクローシス誘導死に分けられる。⁷⁾ そこで次に、蛍光顕微鏡（核、ミトコンドリア）および透過型電子顕微鏡による形態学的観察、2% アガロース電気泳動法による DNA の断片化の確認および細胞周期解析により、これら増殖抑制効果を示した物質がどのような機構により Jurkat 細胞の細胞死を誘導したのかを検討した。その結果、興味深いことに R-scy と Nost による Jurkat 細胞の細胞死が全く別の機構であることが分かった。R-scy 処理細胞では蛍光顕微鏡および透過型電子顕微鏡観察結果から、核の凝集と多くの空胞やオートファゴソームの形成を観察した。これは、R-scy 処理によってプログラム細胞死タイプ II 型のオートファジー誘導死が実行されたことを示唆する（図 2）。一方、Nost による細胞死

図1 イシクラゲ *Nostoc commune* Vauch. より単離した化合物
(A) イシクラゲの外観, (B) イシクラゲの生物顕微鏡像, 矢印はヘテロシスト (異質細胞) を示す。スケールバーは 20 μm 。
(C) 単離した 6 種類の化合物の化学構造。

(A) 無処理

(B) R-scy処理

図2 ヒト白血病 T 細胞株 Jurkat 細胞をイシクラゲ *Nostoc commune* Vauch. より単離した R-scy で処理した際に観察されるオートファジー誘導死
透過型電子顕微鏡観察像, 無処理の Jurkat (A), R-scy で処理した Jurkat 細胞 (B), 黒矢印は空胞中に見られるオートファゴソームを示す。スケールバーは 2 μm 。

は、核の凝集およびアポトーシス小体の観察や DNA の断片化を確認した。これら結果は、R-scy 処理によってプログラム細胞死タイプ I 型のアポトーシス誘導死が実行されたことを示唆している。さらに Nost によるアポトーシス誘導機構を western blot 法により検討したところ、Nost によるアポトーシス誘導は、カスパーゼの活性化を介することもわかった。

2. ムラサキウニ殻に含まれる機能性成分の探索

我が国におけるウニの消費量は世界の 7 割を占めると算出されている。したがって、ウニ好きの日本人が大量のウニ殻の発生源といっても過言ではない。ウニ殻の再利用方法としては、クロダイ釣りのウニダンゴや染料、肥料などがあるが、これらの再利用はごく一部であり、さらなる未利用資源の活用方法を検討する必要がある。

る。そこで著者らは、山口県下関市豊浦沖で漁獲されたムラサキウニの殻に含まれる色素成分に着目し、各種機能性評価を行った。

2.1. ムラサキウニ殻色素 echinochrom A のメラニン生成抑制効果

国内の女性の7割以上が美白に関心があり、そのうちの約半数がしみやそばかすに悩んでいることから、メラニン生成を調節する化粧品の開発（新規美白成分）が活発になっている。メラニンは、アミノ酸の一つであるチロシンを基質としてチロシナーゼ（TYR: tyrosinase）、チロシナーゼ関連タンパク1（TRP-1:

Tyrosinase related protein-1）およびチロシナーゼ関連タンパク2（TRP-2）による重合反応を経て生合成される。⁸⁾したがって、このメラニン生合成の律速酵素であるTYRの酵素活性を阻害する物質は、メラニンの生合成を阻害し、美白効果をもたらすことから、ムラサキウニ殻から単離した echinochrome A (echi. A) のTYR阻害活性を、ドーパを基質とした *in vitro* 評価系により検討した。その結果、echi. A は細胞に毒性がない濃度（50 μM ）まで濃度依存的にTYRの活性を直接的に阻害した（ $\text{EC}_{50}=30 \mu\text{M}$ ）。

次に、echi. A によるTYR, TRP-1, TRP-2 のタンパ

図3 ムラサキウニ殻に含まれる echinochrome A のメラニン生成抑制機構

(A) echinochrome A によるメラニン生合成系における律速酵素チロシナーゼの直接的な活性阻害、(B) echinochrome A によるメラニン生合成系における小眼球症関連転写因子 (MITF) の遺伝子発現誘導阻害。

クおよび遺伝子発現への影響について検討した。また、これら酵素遺伝子のプロモーター領域には小眼球症関連転写因子 (microphthalmia-associated transcription factor, MITF) が結合する配列 (M-box) がある。⁹⁾ つまり、これは TYR, TRP-1 および TRP-2 の発現が MITF によって制御されることを意味するので、MITF のタンパクおよび遺伝子発現についてもあわせて検討した。その結果、echi. A (処理濃度: 20 μ M) は α -MSH 刺激後の MITF, TYR, TRP-1, TRP-2 のタンパクおよび mRNA 発現を顕著に抑えた。つまり、echi. A による TYR, TRP-1, TRP-2 のタンパクおよび mRNA 発現はこれら遺伝子の上流因子である MITF の mRNA 発現低下が深く関与していることが示唆された。MITF の発現は、CREB (cAMP responsive element binding protein) をはじめ PAX3, SOX10, ITF2 など種々の転写因子により転写制御を受ける。^{10,11)} また、ERK1/2 や GSK3 β (glycogen synthase kinase 3 β) などによるリン酸化を受け、転写活性が調節されること¹²⁾ から、echi. A によるメラニン合成抑制機構をさらに追究するためには、今後 MITF の上流で機能するこれらの細胞情報伝達因子への影響を検討する必要がある (図 3)。

