

# 質量分析データを応用した生体・食品由来成分の健康機能研究

高橋春弥 (京都大学 大学院農学研究科)

takahashi.haruya.3x@kyoto-u.ac.jp

## はじめに

日々の食生活は肥満予防の最前線と捉えることができる。肥満の進行は、糖・脂質代謝異常を介した生活習慣病発症の根源となるため、その予防や改善の重要性は論を俟たないが、肥満の進行時や改善時に生体内で生じる代謝変動を俯瞰的な視点から解析した知見は限られている。また、食品の生理調節機能による肥満予防に関する研究では、生物学的実験を基礎とした機能評価を通してこれまでに多様な知見を蓄積する一方、具体的にどのような食品成分がどのように機能するのか、成分レベルでの因果関係の立証や全体像把握に関する知見は限られている。これらの課題を解決するため、本研究では悉皆的成分解析を特徴とするメタボローム解析を主とする質量分析データを、各種機能評価実験系に組み込むことで高精度な評価を実現し、肥満に起因する各種代謝異常の改善に寄与する生体内成分や、多様な食品成分の生理調節機能に関する知見を見出した。

## 1. 肥満を起因とする代謝異常の改善に寄与する生体内成分の特定

肥満を起因とする代謝異常は多岐にわたる<sup>1)</sup>が、中でも糖・脂質代謝異常は動脈硬化症、脂肪肝、糖尿病等の生活習慣病発症につながるため、糖・脂質代謝異常の予防・改善は健康維持増進に大きく寄与する。本研究では、肝臓と脂肪組織（脂肪細胞）に着目し、肥満を起因とする糖・脂質代謝異常の改善に寄与する生体内成分の特定と機能解析を行った。

### 1-1. PPAR $\alpha$ 活性化時の代謝変動解析と変動代謝物の生理機能解析

肝臓や骨格筋に主に発現するペルオキシソーム増殖剤応答性受容体（peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR） $\alpha$  の活性化は脂質代謝異常改善に重要な役割を担うことが知られており<sup>2)</sup>、先行研究よりその活性化メカニズムの詳細が明らかにされる一方、PPAR $\alpha$  活性化により生じる代謝変動の全体像は不明確な点が多く残されている。そこで、実験動物のマウスを用いて、PPAR $\alpha$

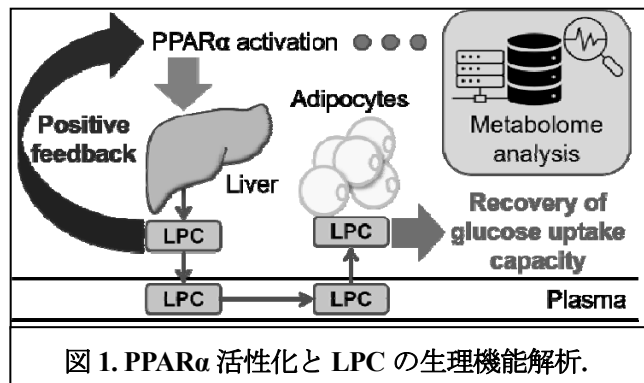


図 1. PPAR $\alpha$  活性化と LPC の生理機能解析。

活性化時の生体内代謝変動をメタボローム解析により網羅的に解析した結果、リゾリン脂質の 1 種である 1-palmitoyl lysophosphatidylcholine (LPC) の生合成が肝臓において増強され、当該成分が PPAR $\alpha$  活性化を促す positive feedback 様作用を有することを明らかにすると共に、インスリン抵抗性を生じさせた培養脂肪細胞において糖取り込み能を LPC が一部回復させることも明らかにし、脂質代謝異常改善のみならず糖代謝異常改善にも寄与する可能性を見出した<sup>3)</sup> (図 1)。また、メタボローム解析に加え、LC-MS を基盤として確立した長鎖脂肪酸分析系<sup>4)</sup> も活用し、高脂肪食負荷条件下における野生型マウスと脂肪細胞特異的 PPAR $\alpha$  高発現マウスにおける代謝の相違を比較解析した結果、両者間で分岐鎖アミノ酸や長鎖脂肪酸類の代謝に顕著な相違が存在することが判明し、脂肪細胞での PPAR $\alpha$  高発現が、長鎖脂肪酸量の減少を介して脂肪組織の慢性

