

令和 6 年 6 月 16 日現在

機関番号：34524

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05478

研究課題名（和文）ウコン属植物ガジュツの抗肥満作用と食餌誘導性肥満モデルマウスに及ぼす効果の解明

研究課題名（英文）Study on anti-obesity effects of Curcuma zedoaria and its effects on diet-induced obesity in mice

研究代表者

山崎 一諒 (YAMASAKI, Kazuaki)

兵庫大学・健康科学部・准教授

研究者番号：60751328

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：近年、日々の食生活による生活習慣病の予防・改善が注目されている。ウコン属植物の根茎は、料理や伝統医学に用いられてきた。アキウコンは鮮やかなオレンジ色の根茎をもつウコン属植物としてよく知られており、その健康効果も広く研究されている。一方、ガジュツは紫ウコンとも呼ばれる特徴的なウコン属植物であるが、その健康効果はほとんど調べられていなかった。そこで本研究では、生活習慣病に対するガジュツの有用性を種々の試験により網羅的に探索した。その結果、脂肪モデル細胞を用いた検討より、ガジュツが生活習慣病に対して予防効果がある生理活性物質アディポネクチンの分泌を増加させることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義
ガジュツは生活習慣病を予防・改善する有用な食材になりうるのかという点で研究を進め、上述したアディポネクチンの分泌増加作用を見出した。このことは、多くの生活習慣病またはその根源にある炎症、インスリン抵抗性に対し、ガジュツが有用である可能性を示したものである。ウコン属植物ガジュツの活用の提案は、各個人の状態に最適化した栄養の提案と実行“プレジジョン栄養”に新たな選択肢を与え、その社会実装や健康社会の実現につながるものと考えている。また、本研究成果はこの先にあるヒトにおける有用性、各種疾患モデル動物を用いた検討の際の重要な基礎資料となる。

研究成果の概要（英文）： In recent years, there has been a focus on effective prevention and improvement of lifestyle-related diseases through daily dietary habits.

The rhizomes of turmeric plants have been used in cooking and traditional medicine. Curcuma longa ("Akiukon" in Japanese) is a well-known turmeric plant with bright orange rhizomes and has been widely studied for its beneficial effects on health. On the other hand, C. zedoaria ("Gajutsu" or "Murasakiukon" in Japanese) is a characteristic turmeric plant, its beneficial effects on health had been little investigated. In this study, we investigated the beneficial effects of Gajutsu for lifestyle-related diseases using various experiments.

The results of the study using adipocyte model cells showed that Gajutsu increased the secretion of adiponectin, a bioactive substance that has a preventive effect against lifestyle-related diseases.

研究分野：食品機能化学

キーワード：ガジュツ Curcuma zedoaria ウコン 3T3-L1 肥満 糖尿病 生活習慣病 食品機能化学

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生活習慣病は個人の生活の質を低下させるだけでなく、増加傾向にある医療費の問題に直結するため、その対策は急務である。糖尿病や動脈硬化症等、多くの生活習慣病は内臓脂肪型肥満とそれに伴う慢性的な炎症・インスリン抵抗性によって引き起こされる。そのため、これらの改善が生活習慣病対策に必須である。近年、食品が持つ多様な生体調節機能を利用した日々の食生活による効果的な生活習慣病の予防・改善が注目されている。

ウコン属植物は伝統医学に利用された歴史がある。アキウコン (*Curcuma longa*) に含まれるクルクミン類は広く研究されており、肥満、糖尿病、一部の悪性腫瘍等に対する有用性が認められている。一方ガジュツ (*Curcuma zedoaria*) は紫ウコンとも呼ばれ、クルクミン類を含まない特徴的なウコン属植物である。アキウコンと同様、伝統医学として炎症や糖尿病に利用された歴史がある (Lobo et al. 2009, Gharge et al. 2021)。我が国でも生産・流通しているが、生活習慣病に対する有用性という観点での科学的根拠は乏しかった。

2. 研究の目的

そこで本研究では、生活習慣病を予防・改善する新規素材としてウコン属植物ガジュツの活用を着想した。種々の試験によりその機能性を網羅的に探索した結果、脂肪モデル細胞を用いた検討によりガジュツが生活習慣病予防の予防・改善に有用であることが示唆されたので報告する。

3. 研究の方法

(1) サンプル調製

ガジュツは国産の乾燥粉末市販品を購入した。乾燥粉末 5.0 g に、100 mL の 50%メタノールを加えて室温で一晩攪拌した。1,800 × g、15 分間の遠心分離後、上清を減圧濃縮、凍結乾燥により、ガジュツ粗抽出物 (CZE) を得た。

(2) 3T3-L1 細胞の培養

マウス由来前駆脂肪細胞 3T3-L1 は、JCRB 細胞バンクから購入した。3T3-L1 細胞は、10%ウシ胎児血清 (FBS)、100 units/mL ペニシリン、100 µg/mL ストレプトマイシンを含むダルベッコ改変イーグル培地 (DMEM、4.5 g/L グルコース) を用い、37 °C、5%CO₂ 雰囲気下で培養した。

