

---

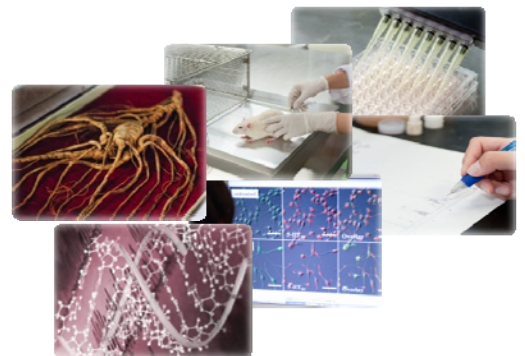
加齢マーカーを指標とした  
アンチエイジング効果の分野横断的実践・研究

平成 22 年度 研究報告会

---

日時:平成 22 年 6 月 26 日(土) 13:00~16:30

会場:東大阪キャンパス 16 号館 3 階 第 3 講義室



お問い合わせ先

〒577-8502 東大阪市小若江3-4-1

近畿大学薬学部 (角谷・木下)

TEL: 06-6730-5880 (5006・3868)

# 第3回 アンチエイジングセンター薬学部・薬学総合研究所主催 研究会プログラム

日時：平成22年6月26日（土）、13:00～16:30

場所：16号館5階 第3講義室

発表内容：各研究室 発表・質疑応答を含め25分、7演題

（演者は各研究室の教員1名）

## 【プログラム】

13:00～13:05	開会の挨拶 アンチエイジングセンター長 掛樋一晃教授		
座長：薬学総合研究所・機能性植物工学研究室 角谷晃司			
13:05～13:30	演題1	分子医療ゲノム 創薬学研究室 演者：杉浦麗子	演題名：ゲノム科学から攻める「エイジング」の制御に関わるシグナル伝達経路の解析
13:30～13:55	演題2	病態薬理学研究室 演者：川畑篤史	演題名：加齢に伴う生体内レドックス状態の変化とその制御 -硫化水素およびプロテアーゼ活性化型受容体を標的とした検討-
13:55～14:20	演題3	生化学研究室 演者：市田成志	演題名：環境温度変化で誘発する脳内c-Fosタンパク質の発現変化と加齢の影響
14:20～14:30	休 憩		
座長：薬学部・生化学研究室 市田成志			
14:30～14:55	演題4	薬用資源学研究室 演者：村田和也	演題名：漢方医学に学ぶエイジングケア素材の探索研究 ～痛風に効果のある素材を求めて～
14:55～15:20	演題5	機能性植物工学 研究室 演者：角谷晃司	演題名：アンチエイジング作用を有する植物ポリフェノール成分の探索研究とサプリメントへの展開
15:20～15:30	休 憩		
座長：薬学部・病態薬理学研究室 関口富美子			
15:30～15:55	演題6	生物情報薬学 研究室 演者：木下充弘	演題名：加齢マーカーとしての糖鎖の可能性～エイジングと生活習慣による血清糖鎖プロファイルの変動～
15:55～16:20	演題7	公衆衛生学研究室 演者：川崎直人	演題名：学内特定健診での腹囲測定の評価および大学生の生活習慣に関する調査
16:20～16:30	閉会の挨拶 アンチエイジングセンター長 掛樋一晃教授		

# ゲノム科学から攻める「エイジング」の制御に関わる シグナル伝達経路の解析

薬学部・医療薬学科・分子医療・ゲノム創薬学研究室 杉浦麗子、喜多綾子、石渡俊二

細胞の老化を抑制する遺伝子や長寿遺伝子が世界で初めて発見されたのは、線虫やショウジョウバエ、酵母というモデル生物でした。また近年では、「早老症」を示す老化のモデルマウスも作製され、老化の進行や寿命の決定に関わる基本的な仕組みには、種を超えた生物間で共通する部分があると考えられています。

