

令和 2 年 7 月 10 日現在

機関番号：43505

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K00937

研究課題名(和文)疾患モデルショウジョウバエを用いた食品成分の生理機能解析

研究課題名(英文) Analysis of physiological activities of food ingredients using a Drosophila disease model

研究代表者

萱嶋 泰成 (Kayashima, Yasunari)

山梨学院短期大学・その他部局等・教授(移行)

研究者番号：90365453

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：人体にどのような影響を及ぼすのかわかっていない食品成分の機能について、生命現象解明のために古くからモデル生物として確立されているショウジョウバエを用いて解析した。研究室における野生型ショウジョウバエとその突然変異体系統への投与実験などによって、ライ麦に含まれる成分のアルキルレゾルシノール、アルキルレゾルシノールの一種であるオリベトール、玉ネギ含硫アミノ酸のアリイン、カカオ含有成分の生理活性を明らかにした。アミノ酸が二つ繋がったジペプチドの分解酵素であるCNDPについて、ヒトにおけるジペプチド分解酵素であるCNDP1とCNDP2遺伝子が肥満と関連することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

食品成分のうち、人体にどのような影響を及ぼすのかわかっていない食品成分は多数存在する。それら食品成分の機能について、ショウジョウバエを用いて解析することによって、対象とする食品成分が多細胞生物に対して生理活性作用を持つのか、ヒトに対しても生理活性を有するのか、その生理活性は多細胞生物に普遍的な作用であるのかの知見を得ることができる。ショウジョウバエに対する生理活性が老化抑制機能や脂質代謝調節機能が示唆された場合、高等動物による実験や臨床試験を得て、ヒトにおける生活習慣病の発症予防や健康長寿維持への貢献に繋がる。

研究成果の概要(英文)：We analyzed the functions of food ingredients whose effects on the human body have not been characterized, using Drosophila, an established model organism that has long been used for elucidation of biological phenomena. The physiological activities of alkylresorcinol (a constituent of rye), olivetol (a type of alkylresorcinol), alliin (a sulfur-containing amino acid in onions), and the constituents of cacao were subjected to laboratory testing including administration to wild type and mutant strains of Drosophila. CNDP is a dipeptidase that catalyzes cleavage of dipeptides. This study showed that the dipeptidases encoded by human CNDP1 and CNDP2 genes are associated with obesity.

研究分野：発生生物学

キーワード：食情報

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

これまでに確立させたショウジョウバエによる食品成分の生理機能解析法を進め、機能未知であった食品成分の機能を明らかにし、食品成分の機能解析に適した疾患モデルショウジョウバエの更なる拡充を行う。培養細胞等による実験によってその機能が推定されている各種食品成分(アレキルレゾルシノール [ARs]、オリベトール、玉ネギ由来含硫アミノ酸、カカオ由来脂溶性画分)について、野生型系統に加えて、これまでに樹立した早期老化症や II 型糖尿病モデルショウジョウバエ、またはアルツハイマー病モデル、サーチュイン突然変異体などを駆使した投与実験による遺伝学的アプローチによって、それぞれの食品成分の機能性に関するエビデンスを高める。新規に発見した *CNDP* 突然変異体は、代謝調節異常のモデルショウジョウバエであり、食品成分の機能解析に適した新規な系統であることを明らかにする。

2. 研究の目的

食品成分の脂肪蓄積抑制効果を定量的に調べるアッセイ系の樹立
疾患モデルバエ群(野生型も含む)への投与実験による食品成分の生理活性探索
ジペプチド分解酵素 *dCNDP* 突然変異体の機能解析、特に体内栄養素動態の変化
サーチュイン突然変異体を用いたライ麦由来成分 ARs の老化抑制効果

