



はじめに

国内において高齢化が急速に進行する中、老化に伴う健康問題は社会的にも医療的にも極めて重要な課題となっている。2021年の国内の平均寿命は、男性は81.5歳、女性は86.9歳であり、また健康上の問題によって日常生活が制限されることなく生活できる期間、すなわち「健康寿命」は、男性72.6歳、女性75.5歳と世界的に見て高いスコアを保持している。一方で、平均寿命と健康寿命の差は、男性8.9年、女性11.4年もあり、晩年の10年近くを健康に大きな問題を抱えながら生活する方が多いことが示唆される¹⁾。このような状況は、高齢者のQOLを下げるだけでなく、医療費の増大や介護人材の不足を招き、社会保障制度の維持を困難にするため、その差の圧縮が急務である。

健康寿命のさらなる改善を目指す上で、フレイルへの対策が特に重要視されてきている。フレイルとは、身体的、精神的、社会的機能が低下し、外的なストレスに対する脆弱性が増している状態であり、さらに進行すると寝たきりのように不可逆的に健康が損なわれてしまうが、介入によってその進行を抑えたり、回復が可能な境界域と定義されている²⁾。

高齢者の栄養状態の悪さは、疾患への罹患率と死亡率の重要な要因であり、フレイルの進行にも深く関与していることが多くの研究で示されている³⁻⁵⁾。高齢者が栄養不良を発症しやすい背景には、食欲低下や消化器・感覚器機能の低下などがある^{6, 7)}。高齢者の食欲の低下は、体が思うように動けなくなったり、社会から孤立したり、身近な人の喪失などによる大きなストレス、各種疾患や多種類の服薬の影響、歯の脱落や嗅覚・味覚の低下によって食事が楽しめなくなったり、意欲自体が低下することが影響していると考えられている。また、食事を摂れても消化器官の機能が低下しており、吸収される栄養素が減少することも報告されている⁸⁻¹⁰⁾。

実際、後期高齢者においては栄養不良が多く見られ、BMIが18.5以下の低栄養傾向者の割合は、75~79歳で17.5%、80~84歳で20%、85歳以上では30%前後に上ると報告されている¹¹⁾。このような状態が継続すると、免疫力の低下から感染症のリスクが増したり、筋肉や骨の劣化から運動機能の低下を招いて骨折や転倒を引き起こし、寝たきり状態へと続く負のスパイラルに陥る可能性が高まると考えられている。

しかし現代医療においては、高齢者の栄養状態の低下は老化に伴う自然な流れとされ、有用な診断基準が不足していただけない^{12, 13)}、治療としても食事指導の他、吐き気や便秘薬、抗不安薬などの個別の症状に対応するのが主流であった。また最近、食欲不振や消化管運動改善薬も出てきてはいるが、残念ながら高齢者の栄養不良までは適応としてはいない。

一方で漢方医療では、老化に伴う様々な症状は、漢方概念の中心となる気や血の不足、腎や脾胃の機能の低下によるものと考え、それぞれ不足しているものを補う処方が用いられる。特に補剤は生体の活力を補い、機能を賦活することで治癒を促す薬とされ、高齢者によく用いられる。

人參養榮湯(以下、人養)は、人參、黄耆、当歸、地黄、白朮、茯苓、芍薬、桂皮、陳皮、遠志、五味子、甘草の12種類の生薬からなる補剤の代表的な処方の一つで、疲労倦怠、体力低下、食欲不振、貧血、不眠、手足の冷えなどに効能を持ち、特に消耗性や虚弱性が高い病態に使用される。これまでの研究から、人養が老化に伴うフレイルやサルコペニア、食欲不振、活動性の低下¹⁴⁻¹⁹⁾にも効果があることが報告されている。そのため、老化に伴う栄養不良に対する人養による介入は、フレイルの進行を遅らせたり逆転させることにより、健康寿命を改善する可能性が期待されている。

Klotho-hypomorphicマウス(以下、Klothoマウス)は、加齢とともに減少する抗老化タンパクであると考えられている α Klothoの遺伝子座に変異を持っており、多くの個体で寿命が8~9週間と非常に短く、体重減少、運動能低下、骨粗鬆症、免疫低下、脂肪や筋肉の萎縮、性腺機能減退、肺気腫、そして栄養不良など、ヒトの老化に類似した様々な虚弱性を示すことで知られている^{20, 21)}。

そこで本研究では、Klothoマウスを使用して、老化早期から人養を継続服用させ、老齢後期~終末期の栄養状態や、栄養吸収の場の主な場である小腸組織に与える影響を評価した。

方法

Klothoマウス(雄性)は、老化初期に当たる28日齢で、遺伝子座に変異が入っていない兄弟マウス(野生型)とともに日本クレア(株)より導入した。なお、Klothoマウス

