

A proposal for mechanism of physiological actions caused by foods containing abscisic acid

Fumiaki Uchiyama

Department of Preventive and Medicinal Dietetics, Graduate School of Health and Nutrition Sciences,
Nakamura Gakuen University

Email: uchiya-f@nakamura-u.ac.jp

Abstract

This review describes a hypothesis that a mechanism of abscisic acid in animals by food intake is not through the systemic circulation of chemical compounds in foods, but chemical sensors outside the body.

アブシシン酸から学ぶ食物の新しい作用機構の提案

内山 文昭

中村学園大学大学院・栄養科学研究科

(2018年1月5日 受理)

序 論

植物は生活環を完了する期間（種をまいてから種ができるまでの期間）ごとに一年草、二年草、多年草に分類されている。二年草は1年目に根、葉、茎を形成した後、越冬のため休眠し、2年目の春以降に開花、種子形成を行い枯れていく。二年草の生活環は1年目の期間に厳しい環境（低温、照度、乾燥）を迎えるため、それに対応して生命を継続する植物の合理性が存在している。二年草の植物は冬季の厳しい環境下に曝されると休眠して越冬することは動物の冬眠によく似ている。二年草の多くは休眠前にエネルギー蓄積を行い、根茎に栄養素が蓄積される。二年草の食物としてニンジン、パセリ、ゴボウ、レタス、テンサイ、タマネギ、ダイコンなどがあり、人間は食物の越冬用の栄養素を効率よく摂取していることになる。植物が休眠するとその栄養素は通常の発育時のものと異なる代謝を行って休眠中のエネルギー消費を行っている。そのとき、植物体内では休眠スイッチが入り、代謝経路、代謝過程を変化させることになる。

微生物、植物、動物間で主なエネルギー代謝過程は同じシステム、同属の酵素や機能タンパク質、同じ基質を持っている。関与する個々の機能タンパク質はアミノ酸配列レベルでは少し異なっても同様の機能が存在している。また、エネルギー代謝の基質は同じであるから、代謝に関与するタンパク質の配列は機能のコア部分でホモロジーが高い。このことがヒトの遺伝子機能解析に寄与している。一方、植物の休眠のスイッチを入れる物質を動物が摂取すると「どのような生理作用が発揮するか、代謝経路の変化は起こるのか、さらには代謝をコントロールできる可能性はないか」という課題に関心を持ち、植物の休眠ホルモンであるアブシシン酸を例にあげて考察してみた。

休眠に関わるホルモンのアブシシン酸

植物の休眠と動物の冬眠で共通することは基礎代謝エネルギー量を抑制していることであり、ミトコンドリアの活動が変化することになる。冬眠に関しては、リスの実験で甲状腺ホルモンの作用機序に関わるthyroxine-

binding globulinの遺伝子発現が冬眠時に上昇しており(1)、タンパク質レベルでも肝臓の代謝に関わる糖新生などのタンパク質(2)、脂肪組織でのUCP2脱共役タンパク質の上昇がみられる(3)。さらに肝臓では冬眠時に転写因子レベルでもhepatocyte nuclear receptor (HNF-4)の結合様式が変化している(4)。DNAマイクロアレイなどの遺伝子解析技術により冬眠時の多くの変化が詳細に明らかになっている(5)。このように冬眠時にはエネルギー消費を抑制するために代謝システムが大きく変化している。この変化を2型糖尿病や肥満に応用できると興味深い、まだ冬眠を誘発する低分子化合物は発見されていない。冬眠については知覚神経系から中枢神経系を経由して肝臓や脂肪組織に信号を送るモデル(6)が適切かもしれない。

一方、植物では2次代謝機構を有しており、多くの植物ホルモンが環境変化で作用している。その中に多くの植物に含まれている二次代謝物質にセスキテルペンのアブシシン酸がある。LiuとCarnsが1961年に綿のいがかから果実の離脱させる物質としてabscisic acid を単離し(7)、大熊らが1963年にabscisic acid を単離し、1965年に化学構造を決定している(8)。その後、1968年にabscisic acid はabscisic acid (アブシシン酸)と命名された(9)。アブシシン酸の植物での生理機能は離脱だけでなく、休眠促進、ストレス応答で誘導することが明らかになっている(10)。さらにアブシシン酸のレセプターが同定され(11-13)、レセプター結合のシグナル伝達は環状アデノシン二リン酸リボース (Cyclic ADP-ribose, cADPR)、続くカルシウムシグナルを伝える細胞内メッセンジャーの上昇、それに関わる転写因子が解明されている(14)。アブシシン酸は植物全般に共通した休眠、ストレス応答物質である。

