

令和 6 年 6 月 27 日現在

機関番号：86103

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05450

研究課題名（和文）抗肥満作用を有する阿波すず香の新規成分の同定とその作用機序の解明

研究課題名（英文）Identification of novel anti-obesitic component in Citrus Awa-Suzuka.

研究代表者

新居 美香（Nii, Mika）

徳島県立農林水産総合技術支援センター（試験研究部）・徳島県立農林水産総合技術支援センター（資源環境研究課）・研究員（統括・上席）

研究者番号：30502166

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）：阿波すず香は2017年に徳島県が育成した香酸カンキツであり、果皮に苦みが少ないため食することが特徴である。本研究では、阿波すず香果皮の抗肥満効果について動物における摂餌試験、培養細胞への添加試験、ヒトにおける安全性評価及び抗肥満効果検証のためのランダム化二重盲検試験を行った。動物への摂餌試験では、血糖値上昇抑制、内臓脂肪、皮下脂肪重量の減少効果が認められ、抽出物を用いた培養細胞試験においては、脂肪細胞の分化抑制と脂肪細胞合成関連遺伝子の発現抑制が認められた。ヒト試験においては、果皮錠剤の安全性は認められた。血糖値、HbA1c、中性脂肪、LDLコレステロール値は有意な変化を認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では農業の発展と健康を目的に育種された阿波すず香の機能性を明らかにすることを目的として行なった。阿波すず香は果皮を食することができ香酸カンキツの可食部を増加させる。近年農業、特にカンキツの栽培後継者が少ない理由のひとつに重量当たりの価格の低さがあり、こうした社会的意義を期待し、健康維持増進効果を見出すことで、農作物の価格向上を目指す。健康増進を目指した研究として、近年増加する肥満に注目した。動物においては糖負荷試験に与える影響を明らかにし、細胞を用いてその機序を明確にした。また、ヒト試験として中高年を対象としてランダム化試験を行い、安全性を評価したことが意義として大きいと考える。

研究成果の概要（英文）：Awasuzuka (Citrus sudachi x C. junos) is an aromatic citrus grown by Tokushima Prefecture in 2017 and characterized by its edible peel with low bitterness. In this study, the anti-obesity effect of Awasuzuka was tested in animal study, an in vitro 3T3 L1 cell study, and a randomized, double-blind study to evaluate safety and verify anti-obesity effect in humans. In in vivo study, we observed that improvement of blood glucose levels and reduction of visceral and subcutaneous fat weight. In 3T3 L1 cells, extraction of Awasuzuka have lead the suppression of adipocyte differentiation and suppression of adipocyte synthesis-related gene expression. In human randomized, double-blind study, the safety of the peel tablets was recognized. No significant changes were observed in blood glucose, HbA1c, triglyceride, and LDL cholesterol levels.

研究分野：果樹園芸

キーワード：阿波すず香 抗肥満効果 脂肪蓄積抑制

抗肥満作用を有する阿波すず香の新規成分の同定とその作用機序の解明

1. 研究開始当初の背景

肥満は、糖尿病などの生活習慣病やメタボリックシンドロームの主な発症要因である。肥満の原因としては、エネルギーの過剰摂取や運動不足に伴う余剰エネルギーを脂肪細胞に蓄積した結果、脂肪細胞の肥大化により脂肪組織重量が増加する。脂肪細胞の肥大化とそれに伴う生活習慣病やメタボリックシンドロームの発症メカニズムに対して、急速に知見が集積されつつあるが、脂肪細胞の肥大化機構を直接制御する肥満治療法は確立されていない。一方、かんきつ類は世界で最も生産量の多い果実であり、果皮抽出物を中心に抗肥満作用が注目されている。

徳島県では、香酸かんきつ類として「阿波すず香(*Citrus sudachi* x *Citrus junos*)を開発し、品種登録した。その成分特徴や機能性を分析する中で、新規機能性成分の可能性および脂肪細胞の肥大化抑制作用を見いだした。本研究では、この機能性成分を同定するとともに、脂肪蓄積抑制作用の機構を明らかにし、臨床応用を視野に入れた植物由来成分を標的とした新たな肥満・メタボリックシンドローム治療のアプローチを探索する。

2. 研究の目的

阿波すず香は、2017年に徳島県が開発・品種登録した香酸かんきつで、4体スタチを種子親、2倍体ユズを花粉親とする交雑末生であり、親品種とは異なる風味を持つ。我々は、この果実の果皮抽出エキスを3T3-L1脂肪前駆細胞に処理すると、脂肪細胞の分化及び脂肪蓄積が顕著に抑制されることを見出した。さらに、高脂肪食誘導性肥満も出る動物においても、本果実の粉末混餌により内臓脂肪蓄積量の減少が認められた。そこで、本研究において、この機能性成分を同定し、この成分が脂肪細胞の分化及び脂肪蓄積を抑制する機構を明らかにすること、さらにヒト臨床試験を行い、この機能性成分を標的とした新たな肥満・メタボリックシンドローム治療における本成分の有効性について検討する。

