

## 雲南百葉が老化促進マウスの記憶・学習機能に及ぼす効果

### [1] 組織

代表者：松崎 健太郎

(島根大学医学部環境生理学)

対応者：荒井 啓行

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：

橋本 道男 (島根大学医学部環境生理学)

紫藤 治 (島根大学医学部環境生理学)

研究費：物件費 15 万円

### [2] 研究経過

超高齢化社会を迎えている現代社会において、アルツハイマー病 (AD) などの神経変性疾患の患者数が増加している。現在、世界では推計で約 5,000 万人が認知症を患っており、その数は 2050 年までに 3 倍になると予想されている。しかし、AD を発症した患者の治療に成功した臨床試験は存在しない。このような中、AD などの神経変性疾患や中枢神経疾患を予防・改善する薬剤や機能性食品の開発が期待されている。

雲南百葉は、ツルムラサキ科の多年草であり、栽培が容易で栄養価が高いことから、機能性食品として注目されている。これまでマウスやラットを対象とした研究において、雲南百葉の機能性として脂質異常の改善効果や降圧作用が報告されている。しかし、中枢への影響について長期的な投与の効果を検討した報告はない。

本研究では、雲南百葉抽出エキスの長期間投与が、老化促進モデル動物 Senescence Accelerated Mouse-Prone 8 (SAMP8) の認知機能に与える影響を行動学的に解析し、その中枢機序を生化学的・分子生物学的に検討した。

以下、研究活動状況の概要を記す。本研究は、主として島根大学医学部で実施した。動物の飼育、薬物の投与方法、行動薬理解析、組織の単離、生化学解析等は東北大学加齢医研究所の荒井啓行先生と E-mail などで情報交換をしながら実施した。

老化は、AD の発症に最も強く関連する因子であり、SAMP8 は、脳内酸化ストレスの増大や A $\beta$  斑の形成、

シナプス可塑性の劣化、認知機能の低下などの AD 様病変を示す。本研究では SAMP8 を研究対象とした。SAMP8 (15 週齢、雄性：n=24) を環境温 23°C、明暗サイクル (7:00/19:00) 下で飼育した。1 週間の馴化期間をおいた後、マウスを雲南百葉エキス摂取群 (AC 群：n=9) と水道水を摂取するコントロール群 (CN 群：n=10) の 2 群に分け、自由摂食・飲水下で 18 週間飼育した。投与期間中、体重、飲水量、摂餌量を 1 週間毎に測定した。投与開始から約 30 週間後に、モリス水迷路試験と新奇物体認識試験を実施し、マウスの空間認知機能と物体認知機能を行動学的に解析した。行動実験終了後に麻酔下で下行大静脈から採血し、海馬、心臓、肝臓、腎臓を摘出した。全血を用いて血球成分を測定し、血漿より肝機能、腎機能などの一般生化学検査を行った。また、血漿を用いて、酸化ストレスマーカーである過酸化脂質 (LPO) 濃度を測定した。さらに、海馬における脳由来神経栄養因子 (BDNF) 濃度を ELISA 法で定量した。また、記憶形成に重要な役割を持つ cAMP response-element binding protein (CREB) のリン酸化や、Postsynaptic density 95 (PSD95)、NMDA-receptor subunit (NR2A) の発現量を Western-blot 法により測定した。

### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

投与期間、体重や飲水量・摂餌量は、CN 群と AC 群の間に有意差を認めなかった。モリス水迷路試験において、AC 群の逃避行動時間は、CN 群と比較して有意に減少した (図 1)。

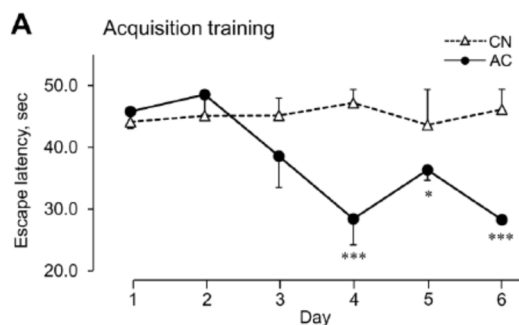


図 1. 雲南百葉による SAMP8 の空間認知機能の改善効果。モリス水迷路試験において、雲南百葉投与群 (AC) の逃避行動時間 (Escape latency) は対照群 (CN) よりも有意に減少した。Data indicate means  $\pm$  SEM. \* $p$ <0.05, \*\*\* $p$ <0.001, compared to control group.

