

研究の動向

■ ショウジョウバエを用いた食品の機能性研究

弘前大学 永長一茂・中井雄治

1. はじめに

少子高齢化が叫ばれて久しい我が国において、医療・介護・保険・年金費用をはじめとする社会的負担の増加や労働者不足が社会問題化しており、解決策のひとつとして高齢者の就業促進が期待されている¹⁾。平成28年度版厚生労働省白書にも「働く意欲のある高齢者が、長年培ってきた知識や経験を生かし、年齢にかかわらず活躍し続けることができる『生涯現役社会』を実現すること」「我が国の国民の健康寿命は世界一の長さだが、これをさらに延ばすための予防や健康づくりへの取り組み」が重要であると謳われている²⁾。こういった背景もあり、高齢者の健康への関心が高まっている。実際に、一昔前と比べて心身ともに若く生き生きと暮らしている高齢者が増えていると感じる。

健康の維持には、バランスの取れた食事や無理のない運動、禁煙、節度ある飲酒、適切な睡眠などを意識した規則正しい生活の習慣づけが大切である。生活習慣の改善は、生活習慣病だけでなくがんや認知症といった、加齢に伴い罹りやすくなる疾患に対してもある程度の予防効果が認められる。しかしながら、生活習慣の改善は重要とは思ってもなかなか実行できない人が多いのが実情である。そこで筆者らは日常的に摂取する食品を中心に、がんや認知症に対して予防効果をもつ可能性のある食品

の探索をおこなっている。本稿では、食品機能性研究を効率的におこなうために有用な、動物実験の特徴と事例を、筆者らの研究例と共に解説する。

2. 研究開発に欠かせない実験動物

(1) 動物実験の現状

食品や化粧品の研究開発は文化的な生活には欠かせない。筆者らが研究している食品の生理機能を、ヘルスクレームとして製品に表示できるのは保健機能食品に含まれる特定保健用食品・機能性表示食品であるが、これらには、最終製品によるヒト臨床試験によるエビデンスが必要となる（機能性表示食品は論文情報でも可）。これを支えるのが動物を用いた実験である。ヒト臨床試験をおこなうためには、安全性や有効性が少なくとも動物実験レベルで担保されている必要がある。食品のヒト臨床試験（介入試験）は通常最低でも一群数十人規模での試験をおこなうが、被験者に病者を含まないことが条件となるため、被験者を集めるためには実際の被験者数よりかなり大人数での健康診断が必要となる。試験を実施する医療機関の倫理審査を経なくてはならないこと、比較的長期にわたりデータをとる必要があること、一定の品質の被検製品が相当量必要となることや二重盲検試験を担保するためデータ解析も外部機関に発注するなども含め、ヒト臨床試験は時間的にも予算的にもコストがかかる。従って、ヒト臨床試験に至る前段階の動物実験結果は重要となる。

実験動物の利用については賛否両論あり、国や分野によってスタンスは異なるものの、後述する「3Rの原則」に基づき、動物実験を減らす方向にある。

実験動物の取り扱いに関する国際的な動きを簡単に述べる。1974年、市民の実験動物に対する関心の高まりを受け、国際実験動物学会議（ICLAS）が動物実験の基準作りの参考としてのガイドラインを公表した。その後、社会環境の変化に伴い、1985年に国際医科学団体協議会（CIOMS）が動物実験に関する国際原則を公表した。2012年、CIOMSはICLASと共に国際原則を改定した

Kaz NAGAOSA

弘前大学地域戦略研究所食料科学研究部門
〔著者紹介〕（略歴）2003年、金沢大学大学院自然科学研究科で博士（薬学）を取得。米国 National Jewish Medical and Research Center に於いての2年間の博士研究員を経て、2005年、金沢大学薬学部助手に着任。2014年、弘前大学食料科学研究所准教授に着任。2018年より組織変更により現職となる。
〔専門分野〕生体防御学

Yuji NAKAI

弘前大学地域戦略研究所食料科学研究部門
〔著者紹介〕（略歴）1996年 東京大学大学院農学生命科学研究科で博士（農学）取得後、ポスドクを経て2000年金沢大学薬学部助手、2005年東京大学大学院農学生命科学研究科アグリバイオインフォマティクス人材養成ユニット特任助教授、2009年同研究科ILSI Japan 寄付講座「機能性食品ゲノミクス」特任准教授。2014年弘前大学食料科学研究所教授、2018年より現職。座右の銘は「大器晩成」
〔専門分野〕ニュートリゲノミクス、機能性食品科学

(CIMOS-ICLAS 国際原則)。原則の遵守状況を点検、評価、監督する制度の導入が改定の特徴である。世界各国では、文化、宗教、経済などの社会的な要因を反映させつつ、これらのガイドラインおよび原則に沿った法令・指針が制定あるいは改定が繰り返され、現在に至る。