3. 研究の方法

食品成分の脂肪蓄積抑制効果を定量的に調べるアッセイ系の樹立: 対象とする食品成分に脂肪蓄積抑制効果があるのかについての情報が求められている。ショウジョウバエにはヒトの肝臓や白色脂肪細胞に相当する脂肪体がある。既に脂肪体特異的に GFP を恒常的に発現するバエ系統の開発や、オイルレッド染色による 3 齢幼虫の脂肪体の観察法を使い、食品成分の脂肪蓄積抑制効果を調べる方法を見出しているが (Kayashima et al. 2015)、定量性に欠いているため、脂肪蓄積の程度を定量的に解析する方法を確立させる。2-3 社の脂肪定量キットのうち、ショウジョウバエ個体を調べる場合に最適なキットとその測定方法を確立させる。

疾患モデルバエ群(野生型も含む)への投与実験による食品成分の生理活性: まずは野生型のバエに投与して非投与群との違い(個体寿命、飢餓耐性、栄養代謝調節関連遺伝子の遺伝子発現量変化など)を解析する。違いがみられた場合、それに関連する遺伝子群の突然変異体系統で投与実験を行い、食品成分の生理活性を特定してゆく。

ジペプチド分解酵素 *dCNDP* 突然変異体の機能解析、特に体内栄養素動態の変化: ジペプチドであるアンセリン・カルノシンの機能解析を行っているなかで、ジペプチド分解酵素を欠く新規な突然変異体系統を見出した。体内遊離アミノ酸の組成を調べた結果から、この突然変異体は解糖系・糖新生の活性が野生型とは異なることが示唆されている。グルコース、トレハロース、グリコーゲン、トリグリセリドの各検出キットを使い、これら成分の飢餓時における体内動態変化を調べることで、栄養代謝調節に異常をきたす = 体内ジペプチドが栄養利用の選択に関わる可能性、を明らかにする。

サーチュイン突然変異体を用いたライ麦由来成分アレキルレゾルシノール [ARs] の老化抑制効果: ライ麦由来成分の ARs について、これまでに野生型ショウジョウバエでの投与実験によって個体寿命が劇的に延長する結果を得ている(特許出願, 2012)。個体寿命に關与するサーチュイン関連遺伝子について、ショウジョウバエの相同遺伝子は *Sir2* であり、突然変異体個体も知られている。*Sir2* 突然変異体個体において同様の投与実験を行い、寿命延長が認められなければ、ARs はサーチュインを介した寿命延長作用を有する成分であるといえる。赤ワイン成分のレスペラトロールが証明された方法 (Nature, 2004) と同様の手法で証明を行う。

4. 研究成果

食品成分の脂肪蓄積抑制効果を定量的に調べるアッセイ系の樹立: 通常餌による飼育群に加え、10%Lard を含んだ高脂肪食摂取群を用意し、3 齢幼虫または成虫個体における脂肪蓄積量を 2-3 社の脂肪定量キットで測定し、比較検討した。その結果、吸光度測定による解析キットであるコスモ・バイオ株式会社のリピッドアッセイキットが最も安定且つ簡便で再現性の高い結果が得られることがわかり、このキットを用いたショウジョウバエによる食品成分の脂肪蓄積抑制効果を定量的に調べるアッセイ系を確立させることができた(学会発表 2.)。確率させたアッセイ系を用いてオリベトールの脂肪蓄積抑制効果の有無を検討したところ、オリベトールには脂肪蓄積抑制効果を有している可能性が低いことが判明した(学会発表 1.)。

疾患モデルバエ群(野生型も含む)への投与実験による食品成分の生理活性: (1)、ライ麦含有成分である ARs の一種であるオリベトールについて、研究室における野生型のショウジョウバエに投与したところ、成虫の個体寿命に関して非投与群と比較して有意に延長することが明らかとなった。マウスを用いた投与実験で脂肪蓄積の抑制効果がみられたことから、ショウジョウバエでも同様の効果がみられるか試してみたところ、ショウジョウバエではオリベトールの脂肪蓄積抑制効果を確認することが出来なかった(学会発表 1.)。 (2)、玉ネギ由来含硫アミノ酸でアリシン前駆体のアリインについて、日清ファルマ

