

肝機能保護効果と脳細胞活性化の因果関係の考察 — 4

謝 心範 1), 山本 理 2), Karl Wah-Keung Tsim 3), Miranda Li Xu 5),
Etta Yun-Le Liu 3), Ran Duan 3), 原田 雅義 4)

1) 武蔵野学院大学大学院, 2) 漢方養生研究所, 3) The Hong Kong University
of Science and Technology, 4) 東明会原田病院 5) Harvard University

Relationships between Protection of the Hepatic Function and Activation of the Brain Cells -4-

Shinhan Sha, Ph.D., Masaru Yamamoto, Ph.D., Karl Wah-Keung Tsim, Ph.D.,
Miranda Li Xu, Ph.D., Etta Yun-Le Liu, Ph.D., Ran Duan, M.B.A.,
and Masayoshi, Harada, M.D., Ph.D.

【キーワード】

養脳力、アミロイド β 、軽度認知機能障害、肝機能、腎機能改善

要旨

【目的】我々は肝機能の保護が脳の活動に大きく影響するという古くからの報告に注目し、漢方養生食品の認知症予防や治療につながる可能性を検討している。これまでに田七、杜仲を含む肝機能改善効果のある漢方養生食品が、ニューロフィラメントの発現、及び神経突起の伸長を含む神経細胞の分化・成長に有意な効果を示したことを報告した。今回の検討では予備的な試験として、肝機能改善効果のある漢方養生食品養脳力(BW)を健常ボランティアが8週間摂食し、アミロイド β の血中濃度や、アミロイド β の排出に関わる蛋白質の血中濃度変化を観察した。

【方法】男女4人の被験者が比較対象(摂食なし)1名、漢方養生食品BWをそれぞれ1日あたり1gを2名、1日当たり3gを1名が8週間毎日摂食し、摂食前、4週後、8週後に採血した。各採血時には、一般的な血液生化学検査に加え、血漿中のアミロイド β ペプチド($A\beta_{1-42}$, $A\beta_{1-40}$)の濃度、血清中のアミロイド β 排出関連蛋白(アポリポ蛋白質(ApoA1)、補体第3成分(C3)及びトランスサイレチン(TTR))を測定し、それぞれ濃度変化を観察した。

【結果】肝機能の指標であるAST, ALTは、高用量を摂食していた一例(1日当たり3g)において4週後にそれぞれ42から20 IU/Lへ52%, 42から26 IU/Lへ43%と大きく減少した。低用量を摂食していた二例(一日当たり1g)では、4週間、8週間摂食後には、ほぼ変化が無く低値で安定していたことから、本来の肝、腎機能改善、維持を目的とした漢方養生食品の効果が4週間で顕著に表れたことが確認できた。また、BWの摂食により、少なくとも8週間はアミロイド β の血中濃度を変化させないことがわかった。アミロイド β 排出関連蛋白のApoA1及びTTRは増加傾向であった。腎機能の指標であるeGFR、BUNには大きな変化は無かった。

【考察】BWの摂食により、認知機能指標であるアミロイド β とアミロイド β 排出関連蛋白の濃度変化を観察し、肝機能の改善、及び認知機能の悪化防止の可能性が示唆された。今後は被験者を増やし、BW摂食後の認知機能テストも併せて行うなどの更に詳細な検討が必要である。

1 背景

これまで我々は、肝機能や腎機能改善効果のある漢方薬に注目してきた。田七、杜仲を含む漢方養生食品養生養生片仔癯（YHK）、田七杜仲精（DTS）ではC型肝炎、B型肝炎、脂肪肝、アルコール性肝炎、肝硬変など肝機能異常者の肝機能回復効果を確認している^{1,2,3,4}。肝臓に対する治療薬である抑肝散は肝機能改善以外でも神経症、うつ病、不眠症、幼児夜泣きなどで処方され、神経疾患に対する有効性、認知症に対する可能性も報告されている^{5,6,7}。このように肝機能の保護が脳の活動に大きく影響するという古くからの報告に注目し、漢方養生食品の認知症予防や治療につながる可能性を検討している。これまでに田七、杜仲を含む肝機能改善効果のある漢方養生食品がニューロフィラメントの発現、及び神経突起の伸長を含む神経細胞の分化・成長に有意な効果を明らかにし、更に、YHKとBWが、アミロイド β の凝集塊生成を阻害、または生成した凝集塊を乖離させる効果を有し、抗炎症作用や抗酸化作用を持つことを報告した^{8,9,10,11}。

