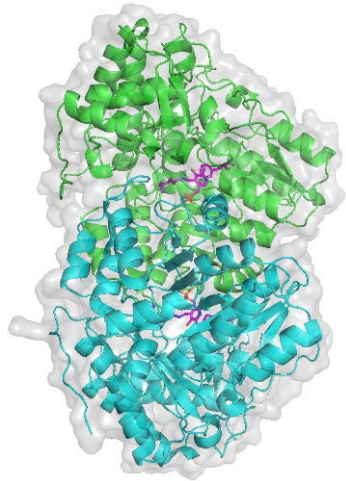


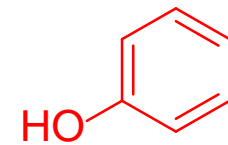
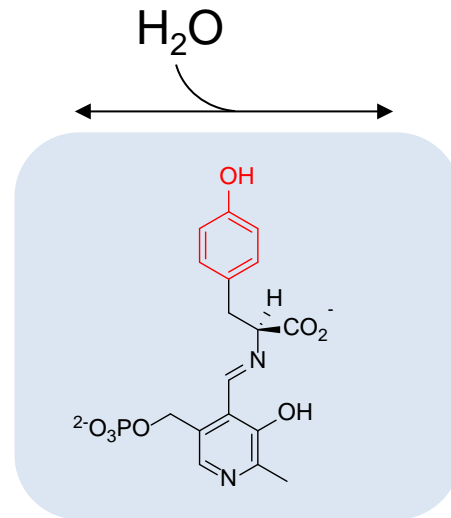
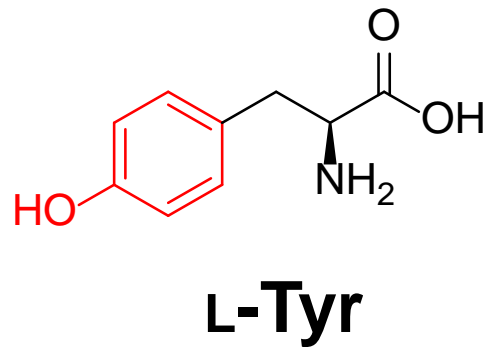
食品成分由来TPL阻害剤を用いた 機能性食品や医薬品開発

静岡県立大学 食品栄養科学部
栄養生命科学科
教授 三好規之

2024年10月29日

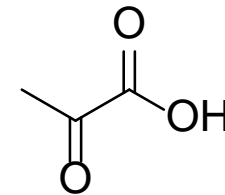


TPL: Tyrosine-phenol lyase (β -tyrosinase)



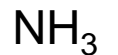
Phenol

+



Pyruvate

+

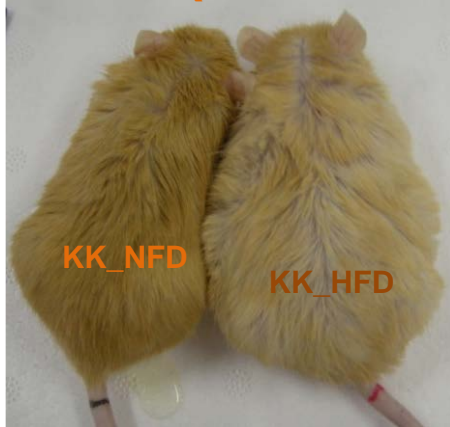


Coenzyme
Pyridoxal 5'-phosphate (PLP)
Vit. B6

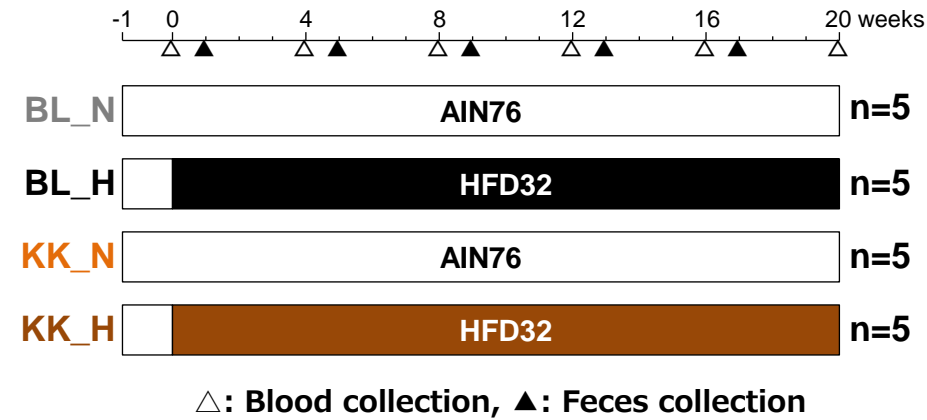
Animals; 4 week, ♂

● C57BL/6J

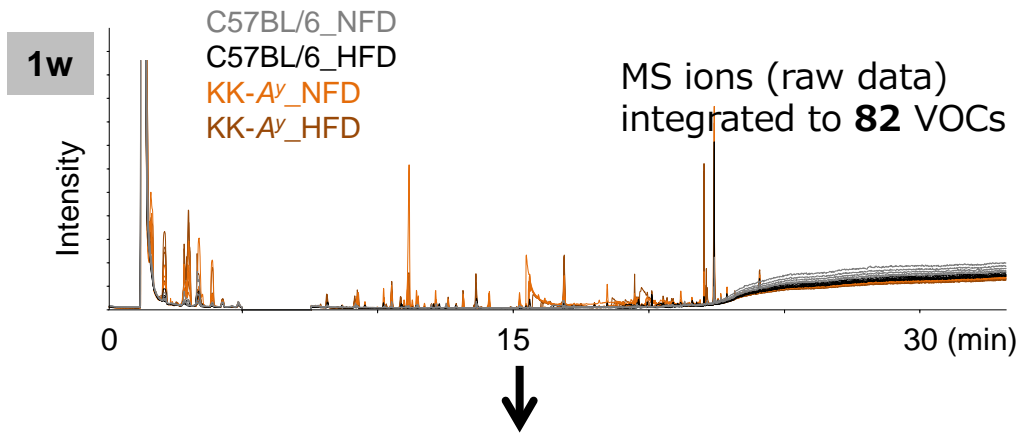
● KK-*A^y* (obese diabetic)



