

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 26 日現在

機関番号：34305

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2013

課題番号：22500742

研究課題名(和文) タデ科食材の免疫賦活性とアセチルコリンエステラーゼ阻害性の検討

研究課題名(英文) Effects on the immune response and inhibition of acetylcholine esterase activity by Polygonum hydropiper extracts.

研究代表者

宮崎 由子 (Miyazaki, Yoshiko)

京都女子大学・家政学部・教授

研究者番号：40131560

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円、(間接経費) 810,000円

研究成果の概要(和文)：(目的)タデ科食材(ヤナギタデ・鮎タデ・紅タデ)の免疫賦活性とAChE阻害活性を検討。(結果)(1)ヤナギタデはヒト好中球・単球に対し食食促進作用及び食胞融合能による殺菌性を示し、活性酸素産生量は僅かであり、免疫賦活食材として活用できることを見出した。(2)認知症予防のために、鮎タデ・紅タデのAChE阻害度をアセチルチオコリンを基質とし、生じたチオコリンをEllman法にて定量した。その結果、両方のタデにAChE阻害性を見出し、特に紅タデの水抽出物及び酢酸エチル抽出物に強いAChE阻害活性を見出した。更にタデ食メニューで介入試験(健康者n=10)を実施し、認知症の改善予防に活用できることを確認した。

研究成果の概要(英文)：We describe the effects of heated Polygonum hydropiper extracts(Ayutade and Benitade:TADE)on the immune response of human cells and inhibition of acetylcholine esterase(AChE).(1)TADE increased the phagocytic activity and phagosome-lysosome fusion of neutrophils and monocytes in a dose-dependent manner. The TADE components may affect only certain functions of human neutrophils because TADE did not affect superoxide anion release from neutrophils.(2)The degree of inhibition of AChE by Ayutade and Benitade was measured quantitatively with the Ellman method. Both components of TADE inhibited AChE activity. The AChE inhibitory activity of the water extract and ethyl acetate extract of Benitade was especially remarkable.(3)An intervention examination(10 healthy persons) of a dietary menu containing TADE components was carried out. The effects of dietary intake of TADE on cognitive function were compared with control dietary intake.TADE may be useful for improving and preventing dementia.

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：タデ科食材 機能性成分 免疫賦活性 アセチルコリンエステラーゼ阻害剤 認知症予防 一次予防 食生活

## 1. 研究開始当初の背景

我が国では、世界に類を見ないほどのスピードで高齢化が進み、2035年には約3人に1人が、65歳以上という超高齢社会が到来すると予想されている。高齢化社会において、大きな問題となるのは加齢と共に低下する免疫力や記憶学習能力などが原因となる認知症疾患であり、その予防対策は社会的課題と考えて良い。

認知症は、アルツハイマー病によるもの、脳血管障害によるもの、混合型と三種類に分類され、認知障害へと進行する脳の変性疾患である。認知症の原因は、加齢と共にアセチルコリン受容体が減少するに伴い、脳内の記憶や学習に關与する神経伝達物質「アセチルコリン」の濃度が低下し、アミロイドが蓄積して発症するとされている。認知症は、高齢者自身および介護をする人にとって健全な社会生活を過ごす大きな障害になるので、予防対策は、社会への朗報となる。

## 2. 研究の目的

民間療法薬として毒消しや虫さされに利用され、刺身・鮎料理のつま等に使用されているヤナギタデ(鮎タデ・紅タデ)に着目し、ヤナギタデに免疫賦活性を検討した。さらに、アルツハイマー型認知症の治療薬の1つとしてアセチルコリンエステラーゼ(AChE)阻害物質が使用されているが、筆者は薬剤ではなく食材を用いて認知症の一次予防へと発展させ、より効率的な臨床場面での活用方法を提案することを検討した。

## 3. 研究の方法

(1) 貪食作用の方法：ヤナギタデ(鮎タデ・紅タデ：*Polygonum hydropiper*；市販品)の熱水抽出物について、ヒト好中球・単球に対する貪食活性と食胞融合能性を検討した。鮎タデ・紅タデ抽出物を黄色ブドウ球菌死菌体にコートし、ヒト好中球・単球を各試料に加えて、培養後、メチレンブルーで染色、

顕微鏡下で貪食活性を調べた。食胞融合能の測定では、カバースリップ上に吸着した好中球のライソゾームにアクリジンオレンジをプレラベルした後、蛍光顕微鏡にて食胞融合能性を測定した。

さらに、サイトクロムC法によりスーパーオキシドアニオン( $O_2^-$ )を測定し、殺菌能を調べた。また、ヒト好中球に鮎タデ・紅タデ熱水抽出液を各々測定10分間前に反応させ、好中球に対するLipopolysaccharide(LPS)、ニコチンおよびガラントミン(アルツハイマー治療薬レミニール)の貪食活性を測定した。