「老化」という現象に関わる研究を推進する上で、環境因子あるいは遺伝因子に着目してその変化を捉えていく手法があります。当研究室では、「ゲノム科学」の手法を駆使し、高等生物に近い細胞内シグナル伝達経路を持つモデル生物を用いて、エイジングに関わる遺伝子群を同定し、マーカー遺伝子として、その機能を解析することで、老化の分子メカニズムを明らかにしようと考えています。

21年度は、前年度の成果をさらに発展させ、ERK MAP キナーゼとストレス応答 MAP キナーゼにより活性化され、これら二つの MAP キナーゼシグナルが収束する転写因子である Atf1 依存的に発現が誘導されるような遺伝子群を同定しました。Atf1 は老化や寿命に重要な影響を与える「酸化ストレス」と「カロリー制限」によってその活性が制御されることから、エイジングのマスターレギュレーターの一つであり、Atf1 の標的遺伝子の中には、エイジングの鍵を握るような遺伝子が存在していると考えられます。DNA マイクロアレイを行った結果、「細胞の寿命に影響を与える遺伝子群」を発見するとともに、「細胞の寿命に影響を与える化合物」候補を見つけることができました。

同定したエイジング関連の遺伝子群をノックアウトすると、細胞寿命が顕著に短縮することから、これらの遺伝子群は細胞の寿命に重要な影響を与えていると推測されます。また、これらの遺伝子群は、高等生物でも保存されていることから、エイジングに関わる遺伝子の働きは種を超えて共通している可能性が示唆されます。

22年度は、これらの遺伝子群が寿命を制御するメカニズムに関して、アポトーシスやオートファジーといった現象に焦点をあてて解析を開始するとともに、我々が発見した寿命に影響を与える化合物に関しても同様の解析を行うことで、老化を制御する遺伝子群と細胞内シグナル伝達経路を明らかにし、老化をターゲットとした薬物の探索と創製に向けてその分子メカニズムに関する包括的理解を深めていく予定です。

# 加齢に伴う生体内レドックス状態の変化とその制御 ～硫化水素およびプロテアーゼ活性化型受容体を標的とした検討～

薬学部・医療薬学科・病態薬理学研究室

川畑篤史、関口富美子、松波真帆

【研究概要】生体内のレドックス状態の変化は加齢・老化に密接に関係している。硫化水素は、L-システインから酵素的に生成される内因性ガス状情報伝達物質で、強い還元性を有し生体内のレドックス状態を変化させるほか、種々の生理機能の調節や病態に関与している。一方、プロテアーゼ活性化型受容体 PAR (proteinase-activated receptor) は、酸化ストレスが関与する炎症時に内因性のセリンプロテアーゼによって活性化されて細胞機能を変化させる。我々は、加齢・老化と密接に関係する脳卒中、脳神経細胞死、神経軸索再生、神経障害性疼痛、肺炎症、胃腸粘膜障害、膵炎・膵臓痛、膀胱炎・膀胱痛、骨疾患、大腸癌、前立腺癌などの各種疾患の病態に硫化水素あるいは PAR がどのように関与するかを検討している。本研究により得られた成果を各種疾患の治療に応用することを最終目標としている。

【研究成果】硫化水素が生体内の複数の分子に作用することは既に知られていたが、我々は新たに Cav3.2 T型カルシウムチャネルが硫化水素の標的分子として機能していることを見出した。硫化水素は、この Cav3.2 を活性化することにより、知覚神経の興奮性を高めて痛みの情報伝達を促進するほか、神経細胞の軸索再生を増強する。そこで、各種動物モデルを用いて病態への関与を検討した結果、下肢炎症痛、神経障害性疼痛、結腸痛、膵炎関連痛、膀胱炎関連痛などに硫化水素/Cav3.2系の機能亢進が寄与するとの知見を得た。PARに関しては、胃腸および肺胞粘膜上皮細胞における PAR を介する炎症シグナルを解析した他、ヘリコバクター・ピロリ感染に伴って起こる細胞シグナルへの PAR の関与についても検討し、新たな知見を得ている。

