

生物機能開発研究所

平成 30 年度大学院生特別研究補佐員・研究成果報告

課 題：天然化合物の抗シワ形成効果の検討とメカニズム解析

担 当：小林 桃佳

指導教授：禹 濟泰

高齢化が加速する日本において、高齢者の肌に関する主要な悩みの一つであるシワ形成を予防する化粧品への需要は今後も益々高まっていくと考えられる。そこで我々は、抗シワ形成作用を示す天然物及び化合物を探索している。今回の検討で、黒ショウガ (*Kaempferia parviflora*) に含まれる 11 種類のメトキシフラボンの抗シワ形成作用について検討した。紫外線によって引き起こされるシワ形成では、皮膚の真皮で弾力を担うエラスチンの変性に関わるエラスターゼの活性上昇が重要な役割を担っている。このエラスターゼの活性上昇は 11 種の黒ショウガ由来メトキシフラボンの中で、3 化合物のみによって抑制されることを見出した。エラスターゼのタンパク発現及び遺伝子発現も特定のメトキシフラボンによって抑制されたことから、エラスターゼ活性の抑制は発現レベルで抑制されている可能性が示唆された。また、上流の作用機序解析のため、紫外線で産生されてエラスターゼを誘導する炎症因子である IL-1 α の発現について検討した結果、特定のポリメトキシフラボンによって抑制された。以上の通り、本研究で、新規シワ抑制候補成分を同定し、その作用機序の一部を明らかにした。

課 題：Destruxin E が破骨細胞の形態変化を誘導する分子機構の解析

担 当：富田 実花

指導教授：中川 大

我々は、昆虫病原性糸状菌である *M.anisopliae* が生産する環状デプシペプチド Destruxin E が、骨の脆弱化を引き起こす原因になる破骨細胞を殺傷することなく、40 nM で破骨細胞による骨の溶解を抑制することを見出した。しかしながら、破骨細胞の形態に異常を誘導する分子機構や作用標的は十分に明らかになっていない。そこで、本研究では、破骨細胞の形態変化を誘導する分子機構を解明する糸口を得るために、細胞培養液中における Destruxin E の動態を経時的に定量すると共に、細胞内外の Destruxin E および Destruxin E diol を LC-MS/MS を用いて定量した。その結果、培地中の Destruxin E 量は、Destruxin E 添加後 24 h から 48 h まで有意に減少した ($p < 0.01$)。また、Destruxin E および Destruxin E diol の破骨細胞内外における存在比は、共に Destruxin E : Destruxin E diol = 6 : 4 であった。一方、Destruxin E を添加してから 72 h 後の培地は、Destruxin E を添加した直後の培地と比して、破骨細胞にたいする活性が有意に低下していた。これらの結果から、Destruxin E は、培養液中で Destruxin E diol に変化して活性を失う一方、未変化の Destruxin E が抗骨吸収活性を発揮していることが示唆された。

課 題：トランス脂肪酸を迅速かつ簡便に分析する実用計測法の開発と応用

担 当：古田 汐里

指導教授：石田 康行

本研究では、化学反応場と高分解能ガスクロマトグラフィー(GC)を連結した反応熱分解 GC により、1) 試料中のトランス脂肪酸を高感度検出するための反応熱分解場の構築と、2) 実際の食用油脂中の当該成分の迅速定量を試みた。今回は、反応熱分解場として、脂肪酸成分の加水分解とそれに引き続くメチル化反応を瞬間的かつ高効率に誘起できる反応系の確立を試みた。しかし、その反応の過程で、油脂中の不飽和脂肪酸成分の 1 % ほどがシス-トランス異性化してしまうという問題が生じた。そこで、この問題の解決に向けて脂質標準物質（トリリノレン）を試料に用いて、以下に示す対策を講じた。

1. 誘起効果と共鳴効果を併せ持つトリフルオロトリル基を含む反応試薬の使用
2. 試薬と試料の物質比の最適化を通じた、より低温でメチル化が進行する反応系の実現
3. 熱容量や熱伝導率などの熱特性に優れた、白金製の試料ホルダーの採用

上記の改善策を採り入れた結果、 α -リノレン酸のシス体からトランス体への異性化率をわずか 0.1 % まで低減しつつ、そのメチル化体への変換を約 90 % の高い割合で進行できる反応場を実現した。さらに、この反応場を採用した反応熱分解 GC によりショートニングなどの食用油脂中のトランス脂肪酸を定量したところ、得られた値は従来法により得られた値とよく一致した。