

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 28 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21500783

研究課題名（和文） 飲酒によって引き起こされる肝疾患を予防する食品成分の検索とその応用

研究課題名（英文） Screening of food components for the prevention of alcoholic liver diseases and their application

研究代表者

湯浅 明子（小島 明子）(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

研究成果の概要（和文）：食品成分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の総括的な研究を行った。申請者が開発した *in vitro* アルコール性肝炎および肝硬変モデル、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検討したところ、*Ecklonia cava* 抽出物、玉造黒門越瓜抽出物、ごまリグナン、マテ茶抽出物などの食品成分は、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。

研究成果の概要（英文）：We studied the protection against ethanol-induced liver injury by various food components. The goal of this study is to propose a utilization of them into our dietary habits for the prevention of the disease. We examined the protective effect of various food components by using *in vitro* cell culture models for hepatitis and for liver cirrhosis and an *in vivo* animal model for liver disease, which were developed by us. Then we got the following results. We found that *Ecklonia cava* extract, extract from Tamatsukuri-kuromon Shirouri, sesame lignin and Mate tea extract have the protective effects for ethanol-induced liver injury on our *in vitro* and *in vivo* models and suggested that the ingestion of these components is useful for our healthy life.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,800,000	840,000	3,640,000
2010 年度	500,000	150,000	650,000
2011 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：病態栄養学

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

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、肝細胞、肝星細胞

## 1. 研究開始当初の背景

近年、わが国におけるアルコール消費量や飲酒者数は、食生活や生活習慣の欧米化に伴って増加していること、その中でも特に女性の飲酒が増加していることが報告されている。女性は男性よりもアルコールの害を受けやすく、短期間で少ない量で肝硬変に進展す

ることが知られている。また、純アルコール量で1日60g（日本酒換算3合）以上の多量飲酒は、アルコール依存症、肝疾患、動脈硬化やガンなどの生活習慣病のリスクを高めるため、「健康日本21」では多量飲酒者の減少を目標に掲げているが、現状では増加傾向にあることなど、いまだ目標

は達成されていない。

アルコールを常習飲酒すると、アルコール性脂肪肝が発症する。さらに、そのまま節酒や断酒せずに飲酒を継続し続けると、アルコール性肝炎、アルコール性肝線維症を経て、アルコール性肝硬変へと進展する。日本人における肝硬変の成因として、アルコールが原因となって発症する割合は肝炎ウイルスに比べて少ないものの、アルコール性肝硬変による死亡者数は年々増加している。また、アルコール性肝硬変から肝ガンを併発する割合も多いことが社会問題となっている。

生活習慣病の急増が問題視される現在、日常の食生活を改善することによって健康長寿を目指すためには、食品成分の作用メカニズムの解明が必要であるが、現状はきわめて不十分である。

## 2. 研究の目的

本研究では、食品成分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の総括的な研究を行い、近年、罹患者数が急増しているアルコール性肝疾患に着目して、日常の食生活を改善することによって健康長寿を目指すことができるように提言するための基礎研究を行うことを目的とした。

## 3. 研究の方法

(1) 分離肝細胞による *in vitro* アルコール性肝炎モデルを用いて、アルコール性肝炎の予防効果を有する食品成分を探索する。

(2) 肝線維化さらには肝硬変の直接的な原因となる分離肝星細胞を用いた *in vitro* アルコール性肝硬変モデルを用いて、アルコール性肝硬変の予防効果を有する食品成分を探索する。

(3) 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(1)、(2)で予防効果の認められた食品成分を通常食に取り入れることによってアルコール性肝疾患の予防効果を検討する。

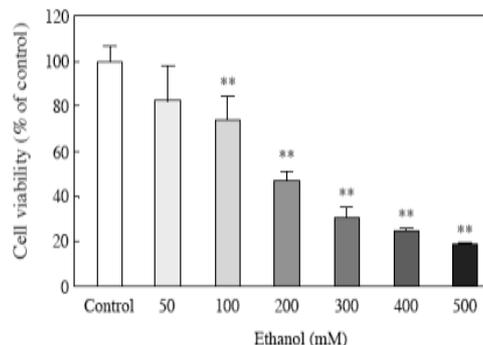
## 4. 研究成果

食品成分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。

(1) 分離肝細胞による *in vitro* アルコール性肝炎モデルを用いて、アルコール性肝炎の予防効果を有する食品成分の探索とそのメカニズムについて

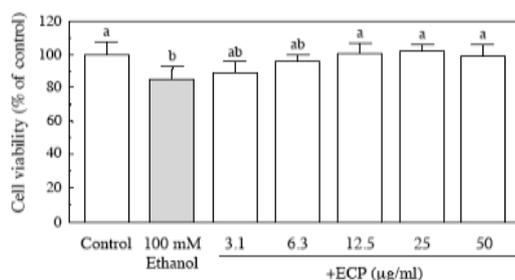
分離肝細胞にエタノールを添加して培養すると、肝細胞の生存率がエタノールの添加濃度に依存して顕著に低下する(下図:エ

