

略 歴

2006年	3月	京都大学大学院農学研究科 修了
2006年	4月	京都大学大学院農学研究科 教務補佐員
2007年	4月	東京大学大学院 農学生命科学研究科 リサーチフェロー
2008年	4月	静岡県立大学大学院 生活健康科学研究科 助教
2010年	4月	German Institute of Human Nutrition Pos-doc
2012年	4月	東京大学大学院 農学生命科学研究科 特任助教
2020年	4月	京都女子大学家政学部 准教授 現在に至る

酒粕成分摂取による老化依存的な味感受性低下の抑制効果の検討

【目 的】 加齢により味感受性が変化するが、その詳細は不明である。本研究では、S-アデニルメチオンin (SAM) 摂取が加齢に伴う味感受性の変化を抑制しうかどうかを検討した。

【方 法】 実験にはC57BL/6J マウス (♂) を用いた。本研究ではマウスを通常固形食で飼育した若齢および高齢マウスと、60週齢から0.0195% SAMを含有した固形食で飼育したSAM マウスの3群に分けた。若齢マウスは高齢マウスのコントロールとして設定した (8-18週齢)。高齢とSAM マウスは105週齢以降に味感受性を評価した。味感受性は48時間二瓶選択試験にて評価した。この際、塩味 (NaCl)、苦味 (安息香酸デナトニウム) と酸味 (クエン酸) を対象とした。味感受性試験終了後に海馬をサンプリングし、神経成長、炎症や長期記憶に関与する遺伝子の mRNA 発現を定量 PCR 法にて測定した。

【結果及び考察】 SAMを長期間摂取した結果、海馬において長期記憶に関連する遺伝子の加齢による発現量低下が有意に抑制された。しかしながら、各味溶液に対する感受性はSAMと高齢マウスの間に差はなく、SAM 摂取による抑制効果は観察されなかった。したがって、加齢による味感受性の変化は記憶機能とは異なる経路を介して生じると考えられた。

研究背景および目的

我が国は超高齢社会に突入した。日本の高齢化率は27.7%に達し、今後も上昇する見通しである。日本の高齢化の特徴として、寝たきりの期間が長いことが上げられる。この期間は男性で9年、女性では12年にも及ぶ。少子高齢化の中、活力ある社会を維持するためには、寝たきり期間を短縮させる、すなわち高齢者の健康寿命を延伸させることが重要な課題となる。

健康寿命を延伸させるための要因として、栄養バランスのとれた食事があげられる。一般に、老化に伴い、量や構成といった食事の質が低下してしまう。食事の質の低下は体力の低下を招き、体力の低下は食欲の減退を招くという悪循環に陥る。したがって、食事の質を保つことは健康を維持する上で鍵になり得る。では、なぜ老化に伴い食事の質が低下してしまうのか？その原因の一つとして、味感受性の低下が挙げられる。

これまでの研究で、味感受性が加齢によって変化することがヒトやげっ歯類を対象とした研究から示唆されている。しかしながら、その分子メカニズムは不明である。現在我々は、加齢依存的な味感受性変化の要因を明らかにするために、研究を進めている。若年マウスと老齢マウスの末梢味覚検出システムを比較したところ、加齢に伴い味感受性の変化が観察された一方で、末梢味覚器官の顕著な劣化は観察されなかった^{1, 2)}。したがって、加齢による味感受性の変化は口腔内の味覚検出系の劣化以外の要因に起因すると考えられる。最近、味覚機能の加齢依存的な変化には中枢の神経回路の変化が関連することが報告され³⁾、加齢による中枢神経系の変化が味感受性に影響する可能性が示唆されている。

S-アデノシルメチオニン (SAM) は酒粕に多く含まれる機能性成分である⁴⁾。SAMの摂取がうつ病やアルツハイマー病などの中枢疾患に対して有効な作用を示すことが示唆されている。一方で、そのような中枢疾患が味感受性に影響を与えることが示唆されている。例えば、うつ病患者で味覚感度が低下すること⁵⁾や、アルツハイマー型認知症患者では味覚閾値が低下する可能性が報告されている⁶⁻⁸⁾。したがって、SAM 摂取による中枢機能の回復が加齢依存的な味感受性変化を抑制する可能性が期待される。しかしながら、SAMの摂取が加齢による味感受性変化の抑制に繋がるかどうかは明らかではない。そこで本研究では、SAM 摂取が加齢依存的な味感受性の変化を抑制するかどうかを検討した。まず、SAM 摂取による抗老化作用を海馬における遺伝子発現の観点から確認した。続いて、行動学アッセイによりSAMの摂取が味感受性に与える効果を検証した。