我が国においては、「動物の愛護及び管理に関する法律」(動物愛護管理法、昭和48年制定、平成29年最終改正)が制定され、それに基づき、「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」(平成18年環境省告示第88号;平成25年最終改正)、「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」(平成18年文部科学省告示第71号)などが告知されている。詳しくは、環境省の報告を参考にさせていただきたい³⁾。

研究・開発場において、倫理的に動物実験をおこなうための「3Rの原則」は欠かせない。3Rの原則とは1959年、RussellとBurchにより提唱されたもので⁴⁾、実験動物の利用の際に考慮すべき3要素「Replacement(動物を用いない代替法に置き換える)」、「Reduction(用いる動物数を減らす)」、「Refinement(動物への苦痛を減らす)」を指す。3Rの原則の遵守ならびに法令・指針等により、動物実験実施へのハードルは相当高いものになっているのが現状である。

動物愛護管理法では実験動物を「哺乳類、鳥類及び爬虫類」と定義しているため(全ての脊椎動物と定義する国もある)、本稿で取り上げるショウジョウバエを含む無脊椎動物は、法的には実験動物に含まれない。これは、無脊椎動物は系統発生的に下位であり、哺乳類と比べて神経系の発達が乏しく苦痛を感じることがないとの考えによるもので、実験動物の代わりにひとつと見なされている。

(2) 実験に用いられる動物・培養細胞の特徴

ここでは、法的な定義とは別に、実験に用いられる主要な動物や培養細胞の特徴を紹介する。

〔哺乳類〕マウス、ラットをはじめとしたげっ歯類が最も多く用いられている。ヒトと生物学的に共通する性質も多く、大型な哺乳類と比較して安価に飼育できるため、多くの疾患モデルが樹立されてきた。遺伝的に均一な個体群が比較的容易に得られるため、実験データのばらつきも比較的小さい、といった特徴もある。サルやイヌは、以前はよく用いられていたが、動物愛護の観点、ならびに入手の困難さから利用頻度は低下傾向にある。

〔昆虫〕研究開発の場ではマウスやラットが用いられるケースは依然として多いものの、3Rの原則の対象外である昆虫の利用についての関心が高まっている。養蚕業が盛んであった日本では、カイコを用いた研究が数多くおこなわれてきた実績がある。昆虫の中では比較的体が

大きいことから、養蚕だけでなくタンパク質生産材料としての利用も期待されている。自然免疫研究や抗菌治療薬の開発にも利用されている⁵⁾。また、筆者らが用いるショウジョウバエは基礎研究分野で古くから親しまれており、利用には単なる代替動物としてだけでなく利点がある。ショウジョウバエについては、次項で解説する。

〔細胞〕細菌や酵母などの単細胞生物、ヒトなどの多細胞生物から単離した培養細胞が該当する。セントラルドグマ、細胞分裂、オートファジーなど、多くの基礎生物学研究で用いられてきた。特定の生命現象やその分子機構を知るうえで大変便利なツールとなる。昆虫と同様、細胞を用いた実験は動物実験の代替法としての活用が奨励されている。

(3) ショウジョウバエの利用

ショウジョウバエ(学名:*Drosophila melanogaster*、キイロショウジョウバエ)は、ゲノムサイズ約180 Mb、遺伝子数約15,000の小型の完全変態昆虫で、成虫の体長が2~3 mm、卵から成虫になる期間は10日間弱、一匹あたり500~1,000個の卵を産む、といった特徴を持つ。その大きさ、寿命の短さ、ならびに繁殖力の高さから、短期間、省スペース(一畳ほどのスペースがあれば、数十万もの個体の維持管理が可能)で大規模の実験が安価におこなえる。見た目はヒトと大きく異なるが、多細胞生物としての基本的な構造や機能には共通性が高く、がん、糖尿病、神経変性疾患、感染症など数多くの疾患モデルショウジョウバエが作られている。概日リズム、染色体、ホメオボックス、X線照射による突然変異、自然免疫など、数多くのノーベル賞受賞対象研究がショウジョウバエを用いておこなわれている。

ショウジョウバエは100年以上前から遺伝学、発生学、生理学を中心とした幅広い研究に利用されており、高度な遺伝学的手法の使いやすさには一日の長がある。突然変異ショウジョウバエのコレクションはもちろんのこと、GAL4-UAS系を利用した部位・時期特異的な遺伝子発現の促進/抑制システム、トランスポゾンを用いて作られた変異体、バランス染色体を用いた劣性致死遺伝子の維持、モザイククローン解析を可能にした体細胞相同組換え誘導システムなど、ショウジョウバエオリジナルな技術・資源が豊富に取り揃えられている⁶⁾。米国、日本など複数の国に大規模なショウジョウバエストックセンターがある。それぞれ、数万系統のショウジョウバエを保管しており、ほぼ全ての遺伝子についての変異体や遺伝子発現制御ショウジョウバエが網羅されている。非営利目的に限定されるが、研究者は、自身が調べたい遺伝子の解析に必要なショウジョウバエをほぼ実費のみで入手することができる。