今回の予備検討では、肝機能改善効果のある、田七、杜仲を含む漢方養生食品養脳力（Brain Well：BW）を健常ボランティアが8週間摂食し、血液中のアミロイド β の濃度変化を観察した。

一方、認知機能障害を評価する方法としてADの前段階とされている軽度認知機能障害（MCI）の患者と健常人とのアミロイド β の排出に関わる蛋白質の血中濃度比較から、アポリポ蛋白質A1（ApoA1）、補体蛋白質のC3及びトランスサイレチン（TTR）濃度の組み合わせによる解析により、感度91%、特異度80%でMCIの患者を同定することが出来たと報告されている。これらはMCIやアルツハイマー病（AD）のリスク評価や診断への応用が期待されており^{12,13}、今回の検討ではこれらの蛋白質の濃度も測定した。

主要評価項目：血中アミロイド β ペプチド（A β_{1-42} 、A β_{1-40} ）

副次評価項目：血中ApoA1、TTR、C3、AST、ALT、Cre、BUN

2 材料・方法

2.1 倫理的事項

本試験は、ヘルシンキ宣言の趣旨に従い、また、人を対象とした医学系研究に関する倫理指針（平成26年文部科学省・厚生労働省告示第3号）を遵守して実施した。また、試験責任者は試験参加者に対して、試験参加前に本試験の目的や内容等について十分な説明を行い、文書による同意を得た。

2.2 被験食品

被験食は田七と杜仲を含む市販の1粒250mgの養生健康食品である養脳力（BW¹⁴）を用い、株式会社協通事業（東京都豊島区）より提供された。

2.3 選択基準および除外基準

試験参加者は、同意取得時の年齢が20歳以上の健康な男女4人とした。また、本試験で検討する有効性と同様、或いは関連すると考えられる効果・効能を標榜した、或いは田七や杜仲を原材料とする健康食品や医薬品を少なくとも8週間以内に摂食した者、或いは試験責任者が試験参加

に不適切であると判断した者は除外した。

2.4 試験デザイン

本試験は、探索的試験として実施したため、被験食群と対照群のオープン比較試験とした。試験参加者4人を一日のBWの摂取量毎に低用量（一日当たり4粒、1g）が2名（L1,L2）、高用量（一日当たり12粒、3g）1名（H）、比較対照（摂食なし）1名の計4名とした。

血液検査は、試験開始当日（摂食前）、4週間後、8週間後の各3回とした。

2.5 評価項目

一般的な血液生化学検査：総蛋白、アルブミン、クレアチニン、尿素窒素（BUN）、推算糸球体濾過量（eGFR）、AST、ALT、総コレステロール、中性脂肪、HDL コレステロール、LDL コレステロール、Na、K、Cl、Ca、リン、血算（白血球数、赤血球数、ヘマトクリット、ヘモグロビン、MCV、MCH、MCHC、血小板）血糖値、HbA1cを測定或いは演算により求めた。アミロイドβ関連は、 $A\beta_{1-42}$ 、 $A\beta_{1-40}$ 、（富士フィルムAmyloidβ ELISAキット）を使用し、株式会社 矢内原研究所（静岡県富士宮市）、アポリポ蛋白質（ApoA1）、補体第3成分（C3）及びトランスサイレチン（TTR）は株式会社 MCBI（茨城県つくば市）でそれぞれ測定した。

