

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：32692

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K11801

研究課題名（和文）健康寿命を延伸する機能性食品成分の効果検証

研究課題名（英文）Verification of the effects of functional food ingredients that extend healthy lifespan.

研究代表者

今井 伸二郎（Imai, Shinjiro）

東京工科大学・応用生物学部・教授

研究者番号：50629152

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：小麦やライ麦などの種子に含まれるアルキルレゾルシノールの健康寿命を延ばす成分としての可能性を評価し、候補物質としての性能を確認した。既にショウジョウバエを用いた評価により寿命延長が確認されている。本研究において、アルキルレゾルシノールは動物実験により健康寿命の延伸に関わる老化に伴う疾患である動脈硬化、肥満、非アルコール性肝炎の予防効果を有することが確認された。さらに、人を対象とした臨床試験では、アルキルレゾルシノールがこれらの疾患の予防に有効であることが確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我が国の平均寿命は世界でもトップクラスだが、必ずしも健康寿命は高いとは言えない。寝たきりや認知症等老化に伴う疾患を罹患した老人が増えており、健康寿命の延伸は喫緊の課題となっている。医薬品でもその課題を解決する努力がなされているが、予防薬が認可されないなどの障壁もあり、現時点で達成されていない。本研究で見いだされたアルキルレゾルシノールはこれら課題を解決する候補物質として本研究によりその性能が確認された。製品化までにはまだ課題があるものの、アルキルレゾルシノールの有効性は高く、課題解決に至る物質として最強の候補物質であることが確認された。

研究成果の概要（英文）：We evaluated the potential of alkylresorcinol contained in seeds such as wheat and rye as a component that extends healthy life expectancy, and confirmed its performance as a candidate substance. Lifespan extension has already been confirmed by evaluation using *Drosophila*. In this study, it was confirmed by animal experiments that alkylresorcinol has a preventive effect on arteriosclerosis, obesity, and non-alcoholic hepatitis, which are diseases associated with aging related to the extension of healthy life expectancy. Furthermore, human clinical trials study confirmed that alkylresorcinols were effective in preventing these diseases.

研究分野：機能性食品学

キーワード：健康寿命 機能性食品 アルキルレゾルシノール 老化疾患 代謝性疾患 非アルコール性肝炎 動脈硬化

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

我が国の平均寿命は女性で87歳を超え、超高齢社会となっている。しかしながら、その実態は必ずしも健康寿命が延伸しているわけではなく、寝たきりや認知症患者など、健康とは言えない高齢者も増加している。高齢化が進む中、80歳を越えてなお頭脳明晰で肉体的にも精神力の点でも若者顔負けの活力をお持ちの方がいらっしゃる反面、虚弱・病弱に悩まされている高齢者も多く、医学的・社会的・経済的問題が増加している。老化は生物の宿命であるものの、近年の研究によると、ある程度は寿命延長や老化遅延が可能と考えられている。一方、高齢者を悩ますのは、動脈硬化・糖尿病・認知症・骨粗しょう症・がん等、老化関連疾患とよばれる病態である。このような背景のなか、健康寿命の延伸は喫緊の課題となっており、高齢者の健康維持・疾病予防等を実現する技術の開発が期待されている。医薬によりこれら課題を解決する事も可能と考えられるが、予防薬が認可されない等の理由により、現医療行政においてはこれら目的を同時に解決する医薬の開発は困難である。

2. 研究の目的

本研究の最終目標はこの健康寿命の延伸にある。我々は上記課題を食品成分により解決すべく、これまでいくつかの検討を行ってきた。長寿遺伝子産物である Sirtuin (silent mating type information regulation 2 homolog) は老化と関連した重要な分子で、NAD⁺依存的脱アセチル化酵素である。その活性化要素として、カロリー制限やバランスの取れた食事などが挙げられる。我々は Sirtuin 活性化成分を探索する試みにおいて、小麦外皮中よりアルキルレゾルシノールの単離精製、同定に至った。アルキルレゾルシノールには Sirtuin の酵素触媒活性を増強し、ショウジョウバエ寿命を延長する効果が有ることを我々は解明した。この発見はマスコミ各紙にも取り上げられ、注目を浴びている。しかしながら、未だヒトを始めとする哺乳類に対し、アルキルレゾルシノールが老化抑制効果を示すかは確認されていない。また、健康寿命の延伸を図るためのもうひとつの命題である老化関連疾患に対するアルキルレゾルシノールの効果についても十分には評価されていない。

