

平成 26 年 5 月 30 日現在

機関番号：33910

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2013

課題番号：22780128

研究課題名(和文) 白髪を予防できる革新的アンチエイジング食品の開発

研究課題名(英文) Development of anti-aging foods

研究代表者

飯田 真智子(IIDA, Machiko)

中部大学・生命健康科学研究所・研究員

研究者番号：60465515

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円、(間接経費) 750,000円

研究成果の概要(和文)：白髪は万人に生じる老化現象の象徴であるため、アンチエイジング薬剤開発を行う上でも明瞭な指標となる。しかし、ヒトで白髪予防効果を評価するのは難しく、画期的な白髪予防剤はこれまでに存在しない。本研究では、オリジナルの白髪モデルマウスを用いて、白髪予防効果のあるアンチエイジング食品の開発を行った。その結果、少なくとも動物レベルで白髪を抑える可能性のある食品を見いだした。今後、ヒトへの応用を踏まえ、動物とヒトのエイジングプロセスの類似点および相違点をより明確にし、科学的証拠を綿密に解析することが重要である。

研究成果の概要(英文)：Since hair graying is a typical sign of aging, hair graying could be an excellent target to select anti-aging foods. However, decades are needed to analyze the dynamics of hair graying with aging in humans. Therefore, model mice that mimic the mechanism of hair graying in humans could be strong tools to develop anti-aging foods. In this study, we found a drug effective for hair graying using hair-graying model mice. Further studies are needed to clarify the similarities of hair graying mechanisms between the model mice and human to apply the anti-aging foods to human.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：アンチエイジング

1. 研究開始当初の背景

(1) 白髪予防剤開発の背景

近年、人々の“アンチエイジング”に対する関心は非常に高く、多種多様な機能性食品が人々の生活をサポートしている。中でも「白髪」は、誰にでも訪れる老化の象徴である。また、社会的ストレスや不規則な食生活による栄養バランスの偏りが白髪化を促進する可能性も示唆されており、「白髪」は、加齢の象徴であるとともに、日々の健康状態とも密接に関わっていると考えられる。また、中年女性にとって白髪の蓄積は、美容上最大の悩みとも報告されており、約8割の人が白髪を隠したいと考えている。様々なアンチエイジング効果を示す食品やサプリメントが提唱される中、これまでに、国内外において、画期的な白髪予防効果のある薬剤や機能性食品は開発されていない。この背景として、白髪予防効果を評価する画期的研究システムが存在しなかったことがある。

(2) 白髪発症メカニズム研究の背景

毛髪は、皮膚にある毛根で作られる。毛髪の“色”は、毛根深部において毛の母細胞(毛母細胞)が毛髪へと角化する際、隣接する色素細胞が産生したメラニンが取り込まれることによって形成される。

近年、ヒトでもマウスでも加齢とともにこの色素細胞に異常が生じ、メラニン産生能のある色素細胞が毛母に供給されないことが白髪化の根本原因である事が報告されている。

(3) 白髪予防剤開発における問題点

ヒトで白髪予防剤の効果を検証する事は非常に困難である。第一に、白髪は、加齢にともなって、数十年という長い年月をかけて徐々に進行するものであるため、経時的に薬剤の白髪予防効果を追跡することが困難である。第二に、ヒトでは安全性の問題や十分な被験者数の確保が困難である。

ヒトの白髪発症機構に類似した白髪モデルマウスが存在しない。白髪発症マウスはこれまでも開発されてきたが、それらは若齢で一気に白髪になる若白髪モデルであり、短命であるなど、加齢性の白髪予防剤の研究開発には適していないのが現状である。

2. 研究の目的

近年我々が開発した白髪モデルマウスを用い、白髪予防効果のある食品由来物質を探索するとともにその予防効果を科学的に検証し、白髪予防効果のあるアンチエイジング

食品の開発を目指すことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 薬剤選別：ステップ1

2000種類の食品由来物質を用いた。2000種類すべてについてマウスで試験をするのはコスト・時間が非常にかかるため、まずは、簡便で大量スクリーニングが可能な細胞株を用いた invitro (試験管内)での試験を行った。細胞は将来ヒトへの応用を踏まえ、ヒト由来の細胞株を用いた。候補薬剤を培養細胞に添加し、複数の白髪化関連遺伝子を標的に、それらの遺伝子発現を変化させる食品由来物質を選出した。

