

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K00832

研究課題名(和文) 認知症の予防効果を有する食品成分の総括的研究

研究課題名(英文) A comprehensive study of food components having preventive effect on dementia

研究代表者

湯浅 明子(小島明子)(Kojima-Yuasa, Akiko)

大阪市立大学・大学院生活科学研究科・准教授

研究者番号：90295709

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、神経細胞を用いて神経変性疾患モデルを作成し、神経細胞死に対する食品成分の保護効果と、疾患モデル動物を用いて食品成分による記憶障害の改善効果または運動機能の改善効果について検討した。

ナンキョウに含まれる1'-acetoxychavicol acetateは、アルツハイマー病モデルマウスの認知機能の改善効果を有すること、その作用メカニズムとして、グルコースの代替エネルギー源として血清ケトン体濃度を亢進させることによって神経細胞障害を抑制することを見出した。また、マテ茶はパーキンソン病の細胞モデルにおいて、酸化ストレスによる神経細胞障害に対する保護効果を有することが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)： In this study, we studied about preventive effect of food components on neurotoxicity, cognitive impairment and motor function.

1'-Acetoxychavicol acetate (ACA) naturally obtained from the rhizomes and seeds of *Alpinia galangal* suppressed amyloid beta-induced neurotoxicity by enhancing the proteasome activity which is degrading unnecessary proteins. Furthermore, ACA improved the cognitive function in senescence-accelerated mice prone 8 (SAMP8) as same level as senescence-accelerated resistant/1 (SAMR1) mice, a homologous control. We found that ACA repaired the cerebral hippocampal tissue responsible for memory to suppresses neuronal damage by increasing serum ketone body concentration as an alternative energy source for glucose. We also found that extract of mate tea had a protective effect against oxidative stress-induced neurotoxicity in vitro Parkinson's disease.

研究分野：病態栄養学

キーワード：機能性食品成分 認知症 アルツハイマー病 パーキンソン病 ナンキョウ ACA ケトン体 マテ茶

## 1. 研究開始当初の背景

生活習慣病の予防は、活力ある高齢化社会を実現するために取り組むべき重要な課題である。生活習慣病の予防対策として、一次予防が重要視されているが、その中でも食生活が最も大きな影響を示すことが知られている。研究代表者は、長年、細胞レベルや動物レベルでの生活習慣病モデルを用いて、生活習慣病の予防効果を有する食品成分の評価システムを確立しており、これまでに、様々な食品成分による抗ガン作用、抗肥満作用、アルコール性肝疾患予防効果および皮膚の創傷治癒亢進効果とそのメカニズムについて明らかにしてきた。

さらに、超高齢化社会をむかえる現在、アルツハイマー病、パーキンソン病などの神経変性疾患の罹患者数が増加の一途をたどっていることも懸念されている。アルツハイマー病は脳皮質にアミロイドタンパク質が多量に蓄積することによって、脳の神経細胞が変性・壊死し、認知障害を主症状とする疾患である。また、パーキンソン病は、中脳黒質に存在する神経細胞が  $\alpha$ -シヌクレインの蓄積によって細胞障害を受けることによって発症する。近年、マンガン中毒がパーキンソン病に類似したパーキンソン症候群を発症することが知られている。その原因として、マンガンによって  $\alpha$ -シヌクレインの産生が誘導され、神経細胞障害を引き起こすことが知られている。

プロテアソームは、細胞内で生じる不要なタンパク質を分解するタンパク質分解酵素複合体である。近年、プロテアソームによるタンパク質分解の破綻がアルツハイマー病などの神経疾患と密接に関与することが明らかにされている。アルツハイマー病治療の試みとして、アミロイドタンパク質の産生を抑制することが検討されているが、画期的な治療薬はいまだ開発されていない。

そこで、一次予防の最重要項目である食生活に着目して、日常の食生活を改善することによって疾病予防を目指すためには、食品成分の作用メカニズムの解明が急務とされるが、現状はきわめて不十分である。

## 2. 研究の目的

本研究では、食品成分による神経変性疾患の予防効果とその作用メカニズムについての総括的な研究を行い、日常の食生活を改善することによって健康長寿を目指すことができるように提言するための基礎研究を行うことを目的とした。

