

# トウモロコシは アルツハイマー病に効くか？

アセチルコリン・コリンの定量分析

明石工業高等専門学校  
木村 真悠

# 背景

①アルツハイマー病( Alzheimer's disease, AD )を知った

②薬での治療法には副作用がある

③アセチルコリン(Acetylcholine, ACh)の作用系を知った

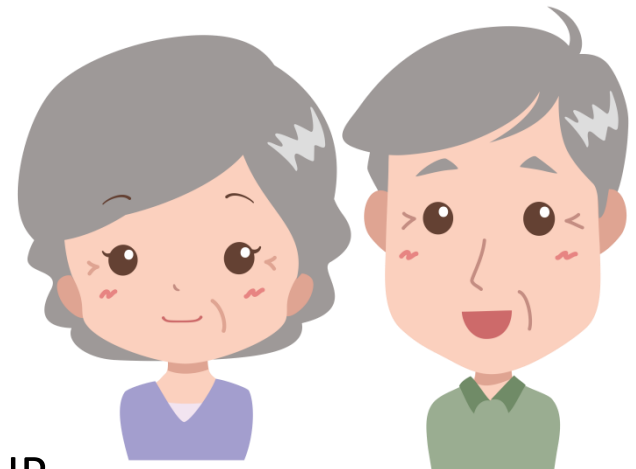
④食べ物を通じて、ADの予防はできないか

⑤トウモロコシに辿り着く

# アルツハイマー病

## 主な症状

- ・迷子になる
- ・質問を繰り返す
- ・家族や友人を認識しにくくなる
- ・コミュニケーション能力の喪失
- ・衝動的行動
- ・体重減少
- ・けいれん発作



# 背景

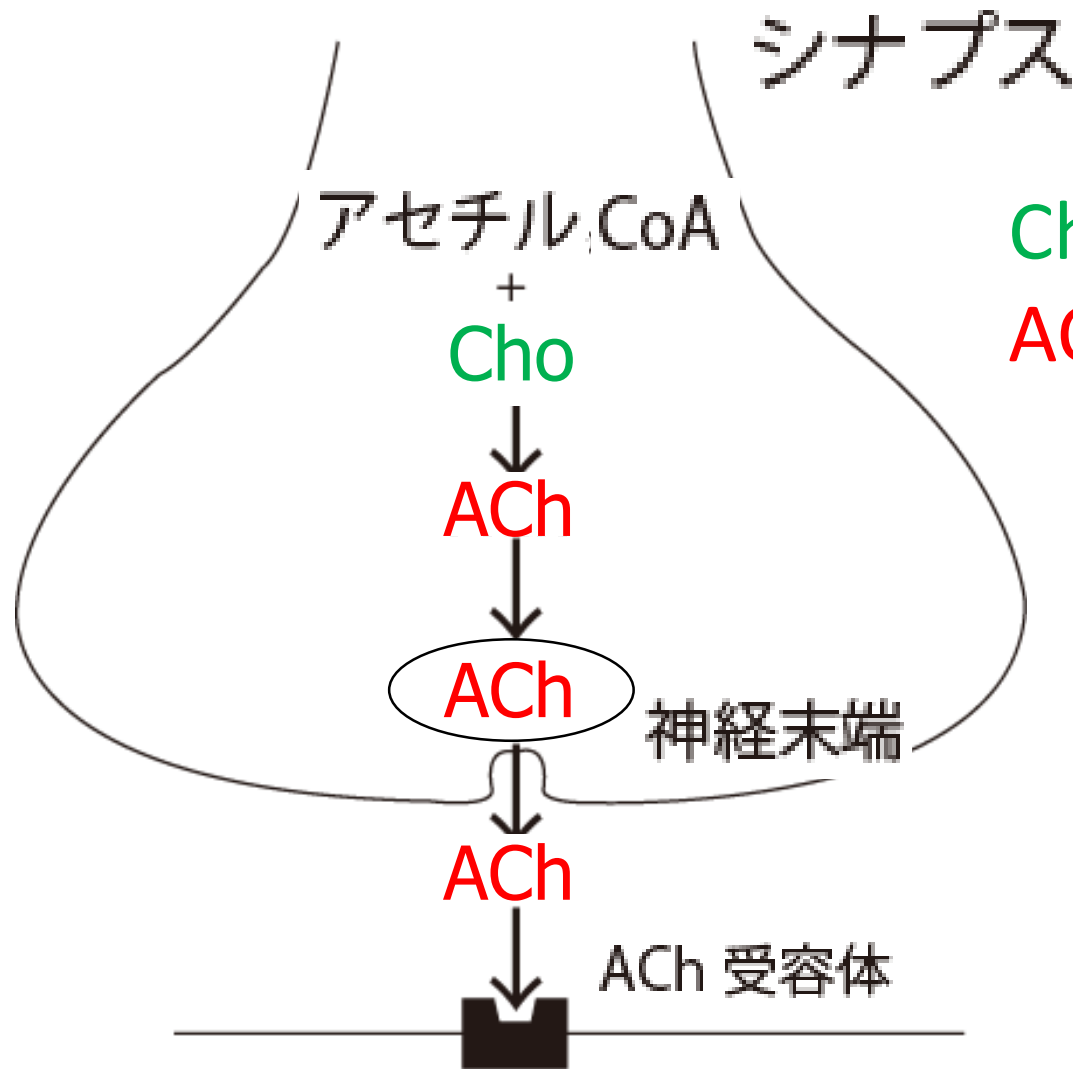
①アルツハイマー病( Alzheimer's disease, AD )を知った

