

令和 6 年 6 月 15 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02149

研究課題名（和文）時間栄養学からアプローチする神経細胞死の予防

研究課題名（英文）Prevention of neuronal death approached from chrono-nutrition

研究代表者

大池 秀明（Oike, Hideaki）

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・畜産研究部門・上級研究員

研究者番号：30455307

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：近年、栄養学に体内時計の概念を導入した“時間栄養学”は、既存の栄養学に再発展をもたらしている。ここでは、神経・感覚系疾患（主に難聴）をモデルとして、聴覚機能や音響ストレスによるダメージには、時刻依存性が存在することを示した。また、高脂肪食による難聴抑制モデルにおいては、高脂肪の朝摂取も夕摂取も同等に難聴予防効果を示し、時刻依存性は認められなかったが、夕摂取では肥満が誘導されるのに対し、朝摂取では肥満にはならないことから、全身の健康を考えた場合は、朝摂取が効果的であることが示された。また、Nアセチルシステインについては、朝に摂取することで、効果的に難聴を抑制でき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

日本は、食による疾病予防を実現するため、世界に先駆けて機能性食品制度を構築した。また、世界一と言われる超高齢社会に突入しており、治療のみではなく、予防による加齢性疾患の縮小化が持続可能な健康長寿社会の実現に必要である。本課題では、長期的な予防が必要な加齢性神経疾患（とくに難聴）に注目し、時間栄養学の観点から、あらたな予防法の基礎理論を構築することを試みた。「何を」食べるかのみではなく、「いつ」食べるかによって、予防効果や健康効果が異なることを示した。

研究成果の概要（英文）：In recent years, chrono-nutrition, which combines the concept of the biological clock with nutrition, has redefined existing nutritional science. Here, in a model of neurosensory diseases (mainly hearing loss), we show that there is a time-dependence in auditory function and damage caused by acoustic stress. In a model of hearing loss suppression by a high-fat diet, morning and evening intake of high fat had the same effect on hearing loss prevention, and no time dependence was observed, but evening intake induced obesity, whereas morning intake did not, indicating that morning intake is more effective in terms of overall health. For N-acetylcysteine, the results also suggested that morning intake effectively suppressed hearing loss.

研究分野：時間栄養学

キーワード：時間栄養学 難聴予防 マウス 食品 体内時計

1. 研究開始当初の背景

概日リズムは、地球の自転による環境の日周変動に適応するための基盤システムである。ほぼすべての動植物に内在しており、ヒト型の概日時計は無脊椎動物との共通祖先時代である5～6億年以上前に獲得されたものである。すなわち、動物界全般で、5億年以上も同じ時計遺伝子を使い続けており、進化の競争原理で生き残った重要システムである。この概日時計システムは、脳神経系や免疫細胞の出現よりも起源が古く、これらのシステムも、概日時計基盤の上に成り立っている。故に、脳神経機能や免疫機能には概日リズムに依存する表現型が散見される。たとえば、脳神経系は、睡眠と覚醒という全く異なる状態を日周期で繰り返しながら生涯に渡ってシステムを維持する仕組みになっている。免疫系においては、喘息の発作が早朝に多いことや、朝と晩とでウイルスに対する感染率が変化することなどが知られている。また、新型コロナウイルスによる死亡率は、夕食習慣の時刻が遅い国ほど高いことが報告されており、時間栄養学的なアプローチの有効性も示唆されている。

脳神経系および免疫系は、身体の中でもエネルギーを大量に消費するシステムであり、限られたエネルギーを有効に利用するという観点から、概日リズムによる時間的分業の意義が大きい。また、エネルギー消費に伴い活性酸素が多く産生されるため、防御(ストレス耐性)を高めて活性酸素によるダメージを抑えながら活動する時間帯と、活動を弱めて修復を中心とする時間帯への分業という意味もある。実際、細胞分裂は、活性酸素によるDNAダメージが少ない夜間(ヒトの場合)に盛んであることが知られている。これらの知見から、「脳神経系には、ストレスに脆弱で神経細胞死を引き起こしやすい時間帯とそうでない時間帯があるのでは?」と考えた。また、免疫リズムも考慮して、「細胞死を予防すべき時間帯、あるいは、予防に適した時間帯」が存在すると仮説を立てた。

