

# 長寿遺伝子関連蛋白発現度に食用キノコ抽出物が及ぼす影響 — 末梢血単核細胞に発現する sirtuin 2 濃度の経時的変化

遊道 和雄 (YUDOH Kazuo)<sup>1\*</sup>

山本 正和 (YAMAMOTO Masakazu)<sup>2</sup> 唐澤 里江 (KARASAWA Rie)<sup>1</sup> 杉下 陽堂 (SUGISHITA Yodo)<sup>1</sup>

鈴木 由妃 (SUZUKI Yuki)<sup>3</sup> 児島 義昭 (KOJIMA Yoshiaki)<sup>2</sup> 中島 将 (NAKAJIMA Sho)<sup>2</sup>

---

Key Words : 長寿遺伝子関連蛋白, アガリクス, 靈芝, コプリヌス, 健康長寿

Effect of edible mushroom extracts on the expression level of longevity gene-related proteins  
-Temporal changes in the concentration of sirtuin 2 expressed in peripheral blood mononuclear cells

**Authors:** Kazuo Yudoh<sup>1\*</sup>, Masakazu Yamamoto<sup>2</sup>, Rie Karasawa<sup>1</sup>, Yodo Sugishita<sup>1</sup>, Yuki Suzuki<sup>3</sup>,  
Yoshiaki Kojima<sup>2</sup>, Sho Nakajima<sup>2</sup>

\*Corresponding author: Kazuo Yudoh

## Affiliated institutions:

<sup>1</sup> Institute of Medical Science St. Marianna University. School of Medicine  
(2-16-1, Sugo, Miyamae-ku, Kawasaki-shi, Kanagawa 216-8512, Japan)

<sup>2</sup> Shinto Chemical CO., LTD. (3-13-2, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033, Japan)

<sup>3</sup> Department of Obstetrics & Gynecology, St. Marianna University School of Medicine  
(2-16-1 Sugao, Miyamae-ku, Kawasaki, Kanagawa 216-8511, Japan)

Key Words: sirtuin, agaricus, bracket fungus, coprinus, health and longevity

## Abstract

Sirtuin 2, which is mainly present in cytoplasm, has an important part in mammalian development, caloric restriction, metabolic regulation, genomic stability, cellular antioxidant potential, DNA repair and the regulation of aging. We have previously reported that the protein level of sirtuin 2 in human peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) decreases with aging in healthy volunteers, suggesting that sirtuin 2 level in PBMCs may have a potential as a useful surrogate-biomarker monitoring a health condition and an aging.

In the present study, we had 25 healthy volunteers take in edible mushroom extracts (agaricus, bracket fungus, coprinus) once a day for three months and, collected peripheral blood (10 mL/donor) from healthy volunteers at initial phase and every one month after the clinical study start. The level of expression of sirtuin 2 in PBMCs was analyzed by an enzyme linked immunosorbent assay. In the control group without an intake of mushroom extracts (5 healthy volunteers), no significant changes in the level of sirtuin 2 expression in PBMCs were observed during the study period. In contrast to the control group, the expressions of sirtuin 2 in PBMCs gradually increased in the group taking in 3 kinds of mushroom extracts (agaricus, bracket fungus, coprinus) (10 healthy volunteers) and the group taking in extract of bracket fungus (10 healthy volunteers). These findings suggest that the mushroom extracts may have a potential to increase the level of sirtuin 2 expression in PBMCs.

It has been demonstrated that Resveratrol (polyphenols) and its derivative induce the expression of sirtuin having an nicotinamide adenine dinucleotide (NAD)-dependent deacetylation enzyme activity associated with the cellular metabolism, energy production, genomic stability and realization of the prolongation of lifespan. Although further studies are needed to clarify the mechanism of inducible effect of the mushroom extracts on sirtuin expression in PBMCs, we conclude that 3 kinds of mushroom extracts may have a potential to induce the sirtuin 2 activity.

