

令和 5 年 5 月 22 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K05939

研究課題名(和文)腸でのアミロイド形成抑制を介した抗老化食品機能成分の新規作用機構の解明

研究課題名(英文) Study on the mechanisms of anti-aging food compounds by suppressing amyloid formation in gut

研究代表者

松原 主典 (Matsubara, Kiminori)

広島大学・人間社会科学研究科(教)・教授

研究者番号：90254565

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)：不溶性タンパク質(アミロイド)の形成は老化や加齢に伴う疾患の原因であることから、アミロイド形成を抑制することは老化の進行抑制につながる。アミロイド形成タンパク質の一つであるトランスサイレチン(TTR)の安定化作用のある食品機能成分を老化促進マウスに経口投与することにより、腸での吸収時からTTRが安定化され、脳でのTTR沈着が減少するとともにミクログリアの活性化も抑制され脳機能が維持された。加齢に伴って増加する不溶性タンパク質は消化管の機能低下をもたらす老化を進行させるが、発酵食品および発酵微生物の経口投与も加齢に伴う消化管の変化および腸管内分泌細胞に対して保護効果を示すことが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

超高齢社会となり、健康寿命の延伸は重要な課題となっている。健康寿命を延伸するには、脳や運動器の機能低下を抑えることが必要であり、食生活も大きな影響を与える。本研究では、加齢に伴って体内で増加する不溶性タンパク質の形成を抑える食品機能成分を経口摂取することにより、吸収の段階から原因タンパク質の安定化に関与し、結果的に脳機能保護効果をもたらすことを明らかにした。また、発酵食品や発酵微生物の摂取も加齢に伴って増加する不溶性タンパク質による腸の機能低下を抑え、有効的に働く可能性を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：As the formation of insoluble denatured proteins (amyloids) causes age-associated diseases, prevention of amyloid formation is important for anti-aging. Oral administration of a food-derived compound that stabilizes transthyretin (TTR), an amyloidogenic protein, in senescence-accelerated mice prone 8 (SAMP8) reduced TTR deposition, suppressed microglial activation, and maintained brain function. Amyloids also damage digest system and enhance aging. Oral administration of fermented food or microorganism using fermentation prevented changing of digest system and affected enteroendocrine cells in aged SAMP8. These results suggest that TTR-stabilizing food-derived bioactive compounds and fermented foods and microorganisms exert anti-aging effects by reducing TTR deposition and protecting the digesting system.

研究分野：食品機能学

キーワード：抗老化 アミロイド トランスサイレチン 腸 発酵食品 微生物

1. 研究開始当初の背景

老化は生物にとって避けることのできない現象である。食生活が老化の進行に影響を与えることが示され、食品機能成分による老化の進行抑制に高い関心が集まっている。

老化の主要な要因の一つとして注目されているのが、アルツハイマー病 (Alzheimer's disease: AD) やパーキンソン病 (Parkinson's Disease: PD) でみられる不溶性タンパク質の沈着、すなわち不溶性線維タンパク質であるアミロイドの形成である。ヒトの体内でアミロイドを形成する主なタンパク質やペプチドは30種類近くあり、ADのアミロイド β (A β) やPDの α -シヌクレインは良く知られている。これらのアミロイド形成タンパク質のうち、本研究で注目したのがトランスサイレチン (transthyretin: TTR) である。TTRはチロキシンやレチノールを輸送するホモ4量体タンパク質である。また、TTRはA β の排出を促しADのリスクを下げることも知られている。一方、容易に変性しアミロイドを形成することから、加齢性疾患の原因にもなっている。従って、TTRを安定化する食品機能成分は、TTRによるアミロイド形成を抑制するとともに、A β の排出を促しADのリスクを低減する可能性がある。