実験方法

実験動物

実験にはC57BL/6J マウス (♂) を使用した (日本クレア)。本研究ではマウスを通常固形食で飼育した若齢および高齢マウスと、60 週齢から0.0195% SAMを含有した固形食で飼育したSAM マウスの3群に分けた。若齢マウスは加齢の影響を評価するために高齢マウスのコントロールとして設定した。105 週齢以降に味感受性を評価した。味感受性試験終了後に解剖し、海馬および有郭乳頭サンプルを採取した。

定量PCR測定

海馬と有郭乳頭サンプルを使用して、定量PCR測定を行った。各サンプルからtotal RNAを抽出し、逆転写反応を行い、cDNAを合成した。以下の分子に関するプライマーを設計、もしくは購入し、実験に供した。この際、海馬サンプルは*Gapdh*、有郭乳頭サンプルは*Kcnq1*を内部コントロールとして使用した。

海馬：*Ampa1*、*Activin βA*、*Bdnf*、*eNos*、*Gdnf*、*Gfra1*、*gp91phox*、*IL-6*、*iNos*、*Ngf*、*Ngfr*、*Mcp-1*、*p22phox*、*p47phox*、*p67phox*、*Tnf-α*、*TrkB*、*Vesl-1S*。

味蓄：*Tas2r105*、*Tas1r1*、*Tas1r2*、*Tas1r3*、*Otop1*。

48時間二瓶選択試験

味感受性は48時間二瓶選択試験にて評価した。水と味溶液を48時間提示し、全体の飲水量に対する味溶液の飲水量の割合から嗜好率を算出した。以下の味溶液を使用した：塩味(NaCl) 10–50mM、苦味(デナトニウム) 0.3–3mM、酸味(クエン酸) 1–10mM。

統計検定

値は平均値±標準誤差で示した。統計検定として、2元配置分散分析もしくはWelch's *t*-testを行った(GraphPad Prism 6)。

結果

高齢およびSAM摂取マウスの比較

体重、摂食および摂水量をSAM給餌期間中にモニターした(図1)。給餌期間を通じて、高齢とSAMマウスとの体重に差はなかった。また、両群間の摂食、摂水量も差は認められなかった。

海馬遺伝子発現におけるSAM摂取の効果

まず、海馬における神経成長因子、NADPHオキシダーゼ、一酸化窒素合成酵素、炎症および長期記憶関連遺伝子 mRNA 発現におけるSAM摂取効果を調べた(図2)。加齢により*Ampa1*、*Activin βA*、および*Vesl-1*などの長期記憶関連遺伝子の発現が顕著に低下し(図2E)、NADPHオキシダーゼの構成要素*Gp91^{phox}*および炎症性マーカー*Mcp-1*のmRNA発現は有意に上昇した(図2BとD)。高齢とSAMマウスの間で*Gp91^{phox}*および*Mcp-1*のmRNA発現に有意差はなかった一方(図2BとD)、*Activin βA*と*Vesl-1*で有意に高く、*Ampa1*も有意ではないものの顕著な高値を示すといったように、SAM摂取により加齢による長期記憶関連遺伝子のmRNA発現量低下が抑制された(図2E)。したがって、SAMの摂取は長期記憶関連遺伝子 mRNA 発現の加齢による低下を抑制する効果を示すと考えられた。

加齢依存的な味感受性の変化におけるSAM摂取の効果

次に、加齢依存的な味感受性変化におけるSAM摂取効果を観察した。48時間二瓶選択試験により、塩味(NaCl)、苦味(デナトニウム)および酸味(クエン酸)に対する味感受性を試験した(図3)。加齢により塩味の嗜好率は増加した(図3A、NaCl： $F_{(1, 95)} = 4.49$ 、 $p = 0.04$)。一方で、苦味に

