

ピシフェリン酸の経口摂取による加齢性疾患予防効果

福山大学 薬学部 薬学科
柴田 紗知

1. 研究の目的と背景

高齢化が進む現代において、健康寿命を延ばすことは重要な課題である。健康寿命の短縮をもたらす主な要因である認知症・ロコモティブシンドローム・メタボリックシンドロームの予防に、食生活も重要な役割を果たすと考えられており、科学研究の成果を取り入れた食生活による疾病予防が期待されている。このような背景のもと、報告者らはこれまで食品機能成分による加齢性疾患予防効果を検討してきた。

ピシフェリン酸はヒノキ科サワラから単離されたジテルペンで、ローズマリー由来カルノシン酸と類似の化学構造を有する。カルノシン酸は長寿に関連する転写因子 FoxO3a の活性化作用など様々な生理活性作用が知られている一方で⁽¹⁾、ピシフェリン酸に関する生物活性の報告はごくわずかしかない。そこで、ピシフェリン酸自体の生理活性を明らかにすることができれば、ピシフェリン酸をカルノシン酸に合成することなく活用できると考え検討を進めている。

これまで我々はピシフェリン酸の血管新生及びリンパ管新生抑制作用を見出しているものの⁽²⁾、ピシフェリン酸の経口摂取による有効性は未解明である。そこで、ピシフェリン酸摂取による加齢性疾患予防効果を明らかにするため、老化促進マウスへの投与実験を行った。

2. 研究の方法

2-1. 実験動物・飼育環境

実験は早期学習記憶障害モデル動物として確立されている老化促進マウス (P/8 line of the senescence-accelerated mouse model : SAMP8) のオスを用いて検討した。常時温度 25℃に保ち、明暗サイクル 12 時間(明期 8:00-20:00, 暗期 20:00-8:00) に設定した動物個別飼育装置の中で飼育した。飲料に蒸留水を与えた対照群と飲料にピシフェリン酸溶液を与えたピシフェリン酸投与群をそれぞれ飼育した。3 週齢から飼育を開始し、4 週齢から自由摂取によるピシフェリン酸の投与を開始した。48 週齢で解剖を行い、臓器等の摘出を行った。

エサは実験動物用固形飼料 MF (オリエンタル酵母工業) を自由に摂取させた。なお本実験は、福山大学研究安全倫理委員会の許可を得たのちに、福山大学研究安全倫理規程

に基づいて適切に行った。

2-2. 老化判定

老化判定は、SAM 研究会による「老化判定基準」を基に実施し、判定は「反応性」や「毛並み」など計 11 の項目について目視で評価した。PA 投与群実験について 9 週齢時から 45 週齢時まで 1 ヶ月に一度実施した。

2-3. 脳機能の評価

飼育期間中に 4 種類の行動科学試験 (オープンフィールド試験, 十字迷路試験, 明暗箱試験, 強制水泳試験) を行った。試験は、行動解析装置 SCANET-40 (MELQUEST 社製) 及び十字迷路装置を使用した。

2-4. 運動機能の評価

運動機能の解析として、飼育期間中に運動量測定と握力測定を実施した。運動量測定は、行動解析装置 SCANET-40 (MELQUEST 社製) を用いて行った。フィールドの中央にマウスを 1 匹入れ 20 分間放置し、その間の運動量や立上回数を測定した。握力測定は握力測定装置 MK-690S/04M (室町機械株式会社製) を用いて行った。測定用グリットにマウスの前脚及び四肢をそれぞれ握らせ、一定の力で尾を引っ張り測定した。

また飼育終了後に大腿骨及び脛骨の骨塩量・骨面積・骨密度を測定するとともに、関節軟骨のサフラニン染色を行った。

2-5. 各種臓器の評価

血液生化学検査は、ト殺時に血液を回収し、血清を用いて各種項目の測定を実施した。肝機能や腎機能の解析は、構造類似体であるカルノシン酸の経口摂取で差が見られた FoxO3a や SOD-II について qRT-PCR で解析した。腸の IgA 発現については ELISA 法による解析により検討した。

