

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 3 月 31 日現在

機関番号： 34423  
 研究種目： 若手研究（B）  
 研究期間： 2011～2012  
 課題番号： 23700905  
 研究課題名（和文） COX-2 および PPAR を指標とした香辛料の機能性評価  
 研究課題名（英文） Evaluation of spices according to suppression of COX-2 and activation of PPAR  
 研究代表者 勝川 路子（KATSUKAWA MICHIKO）  
 帝塚山学院大学・人間科学部・助教  
 研究者番号： 20508519

## 研究成果の概要（和文）：

COX-2 発現抑制と PPAR 活性化という新しい指標を用いて、香辛料の機能性評価を行ったところ、シナモンバーク油、キャラウェイ油、シナモンリーフ油、クミン油、カルダモン油で両効果を持つことを培養細胞系で見出した。最も強い活性を示したシナモンバーク油の主成分 trans-シナムアルデヒドは、PPAR $\alpha$ ,  $\beta/\delta$ ,  $\gamma$  を活性化し、PPAR $\gamma$  依存的に COX-2 発現を抑制した。

## 研究成果の概要（英文）：

Spice essential oils derived from cinnamon bark, caraway seed, cinnamon leaf, cumin and cardamom suppressed COX-2 expression and activated PPARs in cell-based reporter assays. Moreover, trans-cinnamaldehyde, a major component of cinnamon bark, activated PPAR $\alpha$ ,  $\beta/\delta$  and  $\gamma$ , and suppressed COX-2 expression by PPAR $\gamma$ -dependent manner.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：誘導型シクロオキシゲナーゼ，PPAR，香辛料，食品機能成分，生活習慣病予防

## 1. 研究開始当初の背景

誘導型シクロオキシゲナーゼ (COX-2) は、プロスタグランジン産生の律速酵素で、非ステロイド性抗炎症剤の標的として知られている。一方、ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体 (PPAR) は、核内受容体スーパーファミリーに属するリガンド依存性転写因子であり、 $\alpha$ 、 $\beta/\delta$ 、 $\gamma$  の3つのサブタイプが存在する。PPAR $\alpha$  の合成リガンドであるフィブラート系薬剤は脂質異常症改善薬として、PPAR $\gamma$  の合成リガンドであるチアゾリジン誘導体はインスリン抵抗性改善薬として広く使用されており、PPAR は生活習慣病治療薬の標的として世界的に認められている。

私たちは、食品成分のなかにも薬剤に比べ

ると活性化能は低いものの、COX-2 発現を抑制し、PPAR を活性化する分子が存在することを見出している。そして、これらの成分が生体内で長期的に作用することが、生活習慣病予防に対して有効に働くと考え、研究を進めている。これまでに、赤ワイン等に含まれるポリフェノール、レスベラトロールが、(1) COX-2 発現を細胞選択的に抑制すること (2) この細胞選択的発現調節には PPAR $\gamma$  が関与すること、(3) 培養細胞系で PPAR $\alpha$ 、 $\beta/\delta$ 、 $\gamma$  を選択的に活性化すること、(4) 脳虚血モデルマウスに対して PPAR $\alpha$  活性化を介した脳保護効果を有することを見出している。レスベラトロール以外にも  $\gamma$ -マンゴスチン、プロポリスに含まれるクリシン、ヤ

イム油の主成分であるカルバクロール、レモングラス油の主成分であるシトラールによる COX-2 発現抑制および PPAR 活性化について報告している。ほかの研究グループからも、ビールホップ成分のフムロン、パセリに含まれるアピゲニンなどの COX-2 発現抑制と PPAR 活性化が報告されている。以上のことを踏まえて、COX-2 発現抑制と PPAR 活性化を指標にすることで、食品成分の新しい機能性が評価できるとともに、生活習慣病予防の観点からその分子作用機構が解明できると考え、本研究課題を着想した。

## 2. 研究の目的

香辛料は食品の嗜好性や保存性を向上させるだけでなく、様々な薬理・生理作用を有することが古くから知られている。しかしながら、これらの作用は伝承や経験に依存しているものも多く、分子レベルでの有効性の評価は必ずしも十分でない。そこで本研究は、COX-2 発現抑制と PPAR 活性化という新しい指標を用いて、香辛料の機能性を培養細胞レベルとマウスを用いた個体レベルの両方で評価し、生活習慣病予防の観点から分子作用機構を解明することを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 培養細胞を用いた COX-2 発現抑制

