

別紙様式 3

京都ヘルスサイエンス総合研究センター共同研究に係る研究成果
(ホームページ用)

グループ名	抗老化物質探索と作用機構解明グループ		
	(所 属)	(職 名)	(氏 名)
グループ長	京都工芸繊維大学・バイオ メディカル教育研究センター	教授	井上喜博
研究組織の体制	京都府立医科大学 京都府立医科大学 京都薬科大学 京都府立大学 京都工芸繊維大学	教授 准教授 准教授 准教授 教授	松田 修 岸田綱郎 中村誠宏 岡真優子 井上喜博
研究の名称	生体を用いた抗酸化、抗老化作用を示す薬剤の同定とその作用機構に関する研究		
研究のキーワード (注1)	抗酸化物質、生体老化、抗老化、化合物、天然成分、実験動物		
研究の概要 (注2)	本研究ではメンバーがこれまでに見出した、抗酸化力を示す天然物、同成分、薬剤について、 <i>in vitro</i> 実験系、培養細胞、ショウジョウバエ、マウス個体を用いた分子生物学的ならびに生化学的な解析を実施した。それらの中から、生体に与えたときに、種々の臓器、組織に表れる老化表現型を遅延、軽減できるものを同定した。さらにそれらが抗老化、抗酸化効果を示すのに必要な遺伝子を同定し、作用機構の推定も行った。加齢に伴う筋肉の機能低下と神経細胞の減少を遅延させる効果があり、かつその作用機構が明らかな物質を含む健康補助食品の開発を目指す。		
研究の背景	薬剤や食品成分のなかには抗酸化効果を謳うものが多いが、消化吸収された後で体内に蓄積する酸化ストレスを軽減できるものは限られている。さらにその中のごく一部だけが加齢に伴う老化症状を遅延させる効果を持つ。このような抗酸化、抗老化物質の探索、同定、作用機構の解明には、試験管内実験、培養細胞を用いた実験に加え、個体レベルの研究が不可欠である。それには実験動物を用いたアッセイが主流であるが、最終的に老化を抑える効果が証明できるまでには長い時間と膨大な経費が必要となる。一方、生体寿命が哺乳類よりも短いショウジョウバエを評価系に用いると、加齢に伴う老化表現型も早く観察できる。すでにこのモデルを用いた抗老化物質の評価方法に関する特許を取得しており、そ		

	れを用いて生体老化を遅延させる薬剤、天然物を見出している。
研究手法	次に示すような、試験管内の抗酸化反応を調べる化学的実験、培養細胞を用いたリン酸化反応などの生化学的解析をおこなった。またショウジョウバエとマウスの早期老化系統を用いて、運動量アッセイ、遺伝子ノックダウン、免疫染色、共焦点顕微鏡による細胞、組織観察、脾臓リンパ球の老化マーカー解析、マウスの行動、記憶アッセイをおこなった。
研究の進捗状況と成果	<p>代表者の京都工芸繊維大井上は、ショウジョウバエをモデルとして、抗酸化、抗老化作用を示す薬剤の同定とその作用機構に関する研究を継続して行った。ショウジョウバエでは加齢に伴い、筋肉内に異常タンパク質の凝集体が蓄積してゆく。これを筋肉老化のインデックスとすることができる。ゴマ種皮に豊富に含まれるリグナン類の1種はショウジョウバエ成虫の寿命を延長し、筋肉、神経、消化管に表れる老化表現型を遅延させる。この際、抗酸化酵素遺伝子群のmRNA量が上昇したので、同遺伝子群の転写に必要な転写因子Nrf2が活性化されていないか調べたところ、上記の組織内でその標的遺伝子の転写が促進されていた。とくに成虫脳内の特定神経（ヒトでは神経系の老化に伴う痴呆に関係する）においてNrf2の標的遺伝子の転写促進が観察された。成虫脳内で当該神経特異的に酸化ストレスを蓄積させると、その数が減少するが、この物質はこの減少を抑制できた。この物質は脳内の神経系の形成過程でもこの転写因子を強く活性化し、神経細胞やグリア細胞を酸化損傷から保護した。さらにこの化合物は筋肉の老化を抑える抗老化効果も示した。この作用機序は神経細胞への効果とは異なる可能性が示唆された。今後、筋肉での抗老化効果の作用機構を検討する必要がある。</p> <p>分担者の松田修、岸田綱郎（京都府立医科大学）らは、代表者らと共に解析してきた種々の化合物の哺乳動物での機能を評価する研究をおこなった。老化促進マウス（SamP8）に10か月間自由飲水させた後、Open field Test、ROTA-ROD Test、Y maze Testを行い、マウスの新規環境下での自発活動、不安関連行動、協調運動能、空間記憶能、生存率等を評価した。その結果、検討した化合物においては、脳老化防止・生存率に有意な差は認められなかった。今後、京都工芸繊維大学で実施しているショウジョウバエの老化を遅延させる評価系を用いて、新たな化合物の探索を進めようと考えている。</p> <p>分担者の中村誠宏（京都薬科大）らは、薬用だけでなく食用としても利用される種々の薬用食品を素材とし、抗酸化作用を有する低分子化合物の単離・合成を行った。その結果、ネギ属植物エシャロット等から環状含硫黄化合物を単離するとともに、アブラナ科植物カブの酵素群を用いた多段階酵素反応によりスピロオキシインドール骨格を有する含硫黄化合物を得た。さらに、ネギ属植物から得られるチオアクロレインを利用しチオピラン誘導体を合成するとともに、ニンニクの特徴成分として</p>