(2) 薬剤選別：ステップ2

ステップ1で上がってきた約400種類の物質について、特許性の高い約70種類、さらにその中で機能性食品として商品化する上で現実的なコストで安定供給が可能なものについて約20種類まで厳選した。

(3) 薬剤選別：ステップ3

ステップ1、2において厳選した約20種類の物質について、白髪発症マウスに内服させ、生体レベルで白髪予防効果を検証した。

内服条件の検討

候補物質について、溶解できれば飲水として、できなければ固形飼料に混ぜて与える。物質によっては、苦みや匂いのせいでマウスが摂取しない場合もあるため、バニラエッセンスなどを加える等して工夫した。

内服試験の実際

薬剤の濃度は、半数致死量(LD₅₀)の1/1000-1/10000の間で行った。また、各薬剤試験についてマウス試験数を5匹(+コントロール5匹)とした。

(4) 白髪予防効果の科学的検証

白髪率の評価

写真撮影、また、試験後の毛をプレパラート標本とし、顕微鏡下で白髪率を算出し、薬剤の白髪予防効果を評価した。

組織学的検証

色素細胞の数・分布を、化学染色・免疫染色法を用いて組織化学的に検証した。

薬剤のアンチエイジング効果の検証

これまでにすでに報告されている、アンチエイジング関連遺伝子の発現変化について、薬剤非投与群と投与群との間で検討を行った。

4. 研究成果

(1) 薬剤選別の結果

H22年度に行った、培養細胞を用いた *in vitro* 系のスクリーニングによって選別した候補薬剤を、H23-25年度では、実際にモデルマウスに飲水投与し、白髪予防効果の有無を検証した。コントロール群には水を、試験群には水に溶解した候補物質を飲ませた。H23年度の時点では、効果のある薬剤は得られなかったが、長期投与を行った結果、ある食品由来物質では、投与から5ヶ月後、コントロール群と比べて白髪を予防する傾向がみられた。このとき、両群における飲水量および体重変化に差はなかった。これまでに *in vivo* (動物) レベルで白髪予防効果を示す薬剤はほとんど報告されていないため、本研究の成果の意義は大変大きい(特許申請済み)。

(2) 薬剤の科学的検証

組織学的検証の結果:

白髪化の主な原因は、毛髪をつくりだす毛根内に存在するメラノサイトが死滅することや毛色をつくるメラニンの合成能が減少することである。そこで、免疫組織化学法により、毛根の色素細胞を検出し、その数を検証した。その結果、薬剤投与群の毛根では、非投与群と比べて明らかに色素細胞数が多く維持されていることが分かった。

また、フォントナマッソン法により、メラニン産生レベルを調べた結果、薬剤投与群の毛根では、非投与群と比べて有意に、メラニン産生レベルが高いことが分かった。

薬剤のアンチエイジング効果の検証: これまでにすでに報告されている、エイジング関連遺伝子の発現変化を調べた結果、薬剤投与群の毛根では、非投与群と比べてエイジング関連分子の発現が抑制されていることが *in vivo* レベルで示された(特許申請済み)。

(3) 総括

白髪予防効果のあるアンチエイジング食品を開発することを目的に研究を遂行した。白髪関連分子を標的として *in vitro* スクリーニングにて選出した食品および食品由来化合物(平成22年度成果)をマウスに作用させたところ、その一部が *in vivo* レベルでもある一定の効果を示すことが分かった(平成22-24年度成果)。平成25年度は、その再現性を取るとともに、その効果の科学的検証を行った。その結果、複数の薬剤について、個体レベルで再現よく効果が期待できる結果が得られた。白髪化の主な原因は、毛髪をつくりだす毛根内に存在する色素細胞が死滅することや毛色をつくるメラニンの合成能が減少することであることがヒトレ

