

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 3 日現在

機関番号：36301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K00839

研究課題名(和文) 漢方生薬導入による認知症予防食事モデル構築のための基礎研究

研究課題名(英文) Research for constructing dementia-preventive diet model by incorporating crude drugs used in Kampo

研究代表者

天倉 吉章 (Yoshiaki, Amakura)

松山大学・薬学部・教授

研究者番号：50321857

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：生薬を食生活に導入した認知症予防食事献立を考案することを目的に、生薬70種のエキスのin vitro解析によるスクリーニングから、5種の生薬(サンショウ、ケイシ、シテイ、ヒシノミ、モツカ)が選択された。次いで、これら5種の生薬について、一過性健忘症マウスによるin vivo解析を実施し、いずれも有意な効果が認められなかったが、サンショウに一部改善が期待される効果を見出した。また、別の実験系で、ヒシノミには脳内における炎症反応を抑制する効果がある可能性が示唆された。効果が期待されたサンショウを使った食事献立を検討し、おかず、デザートを含むサンショウ入り献立として14種を提案することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

認知症は根本的な治療法が確立されておらず、発症を事前に予防するしかないのが現状である。認知症の予防には生活習慣病と同様、食生活が重要であるといわれているが、その科学的検証は少ない。本研究は、食生活と認知症予防のつながりに着目し、疾病モデルマウスを使用した科学的根拠構築を目指した研究であり、本成果はその解明の一助となると期待される。また、漢方等に使用される生薬を具体的に食事献立へ使用した検討例は少なく、研究成果から選択した素材を認知症予防献立として食生活への導入に至るまでの具体例として示唆される。

研究成果の概要(英文)：To devise a dietary menu to prevent dementia by incorporating crude drugs into the diet, 70 crude drug extracts were screened by in vitro assays, and 5 crude drugs (Japanese pepper, Cinnamon twig, Persimmon calyx, Water chestnut, and Chaenomeles fruit) were selected. Then, in vivo analysis of five crude drugs was carried out in mice with transient amnesia. As a result, no significant effect was observed with any crude drugs, however Japanese pepper was found to be expected to have some improvement. Additionally, it was suggested that Water chestnut may have an effect of suppressing the inflammatory reaction in the brain in another experimental system. Furthermore, meal menus using Japanese pepper, which was expected to have improvement effect, were devised, and 14 meal menus including side dishes and desserts could be proposed.

研究分野：生薬学，天然物化学，食品化学

キーワード：食生活 生薬 認知症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

社会の超高齢化に伴い、懸念される疾患の一つに認知症があげられる。認知症は患者本人の自立生活のみでなく、家族の介護等、様々なQOLを低下させるが、このような差し迫った背景にもかかわらず、認知症の根本的治療法は確立されていない。発症して治療しても既に遅く、治療方法がない現在、発症を事前に予防するしかない。認知症の予防には生活習慣病と同様、食生活が重要であるといわれており、その実現には、食生活を含めた保健医療におけるパラダイムシフトが重要であるとみなされる。

2. 研究の目的

本研究では、食材を対象としたこれまでの研究成果を薬である漢方生薬に融合展開し、漢方生薬の食材利用をめざす。すなわち、漢方生薬の認知症発症遅延・予防効果を探り、漢方生薬を食生活に導入するためのバランス強化した認知症予防食事献立を考案することで、科学的エビデンスに基づいた疾病予防食事選択システム構築のためのモデルを提案することを目的とする。

3. 研究の方法

認知症予防漢方生薬素材を探る目的で、漢方生薬(第17局及び局外生規収載品で非医原材料)70種について80%メタノールエキスを調製し、(1) *in vitro* 評価(extracellular signal regulated kinase (ERK)1/2 活性化作用、及び acetylcholinesterase (AChE) 阻害活性作用)によるスクリーニング、(2) スクリーニングで選出された生薬について *in vivo* 評価(薬物誘発性健忘症モデルマウス、及びリポ多糖誘発炎症モデルマウスを使用)による有効性確認、(3) 活性素材を取り入れた献立提案、について実施した。

