

博士学位論文審査要旨

2019年2月14日

論文題目： ウコン熱水エキスの抗炎症作用に関する研究

学位申請者： 川崎 健吾

審査委員：

主 査： 生命医科学研究科 教授 市川 寛

副 査： 生命医科学研究科 准教授 舟本 聡

副 査： 京都府立大学大学院生命環境科学研究科 教授 南山 幸子

要 旨：

炎症、特に慢性炎症は、アテローム性動脈硬化症、糖尿病、潰瘍性大腸炎、癌、うつ病およびパーキンソン病のような中枢神経障害および認知障害などの様々な慢性疾患の発症や進展に関与する。慢性炎症を抑制することは、これらの疾患の発症予防や進展抑制に役立つものであると考えられている。

ウコン (学名: *Curcuma longa*) は、ショウガ科に属する根茎状の多年生植物である。熱帯、亜熱帯地域で栽培され、その根茎はスパイスなどとして世界中で広く利用されている。ウコンを利用した形態の1つに、ウコン熱水エキスがある。細胞モデルや動物モデルでのウコン熱水エキスの生理作用に関する研究報告から、ヒトへ適用することが期待されるが、実際にヒトへ適用した研究報告は見当たらない。また、ウコン熱水エキスの抗炎症作用について細胞モデルで精査した例も見当たらない。本研究の目的は、ウコン熱水エキスの抗炎症作用を細胞試験とヒト試験で検証することであり、以下の3部から構成される。

本研究の第1部、第2部では、2種類の細胞試験を実施して、ウコン熱水エキスの(1) TNF- α で炎症を誘導した内皮細胞の細胞接着分子の発現を抑制し、単球の接着を抑制する作用、および(2) LPSで炎症を誘導したマクロファージの一酸化窒素の産生を抑制する作用を実証し、ウコン熱水エキスの抗炎症作用を一部明らかにした。また、本研究の第1部では、(1)の作用がNF- κ B シグナル伝達経路の抑制に起因することが示唆され、ウコン熱水エキスの抗炎症作用の機序を一部明らかにした。さらに、本研究の第2部では、(2)の作用を有する成分をウコン熱水エキスから単離・同定し、ウコン熱水エキスの抗炎症作用に寄与する成分を一部明らかにした。最後に、本研究の第3部では、健常者を対象とした臨床試験を実施し、ウコン熱水エキスの気分状態に対する作用を評価し、ウコン熱水エキスの摂取が疲労感を改善する可能性があることが示唆された。当該作用がウコン熱水エキスの抗炎症作用に起因するのかどうか、今後精査する必要があるが、ウコン熱水エキスの抗炎症作用をヒトに応用することに対し、期待がもたれる結果が得られたと考えられる。

よって本論文は、博士(理学)(同志社大学)の学位を授与するにふさわしいものであると認められる。

学力確認結果の要旨

2019年2月14日

論文題目： ウコン熱水エキスの抗炎症作用に関する研究

学位申請者： 川崎 健吾

審査委員：

主 査： 生命医科学研究科 教授 市川 寛

副 査： 生命医科学研究科 准教授 舟本 聡

副 査： 京都府立大学大学院生命環境科学研究科 教授 南山 幸子

要 旨：

上記審査委員会は、川崎健吾氏に対する総合試験を、2019年1月30日15時より口頭発表60分、質疑応答30分、口頭試問30分の構成で行った。

総合試験において学位申請者は、提出された学位論文の内容や意義、研究の発展などに関する質問に対して的確に応答した。本論文では、細胞実験の手法、生化学的手法、臨床試験の手法、ならびに統計学的手法などの実験方法が多岐にわたり示されているが、いずれも原理および手法を確実に習得し、結果につなげていることが示された。また得られた試験結果に対し、背景情報をもとに十分な考察がなされ、妥当な結論付けがなされていた。以上のことから、研究背景について広範な専門知識を有していることが示された。

本申請は論文博士（乙種）に対するものであり、申請者は本研究科入学時の語学試験「英語」への合格や、本研究科の修了に必要な所定単位の修得などを経たものではない。しかしながら、研究を行うに必要な語学力については、参考論文である学術雑誌 *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* および *Bioscience of Microbiota, Food and Health* への3本の投稿論文の執筆内容から、申請者が研究遂行上必要な読解能力と英文作成能力を有することが確認された。