他方、TTR安定化作用がない食品機能成分でもTTRの沈着を抑制することを見出している。また、TTR安定化作用のある食品機能成分でも、実際の摂取では体内で高濃度になるわけではないことから、未解明の作用機構があると考えられている。そこで注目されているのが腸である。実際、PDの原因物質である α -シヌクレインは腸で線維化し、それが脳へ移行しアミロイドを形成することが明らかになっている。また、体内にアミロイドが蓄積する疾患 (アミロイドーシス) では、腸管内分泌細胞 (enteroendocrine cells: EEC) に変化が起きることが報告されている。さらに、腸での不溶性線維タンパク質の形成は腸機能を低下させ、老化の進行を早めることが知られている。従って、腸でのアミロイドタンパク質の安定化および腸における線維化タンパク質による影響の軽減は老化の進行を抑制する可能性がある。

2. 研究の目的

TTR安定化作用のある食品機能成分を経口摂取することは、腸管において吸収時からTTRと結合し安定化させることで脳におけるTTR沈着を抑え、加齢に伴う脳機能低下抑制につながる可能性がある。そこで本研究では、この作用機構の可能性をTTR安定化作用のある食品機能成分のマウスへの経口投与により検討する。また、加齢に伴って増加する腸管での線維化タンパク質が腸管の機能低下をもたらし、老化に関与していることが明らかになっている。そこで、老化促進マウスにおいても同様な現象が起きるかどうかを確認するとともに、発酵食品および発酵微生物による腸内環境の改善効果や腸管保護効果が腸管の機能低下を抑制し、老化の進行抑制につながるという作用機構についても老化促進マウスへの経口投与実験で検討する。

3. 研究の方法

(1) TTR安定化作用を持つ食品機能成分によるアミロイド形成抑制と抗老化作用機構

TTRの安定化作用を明らかにしたカルノシン酸 (carnosic acid: CA) を経口摂取すると腸での吸収の段階からTTRと結合し安定化させることが期待できる。そこで、CAを老化促進マウス (senescence-accelerated mice prone 8: SAMP8) に長期間経口投与し、加齢に伴う脳機能低下に対する効果を行動科学試験 (新奇物体認識試験) で評価した。また、脳でのTTR沈着および脳の炎症に関わるミクログリアの活性化について免疫組織化学染色によって評価した。

(2) 納豆菌の抗老化効果

加齢に伴い増加するアミロイド病の一つにPDがあり、PDも α -シヌクレインによるアミロイド形成が発症に関わっていることが明らかになっている。近年、納豆菌 (*Bacillus subtilis*) が α -シヌクレインの凝集を抑制することが報告され、PD予防効果が注目されている。そこで、本研究では納豆菌を混合した飼料をSAMP8に経口投与し、老化および腸への影響について検討した。老化については老化度評価、腸についてはヘマトキシリン-エオシン (hematoxylin-eosin: HE) 染色に加え、EECについても免疫組織化学染色により検討を行った。

(3) 他の発酵食品および微生物の抗老化効果

発酵食品およびその微生物は、そのものが産生する有用物質に加え、腸や腸内細菌叢に作用することにより宿主に影響を与える。そこで、発酵食品およびその製造に使う発酵微生物についても(2)と同様に検討を行った。

4. 研究成果

(1) TTR安定化作用を持つ食品機能成分によるアミロイド形成抑制と抗老化作用機構

CAを経口摂取したCA摂取群と対照群の脳機能について新奇物体認識試験で評価したところ、CA摂取群は新奇物体に対して有意に高い探索行動を示したが、対照群では既知物体との間に有意差は認められなかった (図1)。従って、CAの経口摂取は、加齢に伴って低下する脳機能を保護することが示された。

