

令和元年6月17日現在

機関番号：15501

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K19909

研究課題名(和文)親電子アルデヒド消去能に基づく”第二の抗酸化物質”の探索と動物への有効性評価

研究課題名(英文) Screening of 'new generation' antioxidants and evaluation of their biological effects

研究代表者

真野 純一 (Mano, Jun'ichi)

山口大学・大学研究推進機構・教授

研究者番号：50243100

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：過酸化脂質が分解してできる親電子アルデヒド(RES-al)は糖尿病や神経変性疾患などに共通の原因物質である。本研究ではRES-alを消去する新奇物質のスクリーニングと単離を試みた。RES-al定量の従来法(HPLC法)を改善するため、蛍光試薬、発色試薬を用いた迅速定量法の開発を試みたが、いずれもRES-alとの反応が遅く、改善には至らなかった。植物材料58種のRES-al消去能を評価し、被子植物の広い系統に消去物質が存在することを見出した。高いRES-al消去能を示した植物から消去物質の精製を試み、逆相クロマトグラフィにより、きわめて親水性の高い画分に、熱に不安定な消去物質の存在を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、さまざまな疾病の原因物質であるRES-alを消去する新奇物質の探索と精製を試みた。植物種58種の抽出液のアクロレイン消去活性に基づく評価から、低分子のRES-al消去物質は被子植物の広い範囲に含まれていることが示された。近年、RES-al消去能を示すポリフェノールがイネなどから見出されている。本研究では異なる分類群に属する植物種で高いアクロレイン消去能を検出し、植物に多様なRES-al消去化合物が存在することが示唆された。食用とする植物にRES-al消去能が検出されたことから、この消去能を食品機能性の新たな指標として採用できる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：Lipid peroxide-derived reactive carbonyl species (RCS) are causal agents of various disorders such as diabetes and Alzheimer's disease. The purpose of this project was to discover RCS scavenging compounds in plants. Using acrolein as a typical RCS, we evaluated the capacity of protein-free extracts from plants to scavenge RCS. Fifty eight species of angiosperms showed various levels of RCS scavenging capacity, suggesting the presence of various types of RCS-scavenging compounds. From a plant material containing a high RCS-scavenging activity, we obtained active fractions. It appears that the RCS-scavenging components in these fractions were heat-sensitive and very hydrophilic.

研究分野：生化学

キーワード：酸化ストレス 過酸化脂質 アルデヒド消去物質 ヒドロキシノネナル アクロレイン 食品

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

糖尿病や神経変性疾患などの疾患に共通した原因として活性酸素の関与が明らかになっている。活性酸素を消去する抗酸化物はこれらの疾患の予防や治療に有効と考えられているがその臨床的な有効性は立証されていない。近年の研究から、活性酸素そのものだけでなく、活性酸素が細胞に作用して生じる過酸化脂質が分解してできる親電子アルデヒド(RES-al)も、生体分子を損傷し細胞に障害をもたらす要因であることが明らかになってきた。RES-alを消去する物質は「第二の抗酸化物」であり、新しい医薬開発に応用できる可能性が大きくなっていった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、天然物からRES-al消去能を指標として新しい抗酸化防御化合物の発見できることの実証である。これは新たな原理に基づく疾患予防物質の大規模探索への第一歩となる。段階的目標として、RES-al消去能の迅速評価法開発、植物材料のスクリーニングと、そこからの新奇RES-al消去化合物の同定を設定した。本研究によってRES-al消去物質探索から細胞防御作用をもつ化合物を発見できることが示されれば、新たな医薬につながる化合物探索戦略の有力な提案となる。また、RES-al消去能を食品機能性の指標とすることで、われわれの健康改善に役立つ物や食品の開発に利用できる。

3. 研究の方法

(1) RES-al 消去能の迅速評価法の開発

申請者はHPLCを用いた定量的なRES-al消去能評価法を考案し、数種の植物に高いRES-al消去能を見いだした。この方法はHPLCによるアクロレインの定量に基づいているが、HPLC法は時間と費用がかさむためRES-al消去物質の大規模スクリーニングには不相当である。アルデヒドを検出する発色試薬または蛍光試薬を用いる分光学的方法で、植物抽出液の色素に妨害されない条件(波長、反応時間、ネガティブコントロールの設定など)を確立し、96穴マイクロプレートを用いて多検体分析できる方法を確立する。

(2) 植物でのRES-al消去物質のスクリーニング

国内で入手可能な野菜、果物を材料として、RES-al消去能をスクリーニングする。

(3) RES-al 消去物質の精製

スクリーニングの結果に基づき、高いRES-al消去能をもつ植物材料(複数)から消去物質を精製し、構造決定する。

4. 研究成果

(1) RES-al 消去能の迅速評価法の開発

文献に基づき1,3-cyclohexanedione (CHD)および7-hydrazino-4-nitrobenzo-2,1,3-oxadiazole (NBD-H)を用いたアクロレイン定量を行ったが、これらの蛍光試薬はアクロレインとの反応終了まで3時間以上を要し、かつ蛍光はグルタチオンなどRES-al消去物質による影響を受けやすいことがわかった。またPurpaldを用いる発色法もアクロレインとの反応には3時間以上の継続した攪拌が必要であることがわかった。いずれの試薬も、迅速定量法に適していないことが判明した。

(2) 植物でのRES-al消去物質のスクリーニング

迅速定量法を開発できなかったため、RES-al消去能評価は従来のHPLC法で行うこととした。植物材料からアクロレイン消去能をもつ物質を単離するため、さまざまな植物材料(食用のものに限った)58種からの抽出液のアクロレイン消去能を評価した。これらの抽出液は除タンパク処理しているため、測定結果はその植物に含まれる低分子化合物によるアクロレイン消去能と見なすことができる。評価の結果、数種類の食用植物(野菜)が新鮮重量あたりのアクロレイン消去能で高い値

を示した。これ以外にも被子植物の広い系統にわたってアクロレイン消去能を示す種が分布していた。これは植物が多様なRES-al消去物質を有することを示唆している。本成果は論文執筆中である。

(3) RES-al 消去物質の精製

高いアクロレイン消去能を示した植物材料からアクロレイン消去物質の精製を試み、逆相フラッシュクロマトグラフィにより、きわめて親水性の高い画分にアクロレイン消去物質の存在を見出した。今後はさらに精製を継続し、純粋な物質を得て構造を決定する。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：井内 良仁

ローマ字氏名：Yoshihito Iuchi

所属研究機関名：山口大学

部局名：大学院創成科学研究科

職名：准教授

研究者番号(8桁): 60272069

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。