

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 18 日現在

機関番号：82613

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23500999

研究課題名(和文) ダイエット関連植物素材の安全性における主要栄養素の影響評価

研究課題名(英文) Safety of weight loss plant material and association of dietary macronutrients

研究代表者

梅垣 敬三 (umegaki, keizo)

独立行政法人国立健康・栄養研究所・情報センター・センター長

研究者番号：60191920

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：フォルスコリンがc-AMPを蓄積して脂肪分解を促進することから、10%フォルスコリンを含むコレウス・フォルスコリエクス(CFE)が人気のダイエットハーブ素材となっている。マウスにCFEを摂取させると、肝臓重量の増加、肝臓シトクロームP450(CYP)の誘導、脂肪肝が惹起された。また、CFE投与は肝臓CYP2Cタイプの誘導を介して、ワルファリンの抗凝固作用やトルブタミドの血糖降下作用を減弱させた。それらのCFEの作用は、飼料中スターチ含有量が高い条件で増強された。CYP誘導や脂肪肝に関与するCFE中の成分は、フォルスコリンではなく、エーテル可溶性の複数の未同定の成分と推定された。

研究成果の概要(英文)：Coleus forskohlii extract (CFE) standardized to 10% forskolin is a popular herbal ingredient for commercial weight loss dietary supplement, because forskolin has been shown to increase c-AMP accumulation and lipolysis in fat cells. Feeding CFE to mice increased liver weight, induced cytochrome P450(CYP) and fatty liver. CFE attenuated the anticoagulant action of warfarin, and hypoglycemic action of tolbutamide via induction of hepatic CYP2C. Dietary starch potentiated CFE-induced CYP induction. Inductions of CYP and fatty liver by CFE were not due to forskolin, but due to un-identified substances that were soluble in ether.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学、食生活学

キーワード：安全性 ダイエット食品 主要栄養素 肝薬物代謝酵素 相互作用 ハーブ

#### 1. 研究開始当初の背景

天然植物成分を添加したダイエット食品が注目されているが、それらの安全性は十分に検討されているとは言えない。ダイエット食品の利用対象者は極端な食事をする傾向があり、主要栄養素(タンパク質、脂質、炭水化物)の摂取レベルが、その安全性に大きく影響する可能性が考えられる。また、ダイエット食品の有害事例の情報から肝臓に対する影響が危惧される。

コレウス・フォルスコリ (*Coleus forskohlii*) エキス(以下、コレウスエキス)は、人気の高いダイエット食品素材である。コレウスエキス中の有効成分であるフォルスコリンは、アデニル酸シクラーゼを活性化して cAMP を蓄積することにより脂肪分解を促進し、ダイエット効果を発現すると想定されている。コレウスエキスのダイエット効果は、動物試験だけでなくヒト試験でも示されている。しかしながら、ダイエット食品でよく認められる肝機能等へのコレウスエキスの影響を検討した報告はほとんど認められない。マウスにおける予備的検討において、筆者らはコレウスエキスが肝臓薬物代謝酵素を強く誘導することを認めたが、その詳細及び食餌条件との関連は不明であった。

#### 2. 研究の目的

本研究ではマウス及びラットを用い、コレウスエキスが肝機能等に及ぼす影響について、その摂取量や摂取期間との関連で詳細に検討した。また、コレウスエキスが肝臓薬物代謝酵素の誘導を介して、医薬品との相互作用を惹起するかどうか、肝臓薬物代謝酵素誘導等に飼料中の主要栄養素が影響するかどうかを検討した。さらにコレウスエキス中の肝臓薬物代謝酵素の誘導等に関する成分の検索を試みた。

#### 3. 研究の方法

コレウスエキスはインドのバンガロールで採取された乾燥根から超臨界抽出法で調製し、フォルスコリン含量を 10% にしたものを利用した。その一般成分は、水分 5.6%、タンパク質 0.3%、脂質 22.7%、灰分 2.2%、炭水化物 69.2%であった。実験動物には主に ICR 系雄マウスを用い、飼料は市販配合飼料または AIN93G 組成の精製飼料を用いた。

コレウスエキス投与による肝機能への影響は、マウスに種々の濃度のコレウスエキス含有飼料を一定期間混餌投与し、肝臓重量の変化、肝臓薬物代謝酵素であるシトクローム P450 (CYP) の含量と活性、肝臓脂質濃度、血液中のトランスアミナーゼ活性によって評価した。肝臓 CYP 含量及び CYP 活性は既報の方法 (Jpn J Pharmacol, 90, 345-51, 2002) またはプロメガ(株)のキットで測定した。血漿中の肝機能マーカーは市販キットで測定した。