②薬での治療法には副作用がある

③アセチルコリン(Acetylcholine, ACh)の作用系を知った

④食べ物を通じて、ADの予防はできないか

⑤トウモロコシに辿り着く



Cho : コリン  
ACh : アセチルコリン

# 脳内における ACh による神経伝達系

# ACh の発見

1914年

ヘンリー・ハレット・デール ( Henry Hallett Dale )

ACh 発見

1921年

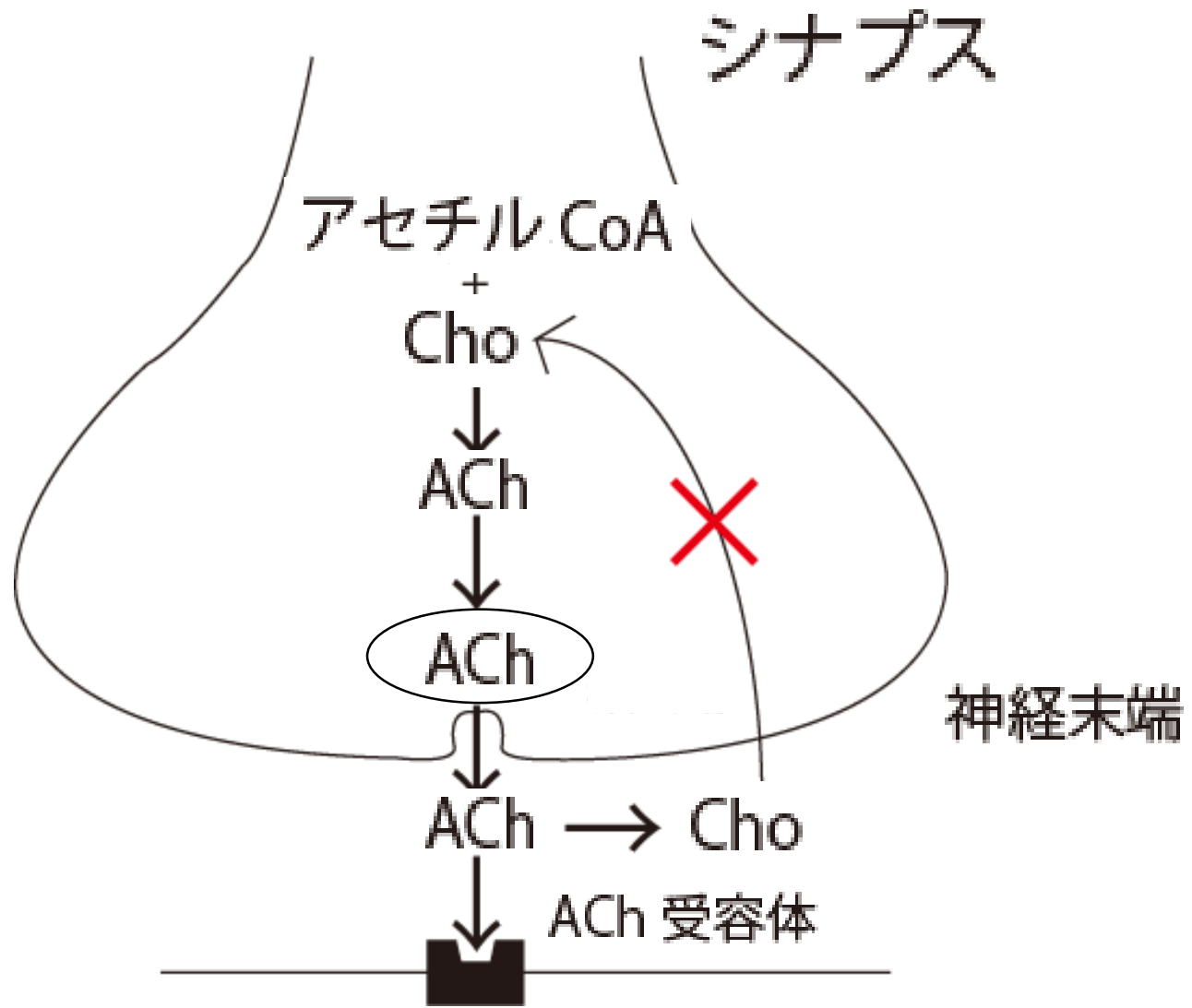
オットー・レーヴィ ( Otto Loewi )