2.6 統計解析

アミロイドβの定量は、それぞれの平均値±標準偏差を算出した。各群の摂食前と摂食後の前後比較には、paired t-testを用いた。結果の有意水準は5%とした。統計解析はMicrosoft Excel for Microsoft 365 MSO（日本マイクロソフト㈱、東京都港区）を用いて行った。

3 結果

3.1 試験参加者背景

試験参加者の年齢は49 - 67歳（ 55.8 ± 7.2 歳）、BMIは22 - 26.5 kg/m^2 （ $23.3 \pm 2.4 \text{ kg}/\text{m}^2$ ）であった。高用量摂食者（H）が4週目以降8週目までの間に規定量を摂食していない日があり、高用量摂食者の8週目の検査結果は解析から除外した。摂食開始前の血液検査では、ほとんどの項目が基準値の範囲内であったが、AST、ALT、グルコース、HbA1c、総コレステロール、トリグリセリド、HDL、LDLがやや基準範囲よりも高い被験者も含まれていた。摂食後は、肝機能の指標であるAST、ALTは、高用量を摂食していた一例（一日当たり3g）において4週後にそれぞれ42から20へ52%、42から26へ43%と大きく減少した。低用量を摂食していた二例（一日当たり1g）では、4週間、8週間摂食後はほぼ変化が無かった（図1）。腎機能の指標のeGFR、BUNには大きな変化は無かった。

