

平成 30 年 6 月 20 日現在

機関番号：23803

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07436

研究課題名(和文) プロポリスの多様性解明を目指した化学および生物行動学的研究

研究課題名(英文) Chemical and biological studies on the various functions of propolis

研究代表者

熊澤 茂則 (Kumazawa, Shigenori)

静岡県立大学・食品栄養科学部・教授

研究者番号：10295561

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：ミツバチの生産物であるプロポリスの多様性を物質レベルで解明するため、主に熱帯や亜熱帯地域で産出されるプロポリスを対象に、成分分析や生理活性評価を実施した。その結果、セネガル産プロポリスから特徴的な成分を発見し、そのプロポリスが強い抗炎症活性を有していることを見出した。さらに、ブラジル産プロポリスの主成分アルテピリンCや沖縄産プロポリスの成分ニムフェオールCが生活習慣病予防につながる生理活性を有していること、またその活性発現メカニズムの一部を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Propolis is a natural resinous substance collected by honeybees from buds and exudates of certain trees and plants to protect their beehive from enemies. It is used as folk medicine in many regions of the world and has been reported to display various biological activities. In this study, chemical and biological methods were applied to evaluate the functions of propolis. In particular, chemical analyses of the propolis from tropic and sub tropic areas such as Senegal, Indonesia and Thailand were carried out. We identified several stilbene compounds from Senegalese propolis. Further the anti-inflammatory potency of Senegalese propolis was higher than that of other propolis that had been previously reported. On the other hand, we clarified that artepillin C from Brazilian propolis induces brown-like adipocyte formation and nymphaeol-C suppresses the expression of fibroblast growth factor 18.

研究分野：食品分析化学

キーワード：プロポリス ミツバチ ブラジル アルテピリンC ニムフェオールC セネガル

1. 研究開始当初の背景

プロポリスは、ミツバチが自分の巣の周辺の植物の滲出物などを集めて作った樹脂状物質である。プロポリスの主成分は、樹脂、ろう質、花粉、その他のミネラル類であるが、実際の成分組成はミツバチが利用する植物種(起源植物)に左右される。もともとプロポリスは、抗菌活性やその他の薬理活性が注目され、世界各地で民間伝承薬として用いられてきた。現在は、チンキや錠剤といった健康食品の他、飴や歯磨きなど、プロポリスを用いた様々な製品が市販されており、その消費量は健康食品の中でも常に上位を占めている。しかし、プロポリスを研究対象にしている研究者は国内外でも非常に少ないため、その成分や生理活性等については未だ不明な部分が多かった。

研究代表者は、これまでにプロポリスの構成成分、生理活性、成分の体内動態などに関する研究を進めてきた。さらに化学的な研究だけでなく、生理活性の一つとしてプロポリスのガン血管新生抑制活性研究に着手し、着実な成果を挙げてきた。そしてこれまでの研究によって、特に熱帯および亜熱帯地域で産出されるプロポリスに特異な成分が含まれ、特徴的な生理活性を有するものが多いことが分かってきた。

2. 研究の目的

前述したように、研究代表者はプロポリス研究において多くの実績を挙げてきた。こうしたことから、本研究はこれまでの研究の蓄積を基盤に、化学および生物行動学からの異なるアプローチによって、未だ研究が進んでいない熱帯および亜熱帯地域で産出されるプロポリスを中心にその成分や生理機能を解明することを目的とした。そして、プロポリスの多様性を物質レベルで明らかにすることを目指した。特に近年、海外においてプロポリスを補完代替医療素材の一つとして疾病の治療や予防に利用しようとする動きがある。また、プロポリスが産出される熱帯および亜熱帯地域には開発途上国が多い。そのため、それらの地域で産出されるプロポリスに特徴的な生理機能が見出され、何らかの機能性素材としての利用につながることであれば、熱帯および亜熱帯産プロポリスは他の地域のプロポリスと差別化され、開発途上国支援に結び付くことにもなる。

3. 研究の方法

(1) プロポリスの構成成分の分析

未だ構成成分が解明されていないプロポリスの成分分析を実施した。対象としたプロポリスは、セネガル、インドネシア、タイ産のプロポリスである。なお、インドネシアとタイ産のプロポリスは、ハリナシバチが産するプロポリスである。

(2) プロポリスの起源植物の解明

プロポリスの成分研究の結果から、対象としたプロポリスの起源植物を推定した。必要に応じてプロポリスの採集地域の養蜂家などからの情報も参考にした。

(3) プロポリスの生理機能評価

ブラジル産プロポリスの主成分であるアルテピリン C (図 1) について、細胞および動物実験により褐色脂肪細胞化誘導に関する検討を行った(中部大学津田教授との共同研究)。

