

脳機能活性化や健康長寿の鍵となる 機能性食品素材・農産物（前編）

特集によせて

藤井 力

「超高齢化社会を迎える我が国では医療・介護にかかる国の負担はすでに40兆円にも達している。脳機能の維持や健康寿命の延伸といった老後QOLの改善は、日本にとっても世界の人々にとっても喫緊の課題である。」との認識のもと、2017年の第69回日本生物工学会大会において、「脳機能活性化や健康長寿の鍵となる機能性食品素材・農産物」と題するシンポジウムを、広島大学水沼先生と二人でオーガナイズさせていただいた。

本シンポジウム講演者のうち筆者を含む3名が、戦略的イノベーション創造プログラム（SIP）「次世代農林水産業創造技術」「次世代機能性農林水産物・食品の開発」資金研究（東京大学阿部啓子先生を中心に、府省の枠を超え実施）の参加者であったこともあり、シンポジウムは、本SIP資金研究およびバイオインダストリー協会（JBA）の機能性食品研究会との共催として行われた。当時、生物工学会大会において、食品や食品成分による脳機能維持や寿命延伸に着目したシンポジウムは行われておらず、共催効果もあり、好評であったと聞く。

一方、シンポジウム翌年の2018年5月に、内閣官房・内閣府・財務省・厚生労働省から出された見通し¹⁾では、2018年度の医療費と介護費はそれぞれ39.2兆円・10.7兆円に、2025年度にはそれぞれ47.8兆円・15.3兆円に、2040年度にはそれぞれ66.7兆円・25.8兆円にも達すると予想されている。シンポジウム応募の際に認識していた課題はさらに悪化する見通しであり、脳機能の維持、健康寿命の延伸といった老後QOL改善の重要性はむしろ増している。

本特集はそのような現状をもとに、2017年のシンポジウム講演5題をベースとして再構築し、食品や食品成分の持つ脳機能維持や寿命延伸効果の分野でご活躍の先生からの寄稿5題を新たに追加、計10題について特集としてまとめ、10号と11号の連載で紹介するものである。

本特集のキーワードは、脳機能維持や健康寿命延伸、老後QOLの向上であるが、各稿のキーワード（順不同）としては、酒粕、酵母、S-アデノシルメチオニン（SAM）、グリセロホスホコリン（GPC）、ポリアミン、腸内細菌、プロバイオティクス、プレバイオティクス、玄米、γオリザノール、超硬質米・黒米、ロスマリン酸、マスリン

酸、アミノ酸代謝、芳香族ピルビン酸、食物繊維、イヌリン、クロモジ抽出物、アルデヒド、魚介タンパク、時間生物学、抗糖化、抗酸化、抗炎症、酵母実験、線虫実験、細胞実験、動物実験、ヒト試験、高血糖、血糖スパイク、解糖系、一炭素代謝、エピジェネティクス、脳腸相関などがあげられる。各稿にまたがるキーワード、各稿では明示されていないが、よく考えると関連するキーワードもあり、相互の関連、背後の機構について、個人的には、非常に興味深い特集となった。

ところで、本特集記事にも出てくるSAMやγオリザノールは、日本ではもっぱら医薬品として扱われる成分であり、食品での表示について悩ましかったが、JBA秋元健吾氏のご尽力²⁾により、元来食品が含んでいる成分については医薬品として扱わないことが確認された³⁾。この場を借り、心より御礼申し上げたい。

本特集が老後QOL改善につながり、医療費や介護費の抑制のみならず、農業や食品産業の活性化、農産物や加工品の価値向上、日本の競争力向上にも貢献すると同時に、本特集が呼び水となり、執筆者どうしや読者との間に新たな研究コラボレーションが生まれ、より大きなイノベーションが生み出されることを期待したい。

最後に、醸造や応用微生物学専門の筆者が、SIP研究課題への参加を通じ、共同で動物実験やヒト試験を実施できたこと、異分野であった先生とも交流できたこと、さらに、本特集のオーガナイザーまでさせていただいたことは望外の喜びである。阿部啓子先生はもとより、JBA矢田美恵子氏をはじめとする多くの関係の皆様にも心より感謝申し上げます。

文 献

- 1) 厚生労働省：<https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000207382.html> (2019/7/17).
- 2) 規制改革推進会議：<https://www8.cao.go.jp/kisei-kaikaku/suishin/meeting/wg/iryou/20171120/171120iryou02.pdf> (2019/7/17).
- 3) 厚生労働省：https://www.mhlw.go.jp/web/t_doc?dataId=00tc4069&dataType=1&pageNo=1 (2019/9/19).

発酵食品「酒粕」による老化抑制および脳機能活性化の検討

藤井 力^{1*}・伊豆 英恵²・松原 主典³

はじめに

「酒粕」が「発酵食品」？「酒粕」と「老化抑制」・「脳機能活性化」？まったく結びつかない方も多いのではないだろうか。

酒粕は清酒醸造で得られる固形の副産物で、麹菌や清酒酵母、生もと造りでは乳酸菌も製造に関与する。酒粕にはヨーグルトや味噌、塩麹ほど発酵食品のイメージがないものの、成り立ちは、れっきとした「発酵食品」である。また、酒粕は、麹菌が生産する機能性成分と清酒酵母が生産する機能性成分の両方を含み、健康イメージの強い麹や甘酒とも関連が深く、また、麹や甘酒が含有する機能性成分とも関連が深い。酒粕は、欧米にはない日本固有の発酵食品といえる。

また、酒粕中には、処方箋薬や補助食品、あるいは穀類への強制添加ビタミンとして、長い流通実績のある複数の機能性成分が、機能性を示してもおかしくない含量が含まれている。後述するこれらの機能性成分は酵母の代謝経路上も近くに存在し（図1）、報告のある機能性が似ているものも多く、摂取後にヒトや腸内細菌の代謝で変換される可能性や、成分どうしが協調的に効果を示す可能性が考えられる。

筆者らは、酒粕の発酵食品としての特長を明らかにすることを目的に、酒粕中にどのような機能性成分が、どの程度含まれているのか分析するとともに、内閣府の戦略的イノベーション創造プログラム（SIP）「次世代農林水産業創造技術」に参加し、酒粕の成分や酒粕そのものによる老化抑制や脳機能活性化について検討した。

酒粕の製造方法と米麹の機能性成分

酒粕は、米、米麹、水を仕込み、清酒酵母で発酵した「もろみ」を濾した際の固形部で、液体部分が清酒である。麹菌や酵母の機能性成分には、液体部分である清酒に移行する成分もあるが、菌体とともに固形部の酒粕に移行するものが多い。また、米麹由来の成分であっても、酒粕は米麹よりも成分が高含有される場合がある。たとえば、米麹の機能性成分含量がもろみ中で減少しない（酵母に使われない）場合で、麹歩合（仕込みに使う米のう

ち麹に使う米の割合）20%かつ粕歩合（仕込みに使う米を100とした酒粕の重さの割合）20%の場合、機能性成分が固形部に移行したとすると、含量は米麹中と酒粕中でほぼ同じになる計算である。この前提の場合、麹歩合が約100%の場合や、粕歩合が15%の場合には、米麹の機能性成分は、酒粕中にむしろ濃縮される。さらに、酒粕では、米麹には含まれない酵母（生もとの場合は乳酸菌）の機能性成分が加わるほか、βグルカンなどの菌体成分や食物繊維様活性を持つレジスタントプロテインなどの成分も加わることになる。また、酒粕にはアルコールが含まれているものの、乾燥などの加工工程で除去可能であるほか、はがしたての酒粕そのものに含まれる糖分はきわめて少ないことが多く、使用にあたっては、糖を「添加する・しない」の選択や、「添加量の加減」や「代替甘味料の使用」などの調整が可能である。

なお、酒粕は、山上憶良が万葉集の「貧窮問答の歌」で、糟湯酒（かすゆざけ：酒粕をお湯で溶いたもの）で寒さをしのぐ様子をうたったほど、日本人にとって、食経験が長い食品でもある。

酒粕中に高含有されていた機能性成分

筆者らは全国の清酒製造場の協力のもと、製造方法の

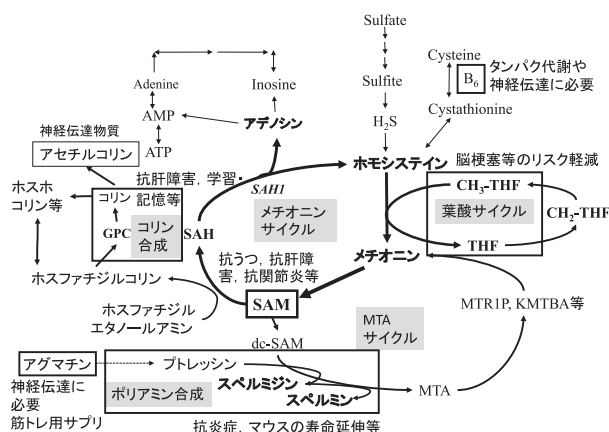


図1. 酒粕に高含有される機能性成分と酵母の代謝。ビタミンB₆、葉酸、SAM、ポリアミン、アグマチン、GPCはいずれも老化や脳機能に関連する知見が知られ、いずれも酵母の代謝経路に近い。

著者紹介 ¹前・独立行政法人酒類総合研究所（部門長）、福島大学農学群農食学類（教授） E-mail: tsfujii@agri.fukushima-u.ac.jp

²独立行政法人酒類総合研究所（主任研究員） E-mail: izu@nrrib.go.jp

³広島大学大学院教育学研究科（准教授） E-mail: kmatsuba@hiroshima-u.ac.jp

異なる酒粕109点を収集し、清酒酵母が高生産することが知られ、酒粕中にも高含有されていると考えられたSアデノシルメチオニン (SAM) について酒粕中の含量を測定した。また、SAMの代謝経路に近く(図1)、老化抑制や脳機能活性化に関係する知見の報告がある機能性成分についても、酒粕中の含量を測定した。

本研究で測定した成分について、「老化」や「脳機能」関係の論文がどの程度報告されているのか見てみたい。表1は、論文検索サイトPubMedで「成分名」と「老化や脳機能に関するキーワード」の二つで検索し、抽出された論文数をまとめたものである。このやり方だと、直接関係のない論文も抽出されてしまうものの、関連を示す論文も多く抽出されていた。抽出論文数が多い成分については、キーワードと一定の関連があることを示すと思われるが、検索結果は、いずれの成分も、「老化」や「脳機能」と一定の関連があることを示している。

SAM さまざまな微生物の中で、糸状菌や乳酸菌といった微生物よりも酵母、中でも特に清酒酵母が、SAMを生産する能力が高いことが1984年にShiozakiらにより報告された¹⁾。SAMは、ドイツやロシアなどで処方箋薬、カナダや米国などでは補助食品として、40年以上の流通実績があり、一定の効果と安全性が確保されている成分である。SAMには、気分改善効果や抗肝障害効果、抗関節炎効果などが知られている。SAMは、日本では「専ら医薬品として使用される成分本質」のリストにあるが、元来食品が含んでいる場合は医薬品として扱わないことが確認された²⁾。

酒粕中のSAM含量調査の結果、酒粕は、現実的な摂取量で、SAMの機能性を示してもおかしくない含量のSAMを含んでいることがあきらかとなった。酒粕の次に高含有な食品はにごり酒(酒粕に比べ含量は「桁違い」に少ない)と報告されている³⁾ほか、一般の食品にはSAMは含有されないとされている^{4,5)}。つまり、酒粕は処方箋薬やサプリメント以外で機能性を示してもおかしくないSAMが摂取できる唯一の食品ということになる。

なお、SAMは生体の主要なメチル基供与体で、多くのメチル化反応に関わっている。SAMは一炭素代謝の主要成分であり、エピジェネティックな調節にも関係が深い。

清酒酵母がSAMを高生産するのはなぜか。筆者らは、実験室酵母と清酒酵母を用いたQTL解析により、清酒酵母のSAM高生産に関する遺伝子の同定に成功した⁶⁾。同定遺伝子は、酵母の寿命に関連する遺伝子として広島大学の水沼らが単離した遺伝子⁷⁾と同じ遺伝子であった。本遺伝子の解析については、本特集の水沼先生の記事をご覧ください。

葉酸 葉酸は米国などの世界86か国以上で、穀類などに強制添加されているビタミンで、胎児の二分脊椎の発生頻度を著しく抑制する。また、血中ホモシステイン濃度を抑制、脳梗塞や心筋梗塞などのリスクを軽減する。実際、米国などの葉酸強制添加国では、脳卒中の頻度などが減少し、経済的な効果についても評価されている⁸⁾。

日本では、葉酸は通常の食事から十分摂取されていると考えられていたが、食生活の欧米化の影響か、1970年代に比べ、胎児の二分脊椎の発生頻度が増大している

表1. 酒粕に高含有されている成分(左列)とキーワード(上行)の組合せによる検索でのPubMed検索ヒット数(2019年7月23日検索実施)。

	(Total)	aging	longevity	brain	memory	depression	alzheimer
adenosylmethionine	9,507	226	22	919	53	285	61
glycerophosphocholine	1,814	50	3	355	20	23	37
folate	58,327	1,227	75	2,341	478	918	407
polyamine	100,768	787	97	8,181	272	932	181
agmatine	1,527	20	1	364	36	60	8
vitamin b6	19,833	458	17	1,620	143	392	97
(Total)		411,053	43,239	1,890,412	293,759	417,819	106,377

	(Total)	inflammatory	homocysteine	liver	one carbon metabolism	epigenetic	cancer
adenosylmethionine	9,507	174	1,812	2,069	347	342	1,271
glycerophosphocholine	1,814	60	14	188	17	1	274
folate	58,327	1,340	7,583	5,314	1,401	694	18,955
polyamine	100,768	1,944	167	8,789	231	104	14,471
agmatine	1,527	50	3	77	9	0	89
vitamin b6	19,833	350	1,724	2,210	251	49	1,267
(Total)		717,490	24,489	1,093,756	32,371	71,619	3,898,839

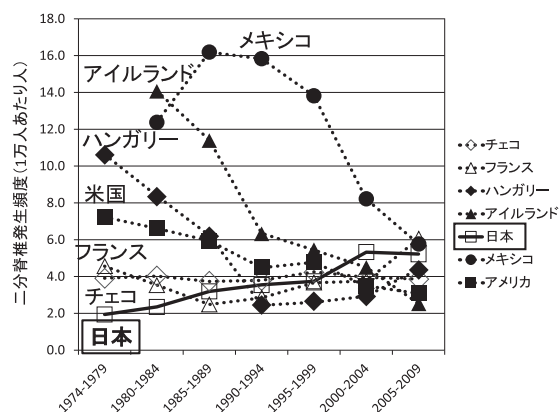


図2. 各国の胎児の二分脊椎発生頻度. International Clearinghouse Annual Report 2011のデータを用い、筆者らがグラフ化した. 1970年代の日本では発生頻度が低く、食生活から葉酸が十分摂取できていたと推定されるが、食生活の変化に伴い、二分脊椎の発生頻度が増大している. 一方、穀類に葉酸の強制添加を行っている国々では、二分脊椎の発生頻度は減少した.