4. 研究成果

(1) 各試料について、*in vitro* スクリーニングとして実績のある2アッセイ(ERK1/2 活性化作用、及び AChE 阻害活性作用)を評価した。その結果、ERK1/2 活性化作用については、サンショウ、エンメイソウ、ケイシ、シテイ、ヒシノミ、モッカ各エキスが特に活性が高く、次いで、カンキョウ、キキョウ、サンシシ、サンソウニン、サンヤク、ジュウヤク、チャヨウ、ヨウバイヒ各エキスに活性が認められた。AChE 阻害活性については、アカメガシワ、ケイヒ、ピロヨウ、ウラジロガシ、カロニン、ケイシ、シテイ、チャヨウ、ヒシノミ、モッカ、ヨウバイヒ各エキスに活性が認められた。これら評価結果を踏まえ、両アッセイで活性が認められたケイシ、サンショウ、シテイ、ヒシノミ、モッカの5原料を認知症予防候補素材として見出すことができた。

(2) (1)より見出された5種の生薬(サンショウ、ケイシ、シテイ、ヒシノミ、モッカ)について、*in vivo* 解析を実施した。病態モデル動物として、MK-801(記憶や学習などと深い関わりのある受容体として認識されている NMDA 受容体の拮抗薬)を腹腔内投与し、一過性健忘症を誘発したマウスを用いた。行動は、Y字型迷路(3本のアームで構成されるY字型の迷路)で解析した。その結果、交替行動率(3本のアームに対して次々と異なるアームを探索する割合を調べるもので、正常なマウスは一つ前に訪れた通路を記憶して戻ることが少ないため値が高くなる)や総移動距離(新たな環境に慣れない場合は増加する)は、いずれの生薬を投与した場合でも有意な改善効果が認められなかった。脳組織における効果は、ERK1/2 活性化作用を測定することで解析した。その結果、サンショウで改善傾向が認められ、他のサンプルでは効果が認められなかった。次に、サンショウエキスの高濃度投与群を設定し追試験を行った。サンショウエキス 1000 mg/kg/day 又は 2000 mg/kg/day 投与群をそれぞれサンショウ-1群、サンショウ-2群とした。エキスを1日1回経口投与し、8日目の経口投与後、MK-801を腹腔内投与し一過性健忘症モデルマウスを作製した。行動解析はY字型迷路を用いた。その結果、交替行動率及び総移動距離は、MK-801投与群で対照群と比較して有意に変化していたが、有意な改善効果は認められなかった。しかし、サンショウ-1群には総移動距離の抑制傾向がみられた(図1)。MK-801投与の病態モデルでは効果がみられないサンプルもあったことから、リポ多糖(LPS)を腹腔内投与することで炎症を誘発するモデルを作製し、各サンプルの評価を行った。サンショウ、ケイシ、シテイ、ヒシノミ、モッカの各エキスを1日1回7日間経口投与し、投与6日目にLPSを腹腔内投与し8日目に行動解析と解剖を行った。総移動距離はLPS投与群で対照群と比較して有意に低下していたが、いずれのサンプル投与群でも有意な改善効果は認められなかった。一方で、シテイ群とヒシノミ群には総移動距離の抑制を改善する傾向がみられた。解剖により脳組織を摘出し、免疫組織化学染色法により海馬領域のミクログリアについて解析したところ、LPS投与によって有意に増加していたミクログリア数は、ヒシノミ投与群では有意に抑制されていた(図2)。このことからヒシノミには、脳内における炎症反応を抑制する効果がある可能性が示唆された。

また、活性成分の探索としてアカメガシワエキスについて、AChE 阻害活性を指標に、活性画分の成分分析を行った。その結果、活性画分から bergenin, 11-O-galloylbergenin, chebulagic acid, pentagalloylglucose, pterocaryanin C, punicafolin, mallotusin が単離、同定された(図3)。

(3) (1), (2)の結果から、認知症予防献立作成のための一素材としてサンショウを選出した。サンショウ入りの調理レシピについて検討した結果、14 献立（山椒味噌、ちりめん梅山椒、豚の照り焼き丼、山椒風味の肉豆腐、スパイシー鶏唐揚げ、抹茶山椒パウンドケーキ、山椒ニョッキ、ピリ辛トマトソースパスタ、スパイシーチキンハンバーグ、白身魚のパン粉焼き～山椒風味～、スパイシーブラウニー、チョコムース、山椒生チョコ、山椒ゴマみそラーメン）(図 4) を提案することができた。

