

平成 29 年 5 月 12 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25282021

研究課題名(和文)嗜好食品ががん化、老化、発達障害を予防する メチルキサンチン誘導体を中心として

研究課題名(英文)The roles of methylxanthine derivative on prevention of several disorders

研究代表者

杉本 直俊 (SUGIMOTO, Naotoshi)

金沢大学・医学系・准教授

研究者番号：80272954

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,600,000円

研究成果の概要(和文)：嗜好食品にはカフェイン、テオフィリンやテオブロミンなどのメチルキサンチン誘導体を成分にもつ食品が数多くある。本研究では、カカオ多くに含まれるメチルキサンチン誘導体、テオブロミンの生体へ与える影響を動物や細胞を用いて検討した。

テオブロミン刺激により(悪性度の高い)神経膠芽腫細胞において細胞死を誘導するシグナルの活性化、および細胞増殖に関するシグナルの抑制が観察された。一方、マウスの行動性学習能力がテオブロミン入り飼料の摂取により促進することが明らかとなった。また、脳内では脳機能促進を司る脳由来神経栄養因子の上昇が観察された。

研究成果の概要(英文)：Theobromine, which is a caffeine derivative, is the primary methylxanthine produced by Theobroma cacao. Mice were fed a diet supplemented with 0.05% theobromine for 30 days. The theobromine-fed (TB) mice performed better on the three-lever task than the control (CN) mice did. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in brain were higher in the TB mice compared with those in the CN mice. BDNF supports cell survival and neuronal functions, including learning and memory. These results strongly suggested that orally administered theobromine augmented the motor learning in mice.

研究分野：予防生理学

キーワード：栄養 嗜好食品 がん化予防 老化予防 認知予防

1. 研究開始当初の背景

嗜好食品にはカフェイン、テオフィリンやテオブロミンなどのメチルキサンチン誘導体(図1)を成分にもつ食品が数多くある。近年、mammalian Target of Rapamycin (mTOR)の活性化ががん化や老化の促進、一部の精神発達障害に関与することが明らかとなった。

私たちは様々なメチルキサンチン誘導体が mTOR を抑制することを世界に先駆けて見出している。このことは、メチルキサンチン誘導体を成分に持つ嗜好食品の摂取が、がん化や老化、そして精神発達障害の予防や QOL 等の改善に有効であることを示唆している。

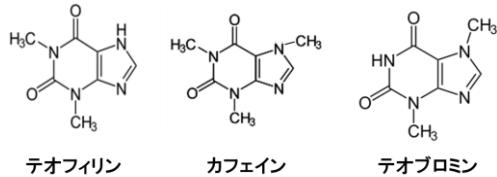


図1 食品に含まれるメチルキサンチン誘導体

2. 研究の目的

本研究では、それら嗜好食品の摂取が身体に与える影響を動物や細胞を用いて解明することを目的とする。特に、これまであまり生体への作用が知られていなかったテオブロミンに焦点を絞る。

3. 研究の方法

小動物(マウス、ラット)や培養細胞を用いて、カカオに含まれるメチルキサンチン誘導体テオブロミンの効果を検討した。細胞実験ではテオブロミンを培養液に加えた。小動物実験では普通餌に0.05%の重量率でテオブロミンを加えて作製したものを飼料とした。テオブロミン含有飼料の摂取によりテオブロミンの体内分布、および行動性学習能力を観察した。

4. 研究成果

(細胞実験)

培養細胞を用いた解析では、テオブロミンは細胞死を誘導するシグナルの活性化、細胞増殖に関与するシグナルの抑制が観察された(図2)。このことはテオブロミンによりがんを抑制する可能性を示唆している。実際、テオブロミンは神経膠芽腫の増殖を抑制した。

(小動物実験)

