

遺伝子発現調節機能からみた緑茶の効能研究

Studies on health-promoting effects of green tea based on its modulation of gene expression

伊勢村 護

Mamoru ISEMURA

生活健康科学研究科食品栄養科学専攻 客員教授
Visiting Professor, Division of Food and Nutritional Sciences, Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences, University of Shizuoka

Profile

2006年 静岡県立大学大学院生活健康科学研究科客員教授
2006年 静岡県立大学退職、名誉教授
1987年 静岡県立大学食品栄養科学部教授
1980年 東北大学医学部助教授
1968年 大阪大学理学部助手
1968年 大阪大学大学院理学研究科博士課程修了(理学博士)
1963年 大阪大学理学部高分子学科卒業

2006 Visiting Professor, University of Shizuoka
2006 Professor Emeritus, University of Shizuoka
1987 Professor, School of Food and Nutritional Sciences, University of Shizuoka
1980 Associate Professor, School of Medicine, Tohoku University
1968 Research Associate, Faculty of Science, Osaka University
1968 Ph. D., Osaka University
1963 Graduated from Faculty of Science, Osaka University

Contact

T E L 054-264-5824
+81-54-264-5824
e-mail isemura@u-shizuoka-ken.ac.jp
U R L http://sfns.u-shizuoka-ken.ac.jp/~nissin/index.html

序論

緑茶が癌や糖尿病といった生活習慣病の予防に役立つことを示す結果が多く得られているが、作用メカニズムについてはさらに詳しい研究が必要である。本研究では緑茶効能の発現メカニズムを、細胞レベル、動物実験レベル、遺伝子レベルでの解析を通して追究することを目的とした。糖尿病では空腹時の血糖上昇が病状進展に関与するので、糖新生の抑制がこの進展予防に有効であると考えられる。すでに緑茶や緑茶カテキンの主要成分であるエピガロカテキンガレート(EGCG)の経口摂取がマウス肝における糖新生系酵素であるグルコース-6-ホスファターゼ(G6Pase)やホスホエノールビルベートカルボキシキナーゼ(PEPCK)の遺伝子発現を抑制することを明らかにした。今回さらに詳しい解析を行ない、脂質代謝系に対する緑茶成分の効果についても検討した。

成果

緑茶やEGCGをラット肝腫瘍H4IIE細胞培養系に加えると、G6PaseおよびPEPCKの遺伝子発現が低下した(図1)。このとき、転写因子HNF4αの遺伝子発現も低下していた(図1)。インスリンも同様の効果を示したことから、緑茶やEGCGはHNF4αの発現を抑制することによって、プロモーター領域にHNF4α結合部位をもつG6PaseおよびPEPCKの遺伝子の発現を抑制することが初めて明らかになった。EGCGなどのカテキンを含まない緑茶のEGCG-不含画分のH4IIE細胞に対する作用を調べた結果、EGCGやインスリンと同様にHNF4α発現を抑制して2つの糖新生系酵素の遺伝子の発現を抑制することがわかった。EGCGの作用は還元剤N-アセチルシステイン(NAC)により阻害されたのに対し、この画分の作用はNACにより阻害されなかった。緑茶にはEGCGとは作用メカニズムが異なる抗糖尿病作用をもつ成分が含まれていると考えられる。このEGCG-不含画分をマウスに4週間経口投与した結果、血糖値は有意差はないものの低下傾向を示し、血漿トリグリセリド値およびコレステロール値は有意に低下していた(表1)。EGCG-不含画分投与マウスの肝では、脂肪酸合成酵素、4-ヒドロキシメチルグルタリルCoA還元酵素、アセチルCoAカルボキシラーゼなどの脂質代謝関連酵素の遺伝子発現の有意な低下が認められ、これらの遺伝子発現を調節する転写因子SREBF-1およびSREBF-2の発現も低下していた(図2)。

展望

今回得られた結果より、緑茶やその成分は、糖質、脂質代謝に関係する転写因子に作用して、糖尿病、肥満、動脈硬化などに関係する酵素遺伝子の発現を抑制し、こうした疾病の予防に役立つものと考えられる。EGCG以外の緑茶成分にも有用な活性があることが明らかになったので、今後こうした成分を特定することにより、疾病予防に有効な薬剤やサプリメントの開発が進むものと思われる。

Introduction

Green tea has been regarded to possess biological activities including anti-cancer and anti-obesity effects, but many of its action mechanism remain to be determined. We have demonstrated that green tea and (-)-epigallocatechin gallate (EGCG), a major component of green tea catechins, repress the gene expression of gluconeogenic enzymes, glucose-6-phosphatase (G6Pase) and phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK), suggesting a beneficial effect of green tea on type 2 diabetes, since the disease is associated with enhanced glucose production in the post-absorptive state.

Results

In the present study, we found that inclusion of green tea, EGCG or an EGCG-free fraction of green tea in the culture medium of rat hepatoma H4IIE cells resulted in inhibition of the gene expression of G6Pase and PEPCK together with the decreased gene expression of HNF4α, a key transcription factor for the gene expression of gluconeogenic enzymes (Fig. 1). The mice given oral administration of the EGCG-free fraction showed the significant decrease in the hepatic gene expression of G6Pase and PEPCK, insignificant decrease in the plasma glucose level and significant decrease in the plasma triglyceride and cholesterol levels (Table 1). The hepatic gene expression of lipogenic enzymes such as fatty acid synthase and 4-hydroxymethylglutaryl CoA reductase was found to be decreased together with the decreased mRNA levels of SREBFs, key transcription factors for the gene expression of lipogenic enzymes (Fig. 2).