#### ① COX-2 プロモーター活性

ウシ血管内皮細胞 (BAEC) にヒト COX-2 プロモーターで転写制御されるルシフェラーゼレポーターベクターとヒト PPAR $\gamma$  発現ベクターを共導入したのちに、炎症性刺激剤であるリポポリサッカライド (LPS) を香辛料精油またはその成分を添加した。反応後細胞を回収し、細胞抽出液のルシフェラーゼ活性を測定した。なお、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現ベクターを同時に導入し、その酵素活性で遺伝子導入効率を補正した。

#### ② COX-2 遺伝子の発現量の測定

ヒトマクロファージ様 U937 細胞を 12-o-テトラデカノイルホルボールエステル-13-アセテート (TPA) で分化させた後に、香辛料成分を添加した。反応後細胞を回収し、RNA を抽出した。定量 RT-PCR 法により COX-2 遺伝子発現量を測定した。

#### ③ COX-2 タンパク質発現量の測定

分化させたヒトマクロファージ様 U937 細胞に LPS とともに香辛料成分を添加した。反応後細胞を回収し、タンパク質を抽出した。タンパク質濃度を測定した後にウエスタンブ

ロットに供し、LPS によって誘導された COX-2 発現量の変化を測定した。

(2) 培養細胞を用いた PPAR 活性化の検討  
BEAC に PPAR 応答性エレメント (PPRE) をもつレポーターベクターとヒト PPAR $\alpha$ ,  $\beta/\delta$ ,  $\gamma$  のいずれかの発現ベクターを共導入したのちに、香辛料精油またはその成分を添加した。反応後細胞を回収し、細胞抽出液のルシフェラーゼ活性および  $\beta$ -ガラクトシダーゼ活性を測定した。

### (3) マウスを用いた生体での PPAR 活性化の検討

8~10 週齢の雄性野生型マウス (129 SV) および PPAR $\alpha$  欠損型マウスに、trans-シナムアルデヒドをトラガカントゴムと混合し、ゾンデを用いて 3 日間経口投与した。

3 日後、解剖により血液と肝臓を採取した。血液から血漿を分離し、トリグリセリド濃度を測定した。また、肝臓から RNA を抽出し、定量 RT-PCR 法により PPAR 応答遺伝子の発現変動を検討した。

## 4. 研究成果

(1) COX-2 発現抑制と PPAR 活性化を指標にした香辛料精油の機能性評価 - 培養細胞系での検討 -

COX-2 発現抑制と PPAR 活性化の両効果をもつ香辛料成分を、培養細胞系により検討した。11 種類の香辛料精油 (0.01 または 0.001%) を用いて COX-2 発現抑制を調べたところ、シナモンバグ油 (0.001%)、キャラウェイ油、シナモンリーフ油、クミン油、カルダモン油、スターアニス油、コリアンダー油で強い抑制効果が見出された (図 1)。

同じ濃度で PPAR 活性化を検討したところ、全ての精油は PPAR $\alpha$ ,  $\beta/\delta$ ,  $\gamma$  いずれかを活性化した。最も強い効果が認められたシナモンバグ油は、濃度依存的に COX-2 の発現を抑制し、同じ濃度域で PPAR $\alpha$ ,  $\beta/\delta$ ,  $\gamma$  を選択的に活性化した (図 2)。

さらに、シナモンバグ油の主成分である trans-シナムアルデヒドは、0.001% シナモンバグ油に相当する濃度で、PPAR $\alpha$ ,  $\beta/\delta$ ,  $\gamma$  を活性化した。さらに、同じ濃度域の trans-シナムアルデヒドは、COX-2 発現を PPAR $\gamma$  依存的に抑制した。さらに、ヒトマクロファージ様 U937 細胞において、LPS によって誘導される COX-2 mRNA およびタンパク質発現を抑制した。