3. ショウジョウバエを用いた潜在的ながん予防食品探索

(1) 疫学研究から見たがん予防

がん発症の要因については、日本人を対象とした過去の大規模な疫学研究10件の統合的な評価が、国立がん研究センターによっておこなわれている。喫煙や飲酒は複数のがんの、ピロリ菌は胃がんの、BおよびC型肝炎ウイルスは肝臓がんの、ヒトパピローマウイルスは子宮頸がんの発症リスクを確実に上げると評価されている。これらの要因を避けることが、効果的ながん予防策となる。確実にまではいえないものの、肥満は肝がんと大腸がんの、糖尿病は肝がんと膵がんの、高塩分食は胃がんの、熱い飲食物は食道がん発症のリスク要因と評価されている。がん予防因子については、確実に効果を示すものは挙げられていない。確実にまではいえないものの、運動は大腸がん、野菜・果物の摂取は食道がん、コーヒー摂取は肝臓がんの発症リスクを下げると評価されている。詳しくは、同研究センターが提供する資料を参考にしていただきたい⁷⁾。筆者らが研究対象としている個々の食品や食品成分については、食事調査の難しさから明白な関連性は見出されていないのが現状である。これは、食品にがん予防効果が無いからではなく、多くの日本人がバラエティ豊かな食生活を送っているために明確な効果が見えにくくなるといった、疫学調査の難しさに起因すると考えられる。血圧、体重、血糖値といった変化しやすい数値を指標とした短期間の食事調査とは異なり、がん予防食品の探索には数十年単位の追跡が必要な点も、がん予防食品が見出されない原因のひとつである。

(2) がん発症プロセス

疫学的な視点からのがん予防食品探索は容易ではない。したがって、とるべき作戦はがん発症プロセスを考慮したがん予防食品の探索となる。まずは、がんがどのように発症するかについて述べる。

がんは異常増殖能と転移能を併せ持つがん細胞の出現により発症する(図1)。正常な細胞のみからなる組織に紫外線、放射線、発がん性物質、ストレスなど何らかの刺激が加わると、一部の細胞でゲノムDNAが損傷し、周囲とは異なるDNA配列を持つ変異細胞となる。ほとんどの損傷は細胞内のDNA修復機構により修復されるが、修復に失敗した細胞の内部ではアポトーシスと呼ばれる細胞死誘導経路が活性化し、細胞自らが死を選ぶことになる。アポトーシスを免れた細胞は、何らかの仕組みで組織から排除される。排除機構についてはよくわかっていなかったが、近年、「細胞競合」と呼ばれる現象がその一端を担っていることが判りつつある(細胞

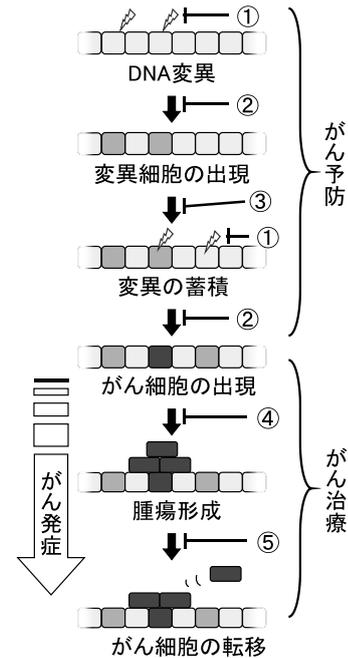


図1 がん発症プロセスおよび予防の概念

がんは複数の段階を経て発症する。がんへの対策は、予防(①DNA損傷刺激の不活性化、②DNA修復機構、アポトーシス誘導経路の活性化、③変異細胞除去の促進)と治療(④がん細胞増殖の抑制と除去、⑤がん細胞転移の抑制)に分けられる。

競合については後ほど解説する)。これら複数のがん予防プロセスから逃れた変異細胞は周囲の細胞と協調して生存し続ける。これらの細胞にさらなる刺激が加わり、ゲノムに複数の変異が重なると、一定の割合でがん細胞へと分化し、やがてがんが発症することになる。この一連のプロセスを「多段階発がん」という。

