

平成 22 年 5 月 31 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007～2009

課題番号：19580146

研究課題名（和文） 温度受容体 TRP 受容体を活性化する食品成分とエネルギー代謝

研究課題名（英文） Food components activating thermosensitive TRP receptors and their effects to energy metabolism

研究代表者

渡辺 達夫 (WATANABE TATUO)

静岡県立大学・食品栄養科学部・教授

研究者番号：10210915

研究成果の概要（和文）：19種の温熱・寒涼性食品から TRPV1 を活性化する成分を培養細胞系で探索し、温熱性食品のタマネギとミョウガ、寒涼性食品のコムギのヘキサン抽出物からモノグリセリドを見出した。ついで、コショウ中の TRPV1 活性化成分数種を同定した。また、マウスで肥満を誘発させる実験系でモノグリセリドおよびコショウが内蔵脂肪の蓄積を抑制する事を明らかにした。さらに、TRPA1 を活性化する成分を培養細胞で探索し、ニンニクとミョウガ、コショウ中に新たな活性化成分を見出した。

研究成果の概要（英文）：Food components activating TRPV1 were screened through 19 foods and found to be monoglycerides from hexane extracts of onion, myoga and wheat. Next, several TRPV1-activating compounds were discovered from black pepper hexane extract. Monoglycerides and black pepper were effective to reduction of visceral fat deposition in mice. Further, new compounds activating TRPA1 were searched out from garlic, myoga and black pepper.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：食品成分、TRPV1、TRPA1、エネルギー代謝、内蔵脂肪

1. 研究開始当初の背景

(1) 日本の食生活は、以前は高炭水化物食であったが、現在は欧米型の高脂肪食へと移行してきた。それに伴い、肥満者の人口は増加し続けている。肥満は生活習慣病の大きなリ

スクファクターであるが、エネルギー代謝の促進は肥満予防につながるものである。中医学では温熱性や寒涼性といった体温調節作用や体の働きを調節する効果のある食品が重要視されている。これらの温熱性・寒涼性

食品こそエネルギー代謝を亢進させる可能性が高い。しかし、温熱性・寒涼性食品の機能成分及びその作用標的はほとんど不明であった。

(2) 西洋医学の研究の中で温度センサーとして働くイオンチャネルとして TRP 受容体が報告された。これら温度感受性受容体こそ、薬膳の温熱性・寒涼性食品の作用標的である可能性が高い。

2. 研究の目的

(1) まず、TRPV1 と A1 に注目し、両受容体を活性化する食品成分群をそれぞれ明らかにすることを目的とした。温熱・寒涼性食品から TRPV1 を活性化する食品成分を探索する。また、温度感受性 TRP 受容体の中でも、TRPA1 は生体内で V1 と共発現していることが多く、TRPA1 を活性化する成分がエネルギー代謝に及ぼす影響について興味を持たれる。TRPA1 は、齧歯類では冷たさを受容していると考えられていて、ホットな感覚を伝える V1 との共存の意味や、エネルギー代謝への関与を明確にすることが大きな意義があると考えられる。現在構築を進めている TRPA1 発現細胞を速やかに樹立し、まず *in vitro* で活性化する食品成分を解明する。

(2) ついで *in vivo* での TRPV1・TRPA1 の活性をエネルギー代謝の関わりについて解

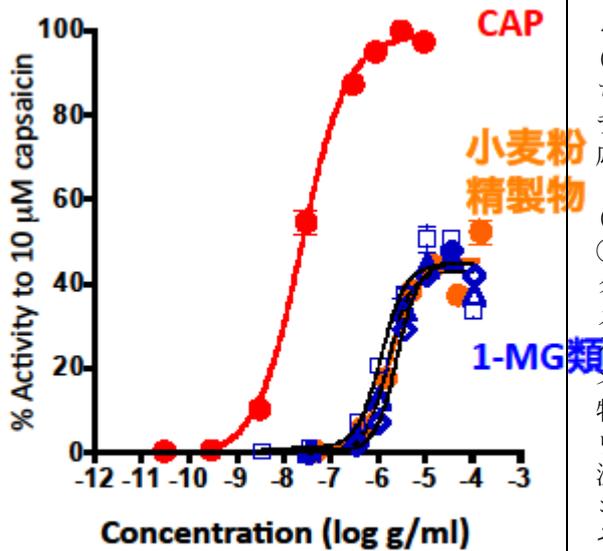


図1 コムギ精製物と1-MG類のTRPV1活性

得を試みた。

(2) TRPV1・TRPA1 活性化成分のスクリーニング：96 穴マイクロプレートに TRPV1 または TRPA1 を安定的に発現した 4.0×10^4 個/mL の細胞を 100 μ L ずつ各 well に加えて一日間培