---

\* 責任著者: 遊道 和雄<sup>1</sup> E-mail: yudo@marianna-u.ac.jp

<sup>1</sup> 聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター (〒 216-8511 神奈川県川崎市宮前区菅生 2-16-1)

<sup>2</sup> 株式会社シントー化学 (〒 113-0033 東京都文京区本郷 3 丁目 13-2)

<sup>3</sup> 聖マリアンナ医科大学産婦人科学教室 (〒 216-8511 神奈川県川崎市宮前区菅生 2-16-1)

## はじめに

近年、国内外の老化学・長寿科学に注目が集まり、細胞・組織・臓器の老化のメカニズムならびに老化克服・寿命延長の具体的方法や薬剤開発が精力的に進められている。米国マサチューセッツ工科大学ガレンテ博士が2000年に発見した長寿遺伝子 Sir2 の関連蛋白 sirtuin は、nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) 依存性脱アセチル化酵素活性を有し、核酸修復酵素の活性化、生命維持に必要な細胞エネルギー産生量の調整および染色体・テロメア保護作用を持つことが報告されており<sup>1-3)</sup>、長寿遺伝子関連蛋白 sirtuin の発現度と健康度・疾患との関連についても国内外で精力的な研究が進められている。

我々はこれまでに、「長寿遺伝子関連蛋白 sirtuin 活性と細胞老化のメカニズムとの関連」ならびに「sirtuin の活性・発現度の老化・健康評価のバイオマーカーとしての有用性」について研究を進め、加齢に伴う sirtuin 蛋白発現度の変化について知見を得てきた。近年、sirtuin 蛋白の発現を誘導する因子、特にレスベラトロールなどポリフェノール類に関する研究も国内外で行われており<sup>1-3)</sup>、我々も食用キノコ抽出物がヒト末梢血単核細胞に発現する sirtuin レベルを増強させることを *in vitro* で確認し、研究を進めている。

本試験では、健常者25名(20～70歳代)を対象に、食用キノコ[姫マツタケ(アガリクス)、紫雲芝、コプリヌス]抽出物を毎日1回3ヶ月間摂取してもらい、1ヶ月毎に末梢血単核細胞に発現する長寿遺伝子関連蛋白 sirtuin 2 濃度を解析し、キノコ抽出物の摂取による sirtuin 2 発現誘導効果を明らかにした。

## 研究の背景

### 1. 高齢化社会における健康寿命

急速な高齢化に伴い、2025年には我が国の65歳以上の高齢者人口は30%を超え、寝たきり人口も450万人強になると予想されており、2025年の年間医療費は59兆円、介護費を加えると94兆円にも上るといふ試算もある<sup>4)</sup>。超高齢化社会においては、医療費負担の激増はいうに及ばず、労働・生産人口の減少によって社会基盤そのものの脆弱化が危惧されており、その対策が社会的急務とされている。

我が国は超高齢化社会を迎えたが、外出や社会生

活を楽しめる「健康寿命」は実際の寿命より男性、女性共に約10年も短縮しているという<sup>4,5)</sup>。高齢化社会において、長寿で健康な日常生活の活動性を保ち、健康寿命を延伸させるためには、神経・運動・感覚器や臓器(循環器、呼吸器、消化器等)の機能の現状を総合的に把握して、維持または改善していくことが肝要である。そのために我々は、組織・臓器横断的な健康指標や老化の程度をモニターするバイオ(サロゲート)マーカーの研究開発を進めてきた。

### 2. 長寿遺伝子関連脱アセチル化蛋白 sirtuin について

近年、明らかにされた長寿遺伝子に関する知見から、国内外の長寿科学に注目が集まり、細胞・組織・臓器の老化のメカニズムならびに、老化克服・寿命延長の具体的方法や薬剤開発に熱い視線が注がれている<sup>1)</sup>。米国マサチューセッツ工科大学ガレンテ博士が2000年に発見した長寿遺伝子 Sir2 の関連蛋白 sirtuin family (sirtuin 1-7) は、活性化すると解明されている100近くの老化関連因子・遺伝子が活性化または抑制され、その結果、肌、血管、脳など様々な器官の細胞組織の老化が遅延し、寿命にも影響すると考えられている<sup>2,3)</sup>。NAD 依存性脱アセチル化酵素活性を持つ sirtuin は、核酸修復酵素の活性化、生命維持に必要な細胞エネルギー量の調整および染色体テロメア核酸保護作用を有することも報告されており、老化・長寿科学を研究するうえで重要な因子の一つであると考えられている<sup>6,7)</sup>。