A. Experimental protocol

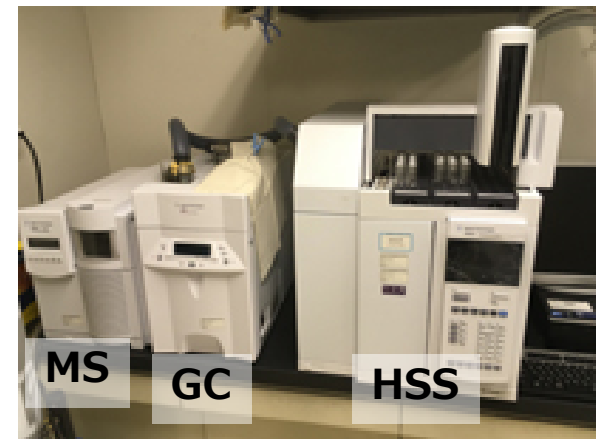


Chromatograms of HSS-GC-MS analyses for mouse feces

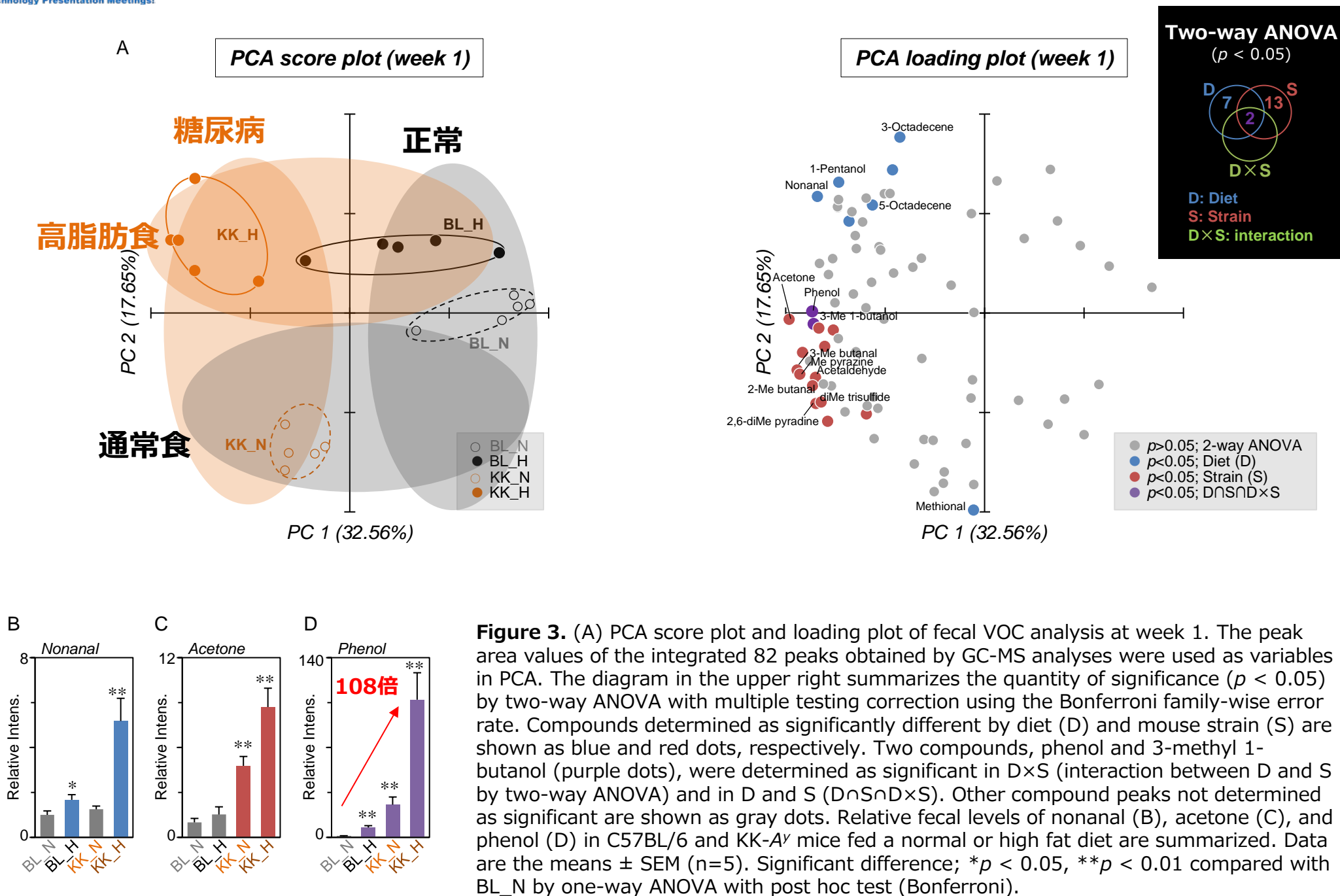


Fecal VOCs profile were subjected to PCA

100 mg feces in vial
↓
Heating at 100°C for 60 min in HSS
↓
VOCs (gas phase) were injected to GC-MS