コレウスエキスの肝臓 CYP 誘導に対する飼料中の主要栄養素の影響については、AIN93G 組成を基本とし、飼料中のカゼイン含量、スターチとショ糖含量、油脂含量を増減させた飼料にコレウスエキスを添加し、マウスに一定期間混餌投与して評価した。

コレウスエキスと医薬品の相互作用に関する検討は、ワルファリンの併用による血液凝固パラメーターの変動、トルブタミドの併用による血糖値の変動により評価した。

コレウスエキス中の肝臓 CYP 誘導成分は、各種溶媒またはカラムクロマトグラフィーによりコレウスエキスを分画した試料を調製し、in vitro 及び in vivo における CYP 酵素活性への影響を指標として検索した。

#### 4. 研究成果

マウスに 0-5%濃度のコレウスエキス含有飼料を 1-3 週間投与したとき、肝臓重量の増加、肝臓 CYP の誘導(特に CYP2B、CYP2C、CYP3A)、脂肪肝と血清トランスアミナーゼ活性の増加が惹起された。肝臓 CYP 誘導は 0.05%コレウスエキス濃度から、また脂肪肝はその 10 倍である 0.5%の濃度から検出された。以上の現象は、コレウスエキス投与開始 1 週間後から検出でき、投与中止 1-2 週間で回復した。これらのコレウスエキスの作用は、既知活性成分として知られているフォルスコリンでは認められないことから、コレウスエキス中のフォルスコリン以外の成分によるものと考えられた。

マウス肝臓 CYP 誘導に対するコレウスエキスの投与条件や飼料条件を検討したところ、混餌投与と胃内投与の条件で差異はなく、混餌投与では市販非精製飼料よりも AIN93G 組成の精製飼料で著しかった。肝臓 CYP 誘導に対する主要栄養素の影響を検討したところ、AIN93G 組成飼料中の炭水化物源として利用したスターチ含量の高い条件において CYP 誘導が起こりやすく、飼料中の脂質やタンパク質の含量はそれほど影響しなかった。コレウスエキスで認められた肝臓 CYP 誘導は、肝臓重量の増加と極めて強い相関性を示した。また、コレウスエキスによる CYP 誘導は肝臓だけでなく消化管でも認められ、消化管における CYP 誘導は、コレウスエキス摂取中止によって肝臓よりも速やかに回復した。

ヒト及びマウスの肝臓ミクロソームを用いた in vitro 系において、コレウスエキスは CYP2C と直接相互作用し、濃度依存的に CYP 活性を阻害した。この現象を利用して、エキス中の CYP 誘導に関する成分の検索を試みた。その結果、コレウスエキス中の CYP 誘導成分は、エーテル画分に多く含まれ、酢酸エチル画分やアセトン画分にはそれほど含ま

れていないことが明らかとなった。さらに成分の検索を進めたところ、CYP 誘導成分はヘキサンと水には難溶でメタノールに容易に溶解する成分であった。コレウスエキス粗分画を HPLC によって分画したところ、複数のフラクションに CYP 阻害作用が検出された。別途、コレウスエキス粗分画をシリカゲルクロマトによって5つのフラクションに分画し、得られた試料をマウスに混餌投与して、in vivoにおける肝臓CYP誘導を測定したところ、この検討においても複数のフラクションにCYP誘導活性が認められた。この研究からコレウスエキスは、in vivoではCYPの誘導を惹起するが in vitroでは阻害することが明らかとなった。以上の結果より、コレウスエキス中の in vivoにおけるCYP誘導成分は、メタノールに溶解しやすいフォルスコリン以外の複数の成分と推定された。

コレウスエキス投与は肝臓CYPの中で特にCYP2Cタイプを誘導する。そこでCYP2Cタイプで代謝を受ける医薬品としてワルファリンとトルブタミドを取り上げ、それらのコレウスエキスとの相互作用の可能性を検討した。マウスにコレウスエキスを前投与し、その後ワルファリンを投与したとき、ワルファリンの抗凝固作用は減弱した。同様に、ラットにコレウスエキスを前投与し、その後トルブタミドを投与したとき、トルブタミドによる血糖降下作用の減弱が認められた。以上の結果は、コレウスエキスの摂取がCYP2Cの誘導を惹起し、このタイプで代謝を受ける医薬品と相互作用を起こすことを示唆した。

