

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：42650

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23500992

研究課題名(和文) ムクナ種子の抗パーキンソン病および抗酸化性に関する機能評価

研究課題名(英文) Research of functional evaluation of mucuna bean on antioxidation and parkinson's disease

研究代表者

古庄 律 (FURUSHO, Tadasu)

東京農業大学短期大学部・その他部局等・教授

研究者番号：50238680

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円、(間接経費) 660,000円

研究成果の概要(和文)：ムクナ豆にはL-ドーパが高含有されていることに着目し、加熱処理して可食化したムクナ摂取によるパーキンソン(PA)病の病態軽減と抗酸化作用の両面から検討を行い、次のような成果を得た。加熱処理したムクナ豆粉末を6-OHDA処置したPA病モデルラットに与えると対照動物に比べ運動機能が改善された。DPPHラジカル消去活性は、14.3mmol Trolox/100gだった。ヒト肝由来細胞株を用いた抗酸化能については、H₂O₂濃度10μM暴露時の生存率が111%で無添加時(88%)に比べ生存率は高値であった。以上により、ムクナ豆はPA病の病態改善と抗酸化機能を有する機能的食品であることが示された。

研究成果の概要(英文)：Mucuna is a leguminous plant, and it is a feature that the L-dopa content is high. We researched the influence by the mucuna bean intake made edible by the steaming processing on Parkinson (PA) disease and the antioxidative effect, and achieved the following results. 1) When the powder of the mucuna bean that does the steaming processing was given to the PA disease model rats that treated 6-OHDA, the function of exercise has been improved compared with the control rats. 2) The DPPH radical deletion activity of the mucuna bean that did the steaming processing was 14.3mmol Trolox/100g. 3) In the anti-oxidizing capability examination that used the human liver origin cell stock, the control cells were 88% while the survival rate of the mucuna extracted material addition cells were 111% in the H₂O₂ exposure of 0.01mM. Therefore, it is shown that the mucuna bean is a functional food that has both the condition improvement function of the PA disease and the antioxidative effect.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：ムクナ L-ドーパ パーキンソン病 抗酸化性

1. 研究開始当初の背景

現在の日本人の平均寿命は、男子 78.5 年、女子 85.5 年で、名実共に世界一の長寿国である。平均寿命だけでなく、高齢者数、高齢化のスピードという三点においても、世界一である。高齢化の進行は、社会に様々な影響を与えることが予測されるが、その中でも生活習慣病や認知症患者が増加することで、生産年齢人口が減少するに伴い、労働力人口も減少する。そのことは、技術革新や資本増加にも影響を強く及ぼし、産業界だけでなく日本の国際競争力が低下していくことは免れない。したがって、生産年齢人口減少の影響をカバーしていくためには、今後、すべての人の意欲と能力が最大限発揮できるような環境整備に努めることによって、若者、女性、高齢者の就業を促進し労働力人口の減少の緩和を図ることが必要である。特に、高齢者の健康 QOL を向上させることは重要な課題と考えられる。高齢者の健康 QOL 向上においては、生活習慣病の発症を低減させることもさることながら、認知症やパーキンソン病の発症に対する対策も重要である。パーキンソン病は、脳内のドーパミン不足とアセチルコリンの相対的増加を病態とし、錐体外路系徴候を示す疾患である。おもな症状は、運動症状として振戦、無動、筋固縮、非運動症状として自律神経症状として便秘、垂涎などの消化器症状、起立性低血圧、食後性低血圧、発汗過多、あぶら顔、排尿障害などがある。精神症状としては、感情鈍麻 (apathy)、快感喪失 (anhedonia)、不安、うつ症状、精神症候 (特に幻視) などが上げられ、社会生活における様々な活動能力を著しく奪い、病状の進行により要介護者となる。また、パーキンソン病患者が認知症を発症するリスクは、健常者の約 5-6 倍と見積もられており、パーキンソン病の早期発見と予防は認知症発症のリスクも低減できる可能性がある。しかしながら、現在のところパーキンソン病の発症を予防する手段はほとんどないのが現状である。