【研究計画】上記研究成果に基づき、硫化水素の標的分子である Cav3.2 を阻害する物質を検索し、癌化学療法に伴う神経障害性疼痛の新たな治療法を考案するほか、各種内臓痛治療薬開発を目指した検討を行う。また、高齢男性に多発する前立腺癌の分化・増殖に硫化水素/Cav3.2系が関与するとの知見を最近得ており、この方面での新たな展開を模索する。さらに、脳卒中への硫化水素/Cav3.2系の関与を調べるため、マウス胎児大脳由来培養神経細胞や、成熟マウスの中大脳動脈結紮による一過性脳虚血モデルを用いた検討を進めている。一方、PARに関しては、胃粘膜細胞へのピロリ感染に伴う PAR 発現量変化や炎症シグナルをさらに詳細に解析するほか、それに対するマクロファージの影響についても調べている。また、高齢者に多い骨代謝障害の病態への PAR1 の関与を明らかにするため、骨芽細胞における PAR1 シグナルの解析にも着手している。

# 環境温度変化で誘発する脳内 c-Fos タンパク質の発現変化 と加齢の影響

薬学部・生化学研究室 市田成志, 和田哲幸, 船上仁範

【研究概要】長期間、過剰な刺激に曝されることは、身体にとってストレスとなりうる。このようなストレスは加齢を進行させる要因にもなる可能性がある。環境温度変化は日常的に受けており感覚的にはほとんどストレスとしての認識はない。しかし、脳はこのような刺激を知らず知らずのうちに感知し、それがストレスとなって症状や病気が発症するほどの大きな影響を身体に与えている。長い人生の中で常に受け続けるこのようなストレスに対する反応の形成過程を知り、加齢によって影響されるこれら反応の違いを理解することは重要である。

我々は、環境温度変化を想定した 1 時間寒冷刺激 (4°C) を用いて、神経活性の指標の 1 つである c-Fos タンパク質の発現変化を脳内で観察した。さらに、4-5 週齢と 40 週齢のマウス脳内ではこの刺激に対してどのように c-Fos タンパク質が影響されるのかを検討した。

【研究成果】4-5 週齢のマウスでは、寒冷刺激によって視床室傍核前部 (PVA), 視床下部の室傍核 (PVN) と背内側核 (DMH), 結合腕傍核 (LPB) および淡蒼縫線核 (RPa) において c-Fos タンパク質発現の増加が観察され、刺激開始 2 時間後ピークに達した。また、寒冷刺激 1 時間と室温放置 1 時間の計 2 時間を 1 サイクルとして 3 回同様の刺激を繰り返したところ、その発現は PVA, LPB では変化が認められなかったものの、PVN, DMH および RPa ではサイクル毎に徐々に減少する傾向が認められた。このように、40 週齢のマウスでは 4-5 週齢に比べて寒冷刺激に対する感受性の低下が認められた。

【研究計画】22 年度は、寒冷刺激により変化のあった PVA, PVN, DMH, LPB および RPa についてストレスホルモンであるコルチコトロピン放出因子 (CRF) との関係、および加齢による影響について検討する。さらに SART ストレス動物を用いて慢性ストレス状況下にあるこれらの部位と CRF の関係についても検討する予定である。

## 漢方医学に学ぶエイジングケア素材の探索研究 ～痛風に効果のある素材を求めて～

薬学部・薬用資源学研究室 松田秀秋、村田和也

【研究概要】加齢に伴い、生活習慣病やメタボリックシンドロームなど様々な病気に対するリスクが高まることは良く知られている。これらの中で、今回、我々は“痛風”に着目した。痛風は高尿酸血症が引き金となって起こり、尿酸合成亢進・尿酸排泄低下が主な原因と考えられている。高尿酸血症の改善を目的にこれまでに医薬品レベルでの開発が行われ、尿酸合成阻害剤のアロプリノール、発作緩解・予防薬としてのコルヒチン、尿酸再吸収抑制作用を有するプロベネシドなどが上市され、臨床で使用されている。しかしながら、これらの薬物は、腎機能低下・下痢・肝炎などの副作用が見られ、安全でかつ日常的に摂取できる予防・治療薬はこれまでにほとんど開発されていない。また、これからのアンチエイジング素材として、病態が起こってから治療のみならず、病態の予防も考慮する必要があるとの考えに至った。そこで、痛風改善に効果のある素材を漢方医学に学び、その素材探索を実施した。