養し、Ca²⁺ indicator である Fluo-4AM を取り込ませてから、セルベースアッセイワークステーション FlexStation 2 (Molecular Device 社) を用いて、活性化成分のスクリーニングを行った。TRPA1 発現細胞の場合には、細胞と共に tetracyclin 1mg/mL を加えて TRPA1 タンパク質の発現を誘導した。

(3) エネルギー代謝への影響

① アドレナリン分泌：麻酔下ラットの結腸温をヒーティングパッドにて一定に保ちながら、副腎静脈血中のアドレナリン濃度を測定した。化合物を静脈投与後、副腎静脈血を連続採取し、アドレナリン濃度を HPLC-EC により測定した。

② マウスでの添加試験：高脂肪高シヨ糖食を対照とし、餌に被検試料を添加して、ペアフィーディングにて一ヶ月飼育し、体重、摂食量、各種血中パラメータ、各種臓器重量を測定した。

(4) 他の温度感受性 TRP 遺伝子の取得：human brain 1st strand cDNA を用いて、報告されている TRPs の塩基配列からプライマーを設計し、TRPV2, TRPV3, TRPV4, 遺伝子の取得を試みた。同様に、ヒト前立腺がん細胞 LNCaP より抽出した total RNA より調製した cDNA から、human TRPM8、マウス後根神経節細胞より抽出した total RNA より調製した cDNA より mouse TRPM8 の取得を試みた。

4. 研究成果

(1) HEK-hA1 細胞の取得：共焦点顕微鏡をもちいて、TRPA1 アゴニストであるアリルイソチオシアネート (AITC) に 100% の細胞が反応する 4 系統の細胞を得ることに成功した。

(2) TRPV1・TRPA1 活性化成分

① 温熱性・寒涼性食品からのスクリーニング：19 種類の食品を、ヘキサン、酢酸エチル、メタノールで順に抽出し、TRPV1 を活性化する画分を調べた結果、温熱製食品では数種の

ネギ属植物、ミョウガ、寒涼性ではコムギのそれぞれヘキサン抽出物に活性が認められた。それらを各種クロマトグラフィーにて精製し、

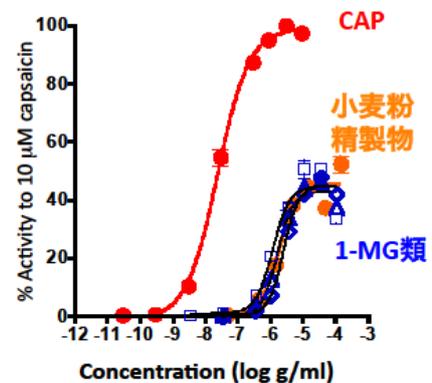


図1 コムギ精製物と1-MG類のTRPV1活性

活性を精製したところ、オレイン酸やリノール酸、 α -リノレン酸などが結合した 1-モノグリセリドであった(図 1)。

② ミョウガの辛味成分：ミョーガジアル、ミョーガトリアルが、ワサビの辛味成分 AITC の 10 分の 1 以下の濃度で AITC を活性化させる事を見出した(図 2)。

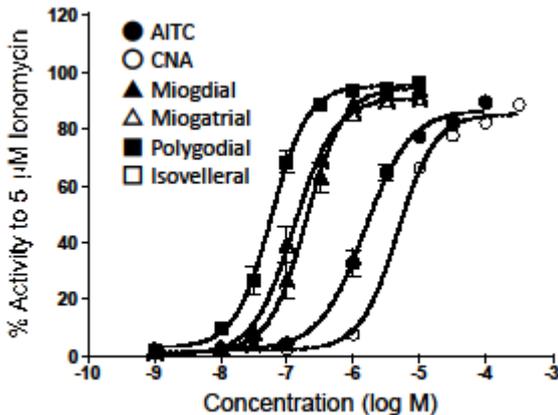


図 2. ミョウガ辛味化合物による TRPV1 の活性化

③ ニンニク成分：ジアリルスルフィド類の TRPA1 活性を検討し、ジアリルスルフィド、ジアリルスルフィドに活性が、ジアリルトリスルフィドには AITC よりも高い活性が認められることを明らかにした(図 3)。

