

研究種目：基盤研究 (B)
研究期間：2007 ~ 2009
課題番号：19300250
研究課題名 (和文) 生活習慣病予防を目指したフレンチパラドックスの作用機構解明
研究課題名 (英文) Elucidation of mechanism on “French Paradox”
toward prevention of lifestyle-related diseases
研究代表者
井上 裕康 (INOUE HIROYASU)
奈良女子大学・生活環境学部・教授
研究者番号：40183743

研究成果の概要 (和文)：

赤ワインに含まれるポリフェノール・レスベラトロールは、生体において核内受容体PPAR α の活性化を介して生活習慣病予防に関与する可能性を見出した。また、レスベラトロール四量体バチカノールCについても同様にPPAR活性化を示すことを見出した。さらに、培養細胞系でPPAR活性化とCOX-2発現抑制を指標として食品成分の機能評価を行い、6種類の精油を同定し、さらにその中で、タイムとレモングラスについてはその有効成分を同定した。

研究成果の概要 (英文)：

Dairy oral intake of resveratrol, a phytoalexin contained in red wine, reduces plasma triglyceride concentration, and upregulates hepatic expression of PPAR- α responsive genes in the wild-type but not PPAR α knockout mice. Moreover, long-term intake of 0.02% resveratrol with high fat diet prevents body weight gain observed after 46 weeks and accumulation of abdominal white adipose tissue, and improves survival of mice. These findings will account for a novel mechanism that may afford beneficial effects of preventing lifestyle-related diseases.

Several natural chemicals such as resveratrol have been identified as suppressors of COX-2 expression and activators of PPARs. These two properties targeted to COX-2 and PPARs will be useful in evaluating functional food components against lifestyle-related diseases. In this context, we evaluated oils from various plants in cell-based transfection assays, and found that six essential oils from thyme, rose, clove, fennel, eucalyptus, and bergamot, have these properties. From thyme oil, we identified carvacrol as a major component of the activator of PPAR α and γ and suppressor of COX-2 expression, and PPAR γ -dependent suppression of COX-2 promoter activity was observed in response to carvacrol treatment. These results will be important in understanding the anti-lifestyle-related disease properties of essential oils.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	7,900,000	2,370,000	10,270,000
2008年度	3,600,000	1,080,000	4,680,000
2009年度	3,600,000	1,080,000	4,680,000
総計	15,100,000	4,530,000	19,630,000

研究分野：食品機能学、分子栄養学

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：PPAR、シクロオキシゲナーゼ、生活習慣病、レスベラトロール、精油成分、食品機能成分

1. 研究開始当初の背景

レスベラトロールは、「フレンチパラドックス」に関与する分子として注目されている。我々は、生活習慣病予防の標的分子として認められているPPARの3種類のサブタイプ(α , β/δ , γ)を、レスベラトロールが選択的に活性化することを培養細胞系で明らかにしてきた。しかし生体内で実際に作用しているかどうか明らかではない。

2. 研究の目的

(1) レスベラトロールの生活習慣病予防効果について、PPAR活性化が関与するかどうかを、ノックアウトマウスを用いて検討する。

(2) レスベラトロール四量体についても同様に検討する。

(3) PPAR活性化とCOX-2発現抑制効果を指標にして、新奇な食品機能成分の同定を行う。

3. 研究の方法

PPAR α 欠損型および野生型マウスにレスベラトロールを連続摂取させ、個体レベルでの作用について検討する。具体的には、血漿中のトリグリセリド量、コレステロール量の測定、及び肝臓における種々の遺伝子群の発現を定量RT-PCR法で解析する(1)(2)。培養血管内皮細胞を用いて、PPAR活性化、及びCOX-2の発現抑制効果を指標にして、種々の食品機能成分の評価を行う。さらに、PPARに応答する遺伝子群の誘導を、マクロファージ系U937細胞を用いて評価する(3)。

4. 研究成果

(1) レスベラトロールを摂取した野生型マウスでは、血漿のトリグリセリドと総コレステロール濃度がPPAR α 依存的に減少した。さらに、野生型マウスの肝臓では、脂肪酸の取り込み、輸送、酸化、寿命延長等に関与する酵素の遺伝子発現誘導が見られた。PPAR α 欠損型マウスでは発現誘導が見られなかった

ことから、これらの遺伝子はPPAR α 依存的に誘導されることが明らかとなった。レスベラトロールを1年以上摂取させたところ、野生型マウスでは生存率に差が認められ、寿命延長効果の可能性が見出された(論文投稿準備中)。これらの研究成果は2009年度日本生化学会シンポジウム「レスベラトロールに関する最近の知見」として採択され、発表を行った。

