

## 秋季シンポジウム (1999) 「藻類の安全性と健康への効用」

## 幹 渉：老化予防への海藻の効能

はじめに

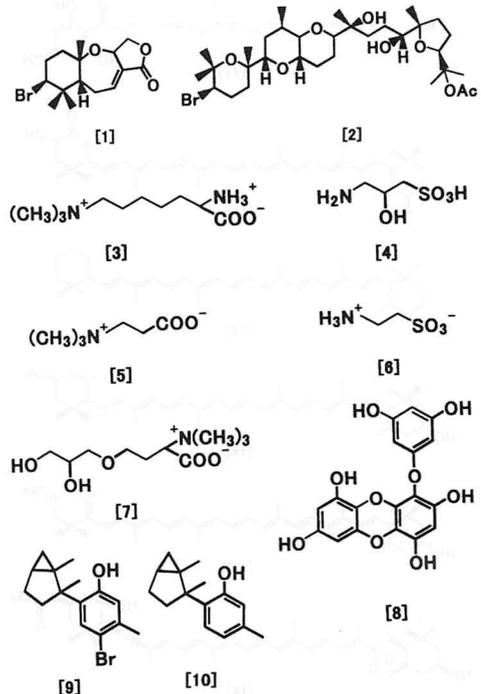
沖縄県は長寿県として有名であり、平均寿命や65才平均余命は日本最高である。また、癌による死亡率の低さや糖尿病など生活習慣病の発症率の低さも著しい。長寿の理由として過去多くの研究者が様々な疫学的調査を実施してきた。尚りは長寿の理由を沖縄のもつ自然の風土と歴史背景、県民性と併せて独特な食生活を挙げている。同女史は沖縄県栄養士会の資料に基づき、高齢者の働き盛りにおける食生活の実態を「コメよりも多くサツマイモを摂取すること」「タンパク源として豚肉や豆腐を多く摂ること」とあわせて野菜とともにアオサ、コンブ、モズクなどの海藻を頻繁に摂取することを挙げている。沖縄の人々は好んで大型藻類を食する。ヒトエグサ、アナアオサ、コンブ、モズク、オゴノリなどがその代表である。そこで海藻の老化予防効果について、科学的な観点から考えることにした。しかし、「老化」メカニズムに関する研究は最近生化学分野で長足の進歩を遂げたものの、まだまだ直接予防の観点で化合物に係る見るべき研究はない。ここでは主として海藻に含まれる抗腫瘍性物質、生活習慣病に抗する物質、あるいは活性酸素やフリーラジカルを消去/捕捉する物質などを取り上げ、広義での老化予防について言及したい。なお、これらに関しては佐藤<sup>2)</sup>が丁寧に総述しているのであわせて参照されたい。

## 抗腫瘍性

以前より数多くの研究がなされ、報告されている。代表的なものとして多糖類やアルギン酸・テルペノイドなどが挙げられる。多糖類については Suzuki *et al.*, Yamamoto *et al.*<sup>3, 4)</sup> の一連の研究が名高い。彼らは、コンブ類やホンダワラの熱水抽出物がサルコーマ180固型腫瘍に対して顕著な抗腫瘍活性を認めている。また、ナガコンブの多糖類がL2120マウス自血腫、Meth-A線維肉腫、B-16黒色腫などの同種同系腫瘍に対して強い活性を示すもののリス肺腫やエールツヒ腹水腫には効果がないことを明らかにしている。またアサクサノリの粉末が1, 2-ジメチルヒドラジンによって誘起されたラットの腸腫瘍に対して *in vivo* で活性を認

め、その活性本体は酸性多糖類であろうと推定している。

Yamamoto & Maruyama<sup>5)</sup> は褐藻類のケミカルインディケーターであるアルギン酸についてもサルコーマ180固型腫瘍の増殖阻害活性を報告している。褐藻類の硫酸化多糖であるフコイダンも同様にサルコーマ180固型腫瘍の増殖阻害活性を示すことが明らかになっている<sup>6)</sup>。高橋<sup>7)</sup> はフコイダンの抗腫瘍性活性発現メカニズムについてL-1210白血腫を移植したマウスを用いて検討し、腫瘍細胞の表面電化の負への転換に伴う転移阻害、宿主依存性などを推定している。藻類由来のテルペノイドでもいくつかの抗腫瘍性活性が報告されている。代表的なものとして紅藻類に含まれるアプリスタチン [1]<sup>2)</sup> やシルシフェリル-23-アセテート [2]<sup>8)</sup> がP388リンパ性自血腫細胞に対して *in vitro* で強い活性を示すことが明らかになっている。近年、佐賀大学海浜台地研究センターの亀井らのグループが、



