

令和 5 年 6 月 28 日現在

機関番号：32658

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03050

研究課題名（和文）炎症再生医学と神経科学からのアプローチによるきのこの多機能性発現メカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of the multifunctional expression of mushrooms based on inflammatory regenerative medicine and neuroscience

研究代表者

江口 文陽（EGUCHI, FUMIO）

東京農業大学・地域環境科学部・教授

研究者番号：60337467

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,500,000円

研究成果の概要（和文）：複合成分から構成されるきのこは、成分を分離分画すると機能性は大幅に減弱する。きのこの粗出物は、小腸透過性を有し、脳内に到達する可能性を明らかにした。きのこの多機能性は、複合成分が脳内代謝を介し、脳内物質に影響をおよぼすことで各臓器のホルモンや酵素に変化をもたらし、機能回復、免疫亢進、抗炎症、疾患の予防と治療に効果を発揮すると仮説を立て、その「問い」に答えるため“きのこ 脳内物質の産生 多岐にわたる疾患の改善”というstep のはざまに焦点をあて、炎症抑制、産生される脳内物質、各種疾患モデル細胞と動物から得られる反応から作用メカニズムを解明したことが本研究である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は、脳内モノアミンを産生させるための投与方法はいかなる手法がベストなのかを探索したものであり、きのこによる神経変性疾患の予防や治療への寄与を明らかにした。きのこ抽出物質の投与において 脳内カテコールアミン系の亢進が確認された。すなわちドパミン(DA)がドーパック(DOPAC)およびホモバニリン酸(HVA)を生合成した成果を示すものでありするとパーキンソン病の予防治療薬などへの期待も考えられる。きのこの成分が腸管バリアと血液脳関門も通過して脳内モノアミンを生合成させた証拠は脳科学上有益な成果である。

研究成果の概要（英文）：Mushrooms are composed of complex components, and their functions significantly weaken when the components are separated. The study identified the possibility of crude mushroom extracts to permeate intestine and reach the brain. To verify the hypothesis that multifunctionality of mushrooms deriving from the complex components, which works on brain chemicals through brain metabolism and influence hormones and enzymes in various organs, may be effective in recovering physical functions, enhancing immunity, resisting inflammation, and preventing and curing diseases, the study focuses on in-betweens of “mushroom production of brain chemicals improvement of various diseases” steps and successfully elucidates the interaction mechanism from inhibited inflammation, produced brain chemicals, and reactions obtained from various disease model cells and animals.

研究分野：木質科学

キーワード：きのこ 担子菌 テングタケ属 神経変性疾患 抗炎症 脳科学 パーキンソン病 脳内カテコールアミン

1. 研究開始当初の背景

研究開始当初の背景として、高度な医療技術の進歩により、これまでは治療が困難とされていた疾患も早期発見や徐々にではあるが治療によって克服できるようになっている。その反面、医療費の高騰は生活に響いており、自らの手で「健康」を確保しなければならない。既に以前から懸念されているが、「団塊の世代の高齢化」や日常生活における不規則習慣から「生活習慣病」、「炎症を伴う疾患」、「神経変性疾患(認知症やパーキンソン病など)」の罹患者の増加が社会問題となっている。これら疾患の多くは自覚症状も無く、おかしいと思った時には重篤な状態となっている。

したがって上述した背景によって本研究は、家族性、生活習慣および加齢によって発症する疾患を予知し、伝承的に機能性の高い食品として注目されているきのこに焦点を当て、疾患予防や治療の補助にきのこを利用するための科学的根拠を明確にすることとした。

2. 研究の目的

きのこの機能性研究は、多く見られるようになった。しかしながら、菌株、栽培条件が機能性におよぼす差異、きのこから粗抽出した物質が、異なる疾患に効果を発現(多機能性)する科学的根拠は明確になっていない。複合成分から構成されるきのこは、成分を分離分画すると機能性は大幅に減弱する。きのこの粗抽出物は、小腸透過性を有し、脳内に到達する可能性をこれまでに確認した。きのこの多機能性は、複合成分が脳内代謝を介し、脳内物質に影響をおよぼすことで各臓器のホルモンや酵素に変化をもたらし、機能回復、免疫亢進、抗炎症、疾患の予防と治療に効果を発揮するものと仮説を立てた。この「問い」に答えるため“きのこ 脳内物質の産生 多岐にわたる疾患の改善”という step のはざまに焦点をあて、炎症抑制、産生される脳内物質の種類と量、各種疾患モデル細胞と動物から得られる反応から作用メカニズムの解明する研究を立案、きのこの更なる活用法を開発することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、これまでの既存の概念を超えて新規の機能効果を探索することを目的として、生活習慣病に関する炎症の抑制や神経変性疾患に対する予防と治療補助の効果を探索するための評価系として血小板凝集抑制(血流・抗炎症)、ケモカイン遺伝子発現抑制(炎症・抗炎症)、腸管(小腸と大腸)炎症に対するきのこ成分の抗炎症作用、脳内の炎症や神経に關与する作用について網羅的な解析法の基盤確立を実施した。