的炎症低減やインスリン抵抗性の改善に寄与することを見出した<sup>5)</sup>。

## 1-2. 脂肪細胞の褐色化、及び分化制御に関与する代謝物の特定と機能解析

脂肪細胞の機能は複雑である。肥大化した脂肪細胞は様々な代謝異常の原因となる一方、正常に分化した脂肪細胞は生体恒常性維持に必須である。また、熱産生能を有する褐色様脂肪細胞は肥満予防に有効である<sup>6)</sup>。この脂肪組織の褐色化を介した熱産生の向上メカニズムについて、脂肪組織の褐色化が進行する際

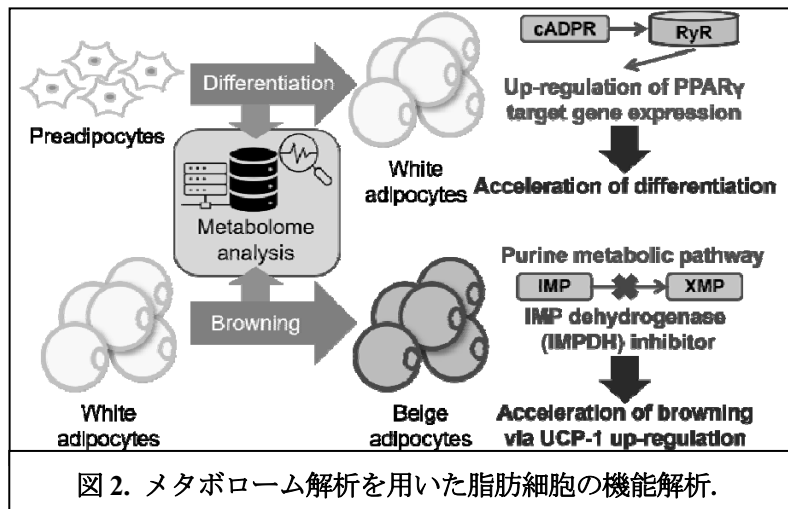


図2. メタボローム解析を用いた脂肪細胞の機能解析。

の脂肪組織での代謝変動をメタボローム解析により網羅的に解析した結果、特に核酸代謝が大きく変動することを明らかにすると共に、核酸関連代謝物に属する inosine 5'-monophosphate (IMP) の代謝制御が脂肪組織の褐色化に重要な役割を果たしていることを明らかにした<sup>7)</sup> (図2)。この研究から、脂肪細胞機能と核酸代謝に密接な関係があると考え、脂肪細胞分化過程の代謝変化をメタボローム解析により経時的に解析した結果、核酸関連代謝物の1種である cyclic adenosine diphosphate ribose (cADPR) が、脂肪細胞分化のマスターレギュレーターである PPARγ の mRNA 発現量と正の相関関係を有することを発見し、これを契機として、cADPR が ryanodine receptor (RyR) を介し、PPARγ 標的遺伝子群の mRNA 発現上昇を誘導することにより、脂肪細胞分化を促すメカニズムを見出した<sup>8)</sup> (図2)。

## 2. 生理調節機能を有する食品素材成分の解析

食品には多様な機能が存在するが、これらは主に栄養機能（一次機能）、嗜好機能（二次機能）、生理調節機能（三次機能）に大別される。この3つの食品機能を理解することは、日々の食事を通じた健康で豊かな生活を実現する上で必要不可欠である<sup>9)</sup>。特に三次機能の解明は、肥満予防を日々の食生活を通して実現する上で重要である。食品は、作用成分や作用機序が高度に明確化された医薬品とは異なり、一つ一つの食材中に膨大な成分が存在することから、これらの多種多様な成分が複合的に食品の機能にどのように関与するのかについての理解の深化が求められている。この理解の一助として期待されるのが、質量分析データである。

### 2-1. 糶に含まれる脂質代謝促進成分の特定

日本の伝統食に欠かせない糶をはじめとする発酵食品は、健康に関するさまざまな情報があるにも関わらず、有用成分やその作用メカニズムについては不明確な点が多く残されている。筆者らは、糶が有する生理調節機能に着目した研究を行った。糶抽出物を添加した野生型マウス肝臓初代培養細胞系において、中性脂肪蓄積量の減少や、PPARα 標的遺伝子の mRNA 発現量の増強が認められた一方、PPARα 欠損マウス肝臓初代培養細胞系においてはこれらの効果は認められなかったことか