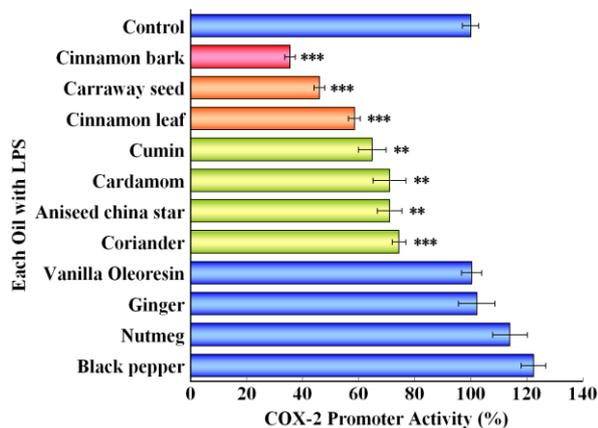


図1 香辛料精油のCOX-2プロモーター活性抑制効果

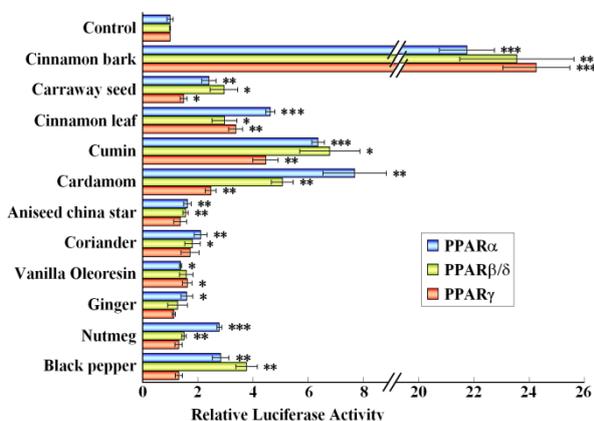


図2 香辛料精油のPPAR活性化能

一方、trans-シンナムアルデヒドの分解物であるケイヒ酸とカフェ酸では、PPAR活性化とCOX-2発現抑制は認められなかった。以上の結果から、シナモンバーク油によるCOX-2発現抑制とPPAR活性化は、主成分のtrans-シンナムアルデヒドに起因していると考えられた。

(2) 生体における trans-シンナムアルデヒドによる PPARα 活性化

シナモンバーク油主成分である trans-シンナムアルデヒドによる PPAR 活性化を、マウスを用いた個体レベルで検討した。その結果、trans-シンナムアルデヒドによる血漿トリグリセリド濃度の減少や PPAR 応答遺伝子の発現誘導は認められなかった。今回用いた条件では、培養細胞系で見出した trans-シンナ

ムアルデヒドの PPAR 活性化を生体レベルで見出すことができなかった。trans-シンナムアルデヒド代謝物のケイヒ酸とカフェ酸は培養細胞系で PPAR 活性化能をもたないことから、生体内で trans-シンナムアルデヒドが代謝され、個体レベルでの PPAR 活性化を見出すことができなかった可能性が考えられた。

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中田理恵子, 滝澤祥恵, 岩佐千絢, 高井綾子, 勝川路子, 井上裕康. COX-2 および PPAR を標的とした精油成分の機能性評価. 脂質生化学研究 54, 252-255 (2012) 査読無

②Katsukawa M, Nakata R, Koeji S, Hori K, Takahashi S, Inoue H. Citronellol and geraniol, components of rose oil, activate PPARα and γ and suppress cyclooxygenase-2 expression. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry 75(5), 1010-1012 (2011) 査読有

[学会発表] (計4件)

①岩佐千絢, 勝川路子, 滝澤祥恵, 中田理恵子, 井上裕康. シナモンバーク油による PPAR α 活性化の検討. 第 85 回日本生化学会大会 (2012年12月15日 マリンメッセ福岡)

②中田理恵子, 滝澤祥恵, 岩佐千絢, 高井綾子, 勝川路子, 井上裕康. COX-2 および PPAR を標的とした精油成分の機能性評価. 第 54 回日本脂質生化学会 (2012年6月8日 九州大学百年講堂)

③越地聡美, 勝川路子, 岩佐千絢, 中田理恵子, 井上裕康. PPAR と COX-2 を指標にした香辛料成分の機能評価. 第 84 回日本生化学会大会 (2011年9月20日 京都国際会館)

④勝川路子, 越地聡美, 中田理恵子, 井上裕康. COX-2 および PPAR を標的としたシナモンバーク油の機能性評価. 第 65 回日本栄養・食糧学会大会 (2011年5月15日 お茶の水女子大学)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

勝川 路子 (KATSUKAWA MICHIKO)  
帝塚山学院大学・人間科学部・助教  
研究者番号：20508519

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし