

平成30年度豆類振興事業調査研究結果 小豆の抗アルツハイマー病効果に関する研究

米倉 真一 信州大学農学部教授

はじめに

アルツハイマー病は不可逆的な進行性の加齢性神経変性疾患である。この病気の症状としては、言語能力の低下や運動機能障害、記憶障害などが挙げられる。最近の報告によると、全世界で4,600万人以上の人々がアルツハイマー病で苦しんでおり、世界的に寿命が延びていることから、2050年にはその罹患患者数が1億3,100万人にのぼると予測されている¹⁾。主な病理学的特徴は、アミロイド β タンパク(アミロイド β)が凝集することで生じる老人斑、微小管関連タンパク質の1つであるタウタンパクの凝集によって引き起こされる神経原線維変化である。アルツハイマー病の発症メカニズムは未だに不明であるが、アミロイド β の沈着が引き金となって、最終的に神経細胞死に至る「アミロイド仮説」が広く支持されている。これまで根治治療薬は開発されておらず、またアミロイド β の蓄積は、アルツハイマー病発症の約20年前から始まっていることが明らかになってきている。無症状期では、脳内の病理学的変化は進行しているものの、脳機能は正常であることから、病院に足を運ぶに至ることはない(図1)。したがって、長い年月をかけて進行するアルツハイマー病に対して有用な手段として、“治療”ではなく“予防”が大事であるという考えが広まっており、予防効果を有する資源・成分の同定が期待されているところである。

植物由来成分は様々な病気に対する活性成分を有しており、その薬用効果は古くから認められている。アルツハイマー病に対しても、ニンニク抽出物がアルツハイ

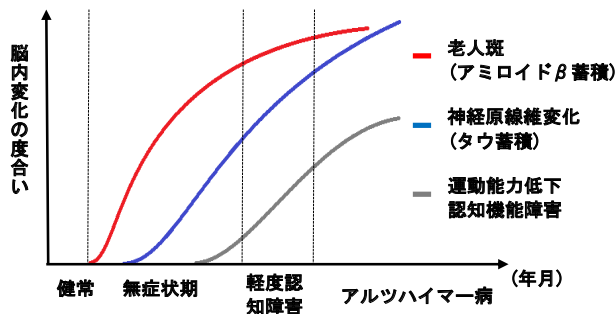


図1 アルツハイマー病を発症するまでの過程(Cohen and Klunk, 2014²⁾より引用、改変)

マー病モデルマウスの脳内におけるアミロイド β 蓄積量を減らし、学習記憶障害の抑制効果を有することや³⁾、シナモン抽出物がアルツハイマー病モデルショウジョウバエの脳内におけるアミロイド β 蓄積量を阻害し運動機能障害や寿命異常を改善することが報告されている⁴⁾。筆者らは、試験管レベルの実験で、アミロイド β の蓄積を抑制する効果を有する野菜、果物、豆類を探索した結果、小豆中に、その効果を有する成分が含まれていることを明らかにした。そこで、平成30年度豆類振興事業からの助成により「小豆の抗アルツハイマー病効果に関する研究」を実施し、アルツハイマー病モデル動物に小豆抽出物を摂取させることで、脳内のアミロイド β 蓄積や認知機能低下に対する効果を検討した。本稿では、その研究成果について紹介する。

●材料および方法

1) 小豆抽出物

小豆は北海道の十勝で栽培されたものを購入した。小豆を室温で12～18時間浸漬した後、1時間、熱水抽出し、遠心分離した後の上澄み液を“小豆抽出物”として、実験に用いた。

2) アルツハイマー病モデルショウジョウバエ

ショウジョウバエは100年以上にも渡る遺伝学研究の歴史があり、実験動物としての分子遺伝学的ツールが多く確立されている。またショウジョウバエは寿命が短く、アルツハイマー病のような加齢性神経変性疾患の研究において有用であることから⁵⁾、加齢性疾患の研究に広く活用されている。本実験においても、既にアルツハイマーモデルショウジョウバエとして確立している⁶⁾、ヒトアミロイド β を神経細胞特異的に過剰発現させショウジョウバエ(以下、アルツハイマーモデルハエ)を用いた。アルツハイマーモデルハエは、ヒトのアルツハイマー病と同様に、加齢依存的な運動機能障害や記憶障害、寿命異常、アミロイド β 凝集に伴う神経変性を誘導することが示されている。