次に脳内での TTR 沈着について抗 TTR 抗体による免疫組織化学染色で評価したところ、CA 摂取群では TTR の沈着が対照群よりも有意に少なかった (図 2)。そこで、脳の炎症に関わるミクログリアの活性化状態について炎症状態の指標となる apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD (ASC) スペック形成をもとに評価を行ったところ、CA 摂取群では ASC スペックを形成した活性化ミクログリアの割合が対照群よりも有意に低かった (図 3)。このことは、CA 摂取により脳での炎症が抑えられ、それが脳機能の維持に有効であったことを示唆している。また、脳の状態について神経新生などに重要な neuropeptide Y (NPY) 産生細胞について検討したところ、CA 摂取群の方が対照群よりも多いという結果になった (図 4)。

以上の結果から、TTR 安定化作用のある食品機能成分の経口摂取は、吸収の段階から TTR を安定化させ、加齢に伴って増加する脳での TTR 沈着を抑制し、それが脳でのミクログリア活性化に伴う炎症抑制につながり、結果的に脳機能低下抑制につながるという作用機構が明らかとなった。

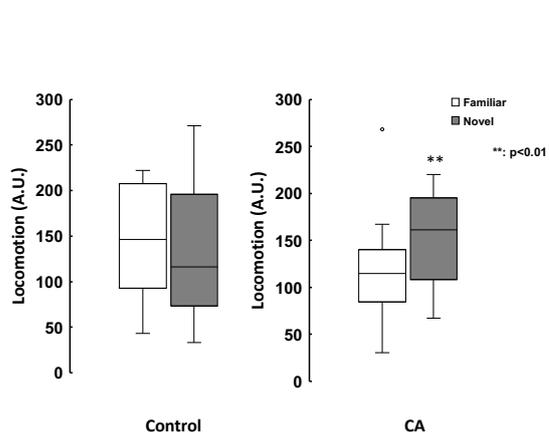


図 1 新奇物体認識試験

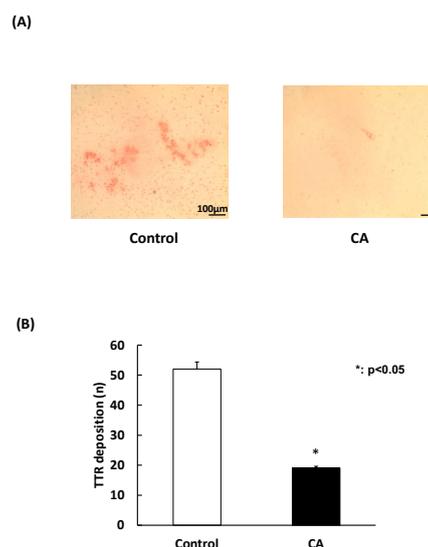


図 2 SAMP8 の脳での TTR 沈着

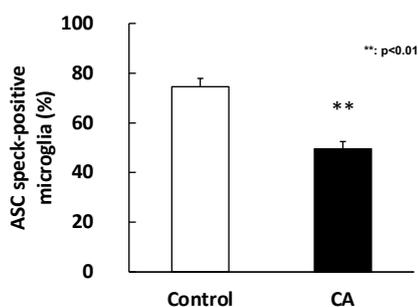


図 3 ASC スペックを形成しているミクログリアの比較

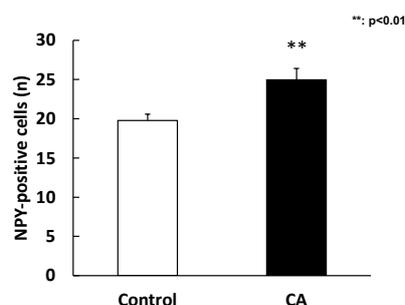


図 4 NPY 産生細胞数の比較

(2) 納豆菌の抗老化効果

本研究でも使用している老化促進マウス SAMP8 において、加齢に伴う腸管の変化、特に不溶性線維タンパク質の形成についてコンゴレッド染色で検討したところ、加齢に伴って染色性が高まった。このことは、SAMP8 の腸においても加齢に伴い不溶性線維タンパク質が形成、蓄積することを示している。また、SAMP8 を用いることにより、腸管での不溶性線維タンパク質形成による老化に対する食品機能成分などの有用性を評価できることが示された。そこで、発酵食品および発酵微生物について検討を進めた。納豆菌を含む飼料を摂取した納豆菌摂取群は対照群よりも老化の進行が抑制されることが明らかとなった。消化管への影響について IgA 分泌および EEC について検討したところ、納豆菌摂取群では IgA の糞中への分泌量が多く、PYY 産生細胞数も対照群より多かった (図 5, 6)。このことから、納豆菌の摂取は、加齢に伴う消化管の変化である IgA 分泌およびアミロイドシス患者で減少する PYY 産生細胞数の減少に対して保護的に働き、それが宿主の老化進行抑制に関与する可能性が示された。

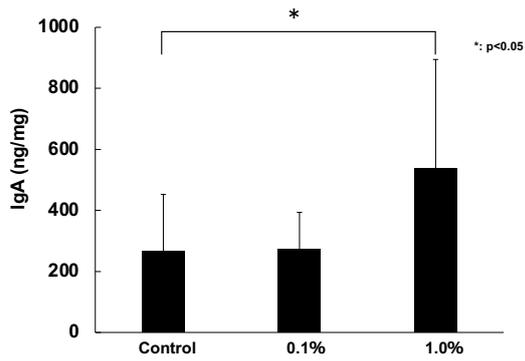


図5 糞中 IgA 分泌量の比較

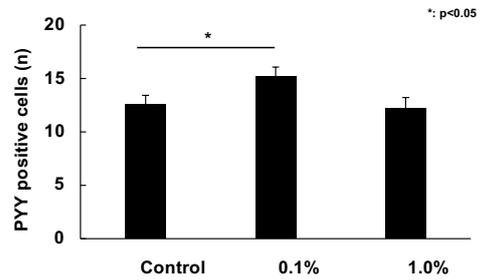