との共同研究で機能解析を行なった。これまでもアリインには、ヒトにおける男性更年期症状の改善効果などが示唆されていたため、ショウジョウバエにおいてもオス成虫の加齢に伴った繁殖能低下の改善をもたらすのか調べたところ、継続的な摂取によって繁殖能低下の抑制作用が認められた。摂取による遺伝子発現量の解析、低栄養下における生存率の解析結果より、アリインは生物普遍的な基本的栄養素としての役割を持つ可能性を明らかにした(学会発表 3.)。(3). 株式会社明治との共同研究で、培養細胞を用いてカカオからサーチイン活性化成分のスクリーニングを行ったところ、脂溶性画分に強い活性化成分があることが判明した。この画分がショウジョウバエにとっても生理活性作用を持つのか確かめたところ、摂取によってサーチイン活性化に起因すると思われる個体寿命の有意な延長が認められた(研究継続中)。

ジペプチド分解酵素 *dCNDP* 突然変異体の機能解析、特に体内栄養素動態の変化：ジペプチド分解酵素を欠く新規な突然変異体系統について、その表現型を詳しく解析したところ、突然変異体と野生型のヘテロ接合体個体は、成虫の個体寿命が劇的に延長することが判明した(学会発表 5.)。遺伝子産物の機能より、体内遊離アミノ酸の組成変化が個体寿命の延長をもたらしたことが示唆された。この突然変異体系統に加え、CRISPER-Cas9 システムを用いて新たな *dCNDP* 突然変異体系統を樹立した。両突然変異体系統による解析の結果、*dCNDP* が酸化ストレス応答に関わる可能性を見出した(論文投稿中)。遺伝疫学的な解析によって、ヒトにおけるジペプチド分解酵素である *CNDP1* と *CNDP2* 遺伝子が肥満と関連することを明らかにした(学術論文 1.)。

サーチイン突然変異体を用いたライ麦由来成分アレキルレゾルシノール [ARs] の老化抑制効果：サーチイン関連遺伝子のショウジョウバエ相同遺伝子 *Sir2* の突然変異体個体を用いて ARs の投与実験を行ったところ、寿命延長が認められなかった。結果より、ARs はサーチインを介した寿命延長作用を有する成分であることを特定した(学術論文 2., 学会発表 4., 学会発表 6.)。

【学術論文(査読あり)】: 2 報

1. Yamakawa-Kobayashi K., Otagi E., Ohhara Y., Goda T., Kasezawa N., **Kayashima Y** (2018). The Combined Effects of Genetic Variation in the *CNDP1* and *CNDP2* Genes and Dietary Carbohydrate and Carotene Intake on Obesity Risk. *J Nutrigenet Nutrigenomics*. **10**, 146-154.
2. **Kayashima Y.**, Katayanagi Y., Tanaka K., Fukutomi R., Hiramoto S., Imai S (2017). Alkylresorcinols activate SIRT1 and delay ageing in *Drosophila melanogaster*. *Sci. Rep.* **7**, 43679. (筆頭著者)

