

研究区分	教員特別研究推進（独創・先進的研究）
------	--------------------

研 究 テーマ	腸内細菌代謝で産生される尿毒症物質の生成阻害剤の開発				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	三好 規之
	研究協力者	所属・職名	藤田医科大学・教授	氏名	栃尾 巧
		所属・職名	薬学部・生薬学・教授	氏名	渡辺 賢二
		所属・職名	薬学部・生命物理化学・教授	氏名	橋本 博
		所属・職名	薬学部・生命物理化学・准教授	氏名	原 幸大
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	三好 規之

講演題目
腸内細菌代謝で産生される尿毒症物質の生成阻害剤の開発
研究の目的、成果及び今後の展望
尿素や尿酸に代表される尿毒素（尿毒症物質とも呼ばれる）は、栄養素が代謝後に腎糸球体で濾過され尿中に排泄される老廃物の総称である。腎機能低下などにより血中に尿毒素が蓄積すると、心臓・消化器・脳神経などに作用し尿毒症の様々な症状（吐き気、めまい、むくみ、頭痛、食欲不振、疲労感など）を引き起こす。尿毒素としては 100 種類以上の代謝物が同定・分類されているが、なかでもフェノール、<i>p</i>-クレゾール、インドール、スカトールは、その毒性が広く研究されている。いずれも腸内細菌を介して産生される尿毒素であり、宿主（ホスト）の生体内では硫酸抱合体として検出される。これらタンパク結合型尿毒症物質は、ある種の腸内細菌が有する酵素 tyrosine phenol-lyase (TPL)、tyrosine lyase (ThiH)、tryptophane indole-lyase (TIL)、tryptophane lyase (NosL) による触媒、あるいは複数の酵素による多段階反応によって産生される。本研究では、これらタンパク結合型尿毒症物質の生成に対する阻害剤の開発と、阻害剤経口摂取の有用性評価を行った。本年度は新たなフェノール産生酵素 TPL の阻害剤開発を目的に、TPL 生合成酵素組換え体を用いた酵素阻害活性測定法を構築した。測定法の原理は、<i>Morganella morganii</i> (JCM1672) より PCR 法にて取得した TPL 遺伝子の大腸菌発現用プラスミドを用いて調製した TPL 組換え酵素と、基質 L-Tyr、補酵素ピリドキサルリン酸および阻害剤を緩衝液中で反応させ、酵素反応産物（フェノール）を LC-MS で定量する酵素阻害活性評価系である。構築した酵素阻害活性評価系を用いて、TPL 阻害活性スクリーニング評価を行った。被験試料は共同研究先 A 社から供給された食事性ポリフェノール（29 化合物）や共同研究先 B 社から供給された食品抽出物（5 種類）である。A 社より供給された食事性ポリフェノール（29 化合物）のうち、強い TPL 阻害活性を示した食事性ポリフェノールについては、酵素反応速度論解析、X 線結晶構造解析により詳細な阻害メカニズムの解析を進めている。また、B 社より供給された食品抽出物（5 種類）のうち、強い TPL 阻害活性を示した食品抽出物については、LC-MS による成分解析を実施し、活性成分の同定解析を進めている。さらに、C 社より供給された食品素材については、実験動物マウスへの混餌投与によって、血中、尿中、糞便中尿毒症物質へ及ぼす影響を定量解析した。以上より、TPL 阻害剤の新規開発に取り組むとともに、他の尿毒症産生酵素 TIL、ThiH などに対する阻害剤開発を目指した評価系の構築に取り組んだ。