(図2). また、女子栄養大学と埼玉県坂戸市が協同で実施した「さかど葉酸プロジェクト」(葉酸摂取の栄養指導などを主体としたプロジェクト)では、医療費の削減効果が報告された⁹⁾. 胎児の二分脊椎発生頻度抑制のみならず、脳卒中の抑制(や健康寿命の延伸、老後QOLの向上)、医療費削減という観点からも、葉酸は積極的に摂取した方がよいビタミンだと考えられる.

葉酸含量の高い食品としては、ドライイーストや海苔、レバーなどがあげられるが、葉酸含量の高い酒粕では、40 g程度で1日に必要な量の葉酸が摂取できるくらい高含有していた. また、調査した酒粕のうち、約25%の酒粕は100 gで1日に必要な量の葉酸が摂取可能な含量であった. 葉酸はSAMと異なり、他の食品からも摂取できる. 酒粕単独で1日分の葉酸を摂取する必要がないことを考えると、葉酸も、現実的な酒粕摂取量で効果が期待できる成分と考えられる.

なお、葉酸は、SAMと同様、メチル化反応の主体であり、一炭素代謝の中心成分である(図1、表1).

ポリアミン ポリアミンは第一級アミノ基が二つ以上結合した直鎖脂肪族炭化水素の総称であるが、本稿では、プトレッシン、スペルミン、スペルミジンのことを指す. ポリアミンは、正常マウスの寿命伸長効果を示した初めての成分¹⁰⁾であり、抗炎症作用などが知られている. なお、ポリアミン含量が高い食品としては、醤油(たまり)、乾燥大豆、緑茶葉などが報告されている. ポリアミンもSAM代謝経路の近傍にある成分である(図1).

グリセロホスホコリン(GPC) GPCは、イタリア・ロシア・韓国・南米では医薬品、米国・英国・独国など

では補助食品として流通している. GPCはコリンの補給源としても有効で、コリン補給が不足すると一炭素代謝に関連した化合物の不足を招き、肝機能低下、ビタミンB₁₂欠乏による貧血、めまい、葉酸欠乏による免疫低下、メチオニン不足による肝臓解毒能低下などが発生する可能性がある¹¹⁾. 一炭素代謝の中心成分で、神経伝達物質アセチルコリンの前駆体でもある. 乾燥させたニジマスや燻製した紅鮭などに多い¹²⁾.

アグマチン アグマチンはポリアミンの中間体(図1)で、脳で生産される神経伝達物質であると推測されている. 一酸化窒素(NO)を産生し、血管を拡張させ血流量を増やすことから、米国では筋トレの際の補助食品として流通しているが、神経保護作用が報告され、近年論文数が増大している成分である¹³⁾. なお、アグマチン含量の高い食品として報告のあるのは、韓国味噌などである¹⁴⁾. また、酒粕のみならず、清酒中の含量が高いことも報告されている¹⁵⁾.

ビタミンB₆ ビタミンB₆は、タンパク質の代謝に不可欠なビタミンで、メチオニン合成経路との関連のほか、脂質の代謝や神経伝達物質の合成などに関与している. 葉酸やビタミンB₁₂とともにホモシステイン濃度を抑制し、脳萎縮抑制や脳卒中抑制効果が示唆されている. 食品としては、とうがらしやにんにくに高含有されている.

なお、これら酒粕中の成分の機能を活かすためには、保存や加工による成分含量変化についても考慮する必要がある. 筆者らは、酒粕の乾燥方法の違いにより、機能性成分含量がどのように変わるかについても検討した¹⁶⁾. その結果、凍結乾燥法で乾燥した酒粕に比べ、乾熱乾燥法で乾燥した酒粕は、SAMが大きく減少したものの、ポリアミンやコリン・GPC、ビタミンB₆やアグマチン、βグルカン、レジスタントプロテインなどの含量は大きくは変わらないことが明らかとなった.

酒粕や酒粕成分によるマウスの老化抑制効果と脳機能活性化効果の検証

酒粕を摂取すると、実際に酒粕中のこれらの機能性成分は機能性を示すのか?

筆者らは酒粕中に含まれる成分のうち、まずSAMとGPCに着目した. これらの成分をマウスに経口投与することで、老化や脳機能にどのような効果が出るのか検証した.

まず、肥満・糖尿病モデルのKK-A^yマウスを用いて実験を行った¹⁷⁾. SAMやGPCは飲水として与えたが、酒粕を餌に混ぜて与えた場合と1日あたりの摂取量があ

まり変わらない濃度とした。その結果、対照群に比べ、試験群で、血糖値やコレステロール、トリアシルグリセロールが低く、糖および脂質代謝の改善傾向が見られた。また、インシュリンやレプチンも低く、糖・脂質代謝のみならず、肝機能改善効果や脳の酸化ストレス軽減効果が確認された。

次に、GPC摂取の老化抑制効果についても検討した¹⁸⁾。GPCは先の実験と同様、同濃度の飲水にて与えた。なお、老化抑制を観察するには時間がかかる。そこで、短命と学習・記憶障害を特徴とする老化促進マウスSAMP8を用いた。その結果、GPC摂取の試験群では対照群に比べ、36週令での老化スコア¹⁹⁾や関節症進行度の評価であるOARSIスコアが低いことがわかった。また、アミロイドβやトランスサイレチン(TTR)の沈着について観察したところ、アミロイドβの沈着に差はなかったが、TTRの沈着に差が見られた、TTRの沈着抑制が脳内の炎症を抑制し、脳機能を保護していることが示唆される結果となった。

筆者らは、酒粕成分だけではなく、酒粕を餌に混ぜ、投与する実験も行った²⁰⁾。GPC摂取実験と同様、老化促進マウスSAMP8を用いた。その結果、対照群に比べ、酒粕投与の試験群では、血漿、腓腹筋と脳の分岐鎖アミノ酸(BCAA)含量が有意に高くなり、握力も強いことがわかった。なお、高い血中BCAA濃度と代謝性疾患など病的状態との関連が報告されているが、糖や脂質代謝指標は対照群と試験群で差がなく、今回の実験では病的な状態を示すものではないと考えている。また、試験群ではBCAAのみならず、血漿中のビタミンB₆や抗老化効果が注目されているNADの合成に必要なナイアシンが増加していた。

これらの結果は、酒粕や酒粕成分の有効性を示すものであり、老後QOLの向上に役立つものと考えるが、未知のこともまだまだ多く、酒粕の健康効果とその機構については、さらなる研究が必要である。

なお、筆者らは、SIPの枠組の中、共同で酒粕の機能性を確認するヒト試験も実施することができた。ヒト試験結果についても結果をまとめ、論文化する予定である。

おわりに

本研究では、SAMと代謝経路の近い成分を中心に、処方箋薬や補助食品、穀類への添加などにより効果が知

られている機能性成分含量を測定し、いずれも他の食品に比べ、酒粕中に高含有されていることを示した。このことは、酒粕がすでにエビデンスのある機能性成分を複数、高含有していることを示している。また、動物実験を通じ、酒粕成分や酒粕の有効性の一端を示すとともに、ヒト試験を実施した。酒粕については研究者が圧倒的に少なく、まだまだ未知の機能が残っていると思われる。健康効果の機構の解析と新しい機能についても研究が進むことを期待している。

謝 辞

貴重な酒粕試料や清酒製造条件などをご提供いただきました清酒製造場の皆様に、心より御礼申し上げます。なお、本研究は、内閣府戦略的イノベーション創造プログラム(SIP)「次世代農林水産業創造技術」およびJSPS科研費 JP17K07791の助成を受け、実施されました。

文 献

- 1) Shiozaki, S. *et al.*: *Agric. Biol. Chem.*, **48**, 2293 (1984).
- 2) 厚生労働省: <https://www.mhlw.go.jp/hourei/doc/tsuchi/T190318I0110.pdf> (2019/7/17).
- 3) 関口喜則: *食品と開発*, **45**, 57 (2010).
- 4) WebMD: <https://www.webmd.com/diet/supplement-guide-sam-e#1> (2019/7/26).
- 5) Cochrane: https://www.cochrane.org/CD007321/MUSKEL_s-adenosylmethionine-same-for-osteoarthritis (2019/7/26).
- 6) Kanai, M. *et al.*: *J. Biosci. Bioeng.*, **123**, 8 (2017).
- 7) Ogawa, T. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, 11913 (2016).
- 8) Bentley, T. G. *et al.*: *Public Health Nutr.*, **12**, 455 (2009).
- 9) Kagawa, Y. *et al.*: *Congenit. Anom. (Kyoto)*, **57**, 157 (2017).
- 10) Soda, K. *et al.*: *Exp. Gerontol.*, **44**, 727 (2009).
- 11) 大久保剛: *BIO INDUSTRY*, **29**, 26 (2012).
- 12) Patterson, K. Y. *et al.*: USDA Database for Choline content of Common Foods, Nutrient Data Laboratory, Beltsville Human Nutrition Research Center, ARS, USDA (2008).
- 13) Laube, G. and Bernstein, H. G.: *Biochem. J.*, **474**, 2619 (2017).
- 14) Galgano, F. *et al.*: *Front. Microbiol.*, **3**, 199 (2012).
- 15) 堀井幸江ら: *酒類総合研究所報告*, **183**, 26 (2011).
- 16) Izu, H. *et al.*: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **83**, 1477 (2019).
- 17) Izu, H. *et al.*: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **83**, 747 (2019).
- 18) Matsubara, K. *et al.*: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **82**, 647 (2018).
- 19) Takeda, T. *et al.*: *Mech. aging Dev.*, **17**, 183 (1981).
- 20) Izu, H. *et al.*: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **83**, 1490 (2019).