は低体温、感染症、社会的隔離ストレスに極めて弱いため、野生型とともに1つのケージに集団で収容し、クリーンシェルフ内(夏目製作所)で、高めの室温(26±1℃)、湿度(60%)で飼育した。餌は、げっ歯類用通常飼料MF(オリエンタルバイオ(株))に、3%もしくは5%(w/w)の人参養栄湯エキスを混合、ペレット化したものを滅菌後ケージの底に置いて与え、体重は5日毎に測定した。また別セットの実験では、死亡個体が増加してきた約60日齢にて剖検に供し、栄養指標である、筋肉量・脂肪重量、速筋の太さ、血中の総タンパク質量、アルブミン値、血糖値、トリグリセリド値の測定および、栄養吸収の主たる臓器である小腸の絨毛長・陰窩長を評価後、絨毛をKi-67染色およびTUNEL法を用いて染色し、絨毛当たりの増殖細胞数および死細胞数を評価した(各個体50本程度)。

結果

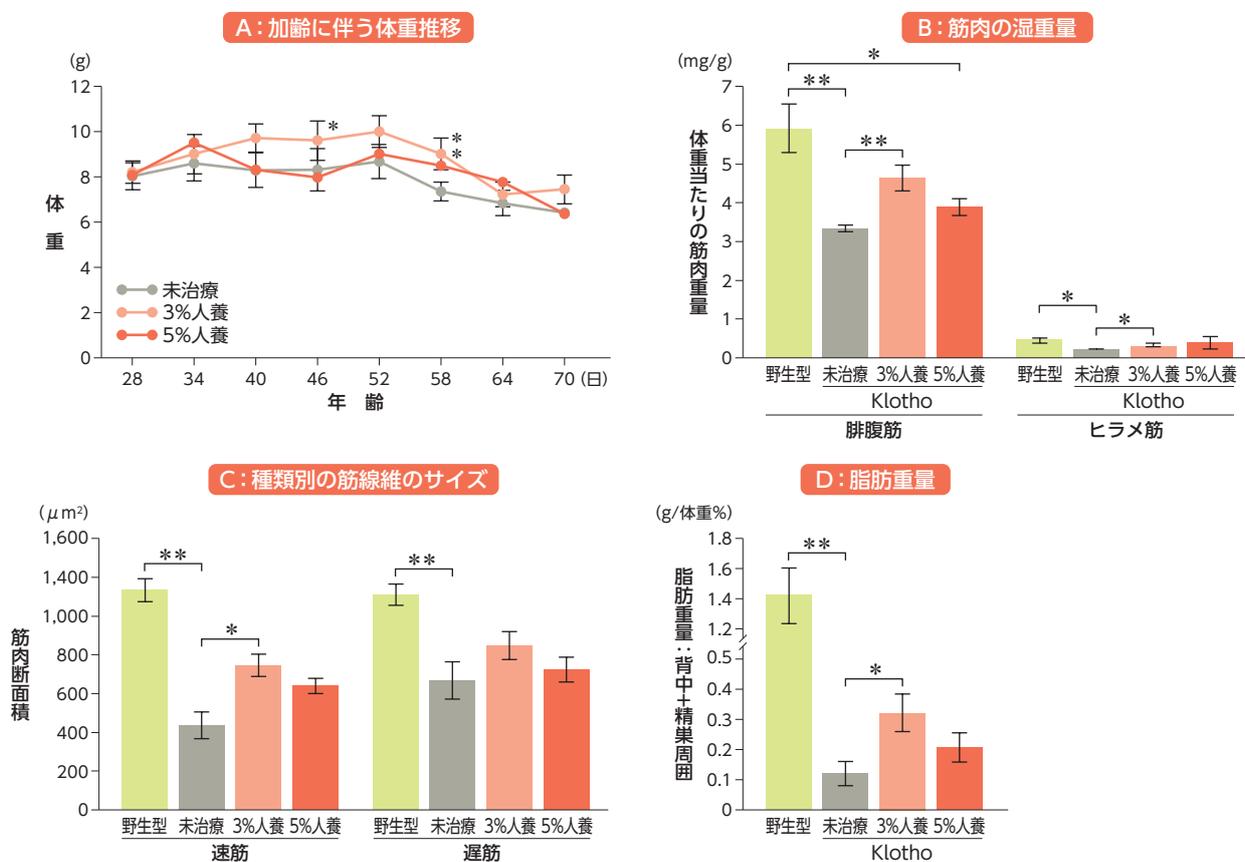
Klothoマウスの未治療群では28日齢から52日齢まで体重の大きな変化を認めなかったが、3%人養群では28日齢から52日齢まで緩やかな増加が観察された。それ以降は全群において自然な体重減少が見られたため終末期相当

と考えられるが、死亡数が増加した58日齢の体重を比較すると、未治療群では初期体重比で8.39%体重が減少したが、3%人養群では9.79%、5%人養群では5.22%の増加を維持していた(図1A)。

筋肉の体重あたりの湿重量のうち、後脚の腓腹筋およびヒラメ筋において、未治療群で野生型と比較してそれぞれ43.72%、52.48%減少したのに対し、3%人養群では21.61%、26.19%の減少に有意に抑制されていた(図1B)。さらに、それらの筋肉を遅筋/速筋マーカーで染色し、萎縮率を測定したところ、未治療群では、速筋線維が野生型に比べ61.58%萎縮したのに対し、3%人養群では34.27%の萎縮に有意に止まっていた。一方で、遅筋線維は未治療群で萎縮を認めたが、人養による萎縮抑制を認めなかった(図1C)。また、背中および精巣周囲の体重に対する脂肪重量は、未治療群で野生型群と比較して91.54%減少したのに対し、3%人養群では77.38%の減少に有意に止まっていた(図1D)。

血中栄養指標である、総タンパク質、アルブミン、トリグリセリドおよび参考値としての血糖値は、未治療群で野生型群と比較してそれぞれ、30.25%、47.56%、74.89%、56.72%減少していたのに対して、3%人養群では20.82%、33.52%、63.31%、25.57%の減少に有意に止まっていた。

図1 人参養栄湯投与による体重、組織重量および筋線維の変動



(A) One-way ANOVA followed by Dennett's contrast. *: p<0.05 vs 未治療, N=18 Bars: SE

(B) Kruskal-Wallis of variance followed by Steel's test. (C, D) one-way ANOVA followed by Dunnett's test *: p<0.05, **: p<0.01 vs 未治療, N=5-7 Bars: SE

Front Pharmacol. 2022 24:13:973897より再掲載

また総タンパクとトリグリセリドは、5%人養群でも、有意な改善を認めた(図2A-D)。

小腸の絨毛組織の絨毛長は、未治療群で野生型群と比較して、48.58%萎縮していたのに対して、3%人養群では27.41%の萎縮に有意に止まっていた。一方で陰窩の長さは、未治療群でやや増加傾向があるものの、大きな変化は認めなかった。また、絨毛のターンオーバーの指標となる陰窩長/絨毛長比は、未治療群で野生型群と比較して、134.17%低下していたのに対し、3%人養群では71.62%の低下に有意に止まっていた(図3A-C)。

陰窩における、増殖フェーズにある細胞をKi-67で検出したところ、未治療群で野生型群と比較して92.22%減少していたのに対し、3%人養群では81.12%の減少に有意に止まっていた(図3F)。さらに、陰窩および絨毛においてアポトーシスを起こした死細胞を検出したところ、未治療群で野生型群と比較して8.51倍および9.94倍増加していたのに対し、3%人養群では1.43倍、0.99倍の増加に有意に止まっていた(図3D、E)。