3. 研究内容

本研究では老化促進マウス SAMP8 を用いてピシフェリン酸の経口摂取による有効性の検討を行った。対照群とピシフェリン酸投与群の 2 群に分けて飼育し、行動科学試験・運動機能解析・老化判定を行った。飼育終了後には

血液及び各種臓器を回収し、血液生化学検査や組織化学解析を実施した。

4. 研究の実施経過

4-1. 飼育経過及び老化判定

老化判定は、月1回(計10回)実施した。その結果、「受動性」、「毛の光沢」、「脊椎の前弯度」、「眼周囲病変」について対照群と比較し、PA投与群で老化の進行が抑制していることが分かった(図1)。

4-2. 行動科学試験

新奇物体認識試験において、対照群では既知物体と新奇物体へのアプローチに差がなかったものの、ピシフェリン酸投与群では既知物体に比べ新奇物体に対するアプローチが増加し、加齢に伴う脳機能低下に対する保護効果が示唆された(図2)。

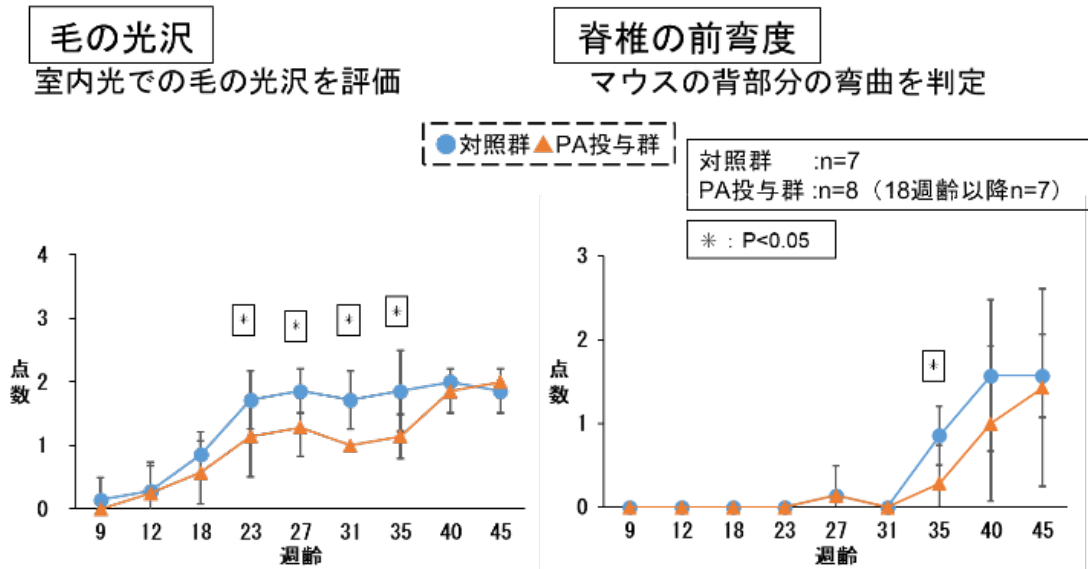


図1. 老化判定

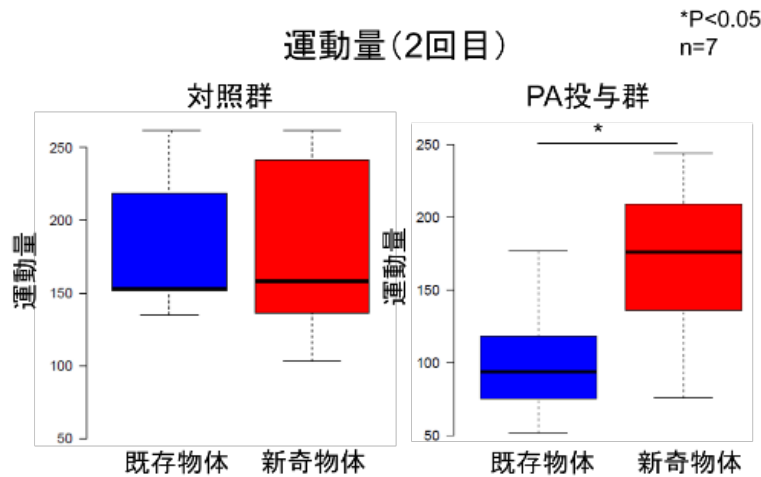
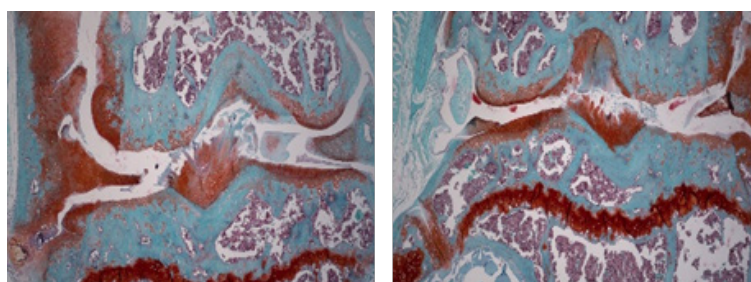