(3) CZE の 3T3-L1 細胞に対する細胞毒性

96 穴プレートに 3T3-L1 細胞 (1×10^4 cells/well) を播種し、24 時間培養した。培地を除き、CZE (0-1,000 µg/mL) を含む DMEM で 3 日間培養した。MTT 溶液 (5 mg/mL、最終濃度 0.1% v/v) を加えて 4 時間培養後に培地を除き、200 µL のジメチルスルホキシドを加えて 570 nm における吸光度を測定した。

(4) 3T3-L1 細胞の分化と CZE が分化に及ぼす影響

12 穴プレートを用いて 3T3-L1 細胞を培養した。コンフルエントに達した翌日 (Day0)、10%FBS、0.5 mM3-イソブチル-1-メチルキサンチン、0.5 µM デキサメタゾン、1 µg/mL インスリンを含む DMEM (分化誘導培地) に交換した。2 日後、1 µg/mL インスリンを含む DMEM (分化促進培地) に交換し、5 日間培養することで脂肪細胞への分化を行った。培地は Day2、3、5 に交換した。分化誘導培地および分化促進培地に CZE (0-200 µg/mL) を加えて培養した。

Day7 の細胞を用い、オイルレッド O 染色法、酵素定量法 (LabAssay Triglyceride Kit) により脂質蓄積量および脂肪合成活性の指標であるグリセロール-3-リン酸脱水素酵素 (GPDH) の活性 (GPDH Assay Kit) および PPAR α 、アディポネクチンの細胞内 mRNA 発現量を RT-PCR 法により評価した。また、Day7 の培養上清中のグルコース濃度 (Glucose CII Test Wako) および高分子アディポネクチン濃度 (LBIS Mouse/Rat HMW Adiponectin ELISA Kit) を評価した。

4. 研究成果

(1) CZE の 3T3-L1 細胞に対する細胞毒性

最初に、CZE の 3T3-L1 細胞に対する細胞毒性を評価した。その結果、CZE 200 µg/mL までの添加は細胞毒性を示さず、300 µg/mL 以上の濃度で著しい細胞毒性を示した (図 1) (Yamasaki et al. 2022)。本結果から、200 µg/mL を CZE 添加濃度の上限とした。

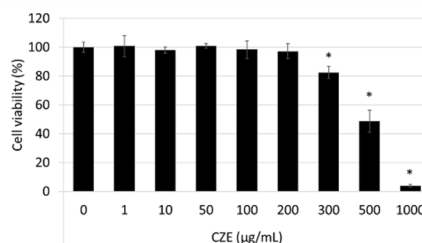


図 1 CZE の 3T3-L1 細胞に対する細胞毒性
*, vs. 0 µg/mL 群

(2) 3T3-L1 細胞の分化と CZE が分化に及ぼす影響

次に、3T3-L1 細胞の分化過程における CZE の添加が脂質蓄積量に及ぼす影響を評価した。分化 7 日目の細胞を用い、オイルレッド O 染色およびその半定量を実施した結果、脂質蓄積量は CZE の添加量に依存して増加することが明らかとなった(図 2AB)。酵素法による定量でも同様の結果を示しており、100 および 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 添加群では非添加群と比較して有意に増加していた(図 2C)。脂肪合成活性の指標である GPDH 活性についても、CZE 添加群で亢進していた(図 2D) (Yamasaki et al. 2022)。

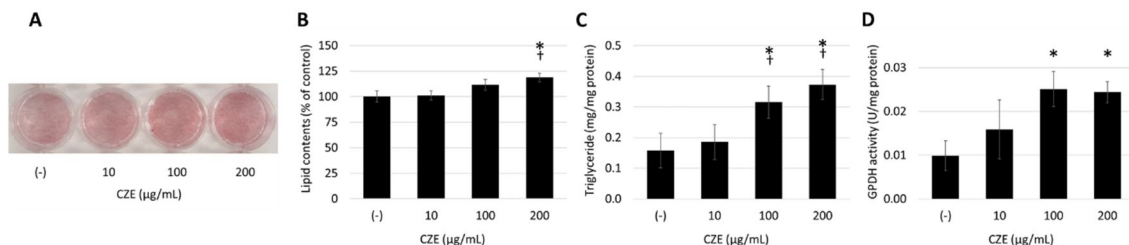


図2 CZE が 3T3-L1 細胞の脂質蓄積に及ぼす影響

A: オイルレッド O 染色、B: オイルレッド O 染色法による半定量、
C: TG 蓄積量 (酵素法) D: GPDH 活性

*, vs. 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (-)群; †, vs. 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 添加群