2. 研究の目的

パーキンソン病の病因には、遺伝子異常やミトコンドリア機能障害 (説) が考えられているが、それらの病因には、少なからず活性酸素による酸化障害が関与していることが推測される。パーキンソン病の治療には、種々の薬物投与療法が試みられているが、そのもっとも知られているものの一つが、ドーパミンの前駆物質である L-dopa を投与である、主に 3 主徴 (振戦、無動、筋固縮) に対して、きわめて有効に働くとされ、振戦の改善はその他の抗パーキンソン病薬に比べると比較的温和である。ドーパミンを直接投与しない理由は、ドーパミンが血液脳関門を通過できないためである。ドーパミン脱炭酸酵素阻害薬であるカルビドパやベンセラジドとの合剤が用いられている。しかしながら、

服用によりオン・オフ現象 (突然薬の効果がきれ体が動かなくなる) やウェアリング・オフ現象 (内服直後や時間がたった時に効果が突然切れる)、ジスキネジアといった副作用 (運動合併症) が現れる。また、L-dopa やドーパミンアゴニストを投与すると悪心・嘔吐の副作用が出ることも多いが、これに対する治療としての制吐剤には、パーキンソニズムを悪化させるものが多い。L-dopa は、アミノ酸の一つであるチロシンから合成することが可能であるが、自然界にも産生され、ある種の食品や薬草中に見出すことができる。その一つに、*Mucuna pruriens* (和名: 八升豆) がある。その名にも由来するように収量が多く、西アジア地域では、煮豆やカレーの具材として食されているが、日本では、江戸時代以降その栽培は廃れ、現在では沖縄県の一部でムクナの根から放出される L-dopa による病害虫あるいは雑草の忌避作用を目的に栽培されているに過ぎない。しかし、ムクナには、4% 程度の L-dopa が含有されていることから、最近では、サプリメントとして筋肉増強剤や強壮剤として販売されるようになった。また、ムクナは L-dopa の副作用が少ないという報告もあることから、食品としての有効利用は可能と考えられる。さらに、L-dopa はフェノールアミン類の 1 種であり抗酸化性物質でもあることから、これを成分として含むムクナは、抗酸化機能食品としても活用が可能と考えられる。これらのことから、本研究ではムクナがパーキンソン病の治療に有効かつ副作用の少ない安全な食品作物となりえることを仮説として、実験動物および培養細胞を用いて、その有効性と安全性について検証すると同時に、抗酸化性機能食品としての有効性についても検討し、超高齢化社会において健康 QOL を向上させる一助となる機能性食品として確立することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) パーキンソン病モデルラット用いたムクナ摂取の効果

6-OHDA (6-Hydroxy dopamine) を施術により SD 系 8 週令雄性ラット 15 匹の右脳に投与した。この動物ではパーキンソン病の 3 主徴 (振戦、無動、筋固縮) が観察されるほか、中脳の黒色神経が破壊されるため白色化が観察される。パーキンソン病の症状発症が確認された 5 週間後、3 区に分け、蒸煮処理して可食化したムクナ種子粉末を L-ドーパ含有量が 1 日摂取上限量と予想される 6mg/Kg 体重となるように調製した飼料を摂取させ、パーキンソン病モデルラットに対するムクナ摂取の効果を 3 主徴の発症の程度により評価した。また、比較として L-ドーパ標準品を同量となるように添加した飼料、および無添加飼料を調製して他の 2 区の動物に与えた。対照区は、6-OHDA 無処理のラットに無添加の飼料を与えた。

(2) ムクナ種子の抗酸化性機能の解明

培養細胞を用いた抗酸化性評価

ヒト肝由来細胞株 FLC7 を 5%CO₂ 気相下の CO₂ インキュベータ内で培養し、これに過酸化水素を 0.5、5、10 μM 濃度で暴露した。この際にムクナ種子抽出液中の L-dopa 濃度を 2 μM となるように培養液中に添加し、無添加および 2 μM L-dopa 添加を対照として、細胞の生存率を求めた