現在、国内外において、実際の加齢・老化に伴う老化遺伝子や長寿遺伝子関連蛋白 sirtuin の発現度の変化、ならびにこれらの因子の疾患との関連について国内外で精力的に研究が進められている。これまでに我々は、加齢に伴う sirtuin 蛋白発現度の変化を解析するため、健常者約100名の末梢血単核細胞における sirtuin の発現度を解析し、sirtuin は加齢に伴って減少することを示唆する知見を得てきた<sup>8)</sup>。

最近、sirtuin 蛋白の発現を誘導する因子に関する研究も国内外で盛んに行われており、レスベラトロール(ポリフェノール)や、その誘導体などについて sirtuin 活性化に関する基礎研究、臨床研究の報告がある<sup>6,7)</sup>。我々も、食用キノコの抽出物がヒト末梢血単核細胞における sirtuin 2 の発現度を増強させることを *in vitro* 実験系で確認し、その機序の

解明に向けて研究を進めている。

本試験では、健常被験者 25 名を対象に、食用キノコ抽出物 [ 姫マツタケ (アガリクス)、紫霊芝、コプリヌス ] を毎日 1 回 3 ヶ月間摂取してもらい、摂取前、摂取開始後 1 ヶ月毎に末梢血検体を採取し、長寿遺伝子関連蛋白 sirtuin 2 発現度を解析した。

## 研究の対象・方法

### 1. 対象

本研究は、株式会社シントー化学と聖マリアンナ医科大学難病治療研究センターに所属する研究者および研究協力者で、下記の条件を満たす 25 名 (30 歳～70 歳代、男性 11 名・平均年齢 52.4 歳、女性 14 名・平均年齢 42.6 歳) を対象とした。

- 本試験にエントリーする時点で入院治療を要する慢性疾患を抱えておらず、日常生活行動に支障のないこと。
- 食用のキノコにアレルギーがない、またはキノコアレルギーの既往のないこと。
- 本試験にエントリーする前 6 か月以内に、長寿遺伝子関連蛋白の発現に影響することが報告されているポリフェノール類を成分に含むサプリメントを継続的に服用していないこと。
- 聖マリアンナ医科大学の生命倫理委員会の承認を得た臨床試験同意説明文書でインフォームドコンセントの説明を受けて、その内容を理解し文書で同意がとれていること。

本研究は、聖マリアンナ医科大学の生命倫理委員会の承認を得て (承認番号 5033)、ヘルシンキ宣言 (2013 年改訂) および「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を遵守して実施した。

### 2. 方法

本研究の目的と内容の説明を同意説明文書で受けて、その内容を理解し文書で同意を得た被験者 25 名を 3 群に分け、i) キノコ抽出物 3 種摂取群: 11 名 (男性 4 名、女性 7 名、平均年齢 47.3 歳) に食用キノコ [ 姫マツタケ (アガリクス)、紫霊芝、コプリヌス ] 3 種類を等量を含むキノコ抽出物 20 mg を、ii) 紫霊芝抽出物摂取群: 10 名 (男性 3 名、女性 7 名、平均年齢 43.7 歳) に紫霊芝の抽出物 20 mg を、毎日 1 回 3 ヶ月間摂取してもらい、iii) 4 名 (男性 4 名、平均年齢 53.7 歳) はキノコ抽出物摂取を

しないコントロール群とした。被験者全員から被験物質の内服開始直前、採取開始後 1 ヶ月目、2 ヶ月目、3 ヶ月目の計 4 回について、10 mL の末梢血の採血を行った。

採取した検体から既報に則って、血清と末梢血単核細胞由来蛋白質を分離し、末梢血単核細胞に発現する長寿遺伝子関連脱アセチル化酵素 sirtuin 2 濃度を蛍光酵素抗体法による Sirtuin 2 activity assay kit (Abcam public limited company, Cambridge, UK) を用いて測定し、血清中の各種肝機能検査値 [ 総ビリルビン、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、 $\gamma$ -グルタミルトランスペプチダーゼ ( $\gamma$ -GTP)、コリンエステラーゼ (ChE) ]、免疫グロブリン [immunoglobulin (Ig) G, IgM] および  $\beta$ -D- グルカン濃度は SRL 株式会社にて測定依頼して解析した。解析したデータの統計学的解析には、Student's *t*-test を用いた。

