

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：35409

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K17672

研究課題名（和文）関節リウマチとそれに伴う各種臓器損傷へ作用する食品・栄養成分の探索

研究課題名（英文）The effect of functional ingredients for rheumatoid arthritis and its mechanism

研究代表者

柴田 紗知 (Shibata, Sachi)

福山大学・薬学部・講師

研究者番号：90803940

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：運動器疾患の一つである関節リウマチは、生物製剤の発展により、寛解しうる疾患になりつつあるが、生物製剤は高価であり副作用の危険性が高い。日々の食生活により関節リウマチの予防ができれば、健康寿命の延伸につなげることが期待できると考え検討した。その結果、ピシフェリン酸や酒粕等の食品・栄養成分による関節リウマチ進行抑制効果を明らかにし、作用機序に炎症性サイトカイン発現抑制やインテグリン発現抑制が関与することを明らかにした。さらに、関節リウマチの進行に伴って悪化する各種臓器への影響について検討した結果、食品・栄養成分の摂取は関節リウマチの進行に伴って悪化する脳機能や腸機能を維持することが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

関節リウマチは関節滑膜の病変を主座とする全身性の慢性炎症性疾患である。関節リウマチの発症には自己免疫異常が関与すると考えられているものの、原因ははっきりとはわかっていない。また、治療薬の開発は進んでいるものの、生物学的製剤は高価であることや副作用の危険性がある。本研究により、食品・栄養成分が関節リウマチの進行を抑制することを明らかにした。また、これらの作用機序に抗炎症効果に加え、インテグリン発現抑制効果を見いだすことができた。これらの結果は、食品・栄養成分による、運動器疾患進行抑制に応用できるだけでなく、インテグリン発現抑制を介した各種疾病予防効果へ発展できる。

研究成果の概要（英文）：We investigated the effects of functional ingredients for rheumatoid arthritis. Some compounds were evaluated by oral administration to CAIA mice. This results suggest that Pisiferic acid (PA) and Sake cake have the beneficial effect of rheumatoid arthritis. Some functional ingredients might exert an alleviation effect on Locomotor disorders.

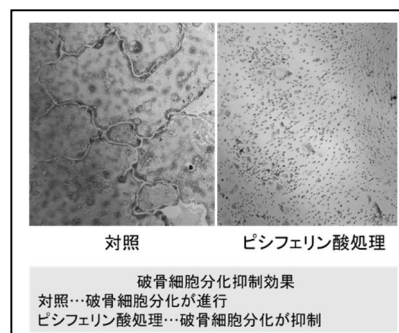
研究分野：栄養学

キーワード：関節リウマチ 機能性食品 インテグリン発現抑制

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

運動器疾患は健康寿命を縮める主要因の一つであることから、予防や進行抑制が極めて重要である。そのため、運動器疾患の発症を未然に防ぎ進行を遅らせることが期待されており、食生活も重要な役割を果たすと考えられている。代表的な運動器疾患として、変形性関節症・骨粗鬆症・関節リウマチが挙げられる。報告者らはこれまで食品・栄養成分による運動器疾患予防効果の検討を進め、ローズマリー由来カルノシン酸が軟骨細胞保護効果を示すことや、老化促進マウスにおいてカルノシン酸の経口摂取が変形性関節症の進行を抑えることを見いだした (Eur J Pharmacol. 2018)。関節の老化現象に起因する変形性関節症は、筋力の低下を引き起こし、要支援・介護につながることから予防や進行抑制が重要である。しかしながら、食品・栄養成分による関節保護効果の報告はカルノシン酸やグルコサミン (Arthritis Rheum. 2013) 等、わずかしかない。そこで、食品・栄養成分による変形性関節症の予防効果についてヒト軟骨細胞を用いた実験等で検討した。その結果、ヒノキ科サワラの主成分であるピシフェリン酸をはじめ、いくつかの食品・栄養成分が軟骨細胞に対して保護的に働くことを明らかにした。さらに H30-R2 年度科研費事業では、加齢による骨量の低下や骨質の劣化が過度に進行した疾患である骨粗鬆症の予防効果について詳細な検討を行った。その結果、変形性関節症予防効果を示した食品・栄養成分が破骨細胞の分化を抑制し、骨粗鬆症も予防することがわかった (右図: ピシフェリン酸摂取による破骨細胞分化抑制効果)。



変形性関節症や骨粗鬆症と並ぶ運動器疾患に、関節リウマチがある。関節リウマチは関節滑膜の病変を主座とする炎症性疾患であり、発症には自己免疫異常が関与すると考えられているものの、原因は未解明である。加えて、関節リウマチによる骨破壊は破骨細胞の増加が原因であることから、変形性関節症及び骨粗鬆症と関節リウマチの発症や進行は関連があるといえる。そのため、これまでに明らかにした変形性関節症と骨粗鬆症の予防効果を有する食品・栄養成分による関節リウマチ予防効果を解明することで、複数の運動器疾患へ有効に作用する食品・栄養成分を示すことができると考えた。