図2. 新奇物体認識試験

4-3. 運動機能解析

飼育期間中に握力を測定した結果、ピシフェリン酸投与群の方が高い数値を示したものの、両群に有意な差は見られなかった。骨塩量・骨面積・骨密度についていずれもピシフェリン酸投与群の方が高かったものの有意な差は見られなかった。関節軟骨の状態をサフラニン染色で検討したものの、両群に有意な差は見られなかった(図3)。

4-4. 各種臓器の解析



対照

PA

図3. 膝関節の様子

血液生化学試験について測定した10項目について両群に有意な差は見られなかった。肝機能や腎機能について、カルノシン酸投与群でみられたFoxO3aの脱リン酸化作用やSOD-IIの活性化作用について検討したものの、対照群とピシフェリン酸投与群で有意な差は見られなかった。

糞便中におけるIgAの発現についてELISA法で解析した。検討を行った。その結果、PA投与群の方がIgAの発現がやや抑制されていたものの、両群に有意な差は見られなかった。

5. 研究から得た結論・考察

本研究では、ピシフェリン酸による加齢性疾患予防効果について老化促進モデルマウスへの投与実験で検討した。その結果、ピシフェリン酸を自由摂取したマウスは対照と比べ、老化の進行が緩やかになることや認知機能を維持することが明らかになった。その一方で、組織化学解析や血液生化学検査については両群に有意な差は見られなかった。

腸や便の状態についても投与群と対照群に有意な差は見られなかったものの、他のモデル動物ではピシフェリン酸摂取による大腸炎の予防効果が期待されるなど、経口摂取による有効性が示唆された。

6. 残された問題、今後の課題

本研究においては、ピシフェリン酸を自由摂取することによる老化抑制効果や認知機能維持効果を明らかにすることができた。その一方で、細胞レベルで明らかにした運動器疾患への影響については投与実験で明らかにすることができなかった。今後はゾンデによる投与方法や腹腔内投与等の投与方法を検討するとともに、6か月齢等で解剖を行う等の経時的にピシフェリン酸経口摂取による有効性について確認する必要がある。

また、本研究に関連し、ピシフェリン酸を経口摂取することによる自己免疫疾患予防効果を見いだすことができ

た。そのため、今後はピシフェリン酸を経口摂取することによる自己免疫疾患予防効果を明らかにすることが課題である。

7. 謝辞

本研究を遂行するにあたって、多大なるご支援賜りました公益財団法人東洋食品研究所の皆様および審査員の先生方に厚く御礼申し上げます。

8. 参考文献

1. Shibata, Sachi, *et al.* Carnosic acid protects starvation-induced SH-SY5Y cell death through Erk1/2 and Akt pathways, autophagy, and FoxO3a. *International journal of food sciences and nutrition*. 2016, **67**, 977-982. doi: 10.1080/09637486.2016.1208734
2. Shibata, Sachi, *et al.* Inhibitory effects of pisiferic acid on angiogenesis and lymphangiogenesis. *Planta medica international open*. 2016, **3** (02), e31-e34. doi:10.1055/s-0042-107801