## 結果

### 1. 末梢血単核細胞に発現する sirtuin 2 濃度の経時的変化

本研究に参加した全ての被験者について、研究期間中に有害事象や健康の変化はみられなかった。コントロール群については、試験開始前、1 ヶ月目、2 ヶ月目および 3 ヶ月目の平均 sirtuin 2 濃度に有意な変化はみられなかった (図 1A)。紫霊芝抽出物摂取群ならびにキノコ抽出物 3 種摂取群においては、各々摂取開始前に比べて経時的に平均 sirtuin 2 濃度は上昇する傾向がみられ、摂取開始時に比べて有意に平均濃度が高かったのは紫霊芝抽出物摂取群の 2 ヶ月目、キノコ抽出物 3 種摂取群の 2 ヶ月目および 3 ヶ月目であった (図 1B, 1C, \* $p < 0.05$ )。

3 群間の平均 sirtuin 2 濃度を比較すると、摂取開始前の時点では 3 群間の同因子濃度に差は認めなかったが、1 ヶ月目、2 ヶ月目および 3 ヶ月目においてコントロール群に比べてキノコ抽出物 3 種摂取群で有意な上昇がみられた (図 2, \* $p < 0.05$ )。紫霊芝抽出物摂取群の平均 sirtuin 2 濃度は各時点においてコントロール群よりも高値を示す傾向がみられたが、統計学的有意差は認められなかった。

