

標 題 : Extra virgin olive oil phenolics : absorption, metabolism,
and biological activities in the GI tract
エクストラバージンオリーブ油のフェノール化合物 :
消化管における吸収、消化、および生物活性

著 者 : C. Corona, et al. (イタリア カリアリ大学)

掲 載 誌 : Toxicol. Indust. Health 25: 285-293 (2009)

要 旨 : オリーブ油は、地中海食事の典型的な成分で多くの健康的な有効性を有する。

オリーブ油摂取のためとされる生物活性の一部はフェノール化合物と関連し、主にオリーブ油フェノール化合物とその代謝物の抗酸化活性に直接または間接的に関連しており、他の臓器よりも食事性フェノール化合物濃度が高い消化管で効果的に発揮される。

この観点から、消化管におけるオリーブ油フェノール化合物の代謝、生物活性、および抗癌特性の概要を、我々は提出する。

はじめに

オリーブ油は地中海食事の主な食事脂肪原料で、その習慣的な摂取はヒトの健康に各種の有効性があると考えられる(Keys1995、他数報)。7カ国研究(Keysら1986)は、いわゆる地中海食事(果物、野菜、豆類、食物繊維と1価不飽和脂肪の高い摂取、および肉と飽和脂肪の低い摂取が特徴)と多くの慢性の変性疾患発症率の有意な低下との正の直接的な関連を最初に示すものであった。

それから、典型的にエクストラバージンオリーブ油を1日に25 - 50ml摂取する地中海食事の摂取と心臓血管系疾患(Keys1995、de LorgerilとSalen 2006)、加齢関連 - 認知低下(Solfrizziら1999)および癌(Owenら2000a、他数報)、特に結腸癌(Bragaら1998、他数報)の低い発症率との関連があると、多くの疫学者も示した。

この健康作用はエクストラバージンオリーブ油の各種性質〔独特な脂質含量(オレイン酸など1価不飽和脂肪酸の高い比率)およびスクワレン、ビタミンE、フェノール化合物の高い値〕と関連すると示唆された。後者は最近10年間に多くの研究対象であり、エクストラバージンオリーブ油フェノール化合物の消化管における独特な生物活性、およびその吸収および代謝がその作用にどのように影響するかを、この総説で強調する。

エクストラバージンオリーブ油中のフェノール化合物

エクストラバージンオリーブ油中で見いだされるフェノール化合物は伝統的にポリフェノールと呼ばれるが、その全てがポリ-ヒドロキシ-誘導体というわけではない。エクストラバージンオリーブ油のフェノール組成は、オリーブの品種、成熟度、土壌組成、気候、処理方法、および貯蔵によって量(150-700 mg/L)と質で変化する(Esti ら 1998)。

一般的にエクストラバージンオリーブ油は4種類のフェノール化合物を含有する：フラボノイド、リグナン、単純フェノール、とセコイリドイド。一部の栽培種はフラボノイド(ルテオリン、アピゲニン、ルチン)を含有するけれども(Romani ら 1999、他)、オリーブ油のフラボノイド含量は他の果物と野菜と比較したときに低い。リグナン(ピノレシノール、アセトキシピノレシノール、ヒドロキシピノレシノール)がかなりの量で存在し(Owen ら 2000c、他)そして、その多くがエクストラバージンオリーブ油だけにあるセコイリドイドおよび単純フェノールがオリーブ油中の主なフェノール化合物である(Fig. 1)。

エクストラバージンオリーブ油中に存在する単純フェノールは主に、ヒドロキシチロソール(3,4-ジヒドロキシフェニルエタノール)およびチロソール(4-ヒドロキシフェニルエタノール)で(Bonoli ら 2003)であり、そしてセコイリドイドは、アグリコンまたはジメチルとジアルデヒド型のオレウロペインおよびリグストロシドから由来する(G-Rosales ら 2003)(Fig. 1)。セコイリドイドはその化学構造に、エレノール酸に関連するヒドロキシチロソール(オレウロペイン誘導体)またはチロソール(リグストロシド誘導体)の部分含有する(G-Rosales ら 2003)(Fig. 1)。

消化管における吸収 / 代謝

上部消化管

摂取後にオリーブ油のポリフェノールは、胃の酸性環境で部分的に変化する可能性がある(Fig. 2)。アグリコン セコイリドイドは酸性の胃環境で時間依存性の加水分解にさらされ、たった 30 分後に遊離ヒドロキシチロソールの量が約 5 倍、遊離チロソールの量が約 3 倍に上昇する(Corona ら 2006)。このセコイリドイド アグリコンの分解は胃の滞留延長で増加するが、正常な pH 条件(pH2.0)と正常な期間(4 時間まで)で一部はそのまま残り小腸に加水分解されずに入る(Corona ら 2006)。これに対し摂取したセコイリドイドがグルコシル化されると胃の加水分解を受けないとみられ(Vissers ら 2002)、オレウロペインのグルコシドなどのフェノール化合物は変化されずに、高い値のヒドロキシチロソール、チロソール、残存セコイリドイド アグリコンと一緒に小腸に入る(Fig. 2)。