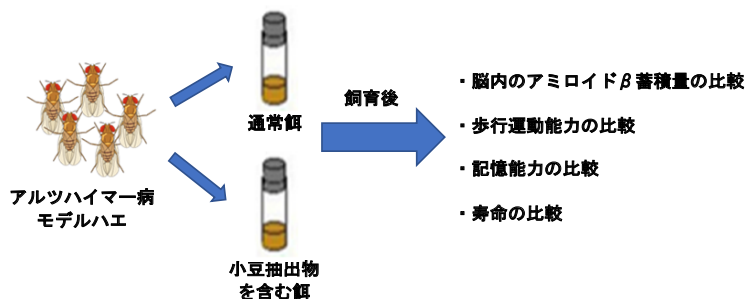


図2 実験の流れ

孵化後、直ちに小豆抽出物(1mg/ml)を含む餌で飼育し(小豆摂取群)、コントロールとして通常餌(コントロール群)で飼育した群を設定し、小豆抽出物摂取による抗アルツハイマー効果の検討を行った(図2)。

3) 脳内のアミロイドβ蓄積量の比較

孵化後15日後のアルツハイマーモデルハエより脳を摘出し、タンパク質画分を抽出後、ELISA法を用いて、コントロール群と小豆摂取群のアミロイドβ蓄積量を比較検討した。

4) 歩行運動能力の比較

孵化後25日、30日、35日目のアルツハイマーモデルハエを用いて、クライミングアッセイにより評価した。この方法は、ショウジョウバエの負の重力走性(重力に逆らって上に行こうとする)を利用して評価する方法である。具体的には、15匹のハエをヴァイアル(直径2.5cm、長さ9.5cm)にいれ、ヴァイアルをタップしてから18秒後にヴァイアルの底から2/3のラインよりも上にいたハエの割合を測定することで評価した。通常のハエは、上にいる割合が高くなる。

5) 記憶能力の比較

孵化後25日、30日、35日目のアルツハイマーモデルハエを用いて評価した。記憶能力は、パプロフ型条件付けにより匂い学習と記憶テストにより評価した。具体的には、約100匹のハエをトレーニングチャンバーに入れ、先ず匂いAを嗅がせながら電気ショックを与える。次いで他の匂いBを電気ショック無しで嗅がせて、匂いAと電気ショックの関係を学習させる。この学習訓練後、直ちに記憶テストを行い、ハエの記憶力(記憶スコア)を計測した。通常のハエは、匂いBを選択する割合が高くなる(図3)。

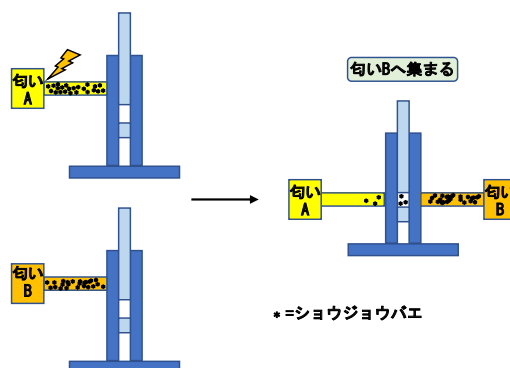


図3 記憶能力テストの概要

6) 寿命の比較

死亡の原因として環境要因を排除するため2日ごとに新しい餌に交換した。死亡した個体数は2日ごとにカウントし、Kaplan-Meier法で生存率を計算した。

● 結果および考察

1) 脳内のアミロイドβ蓄積量の比較

小豆摂取群では、コントロール群に比べて有意に脳内のアミロイドβ蓄積量が減少していた(図4)。筆者ら試験管レベルの実験より、アミロイドβに小豆抽出物(0.01~1mg/mL)を添加し37℃で24時間インキュベートすると、顕著にアミロイドβの凝集が減少することを見出している。よって本実験から、小豆抽出物を摂取することでも、アミロイドβ凝集の抑制効果が認められることが明らかとなった。