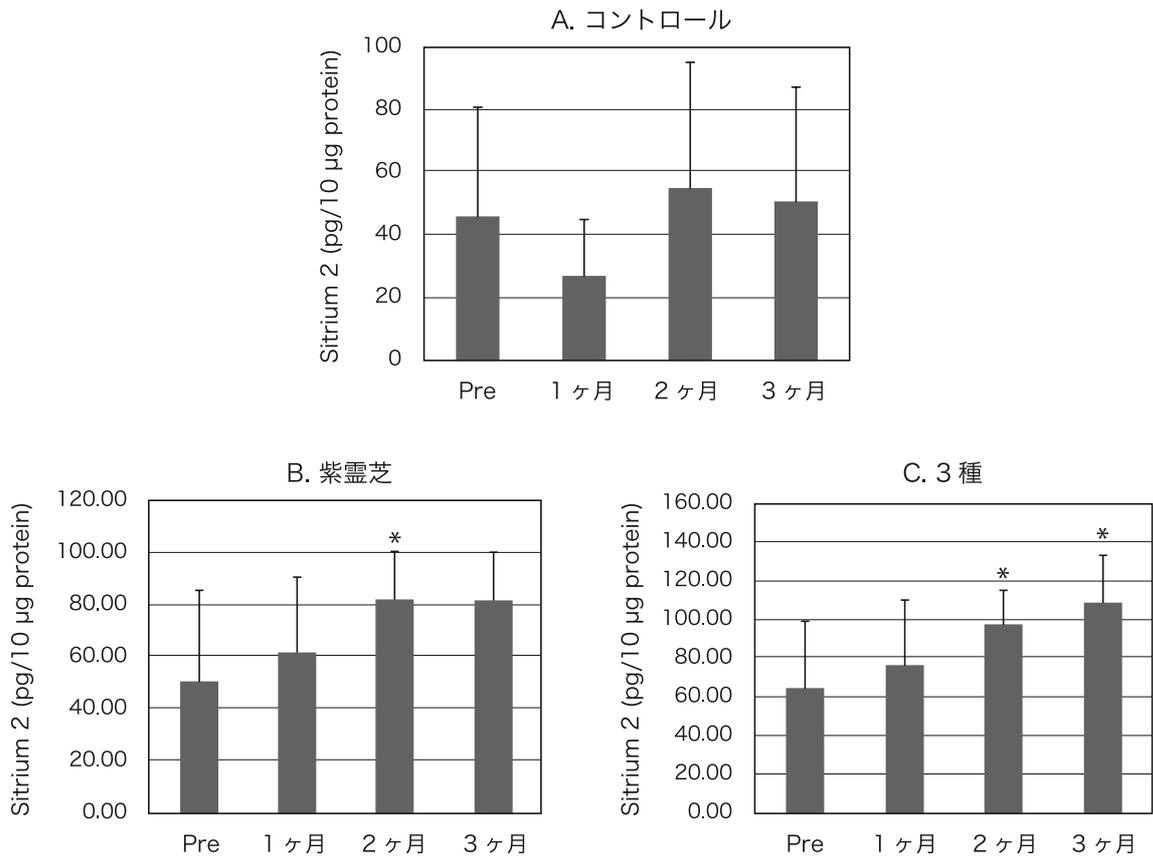


図1 末梢血単核細胞に発現する sirtuin 2 濃度の経時的変化  
 A: コントロール群の平均 sirtuin 2 濃度の経時的変化  
 B: キノコ抽出物 3 種摂取群の平均 sirtuin 2 濃度の経時的変化、\* $p < 0.05$   
 C: 紫靈芝抽出物摂取群の平均 sirtuin 2 濃度の経時的変化、\* $p < 0.05$