ムクナ種子抽出液の DPPH ラジカル消去活性

ムクナ生豆、高温高压処理後に凍結乾燥して粉碎したムクナ豆粉末の 50%メタノール抽出液および L-dopa 標準品 600 μL を試料として、1M MES 緩衝液 pH6.0 (250 μL) 0.8mM DPPH(250 μL)を添加して 20 分間反応させた後、517nm の吸光度を測定して DPPH ラジカル消去活性を測定することにより抗酸化能を測定した。

(3) ムクナ種子を用いた食品の開発

ムクナ味噌の製造

ムクナ種子をブレンダーで粗く粉碎して一晩吸水させ、オートクレイブで蒸煮したものに麹と食塩を混合したものをステンレスホーロー容器に移し、30℃で3カ月熟成させた。発酵開始から2週間ごとに合計7回100gずつサンプリングを行い、凍結乾燥後、コーヒーマルで粉末にした。サンプリングした試料中の全窒素量と可溶性窒素量をそれぞれケルダール法、ホルモール窒素量をホルモール法で、塩分をイオンメーター、L-dopa 量は HPLC 法で測定した。

ムクナ種子を用いた木綿豆腐及びゴマ豆腐風食品の製造

島豆腐風食品は大豆:ムクナ種子=8:3 の割合で調製した豆乳ににがりを加えて製造した。

ゴマ豆腐風食品は、ムクナ種子:水=3:1 の割合で粉碎したものを圧搾して豆乳を調製したものに葛粉及び寒天を加えて加熱しながら攪拌して、糊化させたものを型入れした。を利用した。

4. 研究成果

(1) パーキンソン病モデルラット用いたムクナ摂取の効果

高温高压処理したムクナ豆粉末を 6-OHDA 処理した PA 病モデルラットに与えると L-ドーパを単体で与えた場合よりも運動機能が改善される傾向があった。

特に、アポモルフィン (0.5mg/Kg 体重) を腹腔内に投与して強制的に刺激を与えた場合、対照ラットは通常の探索行動のみであったが、パーキンソン対照ラット及び L-ドーパ投与ラットは直径 40cm の円形ボックス内のほぼ中心部に後肢を留めて前肢のみで左回転 (6-OHDA 処理した右脳の反対) をした。これに対して、ムクナを摂取したラットは 40cm の円形ボックスの壁に沿って左に大き

く巡回運動を行った。

(2) ムクナの抗酸化性機能の解明

培養細胞を用いた抗酸化性評価

ヒト肝由来細胞株を用いた抗酸化能については、過酸化水素濃度が 0.5、5 μM までは、いずれの区も細胞生存率は 100% 以上で大差は見られなかった。しかしながら、10 μM 過酸化水素暴露時の細胞生存率は、ムクナ (111.3%)、L-Dopa 添加群 (110.9%) に対して無添加群 (87.8%) であり、L-dopa 存在下での細胞生存率が高い結果となった。

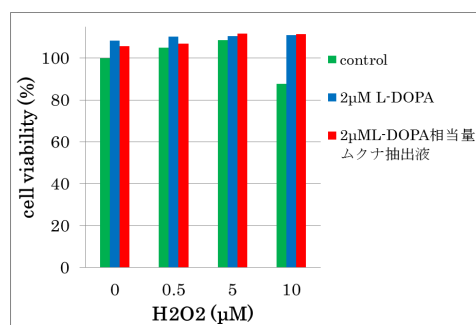


図 1 培養細胞を用いたムクナ種子抽出液の抗酸化性評価

DPPH ラジカル消去活性

DPPH ラジカル消去活性は L-ドーパ: 52.8 ± 28.3 mmol Trolox/100g、ムクナ生豆: 20.9 ± 1.5 mmol Trolox/100g、高温高压処理ムクナ: 14.3 ± 1.7 mmol Trolox/100g であった。

