

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 7 日現在

機関番号：82610

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26870647

研究課題名(和文)メタボリック症候群改善化合物の合成と機能解析

研究課題名(英文) Synthesis of a new [6]-gingerol analogue and its protective effect with respect to the development of metabolic syndrome in mice fed a high-fat diet

研究代表者

岡本 真由美 (OKAMOTO, MAYUMI)

国立研究開発法人国立国際医療研究センター・その他部局等・上級研究員

研究者番号：40533104

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：ショウガの辛味成分である[6]-gingerol及び新しい[6]-gingerol誘導体の合成とそれらの生理活性に着目した。各化合物をマウスに経口投与・混餌投与すると、体重減少作用・血糖上昇抑制作用が認められた。さらに長期投与したマウスの組織のmRNAによりDNAマイクロアレイを行なったところ、血糖作用への分子機序解明の可能性が示唆された。  
また、[6]-gingerol結合タンパク質探索用リガンドを有機合成化学手法により合成し、結合タンパク質の同定を行なった。

研究成果の概要(英文)：To determine the effects of a [6]-gingerol analogue (6G), a major chemical component of the ginger rhizome, and its stable analogue after digestion in simulated gastric fluid, aza-[6]-gingerol (A6G), on diet-induced body fat accumulation, we synthesized 6G and A6G. Mice were fed either a control regular rodent chow, a high-fat diet (HFD), or a HFD supplemented with 6G and A6G. Supplementation with 6G and A6G significantly reduced body weight gain, fat accumulation, and circulating levels of insulin and leptin. The mRNA levels of sterol regulatory element-binding protein 1c (SREBP-1c) and acetyl-CoA carboxylase 1 in the liver were significantly lower in mice fed A6G than in HFD control mice. Our findings indicate that A6G, rather than 6G, enhances energy metabolism and reduces the extent of lipogenesis by downregulating SREBP-1c and its related molecules, which leads to the suppression of body fat accumulation.

研究分野：ケミカルバイオロジー

キーワード：ショウガ 体重増加抑制 血糖 ジンゲロール

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

申請者は2011年に、ショウガの成分の一つである[6]-gingerolとその新規[6]-gingerol誘導体に血糖値上昇抑制効果および体重増加抑制効果があることを明らかにした(Okamoto *et al.* *J. Med. Chem.* 2011) (Fig.1)。ショウガ(*Zingiber officinale*)はインドやタイに自生し、現地で血糖値の軽減、循環器・消化器の機能改善の目的に日常的に摂取されている。さらに多くの漢方薬の生薬としても汎用され、ショウガの薬効有用2大成分としてgingerolとshogaolが知られている。

さらに、天然のショウガより単離される(S)-[6]-gingerolの光学鏡像体である非天然型(R)-[6]-gingerolでは、血糖値上昇抑制作用がほとんど認められなかった(Fig.2)ことから、[6]-gingerolの構造活性相関によりその活性部位を決定する事が可能であると考えた。

### 2. 研究の目的

メタボリック症候群は内臓脂肪の蓄積を起因とする代謝性疾患の総称で、高血圧、高脂血症、糖尿病を発症する。申請者は、ショウガの成分の一つである[6]-gingerolおよびその類縁体に血糖上昇抑制作用及び低下作用、体重増加抑制効果を持つことを見出した。そこで本研究は、メタボリック症候群予防治療の創薬に資する活性物質を天然素材から探索し、そのヒット化合物から最適化を行い、リード化合物への合成展開を行うことを目的とした。