腸内細菌由来ポリアミンを機能性成分とした 健康寿命伸長食品の開発

松本 光晴

はじめに

腸内細菌叢と健康/疾病の関連性の研究は、長年、菌種構成を調べるアプローチで行われてきた。次世代型DNAシーケンサーの出現により、世界中で多くの研究成果が発表されている。一方で、腸内細菌由来の代謝産物の研究は遅れをとっているが、この中には、腸管腔から吸収され、血中に移行し全身の細胞へ作用する可能性が高いものがあり、健康/疾病との関りは、菌種構成よりむしろ直接的と考えられる。筆者らは、代謝産物の中でも生理活性が高いポリアミンに着目し、腸内細菌の代謝をコントロールして腸内ポリアミン濃度を高める技術を開発し、それが生体へ与える影響を評価してきた。本稿では、これらの一連の研究で得られた知見を紹介する。

細胞の健全化に必須のポリアミン

ポリアミンは低分子の塩基性物質であり、プトレッシン、スペルミジン、スペルミンなどの総称である。核酸の合成や安定化、細胞の増殖や分化など多方面の生命現象に関与し、抗変異原性や抗酸化作用も知られている¹⁾。一言で述べると、細胞機能の健全化に不可欠な物質で、これを裏付けるように、加齢に伴い、組織中のポリアミン合成や濃度が低下することがマウスで報告されている²⁾。ヒトでは、30～50歳代と比較し60～80歳代の血中ポリアミン濃度が低値である一方で、90～100歳代の長寿者では60～80歳代より高濃度であることが報告されている³⁾。

食事由来のポリアミンは、ほぼすべて消化管上部で生体に吸収される⁴⁾。一方で、消化管下部のプトレッシンとスペルミジンは腸内細菌叢由来である⁵⁾。筆者は、食事由来ポリアミンは一過性であるのに対し、腸内細菌叢の代謝制御でポリアミン産生を誘導すれば、継続的かつ多量に生体に供給できると考え、「腸内細菌に安定的にポリアミンを産生させる技術を開発すれば、さまざまな保健効果が得られ、結果的には健康寿命の伸長につながる」との仮説を構築した。興味深いことに、筆者らが本仮説に則り研究成果を得たのとほぼ同時期に、ポリアミン経口投与がモデル生物（線虫、ショウジョウバエなど）

の寿命伸長を促すこと⁶⁾、高ポリアミン飼料摂取マウスでも同様の効果が報告された⁷⁾。最近では、マウスへのスペルミジン経口投与によるオートファジー誘導作用により、心血管系の機能維持、肝繊維症や肝細胞癌の予防による寿命伸長が報告され^{8,9)}、その保健機能の総説も存在する¹⁰⁾。

メタボロミクスを用いた

腸管腔内ポリアミン増強物質のスクリーニング

腸管内ポリアミンを増やす方法として、当初、筆者らはプロバイオティクスの経口投与を試みていた。複数の小規模ヒト試験で、*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* LKM512株（以下、ビフィズス菌LKM512）の経口投与で統計学的に便中ポリアミンが増加する結果が得られたが、増加する被験者は約7割程度で、特に、糞便中ポリアミンが低濃度の被験者では増加しないケースが多発し謎であった。また、ポリアミン産生菌の探索として300株程度のヒト糞便分離菌株を糞便に接種して培養実験を実施してきたが、複数の被験者由来の糞便で安定してポリアミン濃度を上昇させる菌種（菌株）は検出できなかった。そこで、発想を転換し、糞便中に腸内細菌叢のポリアミン産生を誘導する低分子物質が存在すると考え、統一食を摂取し、食事の影響をなくしたヒト糞便をキャピラリー電気泳動－飛行時間型質量分析装置によるメタボロミクスで探索した¹¹⁾。ヒト腸管内でもっとも高濃度で存在し、活性の強いスペルミジンとスペルミンの前駆体であるプトレッシンに着目し、それと各検出成分との相関性を調べた結果、28成分に有意な相関性が認められた。この中から、糞便培養系でスクリーニングを行った結果、すべてのヒト糞便への添加でプトレッシン濃度の上昇が観察されたアルギニンをポリアミン増強物質として決定した。マウスおよびラットへのアルギニン経口投与でも糞便内プトレッシン濃度が投与量依存的に上昇すること（図1a）、さらに血中では経口投与4～8時間後にスペルミジンが上昇することを認めた（図1b）¹¹⁾。これは、腸管腔のプトレッシンが生体内に吸収されスペルミジンに変換されることを示唆している。

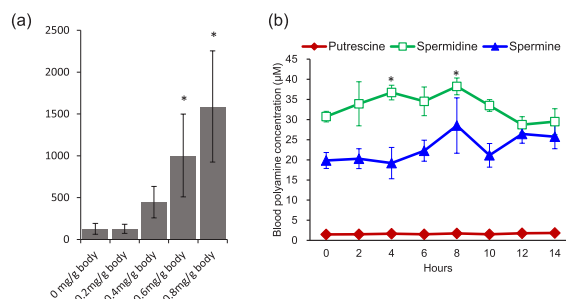


図1. アルギニン経口投与による糞便および血中ポリアミン濃度の影響. Mean $\pm$ SEM. (a) 9週齢雄性マウスに3時間の絶食後、アルギニンを各濃度で強制経口投与後、3–4時間後の糞便抽出液を用いて測定した ($n = 8$). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (vs. 0 mg/body). (b) 頸静脈カニューレ挿入ラット (雄性, 9週齢) に3時間の絶食後、アルギニン (0.9 mg/body) を強制経口投与し経時的に採血した ($n = 5$). * $p < 0.05$ (vs. pre-treatment: 0 h).

腸内ハイブリッド・ブトレッシン生成機構

複数菌種による合成・放出 長年のポリアミン産生菌の探索研究で、単独菌種の添加による糞便培養では再現性の高い菌種の特定には至らなかったことから、複数の腸内細菌が関与している合成・放出経路が存在すると発想を転換した。その結果、ヒト腸内細菌叢の主要グループのそれぞれ代表的な細菌14種をアルギニン含有培養液で混合培養した結果、ブトレッシン濃度が単独培養時の平均の約10倍になることを見いだした。さらに、2菌種ずつの組合せで混合培養した結果、*Escherichia coli* と *Enterococcus faecalis* の組合せが最高濃度を示し、単独培養時の約8倍のブトレッシンを培養液中に放出することが認められた¹²⁾。

共培養によるブトレッシン生成経路 *E. coli* と *En. faecalis* を単独培養し、その培養液 (菌体除去後) でもう一方の菌を培養した結果、*E. coli* 培養中に、アルギニンの減少、アグマチンの増加、ブトレッシンの微増が観察され、続いてその培養液で *En. faecalis* を培養すると、アルギニンとアグマチンの消失に伴いブトレッシンの増加が確認された。一方、*En. faecalis* 単独培養液で大腸菌を培養してもブトレッシンの産生は認められなかった。この結果から、*E. coli* がアルギニンを利用して放出するアグマチンを *En. faecalis* が吸収し、ブトレッシンを放出していることが認められた。以上の結果および過去の研究報告から、*E. coli* が保有するアルギニンを利用する耐酸性機構と *En. faecalis* が保有するアグマチンを利用したATP産生機構が組み合わさることで、アルギニンからブトレッシンが作られ、放出されているとの仮説を立案した (図2の *E. coli* と *En. faecalis* の箇所参照)。

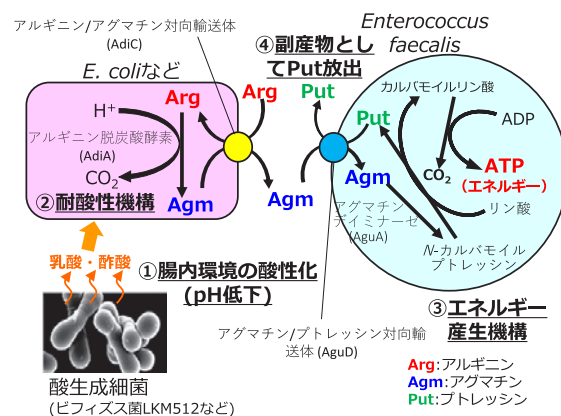


図2. 腸内ハイブリッド・ブトレッシン生成機構の概要図 (文献12を改変). ①ビフィズス菌などの酸生成細菌由来の酢酸・乳酸などで、腸内環境が酸性化する (pH低下). この酸性化が本機構のトリガーとなる. ②酸性環境で生き残るためアルギニンを利用する耐酸性機構を保有する腸内常在菌 (*E. coli* など) は、この機構を作動させ、菌体内pHを中性に保つ. その際、環境中のアルギニンを取り込み、菌体外にアグマチンを放出する. ③アグマチンを利用したATP (エネルギー) 産生機構を保有する腸内常在菌 (*En. faecalis*) は、放出されたアグマチンを取り込み、この機構を作動させてATPを産生する. ④その際、アグマチンを取り込み、副産物としてブトレッシンが菌体外に放出され、腸管内ブトレッシン濃度が上昇する.

この仮説を検証するために、*E. coli* のアルギニンを利用した耐酸性機構に関与しているアルギニン/アグマチン対向輸送体 (AdiC) の遺伝子の欠損菌株と相補菌株を作製し、これらを用いて混合培養実験を行った。その結果、遺伝子欠損株を使用した場合は、ブトレッシン放出が消滅し、相補株を使用した場合はブトレッシン放出量が回復し、本合成経路のブトレッシン放出にAdiCが関与することが確認された。同様の実験を *E. coli* のアルギニン脱炭酸酵素 (AdiA)、*En. faecalis* のアグマチン/ブトレッシン対向輸送体 (AguD) に対しても行い、同様の結果を得た。以上の結果から、上記仮説は正しいことが遺伝子・分子レベルで証明された¹²⁾。

本合成経路のトリガー ビフィズス菌は酢酸と乳酸を放出する。*E. coli* と *En. faecalis* によるブトレッシンの放出は、酸性条件 (pH 5.0~6.5) で促進されることから、ビフィズス菌が腸内環境を酸性化 (pH低下) することでブトレッシン放出を促進する可能性が推測された。そこで、経口投与でポリアミン濃度上昇を確認済みのビフィズス菌 LKM512 を用いて、*E. coli* と *En. faecalis* を共培養した結果、ブトレッシンの増加が確認された。また、これら3菌種を用いたノトバイオートマウス実験を行った結果、3菌種すべてが定着したマウスの糞便は、*E. coli* と *En. faecalis* の2菌種が定着したマウスの糞便よりも、pHが低く、糞便中ブトレッシン濃

度が高い結果が得られた。もちろん、ビフィズス菌が存在しなくても腸管内に酸生成菌が存在すれば、本経路は活性化する。筆者らが知る限り、3菌種の組合せによる生合成経路の報告例はなく、しかも遺伝子レベルで解明されており、腸内細菌叢による代謝産物の研究分野において重要な知見である¹²⁾。

本生合成経路のヒト腸管内での普遍性 ヒト新鮮糞便を中性～酸性域の緩衝液で希釈し嫌気培養した結果、酸性域ではブトレッシン濃度が増加することが認められ、ヒト腸内細菌叢においても、腸内環境の酸性化が、ハイブリット・ポリアミン生合成機構のトリガーとなることが確認された。

*E. coli*はヒト腸内ではマイナーであるため、*E. coli*の耐酸性機構に関与する遺伝子(AdiA, AdiC)のホモログを保有する*Fusobacterium varium*を用いて、*En. faecalis*との組合せで、混合培養系およびノトバイオオートマウス実験を行い、ブトレッシンが放出されることを確認した。これは、ハイブリット・ポリアミン生合成機構は特定の2菌種(*E. coli*と*En. faecalis*)だけではなく、同様の耐酸性機構を保有する他の腸内細菌の存在下でも機能することを示している¹²⁾。

マウスにおける健康寿命伸長効果

ビフィズス菌LKM512とアルギニンを用いた12か月齢マウスに半年間投与して比較したところ、それぞれに老年病の主要因である炎症マーカーや老化マーカーの抑制効果が認められたが、併用することでもっとも効果が高まった。そこで14か月齢ICRマウス(日本人平均寿命換算すると50歳前後に相当、 $n = 70/\text{群}$)を用いてビフィズス菌LKM512とアルギニン(LKM512 + Arg)の併用経口

投与を行った。LKM512 + Argの週3回の経口投与によりICRマウスで寿命が伸長し、腸内ポリアミン濃度の上昇が寿命伸長に有効であることが確認できた(図3a)¹¹⁾。本実験系ではLKM512 + Arg投与によるポリアミン以外の変動ファクター(たとえば腸内細菌叢変動)も存在すると考えられるため、ポリアミンの効果と断定できない。しかしながら、ポリアミンの経口投与によるマウスの寿命伸長効果は他のグループからも報告されており⁷⁻⁹⁾、ポリアミンの効果である可能性はきわめて高いと考えている。

また、脳機能の維持にも着目し、モリス水迷路試験による空間認識・学習記憶力の測定を行った。1週間の訓練期間を終えた後のプローブ試験の結果、投与開始前は両群間に差がなかったが、投与6か月後(20か月齢)にはLKM512 + Arg投与群の方が有意に成績が高く、加齢時の学習記憶力の維持にポリアミンの有効性が示唆された(図3b)¹¹⁾。寿命伸長効果と同様に、LKM512 + Arg投与は、ポリアミン以外の変動ファクターが存在するため、ポリアミンの効果と断定はできない。しかしながら、スベルミジンとスベルミンは脳内のグルタミン酸受容体であるN-methyl-D-aspartate (NMDA) レセプターに結合し、その活性化および抑制化を介して学習・記憶力に関与していることや^{13,14)}、ポリアミン合成阻害による学習記憶の低下がラットで報告されており¹⁵⁾、ポリアミンが脳機能に影響を与えているのは間違いない。一方、腸管腔内ポリアミンが脳組織に到達するには血液脳関門を通過する必要があるが、それが認められた報告はない。しかしながら、ショウジョウバエの研究では、スベルミジン経口投与により、加齢に伴う記憶力低下が抑制され、それがオートファジー誘導に依存することが報告されている¹⁶⁾。筆者らは、血液脳関門経由ではなく、迷走神経

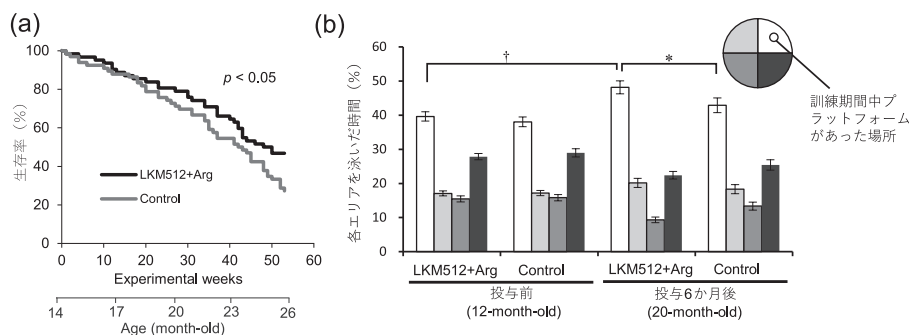


図3. マウスへのLKM512 + アルギニン投与が寿命および空間認識学習力に及ぼす影響。(a) 生存曲線(Kaplan-Meier survival curve). 雌性マウス($n = 70/\text{群}$). (b) モリス水迷路試験でのプローブ試験結果. 決まった場所に透明プラットフォームを置き(水面下に置きマウスからは見えない), 3回/日, 1週間の訓練(実際に泳がせて位置を覚えさせる. 一定時間内にプラットフォームに到達できなかった場合は, プラットフォームに人為的に乗せて15秒間景色を覚えさせる)を繰り返し, プローブ試験ではプラットフォームを取り除き, そのエリアを遊泳した時間を比較する(棒グラフの色は右上の位置を示す). $*p < 0.05$ (Student's *t*-test), $^{\dagger}p < 0.01$ (paired *t*-test).