### (2) アセチルコリンエステラーゼ阻害活性：

アセチルコリンエステラーゼ阻害剤は、アセチルコリンを分解する酵素(AChE)の働きを阻害して、脳内アセチルコリン濃度を高め、軽度・中等度のアルツハイマー症患者の認知機能を賦活し症状を改善するものである。AChE活性はアセチルチオコリンを基質とし、生じたチオコリンをEllman法にて定量し、412nmの吸光度を測定して、鮎タデ・紅タデのAChE阻害作用を測定した。

(3) タデ食の介入試験：タデ(6g)食を摂取する介入試験を試み、タデを含まない対照食との単盲検比較試験により比較検討した。対照食およびタデ食摂取後に、認知機能バランサーのソフトを用いて、見当識、注意力、記憶力、計算力、空間認識力の5項目について調べ、認知機能に対する効果を検証した。タデ食の介入試験に用いた結果をタデメニュー冊子としてまとめた。

## 4. 研究成果

(1) ヒト白血球に対する貪食作用：ヒト好中球および単球に対する貪食活性を調べた結果、鮎タデ・紅タデとも、濃度に依存して貪食作用を促進した。鮎タデでは、100  $\mu$ g/mlの濃度でコントロールに比べ3.7倍( $p < 0.001$ )、紅タデでは3.3倍( $p < 0.001$ )の

貪食活性を示した。また、単球に対する貪食活性の結果、鮎タデ・紅タデとも 1.4 倍 (80  $\mu\text{g/ml}$ 、 $p < 0.001$ ) の貪食活性を示した。

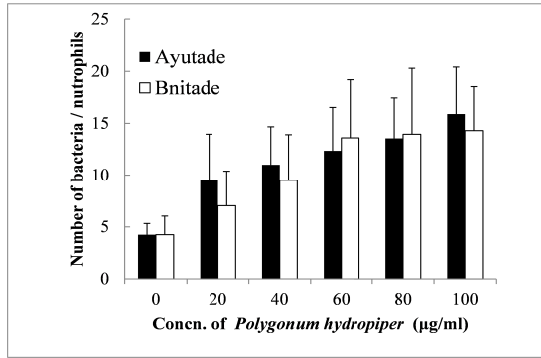


Fig.1 好中球におけるヤナギタデの貪食活性

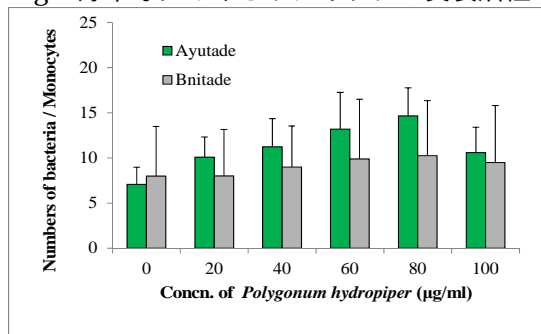


Fig.2 単球におけるヤナギタデの貪食活性  
また、食胞融合能では顕著に促進を認め、コントロールに対して、約 10 倍の活性を示し殺菌作用の促進を認め、スーパーオキシドアニオン ( $\text{O}_2^-$ ) の産生量もわずかで、80  $\mu\text{g/ml}$  濃度以上ではプラトーに達したので免疫賦活食材として活用できることを確認した。

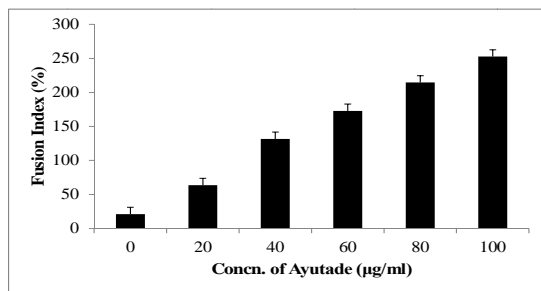


Fig.3 好中球における鮎タデの食胞融合能

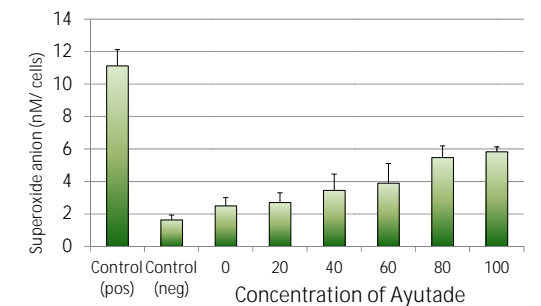


Fig.4 スーパーオキシドアニオン産生量

さらに、ヒト好中球にヤナギタデ熱水抽出液を各々測定 10 分前に好中球に反応させて、LPS、ニコチンの貪食活性を調べた結果、LPS・ニコチンの細胞障害性を軽減除去することを確認した。