	<p>知られるajoeneの誘導体15種を合成した。今後、京都工芸繊維大学で実施しているショウジョウバエの筋肉老化を遅延させる評価系を用いて、上述の化合物を含む植物由来化合物約20種について、有望な化合物の開発を進める。</p> <p>分担者の岡真優子（京都府立大）らは、モデルマウスならびにマクロファージ培養細胞をもちいて、酸化ストレスを介した細胞内のmTOR-p70S6Kシグナル経路に対する天然化合物の抑制効果について検討した。本シグナル経路の阻害により、酸化ストレスを軽減できることが示された。また、がん細胞が受ける酸化ストレスが、酸素濃度により異なっており、これが転写因子のhypoxia-inducible factor-1alphaの発現および活性化によることを突き止めた（Eur J Pharmacol. 920, 2022）。</p>
<p>地域への研究成果の還元状況</p>	<p>京都府下および他府県の食品、発酵関連企業数社に共同研究への参画を呼びかけている。実験動物を用いて得られた抗酸化、抗老化物質に関する研究結果が哺乳類ならびにヒトにも適用できることが明らかになれば、抗老化効果のある健康サプリメントの開発に繋がる。また、現在では抗老化効果について科学的証拠が不十分な物質が機能性食品に添加され販売されている。本研究により効果が実証されれば、その商品の付加価値を上げることができる。4大学連携による研究成果が地元産業の活性化にも貢献できる。</p>
<p>研究成果が4大学連携にもたらす意義</p>	<p>本研究は、4大学がそれぞれ得意とするヘルスサイエンス系分野を統合した共同研究になっている。これまで抗酸化、抗老化に関する研究は個別に進められて来たが、探索材料の確保、あるいは生体を用いた解析の面において外部との共同研究または外部委託に頼らざるを得なかった。今回、4大学連携の枠組みのおかげで、他に依頼することなく、本課題に取り組むことができた。有望な薬剤、化合物候補の同定、作用機序の推定も進んだ。このような異分野を融合した連携研究は、京都ヘルスサイエンス総合研究センター共同研究においてのみ可能である。4大学が目指すヘルスサイエンスの統合を進める上でその意義は大きい。</p>
<p>研究発表（注3）</p>	<p>論文発表：</p> <p>1) Osada-Oka M, Kuwamura H, Imamiya R, Kobayashi K, Minamiyama Y, Takahashi K, Tanaka M, Shiota M. Suppression of the doxorubicin response by hypoxia-inducible factor-1α is strictly dependent on oxygen concentrations under hypoxic conditions. <i>Eur J Pharmacol.</i> 2022 920:174845.</p> <p>2) Taichi Y, Kojima, N, Matsumoto, M, Imahori, D, Ohta, T, Yoshida, T, Watanabe, T, Matsuda, H, <u>Nakamura, S.</u> Construction of sulfur-containing compounds with anti-cancer stem cell activity using thioacrolein derived from garlic based on nature-inspired scaffolds. <i>Org. Biomol. Chem.</i>, 2022, 20, 196–207</p> <p>3) Le, T.D., <u>Inoue, Y.H.</u> (2021) Sesamin activates Nrf2/CncC-dependent transcription in the absence of oxidative stress in <i>Drosophila</i> adult brains. <i>Antioxidants</i> 10, 924; https://doi.org/10.3390/antiox10060924</p> <p>4) Sato, K., Zheng, Y., Okumura, E., Fujishima, M., and <u>Inoue, Y.H.</u> (2021) Identification of phenethylamine in chlorella extract as a hepatoprotective compound and its possible underlying mechanism. <i>Funct. Food Res.</i> 17, 44-49.</p> <p>5) Yamazoe, T, Nakahara, Y, Katsube, H, and <u>Inoue, Y.H.</u> (2021) Expression of Human mutant preproinsulins induced unfolded protein response, Gadd45 expression, JAK-STAT activation, and growth inhibition in <i>Drosophila</i>. <i>Int J Mol Sci.</i> 22(21):12038. 他学会発表3件</p>