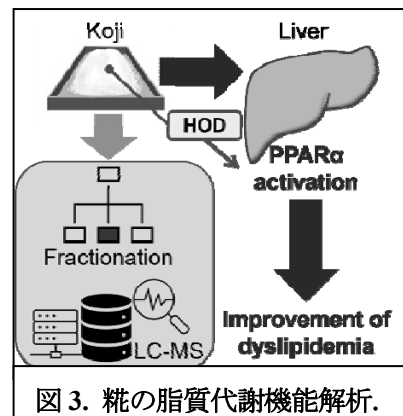


図3. 糶の脂質代謝機能解析。

ら、糞抽出物中に PPAR $\alpha$  活性化成分が含有されていることが強く示唆された<sup>10)</sup>。そこで、糞抽出物の分画を行い、ルシフェラーゼレポーターアッセイを用いて明らかにした PPAR $\alpha$  活性化能を有する複数の画分について、HPLC による再分画及び LC-MS を用いた成分分析を行った結果、当該画分に含まれる成分の中で、9-hydroxy-10(E),12(E)-octadecadienoic acid (HOD) が最も PPAR $\alpha$  活性化能が強く、野生型マウス肝臓初代培養細胞への HOD 添加は、中性脂肪蓄積量の減少や、PPAR $\alpha$  標的遺伝子の mRNA 発現量の増加を促す一方、PPAR $\alpha$  欠損マウス肝臓初代培養細胞系においては、先述した効果は認められなかった。このことから、糞中に含まれる HOD は、PPAR $\alpha$  活性化を介して脂質代謝を亢進する作用を有することが示され、糞が有する脂質代謝異常の改善作用の一端を明らかにした<sup>10)</sup> (図3)。

## 2.2. トマトに含まれる生理調節機能成分に関する解析

「トマトが赤くなると医者が青くなる」という諺が示す通り、トマト果実に含まれる有用成分については、国内外の様々な研究グループから多くの報告がなされ、トマトが有する健康機能が着目されている。筆者らも、前述の LC-MS を基盤とした成分分析や各種の生理機能評価系を活用することにより、脂質代謝異常の改善や糖代謝異常につながる炎症を抑制する有用成分を複数特定している<sup>11,12)</sup>。

また、直近の研究においては、LC-MS で検出した多様なトマト果実成分を予めメタボローム解析によりリスト化すると同時に、当該抽出物を分画・機能評価し、各画分の活性有無と成分情報を統合することにより、活性画分中に含まれる有用成分を迅速に特定する手法を確立し、この手法を用いて解析を行ったところ、トマト果実中に含まれるカロテノイド類成分である  $\beta$ -carotene や lycopene が、肥満予防や改善に重要な役割を担う adiponectin と同じシグナル伝達経路を活性化させる機能を有することを明らかにした<sup>13)</sup> (図4)。

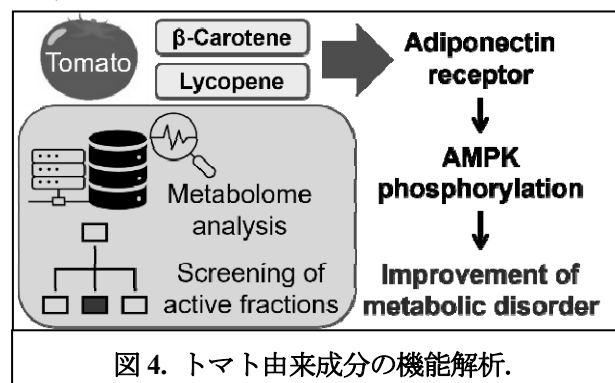


図4. トマト由来成分の機能解析。

## 2.3. 植物・微生物相互作用時の代謝変動の網羅的解析

植物は微生物との相互作用の中で二次代謝産物を含む多様な成分を生み出すことが知られており、これらの成分には健康機能に有用な成分も多数含まれている。他方、植物と微生物の相互作用の際に生じる代謝変動の全体像については不明確な点があるため、メタボローム解析を活用し、微生物が大豆発芽時の代謝に与える影響について検討した。その結果、多様な二次代謝産物を含む成分の代謝変動を可視化することに成功し、植物・微生物相互作用時の代謝変動の一端を明らかにする<sup>14)</sup> とともに、一部のイソフラボン代謝物が抗炎症能を有することを見出した<sup>15)</sup>。

## おわりに

本研究で提示するメタボローム解析を主とした質量分析データを活用する新しい包括的生理機能評価法は、生体内成分の新たな生理機能の発見や、農林水産物等の食資源から高精度に健康機能に寄与する有用成分を特定することを可能とし、肥満に起因する各種生活習慣病の発症メカニズムの理解や高付加価値食品開発を進めるための一助となる<sup>16)</sup>。また、これらの研究成果は、健康寿命延伸や高付加価値食品創出への貢献を通じて日常生活における健康的な食生活のあり方を喚起することにつながるものであり、豊かな社会実現の一助ともなることが期待される。