対する忌避性が抑制された (図 3B、デナトニウム: $F_{(1, 75)} = 6.76$, $p = 0.01$)。酸味の嗜好率に年齢による影響は観察されなかった (図 3C; クエン酸: $F_{(1, 4)} = 0.005$, $p = 0.94$)。このとき、味蕾における代表的な味覚受容体 mRNA (苦味受容体 *Tas2r105*、うま味受容体サブユニット *Tas1r1*、甘味受容体サブユニット *Tas1r2*、甘味・うま味受容体サブユニット *Tas1r3*、酸味受容体 *Otop1*) の発現に有意な変化は観察されなかった (data not shown)。一方で、高齢と SAM マウスの間の塩味、苦味および酸味に対する嗜好率に有意差はなかった (図 3A-C、NaCl: $F_{(1, 83)} = 0.24$, $p = 0.63$; デナトニウム: $F_{(1, 65)} = 0.17$, $p = 0.68$; クエン酸: $F_{(1, 36)} = 0.54$, $p = 0.47$)。また、各種味覚受容体の発現にも有意な差は観察されなかった (data not shown)。このように SAM 摂取による味感受性の改善効果は認められなかった。

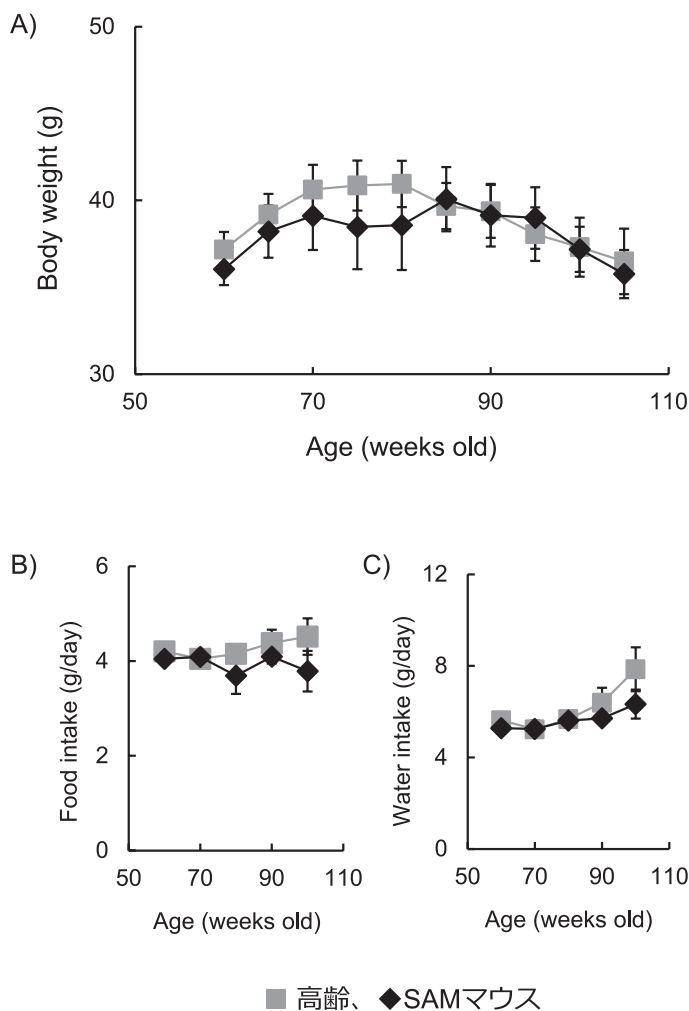
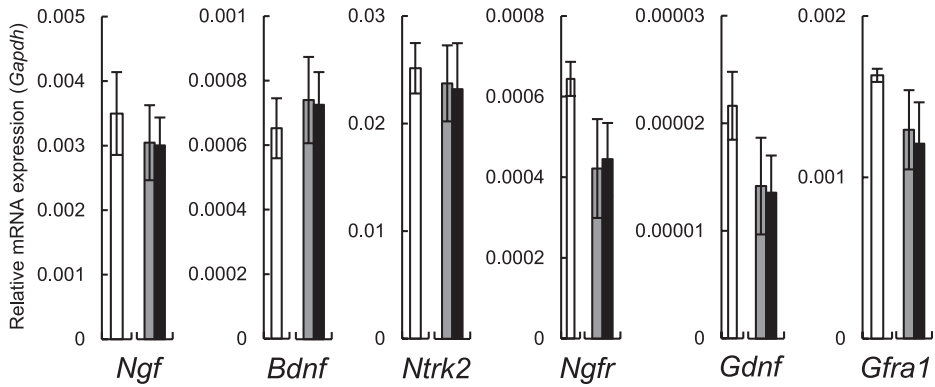
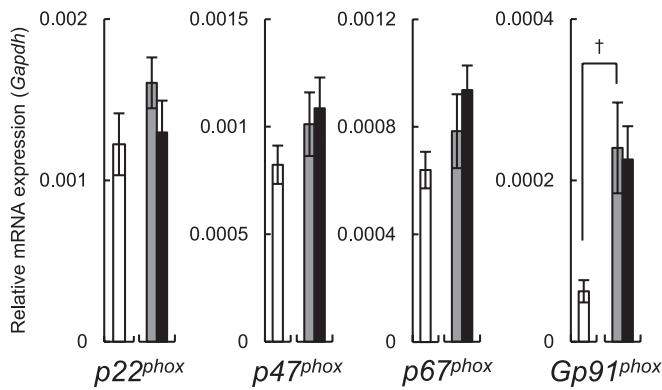