経路や臓器間ネットワークを介して作用している可能性を推測しており、今後の課題である。

血管内皮機能をターゲットとしたヒト臨床試験

ポリアミンの有する抗炎症作用やオートファジー促進作用から有効性が期待される血管内皮機能を対象にヒト効果判定試験を行った¹⁷⁾。BMIが高めの健常成人(平均年齢45歳)を対象に、ビフィズス菌LKM512とアルギニン含有ヨーグルト(LKM512+Argヨーグルト)およびプラセボ(これらを含まない通常ヨーグルト)の12週間のランダム化二重盲検並行群間比較試験を実施した。その結果、LKM512+Argヨーグルト群ではプラセボ群と比較して、血管内皮機能(EndoPATで評価)の有意な改善効果が認められた(図4)。また、この効果を裏付けるように、LKM512+Argヨーグルト群ではプラセボ群と比較し、摂取12週目に血圧が低い傾向を示し、血小板数が有意に減少した。さらに、LKM512+Argヨーグルト群ではプラセボ群と比較し、糞便中プトレッシン濃度が有意に高く、同時に血清スベルミジンが有意に高濃度であった。これらの結果は、LKM512+Argヨーグルトの摂取により腸内でプトレッシンが生合成され生体に吸収され、その後、生体内でプトレッシンより変換されたスベルミジンの作用により血管内皮機能が改善したことを示唆している。これは、本技術(機能性食品)がヒトにおいても効果を発揮し、超高齢社会に突入した我が国において健康寿命の伸長に有効である可能性を強く示唆している。

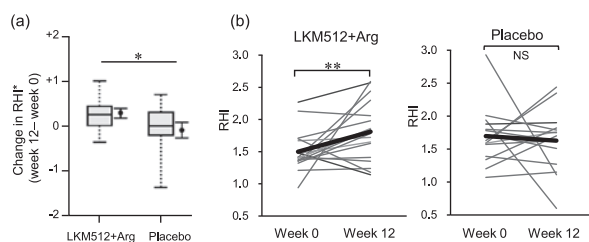


図4. LKM512 + アルギニン含有ヨーグルトが血管内皮機能に与える影響。(a) 血管内皮機能(RHI[※])の変化量。箱ひげ図のひげは5%値と95%値、箱は四分位範囲(25%–75%)、箱中の線は中央値を示し、箱ひげ図横に平均値(黒点)と標準誤差を表記した。 $*p < 0.05$ (Two-way ANOVA)。(b) 血管内皮機能(RHI)の群内変化。黒い太線は平均値を表す。 $**p < 0.01$ (paired *t*-test)；NS：差なし。

※注 RHI (Relative hyperemia index, 反応充血指数)：EndoPATで測定した血管内皮機能を表す数値。両手の指2本にプローブを装着して、指先の脈波を計測する。途中で片腕を駆血し、駆血前後の脈波の差から算出する。

また、腸内環境研究分野においては、個体差の大きい腸内細菌に特定の代謝産物(生理活性物質)を産生させ、その血中移行を確認し、保健効果を得ることに成功した重要な知見である。

おわりに

ポリアミンと他の多くの動植物由来の機能性食材との間には、本稿で示した生命活動の本質に関わる点や機能の多様性以外にも決定的な違いがある。それは、他のほとんどの機能性食材候補がヒトの体内で合成されない物質、たとえばポリフェノールなどは植物体内で合成されるのに対し、ポリアミンは我々の細胞内に合成系および分解系を保有し、生体内に普遍的に存在しているきわめて希な物質である点である。すなわち、生体への親和性が他の食材と比較して圧倒的に高い物質であり、一般の機能性食材の実用化において障壁となる吸収や過剰摂取の問題はほとんどなく、超高齢社会対策にきわめて有望な物質と考えられる。

謝 辞

本研究成果の一部は、農研機構生物系特定産業技術研究支援センター・イノベーション創出基礎的研究推進事業の支援を受けて得られたものである。一連の研究で常にディスカッションをしていただいた辨野義己先生(理化学研究所)と栗原新先生(近畿大学)に深謝致します。糞便メタボロミクスの条件検討などでご協力いただきましたヒューマン・メタボローム・テクノロジーズ(株)に感謝致します。

文 献

- 1) Medina, M. A. *et al.*: *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, **38**, 23 (2003).
- 2) Das, R. *et al.*: *Exp. Gerontol.*, **17**, 95 (1982).
- 3) Pucciarelli, S. *et al.*: *Rejuvenation Res.*, **15**, 590 (2012).
- 4) Uda, K. *et al.*: *J. Gastroenterol. Hepatol.*, **18**, 554 (2003).
- 5) Matsumoto, M. *et al.*: *Sci. Rep.*, **2**, 233 (2012).
- 6) Eisenberg, T. *et al.*: *Nat. Cell Biol.*, **11**, 1305 (2009).
- 7) Soda, K. *et al.*: *Exp. Gerontol.*, **44**, 727 (2009).
- 8) Eisenberg, T. *et al.*: *Nat. Med.*, **22**, 1428 (2016).
- 9) Yue, F. *et al.*: *Cancer Res.*, **77**, 2938 (2017).
- 10) Madeo, F. *et al.*: *Science*, **359** (2018).
- 11) Kibe, R. *et al.*: *Sci. Rep.*, **4**, 4548 (2014).
- 12) Kitada, Y. *et al.*: *Sci. Adv.*, **4**, eaat0062 (2018).
- 13) Williams, K. *et al.*: *Mol. Pharmacol.*, **45**, 803 (1994).
- 14) Masuko, T. *et al.*: *Mol. Pharmacol.*, **55**, 957 (1999).
- 15) Gupta, N. *et al.*: *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **100**, 464 (2012).
- 16) Gupta, V. K. *et al.*: *Nat. Neurosci.*, **16**, 1453 (2013).
- 17) Matsumoto, M. *et al.*: *Nutrients*, **11**, 1188 (2019).

アミノ酸代謝が鍵となる酵母の長寿メカニズム

水沼 正樹

はじめに

高齢化が進む現代の日本において、老化を遅延させることにより健康寿命を延ばすことは、QOLの向上のみならず、医療費・介護費などの削減にもつながる重要課題の一つである。一方、老化・寿命に関する基礎研究では、線虫 (*Caenorhabditis elegans*) を用いた解析から、一つの遺伝子の変異により長寿になることが明らかにされ¹⁾、老化・寿命を遺伝子レベルで理解することが可能となった。さらに、カロリー制限に代表される食餌制限による寿命延長が酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) を用いた解析からその仕組みが明らかにされ、その他のモデル生物(線虫、ショウジョウバエ、マウス、サルなど)でも同様のメカニズムの存在が確認されたことから、老化・寿命メカニズムは生物種を問わず、共通点が多いことがわかった²⁾。さらに、カロリー制限したマウスでは、老化に伴う疾患の発症リスクが減るなど有益な効果も認められている³⁾。このような背景から、老化・寿命研究は、単に寿命メカニズムの解明にとどまらず、老化に伴う疾患(生活習慣病など)の発症機構、その予防などに貢献することが期待される。

酵母の寿命

出芽酵母の寿命には、「複製寿命」と「経時寿命」の2種類あることが知られている。細胞の分裂回数は決まっており、複製寿命は、一つの母細胞が一生の間に産生する娘細胞の数、すなわち分裂回数で定義される。一方、分裂しない細胞でもその生存率は日々低下するが、経時寿命は培地中の栄養が枯渇した状態における分裂しない細胞の生存率で定義される。酵母も老化に伴ってさまざまな細胞機能が低下し、ヒトと同じように年老いて、最終的には死を迎える。これまでに、出芽酵母を用いた研究から老化・寿命に関する知見が多く見いだされ、またその普遍性も高いことから、老化・寿命を理解するためのもっともシンプルなモデル生物のツールとして用いられている。

酵母の長寿変異株の取得とその表現型

筆者らは、出芽酵母を使ってメチオニン代謝の中でも、

S-アデノシルメチオニン (SAM) の生理機能に着目して解析を行ってきた。SAMはメチオニンとATPから生合成され(図1)、メチル基のドナーとして生命活動に必須な代謝産物である。SAMはメチル化に利用されたのち、S-アデノシルホモシステイン (SAH) になるが、SAHがSAMの拮抗阻害物質で有害であるため、SAH加水分解酵素 *SAH1* (必須遺伝子) により速やかにホモシステインへと変換される(図1)。筆者らが取得していた *sah1* 変異株は、*Sah1* が部分的に機能欠損した温度感受性変異株であった³⁾。 *sah1* 変異株は増殖遅延を示すとともに顕著に経時寿命が短いことが分かった^{3,4)}。興味深いことに、*sah1* 変異株は野生株と比較して顕著にテロメア長の短縮も観察された。これらのことから、*sah1* 変異株を老化細胞のモデルとして利用することにした。筆者らは、長寿メカニズムの解明を目的としているため、短命の酵母の解析ではなく、長寿変異株を取得し、その仕組みを明らかにすることが重要であろうと考えた。そこで、新規長寿変異株を取得することを目的に、まずは *sah1* 変異株が示す増殖遅延の抑圧を指標に、抑圧変異株のスクリーニングを実施した。その結果、*SAH1* における復帰変異が11株取得され、それ以外は101株取得した。なんと101個の変異株はすべて一つの遺伝子座に集約され (*YHR032w*)、その変異は優性変異であった (*SSGI* 変異と命名)。さらに、取得した *sah1 SSGI* 二重変異株および *SSGI* 単独変異株の経時寿命を測定したところ、両者とも野生株よりも寿命が延長した⁴⁾。このことから、目的とした長寿変異株の取得に成功した。

これまでに、長寿命の酵母はストレスに対して耐性を

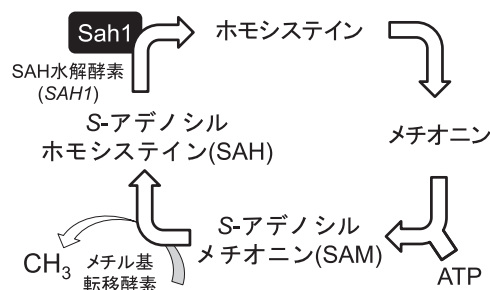


図1. 出芽酵母のメチオニン代謝経路図

示すことも多く報告されていたことから、*SSGI* 単独変異株のストレスに対する影響を調べた。その結果、*SSGI* 変異株は過酸化水素による酸化ストレスやヒートショックなどのストレスに対して耐性を示すことが分かった⁴⁾。

さらに、*SSGI* 単独変異株を用いてオミックス解析を実施した。まず、遺伝子発現を調べるため、マイクロアレイ解析を実施した結果、*SSGI* 変異株ではメチオニン代謝とグルコース代謝に関与する遺伝子が多数高発現していた。興味深いことに、これらグルコース代謝関連遺伝子の多くはカロリー制限により誘導される遺伝子と重複していた⁴⁾。このことから *SSGI* 変異株ではカロリー制限様の現象が起こっていることが予想された。このことを確かめるため、*SSGI* 変異株をカロリー制限すると、野生株にカロリー制限した寿命の結果と同程度になった⁴⁾。このことから、*SSGI* 変異株はカロリー制限模倣株になっていることが示唆された。次に、代謝の変化を調べるため、メタボローム解析を行ったところ、*SSGI* 変異株ではメチオニンの減少とSAMの高蓄積が観察された⁴⁾。これは、先述のメチオニン代謝系の遺伝子の高発現の結果を裏付けるものであった。

SSGI 変異株の寿命延長メカニズム

SSGI 変異株はSAMを高蓄積していたことから、寿命延長に単にSAM自身が高蓄積すればいいのか、あるいはSAM合成活性化のどちらが重要なのか調べた。まず、培地中にSAMを添加し、野生株にSAMをとり込ませてみたが、寿命延長は観察されなかった。次に、SAM合成酵素を過剰発現する株を作製し、SAM合成を活性化させ、SAMを高蓄積させたところ、寿命が延長した(図2)。さらに、*SSGI* 変異株にSAM合成酵素を同時に破壊した株(*SSGI sam1Δ*)を構築し、その寿命を調べたところ、*SSGI* の寿命延長効果は消失した⁴⁾。