(2) レスベラトロール四量体バチカノールCについて、高脂肪食に添加して検討したところ、肝臓においてはPPAR α 応答遺伝子群の発現が、筋肉においてはPPAR β/δ 応答遺伝子群が誘導された。一方、PPAR α ノックアウトマウスではいずれの遺伝子群の誘導が認められなかった。また、レスベラトロールに関しては、脱アセチル化酵素SIRT1を活性化することが示され話題を呼んでいるが、バチカノールCにはSIRT1活性化が認められなかった。2010年になり、レスベラトロールによるSIRT1活性化は蛍光アッセイによるアーティファクトであり、実際には活性がないことが示されており、それらの知見と対応していると考えられる。

(3) レスベラトロール以外で、新奇な食品機能成分を探索した結果、タイム油からカルバクロールを見出した。Journal of Research(アメリカ生化学分子生物学会ASMBM)に掲載されたこの論文は、ハイライトに選ばれ、Eurekalertを通じて世界の科学情報サイトに配信され、ASMBMのホームページにトピックスとして紹介されるなど、世界的な注目を集めた。

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12件)

- (1) Hotta M., Nakata R., Katsukawa M., Hori, K., Takahashi, S. and Inoue, H. Carvacrol, a component of thyme oil, activates PPAR α and γ and suppresses COX-2 Expression J. Lipid Res. 査読有, 51, 132-139 (2010)
- (2) Tsukamoto T., Nakata R., Tamura E., Kosuge Y., Kariya A., Katsukawa M., Mishima S., Itoh, T., Inuma M., Akao Y., Nozawa Y., Arai Y., Namura S., Inoue H. Vaticaanol C, a resveratrol tetramer, activates PPAR α and PPAR β/δ in vitro and in vivo Nutrition & Metabolism 査読有, 7, 46 (2010)
- (3) K. Ohguchi K., Itoh T., Akao Y., Inoue H., Nozawa Y., Ito M. SIRT1 modulates expression of matrix metalloproteinases in human dermal fibroblasts. Br. J. Dermatol. 査読有, (2010) in press
- (4) A. Iio, K. Ohguchi, H. Inoue, H. Maruyama, Y. Araki, Y. Nozawa, M. Ito Ethanolic extracts of Brazilian red propolis promote adipocyte differentiation through PPAR γ activation. Phytomedicine 査読有, (2010) in press
- (5) Tjiu JW, Inoue H. ら(13名中10番目) Tumor-Associated Macrophage-Induced Invasion and Angiogenesis of Human Basal Cell Carcinoma Cells by Cyclooxygenase-2 Induction. J Invest Dermatol. 査読有, 129, 1016-1025 (2009)
- (6) Chien M., Inoue H. ら(7名中10番目) growth factor-c (VEGF-C) promotes angiogenesis by induction of COX-2 in leukemic cells via the VEGF-R3/JNK/AP-1 pathway. Carcinogenesis, 査読有, 30, 2005-2012 (2009)
- (7) 勝川路子、中田理恵子、井上裕康、COX-2 発現抑制と PPAR 活性化を指標にした香辛料成分の機能性評価、日本味と匂学会誌 査読有, 16, 683-686 (2009)
- (8) Liu Q, Inoue H., Mahendran R. Transcriptional regulation of the COX-2 expression by nitric oxide in colon cancer cell lines. Oncol Rep. 査読有, 19, 269-274 (2008)
- (9) Sun H, Sheveleva E, Xu B, Inoue H., Bowden TG, Chen QM. Corticosteroids induced COX-2 expression in cardiomyocytes: Role of glucocorticoid receptor and C/EBP β Am J Physiol Cell Physiol. 査読有, 295, C915-922 (2008)
- (10) Sun H, Xu B, Inoue H., Chen QM. p38 MAPK mediates COX-2 gene expression by corticosterone in cardiomyocytes. Cell Signal. 査読有, 20, 1952-1959 (2008)
- (11) 堀田真理子、中田理恵子、井上裕康、誘導型シクロオキシゲナーゼ発現抑制を指標にした植物油の機能性評価、日本家政学会誌 査読有, 59, 373-378 (2008)
- (12) 塚本朋子、中田理恵子、勝川路子、赤尾幸博、野澤 義則、三島敏、井上裕康、レスベラトロール四量体バチカノール C による核内受容体 PPAR α 及び β/δ の活性化、脂質生化学研究 査読無, 50, 304-307 (2008)
- [学会発表] (計 38 件)
- (1) PPAR 活性化と COX-2 発現抑制を指標にした食品機能成分の探索 井上裕康 2010年3月19日 レドックス生命科学第170委員会第22回研究会 千里ライフサイエンスセンター、吹田(講演)
- (2) Carvacrol and other components of essential oils activate PPARs and suppress COX-2 expression Hotta, Mariko, Katsukawa, Michiko, Hori, Kazuyuki, Takahashi, Saori, Nakata, Rieko, Hiroyau Inoue Bioactive Lipid Conference, Cancun, Mexico, October 28, 2009 (oral presentation, selected)
- (3) Resveratrol activated nuclear receptor PPARs in vitro and in vivo Rieko Nakata, Emi Tamura,