アブシシン酸の動物での作用

植物細胞でcADPR、カルシウムシグナルが機能していることから、Bruzzoneらはヒト顆粒球でアブシシン酸のcADPR、カルシウムシグナルを調べたところ、アブシシン酸がcADPR、カルシウムシグナルを介したファゴサイトーシス、ROSおよびNO産生、走化性を観察することができた(15)。これは植物成分を動物の生理機能へ合理的に導いた例になっている。さらにこの研究でヒト顆粒球にアブシシン酸が存在することを発見した。これによりアブシシン酸は微生物、植物、動物においてリガンド活性を有する生理活性物質となった。一方、アブシシン酸がシロイヌナズナの種子の休眠研究からGタンパク質共役受容体GCR2の関与が同定され(16,17)、そのホモロジーからヒト、ラットのlanthionine synthetase

C-like protein (LANCL)が同定された。アブシシン酸はlanthionine synthetase C-like protein 2 (LANCL2)というタンパク質に結合してADP-ribose cyclaseの活性化、細胞内Ca²⁺の上昇により様々な作用がin vitroで明らかになってきた(18)。その中で代謝に関わる実験としてアブシシン酸がヒト腸の内分泌細胞 (enteroendocrine L cell) でインクレチンのグルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1)を遊離すること、およびラットの経口投与で血中のGLP-1濃度の上昇が観測された(19)。このことからLANCL2は2型糖尿病に対する新たな標的分子に期待されている。アブシシン酸の免疫系への作用には言及していないが、すでに消化管にあるLANCL2に結合する薬物がスクリーニングされ、炎症性腸疾患 (inflammatory bowel disease) において白血球の浸潤、粘膜肥厚、上皮の浸潤を抑制し、効果がLANCL2結合を介していることが確認されている(20)。

アブシシン酸は多くの野菜や果物に含まれており、最大で2mg/kg含まれている(21)。ヒトおよびラットでアブシシン酸を含む食事摂取 (0.5 1 μg/kgアブシシン酸) において血糖インスリン血症を低下させている(21,22)。

アブシシン酸から見る食物の生理作用機構

生物が環境変化により代謝が変化すること、アブシシン酸の発見とその展開について非常に簡単に述べてきた。アブシシン酸の発見とその後の合理的な研究は科学的には大成功の例であり、食物摂取の観点から動物、植物、微生物の生態学的な相互作用を伺わせる。アブシシン酸は単離する実験時で1つの離脱するいかに0.01 μg含まれている計算であった。また、その後の野菜、果実に含まれているアブシシン酸の含量は最大で2mg/kgであった。動物での生物活性の実験でGLP-1の遊離実験では細胞レベルのED50は23 ± 3 μMのアブシシン酸であり、ラット動物実験では50mg/kgのアブシシン酸である。アブシシン酸は3T3-L1脂肪細胞でPPAR を活性化し、マウス動物実験で100mg/kgのアブシシン酸投与で脂肪組織のPPAR の遺伝子発現を上昇させて、グルコース耐性を改善する(23)。しかし、アブシシン酸を用いたラット動物実験での50mg/kgをヒトや動物が食物で摂取することはほとんど不可能に見える。言い換えれば、上記の実験からは、どんなにアブシシン酸を含む食物を摂取しても到底GLP-1を遊離させる用量にはならないのでその効果は全く発揮できないはずである。一方、我々は毎日の食事でアブシシン酸をごく微量摂取している可能性はあるが、その効果を期待することは上記実験からではあまり科学的ではない。アブシシン酸生理

活性物質の科学研究と食事に含まれているというだけで健康作用に言及することはできないのが現状である。しかし、いくつかの食品においては作用機構が全く不明、あるいは科学的な合理性がないにもかかわらず、伝統的に使用されてきている。現状の科学研究において、食物が動物に何らかの生理作用を惹起するならばその作用機構は必ずその単一成分の血中濃度で有効性を議論する従来の薬理学や薬物のデリバリーシステムに支配されてきた。しかし、食物の作用機構はそれ以外の作用経路は存在しないのか、言い換えれば、従来の薬物有効性評価と全く異なる作用機構が存在する可能性は存在しないのか。もしアブシシン酸が作用する部位で局所濃度が上がればアブシシン酸の生理作用の効果を期待できる。その例になる1つの研究がある。ヒトやラットではアブシシン酸を含む食事摂取では驚くことに0.5 1µg/kg含有の食物摂取で血糖インスリン血症に効果が出ている(21,22)。このことは純粋な化学物質(有効濃度50mg/kg)ではなく、食物(0.5 1µg/kg)に限られた新しい作用機構の存在が考えられる。その可能性を考察してみた。