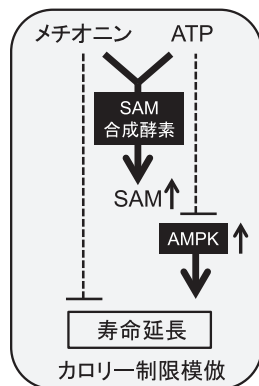


図2. 出芽酵母の促進による寿命延長メカニズム

以上の結果から、SAM合成活性化が寿命延長に重要であることが分かった。

これまでに、カロリー制限をすると、ATPの減少によりAMP依存性プロテインキナーゼ(AMPK)が活性化し、異化代謝が促進され、長寿命となることが知られている⁵⁾。先述のようにSAM合成には、メチオニンとATPを必要とする(図2)。したがって、*SSGI* 変異株やSAM合成酵素過剰発現株では、ATPが消費されることによりAMPK活性が亢進することが予想された。実際、これら両株共にAMPKの活性化が観察され、*SSGI* 変異株にAMPKを破壊した株は寿命延長しなかった⁴⁾。

SAM合成促進の生理的意義

SAM合成促進による寿命延長の生理的意義を明らかにするため、野生株を用いて培地のグルコース濃度を变化させ、SAMの蓄積と寿命との関連を調べた。その結果、通常培地で使用している2%グルコース濃度で培養すると、SAMはほとんど検出されなかった。次に、0.05%グルコースで培養すると有意にSAMの蓄積が観察され、AMPKの活性化および寿命延長も観察された。一方、SAM合成酵素を破壊した株では、寿命延長は観察されなかった⁴⁾。以上の結果から、SAM合成促進および関連するシグナル伝達は、食餌制限のメディエーターという役割を持つことが示唆された(図2)。

おわりに

最近の寿命研究のトピックスとして、栄養状態や腸内細菌叢などの環境因子が原因で生じた特定の代謝産物が寿命を制御する例が見いだされている。たとえば、 α -ケトグルタル酸⁶⁾や硫化水素(H_2S)⁷⁾などがモデル生物の寿命延長効果を示すことが報告されている。これまでSAMはメチル基供与体としての役割が広く注目を浴びているが、今回筆者らは、SAM合成促進および関連するシグナル伝達経路による寿命制御機構を初めて見いだした。SAMは抗鬱、肝機能、アルツハイマー病などの疾患や質の高い睡眠にも効果があることも示唆されている。また、2型糖尿病治療薬として使用されているメトホルミンはAMPKの活性化に関わることも報告されている⁸⁾。これらのことは、SAM合成促進によるAMPK活性化とSAM蓄積は生体にさまざまな利点をもたらすことが期待される。老化を抑制・遅延させることは老化に伴って発症する疾患の予防につながる。特に代謝産物や代謝経路は高等生物にも高く保存されていることから、代謝産物による寿命制御メカニズム解明は“健康寿命”の延長に貢献することが期待できる。

謝 辞

本研究の一部は、公益財団法人発酵研究所及び公益財団法人野田産業科学研究所および科研費（16H04898）の支援によって行われた。

文 献

- 1) Friedman, D. B. and Johnson, T. E.: *Genetics*, **118**, 75 (1988).
- 2) Fontana, L. *et al.*: *Science*, **328**, 321 (2010).
- 3) Mizunuma, M. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 16 (2004).
- 4) Ogawa, T. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, 11913 (2016).
- 5) Mair, W. and Dillin, A.: *Annu. Rev. Biochem.*, **77**, 1 (2008).
- 6) Chin, R. M. *et al.*: *Nature*, **510**, 7505 (2014).
- 7) Hine, C. *et al.*: *Cell*, **160**, 1 (2015).
- 8) López-Otín, C. *et al.*: *Cell*, **166**, 802 (2016).

玄米機能成分を活用する脳機能改善 ～人生100年時代を生き抜く健康脳づくりのアプローチ～

益崎 裕章^{1*}・岡本 士毅¹・小塚智沙代^{1,2}
山崎 聡^{1,3}・尾形 絵美³・島袋 充生³

はじめに

「天然の完全食」と呼ばれる玄米には多彩な機能成分が含まれている。γ-オリザノールは五穀の中では米糠(玄米)に特異的かつ高濃度に含有される機能成分であり、分子シャペロンとして機能し、視床下部の小胞体ストレスを軽減して動物性脂肪依存を緩和する。さらに、γ-オリザノールは膵β細胞における小胞体ストレスを軽減して膵島機能を改善し、高血糖を改善する。ゲノム修飾(エピゲノム)とはDNAの塩基配列の変化を伴わない情報記憶と遺伝子の発現調節であり、発生や分化など多様な生命現象に関わる。エピゲノムはDNAメチル化やヒストン修飾、クロマチン構造の形成やリモデリングにより制御されており、特に、食品成分やそれらの代謝物がエピゲノム・コントローラーとして機能することが注目されている。γ-オリザノールは脳内報酬系に作用してDNAメチルトランスフェラーゼを阻害し、動物性脂肪

の過剰摂取によって減弱するドパミン受容体の転写活性を促進し、“満足しない脳”を“足るを知る脳”に変える効果を持つことが明らかになった。

玄米がもたらす抗メタボ作用の分子メカニズム

近年、玄米による多彩な代謝改善効果の実相が明らかになってきた。筆者らの研究チームが沖縄県在住のメタボリックシンドローム男性を対象に実施した臨床試験の結果、玄米による血管内皮機能改善効果、脂肪肝改善効果、体重減少効果が明らかになった¹⁾。筆者らはマウスを用いた一連の研究から、動物性脂肪の過剰摂取によって亢進する視床下部の小胞体ストレス(ERストレス)が動物性脂肪に対する嗜好性を高め、動物脂肪依存に陥る悪循環のメカニズムを世界で最初に明らかにした²⁾。一方、玄米に高濃度に含有される機能成分、γ-オリザノールが分子シャペロンとして機能し、亢進した視床下部のERストレスを軽減し、動物性脂肪依存を緩和すること

玄米機能成分 γ-オリザノールの新たな作用点・新たな作用メカニズム

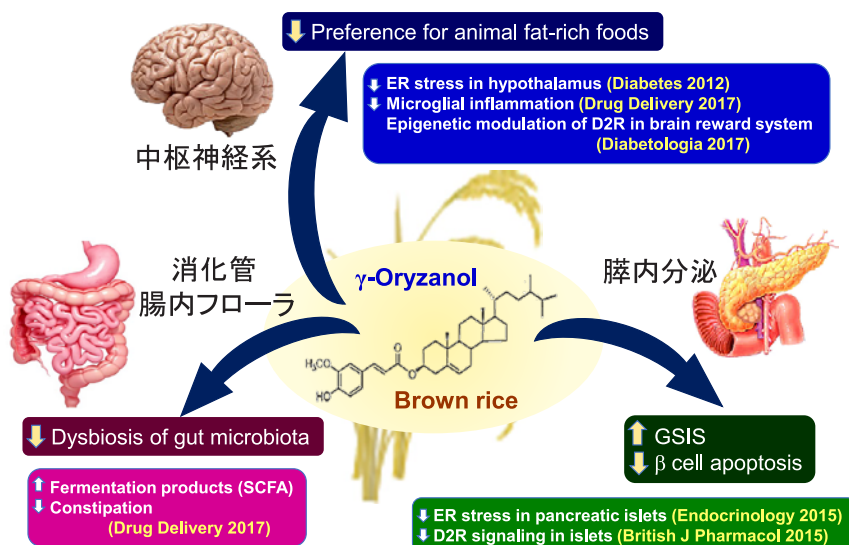


図1. γ-オリザノールは脳、膵内分泌系、腸内フローラに作用して多彩な代謝調節機能を発揮する

著者紹介

¹琉球大学大学院医学研究科内分泌代謝・血液・膠原病内科学講座(第二内科)

²理化学研究所生命医科学研究センター, ³福島県立医科大学糖尿病内分泌代謝内科学講座

*E-mail: hiroaki@med.u-ryukyu.ac.jp

を実証した²⁾。筆者らの研究により、 γ -オリザノールが脂肪毒性に伴う膵島機能不全を改善し、グルコース応答性インスリン分泌の増強やグルカゴン過剰分泌の抑制に貢献することも明らかになっている^{3,4)}。

さらに最近、 γ -オリザノールがゲノム修飾（エピゲノム）機序を介して脳内報酬系の機能を改善する新たなメカニズムも解明された⁵⁾。日本人が古来、慣れ親しんできた玄米の中に優れた抗メタボ・脳機能改善物質が豊富に含まれていることは重要な発見であり、実効性に乏しい無理なダイエットから脱却し、自然なかたちで肥満症、糖尿病、食行動異常を予防・改善する医療ツールとして γ -オリザノールの効果に期待が寄せられている（図1）。

肥満者の脳に生じている慢性炎症と小胞体ストレス

動物性脂肪の過剰摂取は脂肪細胞ホルモン、レプチンの視床下部作用を減弱させ（レプチン抵抗性）、食欲を抑制できなくなることに加え、運動報酬も低下し、身体活動量が顕著に低下する⁶⁾。高カロリー食に耽溺するうえ、消費カロリーも減弱するというダブル・パンチに見舞われ、マウスはいっきに肥満する。

視床下部においては主に弓状核が指令塔となってホルモン・自律神経系が担う食欲の恒常性維持を制御している（メタボリック・ハンガー調節系）。動物性脂肪の過剰摂取は視床下部の炎症や細胞ストレス（ERストレスや酸化ストレス）を誘導し、メタボリック・ハンガー調節系の機能を麻痺させ、個体にとって必要な摂取カロリーを脳が正しく判断できない状態に陥れる⁷⁾。マウスに動物性脂肪餌を与えると短期間に視床下部に活性化ミクログリアが浸潤し、脳のダメージと白血球の遊走が進行し、やがて脳は慢性炎症に陥る。このような脳の炎症は肥満マウスを定期的に運動させることによって劇的に改善することも注目される⁸⁾。

野生型C57B6マウスを48時間絶食させた後、高炭水化物餌と高動物性脂肪餌を並べて給餌するとマウスは低血糖の遷延を回避すべく、ほぼ100%、高炭水化物餌を選択する。一方、高動物性脂肪餌を与えて肥満させたマウスに対して同様の実験をすると、低血糖にもかかわらずマウスは高炭水化物餌ではなく再び高動物性脂肪餌を選択する。マウスに通常餌と高動物性脂肪餌を同時に与え、自由に選択させる実験系において、分子シャペロンとして機能する4フェニル酪酸（4-PBA）を投与しておくが高脂肪餌を選択する割合が有意に減少し、肥満や高血糖が改善する²⁾。

動物性脂肪に対する依存と麻薬・ニコチン・アルコールなどの依存症との間の脳内分子メカニズムの類似性も

興味深い。依存症においては刺激物質の摂取量が増加していく仕組みは、脳内報酬系の刺激認識閾値が次第に上昇していき、それまでの摂取量では脳が満足や喜び（報酬）を得られなくなるという点で共通している。コカインやヘロインなどの麻薬依存ラットと同様、動物性脂肪の高カロリー餌を与えて肥満させたラットにおいても動物性脂肪に対して脳内報酬系が反応できるレベルが上昇していき、餌の摂取による脳内報酬が得られにくくなる。麻薬・ニコチン・アルコールに対する依存モデルラットでは依存性物質の強制的遮断を行うと脳における依存性は3日以内に急速に消褪していくが、動物性脂肪に対する依存性は動物性脂肪餌を止めてから2週間経過しても改善しない。動物性脂肪は脳において麻薬以上に麻薬的に作用していることがわかる⁹⁾。

γ -オリザノールによる脳内小胞体ストレス抑制効果

コメの学名はOryza Sativaであり、まさに“コメの油”という名称を冠する γ -オリザノールは1953年に我が国の研究者、土屋らにより玄米中から世界で最初に分離抽出された。数種のトリテルペンアルコールのフェルラ酸エステル化合物である。筆者らのマウス実験から、経口投与された γ -オリザノールの一部はエステル結合を保持した完全体のままで血液脳関門を通過して高濃度で脳に分布し、8時間程度、停留することが判明している³⁾。

筆者らは動物性脂肪に対する嗜好性をマウスで評価するため、マウスに通常餌と高動物脂肪餌を同時に与えて自由に選択させる実験を行った。C57/B6マウスはヒトと同様、動物性脂肪に対する嗜好性がきわめて強く、通常餌と高動物性脂肪餌を同時に給餌して選択させると、ほぼ100%高動物性脂肪食を好む。一方、マウスに与える通常餌、動物性脂肪餌の炭水化物の一部を等カロリーの玄米粉末あるいは白米粉末で置換した餌を作製してマウスに与えたところ、炭水化物の一部を玄米粉末で置換した餌を給餌されたグループにおいてのみ、動物性脂肪餌に対する嗜好性が有意に軽減し（約20%）、結果的に、マウスの肥満や糖脂質代謝異常が顕著に改善した²⁾。さらに筆者らはHEK293細胞を用いて、ツニカマイシンによって誘導される小胞体ストレス応答性領域の転写活性を γ -オリザノールが有意に抑制することを確認しており、 γ -オリザノールが生細胞レベルでもシャペロンとして機能することを明らかにした²⁾。胎児マウス大脳皮質由来神経細胞初代培養系を用いた実験においても、 γ -オリザノールがツニカマイシンによって誘導されるERストレス関連分子の遺伝子発現を顕著に抑制することを明らかにしている²⁾。