日本近海産藻類数百種を対象に幅広い生理活性スクリーニングを実施している。彼らは腫瘍細胞L1210に対する選択的な抗腫瘍活性を指標とし、259種以上、1,000検体以上の海藻類を対象としてスクリーニングを実施した<sup>9)</sup>。その結果、ウチワサボテンゲサ、キツネノオなどのMeOH抽出物に顕著な活性を見とめ、かつこれらの活性が死細胞的ではなく静細胞的であることを見出している。さらに、これらMeOH抽出物の活性はマウスリンパ性白血病細胞P388に対しても認められたところから、彼らは抽出物の中に白血病細胞に対する特異的な毒性物質が存在すると推定している<sup>10)</sup>。

### テロメアーゼ阻害

近年、老化に関連する遺伝子としてテロメアーゼの研究が盛んである。染色体の安定にきわめて重要な働きをすると考えられるテロメアーゼ遺伝子は老化に伴って短縮し、いずれはその細胞は死に至るといわれている<sup>11)</sup>。テロメアーゼはテロメアーを伸張する酵素であり<sup>12)</sup>、したがって正常細胞ではテロメアーゼを活性化することによって細胞老化を防止させることが理論的には可能であると推定される。今後の天然物化学領域における興味ある研究対象である。一方、腫瘍細胞では逆に本酵素を阻害することによって新たな抗がん剤の開発が

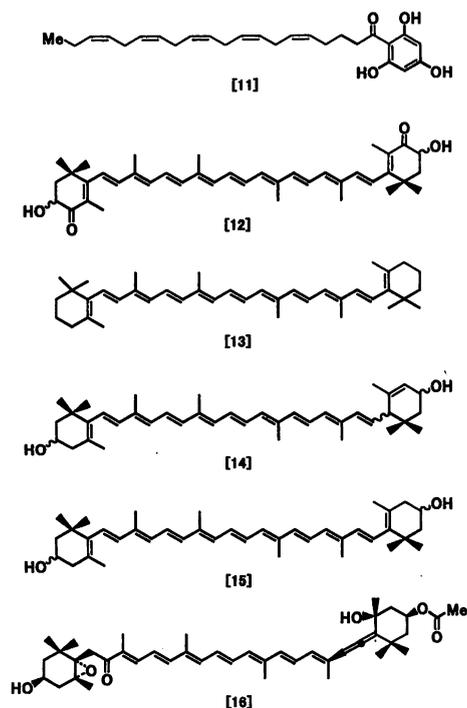
期待できる。亀井ら<sup>13)</sup>は緑藻タカノハズタのMeOH抽出物に顕著なテロメアーゼ阻害活性を認め、報告している。今後、テロメアーに関する研究の進捗を期待しよう。

### 生活習慣病

近年、癌とともに虚血性脳・心疾患の患者数が増大し、死亡の原因にもなるところから、極めて重要視されるようになってきた。このうち藻類に関しては、血液循環器系疾病に対して予防効果を示すと考えられるいくつかの物質が古くから知られている。代表的なものとして竹本常松らがミツイシコンブから見出したアミノ酸、ラミニン [3] が挙げられる<sup>2)</sup>。ラミニンには一過性的に血圧を下げる活性が認められたが、本活性は末梢血管に対する向筋肉性の直接拡張に基くものと推定している。ラミニンは他のコンブ科にも見出され、さらに褐藻マツモにも含有されることが認められている。また、紅藻ヒラムカデに含まれるアミノ酸、d-2-ヒドロキシ-3-アミノプロパン-スルホン酸 [4] にも同様の活性が認められている<sup>2)</sup>。

コレステロール低下作用に関しては、フコステロールが著名であるが、その他の海藻含有成分でも報告例は多い<sup>2)</sup>。アルギン酸は広く褐藻類に含まれるが、そのナトリウム塩がコレステロール低下作用を示すことが報告されている<sup>14)</sup>。本活性はアルギン酸ナトリウムが不溶性繊維状となり、腸でのコレステロール吸収を抑制することに基くと推定されている。コレステロール低下作用については藻類に幅広く含まれるβ-アラニンベタイン [5]<sup>15)</sup>、タウリン [6]<sup>2)</sup> や緑藻ヒトエグサから分離されたウルバリ [7]<sup>2)</sup> でも認められているが、これらの作用機構については不明である。