## 3. 研究の方法

(1) 神経変性疾患を予防する食品成分の探索とその作用メカニズム (*in vitro* 実験系)

神経研究のモデルとして広く使用されているラット副腎褐色細胞腫 (PC12) またはヒト神経芽細胞腫 (SH-SY5Y) を用いて *in vitro* アルツハイマー病モデルおよび *in vitro* パーキンソン病モデルを作成し、神経細胞死に対する食品成分の保護効果について検討する。

食品成分による神経細胞死の抑制効果の作用メカニズムについて検討する。

(2) 神経変性疾患を予防する食品成分の探索とその作用メカニズム (*in vivo* 実験系)

疾患モデル動物 (*in vivo* アルツハイマー病モデルおよび *in vivo* パーキンソン病モデル)を用いて、アルツハイマー病モデルでは食品成分による学習・記憶障害の改善効果、パーキンソン病モデルでは食品成分による運動機能の改善効果について検討する。

## 4. 研究成果

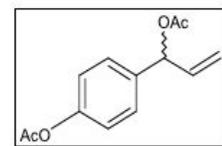
(1) 神経変性疾患を予防する食品成分の探索とその作用メカニズム (*in vitro* 実験系)

*In vitro* アルツハイマー病モデルを用いた検討：

ナンキョウ (タイショウガ、学名: *Alpinia galangal*) に含有する主要機能成分である 1'-acetoxychavicol acetate (ACA) は、神経細胞 (PC12) の数に影響を与えない濃度でプロテアソーム活性を増加させた。



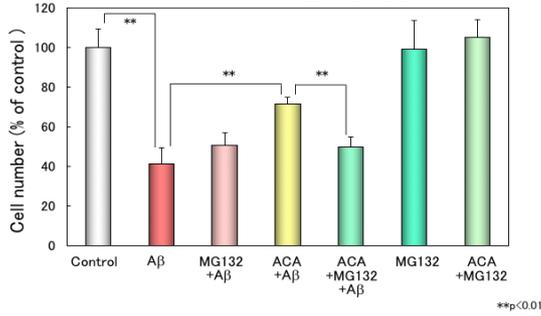
ナンキョウ  
(*Alpinia galangal*)



1'-Acetoxychavicol acetate  
(ACA)

一方、アミロイド $\beta$ の添加によって減少した PC12 の細胞数は、ACA の添加によって有意に回復した。そこで、この作用メカニズムを解明するために、プロテアソーム活性の阻害剤 (MG132) またはプロテインキナーゼ A (PKA) の阻害剤 (H-89) を作用させたところ、ACA の効果は有意に抑制された。さらに、細胞内 cAMP 量およびその合成酵素であるアデニル酸シクラーゼ活性は、ACA の添加によって有意に亢進した。これらのことから、ACA によるアミロイド $\beta$ 誘導性細胞傷害の抑制作用メカニズムは、cAMP-PKA 経路を介してプロテアソーム活性を亢進させることを明らかにした。

## Aβによって誘導される神経細胞傷害におよぼすACAの保護効果



*In vitro* パーキンソン病モデルを用いた検討：

南米の伝統的飲料として広く飲料されているマテ茶の抽出物は、6-ヒドロキシドーパミン (6-OHDA) によって有意に低下した神経細胞 (SH-SY5Y) の生存率をコントロールレベルまで回復させること、さらに、その作用メカニズムとして、抗酸化タンパク質 (ヘムオキシゲナーゼ-1: HO-1) との関連性を調べたところ、マテ茶抽出物は、Nrf2-ARE経路を介して HO-1 の発現を亢進させることによって、酸化ストレスによる神経細胞障害に対する保護効果を示すことを明らかにした。

(2) 神経変性疾患を予防する食品成分の探索とその作用メカニズム (*in vivo* 実験系)