また、雲南百薬エキスの投与は新奇物体探索試験における識別指数を顕著に上昇させた。以上の結果から、雲南百薬エキスの摂取により SAMP8 の認知機能が改善したことが示された。

雲南百薬の認知機能改善効果の中枢機序の解明を目的として、SAMP8 マウスの海馬を採取し、記憶形成に重要な役割を持つ BDNF、リン酸化 CREB、PSD95、NR2A などの発現量を解析した。その結果、雲南百薬エキスの投与により、いずれの因子も顕著に増加することが明らかになった (図2)。

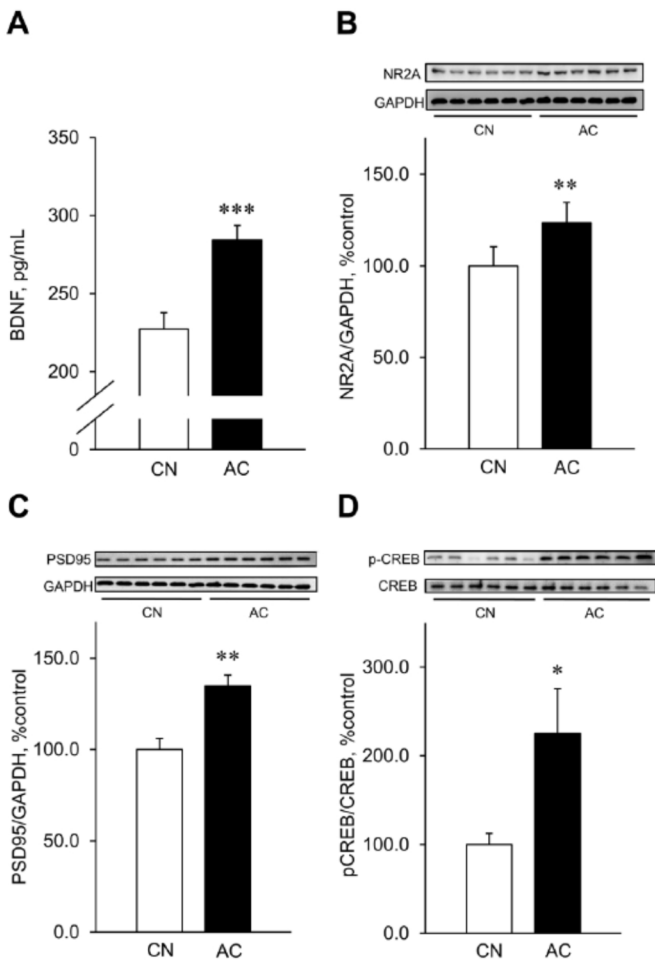


図2. 雲南百薬長期投与による SAMP8 マウス海馬における (A) BDNF、(B) NR2A、(C) PSD95、(D) p-CREB の発現変化。雲南百薬投与群 (AC) の海馬における BDNF、NR2A、PSD95、p-CREB 発現量は対照群 (CN) よりも有意に高かった。Data indicate means  $\pm$  SEM. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ , compared to CN group.

さらに、血漿の LPO 濃度は、CN 群と比べて AC 群で有意に低下した。一方、SAMP8 マウスの血球成分、腎機能、肝機能やその他の血液生化学データは、CN 群と AC 群との間に有意差を認めなかった。

以上の結果より、雲南百薬エキスの長期摂取は、有害な副作用をもたらすことなく、SAMP8 マウスの認

知機能を改善する効果を有することが明らかになった (図3)。

### (3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究で得られた成果により、学外研究者や地元企業との交流が飛躍的に活性化し、ヒトを対象とした介入試験に発展した。現在、島根県内の高齢者を対象に、雲南百薬の長期摂取による認知症予防効果や生理機能に及ぼす効果について介入試験を実施し、データを解析中である。

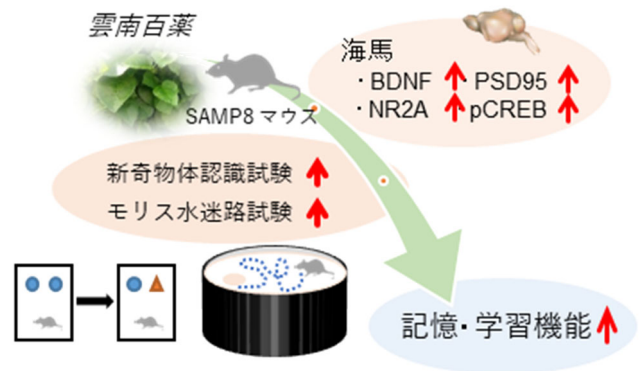


図3. 本研究の概要

### [4] 成果資料

発表論文

(1) Sumiyoshi, E; Hashimoto, M; Hossain, S; Matsuzaki, K; Islam, R; Tanabe, Y; Maruyama, K; Kajima, K; Arai, H; Ohizumi, Y; Shido, O. Anredera cordifolia extract enhances learning and memory in senescence-accelerated mouse-prone 8 (SAMP8) mice. *Food & Function*, (In press)