アブシシン酸は微生物、植物、動物に存在することが明らかになっている。一方、LANCL2レセプター/GLP-1遊離系のenteroendocrine L cellは結腸に存在している。摂取した食物中のアブシシン酸が結腸で直接作用している可能性がある。その他、食物残渣がアブシシン酸誘導剤となり、腸内細菌の微生物がアブシシン酸産生細胞と仮定することも可能である。その相互作用でアブシシン酸が産生されればアブシシン酸の局所濃度が上昇してenteroendocrine L cellからGLP-1が分泌されるかもしれない。また、アブシシン酸は苦味レセプターT2R4 (Bitter Taste G Protein-Coupled Receptor T2R4)のアンタゴニスト、 $IC_{50} = 34.4 \pm 1.1 \mu M$ であることが報告されている(24)。苦味レセプターT2R4は気道上皮で苦味成分の化学センサーとして外部環境を認知している(25)。その味覚レセプターはenteroendocrine L cellにおいても発現されているので、アブシシン酸はその化学センサーを介してホルモン分泌を行う可能性がある。いずれの作用機構も作用部位は生体内ではなく、言い換えれば血中濃度に依存せず、腸管などの生体表面にある化学センサーに結合して作用を発揮することができる。ここで食物摂取による動物の生理機能の惹起は食物の通過過程上の化学センサーを介した作用機構を提案するものである。また、有効成分が化学センサーを有する細胞まで到達するという意味から純粋な化学物質より食物そのものの方が効率的かもしれない。

引用文献

- 1 . Epperson, L. E., and Martin, S. L. (2002) Quantitative assessment of ground squirrel mRNA levels in multiple stages of hibernation. *Physiol Genomics* 10, 93-102
- 2 . Epperson, L. E., Dahl, T. A., and Martin, S. L. (2004) Quantitative analysis of liver protein expression during hibernation in the golden-mantled ground squirrel. *Molecular & cellular proteomics : MCP* 3, 920-933
- 3 . (1998) Differential regulation of uncoupling protein gene homologues in multiple tissues of hibernating ground squirrels. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 275, R1232-R1238
- 4 . Tsukamoto, D., Ito, M., and Takamatsu, N. (2017) HNF-4 participates in the hibernation-associated transcriptional regulation of the chipmunk hibernation-related protein gene. *Scientific Reports* 7, 44279
- 5 . (2003) Mammalian Hibernation: Cellular and Molecular Responses to Depressed Metabolism and Low Temperature. *Physiological Reviews* 83, 1153-1181
- 6 . Srere, H. K., Wang, L. C., and Martin, S. L. (1992) Central role for differential gene expression in mammalian hibernation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 89, 7119-7123
- 7 . Liu, W. C., and Carnsdagger, H. R. (1961) Isolation of Abscisin, an Abscission Accelerating Substance. *Science* 134, 384-385
- 8 . Ohkuma, K., Addicott, F. T., Smith, O. E., and Thiessen, W. E. (1965) The structure of abscisin II. *Tetrahedron Letters* 6, 2529-2535
- 9 . Addicott, F. T., Lyon, J. L., Ohkuma, K., Thiessen, W. E., Carns, H. R., Smith, O. E., Cornforth, J. W., Milborrow, B. V., Ryback, G., and Wareing, P. F. (1968) Abscisic acid: a new name for abscisin II (dormin). *Science* 159, 1493
- 10 . Vishwakarma, K., Upadhyay, N., Kumar, N., Yadav, G., Singh, J., Mishra, R. K., Kumar, V., Verma, R., Upadhyay, R. G., Pandey, M., and Sharma, S. (2017) Abscisic Acid Signaling and Abiotic Stress Tolerance in Plants: A Review on Current Knowledge and Future Prospects. *Frontiers in plant science* 8, 161
- 11 . Ma, Y., Szostkiewicz, I., Korte, A., Moes, D., Yang, Y., Christmann, A., and Grill, E. (2009) Regulators of PP2C phosphatase activity function as abscisic acid sensors. *Science* 324, 1064-1068
- 12 . Park, S. Y., Fung, P., Nishimura, N., Jensen, D. R., Fujii, H., Zhao, Y., Lumba, S., Santiago, J., Rodrigues, A., Chow, T. F., Alfred, S. E., Bonetta, D., Finkelstein, R., Provart, N. J., Desveaux,