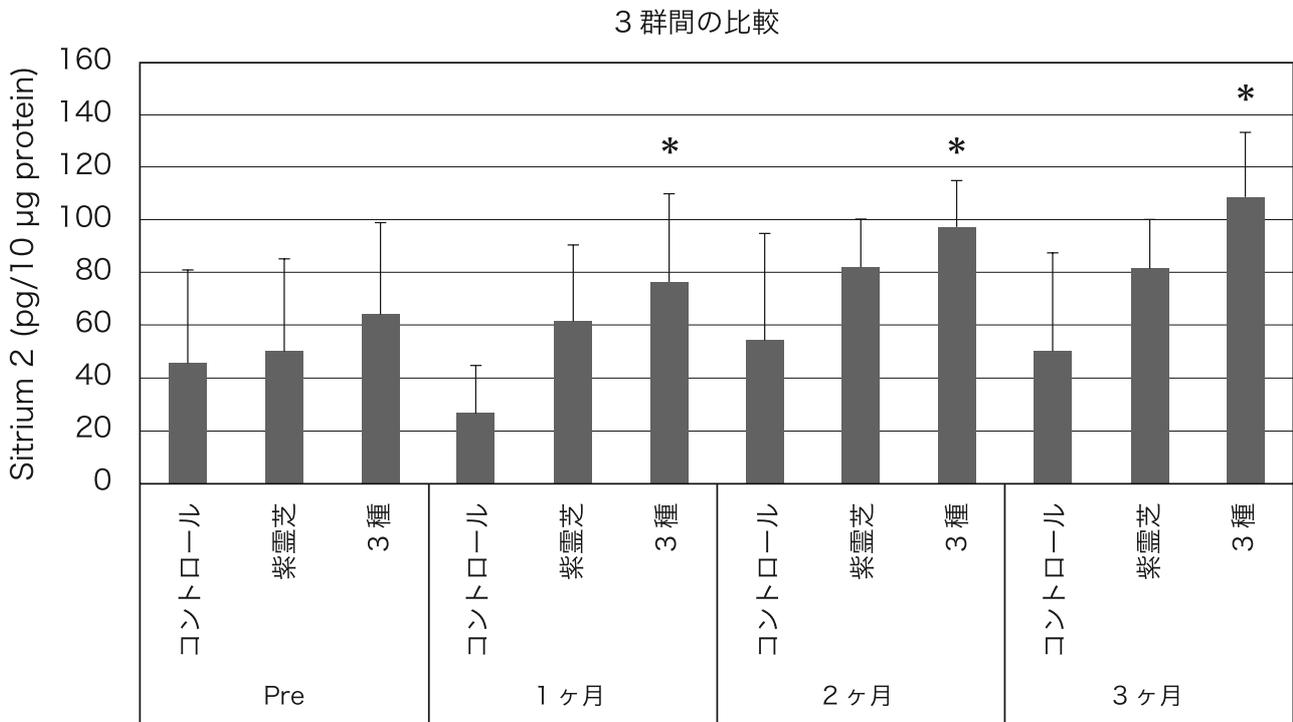


図2 キノコ抽出物 3 種摂取群、紫靈芝抽出物摂取群およびコントロール群の平均 sirtuin 2 濃度の群間比較  
 1ヶ月目 コントロール群 versus キノコ抽出物 3 種摂取群、\* $p < 0.05$   
 2ヶ月目 コントロール群 versus キノコ抽出物 3 種摂取群、\* $p < 0.05$   
 3ヶ月目 コントロール群 versus キノコ抽出物 3 種摂取群、\* $p < 0.05$

## 2. キノコ抽出物摂取が肝機能検査値, 免疫グロブリンおよび $\beta$ -D-グルカン濃度に及ぼす影響

キノコ3種混合摂取群, 紫雲芝摂取群およびコントロール群のいずれにおいても, 摂取試験開始前と摂取試験終了3ヶ月後の各種肝機能検査値, 免疫グロブリンIgGおよびIgM, ならびに $\beta$ -D-グルカン濃度に有意な変化は認められなかった。

### 考察

本研究から, 食用キノコ[姫マツタケ(アガリクス), 紫雲芝, コプリヌス]の継続的摂取によって, 末梢血単核細胞に発現する長寿遺伝子関連蛋白sirtuin 2濃度は上昇する可能性が示唆された。長寿遺伝子Sir2の関連蛋白sirtuin family (sirtuin 1-7)はNAD依存性脱アセチル化酵素活性を有し, 核酸修復酵素の活性化, 生命維持に必要な細胞エネルギー量の調整および染色体・テロメア保護作用など細胞活性を制御する多様な働きを持つことが報告されている<sup>4-7)</sup>。本研究で解析したsirtuin 2は細胞質に豊富に発現しており, 主に細胞核に発現するsirtuin 1や, ミトコンドリアに発現するsirtuin 3よりも, 核またはミトコンドリア分画の分離抽出操作を必要としない分だけ容易に解析することが可能である。Sirtuin 2は生体内のほぼ全ての細胞の細胞質にユビキタスに発現していることから, その発現度を解析することで, 特定の組織・臓器を構成する細胞の活性だけでなく, 組織・臓器横断的な全身性の細胞活性のレベルを評価することができると考えている。

我々は, sirtuin 2に注目し, 全身性の細胞活性を反映した健康度や老化の程度をモニターするバイオマーカー・サロゲートマーカーの開発に向けて研究を進め, 加齢に伴うsirtuin 蛋白発現度の変化について知見を得てきた<sup>8)</sup>。本研究では, 被験者25名の末梢血単核細胞のsirtuin 2発現度に関して, 性別による違いや加齢に伴う発現度減少の傾向など, 性別・年齢とsirtuin 2発現度との相関関係はみられなかったが, 本試験条件での当該相関の有無の検証にはさらに例数を増やして評価する必要があると考える。

これまでに, 60歳以上の高齢者において, 身体的フレイル状態の高齢者に比べて非フレイル状態の高齢者の方がsirtuin 発現度が高いことが報告さ

れ, 運動・身体活動がsirtuin 活性の誘導因子であることが示唆されている<sup>9,10)</sup>。近年, sirtuin 蛋白の発現を誘導する因子, 特にレスベラトロールなどポリフェノール類に関する研究も国内外で行われており, sirtuin の発現度・活性度を向上させることで, 組織・臓器横断的な全身性の健康度ならびに活動性を改善させることが期待されている。

本研究において, 食用キノコ抽出物の継続的摂取による末梢血単核細胞のsirtuin 2発現度の誘導効果が示唆されたことから, これらのキノコ含有成分にレスベラトロール等のポリフェノール類のようなsirtuin 活性化因子が存在する可能性が示唆された。キノコ類には,  $\beta$ -グルカンなどの多糖類, ビタミン, ミネラル, リノール酸やパルミチン酸といった脂質, アミノ酸が含まれており, 本研究で用いたアガリクスや紫雲芝には抗癌効果や免疫賦活作用を持つ $\beta$ -グルカン等の多糖類, コプリヌスには抗酸化作用を持つエルゴチオネイン等のアミノ酸を豊富に含有することが知られている<sup>11,12)</sup>。今後, 本研究におけるキノコ抽出物のうち, どのような因子がsirtuin 2発現度に影響するのか検討する必要がある。