2. 研究の目的

医療の発展とともに平均寿命は急伸し、世界的に高齢化が広がっている。その中でも日本の高齢化率は群を抜いており、加齢性疾患への対応が喫緊の課題となっている。とくに、難聴、緑内障、認知症といった神経系の疾患は、神経細胞の再生力の弱さから、原理的に回復が難しく、また、メンタルヘルスやQOLへの影響も大きい。そこで、我々が目指す最終的なゴールは、「寿命まで、加齢性の神経疾患を発症させない仕組みの構築」である。現実的には、加齢に伴う神経細胞の減少速度を10～20%遅延できれば、加齢性神経疾患の発症率は、数分の1に減少するものと見積もられる。そのために、食からの予防学的アプローチは非常に有効であると考えられる。なぜなら、神経の老化は、一生涯をかけて徐々に進行することから、その予防やメンテナンスも、数十年に渡って長期的に行う必要がある。本課題においては、神経細胞を長期維持するための予防学的基盤を確立することを目的とする。

我々は、これまでに、動物モデル(マウス)で加齢性難聴を予防する食品の探索を行い、乳酸菌、春菊、卵黄などの長期摂取により、難聴の進行を抑制できることを明らかにしてきた(Oike et al., 2016, 2019)。実験マウスにおいては、既に10～20%程度の難聴進行の遅延を達成できているが、仮に、この結果をヒトにそのまま当てはめると、平均寿命付近(80～85歳)における難聴発症率は、現行の80%から20%以下にまで低下する。認知症にも同様の効果を仮定すると、その発症率は25%から5%未満にまで低下する。少なくとも、老化に伴う神経細胞の減少は動物種に普遍的であることから、これを予防する方法論も、実験動物とヒトとで共通する部分が多い。そこで、本課題では、我々の専門性を活かし、「聴覚」×「時間栄養学」という密接に関わり合うユニークな組み合わせによる、加齢性神経疾患の予防というテーマに挑む。

3. 研究の方法

(1) マウス(C57BL/6系統; 加齢性難聴の進行が早い系統)に大音響ストレス(110dBのホワイトノイズ)を10分間負荷する騒音負荷モデルを採用した。騒音負荷直前と、負荷1週間後の聴力を聴性脳幹反応試験により測定し、聴力の低下度から、音響障害を評価した。聴力測定および音響ストレスを負荷する時刻を、明期の前半および後半、暗期の前半および後半の4時間帯に分けて解析を行った(各群7匹)。

(2) 我々は、これまでの研究から、マウス(SAMP8系統、C57BL/6系統、DBA/2系統)に高脂肪食を与えると、加齢性難聴の進行を遅延できることを示している(Oike et al., Nutrients, 2020)。ここでは、DBA/2系統のマウス(加齢性難聴進行が非常に早い系統)を利用して、難聴抑制効果が、高脂肪食を与える時刻に依存して変化するのかを検討した。1日2回(活動初期と後期; 以下、朝・夕と表現)の各時間帯に4時間の食事時間枠を設ける時間制限給餌を行い、普通食と高脂肪食について、朝・夕ともに与える群と、朝のみ高脂肪食、あるいは、夕のみ高脂肪食を与える群を設定し、難聴進行度を聴性脳幹反応試験により評価した(各群10匹)。

(3) NアセチルLシステイン(以下、NAC)は、複数のマウスモデルにおいて、難聴予防効果

が報告されている。ここでは、NACによる難聴予防効果の時刻依存性について検討を行った。マウス(C57BL/6系統)に、(2)の高脂肪食実験と同様に、1日2回(朝・夕)各4時間の食事時間枠を設け、そのどちらか、もしくは両方に、NACを1%含有する飼料を給餌した(各群10匹)。(4)これまでに蓄積したマウスの聴性脳幹反応データを利用し、機械学習による難聴進行の早い個体と遅い個体を予測するモデルを構築した。