## 謝辞

研究室配属時から研究者として育成くださいました恩師の京都大学名誉教授故河田照雄先生をはじめ、京都大学特任教授柴田大輔先生、京都大学特任教授松村康生先生には、日々の研究におけるご指導のみならず、研究を物心両面からご支援下さり心より御礼申し上げます。また、京都大学教授井上和生先生、京都大学准教授後藤剛先生には多面的なご指導・ご支援をくださり感謝しております。さらには、研究室スタッフ、卒業生、在学生の皆様のご協力に深く感謝申し上げます。加えて、本研究は様々な共同研究機関や民間企業からのご支援の賜物であり、この紙面をお借りして御礼申し上げます。最後に、本賞にご推薦くださいました日本農芸化学会会長上原万里子先生ならびにご支援を賜りました日本農芸化学会の諸先生方に厚く御礼申し上げます。

## 引用文献

- 1) Neeland I.-J., Lim S., Tcherno A., Gastaldelli A., Rangaswami J., Ndumele C.-E., Powell-Wiley T.-M., Després J.-P.: *Nat Rev Dis Primers*. 10(1):77 (2024).
- 2) 河田照雄：化学と生物, 41: 746-752 (2003).
- 3) Takahashi H., Goto T., Yamazaki Y., Kamakari K., Hirata M., Suzuki H., Shibata D., Nakata R., Inoue H., Takahashi N., Kawada T.: *J Lipid Res*. 56(2):254-65 (2015).
- 4) Takahashi H., Suzuki H., Suda K., Yamazaki Y., Takino A., Kim Y.-I., Goto T., Iijima Y., Aoki K., Shibata D., Takahashi N., Kawada T.: *Biosci Biotechnol Biochem*. 77(11):2288-93 (2013).
- 5) Takahashi H., Sanada K., Nagai H., Li Y., Aoki Y., Ara T., Seno S., Matsuda H., Yu R., Kawada T., Goto T.: *Biochem Biophys Res Commun*. 493(1):108-114 (2017).
- 6) Harms M., Seale P.: *Nat Med*. 19(10):1252-63 (2013).
- 7) Takahashi H., Tokura M., Kawarasaki S., Nagai H., Iwase M., Nishitani K., Okaze H., Mohri S., Ito T., Ara T., Jheng H.-F., Nomura W., Kawada T., Inoue K., Goto T.: *J Biol Chem*. 298(10):102456 (2022).
- 8) Takahashi H., Nishitani K., Kawarasaki S., Martin-Morales A., Nagai H., Kuwata H., Tokura M., Okaze H., Mohri S., Ara T., Ito T., Nomura W., Jheng H.-F., Kawada T., Inoue K., Goto T.: *FASEB J*. 38(1):e23391 (2024).
- 9) Arai S.: *Biosci Biotechnol Biochem*. 60(1):9-15 (1996).
- 10) Takahashi H., Chi H.-Y., Mohri S., Kamakari K., Nakata K., Ichijo N., Nakata R., Inoue H., Goto T., Kawada T.: *J Agric Food Chem*. 64(46):8848-8856 (2016).
- 11) Takahashi H., Kamakari K., Goto T., Hara H., Mohri S., Suzuki H., Shibata D., Nakata R., Inoue H., Takahashi N., Kawada T.: *Lipids*. 50(11):1083-91 (2015).
- 12) Mohri S., Takahashi H., Sakai M., Takahashi S., Waki N., Aizawa K., Suganuma H., Ara T., Matsumura Y., Shibata D., Goto T., Kawada T.: *PLoS One*. 13(1):e0191203 (2018).
- 13) Mohri S., Takahashi H., Sakai M., Waki N., Takahashi S., Aizawa K., Suganuma H., Ara T., Sugawara T., Shibata D., Matsumura Y., Goto T., Kawada T.: *PLoS One*. 17(7):e0267248 (2022).
- 14) Takahashi H., Ochiai K., Sasaki K., Izumi A., Shinyama Y., Mohri S., Nomura W., Jheng H.-F., Kawada T., Inoue K., Goto T.: *PLoS One*. 16(7):e0254190 (2021).
- 15) Jheng H.-F., Takase M., Kawarasaki S., Ni Z., Mohri S., Hayashi K., Izumi A., Sasaki K., Shinyama Y., Kwon J., Ng S.-P., Takahashi H., Nomura W., Yu R., Ochiai K., Inoue K., Kawada T., Goto T.: *Biosci Biotechnol Biochem*. 87(7):747-757 (2023).
- 16) Takahashi H.: *Biosci Biotechnol Biochem*. 89(2):215-223 (2025).