そこで、本研究の目的として、マウスを用いた動物試験、あるいはヒト臨床試験により、非アルコール性肝炎、便秘改善作用などに対してアルキルレゾルシノールの効果を検証することである。

3. 研究の方法

(1) 非アルコール性肝炎モデル評価

C57BL/6 マウスに対し、RESE アルキルレゾルシノール CH DIETS 社製の NASH 作製用飼料 A06071302 (60Kcal %fat) を一定期間給餌し、誘発した非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) モデルマウス 1 (チャールズリバー社販売 C57BL/6J-NASH) を用い、アルキルレゾルシノール投与の影響を評価した。評価項目としては血漿中 GOT、GPT レベル、解剖後の肝臓の脂肪量、繊維化の程度、各種 mRNA 発現量、各種タンパクのアセチル化量を対象とする。群分けは非投与群、アルキルレゾルシノール高投与群、アルキルレゾルシノール低投与群、陽性対照 (レスバトロール) 群とした。投与はペアフィーディングとし食餌摂取量をモニターした。

(2) ヒト臨床試験

被験者としてボディーマスインデックス (BMI) 23 以上の対象者 94 名 (年齢 27 歳 ~ 65 歳) を対象とした。被験者には 1 回目の採血翌日から 1 日あたり必ず 30 g 相当の試験食

を1日一回朝食後に40日間毎日摂取してもらった。試験期間中毎日、体重、腹囲を測定し、結果を記録した。試験開始時、20日目、40日目に空腹時血糖及び血中中性脂肪値を測定した。試験場所としては、各被験者の家庭とし、採血および血液検査のみ、医療機関で実施した。

(3) メカニズム解明試験

アルキルレゾルシノールの作用メカニズムとして、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体ガンマコアクチベーター1 アルファ(PGC-1 α)の脱アセチル化を仮説として考慮した。そこで、動物実験で採取した肝臓中の PGC-1 のアセチル化量を定量比較した。酵素抗体法を用いてアセチル化 PGC-1 は定量した。

(4) 便通改善作用

便通の改善には腸内細菌フローラの改善により行われる。そこで腸内の善玉菌、悪玉菌、日和見菌に対するアルキルレゾルシノールの抗菌作用を確認した。細菌の増殖を確認する方法として今回は各サンプルの濁度を測定した。測定には濁度測定の一般的な吸光波長である660 nmの波長を使用した。

試験管で培養しているサンプルを200 μ L取り、96 well プレートに1サンプルにつき2 well ずつアプライし、プレートリーダーを使用して660 nmの吸光度を測定した。*Lactobacillus casei*では0,3,6,9,12,24,48時間の時点で測定を行った。

4. 研究成果

非アルコール性肝炎に対する有用性を検証する目的で、モデルマウスとしてコリン、メチオニン欠損食投与による肝炎モデルにアルキルレゾルシノールを投与し評価した結果、投与1か月で対照群と比較して有意な GOT, GPT 値の低下が認められ、アルキルレゾルシノールによる脂肪肝、肝炎の抑制効果が確認された。

臨床試験において、アルキルレゾルシノール投与群では体重や AST、ALT 値、LDL コレステロール値などの有意な減少が確認された。このことから、アルキルレゾルシノールを含む食品の摂取は抗肥満作用、軽度の脂肪肝による肝炎の抑制、有害なコレステロール値を低下させる効果がある可能性が示唆された。アルキルレゾルシノール摂取グループの被験者の BMI 値は試験期間が進むにつれて減少したが、プラセボグループの被験者では徐々に増加した。各日のアルキルレゾルシノールグループとプラセボグループ間の BMI の差は有意ではありませんでしたが、アルキルレゾルシノールグループの BMI は、ベースラインと比較して6、10、11、13、22、および32日目に有意に低下した。対照的にプラセボ群の BMI 値は、ベースラインと比較して22日目から32日まで有意に高かった。研究期間の21~30日目および31~40日目では、アルキルレゾルシノールグループの BMI はプラセボグループと比較して有意に低かった。この様に、アルキルレゾルシノールは肥満に対し改善効果が検証された。

