

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K11109

研究課題名(和文) タンパク質分解系を介したコーヒー成分による生活習慣病予防の分子メカニズムの解析

研究課題名(英文) Molecular analysis of preventive effects of coffee constituents on life-style-related diseases via protein degradations.

研究代表者

田村 悦臣 (Tamura, Hiroomi)

慶應義塾大学・薬学部(芝共立)・名誉教授

研究者番号：50201629

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：コーヒーの生活習慣病の予防効果を分子論的に解明することを目的として研究を遂行した。糖尿病や発がんのリスク要因である抗炎症効果について、コーヒー豆の焙煎成分であるカテコール類が炎症反応のシグナル伝達系を抑えるとともに、生体防御遺伝子群の活性化を引き起こすことを見出した。また、焙煎成分ピロカテコールが認知症の原因物質の1つであるアミロイドの産生にかかわる分解酵素(セクレターゼ)の発現を抑制することを見出した。さらに動物モデルにおいても、海馬で同様の効果があることを明らかにした。以上の結果は、コーヒー豆の焙煎成分が、糖尿病やがん、認知症などの生活習慣病を予防する可能性があることを示唆する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

コーヒーの生活習慣病予防効果を分子論的に解明することは、高齢化社会における国民の保健にとって重要である。糖尿病や発がんの大きなリスク要因の1つである炎症反応や認知症に対する予防効果を解析することは特に重要である。本研究では、抗炎症反応および認知症予防効果について、コーヒー豆の焙煎成分のカテコール類が有効であること、さらには、コーヒー焙煎成分の習慣的摂取動物モデルにおいても抗炎症作用および抗認知症効果が得られることを示した。この結果は、焙煎コーヒーの習慣的喫飲が生活習慣病を予防する可能性があることを分子レベルで明らかにした点で意義がある。

研究成果の概要(英文)：We have researched to elucidate the preventive effects of coffee consumption on lifestyle-related diseases in molecular bases. Regarding the anti-inflammatory effect, which is a risk factor for diabetes and carcinogenesis, we found that catechols, which are emerged during roasting process of coffee beans, suppress the signal transduction of inflammatory reaction and induce activation of genes for biological defense systems. We also found that the roasting component pyrocatechol suppresses the proteolytic enzyme (-secretase) involved in the production of amyloid, which is one of the causative substances of dementia. Furthermore, the effect was observed in the hippocampus of the animal model. These above results suggest that the catechols of roasted coffee beans may prevent lifestyle-related diseases such as diabetes, cancers and dementia.

研究分野：衛生化学

キーワード：コーヒー 生活習慣病 抗炎症 認知症 BACE1 アミロイド カテコール Nrf2

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生活習慣病の予防は、高齢化社会における QOL を向上させるだけでなく、国の医療費抑制に対しても大きく貢献するものである。コーヒーは世界で広く愛飲されている飲料であり、特に、近年、1日3~5杯のコーヒーの習慣的喫飲が多くの生活習慣病を予防する効果があることが報告されている。しかしながら、その分子メカニズムについては不明な点が多い。コーヒーの喫飲による生活習慣病予防効果の分子基盤を確立するために、我々は、これまでに、肥満、認知症、がん、炎症、白内障など様々な生活習慣病に対するコーヒーの効果をも、分子レベルで明らかにすることを目的として研究を進めてきた。その結果、抗肥満効果はインスリン受容体のアダプター因子 IRS1 の分解促進、抗炎症効果は Keap1 分子の分解促進、認知症予防効果は -セクレターゼ (BACE1) の分解促進など、コーヒー成分によるタンパク質分解系の活性化が引き金になっていることが明らかになった。

2. 研究の目的

上記の背景のもと、抗炎症効果を示すコーヒー成分の同定と抑制効果の分子メカニズムの解析、さらに、炎症モデル動物に対する効果とその解析を目指す。また、高齢化社会において大きな課題となっている認知症予防に対するコーヒーの効果について、有効成分の同定および動物レベルでの効果の解明を目指す。

3. 研究の方法

(1) コーヒー豆抽出液の調製および有機溶媒による分画

焙煎したコーヒー豆 8g を粉碎後、95 の熱水 140ml でペーパーフィルターを通して抽出したものを 100% (v/v) コーヒー豆抽出液とした。コーヒー豆抽出液を等量のヘキサン、酢酸エチル、1-ブタノールを用いて分画を行った。