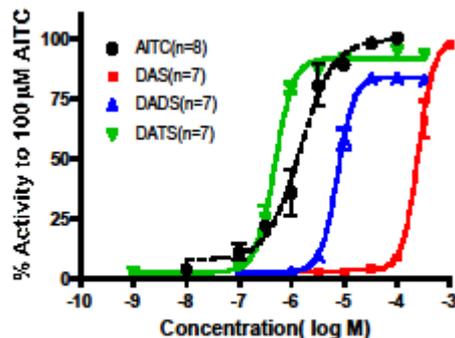


図 3 ニンニクのジアリルスルフィド類による TRPA1 の活性化

④ コショウ成分：ヘキササン抽出物に活性があり、既知の TRPV1 アゴニストであるピペリン以外に活性を示す化合物が含まれることを見出した。あらたに 6 種の TRPV1 を活性化させる化合物を明らかにした。さらに、コショウ類から単離した 19 化合物で活性試験を行ったところ、多くの化合物が活性を示すことが判明した。TRPA1 活性も合わせて検討したところ、ピペリンを初めとする数種の化合物に活性が認められることがわかった。

(3) エネルギー代謝への影響

① アドレナリン分泌：トウガラシ辛味成分のカプサイシンは、TRPV1 の活性化を介して副腎からのアドレナリン分泌を高め、エネルギー消費を亢進する作用であることがわかってきた。そこで、TRPA1 アゴニストのワサビ成分 AITC とシナモンの成分シンナムアルデヒド(CNA)のアドレナリン分泌に及ぼす影響を調べた。カプサイシンと等モル量を投与した際には、AITC はアドレナリン分泌を誘発しないことが知られていたが、カプサイシンの TRPV1 に対する EC_{50} と、AITC と CNA の TRPA1 に対する EC_{50} が大きく異なることから、 EC_{50} 値から換算した投与量を用いたところ、AITC、CNA とともに麻酔下ラットからのアドレナリン分泌を引き起こすことを見出した(図 4)。

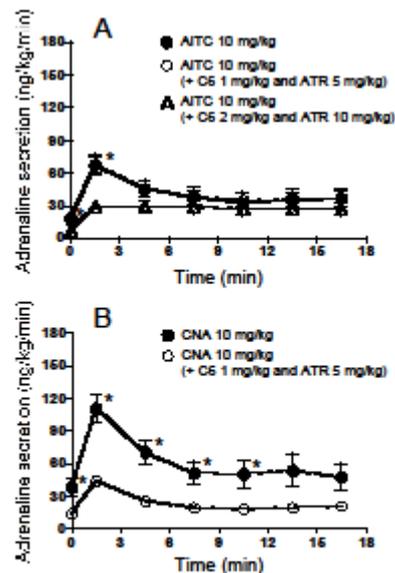


図 4 AITC (A) と CNA (B) によるラット副腎からのアドレナリン分泌の促進

② マウスでの添加試験：TRPV1 や TRPA1 を活性化させる化合物の有効性を *in vivo* で検証するために、まず肥満誘発モデルを検討し、C57Black と高脂肪高ショ糖食を与える実験系を用いることとした。この系に、1-オレイルモノグリセリド、CNA、黒コショウ(図 5)を添加して 1 ヶ月与えたところ、いずれの添加群でも内蔵脂肪の蓄積が抑制され、褐色脂肪組織中の UCP1 量の増加が認められた。