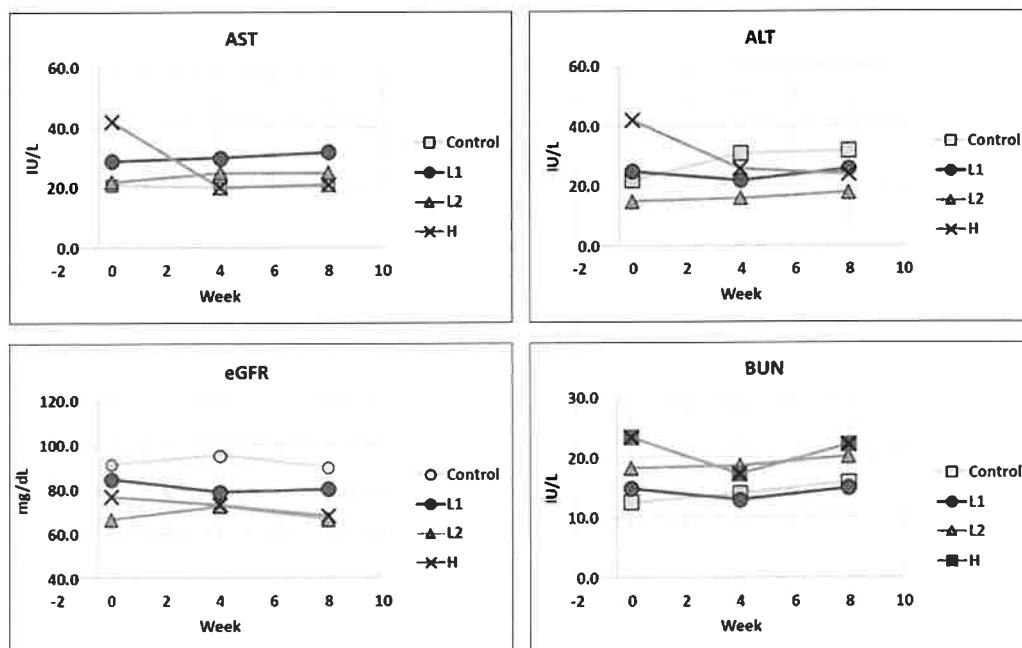


図1. 一日当たり1g, 或いは3g摂食した被験者の4週間後及び、8週間後のALT, AST, eGFR, 及びBUNの変化

3.2 安全性

摂食後4週後、および8週後の一般的な生化学血液検査の結果から、医学的に問題となる所見は観察されず、被験食の安全性には問題なかった。

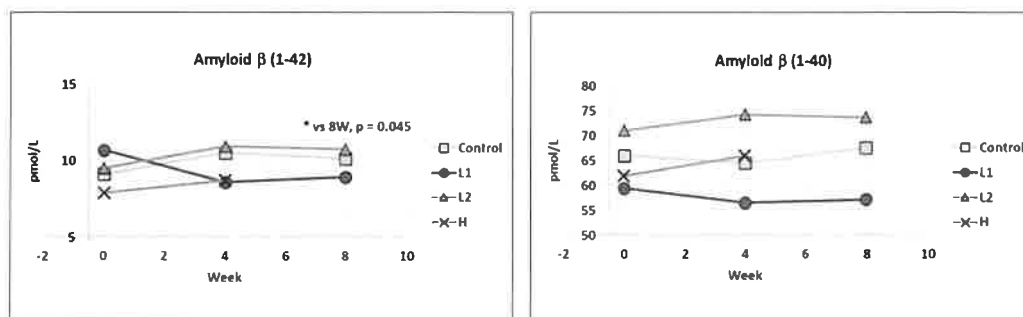
3.3 アミロイドβの血中変化量

$A\beta_{1-42}$ では、低用量摂食のL2は、摂食前と8週後の間で統計学的に有意に増加した ($p=0.045$)。同じく摂食前と4週後の間では統計学的有意差は観察されなかったものの増加傾向であった ($p=0.085$)。一方で、それ以外では何れの用量でも統計学的有意差は観察されなかった。 $A\beta_{1-42}$ において摂食前と4週後の間では統計学的有意差は観察されなかったものの、低用量摂食のL1の被験者では減少傾向であった ($A\beta_{1-42}$: 10.6-->8.6)。

$A\beta_{1-40}$ では、何れの被験者も摂食前と、4週後、或いは8週後の間、および4週後と8週後の間で統計学的な有意差は観察されなかったものの、L1では減少傾向であった ($A\beta_{1-40}$: 59.3-->56.4)。

pmol/L	L1			L2			H			Control		
	0W	4W	8W	0W	4W	8W	0W	4W	8W	0W	4W	8W
Amyloid β (1-42)	10.6	8.6	8.9	9.5	10.9	10.7*	7.9	8.7	-	9.1	10.5	10.1
Amyloid β (1-40)	59.3	56.4	57.1	70.9	74.2	73.6	61.8	65.9	-	66.0	64.4	67.4

*P = 0.0449 (vs 0w)



Amyloid β ペプチド(1-42) : 減少するのが良い

Amyloid β ペプチド(1-41) : 減少するのが良い

3.4 アミロイド β 排出関連蛋白血中濃度の変化量

ApoA1, TTRは4週目ではL1,L2で増加傾向であったが、8週目では減少傾向となった。摂食量が多いと効果が高いという用量依存性は観察されなかった。C3は低用量、高用量摂食者とも4週間後、8週間後共に減少傾向を示していた（図2）。ApoA1、C3及びTTR結果は単回測定の為、統計学的有意差は検証していない。

		L1			L2			H			対照		
		0W	4W	8W	0W	4W	8W	0W	4W	8W	0W	4W	8W
ApoA1	mg/dL	207	230	198	148	156	125	148	134	-	185	187	164
TTR	mg/dL	25.3	28.8	24.7	22.6	23.5	18.6	34.4	33.2	-	31.4	35.4	32.8
C3	unit	1.53	1.24	0.86	1.42	1.13	0.71	1.55	1.35	-	1.42	1.29	1.38

