

脳機能を活性化する機能性食品素材と商品化への展望

小林 彰子*・篠原もえ子¹・山田 正仁²

2012年の厚生労働省の調査によると65歳以上の4人に1人は認知症とその予備軍と報告されている。現在、ワインやカレーといったポリフェノールを豊富に含む食品を摂取する食習慣がアルツハイマー病（AD）予防につながるという疫学的知見による報告が為されているが、ポリフェノールによるAD予防についての科学的証拠は得られていない。本稿では、総合科学技術・イノベーション会議のSIP（戦略的イノベーション創造プログラム）「次世代農林水産業創造技術」のプロジェクトにおいて、筆者らが現在取り組んでいる、ロスマリン酸（RA）によるAD遅延効果に関する研究について解説する。

アミロイド仮説とロスマリン酸

脳内におけるアミロイドβ（Aβ）の蓄積は、ADの特徴的な病理学的変化である。AD患者の脳内では38～43アミノ酸のAβペプチドの顕著な蓄積が認められ、これは老人斑と呼ばれる。Aβペプチドはamyloid precursor protein（APP）がβ-セクレターゼおよびγ-セクレターゼといった膜貫通型のプロテアーゼにより切断され産生される。Aβモノマーは毒性を示さないが、凝集体を形成することで毒性を示す¹⁾。脳内に蓄積したAβモノマーは時間の経過とともに、可溶性オリゴマー、可溶性βシートオリゴマー、プロトフィブリルを経て、完全線維となる。Aβはγ-セクレターゼの切断部位の違いにより主に40および42アミノ酸残基のものが生成される。Aβ₄₂はAβ₄₀に比べて溶解度が低く線維化しやすい性質を持つため、脳内に蓄積されやすいことから、特にAβ₄₂の相対量がADの進行に関与する²⁻⁴⁾。Aβの産生および沈着が引き金となり、カスケード式にタウの異常リン酸化による神経原線維変化など病理要因が進行し、ADの発症につながると考えられている。Aβオリゴマーによるニューロンの数の減少はADによる認知機能障害が実際に現れる約20年前から始まっている⁵⁾。またこれまでに、Aβ産生に関わる複数の家族性AD遺伝子PS1、PS2、APPなどが同定されている⁶⁾。以上のように、患者脳内に生成したアミロイド線維がADの病理カスケードの引き金になるという考えはアミロイド仮説と呼ばれ、ADの発症メカニズムとして支持されている。一方、

なぜ脳内にAβが増加するのか、Aβ沈着と神経原線維変化との接点、および孤発性ADの最大の疾患感受性遺伝子であるアポリポ蛋白E ε4アレルの保有がこのカスケードのどこに入るのか、などは不明なままである。

金沢大学神経内科のグループは、長年にわたりポリフェノールによるAD予防・治療効果に着目し研究を行ってきた。金沢大学小野らはアミロイドβペプチドを用いた*in vitro*試験で複数のポリフェノールをスクリーニングし、RAが高いAβ凝集抑制活性を示すことを発見した⁷⁾。さらに、金沢大学浜口らはADモデルマウスとしてヒト型Aβタンパク質の変異を導入したトランスジェニックマウスであるTg2576を用いて*in vivo*での検証を行った⁸⁾。コントロール食を10か月摂食したコントロール群（C群）において、ADの主病態とされるAβの沈着を確認した。一方でコントロール食に0.5% RAを含んだ餌を摂食したRA群ではC群と比較して有意なAβ沈着減少が見られた。以上の結果よりRAはAD予防・治療素材と成り得る可能性が示唆された。

RAはローズマリー、レモンバーム、およびシソなどに含まれるフェニルプロパノイドのダイマーである。構造式を図1に示す。RAは*in vitro*の系において高いAβの凝集抑制活性を示したが、*in vivo*ではそれ以外の機構の存在も考えられたため、現在、脳のDNAマイクロアレイによるトランスクリプトーム解析によりRA摂食が脳に与える影響について解析している。

RA試験食の臨床試験による効果および安全性評価

金沢大学神経内科では、60歳以上の軽度AD患者を対象に第I/II相臨床試験を実施している。臨床試験に供するRAの濃度は以下のように決定した。前述の浜口らの論文では、マウスはRAを1 g/kg・BW/dayで270日間

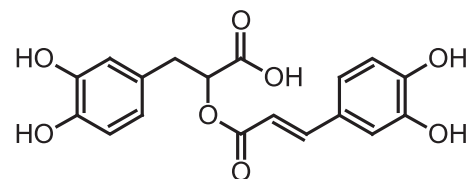


図1. ロスマリン酸（RA）の化学構造式

* 著者紹介 東京大学大学院農学生命科学研究科食の安全研究センター（准教授） E-mail: ashoko@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp
¹ 金沢大学大学院医薬保健学総合研究科脳老化・神経病態学（神経内科学）（助教）
² 金沢大学大学院医薬保健学総合研究科脳老化・神経病態学（神経内科学）（教授）

