

# 具有延緩衰老功效之 伴侶動物保健品研發

撰文/劉嘉睿·陳又嘉

人類飼養犬貓已有長久的歷史，家犬的飼養可上溯至1萬2千年前；家貓的飼養則可上溯至8千年前。人類飼養犬貓，從早期的打獵、守衛、減少鼠患等功能，逐漸演變成為人類的伴侶。伴侶動物可為飼主健康帶來正面的效果，研究證實家犬的陪伴可降低飼主血壓，故有舒壓的效果。隨著伴侶動物深刻融入飼主的生活中，伴侶動物受到的照顧更為仔細，因此高齡伴侶動物的數量急驟增加。全美超過11歲的家犬已高達730萬隻；家貓則高達600萬隻。高齡伴侶動物生理上已老化，健康狀況亦較差，常伴隨著老化發生一些疾病，包括癌症、腎臟病、神經退化、認知能力衰退、糖尿病、肥胖、白內障、心血管疾病，以及關節炎等。飼主需耗費較多時間精力與費用來照護高齡伴侶動物，生理心理均深受影響。本文即針對伴侶動物老化之發生原因、具有延緩衰老功效潛力之藥品、食品，以及伴侶動物保健品之開發進行介紹。

## 老化之成因

伴侶動物開始老化的年齡，依品種不同而有極大差異，一般而言，體型較大的品種壽命較短。以米格魯(Beagle)為例，其平均壽命為13.9年。若將米格魯的年齡與人類的年齡做一比較，5歲以下的米格魯相當於40歲以下的人類；5至9歲的米格魯相當於40至60歲的人類；9歲以上的米格魯則相當於60歲以上的人類。隨著年齡的增加，生理開始逐漸出現老化現象。老化係指隨著年齡增加而產

生的生理功能衰退現象，包括單純與年齡增長有關之功能衰退(age-related physiologic deterioration)，以及伴隨年齡增長而發生的疾病(age-associated disease)。老化包含了分子、細胞，以及系統方面的改變。分子與細胞的老化是由內在基因與外在環境等因素所造成；而系統的老化則是器官發生變化，如皮膚變硬、變粗，以及產生皺紋等變化。因此老化包括功能(function)、行為(behavior)，以及外表(performance)上的改變。

目前學界對於生物老化的機制有許多種假設，其中較常見的理論包括：氧化壓力(oxidative stress)、粒線體失能(mitochondrial dysfunction)、糖化(glycation)、免疫系統失調(deregulation of the immune system)、內分泌變化(hormonal change)、表關遺傳學修飾(epigenetic modification)，以及端粒修飾功能失能(dysfunction telomere attrition)等。最早的老化理論為Harman(1956)提出的自由基假說(free radical theory)，其理論指出，老化是由身體內產生的活性氧化物質(reactive oxygen species)，如羥基自由基(hydroxyl radical)與超氧化物(super oxide)等，隨機傷害細胞內的分子所致。然而，在此篇假說被發表之後，其他學者認為活性氧化物質是耗氧生物體內一定會出現的副產物，且會參與體內重要的訊息傳遞路徑；因此，自由基假說逐漸被氧化壓力學說(oxidative stress hypothesis)取代。氧化壓力學說指出，氧化壓力為促氧化因子與

抗氧化因子 (pro-oxidant-antioxidant) 之間不平衡所導致。在正常的生理狀況下，過多的活性氧化物質會被細胞內的抗氧化系統，例如超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase)、過氧化氫酶 (catalase)、麩胺基硫過氧化酶 (glutathione peroxidase)、麩胺基硫還原酶 (glutathione reductase)，以及麩胺基硫 (glutathione) 等抗氧化酵素或抗氧化物所清除；若氧化壓力過大，細胞內的抗氧化機制不足以清除活性氧化物質時，過多的活性氧化物質才會對細胞造成隨機性的傷害。此外，活性氧化物質可能進一步引起連鎖反應，導致蛋白質、碳水化合物、脂肪、核酸等細胞的組成物質發生氧化，造成過氧化脂質堆積，進而破壞體內的細胞膜、蛋白質，以及核酸等，使細胞生理功能受損，進而導致疾病與老化的發生。細胞內數種不同的胞器及酵素作用的過程皆會產生活性氧化物質，例如在過氧化體 (peroxisome) 中的脂質氧化作用、粒線體內的氧化磷酸化作用 (oxidative phosphorylation)、細胞質內的環氧合酶 (cyclooxygenase) 及黃嘌呤氧化酶 (xanthine oxidase)，皆會在反應過程中增加細胞氧化壓力；其中又以粒線體的氧化磷酸化作用為最主要的活性氧化物質來源。因此，粒線體的失能 (mitochondrial dysfunction) 被認為是造成老化至關重要的原因之一。粒線體內產生的活性氧化物質除了會攻擊細胞內各個胞器之外，也會攻擊粒線體自身，造成粒線體去氧核糖核酸 (mitochondrial DNA) 突變，或是使膜上呼吸酶 (respiratory enzyme) 失去功能。導致粒線體內的活性氧化物質產量更多，粒線體損壞程度更大，如此惡性循環，最終使得粒線體失能，加快身體老化。因此，若能增加生物體內抗氧化能力，分解活性氧化物質，則能減少細胞傷害，延緩生物體的衰老。

### 進行老化研究之實驗模式

進行老化研究之實驗模式，包含細胞模式與實驗動物模式等 2 類。

在細胞模式方面，常使用人類胚肺成纖維細

胞 (human embryo lung fibroblasts) MRC-5，以過氧化氫誘導細胞早期衰老後，再評估待測樣品是否具有延緩細胞衰老的功效。除以流式細胞儀 (flow cytometer) 分析細胞週期以外，並可測定細胞內超氧化物歧化酶、過氧化氫酶、麩胺基硫過氧化酶、麩胺基硫還原酶等抗氧化酵素活性。另可測定其他與活性氧化物質攻擊而造成細胞損傷的指標，包括：脂肪類的共軛二烯烴 (conjugated dienes)、脂質氫過氧化物 (lipid hydroperoxides)、烷烴類 (alkanes)，以及醛類 (aldehydes)；蛋白質類的羰基 (carbonyl groups)、羧基壬烯蛋白結合物 (HNE-protein adducts)、丙二醛蛋白結合物 (MDA-protein adducts)，以及蛋白質巰基流失 (loss of protein sulfhydryl groups)；去氧核糖核酸類的 8- 氧代 -2'- 脫氧鳥苷 (8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, 8-OHdG) 等。此外，亦可測定細胞中與老化有關的基因表現量，如 p53、Caspase3、Caspase9、Apf1、Noxa、Puma 等基因的表現量。

在實驗動物模式方面，多數老化研究仍以啮齒類動物為主，鮮少以伴侶動物進行實驗。進行老化動物實驗，除以正常動物長期飼養至老化年紀才進行實驗以外，亦常以基因遺傳型老化動物模式，如老化促進小鼠 (senescence accelerated mice; SAM)，或是誘導型老化動物模式，如半乳糖誘導老化動物模式 (D-galactose induced senescence model) 來進行實驗。半乳糖為一種還原糖，存在自然界多種食物中，如蜂蜜、甜菜、豆漿、牛奶、奇異果、櫻桃、芹菜等，亦可經由水解乳糖產生。已有多篇研究證實注射低劑量的半乳糖到小鼠體內，可誘導小鼠產生神經損傷、降低抗氧化酵素活性等與老化相關的症狀；而每日注射每公斤體重 100 至 500 mg 的半乳糖至小鼠體內，連續注射 6 至 8 週後即可誘導小鼠腦部老化，且半乳糖誘導老化的情形與正常老化小鼠的情況相似。目前對於半乳糖造成動物老化的詳細機制仍不是非常清楚，而目前最被廣泛接受的可能原因包括：(1) 增加糖化終產物

(advanced glycation end products ; AGE) 的產量，刺激糖化終產物受體 (receptor for advanced glycation end products ; RAGE) 表現其下游基因。(2) 造成粒線體失能，減少呼吸鏈及抗氧化酵素活性，因而增加氧化壓力，致使粒線體 DNA 突變，減少 ATP 產量。(3) 減少抗氧化酵素，如超氧化物歧化酶、過氧化氫酶、麩胺基硫過氧化物酶，以及麩胺基硫還原酶等活性，使動物體內之抗氧化能力下降。(4) 增加細胞凋亡因子，如凋亡蛋白酶 -3(caspase-3)、凋亡蛋白酶 -9(caspase-9)，以及 Bax(Bcl-2-associated X protein) 的蛋白表現量，減少抗凋亡因子 bcl-2(B-cell lymphoma 2) 的蛋白表現量，促使細胞凋亡。而神經細胞之凋亡，更導致記憶力減退，造成認知障礙。(5) 增加發炎反應相關蛋白質的表現量，如環氧合酶 (cyclooxygenase ; COX)、誘導型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase ; iNOS)、腫瘤壞死因子 - $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$  ; TNF- $\alpha$ )、介白素 -1 $\beta$ (interleukin 1 $\beta$  ; IL-1 $\beta$ )、介白素 -6(interleukin-6 ; IL-6)，以及核因子活化 B 細胞  $\kappa$  輕鏈增強子 (nuclear factor  $\kappa$ -light-chain-enhancer of activated B cells ; NF- $\kappa$ B) 等的表現量，促使細胞產生發炎反應。

過多的半乳糖會增加體內糖化終產物與活性氧化物質的產量。在正常生理狀況下，半乳糖會經由小腸吸收，經由血液送到肝臟，並存放至肝臟中，肝臟內的半乳糖激酶 (galactokinase) 與半乳糖 -1- 磷酸尿苷醣轉移酶 (galactose-1-phosphate uridylyltransferase) 會將半乳糖轉換成葡萄糖，使之進入糖解作用的代謝路徑，亦或是轉化成肝醣儲存在肌肉或肝臟中。然而，當攝取的還原糖過多時，這些糖會透過非酵素的醣化作用 (non-enzymatic glycosylation)，亦即梅納反應 (Maillard reaction)，而使體內蛋白質的胺基 (amino group) 與還原糖的羰基 (carbonyl group) 產生反應，形成糖化終產物。糖化終產物引起的老化則與：組織蛋白質的醣化；糖化終產物受體之活化；半乳糖醇 (galactitol) 之累積有關。在組織蛋白質的醣化方面，動物組織之蛋

白質被還原糖糖化後，會使得組織硬化、纖維化、組織蛋白沉澱，以及蛋白轉換率 (turnover rate) 下降等，並且會破壞細胞結構，導致身體慢性發炎，進而使得細胞功能失調。如膠原蛋白 (collagen) 與彈性蛋白 (elastin) 發生糖化時，會導致細胞外基質 (extracellular matrix) 硬化，使得組織黏性與彈性皆變差；而若體內酵素被糖化，則可能因結構變異或是活性結合位失去結合能力，而使酵素失去活性。在糖化終產物受體之活化方面，糖化終產物可使其受體 (糖化終產物受體) 活化，進而刺激其下游基因表現，並激活與促發炎反應與促氧化相關之細胞傳遞路徑，如提高促分裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase ; MAPK) 與 NADPH 氧化酶 (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase ; NADPH oxidase) 之表達量，或是使 IL-1 $\beta$ 、IL-2、IL-6 及 TNF- $\alpha$  等促發炎因子的表現量增加，進而提高體內活性氧化物質的含量而引起氧化壓力，促使細胞凋亡，最終使得器官的老化加速。半乳糖醇 (galactitol) 之累積方面，半乳糖除了被代謝成葡萄糖外，亦有可能被代謝成半乳糖醇。半乳糖醇在細胞內無法被代謝轉化，且由於滲透壓大，半乳糖醇難以被細胞滲透出細胞外，因而累積於細胞內，造成細胞滲透壓不平衡，使得粒線體之電子傳遞鏈 (electron transport chain ; ETC) 活性降低，進而導致活性氧化物質含量增加，引起粒線體失活。

### 具有延緩衰老功效之藥物

有關延緩衰老功效之藥物開發，除了新藥研發以外，亦有多種老藥新用 (drug repurposing) 於開發延緩衰老之藥物。除了藥廠積極投入相關研究以外，亦有政府部門經費挹注相關研究，如 Calico(California Life Sciences Company) 公司、Human Longevity 公司、美國 National Institute on Aging(NIA) 之 Interventions Testing Program(ITP) 等。在老藥新用方面，NIA 之 ITP 列出 13 種目前測試中的延緩衰老藥物；而 Geroprotectors.org 資料庫 (<https://geroprotectors.org>) 則列出 250 種以上

具有延緩衰老潛力之藥物，其中 103 種為已核准在人類使用之藥物，其可能具有延緩衰老功效之新用途，如原本做為免疫抑制劑 (immunosuppressant) 之 rapamycin，以及糖尿病藥物 metformin，均有可能發展為延緩衰老之藥物。

### 具有延緩衰老功效之健康食品

我國健康食品由「健康食品管理法」規範，衛生福利部公告之健康食品功效評估方法共計 13 項，其中與老化有關之項目為「延緩衰老保健功效評估方法」，其它健康食品功效評估方法則包括：調節血脂功能、骨質保健功效、免疫調節功能、胃腸功能改善、牙齒保健功能、調節血糖功能、護肝保健功效、抗疲勞功能、促進鐵吸收功能、輔助調節血壓功能、不易形成體脂肪保健功效、輔助調整過敏體質功能等。目前已取得衛署(部)健食字許可證而可宣稱具有延緩衰老保健功效之產品共計 8 項，保健功效相關成分包括靈芝酸、多醣肽、靈芝粗多醣、多酚、管花苯乙醇苷、癸烯酸等。保健功效均由動物實驗證實，如以誘導型老化動物實驗模式或易老化動物模式證實有助於延緩老化之功效。目前已審核通過之健康食品資料均可於衛生福利部食品藥物管理署建置之「食品藥物消費者專區」資料庫 (<https://consumer.fda.gov.tw/Food/InfoHealthFood.aspx?nodeID=162>) 查詢。

### 具有延緩衰老功效潛力之中草藥

除了前述具有延緩衰老功效之藥物與健康食品以外，目前亦有許多研究證實多種中草藥具有抗氧化能力，可能具有延緩衰老之功效，其中又以清熱解毒之中草藥 (heat-clearing and detoxicating herbs) 最具潛力。清熱解毒之中草藥最早記載於「黃帝內經」中，此類中草藥，如梔子、黃芩、黃連、板藍根、金銀花、連翹及魚腥草等，具有清熱瀉火、涼血解毒的功效，並可以順氣，增加體內循環。許多清熱解毒類之中草藥被證實具有抗菌、抗發炎、抗氧化、退燒、去除毒素、免疫調節、抗血小板聚

集，以及護肝等功效。而其「瀉火」與「解毒」的功效，可能與現代醫學中的「抗發炎」有關。此類中草藥之功效成分，可以透過抑制促發炎細胞激素 (pro-inflammatory cytokine) 及促發炎介質 (pro-inflammatory mediator)，以及阻斷免疫反應細胞傳遞路徑干擾趨化因子 (chemokine) 的方式，減緩身體的發炎反應。

