



健康機能評価に寄与する質量分析データの応用展開

京都大学大学院農学研究科 高橋 春 弥

はじめに

肥満予防の最前線は、日々の食生活にあると考えられる。食品健康機能に関する研究は多岐にわたるが、その主たる研究対象として、肥満に起因する各種生活習慣病の発症メカニズムと、生活習慣病の予防あるいは改善に関わる食品健康機能の2点が挙げられる。両者は共に、生物学的実験を基礎とした健康機能評価を通してこれまでに様々な知見を蓄積する一方、具体的にどのような生体内成分や食品成分がどれほど健康機能に寄与するのか、「成分レベル」での因果関係の立証や全体像把握が不十分であった。

本研究では、この課題を解決するため、悉皆的成分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生物学的実験が主流の健康機能評価に組み込むことで迅速な評価を実現し、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の特定や、多様な食品素材由来健康機能成分を特定することに成功した。その主な研究成果を以下に述べる。

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

1-1. 肝臓における脂質代謝亢進時の代謝変動解析と有用な生体内成分の特定

肥満を起因とする代謝異常は多岐にわたるが、中でも脂質代謝異常は動脈硬化症や脂肪肝等の生活習慣病発症につながるため、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。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 (PPAR) α 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、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 α 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、PPAR α 活性化時の生体内代謝変動について、LC-MSを活用して確立した長鎖脂肪酸分析系、及びメタボローム解析系の2つの手法を用いて、主に実験動物のマウス血中及び肝臓での解析を中心に行った。その結果、前者の分析系より palmitoleic acid (POA) と oleic acid (OA) が顕著に変動し、その変動が血中に反映され、PPAR α 活性化マーカーとして活用可能であること¹⁾、また、後者の解析系より、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 α 活性化を促す positive feedback 様作用を有することを明らかにした²⁾ (図1)。

1-2. 脂肪組織の健康機能改善に寄与する生体内成分の特定

前述した LPC については、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一部回復させることを明らかにし、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明らかにした²⁾。また、肥満予防の一助として近年着目されている脂肪組織の褐色化について、当該現象が生じる際の脂

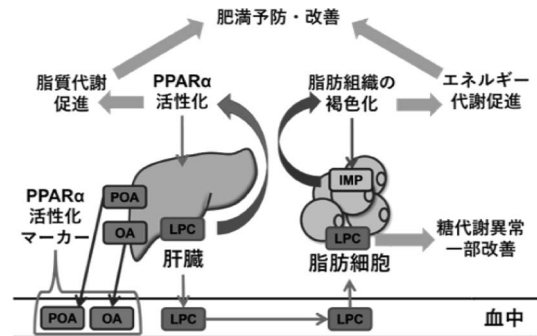


図1. 代謝異常の改善に寄与する生体内成分の特定

肪組織での代謝変動をメタボローム解析により可視化した結果、核酸代謝経路上に位置する多様な成分が顕著に代謝変動を受けることを明らかにすると同時に、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³⁾ (図1)。

2. 健康機能に有用な食品素材成分の解析

2-1. 肥満による代謝異常を改善する食品成分の特定

健康機能に有用な成分を様々な食品素材から特定する研究を行ってきた中で、本紙では糀とトマト果実に含まれる有用成分について紹介する。

日本の伝統食に欠かせない糀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。野生型マウス肝臓初代培養細胞系において糀抽出物を添加し、細胞に含まれる中性脂肪値及び PPAR α 標的遺伝子の mRNA 発現量を測定したところ、糀抽出物添加により中性脂肪蓄積量が減少し、PPAR α 標的遺伝子の mRNA 発現量は増加した一方、PPAR α 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とから、糀抽出物中に PPAR α 活性化成分が含有されていることが強く示唆された。そこで、糀中に含まれる PPAR α 活性化成分を同定する次の研究を行った。糀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 α 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 を用いた分析の結果、当該画分に複数の長鎖脂肪酸及び脂肪酸代謝産物が含有されていることが明らかとなった。これらの成分の中で、9-hydroxy-10(E),12(E)-octadecadienoic acid (HOD) が最も PPAR α 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 α 標的遺伝子の mRNA 発現量の増加を促す一方、PPAR α 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、糀中に含まれる HOD は、PPAR α 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、糀が有する脂質代