本研究では, 食用キノコ抽出物の毎日・3ヶ月間の摂取による明瞭な有害事象, 肝機能障害および免疫グロブリン値の変化はみられなかったことから, 食用キノコ抽出物を長寿遺伝子関連蛋白の活性化を目的とする健康補助食品として日常生活の中で安全に摂取できると考えている。また,  $\beta$ -D-グルカン濃度についても, 3群ともにキノコ抽出物摂取開始前と摂取終了後の有意な変化に認めなかったが, 濃度の変化がみられた被験者もいたことから, 今後被験者数および試験期間を増して検討し, キノコ抽出物の影響の有無について評価する必要があると考える。

本研究において, 食用キノコ[姫マツタケ(アガリクス), 紫雲芝, コプリヌス]の継続的摂取によって, 末梢血単核細胞のsirtuin 2発現度が誘導される可能性が示唆されたが, 実際の健康度にどのような影響があるか否かについては今後の検討課題である。今後, sirtuin 2発現度の誘導と自覚的・他覚的健康度の影響について研究していく必要があると考える。

## 謝辞

本研究に参加していただいた被験者，ならびに検体を用いた実験を担当した佐藤淑子氏，田中愛美氏，小松梨恵氏に深謝する。

## 文 献

1. Haigis MC, Sinclair DA: Mammalian sirtuins: Biological insights and disease relevance. *Annu Rev Pathol.* **5**: 253–295, 2010.
2. Guarente L: Sirtuins, aging, and metabolism. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* **76**: 81-90, 2011.
3. Satoh A, Stein L, Ima S: The role of mammalian sirtuins in the regulation of metabolism, aging, and longevity. *Handb Exp Pharmacol* **206**: 125–162, 2011.
4. 令和2年版高齢社会（内閣府）；<https://www8.cao.go.jp/kourei/whitepaper/w-2020/html/zenbun/index.html>
5. 令和2年版厚生労働白書（厚生労働省）；<https://www.mhlw.go.jp/stf/wp/hakusyo/kousei/19/backdata/01-01-02-06.html>
6. Wątroba M, Szukiewicz D: The role of sirtuins in aging and age-related diseases. *Adv Med Sci.* **26**, **61**(1): 52-62, 2015.
7. Yudoh K: Sirtuin biology in medicine, targeting new avenues of care in development, aging, and disease. Kenneth maiese; chapter 21, 341-351, Academic Press, Elsevier, 2021.
8. Yudoh K, Karasawa R, Ishikawa J: Age-related decrease of sirtuin 2 protein in human peripheral blood mononuclear cells. **8**(3): DOI: 10.2174/1874609808999150831112, *Current Aging Science*, 2015.
9. Kumar R, Mohan N, Upadhyay AD, Singh AP, Sahu V, Dwivedi S, Dey AB, Dey S: Identification of serum sirtuins as novel noninvasive protein markers for frailty. *Aging Cell.* **13**(6): 975-80. DOI: 10.1111/accel.12260. Epub 2014.
10. Katya Vargas-Ortiz, Victoriano Pérez-Vázquez, Maciste H Macías-Cervantes: Exercise and sirtuins: A way to mitochondrial health in skeletal muscle. **20**(11): 2717. doi: 10.3390/ijms20112717, *Int J Mol Sci*, 2019.
11. 水野卓：川合正充編著，キノコの化学・生化学，学会出版センター，pp. 211-221, 1995.
12. 清水邦義, ZHU Qinchang, 吉村友里, 海淵寛, 桑原李佳, 大貫宏一郎: 植物資源の機能性開発 霊芝の多機能性薬理効果に関する近年の科学的検証. *Foods & Food Ingredients Journal of Japan*, **221** (2): 111-116, 2016.