

申請者	学科名	栄養学科	職名	助教	氏名	川上 祐生
調査研究課題	炎症性脂質メディエーターの合成を標的とした根菜類の葉に含まれる抗炎症物質の探索					
調査研究組織	氏名	所属・職		専門分野	役割分担	
	代表	川上祐生	栄養学科・助教		食品生化学	研究の統括
	分担者	高橋吉孝	栄養学科・教授		病態生化学	酵素活性測定
調査研究実績の概要	<p>シクロオキシゲナーゼは、細胞膜リン脂質から切り出されたアラキドン酸に2分子の酸素を添加しプロスタグランジンG2を生成する活性と、プロスタグランジンG2の15位のヒドロペルオキシドを還元しプロスタグランジンH2を生成する活性の2つの活性を持つ酵素である。シクロオキシゲナーゼにはシクロオキシゲナーゼ-1とシクロオキシゲナーゼ-2という2つのアイソザイムが存在する。シクロオキシゲナーゼ-1は体内で恒常的に発現している酵素であり、血小板凝集や胃酸分泌抑制、腎臓での利尿作用など生体内で必須の役割を果たすプロスタグランジン類の合成を行うと考えられている。一方、シクロオキシゲナーゼ-2は炎症や癌化を起こしている組織に発現が誘導され、炎症の亢進や癌細胞の増殖促進に関わっていることが報告されている。プロスタグランジンは、特異的な受容体に結合して、さまざまな生理作用を示し、炎症やアレルギーなどの病態形成に重要な役割を果たすことが知られる。非ステロイド系抗炎症薬はシクロオキシゲナーゼの阻害薬として知られ、炎症性脂質メディエーターであるプロスタグランジンの産生を抑制し、抗炎症作用を表す。</p> <p>根菜類の葉はほとんどが未利用のまま廃棄されている。例えば、ゴボウは日本では根の部分野菜として食しているが、ゴボウの根の部分を食べるのは日本や朝鮮半島などのごく一部であり、世界的には抗炎症や利尿、発汗などの作用をもつ民間薬として利用されている。本研究では、抗炎症作用に焦点を当て、根菜類の葉に炎症性脂質メディエーターの生成酵素であるシクロオキシゲナーゼに対する阻害効果があるかを調べ、その阻害成分を明らかにすることを目的とした。</p> <p>根菜類の葉抽出物中のHP20カラム-90%エタノール溶出画分中の化合物がシクロオキシゲナーゼの反応生成物の溶出時間と重なるため、阻害効果の検討が困難であった。そこで、この溶出画分をメタノール50%から100%のリニアグラジエントを用いた逆相HPLCにより10分毎に分画した画分を使って、シクロオキシゲナーゼ-2に対する阻害効果を検討した。その結果、溶出時間50分～60分の画分に比較的強い阻害効果が確認された。この画分をさらに2分毎に分画し、各画分存在下でシクロオキシゲナーゼ-2阻害効果を検討したところ、溶出時間52分～54分の画分に比較的強い阻害効果が確認された(図1)。</p> <p>阻害効果の確認された溶出時間52分～54分の画分に含まれる阻害成分を明らかにするために、順相HPLCにて分析し、阻害効果のある溶出時間17.5分のピークを阻害成分として精製した。このピークをメタノール-水-酢酸(90:10:0.1, v/v/v)を用いた逆相HPLCで分析すると、溶出時間12.9分に1本のピークが確認され、この吸収極大は204 nmであった(図2)。このピークに含まれる化合物存在下で、シクロオキシゲナーゼ-2活性を測定すると、濃度依存的に本酵素を阻害し、そのIC₅₀は6.4 μg/mlであった。また、シクロオキシゲナーゼ-1、白血球型12-リポキシゲナーゼ、血小板型12-リポキシゲナーゼも濃度依存的に阻害し、それぞれのIC₅₀は、6.2 μg/ml、59 μg/ml、75 μg/mlであった。5-リポキシゲナーゼは阻害しなかった。</p>					

調査研究実績
の概要

$^1\text{H-NMR}$ および $^{13}\text{C-NMR}$ による解析の結果、根菜類葉抽出物のHP20カラム-90%エタノール溶出画分に含まれるシクロオキシゲナーゼ阻害成分は、 α -リノレン酸であることが分かった。根菜類葉抽出物のHP20カラム-90%エタノール溶出画分100 gに含まれる α -リノレン酸は1.1 gであることが分かった。

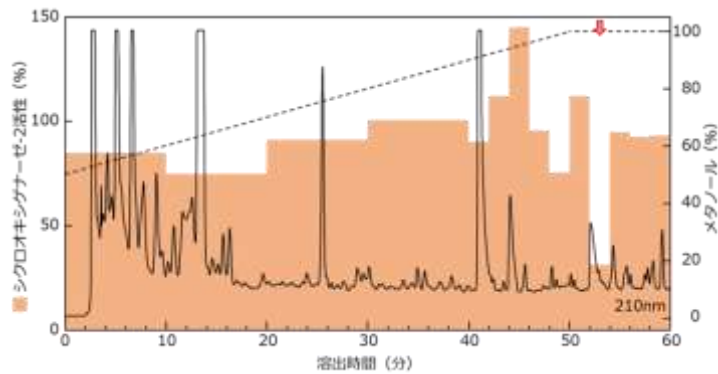


図1 各画分によるシクロオキシゲナーゼ-2阻害効果

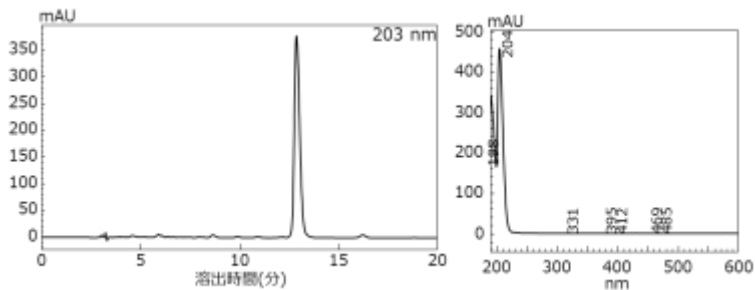


図2 逆相HPLCによるシクロオキシゲナーゼ-2阻害成分の確認