

令和元年6月10日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K15366

研究課題名(和文) 必須微量元素、ポリフェノール併用による老化に伴う脳機能低下の制御法・予防法の開発

研究課題名(英文) Development of suppression/prevention method of brain function decline with aging by essential trace metal and polyphenol combination

研究代表者

斎藤 健 (SAITO, TAKESHI)

北海道大学・保健科学研究所・教授

研究者番号：40153811

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：ポリフェノールによる微量元素代謝変動が老化に伴う脳機能低下の制御に有効であることを検討した。

1. 未分化と分化PC12細胞に対するレスベラトロールの作用は異なりMn-SODの発現制御が関連する。2. 老化促進マウスの肝臓では、加齢に伴いFe濃度とDNAの酸化的損傷が有意に増加する。3. 高脂肪食摂取による肝臓のFeの蓄積は緑茶抽出物摂取により改善する。4. 高脂肪食やジャワ生姜摂取は脳内微量元素動態を変化させる。即ち、必須微量元素とポリフェノールは相互作用を有すること、老化に伴うFeの蓄積が酸化ストレスを招くが、ポリフェノール摂取はFeの特定臓器への蓄積を抑制し、酸化的損傷を防ぐことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

必須微量元素は、中枢神経系において学習・記憶などの機能発現・制御に重要な役割を演じている。一方、ポリフェノールは老化に伴う脳機能低下に対して防御的な役割を果たしている。しかし、必須微量元素とポリフェノールの脳機能への影響に関する研究はほとんど存在しない。本研究によって得られた成果は、必須微量元素が中枢神経機構において果たす役割の解明や金属結合ポリフェノールの脳への取込機構や中枢神経防御機構の解明に必須であるばかりでなく、アルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患の病態や生理的老化機構の理解に寄与し、さらに、脳機能低下の制御法や予防法の開発に直結することが十分に期待できる。

研究成果の概要(英文)：We examined whether the trace metal metabolism change by the interaction between essential trace metals and polyphenols is effective for the control of brain function deterioration with aging.

1. The effects of resveratrol on undifferentiated and differentiated PC12 cells are different, and the expression regulation of Mn-SOD is related. 2. In the liver of senescence accelerated model mice, significant increase of Fe concentration and oxidative damage of DNA was observed at 12 months of age. 3. The accumulation of Fe in the liver by intake of high fat diet is improved by intake of green tea extract. 4. High-fat diet and Java ginger intake alter brain trace metal metabolism. That is, it was suggested that accumulation of Fe accompanying aging causes oxidative stress, but that polyphenol intake suppresses accumulation of Fe in a specific organ and prevents oxidative damage.

研究分野：環境保健学

キーワード：必須微量元素 ポリフェノール 活性酸素代謝 酸化ストレス 老化

1. 研究開始当初の背景

超高齢社会となった我が国にとって、老化に起因する認知症の進行を制御し、予防法を開発することは、高齢者が安心して暮らせる豊かな社会を実現するために極めて緊急性の高い課題である。しかし未だ有効な方策は見出されていない。生体に必須な微量元素は、中枢神経系において中枢神経伝達強度の調節や脳機能の根幹をなす学習・記憶などの機能発現・制御に重要な役割を演じている。一方、ポリフェノールは、生体内で抗酸化作用等の生理活性を有し、アルツハイマー病等の神経変性疾患や老化に伴う脳機能低下に対して防御的な役割を果たすことが知られている。しかし、必須微量元素とポリフェノールの生体内での相互作用とその脳機能への影響に関する研究はほとんど存在しない。

2. 研究の目的

本研究では、必須微量元素とポリフェノール等が相互作用して、活性酸素代謝や細胞死に影響を与えることに着目し、必須微量元素とポリフェノールとの相互作用による必須微量元素代謝や活性酸素代謝の変動が、老化および神経変性疾患に伴う脳機能低下の制御や予防に有効であるかを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