遺伝子変異がきっかけとなるがん以外に、細菌やウイルスの感染によるがんもある。胃粘膜に感染するピロリ菌は胃がんの原因菌で、ピロリ菌が産生するタンパク質のCagAが胃粘膜細胞に注入され、細胞内タンパク質と結合して細胞の性質を変化させる⁸⁾。ヒトパピローマウイルスは子宮頸がんとの因果関係が知られている。ウイルスタンパク質E6は宿主のp53タンパク質と結合して分解を促す⁹⁾。p53タンパク質にはアポトーシスを誘導して細胞のがん化を防ぐ役割があるため、E6が存在すると細胞が不死化してがん化しやすくなる。感染による発がんの出発点では遺伝子変異を伴わないが、これらのがん細胞でも多くの遺伝子変異が観察される。よって、多段階発がんはがんの種類によらない発がんプロセスといえる。また、がん細胞では遺伝子変異だけでなくDNAメチル化などの修飾状態の変化も観察されることが多い。これによる遺伝子発現パターンの変化も、細胞がん化の原因因子となり得る。

(3) がん発症プロセスから見たがん予防

がんに対するアプローチはがん細胞そのものの出現を抑えるがん予防(図1①~③)と、がん細胞の増殖や転移の抑制を目的とするがん治療(同④⑤)に大別される(がんの発症や再発を防ぐとの観点からこれもがん予防と解釈されることもある)。治療は医学の領分なので、食品に期待されるのは自ずとがん予防となる。食品が作用し得るポイントは、DNA損傷の原因となる刺激の不活性化(同①)、DNA修復機構およびアポトーシス誘導経路の活性化(同②)、組織内からの変異細胞除去の促進(同③)と複数ある。これらのポイントをくまなく抑えれば、理論的にはがんは予防し得る。しかしながら、ほとんどの研究は①と②を対象におこなわれ、③については遅れている。それは超早期病変、すなわちがん化する前の変異細胞を見つけ出すことが非常に困難だからである。近年、細胞競合の研究が盛んになり、細胞競合を指標としたアプローチが可能となってきた。筆者らがおこなっているがん予防食品探索研究もここをターゲットにしている。

(4) 細胞競合

細胞競合は「性質の異なる二種類の細胞が接した際に、一方の細胞(以降、勝ち組細胞と呼ぶ)がもう一方の細胞(同、負け組細胞)を取り除き、勝ち組細胞の増殖により空いたスペースを埋める」現象と定義される(図2)。勝ち組細胞、あるいは負け組細胞のみからなる組織は正常に機能することも細胞競合の特徴のひとつである。どちらの細胞が勝ち組細胞になるかは、両者の状態の違いで決る。その要因としては、細胞極性、器官サイズ、がん抑制、増殖シグナルにかかわる様々な因子の発現量の違い、細胞内のタンパク質合成能の相対差などの要因が知られている。負け組細胞の除かれ方も、勝ち組細胞

による貪食、勝ち組細胞による押し出し(上皮層からの離脱)と複数ある。

細胞競合そのものは、1970年代のMorataらによるショウジョウバエ翅発生の研究で見出された現象だが¹⁰⁾、それから30年近くの間、詳細の解析は進んでいなかった。1990年代に体細胞組換えによるモザイクショウジョウバエの作製技法が確立して以降、遺伝子レベルの解析が盛んにおこなわれ始めた。21世紀に入ってから数多くの発見が相次いで報告されており、大変ホットな研究分野となっている。哺乳類でも細胞競合が起こること、腸上皮、皮膚、胸腺など翅以外の多様な器官で細胞競合が起こることも明らかとなり、細胞競合は適応度の違いを利用した多細胞生物共通の細胞選択機構のひとつとして認知されている。がん予防、損傷治療、老化予防、個体発生制御における細胞競合の役割も報告されている。

(5) 細胞競合の活性化によるがん予防

細胞競合を促進する化合物の探索研究は既におこなわれている¹¹⁾。Yamauchiらは哺乳類細胞の細胞競合を培養皿上で観察している。Rasは最も有名ながん遺伝子のひとつだが、活性化型(発がん性)のRasV12を強発現させた細胞は正常細胞と混在させると周囲の細胞から押し出される。この性質を利用した大規模スクリーニング系が構築され、細胞競合を促進する低分子化合物が見出された。同化合物ががんの予防的治療薬として実用化されることが期待される。

筆者らは細胞競合を促進する食品の探索をおこなっている。食品は様々な物性の低分子、高分子化合物を含むため、食品を丸ごと与えられる実験動物を用いた解析が相応しい。筆者らが採用したモデルは、リボソームタンパク質遺伝子のひとつにヘテロ接合型変異を持つ細胞と