正常および回腸造瘻術被験者にオリーブ油ポリフェノールを与えて実施したヒト試験で、オリーブ油ポリフェノールの主な吸収部位は小腸であると示された(Vissers ら 2002)。エクストラバージンオリーブ油の摂取後に、ヒドロキシチロソールおよびチロソールの値が速やかに上昇し、約 1 時間で血漿(Miro-

Casas ら 2003a)約 2 時間で尿(Miro-Casas ら 2001a、他)のピーク濃度に達したので、小腸がこの化合物の主な収集部位という証拠を裏付ける。ヒトの血漿と尿の分析で(Visioli ら 2000、他)、ヒドロキシチロソールおよびチロソールの両方とも投与量依存で吸収され、主に O-グルクロン酸複合体に代謝されると示された(Fig. 2)。

ヒドロキシチロソールはまたカテコール-O-メチル-トランスフェラーゼの作用で O-メチル化を受け、ホモバニリン酸とホモバニリルアルコールの両方が、エクストラバージンオリーブ油または純粋のヒドロキシチロソールとチロソールのどちらかを投与したヒトと動物の血漿と尿から検出された(D'Angelo ら 2001、他)。これらの結果はヒトの腸細胞における輸送実験で裏付けられ、ヒドロキシチロソールは受動拡散で吸収され(Manna ら 2000)ヒドロキシチロソールおよびチロソールは、3-O-メチル-ヒドロキシチロソール、ヒドロキシチロソール-グルタチオン付加物、両者のグルクロン酸複合体への広範囲な代謝変換を受けると示された(Corona ら 2006)(Fig. 2)。

下部消化管

オリーブ油リグナンなどの植物リグナンの結腸代謝はよく報告されている(Borriello ら 1985)。いわゆる「哺乳類リグナン」エンテロジオール、エンテロラクトンが、植物リグナン前駆体から近接結腸の腸内微生物の作用で作られる(Borriello ら 1985、他)。はじめに、マタイレシノールとセコイソラリシレシノールだけが腸内微生物によってエンテロラクトンとエンテロジオールに変換する植物リグナンと考えられた(Axelsson ら 1982、他)。しかし、ピノレシノールもセコイソラリシレシノールと類似な方法でエンテロジオールとエンテロラクトンに代謝されると、現在の研究で示された(Heinonen ら 2001)。

エンテロジオールとエンテロラクトンの両方は *in vivo* でエストロゲン作用を発揮し、エストロゲン依存性(Wang 2002)および非依存性(Sung ら 1998)の両方のメカニズムで乳癌および前立腺癌の細胞増殖を減らす。

小腸吸収されないとみられるセコイリドイドは大腸で微生物分解を受け、オレウロペインでは結腸微生物によって速やかに分解されて主な最終産物としてヒドロキシチロソールを生成する(Corona ら 2006)。

オリーブ油フェノール化合物による結腸癌進行の予防

多くの普通の癌特に結腸癌の発症で、食事習慣が役割を演じていると考えられる。発癌現象は異なる 3 段階で構成され〔initiation(発生)、promotion(増殖)、progression(進行)〕、化学療法剤の多くは、発生段階を妨げる阻止(blocking)剤または、癌の増殖と進行を覆す抑制(suppressing)剤に分類される。

オリーブ油の日常的な摂取はある種の癌特に結腸癌の低い発症率と関連する要因の一つと示唆された(Colimer ら 2006)。オリーブ油が結腸癌の進行を抑制する能力が、大腸癌細胞モデル(Llor ら 2003)、動物(Bartoli ら 2000)、およびヒト(Owen ら 2000a)で示された。実験モデルでオリーブ油摂取は、アゾキシメタン処理ラット異常腺窩巢の発生低下(Bartoli ら 2000)、およびジメチル-

ベンズアントラセン誘発乳癌の発症低下(Solanas ら 2002)、そして大腸癌細胞の有意な値でのアポトーシスを引き起こす(Llor ら 2003)と示された。さらにオリーブ油は、結直腸癌で重要な働きがある COX-2 および Bcl-2 のタンパク発現をダウンレギュレートすると示された(Llor ら 2003)。