ACh が神経伝達物質であることを証明

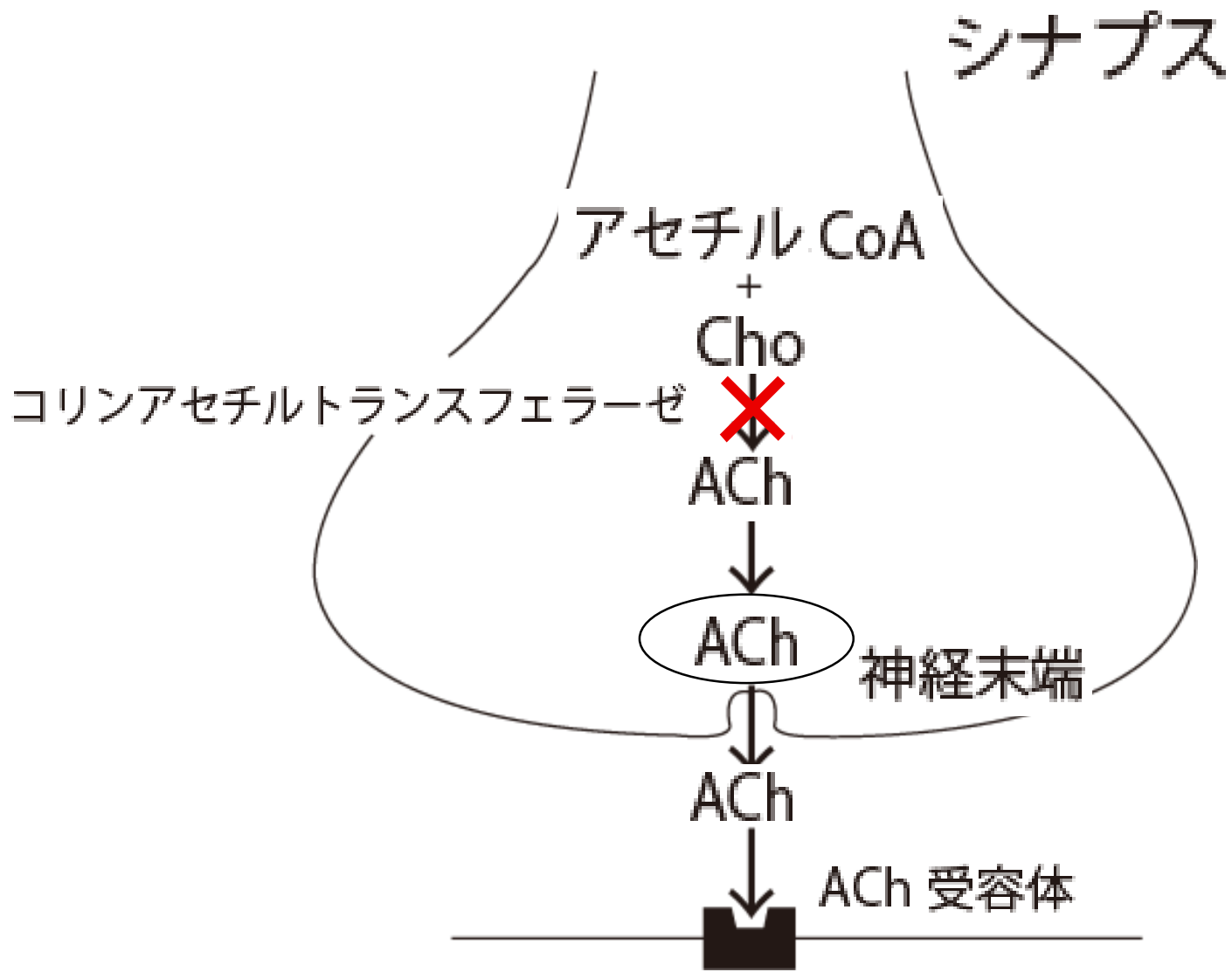
1936年

2人でノーベル生理学・医学賞受賞

50種類ほど知られている神経伝達物質の1つ



## AD の機序 ①



## AD の機序 ②

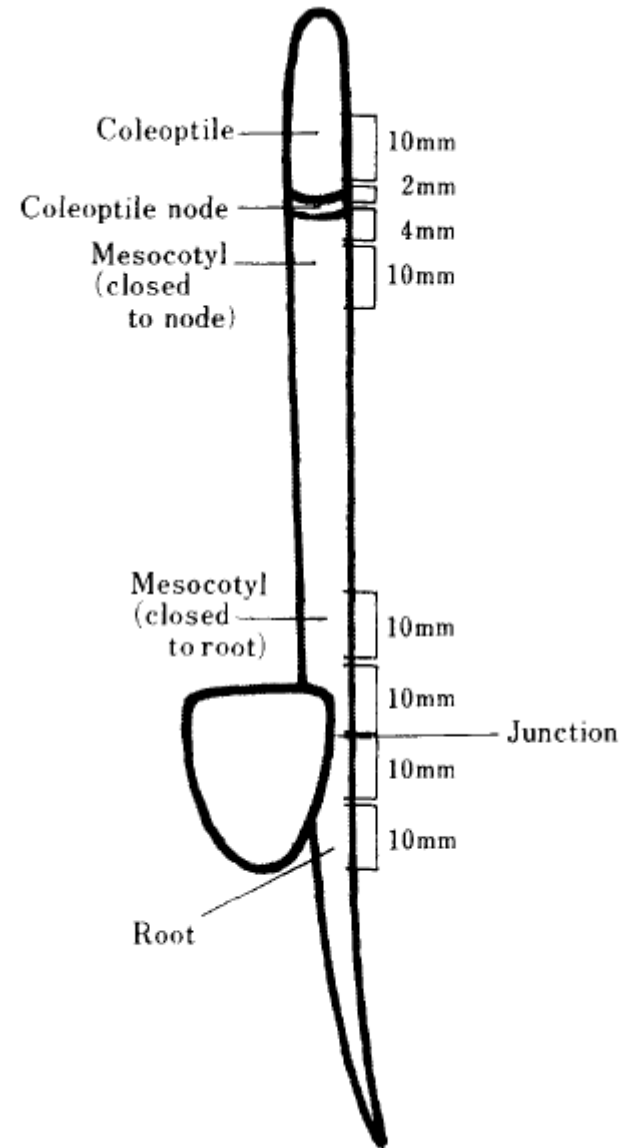


# 背景

- ①アルツハイマー病( Alzheimer's disease, AD )を知った
- ②薬での治療法には副作用がある
- ③アセチルコリン(Acetylcholine, ACh)の作用系を知った
- ④食べ物を通じて、AD の予防はできないか
- ⑤トウモロコシに辿り着く

