

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）  
分担研究報告書

分担課題：生薬成分の分画化、純化とそれによる細胞刺激、シグナル伝達の解析

研究分担者 川原 幸一 大阪工業大学生命工学科・教授

### 研究要旨

Heme Oxygenase (HO) は、誘導型の HO-1 と恒常的に存在する HO-2 がある。その HO-1 は、熱や酸化ストレス、などにより発現が惹起されるタンパク質である。すなわち、HO-1 はストレス負荷時の細胞保護効果に貢献している。最近、イチゴは、ガリク酸、キシリトールなど抗炎症作用物質が含まれている事が判明した。しかしながら、HO-1 との関係は未だ報告されていない。本研究は、イチゴ成分が HO-1 の発現を惹起出来るかを目的とした。その結果、イチゴ凍結乾燥粉末は HO-1 を惹起した。しかしながら、ガリク酸、キシリトールは出来なかった。イチゴには未知の HO-1 惹起物質が示唆された。

### A . 研究目的

ヘモグロビンのヘムタンパク質から遊離したヘムは、活性酸素種 (Reactive Oxygen Species: ROS) の産生を惹起する。すなわち、生体にとって非常に有害である。この有害なヘムを分解するのが Heme Oxygenase (HO) である。具体的には、HO-1 は、ヘムを一酸化炭素 (CO)、鉄、ビリルビン (胆汁色素) に分解する。CO は活性酸素の除去、ビリルビンは強力なラジカル補足作用がある。さらに、HO-1 の発現により炎症性サイトカインの産生を抑制できる。したがって、HO は、細胞保護効果を有している。

HO には 2 種類のアイソザイム、HO-1、-2 がある。HO-1 は、ストレス (紫外線、熱ショック、低酸素状態、活性酸素、エンドトキシンや重金属など) の応答により惹起される。そして、HO-2 は、恒常的に発現している。近年、前者のストレス応答による HO-1 の発現の惹起物質の探索が行われている。種々のストレスに対する細胞保護効果を見込めることが示唆される。

ヘビイチゴは、生薬として使われてきた。ヘビイチゴと同様に、現在よく市販されているイチゴ成分中にも、アントシアニンなど抗炎症性成分が含まれている。そこで本研究では、イチゴ成分が HO-1 を惹起出来るかを目的とした。

### B . 研究方法

### 【HO-1 惹起実験】

細胞には、マウスマクロファージ様細胞の RAW264.7 細胞を用いた。添加する試料は 3 種類である。すなわち、イチゴ凍結乾燥粉末 (最終濃度: 20ug/ml)、ガリク酸 (1mM)、キシリトール (1mM) を用いた。これらの試料を添加し、16 時間培養した。その後、細胞を回収しウェスタンブロット法にて HO-1 の検出を行った。また、アクチンをコントロールタンパク質として用いた。検出方法は、化学発光法を用いた。

### C . 研究結果

イチゴ凍結乾燥粉末、ガリク酸、キシリトールの刺激により RAW264.7 細胞から HO-1 の発現増強がみられたのは、イチゴ凍結乾燥粉末のみであった。統計学的処理においてもコントロール群と比較して有意な差が確認された。

### D . 考察

本研究において、イチゴ凍結乾燥粉末中に HO-1 を惹起する未知の物質の存在が明らかになった。エンドトキシン刺激による High Mobility Group Box-1 (HMGB1) の放出抑制は、HO-1 が関与していることが示唆される。最近、イチゴ中のガリク酸、キシリトールが抗炎症作用を示している。しかしながら、ガリク酸、キシリトールは、HO-1 の惹起が出来なかった。

おそらく、他の機構、シグナル伝達系の調節により抗炎症を発揮していることが考えられる。今後は、イチゴ凍結乾燥粉末中の未知の物質を同定することが必要である。

E . 結論

イチゴ凍結乾燥粉末中により、未知の H0-1 惹起物質存在が明らかとなった。

F . 健康危険情報

該当なし

G . 研究発表

1. 論文発表

該当なし

2. 学会発表

該当なし ( 発表誌名巻号・頁・発行年等も記入 )

H . 知的財産権の出願・登録状況

( 予定を含む。 )

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし