

平成 30 年 5 月 28 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K18703

研究課題名(和文)代謝異常に関与する腸内炎症の食品成分を用いた予防・改善に関する研究

研究課題名(英文)Studies on the effect of food ingredients on prevention and improvement of metabolic disorder with enteral inflammation

研究代表者

高橋 春弥 (Takahashi, Haruya)

京都大学・農学研究科・助教

研究者番号：30750369

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：現代社会において肥満は深刻な問題として認識されている。そのため、肥満の予防・改善に有効な食品由来成分の同定及び機能解析は、国民の健康増進に寄与するうえで重要である。世界で最も食されている一つの野菜であるトマトは糖尿病のリスクを低減させることが知られているが、その作用機序については不明確な部分が多く残されている。本研究では、申請者はトマトに含まれる抗炎症成分に焦点を当て、研究を実施した。

本研究において、申請者らは多様な抗炎症成分がトマト中に含まれていることを見出した。また、これらが含まれるトマト抽出物をマウスに摂食させることで、炎症反応が抑制されることを示唆するデータを得た。

研究成果の概要(英文)：In the modern society, the obesity is recognized as a serious problem. Therefore, the identification of the ingredient derived from the food which is effective for the obese prevention and improvement and the functional analysis of the ingredient are important in contributing to the health promotion of the nation. Tomato is one of the most popular vegetables and is associated with a reduced risk of diabetes. However, the molecular mechanism underlying the effect of tomato on diabetes is unclear. In this study, I focused on anti-inflammatory compounds in tomato.

In this study, we showed that a large number of compounds were estimated as anti-inflammatory compounds. Furthermore, We obtained the in vivo data which suggested that a tomato extract inhibited inflammation.

研究分野：食品分析・機能学

キーワード：食品機能性 肥満予防 食品分析

1. 研究開始当初の背景

現在の飽食の社会において、肥満から生じる糖尿病や動脈硬化症、高血圧などの生活習慣病は我が国のみならず先進国を中心に深刻な問題として認識されている。そのため、この問題の根幹をなす糖・脂質代謝異常の予防・改善は急務の課題である。糖・脂質代謝異常が生じている状況下では、脂肪組織等において慢性的な炎症反応が観察されることが国内外多数の先行研究より見出されている。そのため、生活習慣病の予防・改善にはこれらの慢性的な炎症の抑制が重要である。

肥満によって引き起こされる糖・脂質代謝異常の対処法としては薬剤による治療も挙げられるが、研究代表者らは食品中に含まれる有用な成分による脂質代謝異常の予防・改善に着目しこれまでに研究を行ってきた。その成果として、トマト果実より肝臓での脂質代謝を亢進させる成分を同定し、また、トマト果実抽出物に、脂肪細胞での慢性的な炎症を抑制する作用があることを見出した。抗炎症能を有する成分を食品中より同定することは、薬剤による生活習慣病の治療とは異なり、日々の食事をとおして生活習慣病発症を予防する新たな機能性食品を創出する観点から極めて重要である。

2. 研究の目的

近年になり、食品の消化・吸収器官として重要な腸内の慢性的な炎症と肥満との間に密接な関係があることが指摘され、腸炎症と脂肪組織での慢性的な炎症の相関を指摘する研究結果も報告されている。これらの知見より、生活習慣病の予防・改善には、肝臓での脂質代謝亢進や脂肪組織での慢性的な炎症の抑制に加え、摂取した食品が体内に吸収される最前線の臓器である腸内での慢性的な炎症を抑制することが重要であると考えに至った。

そこで、本研究では、糖・脂質代謝異常を誘発する腸内炎症の食品成分による抑制及びその作用メカニズムの解明を目的に研究を進めた。

3. 研究の方法

本研究目的である糖・脂質代謝異常を誘発する炎症の食品成分による抑制及びその作用メカニズムの解明を達成するため、研究方法は、次に示した4段階(3- ~ 3-)の実験から構成される。

3- . 機能成分の分析方法の確立

植物由来の機能性成分の分析方法について検討し、当該成分の分析系をLC-MSを活用し、検討した。

3- . トマト果実中からの新規抗炎症成分の単離・同定

トマト果実を凍結乾燥し、含まれている成分を乾燥物からエタノールにて抽出し、得られた抽出液を分配し、オープンカラムとHPLCを用いて含有成分を分離・精製(単離)した。単離した成分を、マクロファージ様培養細胞(RAW細胞)に添加し、炎症の指標となる一酸化窒素(NO)放出を抑制する成分をスクリーニングした。