# 先行研究より

トウモロコシの芽  
および子葉鞘節  
において、AChの  
作用および存在  
が分かっている。

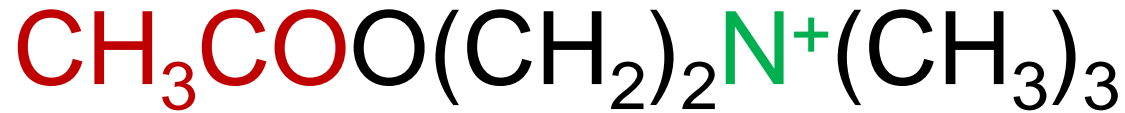


# 研究目的

食物により ACh と Cho を摂取することにより、脳内 ACh 濃度が上昇し、AD の治療や進行抑制が可能になると期待できる。

- トウモロコシに ACh およびその前駆体である Cho が含まれているかどうかを検討すること  
もし、ACh と Cho が含まれていた場合、
- トウモロコシの実から ACh と Cho を効率的に抽出・回収する方法を検討すること
- 抗原抗体反応を応用した ACh および Cho 測定キットによる定量分析をすること

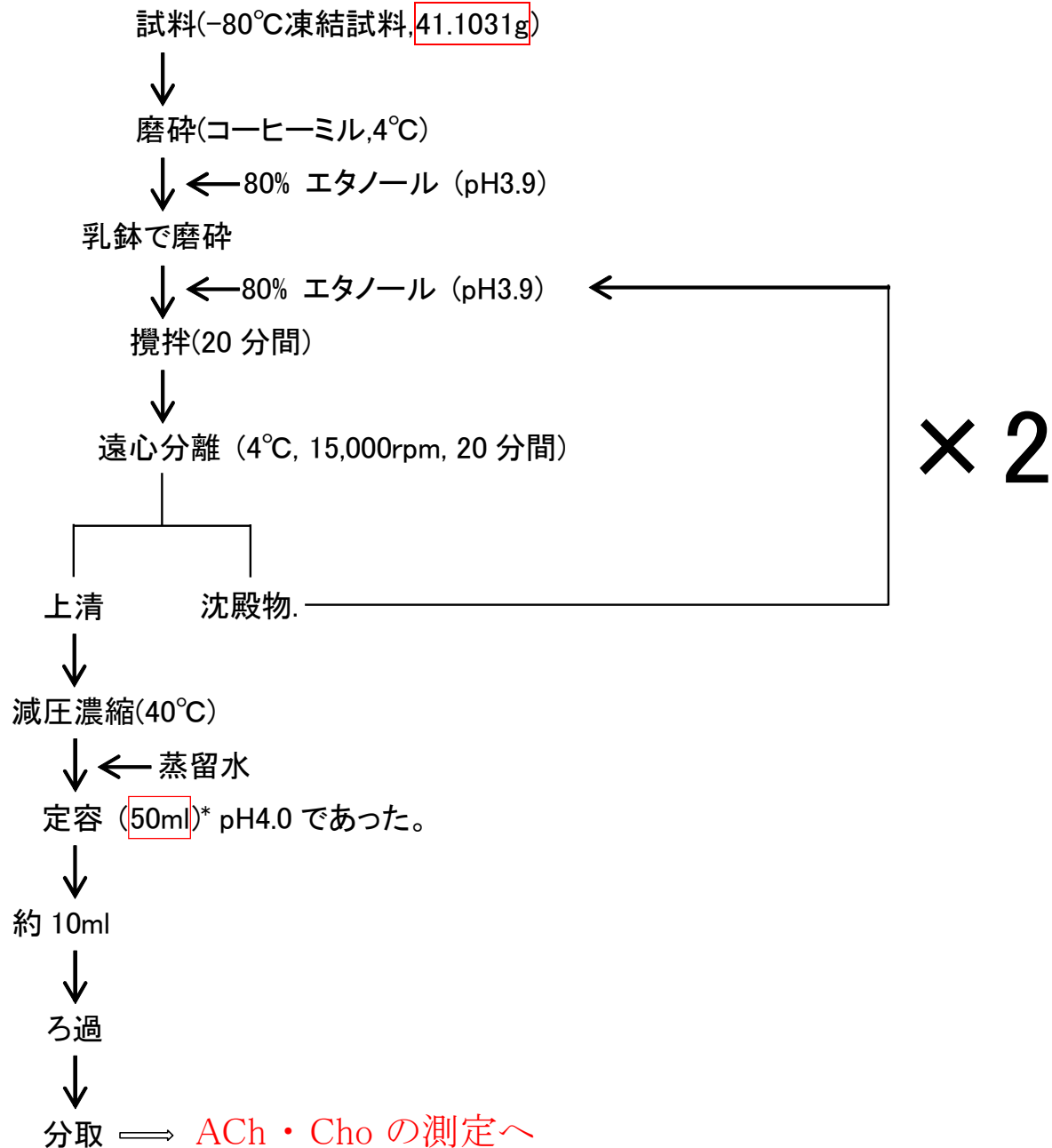
# ACh の化学的性質



- 正に帯電
- 水に溶けやすい
- 低極性の有機溶媒に溶けにくい
- pH4.0 で最も安定

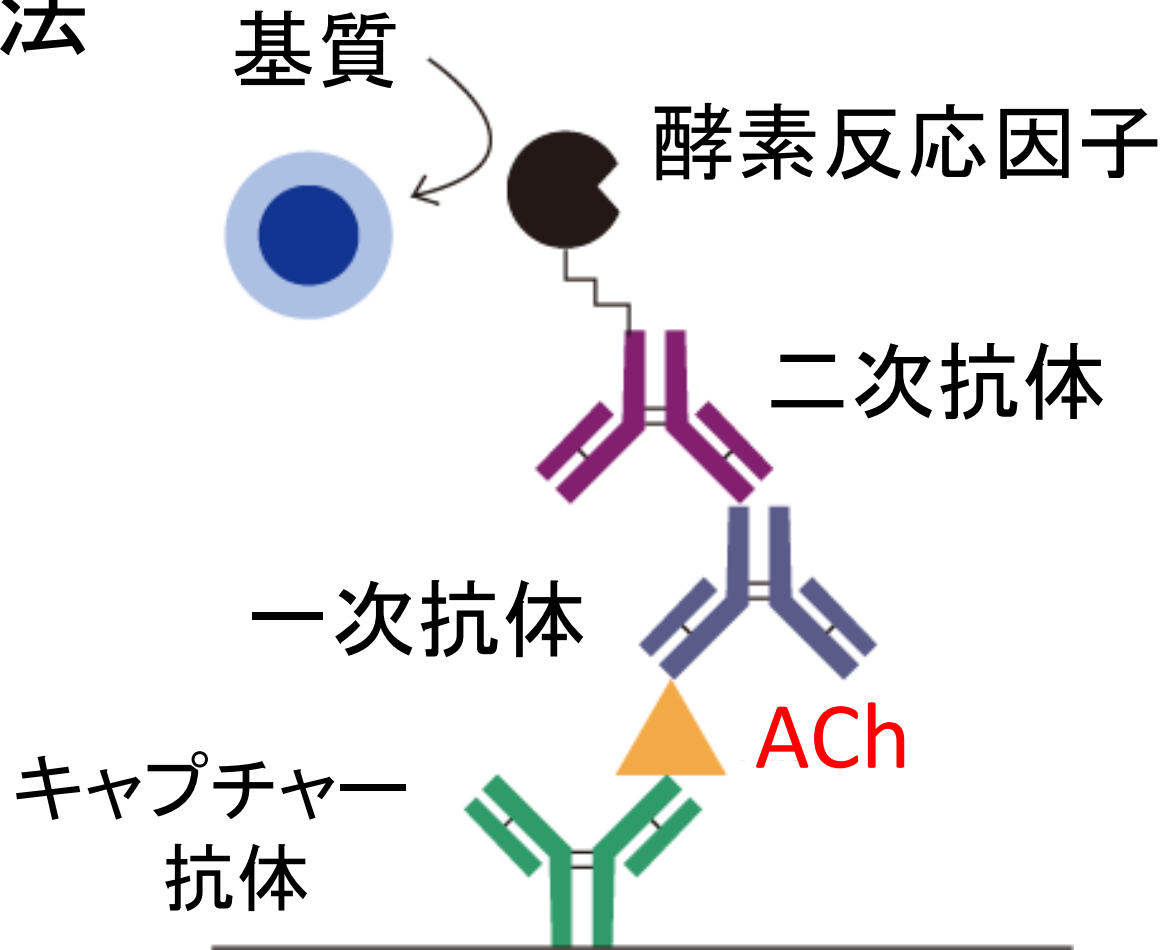
Andrezej Tretyn, Richard E. Kendrick: Acetylcholine in Plants: Presence, Metabolism and Mechanism of Action, THE BOTANICAL REVIEW, 57(1), 33–73 , 1991

# 実験方法



## ACh の測定試料の調製方法

# 実験方法



## 抗原・抗体反応を利用した ACh 測定 の原理 (サンドイッチアッセイ法)

# 結果

1. トウモロコシの実に ACh が含まれることを初めて明らかにした。  
含有量は 43.5 ng/kg 湿重量,  
( $2.98 \times 10^{-10}$  mol/kg 湿重量) であった。
2. Cho 濃度は 306 mg/kg 湿重量,  
( $2.93 \times 10^{-3}$  mol/kg 湿重量) であった。

# 食品中の Cho 含有量-文献値との比較

食品(単位)	遊離コリン(mg)
牛肝臓(100g)	61.0
卵(大玉)	0.2
リンゴ(中1個)	0.4
オレンジ(中1個)	2.9
ブドウ果汁(170g)	9.0
バナナ(中1個)	2.9
ピーナッツ(28.4g)	13.0
ジャガイモ(1個)	6.0
トマト(中1個)	5.5

