

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：82111

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25560066

研究課題名(和文)マウスの加齢性難聴を指標にした、食生活因子による老化予防モデルの構築

研究課題名(英文)Evaluation of anti-aging food factors by measuring age-related hearing loss in mice

## 研究代表者

大池 秀明(Oike, Hideaki)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・食品総合研究所・食品機能研究領域・主任研究員

研究者番号：30455307

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：本課題は、様々な食生活因子が老化速度に与える影響について明らかにするため、マウス加齢性難聴(聴力の老化)を指標とした評価系を確立し、実際に評価を行うことを目指した。コントロール食を与えたマウスの聴力測定結果から、この評価系が3～6ヶ月程度の試験期間で十分に機能しうることが示された。カフェイン、アルコール、人工甘味料については、6ヶ月間の摂取によっても加齢性難聴の進行に影響を与えなかったが、高脂肪食は加齢性難聴の進行をある程度抑制することが明らかとなった。また、3ヶ月間にわたる食事パターンの変化や、味覚受容体であるTas1R3遺伝子の欠失は、加齢性難聴の進行に影響を与えないことが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：We established a evaluation method for anti-aging food factors by measuring age-related hearing loss (AHL) in mice. Drinking of alcohol, caffeine, or artificial sweeteners for 6 months did not affect onset of AHL, however, intake of high fat diets delayed onset of AHL. Shift of meal-timing for 3 months did not affect AHL. Neither deletion of Tas1R3 gene, which code a taste receptor for sweet and umami, altered onset of AHL.

研究分野：食品機能学

キーワード：老化 加齢性難聴 マウス 食事

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 超高齢社会において、食生活による老化予防の実現(健康寿命の延伸)が切望されている。しかし、食生活因子が老化速度に及ぼす影響について、カロリー制限や抗酸化物質の摂取を除くと、科学的知見が乏しい。その理由の1つとして、老化の研究は必然的に時間がかかるということが挙げられる。モデル動物として良く使われるマウスでも、その寿命は3年ほどある。ヒトの場合、壮年期(25~44歳)ですでに老化を実感できるが、これに相当するマウス(10~15カ月齢)で老化の所見を定量することは容易でない。その点、加齢性難聴は興味深い。深夜にたむろする若者対策に使われて有名になったモスキート音(約17kHzの高周波)は、少年期(~15歳)には大部分のヒトが認識できるが、青年期(15~24歳)に入ると徐々に検出できなくなり、壮年期ではほとんどのヒトが聞こえない。マウスの加齢性難聴もヒトと酷似しており、系統にもよるが、高音域では9~12ヶ月齢程度で測定可能なほどに難聴が進行する。

(2) 食品を健康増進に役立てるための食品機能性研究分野では、医学・薬学を模倣し、特定の病態モデルに対して精製された化学物質を投与する研究手法が主流となっている。しかし、対象が食品由来成分に限られることから、有効成分を見つけることは困難であり、見つかったも実際の食材には含まれない高濃度の摂取が必要であるなど問題が多い。また、現在健康な(病気にかかっていない)人が、その健康を維持するためには、どのような食事を摂り、どのような食生活を送るべきなのか、それを示すための研究は非常に少ない(一部の疫学調査などに限られる)。この分野の研究が、もっと人々の役に立ち、発展するためには、従来の薬剤探索型の研究ばかりではなく、食生活全体から生体機能の正常化を促す(あるいは正常な機能を維持する)ための研究手法の開発が必要である。

## 2. 研究の目的

本課題では、マウスを利用し、食生活因子(食餌の内容やパターン、栄養素の感知機構など)が老化に与える影響を明らかにすることを目指し、まず、老化評価の指標として、加齢性難聴を利用した実験系を確立することを目的とした。これにより、正常マウスを使用しながら、半年以下の試験で結果が出ることが期待され、費用や労力の大幅な削減につながる。その他、長期間飼育による感染症や事故による死亡リスクを低減し、予期せぬ環境因子の影響を受けにくいことから、再現性にも優れていることが期待される。また、聴力測定は非侵襲的であり、同一個体の生涯の中で何度も測定可能であることから、難聴の進行をリアルタイムで精度良く評価することが可能となる。以上のことから、加齢性難聴による老化速度の定量評価系が確立され

れば、実験期間、費用、再現性、精度など多くの点で有効であり、今後の老化研究における活用が期待される。また、神経細胞の老化現象であることから、脳の老化とも相関が高いことが期待される。ヒト高齢期におけるQOL向上を考えると、痴呆症やパーキンソン病など脳神経系の老化を予防することは最も重要であり、聴力評価系により加齢性脳神経疾患の発症時期が予測可能になれば、その利用価値は計り知れない。将来的には、食生活因子のみならず、ヒトの生活環境因子全般が老化に与える影響の評価系として活用することを目指す。

## 3. 研究の方法

### (1) マウスにおける加齢性難聴の評価について

C57BL/6J系統の2ヶ月齢のオスマウスを購入した。1ヶ月の予備飼育後(3ヶ月齢)、通常食で6ヶ月間の飼育を行った。3, 6, 9ヶ月齢の時点で、ペントバルビタール麻酔下で、8, 16, 32 kHzの音域に対し聴性脳幹反応試験による聴力測定を行い、加齢性難聴の進行度を評価した。

### (2) 食事成分が加齢性難聴に与える影響について

C57BL/6J系統の2ヶ月齢のオスマウスを購入した。1ヶ月の予備飼育後、1群10匹とし、以下の各食餌条件で6ヶ月間の試験飼育を行い、その後、聴性脳幹反応試験による聴力測定を行った。1. コントロール食、2. カフェイン飲用(0.05%, 飲水として)、3. 高脂肪高蔗糖食+週1日絶食(脂質60%、蔗糖20%)、4. 高食塩食(4% NaCl)、5. 高脂肪高蔗糖食、6. アルコール飲用(5%, 飲水として)、7. 高脂肪食(脂質60%) + 人工甘味料(1mM アセサルファムK、1mM スクラロース; 飲水)、8. 高脂肪食、9. コントロール食+週1日絶食。

### (3) 食事時刻が加齢性難聴に与える影響について

C57BL/6J系統の2ヶ月齢のオスマウスを購入した。1ヶ月の予備飼育後、1群8匹とし、以下の条件で3ヶ月間飼育を行い、聴性脳幹反応試験による聴力測定を行った。1. コントロール群: 12時間明暗サイクル、自由摂食、2. 暗期摂食群: 暗期の12時間のみ自由摂食、3. 明期摂食群: 明期の12時間のみ自由摂食、4. シフトワーク群: 明暗サイクルを週2回、6時間ずつ前進させ、自由摂食、5. シフトワーク食事固定群: 明暗サイクルを週2回、6時間ずつ前進させるが、食事時刻は一定の12時間に固定

### (4) 栄養感知シグナルが加齢性難聴に与える影響について

C57BL/6J系統バックグラウンドで、甘味・うま味受容体の遺伝子であるTas1R3を欠失す

るマウス (Tas1R3 KO マウス) と正常な野生型マウスおよびヘテロ欠失型マウスを準備し、3~9ヶ月齢まで通常食で飼育し、加齢性難聴の進行度を比較した。

#### 4. 研究成果

(1) 通常条件下で飼育した C57BL/6J マウスにおける、3, 6, 9ヶ月齢の 8, 16, 32 kHz における聴力測定の結果から、これまでの知見と同様に、加齢と共に高音域より聴力が低下 (閾値が上昇) することが認められ (図 1)、目的通りに実験系がセットアップされたことを確認した。この実験系においては、少なくとも3ヶ月程度の飼育により、加齢性難聴の進行を検出できることが示された。

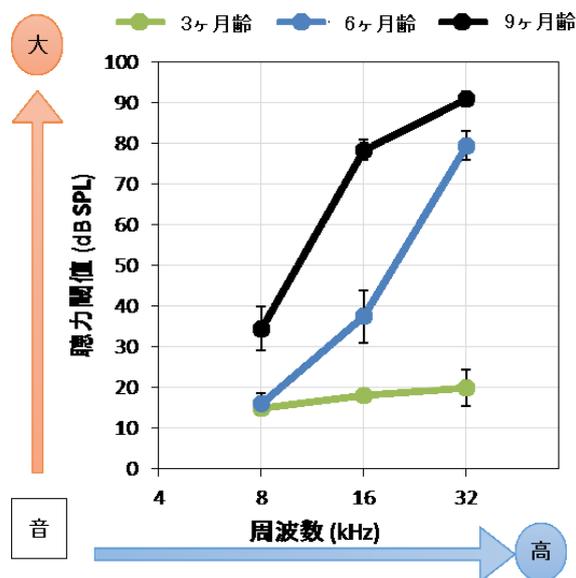


図1 マウスの加齢による聴力の低下

(2) 食事成分の影響に関してであるが、アル

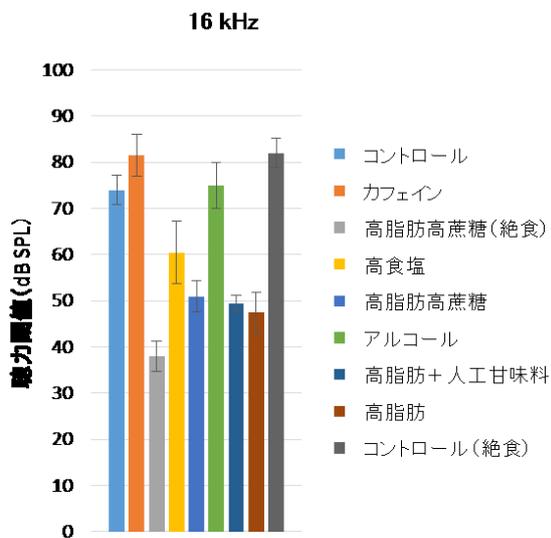


図2 食事成分が加齢性難聴に与える影響

コール、カフェイン、人工甘味料、高食塩の6ヶ月間に渡る継続摂取は、加齢性難聴の進行に影響を与えなかった (図2; 9ヶ月齢マウスの16 kHzにおける聴力測定の結果)。また、通常食および高脂肪食群で週1日の絶食の有無も加齢性難聴の進行に影響を与えなかった。一方、高脂肪食あるいは高脂肪高蔗糖食を与えた群は、絶食や人工甘味料の有無に関わらず、加齢性難聴による高音域 (16 kHz, 32 kHz) の聴力低下 (閾値の上昇) が、コントロール群と比較して有意に抑制された (1way ANOVA, Tukey's post hoc test,  $p < 0.05$ )。

(3) 食事パターンの違いにより、体重の変化が認められたが、聴力に関しては、いずれの群においても有意な差は認められず、加齢性難聴の進行には影響を与えないことが明らかになった。

(4) 野生型マウスと Tas1R3 KO マウスにおいて、加齢性難聴の進行度に有意な差は検出されず、甘味受容体やうま味受容体による栄養素の感知機構は、加齢性難聴の進行に影響を与えないことが明らかになった。

#### 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 2件)

① 大池秀明、食品成分による老化予防効果の評価 ~マウス加齢性難聴を利用した評価系~、食品と容器、査読無、56巻(3)、2015、187-191

<http://kangiken.net/backnumber/5603moku mo.html>

② Hideaki Oike, Katsutaka Oishi, Masuko Kobori. Nutrients, Clock Genes, and Chrononutrition. Current Nutrition Reports, 査読有, 3 (3), 2014, 204-212  
DOI: 10.1007/s13668-014-0082-6

[学会発表] (計 1件)

① 大池秀明、卵黄摂取によるマウス加齢性難聴の抑制 ~若齢マウスを利用した老化の短期評価系~、日本農芸化学会 2015 年度大会、2015年3月28日、岡山大学 (岡山県岡山市)

[その他]

ホームページ等

[http://www.naro.affrc.go.jp/nfri/introd/introd/chart/0304/hideaki\\_oike.html](http://www.naro.affrc.go.jp/nfri/introd/introd/chart/0304/hideaki_oike.html)

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

大池 秀明 (OIKE, Hideaki)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究

機構・食品総合研究所・食品機能研究領域・  
主任研究員  
研究者番号：30455307