4. 研究成果

(1)純音に対する聴性脳幹反応の閾値は、暗期(活動期)に計測したマウスと、明期(休息期)に計測したマウスとで差は認められなかった。一方で、反応の潜時については、暗期に計測したマウスの方が短い傾向が認められた。すなわち、聴覚神経の反応性(伝導速度)が、昼夜で異なることが示唆された。続いて、大音響負荷による一過的な音響障害(1週間後の聴力低下)については、明期から暗期への切り替え前後(活動期の開始前後;ヒトにおける朝)に音響負荷した場合は相対的に障害度が低く、暗期から明期の切り替え前後(活動期の終了前後;ヒトにおける晩)に音響負荷した場合は、障害度が高い傾向が認められた($p < 0.1$)。このことから、聴覚機能や音響ストレスによるダメージには、時刻依存性が存在することが示された。実際に、Per2::Lucマウス(時計遺伝子であるPer2にLuciferaseを結合させたマウス)の内耳を摘出して培養すると、少なくとも数日間はPer2遺伝子の概日発現変動が確認された。これらの結果から、神経細胞の活動性や脆弱性には、概日時計をベースとして日内変動していることが示唆された。ここから、時差ボケなどによる体内時計の攪乱は、難聴進行を加速する可能性が予想され、また、抗酸化物質等の摂取による難聴予防効果には、時刻依存性が存在する可能性が予想された。

(2)これまでの結果と合うように、朝・夕ともに高脂肪食を与えた群は、朝・夕ともにコントロール食を与えた群よりも難聴の進行が有意に抑制された。朝のみ、あるいは、夕のみに高脂肪食を与えた群についても、朝・夕ともに高脂肪食を与えた群と近いレベルで難聴の進行が抑制された(図1)。このことから、高脂肪食による難聴予防効果は、朝摂取でも夕摂取でも十分に現れることが明らかとなった。また、副次的な結果として、朝のみ、あるいは、夕のみに高脂肪食を摂取した2群について、高脂肪食の摂取量に有意な差はなかったが、夕に高脂肪食を与えた群は、朝・夕ともに高脂肪食を与えた群と同等に体重が増加した(肥満が誘導された)。一方で、朝のみに高脂肪食を与えた群は、これら2群よりも有意に体重の増加が抑制され、最終的には朝・夕ともに普通食の群と同等の体重に落ち着いた(肥満にならなかった)。以上の結果をまとめると、高脂肪食による難聴予防は、朝夕のどちらでも十分な効果があり、肥満誘導効果は夕摂取に依存する部分が大いことから、朝に高脂肪食を摂取させることで、肥満を誘導することなく、難聴予防効果が得られることが明らかとなった。

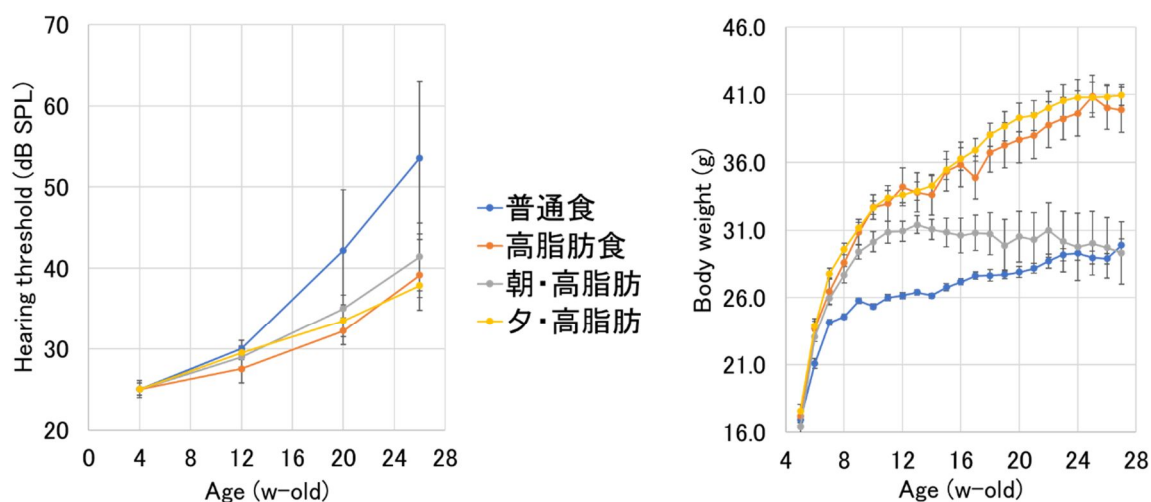


図1 高脂肪食の朝摂取・夕摂取による違い
DBA/2マウス(各群10匹)に普通食、もしくは、高脂肪食を朝・夕の時間枠で摂取させた。加齢性難聴の進行抑制は、朝摂取においても夕摂取においても認められた(左)。体重への影響は、夕摂取は朝夕摂取と同等に肥満が誘導されたのに対し、朝摂取は普通食と同等の体重に落ち着いた(右)。