近年、生活習慣病の多くは細胞レベルでの酸化障害に基くものが多いと考えられるようになってきた。しかし、酸化障害の機構そのものについてはまだまだ不明点も多い。我々のグループは、これら酸化障害の大半が活性酸素によるものと考えているが、このような観点での藻類成分を対象とする研究例はまだ少ない。一方、ロダン鉄を用いる脂質過酸化抑制活性を指標とする抗酸化物質の探索はいくつかのグループでなされている。代表的な化合物としてビタミンC (アスコルビン酸) やビタミンE (トコフェロール類) が挙げられる。ビタミンCやEは海藻類の代表的な抗酸化ビタミンであり、一般に海藻類が身体に良いとされる一つの根拠となっている。その他の化合物についてもいくつかの報告例がある。Fukuyama *et al.*<sup>16)</sup> は褐藻ア



ラメよりポリフェノールの一種であるエコール [8] を単離・報告している。本化合物は褐藻類特有のフロログシノールの三量体であり、強い抗酸化活性を示す。その他にも数多くのポリフェノール類が抗酸化物質として報告されている。我々のグループは、これらポリフェノール類をはじめ、藻類に含まれる化合物を対象として、主としてESRを用いる方法で活性酸素消去の観点からスクリーニングを実施した結果、特に褐藻類に強いスーパーオキシドアニオンラジカル消去活性を認めた。現在これらの構造解析を実施中であるが、比較的高分子のものに強い活性が認められており、構造解析法の開発もあわせて重要であると考えている。一方、ヒドロキシラジカル活性を示す海藻抽出物も褐藻を中心に見られたが、これらの活性本体はビタミンCであろうと考えられる。

捕見らのグループは四国海域で採集した藻類を対象とし、抗酸化物質のスクリーニングを実施している。その中でいくつかの抗酸化物質を単離している。まず、愛媛県大角鼻で採集した紅藻ミツテソゾ粗抽出物に極めて強い抗酸化活性を見出した<sup>17)</sup>。構造解析の結果、これらはローリントロール [9] およびデプロモローリントロール [10] と同定した。これらはいずれもフェノール性水酸基を有するセスキテルペンであり、彼らは抗酸化活性がこの官能基に基くものと推定している。これらの活性は $\alpha$ -トコフェロールのそれを凌駕するもので、極めて興味深い。一方、活性発現メカニズムとしてスーパーオキシドアニオンラジカル消去活性を考察しているが、化学構造からみるとその可能性は低く、むしろペルオキシラジカル消去かあるいは脂質過酸化に際するラジカル交換反応阻害ではないかと推定される。また、高知県室戸岬で採集した褐藻シマオウギよりエイコサペンタエン酸フロログシノール複合体 [11] を単離している<sup>17)</sup>。本化合物の抗酸化活性はそれほど強いわけではないが、むしろエイコサペンタエン酸の安定化に寄与している可能性が高い。

我々のグループは、一重項酸素消去物質として藻類に広く分布するカロテノイドに着目して一連の研究を実施している。一重項酸素は非ラジカル性の極めて反応性の高い活性酸素種であり、藻類では光合成の場における必須化合物である。我々はジメチルナフタレンのエンドペルオキシドを一重項酸素の発生源とし、その化学発光を化学発光検出器で直接測定する方法を開発し、カロテノイドの一重項酸素消去活性を測定した<sup>18)</sup>。カロテノイドとしては、緑藻ヘマトコッカスの主成分アスタキサンチン [12]、広く藻類に分布する $\beta$ -カロ