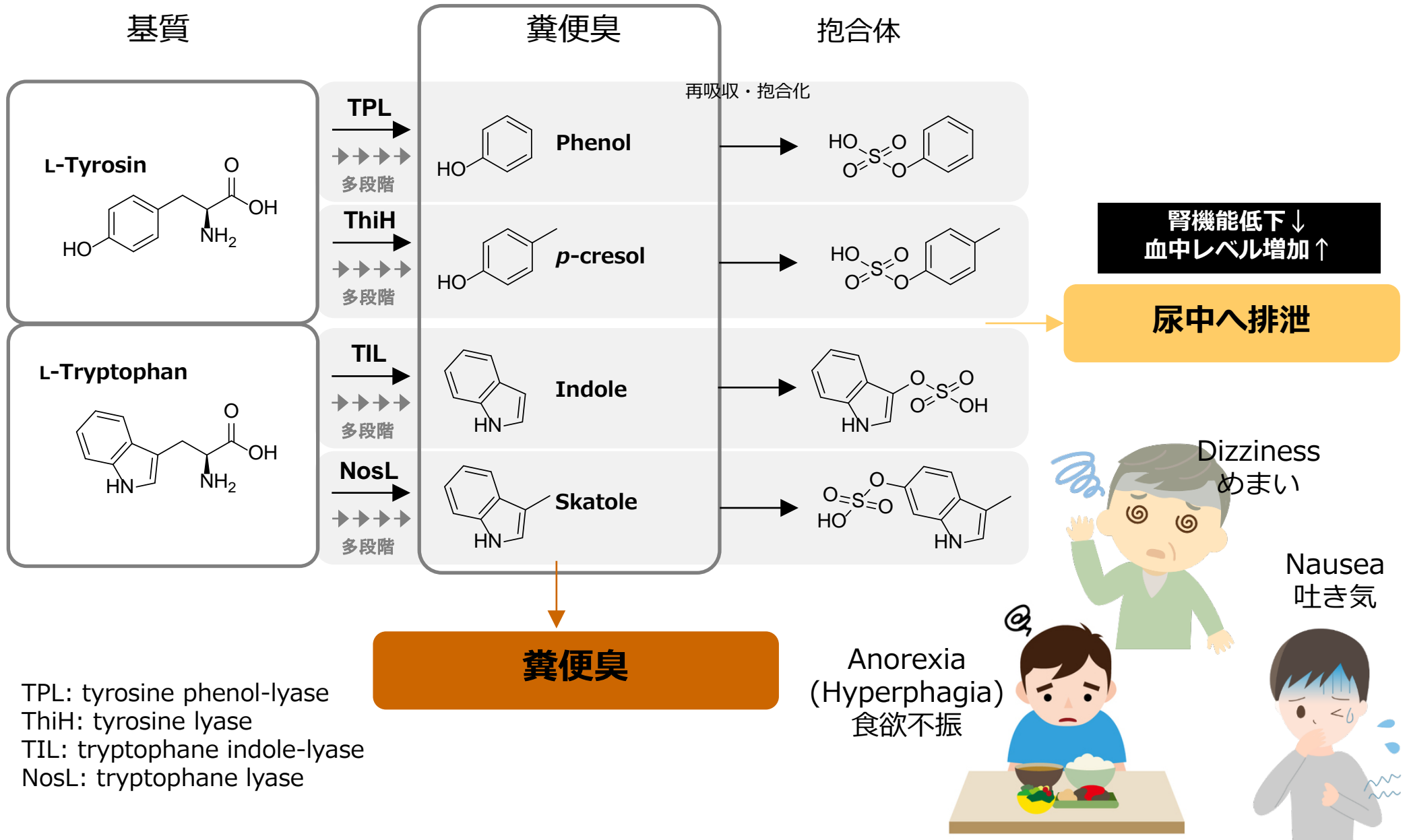


通常食及び高脂肪食を摂取した糖尿病および正常マウスの糞便VOCs分析

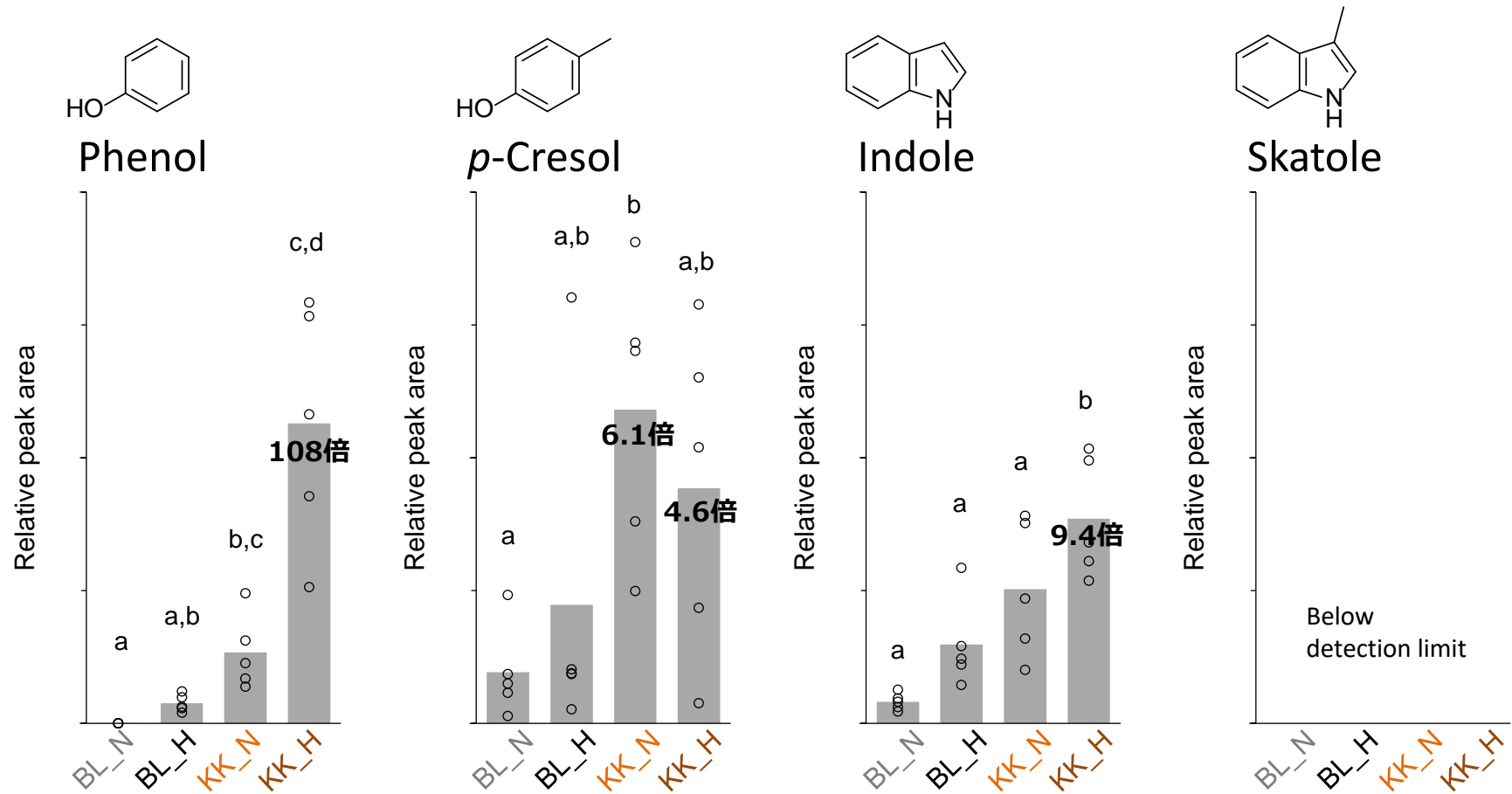


腸内細菌代謝による尿毒症物質（糞便悪臭成分）の産生

タンパク結合型尿毒症物質 PBUTs (protein-bound uremic toxins)



通常食及び高脂肪食を摂取した糖尿病および正常マウスの糞便PBUTs



One-way ANOVA followed by Tukey HSD post hoc test. Significance was at $p < 0.05$.

健常者と血液透析患者血清中尿毒症物質濃度とタンパク結合率

Anal Bioanal Chem, (2012) **403**, 1841-50

* $P < 0.01$ vs healthy subject
** $P < 0.001$ vs healthy subject
$P < 0.001$ vs pre-HD

タンパク結合型尿毒症物質(PBUTs)	健常者 (n=8)	血液透析患者 (n=45)			
		透析前	透析後	除去率 (%)	タンパク結合率 (%)
Indoxyl sulfate (mg/dL) 	0.05±0.01	2.99±0.18**	2.02±0.12#	31.8±1.4	97.7±0.2
p-Cresyl sulfate (mg/dL) 	0.22±0.09	3.71±0.28**	2.60±0.21#	29.1±1.7	95.1±0.6
Phenyl sulfate (mg/dL) 	0.07±0.02	1.35±0.15*	0.48±0.06#	65.2±1.4	90.7±0.9

