

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K14889

研究課題名(和文) 樹木系香辛料成分の抗肥満活性：作用点の違いから理解するバニロイドの機能的多様性

研究課題名(英文) Anti-Obesity Effect of Spice Constituents: The Functional Diversity of Vanilloid with Different Points of Action

研究代表者

服部 浩之(Hattori, Hiroyuki)

東北大学・農学研究科・助教

研究者番号：60882579

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)：本研究では、西アフリカ原産の香辛料Grains of Paradise (GOP) の示した肥満抑制作用の分子メカニズムを解明することを目的とした。また、GOPバニロイドは、非常に類似した構造を有するにも関わらず、脂肪蓄積や脂質代謝に対する効果が異なるため、いくつかのバニロイドに対してフォトアフィニティプローブを合成した。6-paradolのプローブをマウス3T3-L1線維芽細胞(脂肪前駆細胞)に投与し、特異的に相互作用するタンパク質バンドを検出した。プロテオミクスにより解析を進めることで、いくつかの標的タンパク質候補が挙がっており、エネルギー代謝や核内転写との関与が推測された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肥満抑制は特に先進国において重要な解決課題の一つであり、これまでに様々な抗肥満成分の探索が行われてきた。しかしながら、化学構造がわずかに違う化合物が各組織でどのタンパク質を標的とするかを調査した例はほとんどなかった。また、トウガラシの代表的な辛味バニロイドであるカプサイシンの肥満抑制作用は、専ら受容体を介した交感神経系の活性化による脂肪分解であるとみなされている。本研究で扱うバニロイドは、カプサイシンと類似した化学構造を有するが作用が異なる。本研究により、バニロイドの直接相互作用する新たな辛味受容タンパク質の候補が発見できたため、異なる作用点で機能する将来の肥満改善薬開発への貢献が期待できる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to elucidate the molecular mechanism of the anti-obesity effect demonstrated by Grains of Paradise (GOP), a spice native to West Africa. GOP vanilloids, despite having very similar structures, exhibited different effects on fat accumulation and lipid metabolism. Therefore, photoaffinity probes for several GOP vanilloids were synthesized. A probe of 6-paradol was administered to mouse 3T3-L1 fibroblasts (pre-adipocytes), and specific protein bands that interacted with 6-paradol were detected. Proteomics analysis identified several candidates for target proteins of 6-paradol, suggesting involvement in energy metabolism and nuclear transcription.

研究分野：食品化学

キーワード：Spice Grains of Paradise Vanilloid Anti-obesity Photoaffinity labeling 6-paradol 6-gingerol Proteomics

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

丁子や桂皮などの樹木系香辛料は各地域で食肉の風味のみならず防腐効果や薬効を示すため重要な植物材料として珍重され、“ギリシャ草本”や“アーユルヴェーダ”等による香辛料知識の集大成により後世に引き継がれてきた。これまでに、新奇的な風味と香味を有す西アフリカ原産の樹木系香辛料 Grains of Paradise (GOP) の新規機能開発を目指し、特に辛味成分に着目して体重増加や脂肪蓄積抑制などの肥満抑制効果を見出した。トウガラシを代表とする辛味香辛料は顕著な肥満抑制効果を示すことが知られている。このメカニズムは基本的に、「非選択性陽イオンチャネル (Transient receptor vanilloid 1: TRPV1) の脱感作」、「交感神経系を介した褐色脂肪組織の活性化」、「脂肪分解エネルギーの熱変換による散逸消費」というものである。そこで、カプサイシンと類似構造を有する GOP バニロイド (6-gingerol, 6-shogaol) を用いた電気生理学的手法により交感神経活動測定を試みたところ、カプサイシンの経口投与では交感神経活動は増加した。一方で、6-gingerol や 6-shogaol では交感神経活動が顕著に減少した。したがって、申請者の発見した GOP の肥満抑制作用は含有成分による複合的な効果に起因し、これまでの辛味成分にはない別の作用メカニズムによるものであると推測された。