【学会・学術集会発表】: 6 件

1. 米山歩花, 石井花菜, 平川望美, 今井伸二郎, **萱嶋泰成**. 「オリベトールの生理活性をショウジョウバエで検証する」. 日本食品科学工学会 平成 31 年度関東支部大会.(2019 年 3 月 9 日).
2. 石井花菜, 米山歩花, 平川望美, 今井伸二郎, **萱嶋泰成**. 「食品成分の生理活性をショウジョウバエで検出する方法の確立 - 成虫の摂食量, 幼虫・成虫における脂肪蓄積量の定量 -」. 第 20 回静岡ライフサイエンスシンポジウム.(2019 年 3 月 2 日).
3. **萱嶋泰成**, 平川望美, 奥田大河, 和知賢哉, 平本茂. 「ショウジョウバエを用いた玉ネギ含有成分の生理活性探索」. 日本食品科学工学会 平成 30 年度関東支部大会.(2018 年 3 月 3 日).
4. **萱嶋泰成**, 今井伸二郎. 「ショウジョウバエを用いたアルキルレゾルシノール (Ars) の生理活性探索」. 日本食品科学工学会 平成 29 年度関東支部大会.(2017 年 3 月 4 日).
5. 川島巧, 大原裕也, **萱嶋泰成**, 小林公子. 「ショウジョウバエにおけるジペプチド分解酵素の役割」. 第 39 回日本分子生物学会年会.(2016 年 11 月 30 日).
6. 今井 伸二郎, **萱嶋 泰成**. 「Resorcinolic lipids によるサーチイン酵素活性促進効果」. 第 21 回日本フードファクター学会学術集会.(2016 年 11 月 20 日).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yamakawa-Kobayashi Kimiko, Otagi Eri, Ohhara Yuya, Goda Toshinao, Kasezawa Nobuhiko, Kayashima Yasunari	4. 巻 10
2. 論文標題 The Combined Effects of Genetic Variation in the CNBP1 and CNBP2 Genes and Dietary Carbohydrate and Carotene Intake on Obesity Risk	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Nutrigenet Nutrigenomics	6. 最初と最後の頁 146 ~ 154
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1159/000485798	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kayashima Y., Katayanagi Y., Tanaka K., Fukutomi R., Hiramoto S., Imai S.	4. 巻 7
2. 論文標題 Alkylresorcinols activate SIRT1 and delay ageing in Drosophila melanogaster	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 43679
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/srep43679	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 石井花菜, 米山歩花, 平川望美, 今井伸二郎, 萱嶋泰成
2. 発表標題 食品成分の生理活性をショウジョウバエで検出する方法の確立 - 成虫の接触量, 幼虫・成虫における脂肪蓄積量の定量 -
3. 学会等名 第20回 静岡ライフサイエンスシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 米山歩花, 石井花菜, 平川望美, 今井伸二郎, 萱嶋泰成
2. 発表標題 オリペトールの生理活性をショウジョウバエで検証する
3. 学会等名 日本食品科学工学会平成31年度関東支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 萱嶋泰成, 平川望美, 奥田大河, 和知賢哉, 平本茂
2. 発表標題 ショウジョウバエを用いた玉ネギ含有成分の生理活性探索
3. 学会等名 (公社)日本食品科学工学会平成30年度関東支部大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 萱嶋 泰成, 今井 伸二郎
2. 発表標題 ショウジョウバエを用いたアルキルレゾルシノール (ARs) の生理活性探索
3. 学会等名 日本食品科学工学会関東支部平成29年度大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 青木 慎悟, 遠藤 清香, 牧野 美咲, 萱嶋 泰成
2. 発表標題 夏季臨海実習を通じた学修効果の検討 - 魚介類・肉類摂取に着目して -
3. 学会等名 第26回山梨県栄養学術研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 川島 巧, 大原 裕也, 萱嶋 泰成, 小林 公子
2. 発表標題 ショウジョウバエにおけるジペプチド分解酵素の役割
3. 学会等名 第39回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 今井 伸二郎, 萱嶋 泰成
2. 発表標題 Resorcinolic lipidsによるサーチュイン酵素活性促進効果
3. 学会等名 第21回日本フードファクター学会学術集会
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

教員組織・教員プロフィール https://www.ygjc.ac.jp/pdf/teacher_fan/2020_kayashima_y.pdf
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	今井 伸二郎 (Imai Shinjiro) (50629152)	東京工科大学・応用生物学部・教授 (32692)	
研究分担者	小林 公子 (Yamakawa-Kobayashi Kimiko) (90215319)	静岡県立大学・食品栄養科学部・教授 (23803)	