**血液透析法によるタンパク結合型尿毒症物質 (PBUTs) の除去は十分ではない
PBUTsの生成を阻害する新たな方法の開発が必要**

従来技術とその問題点

尿毒症物質の除去を目的に、血液透析が行われる。

タンパク結合型尿毒症物質の除去率十分ではない。

吸着剤は、多量の服用が必要であり、腸内環境の悪化（下痢の発症）が懸念されている

TPL阻害剤の探索

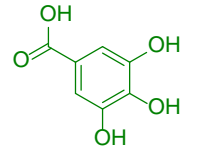
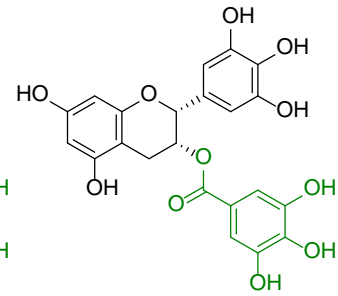
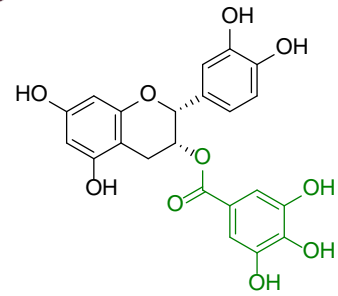
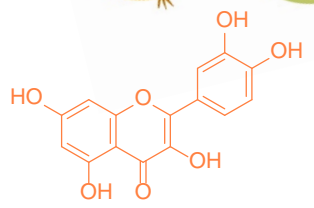
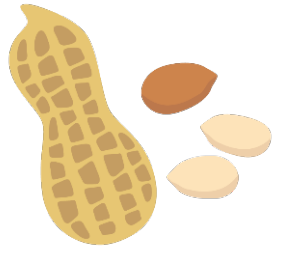
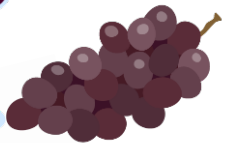
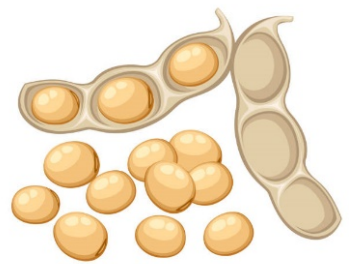
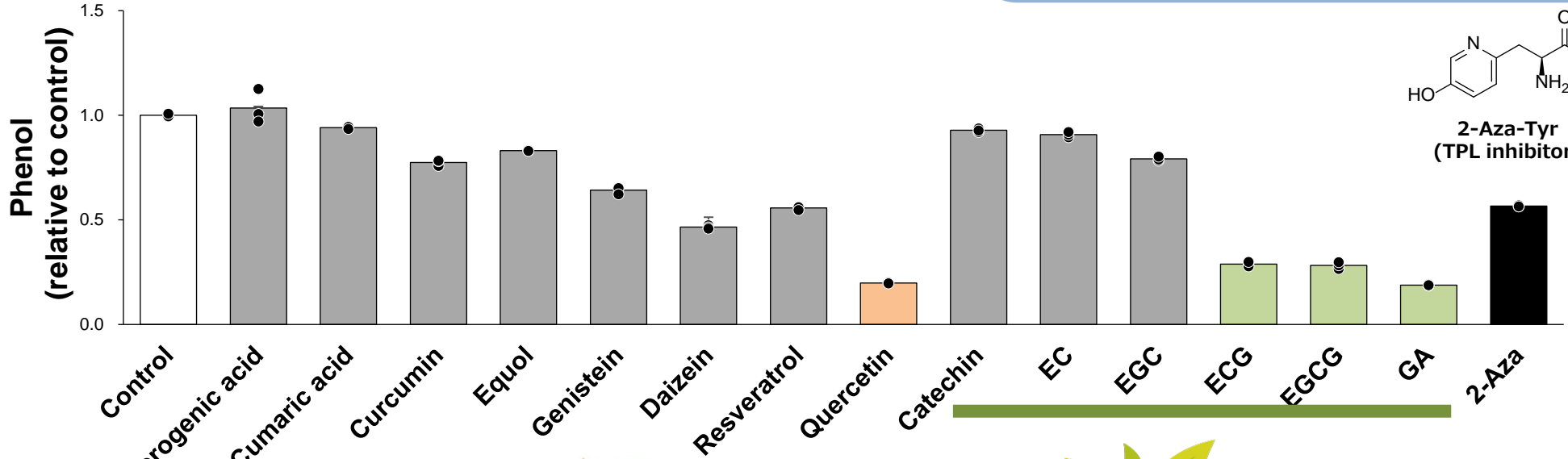
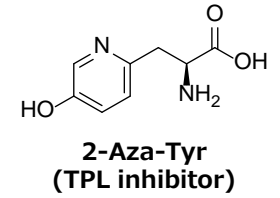
Polyphenols

TPL

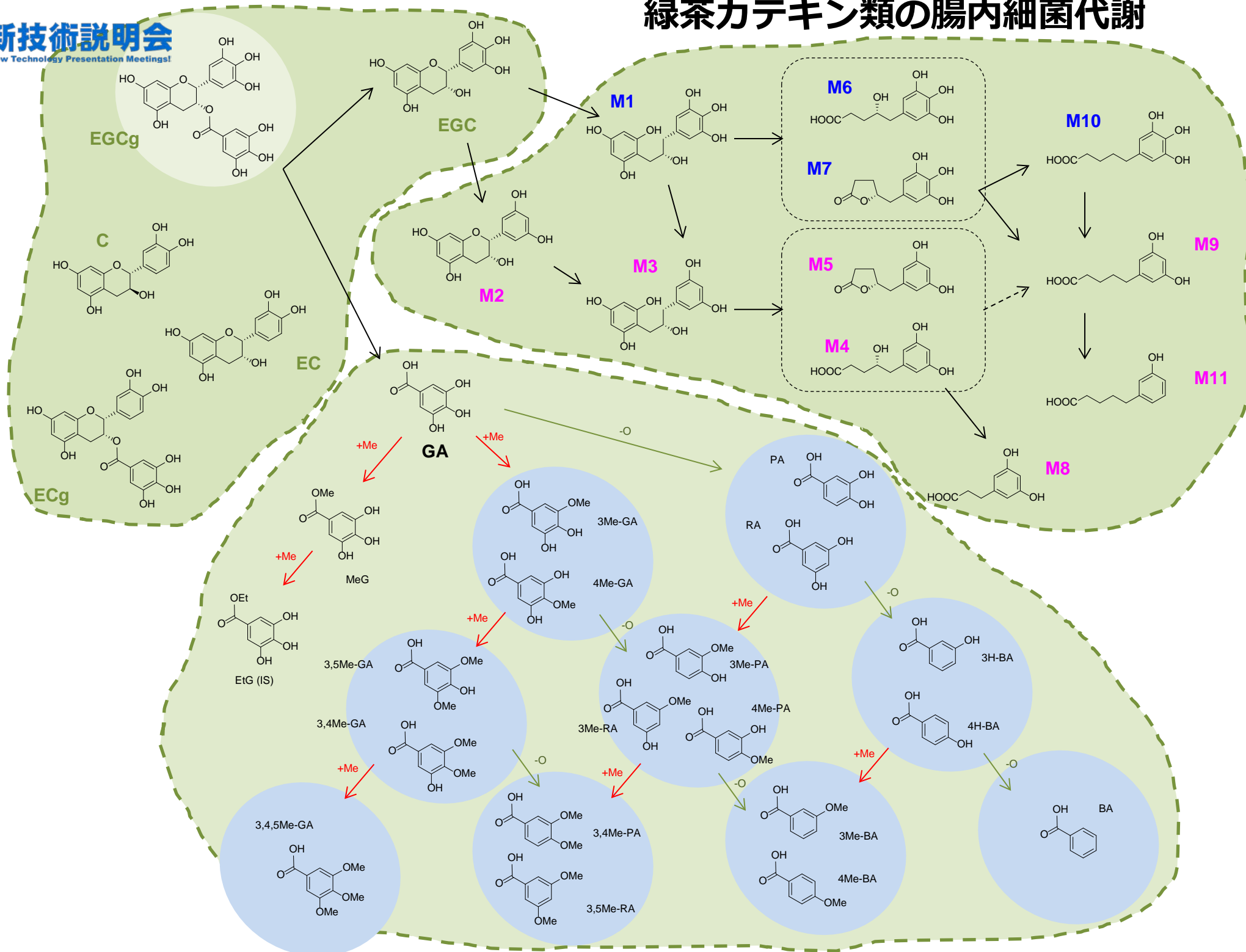


12.5 μg/ml TPL (JCM1672)
50 μM PLP
400 μM L-Tyr
500 μM Inhibitor
50 mM Potassium phosphate buffer (pH 8.0)