(2) 抗炎症効果の解析

マウスマクロファージ様細胞 RAW264.7 の培養液に、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 1 時間後、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、サイトカイン産生量を 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 等のタンパク質量を測定した。

(3) LPS 誘導性炎症モデルマウスを用いた *in vivo* におけるコーヒーの抗炎症作用

4 週齢雄 C57BL/6 マウスに 3 週間 60% (v/v) コーヒー豆抽出液または水を自由飲水させ、LPS (20mg/kg) を腹腔内投与後、8 時間後に臓器 (肺、肝臓、腎臓) を摘出した。臓器より RNA を調製し、RT-PCR により炎症性サイトカインの mRNA 発現量を測定した。

(4) マウス海馬における BACE1 およびアミロイド 発現に対する習慣的コーヒー喫飲の効果と学習能への影響

4 週齢雄 C57BL/6 マウスに 7 週または 21 週間 60% (v/v) コーヒー豆抽出液または水を自由飲水させた 4 週齢雄 C57BL/6 マウスの脳から海馬を摘出し、RNA およびタンパク質を回収した。BACE1 はイムノプロット法により、アミロイド はサンドイッチ ELISA 法により測定した。学習能は新奇物体認識試験法により測定した。

4. 研究成果

(1) 抗炎症効果を示す活性成分の同定と分子メカニズムの解析

これまでの研究から、コーヒー豆抽出液中の抗炎症活性を示す成分はカテコール類であることが示唆された。そこで、コーヒーの主成分であるカフェインの影響を少なくするため、デカフェコーヒーを用いて活性成分の同定を試みた。その結果、デカフェコーヒーにも通常コーヒーと同程度の抗炎症活性が認められた。その抑制効果のメカニズムを解析した結果、通常コーヒーと同様に Nrf2 の活性化による NF- κ B 転写活性の抑制によることが明らかとなった。また、3 種のカテコール類 (ヒドロキノン、ピロカテコール、4-エチルカテコール) について抗炎症作用を比較検討した結果、同程度の比活性を示したが、コーヒー中のピロカテコールの含有量は他の 2 つに比べ約 10 倍高く、コーヒーの抗炎症活性は主としてピロカテコールに由来すると考えられた (図 1)。

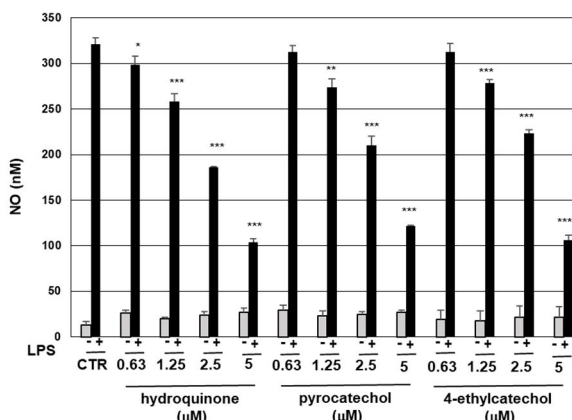


図1 コーヒー含有カテコール類の抗炎症活性

(2) 炎症モデルマウスに対するコーヒー成分の効果

3週間、60% (v/v) コーヒーを自由飲水した C57BL/6J マウスに LPS (20mg/kg) を腹腔内投与した。8時間後における肺、肝臓、腎臓における炎症マーカーである各種サイトカインの mRNA の発現は、水を投与したコントロール群と比べ有意に低下した (図2)。さらに、60% (v/v) コーヒーに含まれるものと同量のピロカテコール (58.3 μM) を飲ませたマウスの各種臓器のサイトカイン mRNA 発現においても、60% (v/v) コーヒーと同程度の抑制効果が認められた。