図2 人參養榮湯投与による血中栄養マーカーの変動

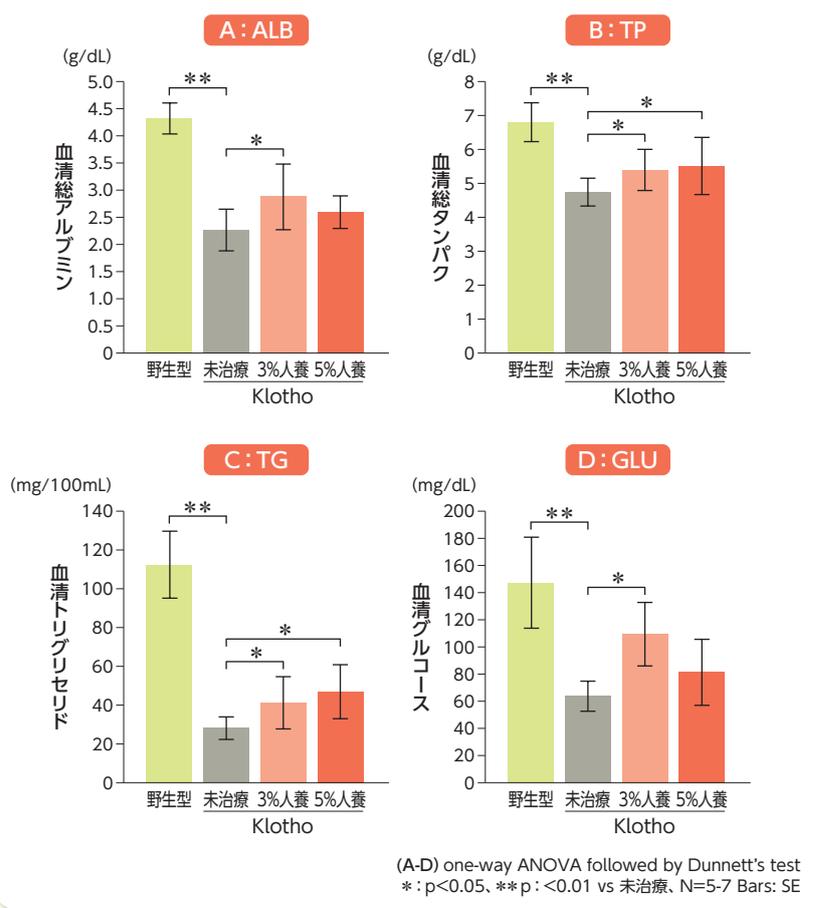
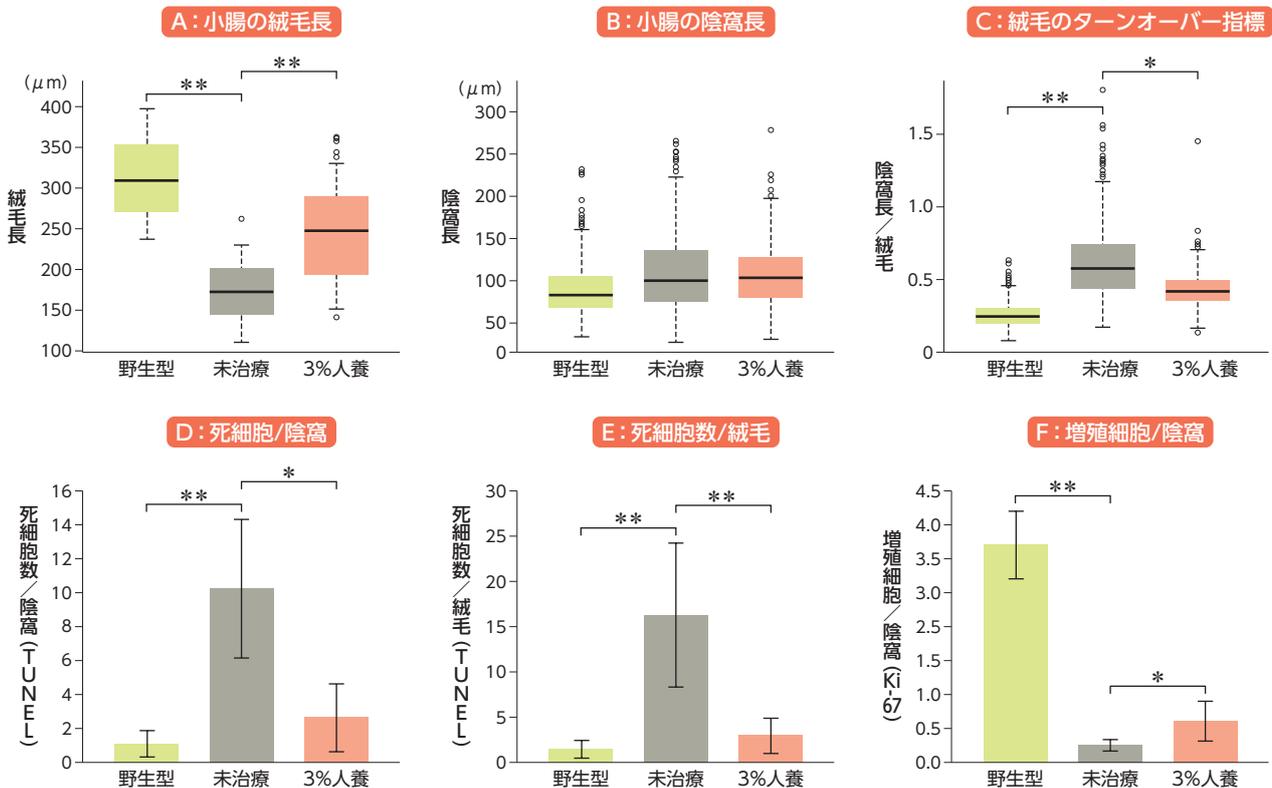


図3 人參養榮湯投与による小腸絨毛組織の変動



(A-F) one-way ANOVA by Dunnett's test, * : p<0.05, ** : p<0.01 vs 未治療, N=5-7 Bars: SD

考察とまとめ

先に述べたように、高齢者は老化が進むにつれ、次第に栄養不良を発症する。国内の平均寿命は84.3歳であるが、この付近の年齢(>85歳)から急激にBMI 18.5%を切る高齢者が急増しており、老化後期～終末期に栄養問題が集中していることがわかる¹¹⁾。

本研究においては、老化早期から人養による治療を行うことで、体重を始め、筋重量と栄養状態に敏感な速筋線維、脂肪量、および血中総タンパク質、アルブミン、トリグリセリドおよび血糖などの栄養状態の指標が、死亡個体が多発する終末期においても、ある程度維持できる可能性を示した。

これまでの研究から、人參養榮湯には、老化の後期や抗がん剤モデルなど虚弱状態が強いモデルや患者において、食欲を改善²²⁻²⁵⁾することが報告されており、以前に実施したわれわれのKlothoマウスを使った研究²⁶⁾においても、老化時の摂餌量を改善する可能性について報告していた。