Cho の摂取目安量  
(米国農務省)

男性 : 550 mg/day

女性 : 420 mg/day

S.H.Zeisel , D Char, NF Sheard , J. Nutr., 116 (1) , 50-58 ,1986

Jean A. Pennington , Judith S. Spunguen , Bowes & Church' s Food values of portions commonly used, 16<sup>th</sup> ed., J.B. Lippincott Williams & Wilkins , 19 Cdr edition , JB Lippincott , 1994

Institute of Medicine and National Academy of Sciences USA. In Dietary Reference Intakes for Folate, Thiamin,Riboflavin, Niacin, Vitamin B<sub>12</sub>, Panthothenic acid, Biotin, and Choline , National Academy Press , Washington DC , 1998



# 食品中の Cho 含有量-文献値との比較

食品(単位)	遊離コリン(mg)
牛肝臓(100g)	61.0
卵(大玉)	0.2
リンゴ(中1個)	0.4
オレンジ(中1個)	2.9
ブドウ果汁(170g)	9.0
バナナ(中1個)	2.9
ピーナッツ(28.4g)	13.0
ジャガイモ(1個)	6.0
トマト(中1個)	5.5
<b>トウモロコシ(1本)</b>	<b>48.0</b>

Cho の摂取目安量  
(米国農務省)

男性 : 550 mg/day

女性 : 420 mg/day

S.H.Zeisel , D Char, NF Sheard , J. Nutr., 116 (1) , 50-58 ,1986

Jean A. Pennington , Judith S. Spunguen , Bowes & Church' s Food values of portions commonly used, 16<sup>th</sup> ed., J.B. Lippincott Williams & Wilkins , 19 Cdr edition , JB Lippincott , 1994