具体的な研究項目は、[6]-gingerol誘導体の構造活性相関による薬効作用、[6]-gingerol誘導体結合タンパク質の探索の2つである。

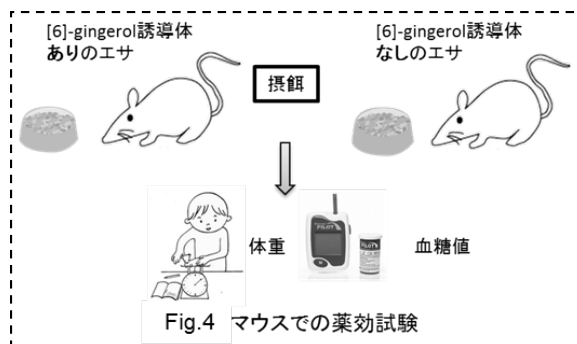
### 3. 研究の方法

本研究計画は(1)『マウスでの薬効・薬理試験』、(2)『分化誘導脂肪細胞およびマウスを用いての遺伝子発現解析』、(3)『標的分子探索のためのリガンド合成』、(4)『標的分子の探索・同定』の4つの要素を進める必要があった。これらを踏まえ、効率的な研究展開をするためには、(1)マウスでの薬効・薬理試験、(2)分化誘導脂肪細胞およびマウスを用いての遺伝子発現解析を行う第一段階、さらにそこで得られた成果をもとに、新たなリガンド設計を行い、(3)標的分子探索のためのリガンド合成と(4)標的分子の探索・同定を行う第二段階、といった2つに分けて進めた。

(1) マウス・細胞での薬効・薬理試験(各化合物をマウスに投与し、効果の検証)

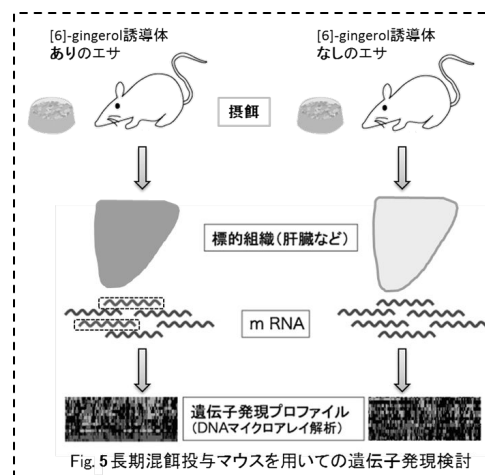
[6]-gingerol誘導体をマウスに経口投与または混餌投与し、体重・血糖値測定を行うことで、血糖上昇抑制作用・体重減少作用の検討を行った。野生型マウスに高脂肪食を負荷させる試験系では、『**糖尿病予防・**

**肥満予防**』としての薬効、肥満モデル・糖尿病モデルマウスに化合物群を投与する試験系では、『**糖尿病治療・肥満治療**』としての薬効を検証した。



(2) 分化誘導脂肪細胞およびマウスを用いての遺伝子発現解析

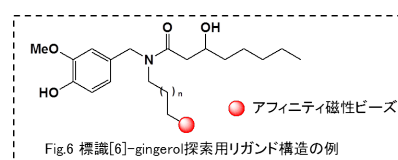
[6]-gingerol誘導体をマウスに長期混餌投与し、抽出した**標的組織(肝臓、脂肪、筋肉、血液)**のmRNAでDNAマイクロアレイを行うことで、**網羅的遺伝子発現解析**を行った。これにより、長期に化合物を摂取することで体内での**遺伝子発現がどのように変化しているか**が分かった。さらに、分化誘導脂肪細胞(3T3-L1株)に各化合物群を添加し、得られたmRNAによりDNAマイクロアレイ解析を行った。



(3) 新たなリガンド設計(標的分子探索用[6]-gingerol誘導体の合成)

複雑な生物活性を示すリガンドは、分子標的との相互作用という観点から見ると様々な標的と結合した。これまでに用いていた安定型[6]-gingerolの構造では、結合する標的分子を探索することが難しいため、**新たに標的分子探索用にリガンドを設計**する必要があった。近年大きく発展した**日本発の標的探索用テクノロジー**であるアフィニティ

磁性ビーズに正確



に固定できるように設計・合成した。

#### (4) 標的分子の探索・同定

アフィニティ磁性ビーズにより得られた標的タンパク質はLC-MS/MSなどで同定を行った。同定結果より新たなリガンド設計を行い、構造活性相関研究を行う。

#### 4. 研究成果

(1) マウス・細胞での薬効・薬理試験(各化合物をマウスに投与し、効果の検証)

野生型マウスに合成した[6]-gingerol及び[6]-gingerol誘導体を経口投与・混餌投与を行なった。長期投与により、体重増加抑制作用及び血糖上昇抑制作用、血糖減少作用が認められた。