図 1 (A) 体重、(B) 摂食及び (C) 摂水量の変化

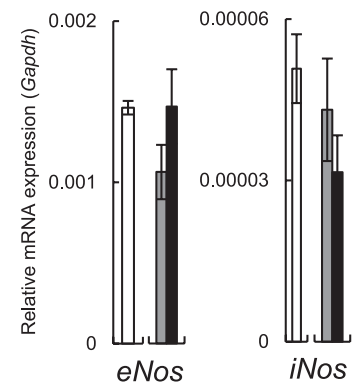
A) Nerve growth factor



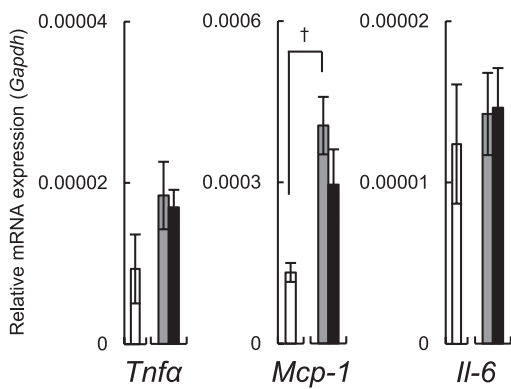
B) NADPH Oxidase



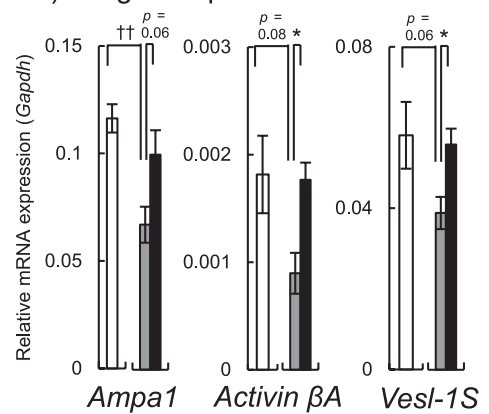
C) Nitric oxide Synthase



D) Inflammatory



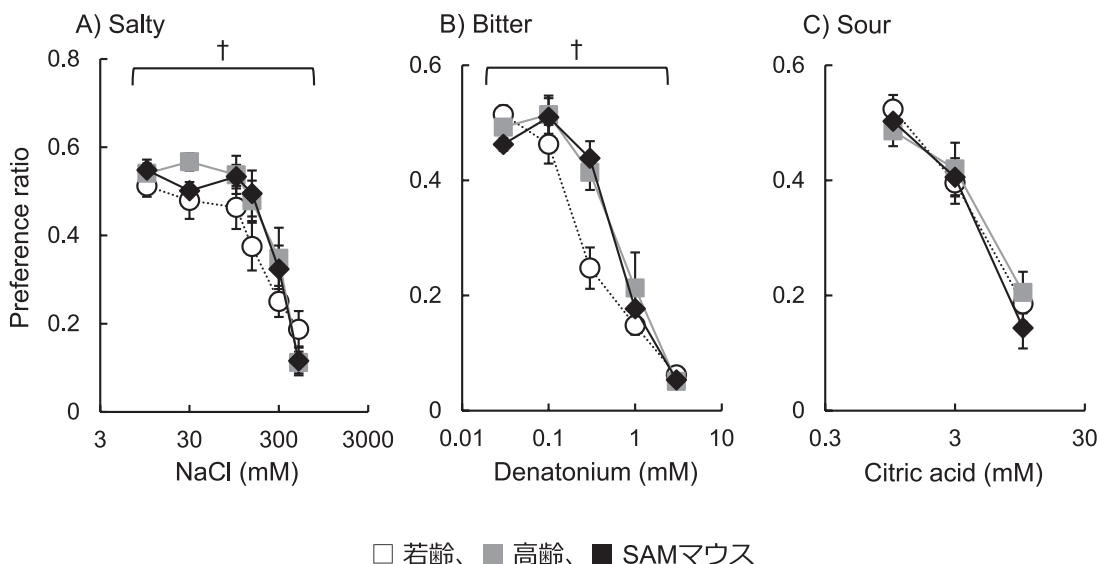
E) Long-term potentiation



□ 若齢、■ 高齢、■ SAMマウス

図2 海馬遺伝子発現におけるSAMの摂取の効果

(A) 神経成長因子、(B) NADPHオキシダーゼ、(C) NO合成酵素、(D) 炎症、(E) 長期記憶関連遺伝子の発現
 高齢 vs. 若齢マウス: † $p < 0.05$, †† $p < 0.01$; 高齢 vs. SAMマウス: * $p < 0.05$



□ 若齢、■ 高齢、■ SAMマウス

図3 SAMの摂取が味感受性に与える影響

(A) 塩味、(B) 苦味および (C) 酸味に対する嗜好性変化。(D) 有郭乳頭における味受容体 mRNA 発現。
 高齢 vs. 若齢マウス: $^{\dagger}p < 0.05$

考 察

現在、我々は加齢依存的な味感受性変化を導く分子メカニズムに関して研究を進めている^{1,2)}。C57BL/6Jマウスを用いた検討で、加齢により苦味および塩味の感受性が有意に変化することを見出している。この原因を調べるために、代表的な味関連分子の発現や味細胞のターンオーバー速度などの末梢の味覚検出能を比較した。味関連分子の発現および味蕾細胞の加齢によるターンオーバー速度に明らかな差はなかった。したがって、加齢による味感受性変化は末梢味覚器の劣化によって引き起こされたものではないと考えられた¹⁾。近年、加齢による味感受性が中枢の神経回路網の変化に関連する可能性が報告されている³⁾。また、アルツハイマー型認知症患者において、味覚閾値が低下することが報告されている⁶⁻⁸⁾。それゆえ、味感受性の加齢依存的な変化に、特に認知や記憶機能が関与する可能性が考えられた。