30日間、マウスにテオブロミン含有飼料を与えた。飼料摂取量、体重、血糖値にはテオブロミン含有飼料を与えたマウスと普通飼料を与えたマウスでは差を認めなかった。

テオブロミン含有飼料を与えたマウスの血中や脳に於いてテオブロミンの存在が明らかとなった。脳にテオブロミンが存在したことから、テオブロミンは血液脳関門を通過

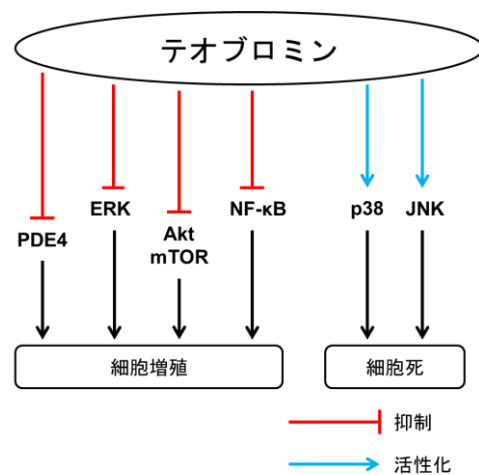


図2 培養細胞を用いた解析で明らかになったテオブロミンによるシグナル伝達

することが示唆された。しかしながら、脳でのテオブロミン濃度は血中濃度の約10%程度であった。さらに脳内で cAMP 及び脳由来神経栄養因子(BDNF)の上昇が観察された(図3)。

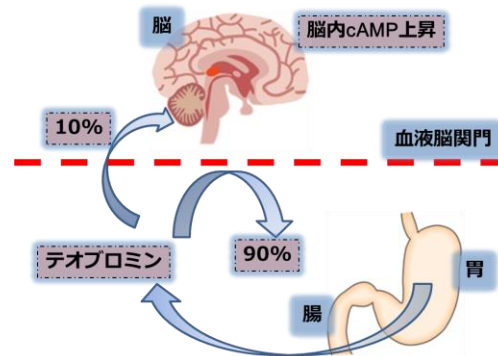


図3 テオブロミン経口摂取後の動態と脳内cAMP
テオブロミンは血液脳関門を通過し、脳内cAMPを増加させた。しかし、脳内テオブロミン濃度は血中の約10%であった。

また、テオブロミン含有飼料を与えたマウスは普通飼料を与えたマウスに比べ、行動性学習能力が促進することが明らかとなった。

以上から、テオブロミンは脳での cAMP を増加させ、その cAMP の下流にある protein kinase A (PKA) の活性化と転写因子 CREB の活性化を誘導すると考えられる。つまり、テオブロミンにより cAMP-PKA-CREB-BDNF のシグナル伝達系が惹起されたことにより、行動性学習能力が促進したものと推察される。

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12件)

- ① Yoneda M, Sugimoto N, Katakura M, Matsuzaki K, Tanigami H, Yachie A, Ohno-Shosaku T, Shido O. Theobromine up-regulates cerebral brain-derived neurotrophic factor and facilitates motor learning in mice. J Nutr Biochem. 2017;39:110-116. (査読有) DOI:

