

フラボノイド類によるオートファジー誘導機構の解析

Molecular mechanism of induction of autophagy by flavonoids

石原 朋恵¹、寺尾 純二¹、柴田 貴広、内田 浩二、○河合 慶親（名大院生命農・応用分子生命科、¹徳島大院ヘルスバイオサイエンス）

Tomoe Ishihara¹, Junji Terao¹, Takahiro Shibata, Koji Uchida, ○Yoshichika Kawai (Nagoya Univ., ¹Univ. of Tokushima)

【目的】オートファジーはユビキチンプロテアソーム系に並ぶ主要な細胞内分解経路であり、真核生物のすべての細胞に供えられている。オートファジーでは、オートファゴソームと呼ばれる二重膜構造内にタンパク質やオルガネラが取り込まれ、最終的にリソソームとの融合によってバルク分解される。オートファジーの役割として、栄養飢餓時に応答し非選択的にタンパク質を分解することで、アミノ酸の再供給に重要であることが古くから知られていたが、障害を受けたタンパク質やオルガネラを選択的に分解することで細胞内恒常性維持に寄与していることが近年明らかとなってきた。特にオートファジー関連遺伝子に対するノックアウトマウスの樹立・解析から、オートファジー機能の欠損が神経変性疾患やがん、糖尿病など広範囲の疾患の発症に関与することが強く示唆されている。本研究では、食品成分の新たな機能性としてのオートファジー誘導に着目し、有効成分の探索及び作用機構の解析を目的とした。

【方法】HeLa細胞（ヒト子宮頸癌由来上皮細胞）に様々なポリフェノールや食品成分を添加し培養後、オートファジー分解の指標となるp62をウェスタンブロットにて検出した。オートファジー機構の解析についてはPI3K/Akt/mTOR経路を中心にウェスタンブロットにより評価した。細胞内へのポリフェノールの蓄積については、細胞抽出液をHPLC分析することで検出・定量を試みた。

【結果】様々なポリフェノールや食品成分の中でもフラボノイド類においてp62の顕著な減少が認められた。中でもシソなどに多く含まれるルテオリンが最も顕著な作用を示した。カテキン類やイソフラボンなどその他のポリフェノールにおいては、本条件では有意な効果は認められなかった。オートファジーの実行に必須な遺伝子の一つであるAtg5欠損MEF細胞においてはルテオリンによるp62の減少は認められなかったことから、ルテオリンによるp62の減少はオートファジーの促進に由来するものと示唆された。ルテオリン処理によってオートファジーの負の制御因子であるmTORのリン酸化およびmTOR-Raptor複合体形成が阻害された。さらに、ルテオリンはmTOR上流のAktリン酸化を顕著に阻害した。また、HPLC分析よりルテオリンは細胞内に取り込まれることが確認されたが、一方で水溶性の高いルテオリン配糖体では細胞内への取り込みはほとんど見られず、オートファジー誘導作用も認められなかった。以上の結果より、ルテオリンは細胞内へ取り込まれ、mTOR経路を負に制御することによりオートファジーを誘導する食品因子であることが示された。