SAMはアデノシンとメチオニンとから生体内で合成される生体内物質であり、メチル基供与体として作用する。食品中では酒粕中にSAMが高濃度に含有されていることが知られる。SAMの摂取は肝障害や炎症、うつ病などの症状に対する有効性が示唆されている⁹⁻¹¹⁾。また、SAMがアルツハイマー病患者の精神症状を改善させる可能性も近年示されている¹²⁾。

うつ病やアルツハイマー病に海馬機能が関与すると考えられることから、海馬中の神経成長因子、NADPH オキシダーゼ、一酸化窒素合成酵素、炎症性および長期記憶関連分子の mRNA 発現における SAM 摂取の効果を検討した (図 2)。Gp91^{phox} と Mcp-1 の mRNA 発現レベルは加齢とともに有意に上昇したが、Ampa1 は減少した。一方で、SAM 摂取は Gp91^{phox} および Mcp-1 の mRNA 発現レベルに影響を与えなかったが、SAM 摂取によって長期記憶関連分子 Ampa1、Activin βA と Ves1-1S mRNA 発現量の改善が認められた。したがって、SAM 摂取による中枢機能改善に

長期記憶関連分子の mRNA 発現の改善効果が関与することが示唆された。

SAM 摂取による長期記憶関連分子の発現量改善が確認されたので、SAM 摂取が加齢依存的な味感受性変化を防ぐことができるかどうかを検討した。前述したように、加齢により特に苦味および塩味に対する感受性が有意に変化することから¹⁾、塩味および苦味に対する感受性を評価した (図 3A および B)。本研究でも加齢により苦味と塩味の感受性が変化することが確認した。一方で、SAM と高齢マウス間で味感受性に差はなく、SAM 摂取による改善効果は観察できなかった。この結果は加齢依存的な味感受性変化が、SAM 摂取により改善される生理機能とは異なる経路を介して生じることを示している。