γ -オリザノールによる脳内エピゲノム制御効果

脳内の報酬シグナルはドパミンニューロンによって伝えられるが、肥満者ではコカイン中毒者と同様、線条体におけるドパミン2型受容体 (D2R) の活動低下が認められる。機能的MRIを用いた臨床研究において、肥満者では食事後の線条体の活性化 (血流増加) が顕著に減弱しており、D2Rシグナルが低下していることが明らかになっており、食事による満足 (= 脳内報酬) を適切に受容できないため、“過食の連鎖” が断ち切れないことを示している¹⁰⁾。

動物性脂肪の習慣的な過剰摂取に伴う脳内報酬系のD2Rシグナル低下の分子メカニズムとして、D2R遺伝子のプロモーター領域 (CpGアイランド) におけるDNAメチル化の亢進 (hyper-methylation) によるD2R遺伝子の転写活性の減弱、すなわち、エピゲノムの関与が注目されている。たとえば、動物性脂肪食の環境下で内臓脂肪の蓄積が起こりやすい理由の一つとして、皮下脂肪の蓄積を制御するマスター転写因子、PPAR γ の発現レベルが低下することがマウス実験で報告されている¹¹⁾。このメカニズムにもPPAR γ 遺伝子のプロモーター領域のDNAメチル化亢進が関与しており、高脂肪食による肥満症の病態に関わるUCP-1 (熱産生・エネルギー消費の増加) やアディポネクチン (代謝調節) などの遺伝子群の作用低下においても同様の機序が報告されている。食習慣の偏りや乱れが太りやすい体質を形成するメカニズムとして、動物性脂肪の過剰摂取が代謝・内分泌の恒常性

維持に関わるさまざまな遺伝子のプロモーター領域のDNAメチル化亢進を介して転写を不活性化する機構が注目されており、さらに、多様な食品機能成分やその代謝産物がエピゲノムの調節因子となっていることも重要な知見である¹²⁾ (図2)。

報酬系神経核の中核を成す線条体は特定の刺激や行為の価値を学習する役割を担っている。筆者らの研究の結果、動物性脂肪による肥満マウスの線条体ではドパミンD2受容体 (D2R) 遺伝子のプロモーター領域におけるDNAメチル化が明らかに亢進しており、転写抑制に伴ってD2R mRNA発現およびタンパク発現レベルの著明な低下が認められた⁵⁾。動物性脂肪による肥満マウスで観察されるこのような現象は報酬系に特異的であり、視床下部ではまったく認められなかった⁵⁾。

一方、DNAメチル化を担う酵素、DNAメチル基転移酵素 (DNMT) に対する阻害剤を動物性脂肪による肥満マウスに投与するとD2R遺伝子プロモーター領域におけるDNAの高メチル化やD2R発現レベルの低下が正常化し、動物性脂肪に対する嗜好性が明らかに減弱し、肥満が軽減された。同様に、 γ -オリザノールも動物性脂肪による肥満マウスの脳内報酬系に直接的に作用し、DNAメチル基転移酵素 (DNMT) 活性を抑制することにより、動物性脂肪の過剰摂取によって減弱していた2型ドパミン受容体の転写活性を促進し、“満足しない脳”を“足るを知る脳”に変える効果を持つことが明らかになった⁵⁾ (図3)。

動物性脂肪は脳内において部位特異性を持って炎症・

食品成分や代謝産物は
エピゲノム調節系の基質や
co-factor として働き
代謝・生体機能調節において
重要な役割を演じている

人生100年時代
生活習慣病予防・改善
のための食事療法は
食品成分や代謝産物の
分子メカニズムを基盤
とする個別化・精密医療
に向かうと予想される

Rosen E.D. et al.
Diabetes 67:1923-1930, 2018
引用改変

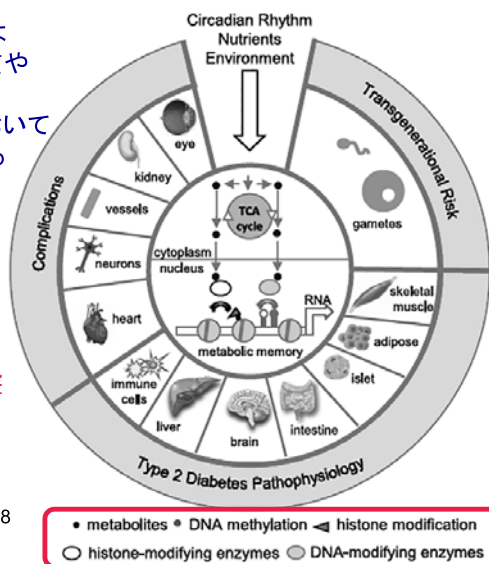


図2. エピゲノム調節因子としての食品由来成分の意義

動物性脂肪による肥満マウス(γ-オリザノール投与マウス)の脳内報酬系(線条体)におけるD2ドパミン受容体の発現量

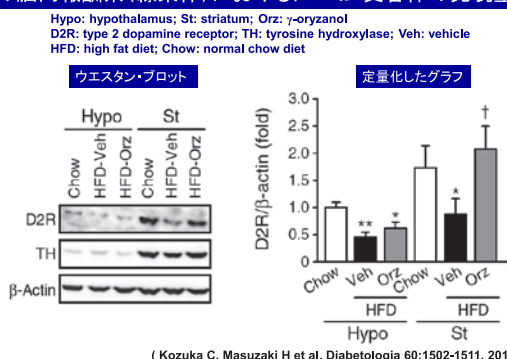


図3. γ-オリザノールは動物性脂肪の摂取によって減少する脳内報酬系の2型ドパミン受容体の発現量をエピゲノム機序によって回復させる

小胞体ストレスとゲノム修飾を惹起し、視床下部と報酬系の双方を作用点として動物性脂肪に対する依存性を形成すると考えられ、γ-オリザノールがこれら両方に作用して動物性脂肪依存を改善するという、きわめてユニークな作用機構が明らかになった⁵⁾(図4)。

おわりに

人類が持つすべての遺伝子が明らかになったにもかかわらず、肥満症や2型糖尿病の発症・進展メカニズムは遺伝子変異(ゲノム変異)だけではほとんど説明できなかった。SNPを含む遺伝子自体の構造異常ではなく、不健康な生活習慣の積み重ねが遺伝子の読み取りパターンを変えてしまうエピゲノムの解明が生活習慣病の予防や改善に向けたブレークスルーの鍵を握っており、現在、ヒトの全“エピゲノム”解読計画が国際的規模で進められている。

動物性脂肪の過剰摂取がもたらす視床下部の炎症や小胞体ストレス、脳内報酬系におけるゲノム修飾は人生100年時代を生き抜く健康脳づくりにおける有力なターゲットであり、γ-オリザノールをめぐる独創的な医学研究を通してジャンクフード・ファストフード漬けに陥ってしまった現代人の食行動を根本から改善する画期的な予防医学アプローチが樹立されることを期待したい¹³⁻¹⁵⁾。

玄米機能成分γ-オリザノールは視床下部・報酬系の両方に働きかけて動物性脂肪依存の悪循環を遮断し食行動を改善させる

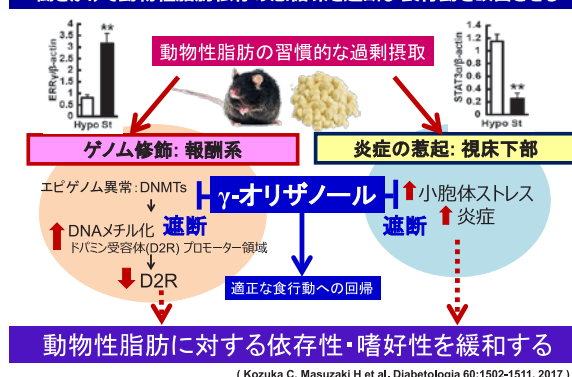


図4. γ-オリザノールは視床下部と報酬系の双方を作用点として動物性脂肪依存を改善する

謝 辞

『生物工学会誌』97-10・11号特集におきまして寄稿の機会を与えていただいた藤井力先生、水沼正樹先生に厚く御礼申し上げます。本稿で紹介した研究成果は内閣府戦略的イノベーション創造プログラム(SIP)「次世代農林水産業創造技術(管理法人: 生研支援センター)の一環として実施されたものであり、一連の研究の推進において多大なる御指導を賜りました阿部啓子教授(東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻)、ならびに、多大なる御支援を賜りました一般財団法人バイオインダストリー協会の秋元健吾部長、矢田美恵子課長に対して深甚の感謝の意を表します。

文 献

- 1) Shimabukuro, M. et al.: *Br. J. Nutr.*, **111**, 310 (2014).
- 2) Kozuka, C. et al.: *Diabetes*, **61**, 3084 (2012).
- 3) Kozuka, C. et al.: *Endocrinology*, **156**, 1242 (2015).
- 4) Kozuka, C. et al.: *Br. J. Pharmacol.*, **172**, 4519 (2015).
- 5) Kozuka, C. et al.: *Diabetologia*, **60**, 1502 (2017).
- 6) Fernandes, M. F. et al.: *Cell Metab.*, **22**, 741 (2015).
- 7) 益崎裕章ら: 実験医学, **34**, 110 (2016).
- 8) Yi, C. X. et al.: *Physiol. Behav.*, **106**, 485 (2012).
- 9) Di Leone, R. J. et al.: *Nat. Neurosci.*, **15**, 1330 (2012).
- 10) Freedman, D. H.: *Sci. Am.*, **304**, 40 (2011).
- 11) Fujiki, K. et al.: *BMC Biol.*, **7**, 38 (2009).
- 12) Rosen, D. E. et al.: *Diabetes*, **67**, 1923 (2018).
- 13) Masuzaki, H. et al.: *J. Diabetes Investig.*, **10**, 18 (2019).
- 14) 益崎裕章: 医師たちが認めた『玄米』のエビデンス(渡邊 昌監修), p. 177, キラジェンヌ社(2015).
- 15) 益崎裕章ら: 生物工学, **97**, 296 (2019).

糖尿病および認知症の複合予防効果の期待される 米飯および米加工食品開発の試み

大坪 研一^{1*}・中村 澄子²

はじめに

WHOの報告によると、世界の糖尿病患者は4億22百万人(2014年)とされ、合併症や寿命の短縮にもつながる大きな問題となっていることから¹⁾、WHOとFAOは、低GI (Glycemic Index) 食品による糖尿病予防を推奨している²⁾。GIの概念は、Jenkinsらによって、血糖値に対する炭水化物の影響によるランキング指標として導入され³⁾、低GI、低グリセミックロード食品が糖尿病、肥満、がん、心臓病などの慢性疾患の予防のために最近広く推奨されるようになってきている⁴⁾。

アルツハイマー病は世界で2500万人以上に影響を与えており、認知症のうちの最大の疾患である⁵⁾。β-アミロイド前駆体タンパク質 (APP) は、β-セクレターゼおよびγ-セクレターゼによって、高度に調節された過程を経てアミロイドβに分解される⁶⁾。現在までに多くのアルツハイマー病治療薬が承認されているが、その効果は、まだ限定的といえる。

最近の疫学研究によると、2型糖尿病とアルツハイマー病にはインスリン抵抗性という点で関連がある⁷⁻⁹⁾。糖尿病は生活習慣病であり、その治療および予防はきわめて重要である。低GI食品は、食後血糖値やインスリン分泌の急激な増加を抑制する。アルツハイマー病では記憶能力が障害を受けるので、γ-アミノ酪酸 (GABA) の影響に関する研究も始まっている¹⁰⁾。糖尿病患者の方が、非糖尿病患者よりもアルツハイマー病を発症しやすいということはよく知られており¹¹⁾、Tokutakeらは、アルツハイマー病とインスリンシグナルとの関係を報告している¹²⁾。

穀類は世界の人々にとって必須の食品素材であり、カロリーの摂取という一次機能、おいしさの提供という二次機能、健康の維持増進という三次機能の点で有用である。たとえば、玄米はビタミンB群、ビタミンE、食物繊維、γ-オリザノール、フェルラ酸、フィチン酸、GABA、さまざまなミネラル、ポリフェノールなどを含んでいる。赤米、紫黒米、紫大麦、紫トウモロコシなどの色素穀類は、抗酸化性の強いポリフェノールを多く含んでいる。

また、物理的あるいは化学的突然変異処理により、高

アミロース米、高食物繊維米などの難消化性澱粉を多く含む米が開発されてきた¹³⁻¹⁵⁾。食品のGIを制御するには、澱粉の分解が鍵となる。α-グルコシダーゼ阻害活性のある機能性食品は、糖尿病発症の危険を抑える効果がヒト試験で立証されている¹⁶⁾。

さらに、米食地域において、慢性疾患の発症が少ないという疫学的研究は、米に含まれる抗酸化成分の効果につながる可能性もある。フェノール酸、フラボノイド、アントシアニン、プロアントシアニン、トコフェロール、トコトリエノール、γ-オリザノール、フィチン酸などが米に含まれている。米ぬかも、γ-オリザノール、フェルラ酸、ステロール、ワックス、セラミド、フィチン、イノシトール、タンパク質などの機能性成分を含んでいる¹⁷⁾。