きのこの機能性成分は、体内で吸収・代謝・排泄されるが、どの程度のきのこの量を日常的に食することで疾患の予防や治療に対する効果を高められるのかは、科学的に明確ではなく、特用林産物であるきのこの新規利用法などの広がりが脆弱となっていた。

本研究では、培養細胞レベルでのスクリーニング試験によって疾患改善に高い効果を示した菌株、栽培法のきのこを活用して容量依存的な効能効果を細胞、疾患モデル動物などによって解析、きのこの食品としての最適な摂取量を解明し、生鮮食料品としての利用にとどまらず、医薬品や医薬部外品(化学・化粧品)素材としての医療科学・食品科学のエビデンス構築を図った。

(1)具体的な実験方法：抗炎症効果を発現するメカニズムの解明

各種スクリーニング法を用いた細胞レベルでの評価として遺伝子導入マクロファージ培養株 RAW/NFkB-luc 細胞を用いて 1 次スクリーニングし、炎症が惹起された際に活性化される転写因子である NFkB の活性をレポーター遺伝子のルシフェラーゼで評価して炎症を抑える成分の添加によるルシフェラーゼ活性増加の抑制から抗炎症作用を評価する。加えて IL-6 など炎症性サイトカインの発現を定量的 PCR 法にて解析した。2 次スクリーニングでは、消化管上皮 Caco-2 細胞で NFkB の活性をルシフェラーゼで評価できる Caco-2/NFkB-luc 細胞や脂肪細胞培養株である 3T3-L1 細胞と RAW 細胞の共培養系を用いて抗炎症作用を解析した。この段階で抗炎症作用を有するきのこ抽出物を同定し、その作用メカニズムについても明確にした。

さらに、動物モデルを用いた個体レベルでの評価は、細胞レベルで抗炎症作用が確認されたきのこ抽出物の中で作用が強いものから順次、各種動物モデルを用いた個体レベルの評価を行った。すなわち薬剤誘導性の潰瘍性大腸炎モデル(大腸炎症)および高脂肪食誘導性の食後高脂血症増悪化モデル(小腸炎症)を用いてきのこ抽出物に抗炎症作用を介した炎症性疾患の予防・改善効果を解明した。

(2)具体的な実験方法：神経系・脳内物質の産生におよぼす影響と疾患改善メカニズムの解明

脳内から分泌されるドーパミンやアドレナリンなどは、肥満細胞と血小板から放出されたヒスタミンによって一過的に血管を収縮させ、続いて炎症局所(細動脈、細静脈および毛細血管)の血管を拡張させて血流を増加させ熱感や発赤が生じることを抑制することが知られている。この作用メカニズムを活用してきのこから抽出した物質の炎症(血小板凝集を指標とする炎症、ケモカイン遺伝子発現を指標とする炎症、腸管炎症、脳・神経系への炎症)を抑制する *in vitro* 試験における評価を実施した。次に ICR マウスにプロスタグランジン E2 やリポポリサッカライド等を投与して炎症を血管内皮細胞や繊維芽細胞に惹起させ、きのこ抽出物投与後の脳内モノア

ミン(ドパミン、ノルアドレナリン、アドレナリン、セロトニン、ヒスタミンなどの神経伝達物質)を網羅的に解析するとともに血液中の炎症マーカーであるC反応性タンパク質(全身)、クレアチニンフォスホキナーゼ(脳と筋肉)、乳酸脱水素酵素(各種臓器)、インスリン(膵臓)、GPTとGOT(肝臓)、心房性利尿ペプチド(心臓)、アンジオテンシン(血圧)などの濃度挙動を比較してきのこの成分が脳に作用して全身に作用しているか否かを精査した。

脳内産生物質(モノアミン等)の定量は、解剖後の摘出された脳組織と脳部位の近傍にガイドカニューレを留置させ、飼育過程の動物における物質挙動をマイクロダイアリシス法にて探った。すなわちICRマウスとWistarラットへきこの抽出物を投与後、規定時間まで自由摂食、自由摂水の状態で放置して定量試験を実施する。最終的には、深麻酔下で解剖、脳の組織を分別し、きのこの抽出物が脳内の神経細胞および産生物質の分泌量に与える影響を精査した。なお、脳内産生物質の定量はマウスとラットの脳(器官ごとに分別)から調製した試料を用いて定量した。さらにマイクロダイアリシス法にて、脳に留置させたプローブから採取されるきのこの摂食後の脳内物質の挙動を分析・精査し産生物質が抗炎症効果や各種疾患の予防や治療補助などによぼす影響を解明した。