以上の結果から、動物レベルにおいてもコーヒーの抗炎症効果が確認でき、その抑制効果は焙煎成分であるピロカテコールによるものであることが明らかとなった。

(3) 習慣的コーヒー摂取によるマウス海馬における BACE1 およびアミロイド 発現と学習能に対する効果

これまでの研究から、コーヒー豆の焙煎成分がヒト神経芽細胞腫 SH-SY5Y 細胞においてアミロイド (A β) の生成を抑制すること、さらにその効果が、A β の生成に関わる γ -secretase (BACE1) の分解促進によることを明らかにしている。この効果について動物レベルでの研究を行った。4週令の C57BL/6J マウスに 60% (v/v) コーヒーを7週間自由飲水させ、海馬における BACE1 タンパク質の発現を調べた。その結果、コーヒーを摂取したマウスでは BACE1 量が有意に低下していた (図3)。このことは、培養細胞と同様の反応が個体レベルでも起きている可能性を示唆する。さらに、この時点でのマウスの学習能について、新奇物体認識試験法で測定した。その結果、有意差はなかったもののコーヒー摂取群で学習能の増加傾向がみられた。そこで、より長期の習慣的コーヒー摂取の効果を見るために、21週間自由飲水させた。60% (v/v) コーヒーに加え、60% (v/v) デカフェコーヒーとコーヒー含有と同量のピロカテコール (58.3 μM) の効果も調べた。その結果、デカフェコーヒーおよびピロカテコール摂取群で A β 量の減少傾向がみられた (図4)。さらに、新奇物体認識試験で学習能を検討した結果、デカフェコーヒーとピロカテコール摂取群で有意な学習能の向上が観察された (図5)。

以上の結果は、動物レベルにおいても習慣的コーヒー摂取が海馬の BACE1 発現を抑制し、A β の産生を抑制する可能性があることを示唆する。その結果として認知機能の改善さらには認知症予防効果が得られることが期待される。一方、長期摂取において通常コーヒー摂取群がデカフェコーヒー摂取群に比べ A β 産生抑制および学習能への効果が弱かったことは、カフェインの長期摂取による影響の可能性が考えられ、認知症予防効果を目指して習慣的なコーヒー喫飲を行う場合の今後の検討課題である。

