

論文内容要旨

Carnosic Acid and Carnosol Activate AMPK, Suppress Expressions of Gluconeogenic and Lipogenic Genes, and Inhibit Proliferation of HepG2 Cells

(ローズマリー抽出物のカルノシン酸およびカルノソールは培養肝細胞において AMPK を活性化し、糖新生・脂質合成関連遺伝子の発現や細胞増殖を抑制する)

International Journal of Molecular Sciences,
22(8):4040, 2021.

主指導教員：浅野 知一郎 教授

(医系科学研究科 医化学)

副指導教員：稲葉 俊哉 教授

(原爆放射線医科学研究所 がん分子病態)

副指導教員：中津 祐介 講師

(医系科学研究科 医化学)

長谷井 竣

(医系科学研究科 医歯薬学専攻)

【背景】

ローズマリーは古くから香辛料や薬草として使用されており、解毒作用や抗酸化作用、血行改善作用、炎症抑制作用など多くの効能を有し、糖尿病や脂肪肝などを含む様々な代謝疾患に対する治療的側面を有している可能性があり注目されている。

これまでにローズマリー抽出物の成分である *carnosic acid* (CA)、*carnosol* (CL)、*rosmarinic acid* (RA) の代謝改善作用に関して、特に骨格筋で AMPK を介して問う取り込みを亢進させることが報告されている (*Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2016, *Int J Mol Sci.* 2018, *Molecules.* 2017)。一方で、その肝臓における作用に関しては、マウスを用いた実験で脂肪肝改善作用が複数報告されているものの、その機序については CA が PPAR γ 発現低下を介して肝脂肪蓄積を抑制するが AMPK に依らず EGFR/MAPK 依存的である (*J Gastroenterol.* 2012) という報告もあり、AMPK の寄与については不明な点が多い。

また、ローズマリー抽出物の抗腫瘍効果については多くの報告があるが、CL が AMPK 活性化を介して前立腺癌細胞株の増殖抑制効果を示すという報告 (*Pharm Res.* 2008) 以外には AMPK を介する機序についての報告はほとんどない。

これらのことから私は HepG2 細胞を用いて CA、CL の AMPK を介した培養肝細胞での糖代謝や脂質代謝、細胞増殖に対する影響について検討を行った。

【方法・結果】

はじめにローズマリー抽出物 (RM-21B base) の AMPK 活性化を C2C12 細胞 (myotube) で確認したところ、濃度依存的に AMPK の活性化がみられた。またローズマリー抽出物に含まれる主要な構成成分である CA、CL、RA について AMPK の活性化を評価したところ、CA、CL でのみ濃度依存的に AMPK の活性化がみられた。そこで以降の実験では、CA、CL 共に AMPK が活性化した最低濃度 (10 μ M) を用いて実験を行った。

我々は以前に AMPK 活性化が糖新生抑制に働くことを報告している (Horike N, et al. *J Biol Chem.* 2008) が、CA、CL 添加により Forskolin 刺激時の糖新生律速酵素遺伝子 (Pck1、G6pc) の誘導が抑制され、ルシフェラーゼアッセイでの検討においても Pck1 promoter 活性の抑制が認められ、CA、CL は糖新生を抑制することが示唆された。

次に脂肪酸合成や脂肪酸酸化に及ぼす影響について評価を行った。肝がん細胞株 HepG2 を CA、CL とともに 24h incubation し脂肪酸合成及び脂肪酸酸化に関わる遺伝子発現量を検討したところ、CA、CL の添加によって脂肪酸合成に働く FAS、ACC1、SREBP-1c の発現量は減少し、一方で脂肪酸酸化に働く CPT1a の発現量は増加傾向を示し、AMPK 阻害剤 Compound C の添加によって cancel された。以上から CA、CL は脂肪酸酸化を亢進し脂肪酸合成を抑制するのではないかと示唆された。

さらに CA、CL の細胞増殖への影響について HepG2 を用いて検討した。MTT assay での添加 24h 後の細胞の生存率は、CA、CL 投与群では低下し、Compound C の添加により回復した。また CA、CL 添加により AMPK 依存的な p53 リン酸化の亢進及び mTORC1 活性の低下が認められ、CA では cleaved caspase-3 の発現増加も見られ apoptosis 亢進も示唆された。以上から

CA、CLはAMPK依存的にp53を活性化、mTORC1活性を抑制することで、細胞増殖抑制に働く可能性が示唆された。

【結論】

ローズマリー抽出物の成分である *carnosic acid*、*carnosol* は糖新生抑制、脂肪酸合成抑制、脂肪酸酸化亢進作用ならびに細胞増殖抑制作用を呈し、少なくともその機序の一部はAMPK依存的であると示唆された。