タノールによって誘導される肝細胞生存率の低下)。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。



エタノールによって誘導される肝細胞生存率の低下

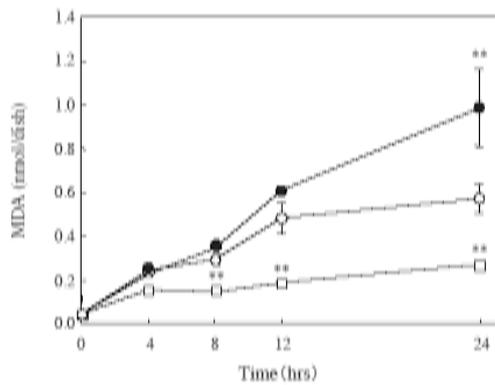
そこで、*in vitro* アルコール性肝炎モデルを用いて、肝細胞傷害を抑制する食品成分をスクリーニングしたところ、*Ecklonia cava* 抽出物、玉造黒門越瓜抽出物、ごまリグナン、マテ茶抽出物は、エタノールによって有意に低下した細胞生存率をコントロールレベルにまで回復したことから、これらの食品成分はアルコール性肝炎の予防効果を有することが明らかとなった。その一例を下図に示した。



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 *Ecklonia cava* 抽出物の影響

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、これらの食品成分は、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ることから、細胞内の酸化還元を調節する細胞内グルタチオン量を維持し、過酸化脂質産生量を低下させる(下図)ことによって、肝細胞傷害を抑制

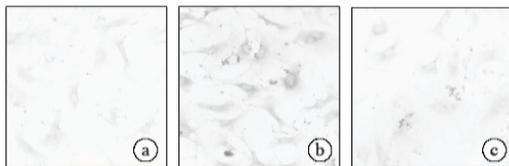
していることが明らかとなった。



エタノールによって増加した肝細胞の過酸化脂質産生量におよぼす *Ecklonia cava* 抽出物の影響  
(○: Control, ●: 100 mM EtOH, □: +12.5 µg/ml ECP)

(2) 肝線維化さらには肝硬変の直接的な原因となる分離肝星細胞を用いた *in vitro* アルコール性肝硬変モデルを用いて、アルコール性肝硬変の予防効果を有する食品成分の探索とそのメカニズムについて

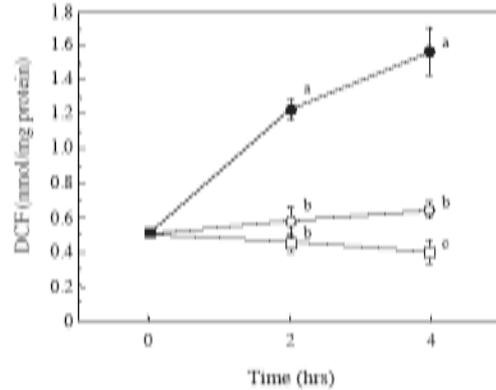
大量飲酒者の血中濃度に相当するエタノールを添加したときの肝星細胞のコラーゲン合成能は、顕著に亢進することから、本モデルを *in vitro* アルコール性肝硬変モデルとして使用することができる。そこで、*in vitro* アルコール性肝硬変モデルを用いて、アルコール性肝硬変を抑制する食品成分をスクリーニングしたところ、*Ecklonia cava* 抽出物、玉造黒門越瓜抽出物、ごまリグナン、マテ茶抽出物は、エタノールによって有意に亢進した肝星細胞のコラーゲン産生能をコントロールレベルにまで低下させたことから、これらの食品成分はアルコール性肝硬変の予防効果を有することが明らかとなった。その一例を下図に示した。



エタノールによって亢進した肝星細胞のコラーゲン産生量におよぼす *Ecklonia cava* 抽出物の影響  
(a: Control, b: 100 mM EtOH, c: +12.5 µg/ml ECP)