アルキルレゾルシノールの作用メカニズムとして、PGC-1 α の脱アセチル化の定量比較実験において、アルキルレゾルシノール投与群の肝臓中アセチル化 PGC-1 α 量は対照群量に比べ有意に減少していた。PGC-1 α の脱アセチル化は、ミトコンドリア機能と代謝恒常性を促進することから、ミトコンドリアの量と機能を確認したところ。アルキルレゾルシノールによる PGC-1 α 特異的な脱アセチル化によりミトコンドリア量の増加及び機能更新が確認された。これらの事から、アルキルレゾルシノールは PGC-1 を特異的に脱アセチル化することで、脂質代謝が亢進し、その結果肥満や、非アルコール性肝炎を予防することが確認された。

便通改善作用の検証においては *in vitro* 実験として乳酸菌の同定・解析を行い、5種類の細菌にアルキルレゾルシノールを直接添加し、増殖曲線を作成することでアルキルレゾルシノールの抗菌活性の検証を行った。乳酸菌の同定・解析では新ビオフェルミン®S錠より抽出した細菌の同定を行った。同定した *Enterococcus faecalis* の解析を行うことで、ア

アルキルレゾルシノールの便通改善への影響を検証した。アルキルレゾルシノール影響実験では善玉菌として *Lactobacillus casei*、*Enterococcus faecalis*、*Lactobacillus acidophilus* の計 3 種類を選出し、日和見菌として *Escherichia coli*、悪玉菌として *Staphylococcus aureus* を選出した。乳酸菌 3 種類に関しては、濁度測定による増殖曲線ではアルキルレゾルシノールを添加した時点で高濃度だったことにより増殖速度に差が生じた。だが、コロニー計数測定を行った結果無添加サンプルとアルキルレゾルシノール添加群とで生菌数に大きな差は生じなかった。一方で日和見菌である *Escherichia coli* では、吸光度測定の結果、無添加サンプルと比較してアルキルレゾルシノール添加群で増殖抑制効果が見られた。乳酸菌同様コロニー計数測定を行った結果、無添加サンプルと比較してアルキルレゾルシノール添加群では生菌数が少ないことが確認できた。悪玉菌である *Staphylococcus aureus* でも濁度測定の結果アルキルレゾルシノール添加サンプルで増殖抑制効果が見られた。また、コロニー計数測定では顕著に無添加サンプルよりも生菌数が減少した。このことから、アルキルレゾルシノールには善玉菌 *Lactobacillus casei*、*Enterococcus faecalis*、*Lactobacillus acidophilus* の増殖には影響を与えず、日和見菌である *Escherichia coli* と、悪玉菌である *Staphylococcus aureus* に対する増殖抑制効果を確認することが出来た。

in vivo 実験による便通改善作用検証では、マウスにアルキルレゾルシノール含有試料を摂取させた際の摂食量や体重変化、腸内フローラへの影響の検証を行った。糞便解析の結果アルキルレゾルシノール-0.9%添加飼料を一定期間食べたことで、腸内環境に好影響を与えると考えられる菌量は増加したが、日和見菌と悪玉菌などの長に環境を劣悪にする菌種の菌量の低下を確認することが出来た。このことからアルキルレゾルシノールはマウスの腸内フローラを改善し、腸内細菌叢に好影響を与えたことが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大濱美穂 , 大島秀男 , 佐々木康人 , 高柳雅義 , 今井伸二郎
2. 発表標題 アルキルレゾルシノールが非アルコール性脂肪肝炎に与える影響
3. 学会等名 日本食品科学工学会68回大会
4. 発表年 2021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	萱嶋 泰成 (Kayashima Yasunari) (90365453)	山梨学院短期大学・その他部局等・教授(移行) (43505)	

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