さらに関節リウマチの進行に伴い、脳機能や腸などの各種臓器が損傷し、合併症を発症することも報告されている。関節リウマチに伴い生じる各種臓器の損傷に対する食品・栄養成分の有効性を解明できるのではないかと考えた。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、次の2点である。

変形性関節症や骨粗鬆症の予防効果を示す食品・栄養成分の関節リウマチ予防効果とその作用機序を解明すること

関節リウマチに伴い生じる各種臓器の損傷への食品・栄養成分の有効性を解明すること

### 3. 研究の方法

#### 【食品・栄養成分による関節リウマチ予防効果と作用機序の解明】

食品・栄養成分による関節リウマチ予防効果をモデル動物への投与実験で明らかにするとともに作用機序の解明を進めた。酒粕及び酒粕含有成分、ヒノキ科サワラの主成分であるピシフェリン酸等について検討した。関節リウマチモデル動物として、BALB/c マウスに5種の抗型コラーゲン抗体カクテルを静脈注射し、その3日後にLPSを腹腔内投与する抗コラーゲン抗体誘導関節炎 (CAIA) モデルを用いて行った。食品・栄養成分投与群には、0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム (CMC) 溶液に成分を懸濁し、静脈注射の4日前から毎日、経口にて投与した。CAIA 処理群には CMC 溶液のみを同様に投与した。飼育期間中は、各群の関節状態の変化について経時的に評価した。飼育終了後は、血液と各種臓器を回収し、関節炎に関連するサイトカイン等の解析を行った。

#### 【関節リウマチの進行に伴って悪化する各種臓器への影響に関する検討】

関節リウマチモデルマウスに食品・栄養成分を投与し、脳や腸などの各種臓器へどのような影響を及ぼすか解析した。飼育期間中に、明暗箱試験、十字迷路試験、痛覚感知試験等を実施し、抗うつ効果や抗不安効果について検討した。また、コラーゲン抗体誘導炎症性関節炎モデルマウスにおいて、神経炎症と関連する ionized calcium binding adaptor molecule 1 (Iba1) の発現が上昇することから (Mediators Inflamm. 2020)、Iba1 等の発現を免疫染色や real-time PCR で検討した。さらに、腸内細菌叢の変化についてはメタ 16S 解析を行った。

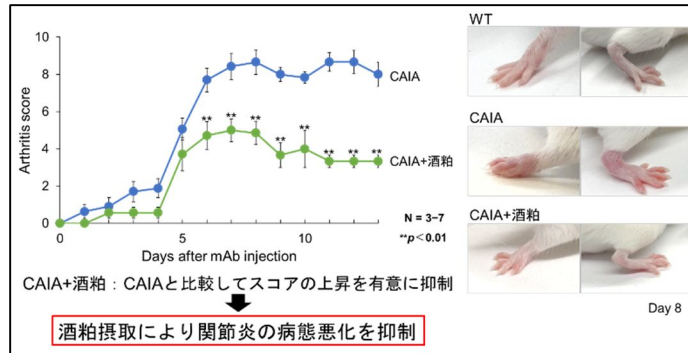
#### 4. 研究成果

##### 【食品・栄養成分による関節リウマチ予防効果と作用機序の解明】

食品・栄養成分による関節リウマチ予防効果を明らかにするために、いくつかの成分について検討を行った。そのうちの酒粕摂取による有効性とピシフェリン酸摂取による有効性について記述する。

##### ・酒粕摂取による有効性の検討

酒粕は、ビタミンやペプチドなどの栄養素を多く含有し、機能性食品としての活用が期待されていることから、本研究では酒粕による関節リウマチ増悪抑制効果を明らかにすることを目的に研究を進めた。関節炎の病態を評価した結果、酒粕投与群では、CAIA 処理群と比較して炎症スコアの上昇を有意に抑制した（右図：酒粕摂取による炎症スコア上昇抑制効果）。