これらのことから、TRPV1 や TRPA1 を活性化させる食品成分を摂取することでエネルギー消費が高まり、体脂肪の蓄積を抑制しうることが推察された。

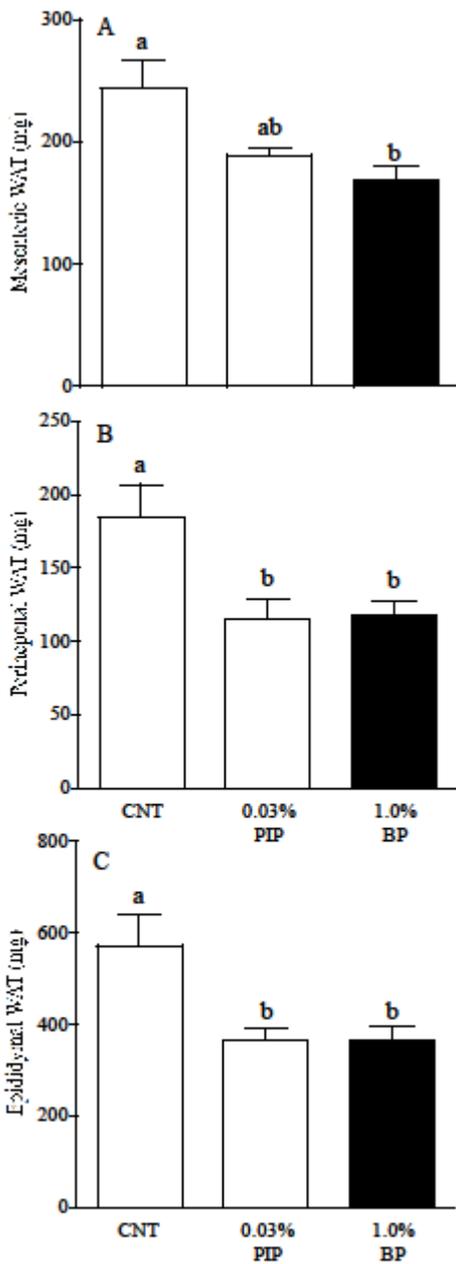


図5 高脂肪高ショ糖食へのピペリン(PIP)と黒コショウ(BP)添加の影響
A: 腸間膜脂肪、B: 腎周囲脂肪、C: 精巣上体脂肪

(4) 他の温度感受性 TRP 受容体遺伝子の取得: human TRPV2 とマウスの TRPM8 遺伝子の取得に成功した。

今回、TRPV1 と TRPA1 以外の温度感受性受容体を活性化する食品成分については、残念ながら遺伝子の取得に止まり、検討することはできなかったが、既知の TRPM8 や TRPV3 のアゴニストを動物に投与して体温への影響

を身
温」
最
ル
こ
と
で

5.
(右
は

〔雑
①

②

③

④

⑤

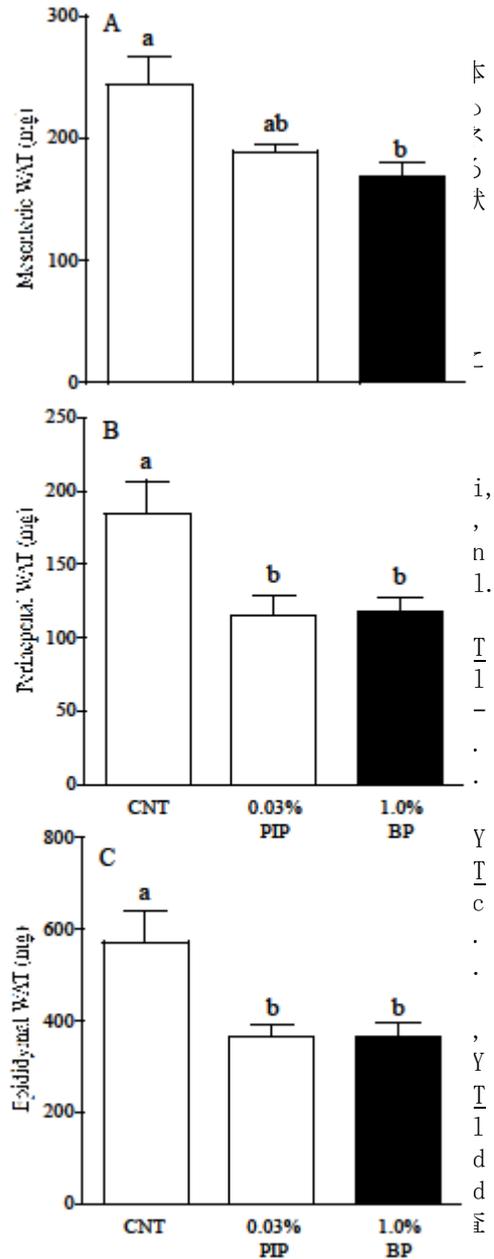


図5 高脂肪高ショ糖食へのピペリン(PIP)と黒コショウ(BP)添加の影響
A: 腸間膜脂肪、B: 腎周囲脂肪、C: 精巣上体脂肪

by black pepper components, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 査読あり, Vol.74, No. 5, 2010, 印刷中

⑥ M Narukawa, K Koizumi, Y Iwasaki, K Kubota, T Watanabe, *i*-Acetoxychavicol acetate, the galangal pungent component, activates TRPA1, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 査読あり, Vol.74, 2010, 印刷中

⑦ Y Okumura, M Narukawa, T Watanabe, Adiposity suppression effect in mice by black pepper and its main pungent component, piperine, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 査読あり, Vol.74, 2010, 印刷中

〔学会発表〕(計 26 件)

① Tatsuo Watanabe: Science of pungency - Hot taste. The 3rd International Fermented Soybean Products Forum, Sunchang, Korea, Nov 2007.