4. 研究成果

(1)総合的な成果ポイント

本研究は、脳内モノアミン産生はきのこの種類によるのか、脳内モノアミンを産生させるための投与法はいかなる手法がベストなのかを探索した。さらにきのこの成分で挙動を示す脳内モノアミンの種類を精査し、きのこは神経変性疾患の予防や治療に寄与できるか否かを検証した。供試した3種類のきのこのうちベニテングタケとテングタケは、3種類の投与方法全てにおいて30分後に脳内カテコールアミン系の亢進が確認された。すなわちドパミン(DA)がドーパック(DOPAC)およびホモバニリン酸(HVA)を生合成した。DAは、不足するとパーキンソン病を惹起することから治療薬などへの期待も考えられる。なお、経口投与において脳内モノアミン産生が確認された。これはきのこの成分が腸管バリアを通過し血管内移行後に血液脳関門も通過して脳内モノアミンを生合成させた証拠であり脳科学上有益な成果である。タマゴタケでは、顕著な脳内モノアミン産生が確認されなかった。それは、きのこ非標準アミノ酸組成が異なることが原因と確認した。特にモノエタノールアミンの存在と脂肪酸が機序に関する関与成分であることがわかった。

(2)生育ステージ別部位別の機能性解析結果

抗酸化能試験では菌傘で高い値を示し、生育が進むにつれ低下した。抗炎症試験では生育段階の早い菌傘において高い活性を示した。血小板凝集抑制試験では、内因性および外因性ともに80%以上の高い抑制率を示した。ベニテングタケ子実体の機能性を部位別で比較すると、菌傘、特にヒダが最も高い機能を有していたことから、ヒダ特有の成分に活性本体が含まれていることが予想された。担子菌類のヒダは担子器を作り胞子を形成することから、ヒダ特有の組織・器官として胞子が挙げられる。さらに胞子は、多量の脂肪酸を含むことが知られていることから、ベニテングタケの持つ機能性の活性本体に脂肪酸が関与しているという仮説が立て脂肪酸について精査した。

(3)部位別の脂肪酸解析

全部位においてオレイン酸(18:1_c9)、リノール酸(18:2_c9c12)、パルミチン酸(16:0)、ステアリン酸(18:0)の4種が主要構成脂肪酸として確認された(表1)。中でもリノール酸は全部位において高い構成割合を占めていた。また、部位ごとでは、4種の主要構成脂肪酸および総脂肪酸ともに、ヒダが最も多くの脂肪酸を含んでいることが明らかになった。高い機能性を示したヒダにおいて、多くの脂肪酸が含有されていることが明らかになった。脂肪酸は、活性本体として機能するとともに複合成分であるきのこの他の物質を腸管や血管および細胞膜などのバリア機能を通させるための物質にもなることからベニテングタケの機能性に大きく関与していることが推測できる。また、リノール酸が高い割合を占めていたことから、ベニテングタケの構成脂肪酸はリノール酸主体であることが明らかになった。

リノール酸は、血中コレステロール値、血糖値の降下作用、抗炎症作用等、多くの機能性を有していることが知られている。さらにリノール酸は、 ω -リノレン酸やアラキドン酸に変化する脂肪酸であり、 ω -リノレン酸も多機能性を発現すると同時に、アラキドン酸は様々な生理活性を持つ物質を生成する代謝経路であるアラキドン酸カスケードの上流成分であることから、リノール酸を発端に様々な機能性の発現が期待される。

さらにリノール酸の経口摂取により、パーキンソン病の発症の原因とされるドパミンの減少が抑制されたという報告もなされており、治療法が確立していないパーキンソン病の予防薬、治療薬としてリノール酸は着目されている成分である。また、ドパミンの減少は、うつ病の発症の原因であると同時に、脂肪酸は高い生体膜透過性を持っていることから、小腸透過性(血管内移行)や血液脳関門(BBB)をベニテングタケの成分が容易に通過するのに効率的に働くことが考えられる。リノール酸は、脳内神経系に関わる様々な疾患の医薬品としての利用が期待できる成分である。

本研究の結果は、リノール酸や脂肪酸構成比がベニテングタケの機能性発現に効果をもたらしている可能性を示唆するものである。

表1. *Amanita muscaria* 子実体の部位別脂肪酸構成割合(%)

