

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24500987

研究課題名(和文) 地場野菜の生活習慣病予防効果の解明と地域産業の活性化への応用

研究課題名(英文) Elucidation of lifestyle-related disease prevention effect of local vegetables and its application to the activation of local industry

研究代表者

湯浅 明子(小島明子)(Kojima-Yuasa, Akiko)

大阪市立大学・大学院生活科学研究科・准教授

研究者番号：90295709

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：大阪の農業と食文化を支えてきた歴史や伝統を持つ大阪独特の野菜である「なにわ伝統野菜」の生理作用として生活習慣病の予防効果についての科学的知見を明らかにし、「なにわ伝統野菜」を大阪の地場野菜として地域農業の活性化に寄与することを目的として、「なにわ伝統野菜」の1つである玉造黒門越瓜抽出物による生活習慣病の予防効果とその作用メカニズムについての総括的な研究を行った。その結果、玉造黒門越瓜抽出物は、アルコール性肝疾患の予防効果、抗肥満効果および皮膚の創傷治癒促進効果を有すること、さらにこれらの効果は一般の白瓜には認められなかったことから、玉造黒門越瓜に特異的な作用であることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：To clarify the scientific knowledge about the preventive effect of lifestyle-related diseases by local traditional vegetables in Osaka, Japan, we examined the effect of an extract of Tamatsukurikuromon-shirouri (TS), a Japanese pickling melon (*Cucumis Melo* var. *Conomon*), on ethanol-induced liver injury, obesity and skin wound healing. As a result, the extract of TS had an ability of prevent of ethanol-induced liver injury and obesity. The extract of TS had also the promotive activity of skin wound healing. However, the extract of Shirouri, a popular pickled melon had no effect.

研究分野：病態栄養学

キーワード：健康と食生活 生活習慣病 食品成分 アルコール性肝疾患 肥満 創傷治癒 なにわ伝統野菜

1. 研究開始当初の背景

本研究は、大阪の農業と食文化を支えてきた歴史や伝統を持つ大阪独特の野菜である「なにわ伝統野菜」の生理作用として生活習慣病の予防効果についての科学的知見を明らかにし、「なにわ伝統野菜」を大阪の地場野菜として、地域農業の活性化に寄与し、栄養学の分野における新たな役割として、生産者と消費者を結びつける手段を構築することを目的としている。

「なにわ伝統野菜」とは、古くから食文化の中心であった大阪の地で、大阪の農業と食文化を支えてきた歴史や伝統を持つ大阪独特の野菜であり、味覚・栄養・調理・農法において優位性のある品種として育種、伝承されてきたが、高度経済成長時代の大量生産・大量消費の波に呑みこまれて影を薄くしていた。しかし、近年、食文化の多様化と地域活性化の機運と、「なにわ伝統野菜」の優位性を再評価・再注目され、大阪の地場野菜として広く認識し、地域の活性化の手段として復活させようとの草の根的な運動が巻き起こっている。これに対して、大阪市、大阪府や関係団体も連携して行政的な振興策が打ち出されているが、さらなる普及・振興するためには、行政的支援策だけでは不十分であるため、産業構造として構築する必要がある。その構築に向けて現在行われている活動には、味覚・調理については、(財)大阪市農業センター、大阪商工会議所等がサポートして食品加工業・料理人への普及・啓発を進めている。また、農法については、農業のあり方を問われている時期にあって、農業経営改革を進めている(株)禾の人が「なにわ伝統野菜」の農産業としての確立を模索している。しかしながら、栄養については、最新の科学技術レベルでの評価はいまだなされていないのが現状である。

一般に、野菜や果物はガン予防に有効であることがすでに報告されている。しかしながら、わが国における野菜の消費量は経年的に減少している(平成22年度食糧需給表)。「健康日本21」では成人1日あたりの野菜摂取量の目標値を350g以上としているが、現状では295.3g(平成21年国民健康栄養調査)といまだ目標は達成されていない。