さらに、アルコール性肝硬変の予防メカ

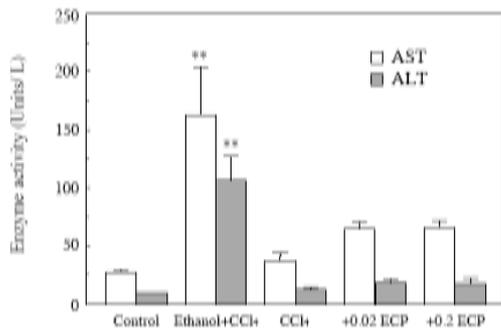
ニズムについて検討したところ、これらの食品成分は、エタノールによって増加した肝星細胞の細胞内活性酸素種産生量を減少させる(下図)ことによって、コラーゲン産生能の亢進を抑制することが明らかとなった。



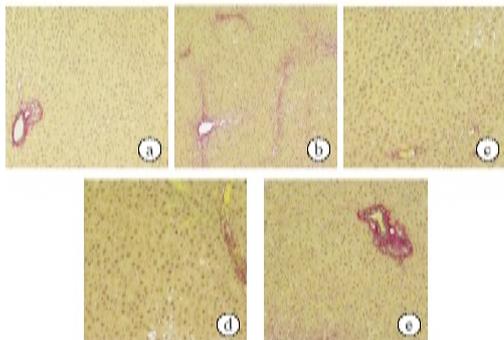
エタノールによって増加した肝星細胞の活性酸素種産生量におよぼす *Ecklonia cava* 抽出物の影響  
(○: Control, ●: 100 mM EtOH, □: +12.5 µg/ml ECP)

(3) 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、食品成分によるアルコール性肝疾患の予防効果について

*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。標準飼料に上記 (1) および (2) の *in vitro* 実験系で効果の認められた食品成分を添加して、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、食品成分を摂食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。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、食品成分を摂食させた場合では、肝障害が認められなかった。その一例を下図に示した。



エタノールによって亢進した血漿逸脱酵素活性におよぼす *Ecklonia cava* 抽出物の影響



肝組織像の変化におよぼす *Ecklonia cava* 抽出物の影響  
(a) Control diet; (b) control diet with 5% EtOH + CCl<sub>4</sub>; (c) control diet with CCl<sub>4</sub>; (d) 0.02% ECP diet with 5% EtOH + CCl<sub>4</sub>; (e) 0.2% ECP diet with 5% EtOH + CCl<sub>4</sub>

以上の結果から、本研究で我々が開発した *in vitro* アルコール性肝炎および肝硬変モデル、*in vivo* アルコール性肝炎モデルは、有用なシステムであることが明らかになった。さらに、このシステムを用いて食品成分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ところ、我々が見出した食品成分 (*Ecklonia cava* 抽出物、玉造黒門越瓜抽出物、ごまリグナン、マテ茶抽出物) 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。

#### 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 2 件)

- ① M. Takahashi, N. Satake, H. Yamashita, A. Tamura, M. Sasaki, I. Matsui-Yuasa, M. Tabuchi, Y. Akahoshi, M. Terada and A.

Kojima-Yuasa.

*Ecklonia cava* polyphenol protects the liver against ethanol-induced injury in rats.

Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects 1820: 978-988 (2012)

査読有

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304416512000402>

- ② K. Yokogawa, I. Matsui-Yuasa, A. Tamura, M. Terada and A. Kojima-Yuasa. Inhibitory effect of *Ecklonia cava* extract on high glucose-induced hepatic stellate cell activation. *Marin Drugs* 39: 789-802 (2011) 査読有 Doi:10.3390/md9122793

[学会発表] (計 10 件)