② 渡辺達夫, 岩崎有作, 守田昭仁, 古旗賢二: カプサイシン受容体 TRPV1 を活性化する食品成分、日本動物細胞工学会 2007 年度大会(高崎) シンポジウム 3, 講演要旨集 p. 27, 2007 年 7 月

③ 岩崎有作, 田辺 学, 齊藤織音, 宇野秀一, 古旗賢二, 守田昭仁, 渡辺達夫: カプサイシン受容体に作用する食品成分の探索. 第61回日本栄養・食糧学会大会, 京都, 講演要旨集 p. 170, 2007年5月

④ 田辺 学, 岩崎有作, 渡辺達夫: ワサビの辛味成分アリルイソチオシアネートによるアドレナリン分泌促進. 第5回高付加価値食品開発のためのフォーラム, 静岡県裾野市, 2007

⑤ 岩崎有作, 齊藤織音, 田辺 学, 古旗賢二, 守田昭仁, 渡辺達夫: 小麦の monoacylglycerol は TRPV1 を活性化する. 第3回体温調節、温度受容研究会, 愛知県岡崎市, 2007

⑥ 田辺 学, 岩崎有作, 渡辺 達夫: TRPA1 アゴニストの allyl isothiocyanate と cinnamaldehyde のアドレナリン分泌促進効果. 第3回体温調節、温度受容研究会, 愛知県岡崎市, 2007

⑦ 岩崎有作, 齊藤織音, 田辺 学, 古旗賢二, 守田昭仁, 渡辺達夫: 食品中の monoacylglycerols はカプサイシン受容体 TRPV1 を活性化させる. 第22回日本香辛料研究会, 東京, 2007

⑧ 田辺 学, 岩崎有作, 渡辺 達夫: TRPA1 アゴニストである Allyl isothiocyanate および Cinnamaldehyde によるアドレナリン分泌促進効果. 第22回日本香辛料研究会, 東京, 2007

⑨ 渡辺達夫, 岩崎有作, 古旗賢二, 守田昭仁: 食品中のカプサイシン受容体 TRPV1 を活性化する成分. 第2回食品薬学シンポジウム, 静岡市, 2007

⑩ 岩崎有作, 齊藤織音, 田辺 学, 古旗賢二, 守田昭仁, 渡辺達夫: Monoacylglycerols のカプサイシン受容体 TRPV1 への作用. 日本農芸化学会2008年度(平成20年度)大会. 要旨集 p. 131, 名古屋市, 2008年3月.

⑪ 田村泰子, 岩崎有作, 渡辺達夫: マウス3系統による食餌誘発性肥満の検討. 第62回日本栄養・食糧学会大会 埼玉県坂戸市, 要旨集 p. 252, 2008年5月.

⑫ 田村泰子, 岩崎有作, 成川真隆, 渡辺達夫: Cinnamaldehyde はマウスの体脂肪蓄積を抑制する 第6回日本食品機械研究会フォーラム. 裾野市, 2008年9月.

⑬ 奥村由起子, 岩崎有作, 石川 愛, 成川真隆, 渡辺達夫: コショウ中の TRPV1 賦活成分. 第6回日本食品機械研究会フォーラム. 裾野市, 2008年9月.

⑭ 田村泰子, 岩崎有作, 成川真隆, 渡辺達夫: Cinnamaldehyde の体脂肪蓄積抑制効果 第23回日本香辛料研究会. 金沢, 要旨集 p. 32-33, 2008年11月.