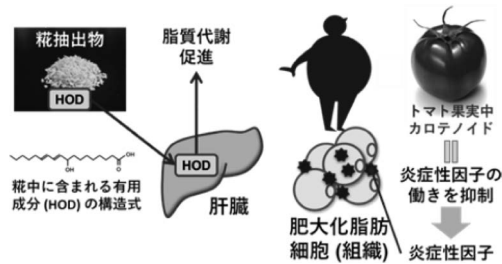


図2. 健康機能に有用な食品素材成分の特定



図3. 質量分析データを活用した健康機能評価の概念図

謝異常の改善作用の一部を上述のメカニズムで説明できる可能性を示した⁴⁾(図2)。

また、トマト果実に含まれる有用成分については、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所属分野の先行研究において既に複数特定しているが、これに関連する直近の研究では、前述のメタボローム解析技術と健康機能評価実験を組み合わせた有用成分探索系を確立し、健康機能に有用な成分を効率的に特定する研究を行った。具体的には、LC-MSで検出した膨大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た。この手法を用いた解析を行ったところ、トマト果実中に含まれる複数のカロテノイド類成分が、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作用を有することを明らかにした⁵⁾(図2)。

2-2. 植物・微生物相互作用時の有用二次代謝産物の網羅的解析

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種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、前述のメタボローム解析技術を活用し、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約700種類の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した⁶⁾。

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健康機能評価法は、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迅速かつ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の一助となることが期待される。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(図3)。

(引用文献)

- 1) Takahashi H, Suzuki H, *et al.* Long-chain free fatty acid profiling analysis by liquid chromatography-mass spectrometry in mouse treated with peroxisome proliferator-activated receptor α agonist. *Biosci Biotechnol Biochem*, Vol. 77, 11, p 2288-2293, (2013)
- 2) Takahashi H, Goto T, *et al.* Metabolomics reveal 1-palmitoyl lysophosphatidylcholine production by peroxisome proliferator-activated receptor α . *J Lipid Res*, Vol. 56, 2, p 254-265, (2015)
- 3) Takahashi H, Tokura M, *et al.* Metabolomics reveals inosine 5'-monophosphate is increased during mice adipocyte browning. *J Biol Chem*, Vol. 298, 10, 102456, (2022)
- 4) Takahashi H, Chi HY, *et al.* Rice koji extract enhances lipid metabolism through PPAR α activation in mouse liver. *J Agric Food Chem*, Vol. 64, 46, p 8848-8856, (2016)
- 5) Mohri S, Takahashi H, *et al.* Integration of bioassay and non-target metabolite analysis of tomato reveals that β -carotene and lycopene activate the adiponectin signaling pathway, including AMPK phosphorylation. *PLoS One*, Vol. 17, 7, e0267248, (2022)
- 6) Takahashi H, Ochiai K, *et al.* Metabolome analysis revealed that soybean-*Aspergillus oryzae* interaction induced dynamic metabolic and daidzein prenylation changes. *PLoS One*, Vol. 16, 7, e0254190, (2021)

謝辞 本研究は、主に京都大学大学院農学研究科食品生物科学専攻食品分子機能学分野、食品生理機能学分野、および「カゴメ」トマト・ディスカバリーズ講座において行われたものです。分野配属時から研究者として育成くださいました京都大学名誉教授河田照雄先生に厚く御礼申し上げます。また、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研究を推進するにあたり物心両面からご支援下さり心より御礼申し上げます。さらには、京都大学教授井上和生先生には分野配置換後から今日に至るまで常に温かなご指導を下さり感謝申し上げます。京都大学准教授後藤剛先生には分野配属時から今日に至るまで研究現場での多面的なご指導・ご支援をくださり大変感謝しております。また、本研究を遂行するにあたり毛利晋輔博士(現 立命館大学)、川原崎聡子博士をはじめ上述研究分野のスタッフの皆様、並びに卒業生、在学生の皆様を支えていただき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心より御礼申し上げます。最後に、本賞にご推薦くださいました日本農芸化学会関西支部長の京都大学教授森直樹先生ならびにご支援を賜りました関西支部の諸先生方に厚く御礼申し上げます。