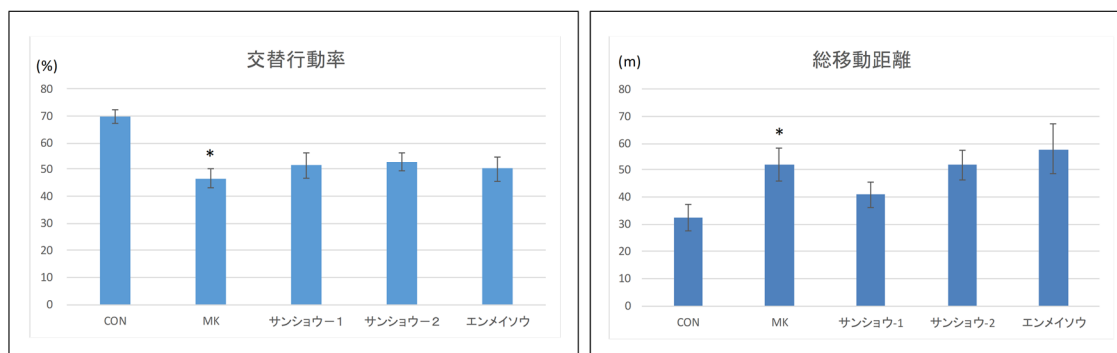


図 1 . 交替行動率と総移動距離

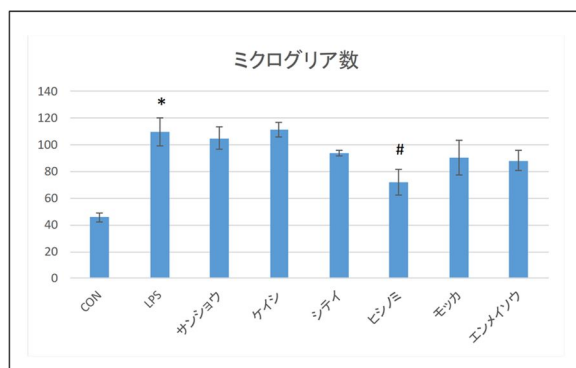


図 2 . ミクログリア数

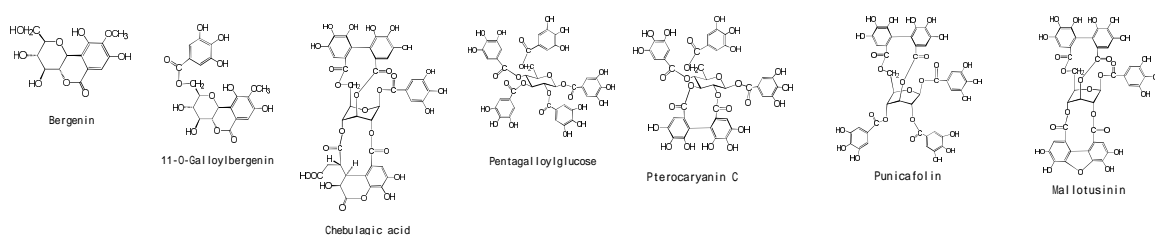


図 3 . 構造式

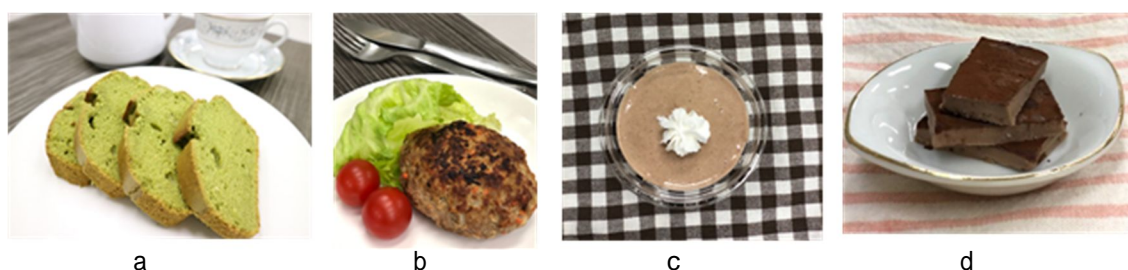


図 4 . 献立例 (a . 抹茶山椒パウンドケーキ , b . スパイシーチキンハンバーグ , c . チョコムース , d . 山椒生チョコ)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 天倉吉章, 杉脇秀美, 好村守生, 有澤香穂, 原 龍一, 奥山 聡, 古川美子
2. 発表標題 認知症予防素材を探る in vitro試験による生薬のスクリーニング
3. 学会等名 日本生薬学会第65回年会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔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	古川 美子 (Furukawa Yoshiko) (20219108)	松山大学・薬学部・教授 (36301)	
連携研究者	我如古 菜月 (Ganeko Natsuki) (70508788)	岡山県立大学・栄養学部・助教 (25301)	