3. 研究の方法

阿波すず香果皮中の機能性成分の同定

実験材料の香酸かんきつ類(スタチ、ユズ、阿波すず香)は徳島県立農林水産総合技術支援センター内のほ場より採取した。採取日は各品種の収穫適期(スタチ:8月下旬、ユズ:11月上旬、阿波すず香:12月上旬)とした。果実は剥皮し、果皮と果肉に分離し、-25℃で保存したものを用いて凍結乾燥粉末を作成した。試料を溶媒で抽出・ろ過し、分析試料とした。

分析は、果皮及び果肉抽出物をHPLC-PDA及びLC-QqQ-MS/MSシステムによるMRM分析により同定した。

阿波すず香果皮抽出成分による脂肪細胞分化及び脂肪蓄積抑制機序の解明

果皮抽出物を3T3-L1脂肪前駆細胞に処理し、脂肪細胞への分化及び脂肪蓄積に与える影響を観察した。分化誘導後、6、12、18、24、36、48、72時間後の細胞よりRNAを抽出し、脂肪細胞の分化、脂肪蓄積に関連する遺伝子発現を解析するため、RT-PCRを実施した。

阿波すず香果皮を用いたランダム化二重盲検人臨床試験の実施

阿波すず香の果皮粉末の安全性および抗肥満作用を検証するため健康成人を対象としたランダム化二重盲検試験を行った。試験は4週間とし、阿波すず香果皮粉末を含有する錠剤あるいはプラセボ錠を継続摂取させた。試験の前後において血液・生化学検査、尿検査、体組成測定、血圧等バイタルデータなどを評価した。

4. 研究成果

果皮及び果肉に含まれるフラボノイド5種類及びオーラプテンの定量を行った。阿波すず香と種子親であるスタチ、花粉親であるユズとの比較を実施した。阿波すず香果皮には、スタチ、ユズ果皮の2倍以上のナリルチンが存在し、苦み成分であるナリンギンがスタチと同程度含まれた。また、スタチ果皮特異的フラボノイドであるスタチチンは、スタチと同程度含まれていることが明らかになった。ユズ果皮に多く含まれるオーラプテンは、ユズの2.5倍程度の含有量であった。

阿波すず香果皮のエタノール抽出物処理は、3T3-L1死亡前駆細胞の脂肪細胞への分化誘導を阻害し、脂肪蓄積の抑制が観察された。エタノール抽出物を水及び酢酸エチルで分画・処理した結果、酢酸エチル各文でのみ脂肪蓄積抑制効果が認められた。阿波すず香果皮抽出物処理により、PPAR α 、PPAR γ 、C/EBP β 、aP2、Lepの発現抑制が認められた。また、それぞれの分画を脂肪細胞に処理した結果、脂肪細胞の分化抑制効果を示す主成分はオーラプテンであることが示唆された。

試験を完遂した被験者は43名、試験開始時の被験者の平均年齢は50.9歳、平均BMIは23であり、両群において差はなかった。本試験中の脱落者はおらず、アレルギー症状はじめ副作用を

呈した者はいなかった。また肝機能・腎機能の変化もみられず、果皮粉末の継続摂取は安全であると考えられた。また同様に、食事摂取量への影響も認められなかった。一方で、血糖値、HbA1c、中性脂肪値、LDL コレステロール値も摂取期間中の改善は認められなかった。同時に、体脂肪量や筋肉量についても有意な変化は認められていない。

以上より、阿波すず香果皮の継続摂取は安全ではあるが、内臓脂肪の減少はじめ肥満、脂質・糖代謝への明らかな効果は認められなかった。被験者は体重が正常範囲内であり肥満者がいなかったこと、摂取期間の短さ、錠剤にしたことにより摂取量が十分量ではなかったこと、またサンプルサイズの算出よりも被験者数が少なくなったために十分な解析ができていない点も限界点である。今後さらに群わけし、その効果より仮説検証や考察を進め、さらなる大規模試験の必要性を検討したい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 新居美香
2. 発表標題 新たに育成した香酸柑橘「阿波すず香」の抗肥満効果に関する研究
3. 学会等名 日本栄養・食糧学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 新居美香
2. 発表標題 香酸柑橘「阿波すず香」の抗肥満効果に関する研究
3. 学会等名 日本農芸化学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 新居美香
2. 発表標題 新たに育成した香酸柑橘「阿波すず香」の抗肥満効果に関する研究
3. 学会等名 日本栄養・食糧学会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	阪上 浩 (Hiroshi Sakaue) (60372645)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・教授 (16101)	

6. 研究組織（つづき）

	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	堤 理恵 (Tsutsumi Rie) (80510172)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部（医学域）・講師 (16101)	
研究分担者	大西 康太 (Ohnisiyi Kohta) (80723816)	京都府立大学・生命環境科学研究科・講師 (24302)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関