申請者の研究室では、生活習慣病(肝疾患、ガン、肥満など)の予防効果やアンチエイジング効果についての栄養機能科学的な独自の評価系を確立し、長年にわたって食品成分による生活習慣病の予防効果とそのメカニズムについて研究をおこなっている。

2. 研究の目的

「なにわ伝統野菜」の栄養についての科学的知見を明らかにすることによって、「なにわ伝統野菜」の普及とともに大阪の活性化に寄与し、栄養学の分野における新たな役割と

して、生産者と消費者を結びつける手段を構築することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 「なにわ伝統野菜」による生活習慣病の予防効果

アルコール性肝疾患の予防効果について
分離肝細胞による *in vitro* アルコール性肝炎モデルおよび実験動物を用いた *in vivo* アルコール性肝疾患モデルを用いて、「なにわ伝統野菜」によるアルコール性肝疾患の予防効果を検討する。

抗肥満効果について
3T3-L1 前駆脂肪細胞による *in vitro* 肥満モデルを用いて、「なにわ伝統野菜」による抗肥満効果を検討する。

皮膚の創傷治癒促進効果について
ヒト皮膚由来上皮細胞(角化細胞)の遊走能およびヒト皮膚線維芽細胞のコラーゲン産生能について、「なにわ伝統野菜」による皮膚の創傷治癒促進効果を *in vitro* 実験系を用いて検討する。

(2) 「なにわ伝統野菜」の普及のための地域活性化

「なにわ伝統野菜」の優位性を再評価することによって、消費の増大をうながすとともに、その需要を満たすために生産量を確保する体制を整備することによって、研究成果の社会還元を目指す。

4. 研究成果

(1) 「なにわ伝統野菜」による生活習慣病の予防効果

アルコール性肝疾患の予防効果について
「なにわ伝統野菜」の1つである玉造黒門越瓜抽出物(ETS)によるアルコール性肝疾患の予防効果とそのメカニズムについて、*in vitro* 実験系および *in vivo* 実験系を用いて検討した。同時に、他県産の白瓜抽出物(ES)を用いて、これらの効果について比較した。



玉造黒門越瓜

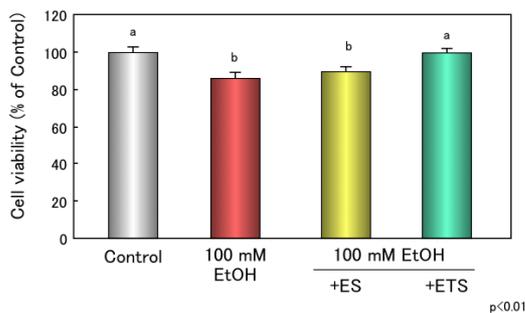


他県産の白瓜

分離肝細胞にエタノールを添加して培養すると、肝細胞の生存率がエタノールの添加

濃度に依存して顕著に低下する。大量飲酒者の血中エタノール濃度は 100~200 mM であると報告されていることから、100 mM エタノール濃度で培養するシステムを *in vitro* アルコール性肝炎モデルとして用いることができる。

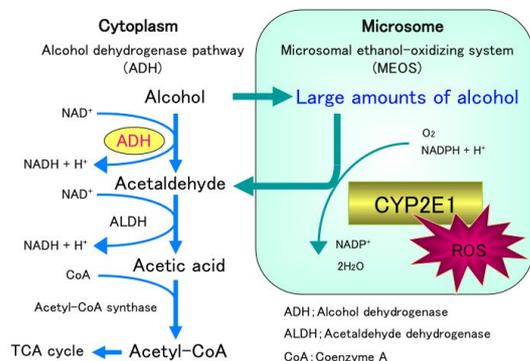
そこで、*in vitro* アルコール性肝炎モデルを用いて、玉造黒門越瓜抽出物による細胞傷害の予防効果を調べたところ、玉造黒門越瓜抽出物は、エタノールによって有意に低下した細胞生存率をコントロールレベルにまで回復したことから、玉造黒門越瓜抽出物はアルコール性肝炎の予防効果を有することが明らかとなった。また、その効果は他県産の白瓜抽出物には認められなかった。