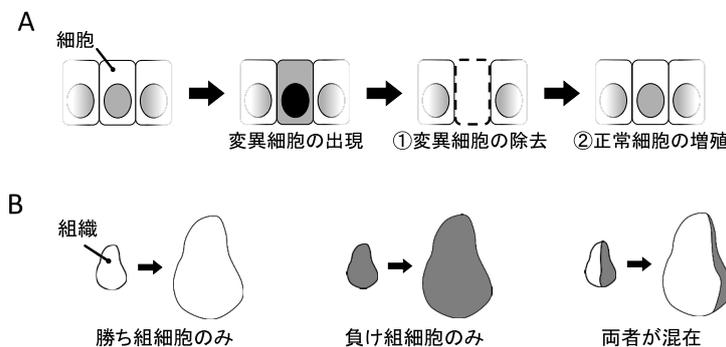


図2 細胞競合の特徴

A, 細胞競合は隣接した細胞の性質が異なる場合に見られ、①正常細胞による変異細胞の除去、②空きスペースへの正常細胞の増殖、の二段階からなる。B, 勝ち組細胞のみから成る組織(左)と同様、負け組細胞のみからなる組織(中央)も正しく成長するが、両者が混在すると(右)負け組細胞の割合が低くなる。いずれの組織においても形態・サイズ・機能に影響を及ぼさないのが細胞競合の特徴である。

正常細胞をモザイク状に混在させたショウジョウバエで、世界で最初に細胞競合が発見された伝統的なモデルである。変異細胞はタンパク質合成能が相対的に劣っており、負け組細胞として隣接する正常細胞に食食除去される。同モデルの特徴は、後天的にモザイク化を誘導できる点にある。FRT-FLP システムを採用し、熱ショックにより体細胞相同組換えが誘導され、娘細胞は変異を持たない細胞、およびホモ接合型変異を持つ細胞となる。リボソームタンパク質遺伝子は潜(劣)性で細胞致死となるため、変異を持たない細胞のみが生き残る。また、変異の近傍に緑色蛍光タンパク質 (GFP) 遺伝子を導入しているため、蛍光顕微鏡を用いれば、GFP を発現しない正常細胞は変異細胞と見分けがつく (図3)。細胞競合の解析は幼虫から摘出した翅原基でおこなわれる。翅原基とは将来翅になる器官で、扁平な上皮細胞単層構造をとり個々の細胞の観察が容易なため、細胞競合の解析によく使われる。評価対象の食品をショウジョウバエ幼虫に与えてから翅原基の変異細胞と正常細胞の存在割合を比較し、正常細胞の割合が高まれば細胞競合が促進したことになる (図3)。

スクリーニングをおこなうにあたり最初に問題となったのが、人が食する雑多な食品をショウジョウバエが摂取するか、である。ショウジョウバエは、自然界では熟した果物や発酵した果物にいる酵母を食べる。また実験室では穀物の粉、酵母、糖類などからなる飼料で飼育されており、肉魚、野菜などの食経験がない。まずはこの点を検証した。果物、野菜、海藻、肉、魚介類など様々な食品素材を凍結乾燥後に粉末化し、これを混餌した飼料でショウジョウバエを飼育した。一部の食品素材については高濃度で幼虫の発育に悪影響があったものの、そ

れ以外では正常に発育した。幅広い食品が利用できることがわかったので、先に述べた方法でこれらの食品が細胞競合の程度に影響を与えるかを検証した。その結果、食品 X を含む一部の食品では細胞競合を促進することがわかった (未発表データ)。

私達の体の中で出現する変異細胞の性質は変異ごとに異なる。そこで、別の視点から細胞競合促進食品の効果を検証した。ここで用いたのは「変異細胞頻出ショウジョウバエ」である¹²⁾。このショウジョウバエでは、主要な DNA 修復機構のヌクレオチド除去修復および複製後修復が働かない。正常なショウジョウバエに変異原性を示す化学物質を与えても変異した DNA は修復されて元に戻るが、変異細胞頻出ショウジョウバエでは修復されずに変異細胞として体内に残る。これらが蓄積した結果、ほとんどの個体は成虫にまで発生せず死ぬことになる。変異細胞頻出ショウジョウバエの幼虫に変異原と共に食品 X を与えたところ、変異原のみの場合と比べ成虫になる個体の割合が高まった。食品 X は、細胞競合を促進して様々な変異細胞の除去を促すといった、新たな作用点を持つがん予防食品となることが期待される。現在、食品 X の細胞競合促進機構やがん予防効果を明らかにするための実験をおこなっている。同時に、他の食品についても評価を続けている。

4. ニュートリゲノミクス研究へのショウジョウバエの利用

ニュートリゲノミクスとは、栄養学を意味する「ニュートリション」と、ゲノム情報を解析すること、あるいはその解析手法を意味する「ゲノミクス」の複合造語である。摂取した食品に対する生体側の応答を、ゲノム情報を基に網羅的に解析する学問分野として、21世紀に入ってから急速に発展してきた。主として DNA マイクロアレイをツールとして用いたトランスクリプトーム解析が中心であった。最近では高速シーケンサーを用いた RNA-seq による解析事例¹³⁾¹⁴⁾も散見されるようになってきたが、この分野ではまだまだ DNA マイクロアレイが主流である。

ニュートリゲノミクスは栄養学をベースにしているので、従来はラットやマウスをモデル動物として用いる研究が当たり前のおこなわれていた。しかしながら、前述したように近年哺乳動物を実験に用いるのが難しくなりつつある。そこで、筆者らはショウジョウバエの利用を考えた。