一方で、摂食量改善への寄与は重要であるものの、消化管機能が低下していれば、食欲を促進したとしても効率良くカロリーとして消化・吸収することはできないと考えられる。実際、老化に伴う消化管の機能低下は、消化液分泌の減衰³¹⁻³³⁾、吸収効率の低下²⁷⁻³⁰⁾、腸管蠕動運動の低下³⁴⁾など多岐に渡ることが報告されている。本研究で用いた早期老化Klothoマウスでは、小腸の絨毛が顕著に萎縮すること³⁵⁾が報告されており、多くの栄養分は小腸絨毛から吸収されるため、吸収面積の低下から栄養吸収に問題が起きているモデルとも考えられる。

小腸上皮は、絨毛と呼ばれる腸管腔への突起と、陰窩と呼ばれるカップ状の陥入部で構成されている。絨毛は腸の栄養吸収単位で、陰窩には絨毛の新陳代謝すなわちターンオーバーを支える幹細胞が含まれており、幹細胞やそれが分化した前駆細胞群から小腸上皮を構成する細胞系統が生じることが知られている。そこで本研究では、3%人養を服用させたことで栄養状態の改善を認めた個体の小腸を回収し、絨毛組織を評価したところ、絨毛の萎縮の軽減とターンオーバー指標である陰窩長に対する絨毛長比率も改善を認めたため、栄養吸収面積の回復効果が示唆された。

また、老化に伴い絨毛や陰窩を構成する細胞のアポトーシスが増加し、形態的には組織が維持されていても、機能性は低下している可能性³⁶⁾があったため死細胞を検出したところ、絨毛内の死細胞が未治療で増加しており、3%人養群での改善を認めた。また、陰窩におけるターンオーバーの担い手である増殖細胞が、未治療群でほとんどおらず、人養3%群で改善を認めたため、人養によって加齢後も絨毛のターンオーバーが維持できており、吸収能の恒常性保持に寄与していると考えられた。

絨毛のターンオーバーを支える幹細胞や前駆細胞に対

する構成生薬の寄与が幾つか報告されており、人參には老化マウスにおいてWnt/ β -カテニンからLgr5、Olfm4に至るシグナルを介して、腸幹細胞の機能を促進し、腸絨毛の長さを増加させることが報告されている³⁷⁾。

また、その成分である総ジンセノサイドには、ポリアミンを介した調節機構に影響を与えることで、小腸絨毛の増殖を促すことも報告されている³⁸⁾。また白朮には、IL-22シグナル経路を活性化することで、老化マウスの腸幹細胞再生を促進することも報告されており³⁹⁾、実際に消化不良モデルのD-キシロースの吸収率を高めていることも報告されている⁴⁰⁾。さらに、桂皮にも、十二指腸と空腸の絨毛幅と絨毛表面積を増加させる効果が報告されているなど⁴¹⁾、幾つかの成分や機序を介した絨毛再生への寄与が窺える。

一方、老化に伴う小腸絨毛の形態学的な変化に関する報告には、実は萎縮なのか、肥大なのかで報告が分かれているところがある。後期高齢者や高齢の自然加齢マウス、SAMP10、Klothoマウスなどにおいては、絨毛長の萎縮やターンオーバーの低下が進行するという報告^{30, 35, 37, 42-46)}があるが、多くの加齢モデルで逆に、腸の絨毛のサイズは加齢に伴い増大するといった報告も多い^{36, 47-49)}。これらの相反する知見は、陰窩における幹細胞や前駆細胞の増殖能が維持されている状況においては、上記の老化に伴う死細胞や変性した細胞が増加した場合、加齢による栄養障害リスクを軽減するため、絨毛高を増大させる代償メカニズムが働いている可能性が考えられる。その一方、終末期などで陰窩の細胞の増殖能まで落ちてしまっている場合、代償メカニズムが働かず、絨毛の萎縮が起こる可能性が考えられた。これらはいくまで仮説であり、終末期までの経時的な絨毛の評価が今後の課題として考えられる。

多くの組織では、経時的に炎症の増大や抗酸化系の低下に伴い酸化ストレスの発生が増大し、死細胞の増加、再生能の低下、組織の恒常性の破綻が順に起こり、老化がもたらされると報告されている⁵⁰⁾。腸管は、刺激物を含む食物やバクテリアやウイルス、薬など、様々なダメージに常に晒されるため、酸化ストレスの大きな発生源である。通常であれば、高い酸化ストレス消去系や早いターンオーバーを使って、影響を最小限にしているものの、老化に伴いそのシステムが上手く働かなくなることがあるとの報告もある⁵¹⁾。われわれの以前の研究や幾つかの報告から、人參養榮湯の服用は、全身の血中や筋組織における酸化ストレスの発生を顕著に抑制することが分かっている⁵²⁻⁵⁴⁾。また、中心となる生薬である人參には、小腸の酸化ストレスの発生を示すマロンジアルデヒドの減少と死細胞の減少、酸化ストレスを消去するグルタチオンの増加効果も報告されている⁵⁵⁾。本実験の3%人養投与群においては、死細胞が減少し増殖も維持されているため、老化の進行に伴う酸化ストレス発生を軽減することで、絨毛組織の維持を