エタノールによって低下した肝細胞の生存率におよぼす玉造黒門越瓜抽出物 (ETS) または白瓜抽出物 (ES) の影響

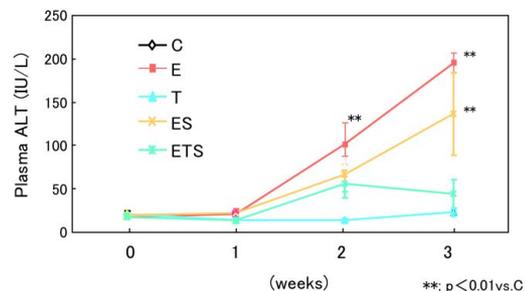
さらに、アルコール性肝炎の予防メカニズムについて検討したところ、玉造黒門越瓜抽出物は、大量のエタノールを代謝する際に生じる細胞内活性酸素種の産生量を著しく低下させたことから、酸化ストレスによる細胞傷害を抑制することが示唆された。

そこで、アルコール代謝経路(下図)に着目したところ、玉造黒門越瓜抽出物は、アルコール脱水素酵素 (ADH) の発現を亢進させる一方で、活性酸素種を産生する Cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) の発現を抑制させることが示唆された。



次に、細胞レベルでの効果を動物レベルで確認するために、実験動物を用いた *in vivo* アルコール性肝疾患モデルを用いて、玉造黒門越瓜抽出物によるアルコール性肝疾患の予防効果について検討した。

In vivo アルコール性肝疾患モデル動物は、ラットに 5%EtOH を自由摂取させ、低濃度の四塩化炭素 (0.1 ml/kg 体重) を週 2 回、腹腔内投与することによって作製した。標準飼料に玉造黒門越瓜抽出物または他県産の白瓜抽出物を添加して、3 週間飼育した。肝障害の指標として血漿中の逸脱酵素 (AST、ALT) 活性を測定し、肝組織の病理染色を行った。その結果、*in vivo* アルコール性肝疾患モデル動物の逸脱酵素活性は有意に亢進したが、玉造黒門越瓜抽出物を摂取させることによって、酵素活性はコントロールレベルにまで低下した(下図)。また、アルコール性肝疾患モデル動物の肝病理組織は肝線維化を発症していたが、玉造黒門越瓜抽出物を摂取させた場合には、肝障害が認められなかった。しかしながら、他県産の白瓜抽出物を摂取させた場合には、アルコール性肝疾患を抑制する効果は認められなかった。



血漿 ALT 活性におよぼす玉造黒門越瓜抽出物 (ETS) または白瓜抽出物 (ES) の影響

以上の結果から、「なにわ伝統野菜」の1つである玉造黒門越瓜抽出物は、細胞レベルのみならず動物レベルでもアルコール性肝疾患の予防効果を示したことから、健康長寿を目指すことができる食生活に積極的に取り入れることができることが示唆された。また、この効果は「なにわ伝統野菜」特異的であることが明らかになった。

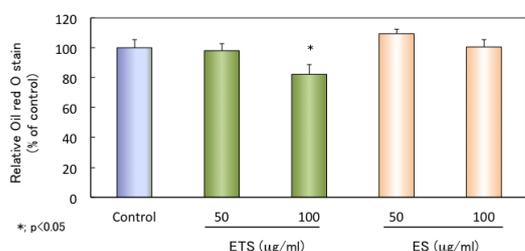
抗肥満効果について

In vitro 肥満モデルとして使用される 3T3-L1 前駆脂肪細胞を用いて、玉造黒門越瓜抽出物の抗肥満効果について検討したところ、玉造黒門越瓜抽出物は、細胞内脂肪蓄積量、脂肪合成の律速酵素である GPDH 活性およびそれらの発現に関する転写因子 (PPAR γ , C/EBP α) を添加濃度に依存して有意に抑制したことから、玉造黒門越瓜抽出物は、脂肪細胞への分化を転写因子のレベルで制御し、抗