【研究成果】古代中国の代表的医書である『万病回春』を考証した結果、痛風に効果のある漢方処方として、「羌活湯」「解表升麻湯」など 13 処方を発見した。これらの処方中に柑橘類果実を基原とする生薬「陳皮」が含まれるものが 7 処方と半数以上を占めた。陳皮の薬理作用として「気を理える、中を調える、湿を燥かす」との記述があり、痛風に効果があると期待されたことから、陳皮の原植物であるウンシュウミカン (*Citrus unshiu*) 果実の 50%エタノール抽出エキス (以下、CU-ext) について、ラットを用いた高尿酸血症改善作用を検討した。その結果、オキシニン酸カリウムにより誘発した高尿酸血症モデルにおいて、CU-ext は 500 mg/kg の用量で約 35%の血中尿酸値低下作用を示し、CU-ext が有望な抗痛風素材であることが示唆された。これまでの研究で CU-ext にはフラバノン配糖体が多く含まれることが知られていることから、主要フラバノン配糖体のキサンチンオキシダーゼ (XOD) 阻害作用を評価した。主要フラバノン配糖体としてヘスペリジン、ナリルチンおよびそれぞれのアグリコンであるヘスペレチン、ナリングニンについて検討したところ、ヘスペレチンおよびナリングニンに 200  $\mu\text{g/ml}$  でそれぞれ 52%および 32%の阻害活性が確認できた。さらにヘスペレチンには前述の *in vivo* 評価で、44%の尿酸値低下作用 (200 mg/kg、*p.o.*) が認められた。

【研究計画】これまでに美白に効果のある素材探索からノニおよびハッサクを、抗痛風作用が期待できる素材としてウンシュウミカンを見出した。今後も植物資源からのアンチエイジング素材の探索を実施する。平成 22 年度は育毛促進素材の探索に取り組む。加齢に伴いホルモンバランスが乱れ、男性のみならず女性も脱毛症になる場合が多い。そこで、女性ホルモン様作用・抗男性ホルモン様作用を指標にした育毛素材の探索を実施する。また、長期的ビジョンとして、他の研究グループで発見されたバイオマーカーを指標にしたスクリーニング系を構築し、アンチエイジング素材の探索に活用したいと考えている。

# アンチエイジング作用を有する植物ポリフェノール成分の探索研究 とサプリメントへの展開

薬学総合研究所 機能性植物工学研究室 角谷晃司 瀧川義浩

【研究概要】 トマトは、長い年月をかけ 8000 種類以上の品種に改良された栽培種トマトと、南米アンデス山脈の過酷な環境に自生しており、栽培種トマトとは異なる形質を発現している野生種トマトに大きく分類されている。栽培種トマトにおいては、食品機能性に富み、これまでに、抗酸化作用、抗炎症作用、抗ガン作用、抗アレルギー作用など、様々な機能が認められている。一方、野生種トマトに関しては、既に著者らの研究室において、昆虫に対する忌避作用や抗菌作用などの効果を明らかにしており、さらに多くの機能性物質の存在が示唆されている。本研究では、各種野生種トマトの栽培試験により優良形質のトマトを選抜し、それらの機能性成分の探索、ならびにアンチエイジング素材の開発を目的とした、生物寿命に及ぼす影響について検討した。

