

要 旨

“ワサビ”はアブラナ科の植物で、日本人の食卓に人気の薬味調味料である。ワサビには、6-MSITC、6-MTITC、SFN などのイソチオシアネート化合物 (ITCs) が含まれている。これらの ITCs が抗酸化活性、抗炎症活性、抗がん活性を有することは多数報告されてきているが、詳細な分子メカニズムはまだ明らかではない。そこで本研究では、DNA マイクロアレイ解析技術を用いてこれらの ITCs によるヒト肝細胞 (HepG2) ならびにヒト神経芽細胞 (IMR-32) の遺伝子発現に及ぼす影響について網羅的解析を行った。

HepG2 細胞においては、3 種類の ITCs を処理したのち、包括的ヒトゲノム発現解析用アレイである HG-U133 plus 2.0 oligonucleotide array を用いて相対的な遺伝子発現プロファイリングを行った。一部の遺伝子発現のアレイデータはリアルタイム PCR により確認した。その結果、2 倍以上発現した遺伝子数は、6-MTITC が最大で、発現上昇を示した遺伝子は 114 個、発現減少を示した遺伝子は 75 個だった。さらに、遺伝子発現制御のネットワーク解析は、論文を根拠とした相互作用情報データベースである IPA ソフトウェアを用いて行った。その結果、主に 5 つの経路で制御されていることが明らかになった。その中に Nrf2 およびグルタミン酸代謝経路を介した遺伝子発現は 3 種類の ITCs に共通で、顕著に発現変動を引き起こすことが IPA 解析により明らかになった。興味深いことに 3 種類の ITCs とも一番強く Nrf2 経路を活性化した。これらの結果は、3 種類の ITCs が Nrf2 を介した抗酸化経路を活性化することでがんに対する化学的予防効果を発揮することを明らかにした。

次に、3種類のITCsで処理したヒト神経芽細胞IMR-32において、同様にヒトゲノム発現解析用マイクロアレイで遺伝子発現の変化を網羅的に解析した。3種類のITCsの中で6-MSITCが最も多くの遺伝子発現変動を引き起こし、発現上昇を示した遺伝子は100個、発現減少を示した遺伝子は163個だった。特定遺伝子の機能情報を検索するGene Ontology及びIPA解析により、変動を示した遺伝子のほとんどが酸化ストレス応答に関連するものであり、特にNrf2を介した抗酸化経路が最も活性化されていることが明らかになった。また、主なターゲット遺伝子の発現をリアルタイムPCR法で、そのタンパク質をウェスタンブロット法で確認した結果、これらのワサビITCsはNrf2を介した抗酸化経路を活性化することで神経細胞保護機能を発揮することを明らかにした。

総括として、本研究は、DNAマイクロアレイ解析技術を用いてヒト肝細胞ならびにヒト神経芽細胞の遺伝子発現に対するワサビイソチオシアネート化合物の影響について、その構造と活性の関係をゲノムレベルで明らかにした。さらに、遺伝子発現制御の経路解析でこれらの遺伝子の発現変動は、主に5つの経路で制御されており、特に、両細胞においてもNrf2を介した抗酸化経路が最も活性化されていることを明らかにした。これらの成果は、ワサビイソチオシアネート化合物の機能性に関する分子機構に新たな知見を与えるものである。