

令和 4 年 6 月 10 日現在

機関番号：36301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K11707

研究課題名（和文）健康寿命延伸物質（カロリー制限模倣物）の探索とその応用

研究課題名（英文）A proposed novel method for screening caloric restriction mimetics and its application

研究代表者

中島 光業（Nakajima, Mitsunari）

松山大学・薬学部・教授

研究者番号：70311404

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：健康寿命延伸物質を探索するための独自のスクリーニング系を樹立した。この系を用いて3つの健康寿命延伸物質候補（Heptamethoxyflavone, Cynandione A, Ibudilast）を見出した。Heptamethoxyflavone と Cynandione Aは、いずれも抗炎症作用と脂肪代謝調節作用が見いだされ、その作用機序に長寿命遺伝子SIRT-1の関与が示唆された。Ibudilastについては、強い抗炎症作用が見いだされ、敗血症モデルマウスの生存率を上昇させる効果が確認された。以上より、当該スクリーニング系は健康寿命延伸物質の探索において有効に機能することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトにおいてカロリー制限が寿命を延伸させるか否かについては未だ結論は出ていないが、適度にカロリーを制限することは健康寿命を延伸させる方向に作用することが推察され、研究者の注目を集めている。こうしたことから、カロリー制限による苦痛を感じることなく、健康寿命延伸のメカニズムを促進させる物質（カロリー制限模倣物）の探索が望まれている。

研究成果の概要（英文）：Caloric restriction (CR) is a major contributor to good health and longevity. CR mimetics (CRMs) are a group of compounds capable of inducing the benefits of CR. In the present study, we propose the application of a T-cell activation-inhibitory assay to screen candidate CRMs. Using this assay, we found three candidate CRMs (Heptamethoxyflavone, Cynandione A and Ibudilast) that have beneficial functions for health such as anti-inflammatory effect. These results suggest that the T-cell activation-inhibitory assay can be used to screen candidate CRMs.

研究分野：細胞生物学

キーワード：カロリー制限模倣物 健康寿命延伸物質 SIRT1

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

健康寿命を延伸する物質が植物由来化合物の中に存在する可能性は、これまでも示唆されてきている。健康寿命延伸物質候補の多くは、従来は試行錯誤によって発見された健康に良い影響を与える物質を種々の視点で解析し、長い時間をかけて評価されてきた。しかし、健康寿命延伸物質候補を効率よく見出す探索系の開発については、これまで十分に検討がなされてこなかった。

2. 研究の目的

本研究では、まずマウス脾臓 T 細胞を用いて健康寿命延伸物質候補を植物由来化合物から効率よくスクリーニングする。免疫学分野の実験系をスクリーニングに活用するという独自性が、本研究の一番の特徴である。次に、その候補物質の抗炎症作用と代謝改善作用を株化培養細胞を用いて評価することにより期待値の高いものを絞り込み、さらに、モデル動物を用いてその物質の健康寿命延伸効果を確認し、その応用について考える。

3. 研究の方法

抗 CD3/CD28 抗体誘発マウス脾臓 T 細胞活性化抑制アッセイ：本研究では、効率よく健康寿命延伸物質を見いだすためのスクリーニング方法として、近年免疫学で汎用されつつある T 細胞活性化実験系の活用を考案した。抗 CD3/CD28 抗体処理によって誘発されるマウス脾臓白血球画分の T 細胞の活性化に対する健康寿命延伸物質候補の効果について定量評価を行った。抗 CD3 抗体と抗 CD28 抗体で刺激するとマウス脾臓白血球画分の T 細胞は活性化され、細胞増殖を起こす。T 細胞増殖は、ホルマザン結晶の析出を誘発させる MTT アッセイを行うことで、定量化した。

4. 研究成果

研究開始年度の 2019 年度には、マウス脾臓 T 細胞を用いたスクリーニング (抗 CD3/CD28 抗体誘発マウス脾臓 T 細胞活性化抑制アッセイ) を小規模で実施し、当該実験系が健康寿命延伸物質候補の探索に有用であることを明らかにした (Iura et al., 2019)。このスクリーニングの過程で、Heptamethoxyflavone が健康寿命延伸物質候補として浮上した。この物質は既に抗炎症作用を有することが既に報告されていたが、今回、その作用機序として長寿命遺伝子である SIRT1 の活性促進作用が関与する可能性を示した。さらに、Heptamethoxyflavone が、代謝改善作用を有する可能性を株化培養細胞を用いて示唆した (Sawamoto et al., 2019)。

2020 年度は、マウス脾臓 T 細胞を用いたスクリーニングの対象を植物由来化合物に限定せず、医薬品等の合成化合物を含めて検討を行った。その結果、健康寿命延伸物質候補としては、植物由来化合物の Cynandione A と医薬品の Ibudilast が浮上した。Cynandione A については脂肪細胞に対してペーチュ化促進作用を示すことを明らかにし (Sawamoto et al., 2020) また、Ibudilast についてはマクロファージ細胞に対して抗炎症作用を示すこと (Ishikawa et al., 2021) をそれぞれ明らかにした。

2021 年度は、Cynandione A と Ibudilast についての作用機序や動物個体における効果について解析を進めた。Cynandione A については、脂肪細胞に対するペーチュ化促進作用が長寿命遺伝子 SIRT-1 の核への移行を介するものであることを明らかにし (Sawamoto et al., 2021) また、Ibudilast については、培養細胞のみならずマウス個体に対しても抗炎症作用を発揮し、代表的炎症性疾患である敗血症のモデルマウスの生存率を増加させる効果があること (中島光業他, 日本薬学会第 142 年会) をそれぞれ明らかにした。

以上より、当該スクリーニング系（抗 CD3/CD28 抗体誘発マウス脾臓 T 細胞活性化抑制アッセイ）は、健康寿命延伸物質の探索において有効に機能することが示唆された。

<引用文献>

Iura S, Ojima Y, Amakura Y, Yoshimura M, Sawamoto A, Okuyama S, Furukawa Y, Nakajima M. T-cell activation-inhibitory assay: a proposed novel method for screening caloric restriction mimetics. (2019)Biomed Res. 40(6): 235-241.