以上のことから、本学位申請者の専門分野に関する学力ならびに語学力は十分なものであると認める。

博士學位論文要旨

論文題目： ウコン熱水エキスの抗炎症作用に関する研究

氏名： 川崎 健吾

要旨：

ウコン (学名: *Curcuma longa*) は、ショウガ科に属する根茎状の多年生植物であり、世界中の熱帯、亜熱帯地域で栽培されている。ウコンの根茎を乾燥させた後、粉碎した濃い黄色～オレンジ色のウコン粉末は、特にアジア地域において、スパイスとして広く用いられている。ウコンを原料とした利用形態として、ウコン粉末の他に、ウコンの根茎を熱水で抽出して作製されるウコン熱水エキスが挙げられる。ウコン熱水エキスの生理作用としては、細胞モデルでの研究において、抗ウイルス作用、神経保護作用、抗糖尿病作用などが報告されている。また、動物モデルでの研究において、肝保護作用、抗うつ作用、ぶどう膜炎の抑制作用、抗ガン作用、心血管保護作用、抗ストレス作用などが報告されている。現在のところ、ウコン熱水エキスの臨床試験に関する報告は見当たらないが、上記の細胞モデルや動物モデルにおける研究結果から、ヒトへの応用が期待される。ウコンに含まれる代表成分としてクルクミンが挙げられ、その抗炎症作用について多数の報告がなされている。一方、クルクミン以外の成分の抗炎症作用についても着目されているが、そのほとんどについて、抗炎症作用を含む生理作用が未だ検証されていないのが現状である。これらの化合物の作用を個別に1つずつ明らかにすることは、ウコン熱水エキスのような混合物の複合的な作用を解明する上で重要であると考えられる。

炎症は、急性と慢性のいずれかに分類される。急性炎症は、急激な炎症反応が短期間(数日～数週間)で収束することを特徴とし、感染性因子や損傷に対する重要な防御応答反応である。一方で、慢性炎症は、緩慢な炎症反応が長期間(数ヶ月～数年)持続することを特徴とする。慢性炎症は、アテローム性動脈硬化症、糖尿病、潰瘍性大腸炎、癌、うつ病およびパーキンソン病のような中枢神経障害および認知障害などの様々な慢性疾患の発症や進展に関与する。炎症、特に慢性炎症を抑制することは、これらの疾患の発症予防や進展抑制に役立つものと考えられている。本研究の目的は、ウコン利用の一形態であるウコン熱水エキスの抗炎症作用について検証することであり、以下の3部から構成される。

本研究の第1部では、内皮細胞を使用した細胞試験を行い、TNF- α (tumor necrosis factor- α) が誘導する細胞接着分子の発現と単球の接着に及ぼすウコン熱水エキスの作用について検証した。炎症部位においては、TNF- α などの炎症性サイトカインの作用によって、内皮細胞の表面に細胞接着分子の発現が誘導され、細胞接着分子を認識した血中の単球が内皮細胞の表面に接着する。炎症部位に浸潤した単球は、マクロファージへと分化し、炎症部位での炎症反応を進展させる。したがって、内皮細胞の表面上に存在する細胞接着分子の発現および単球の内皮細胞への接着を抑制することは、炎症の進展を抑制する上で重要なポイントであると考えられている。そこで、ヒト臍帯静脈由来の血管内皮細胞である HUVEC (human umbilical vein endothelial cell) を使用した細胞試験を行い、TNF- α が誘導する3種の細胞接着分子 (VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule 1)、ICAM-1 (intercellular adhesion molecule 1)、E-selectin) の細胞表面上のタンパク質の発現と全タンパク質の発現、および単球の接着に及ぼすウコン熱水エキスの作用を検証した。また、その作用に関与する細胞内シグナル伝達経路として NF- κ B (nuclear factor κ B) 経路に着目し、当該経路に及ぼすウコン熱水エキスの作用を検証した。HUVEC をウコン熱水エキスで処理すると、TNF- α が誘導する VCAM-1、ICAM-1、E-selectin の細胞表面上のタンパク質の発現と全タンパク質の発現、および単球の接着が、処理濃度依存的に抑制された。また、HUVEC をウコン熱水エキスで処理すると、TNF- α が誘導する I κ B α (nuclear factor κ

B inhibitor) のリン酸化と分解が、処理濃度依存的に抑制された。本結果は、ウコン熱水エキスが内皮細胞の細胞接着分子の発現を抑制し、単球の内皮細胞への接着を抑制することを示し、その作用機序として、ウコン熱水エキスが NF- κ B 経路を抑制することを示唆するものである。