2. 研究の目的

辛味成分の示す肥満抑制効果の既存の標的タンパク質は TRPV1 である。しかしながら、申請者の行った研究結果より、6-gingerol や 6-shogaol は交感神経活動を減少したことから、その標的タンパク質が大きく異なる可能性が考えられる。また、GOP に含まれる主要バニロイドの1つである 6-paradol も交感神経活動を活性化する報告はあるものの、TRPV1 以外の標的タンパク質との相互作用を介し、より強力な活性を示している可能性も否定できない。そこで本研究では、GOP バニロイドの新規標的タンパク質を同定すると共に、その機能を解明することを目的とした。初めに、GOP バニロイドの様々な化学プローブを合成し、標的タンパク質を同定する。また、計算化学によって低分子-タンパク質相互作用を推定し、培養細胞系において阻害剤や変異細胞等を用いることで、同定タンパク質の機能を包括的に評価することを試みる計画とした。

3. 研究の方法

GOP バニロイドを用いたフォトアフィニティーラベル法による標的タンパク質の同定

GOP バニロイドと相互作用する未知標的タンパク質を発見するためには、探索の網羅性や生理条件下における感度と選択性を高度に維持した分離技術が必要である。そこで本研究では、アビジンとビオチンの強力な結合力を利用したフォトアフィニティーラベル法を用いることとした。アルキン化ベンゾフェノンを用いて

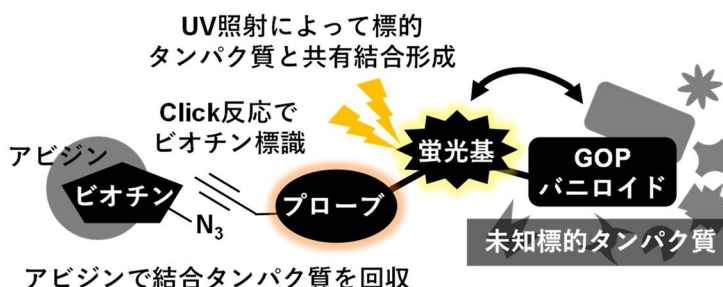


図1 化学プローブを用いた標的タンパク質同定の概略図

GOP バニロイドの化学プローブを合成した。GOP バニロイドはフェノール性水酸基や側鎖中のカルボニル基、二重結合等を有するが、初めにバニリル基におけるフェノール性水酸基を対象としプローブ化を試みた。脂肪前駆細胞 (3T3-L1) に合成した GOP プローブを投与し、360 nm の UV を照射することで光親和性基であるベンゾフェノンが空間的に隣接する標的タンパク質と共有結合する。続いてクリック反応により標的タンパク質をビオチン標識し、アビジン結合 HRP を用いてウェスタンブロットで検出した。また、GOP プローブの投与によって特異的に相互作用する標的タンパク質バンドが検出された場合には、アビジン結合担体を用いたアフィニティークロマトグラフィーで標的タンパク質を選択的に捕捉した (図 1)。GOP バニロイドと特異的に相互作用したタンパク質は精製した後、LC-MS/MS 分析に供し、プロテオミクスによる解析から同定した。

4. 研究成果

4,4'-dihydroxybenzophenone (1) を出発物質に、検出用官能基としてクリック反応によりビオチンと結合可能な propargyl bromide を導入した化合物 2 を合成した。次に、化合物 2 と 1,6-dibromohexane を結合することで化合物 3 を合成した。化合物 3 を用いた GOP バニロイド (6-paradol, 6-gingerol) とのウィリアムソン反応によりエーテル結合させることで、GOP バニロイドのフォトアフィニティープローブ化に成功した (図 2)。

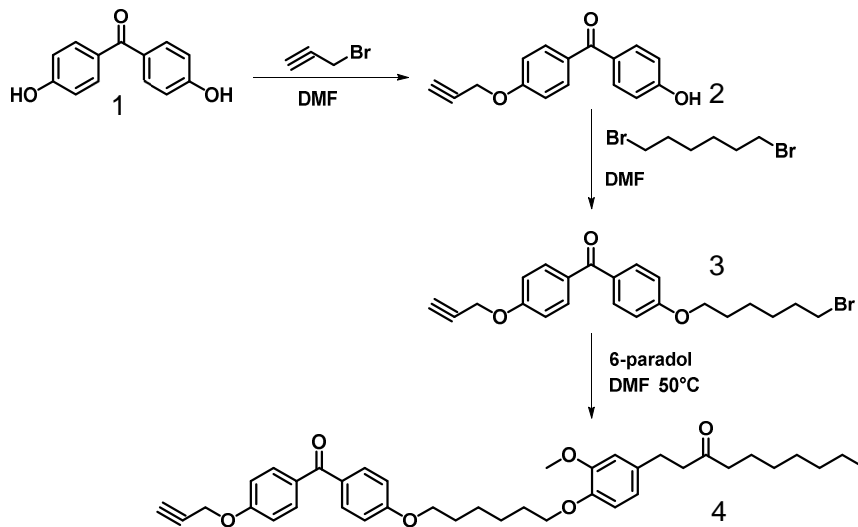


図2 GOP パニロイドフォトアフィニティープローブの合成スキーム

次に，合成した GOP パニロイドのフォトアフィニティープローブを 3T3-L1 脂肪前駆細胞に投与し，特異的に相互作用するタンパク質の検出をウェスタンブロット法を用いて行った。その結果，30-40kDa 付近に 6-paradol と特異的に相互作用するタンパク質バンドが検出された。また，6-paradol と 6-paradol プローブとの競合阻害実験から，ウェスタンブロットにて特異的に検出されていたバンド強度が減少したことから，6-paradol の標的としての妥当性が確認された。そこで，6-paradol のフォトアフィニティーラベリングによって結合したタンパク質をプロテオミクスにより解析し，エネルギー代謝や核内転写に關与するいくつかの標的タンパク質候補が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hattori Hiroyuki, Moriyama Akihiro, Ohno Tomoki, Shibata Takahiro, Iwahashi Hitoshi, Mitsunaga Tohru	4. 巻 5
2. 論文標題 Molecular networking-based lipid profiling and multi-omics approaches reveal new contributions of functional vanilloids to gut microbiota and lipometabolism changes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Food Chemistry: Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 100123 ~ 100123
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.fochms.2022.100123	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 -

〔学会発表〕 計16件（うち招待講演 0件/うち国際学会 8件）

1. 発表者名 服部浩之, 柴田貴広, 光永 徹
2. 発表標題 sisi tubunnsineとマルチオミクス解析による西アフリカ香辛料成分の肥満抑制機構解明
3. 学会等名 日本生薬学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 服部浩之, 柴田貴広, 光永 徹
2. 発表標題 西アフリカ香辛料成分による肥満抑制と腸内環境改善効果の関係
3. 学会等名 日本木材学会大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Hattori.H
2. 発表標題 Application of Natural Product Research to C-Agri Platform
3. 学会等名 International Symposium on Life Mechatronics (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Seng R, Kuroki A, Kawaguchi M, Nakashima F, Shibata T, Hattori H
2. 発表標題 Elucidation of the chemical structures and anti-oxidant property of Cambodian Melaleuca extract
3. 学会等名 The 15th International Conference on Environmental and Rural Development (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 服部浩之, 柴田貴広, 光永 徹
2. 発表標題 脂質分子ネットワークとマルチオミクス解析による西アフリカ香辛料成分の肥満抑制機構解明
3. 学会等名 日本生薬学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 服部浩之, 柴田貴広, 光永 徹
2. 発表標題 西アフリカ香辛料成分による肥満抑制と腸内環境改善効果の関係
3. 学会等名 日本木材学会大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Hattori H
2. 発表標題 Application of Natural Product Research to C-Agri Platform
3. 学会等名 International Symposium on Life Mechatronics (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 服部浩之, 森 崇, 柴田貴広, 北 将樹, 光永 徹
2. 発表標題 香辛料Grains of Paradiseに含まれるパニロイド成分の抗肥満活性
3. 学会等名 日本農芸化学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 服部浩之, 柴田貴広, 光永 徹
2. 発表標題 香辛料Grains of Paradiseに含まれるパニロイド成分の抗肥満活性と作用メカニズムの解明
3. 学会等名 日本木材学会大会
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

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