Sawamoto A, Nakanishi M, Okuyama S, Furukawa Y, Nakajima M. Heptamethoxyflavone inhibits adipogenesis via enhancing PKA signaling. (2019) Eur J Pharmacol. 865: 172758.

Sawamoto Atsushi, Kanazaki Asami, Amakura Yoshiaki, Yoshimura Morio, Masumoto Naoko, Uchiyama Nahoko, Hakamatsuka Takashi, Okuyama Satoshi, Furukawa Yoshiko, Nakajima Mitsunari. Cynandione A induces adipogenesis and beige adipocyte-related phenotype in 3T3-L1 cells. (2020) Phytochemistry Letters. 39: 84 ~ 89.

Ishikawa Shouma, Sawamoto Atsushi, Okuyama Satoshi, Nakajima Mitsunari. T-Cell Activation-Inhibitory Assay to Screen Caloric Restriction Mimetics Drugs for Drug Repositioning. (2021) Biological and Pharmaceutical Bulletin, 44: 550 ~ 556

Atsushi Sawamoto, Asami Kanazaki, Masayuki Nakanishi, Yoshiaki Amakura, Morio Yoshimura, Nahoko Uchiyama, Takashi Hakamatsuka, Satoshi Okuyama, Mitsunari Nakajima. (2021) Cynandione A causes a dynamic change in SIRT1 nuclear trafficking via PKA signaling and beige adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. Eur J Pharmacol. 909: 174382.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Sawamoto Atsushi, Kanazaki Asami, Amakura Yoshiaki, Yoshimura Morio, Masumoto Naoko, Uchiyama Nahoko, Hakamatsuka Takashi, Okuyama Satoshi, Furukawa Yoshiko, Nakajima Mitsunari | 4. 巻 39 |
| 2. 論文標題 Cynandione A induces adipogenesis and beige adipocyte-related phenotype in 3T3-L1 cells | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Phytochemistry Letters | 6. 最初と最後の頁 84 ~ 89 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.phytol.2020.07.011 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Ishikawa Shouma, Sawamoto Atsushi, Okuyama Satoshi, Nakajima Mitsunari | 4. 巻 44 |
| 2. 論文標題 T-Cell Activation-Inhibitory Assay to Screen Caloric Restriction Mimetics Drugs for Drug Repositioning | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin | 6. 最初と最後の頁 550 ~ 556 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b20-00889 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Iura S, Ojima Y, Amakura Y, Yoshimura M, Sawamoto A, Okuyama S, Furukawa Y, Nakajima M. | 4. 巻 40(6) |
| 2. 論文標題 T-cell activation-inhibitory assay: a proposed novel method for screening caloric restriction mimetics. | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Biomed Res. | 6. 最初と最後の頁 235-241. |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2220/biomedres.40.235. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Sawamoto A, Nakanishi M, Okuyama S, Furukawa Y, Nakajima M. | 4. 巻 865 |
| 2. 論文標題 Heptamethoxyflavone inhibits adipogenesis via enhancing PKA signaling. | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Eur J Pharmacol. | 6. 最初と最後の頁 172758 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejphar.2019.172758. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|------------------------|
| 1. 著者名 Haramiishi R, Okuyama S, Yoshimura M, Nakajima M, Furukawa Y, Ito H, Amakura Y. | 4. 巻 84(1) |
| 2. 論文標題 Identification of the characteristic components in walnut and anti-inflammatory effect of glansreginin A as an indicator for quality evaluation. | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Biosci Biotechnol Biochem. | 6. 最初と最後の頁 187-197. |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2019.1670046. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|----------------------|
| 1. 著者名 Atsushi Sawamoto, Asami Kanazaki, Masayuki Nakanishi, Yoshiaki Amakura, Morio Yoshimura, Nahoko Uchiyama, Takashi Hakamatsuka, Satoshi Okuyama, Mitsunari Nakajima | 4. 巻 909 |
| 2. 論文標題 Cynandione A causes a dynamic change in SIRT1 nuclear trafficking via PKA signaling and beige adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Eur J Pharmacol. | 6. 最初と最後の頁 174382 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejphar.2021.174382 | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

| |
|---|
| 1. 発表者名 中島光業、門田尚子、吉田明香里、澤本篤志、奥山聡 |
| 2. 発表標題 リポ多糖誘発敗血症モデルマウスに対するイブジラストの効果 |
| 3. 学会等名 日本薬学会第142年会 |
| 4. 発表年 2022年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|---|-------------------------------------|----|
| 研究分担者 | 奥山 聡 (Okuyama Satoshi) (40550380) | 松山大学・薬学部・准教授 (36301) | |

6. 研究組織（つづき）

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------------------|---|------------------------------------|----|
| 研究 分 担 者 | 天倉 吉章 (Amakura Yoshiaki) (50321857) | 松山大学・薬学部・教授 (36301) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
| | |