実験は In Vitro と In Vivo の実験系を構築して行った。In Vitro の実験には、神経細胞のモデル細胞である PC12 細胞を用いた。In Vivo の実験系には、老化促進モデルマウス SAMP8 または脂質過剰摂取ラットを用いた。抗老化作用が期待できるものとして、レスベラトロール、リポ酸、ジャウ生姜及び運動負荷を用いた。生体内微量元素の測定には、ICP-MS/MS (アジレント・テクノロジー/8800 ICP-QQQ) を用い、Cu, Zn, Mn, Fe, Mo, As, Cd 及び Pb を測定した。酸化ストレス関連タンパク質の測定は、ウェスタンブロット法を用いて行った。

4. 研究成果

(1) これまでの研究から、ポリフェノールが神経細胞保護作用を示すとともに、神経細胞死を誘導する作用も有することが示唆されていた。しかし、どのような状況下において、これらが引き起こされるのかについては不明な点が多い。我々はその機構に細胞のエージング及び活性酸素とその代謝酵素の動態が関与している可能性について、第一に、神経細胞のモデル細胞である PC12 細胞を用いて、未分化と分化後の PC12 細胞に対する活性酸素負荷及びポリフェノールのひとつであるレスベラトロール(RSV)の添加の影響について、細胞死及び活性酸素代謝酵素の変動を指標として検討を行った。その結果、UV 照射による活性酸素暴露による細胞死の誘導は、RSV 添加により、未分化 PC12 細胞では増加し、分化 PC12 細胞では抑制されることが明らかになった。そこでさらにそのメカニズムを検討し、RSV 添加により未分化 PC12 細胞では、ミトコンドリアにおいて活性酸素除去に働くマンガンが必須な SOD(Mn-SOD)が有意に低下すること、一方、分化 PC12 細胞では、逆に Mn-SOD が有意に増加することを明らかにした。これらの結果は、RSV の投与はがん細胞のような未分化細胞を死亡させ、正常細胞には活性酸素に防御的影響を示すことを示唆している。

(2) 神経細胞のモデル細胞である PC12 細胞を用いて、微量元素の中でも毒性の高い As, Cd および Pb の曝露に対する生体内抗酸化物質であるリポ酸、ジヒドロリポ酸の効果を検討した。PC12 細胞における As, Cd および Pb 単独曝露に比べてリポ酸/ジヒドロリポ酸-金属の複合曝露で有意な細胞生存率上昇が確認された。GSH レベルと Nrf2 タンパク質が、それぞれ金属単独曝露では有意な低下を示していたが、リポ酸/ジヒドロリポ酸共曝露群では有意な増加を示した。これらの結果は、As や Cd などの曝露は、酸化ストレスを増大させるが、リポ酸/ジヒドロリポ酸投与は nrf2 の活性化により抗酸化物質を増加させ、金属毒性を防ぐことが示唆された。

(3) 老化促進モデルマウス(SAMP10)を用いて、加齢に伴う肝臓中の金属代謝変動を検討した。コントロールと比較して12ヶ月齢では、Fe と Mo 濃度の有意な高値が認められた。また DNA の酸化的損傷も有意な高値を示した。このことは酸化ストレスの増加を意味している。

(4) 老化促進モデルマウス(SAMP8)を用いて、ポリフェノールとともに老化防止に効果があると考えられている運動が生体内微量元素の動態や活性酸素代謝に与える影響について検討した。運動負荷後、コントロールの SAMR1 運動なし群に比較して、SAMR1 運動あり群、SAMP8 運動なし群および運動あり群の肝臓中 Fe 濃度は、有意な高値を示した。さらに、コントロールの SAMR1 運動なし群に比較して、SAMR1 運動あり群の酸化ストレスマーカーである p62 は有意な高値を示した。酸化ストレスマーカーの HO-1 も同様な有意な高値を示した。これらの結果は、運動は肝臓中の Fe 濃度を上昇させ、酸化ストレスを上昇させるが、適度であれば、抗酸化物質を上昇させる効果を有することが、老化促進マウス SAMP8 の肝臓で Fe の蓄積が見られ、それが活性酸素発現を増加させ、老化を促進している可能性が示唆された。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