以上の結果より、ダイエット食品で人気の高いコレウスエキスは低用量で肝臓CYPを強く誘導することによって、ある種の医薬品と相互作用をする可能性が明らかとなった。また高用量では、脂肪肝や肝機能障害を惹起する可能性も明らかになった。このようなコレウスエキスの肝臓に対する作用は、食事の炭水化物(スターチ)の摂取量が多い条件において起こりやすい可能性が明らかになった。本研究結果は動物実験において得られたものであり、ヒトにおいてもコレウスエキス摂取が同様の現象を惹起するか否かは、現時点では不明である。本研究結果を踏まえて、コレウスエキスを含むダイエット食品の利用者の注意深い観察が行われれば、ヒトにおいても同様の現象が観察される可能性はある。コレウスエキスも過剰摂取しなければ肝機能障害は惹起されないことから、ダイエット食品の過剰摂取や乱用防止に対する注意喚起が適切になされれば、健康被害の未然防止ができると考えられる。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5 件)

Yokotani K, Chiba T, Sato Y, Umegaki K, Coleus forskohlii extract attenuates the hypoglycemic effect of tolbutamide in vivo via a hepatic cytochrome P450-mediated mechanism, 食品衛生学雑誌、査読あり、55 巻 2 号、2014、pp73-78  
Virgona N, Taki Y, Yamada S, Umegaki K, Dietary Coleus forskohlii extract generates dose-related hepatotoxicity in mice. J Appl Toxicol. 査読あり、33(9)、2013、pp924-32.

Kaori Yokotani Tsuyoshi Chiba, Yoko Sato, Tomoko Nakanishi, Masatsune Murata, Keizo Umegaki, Influence of dietary macronutrients on induction of hepatic drug metabolizing enzymes by coleus forskohlii extract in mice. J Nutr Sci Vitaminol、査読あり、59、2013、pp37-44

Kaori Yokotani Tsuyoshi Chiba, Yoko Sato, Yuko Taki, Shizuo Yamada, Kazumasa Shinozuka, Masatsune Murata, Keizo Umegaki, Hepatic cytochrome P450 mediates interaction between warfarin and Coleus forskohlii extract in vivo and in vitro. J Pharm Pharmacol. 査読あり、64(12)、2012、pp1793-801

横谷馨倫、千葉剛、佐藤陽子、窪田洋子、渡邊泰雄、村田容常、梅垣敬三、Coleus forskohlii エキス中の肝シトクローム P450 誘導物質の推定、応用薬理、査読あり、82 巻 5/6、2012、pp.67-73

[学会発表](計 8 件)

横谷馨倫、千葉剛、佐藤陽子、中西朋子、梅垣敬三、肝シトクローム P450 を介したコレウス・フォルスコリエキスとワルファリンやトルブタミドとの相互作用の検証、第 60 回日本栄養改善学会学術総会、2013 年 9 月 13 日

梅垣敬三、アルセニチ・イエレナ、山崎優子、佐々木 菜穂、千葉剛、横谷馨倫、佐藤陽子、志村二三夫、コレウス・フォルスコリエキス投与によるマウスの肝臓と消化管のCYP誘導の違い、第 67 回日本栄養・食糧学会、2013 年 5 月 26 日

横谷馨倫、千葉剛、佐藤陽子、中西朋子、梅垣敬三、食餌条件の違いが Coleus forskohlii エキスによるマウス肝薬物代謝酵素誘導に与える影響、第 59 回日本栄養改善学会学術総会、2012 年 9 月 13 日

千葉剛、横谷馨倫、山崎優子、志村二三夫、村田容常、梅垣敬三、コレウス・フォルスコリによるマウス肝脂肪変性の機序の解明、第 66 回日本栄養・食糧学会、2012 年 5 月 20 日

横谷馨倫、瀧優子、山崎優子、志村二三夫、村田容常、千葉剛、梅垣敬三、コレウス・フォルスコリはマウス肝脂肪変性を誘発する」第 66 回日本栄養・食糧学会大会、

2012年5月20日

横谷馨倫、瀧優子、篠塚和正、山田静雄、村田容常、千葉剛、梅垣敬三、肝薬物代謝酵素誘導を介した *Coleus forskohlii* エキスとワルファリンの相互作用の検証、日本薬学会第132年会、2012年3月31日

横谷馨倫、瀧優子、佐藤陽子、中西朋子、千葉剛、梅垣敬三、*Coleus forskohlii* エキスのマウス肝薬物代謝酵素誘導成分の検索、第58回日本栄養改善学会学術総会、2011年9月9日

横谷馨倫、瀧優子、山崎優子、志村二三夫、篠塚和正、山田静雄、村田容常、鈴木佳織、梅垣敬三、ダイエット関連ハーブ *Coleus forskohlii* のマウス肝臓薬物代謝酵素系に対する影響とその投与条件、第65回日本栄養・食糧学会大会、2011年5月14日

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

梅垣 敬三 (UMEGAKI Keizo)

独立行政法人国立健康・栄養研究所・情報センター長

研究者番号： 60191920

### (2) 研究分担者

なし