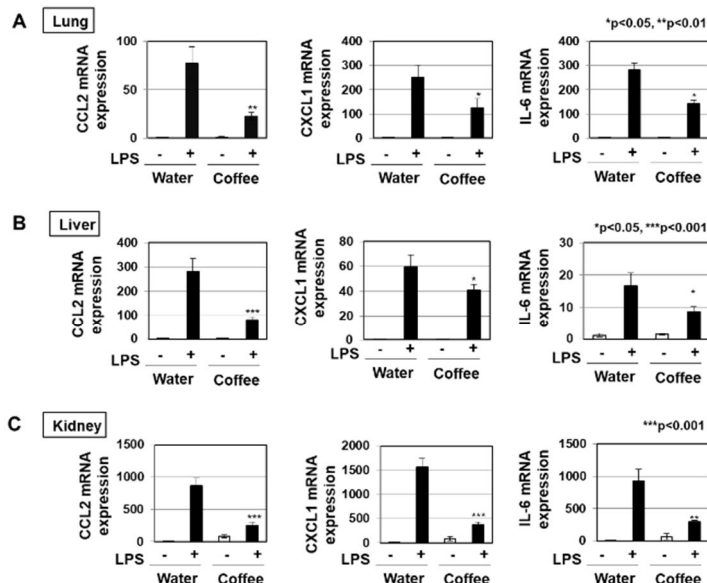


図2 コーヒー摂取による炎症モデルマウス各臓器への炎症抑制効果

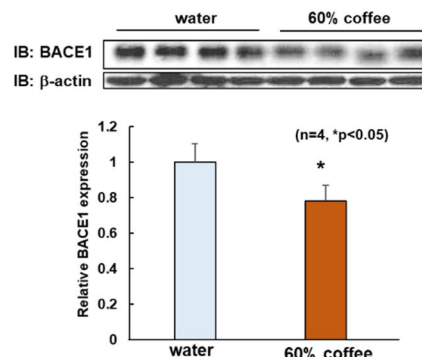


図3 コーヒー摂取によるマウス海馬BACE1の発現抑制

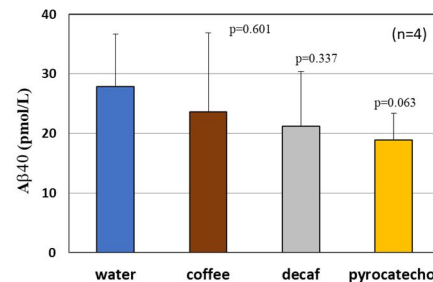


図4 長期コーヒー摂取の海馬A β ₄₀量への効果

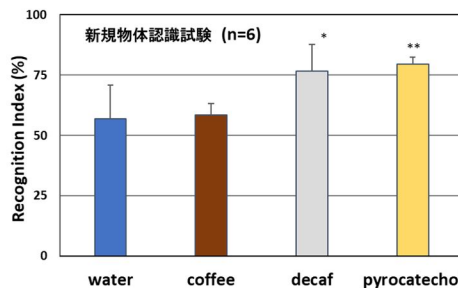


図5 長期コーヒー摂取マウスの学習能への影響

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Funakoshi-Tago M, Tago K, Li C, Hokimoto S, Tamura H	4. 巻 10
2. 論文標題 Coffee decoction enhances tamoxifen proapoptotic activity on MCF-7 cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci. Rep.	6. 最初と最後の頁 19588
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-76445-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Tamura H	4. 巻 140
2. 論文標題 Molecular basis of preventive effects of habitual coffee intake against chronic diseases	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Yakugaku Zasshi	6. 最初と最後の頁 1351-1363
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1248/yakushi.20-00150	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Funakoshi-Tago M, Nonaka Y, Tago K, Takeda M, Ishihara Y, Sakai A, Matsutaka M, Kobata K, Tamura H.	4. 巻 10
2. 論文標題 Pyrocatechol, a component of coffee, suppresses LPS-induced inflammatory responses by inhibiting NF- B and activating Nrf2.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci. Rep.	6. 最初と最後の頁 2584
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-59380-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Nakazawa Y, Ishimori N, Oguchi J, Nagai N, Kimura M, Funakoshi-Tago M, Tamura H.	4. 巻 17
2. 論文標題 Coffee brew intake can prevent the reduction of lens glutathione and ascorbic acid levels in HFD-fed animals.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Exp. Ther. Med.	6. 最初と最後の頁 1420-1425
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/etm.2018.7092.	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 -

1. 著者名 Fukuyama Kazuya, Kakio Shota, Nakazawa Yosuke, Kobata Kenji, Funakoshi-Tago Megumi, Suzuki Toshiharu, Tamura Hiroomi	4. 巻 62
2. 論文標題 Roasted Coffee Reduces β -Amyloid Production by Increasing Proteasomal β -Secretase Degradation in Human Neuroblastoma SH-SY5Y Cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Mol. Nutr. & Food Res.	6. 最初と最後の頁 1800238
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/mnfr.201800238	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8件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 田村悦臣
2. 発表標題 コーヒーを飲んで延ばす健康寿命 ~ コーヒーの薬 '離' 学 ~
3. 学会等名 日本コーヒー文化学会第27回年次集会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 保木本真梧、洪澤春花、中澤洋介、多胡めぐみ、田村悦臣
2. 発表標題 正常マウス海馬におけるA β 発現及び記憶能に対するコーヒー焙煎成分の効果
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中澤洋介、多胡めぐみ、田村悦臣
2. 発表標題 今いちど、眼科領域の進歩を考える 基礎、臨床、そしてドラッグリポジショニングについて
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 H. Tamura
2. 発表標題 Molecular basis of preventive effects of coffee on neurodegenerative diseases.
3. 学会等名 2nd International conference on neuromuscular and neurodegenerative diseases (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松高 茉里、多胡めぐみ、多胡憲治、古旗賢二、田村悦臣
2. 発表標題 抗炎症を示すコーヒー含有成分の同定
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 豊嶋直樹、松高茉里、古旗賢二、多胡憲治、多胡めぐみ、田村悦臣
2. 発表標題 抗炎症作用を示すコーヒー含有成分の同定
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小林亮太、音羽遼太郎、青木美紀、中澤洋介、多胡めぐみ、田村悦臣
2. 発表標題 コーヒーの抗白内障効果の分子メカニズムの解析
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木正太、中澤洋介、平松範子、長井紀章、多胡めぐみ、山本直樹、田村悦臣
2. 発表標題 コーヒ-の水晶体上皮細胞株に対する抗アポトーシス効果の検討
3. 学会等名 第57回日本白内障学会総会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

薬学部・薬学研究科 研究者情報冊子 http://www.pha.keio.ac.jp/doc/researcher_info201909.pdf 慶應義塾大学薬学部 研究室紹介 衛生化学講座 http://www.pha.keio.ac.jp/research/hc/index.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
研究分担者	多胡 めぐみ (Tago Megumi) (30445192)	慶應義塾大学・薬学部(芝共立)・教授 (32612)	

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
---------	---------