補助した可能性も考えられた。今後、8-OHdgやマロンジアルデヒドなど、腸組織における酸化ストレスマーカーの蓄積も評価していく予定。

高齢者が、寝たきりにならずに疾患から回復するには、免疫や体力の維持が大切であり、そのためにも栄養状態の改善は基礎条件である。本研究では、老化初期からの人養の

持続服用が、老化後期～終末期において全身の栄養状態を維持する助けとなる可能性を示した。また、要因の一部として食欲低下の改善の他に、栄養吸収能の維持が示唆された。

今後、腸管における吸収受容体の定量を行うとともに、幾つかの構成生薬で報告のある消化酵素の分泌や消化管運動への効果についても掘り下げていく予定^{37, 56, 57)}。

【参考文献】

- 1) World Health Organization: World health statistics 2023: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals Global report, 2023
- 2) Fried LP, Tangen CM, Walston J, Newman AB, Hirsch C, Gottdiener J, Seeman T, Tracy R, Kop WJ, Burke G, McBurnie MA: Frailty in older adults: evidence for a phenotype. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 56: M146-56, 2001
- 3) Mowe M, Bohmer T, Kindt E: Reduced nutritional status in an elderly population (>70y) is probable before disease and possibly contributes to the development of disease. *Am J Clin Nutr* 59: 317-324, 1994
- 4) Kerstetter JE, Holthausen BA, Fitz PA: Malnutrition in the institutionalized older adult. *J Am Diet Assoc* 92: 1109-1116, 1992
- 5) Payette H, Coulombe C, Boutier V, Gray-Donald K: Weight loss and mortality among free-living frail elders: a prospective study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 54: M440-5, 1999
- 6) Morley JE: Decreased food intake with aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 56 Spec No 2: 81-88, 2001
- 7) Schiffman SS: Effects of aging on the human taste system. *Ann N Y Acad Sci* 1170: 725-729, 2009
- 8) Ahmed T, Haboubi N: Assessment and management of nutrition in older people and its importance to health. *Clin Interv Aging* 5: 207-216, 2010
- 9) Kawashima K, Motohashi Y, Fujishima I: Prevalence of dysphagia among community-dwelling elderly individuals as estimated using a questionnaire for dysphagia screening. *Dysphagia* 19: 266-271, 2004
- 10) Santer RM, Baker DM: Enteric neuron numbers and sizes in Auerbach's plexus in the small and large intestine of adult and aged rats. *J Auton Nerv Syst* 25: 59-67, 1988
- 11) 厚生労働省: 国民健康・栄養調査, 2019
- 12) Tierney AJ: Undernutrition and elderly hospital patients: a review. *J Adv Nurs* 23: 228-236, 1996
- 13) Vellas B, Guigoz Y, Garry PJ, Nourhashemi F, Bennahum D, Lauque S, Albaredo JL: The Mini Nutritional Assessment (MNA) and its use in grading the nutritional state of elderly patients. *Nutrition* 15: 116-122, 1999
- 14) Miyano K, Nonaka M, Uzu M, Ohshima K, Uezono Y: Multifunctional Actions of Ninjinyoito, a Japanese Kampo Medicine: Accumulated Scientific Evidence Based on Experiments With Cells and Animal Models, and Clinical Studies. *Front Nutr* 5: 93, 2018
- 15) Uto NS, Amitani H, Atobe Y, Sameshima Y, Sakaki M, Rokot N, Ataka K, Amitani M, Inui A: Herbal Medicine Ninjinyoito in the Treatment of Sarcopenia and Frailty. *Front Nutr* 5: 126, 2018
- 16) Takayama S, Arita R, Ohsawa M, Kikuchi A, Yasui H, Makino T, Motoo Y, Ishii T: Perspectives on the Use of Ninjinyoito in Modern Medicine: A Review of Randomized Controlled Trials. *Evid Based Complement Alternat Med* 2019:9590260, 2019
- 17) Lee HG, Arai I, Kwon S: A Herbal Prescription of Insamyangyeongtang as a Therapeutic Agent for Frailty in Elderly: A Narrative Review. *Nutrients* 16, 2024
- 18) Amitani H, Suzuki H, Kobayashi H, Murayama M, Uto NS, Kuroda E, Kobayashi Y, Kawabe M, Amitani M, Inui A, Marunaka Y: Relationship between the severity of pre-frailty and the degree of adaptation of Ninjinyoito (NYT) on pre-frailty. *Front Aging* 5: 1304217, 2024
- 19) Suzuki S, Aihara F, Shibahara M, Sakai K: Safety and Effectiveness of Ninjinyoito: A Utilization Study in Elderly Patients. *Front Nutr* 6: 14, 2019
