

## プロポリスの成分 カフェ酸フェネチルエステル (CAPE)

Francesca Borrelli and Francesco Capasso

種々の植物からミツバチによって生産された天然物質プロポリスは、火傷、傷やその他の皮膚疾患治療用の皮膚科領域の製剤・製品として用いられてきた。近年では、さらに内科領域を含めて、胃腸管系の潰瘍、心臓疾患、糖尿病やガン治療への利用が提唱されつつある。

プロポリスには、約 180 に及ぶ化合物が含まれ、その中のひとつにカフェ酸フェネチルエステル (CAPE) がある。CAPE とその関連化合物はプロポリス中に約 19% の濃度で存在する。エステル分画の 14% はカフェ酸ベンジルエステルで、1~5% が CAPE である。ただ、ある試料にはまったく含まれず、またあるものでは含有量が 10% 近くに達することもある。

プロポリス同様、CAPE はガン細胞に対する細胞障害性を示し、有意な抗炎症性や抗酸化作用をもつ。そのため CAPE を規格成分としたプロポリス抽出物は、数種の疾患やガンの予防において理想的な治療薬になり得る。現状での問題は規格化された抽出物がまだ商業的に入手できる状況にはないことである。

本稿では CAPE の主な作用について概観してみたい。

### 抗ガン作用

最近の研究では、げっ歯類やヒトの種々の腫瘍細胞に対して有効な細胞障害性を持つことが示されてきた (IC<sub>50</sub> 値 1~35  $\mu$ M)。通常細胞に比べ、ガン化した繊維芽細胞やメラニン形成細胞に対して選択的に有毒で、CAPE の細胞障害性はガン細胞に特異であると考えられる (Grunberger et al., 1988)。

CAPE はヒト白血病の HL-60 細胞 (Chen

et al., 1996) や異なる口ガン細胞 (Lee et al., 2000) の増殖を阻害することから、数種のガンにおいて予防的効果を示す可能性がある。Huang et al. (1996) は、ニトロソアミンで誘導したマウス皮膚の発ガン促進部への CAPE の強力な抑制効果を示した。さらに CAPE はアゾキシメタンで誘導したラットの結腸の前ガン状病変 (異常小囊腺病巣) の形成を軽減させた (Rao et al., 1993; Borrelli et al., 2002 a)。Mahmoud et al. (2000) は遺伝的にガン化傾向にあるマウスで CAPE のガン予防の有効性を研究し、食餌レベルで 0.15% 濃度の CAPE がガン形成を 63% 減少することを示した。CAPE によって腫瘍の抑制が見られた動物の腸管の剖検から、この効果は、腸囊腫の細胞死 (アポトーシス) の増加を伴うことが明らかになった。CAPE はフリーラジカルの生成を通じてガン化細胞の「死ぬ」シグナルの上昇と「死なない」シグナルの減少を促し、それによって細胞死を誘導できる (Chaio et al., 1995)。Rao et al. (1993) によって CAPE の経口投与 (45mg/kg) が発ガン剤処理したマウスの結腸や肝臓において TPK (チロシンプロテインキナーゼ) の活性も抑制する。また CAPE の他、誘導体であるフェニルエチルジメチルカフェ酸も、20, 30  $\mu$ M 濃度でヒト結腸ガン細胞の TPK 活性をそれぞれ 43%, 48% にまで抑制した (Rao et al., 1992)。

CAPE はクルクミンやゲニステインのように、VEGF (血管内皮成長因子) 生産における、EGF (上皮性成長因子) や PDGF (血小板誘導体成長因子) のような成長因子の刺激効果も減少させた (Zheng et al., 1995)。VEGF は血管形成において主要な役割を果たすが、高濃度に