(5) 脂質や糖代謝異常が生体内金属動態や活性酸素代謝に及ぼす影響を調べるために、母親を高脂肪食で飼育し、離乳後の雄性仔ラットを成人するまで高脂肪食で飼育した群と、通常の飼料で飼育したコントロール群の肝臓中との脂質代謝、微量金属動態および活性酸素代謝の変動を検討した。高脂肪食群では、肝臓中の脂肪酸合成は抑えられ、脂肪代謝に異常が認められた。高脂肪食群の肝臓中の、Fe 濃度が有意に増加していることが明らかになった。これは母親に授乳期に高脂肪食と緑茶抽出物を摂取した子ラット群には認められなかった。脂質代謝異常は、活性酸素の発生を増強させ肝臓の機能障害を誘発することが知られているが、Fe の蓄積が活性酸素発生機構に関与していること、緑茶抽出物がそれを抑えることが示唆された。

(6) 老化促進モデルマウス(SAMP8)に脂質を過剰摂取させた後に神経成長因子様の活性があると言われるジャワ生姜を同時に摂取させ、大脳皮質組織の微量金属の変動を調べた。SAMP8 普通食群に比較して高脂肪食群で、有意な Zn 及び Mn 濃度の上昇と Mo 濃度の低下、高脂肪食 + ジャワ生姜群で有意な Mn 濃度の上昇と Mo 濃度の低下が認められた。このメカニズムについては不明であるが、神経成長因子様の活性があると言われるジャワ生姜の摂取は、脳機能の発現・保持に必須の微量元素動態を変化させる働きがあることが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計5件)

1. Tomomi Kita-Tomihara, Shin Sato, Shojiro Yamasaki, Yukako Ueno, Goh Kimura, Rahel M. Ketema, Tae Kawahara, Masaaki Kurasaki & Takeshi Saito: Polyphenol-enriched azuki bean (*Vigna angularis*) extract reduces the oxidative stress and prevents DNA oxidation in the hearts of streptozotocin-induced early diabetic rats. International Journal of Food Sciences and Nutrition, DOI: 10.1080/09637486.2019.1576598 (査読有)
2. Kawahara T, Kita T, Ueno Y, Yamasaki S, Kimura G, Nakanishi M, Hosokawa T, Kurasaki M, Sikder T, Saito T: Elucidation of the mechanism of changes in the antioxidant function with the aging in the liver of the senescence-accelerated mouse P10 (SAMP10). Exp Gerontol. 106:46-53, 2018. doi: 10.1016/j.exger.2018.02.025 (査読有)
3. Gongxun Tan, Rachael A. Uson-Lopez, Md. Mostafizur Rahman, Toshiyuki Hosokawa, Takeshi Saito, Masaaki Kurasaki: Myricetin enhances on apoptosis induced by serum deprivation in PC12 cells mediated by mitochondrial signaling pathway. Environmental Toxicology and Pharmacology 57: 175-180, 2018. doi: 10.1016/j.etap.2017.12.016. Epub 2017 Dec 18. (査読有)
4. Md. Mostafizur Rahman, Junki Ukiana, Tajuddin Sikder, Toshiyuki Hosokawa, Takeshi Saito and Masaaki Kurasaki: Inhibitory effects of selenium on cadmium-induced cytotoxicity in PC12 cells via regulating oxidative stress and apoptosis. Food and Chemical Toxicology, 114:180-189, 2018. doi: 10.1016/j.fct.2018.02.034. (査読有)
5. Tanaka M, Kita T, Yamasaki Y, Kawahara T, Ueno Y, Yamada M, Mukai Y, Sato S, Kurasaki M and Saito T: Maternal resveratrol intake during lactation attenuates hepatic triglyceride and fatty acid synthesis in adult male rat offspring. Biochemistry and Biophysics Reports, 9:173-179, 2017, doi.org/10.1016/j.bbrep.2016.12.011 (査読有)

〔学会発表〕(計12件)