⑮ 小泉佳名子, 岩崎有作, 成川真隆, 飯塚裕司, 細野(深尾) 友美, 関泰一郎, 有賀豊彦, 渡辺達夫: ニンニク中の DAS, DADS, DATS はカプサイシン受容体 TRPV1 を活性化させる. 第23回日本香辛料研究会. 金沢, 要旨集 p. 24-25, 2008年11月

⑯ 奥村由起子, 岩崎有作, 石川 愛, 成川真隆, 松田久司, 吉川雅之, 渡辺達夫: コショウに含まれる新規 TRPV1 活性化成分の単離と同定. 第23回日本香辛料研究会. 金沢, 要旨集 p. 26-27, 2008年11月

⑰ Iwasaki Y, Saito O, Tanabe M, Inayoshi K, Kobata K, Uno S, Morita A, Watatanabe

T: Monoacylglycerols activate transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1). Neuroscience 2008, Washington DC (USA), Nov. 2008.

⑱ 小泉佳名子, 岩崎有作, 成川真隆, 飯塚裕司, 細野(深尾)友美, 関 泰一郎, 有賀豊彦, 渡辺達夫: ニンニク含硫成分の TRPV1 賦活活性 日本農芸化学会中部支部第 154 回例会. 岐阜市, 2008 年 11 月.

⑲ Tamura Y, Iwasaki Y, Watanabe T: Cinnamaldehyde, a TRPA1 agonist, reduces visceral fat in high-fat and high-sucrose diet fed mice. 1st International Conference on Health and Longevity Sciences, Shizuoka, Dec. 2008.

⑳ 小泉佳名子, 岩崎有作, 成川真隆, 飯塚裕司, 細野(深尾)友美, 関泰一郎, 有賀豊彦, 渡辺達夫: ニンニク成分 DAS, DADS, DATS は TRPA1 と TRPV1 を活性化させる. 日本農芸化学会 2009 年度(平成 21 年度)大会. 福岡市, 要旨集 p. 63, 2009 年 3 月.

▪ 奥村由起子, 岩崎有作, 石川愛子, 成川真隆, 松田久司, 吉川雅之, 渡辺達夫: コシヨウから単離した新規 TRPV1 活性化成分 日本農芸化学会 2009 年度(平成 21 年度)大会. 福岡市, 要旨集 p. 63, 2009 年 3 月

▪ 奥村由起子, 成川真隆, 渡辺達夫: Piperine は Capsaicin の TRPV1 活性を増大させる. 第 63 回日本栄養・食糧学会大会. 要旨集 p. 110, 長崎市, 2009 年 5 月.

▪ 渡辺達夫, 田村泰子, 岩崎有作, 成川真隆: TRPA1 アゴニスト Cinnamaldehyde の体脂肪蓄積抑制効果. 第 63 回日本栄養・食糧学会大会. 要旨集 p. 141, 長崎市, 2009 年 5 月.

▪ Watanabe T, Okumura Y, Narukawa M, Matsuda S, Yoshikawa M: Piperine analogs from Piper chaba activates TRPA1. The 2nd International Conference on Health and

Longevity Sciences (Shizuoka), Oct 1, 2009.

▪ 奥村由起子, 成川真隆, 松田久司, 吉川雅之, 渡辺達夫: コシヨウ含有成分は TRPA1 を活性化させる. 第 24 回日本香辛料研究会. 要旨集 p. 22-23, 大阪市, 2009 年 11 月.

▪ 岩崎有作, 田辺学, 鹿山由子, 阿部雅子, 加塩麻紀子, 小泉佳奈子, 奥村由起子, 森光康次郎, 富永真琴, 小澤好夫, 渡辺達夫: ミヨウガ辛味関連物質 Miogadial, Miogtrial とタデ辛味成分 Polygodial は強力な TRPA1 アゴニストである. 第 24 回日本香辛料研究会. 要旨集 p. 24-25, 大阪市, 2009 年 11 月.

[図書] (計 1 件)

① Watanabe T, Iwasaki Y, Morita A, and Kobata K: Food components activating capsaicin receptor TRPV1, in “*Nutrigenomics and Proteomics in Health and Disease: Food Factors and Gene Interactions.*” ed. by Mine Y, Miyashita K, and Shahidi F, Wiley-Blackwell, 2009, pp. 263-272

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

渡辺 達夫 (WATANABE TATSUO)

静岡県立大学・食品栄養科学部・教授
研究者番号: 10210915

(2) 研究分担者

守田 昭仁 (MORITA AKIHITO)

静岡県立大学・食品栄養科学部・助教
研究者番号: 40239653

成川 真隆 (NARUKAWA MASATAKA)

静岡県立大学・食品栄養科学部・助教
研究者番号: 50432349

古旗 賢二 (KOBATA KENJI)

城西大学・薬学部・准教授

研究者番号: 70275105

(H19 のみ)