表1 CAPEの抗ガン作用の可能性

CAPEの作用	作用の詳細
抗酸化作用	<i>in vitro</i> におけるアポトーシスは酸化促進機構（細胞に対する酸化損傷）によって誘導される
<i>in vitro</i> におけるアポトーシス誘導	
チロシンプロテインキナーゼ（TPK）阻害	CAPEはTPKレセプターへの成長因子の結合ではなく、TPKそのものを阻害する
プロテインキナーゼC（PKC）の抑制	
核転写因子（NF- $\kappa$ B）阻害	CAPEは抗酸化作用なしでNF- $\kappa$ B作用を阻害する
血管形成阻害	CAPEは血管形成因子（血管内皮増殖因子 VEGF, エイコサノイド, 腫瘍壊死因子 TNF など）の産生や活性を遮断する
細胞遊走, 転移, ヒアルロニダーゼ阻害	
免疫システムの刺激	CAPEはナチュラルキラー細胞による攻撃に対する腫瘍細胞の感受性をあげ、腫瘍の発現と関係のある抗原, ヒト黒色腫や脳のガン細胞系を <i>in vitro</i> で誘導する
ギャップ結合の伝達の改善	CAPEはギャップ結合による細胞間コミュニケーションを強化し、破壊を防ぐ
ポリアミン類の抑制	ポリアミン類は複数のシグナル伝達経路の収束する中心的な役割を果たすことによって細胞増殖を導く。CAPEはガン細胞内のポリアミン濃度を減らす

なるとさまざまなガンの転移性を上昇させることが知られている。

CAPE以外の他のカフェ酸誘導体も抗ガン作用を持つ可能性はある。例えば、メチルカフェ酸はマウスに注入した肉腫細胞の増殖を抑制する (Inayama et al., 1984)。また、フェニルエチルジメチルカフェ酸は、試験管内試験ではCAPEよりさらに強力にヒト結腸ガン細胞の増殖を抑えた (Rao et al., 1992)。カフェ酸もフェニルエチルジメチルカフェ酸も細胞中でTPK効果を減ずる。こうしたCAPEの抗がんメカニズムの可能性について表1に示した。

CAPEの細胞毒性和抗がん作用は、その代謝産物のカフェ酸に由来する可能性がある。この化合物は細胞膜透過性が低いが、親油性アルコールでエステル化すると（例えばCAPE）取り込まれやすくなる。細胞内でCAPEは加水分解され、細胞増殖を抑制するカフェ酸となる（図1）。CAはまたガン細胞に作用して、化学療法薬（ドキソルビシン）への感剤性を高める。この効果は特に多剤抵抗性のガン細胞において特異的に発現するものである。

### 抗炎症作用

CAPEは急性や慢性のモデル炎症、ホルムアルデヒド誘導性、および抗原性補強剤誘導性関節炎、カラギーナンやプロスタグランジン E2

誘発性足浮腫炎症ないし空気嚢炎症、綿粒移植肉芽腫に対して抗炎症を示した (Michaluart et al., 1999; Borrelli et al., 2002b)。しかしCAPEの抗炎症作用の詳細な機構はまだ明らかではない。CAPEは、マウスのLPSあるいはA23187イオン透過孔を通じて刺激した腹膜マクロファージにおけるアラキドン酸代謝系のリボキシゲナーゼ経路を阻害し (Sud'ina et al., 1993; Mirzoeva and Calder, 1996)、COX-2遺伝子発現を活性化し (Michaluart et al., 1999)、あるいは細胞膜リン脂質からアラキドン酸を放出することは報告されている。CAPEは生理食塩水ないしLPS処理をしたラットの肺のホモジネート、あるいはJ774マクロファージにおけるCOX-1およびCOX-2遺伝子の活性を濃度依存的に阻害する (Rossi et al., 2002a, 2002b)。

核因子であるNF- $\kappa$ Bが炎症に関係する多くの遺伝子の発現を抑制することはほぼ完全に解明されている。CAPEは、腫瘍の壊死因子、ホルボールエステル、セラミド、過酸化水素、オカダ酸、ストレスまでを含む、広範な炎症原因で誘発されるNF- $\kappa$ Bの活性を抑制することができる（図1, Natarajan et al., 1996）。