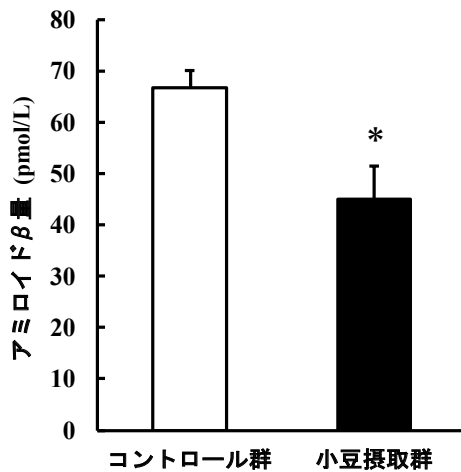


図4 脳内のアミロイドβ蓄積量
*有意差($p < 0.05$, student's t-test)があることを示す。

2) 歩行運動能力の比較

コントロール群においては、15日齢では運動能力の低下を示した個体の割合が10%程度に過ぎなかった。しかし25日齢ではおよそ40%が、30日齢にいたっては約70%が運動能力低下を示した。一方、小豆摂取群では、30日齢および35日齢においても運動能力が低下した個体は少なく、30%にも満たないままであった(図5)。この結果より小豆抽出物摂取によって、アルツハイマーモデルハエの運動能力低下が遅延することが示された。

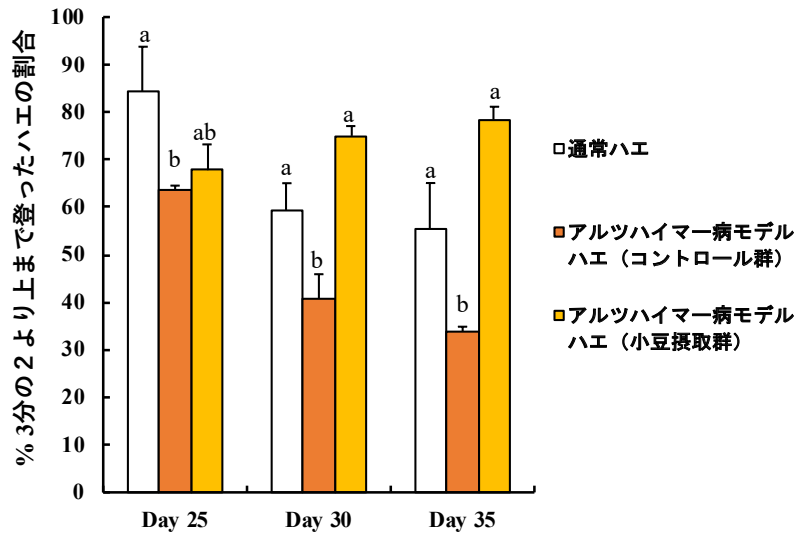


図5 歩行運動能力の比較
割合が低いほど、運動能力が低下していることを示す。
異なるアルファベット間には、有意差 ($p < 0.05$, Tukey-Kramer test)があることを示す。

3) 記憶能力の比較

コントロール群のアルツハイマーモデルハエでは、25日齢以降、コントロールハエに比べて有意な記憶・学習能力の低下が認められたが、小豆抽出物を摂取することでその低下が抑制されることが明らかとなった。

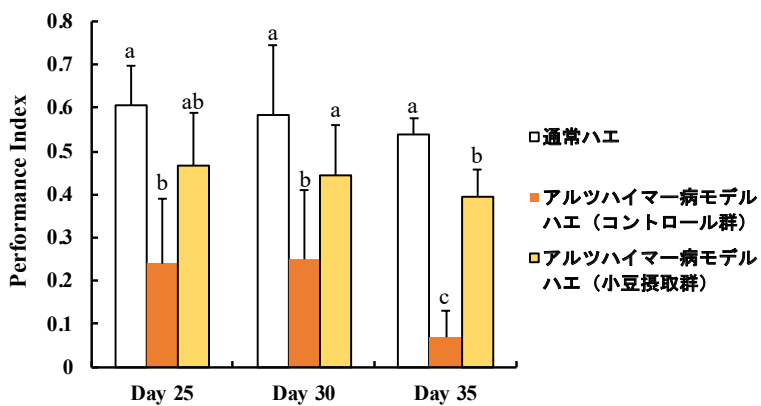


図6 記憶能力の比較
値が低いほど、記憶能力が低下していることを示す。
異なるアルファベット間には、有意差 ($p < 0.05$, Tukey-Kramer test)があることを示す。