Perspectives

The present findings suggest that green tea is beneficial for the prevention of diabetes, obesity and hypercholesterolemia by inhibiting the hepatic expression of gluconeogenic and lipogenic enzymes through repressing the gene expression of respective transcription factors playing central roles in their gene expression. The identification of an active compound in the EGCG-free fraction may open the way to developing a new drug for these diseases.

	0%	0.2%	0.5%
Glucose (mg/dl)	165.2±9.1	152.5±1.3	144.6±6.9
Triglycerides (mg/dl)	164.7±20.1	128.94±10.4	101.13±10.2*
Cholesterol (mg/dl)	107.8±3.7	94.24±2.4*	92.18±2.7*

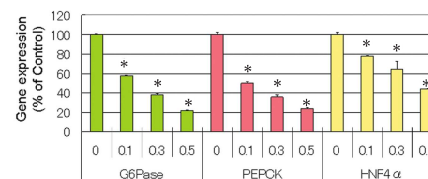
*Significantly different from the 0% group at p<0.05

[表1]

緑茶EGCG-不含画分(0.2%または0.5%)4週間投与マウスの血漿グルコース、トリグリセリド、コレステロール値。

[Table 1]

Plasma glucose, triglycerides and cholesterol levels in mice given a diet containing an EGCG-free green tea fraction (0.2% or 0.5%) for 4 weeks

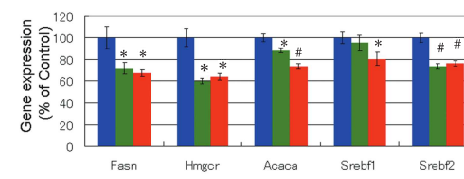


[図1]

H4IIE細胞におけるG6Pase、PEPCKおよびHNF4αの遺伝子発現に対する緑茶の影響。細胞培養液20 mlあたり0.1, 0.3, 0.5 mlの緑茶を加え、4時間培養した。各mRNAレベルをβ-アクチンで補正し、緑茶0(コントロール)の時の値を100%として平均値±標準誤差で表した。*p<0.05(対コントロール)

[Figure 1]

Effects of green tea on the gene expression of G6Pase, PEPCK and HNF4α. H4IIE cells were incubated for 4 h in the presence of green tea (0.1, 0.3 and 0.5ml/20ml culture medium). The results were normalized using the level of β-actin, and are expressed as the mean ± SE relative to that for control (0, 100%).



[図2]

緑茶EGCG-不含画分投与マウスの肝における脂質代謝系酵素の遺伝子発現。マウス(n=5)に0.2% (緑)および0.5% (赤)のEGCG-不含画分を含む飼料を4週間与えた。各mRNAレベルをβ-アクチンで補正し、通常食(コントロール、青)の時の値を100%として平均値±標準誤差で表した。Fasn, 脂肪酸合成酵素; Hmgcr, 4-ヒドロキシメチルグルタリルCoA還元酵素; Acaca, アセチルCoAカルボキシラーゼ; Srebf, ステロール応答要素結合因子。*p<0.05, #p<0.01(対コントロール)

[Figure 2]

Effects of the EGCG-free fraction (GT-W) on the hepatic gene expression of lipogenic enzymes and related transcription factors. The mice (n=5) were given a diet containing 0.2% (green bar) or 0.5% (red bar) GT-W and hepatic gene expression was determined by Q-PCR. The results were normalized using the level of β-actin, and are expressed as the mean ± SE relative to that for control mice given a normal diet (100%, blue bar). Fasn, fatty acid synthase; Hmgcr, 4-hydroxymethylglutaryl CoA reductase; Acaca, acetyl CoA carboxylase; Srebf, sterol response-element binding factor. *Significantly different from the control at p<0.05, #Significantly different from the control at p<0.01.

代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

1. Y. Suzuki, N. Miyoshi, [M. Isemura](#): Health-promoting effects of green tea. *Proc. Japan Acad., Ser. B*, in press (2012)
2. K. Yasui, N. Paeng, N. Miyoshi, T. Suzuki, K. Taguchi, Y. Ishigami, R. Fukutomi, S. Imai, [M. Isemura](#), T. Nakayama: Effects of a catechin-free fraction derived from green tea on gene expression of enzymes related to lipid metabolism in the mouse liver. *Biomed. Res.*, in press (2012)
3. K. Yasui, H. Tanabe, N. Miyoshi, T. Suzuki, S. Goto, K. Taguchi, Y. Ishigami, N. Paeng, R. Fukutomi, S. Imai, [M. Isemura](#): Effects of (-)-epigallocatechin-3-O-gallate on expression of gluconeogenesis-related genes in the mouse duodenum. *Biomed. Res.*, 32, 313-320 (2011)
4. K. Yasui, N. Miyoshi, H. Tanabe, Y. Ishigami, R. Fukutomi, S. Imai, [M. Isemura](#): Effects of Oolong tea on gene expression of gluconeogenic enzymes in the mouse liver and in rat hepatoma H4IIE cells. *J. Med. Food*, 14, 930-938 (2011)
5. K. Yasui, N. Miyoshi, H. Tanabe, Y. Ishigami, R. Fukutomi, S. Imai, [M. Isemura](#): Effects of a catechin-free fraction derived from green tea on gene expression of gluconeogenic enzymes in rat hepatoma H4IIE cells and in the mouse liver. *Biomed. Res.*, 32, 119-125 (2011)
6. K. Yasui, H. Tanabe, N. Okada, R. Fukutomi, Y. Ishigami, [M. Isemura](#): Effects of catechin-rich green tea on gene expression of gluconeogenic enzymes in rat hepatoma H4IIE cells. *Biomed. Res.*, 31, 183-189 (2010)