

【学位請求論文 研究題目】

Studies on the global screening of functional food ingredients in tomato using LC-MS and metabolomic analysis
(LC-MS 及びメタボローム解析を利用したトマトに含まれる機能性成分の網羅的探索に関する研究) 毛利晋輔

【学位請求論文 要旨】

日々の食生活から摂取可能であり、穏やかに生体機能を調節し得る食品機能性の利用は、病態の予防・改善策として有効な方法である。そのため、食品に含まれる多様な化合物から機能性成分を探索することは極めて重要な研究テーマであり、オープンカラムや HPLC、核磁気共鳴などを用いた研究が活発に行われてきた。しかし、これらの従来法は、多数の操作工程を経た成分ごとの高度な精製と化合物量の確保を必要とし、機能性成分の単離精製及び同定に膨大な時間と労力を要することから、食品中機能性成分の解明を困難にしている。本研究では、より効率的かつ網羅的な食品機能性成分の探索方法の構築並びに機能性成分の取得を目的として、世界で最も消費量の多い野菜の 1 つであるトマト (*Solanum lycopersicum*) を探索源に、高感度分析が可能である LC-MS 及び網羅的分析が可能であるメタボローム解析の利用と取得化合物の機能性について検討した。

第 1 章 トマト含有抗炎症画分の探索

肥満と糖代謝異常を結びつけるメカニズムの 1 つとして脂肪組織における慢性炎症が挙げられる。そのため、炎症性メディエータを抑制し、慢性炎症を低減し得る食品は、肥満に伴う糖代謝異常改善に寄与することが期待される。そこで、炎症性メディエータの 1 つである NO 産生の抑制効果を指標に、トマト果実から抗炎症画分を探索し、HPLC 精製画分を見出した。また、当該画分は脂肪組織における慢性炎症を模倣した共培養系においても各種炎症性メディエータの産生を抑制することを見出した。

第 2 章 LC-MS を利用したトマト含有抗炎症化合物の探索

第 1 章において、トマト果実に抗炎症効果を発揮する化合物が存在し得ることを見出し、トマトが肥満に伴う糖代謝異常の改善に寄与することが示唆された。そこで申請者は、マウスを用いたトマト摂食実験を行い、トマト摂食が血糖値及び脂肪組織の炎症関連遺伝子発現量を低下させることを見出した。続いて、この抗炎症効果に寄与する化合物について、HPLC 精製と LC-MS を組み合わせた広範囲のスクリーニングを行った。HPLC 精製により得た 650 画分について NO 産生の抑制効果を評価後、良好な活性を示した画分について LC-MS を用いた化合物分析を行った。その結果、多数の化合物を特定し、トマトに含まれる抗炎症化合物の全体像を明らかにした。また、その中に複数のオキシリピン及びクマリン類の存在を見出し、これに着目して 8 つの化合物を同定した。これらの化合物について *in vitro* 系で機能性評価を行ったところ、9-oxo-octadecadienoic acid 及び daphnetin が顕著に炎症性メディエータ産生の抑制効果を示すことを見出し、作用機序として MAPK リン酸化抑制及び I κ B- α 分解抑制が関与することを見出した。

第 3 章 メタボローム解析を利用したトマト含有アディポネクチン受容体アゴニストの探索

血糖値の改善に寄与する分泌タンパク質であるアディポネクチンは、肥満時の血中濃度低下が報告されている。そのため、アディポネクチン受容体 (AdipoR) アゴニストとして機能し得る化合物は、肥満時の糖代謝異常改善に寄与することが期待されるが、食品由来 AdipoR アゴニストは報告されていない。一方、メタボローム解析は、殆んど精製を介さない食品粗抽出物から、一度の分析で含有化合物の一覧表を作成することができる。そこで、第 2 章よりもさらに効率的・網羅的な機能性成分の探索方法として、活性画分中化合物をメタボローム解析で作成した化合物一覧表から特定可能な系を構築し、トマト果実から AdipoR アゴニストを探索した。その結果、トマト含有 AdipoR アゴニストとして複数のカロテノイド類を見出した。これらの化合物の一部について *in vitro* 系で機能性評価を行ったところ、AdipoR 下流シグナルである AMPK, ACC, p38 のリン酸化並びに *AdipoR* siRNA 処理による AMPK リン酸化の抑制、また、表現型として糖取込み能を上昇させることを見出した。さらに、AdipoR 立体構造モデルを用いた *in silico* ドッキングシミュレーションにおいて、当該化合物が AdipoR と高い親和性を持つことを見出した。