Krol et al. (1996)はCAPEとその関連物質による抗炎症作用を、酢酸ミリスチン酸ホルボールで刺激した好中球が産生する活性酸素の消去能をルミノール反応強化した化学発光によ

って評価・測定し、CAPE の抗炎症作用は主に抗酸化作用によるものとしている。

### 他の生物活性

抗ガンや抗炎症作用以外の CAPE の生物学的特性についても近年報告が相次いでいる。

CAPE には HIV-1 インテグラーゼを阻止する活性がある (Fesen et al., 1993; Artico et al., 1998). また活性酸素の消去能も有する. 最近の研究では CAPE は  $\beta$ -メルカプトエタノールの自動酸化によって産生される活性酸素アニオン (スーパーオキシド) の形成を抑制できるらしい (Russo et al., 2002). 同様に CAPE はキサンチンオキシダーゼ活性や抗脂質過酸化性に有意な抑制を示す (Russo et al., 2002).

CAPE はウサギにおいて虚血性再灌流傷害から脊椎を守り (Ilhan et al., 1999), ラットにおいては腸管再灌流傷害を, 多形核白血球 (好中球, 好酸球, 好塩基球) を抑止して防いだ (Koltuksuz et al., 1999).

CAPE の血管への効果は, Cicala et al. (2003)

がラットから摘出した胸部大動脈を用いて詳細に調べ, フェニレフリンや塩化カリウムで収縮させたラットの胸部大動脈を CAPE が弛緩させることを確かめた. この CAPE の血管への効果は二重機構の可能性がある. ひとつは, NO 放出に伴うもので, 低濃度で活性化されるもの, もうひとつは高濃度で活性化され, 細胞内外のカルシウムイオンのやりとりを阻害することによるものである. これらの結果から CAPE およびプロポリスの予防的利用が, 胸部および胸腹部大動脈の動脈瘤の除去手術後の合併症を避ける上で有効であることが示唆された. さらに Maffia et al. (2002) の結果からは, CAPE の施与が NF- $\kappa$ B の活性を抑制することによって新内膜の形成を減少に導くと考えられ, ヒトの冠動脈再狭窄を防ぐ上での薬剤として適性があるという. Doganay et al. (2002) はラットの水晶体に塩化物で誘導した白内障を形成させ, これに対する CAPE の予防効果について有効性を確認している. この効果はグルタチオンとマロンジアルデヒド保護と協働するらしい.