【研究成果】 本年、研究室で管理している野生種トマト、*Lycopersicon hirsutum*、*L. pennellii*、*L. peruvianum*、*L. chilense*、*L. parviflorum*、*L. pimpinellifolium*、*L. cheesmanii*、*L. esculentum* var. *cerasiforme*、*L. esculentum* var. *pyriforme* の計 105 系統のうち 41 系統について栽培試験を行った。これらの生育特性、葉および果実の抗酸化作用などを調査した。今回、*L. pimpinellifolium* LA1478、ならびに栽培種トマト (*L. esculentum*) 桃太郎品種を選抜し、各果実の Hexane、EtOAc、BuOH および H<sub>2</sub>O 画分について、ショウジョウバエ (*Drosophila Melanogaster*) を用いた寿命検定試験を行ったところ、Hexane および EtOAc 画分でそれぞれ有意な寿命の延長が確認された。さらに、EtOAc 画分に含まれる naringenin chalcone、naringenin、eriodictyol などのポリフェノールについても調査したところ、naringenin に寿命延長効果が認められた。一方、食害虫であるニジュウヤホシテントウの摂食試験を行ったところ、*L. hirsutum* の葉に対して強い忌避効果が認められた。トマト葉および未熟果実にはアセチルコリンエステラーゼ (AChE) 阻害効果を有する tomatine が報告されており、この化合物が害虫に対し忌避効果を示したと考える。また、AChE 阻害効果以外に抗腫瘍効果および LDL コレステロール低下効果などの機能も有する。さらに、tomatine の類縁化合物である ouabain や solanine には Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>-ATPase 阻害効果による細胞の寿命延長効果が示されていることから、今後 tomatine の効果についても検討を行う予定である。

## 【研究計画】

昨年に引き続き野生種トマトに含まれる機能性化合物の寿命延長効果をショウジョウバエ、線虫を用い評価を行い、アンチエイジング素材の開発を検討する。

# 加齢マーカーとしての糖鎖の可能性 ～エイジングと生活習慣による血清糖鎖プロファイルの変動～

薬学部・生物情報薬学研究室 掛樋一晃 木下充弘

【研究概要】アンチエイジング（抗加齢）医学を実践するためには、老化度を客観的に評価し、エイジングマーカーを利用して老化の程度を見つけることが重要である。生体を構成する高分子のうち、糖鎖は複数の遺伝子産物の協調作業により生合成されるため、細胞の生理的環境の変化の影響を受け易い。特に細胞レベルでの突然変異によらない微細な変化の蓄積は、様々な疾患発症に繋がる老化過程の重要な一面を担うため、糖鎖は老化度を判定するためのマーカー分子として期待できる。我々は、加齢マーカーとしての糖鎖の可能性を検証するため、ラット血清中の糖タンパク質糖鎖のエイジングによる質的量的変化について解析するとともに、高脂肪飼料を与え飼育したラット血清糖タンパク質糖鎖の変化について解析した。

【研究成果】3週令～15週令までの Wistar ラット血清中の糖タンパク質糖鎖を定量的に解析した結果、N-結合型糖鎖では15週令までに全糖鎖量が約2倍に増加し、最も含有量の高いN-アセチルノイラミン酸（NeuAc）のO-アセチル体を持つジシアロ2本鎖糖鎖は加齢に伴い3.5倍以上に増加することがわかった。一方、高脂肪食で飼育したラットではNeuAcのO-アセチル体は減少傾向であり、通常食で飼育したラットと相反する特徴的な変動を示した。また、複合型2本鎖糖鎖の非還元末端に位置するラクトサミン（Gal-GlcNAc）の結合様式について詳細に解析した結果、Galβ1-3GlcNAcとGalβ1-4GlcNAcの2種類が存在し、通常食で飼育したラットでは、Galβ1-4GlcNAcを持つ糖鎖が多いのに対し、高脂肪食で飼育した場合には特に6週令以下でGalβ1-3GlcNAcを持つ糖鎖が顕著に増加することがわかった。また、持続性ストレスを与えたラット（SART-stressed rat）では、対象群と比較し対象群と比較しNeuAcのO-アセチル体の相対比が低くなるが、ストレス回避により正常な糖鎖プロファイルへ回復することがわかった。以上、食環境、ストレスによる血清糖鎖の変化は、生理的環境の変化による個々の血清糖タンパク質群の量的変動の結果であると考えられる。