	14:0	15:1_c10	15:0	14:0_2OH	16:1_c9	16:1_t9	16:0	17:1_c10	17:0	18:0_branch	16:0_2OH	18:2_c9c12	18:1_c9	18:0	20:3_c8c11c14	20:2_c11c14	20:1_c5	20:0	22:1_c13
菌傘表面	0.35	0.15	0.88	0.15	-	-	4.20	-	0.35	-	0.46	76.99	9.06	7.14	-	0.27	-	-	-
ヒダ	0.23	-	0.70	0.09	0.18	0.10	5.19	0.10	-	0.06	0.31	66.64	21.48	4.05	0.08	0.22	0.31	0.16	0.11
菌柄	0.36	-	0.85	0.22	0.13	0.59	3.32	0.11	0.39	-	0.66	77.19	7.68	7.95	0.14	0.40	-	-	-
全体	0.23	-	0.83	0.10	0.19	0.18	3.83	0.09	0.13	-	0.39	74.55	14.50	4.93	-	-	0.06	-	-

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Rich Milton R. Dulay, Joshua N. Batangan, Sofronio P. Kalaw, Angeles M. De Leon, Esperanza C. Cabrera, Kenichiro Kimura, Fumio Eguchi, Renato G. Reyes	4. 巻 11
2. 論文標題 Records of wild mushrooms in the Philippines	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Applied Biology & Biotechnology, 11, 11-32, 2022	6. 最初と最後の頁 11-32
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7324/JABB.2023.110202	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 江口文陽	4. 巻 66
2. 論文標題 私の考える教育論 総合農学で牽引する国消国産と異業種連携	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 季刊栄養教諭 食育読本	6. 最初と最後の頁 6-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 江口 文陽
2. 発表標題 きのこ健康
3. 学会等名 日本健康医学会総会特別講演
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 江口文陽、沼崎 南、宮澤紀子、吉本博明
2. 発表標題 テングタケ属のきのこが持つ脳機能改善効果と安全性
3. 学会等名 第73回日本木材学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 沼崎 南、江口 文陽
2. 発表標題 ベニテングタケ子実体抽出物の機能性解析
3. 学会等名 第73回日本木材学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 江口文陽、美谷島克宏、高橋信之、宮澤紀子、吉本博明
2. 発表標題 きのこの子実体抽出物が脳内モノアミンの産生に及ぼす影響
3. 学会等名 第72回年次大会日本木木材学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 沼崎 南、江口文陽
2. 発表標題 ベニテングタケ子実体抽出物の機能解析
3. 学会等名 第72回年次大会日本木木材学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 澤瀬朱里、宮澤紀子、江口文陽
2. 発表標題 培地基材がきのこの機能性に及ぼす影響
3. 学会等名 第72回年次大会日本木木材学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 森 日向、吉本博明、江口文陽
2. 発表標題 ヒメマツタケの栽培基材と抽出方法が機能性におよぼす影響
3. 学会等名 第72回年次大会日本木木材学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉本博明、森 日向、森園由香、宮澤紀子、江口文陽
2. 発表標題 機能性を増強するきのこ栽培のスクリーニング法の検討
3. 学会等名 第72回年次大会日本木木材学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 江口文陽、高橋信之、美谷島克宏、宮澤紀子、吉本博明
2. 発表標題 きのこの種類や生産法が機能性に及ぼす影響
3. 学会等名 第71回日本木材学会大会（東京大会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 川野文香、平井志伸、岡戸晴生、江口文陽
2. 発表標題 ヤマブシタケ子実体抽出物が脳内モノアミンの産生に及ぼす影響
3. 学会等名 第71回日本木材学会大会（東京大会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮澤紀子, 飯田千恵美, 有馬忍, 江口文陽
2. 発表標題 原木の樹種が乾シイタケの嗜好特性におよぼす影響
3. 学会等名 第71回日本木材学会大会(東京大会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森園由香, 長野良太, 宮澤紀子, 吉本博明, 江口文陽
2. 発表標題 しいたけを使った新規食品の品質特性
3. 学会等名 第71回日本木材学会大会(東京大会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉本博明, 森園由香, 宮澤紀子, 江口文陽
2. 発表標題 LED 照射によるヒメマツタケ機能性の増強 -NF-kB と各種機能性の相関-
3. 学会等名 第71回日本木材学会大会(東京大会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 江口文陽	4. 発行年 2022年
2. 出版社 日本文教出版株式会社	5. 総ページ数 79
3. 書名 季刊栄養教諭 食育読本	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	宮澤 紀子 (Miyazawa Noriko) (20348147)	女子栄養大学・栄養学部・准教授 (32625)	
研究分担者	高橋 信之 (Takahashi Nobuyuki) (50370135)	東京農業大学・応用生物科学部・教授 (32658)	
研究分担者	岡戸 晴生 (Okado Haruo) (60221842)	公益財団法人東京都医学総合研究所・精神行動医学研究分野・研究員 (82609)	
研究分担者	美谷島 克宏 (Miyazima Katuhiro) (80786492)	東京農業大学・応用生物科学部・教授 (32658)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	沼崎 南 (Numasaki Minami)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関