テン [13]、ルテイン [14]、ゼアキサンチン [15]、褐藻のケミカルインジケーターであるフコキサンチン [16] 等を選択した。本方法を用いることにより光照射を行わないで活性測定が可能となり、光による副反応を抑制できた。すなわち、脂質の自動酸化あるいは光酸化反応、他の活性酸素種の関与を防ぐため、一重項酸素の発生源として熱依存性のジメチルナフタレンエンドペルオキシドを低温で有機合成した。この過酸化物は常温では選択的に一重項酸素をリリースするので、室温における一重項酸素由来の化学発光を直接的に化学発光検出器でカウントする方法を用いて各種カロテノイドの一重項酸素消去活性を定量的に測定できた。その結果、非極性溶媒中 (100%CDCl<sub>3</sub>ではアスタキサンチン、ゼアキサンチンおよび $\beta$ -カロテンの間でほとんど差異は認められず、これらのカロテノイドはその極性には無関係に $\alpha$ -トコフェロールの数百倍にもおよぶ強い消去活性を示した。カロテノイド間の比較では水酸基あるいはカルボニル基の活性に対する寄与よりもむしろ共役二重結合の数が一重項酸素消去活性に大きく寄与すると考えられた。すなわち、非極性溶媒中ではカロテノイドと一重項酸素との物理的接触の頻度はカロテノイド種によってあまり大きな差異はなく、むしろエネルギーの転換効率の方が重要であるらしい (カロテノイドの一重項酸素消去活性は物理エネルギーを中央ポリエン部分の振動エネルギー=熱エネルギーに変換することによって発現すると考えられる)。一方、極性溶媒中 (CDCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH系) ではアスタキサンチンの活性がきわだっており、 $\beta$ -カロテンの約40倍であり、水酸基よりもカルボニル基の重要性が明らかになった。また、西野らによって強い抗ガン活性が認められたフコキサンチンの一重項酸素消去活性は弱く、抗ガン活性と一重項酸素消去活性はそれぞれ独立していることが示唆された。すなわち、西野らによって確認されている抗ガン活性はカロテノイドの抗プロモーション活性に基づくものであると考えら

表1 各種カロテノイドのCDCl<sub>3</sub>およびCDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OH (2:1) 中の一重項酸素消去活性 (kq)

カロテノイド	10 <sup>3</sup> kq (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	
	CDCl <sub>3</sub>	CDCl <sub>3</sub> /CD <sub>3</sub> OH (2:1)
アスタキサンチン	2.2	1.8
ゼアキサンチン	1.9	0.12
ルテイン	0.80	-
フコキサンチン	-	0.005
$\beta$ -カロテン	2.2	0.049
$\alpha$ -トコフェロール	0.004	-

れるが、一方、活性酸素・フリーラジカルの捕捉／消去活性はむしろ抗イニシエーション活性と密接な関係にあるようだ(表1)。

以上、藻類に含まれる様々な化合物について老化予防の観点で総述した。これらの研究はまだまだ緒に就いたばかりであり、まだまだ不十分であるが今後の重要なテーマであると考えられる。当該研究領域の発展と進捗に期待するとともに、我々も努力を続けたい。

#### 文献

- 1) 尚 弘子 1993. 海藻の科学, 大石圭一編, 朝倉書店, 東京, 157.
- 2) 佐藤 実 1993. 海藻の科学, 大石圭一編, 朝倉書店, 東京, 160.
- 3) Suzuki, Y. *et al.* 1980. *Chemoterapy* 28, 165.
- 4) Yamamoto, I. *et al.* 1984. *Hydrobiologia* 116/117, 145.
- 5) Yamamoto, I. & Maruyama, H. 1985. *Cancer Lett*, 26, 241.
- 6) 中沢正三ら 1980. *Chemoterapy*, 24, 443.
- 7) 高橋政寿 1983. 日本網内系学会誌, 58, 269.
- 8) Suzuki, T. *et al.* 1985. *Tetrahedron*, 26, 1329.
- 9) Harada, H. *et al.* 1997. *Boil. Pharm. Bull.*, 20, 541.
- 10) Harada, H. & Kamei, Y. 1997. *Cytotechnology*, 25, 217. / (1998) *Boil. Pharm. Bull.*, 21, 386.
- 11) Blackburn, E. H. 1991. *Nature*, 350, 569.
- 12) Morin, G. B. 1989. *Cell*, 59, 521.
- 13) 亀井勇統 1999. フレグナンスジャーナル, No. 4, 22.
- 14) Ito, K. & Tsuchiya, Y. 1972. *Proc. VIIth ISS*. pp 558, Univ. Tokyo Press, Tokyo.
- 15) Abe, S. & Kaneda, T. 1973. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 39, 391.
- 16) Fukuyama, Y. *et al.* 1985. *Chem. Lett*, 739.
- 17) 楠見武徳・松家伸吾 1999. フレグナンスジャーナル, No. 4, 36.
- 18) Shimidzu, N. *et al.* 1996. *Fisheries Sci.*, 62, 134.

(サントリー (株) 基礎研究所)