【研究計画】本年度の研究で明らかとなった加齢および生活習慣によって変動するマーカー糖鎖を指標として、Resveratrolなどのアンチエイジング素材の評価についても検討する。また、血清プロテオーム解析により、加齢、食環境およびストレスにより変動する血清糖タンパク質の解析にも着手する。

## 【学会発表】

加齢に伴うラット血清糖タンパク質糖鎖の変化

能登啓介、奥田茜、渡部沙木絵、木下充弘、早川堯夫、掛樋一晃 第82回日本生化学会

加齢により変動する血清糖タンパク質糖鎖の解析と加齢マーカーとしての可能性の検証

木下充弘、能登啓介、奥田茜、渡部沙木絵、早川堯夫、掛樋一晃 第59回日本薬学会近畿支部

加齢に伴う血清糖タンパク質糖鎖の変化-加齢マーカーとしての糖鎖の可能性-

能登啓介、奥田茜、木下充弘、早川堯夫、掛樋一晃 第29回日本糖質学会



# 学内特定健診での腹囲測定の評価および大学生の生活習慣に関する調査

薬学部・公衆衛生学研究室 川崎直人 緒方文彦

【研究概要】2008年4月、特定健診・特定保健指導という新制度が始まった。この制度の目的は、生活習慣病の発症を未然に防ぐために、メタボリックシンドローム (MetS) 罹患者やその予備群 (Pre-MetS) を見つけ出し、対象者に生活改善を指導することにある。本研究では、MetS の診断基準や新しく導入された特定健診に関する有益な知見を得ることを目的とし、学内における特定健診の結果を追跡・統計解析している。今回、特定検診で最も重要な項目である腹囲の測定に着目し、その誤差に関する評価を行った。

一方、若年層からの健康維持に必要な動機づけを行うことは、重要であると言われている。本研究では、大学生に対し生活習慣に関するアンケートおよび体力測定を行い、食習慣、睡眠習慣、体格などに関する統計解析を実行した。

【研究成果】血液検査を2年連続受けた教職員、男性385名 (平均年齢  $48.5 \pm 11.2$  歳)、女性166名 (平均年齢  $40.1 \pm 10.9$  歳) の結果を用い、腹囲の増減に対するBMIの増減を散布図としてプロットした。測定誤差が発生する危険率を5%未満と仮定し、Windows JMP ver. 8.0.2 (SAS Institute Inc.) を用いて95%確立楕円および個別の値に対する95%信頼限界から測定誤差について評価した。その結果、男性と女性の測定誤差は、それぞれ3.6%と2.6%の割合で発生した。また、測定誤差がないと判断された男性269名および女性75名のMetSおよびPre-MetSの推移を評価した結果、男性では健康であった人が、MetSまたはPre-MetSになった人の割合は、加齢に伴い増大した。さらに、MetSからPre-MetSになった人の割合は3.0%であった。一方、女性では健康からPre-MetSとなった人の割合は、男性に比べてすべての年齢層で低い値を示した。

一方、2009年度に実施した大学生 (前期: 男子1195名、女子486名; 後期: 男子910名、女子386名) に対する生活習慣に関するアンケートおよび体力測定を行った。その結果、前期に比べ後期に朝食を摂取しない学生が著しく増加し、特に下宿生において顕著であった。また、女子大学生において、BMIが標準であるにも関わらず減量傾向が認められ、前後期でその割合は変化しないことが判った。したがって、今後、食習慣および体格に関する適正化に関する介入が必要であることが示唆された。

【研究計画】今年度も引き続き教職員から特定健診結果の提供を受け、健康な群が加齢に伴いPre-MetS予備群そしてMetSへと移行する主因子を明らかにしていく。また、追跡調査により、腹囲測定の正確性や体重変動がMetSへ及ぼす影響について検討する。一方、生涯スポーツの授業の中で、大学生の体格調査ならびに食習慣、運動習慣に関するアンケート調査に基づき統計解析を行う。この結果から大学生への適正な食習慣、体格、睡眠習慣などの動機づけに関する積極的介入を試み、近畿大学発の「生活習慣指導プログラム」の構築を目指す。