前述したように、SAM の摂取が生体に様々な有効性をもたらすことが示唆されている。しかし、その分子機構については不明な点が多い。生体の SAM 量が寿命に与える影響に関しては相反する結果が示されている^{13, 14)}。例えば、SAM 合成酵素を過剰発現した酵母において、SAM 合成を促進すると寿命が延長することが報告されている¹³⁾。これは SAM の過剰合成による ATP の消費により AMP 比が増加し、AMPK ホモログである Snf1 が活性化された結果であると考えられている。この結果は SAM 量の上昇が寿命の延長に重要であることを示す。一方、ショウジョウバエでは加齢に伴い SAM 量が増加することが知られているが、グリシン-N-メチルトランスフェラーゼ (Gnmt) をショウジョウバエで過剰発現させると寿命が延長することが報告されている¹⁴⁾。これは Gnmt がグリシンにメチル基を付与してサルコシンを合成する際に、余分な SAM を消費することで、SAM 量が低下し、結果として寿命が延長されたと考えられている。この結果は SAM 量の低下が寿命にプラスの効果をもたらすことを意味する。両者をあわせて考えると、生体における SAM 量の調節機構が寿命延長の鍵となる可能性が考えられる。

本研究において、SAM 摂取が長期記憶関連遺伝子の発現を改善させる可能性を見出した。SAM 摂取による中枢機能改善の分子メカニズムは明らかになっていない。この結果は SAM による効果が長期記憶関連遺伝子の発現を介して生じる可能性を示唆する。一方で、SAM による加齢依存的な味感受性変化の改善効果を確認することができなかった。しかしながら、本研究成果は加齢依存的な味感受性変化の分子メカニズムを理解する上で、有用な知見を提供すると考えられる。今後は解析対象を他の抗老化食品成分にも広げ、味感受性改善効果をもたらす食品成分の探索を行いたいと考えている。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、研究助成金を賜りましたアサヒグループ学術振興財団の関係者の皆様に厚く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) Narukawa M, Kurokawa A, Kohta R, and Misaka T, *Neuroscience*, **358**, 249-260 (2017).
- 2) Narukawa M, Kamiyoshihara A, Kawae M, Kohta R, and Misaka T, *Exp Gerontol*, **113**, 64-73 (2018).
- 3) Iannilli E, Broy F, Kunz S, and Hummel T, *J Neurosci Res*, **95**, 1927-1936 (2017).
- 4) 峰時 俊, *日本醸造協会誌*, **109**, 11-20 (2014).
- 5) Hur K, Choi JS, Zheng M, Shen J, and Wrobel B, *Laryngoscope Investig Otolaryngol*, **3**, 94-99 (2018).
- 6) Steinbach S, Hundt W, Vaitl A, Heinrich P, Forster S, Burger K, and Zahnert T, *J Neurol*, **257**, 238-46 (2010).
- 7) Sakai M, Ikeda M, Kazui H, Shigenobu K, and Nishikawa T, *Int Psychogeriatr*, **28**, 511-517 (2016).
- 8) Ogawa T, Irikawa N, Yanagisawa D, Shiino A, Tooyama I, and Shimizu T, *Auris Nasus Larynx*, **44**, 168-173 (2017).
- 9) Bradley JD, Flusser D, Katz BP, Schumacher HR, Jr., Brandt KD, Chambers MA, and Zonay LJ, *J Rheumatol*, **21**, 905-11 (1994).
- 10) Almasio P, Bortolini M, Pagliaro L, and Coltorti M, *Drugs*, **40 Suppl 3**, 111-23 (1990).
- 11) Bressa GM, *Acta Neurol Scand Suppl*, **154**, 7-14 (1994).
- 12) Remington R, Chan A, Paskavitz J, and Shea TB, *Am J Alzheimers Dis Other Demen*, **24**, 27-33 (2009).
- 13) Ogawa T, Tsubakiyama R, Kanai M, Koyama T, Fujii T, Iefuji H, Soga T, Kume K, Miyakawa T, Hirata D, and Mizunuma M, *Proc Natl Acad Sci U S A*, **113**, 11913-11918 (2016).
- 14) Obata F, and Miura M, *Nat Commun*, **6**, 8332 (2015).