経口摂取したが、その際明らかな毒性は認められなかった。この濃度からマウスの最大無毒性量 (no observed adverse effect level, NOAEL) を $1 \text{ g/kg} \cdot \text{BW/day}$ とした。食品においては、生涯にわたりヒトが毎日摂取し続けても影響が出ないと考えられる量を一日摂取許容量 (acceptable daily intake, ADI) と定義し、NOAELに安全係数を乗じて求める^{9,10)}。安全係数には、動物実験とヒトとの種の違い(10倍)と個人差(10倍)を考慮し、それを乗じた100が用いられる。したがって、RAのADIは $10 \text{ mg/kg} \cdot \text{BW/day}$ と計算され、平均的な成人の体重を 50 kg と仮定し、RA 500 mg/day での摂取は安全であることが考えられた。

この濃度において、臨床試験前にRA試験食品の健常人を対象としたRAの動態および安全性を評価した¹¹⁾。金沢大学神経内科において、健常人に対し、RA試験食品 500 mg 、またはプラセボを投与し、投与前～投与後48時間まで継時的に血液を採取した。血漿中のRA(遊離のRA)およびRA代謝物(硫酸およびグルクロン酸抱合型RA)をクーロメトリック式HPLC-ECDで測定した。

RA試験薬 500 mg 内服1時間後に血漿中の総RA濃度は最高血中濃度 (C_{\max}) に達し、24時間後に血中より消失した。総RAの血中濃度-時間曲線下面積 (AUC) は $832.13 \pm 238.10 \text{ nmol} \cdot \text{hour/L}$ であった。遊離のRAは内服1時間後に、抱合型RAは2時間後に C_{\max} に達した。AUCを比較すると抱合型RAは、遊離のRAに比べて約2.6倍高く、RA摂取後のヒト体内においては、遊離のRAよりも抱合型RAの方が多く存在することが明らかとなった。

血液生化学データでは、肝臓、腎臓、および血球成分に対する影響は認められなかった。また試験に参加したすべての健常人において、有害事項はなかったことから、RA試験食の 500 mg 単回摂取において、安全性および忍容性は高いことが示された。

次に長期間でのRA試験食摂取のヒトでの安全性や忍容性、および代謝動態と認知機能の変化を明らかにするため、軽度AD患者対象の臨床試験を実施した。RA製剤の無作為化、プラセボ対照、並行群間、単施設、二重盲検とし、実薬群は48週間RA製剤を連続摂取、プラセボ群はプラセボ製剤を24週摂取した後にRA製剤を24週摂取とした。主要評価項目はRA製剤の安全性、副

次的評価項目は脳アミロイド蓄積変化および疾患の進行抑制効果など、ADに対する有効性とした。主要評価項目の安全性については、試験食品(プラセボまたはRA試験食)との関連が疑われる有害事象として5件の報告があったが、いずれも軽症と分類された。試験食品(プラセボまたはRA試験食)内服の完遂率は88.9%であり、RA試験食の忍容性は高いものと思われた。現在データを開錠したところであり、今後ADに対する有効性の評価を進める予定である。

今後の展望

ADは発症後の治療が難しく、また長期間にわたり徐々に進行する病気であるため、食事による予防は重要である。本プロジェクトにおいて、動物実験や臨床試験を通して、RAのAD遅延・改善機作を明らかにすると共に、安全性の評価を行い、最終的にはRAの認知症、特にADの治療および予防における有用性について明らかにしたいと考えている。

謝 辞

本研究の一部は、内閣府の戦略的イノベーション創造プログラム (SIP)「次世代農林水産業創造技術」(管理法人: 生研支援センター) により実施したものである。

文 献

- 1) Selkoe, D.: *Physiol. Rev.*, **81**, 741 (2001).
- 2) Burdick, D. *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **267**, 546 (1992).
- 3) Francis, P. T. *et al.*: *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, **66**, 137 (1999).
- 4) Walsh, D. M. and Selkoe, D. J.: *J. Neurochem.*, **101**, 1172 (2007).
- 5) Bilkei-Gorzo, A.: *Pharmacol. Ther.*, **142**, 244 (2014).
- 6) Scheuner, D. *et al.*: *Nat. Med.*, **2**, 864 (1996).
- 7) Ono, K. *et al.*: *J. Neurosci. Res.*, **75**, 742 (2004).
- 8) Hamaguchi, T., *et al.*: *Am. J. Pathol.*, **175**, 2557 (2009).
- 9) 錠剤、カプセル状等食品の原材料の安全性に関する自主点検ガイドライン (食安発第0201003号, 平成17年2月1日): <https://hfnet.nih.go.jp/usr/kiso/pdf/sa0201003.pdf> (2017/03/02)
- 10) 「いわゆる健康食品」の摂取量及び摂取方法等の表示に関する指針について (食安発第0228001号, 平成17年2月28日): <http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/topics/050131/dl/tuuchi08.pdf> (2017/03/02)
- 11) Noguchi-Shinohara, M. *et al.*: *PLoS One*, **10**, e0126422 (2015).