図6 腸管での PYY 産生細胞数の比較

(3) 他の発酵食品および微生物の抗老化効果

他の発酵食品および発酵に使用する微生物については、老化度に差はないものの脳機能保護を示す場合や IgA 分泌を維持するもの、さらには消化管の ECC 細胞数に影響を与えるものなど、老化への影響は多様であった。これらの作用機構については、腸内細菌叢を変化させることによるものなど、本研究とは異なる視点でさらに検討をする必要がある。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 原田真里那, 松原主典	4. 巻 5
2. 論文標題 発酵食品および発酵微生物の抗老化効果	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 540-542
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 原田真里那, 海切弘子, 松原主典
2. 発表標題 納豆菌の摂取は老化マウスの腸を保護する
3. 学会等名 日本家政学会第73回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 海野美月, 柴田紗知, 海切弘子, 萱島知子, 松原主典
2. 発表標題 カルノシン酸の脳での抗炎症機序の検討
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 青木美樹, 松原主典, 尾關佑樹, 深見裕之, 加藤範久
2. 発表標題 老化促進モデルマウスを用いた紅麹菌が老化に与える影響の検討
3. 学会等名 第68回日本家政学会中国・四国支部研究発表会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 原田真里那, 青木美樹, 海野美月, 松原主典
2. 発表標題 納豆菌の老化促進モデルマウスSAMP8での抗老化効果の検討
3. 学会等名 老化促進モデルマウス (SAM) 学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 海野美月, 原田真里那, 青木美樹, 味八木茂, 松原主典
2. 発表標題 SAMP8において脳機能保護効果を示す食品機能成分の作用機序の検討
3. 学会等名 老化促進モデルマウス (SAM) 学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 海野美月, 藤井力, 松原主典
2. 発表標題 グリセロホスホコリンの脳機能低下抑制作用機序の検討
3. 学会等名 日本農芸化学会2023年度大会
4. 発表年 2023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	味八木 茂 (Miyaki Shigeru) (10392490)	広島大学・病院(医)・講師 (15401)	

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
---------	---------