1. 富原朋美、山崎尚二郎、上野祐可子、木村 豪、Ketema Rahel M、佐藤 伸、細川敏幸、蔵崎正明、齋藤 健. 初期糖尿病ラットの心臓における酸化ストレスの変化と小豆抽出物の効果. 第 89 回日本衛生学会、名古屋、2019 年
2. 山崎 尚二郎、木村 豪、佐藤 伸、齋藤 健、蔵崎 正明、Md. Tajuddin Sikder. 発達期における高脂肪食摂取が成熟期の活性酸素代謝に関わる必須微量元素の動態に及ぼす影響- ICP-MS/MS による分析-. 第 43 回日本医用マススペクトル学会年会 札幌、2018 年
3. 齋藤 健、山崎 尚二郎、富原 朋美、Ketema Rahel Mesfin、木村 豪、Md. Tajuddin Sikder、蔵崎 正明. 老化促進モデルマウス SAMP10 の加齢による肝臓中抗酸化酵素の変動ならびに活性酸素代謝関連必須微量元素の ICP-MS/MS による動態解析. 第 43 回日本医用マススペクトル学会年会 札幌、2018 年
4. Bondad Serene Ezra Corpus、齋藤 健、蔵崎正明. エピガロカテキンがレートと L-アスコルビン酸の PC12 細胞に対するカドミウム誘導毒性に及ぼす併用効果. 第 29 回日本微量元素学会、名古屋、2018 年

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

5. 齋藤 健、河原 妙、山崎尚二郎、木村 豪、上野祐可子、富原朋美、中西美貴、Ketema Rahel M、Sikder Md Tajuddin、細川敏幸、藏崎正明 . 加齢に伴う活性酸素代謝機能の変動が SAMP10 マウスの老化を促進する . 第 29 回日本微量元素学会、名古屋、2018 年
6. Rahman, Md. Mostafizur, Sikder Md. Tajuddin; Saito, Takeshi; Kurasaki, Masaaki. Selenite Ameliorates arsenite-induced cytotoxicity in PC12 cells via modulating apoptosis. 20th ISANH International Conference on Oxidative Stress, Redox Homeostasis & Antioxidants (Paris Redox 2018)
7. 山崎尚二郎、上野祐可子、木村 豪、富原朋美、Rahel Ketema、Sikder Md. Tajuddin、佐藤 伸、藏崎正明、細川敏幸、齋藤 健: 授乳期のレスベラトロール投与による仔ラットの肝臓におけるコレステロール代謝変動 . 第 88 回日本衛生学会 東京 2018
8. 齋藤 健、西村 亮、山崎尚二郎、上野祐可子、Sikder Md. Tajuddin、北 朋美、木村 豪、藏崎正明: クルクミンと金属の相互作用による PC12 細胞へのアポトーシス誘導 . 第 28 回日本微量元素学会 (仙台市)2017
9. 川原妙、上野祐可子、富原 朋美、山崎尚二郎、木村 豪、中西美貴、Sikder Md. Tajuddin、齋藤 健: 老化促進モデルマウス SAMP10 の肝臓における加齢に伴う抗酸化酵素の変動ならびにミトコンドリア呼吸鎖複合体バランスの異常 . 第 32 回老化促進モデルマウス学会学術大会 . 岐阜県岐阜市 2017
10. Tae Kawahara, Yukako Ueno, Tomomi Kita, Shojiro Yamasaki, Toshiyuki Hosokawa, Masaaki Kurasaki, Takeshi Saito: Changes of antioxidant enzymes related to acceleration of aging in the liver of Senescence-Accelerated Mice P10. 2016 札幌 ISEE-ISES AC 2016 (Environment, Health, and Sustainable Society)
11. Tomomi Kita, Yukako Ueno, Tae Kawahara, Toshiyuki Hosokawa, Masaaki Kurasaki, Takeshi Saito : Study on the changes of autophagy in the heart of Streptozotocin-induced type 1 diabetes model rat and the improvement effect by azuki bean extract. 2016 札幌 ISEE-ISES AC 2016 (Environment, Health, and Sustainable Society)
12. 上野祐可子、小森幹育子、北朋美、川原妙、山崎尚二郎、藏崎正明、齋藤健: PC12 細胞におけるレスベラトロールによる活性酸素代謝機能のメカニズムについて . 2016 年 5 月 14 日 旭川 第 86 回日本衛生学会学術総会

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

なし

取得状況 (計 0 件)

なし

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名 : 細川 敏幸

ローマ字氏名 : Hosokawa Toshiyuki

所属研究機関名 : 北海道大学

部局名 : 高等教育推進機構

職名 : 教授

研究者番号 (8 桁) : 00157025

(2) 研究協力者

研究協力者氏名 :

ローマ字氏名 :

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。