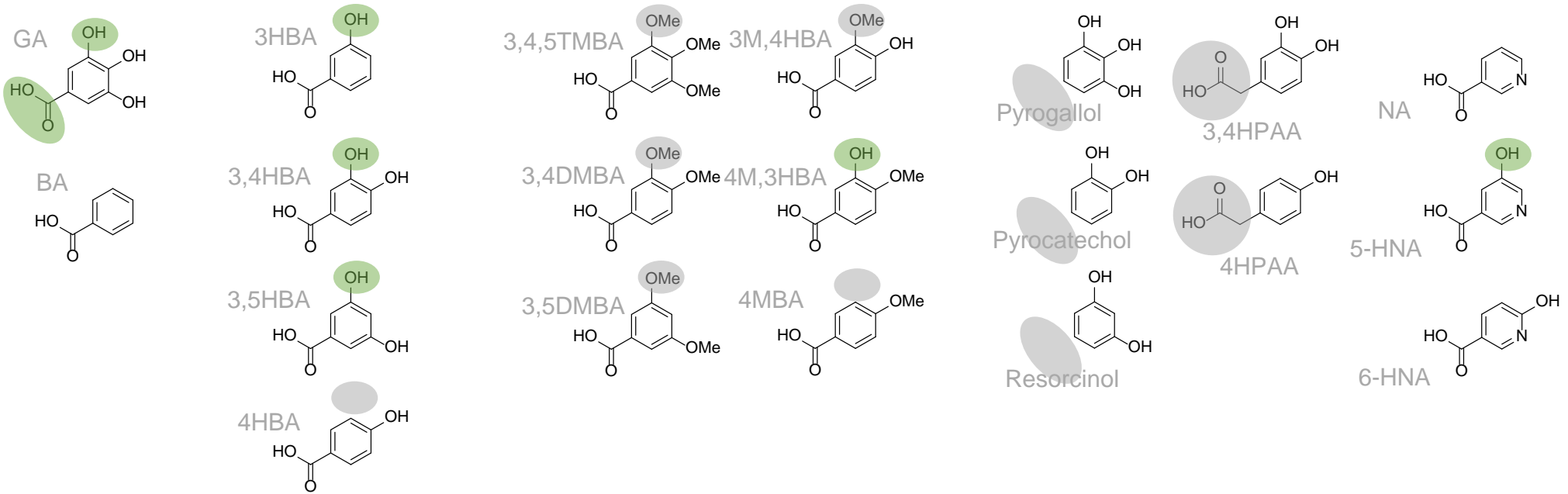
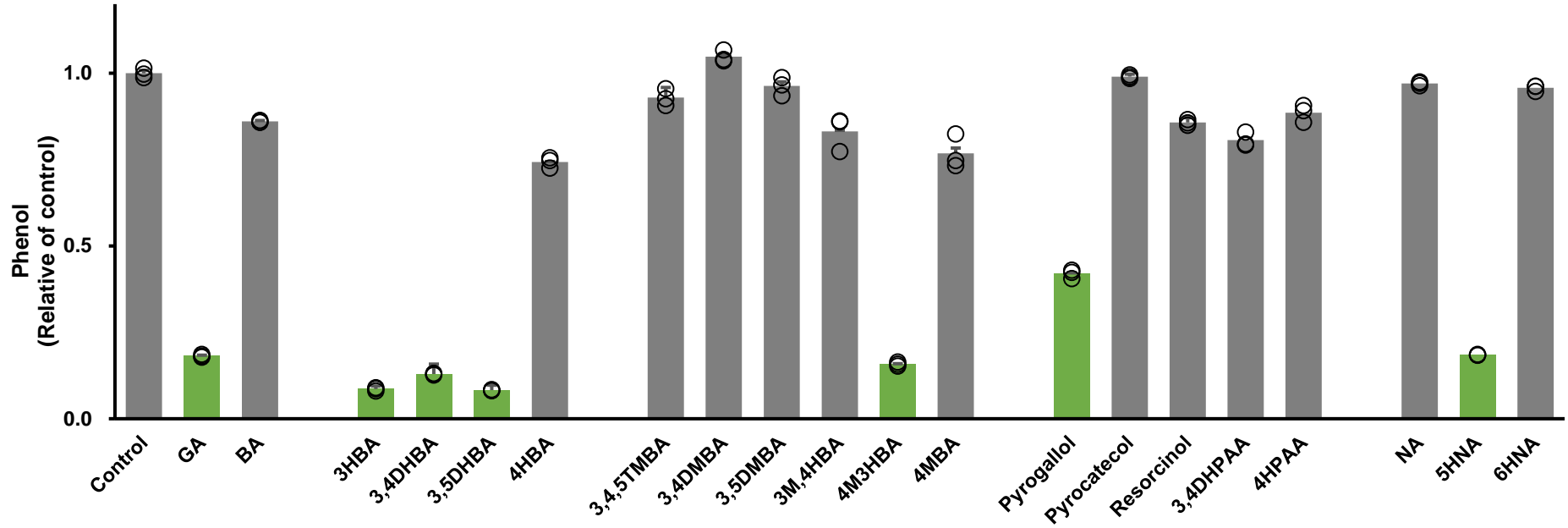
↓
30°C, 3 min + HCl/MeCN
LC-MSでフェノール定量



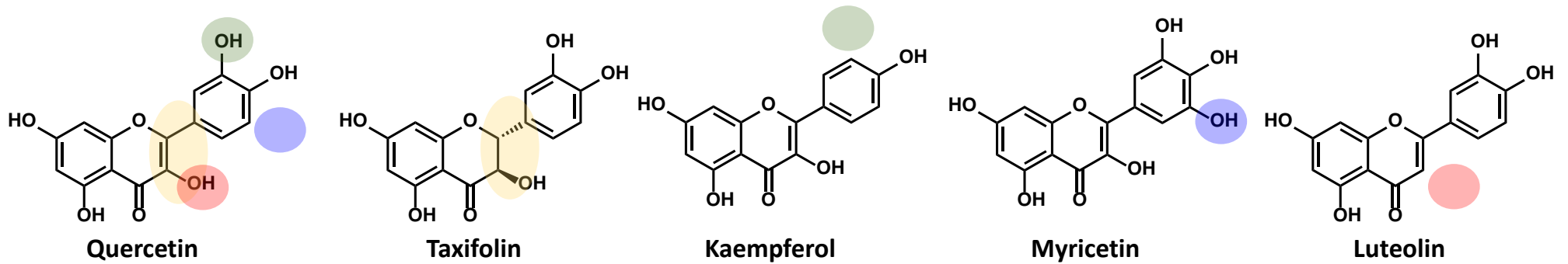
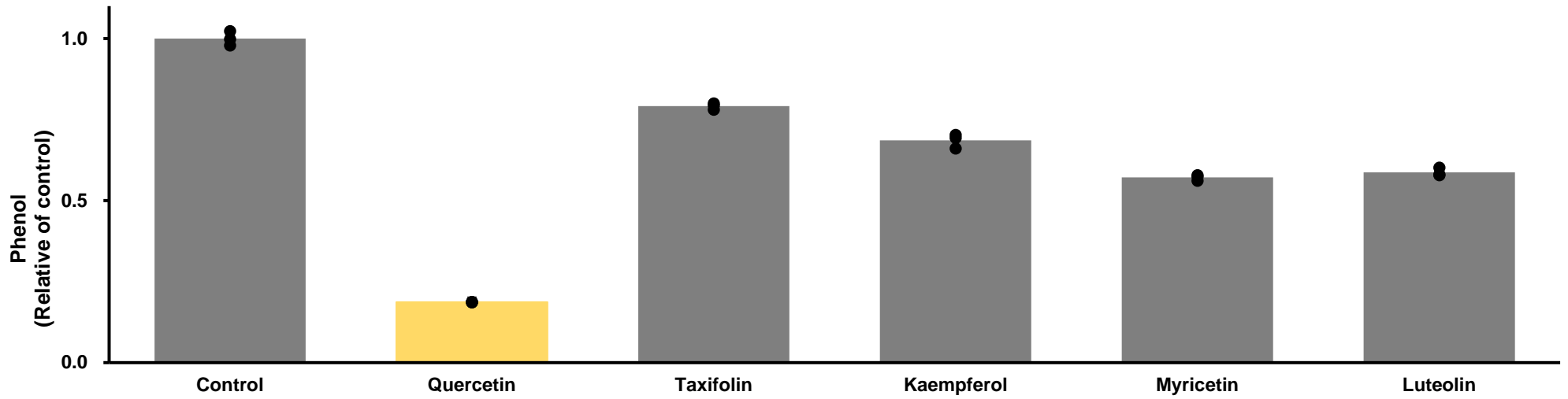
緑茶カテキン類の腸内細菌代謝