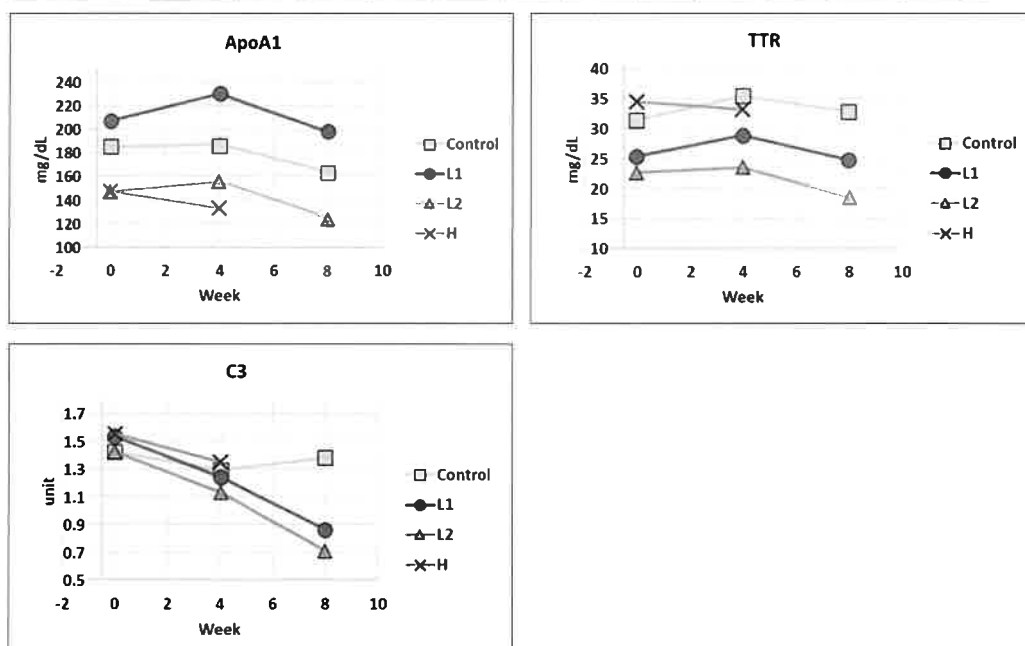


図2. 一日当たり1g, 或いは3g摂食した被験者の4週間後及び、8週間後のApoA1, TTR, 及びC3の変化

ApoA1 : 増加するのが良い

TTR：変化なし或いは増加するのが良い

C3：変化なし或いは増加するのが良い

4 考察

1日当たりBWを3g摂食した被験者において、肝機能の指標であるAST、ALTは、4週後にそれぞれ42から20へ52%、42から26へ43%と大きく減少し、8週後も低値で安定していたことから、本来の肝、腎機能改善、維持を目的とした漢方養生食品の効果が4週間で顕著に表れたことを確認できた。

Aβ₁₋₄₂では、低用量被験者L2が、摂食前と8週後の間で統計学的に有意に増加し、4週後も増加傾向が観察されたことは、L2の被験者が最も高齢であったことの影響が考えられるが、更に検証が必要である。それ以外の用量では何れの用量でも統計学的有意差は観察されなかったことから、最も高齢な被験者以外は被験食の摂食により、少なくとも8週間はアミロイドβの血中濃度を変化させないことがわかった。

また、アミロイドβ排出関連蛋白のApoA1は被験者L1、L2とも4週後には増加しており好ましい結果となったが、8週目にはベースラインとほぼ同じレベルまで下がっていた。これは、ApoA1が生活習慣病の指標の一つであるHDLの構成成分であり、摂食4週後にApoA1が下がるとHDLが減少し、ApoA1が上がるとHDLが増加していた。

TTR濃度も、ApoA1と同様に4週目ではL1、L2で増加傾向であった。認知機能障害やADに伴い血漿中TTR濃度が有意に減少すると報告されているので、アミロイドβ排出関連蛋白の増加は望ましい結果であった。TTRは肝機能の低下に伴い減少するため、被験食の影響による減少であるのか、被験食以外の摂食の影響かの区別が難しいが、肝機能関連酵素ALTとASTの結果には問題が無く、肝機能低下は無いと考えられる。これらのことからアミロイドβ排出関連蛋白のApoA1やTTRをマーカーの目安として使用する場合は、生活習慣病予備群に当たる被験者は除外すべきであると考えられる。また、コントロール群に相当する摂食無しの被験者はアミロイドβペプチド、アミロイドβ排出関連蛋白濃度何れにおいても、摂食群と増減のパターンが違う事があり、解釈が難しくなった。被験者数が極端に少ない場合は比較群の設定は必要ないであろう。