3T3-L1 細胞への CZE の添加が脂質蓄積量を増加させることが明らかとなったため、CZE が脂肪細胞の分化に重要な役割を担っている PPAR の細胞内 mRNA 発現量に及ぼす影響を評価した。また、PPAR によって制御されており、抗炎症作用やインスリン抵抗性改善作用を有するアディポネクチンの細胞内 mRNA 発現量についても評価した。その結果、細胞内の PPAR mRNA 発現量および細胞内アディポネクチン mRNA 発現量は 100、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の CZE 添加群で非添加群と比較して有意に高かった(図 3AB)。

最後に、培養上清中のグルコース残存量および培養上清中へのアディポネクチン分泌量を評価した。結果、100、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の CZE 添加群では非添加群と比較して培養上清中のグルコース濃度は有意に低く、アディポネクチン分泌量は有意に高かった(図 3CD) (Yamasaki et al. 2022)。

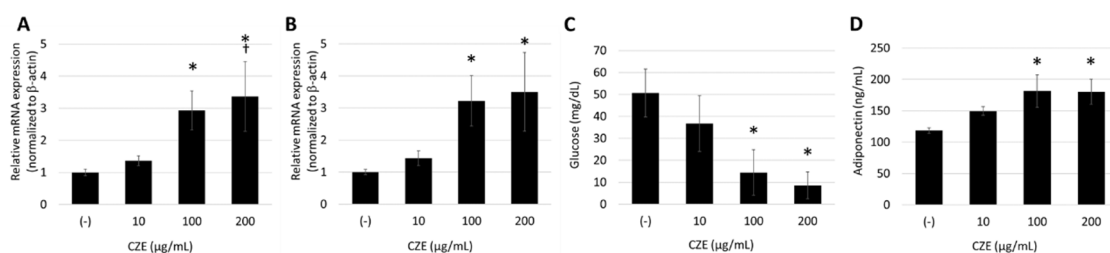


図3 CZE が 3T3-L1 細胞の分化に及ぼす影響

A: 細胞内 *Ppar* mRNA 発現量、B: 細胞内アディポネクチン mRNA 発現量、
C: 培養上清中のグルコース濃度、D: 培養上清中のアディポネクチン濃度

*, vs. 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (-)群; †, vs. 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 添加群

生活習慣病を予防・改善する新たな素材としてのガジュツの有用性を検討するため、ガジュツ抽出物を種々の試験に網羅的に供した。その結果、脂肪モデル細胞 3T3-L1 を用いた検討より、ガジュツ抽出物の添加がアディポネクチンの細胞内 mRNA 発現量および培養液中への分泌量を増加させることを明らかにした。アディポネクチンは糖尿病や動脈硬化症等の生活習慣病を予防・改善する生理活性物質として有望視されている。そのため、今後これら疾患に対するガジュツの効果の解明が必要である。アディポネクチン分泌量増加の主な要因は、PPAR の mRNA 発現増加作用に由来するものと考えられた。PPAR は脂肪細胞の分化に深く関わるため、ガジュツ抽出物による脂質蓄積量の増加についても、PPAR の mRNA 発現増加作用に付随するものと考えられた。

今後、作用メカニズムのさらなる詳細を明らかにすることで、日々の食生活による生活習慣病の予防・改善のひとつにガジュツが用いられることが期待される。

参考文献

Lobo R, Prabhu KS, Shirwaikar A, Shirwaikar A. *Curcuma zedoaria* Rosc. (white turmeric): a review of its chemical, pharmacological and ethnomedicinal properties. *J Pharm Pharmacol.* **2009**; 61(1): 13-21. doi: 10.1211/jpp/61.01.0003. PMID: 19126292.

Gharge S, Hiremath SI, Kagawad P et al. *Curcuma zedoaria* Rosc (Zingiberaceae): a review on its chemical, pharmacological and biological activities. *Futur J Pharm Sci.* **2021**; 7: 166. <https://doi.org/10.1186/s43094-021-00316-1>.

Yamasaki K, Kuriyama I, Nakai R, Hosokawa K. *Curcuma zedoaria* 50% methanol extracts increase adiponectin secretion by enhancing PPAR mRNA expression in 3T3-L1 cells. *Biosci Biotechnol Biochem.* **2022**; 86(9): 1295-1299. doi: 10.1093/bbb/zbac098. PMID: 35749483.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yamasaki Kazuaki, Kuriyama Isoko, Nakai Reiko, Hosokawa Keizo	4. 巻 86
2. 論文標題 <i>Curcuma zedoaria</i> 50% methanol extracts increase adiponectin secretion by enhancing <i>PPAR </i> mRNA expression in 3T3-L1 cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1295 ~ 1299
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/bbb/zbac098	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山崎一諒、栗山磯子、細川敬三
2. 発表標題 ガジュツ（ <i>Curcuma zedoaria</i> ）50%メタノール抽出物の3T3-L1細胞に対する分化促進作用
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

https://www.hyogo-dai.ac.jp/research/foodeducation/news/functionality/2022/07206614.html

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------