この抗癌作用の少なくとも一部は、オリーブ油のフェノール化合物によって介在されると考えられる(Owen ら 2000a)。実際に多くのフェノール化合物が化学予防剤になりえると考えられるのは、細胞増殖の制御する重要な要因に影響または混乱させる可能性のためである(Nair ら 2007)。

抗酸化作用

消化管は常に有害物質にさらされ、その多くは食事から導入され、フリーラジカルおよび脂質酸化産物が含まれる(Addis1986)。例えば、食事脂肪は酸化されやすく、食品の加工、貯蔵、調理および消化中にその酸化産物が作られる(Donnelly ら 1995、Kanner ら 2001)。腸内恒常性の変化は反応性酸素種の生成を導き、それが消化管の内側を覆う細胞で構造と機能の変化を生じることがある(van der Vliet ら 1992)。実際に酸化ストレスは、多くの消化管疾患の発症と直接関連すると示され(Parks ら 1983)、虚血 / 再灌流障害(McCord1985、他)、炎症性大腸疾患(Grisham1994)、および癌(Gackowski ら 2002、他)が含まれる。

幸いにも酸素種の原料にもかかわらず、食事はまたエクストラバージンオリーブ油で見られるような多様なフェノール化合物などの多くの有効成分を供給する。フェノール化合物とポリフェノールの抗酸化作用は小腸による代謝活動による吸収後に限られるが、消化管自体は比較的高いフェノール酸(ヒドロキシ桂皮酸)およびフラボノイドにさらされる(Scalbert ら 2000)。それで消化管内における直接的な抗酸化作用は、体内の他部位よりも重要と思われる。

フェノール化合物は消化管内における反応性酸素種との直接反応およびその生成防止の両方が可能と信じられる(Halliwell ら 2000)。例えばオリーブ油のフェノール化合物は、過酸化水素によって引起される障害から結腸細胞を保護すると示された(Manna ら 1997、2002)。チロソールでなくヒドロキシチロソール中に存在するオルソ - ジヒドロキシ部分が遺伝子毒性保護の程度を決めるのに重要と、これらの研究が示唆した(Manna ら 1997)。しかしチロソールも、酸化 LDL 誘発性膜損傷、細胞骨格ネットワークの変化、微小管の崩壊、細胞間と細胞基質間の接触の喪失、細胞分離、および細胞死から予防すると、示された(Giovannini ら 1999)。

非抗酸化メカニズム

消化管を通過する食品マトリックス中で抗酸化物として作用する明らかな能力にもかかわらず、多数の非抗酸化的な作用を発揮する能力ともポリフェノールの化学予防作用は関連することが明らかになってきた。これには、細胞増殖(Ganguly ら 2005)、細胞周期制御(Lu ら 2000)、アポトーシス(Lu ら 2000、他)、解毒酵素系(Moskaug ら 2005)および免疫系(Safonova ら 2001)に関与す

る信号伝達経路(Wikkiams ら 2004、他)および遺伝子発現(Nicholson ら 2008)を調節する能力が含まれる。

このため直接的な抗酸化作用と同様に、オリーブ油中のポリフェノールは、癌細胞の増殖、分化、転移の制御で重要な細胞の信号伝達経路との相互作用によって、消化管内で化学予防作用を発揮する(Nair ら 2007)。

実際に食事性ポリフェノールは哺乳類で各種の細胞内信号伝達経路を調節すると報告されており(Spencer ら 2004)、以下の能力が含まれる：(1) 酵素とレセプターの ATP 部位に結合する(Schroeter ら 2007)；(2) キナーゼ、つまり MAPKKK、MAPKK、MAPK の活性を直接調節する(Schroeter ら 2002、他)；(3) キナーゼと反対の作用をする重要なホスファターゼの機能に影響する(Guichard ら 2006)；(4) 神経細胞でキナーゼの Ca^{2+} 依存性活性化を防止して Ca^{2+} 恒常性を保持する(Spencer 2008)；そして(5) キナーゼの下流にある信号伝達カスケード、つまり転写因子の活性化およびプロモーター配列を変える(Rainey-Smith ら 2008、他)。

オリーブ油ポリフェノールによるヒト結腸腺癌細胞の処理で、結腸発癌過程の initiation(発生)、promotion(増殖)、progression(進行)を抑制すると示された(Gill ら 2005、他)。各種の結腸癌細胞(p53 が活発、突然変異、不活性化)を用いて実施された最近の研究で、高ピノレスノール オリーブ油抽出物は癌細胞(特に p53 活発細胞)の生存を減らし、アポトーシスと G2/M 細胞周期阻止を引起し、そして ATM のアップレグレーションと並行するサイクリン B/cde2 の減少を起こす能力があった(Fini ら 2008)。同様な実験が精製ピノレスノールで実施され同様な作用が得られたが、高い濃度が必要とされたので、オリーブ油中の他のポリフェノールとの相乗効果が示唆される(Fini ら 2008)。