- 10.1016/j.jnutbio.2016.10.002.
- ② Sugimoto N, Katakura M, Matsuzaki K, Nakamura H, Yachie A, Shido O. Capsaicin partially mimics heat in mouse fibroblast cells in vitro. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2017;390:281-289. (査読有) DOI: 10.1007/s00210-016-1331-6.
- ③ Sugimoto N, Miwa S, Nakamura H, Tsuchiya H, Yachie A. Protein kinase A and Epac activation by cAMP regulate the expression of glial fibrillary acidic protein in glial cells. *Arch Biol Sci.* 2016; 68: 795-801. (査読有) DOI:10.2298/ABS160112067S
- ④ Sugimoto N, Leu H, Inoue N, Shimizu M, Toma T, Kuroda M, Saito T, Wada T, Yachie A. The critical role of lipopolysaccharide in the upregulation of aquaporin 4 in glial cells treated with Shiga toxin. *J Biomed Sci.* 2015;22:78. (査読有) DOI: 10.1186/s12929-015-0184-5.
- ⑤ Matsuzaki K, Katakura M, Sugimoto N, Hara T, Hashimoto M, Shido O. β -amyloid infusion into lateral ventricle alters behavioral thermoregulation and attenuates acquired heat tolerance in rats. *Temperature* 2015; 2:418-424. (査読有) DOI:10.1080/23328940.2015.1044635
- ⑥ Miyamoto M, Matsuzaki K, Katakura M, Hara T, Tanabe Y, Shido O. Oral intake of encapsulated dried ginger root powder hardly affects human thermoregulatory function, but appears to facilitate fat utilization. *Int J Biometeorol.* 2015;59:1461-74. (査読有) DOI: 10.1007/s00484-015-0957-2.
- ⑦ Shido O, Matsuzaki K. Involvement of neurogenesis in the hypothalamic area in establishing long-term heat acclimation in rats. *Temperature* 2015; 2:362-367. (査読有) DOI:10.1080/23328940.2015.1076591
- ⑧ Matsuzaki K, Katakura M, Inoue T, Hara T, Hashimoto M, Shido O. Aging attenuates acquired heat tolerance and hypothalamic neurogenesis in rats. *J Comp Neurol.* 2015;523:1190-201. (査読有) DOI: 10.1002/cne.23732.
- ⑨ Sugimoto N, Shido O, Matsuzaki K, Katakura M, Hitomi Y, Tanaka M, Sawaki T, Fujita Y, Kawanami T, Masaki Y, Okazaki T, Nakamura H, Koizumi S, Yachie A, Umehara H. Long-term heat exposure prevents hypoxia-induced apoptosis in mouse fibroblast cells. *Cell Biochem Biophys.* 2014;70:301-7. (査読有) DOI: 10.1007/s12013-014-9912-9.
- ⑩ Sugimoto N, Toma T, Shimizu M, Kuroda M, Wada T, Yachie A. Shiga toxin-2 enhances heat-shock-induced apoptotic cell death in cultured and primary glial cells. *Cell Biol Toxicol.* 2014;30:289-99. (査読有) DOI: 10.1007/s10565-014-9286-1.
- ⑪ Yokoyama T, Sugimoto N, Kato E, Ohta K, Ishikawa S, Ueno K, Shimizu M, Yachie A. Rotavirus gastroenteritis associated urinary ammonium acid urate crystals. *Pediatr Int.* 2015; 57:158-60. (査読有) DOI: 10.1111/ped.12405.
- ⑫ Sugimoto N, Miwa S, Katakura M, Matsuzaki K, Shido O, Tsuchiya H, Yachie A. Theobromine, the primary methylxanthine found in Theobroma cacao, inhibits malignant glioblastoma cell growth by negatively regulating Akt/mammalian target of rapamycin kinase. *FASEB J* 2014 28:LB836. (査読有)
- [学会発表] (計 21 件)
- ① Sugimoto N, Katakura M, Matsuzaki K, Yoneda M, Sumiyoshi E, Ohno-Shosaku T, Yachie A, Shido O. 「Theobromine crosses the blood brain barrier resulting in increased phosphorylation of vasodilator-stimulated phosphoprotein and cAMP-response element-binding protein in the mouse brain」 FFC 's 21st International Conference "Functional Foods and Bioactive Compounds in Health and Disease: Science and Practice", 2017 年 3 月 26 日 (日)、 San Diego (USA).
- ② 杉本直俊、「高齢者から子供まで親しまれる嗜好食品の可能性」第四回「食と環境、そして高齢化を考える研究会」、2016 年 10 月 21 日 (金)、賢島宝生苑 (三重県志摩市)
- ③ Sugimoto N, Katakura M, Matsuzaki K,