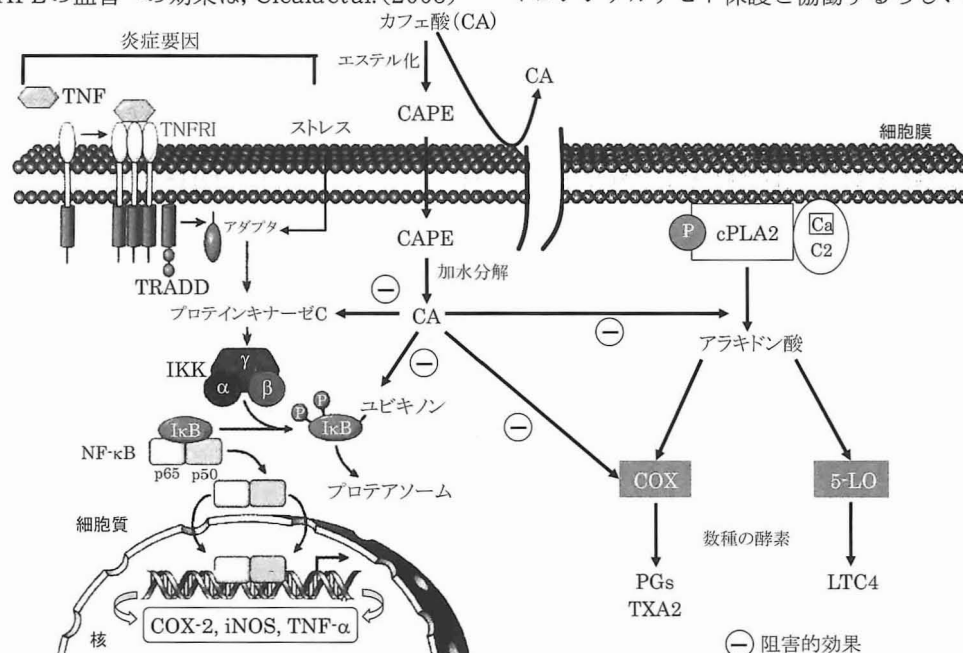


図1 カフェンフェネチルエステルとカフェ酸による抗腫瘍および抗炎症作用

5-LO: 5-リポキシゲナーゼ, COX: シクロオキシゲナーゼ, COX2: シクロオキシゲナーゼ 2, cPLA2: 細胞質性フォスホリパーゼ A<sub>2</sub>, IKK: I $\kappa$ B キナーゼ複合体, I $\kappa$ B: NF- $\kappa$ B 阻害タンパク質, iNOS: 誘導型酸化窒素シンターゼ, LTC<sub>4</sub>: ロイコトリエン C<sub>4</sub>, NF- $\kappa$ B: 核因子  $\kappa$ B, PGs: プロスタグランジン, TNF: 腫瘍壊死因子, TNF- $\alpha$ : 腫瘍壊死因子  $\alpha$ , TNFRI: TNF レセプター I, TRADD: TNFRI 協働ドメイン, TXA<sub>2</sub>: トロンボキサン A<sub>2</sub>, (Ub) s: ユビキノン

## まとめ

プロポリス中の成分であるCAPEは、広範な生物学的活性を示し、その中には、抗ガン作用、抗炎症作用、抗酸化作用、および抗微生物作用などが含まれる。正常細胞への有害な影響が見られないことから、医療上、有望と考えられる。(著者の住所は下記参照 翻訳 笠原 麗美)