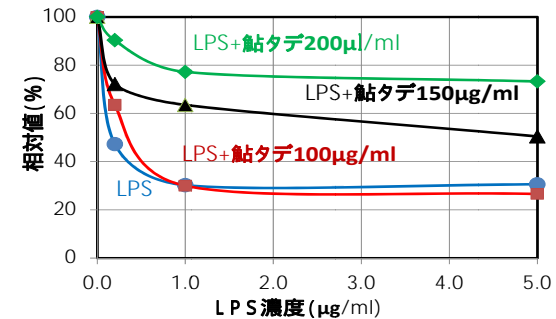


Fig.5 LPS に対する鮎タデの効果

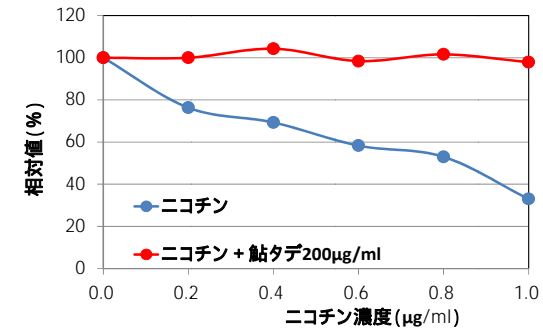


Fig.6 ニコチンに対する鮎タデの効果

また、ガラタミンの貪食活性は、わずかながら阻害する傾向を示したので、免疫力を低下させる副作用があると推測した。

(2) アセチルコリンエステラーゼ阻害活性：  
AChE 活性はアセチルチオコリンを基質とし、生じたチオコリンを Ellman 法にて定量し、鮎タデ・紅タデ両方に酵素阻害性があり、特に紅タデの熱水抽出物及び酢酸エチル抽出物は AChE 阻害活性が強かった。その結果、認知症の改善予防に鮎タデ・紅タデ食材が活用できることを確認した。

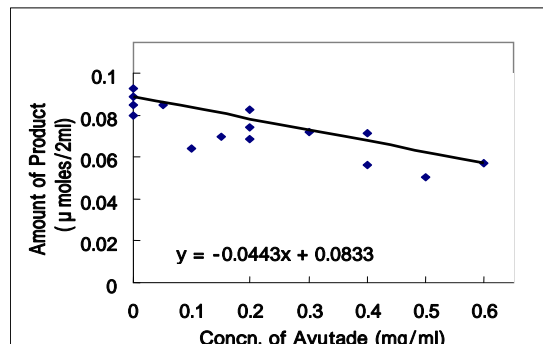


Fig.7 鮎タデによる AChE への効果

(3) **タデ食材の活用のメニュー提案**：高齢者を対象として、鮎タデ・紅タデを用いたメニューを検討し、タデ食メニューとして、タデ6g入り600kcal/食のメニューを考案した。官能検査4.5以上の評価を得たメニュー「蒸し鶏のタデ酢味噌和え」、「タデ酢ジュレのサラダ」、「鮎タデ入りいなり寿司」を春・夏・秋の季節に合わせて冊子「紅タデと鮎タデで作るおいしい認知症予防レシピ集」を作成した。



(4) **タデ食における介入試験**：タデ食と対照食を用いて単盲検比較介入試験(健常者n=10)を実施した。対照食およびタデ食摂取後の認知機能バランサーのソフトを用いて、見当識、注意力、記憶力、計算力、空間認識力の5項目について調べ、認知機能に対する効果を検証した。その結果、対照食よりタデ食摂取の方が効果を認め、特に「注意力」と「計画力」に有意な効果を認めた。

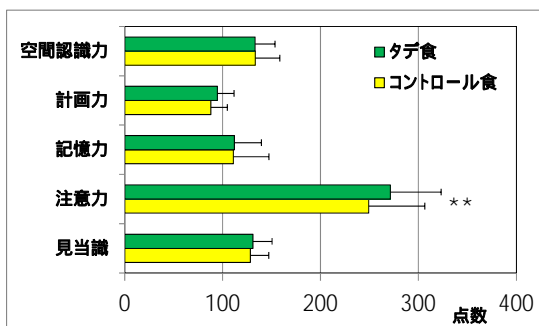


Fig. 8 タデ食における認知機能の効果

以上の結果、認知症の改善・予防にタデ食材が活用できることを確認した。

今回は介入試験の被験者に健常者を適用したが、今後認知症予備軍の被験者を対象に検討する予定である。

## 5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計3件)

- 酒井美弥子、宮崎由子、山中裕佳子、土井裕司、紅タデからのアセチルコリンエステラーゼ阻害物質の精製、日本食品科学工学会第60回記念大会、2013年8月30日(実践女子大学)
- 酒井美弥子、坂口亜貴、山中裕佳子、宮崎由子、土井裕司、紅タデからのアセチルコリンエステラーゼ阻害物質の検索、日本栄養食糧学会第51回近畿支部大会、2012年10月20日(甲子園大学)
- 宮崎由子、中西まなみ、千葉文香、土井裕司、ヤナギタデの免疫賦活作用、第65回日本栄養食糧学会大会、2011年5月14日(お茶の水女子大学)

〔図書〕(計1件)

- 宮崎由子、枘田菜月、中西まなみ「紅タデと鮎タデで作るおいしい認知症予防レシピ集」2014年3月、総24ページ、印刷：田中プリント

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

宮崎 由子 (MIYAZAKI Yoshiko)  
京都女子大学・家政学部・教授  
研究者番号：40131560

### (2) 連携研究者

土井 裕司 (DOI Hiroshi)  
武庫川女子大学・生活環境学部・教授  
研究者番号：50106267