米ぬか油は、わが国で製造可能な食用植物油であり、酸化安定性に優れ、血中コレステロールを低下させることが報告されている^{18,19)}。Youらは、フェルラ酸を強化した飼料で飼育したマウスにおいて、運動持続性が高まり、抗酸化能の向上によって疲労が軽減されたことを報告している²⁰⁾。Kozukaらは、マウスにおいて、米ぬかとγ-オリザノールが視床下部の小胞体ストレスを軽減し、食事の脂質への嗜好性が高まったことを報告している²¹⁾。松岡らは、植物ステロール/スタノールが消化管からのコレステロールの吸収を抑制することによって、血中コレステロールを減少させることを報告した²²⁾。発酵玄米の摂取がインスリン分泌を減少させ、血糖上昇を抑制したとの報告があり²³⁾、Abeらは、イノシトール6リン酸を含む米成分が、細胞毒性を生じることなく、神経プラストーマ細胞におけるアミロイドβ産生を抑制し、アルツハイマー病の予防につながると報告している²⁴⁾。

色素米は、主としてぬか層にアントシアニンと呼ばれるフラボノイドの天然色素成分を含んでおり、健康増進効果が報告されている²⁵⁾。Lingらは、赤米や紫黒米が、ウサギのHDLやアポリポタンパク質の増加によるアテローム性動脈硬化におけるプラーク形成を抑制し、酸化状態を向上させることを報告している²⁶⁾。

最近、加熱調理における機能性成分の減少を抑え、機能を向上させるような加工技術、たとえば、発芽処理、高圧処理、混合加熱押出し加工などの技術が報告されて

著者紹介 ¹新潟薬科大学応用生命科学部(教授) E-mail: ohtsubok@nupals.ac.jp

²新潟薬科大学応用生命科学部(准教授)

いる^{27,28)}。高圧処理によって、加工時の水溶性ビタミンなどの損失を防ぎ、栄養性を保持した事例が報告されている²⁷⁾。Yamakuraらは、炊飯前に高圧処理することで、米飯中の遊離アミノ酸が増加し、粘りも増加することを報告した²⁹⁾。

赤身肉や高脂肪乳製品に代表される西洋食の場合、肥満やメタボリックシンドロームになりやすく、2型糖尿病や心臓病を発症しやすいという場合がある。逆に、大豆や魚を食べて動物タンパク質の摂取の少ない伝統的なアジア食の場合は、重い慢性疾患にはかかりにくいという場合がある³⁰⁾。地中海食とアルツハイマー病のような主要な慢性疾患の発症率低下との間に有意の相関が認められている。心臓病やその他の主要な慢性疾患の予防に最適な食事が急速に発展しつつある³¹⁾。

各種の新形質米の開発

わが国において、減少しつつある米の消費を拡大することを目的に、農水省を中心に、新しい形態や特性を有する水稻新品種の開発と利用を図る「新形質米プロジェクト」が1989年に開始された。その中で、低アミロース米、高アミロース米、香り米、色素米、巨大胚芽米などが育成された(図1)。当研究室では、高アミロース米、糖質米、黒米の3種類の新形質米を小麦粉に配合したパンを試作し、良食味性と耐老化性を実現した³²⁾。



図1. 新潟県農業総合研究所で育成された各種の新形質米

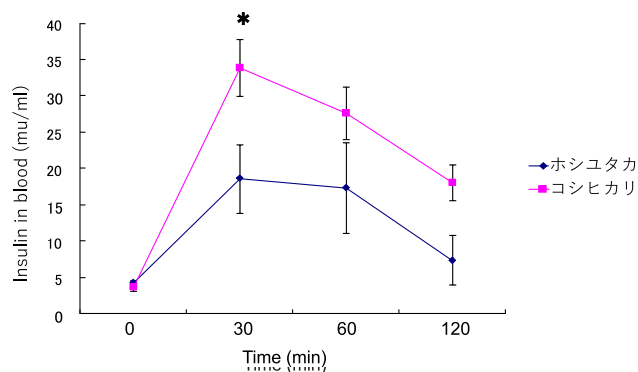


図2. 高アミロース米と一般米の老化飼料給餌におけるマウス血中インスリン濃度

高アミロース米の消化特性

厚生労働省の平成28年「国民健康・栄養調査」によると、わが国における糖尿病患者および予備軍はそれぞれ約1000万人で、合計約2000万人とされている。国民の生活の質を高め、年間42兆円に上る国民医療費を削減する意味からも、糖尿病などの生活習慣病の医薬による治療の推進とともに、食や運動などによる発症予防も重要である。これまでに、食後の急激な血糖上昇を抑制することが、2型糖尿病の発症予防に有効であることが報告されている^{3,4,14)}。

筆者らは、米飯が硬くなる傾向にある高アミロース米が食後血糖上昇抑制に有望と考え、食味評価に加えて、動物試験およびヒト単回投与試験を行った。その結果、高アミロース米は、その名の通り、アミロース含量が30%以上と高く、米飯は硬くて粘りが弱かった。共同研究者である慈恵医大の宇都宮およびキューピー研究所の増田らが実施したヒト単回投与試験の結果、高アミロース米(ホシユタカ)は、一般食用米(コシヒカリ)より食後血糖上昇が緩やかで、インスリン分泌も少なかった³³⁾。共同研究者である畿央大の辻の実施した動物試験によると、ヒト試験と同様に、ホシユタカはコシヒカリより食後血糖上昇が緩やかであり、炊飯後2時間において老化させた米飯試料を与えた場合、一般米とのインスリン分泌量の差が拡大した(図2)³³⁾。

巨大胚芽米の発芽玄米

発芽玄米は、玄米に比べて炊飯が容易で食味が良く、精白米に比べて、食物繊維、フィチン酸、 γ -アミノ酪酸(GABA)などの機能性成分を多く含んでいる。

筆者らは、巨大胚芽米(越車)の発芽玄米を調製し、コシヒカリと4:6の割合で混合してバックライスとした(図3)。

この発芽玄米混合バックライスは、コシヒカリ100%のものに比べて、食後の血圧が低く、食後60分、90分において、血糖値が有意に低い結果となった(図4)³⁴⁾。



図3. 一般精白米(左)および発芽巨大胚芽玄米配合(右)の無菌バック米飯

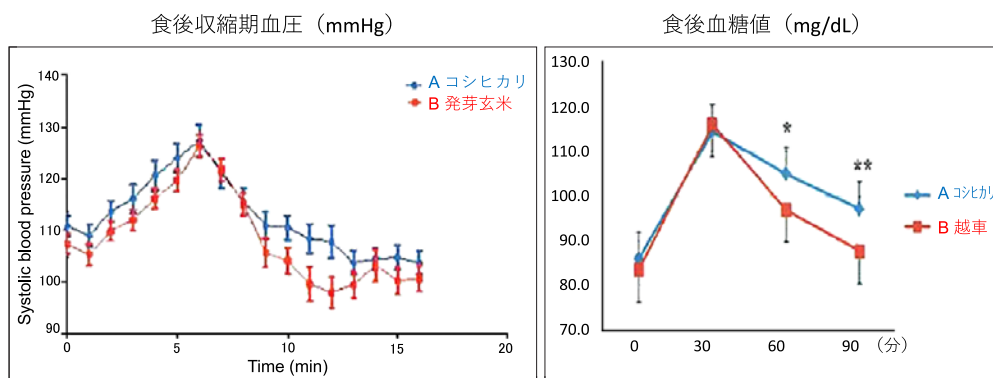


図4. 一般精白米飯と巨大胚芽玄米配合米飯の血圧および食後血糖値の相違

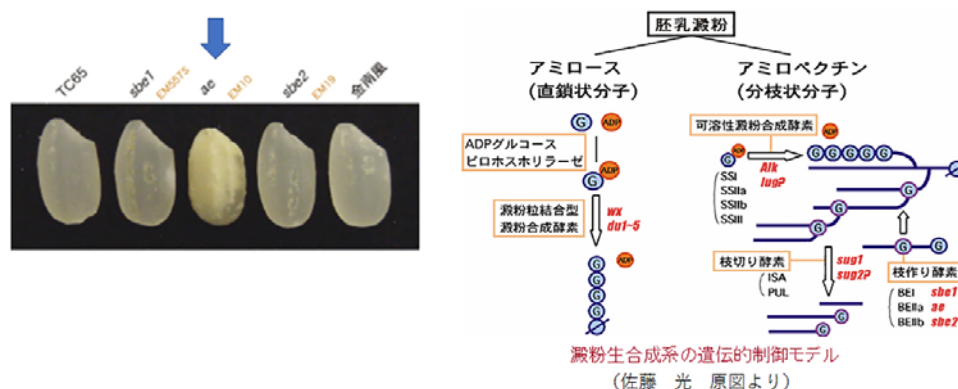


図5. 超硬質米とその澱粉アミロペクチンの分子構造 (一般米との差)

アミロペクチン長鎖型の超硬質米

アミロペクチン長鎖型の超硬質米は、九州大学の佐藤らが、2001年に化学的突然変異によって開発した品種であり、アミロース含量がきわめて高く、アミロペクチンの中・長鎖が多い*ae*変異米である³⁵⁾(図5)。超硬質米の米飯は、きわめて硬くて食味が劣るが、難消化性澱粉を多く含んでいる³⁶⁾。この点から、超硬質米は、肥満予防や糖尿病の発症予防に有望ではないかと考えられた。

筆者らは、超硬質米の食味を改善しながら難消化性を維持させるために、超高压加工を施し、その効果を確かめた^{37,38)}。

黒米・超硬質米配合米飯の 糖尿病・認知症複合予防の可能性

生活習慣病予防のための生化学試験 糖尿病とアルツハイマー病は重要な生活習慣病であり、糖尿病患者はアルツハイマー病の発症率が高くなると報告されている⁷⁻⁹⁾。前述のように、低GI食品は、食後の血糖上昇とインスリン分泌を抑制する^{14,15)}。また、玄米や米油の抗酸化能は、アルツハイマー病の予防に有効ではないかとの報告が

ある¹⁷⁻¹⁹⁾。

筆者らは、内閣府のSIPに参加する中で、一般米コシヒカリの玄米およびアントシアニンを多く含む黒米玄米に超高压処理を施すことで、抗酸化性の指標であるH-ORAC値およびL-ORAC値が増加することを見いだした(図6)³⁹⁾。

前述のように、SIPでは、米飯や米加工食品による糖尿病およびアルツハイマー病の複合予防効果を実現することが筆者らの課題であった^{7,9,14,15)}。超硬質米に黒米糠を5%配合した試料(Super-hard Rice Blended with Black-rice Bran: SRBBB)は、加熱後においても、アミロイドβを精製するβ-セクレターゼおよび神経伝達物質の分解を行うアセチルコリンエステラーゼに対して強い阻害活性を示し、しかも難消化性澱粉を多く含んでおり、上記の目的に合致すると予想された⁴⁰⁾。特に、黒米は、一般米よりも3.6倍高いβ-セクレターゼ阻害活性を示した⁴⁰⁾。

動物飼育試験 新潟大の原らと共同で実施した動物飼育試験では、市販の標準飼料を与えたマウスに比べて、上記の超硬質米の飼料を与えた老齢マウス($p < 0.05$)およびSRBBBを与えた老齢マウス($p < 0.01$)が、飼育4週後において、血中アミロイドβ40が有意に低い値を

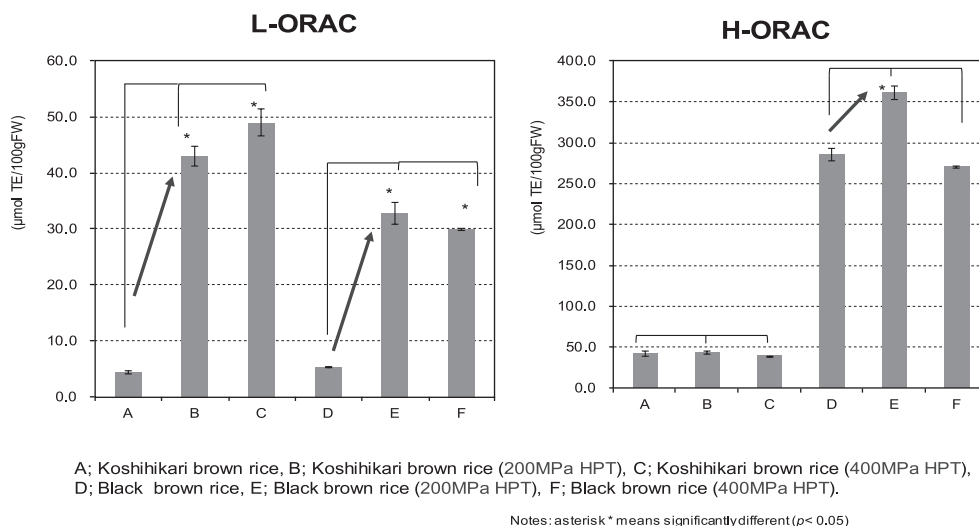


図6. コシヒカリおよび黒米のORAC値への超高压処理の影響

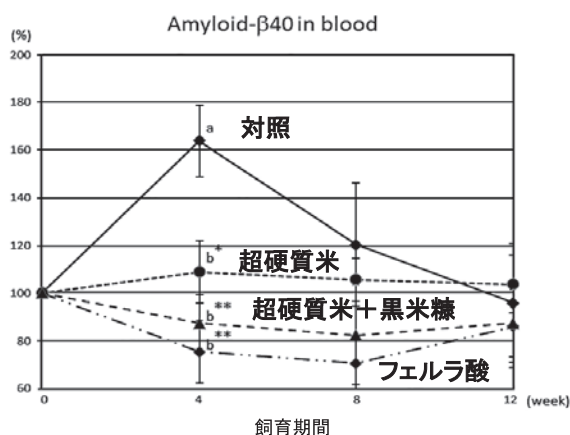


図7. 長期飼育マウスにおける血中アミロイド β の変化

示した(図7)⁴⁰⁾. さらに, SRBBBのマウスの場合, 飼育12週後においても, 初期血糖値が標準飼料を与えたマウスよりも有意に低かった. これらのことから, SRBBBはアミロイド β 産生および食後血糖値の増加の両方を抑制することが示され, 糖尿病・認知症複合予防に有望と考えられた.