4) 寿命の比較

コントロール群では、30～40日齢で急激に生存率の減少が認められた。一方、小豆摂取群では30日齢程度まで、生存率の減少はコントロール群と有意な差はなかったものの、30～50日齢では緩やかな生存率の減少であった(図7)。平均寿命はコントロール群で32.8日、小豆抽出群で45.4日となり、小豆抽出物を摂取することで10日以上寿命延長効果が認められた。

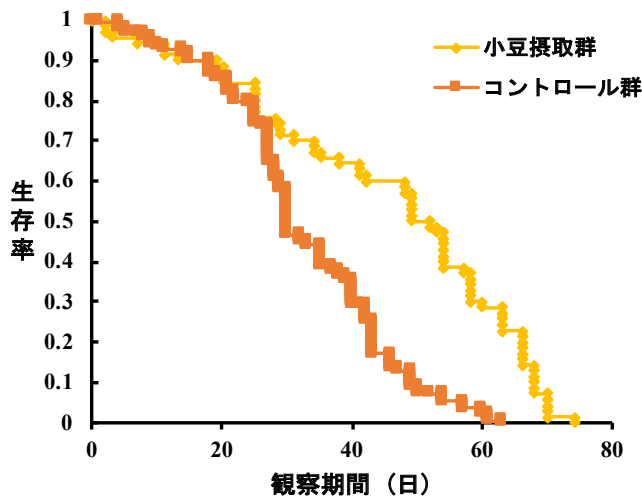


図7 寿命の比較
平均寿命はコントロール群で32.8日、小豆抽出群で45.4日

●まとめ

小豆 (*Vicia angularis*) は、日本をはじめ韓国や中国といった東アジアの地域で、民間薬や伝統菓子として食されているマメ科の植物である。筆者らの知る限り、小豆抽出物が抗アルツハイマー病効果を有しているという報告はこれまで無く、本研究により初めて明らかにされたことである。今後、小豆中の抗アルツハイマー病の活性成分を同定するなど、科学的エビデンスを増すことによって、小豆の新たな機能性を提唱できることから、小豆の需要が促進されることが期待できる。

●謝辞

本研究を遂行するにあたり、資金を援助頂いた日本豆類協会に深く御礼を申し上げます。

- 1) Prince M, Wimo A, Guerchet M, Ali GC, Wu Y-T, Prina M. World Alzheimer Report 2015. The Global Impact of Dementia. An analysis of prevalence, incidence, costs and trends. <https://www.alz.co.uk/research/world-report-2015>.
- 2) Cohen AD, Klunk WE. Early detection of Alzheimer's disease using PiB and FDG PET. *Neurobiol Dis*, 72 PtA:117-22, 2014.
- 3) Chauhan NB, Sandoval J. Amelioration of early cognitive deficits by aged garlic extract in Alzheimer's transgenic mice. *Phytother Res*, 21:629-640, 2007.
- 4) Frydman-Marom A, Levin A, Farfara D, Benromano T, Scherzer-Attali R, Peled S, Vassar R, Segal D, Gazit E, Frenkel D, Ovadia M. Orally administrated cinnamon extract reduces β -amyloid oligomerization and corrects cognitive impairment in Alzheimer's disease animal models. *PLoS One*, 6:e16564, 2011.
- 5) Lenz S, Karsten P, Schulz JB, Voigt A. *Drosophila* as a screening tool to study human neurodegenerative diseases. *J Neurochem*, 127:453-60, 2013.
- 6) Iijima K, Liu HP, Chiang AS, Hearn SA, Konsolaki M, et al. Dissecting the pathological effects of human Abeta40 and Abeta42 in *Drosophila*: a potential model for Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 6623-6628, 2004.