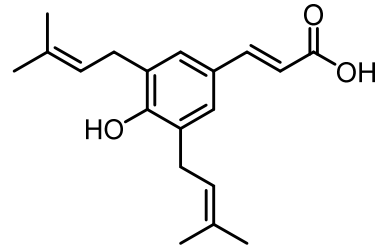


図 1. アルテピリン C の化学構造

一方で、セネガル産プロポリスに関して、マウス由来マクロファージ様細胞を用いて、リポポリサッカライドによる一酸化窒素産生阻害による抗炎症活性を調べた。さらに、沖縄産プロポリスに含まれるプレニルフラボノイド化合物ニムフェオール C (図 2) に関して線維芽細胞増殖因子 FGF 18 に対する抑制効果を調べ、そのメカニズムも検討した。

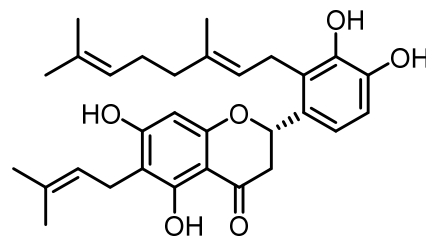


図 2. ニムフェオール C の化学構造

4. 研究成果

(1) プロポリスの構成成分の分析

セネガル産のプロポリスについて、成分研究を実施した。その結果、このプロポリスには、他のプロポリスには見られないスチルベン化合物が含まれていることが明らかになり、生理機能の面でも期待された(図 3)。

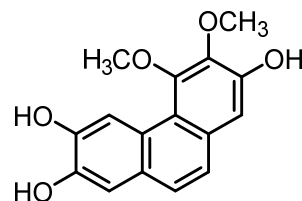


図 3. セネガル産プロポリスより単離、同定した化合物の例

インドネシアのハリナシバチが生産するプロポリスに関しては、プレニルフラボノイドやクマリン類などの化合物の存在を確認した。また、タイ産のプロポリスからは、いくつかのキサントン誘導体を単離、同定することができた。

(2) プロポリスの起源植物の解明

セネガル産のプロポリスより単離、同定した化合物の多くは、アフリカに自生しているいくつかの薬草に多く含まれる化合物であった。セネガル現地とも連絡を取り合って、起源植物解明を進めたが、セネガル国の政治不安定性もあり、確実な起源植物同定には至らなかった。

インドネシアとタイ産プロポリスに関しては、最終年度より成分研究を始めたばかりである。現在までに、有力な起源植物は推定されているが、完全な起源植物同定までには至っていないため、今後も引き続き研究を進める予定である。

(3) プロポリスの生理機能評価

アルテピリン C は、細胞および動物実験レベルにおいて、褐色脂肪細胞化を誘導することが見出された。そのメカニズムとしては、褐色脂肪細胞化に関わる転写調節因子のタンパク質の分解抑制が関わることなどが明らかになった。

セネガル産プロポリスに関しては、他の主なプロポリスと比べて強い抗炎症活性を有することが明らかとなり(図4) このプロポリスに含まれるスチルベン化合物が活性に寄与していることが推定された。

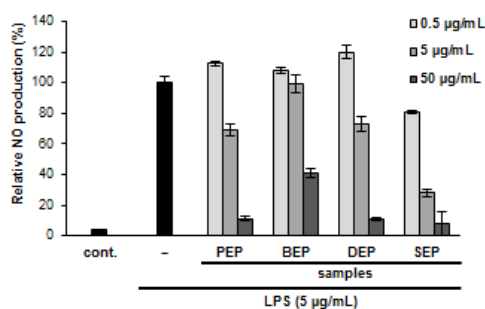


図4. プロポリスのNO産生抑制率

なお、ニムフェオール C は、線維芽細胞増殖因子 FGF 18 に対する顕著な抑制効果を有し、そのメカニズムとして、転写およびタンパク質レベルで FGF 18 の発現を抑制していることが確認された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計3件)

Kazuki Yoshimura, Takahiro Hosoya, Misa Fujinami, Toshiro Ohta, Shigenori Kumazawa: Nymphaeol-C, a prenylflavonoid from

Macaranga tanarius, suppresses the expression of fibroblast growth factor 18. *Phytomedicine*, **36**, 238-242, 2017.