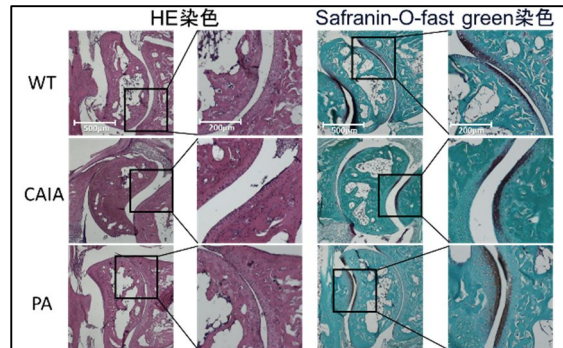


また、脾臓組織を用いてリアルタイム PCR を行った結果、CAIA 処理群は対照群と比較して炎症性サイトカイン TNF- $\alpha$  の発現量が有意に増加したが、酒粕投与群では抑制される傾向が見られた。さらに、酒粕投与群で、 $\alpha$ 5 $\beta$ 1 インテグリンの発現抑制効果が見られた。炎症ピーク時の血清を用いて関節リウマチの血管新生や破骨細胞の分化誘導などに関与する IL-6 について ELISA を行った。対照群と比較して CAIA 群での IL-6 の濃度は有意に増加し、酒粕投与群では増加を抑制する傾向が見られた。酒粕の摂取による関節炎抑制効果に、IL-6 の産生抑制が関与することが示唆された。

これらのことから、酒粕の摂取は炎症性サイトカイン発現抑制やインテグリン発現抑制を介して、関節炎に対して有効に作用することが明らかとなった。

##### ・ピシフェリン酸摂取による有効性の検討

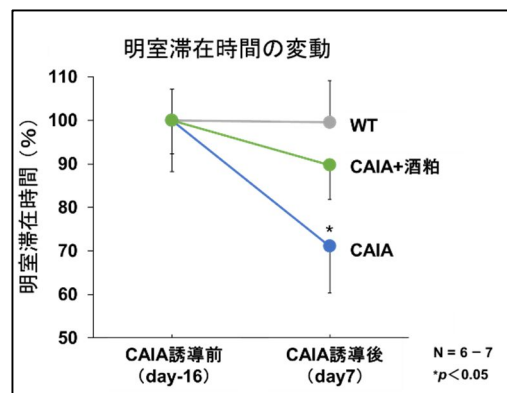
これまで報告者は、ピシフェリン酸による変形性関節症予防効果や骨粗鬆症予防効果を明らかにしてきた。そこで、ピシフェリン酸による関節リウマチの病態の抑制効果について検討した。関節炎の病態を評価した結果、ピシフェリン酸を投与した群では、対照群と比較して炎症スコアの上昇を有意に抑制した。HE 染色では、CAIA 群で見られた細胞の増加がピシフェリン酸投与群では抑制されたことが分かった。サフラン染色では CAIA 群でみられた組織の破壊がピシフェリン酸投与群では抑制されたことが分かった（右図：各種染色の結果）。



また、脾臓組織を用いてリアルタイム PCR を行った結果、IL-1 $\beta$  は、対照群と比較して CAIA 群での発現量が有意に増加し、CAIA 群と比較してピシフェリン酸投与群での発現量増加が有意に抑制された。以上の結果から、ピシフェリン酸は関節炎に対して有効に作用することが明らかとなった。

##### 【関節リウマチの進行に伴って悪化する各種臓器への影響に関する検討】

関節リウマチの進行に伴って悪化する各種臓器への影響に関する検討をするため、いくつかの成分について検討を行った。関節リウマチは、うつ病や不安障害など、精神神経系の合併症を引き起こすことが報告されていることから、脳機能への影響を検討するため明暗箱試験を実施した。関節炎誘導前後での明室滞在時間の変動を比較した結果、関節炎の誘導前を基準として、CAIA 群では明室滞在時間が有意に短縮したが、酒粕投与群では明室滞在時間の短縮を抑制する傾向があった（右図：明暗箱試験の結果）。以上から酒粕の摂取によって、関節炎にともなうマウスの不安レベルの上昇を抑制することが示唆された。



さらに、腸内細菌叢について、関節炎ピーク時での糞便を用いて次世代シーケンズによるメタ 16S 解析を行った。その結果、CAIA 群で腸内細菌叢が悪化すること、さらに酒粕の投与で改善す