- ① A. Kojima-Yuasa, M. Takahashi, N. Satake, H. Yamashita, K. Yaku, M. Tabuchi, Y. Akahoshi, M. Terada and I. Matsui-Yuasa: Preventive effect of the extract of *Ecklonia cava* polyphenol against ethanol-induced liver injury in rats. Second International Conference on Environmental Stressors in Biology and Medicine (2011 年 10 月 5-7 日 Siena, Italy).
- ② A. Kojima-Yuasa, K. Yokogawa and I. Matsui -Yuasa: Preventive effect of the extract of *Ecklonia cava* against high glucose-induced hepatic stellate cell activation. European Association for the study of the Liver special conference on NAFLD/NASH and Related Metabolic Disease (2009 年 9 月 24-26 日 Bologna, Italy).
- ③ 平内絵理、湯浅 勲、湯浅 (小島) 明子: 「なにわ伝統野菜」玉造黒門越瓜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。第 65 回日本栄養・食糧学会大会 (2011 年 5 月 13-15 日 東京)。
- ④ 湯浅 (小島) 明子、平内絵理、湯浅 勲: 玉造黒門越瓜抽出物はアルコール脱水素酵素を活性化させることによってアルコール性肝細胞傷害を抑制する。第 84 回日本生化学会大会 (2011 年 9 月 21-24 日 京都)。
- ⑤ 湯浅 (小島) 明子、高橋麻衣、佐竹尚子、田淵正樹、赤星保光、寺田正樹、湯浅 勲: *Ecklonia cava* 抽出物によるアルコール性肝疾患の予防効果について。第 13 回日本病態栄養学会年次学術集会 (2010 年 1 月 9-10 日 京都)。

- ⑥ 泉 万葉、湯浅 勲、湯浅 (小島) 明子：  
玉造黒門越瓜による非アルコール性脂肪  
性肝炎の予防効果 -*In vitro* 実験系を用い  
た検討-。第 64 回日本栄養・食糧学会大  
会 (2010 年 5 月 21-23 日 徳島)。
- ⑦ 平内絵理、湯浅 勲、湯浅 (小島) 明子：  
「なにわ伝統野菜」玉造黒門越瓜による  
アルコール性肝疾患の予防効果について。  
第 64 回日本栄養・食糧学会大会 (2010  
年 5 月 21-23 日 徳島)。
- ⑧ 湯浅 (小島) 明子、浦田有佳子、湯浅 勲：  
緑茶抽出物によるアルコール性肝線維  
化の予防効果とそのメカニズムについ  
て。第 62 回日本栄養・食糧学会大会  
(2009 年 5 月 20-22 日 長崎)。
- ⑨ 高橋麻衣、湯浅 勲、湯浅 (小島) 明子：  
*Ecklonia cava* 抽出物によるアルコー  
ル性肝線維化の予防効果とそのメカニ  
ズムの解明。第 48 回日本栄養・食糧学会  
近畿支部大会およびマスターズレク  
チャー (2009 年 11 月 8 日 京都)
- ⑩ 横川久美子、湯浅 勲、湯浅 (小島) 明子：  
*Ecklonia cava* 抽出物による非アルコー  
ル性脂肪性肝炎の予防効果について。  
第 48 回日本栄養・食糧学会近畿支部大  
会およびマスターズレクチャー (2009  
年 11 月 8 日 京都)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 3 件)

- ① 名称：肝炎予防又は治療剤  
発明者：湯浅明子、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 2011-129521  
出願年月日：2011 年 6 月 9 日  
国内外の別：国内
- ② 名称：脱水素酵素の活性を亢進させる  
組成物、及び肝疾患用組成物  
発明者：湯浅明子、湯浅勲、佐久太郎、  
引間忠正  
権利者：公立大学法人大阪市立大学、  
株式会社アトリー  
種類：特許  
番号：特願 2011-088756  
出願年月日：2011 年 4 月 13 日  
国内外の別：国内
- ③ 名称：アルコール性肝障害予防または  
改善剤  
発明者：湯浅明子、湯浅勲  
権利者：湯浅明子

種類：特許

番号：特願 2009-128400

出願年月日：2009 年 5 月 28 日

国内外の別：国内

〔その他〕

新聞掲載

- ① 読売新聞 (平成 24 年 2 月 26 日付)  
大学の企画ページ
- ② 食品化学新聞 (平成 23 年 7 月 14 日付)  
「食品成分による生活習慣病の予防」
- ③ 産経新聞 (平成 21 年 5 月 30 日付)  
「生活習慣病を予防する食品成分  
-玉造黒門越瓜の効果-」

TV 出演

- ① 朝日放送 番組名「キャスト」  
(平成 24 年 3 月 13 日放送)  
マテ茶の生理作用
- ② 朝日放送 番組名「おはよう朝日」  
(平成 24 年 3 月 7 日放送)  
マテ茶特集
- ③ 韓国国営放送 (KBS テレビ)  
番組名「Science Cafe」  
(平成 21 年 11 月 7 日放送)  
「カジメ (*Ecklonia cava*) 抽出物に  
よるアルコール性肝疾患予防効果と  
そのメカニズムについて」

6. 研究組織

- (1) 研究代表者  
湯浅 明子 (小島 明子) (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
- (2) 研究分担者
- (3) 連携研究者