中草藥的效果雖較西藥緩慢，但其藥性溫和、副作用低。因此，極具有開發為延緩衰老功效之伴侶動物保健品。本研究團隊於農委會經費挹注之下，利用細胞模式廣泛進行具有延緩細胞衰老功效之中草藥的篩選，並利用老化實驗動物模式進行功效驗證。以梔子為例，已有許多研究證實梔子具有抗氧化、抗老化，以及延緩老化相關疾病的功能：在自然老化的大鼠實驗中，給予大鼠梔子素 (genipin) 可以減緩因老化造成的胰島素抗性、高胰島素血症、高血脂、肝細胞變性、肝臟氧化壓力，以及粒線體失能等；而在與老化相關疾病實驗中，以阿茲海默症小鼠為實驗模式，梔子苷 (geniposide) 能減緩小鼠的認知障礙、增加膽鹼性的神經傳遞，以及抑制糖化終產物受體之傳遞路徑，並藉由抑制發炎、改善澱粉樣沉積來保護腦神經，增進認知能力；在帕金森氏症小鼠之實驗模式中，給予小鼠梔子苷可增加了小鼠的運動活性和運動平衡，減緩小鼠的運動遲緩，以及減少腦內黑質細胞凋亡相關的蛋白表現量。梔子的抗老化功效，可能與梔子內的生物有效活性成分具有修復粒線體失能、增加抗氧化能力、減少發炎反應，以及減少細胞凋亡等功能有關。本研究團隊的研究成果亦證實梔子具有開發為延緩衰老功效之伴侶動物保健品的潛力。

### 結論

我國伴侶動物保健品市場持續蓬勃發展，飼主對伴侶動物之健康不僅更加重視，且在伴侶動物擬人化的趨勢下，高齡伴侶動物的數量急驟增加。隨著老化相關疾病的發生，飼主需耗費更多時間精力與費用來照護高齡伴侶動物，生理心理均深受影

響。因此，具有延緩衰老功效之伴侶動物保健品極具市場潛力。藉由本研究團隊建立之細胞模式篩選平臺與老化實驗動物功效驗證平臺，可快速而大量的進行延緩衰老功效潛力物質的篩選與研究，未來