肥満効果を発揮することが見出された。一方、これらの効果は一般の白瓜には認められなかったことから、玉造黒門越瓜に特異的な作用であることが明らかとなった。

次に、玉造黒門越瓜抽出物に含まれる成分による抗肥満効果について、一般の白瓜抽出物と比較して玉造黒門越瓜抽出物に多く含まれる成分であるDL-pyroglutamic acid、Uridine、L-threonic acid hemicalcium saltを用いて抗肥満効果について検討したところ、これらの成分を単独に添加しても抗肥満効果は認められなかった。

以上の結果から、玉造黒門越瓜抽出物は抗肥満効果を有すること、また、その作用は玉造黒門越瓜抽出物に含まれる成分の相加/相乗効果によるものであることが明らかとなった。



3T3-L1 前駆脂肪細胞の脂肪蓄積におよぼす玉造黒門越瓜抽出物 (ETS) または白瓜抽出物 (ES) の影響

皮膚の創傷治癒促進効果について

皮膚の創傷治癒効果は、真皮に存在する線維芽細胞のコラーゲン産生能亢進と表皮を構成する上皮細胞(角化細胞)の遊走能によって、決定づけられる。そこで、「なにわ伝統野菜」の1つである玉造黒門越瓜の新しい生理作用として、ヒト皮膚角化細胞の遊走能およびヒト皮膚線維芽細胞のコラーゲン産生能について、玉造黒門越瓜抽出物による皮膚の創傷治癒促進効果を検討したところ、玉造黒門越瓜抽出物は皮膚の創傷治癒促進効果を有することが明らかとなった。

(2) 「なにわ伝統野菜」の普及のための地域活性化

本研究での研究成果の社会還元として、大阪市東成区花と緑のまちづくり推進事業において、区民に対して講演を行なうなど、玉造黒門越瓜の普及に協力することができた。さらに、今後、新たに本研究成果をもとにして、(地独)大阪府立環境農林水産総合研究所食の安全研究部食品技術グループとの連携を行なっていく予定である。

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4件)

1. Kato, R., Matsui-Yuasa, I., Azuma, H. and Kojima-Yuasa, A.: The synergistic effect of 1'-acetoxychavicol acetate and sodium butyrate on the death of human hepatocellular carcinoma cells. *Chemico-Biological Interactions*, 212, 1-10 (2014). (査読有り)
2. Tamura, A., Sasaki, M., Yamashita, H., Matsui-Yuasa, I., Saku, T., Hikima, T., Tabuchi, M., Munakata, H. and Kojima-Yuasa, A.: Yerba-Mate (*Ilex paraguariensis*) extract prevents ethanol-induced liver injury in rats. *Journal of Functional Foods*, 5, 1714-1723 (2013). (査読有り)
3. Kobayashi, M., Matsui-Yuasa, I., Fukuda-Shimizu, M., Mandai, Y., Tabuchi, M., Munakata, H. and Kojima-Yuasa, A.: Effect of mango seed kernel extract on the adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes and in rats fed a high fat diet. *Health*, 5, 9-15 (2013). (査読有り)
4. Kojima-Yuasa, A., Deguchi, Y., Konishi, Y. and Matsui-Yuasa, I.: Effect of 1,5-anhydro-D-fructose on the inhibition of adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes. *Natural Product Communications*, 7, 1501-1506 (2012). (査読有り)

〔学会発表〕(計11件)