また分化誘導脂肪細胞(3T3-L1細胞株)に各化合物を投与したところ、脂肪分化に関して[6]-gingerolが関与していることが示唆された。

(2) 分化誘導脂肪細胞およびマウスを用いたの遺伝子発現解析

(1)の結果より、長期投与マウスから摘出した標的臓器(肝臓、筋肉、脂肪、血液等)のmRNAを用いてDNAマイクロアレイを実施したところ、コントロール群と比較し、[6]-gingerol及び[6]-gingerol誘導体投与群に有意に変化があった遺伝子群が見つかった(論文作成中のためデータ非公開)。

また分化誘導脂肪細胞へ各化合物を投与した場合であっても、有意に変化が認められた。

(3) 新たなリガンド設計(標的分子探索用[6]-gingerol誘導体の合成)

(2)より[6]-gingerolが標的臓器に影響を与えていることが示唆されたので、新たなリガンド設計と合成を行うことにした。これまでの構造ではアフィニティ磁性ビーズとの結合が不可能であったためである。新たな構造により、[6]-gingerolアフィニティ磁性ビーズが作製でき、それを用いることで標的タンパク質の探索が可能となった。

#### (4) 標的分子の探索・同定

(3)で得られた[6]-gingerolアフィニティ磁性ビーズを用いて、標的タンパク質の探索を行い、数種類の標的候補となるタンパク質を同定した。各タンパク質と[6]-gingerolとの結合試験を行うことで、標的タンパク質を同定することに成功した。

今後は、リガンドの再設計により活性部位と標的タンパク質の関係が得られると考えている。また今回、得られた標的タンパク

質からのみでは、血糖減少作用までの分子機序への解明が明確にはできず、さらなる関連タンパク質の関与が示唆された。今後の課題である。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 7件)

Mayumi Okamoto, Kyosuke Naka, Kiichi Ishiwata, Isao Shimizu, Jun Toyohara, Synthesis and basic evaluation of 7-(3-[<sup>18</sup>F]fluoropropyl)-testosterone and 7-(3-[<sup>18</sup>F]fluoropropyl)-dihydrotestosterone. 査読有、*Annals of Nuclear Medicine*, **31**, 53-62 (2017). DOI: 10.1007/s12149-016-1130-7

Mayumi Okamoto, Hiromitsu Shibayama, Kyosuke Naka, Yuya Kitagawa, Kiichi Ishiwata, Isao Shimizu, Jun Toyohara. Optimization of the alkyl side chain length of fluorine-18-labelled 7 $\alpha$ -alkyl-fluoroestradiol. 査読有、*Nuclear Medicine and Biology*, **43**, 512-519 (2016). DOI: 10.1016/j.nucmedbio.2016.05.008

Jun Toyohara, Mayumi Okamoto, Hiroki Aramaki, Yuto Zaitzu, Isao Shimizu, Kiichi Ishiwata. (R)-[<sup>11</sup>C]Etoposide as a novel tracer for imaging enhanced P-glycoprotein function. 査読有、*Nuclear Medicine and Biology*, **43**, 52-62 (2016). DOI: 10.1016/j.nucmedbio.2015.09.001

Mari Shimura, Hideo Shindou, Lukasz Szyrwiel, Suzumi M. Tokuoka, Fumie Hamano, Satoshi Matsuyama, Mayumi Okamoto, Akihiro Matsunaga, Yoshihiro Kita, Yukihiro Ishizaka, Kazuto Yamauchi, Yoshiki Kohmura, Ryszard Lobinski, Isao Shimizu and Takao Shimizu, Imaging of intracellular fatty acids by scanning X-ray fluorescence microscopy. 査読有、*FASEB J.*, **30**, 4149-4158 (2016). DOI: 10.1096/fj.201600569R

Mayumi Okamoto, Kyosuke Naka, Yuya Kitagawa, Kiichi Ishiwata, Mitsuyoshi Yoshimoto, Isao Shimizu, Jun Toyohara. Synthesis and evaluation of

7-(3-[<sup>18</sup>F]fluoropropyl) estradiol. 査読有、*Nuclear Medicine and Biology*, **42**, 590-597 (2015).