- 20) Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H, Kawaguchi H, Suga T, Utsugi T, Ohyama Y, Kurabayashi M, Kaname T, Kume E, Iwasaki H, Iida A, Shiraki-Iida T, Nishikawa S, Nagai R, Nabeshima Y: Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature* 390: 45-51, 1997
- 21) Nabeshima Y: Klotho: a fundamental regulator of aging. *Ageing Res Rev* 1: 627-638, 2002
- 22) Otsuka S, Matsuzaki R, Kakimoto S, Tachibe Y, Kawatani T, Takada S, Tani A, Nakanishi K, Matsuoka T, Kato Y, Inadome M, Nojima N, Sakakima H, Mizuno K, Matsubara Y, Maruyama I: Ninjinyoito reduces fatigue-like conditions by alleviating inflammation of the brain and skeletal muscles in aging mice. *PLoS One* 19: e0303833, 2024
- 23) Goswami C, Dezaki K, Wang L, Inui A, Seino Y, Yada T: Ninjinyoito activates ghrelin-responsive and unresponsive NPY neurons in the arcuate nucleus and counteracts cisplatin-induced anorexia. *Neuropeptides* 75: 58-64, 2019
- 24) Morinaga A, Nakamura H, Hattanmaru K, Rokot NT, Kimura Y, Ito T: Good Rehabilitation Outcomes and Improved Nutritional Status After Treatment With the Japanese Herbal Medicine Ninjinyoito in an Elderly Patient With Hip Fracture and Sarcopenia: A Case Report. *Front Nutr* 7: 85, 2020
- 25) Miyano K, Ohshima K, Suzuki N, Furuya S, Yoshida Y, Nonaka M, Higami Y, Yoshizawa K, Fujii H, Uezono Y: Japanese Herbal Medicine Ninjinyoito Mediates Its Orexigenic Properties Partially by Activating Orexin 1 Receptors. *Front Nutr* 7: 5, 2020
- 26) 高橋隆二, 千葉雅幹, 韓立坤, 藤田日奈: 人参養榮湯のマウス生存期間および老化表現型への影響 *日本心療内科学会誌* 22: 16-19, 2018
- 27) Holt PR: Intestinal malabsorption in the elderly. *Dig Dis* 25: 144-150, 2007
- 28) Britton E, McLaughlin JT: Ageing and the gut. *Proc Nutr Soc* 72: 173-177, 2013
- 29) Guyonnet S, Rolland Y: Screening for Malnutrition in Older People. *Clin Geriatr Med* 31: 429-437, 2015
- 30) Warren PM, Pepperman MA, Montgomery RD: Age changes in small-intestinal mucosa. *Lancet* 2: 849-850, 1978
- 31) 吉岡政洋 ほか: 百寿の消化吸収, 2000
- 32) Flores CA, Hing SA, Wells MA, Koldovsky O: Rates of triolein absorption in suckling and adult rats. *Am J Physiol* 257: G823-9, 1989
- 33) 荻原俊男: 老年医学 朝倉書店 145, 2003
- 34) 万行里佳: 加齢に伴う消化・吸収・排泄機能の変化, 理学療法学 48: 636-42, 2021
- 35) Sato S, Kawamata Y, Takahashi A, Imai Y, Hanyu A, Okuma A, Takasugi M, Yamakoshi K, Sorimachi H, Kanda H, Ishikawa Y, Sone S, Nishioka Y, Ohtani N, Hara E: Ablation of the p16 (INK4a) tumour suppressor reverses ageing phenotypes of klotho mice. *Nat Commun* 6: 7035, 2015
- 36) Martin K, Potten CS, Roberts SA, Kirkwood TB: Altered stem cell regeneration in irradiated intestinal crypts of senescent mice. *J Cell Sci* 111 (Pt 16): 2297-2303, 1998
- 37) Guo LL, Yan RY, Du Z, Li HB, Li GL, Wu SH: Ginseng promotes the function of intestinal stem cells through the Wnt/beta-catenin signaling pathway in D-galactose-induced aging mice. *Exp Gerontol* 185: 112351, 2024
- 38) Zhu Y, Wang A, Li R, Zhu H, Hu L, Chen W: Total ginsenosides promote the IEC-6 cell proliferation via affecting the regulatory mechanism mediated by polyamines. *Saudi Pharm J* 29: 1223-1232, 2021
- 39) Yin JT, Zhang MR, Zhang S, Yang SH, Li JP, Liu Y, Duan JA, Guo JM: Astragalus membranaceus Polysaccharide Regulates Small Intestinal Microbes and Activates IL-22 Signal Pathway to Promote Intestinal Stem Cell Regeneration in Aging Mice. *Am J Chin Med* 52: 513-539, 2024
- 40) Zhang XW, Zhou C, Wang XT, Lin HX, Gong W, Tang WQ: [Effect of Modified Baizhu Powder on Gastrointestinal Functions in Mouse Models with Stomach-cold Functional Dyspepsia]. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao* 37: 435-439, 2015