ショウジョウバエは前述の通り、飼育コストを低く抑えることができるため、ラットやマウスでは現実的には難しかった、ある機能にフォーカスした食品のハイスクリーンングが可能となる。食品機能を評

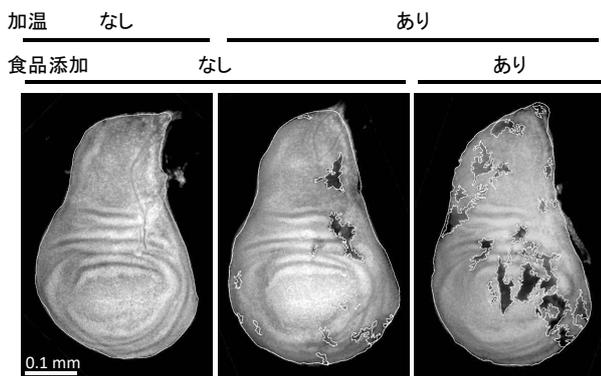


図3 細胞競合の解析例

翅原基の蛍光像。加温依存に変異細胞集団 (白~薄いグレー) の中に正常細胞集団 (濃いグレー~黒) が出現する (中央)。ある種の食品を添加した飼料での飼育により、正常細胞集団の領域が増加する (右)。図では緑色蛍光を発する変異細胞は白く、正常細胞は黒く見える。数値化のため、原基外周および両細胞集団境界に白線が引かれている。

価する実験系をショウジョウバエで構築できれば、効果のありそうな食品を短期間で絞り込むことが可能である。

ニュートリゲノミクスは、遺伝子発現を網羅的に解析するので、多種類の食品についての作用メカニズムを同時に検討するのはコストの面で難しいが、あらかじめ機能をスクリーニングで評価しておき、特定の食品について生体への影響の解析をおこなうのであれば現実的である。「この食品を食べさせるとこのような表現型の変化が明確に認められる。ならば、当然遺伝子発現にも変化があると考えられる。そこで、どの遺伝子の発現が変化しているのかを、網羅的解析によって明らかにする。」という解析が成立する。

しかも、ショウジョウバエには、代謝に関わる遺伝子や、細胞の品質管理に関わる遺伝子など、生命体として必要な遺伝子が哺乳類と共通するものもかなりの数存在する。前述の通り、ショウジョウバエでは突然変異体や特定の遺伝子をノックダウン/高発現させる系が容易に手に入るため、必要な個体を入手してかけ合わせるだけで遺伝学的な検証実験も比較的短期間でおこなえる。実際にニュートリゲノミクス研究にショウジョウバエが使われた論文はまだそれほど多くないものの、今後の可能性を感じる。

ショウジョウバエを用いる利点は前述した通りである

が、当然のことながらいいことばかりではない。まず、学会発表などでよく聞かれるのが「ショウジョウバエで何がわかるのか」的なことである。これに対しては、すべてをショウジョウバエで完結させるつもりではなく、あくまで当たりをつけるための実験をショウジョウバエでおこない、ラットやマウスを用いて詳細な確認実験をおこなうことで、哺乳動物実験を削減するとともに、最終的な目的であるヒト臨床試験へのステップとする、という考えを伝えている。

もうひとつのデメリットは、ラットやマウスのように摂餌量を測定することが困難であることが挙げられる。これに対しては、液体（多くの場合水溶性）の物質であればCapillary Feeder (CAFE) アッセイ¹⁵⁾という方法を用いれば、キャピラリーに入れた液体量の差分から摂取量を測定できる。もっとも、現時点では「食べたかどうか」、もっといえば「その食品の添加によって遺伝子発現が変わったか」が問題なのであり、飼料を変えることによって遺伝子発現プロファイルが変化すれば、飼料に添加した食品の影響が出た、と考えている。