1. Kojima-Yuasa, A., Tamura, A., Saku, T., Hikima, T. and Matsui-Yuasa, I.: Protective effect of Yerba-Mate (*Ilex paraguariensis*) extract against ethanol-induced liver injury in rats. VI South American Congress of Mate and II International Symposium of Yerba Mate and Health, (2014年5月8-10日, Montevideo, Uruguay).
2. Kojima-Yuasa, A., Ohnishi, R., Deguchi, Y., Yaku, K., Tabuchi, M., Munakata, H. and Matsui-Yuasa, I.: 1'-Acetoxychavicol acetate inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes and in high fat-fed rats. Experimental Biology 2014, (2014年4月26-30日, San Diego, USA).
3. Matsui-Yuasa, I., Kato, R., Azuma, H. and Kojima-Yuasa, A.: The synergistic effect of 1'-acetoxychavicol acetate and sodium butyrate on the death of human hepatocellular carcinoma cells. Experimental Biology 2014, (2014年4月26-30日, San Diego, USA).
4. Kojima-Yuasa, A., Hirauchi, E., Tamura, A. and Matsui-Yuasa, I.: Extract of a Japanese pickling melon prevents ethanol-induced liver injury in rats. IUNS 20th International Congress of nutrition, (2013年9月15-20日, Granada, Spain).
5. Kojima-Yuasa, A., Tamura, A., Sasaki, M.,

- Yamashita, H., Saku, T., Hikima, T., Tabuchi, M., Munakata, H. and Matsui-Yuasa, I.: Yerba-Mate (*Ilex paraguariensis*) extract prevents the liver against ethanol-induced liver injury in rats. *Experimental Biology* 2013, (2013年4月20-24日, Boston, USA).
6. Yamashita, H., Tamura, A., Sasaki, M., Matsui-Yuasa, I., Terada, M. and Kojima-Yuasa, A.: Protective effect of *Ecklonia cava* polyphenol against ethanol-induced liver injury in rat hepatocytes. *Experimental Biology* 2013, (2013年4月20-24日, Boston, USA).
 7. 長江英世, 黄 雪丹, 白畑辰弥, 小林義典, 湯浅 勲, 湯浅(小島)明子: 甘苦茶抽出物のアルコール性肝細胞傷害に対する予防効果について, 第68回日本栄養・食糧学会大会, (2014年5月30日-6月1日, 北海道, 札幌市).
 8. 山本富矢, 夜久圭介, 山下美咲, 湯浅(小島)明子, 湯浅 勲: 1'-Acetoxychavicol acetateによるプロテアソーム活性の亢進作用メカニズムについて, 第68回日本栄養・食糧学会大会, (2014年5月30日-6月1日, 北海道, 札幌市).
 9. 細川裕介, 黄 雪丹, 白畑辰弥, 小林義典, 湯浅 勲, 湯浅(小島)明子: 甘苦茶抽出物による抗肥満効果について, 第68回日本栄養・食糧学会大会, (2014年5月30日-6月1日, 北海道, 札幌市).
 10. 前田朋美, 湯浅 勲, 湯浅(小島)明子: 玉造黒門越瓜抽出物による皮膚の創傷治癒効果について, 第86回日本生化学会大会, (2013年9月11-13日, 神奈川県, 横浜市).
 11. 田村彰子, 湯浅 勲, 佐久太郎, 引間忠正, 田淵正樹, 赤星保光, 湯浅(小島)明子: マテ茶によるアルコール性肝疾患の予防効果について, 第66回日本栄養・食糧学会大会, (2013年5月18-20日, 宮城県, 仙台市).

〔図書〕(計1件)

1. 湯浅(小島)明子: マテ茶の生理作用, 山地亮一監修『女性の疾患と美容のための機能性素材の開発』. pp.212-221, シーエムシー出版 (2014).

〔産業財産権〕

出願状況 (計1件)

名称: 脂肪細胞分化の抑制用、脂肪細胞の脂肪蓄積量低減用および/または脂肪細胞のアディポネクチン分泌促進用組成物
発明者: 小島明子、湯浅勲、清本邦夫、大村文乃
権利者: 公立大学法人大阪市立大学、清本鐵工株式会社
種類: 特許

番号: 特願 2013-142011

出願年月日: 平成 25 年 7 月 5 日

国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

湯浅 明子 (小島 明子) (Kojima-Yuasa Akiko)

大阪市立大学・大学院生活科学研究科・准教授

研究者番号: 90295709