*In vivo* アルツハイマー病モデルを用いた検討：

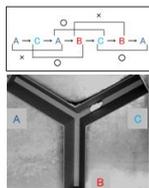
アルツハイマー病モデルとして知られている老化促進モデルマウス (SAMP8) およびその対照マウス (SAMR1) を用いて、コントロール食または ACA を含む飼料 (0.02% ACA 含有食) で 25 週間飼育した。短期記憶能力として Y 字迷路試験、学習能力および長期記憶能力としてモリス水迷路試験を飼育 22 ~ 24 週目で実施し、飼育終了後に血清のメタボロミクス解析、大脳組織の病理組織学的解析を行った。

短期記憶力 (自発的交替行動) Y 字迷路試験      長期記憶力 (空間認識能力) モリス水迷路試験

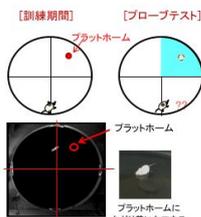
交替行動: マウスが探索中に進入したアームを記憶し、異なるアームに進入する行動

学習能力、長期記憶能力を測定する方法

判定方法:



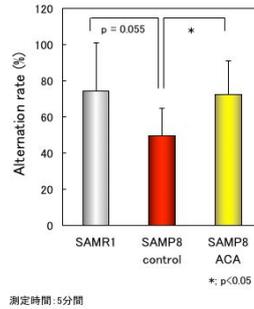
マウスが連続した3本のアームを進入する順序の中で、交替行動が認められた順序の割合を算出する。



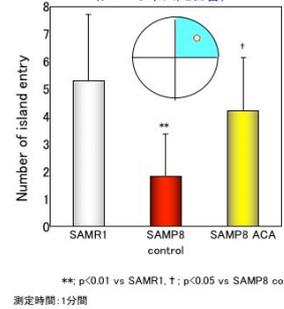
ブローテスト: 長期記憶能力は、プールを4分割しプラットフォームがあった領域に滞在した割合として評価する。

その結果、SAMP8-コントロール食群の短期記憶能力および長期記憶能力は、SAMR1 に比べて低下したが、SAMP8-ACA 食群では SAMR1 と同レベルにまで向上した。

SAMP8の短期記憶力におよぼすACAの影響

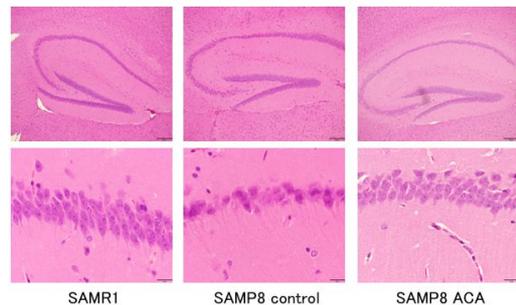


SAMP8の長期記憶力におよぼすACAの影響 (ブローテスト2日目)

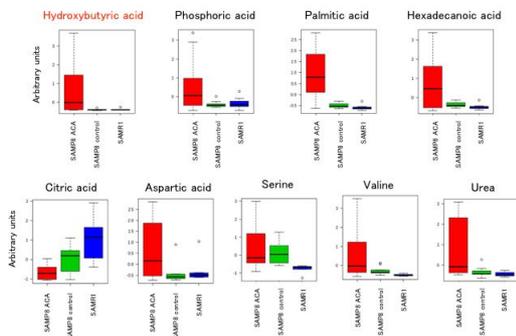


さらに、大脳の病理組織学的所見において、SAMP8-コントロール食群では海馬組織を構成する細胞の形態異常が認められたが、SAMP8-ACA 食群では SAMR1 と同様に正常な形態を示した。一方、血清中代謝産物についてメタボロミクス解析したところ、ACA を摂食させることによって血中ケトン体濃度が有意に亢進した。

## 大脳海馬組織像



## 血清メタボロミクス解析



これらのことから、ACA による認知機能の改善効果は、グルコースの代替エネルギー源として血清ケトン体濃度を亢進させ、β酸化-TCA 回路を介するエネルギー産生を維持し、神経細胞障害を抑制することが明らかになった。