ヒト単回投与試験 前節で述べたような糖尿病・アルツハイマー病複合予防効果を証明するには, 血糖上昇抑制効果やアミロイド β 産生抑制効果をヒト試験によって確認する必要がある. そこで筆者らは, コシヒカリ玄米と黒米玄米を6:4の割合で配合して超高压処理後に炊飯した玄米 (Super-hard Rice Blended with Unpolished

表1. 原料米および試料米飯における機能性成分, 抗酸化性および酵素阻害活性

	グルコース含量 (g/100 g)		SD	難消化性澱粉 (%)		SD	ポリフェノール含量 (GAEmg/100 gFW)		SD
コシヒカリ米飯 (精白米)	0.004	a	0.001	0.67	a	0.05	4.83	a	0.00
HPT KO米飯 (玄米)	0.080	b	0.000	1.19	b	0.06	11.58	b	0.03
コシヒカリ精米	0.184	a	0.010	0.52	a	0.01	8.04	a	0.10
コシヒカリ玄米	0.160	b	0.010	0.65	b	0.01	10.61	b	0.21
黒米玄米	0.160	b	0.010	0.89	c	0.01	17.12	c	0.47

	L-ORAC ($\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$)		SD	H-ORAC ($\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$)		SD	β -セクレターゼ阻害活性 (0.27 $\mu\text{g-eq}/\mu\text{L}$)		SD
コシヒカリ米飯 (精白米)	0.37	a	0.00	6.30	a	0.85	—	a	—
HPT KO米飯 (玄米)	4.60	b	0.01	75.50	b	1.16	12.0	b	3.40
コシヒカリ精米	2.90	a	0.10	31.50	a	1.20	—	a	—
コシヒカリ玄米	4.40	b	0.20	41.60	b	3.10	14.0	b	0.00
黒米玄米	5.30	c	0.10	285.80	c	7.80	29.0	c	0.00

HPT KO: 高压処理後に炊飯したブレンド米飯 (コシヒカリ玄米 6: 黒米玄米 4)

黒米品種は「おくのむらさき」

異なるアルファベット数字は有意差のあることを示す ($p < 0.05$).

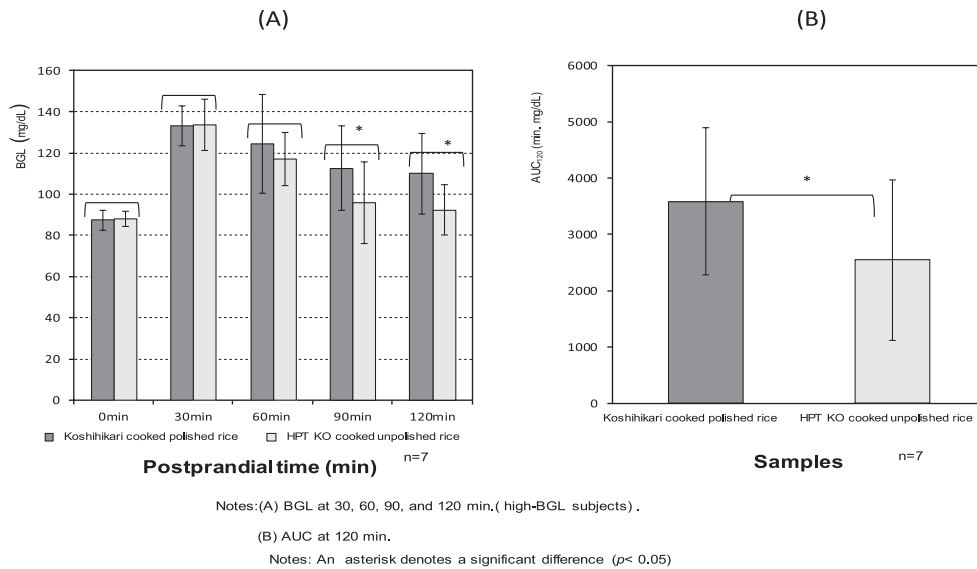


図8. 一般精白米および配合米飯 (HPTKO) におけるBGLおよびIAUC₁₂₀の相違

表2. 12週間のヒト長期試験におけるアミロイドβおよびその比率

項目	測定値				6週間, 12週間の変化量			
	群	測定点	平均値	SD	群	測定点	変化量	SD
アミロイドβ40	試験食	開始時	168.3	26.7	試験食	開始時	0.00	0.00
		6週後	167.5	19.8		6週後	-0.84	22.62
		12週後	170.0	23.5		12週後	1.66	12.55
	対照食	開始時	153.7	21.6	対照食	開始時	0.00	0.00
		6週後	152.6	25.7		6週後	-1.07	10.45
		12週後	156.4	22.3		12週後	2.77	13.94
アミロイドβ42	試験食	開始時	10.6	4.9	試験食	開始時	0.00	0.00
		6週後	10.6	4.9		6週後	0.03	0.63
		12週後	10.6	5.0		12週後	0.05	0.84
	対照食	開始時	9.2	7.0	対照食	開始時	0.00	0.00
		6週後	8.7	7.1		6週後	-0.48	0.79
		12週後	8.8	6.5		12週後	-0.37	1.25
Aβ42/Aβ40	試験食	開始時	0.062	0.026	試験食	開始時	0.0000	0.0000
		6週後	0.063	0.027		6週後	0.0009	0.0052
		12週後	0.061	0.022		12週後	-0.0009	0.0072
	対照食	開始時	0.059	0.040	対照食	開始時	0.0000	0.0000
		6週後	0.057	0.041		6週後	-0.0026	0.0039
		12週後	0.056	0.039		12週後	-0.0030	0.0066

Black Rice : SRBUBR) をヒト試験用の試料とし, コシヒカリ精白米, コシヒカリ玄米, 黒米玄米, コシヒカリ精白米の米飯を比較対照として, 合計5種類の試料について, 成分分析(グルコース, 難消化性澱粉, ポリフェノール), 抗酸化性 (H-ORAC 値, L-ORAC 値) およびβ-セクレターゼ阻害活性を測定した (表1). その結果, 上記の試料は, 炊飯処理後にもかかわらず, 難消化澱粉およ

びポリフェノールが多く, 抗酸化性が強く, β-セクレターゼ阻害活性の残存していることが明らかになった³⁹⁾.

コシヒカリ精白米炊飯米を対照とする上記SRBUBRのヒト単回投与試験 (被験者15名の健常者) の結果, SRBUBRは, 食後90分後と120分後において, 血糖値が対照に比べて有意に低かった. さらに, 被験者を高血糖グループと低血糖グループに分割して解析した結果,

この結果はさらに顕著となり、高血糖グループの食後120分後の血糖上昇曲線化面積 (IAUC₁₂₀) においても有意に低くなった (図8)³⁹⁾。

ヒト長期試験 筆者らは、超硬質米、黒米玄米およびコシヒカリ玄米を40:40:20の割合で配合し、超高压処理後に炊飯したバックライス (Cooked Super-hard Rice Blended with Unpolished Black Rice after High-pressure treatment: CSRBUBRH) を試料とし、コシヒカリ精白米を超高压処理後に炊飯したバックライスを対照として12週間のヒト長期試験を行った。被験者は各群12名で、1日に1個のバックライスを摂食することとし、他の2回は自由とした。試験項目は、主項目が食後血糖上昇の抑制効果、副項目をアミロイドβ産生抑制効果とし、ヒト試験倫理委員会の承認を受けてUMIN登録も行った。

その結果、12週間後の食後30分後の血糖値が有意に低く ($p < 0.05$)、60分後および120分後の血糖値が低い傾向 ($p < 0.1$) が見られた。また、6週間後において、アルツハイマー病態の血中マーカーと報告されているアミロイドβ42/アミロイドβ40の比率の低下⁴¹⁾が有意に抑制されていた (表2)。

被験者全員が12週間の試験を大きな有害事象なく終了し、アンケート結果において本試料米飯の受容性が確認された。今後は、バイオマーカーの測定に加えて、認知機能に関するヒト試験を行い、アルツハイマー予防効果の確認につなげたいと考えている。

謝 辞

本稿では、米および米加工食品による糖尿病・認知症複合予防効果への当研究室のこれまでの取組みについて紹介させて頂きました。本研究は、農水省の新形質米プロジェクトに始まり、機能性プロジェクト、内閣府SIPの支援を頂いて行いました。東京大学阿部啓子先生はじめ、各プロジェクトのリーダーならびに共同研究者の皆様に対し、ここに深甚なる謝意を表します。

また、本稿執筆の機会を与えていただきました、生物工学会の皆様、福島大学の藤井力教授に篤く感謝いたします。

文 献

- 1) World Health Organization: *Global report on diabetes*, p. 6 (2016).
- 2) NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC): *Lancet*, **387**, 1513 (2016).
- 3) Jenkins, D. J. *et al.*: *Am. J. Clin. Nutr.*, **34**, 362 (1981).
- 4) Venn, B. J. *et al.*: *Eur. J. Clin. Nutr.*, **61**, S122 (2007).
- 5) Rissman, R. A. *et al.*: *J. Neural Transm.*, **119**, 843 (2012).
- 6) Liu, L. *et al.*: *J. Cell Biol.*, **218**, 644 (2019).
- 7) Ohara, T. *et al.*: *Neurology*, **77**, 1126 (2011).
- 8) Biessels, G. J. *et al.*: *Brain Stimul.*, **5**, 64 (2006).
- 9) Kasuga, K. *et al.*: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **360**, 90 (2007).
- 10) Mandal, P. K. *et al.*: *J. Alzheimers Dis. Rep.*, **1**, 43 (2017).
- 11) Kawamura, K. *et al.*: *J. Diabetes Investig.*, **18**, 413 (2012).
- 12) Tokutake, T. *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **287**, 35222 (2012).
- 13) Yang, C. Z. *et al.*: *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 523 (2006).
- 14) Goddard, M. *et al.*: *Am. J. Clin. Nutr.*, **39**, 388 (1984).
- 15) Kang, H. J. *et al.*: *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 6598 (2003).
- 16) Kimura, T.: *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, **57**, 57 (2010).
- 17) Taniguchi, H. *et al.*: *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, **59**, 301 (2012).
- 18) Plat, J. *et al.*: *Am. J. Cardiol.*, **96**, 15 (2005).
- 19) Ha, T. Y. *et al.*: *Nutr. Res.*, **25**, 597 (2005).
- 20) You, Y. *et al.*: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **73**, 1392 (2009).
- 21) Kozuka, C. *et al.*: *Diabetes*, **61**, 3084 (2012).
- 22) 松岡啓介: オレオサイエンス, **11**, 119 (2011).
- 23) 山内有信: 日本栄養・食糧学会誌, **65**, 271 (2012).
- 24) Abe, T. and Taniguchi, M.: *FEBS Open Bio*, **4**, 162 (2014).
- 25) Sutharut, J. *et al.*: *Int. Food Res. J.*, **19**, 215 (2012).
- 26) Ling, W. H. *et al.*: *J. Nutr.*, **131**, 1421 (2001).
- 27) Hayashi, R. and Hayashida, A.: *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 2543 (1989).
- 28) Ohtsubo K. *et al.*: *J. Food Compos. Anal.*, **18**, 303 (2005).
- 29) Yamakura, M. *et al.*: *J. Appl. Glycosc.*, **52**, 85 (2005).
- 30) Iso, H.: *J. Atheroscler. Thromb.*, **18**, 83 (2010).
- 31) Sofi, F. *et al.*: *J. Alzheimers Dis.*, **20**, 795 (2010).
- 32) Nakamura, S. *et al.*: *J. Food Sci.*, **74**, E121 (2009).
- 33) 大坪研一ら: 食品工業, **53**, 46 (2010).
- 34) 渡辺賢一ら: J.新潟医学会雑誌, **129**, 199 (2015).
- 35) Nishi, A. *et al.*: *Plant Physiol.*, **127**, 459 (2001).
- 36) Ohtsubo, K. *et al.*: *J. Diabetes Obes.*, **3**, 1 (2016).
- 37) Nakamura, S. *et al.*: *J. Appl. Glycosci.*, **62**, 53 (2015).
- 38) Maeda, S. *et al.*: *J. Appl. Glycosci.*, **62**, 127 (2015).
- 39) Nakamura, S. *et al.*: *J. Diabetes Obes.*, **5**, 22 (2018).
- 40) Nakamura, S. *et al.*: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **81**, 323 (2017).
- 41) Nakamura, A. *et al.*: *Nature*, **554**, 249 (2018).