- Ohno-Shosaku T, Yachie A, Shido O.
「Theobromine crosses the blood brain barrier in vivo resulting in increased phosphorylation of vasodilator-stimulated phosphoprotein in the mouse brain」
Physiology 2016, 2016年7月29日(金)、Dublin (Ireland).
- ④ Sugimoto N, Katakura M, Matsuzaki K, Ohno-Shosaku T, Yachie A, Shido O.
Theobromine, the primary methylxanthine found in Theobroma cacao, can pass through the blood-brain barrier in mice」
Experimental Biology 2016 (EB2016), 2016年4月6日(水)、San Diego (USA).
- ⑤ Tanigami H, Yoneda M, Tabata Y, Sugimoto N, Ohno-Shosaku T.
「Examination of the effects of theobromine feeding on motor learning and adaptive behavior of mice by using three-lever operant task」
The 93rd Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, 2016年3月22日、札幌コンベンションセンター(北海道札幌市)
- ⑥ 杉本直俊、「東アジア諸国の高齢者対策－生活と労働－」、第三回「食と環境、そして高齢化を考える研究会」、2016年3月4日(金)、ホテル日航金沢(石川県金沢市)
- ⑦ Sugimoto N、「Review of Long-term Care Insurance in Japan」
The 2015 Conference of Long-term Care and Social Care. 2015年10月16日、亞洲大学、台中市(台湾)
- ⑧ Sugimoto N, Matsuzaki K, Katakura M, Yachie A, Shido O.
「The effect of exposure to mild heat stress on culture cells.」
EB2015, 2015年4月1日、Boston(USA).
- ⑨ 杉本直俊、松崎健太郎、片倉賢紀、紫藤治、「細胞レベルでの暑熱暴露、暑熱順化を考える」、第10回環境生理学プレコングス、2015年3月20日、ホテル北野プラザ六甲荘(兵庫県神戸市)
- ⑩ 杉本直俊、「高齢者骨格筋の必要性 - 熱中症予防への戦略 -」、第二回「食と環境、そして高齢化を考える研究会」、2014年11月28日、一般財団法人アジア太平洋研究所(大阪府大阪市)
- ⑪ 松崎健太郎、片倉賢紀、杉本直俊、宮本まゆみ、原節子、紫藤治、「アミロイドβ脳室投与はラット暑熱順化形成を減弱させる」、第53回日本生気象学会大会、2014年10月25日、桐蔭横浜大学(神奈川県横浜市)
- ⑫ 杉本直俊、松崎健太郎、片倉賢紀、紫藤治、「低酸素環境が細胞に与える影響」、第53回日本生気象学会大会、2014年10月24日、桐蔭横浜大学(神奈川県横浜市)
- ⑬ 杉本直俊、「温度と骨格筋分化」、第22回日本発汗学会総会・第28回運動と体温の研究会合同大会、2014年9月18日、長崎大学文教キャンパス(長崎県長崎市)
- ⑭ 杉本直俊、東馬智子、清水正樹、黒田文人、和田泰三、谷内江昭宏、「志賀毒素のグリア細胞への作用、2011年に発生した焼肉屋チェーン店食中毒の事例から予測されること(第2報)」、第9回スフィンゴセラピー研究会、2014年7月19日、山中温泉河鹿荘ロイヤルホテル(石川県加賀市)
- ⑮ Sugimoto N, Miwa S, Katakura M, Matsuzaki K, Shido O, Tsuchiya H, Yachie A.
「Theobromine, the primary methylxanthine found in Theobroma cacao, inhibits malignant glioblastoma cell growth by negatively regulating Akt/mammalian target of rapamycin kinase.」
EB2014, 2014年4月30日、San Diego (USA)
- ⑯ 杉本直俊、少作隆子、松崎健太郎、片倉賢紀、紫藤治、「低酸素環境下でのがん細胞の動向」、第9回環境生理学プレコングス、2014年3月15日、国民宿舎レインボー桜島(鹿児島県鹿児島市)
- ⑰ 杉本直俊、「食と若返り」、第一回「食と環境、そして高齢化を考える研究会」、2013年11月22日、ホテル日航金沢(石川県金沢市)
- ⑱ 杉本直俊、松崎健太郎、片倉賢紀、紫藤治、「熱耐性能獲得細胞からの熱中症予防関連分子の同定」、第52回日本生気象学会大会、2013年11月2日、米子市文化ホール(鳥取県米子市)
- ⑲ 松崎健太郎、片倉賢紀、杉本直俊、宮本まゆみ、原節子、紫藤治、「アミロイドβ脳室内投与によるラット行動性体温調節機能の変化」、第52回日本生気象学会大会、2013年11月2日、米子市文化ホール(鳥取県米子市)

- ⑳ 杉本直俊、「高齢者の骨格筋の役割—体温調節と水分代謝の視点からの考察—」、第 68 回日本体力医学会大会、2013 年 9 月 21 日、日本教育会館・学術総合センター（東京）
- 21 杉本直俊、「細胞から熱中症予防を考える」、2013 年 9 月 20 日、第 27 回 運動と体温の研究会、立教大学池袋キャンパス（東京）

〔図書〕（計 1 件）

- ① 木村幹・杉本直俊・金成垣・陳永峰・杉村豪一、著書『北東アジア少子高齢化研究会報告書-東アジアにおける持続可能性のある高齢化社会構築のための方策-』（一般財団法人アジア太平洋研究所、2015 年）

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杉本 直俊 (SUGIMOTO, Naotoshi)
金沢大学・医学系・准教授
研究者番号：80272954

(2) 研究分担者

紫藤 治 (SHIDO, Osamu)
島根大学・医学部・教授
研究者番号：40175386

谷内江昭宏 (YACHIE, Akihiro)
金沢大学・医学系・教授
研究者番号：40210281

少作 隆子 (SHOSAKU, Takako)
金沢大学・保健学系・教授
研究者番号：60179025

平田 耕造 (HIRATA, Kozo)
神戸女子大学・家政学部・教授
研究者番号：70110624