Yukiko Kosuge, Aya Kariya, Michiko Katsukawa, Hiroyasu Inoue 19th International Congress of Nutrition 2009, Bangkok, Thailand, October 4-9, 2009 (distinguished poster presentation)

(4) Evaluation of essential oils by activation of PPARs and suppression of COX-2 expression Michiko Katsukawa, Rieko Nakata, Kazuyuki Hori, Saori Takahashi, Hiroyasu Inoue PLM2009, Tokyo, Japan, May 27, 2009 (poster)

(5) レスベラトロール研究の歴史的背景 井上裕康、木村善行 2009年10月21日 日本生化学会、神戸国際会議場(シンポジウム)

(6) PPAR を介したレスベラトロールの作用機構 中田理恵子、田村恵美、小菅由希子、刈谷斐、勝川路子、井上裕康 2009年10月21日 日本生化学会、神戸国際会議場 (シンポジウム)

(7) レスベラトロール摂取による PPAR α を介した作用機構 中田理恵子、勝川路子、井上裕康 2009年8月31日 第61回日本家政学会、武庫川女子大学

(8) COX-2 発現抑制、PPAR 活性化を指標にした精油の機能性評価 勝川路子、中田理恵子、井上裕康 2009年8月31日 第61回日本家政学会、武庫川女子大学

(9) レスベラトロールがヒト臍帯静脈血管内皮細胞の遺伝子発現に及ぼす影響 小菅由希子、田村恵美、刈谷斐、淡路比呂代、勝川路子、中田理恵子、小亀浩市、矢内隆章、井上裕康 2009年5月21日 第63回日本栄養食糧学会、長崎市茂里町ブリックホール

(10) PPAR α 欠損マウスを用いたレスベラトロール摂取の影響 田村恵美、小菅由希子、刈谷斐、勝川路子、中田理恵子、井上裕康 2009年5月21日 第63回日本栄養食糧学会、長崎市茂里町ブリックホール

(11) レスベラトロール摂取による運動持久力改善効果の検討 刈谷斐、田村恵美、小菅

由希子、中田理恵子、井上裕康 2009年5月21日 第63回日本栄養食糧学会、長崎市茂里町ブリックホール

(12) レスベラトロール四量体バチカノールCによる核内受容体 PPAR の活性化

塚本朋子、中田理恵子、井上裕康 2008年6月14日 第60回日本ビタミン学会、仙台国際センター

(13) レスベラトロール四量体バチカノールCによる核内受容体 PPAR α 及び β/δ の活性化 塚本朋子、中田理恵子、勝川路子、赤尾幸博、野澤 義則、三島敏、井上裕康 2008年6月6日 日本脂質生化学会、徳島郷土資料館

(14) ブドウ新芽エキス摂取による運動持久力改善効果の検討 中田理恵子、藍谷教夫、作田智洋、井上裕康 2008年5月31日 日本家政学会、日本女子大学

(15) 核内受容体 PPAR α を介するブドウ新芽エキスによる運動持久力改善効果の可能性 中田理恵子、田添三良子 田村恵美、藍谷教夫、作田智洋、井上裕康 2008年5月3日 第63回日本栄養食糧学会、女子栄養大学

(16) Resveratrol: a selective suppressor of COX-2 expression and an activator for PPARs Hiroyasu Inoue, 10th International Conference on Bioactive Lipids in Cancer, Inflammation, and Related Diseases Montreal, Canada, September 16-19, 2007 (Invited speaker)

(17) Activation of PPAR by resveratrol and other polyphenols Hiroyasu Inoue, Rieko Nakata, Shobu Namura ICPH2007 Kyoto, Japan, November 25-28, 2007 (poster presentation, selected)

[図書] (計1件)
Hiroyasu Inoue, Rieko Nakata Techniques Used to Study Regulation of Cyclooxygenase-2 Promoter sites, Methods in Molecular Biology (S. S. Ayoub et al. eds.), vol. 644, 11-20 (2010)

[その他]

ホームページ等

<http://narawuffc.pl.bindsite.jp/news.html>

(研究室ホームページ)

<http://www.asbmb.org/News.aspx?id=6122>

Journal of Research (ASMBM) に掲載されたカルバクロールの論文がハイライトに選ばれ、Eureka! を通じて世界の科学情報サイトに配信された。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井上 裕康 (INOUE HIROYASU)

奈良女子大学・生活環境学部・教授

研究者番号：40183743

(2) 研究分担者

中田 理恵子 (NAKATA RIEKO)

奈良女子大学・生活環境学部・講師

研究者番号：90198119

(3) 連携研究者

()

研究者番号：