ることを見出した。

以上の結果から、複数の食品・栄養成分による関節リウマチ進行抑制効果を明らかにした。また、その作用機序として炎症性サイトカイン発現抑制に加え、インテグリン発現抑制効果を明らかにした。今後はインテグリン発現抑制が関与する各種疾患予防効果の検討を進めていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Sanada Y, Ikuta Y, Ding C, Shinohara M, Yimidi D, Ishitobi H, Nagira K, Lee M, Akimoto T, Shibata S, Ishikawa M, Nakasa T, Matsubara K, Lotz MK, Adachi N, Miyaki S.	4. 巻 18
2. 論文標題 Senescence-accelerated mice prone 8 (SAMP8) in male as a spontaneous osteoarthritis model	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Arthritis Research & Therapy	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13075-022-02916-5.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Shibata Sachi, Takayama Kento, Tsurusaki Ken-ichi, Kon Shigeyuki	4. 巻 46
2. 論文標題 Shimanami Leaf Intake Affects Bowel Movement and Intestinal Microbiota in Mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 1015 ~ 1020
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b23-00083	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 柴田紗知	4. 巻 40
2. 論文標題 食品由来成分による健康寿命延伸効果	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 福山大学薬学部年報	6. 最初と最後の頁 13-21
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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計19件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 柴田紗知、今重之
2. 発表標題 カルノシン酸の肺がん転移予防効果と作用機序の解明
3. 学会等名 日本家政学会第75回大会. 東京
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 村上綾香、高木修平、今重之、柴田紗知
2. 発表標題 ピシフェリン酸による関節リウマチ病態モデルへの有効性
3. 学会等名 第62回 日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会 中国四国支部学術大会. 高知
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 柴田紗知, 植田彩夏, 村上綾香, 平井優太, 桜井奏慧, 今重之.
2. 発表標題 酒粕とその含有成分による自己免疫疾患進行抑制効果の検討
3. 学会等名 「お米の未来を考えるシンポジウム」 - これまでのお米, これからのお米。 -
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 村上綾香、高山健人、今重之、柴田紗知
2. 発表標題 酒粕による関節リウマチ病態モデルへの有効性
3. 学会等名 日本薬学会第144回年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 柴田紗知, 高山健人, 鶴崎健一, 丸山邦夫, 今重之
2. 発表標題 広島県産しまなみリーフ摂取による生理活性作用
3. 学会等名 日本家政学会第74回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高砂 みゆき, 石川 裕菜, 今 重之, 柴田 紗知
2. 発表標題 オレイルエタノールアミドによる抗ストレス効果の検討
3. 学会等名 第22回日本抗加齢医学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 柴田紗知, 高山健人, 鶴崎健一, 丸山邦夫, 今重之
2. 発表標題 しまなみリーフを摂取することによる糞中水分量及び腸内細菌叢の変化
3. 学会等名 第22回日本抗加齢医学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 桜井奏慧, 今重之, 柴田紗知
2. 発表標題 老化促進モデルマウスにおけるピシフェリン酸の加齢性疾患予防効果の検討
3. 学会等名 第69回日本栄養改善学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山脇葵, 山内敦貴, 高砂みゆき, 石川裕菜, 今重之, 柴田紗知
2. 発表標題 ピシフェリン酸摂取による抗ストレス効果の検討
3. 学会等名 第69回日本栄養改善学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山内敦貴, 山脇葵, 高山健人, 前原昭次, 今重之, 柴田紗知
2. 発表標題 血糖値維持効果を示す食品由来成分および微生物代謝成分の探索
3. 学会等名 第69回日本栄養改善学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 柴田紗知, 今重之
2. 発表標題 カルノシン酸とピシフェリン酸の肺がん転移予防効果
3. 学会等名 第69回日本栄養改善学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高砂みゆき, 今重之, 柴田紗知
2. 発表標題 ピシフェリン酸摂取によるDSS由来大腸炎予防効果
3. 学会等名 日本薬学会中四国支部大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Sachi Shibata, Kohei Yamada, Shigeyuki Kon
2. 発表標題 Functional food ingredients reduce lung metastasis by using B16-BL6 melanoma cells.
3. 学会等名 22nd International Congress of Nutrition (国際学会)
4. 発表年 2022年



1. 発表者名 柴田紗知
2. 発表標題 酒粕とそのうま味成分による自己免疫疾患予防効果（中間報告）
3. 学会等名 うま味財団研究助成金成果報告会.
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 前原昭次、熊本萌香、柴田紗知、秦季之
2. 発表標題 二チニチソウエンドファイトが産生する新規シクロヘキセン誘導体.
3. 学会等名 日本薬学会第143回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 柴田紗知、高砂みゆき、徳毛啓人、今重之
2. 発表標題 食品由来成分によるDSS由来大腸炎予防効果.
3. 学会等名 日本薬学会第143回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 柴田紗知、山田康平、田中音寿、高砂みゆき、石川裕菜、今重之
2. 発表標題 食品機能成分による肺がん転移予防効果
3. 学会等名 日本薬学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 村上 綾香、高山 健人、今 重之、柴田 紗知
2. 発表標題 酒粕による関節リウマチ病態モデルへの有効性
3. 学会等名 日本薬学会144年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 村上 綾香、高木修平、今 重之、柴田 紗知
2. 発表標題 ビンフェリン酸による関節リウマチ病態モデルへの有効性
3. 学会等名 第62回 日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会 中国四国支部学術大会
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
---------	---------------------------	-----------------------	----

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