DOI:

10.1016/j.nucmedbio.2015.03.005

Mayumi Okamoto, Keigo Kametani, Satori Kindaichi, Keijiro Fukunaga, Isao Shimizu, Ryo Fujino, Katsuhiko Takemoto. New evaluation study of enzymatic production of oligosaccharides from konjac glucomannan. 査読有、*FRAGRANCE JOURNAL*, **6**, 78-82 (2015)

DOI:なし

Koshi Machida, Takahiro Abe, Daisuke Arai, Mayumi Okamoto, Isao Shimizu, Nicole Voogd, Nobuhiro Fusetani, Yoichi Nakao. Cinanthrenol A, an Estrogenic Steroid Containing Phenanthrene Nucleus, from a Marine Sponge *Cinachyrella* sp. 査読有、*Organic Letters*, **16**, 1539-1541 (2014).

DOI: 10.1021/ol5000023

〔学会発表〕（計 10件）

岡本真由美, 酒井美帆, 俣田貴史, 清水功雄. ジンゲロールによる肥満改善効果. 2016年度日本農芸化学会大会. 2016年3月

Jun Toyohara, Hiroki Aramaki, Yuto Zaitu, Mayumi Okamoto, Seijiro Hosokawa, Isao Shimizu, Kiichi Ishiwata. Proposal of (R)-[<sup>11</sup>C]emopamil as a novel tracer for imaging enhanced P-glycoprotein function. Ninth Japan-China joint seminar on radiopharmaceutical chemistry. 2015年11月

豊原潤, 岡本真由美, 荒牧光紀, 根津優人, 清水功雄, 石渡喜一. P糖たんぱく質の機能亢進を画像化するPET薬剤としての(R)-[<sup>11</sup>C]Emopamilの基礎評価. 第55回日本核医学会学術総会. 2015年11月

Jun Toyohara, Mayumi Okamoto Hiroki Aramaki, Yuto Zaitu, Isao Shimizu,

Seijiro Hosokawa, Kiichi Ishiwata. Radiosynthesis and fundamental evaluation of (R)-[<sup>11</sup>C]emopamil as a novel tracer for imaging enhanced P-glycoprotein function in the brain. 28th Annual EANM Congress of the European Association of Nuclear Medicine 2015. 2015年10月

中喬介, 清水功雄, 岡本真由美, 石渡喜一, 豊原潤. 7 $\alpha$ -(3-[<sup>18</sup>F]fluoropropyl)teststeroneの開発. 第15回放射性医薬品・画像診断役研究会. 2015年9月

中喬介, 梅津光生, 岡本真由美, 石渡喜一, 豊原潤. 前立腺癌イメージングを目的とした7 $\alpha$ -[<sup>18</sup>F]Testosteroneプロープの開発. 10th Annual Meeting of Japanese Society for Chemical Biology. 2015年6月

Jun Toyohara, Mayumi Okamoto, Hiromitsu Shibayama, Kyosuke Naka, Yuya Kitagawa, Kiichi Ishiwata, Isao Shimizu. Structure activity relationships of <sup>18</sup>F-labeled 7 $\alpha$ -alkyl-estradiol derivatives. The 21th International Symposium on Radiopharmaceutical Sciences. 2015年5月

豊原潤, 岡本真由美, 芝山啓允, 中喬介, 北川雄也, 石渡喜一, 清水功雄. 放射性フッ素18標識7 $\alpha$ -alkyl-estradiol誘導体の構造活性相関. 日本薬学会第135回年会. 2015年3月

岩野新, 桑原朋子, 新関一馬, 岡本真由美. 全炭素の安定同位体標識化を指向したステロイド合成法の確立. 第6回日本安定同位体・生体ガス医学応用学会大会. 2014年10月

居堯, 岡本真由美, 清水功雄, 山上あゆみ, 小川健司, 中野雄司, 加藤孝一,

鈴木千恵, 菊池達矢, 張明栄. <sup>18</sup>F 標識  
のカスタステロンの合成とマウス  
PET による体内動態の評価. 第 14 回  
放射性医薬品・画像診断薬研究会.  
2014 年 9 月

〔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：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

岡本 真由美 (OKAMOTO, Mayumi)

国立研究開発法人国立国際医療研究セ  
ンター・研究所・上級研究員

研究者番号：40533104

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

### (4) 研究協力者

( )