(3)NACの給餌による加齢性難聴抑制効果は、群全体では認められなかった。一方で、C57BL/6マウスは、我々のこれまでの解析から、早期に加齢性難聴に陥る集団と、比較的ゆっくりと加齢性難聴が進行する集団に二極化することがわかっている。そこで、この2集団に分けて解析を実施したところ、早期に難聴が進行する集団では、NACの給餌による難聴予防効果が認められなかったのに対し、難聴が相対的に緩やかに進行する集団においては、NACを朝・夕、もしくは、朝に給餌することで、給餌しない集団、もしくは、夕に給餌した集団よりも、加齢性難聴の進行が抑制される傾向を示した(図2、N=5)。以上の結果から、難聴進行が早い集団は、NACによる難

聴抑制が効かない、あるいは、効きづらいのに対し、相対的に難聴進行が遅い集団では、NAC を朝に摂取することで、効果的に難聴を抑制できることが示唆された。この2集団の分離が、遺伝的素因に起因するものか、後天的な体質等によるものかは、引き続き、検討を進めている。

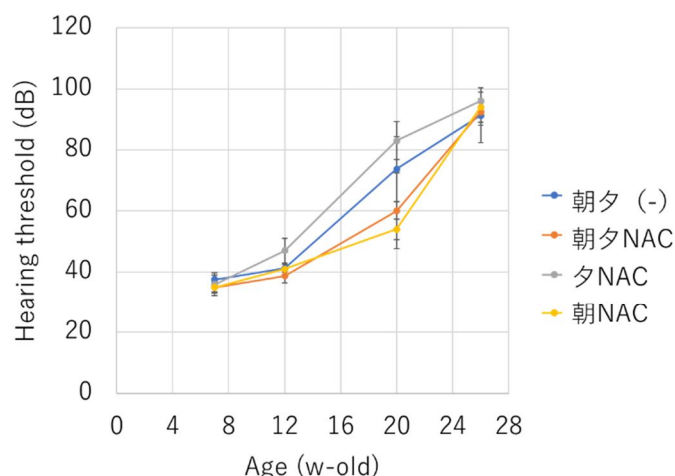


図2 NACの朝摂取・夕摂取による違い
C57BL/6マウス（各群10匹）にNACを朝・夕の時間枠で摂取させた。夕摂取による加齢性難聴の抑制効果は認められなかったが、朝摂取により、朝夕摂取と同等の加齢性難聴抑制効果の傾向が認められた。

(4)我々がこれまでに蓄積した数百匹のマウスの聴性脳幹反応データから、C57BL/6マウスは、加齢性難聴の進行が早い集団と遅い集団が存在することが明らかとなった。これらの聴性脳幹反応データから機械学習モデルを構築し、聴力低下が始まる前の若い時期の聴性脳幹反応データから、難聴進行の早い個体と遅い個体を識別予測することを試みた。その結果、約9割の精度で識別が可能であることが判明した(特願2022-192092)。この結果は、その個体(個人)の将来的な難聴リスクを予測可能であることを示しており、メカニズム等の詳細については、引き続き、研究を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Oike Hideaki, Tomita Satoru, Koyano Hitoshi, Azami Kayo	4. 巻 86
2. 論文標題 Garland chrysanthemum consumption ameliorates age-related hearing loss in C57BL/6 mouse; model system to explore hearing loss prevention foods in a short period	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1085 ~ 1094
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/bbb/zbac092	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 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 大池秀明、植野壽夫、釘持久典
2. 発表標題 ヒトケラチノサイト由来細胞株の概日時計
3. 学会等名 第9回日本時間栄養学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大池秀明、植野壽夫、釘持久典
2. 発表標題 Circadian clocks in human keratinocyte-derived cell lines
3. 学会等名 第29回日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hideaki Oike
2. 発表標題 Toward the development of pet food to prevent age-related hearing loss and dementia
3. 学会等名 Animal Health Innovation Asia 2021（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大池秀明
2. 発表標題 難聴・認知症の予防
3. 学会等名 動物と人の予防医学研究会発足記念学術集会（招待講演）
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 聴力低下予測方式を構築する方法及び聴力低下予測方法	発明者 大池秀明、小谷野仁	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-192092	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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

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