没食子酸および誘導体によるTPL活性阻害の構造活性相関

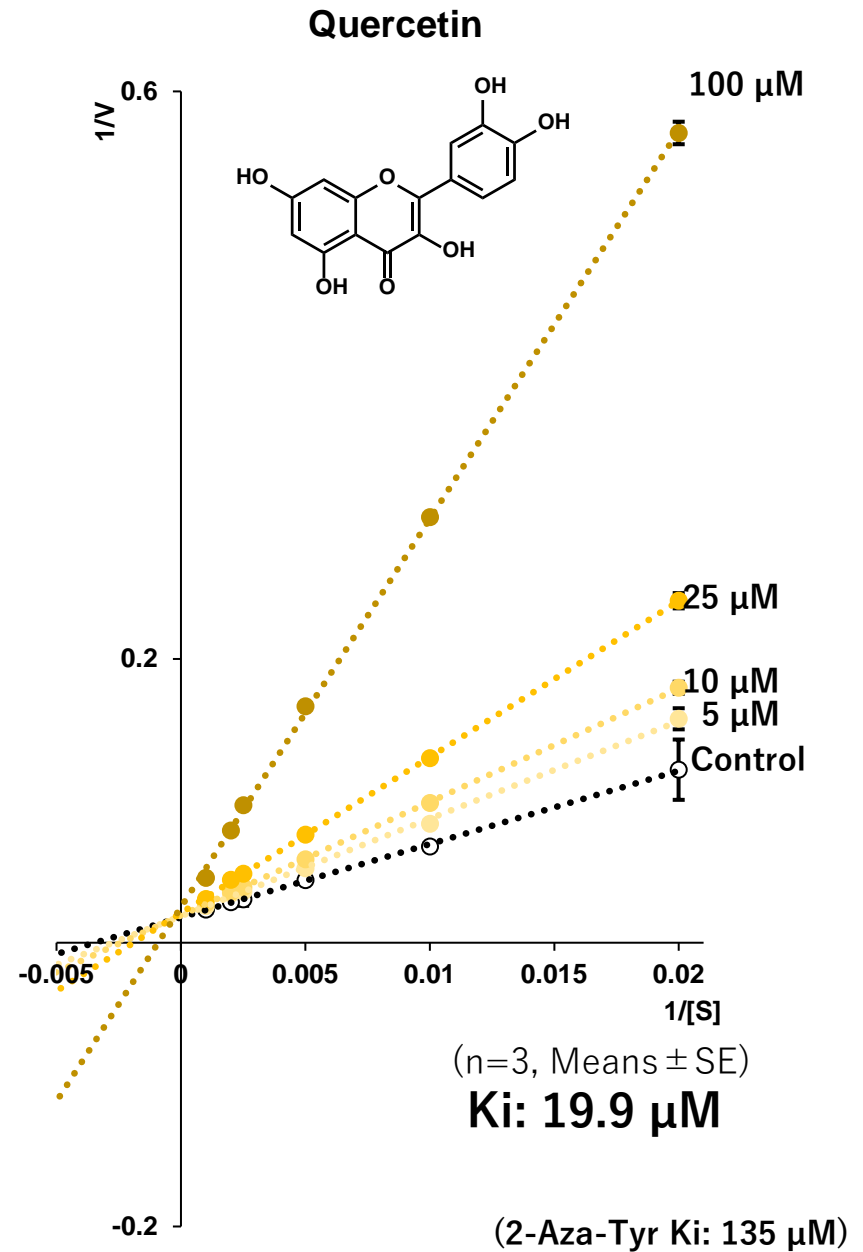
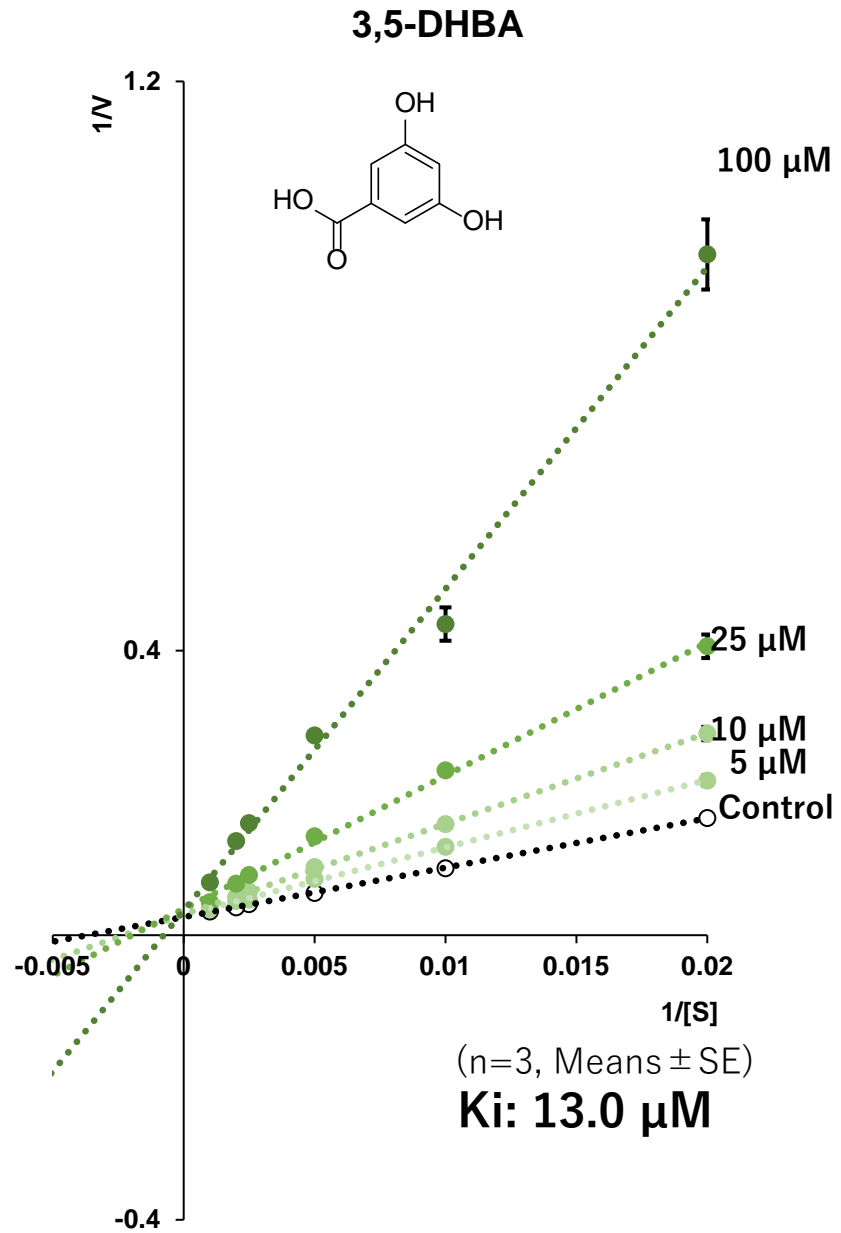