オリーブ油ポリフェノールが抗癌作用を発揮する細胞メカニズムではまた、MAPK キナーゼ(Fig. 3)および COX-2 の調節との関連が示された(Corona ら 2007)。COX-2 は結直腸癌で過剰発現され、細胞の生存、増殖、移動、浸潤、および血管新生の促進によって過剰発現は結直腸腫瘍と強く関連する(Chell ら 2006)。MAPK 信号伝達経路が抗癌治療で魅力的であると長年みられたのは、広範囲なヒトの癌の細胞の増殖と生存を調節する重要な役割に基づき(Sebolt-Leopold ら 2004)、そして COX-2 の転写前と転写後の活性化をそれが調節する(Tsatsanis ら 2006)(Fig. 3)。

オリーブ油のフェノール抽出物は、p38/CREB 信号伝達の抑制、COX-2 の発現低下、および細胞周期 G2/M 相の阻害によって結腸腺癌細胞に対して強い抑制作用を発揮すると示された(Corona ら 2007)。これに対しヒドロキシチロソール抽出物は、ERK1/2 リン酸化およびその後のサイクリン D1 発現を強く抑制する可能性によって、抗増殖作用を発揮する(Corona ら 2009)。この結果が妥当なのは、他のオリーブ油フェノール化合物と比較して結腸でヒドロキシチロソールが入手しやすいこと、および結腸癌とオリーブ油摂取との逆の関連を説明するのに役立つためである。

その上ヒドロキシチロソールが結腸癌細胞の増殖を抑制し(Fabiani ら 2002)そして癌細胞のアポトーシスを引起す(Guichard ら 2006)のは、小胞体の長期ストレス(変性タンパクの活性化)および Ser/thr ホスファターゼ 2A (結腸癌細胞のアポトーシスの誘発に關与する重要なタンパク質) などアポトーシス促進因子の過剰発現に關連する作用機構による(Guichard ら 2006)。

その一方でチロソールは、ROS の過剰生成、GSH の枯渇、抗酸化酵素活性の不足、および p66Shc タンパク発現の上昇などの酸化油脂によって引起される影響を無効にすると認められた(Di Benedetto ら 2007、他 2 報)。

発癌過程における作用は何重で単純な抗酸化作用よりも多くが關与すると明らかなので、腸の抗癌剤としてのオリーブ油ポリフェノールの能力を再評価すべきであると、これら知見の全てが示している。

結 論

地中海食事でオリーブ油の摂取はポリフェノール摂取に大いに寄与する。しかしこのポリフェノールは、抗酸化性だけでなく、抗ウイルス性、抗細菌性、抗炎症性、および抗癌性を有し、また重要な細胞信号伝達系を調節する能力も有する。小腸における限定された吸収のため、摂取したポリフェノールは消化管で特に濃縮されて、多くの消化管異常に対して治療効果を示すだろう。エクストラバージンオリーブ油に存在するフェノール化合物には、単純フェノール、リグナンとセコイリドイドが含まれ、その腸内代謝物とともに、大腸におけるオリーブ油の抗癌作用の主な原因となる。

ポリフェノールの結直腸癌に対する作用が特に注目されたのは、西欧諸国で 2 番目に多い癌死亡率のためである。正常な上皮から悪性表現型の獲得への疾患進行は生化学的・遺伝的な複数の変化が伴い、「結腸癌の発生と進行の両方の調節で食事が重要な要因である」と説得力のある実験および疫学の証拠が示している。これは、癌細胞における細胞増殖、細胞周期進行、アポトーシス、およびアラキドン酸代謝に影響するフェノール化合物の能力のためであろう (Fig. 4)。

エクストラバージンオリーブ油中に存在するフェノール化合物が、直接的な抗酸化作用および癌細胞の信号伝達と細胞周期進行に対する影響の両方で、強い化学予防作用を発揮するとの証拠が増えている。腸管内に高濃度で存在して相乗効果と關連するフェノール化合物の構造に、この作用は依存すると思われる。

その抗癌作用の原因となる細胞と分子のメカニズム、特に *in vivo* と消化管の正常細胞に対する作用を解明するには、さらに研究が必要である。しかし現時点において、オリーブ油のポリフェノールは結腸癌治療向けの新種の化学予防剤候補と示されている。

引用文献