## 引用文献

- Artico, M., R. Di Santo, R. Costi, E. Novellino, G. Greco, S. Massa, E. Tramontano, M. E. Marongiu, A. De Montis and P. La Colla. 1998. *J. Med. Chem.* 41: 3948-3960.
- Borrelli, F., A.A. Izzo, G. Di Carlo, P. Maffia, A. Russo and F. M. Macello. 2002a. *Fitoterapia* 73: 38-43.
- Borrelli, F., P. Maffia, L. Pinto, A. Ianaro, A. Russo, F. Capasso and A. Ialenti. 2002 b. *Fitoterapia* 73: 53-63.
- Chen, J. H., Y. Shao, M. T. Huang, C. K. Chin and C. T. Ho. 1996. *Cancer Lett.* 108: 211-214.
- Chiao, C., A. M. Carothers, D. Grunberger, G. Solomon, G. A. Preston and J. C. Barrett. 1995. *Cancer Res.* 55: 3576-3583.
- Cicala, C., S. Morello, C. Iorio, R. Capasso, F. Borrelli and N. Mascolo. 2003. *Life Sci.* (in press).
- Doganay, S., Y. Turkoz, C. Evereklioglu, H. Er, M. Bozaran and E. Ozerol. 2002. *J. Cataract Refract. Surg.* 28: 1457-1462.
- Fesen, M., Y. Pommier, F. Leteurtre, S. Hiroguchi, J. Yung and K. W. Kohn. 1994. *Biochem. Pharmacol.* 48: 595-608.
- Fesen, M. R., K.W. Kohn, F. Leteurtre and Y. Pommier. 1993. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 90: 2399-2403.
- Grunberger, D., R. Banerjee, K. Eisinger, E.M. Oltz, L. Efros, M. Caldwell, V. Estevez and K. Nakanishi. 1988. *Experientia* 44: 230-232.
- Huang, M. T., W. Ma, P. Yen, J.G. Xie, J. Han, K. Frenkel, D. Grunberger, A. and H. Conney. 1996. *Carcinogenesis* 17:761-765.
- Ilhan, A., U. Koltuksuz, S. Ozen, E. Zu, H. Ciralik and O. Akyol. 1999. *Eur. J. Cardiothorac Surg.* 16: 458-463.
- Inayama, S., K. Harimaya, H. Hori, T. Ohkura, T. Kawamata, M. Hikichi and T. Yokokura. 1984. *Chem. Pharm. Bull.* 32: 1135-1141.
- Koltuksuz, U., S. Ozen, E. Zu, M. Aydin, A. Karaman, A. Gultek, O.Akyol, M. H. Gursay and E.J.Aydin. 1999. *Pediatr. Surg.* 34:1458-1462.
- Krol, W., S. Scheller, Z. Czuba, T. Matsuno, G. Zydowicz, J. Shani and M. Mos. 1996. *J. Ethnopharmacol.* 55: 19-25.
- Lee, Y. J., P. H. Liao, W. K. Chen and C. Y. Yang. 2000. *Cancer Lett.* 153: 51-56.
- Maffia, P., A. Ianaro, B. Pisano, F. Borrelli, F. Capasso, A. Pinto and A. Ialenti. 2002. *Br. J. Pharmacol.* 136: 353-360.
- Mahmoud, N. N., A.M. Carothers, D. Grunberger, R. T. Bilinski, M. R. Churchill, C. Martucci, H. L. Newmark and M. M. Bertagnolli. 2000. *Carcinogenesis* 21:921-927.
- Michaluart, P., J. L. Masferrer, A. M. Carothers, K. Subbaramaiah, B. S. Zweifel, C. Koboldt, J. R. Mestre, D. Grunberger, P. G. Sacks, T. Tanabe and A. J. Dannenberg. 1999. *Cancer Res.* 59: 2347-2352.
- Mirzoeva, O. K. and P. C. Calder. 1996. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fat. Acids* 55: 441-449.
- Natarajan, K., S. Singh, T. R. Burke, D. Grunberger and B. B. Aggarwal. 1996. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 9090-9095.
- Rao, C. V., D. Desai, B. Simi, N. Kulkarni, S. Amin and B. S. Reddy. 1993. *Cancer Res.* 53: 4182-4188.
- Rao, C. V., D. Desai, B. Kaul, S. Amin and B. S. Reddy. 1992. *Chem. Biol. Interact.* 84: 277-290.
- Rossi, A., A. Ligresti, R. Longo, A. Russo, F. Borrelli and L. Sautebin. 2002a. *Phyto-medicine* 9: 530-535.
- Rossi, A., R. Longo, A. Russo, F. Borrelli and L. Sautebin. 2002b. *Fitoterapia* 73: 30-37.
- FRANCESCA BORRELLI and FRANCESCO CAPASSO. CAPE, a constituent of propolis : A mini review. *Honeybee Science* (2003) 24(2):67-70. Department of Experimental Pharmacology, University of Naples Federico II, Via D. Montesano 49, 80131 Naples, Italy.

Recently a great deal of attention has been focused on caffeic acid phenethyl ester (CAPE), an active component of propolis (honeybee resin). It has anti-inflammatory, anti-viral, anti-bacterial, antineoplastic and antioxidant properties and has been shown to inhibit the ornithine decarboxylase, protein tyrosine kinase and lipoxygenase activities. It has also been reported that CAPE suppresses lipid peroxidation and inhibits the activation of nuclear transcription factor NF- $\kappa$ B. Because of all these activities, CAPE could be used in medicinal therapy.