Institute of Medicine and National Academy of Sciences USA. In Dietary Reference Intakes for Folate, Thiamin,Riboflavin, Niacin, Vitamin B<sub>12</sub>, Panthothenic acid, Biotin, and Choline , National Academy Press , Washington DC , 1998

# Cho 前駆体の経口投与について

佐藤幸治先生の研究グループの成果より

Cho の前駆体であるグリセロホスホコリン ( $\alpha$ -GPC) を健康な高齢女性に経口投与し、中程度の有酸素運動を行った際に認知機能の向上が見られた。

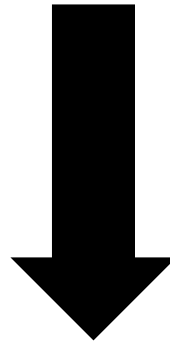
Atsushi Yuhaku , Koji Sato , Satoshi Fujita , Takeshi Okubo , Takafumi Hamaoka , Motoyuki Iemitsu : Combination of  $\alpha$ -Glycerophosphocholine ( $\alpha$ -GPC) intake and aerobic exercise improves cognitive functions in healthy older women , ECSS 2013 abstract , 2013

# 考察と今後の展開

本研究により、トウモロコシの実に ACh およびその前駆体である Cho が含まれていることが分かった。

# 考察と今後の展開

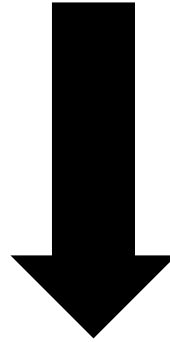
本研究により、トウモロコシの実に ACh およびその前駆体である Cho が含まれていることが分かった。



トウモロコシを摂取することで、体内および脳内で Cho が増加する可能性があり、ACh の濃度の低下を補えるかもしれない。

# 考察と今後の展開

本研究により、トウモロコシの実に ACh およびその前駆体である Cho が含まれていることが分かった。



トウモロコシを摂取することで、体内および脳内で Cho が増加する可能性があり、ACh の濃度の低下を補えるかもしれない。

脳内の ACh 作用系の働きが向上する可能性がある

## 最近の新聞記事から

### 『ナス、神経伝達物質多く

信州大発見 ピーマンの1000倍』

ナスに神経伝達物質の ACh が大量に含まれていることを発見した。ピーマン、ニンジンなどの農産物に比べて1000倍以上含まれているという。今後、機能性表示食品として登録を目指す(中村浩蔵准教授)。

日本経済新聞, 2016年12月30日付朝刊より

# 謝辞

神戸大学(メンター) 白杉 直子先生  
同大学 蘆田 弘樹先生  
同大学 佐藤 幸治先生

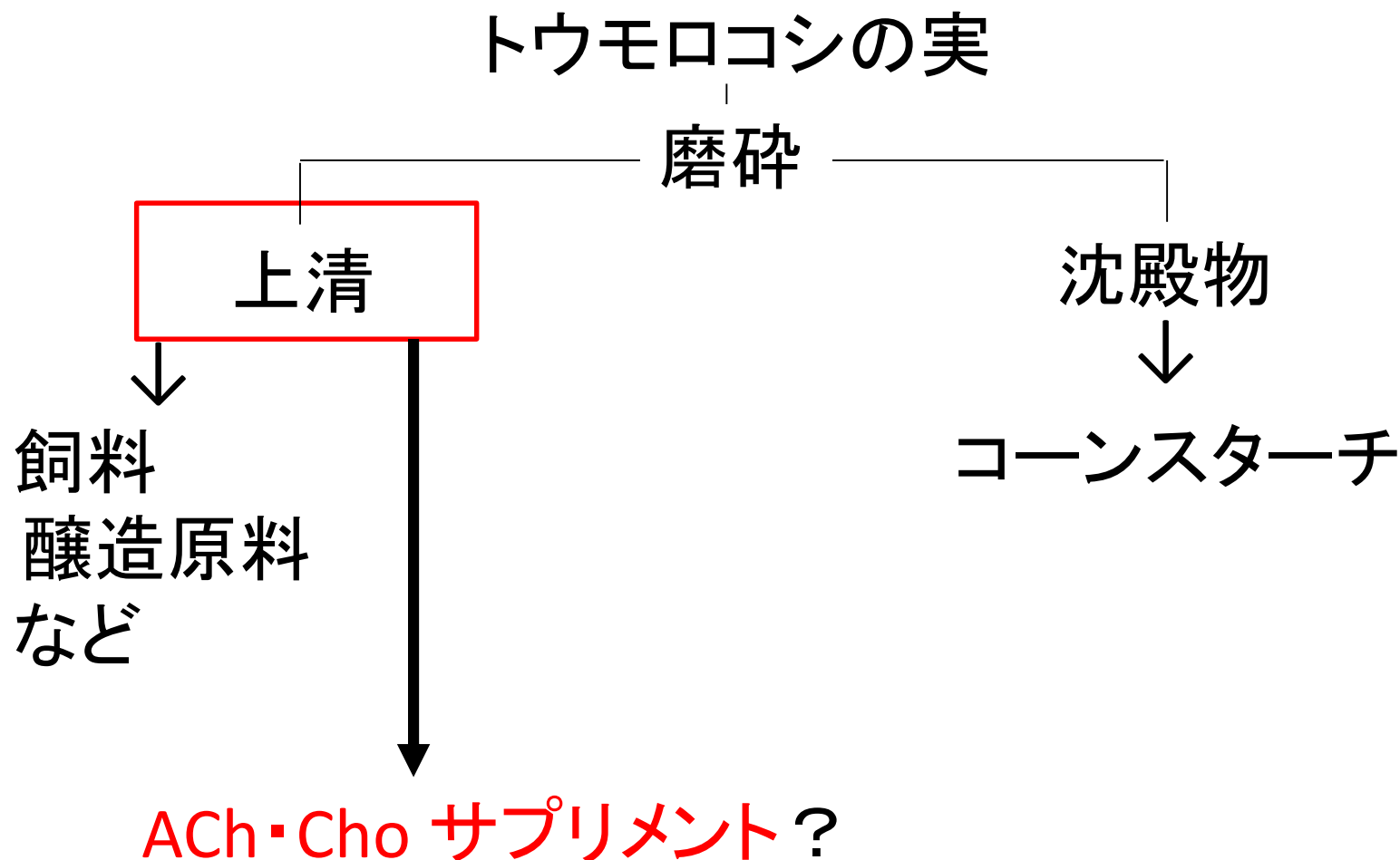
日本科学協会の皆様

明石工業高等専門学校(担当教諭) 石田 祐先生

神戸大学 3年生 鷺塚晋さん



# ACh・Cho 供給源としてのトウモロコシ利用法





# 認知症の定義 (世界保健機構)

脳疾患によって起こる認知機能障害であり、意識清明な状態で記憶障害を中核とするさまざまな認知機能障害が出現し、その程度は日常生活を損なうような程度に重度で、一過性のものではなく長期にわたり持続しているもの