抗炎症能を有する成分をLC-MSにて精密質量を測定することで当該成分の組成式を明らかにし、成分特定のため、代謝物データベース(KEGG等)を活用した。

3- . 3- で同定した成分の培養細胞レベルでの機能解析

炎症を誘発する因子を添加し、慢性的な炎症状態にある各種培養細胞に、3- で同定した抗炎症成分を添加し、各種炎症マーカーの指標を測定した。

3- . 3- で同定した成分の動物個体レベルでの有効性の評価

高脂肪食負荷により誘導される慢性的な炎症を発症したマウスを用いて、上述した成分を含むトマト抽出物の抗炎症能を評価した。

4. 研究成果

4- . 機能性成分の分析手法の確立

研究代表者が既に見出していた植物由来の機能性成分を活用し、分析方法について検討し、当該成分の分析系をLC-MSを活用することで確立した。

4- . トマト果実中からの有用成分の同定

トマト果実をエタノールで抽出後、酢酸エチル及び水で分配したところ、酢酸エチル抽出層に抗炎症活性を有することが判明した(Fig.1 B)。当該層をさらにヘキサン及び90%メタノールで分配した結果、双方の層に活性があることが判明した(Fig.1 C)ので、ヘキサン層及び90%メタノール層をそれぞれ、シリカゲルオープンカラムにて分画したところ、合計5種類の活性画分を得た(Fig.1 D, E)。これらをさらにHPLCを用いて細かく分画することで、多様な抗炎症成分を含有する画分を数多く得た(Fig.1 F)。また、当該画分中からLC-MSを活用し、成分を8種同定し、特に抗炎症能が優れている2種類の成分(9-oxo-octadecadienoic acid及びdaphnetin)を選定し、その作用機序について検討したところ、代謝異常惹起に關与するシグナル伝達経路を当該成分が阻害することで、その効果を発揮していることが示された。

4- . 有用成分を含んだトマト果実抽出物の機能性評価

4- で見出した機能性成分を含むトマト

抽出物を高脂肪食負荷条件下で飼育したマウスに摂食させる実験を行ったところ、トマト抽出物接触により、血糖値が有意に低下することを見出した (Fig.2)。また脂肪組織において炎症マーカーの遺伝子発現量が減少し、組織中から4- で同定した成分が検出されたことから、当該成分を含むトマト含有の様々な有用成分が腸管等を介し、各組織においてその効果を発揮している可能性が考えられた。

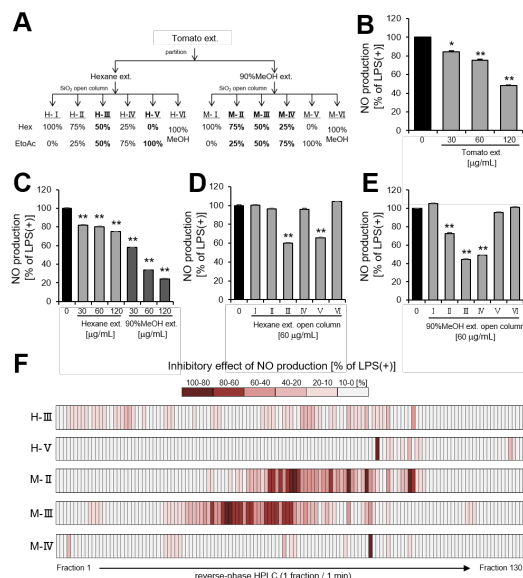


Fig.1 トマトからの有用成分探索
A) 分画工程. B) 分画前の粗抽出物の抗炎症能評価. C) ヘキサン層及び90%メタノール層での抗炎症能評価. D) ヘキサン層及び E) 90%メタノール層それぞれをオープンカラムで分離した後に得られた各画分の抗炎症能評価. F) D及びEで得られた活性画分をHPLCで分画して得られた各画分の抗炎症能評価
[PLOS One 13(1):e0191203 (2018) より引用]

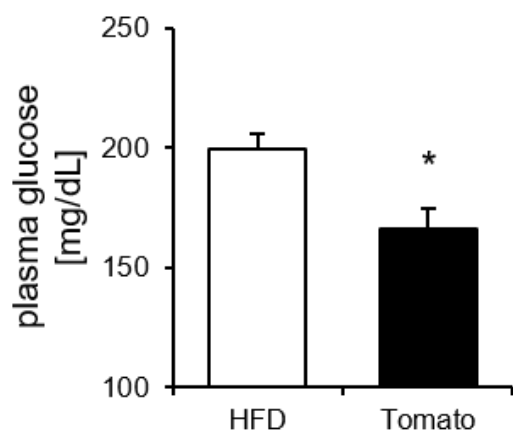


Fig.2 高脂肪食負荷マウス(HFD)及びトマト粗抽出物摂食マウス(Tomato)における血糖値測定結果。*P < 0.05 vs. HFD群
[PLOS One 13(1):e0191203 (2018) より引用]

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 2件) 全て査読有
Takahashi H, Chi HY, Mohri S, Kamakari K, Nakata K, Ichijo N, Nakata R, Inoue H, Goto T, Kawada T. Rice Koji Extract Enhances Lipid Metabolism through PPAR Activation in Mouse Liver. *J Agric Food Chem.* 2016 Nov 23; 64(46): 8848-8856.
Mohri S, Takahashi H, Sakai M, Takahashi S, Waki N, Aizawa K, Suganuma H, Ara T, Matsumura Y, Shibata D, Goto T, Kawada T. Wide-range screening of anti-inflammatory compounds in tomato using LC-MS and elucidating the mechanism of their functions. *PLoS One.* 2018 Jan 12;13(1): e0191203. doi: 10.1371/journal.pone.0191203.