表 1 ムクナ種子抽出液の DPPH ラジカル消去活性

| | DPPH 消去活性 (mmol Trolox/100g) |
|----------|------------------------------|
| L-Dopa | 52.8±28.3 |
| ムクナ (生豆) | 20.9±1.5 |
| ムクナ (処理) | 14.3±1.7 |

(3) ムクナ種子を利用食品の特性

ムクナ味噌について

全窒素量は熟成期間中で 2.5% 程度であり、ほぼ一定で変化なかった。可溶性窒素は熟成開始時の 1.0% から 10 週目で 2.1% まで上昇し以降減じた。ホルモール窒素も可溶性窒素と同様の傾向を示し、熟成開始時 0.1% から 10 週目で 0.3% まで上昇した。pH は熟成期間中を通して pH5.1 前後の弱酸性で一定していた。塩分は 10% 前後で一定だった。L-dopa は熟成開始日の 0.57g/100g から 2 週目で 0.33g/100g で 40% 程度減少したが、2 週目から 12 週目までは緩やかに減少し、最終的には 0.12g/100g の残存量であった。色調は普通の大豆味噌よりも濃く、代表的な豆味噌である八丁味噌のような色調だった。味は普通の味噌に比べ、ムクナ独特のえぐ味はあるものの甘味が強く感じた。

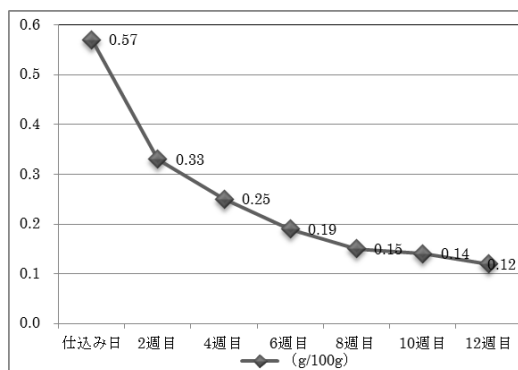


図2 ムクナ味噌熟成過程における L-dopa 量の推移



図3 製造したムクナ味噌

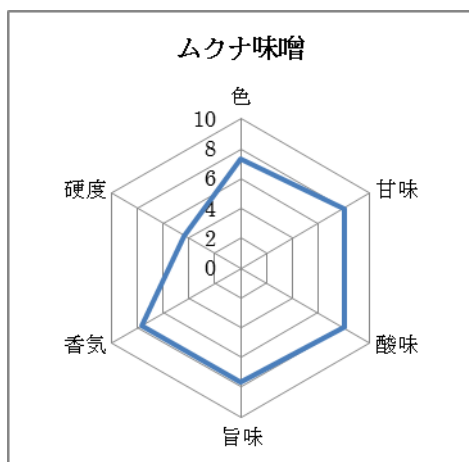


図4 ムクナ味噌の官能評価

ムクナ種子を用いた木綿豆腐及びゴマ豆腐風食品について

島豆腐風食品では、L-ドーパは約 18mg/g、ゴマ豆腐風食品では約 30mg/g 含まれていた。食味については、島豆腐風食品では、ムクナ大豆 100% で製造したものに比べ硬度があり、味が強く食べやすいものであった。

ゴマ豆腐風食品では、ゼリー様の食感で食べ易かった。



図5 ムクナ種子を利用した島豆腐風食品(左)、ゴマ豆腐風食品(右)

以上の結果より、ムクナ種子の摂取はパーキンソン病の病態を改善するとともに生体内抗酸化機能を有する機能性食品であることが示された。また、味噌や豆腐様食品に加工することも可能であり、これらの食品はパーキンソン病患者の治療食として活用できる可能性が考えられた。

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)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

古庄 律 (FURUSHO, Tadasu)

東京農業大学短期大学部・その他部局等・教授

研究者番号: 50238680

(2) 研究分担者

石田 裕 (ISHIDA, Hiroshi)

東京農業大学短期大学部・その他部局等・教授

研究者番号: 60248937

谷岡 由梨 (TANIOKA, Yuri)

東京農業大学短期大学部・その他部局等・助教

研究者番号: 30553250

(3) 連携研究者