

平成28年度 プロジェクト研究費研究実績報告書

平成29年5月8日

代表者 佐々木 菜穂

研究課題名	薬物代謝酵素 Cytochrome P450(CYP)への影響を指標とするハーブサプリメント成分の安全性評価法のヒト培養肝細胞を用いた検証
研究期間	平成28年4月1日～平成29年3月31日
共同研究者	中村禎子
1. 今年度の研究概要	
<p>ハーブサプリメント (HS) 素材には、安全性の科学的根拠が不明確なものが多く、肝薬物代謝系への作用を介して有害性を示すものがあると推定される。これまでに、重篤な肝障害事例のあるカバ (<i>Piper methysticum</i>) をモデル物質として安全性評価法の検討を行い、カバの成分には肝薬物代謝酵素 Cytochrome P450 (CYP) 1A1 と相互作用を有する一群があることが明らかにされている。HS 素材が環境化学物質ベンゾ[a]ピレン (BaP) 様の作用を示すことは安全確保の上で問題であり、精査を要する。本課題は、実験動物の肝 CYP への影響を指標とする HS 成分の安全性評価法について、ヒト由来培養肝細胞 HepG2 を用いて検証することを目的とした。</p> <p>1. カバが示す環境化学物質様作用の実体</p> <p>カバの主要成分カバラクトンのデスメトキシヤンゴニン (DMY) について、BaP による CYP1A1 誘導の増大作用の実体を明らかにするために次のことを行った。1) DMY の環境化学物質様作用の検証 (CYP1A1 酵素活性測定条件の検討)、2) DMY による AhR シグナル伝達系転写因子に対する作用の検証。</p> <p>2. CFE のヒト由来培養肝細胞に対する作用</p> <p>CFE は肝 CYP 分子種を強く誘導し、また脂肪肝を誘発することが報告されている。本課題は HepG2 に対する CFE の基礎的作用として、肝薬物代謝系、脂質代謝系、糖代謝系への影響について、CYP 等の遺伝子発現および細胞内への脂肪蓄積、グルコース取り込み量に対する作用を調べた。</p>	
2. 研究の成果	
<p>1. カバが示す環境化学物質様作用の実体</p> <p>1) DMY の環境化学物質様作用の検証</p> <p>これまでに DMY と BaP の共培養により CYP1A1 mRNA の発現増大が確認されている。この現象を学術論文として公表するためには CYP1A1 酵素活性を調べて確認を得る必要がある。本年度は HepG2 の CYP1A1 酵素活性測定法を検討し、Genies らの方法 (PLOS ONE, 2013) を改変した測定条件を確立した。現在、引き続き本法を用いて HepG2 の CYP1A1 酵素活性に対する DMY の影響を調べている。</p> <p>2) DMY による AhR シグナル伝達系転写因子に対する作用の検証</p> <p>DMY, BaP を添加して培養した HepG2 において、CYP1A1 の発現を制御する AhR シグナル伝達系転写因子の mRNA 発現を調べた結果、DMY は AhR シグナル伝達系に作用することで CYP1A1 mRNA の高発現に関与すると推察された。</p> <p>2. CFE のヒト由来培養肝細胞に対する作用</p> <p>HepG2 の肝薬物代謝系、脂質代謝系、糖代謝系に対する CFE の作用について調べた。その結果、CFE は脂質代謝関連酵素の mRNA 発現を誘導した。さらに HepG2 細胞内の脂肪蓄積量およびグルコース取り込み量を濃度依存的に増加させることが明らかになった。</p>	

3. 研究成果の公表実績・予定（年月日、方法）

公表実績

1. 平成 28 年 5 月 第 70 回日本栄養・食糧学会大会（神戸），口頭発表，コレウス・フォルスコリ抽出物 (*Coleus forskohlii* extract: CFE) の培養肝細胞に対する作用. 館花春佳，倉若美咲樹，佐々木菜穂，山崎優子，梅垣敬三，志村二三夫.
2. 平成 28 年 9 月 第 63 回日本栄養改善学会総会（青森），口頭発表，培養肝細胞におけるグルコース代謝への *Coleus forskohlii* 抽出物 (CFE) の作用. 館花春佳，倉若美咲樹，佐々木菜穂，山崎優子，梅垣敬三，志村二三夫.

公表予定

1. 平成 29 年 9 月 第 64 回日本栄養改善学会総会（徳島），口頭発表または示説発表（未定），コレウス・フォルスコリ抽出物とその含有成分が培養肝細胞の糖質・脂質代謝に与える影響. 櫻井美登里，館花春佳，倉若美咲樹，小山杏奈，佐々木菜穂，山崎優子，梅垣敬三，志村二三夫

課題 1 のカバが示す環境化学物質様作用の実体については，HepG2 の CYP1A1 酵素活性データが得られ次第，実験結果を取りまとめて学術論文として公表する予定である。

平成 28 年度(2016 年) 研究概要

研究所・部門	
研究課題名	薬物代謝酵素 Cytochrome P450(CYP)への影響を指標とするハーブサプリメント成分の安全性評価法のヒト培養肝細胞を用いた検証
研究代表者	佐々木 菜穂
研究期間	平成 28 年 4 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日
共同研究者	中村 禎子

1.研究成果取組状況

(1)国内外の学会発表

状況	発表者, 発表課題, 学会誌名, 発表年月日, 発表場所	招待講演
発表済	<p>1. 櫻井美登里、館花春佳、倉若美咲樹、小山杏奈、佐々木菜穂、山崎優子、梅垣敬三、志村二三夫. コレウス・フォルスコリ抽出物とその含有成分が培養肝細胞の糖質・脂質代謝に与える影響. 第 64 回日本栄養改善学会総会, 平成 29 年 9 月(徳島)</p> <p>2. 館花春佳, 倉若美咲樹, 佐々木菜穂, 山崎優子, 梅垣敬三, 志村二三夫. 培養肝細胞におけるグルコース代謝への Coleus forskohlii 抽出物(CFE)の作用. 第 63 回日本栄養改善学会総会, 平成 28 年 9 月(青森)</p> <p>3. 館花春佳, 倉若美咲樹, 佐々木菜穂, 山崎優子, 梅垣敬三, 志村二三夫. コレウス・フォルスコリ抽出物 (Coleus forskohlii extract:CFE)の培養肝細胞に対する作用. 第 70 回日本栄養・食糧学会大会, 平成 28 年 5 月 (神戸)</p>	
発表予定		

(2)雑誌論文(学内紀要含む)

状況	発表者, 発表課題, 学会誌名, 発表年月日, 発表場所	査読有無
投稿済		
投稿中 投稿予定		

(3) 図書等の出版

状況	発表者, 発表課題, 学会誌名, 発表年月日, 発表場所
出版済	
出版予定	

(4) シンポジウム・講演会等の開催

状況	主催者名・協賛社名等, 講演(発表タイトル), 実施年月日, 実施場所
開催済	
開催予定	

(5) 本研究に関連して本学経費以外に支援を得た補助金など

年度	機関・財団名, 事業名, 課題名
平成 29 年度	日本学術振興会, 科研費 基盤研究(C)「ハーブサプリメント素材が有する環境化学物質様作用の検証とそのリスク評価方法の構築」