

平成 30 年 6 月 6 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K00883

研究課題名(和文) コーヒー摂取による生活習慣病予防効果の分子基盤の解明

研究課題名(英文) Investigation of molecular basis of preventive effects of coffee consumption on lifestyle-related diseases.

研究代表者

田村 悦臣 (TAMURA, Hiroomi)

慶應義塾大学・薬学部(芝共立)・教授

研究者番号：50201629

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：習慣的なコーヒー摂取が、肥満や炎症に関連して生じる生活習慣病の発症リスクを低下させる可能性が報告されている。我々は、前駆脂肪細胞3T3-L1を用いて、コーヒー豆焙煎成分がインスリンシグナル経路のアダプター分子IRS1の分解を促進することにより、肥満の要因である脂肪細胞の分化を抑制することを見出した。また、コーヒーの抗炎症効果に関して、コーヒー豆焙煎成分がLPS誘発マウスマクロファージ細胞の炎症反応を抑制することを見出し、その効果は、Keap1の不活性化による転写因子Nrf2の活性化によることを見出した。以上の結果は、コーヒーの喫飲による生活習慣病予防効果の分子論的解明につながる。

研究成果の概要(英文)：It has been reported that habitual coffee intake reduces the risk of developing lifestyle-related diseases associated with obesity and inflammation. We found that the coffee bean roasting ingredient suppresses the differentiation of adipocytes, a risk factor of obesity, by promoting the degradation of the adapter molecule IRS1 of the insulin signaling pathway, using the preadipocyte 3T3-L1. Regarding the anti-inflammatory effect of coffee, we found that the coffee bean roasting ingredient suppresses the inflammatory response of LPS-induced mouse macrophage cells, and the effect was due to the activation of the transcription factor Nrf2 by promoting the degradation of Keap1. The above results lead to the elucidation of the effect of prevention of lifestyle diseases caused by drinking of coffee on the molecular bases.

研究分野：食品衛生化学

キーワード：コーヒー 生活習慣病 予防薬学 糖尿病 抗炎症

1. 研究開始当初の背景

肥満、動脈硬化や糖尿病、高血圧などの生活習慣病の予防は、国民の健康にとって大きな課題である。一方、食生活は生活習慣病の発症リスクや予防に大きな影響をあたえるが、近年、コーヒーの習慣的な摂取が、がんや糖尿病をはじめ、様々な生活習慣病を予防効果があるとする疫学的調査研究が多数報告されてきている。

2. 研究の目的

しかしながら、その効果の分子論的な解析は十分に行われていない。そこで、コーヒー成分の生活習慣病予防効果を分子論的に解明するため、生活習慣病の大きなリスク要因である肥満と炎症に着目し、コーヒーの抗肥満、抗炎症効果を分子論的に解析することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 抗肥満効果の解析

マウス脂肪細胞前駆細胞 3T3-L1 に、コーヒー豆抽出液を添加後、分化誘導剤 (IBMX, Dexamethasone, Insulin) を加え培養した。細胞溶解液を作製し、イムノプロット法により、IRS1 の発現を検討した。RT-qPCR を行い、IRS1 mRNA の発現量を検討した。3T3-L1 細胞をプロテアソーム阻害剤 MG132 で前処理後、コーヒー豆抽出液および分化誘導剤を添加し、コーヒー豆抽出液による IRS1 の発現低下におけるプロテアソームの関与を検討した。

(2) 抗炎症効果の解析

マウスマクロファージ様細胞 RAW264.7 に、コーヒー豆抽出液あるいはコーヒー含有成分 (カフェイン、クロロゲン酸、カフェ酸、ピロカテコール) を添加後、LPS で刺激した。一酸化窒素 (NO) 産生量をグリース試薬を用いて測定し、CCL2 産生量を ELISA により測定した。細胞溶解液を作製し、イムノプロット法により、Nrf2 の発現を検討した。さらに、Nrf2 の活性化に重要な役割を果たすことが知られている Keap1 のシステイン残基 (C151, C273, C288) を置換した変異体を発現した Keap1<sup>-/-</sup> MEF を用いて、コーヒー含有成分による Nrf2 の活性化機構を解析した。

4. 研究成果

(1) コーヒーの抗肥満効果の分子機構の解明

多くの疫学調査により、習慣的なコーヒー摂取が、肥満や糖尿病に関連して生じる生活習慣病の発症リスクを低下させる可能性が報告されている。我々は、マウス前駆肥満細胞 3T3-L1 を用いて、コーヒー豆抽出液が脂肪細胞への分化誘導を抑制することを見出した。この抑制効果を、さらに解析した結果、コーヒー成分が、インスリンシグナル経路を阻害すること、さらに、インスリンシグナル経路の重要なアダプター分子である IRS1 タ

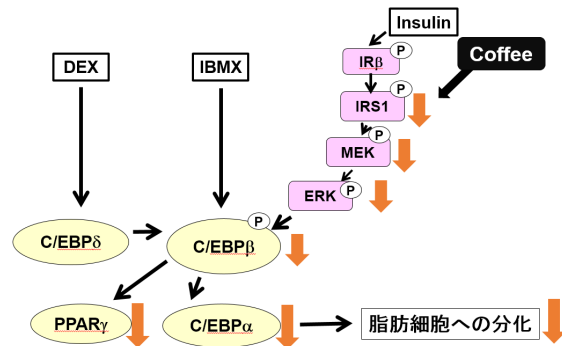
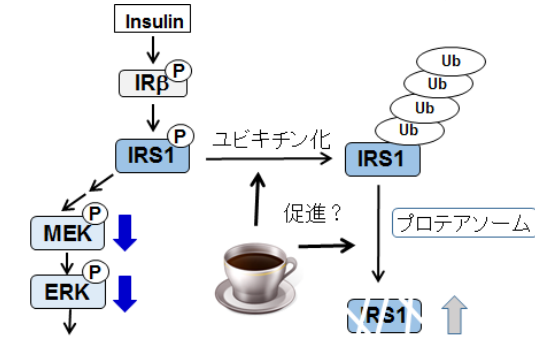


図1 コーヒーによる脂肪細胞分化抑制メカニズム

ンパク質の発現を低下させることを見出した (図1)。さらに詳細に解析した結果、コーヒーの焙煎成分が、ユビキチンプロテアソーム系による IRS1 分子の分解を促進していることが明らかとなった (図2)。今後は、コーヒー豆抽出液による IRS1 の分解促進の分子機構および成分の同定を進める。



脂肪細胞分化誘導

図2 コーヒーによるIRS1分解促進

さらに、マウスに飲料として60%コーヒーを7週間摂取させたところ、体重の減少とともに、脂肪組織における脂肪重量の減少が確認された。また、同時に、脂肪組織における IRS1 分子の発現量の低下が確認された。以上の結果は、培養細胞で起きているコーヒーの効果は、動物レベルでも起こっていることを示唆する。

(2) コーヒー成分による敗血症に対する症状改善の分子メカニズムの解明

敗血症では、病原体成分である LPS により活性化されたマクロファージにより、炎症性メディエーターが過剰に産生されることが知られている。この LPS によるマクロファージの活性化に対し、コーヒー豆抽出液がどのような影響を与えるかを検討した。その結果、コーヒーは LPS 刺激によるマクロファージからの炎症性メディエーターの産生を抑制することが明らかとなった。この効果は、コーヒー豆成分が LPS によって誘導される転写因子 NF-κB のリン酸化および核移行を抑制することによることが明らかとなった (図3)。

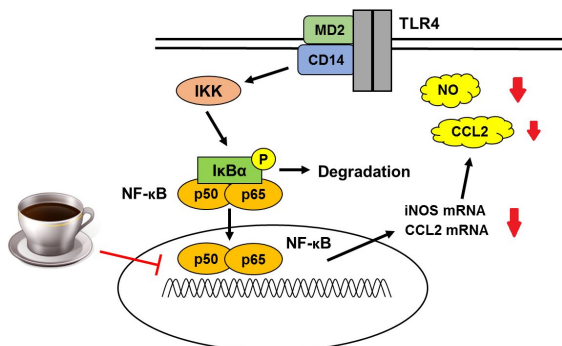


図3 コーヒーによるNF-κB活性の抑制メカニズム

さらに解析を進めた結果、この抑制効果は、コーヒー豆焙煎成分による転写因子 Nrf2 の活性化によること、また、この活性化には Nrf2 の抑制因子 Keap1 の 151 番のシステインが関与することが示唆された(図4)。

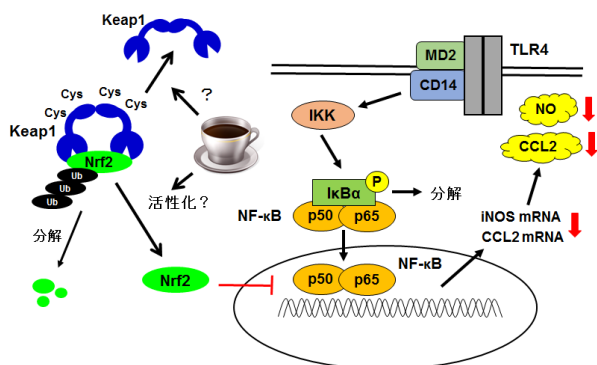


図4 コーヒーによるNrf2を介するNF-κB抑制効果(仮説)

さらに活性成分の分離を試みた結果、コーヒー豆抽出液中の抗炎症活性は酢酸エチルで抽出されるカテコール類であることが示唆された(図5)。

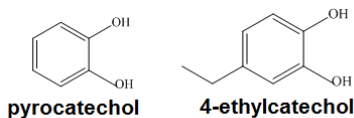


図5 抗炎症活性を示すカテコール類

### 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8件)

Nakazawa Y, Nagai N, Ishimori N, Oguchi J, Tamura H. Administration of antioxidant compounds affects the lens chaperone activity and prevents the onset of cataracts. *Biomed Pharmacother.* 2017 Aug 21;95:137-143. 査読有  
Doi:10.1016/j.biopha.2017.08.055.

Chihiro Maki, Megumi Funakoshi-Tago, Ryohei Aoyagi, Fumihito Ueda, Masaki Kimura, Kenji Kobata, Henji Tago and Hiroomi Tamura. Coffee extract inhibits adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes by interrupting insulin signaling through the downregulation of IRS1. *PLoS ONE*

12(3):e0173264.(2017) 査読有

doi:10.1371/journal.pone.0173264(2017)

Takuya Nakayama, Megumi Funakoshi-Tago and Hiroomi Tamura. Coffee reduces KRAS expression in Caco-2 human colon carcinoma cells via regulation of miRNAs. *Oncology Letters*, 14(1), 1109-1114 (2017)

Doi:10.3892/ol.2017.6227. 査読有

Nana Ishimori, Jun Oguchi, Yosuke Nakazawa, Kenji Kobata, Megumi Funakoshi-Tago and Hiroomi Tamura. Roasting enhances the anti-cataract effect of coffee beans: ameliorating selenite-induced cataracts in rats. *Current Eye Research*, 42(6), 864-870 (2017) doi:10.1080/02713683.2016.1262877 査読有

Kunitugu Takahashi, Megumi Funakoshi-Tago, Marie Takaoka, Shota Kakio, Kenji Kobata, and Hiroomi Tamura. Roasted coffee induces aldo-keto reductase 1C3 (AKR1C3) expression in human prostate cancer LNCaP cells associated with Nrf2 activation. *Oncology Letters*, 12, 5321-5326 (2016) 査読有  
doi: 10.3892/ol.2016.5334

Shota Kakio, Megumi Funakoshi-Tago, Kenji Kobata and Hiroomi Tamura. Coffee induces vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Nutritional Neuroscience*, 20, 336-342 (2016) doi:10.1080/1028415X.2015.1133106 査読有

Shota Kakio, Yosuke Nakazawa, Megumi Funakoshi-Tago and Hiroomi Tamura. Coffee modulates the function of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Neuroscience & Medicine*, 6(4), 165-174 (2015) 査読有

Funakoshi-Tago M, Okamoto K, Izumi R, Tago K, Yanagisawa K, Narukawa Y, Kiuchi F, Kasahara T, Tamura H. Anti-inflammatory activity of flavonoids in Nepalese propolis is attributed to inhibition of the IL-33 signaling pathway. *Int. Immunopharmacol.* 25(1)189-198 (2015) 査読有

[学会発表](計18件)

日本薬学会 第138回(金沢)2018.3.28  
コーヒーによる肥満誘導白内障予防効果の検討

○鈴木正太、中澤洋介、福山和也、石森奈奈、小口潤、森揮、多胡めぐみ、田村悦臣

日本認知症予防学会・学術集会(東京)2018.2.26 コーヒーによる認知症予防効果の分子基盤の解析・田村悦臣(招待講演)

第61回 日本薬学会関東支部大会(慶應)

義塾大学) 2017.9.16  
MCF-7 細胞におけるエストロゲン受容体の発現に対するコーヒーの影響  
○李 琛、多胡めぐみ、中澤 洋介、田村悦臣  
平成 29 年度日本生化学会関東支部例会 (東京医科歯科大学) 2017. 6.17  
抗炎症作用を示すコーヒー含有成分の同定及びその作用機序の解析  
○松高 菜里、並木 淳裕、古旗 賢二、多胡めぐみ、田村悦臣  
第 89 回日本生化学会大会 (仙台) 2016.9.25  
コーヒー成分によるヒト神経芽細胞腫における -セクレターゼ発現の抑制効果  
○福山和也、垣尾将大、古旗賢二、鈴木利治、多胡めぐみ、田村悦臣  
第 60 回 日本薬学会関東支部大会 (東京大学) 2016.9.17  
抗炎症作用を示すコーヒー含有成分の解析  
○松高菜里、上田史仁、古旗賢二、中澤洋介、多胡めぐみ、田村悦臣  
第 60 回 日本薬学会関東支部大会 (東京大学) 2016.9.17  
白内障抑制効果をもつコーヒー成分の解析  
○小口潤、石森奈奈、中澤洋介、多胡めぐみ、田村悦臣  
第 55 回日本白内障学会総会/第 42 回水晶体研究会. 2016. 7. 31 コーヒーによる白内障抑制効果の検討. 田村悦臣、中澤洋介、石森奈奈、小口潤、多胡めぐみ.  
日本薬学会 第 136 回 (横浜) 2016.3.29 (ポスター)  
コーヒー豆抽出液が示す抗炎症作用の検討  
○谷尾真由美、野中勇佑、武田 峰佳、八木利恭、古旗 賢二、多胡 憲治、多胡めぐみ、田村悦臣  
日本薬学会 第 136 回 (横浜) 2016.3.29 (ポスター)  
コーヒーによる白内障抑制効果の検討  
○石森奈奈、中澤洋介、多胡めぐみ、岡美佳子、竹鼻眞、田村悦臣  
BMB2015 (第 38 回日本分子生物学会年会、第 88 回日本生化学会大会) 2015.12.2 神戸  
ヒト結腸がん細胞の K-ras 発現に対するコーヒーの影響. 中山 拓哉, 八木 利恭, 多胡めぐみ, 田村悦臣.  
BMB2015 (第 38 回日本分子生物学会年会、第 88 回日本生化学会大会 合同大会) 2015.12. 1  
ヒト神経芽細胞種 SH-SY5Y における血管内皮増殖因子 VEGF 発現に対するコーヒーの影響  
○垣尾翔大、古旗賢二、多胡-船越めぐみ、田村悦臣  
田村悦臣. コーヒーによる認知症予防効果の分子基盤の解析. 第 5 回日本認知症予防学会学術集会. 2015.9.27. 神戸 (招待講演)  
垣尾翔大、榎崇一郎、古旗賢二、多胡めぐみ、田村悦臣. SH-SY5Y 細胞における血管内皮増殖因子 VEGF の発現に対するコーヒーの

影響. 第 5 回日本認知症予防学会学術集会. 2015.9.25. 神戸 .  
福山和也、垣尾翔大、榎崇一郎、古旗賢二、鈴木利治、多胡めぐみ、田村悦臣. コーヒーはヒト神経細胞腫 SH-SY5Y における BACE1 の発現を抑制する. 第 5 回日本認知症予防学会学術集会. 2015.9.25. 神戸 .  
Kazuya Fukuyama, Shota Kakio, Soichiro Enoki, Kenji Kobata, Megumi Fubakoshi-Tago, Toshiharu Suzzuki, Hiroomi Tamura. Coffee reduces BACE1 expression in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. 第 58 回日本神経化学会 (大宮) 大会. 2015.9.13. 大宮 .  
Shota Kakio, Soichiro Enoki, Kenji Kobata, Megumi Fubakoshi-Tago, Hiroomi Tamura. Effects of coffee on vascular endothelial growth factor expression in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. 第 58 回日本神経化学会 (大宮) 大会. 2015.9.12. 大宮 .  
Shota Kakio, Katsunori Takahashi, Megumi Tago, Hiroomi Tamura. Effects of coffee on BDNF activity in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. 25th Meetings of International Society for Neurochemistry, 2015.8.25, Cairns, Australia.  
〔図書〕(計 2 件)  
H. Tamura, Dexamethasone Suppresses Neurosteroid Biosynthesis in Human Glial Cells via Cross-Talk with Vitamins A and D. *Horizons in Neuroscience Research*. Volume 24 (Andres Costa and Eugenio Villalba, eds.), Chapter 8, pp. 137-148. Nova Science Publishers (2016)  
ISBN: 978-1-63484-326-3  
H. Tamura, Effects of Coffee on Estrogen Sulfation in Human Colon Carcinoma Caco-2 Cells. *Coffee in Health and Disease Prevention* (ed. V. Preedy) Chapter 61, pp. 545-552, Academic Press, Oxford (2015)  
〔産業財産権〕  
出願状況 (計 0 件)  
名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
出願年月日 :  
国内外の別 :  
取得状況 (計 0 件)  
名称 :  
発明者 :

権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等  
<http://www.pha.keio.ac.jp/research/hc/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

田村 悦臣 (TAMURA, Hiroomi)  
慶應義塾大学・薬学部・教授  
研究者番号：50201629

### (2) 研究分担者

多胡 めぐみ (TAGO, Megumi)  
慶應義塾大学・薬学部・准教授  
研究者番号：30445192

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

### (4) 研究協力者

( )