DOI: 10.1016/j.phymed.2017.10.009

Binh Cao Quan Nguyen, Kazuki Yoshimura, Shigenori Kumazawa, Shinkichi Tawata, Hiroshi Maruta: Fronodoside A from cucumber and nymphaeols from Okinawa propolis: Natural anti-cancer agents that selectively inhibit PAK1 in vitro. *Drug Discoveries and Therapeutics*, **11**, 110-114, 2017.

DOI: 10.5582/ddt.2017.01011

Sho Nishikawa, Hiroki Aoyama, Misa Kamiya, Jun Higuchi, Aiko Kato, Minoru Soga, Taeko Kawai, Kazuki Yoshimura, Shigenori Kumazawa, Takanori Tsuda: Artepillin C, a typical Brazilian propolis-derived component, induces brown-like adipocyte formation in C3H10T1/2 cells, primary inguinal white adipose tissue-derived adipocytes, and mice. *PLoS One*, 2016 Sep 6;11(9):e0162512.

DOI: 10.1371/journal.pone.0162512

〔学会発表〕(計13件)

石津英里子, Boonyadist Bongsak, 熊澤茂則: タイのハリナシバチが生産するプロポリスの化学的研究. 日本農芸化学会 2018年度(平成30年度)大会(名古屋). 2018年3月15~18日

宮田 椋, Muhamad Sahlan, 熊澤茂則: インドネシアのハリナシバチが生産するプロポリスの化学的研究. 日本農芸化学会 2018年度(平成30年度)大会(名古屋). 2018年3月15~18日

石津英里子, Boonyadist Vongsak, 熊澤茂則: タイのハリナシバチが生産するプロポリスとその起源植物. ミツバチサミット 2017(つくば). 2017年11月11~12日

宮田 椋, Muhamad Sahlan, 熊澤茂則: インドネシアのハリナシバチが生産するプロポリスの化学的研究. ミツバチサミット 2017(つくば). 2017年11月11~12日

Shigenori Kumazawa: The potencies of Indonesian propolis based on chemical profiling (招待講演). Workshop Teknologi Pengolahan dan Pemanfaatan Propolis. University of Indonesia (Depok, Indonesia). 2017年9月11~12日

石津英里子, Boonyadist Vongsak, 熊澤茂則: タイのハリナシバチが生産するプロポリスの成分と機能性. 日本食品科学工学会第64回大会(藤沢). 2017年8月28~30日

Shigenori Kumazawa: Bioactive compounds in bee propolis for drug discovery(招待講演). International Symposium on Biomedical Engineering 2017 (Bali, Indonesia). 2017年7月25~26日

吉村一輝, 藤浪未沙, 細谷孝博, 熊澤茂則: 線維芽細胞増殖因子 FGF18 の発現を抑制する化合物の探索. 日本農芸化学会中部支部第 177 回例会 (名古屋). 2016 年 9 月 24 日

吉村一輝, 藤浪未沙, 細谷孝博, 熊澤茂則: 線維芽細胞増殖因子 FGF18 発現抑制化合物の探索とそのメカニズム. 日本食品科学工学会第 63 回大会 (名古屋). 2016 年 8 月 25 ~ 27 日

中村純, 熊澤茂則: ミツバチが作る蜂産品 ~ 原料, 加工, 用途. 日本食品科学工学会第 63 回大会 (名古屋). 2016 年 8 月 25 ~ 27 日

Shigenori Kumazawa: Prenylflavonoids and the plant origin of Pacific propolis(招待講演). Propolis Conference 2016 (Glasgow, UK). 2016 年 6 月 16 ~ 17 日

吉村一輝, 藤浪未沙, 細谷孝博, 熊澤茂則: 線維芽細胞増殖因子 FGF18 発現を抑制する天然物の探索. 平成 27 年度日本食品科学工学会中部支部大会 (名古屋). 2015 年 12 月 5 日

乾沙王里, 細谷孝博, 熊澤茂則: ハワイ産プロポリスの成分と起源植物. 日本食品科学工学会第 62 回大会 (京都). 2015 年 8 月 27 ~ 29 日

〔図書〕

特になし

〔産業財産権〕

特になし

〔その他〕

ホームページ等

<http://dfns.u-shizuoka-ken.ac.jp/labs/foodproc/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

熊澤 茂則 (KUMAZAWA, Shigenori)
静岡県立大学・食品栄養科学部・教授
研究者番号: 10295561

(2) 研究分担者

中村 純 (NAKAMURA Jun)
玉川大学・農学部・教授
研究者番号: 30256002

細谷 孝博 (HOSOYA Takahiro)
横浜薬科大学・薬学部・講師
研究者番号: 30506572

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

なし