3. おわりに

本稿で紹介したイシクラゲ粉末については、成分の機能を活かした洗顔剤や飴などへ商品化された。ムラサキウニ殻に含まれる echi. A についても今後、何らかの商品に活用し、社会に研究成果を還元していきたいと考えている。この他にも本稿で紹介できなかったが、カマボコのすり身加工の際に発生する魚骨やクロマグロ養殖生簀に付着するサンゴの機能性について現在検討を進めている。今後、それら機能性について紹介できるものと考えているが、引き続き水産分野における低利用資源の普及および加工残渣の再利用向上の一助となる機能研究を進めていきたい。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、この度は栄誉ある日本水産学会奨励賞を授与いただくことに対し、選考委員の先生、ご推薦をいただきました京都大学農学部名誉教授平田孝先生 (現: 四條畷学園大学教授) および関係者の先生に厚く御礼申し上げます。本研究は、近畿大学農学部水産学科水産利用学研究室にて行われたものであります。着任後、研究環境の整備や研究へのご助言を賜りました近畿大学農学部水産学科水産利用学研究室教授塚正泰之先生、安藤正史先生に深く感謝申し上げます。また、岐阜大学医学部名誉教授野澤義則先生 (現: 東海学院大学管理栄養学科教授)、三重大学生物資源学部名誉教授古

市幸生先生 (現: 名古屋女子大学教授)、岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科教授赤尾幸博先生ならびに岐阜大学工学部教授額 守先生には、現在にまでわたり細胞生物学 (細胞情報伝達系)、栄養機能学、機能性成分の物質精製についてご指導をいただきましたことを感謝申し上げます。水産大学校食品科学科教授 芝 恒男先生および前田俊道先生には、研究の基礎をご指導いただきましたこと感謝申し上げます。最後に、近畿大学農学部水産学科水産利用学研究室にて、ともに研究に取り組み、支えてくださった卒業生および在校生の皆様に感謝致します。

文 献

- 1) Ninomiya M, Satoh H, Yamaguchi Y, Takenaka H, Koketsu M. Antioxidative activity and chemical constituents of edible terrestrial alga *Nostoc commune* Vauch. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2011; **75**: 2175-2177.
- 2) Shanab SM, Mostafa SS, Shalaby EA, Mahmoud GI. Aqueous extract of microalgae exhibit antioxidant and anticancer activities. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 2012; **2**: 608-615.
- 3) Itoh T, Muramatsu Y, Masu M, Tsuge A, Taniguchi M, Ninomiya M, Ando M, Tsukamasa Y, Koketsu M. A synthesized nostocionone derivative potentiates programmed cell death in human T-cell leukemia Jurkat cells through mitochondria via the release of endonuclease G. *Nutr. Cancer* 2014; **66**: 1414-1423.
- 4) Itoh T, Tsuzuki R, Tanaka T, Ninomiya M, Yamaguchi Y, Takenaka H, Ando M, Tsukamasa Y, Koketsu M. Reduced scytonemin isolated from *Nostoc commune* induces autophagic cell death in human T-lymphoid cell line Jurkat cells. *Food Chem. Toxicol.* 2013; **60**: 76-82.
- 5) Jemal A, Center MM, DeSantis C, Ward EM. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2010; **19**: 1893-1907.
- 6) Baena Ruiz R, Salinas Hernández. Diet and cancer: risk factors and epidemiological evidence. *Maturitas* 2014; **77**: 202-208.
- 7) Ouyang L, Shi Z, Zhao S, Wang FT, Zhou TT, Liu B, Bao JK. Programmed cell death pathways in cancer: a review of apoptosis, autophagy and programmed necrosis. *Cell Prolif.* 2012; **45**: 487-498.
- 8) Slominski A, Moellmann G, Kuklinska E, Pawelek J, Bomirski A. Positive regulation of melanin pigmentation by two key substrates of the melanogenic pathway, L-tyrosine and L-dopa. *J. Cell. Sci.* 1988; **89**: 287-296.
- 9) 武田和久. 色素細胞における転写因子 MITF の機能制御ネットワーク. 生化学 2003; **75**: 1444-1448.
- 10) Wan P, Hu Y, He L. Regulation of melanocyte pivotal transcription factor MITF by some other transcription factors. *Mol. Cell Biochem.* 2001; **354**: 241-246.
- 11) Rodriguez CI, Setaluri V. Cyclic AMP signaling in melanocytes and melanoma. *Arch. Biochem. Biophys.* 2014; **563**: 22-27.
- 12) Tu CX, Lin M, Lu SS, Qi XY, Zhang RX, Zhang YY. Curcumin inhibits melanogenesis in human melanocytes. *Phytother. Res.* 2012; **26**: 174-179.