Quercetinおよび構造類似体によるTPL阻害

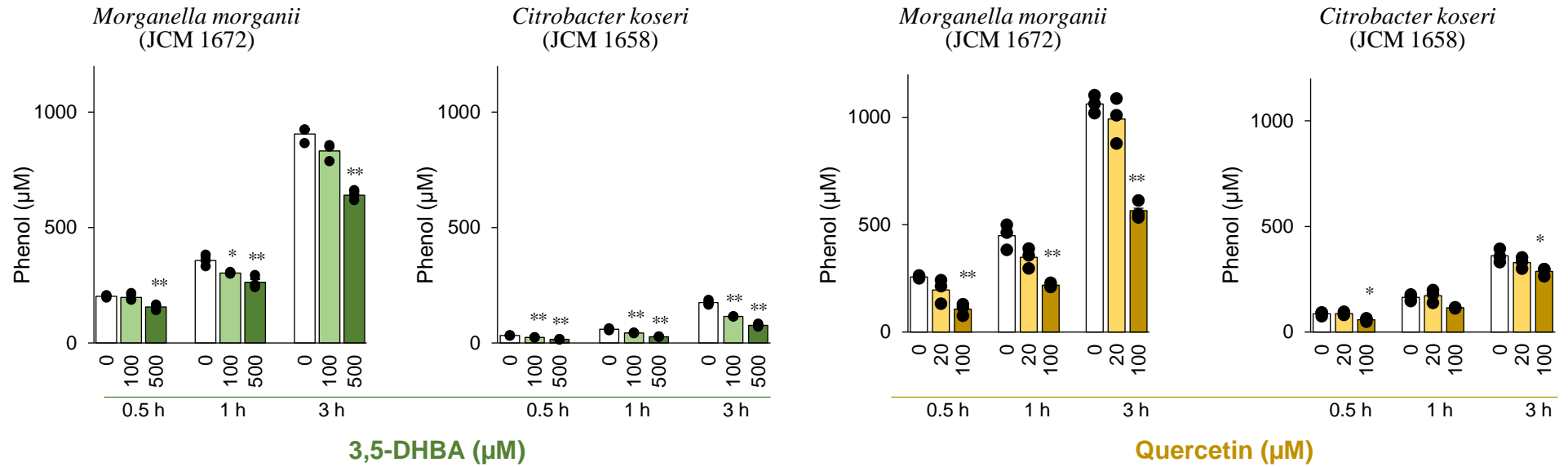


Quercetin was the strongest rTPL inhibitor in flavonoids

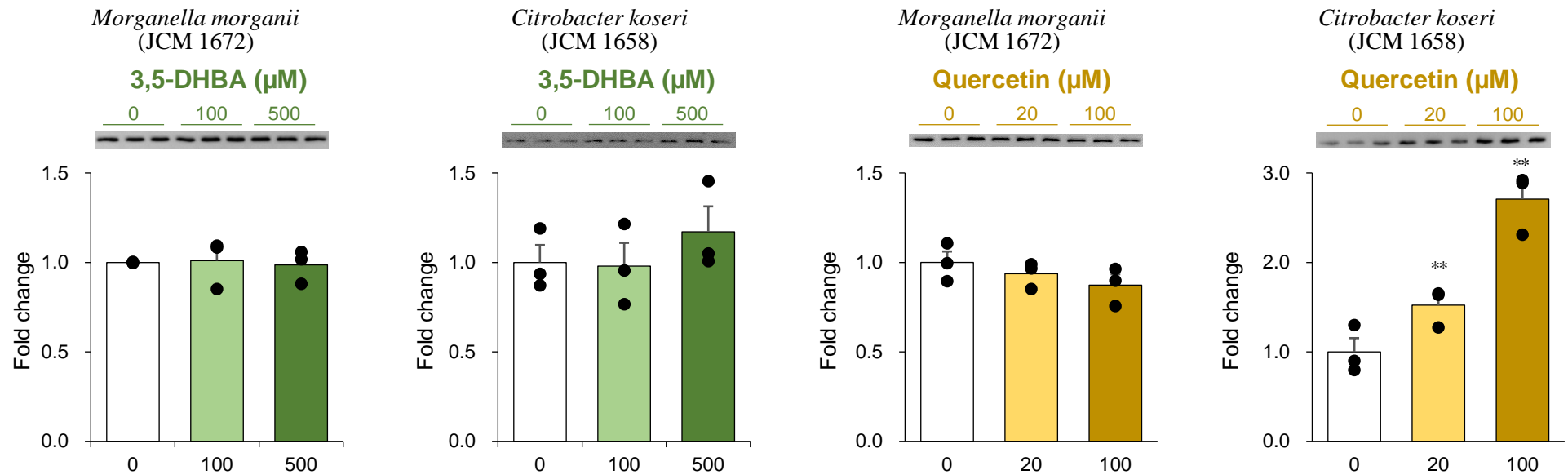
3,5-DHBAおよびquercetinによるTPL競合阻害



TPL発現株を用いたフェノール産生阻害

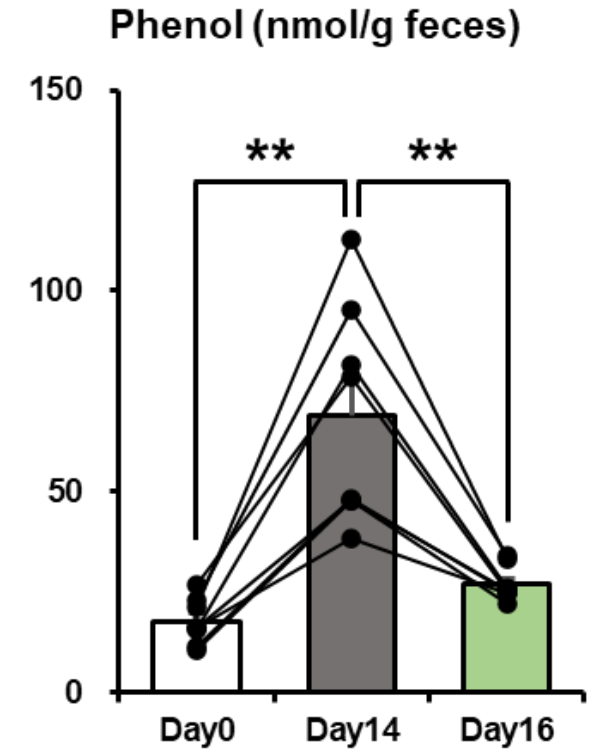
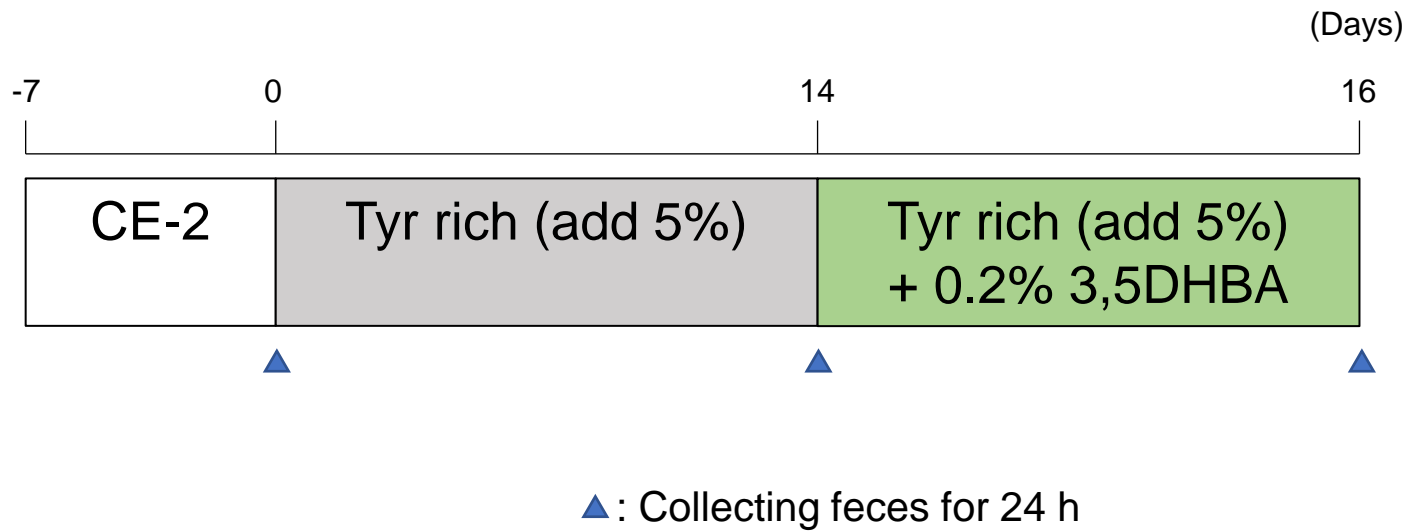


フェノール産生阻害剤によるTPL発現変化



糞便中のフェノール定量：マウス混餌投与の効果

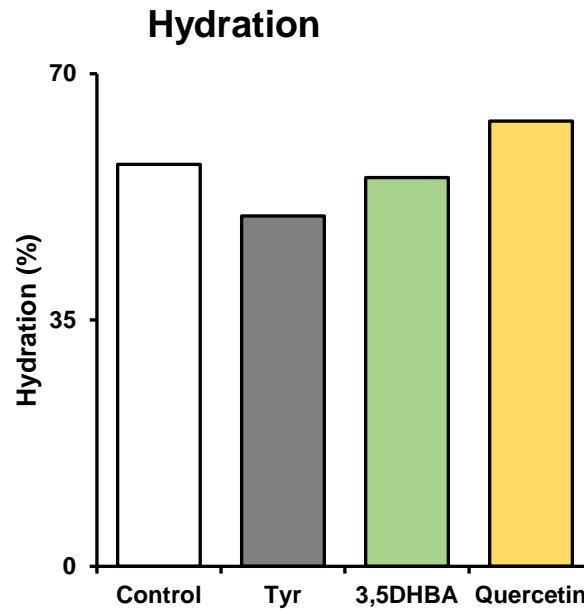
6 weeks-old male C57BL/6J (n=8)



(Means \pm SE, n=8)
Paired T-test, **: $p < 0.01$

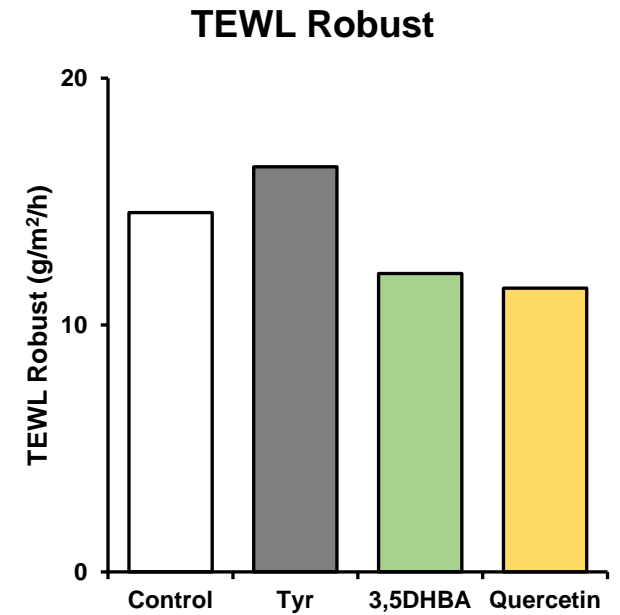
皮膚機能への影響（ヘアレスマウス）

角質水分測定



皮膚表面から約15 μm （主に角層）に含まれる「水分量」

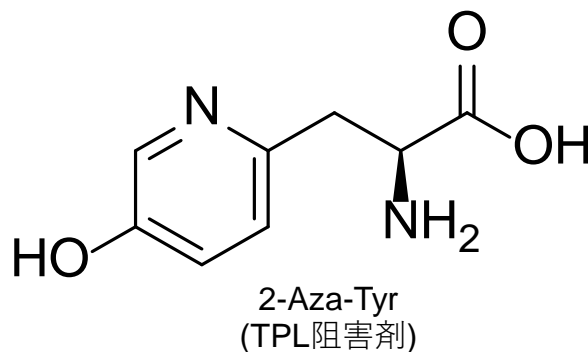
経皮水分蒸散量測定



皮膚バリア機能評価

新技術の特徴・従来技術との比較

- 基質アナログ（2-aza-Tyr）ではないので、酵素による分解（ β 脱離反応）を受けない。