従来の一般的なニュートリゲノミクス実験系とショウジョウバエを用いたニュートリゲノミクス実験系のそれぞれの概要を図4に示した。ラットやマウスの場合、1

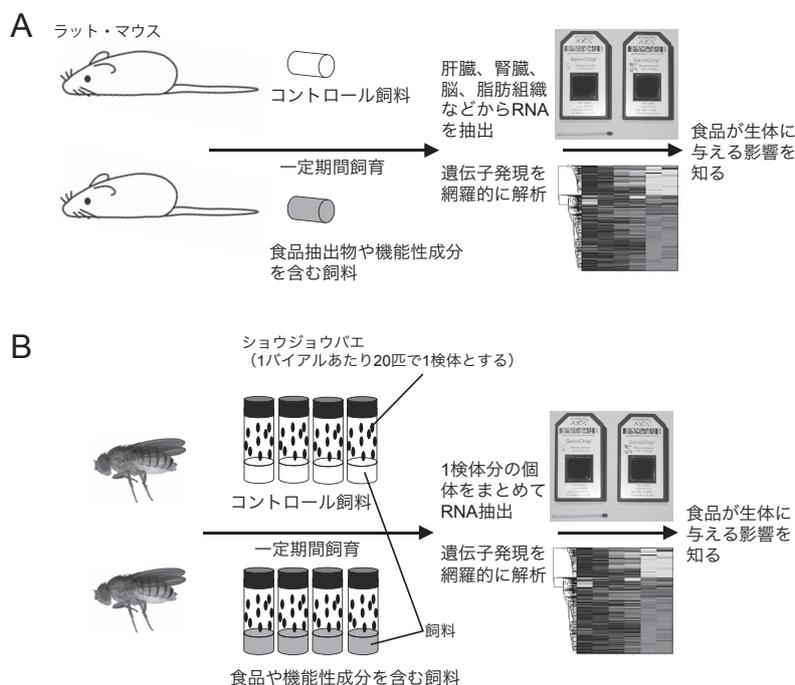


図4 ニュートリゲノミクス実験の概要

A, 従来の一般的なニュートリゲノミクス実験系。ラットやマウスなどのげっ歯類が用いられてきた。コントロール飼料または機能性成分などを含む飼料で一定期間飼育後、臓器を摘出して臓器レベルで遺伝子発現を網羅的に解析する。1個体が1検体に相当する。B, ショウジョウバエを用いたニュートリゲノミクス実験系。ラットやマウスとは異なり、RNA量の関係から、通常1つのバイアルで飼育した20匹程度をまとめてRNA抽出をおこない、1検体とする。個体レベルでの遺伝子発現変動を解析する。

群あたり数匹（最低3匹以上）の動物を一定期間、コントロールまたは食品由来の抽出物や機能性成分などを含む飼料で飼育する。飼育期間は予備実験などで決定しておき、飼育終了後に解剖をおこない、血液や肝臓・腎臓・脳といった研究の目的に沿った臓器を採取し、total RNAを抽出する。多くの場合、血液は生化学データを取得するために使用するが、血液からRNAを抽出する場合もある。得られたRNAは精製後、DNAマイクロアレイに供し、群間で発現の異なる遺伝子を選抜する。発現変動遺伝子セットから、食品抽出物や機能性成分が生体にどのような影響を与えるのかについて知ることができる（図4A）。一方、ショウジョウバエの場合、一個体が小さいため、筆者らは20匹を1検体とみなし、20匹分まとめて個体丸ごとからRNAを抽出している。RNAを抽出した後は、ラットやマウスの場合と同様である（図4B）。個体丸ごとでの遺伝子発現の変化をみるため、「体のどの部位で（あるいは組織で）その遺伝子が発現変動しているのか」について知りたい場合は、別途 *in situ* ハイブリダイゼーションなどをおこなう必要がある。

ショウジョウバエを24時間、48時間絶食させた後の遺伝子発現の変化をDNAマイクロアレイで調べた先行研究¹⁶⁾があったので、筆者らは同様の実験を手始めにおこない、筆者らの実験系が妥当であるか評価した。先行研究のデータは公共のデータベースである Gene Expression Omnibus に収録されていたので、ダウンロードして筆者らのデータと比較した。その結果、発現変動遺伝子の多くは先行研究と一致しただけでなく、先行研究と比べてより解像度の高い結果が得られた（未発表データ）。筆者らは、バイオインフォマティクスの分野で開発された解析法を積極的に取り入れ、ラットやマウスだけでなく、大腸菌やヒト臨床サンプルなどにも応用してDNAマイクロアレイ解析には多くの実績を挙げている¹⁷⁾。同様の解析手法がショウジョウバエにも適用可能であること、また、筆者らの実験系が妥当であることがわかった。実際に、いくつかの食品を本実験系で試してみても、通常ショウジョウバエが摂食しないような食品でも遺伝子発現に影響があることがわかりつつある。

今後は、ショウジョウバエを用いた食品機能スクリーニングと、ニュートリゲノミクスを組み合わせて、新たな食品機能の探索や、食品（中の成分）の作用メカニズムの解明をおこなう予定である。ラットやマウスでは、時間やコストの面でハイスループット化するのが困難であった加齢性疾患の予防に関する研究などにはとくに威力を発揮するのではないかと考えている。

5. おわりに

本稿では、疾患予防効果を中心に食品が持つ機能探索

について筆者らのアプローチを紹介してきた。しかし、確実に疾患予防効果を示す食品は、もはや薬である。医薬品は「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律」（平成26年、法改定時に薬事法から名称が変更された）によって品質や運用が厳格に定められている。仮に疾患予防効果がある食品が見出されたとしても、それを謳うこと自体が禁じられている。保健機能食品にも、疾患予防効果は謳えない。よって、少なくとも日本国内においては、筆者らが探索しているような長期にわたる予防に役立つ「疾患予防食品」が大手を振って世に出回ることには無い。