- 〔学会発表〕(計 12件)
毛利 晋輔, 高橋 春弥, 坂井 麻衣子, 高橋 慎吾, 脇 尚子, 荒 武, 柴田 大輔, 相澤 宏一, 菅沼 大行, 田村 茂夫, 後藤 剛, 河田 照雄, 「LC-MSを用いたトマト果実中に含まれる抗炎症化合物の探索及び作用機序の解明」, 『2016年度日本栄養・食糧学会神戸大会』, 2016年
高橋 春弥, Hsin-Yi Chi, 毛利 晋輔, 鎌苅 浩介, 中田 啓司, 一條 範好, 中田 理恵子, 井上 裕康, 後藤 剛, 河田 照雄, 「麹中に含まれるPPAR活性化成分の探索及び機能解析」, 『2016年度日本食品分析学会東京大会』, 2016年
毛利 晋輔, 高橋 春弥, 坂井 麻衣子, 高橋 慎吾, 脇 尚子, 荒 武, 柴田 大輔, 相澤 宏一, 菅沼 大行, 田村 茂夫, 後藤 剛, 河田 照雄, 「LC-MSを用いたトマト果実中に含まれる抗炎症化合物の探索及び作用機序の解明」, 『2016年度日本食品分析学会東京大会』, 2016年
坂井 麻衣子, 毛利 晋輔, 高橋 春弥, 高橋 慎吾, 脇 尚子, 荒 武, 柴田 大輔, 相澤 宏一, 菅沼 大行, 後藤 剛, 河田 照雄, 「LC-MSを用いた抗炎症化合物のスクリーニングおよび作用機序の解明」, 『2016年度日本肥満学会東京大会』, 2016年
毛利 晋輔, 高橋 春弥, 坂井 麻衣子, 高橋 慎吾, 脇 尚子, 相澤 宏一, 菅沼 大行, 荒 武, 柴田 大輔, 後藤 剛, 河田 照雄, 「LC-MSを用いたトマト含有抗炎症化合物の広範囲スクリーニングおよび同定化合物における作用機序の解明」, 『日本農芸化学会京都大会』, 2017年
高橋 春弥, Hsin-Yi Chi, 毛利 晋輔,

鎌苅 浩介、中田 啓司、一條 範好、中田 理恵子、井上 裕康、後藤 剛、河田 照雄、「麹抽出物の脂質代謝改善作用に関する研究」、『日本農芸化学会京都大会』, 2017 年

【招待講演】高橋 春弥, 「LC-MS を用いた植物及び動物生体内の分析・機能解析」, 『大阪 MS フォーラム(主催:Waters社)』, 2016 年

【招待講演】高橋 春弥, 「LC-MS を用いた植物及び動物生体内の分析・機能解析」, 『東京 MS フォーラム(主催:Waters社)』, 2016 年

【招待講演】高橋 春弥, 「トマト成分の新たな健康機能の解明」, 『京都アカデミアフォーラム in 丸の内 京大テックフォーラム』, 2017 年

【招待講演】高橋 春弥, 「肥満・エネルギー代謝不全を惹起する慢性炎症と食品」, 『日本食物繊維学会シンポジウム』, 2017 年

【国際学会】Mohri S, Takahashi H, Sakai M, Takahashi S, Waki N, Aizawa K, Suganuma H, Ara T, Shibata D, Goto T and Kawada T, 「Screening for anti-inflammatory compounds in tomato extract by LC-MS analysis and elucidating the mechanism of their functions.」, 『2016 KoSFoST International Symposium and Annual Meeting』, 2016

【国際学会】Takahashi H, Mohri S, Sakai M, Waki N, Takahashi S, Suganuma H, Goto T, Kawada T and Shibata D, 「Screening for bioactive compounds in tomato extract and elucidating the mechanism of their functions.」, 『Wageningen University - Kyoto University International Exchange Program. Seminar on Food Science by Young Researchers』, 2016

〔図書〕(計 0 件)

該当無

〔産業財産権〕

該当無

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
該当無

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 春弥 (TAKAHASHI Haruya)
京都大学大学院農学研究科・助教
研究者番号： 3 0 7 5 0 3 6 9

(2) 研究分担者

該当者無
研究者番号： -

(3) 連携研究者

該当者無
研究者番号： -

(4) 研究協力者

毛利 晋輔 (MOHRI Shinsuke)
坂井 麻衣子 (SAKAI Maiko)
後藤 剛 (GOTO Tsuyoshi)
河田 照雄 (KAWADA Teruo)