C3は非活性型C3が特異的に検出され、C3定量値の減少は炎症等によるC3活性化による非活性型C3の減少、もしくは非活性型並びに活性型を含む血中C3全量の減少に起因する場合が考えられるが、一般生化学検査では炎症関連項目を測定しておらずC3低下との関連は不明である。また、C3は認知機能障害の早期段階即ちMCIでの減少が特徴的であると報告されているが、今回の結果では、すべての被験者で、4週後、8週後ともに減少していた。しかし今回の定量は単回測定の為、更に検討が必要である。また、今後は、血液検査に加え認知機能の検査が併せて必要であると考えられる。

また、2021年6月にモノクローナル抗体医薬品であるアルツハイマー病治療薬アデュカヌマブが条件付きではあるが米国FDAで承認された¹⁵。引き続き薬効を証明する治験が課せられているが、アルツハイマー病の患者にとっては福音となった。しかしアデュカヌマブは抗体医薬で製造コストが高く、結果的に患者の負担が大きくなる。医療経済の観点からも、身近に摂食でき、長期間の摂食でも安全性に問題の無い漢方養生食品が血中アミロイドβを減少させたことは意義深い。田七の効果

田七人參は、ウコギ科の植物で、中国では古くから寿命が延び、当惑感を鎮める効果があると

して使用されている。また、Huangらは、認知機能障害や神経変性に対する強い治療効果を報告している¹⁶。田七の主な生理活性成分はジンセノサイド類であり、これらの神経保護作用も報告されている¹⁷。更に、ラットの結果ではジンセノサイド蛋白（GP）が、アルツハイマー病の治療として著しい神経保護作用や、記憶容量や認知機能を改善したことも報告されている¹⁸。

杜仲の効果

杜仲茶に含まれる杜仲葉配糖体は、血管内皮由来の血管弛緩因子の活性化を通じ血圧を下げる働きや¹⁹、動物モデルでは認知症予防にも効果があることが報告されている²⁰。

漢方の真髄はこのような田七と杜仲成分の単なる組み合わせではない。配合比や分量に加え、加工順序、加工条件、添加物、或いは分析検査では同定されていない微量成分を以てその対象となる使用目的に対し最善の結果を与えることである。今回の検討に使用した漢方養生食品の養脳力も同様に開発され、日本と中国で特許化された。養脳力は、これまでに報告されている田七と杜仲成分の効果に加え他の条件が漢方思想の下、最適化された養生食品である。

5 制限

第一に、摂食者数が少なく摂食前後の際の解釈に制限を与える。第二に、試験参加者の普通の食事内容を考慮していない。生活習慣病予備軍の試験参加者を含んでいるため被験食の影響を見極めることが難しい。第三に8週間と摂食期間が短く、摂食による効果発現の比較にはさらに長期間での比較が必要である。最後には、機能的効果の確認として認知機能テストなども含め、更に検証が必要である。

6 結論

1日当たりBWを摂食した被験者において、肝機能の指標であるAST、ALTは、4週後に大きく減少し、8週後も低値で安定していたことから、本来の肝、腎機能改善、維持を目的とした漢方養生食品の効果が4週間で顕著に表れたことを確認できた。また、被験食の摂食により、少なくとも8週間はアミロイドβの血中濃度を変化させないことがわかった。アミロイドβ排出関連蛋白のApoA1、TTRは4週目ではL1、L2で増加傾向であり、アミロイドβ排出関連蛋白の増加は望ましい結果であった。

BWの摂食により、認知機能指標であるアミロイドβとアミロイドβ排出関連蛋白の濃度変化を観察し、肝機能の改善、及び認知機能の悪化防止の可能性が示唆された。

7 助成元

なし

8 利益相反

なし

9 参考文献

1 Catanzaro R, Celep G, Illuzzi N, Milazzo M, Rastmanesh R, Yaduvanshi SK, He F, Trushin M, Sapienza C, Srivastava N, Marotta F. Rejuvenation Anti-inflammatory and anti-mutagenic effect of the YHK phytochemical in hepatocytes: in view of an age-management liver-protecting approach. Res. 2014 Apr;17(2) :168-71.