疾患予防に食品を用いる利点は、自由にいつでも好きなだけ摂れる点（食経験に基づく安全性）と経済的な負担の小ささによる、「日常生活への取り入れやすさ」に集約される。売られている食品に直接表記することはできなくとも、多くの食材に「効果がありそう」、「効果がなさそう」といった情報を学術論文として付加することができれば、そして、効果がありそうな食品群を多く含む食事を提案し新たな食習慣として受け入れられれば（心理的な効果も含め）現代人の健康に食品の機能性研究が寄与することができると考えている。

参 考 文 献

- 1) 内閣府. 高齢社会白書令和元年版. 日経印刷, 2019.
- 2) 厚生労働省. 平成28年版厚生労働白書—人口高齢化を乗り越える社会モデルを考える—. 日経印刷, 2016.
- 3) 環境省自然環境局総務課動物愛護管理室. 実験動物の飼育及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準の解説. 丸善出版, 2017.
- 4) Russell, W. M. S.; Burch, R. L. *The principles of humane experimental technique*. London, Bloomberg School of Public Health, 1959.
- 5) 関水和久. “ゲノム創薬研究所”. 2019. <http://genome-pharm.jp/index.html> (入手日: 2019.8.19).
- 6) 相垣敏郎. “遺伝学のエキスパートショウジョウバエがわかる”. 研究をささえるモデル生物—実験室いきものガイド. 吉川寛, 堀寛編. 化学同人, 2009, 108-116.
- 7) 予防研究グループ. 日本人のためのがん予防法. 第4版. 国立研究開発法人国立がん研究センター, 2017.
- 8) Saadat, I.; Higashi, H.; Obuse, C.; Umeda, M.; Murata-Kamiya, N.; Saito, Y.; Lu, H.; Ohnishi, N.; Azuma, T.; Suzuki, A.; Ohno, S.; Hatakeyama, M. *Helicobacter pylori* CagA targets PARI/MARK kinase to disrupt epithelial cell polarity. *Nature*. 2007, Vol. 447, 330-333.
- 9) Scheffner, M.; Werness, B. A.; Huibregtse, J. M.; Levine, A. J.; Howley, P. M. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p. 53. *Cell*. 1990, Vol. 63, No. 6, 1129-

1136.

- 10) Morata, G.; Ripoll, P. Minutes: mutants of *Drosophila* autonomously affecting cell division rate. *Dev. Biol.* 1975, Vol. 42, No. 2, 211-221.
- 11) Yamauchi, H.; Matsumaru, T.; Morita, T.; Ishikawa, S.; Maenaka, K.; Takigawa, I.; Semba, K.; Kon, S.; Fujita, Y. The cell competition-based high-throughput screening identifies small compounds that promote the elimination of RasV12-transformed cells from epithelia. *Sci. Rep.* 2015, Vol. 5, 15336.
- 12) Fujikawa, K.; Fort, F. L.; Samejima, K.; Sakamoto, Y. Genotoxic potency in *Drosophila melanogaster* of selected aromatic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons as assayed in the DNA repair test. *Mutat. Res.* 1993, Vol. 290, No. 2, 175-182.
- 13) Andrich, D. E.; Melbouci, L.; Ou, Y.; Auclair, N.; Mercier, J.; Grenier, J-C.; Lira, F. S.; Barreiro, L. B.; Danialou, G.; Comtois, A-S.; Lavoie, J-C; St-Pierre, D. H. A short-term high-fat diet alters glutathione levels and IL-6 gene expression on oxidative skeletal muscles of young rats. *Front. Physiol.* 2019, Vol. 10, 372.
- 14) Wang, Z.; Wang, L.; Zhang, Z.; Feng, L.; Song, X.; Wu, J. Apolipoprotein A-IV involves in glucose and lipid metabolism of rat. *Nutr. Metab.* 2019, Vol. 16, 41.
- 15) Ja, W. W.; Carvalho, G. B.; Mak, E. M.; de la Rosa, N. N.; Fang, A. Y.; Liong, J. C.; Brummel, T.; Benzer, S. Prandiology of *Drosophila* and the CAFE assay. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2007, Vol. 104, No. 20, 8253-8256.
- 16) Farhadian, S. F.; Suárez-Fariñas, M.; Cho, C. E.; Pellegrino, M.; Vosshall, L. B. Post-fasting olfactory, transcriptional, and feeding responses in *Drosophila*. *Physiol. Behav.* 2012, Vol. 105, No. 2, 544-553.
- 17) 中井雄治. ニュートリゲノミクス研究で培われた DNA マイクロアレイ解析パイプラインの他分野への応用. *生化学.* 2016, Vol. 88, No. 1, 7-14.