本研究の第 2 部では、マクロファージを使用した細胞試験を行い、LPS (lipopolysaccharide) が誘導する NO (Nitric oxide) の産生に及ぼすウコン熱水エキスの作用について検証し、さらにウコン熱水エキスに含有される成分の作用について検証した。炎症部位において、LPS などで活性化されたマクロファージは、NO や炎症性サイトカインなどの炎症メディエーターを産生、放出して周辺の細胞に作用し、炎症反応を進展させる。したがって、活性化したマクロファージが産生する炎症メディエーターを抑制することは、炎症の進展を抑制する上で重要なポイントであると考えられている。そこで、マクロファージ細胞株 RAW264.7 を使用した細胞試験を行い、LPS が誘導する NO の産生に及ぼすウコン熱水エキスの作用について検証した。さらに、ウコン熱水エキスを分画した後に各画分の活性を評価し、活性画分に含有される成分を単離・同定して、各成分の作用を検証した。活性画分から 8 つの成分を単離し、1 つの新規成分：(6S)-2-methyl-6-(4-hydroxymethyl-phenyl)-2-heptene-4-one (2) を同定し、4 つの既知成分：(6S)-2-methyl-6-(4-hydroxyphenyl)-2-heptene-4-one (4)、bisabolone-4-one (5)、curcumenone (6)、および turmeronol A (8) を同定し、3 つの成分：2-methyl-5-hydroxy-6-(3-hydroxy-4-methylphenyl)-2-heptene-4-one (1)、2-methyl-6-(2,3-epoxy-4-methyl-4-cyclohexene)-2-heptene (3)、および 4-methylene-5-hydroxybisabolene-2,10-diene-9-one (7) の平面構造を決定した。1, 4, 7, 8 には濃度依存的な NO と PGE2 (prostaglandin E2) の産生抑制作用が認められ、それ以外には濃度依存的な NO の産生抑制作用が認められた。本結果は、ウコン熱水エキスがマクロファージの NO 産生を抑制することを示し、ウコン熱水エキスの抗炎症作用に寄与する成分を一部示すものである。またこれらの結果は、ウコンエキスの抗炎症作用は、単体では微弱ながら多数存在する活性成分が集積・相互作用した結果表出することを示唆するものであると考えられる。

本研究の第 3 部では、健常者を対象とした臨床試験を行い、健常者の気分状態に及ぼすウコン熱水エキスの作用について検証した。疲労やうつなどの気分障害は、中枢神経系や全身における炎症と密接に関連していることが報告されており、抗うつ薬の新しいアプローチとして、炎症の抑制が提唱されている。第 1 部、第 2 部での細胞試験で検証されたウコン熱水エキスの抗炎症作用をもとに、ウコン熱水エキスが気分状態の改善作用を発揮することが期待されたので、健常者を対象とした臨床試験を実施し、当該作用について検証した。48 名の健常者を対象として、無作為化二重盲検プラセボ対照並行群間比較臨床試験を実施した。被験者を無作為に 3 群に割り付け、150 mg のウコン熱水エキスを含む錠剤 (L-WEC 群)、900 mg のウコン熱水エキスを含む錠剤 (H-WEC 群)、またはプラセボの錠剤 (プラセボ群) を毎日 8 週間摂取させた。7 種の異なる気分状態を測定するためのアンケートである POMS (profile of mood states) を用いて、被験者の気分状態を 4 週間ごとに測定した。介入前から介入後 8 週目までの「疲労」スコアの変化量は、L-WEC 群の方がプラセボ群よりも有意に低かった。この結果は、150 mg のウコン熱水エキスを毎日摂取することで、疲労を改善する可能性があることを示唆するものである。

本研究の第 1 部、第 2 部では、2 種類の細胞試験を実施して、ウコン熱水エキスの (1) 内皮細胞の細胞接着分子の発現を抑制し、単球の内皮細胞への接着を抑制する作用、および (2) マクロファージの NO の産生を抑制する作用を実証し、ウコン熱水エキスの抗炎症作用を一部明らかにした。また本研究の第 1 部では、(1) の作用が NF- κ B シグナル伝達経路の抑制に起因することが示唆され、ウコン熱水エキスの抗炎症作用の機序を一部明らかにした。さらに本研究の第 2 部では、(2) の作用を有する成分をウコン熱水エキスから単離・同定し、ウコン熱水エキスの抗炎症作用に寄与する成分を一部明らかにした。最後に、本研究の第 3 部では、健常者を対象とした臨床試験を実施し、ウコン熱水エキスの気分状態に対する作用を評価し、ウコン熱水エキスの摂取が疲労を改善する可能性があることが示唆された。当該作用がウコン熱水エキスの抗

炎症作用に起因するのかどうか、今後精査する必要があるが、ウコン熱水エキスの抗炎症作用をヒトに応用することに対し、期待がもたれる結果が得られたと考えられる。