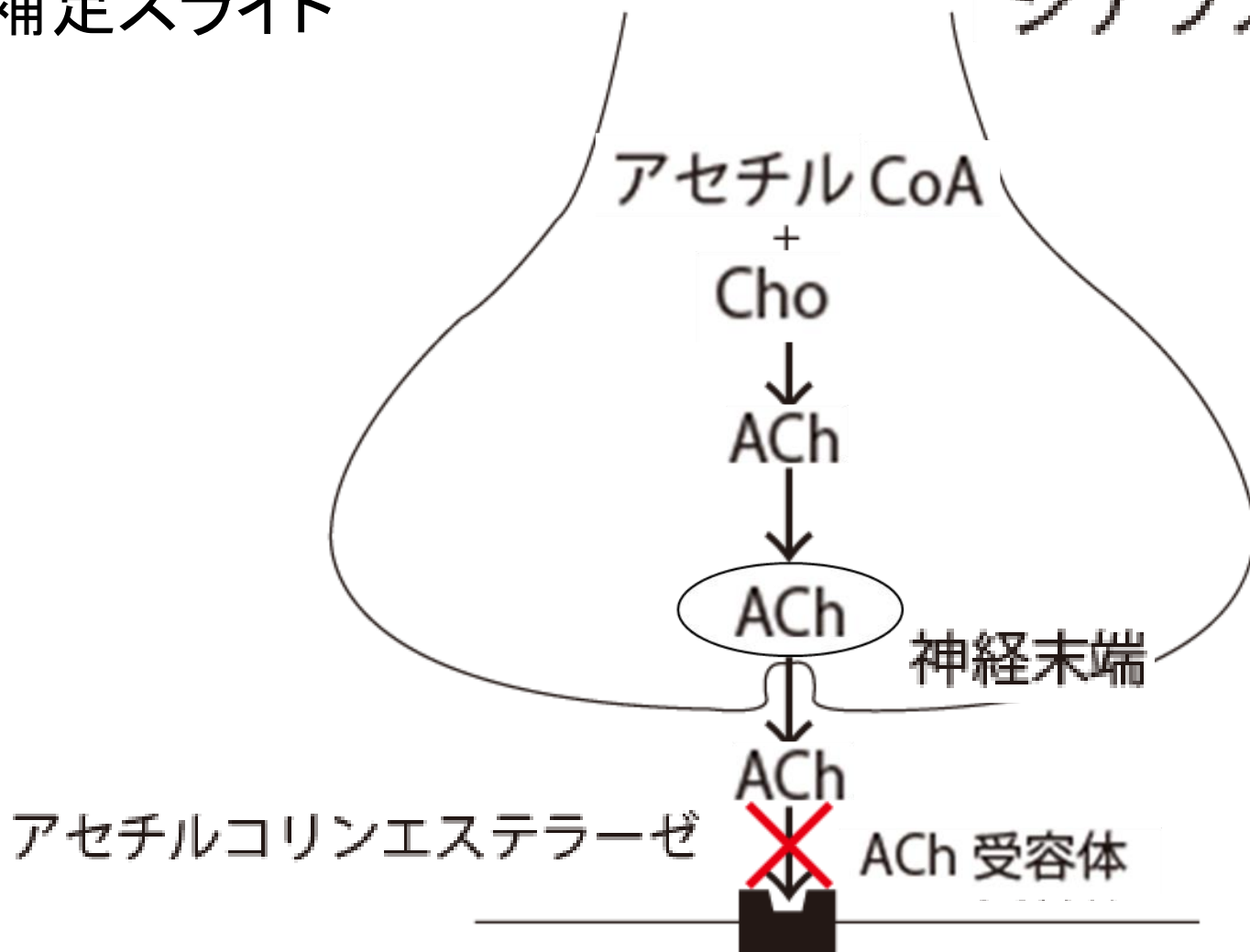
# アルツハイマーの原因（仮説）

## ・Cho仮説

脳内の神経伝達物質の一種である ACh が減少するために認知機能が低下すると考えられている。治療法としては、脳内の ACh を増加させればよいとされている。

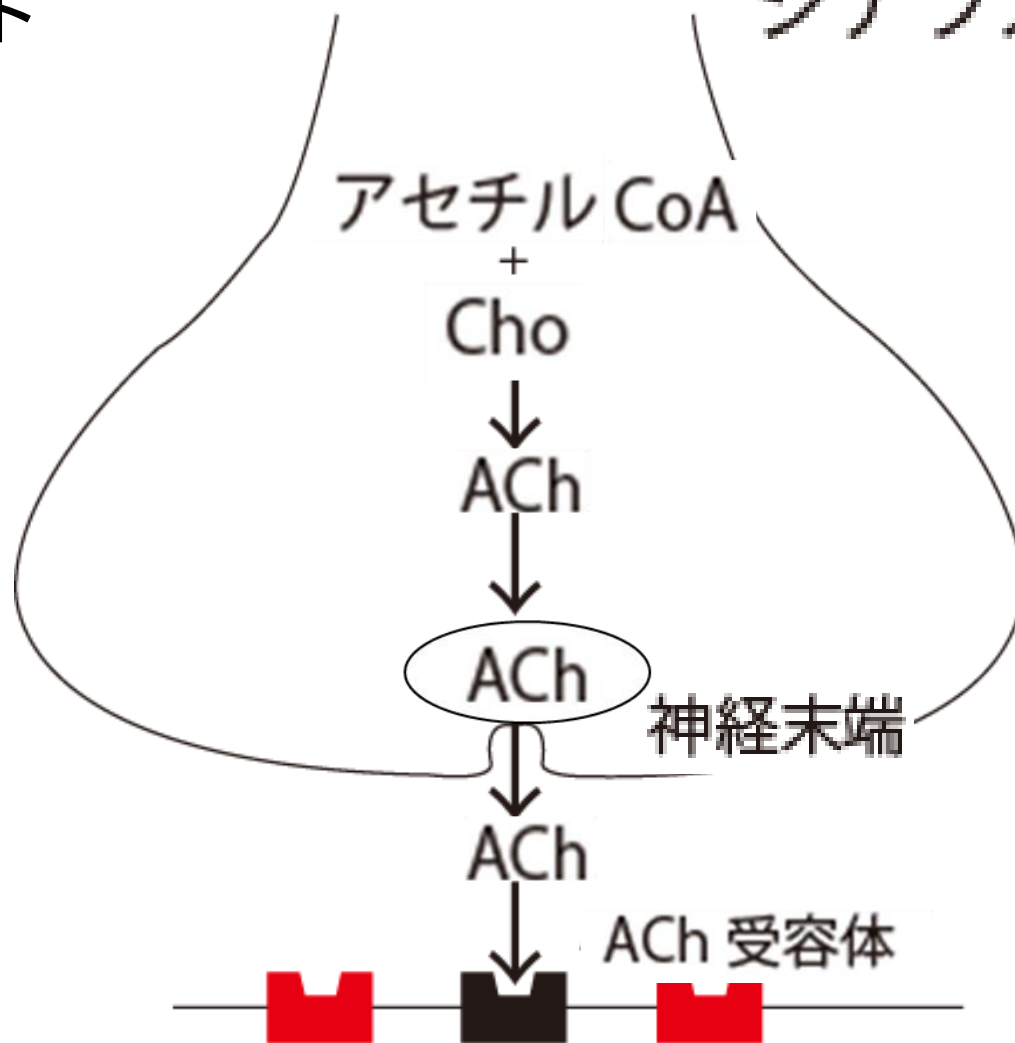
## ・アミロイド仮説

AD 患者の脳内には  $A\beta$  というペプチドが凝集・繊維化した老人斑が多くできる。 $A\beta$  が神経毒性を示すため、神経細胞が死に、認知機能が落ちると考えられている。治療法としては、老人斑を分解すれば良いとされている。



# AD の機序 ③

山西 嘉晴，上野 正孝，小倉 博雄:アルツハイマー病治療薬の基礎,日本薬理学雑誌, 130 (6), 489-491, 2007  
青葉 安里:アルツハイマー型痴呆治療薬開発の現状と臨床試験のあり方,臨床薬理, 29 (5), 774, 1998



## AD の機序 ④

# ACh の定量分析方法

## ガスクロマトグラフィー分析

・固定相と移動相より成る平衡の場において、試料の各成分の両相への相互作用の大きさに差があることを利用して、それぞれの成分を分離する方法

## バイオアッセイ

- ・ ACh に対する、単離した動物の臓器、組織または全体の抗原・抗体反応を利用する。
- ・ ACh に加えて、ヒスタミンの様に、植物内で発生し、バイオアッセイの感度に影響を与える、薬理学的に活性のある物質は他にも存在するため、ACh だけで活性が認められることを確認する必要がある。

## ・ACh の定量方法 ACH ELISA KIT E-EL-0081 (Elabscience) 使用

- ①プレートの固体相の一次抗体をビオチン標識抗体とし、ACh と競合させた。
- ②過剰に結合した ACh のサンプルや結合していないサンプルを洗浄した。
- ③西洋ワサビペルオキシダーゼ (horseradish peroxidase: HRP) 酵素に結合したアビジンを各マイクロプレートに加えた。ビオチン標識した二次抗体と HRP で標識したアビジンを用いて反応を行った。ビオチンとアビジンが強く結合することを利用している。
- ④培養するために乾燥機に入れ温めた。この際、乾燥しないようにアルミホイルを巻いた。
- ⑤続いて TMB 基質溶液を各マイクロプレートに加え、発色させた。酵素-基質反応を硫酸溶液の添加により停止させ、色の変化を  $450 \text{ nm} \pm 2 \text{ nm}$  の波長で分光光度的に測定した。
- ⑥分光光度計を用いて ACh の含有量を調べた。

なお、Cho の定量には、Choline Assay (Cho) (ScienCell) 補足スライドを使用した。