*In vivo* パーキンソン病モデルを用いた検討：

ロテノンはミトコンドリア複合体 I を阻害することによって活性酸素種産生量を増加させ、その酸化ストレスによって神経細胞死を導くことが知られている。そこで、C57BL6/Jマウスにロテノン溶液(10 mg/kg BW)を連続4週間、胃チューブを用いて経口投与した。運動能力試験として、ロータロッド試験を実施した。その結果、ロテノン群におけるロッドの滞在時間は、コントロール群と比較して有意に減少したことから、本実験条件はパーキンソン病モデルとして有効であることを見出した。現在、食品成分を摂食させたパーキンソン病モデルマウスに対して運動機能の改善効果について研究を継続している。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計4件)

- 1) Yaku, K., Matsui-Yuasa, I., and Kojima-Yuasa, A.: 1'-Acetoxychavicol acetate increases proteasome activity by activation cAMP-PKA signaling. *Planta Medica* 84: 153-159, 2018 (Published online August 31, 2017). DOI: 10.1055/s-0043-118806 (査読あり)
- 2) Kojima-Yuasa, A., Yamamoto, T., Yaku, K., Hirota, S., Takenaka, S., Kawabe, K. and Matsui-Yuasa, I.: 1'-Acetoxychavicol acetate ameliorates age-related spatial memory deterioration by increasing serum ketone body production as a complementary energy source for neuronal cells. *Chemico-Biological Interactions* 25: 101-109, 2016. DOI: 10.1016/j.cbi.2016.07.031 (査読あり)
- 3) Kojima-Yuasa, A., Goto, M., Yoshikawa, E., Morita, Y., Sekiguchi, H., Sutohe, K., Usumi, K. and Matsui-Yuasa, I.: Protective effects of hydrolyzed nucleoproteins from salmon milt against ethanol-induced liver injury in rats. *Marin Drugs* 14: 232-244 (2016). DOI: 10.3390/md14120232 (査読あり)
- 4) Yamashita, H., Goto, M., Matsui-Yuasa, I. and Kojima-Yuasa, A.: *Ecklonia cava* polyphenol has a protective effect against ethanol-induced liver injury in a cyclic AMP-dependent manner. *Marin Drugs* 13: 3877-3891, 2015. DOI: 10.3390/md13063877 (査読あり)

[学会発表](計4件)

- 1) Kojima-Yuasa, A., Yamamoto, T., Yaku, K., Hirota, S., Matsui-Yuasa, I.: 1'-Acetoxycavicol acetate ameliorates age-related spatial memory deterioration by increasing serum ketone body production as a complementary energy source for neuronal

cells. International Congress of Nutrition (Buenos Aires, Argentina) (2017).

- 2) 湯浅(小島)明子、夜久圭介、山本富矢、広田菜、川辺光一、竹中重雄、湯浅勲: 1'-Acetoxychavicol acetate の認知機能改善効果にはプロテアソーム活性の亢進と血清ケトン体濃度の増加が関与する。第90回日本生化学会大会プログラム p.331 (2017).
- 3) 広田菜、湯浅勲、湯浅(小島)明子: マテ茶抽出物による神経傷害に対する保護効果。第55回日本栄養・食糧学会近畿支部大会講演要旨集 p.68 (2016).
- 4) 広田菜、山本富矢、湯浅勲、湯浅(小島)明子: 老化促進モデルマウスにおける 1'-acetoxychavicol acetate の認知機能障害予防効果。日本栄養・食糧学会第54回近畿支部大会講演要旨集 p.49 (2015).

[講演](計1件)

- 1) 小島明子: 抗認知症機能性食品の探索・開発、イノベーション・ジャパン 2015 - 大学見本市 (2015).

[図書](計1件)

- 1) 湯浅(小島)明子: 認知症の予防効果を有する食品成分とその作用メカニズム。アグリバイオ 1: 103-106, 2017.

[産業財産権]

出願状況(計1件)

名称: ケトン体産生促進剤  
発明者: 湯浅明子、湯浅勲  
権利者: 公立大学法人大阪市立大学  
種類: 特許  
番号: 特願 2016-035897  
出願年月日: 平成 28 年 2 月 26 日  
国内外の別: 国内

取得状況(計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

[その他]

ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

湯浅 明子(小島 明子)(YUASA, Akiko)

大阪市立大学・大学院生活科学研究科・准教授  
研究者番号: 90295709