- 2 Chande N, Laidlaw M, Adams P, Marotta P., Yo Jyo Hen Shi Ko (YHK) improves transaminases in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) : a randomized pilot study. *Dig Dis Sci.* 2006 Jul;51(7) :1183-9.
- 3 Marotta F, Harada M, Goh K, Lorenzetti A, Gelosa F, Minelli E. Phytotherapeutic compound YHK exerts an inhibitory effect on early stage of experimentally-induced neoplastic liver lesions. *Ann Hepatol.* 2006 Oct-Dec;5(4) :268-72.
- 4 Marotta F, Harada M, Goh KL, Lorenzetti A, Marandola P, Minelli E. In vitro study on the mechanisms of action of a novel phytotherapeutic compound against human hepatoma cells. *Ann Hepatol.* 2007 Apr-Jun;6(2) :111-6.
- 5 堀口 淳、抑肝散の臨床応用 - 統合失調症、パーソナリティ障害、ジスキネジアなど -、神経雑誌 708-718, 2012.
- 6 第61回日本東洋医学会学術総会、抑肝散の応用、日東医誌KampoMed 62,3,479-508,2011.
- 7 岩崎 克典 他、抑肝散の認知症に対する治療効果の行動薬理学的実証、日薬理誌 140, 66-70,2012.
- 8 2017年代替医療学会、金沢、石川
- 9 2020年代替医療学会、金沢、石川
- 10 武蔵野学院大学大学院研究紀要 第13輯
- 11 武蔵野学院大学大学院研究紀要 第14輯
- 12 Kazuhiko Uchida, Liu Shan, Hideaki Suzuki, Yo Tabuse, Yoshinori Nishimura, Yoshihiro Hirokawa, Katsuyoshi Mizukami, Hiroyasu Akatsu, Kohji Meno, Takashi Asada, Amyloid- β sequester proteins as blood-based biomarkers of cognitive decline., *Alzheimers Dement (Amst)* . 2015 Jun 15;1(2) :270-80.
- 13 Shan Liu, Hideaki Suzuki, Hitomi Ito, Tatsumi Korenaga, Hiroyasu Akatsu, Kohji Meno, Kazuhiko Uchida, Serum levels of proteins involved in amyloid- β clearance are related to cognitive decline and neuroimaging changes in mild cognitive impairment. *Alzheimers Dement (Amst)* . 2019 Jan 12;11:85-97.
- 14 原料、組成、製法と効果を日本、中国での特許受理済み登録作業中。
- 15 <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-grants-accelerated-approval-alzheimers-drug> (2021年9月26日アクセス)
- 16 Huang, X., et al., Neuroprotective Effects of Ginseng Phytochemicals: Recent Perspectives. *Molecules* 24, 2939-2959, 2019.
- 17 Yang, X. L., et al., Ginsenoside Rd attenuates the inflammatory response via modulating p38 and JNK signaling pathways in rats with TNBS-induced relapsing colitis. *Int. Immunopharmacol.* 12, 408-414, 2012.
- 18 Li, H., et al. Neuroprotective effects of ginseng protein on PI3K/Akt signaling pathway in the hippocampus of D-galactose / AlCl₃ inducing rats model of Alzheimer's disease. *J. Ethnopharmacol.* 179, 162-169, 2016.
- 19 Lee GH, et al. *Eucommia ulmoides* leaf (EUL) extract enhances NO production in ox-LDL-treated human endothelial cells. *Biomed Pharmacother.* 2018 Jan;97:1164-1172.
- 20 Li, S., et al. Pinoselin diglucoside attenuates neuroinflammation, apoptosis and oxidative stress in a mice model with Alzheimer's disease. *Neuroreport.* 3;32(3) :259-267. 2021.