- D., Rodriguez, P. L., McCourt, P., Zhu, J. K., Schroeder, J. I., Volkman, B. F., and Cutler, S. R. (2009) Abscisic acid inhibits type 2C protein phosphatases via the PYR/PYL family of START proteins. *Science* 324, 1068-1071
- 13 .Santiago, J., Dupeux, F., Round, A., Antoni, R., Park, S. Y., Jamin, M., Cutler, S. R., Rodriguez, P. L., and Marquez, J. A. (2009) The abscisic acid receptor PYR1 in complex with abscisic acid. *Nature* 462, 665-668
- 14 .Wu, Y., Kuzma, J., Maréchal, E., Grae, R., Lee, H. C., Foster, R., and Chua, N.-H. (1997) Abscisic Acid Signaling Through Cyclic ADP-Ribose in Plants. *Science* 278, 2126-2130
- 15 .Bruzzone, S., Moreschi, I., Usai, C., Guida, L., Damonte, G., Salis, A., Scarfi, S., Millo, E., De Flora, A., and Zocchi, E. (2007) Abscisic acid is an endogenous cytokine in human granulocytes with cyclic ADP-ribose as second messenger. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104, 5759-5764
- 16 .Liu, X., Yue, Y., Li, B., Nie, Y., Li, W., Wu, W.-H., and Ma, L. (2007) A G Protein-Coupled Receptor Is a Plasma Membrane Receptor for the Plant Hormone Abscisic Acid. *Science* 315, 1712-1716
- 17 .Johnston, C. A., Temple, B. R., Chen, J.-G., Gao, Y., Moriyama, E. N., Jones, A. M., Siderovski, D. P., and Willard, F. S. (2007) Comment on "A G Protein Coupled Receptor Is a Plasma Membrane Receptor for the Plant Hormone Abscisic Acid". *Science* 318, 914-914
- 18 .Sturla, L., Fresia, C., Guida, L., Bruzzone, S., Scarfi, S., Usai, C., Fruscione, F., Magnone, M., Millo, E., Basile, G., Grozio, A., Jacchetti, E., Allegretti, M., De Flora, A., and Zocchi, E. (2009) LANCL2 Is Necessary for Abscisic Acid Binding and Signaling in Human Granulocytes and in Rat Insulinoma Cells. *Journal of Biological Chemistry* 284, 28045-28057
- 19 .Bruzzone, S., Magnone, M., Mannino, E., Sociali, G., Sturla, L., Fresia, C., Booz, V., Emionite, L., De Flora, A., and Zocchi, E. (2015) Abscisic Acid Stimulates Glucagon-Like Peptide-1 Secretion from L-Cells and Its Oral Administration Increases Plasma Glucagon-Like Peptide-1 Levels in Rats. *PLoS one* 10, e0140588
- 20 .Carbo, A., Gandour, R. D., Hontecillas, R., Philipson, N., Uren, A., and Bassaganya-Riera, J. (2016) An N,N-Bis(benzimidazolylpicolinoyl)piperazine (BT-11): A Novel Lanthionine Synthetase C-Like 2-Based Therapeutic for Inflammatory Bowel Disease. *Journal of medicinal chemistry* 59, 10113-10126
- 21 .Magnone, M., Ameri, P., Salis, A., Andraghetti, G., Emionite, L., Murialdo, G., De Flora, A., and Zocchi, E. (2015) Microgram amounts of abscisic acid in fruit extracts improve glucose tolerance and reduce insulinemia in rats and in humans. *The FASEB Journal* 29, 4783-4793
- 22 .Zocchi, E., Hontecillas, R., Leber, A., Einerhand, A., Carbo, A., Bruzzone, S., Tubau-Juni, N., Philipson, N., Zoccoli-Rodriguez, V., Sturla, L., and Bassaganya-Riera, J. (2017) Abscisic Acid: A Novel Nutraceutical for Glycemic Control. *Frontiers in Nutrition* 4
- 23 .Guri, A. J., Hontecillas, R., Si, H., Liu, D., and Bassaganya-Riera, J. Dietary abscisic acid ameliorates glucose tolerance and obesity-related inflammation in db/db mice fed high-fat diets. *Clinical Nutrition* 26, 107-116
- 24 .Pydi, S. P., Jaggupilli, A., Nelson, K. M., Abrams, S. R., Bhullar, R. P., Loewen, M. C., and Chelikani, P. (2015) Abscisic Acid Acts as a Blocker of the Bitter Taste G Protein-Coupled Receptor T2R4. *Biochemistry* 54, 2622-2631
- 25 .Shah, A. S., Ben-Shahar, Y., Moninger, T. O., Kline, J. N., and Welsh, M. J. (2009) Motile Cilia of Human Airway Epithelia Are Chemosensory. *Science* 325, 1131-1134