- 41) Yi D, Fang Q, Hou Y, Wang L, Xu H, Wu T, Gong J, Wu G: Dietary Supplementation with Oleum Cinnamomi Improves Intestinal Functions in Piglets. *Int J Mol Sci* 19: 2018
- 42) He D, Wu H, Xiang J, Ruan X, Peng P, Ruan Y, Chen YG, Wang Y, Yu Q, Zhang H, Habib SL, De PRA, Liu H, Li B: Gut stem cell aging is driven by mTORC1 via a p38 MAPK-p53 pathway. *Nat Commun* 11: 37, 2020
- 43) Suzuki T, Aoki K, Shimokobe K, Omiya S, Funayama C, Takahashi T, Kato M: Age-related morphological and functional changes in the small intestine of senescence-accelerated mouse. *Exp Gerontol* 163: 111795, 2022
- 44) Fang T: 加齢に伴うマウスの小腸粘膜の変化に対する漢方薬の作用 *日本東洋医学雑誌* 48: 7-15, 1997
- 45) Webster SG, Leeming JT: The appearance of the small bowel mucosa in old age. *Age Ageing* 4: 168-174, 1975
- 46) Hohn P, Gabbert H, Wagner R: Differentiation and aging of the rat intestinal mucosa. II. Morphological, enzyme histochemical and disc electrophoretic aspects of the aging of the small intestinal mucosa. *Mech Ageing Dev* 7: 217-226, 1978
- 47) Nalapareddy K, Nattamai KJ, Kumar RS, Karns R, Wikenheiser-Brokamp KA, Sampson LL, Mahe MM, Sundaram N, Yacynshyn MB, Yacynshyn B, Helmrath MA, Zheng Y, Geiger H: Canonical Wnt Signaling Ameliorates Aging of Intestinal Stem Cells. *Cell Rep* 18: 2608-2621, 2017
- 48) Pentimikko N, Iqbal S, Mana M, Andersson S, Cognetta AB, Suciun RM, Roper J, Luopajarvi K, Markelin E, Gopalakrishnan S, Smolander OP, Naranjo S, Saarinen T, Juuti A, Pietilainen K, Auvinen P, Ristimaki A, Gupta N, Tammela T, Jacks T, Sabatini DM, Cravatt BF, Yilmaz OH, Katajisto P: Notum produced by Paneth cells attenuates regeneration of aged intestinal epithelium. *Nature* 571: 398-402, 2019
- 49) Holt PR, Pascal RR, Kotler DP: Effect of aging upon small intestinal structure in the Fischer rat. *J Gerontol* 39: 642-647, 1984
- 50) Tan BL, Norhaizan ME, Liew WP, Sulaiman RH: Antioxidant and Oxidative Stress: A Mutual Interplay in Age-Related Diseases. *Front Pharmacol* 9: 1162, 2018
- 51) Moorefield EC, Andres SF, Blue RE, Van LL, Mah AT, Santoro MA, Ding S: Aging effects on intestinal homeostasis associated with expansion and dysfunction of intestinal epithelial stem cells. *Aging (Albany NY)* 9: 1898-1915, 2017
- 52) Amitani H, Chiba S, Amitani M, Michihara S, Takemoto R, Han L, Fujita N, Takahashi R, Inui A: Impact of Ninjinyoito on frailty and short life in klotho-hypomorphic (kl/kl) mice. *Front Pharmacol* 13: 973897, 2022
- 53) Egashira T, Takayama F, Yamanaka Y: Studies on pharmacological properties of Ninjinyoito. Report 1. Free radical scavenging ability of Ninjinyoito. *J Trad Med* 16: 108-115, 1999
- 54) Egashira T, Takayama F, Komatsu Y: Changes of materials that scavenge 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals in plasma by per-oral administration of Kampo medicine, Ninjinyoito in rats. *J Pharm Pharmacol* 55: 367-371, 2003
- 55) Ozdemir A, Tumkaya L, Mercantepe T, Celik ST, Uyan M, Kalcan S, Demiral G, Pregel A, Yilmaz KE, Kilic YH: The protective effects of ginseng on x-irradiation-induced intestinal damage in rats. *Radiat Environ Biophys* 62: 395-402, 2023
- 56) Ahn TS, Kim DG, Hong NR, Park HS, Kim H, Ha KT, Jeon JH, So I, Kim BJ: Effects of Schisandra chinensis extract on gastrointestinal motility in mice. *J Ethnopharmacol* 169: 163-169, 2015
- 57) Hashimoto K, Satoh K, Murata P, Makino B, Sakakibara I, Kase Y, Ishige A, Higuchi M, Sasaki H: Components of Panax ginseng that improve accelerated small intestinal transit. *J Ethnopharmacol* 84: 115-119, 2003