將可開發為伴侶動物保健品，期能延緩伴侶動物之衰老，提升飼主和伴侶動物之生活品質與健康。

AqBIO

劉嘉睿 國立臺灣大學 生物科技研究所 教授  
陳又嘉 國立臺灣大學 生物科技研究所 研究助理

## 參考文獻

- Hayek, M. G. and Davenport, G. M. (1998). *Nutrition and aging in companion animals*. Journal of Anti-Aging Medicine 1:117–123.
- Jenkins, J. L. (1986). *Physiological effects of petting a companion animal*. Psychological Reports 58:21–22.
- Fahey, G. C., Barry, K. A. and Swanson, K. S. (2008). *Age-related changes in nutrient utilization by companion animals*. Annual Review of Nutrition 28:425–445.
- Kaeberlein, M., Creevy, K. E. and Promislow, D. E. L. (2016). *The dog aging project: translational geroscience in companion animals*. Mammalian Genome 27:279–288.
- Vite, C. H. and Head, E. (2014). *Aging in the canine and feline brain*. The Veterinary clinics of North America. Small Animal Practice 44:1113–1129.
- Cho, S. (2014). *The role of functional foods in cutaneous anti-aging*. Journal of Lifestyle Medicine 4:8–16.
- Fougère, B., Boulanger, E., Nourhashemi, F., Guyonnet, S. and Cesari, M. (2017). *Chronic inflammation: Accelerator of biological aging*. Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences 72:1218–1225.
- Harman, D. (1956). *Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry*. Journal of Gerontology 11:298–300.
- Sohal, R. S. and Orr, W. C. (2012). *The redox stress hypothesis of aging*. Free Radical Biology & Medicine 52:539–555.
- Balaban, R. S., Nemoto, S. and Finkel, T. (2005). *Mitochondria, oxidants, and aging*. Cell 120:483–495.
- Aiello, A., Accardi, G., Candore, G., Carruba, G., Davinelli, S., Passarino, G., et al. (2016). *Nutrigerontology: A key for achieving successful ageing and longevity*. Immunity & Ageing 13:17.
- Kong, B., Peng, X., Xiong, Y. L. and Zhao, X. (2012). *Protection of lung fibroblast MRC-5 cells against hydrogen peroxide-induced oxidative damage by 0.1-2.8 kDa antioxidative peptides isolated from whey protein hydrolysate*. Food Chemistry 135:540–547.
- Yang, G., Jiang, Y., Rao, K., Chen, X., Wang, Q., Liu, A., et al. (2011). *Mitochondrial dysfunction and transactivation of p53-dependent apoptotic genes in BaP-treated human fetal lung fibroblasts*. Human & Experimental Toxicology 30:1904–1913.
- Song, X., Bao, M., Li, D. and Li, Y. M. (1999). *Advanced glycation in D-galactose induced mouse aging model*. Mechanisms of Ageing and Development 108:239–251.
- Shwe, T., Pratchayasakul, W., Chattipakorn, N. and Chattipakorn, S. C. (2018). *Role of D-galactose-induced brain aging and its potential used for therapeutic interventions*. Experimental Gerontology 101:13–36.
- Coelho, A. I., Berry, G. T. and Rubio-Gozalbo, M. E. (2015). *Galactose metabolism and health*. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care 18:422–427.
- Srikanth, V., Maczurek, A., Phan, T., Steele, M., Westcott, B., Juskiw, D. and Münch, G. (2011). *Advanced glycation endproducts and their receptor RAGE in Alzheimer's disease*. Neurobiology of Aging 32:763–777.
- Frimat, M., Daroux, M., Litke, R., Nevière, R., Tessier, F. J. and Boulanger, E. (2017). *Kidney, heart and brain: Three organs targeted by ageing and glycation*. Clinical Science 131:1069–1092.
- Grossin, N., Auger, F., Niquet-Leridon, C., Durieux, N., Montaigne, D., Schmidt, A. M., et al. (2015). *Dietary CML-enriched protein induces functional arterial aging in a RAGE-dependent manner in mice*. Molecular Nutrition & Food Research 59:927–938.
- Roca, F., Grossin, N., Chassagne, P., Puisieux, F. and Boulanger, E. (2014). *Glycation: the angiogenic paradox in aging and age-related disorders and diseases*. Ageing Research Reviews 15:146–160.
- Olga. (2015). *Geroprotectors.org: a new, structured and curated database of current therapeutic interventions in aging and age related disease*. Aging 7:616–628.
- Mallikarjun, V. and Swift, J. (2016). *Therapeutic manipulation of ageing: repurposing old dogs and discovering new tricks*. EBioMedicine 14:24–31.
- Zhang, Y., Liang, Y. and He, C. (2017). *Anticancer activities and mechanisms of heat-clearing and detoxicating traditional Chinese herbal medicine*. Chinese Medicine 12:20–15.
- Jiang, W.-Y. (2005). *Therapeutic wisdom in traditional Chinese medicine: A perspective from modern science*. Trends in Pharmacological Sciences 26:558–563.
- Muluye, R. A., Bian, Y. and Alemu, P. N. (2014). *Anti-inflammatory and antimicrobial effects of heat-clearing Chinese herbs: A current review*. Journal of Traditional and Complementary Medicine 4:93–98.
- Guan, L., Feng, H., Gong, D., Zhao, X., Cai, L., Wu, Q., et al. (2013). *Genipin ameliorates age-related insulin resistance through inhibiting hepatic oxidative stress and mitochondrial dysfunction*. Experimental Gerontology 48:1387–1394.
- Lv, C., Wang, L., Liu, X., Yan, S., Yan, S. S., Wang, Y. and Zhang, W. (2015). *Multi-faced neuroprotective effects of geniposide depending on the RAGE-mediated signaling in an Alzheimer mouse model*. Neuropharmacology 89:175–184.
- Zhao, C., Zhang, H., Li, H., Lv, C., Liu, X., Li, Z., et al. (2017). *Geniposide ameliorates cognitive deficits by attenuating the cholinergic defect and amyloidosis in middle-aged Alzheimer model mice*. Neuropharmacology 116:18–29.
- Chen, Y., Zhang, Y., Li, L. and Hölscher, C. (2015). *Neuroprotective effects of geniposide in the MPTP mouse model of Parkinson's disease*. European Journal of Pharmacology 768:21–27.
- Lv, S., Ding, Y., Zhao, H., Liu, S., Zhang, J. and Wang, J. (2018). *Therapeutic potential and effective components of the Chinese herb Gardeniae fructus in the treatment of senile disease*. Aging and Disease 9:1153–1164.