- 消化管でほとんど吸収されない緑茶カテキン類などのポリフェノール類は、消化管内に滞留し、効率よく作用する。
- 高用量投与する必要がなく、安全性が高い。



想定される用途

- 透析、吸着剤、プレ・プロバイオティクスとの組み合わせによる、尿毒症物質抑制作用。
- フェノールによる神経障害（不定愁訴：吐き気、めまい、むくみ、頭痛、食欲不振、疲労感、倦怠感などの）抑制効果が得られることも期待される。
- フェノールは糞便の悪臭の要因でもあるので、介護やペット食産業といった分野や用途に展開することも可能と思われる。

実用化に向けた課題

- 現在、他のタンパク結合型尿毒症物質産生酵素の阻害剤についても開発中。
- ヒト試験（介入試験や食事調査）での阻害剤の効果の検証。
- フェノールが、どの程度不定愁訴に影響しているのが確認中。

企業への期待

- 本技術の利用、ヒト試験への支援に興味をお持ちの企業様。
- 呼気ガス、体臭ガスセンシングの技術を持つ企業との共同研究を希望。
- また、介護食やペット食を開発中の企業、糞便臭抑制への展開を考えている企業には、本技術の導入が有効と思われる。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : チロシンフェノール
リアーゼ阻害剤
- 出願番号 : 特願2024-004279
- 出願人 : 静岡県立大学
- 発明者 : 三好規之、小林琢磨、吉岡泰淳

お問い合わせ先

静岡県立大学

教育研究推進部 地域・産学連携推進室

T E L 054-264-5124

e-mail renkei@u-Shizuoka-ken.ac.jp