ルでも動物レベルでも報告されている。薬剤を投与したマウスでは、メラノサイトの死滅およびメラニン合成の低下が著しく抑制されていた。本試験により、*in vitro* スクリーニングにて選出された薬剤が *in vivo* でも効果を示したことから、本試験で行った *in vitro* および *in vivo* のスクリーニングに用いた標的分子、および、スクリーニングシステムが正しく機能したことが示唆される。つまり、本システムは、白髪だけでなく、その他の加齢性疾患に対する予防・治療薬の開発にも応用可能であることを示している。白髪化はエイジングの象徴である。今後、これらの薬剤をヒトのアンチエイジング剤へと広く応用するために、薬物安定性試験、薬物安全性試験等を行う必要がある。また、マウスとヒトのエイジングプロセスの類似点と相違点をより明確にすることが、科学的根拠をもった画期的なアンチエイジング剤の開発に重要であり、持続的な健康社会への貢献に重要であると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計13件)

査読あり

Yajima I, Iida M, et al. Non-equilibrium atmospheric pressure plasmas modulate cell cycle-related gene expression levels in melanocytic tumors of RET-transgenic mice. *Exp Dermatol*, in press, 2014. DOI: 10.1111/exd.12415

査読あり

Iida M, Yajima I, et al. Effects of non-thermal atmospheric pressure plasma irradiation on expression levels of matrix metalloproteinases in benign melanocytic tumors in RET-transgenic mice. *European Journal of Dermatology*, John Libbey Eurotext. In printing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Effects+of+non-thermal+atmospheric+pressure+plasma+irradiation+on+expression+levels+of+matrix+metalloproteinases+in+benign+melanocytic+tumors+in+RET-transgenic+mice>.

査読あり

Ohgami N, Iida M, et al. Hearing impairments caused by genetic and environmental factors. *Environ Health Prev Med*. 18(1):10-5. doi: 10.1007/s12199-012-0300-z, 2013.

査読あり

Tamura H, Ohgami N, Yajima I, Iida M, et

al. Chronic exposure to low frequency noise at moderate levels causes impaired balance in mice. PLoS One. Public Library of Science, 2012;7(6):e39807, 2012. doi: 10.1371/journal.pone.0039807.

査読あり

Ohgami N, Tamura H, Ohgami K, Iida M, et al. c-Ret-mediated hearing losses. Int J Clin Exp Pathol, e-Century Publishing Corporation, 5(1), pp23-28, 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=c-Ret-mediated+hearing+losses>.

査読あり

Yajima I, Kumasaka MY, Thang ND, Goto Y, Takeda K, Yamanoshita O, Iida M, et al. RAS/RAF/MEK/ERK and PI3K/PTEN/AKT Signaling in Malignant Melanoma Progression and Therapy. Dermatol Res Pract. Hindawi, 354191. Epub 2 doi: 10.1155/2012/354191, 2012.

査読あり

Kato M, Iida M, et al. Sunlight exposure-mediated DNA damage in young adults. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. American Association for Cancer Research, 20(8), pp1622-1628, 2011. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-11-0228.

査読あり

Ida-Eto M, Ohgami N, Iida M, et al. Partial requirement of endothelin receptor B in spiral ganglion neurons for postnatal development of hearing. J Biol Chem, American Society for Biochemistry and Molecular Biology, 286 (34), pp29621-29626, 2011. doi: 10.1074/jbc.M111.236802.

査読あり

Kato M, Kumasaka MY, Takeda K, Hossain K, Iida M, et al. L-cysteine as a regulator for arsenic-mediated cancer-promoting and anti-cancer effects. Toxicol In Vitro, Elsevier, 25(3), pp623-629, 2011. doi: 10.1016/j.tiv.2010.12.012.

査読あり

Yajima I, Kumasaka MY, Thang ND, Goto Y, Takeda K, Iida M, et al. Molecular Network Associated with MITF in Skin Melanoma Development and Progression. J Skin Cancer, Hindawi, 730170, Article ID 730170, 7 pages. doi: 10.1155/2011/730170, 2011.

査読あり

Taguchi N, Uemura N, Goto Y, Sakura M, Hara K, Niwa M, Iida M, et al. Antioxidative

effects of cherry leaves extract on tert-butyl hydroperoxide-mediated cytotoxicity through regulation of thioredoxin-2 protein expression levels. J Toxicol Environ Health A, Taylor & Francis, 74(18), pp1240-7, 2011. doi: 10.1080/15287394.2011.570229.

査読あり

Ohshima Y, Yajima I, Takeda K, Iida M, et al. c-RET molecule in malignant melanoma from oncogenic RET-carrying transgenic mice and human cell lines. PLoS One, Public Library of Science, 5(4):e10279, 2010. doi: 10.1371/journal.pone.0010279.

査読あり

Kumasaka MY, Yajima I, Hossain K, Iida M, et al. A novel mouse model for de novo Melanoma. Cancer Res, American Association for Cancer Research, 70(1), pp24-9, 2010. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-2838.

〔学会発表〕(計 6 件)

飯田真智子、矢嶋伊知郎、中川薫、大神信孝、近藤博基、竹田圭吾、堀勝、加納浩之、加藤昌志、動物モデルを用いた非熱的大気圧プラズマによる抗腫瘍効果の検討、第83回日本衛生学会ポスター発表、金沢大学、2013年3月24日-26日

M Iida, I. Yajima, N. Ohgami, M. Tamaki, M. Kato, Skin pigmentation and urinary 8-OHdG levels in humans, The 25th Annual meeting of The Japanese Society for Pigment Research. 2012年11月24日(土)~25日(日) 場所 長浜バイオ大学 滋賀県(口頭)

飯田真智子、田部翔太、猪原節ノ介、松崎貴、毛乳頭はメラノサイトの避難小屋、日本動物学会第83回大会第8回色素細胞シンポジウム、大阪大学、2012年9月13日

Iida M., Environmental stress and skin diseases. JSPS AA Science Platform Program: The 3rd International Symposium of Environmental Health Sciences in Hanoi University, Vietnam, July 26th, 2012.

飯田真智子、加藤昌志、後藤友二、近藤高明、矢嶋伊知郎、日常的な日光曝露がDNA酸化損傷に与える影響-疫学的検討-、衛生学会2012年第82回3月24~26日 京都大学 (ポスター)

Iida M. Aging and skin biology, JSPS AA Science Platform Program: The 1st

International Symposium of Environmental Health Sciences in Chubu University, Japan, July 28-29, 2010.

〔産業財産権〕

出願状況(計 5 件)

名称：白毛数抑制剤及び非治療的な美容方法

発明者：田口 暢彦、加藤昌志、飯田真智子、上村 規行

権利者：ホーユー(株) 学校法人中部大学

種類：特許

番号：特願 2012-276617,

出願年月日：2012年12月19日

国内外の別：国内

名称：加齢性白髪モデル動物

発明者：加藤昌志、飯田真智子

権利者：学校法人中部大学

種類：特許

番号：特願 2012-10573

出願年月日：2012年1月23日

国内外の別：国内

名称：色素細胞性疾患モデル動物及びその用途

発明者：加藤昌志、飯田真智子

権利者：学校法人中部大学

種類：特許

番号：特願 2011-253454

出願年月日：2011年11月21日

国内外の別：国内

名称：白毛の予防・治療剤、非治療的な美容方法、エンドセリンレセプターB遺伝子発現促進剤及びMITF-M遺伝子発現促進剤
発明者：加藤昌志、飯田真智子、上村 規行、田口 暢彦

権利者：ホーユー(株) 学校法人中部大学

種類：特許

番号：特願 2011-129093

出願年月日：2011年6月9日

国内外の別：国内

名称：薬剤評価方法

発明者：加藤昌志、飯田真智子、熊坂真由子、矢嶋伊知朗、田口 暢彦、

権利者：ホーユー(株) 学校法人中部大学

種類：特許

番号：特願 2010-145179

出願年月日：2010年6月25日

国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

飯田 真智子 (IIDA, Machiko)

中部大学・生命健康科学研究所・研究員

研究者番号：60465515