

識別番号 P 3

研究課題 イチョウ葉有効成分は脳内海馬を活性化するか？

研究代表者 岡田 隆 (総合人間科学部 心理学科)

共同研究者 臼杵 豊展 (理工学部 物質生命理工学科)

Summary While *Ginkgo biloba* extracts reportedly show beneficial effects to patients with Alzheimer's disease, the mechanism in molecular levels still remains unclear. We have begun to perform experiments to examine hippocampal synaptic activity and animal's performance on learning tasks regarding with bilobalide, which is one of unique components of *G. biloba*. Here we report our findings about the effective way to extract the active component from *G. biloba*, and the excitatory effects of bilobalide on the rat hippocampal CA1 synaptic transmission.

1. 本研究の目的および背景

アルツハイマー型認知症は、記憶障害と何らかの認知障害を併せ持つ認知症であり、神経細胞の脱落による顕著な脳萎縮、アミロイドβペプチドの沈着による脳の老人斑、それがもともと生じる神経原繊維変化などが観察される。日本ではコリンエステラーゼ阻害剤の一種が抗認知症薬として使用されているが、さらに有効な創薬が望まれる。

イチョウの抽出物は、古くから漢方薬として用いられており、これまでにイチョウ葉抽出物(EGb761)が人間のアルツハイマー型認知症の進行を遅延させるという報告や、動物の学習課題成績を上昇させるという研究があることから、イチョウ葉抽出物は神経細胞死の防止を含んだ認知症治療に役立つ可能性が考えられる。イチョウ特有の成分としてギンコライドとピロバライドが同定されている。より有効な創薬のためには、成分ごとの作用を評価し、その作用機序を明らかにする必要がある。

抗認知症薬としてのイチョウ葉抽出物の有効性・改良可能性・機序を探ることを目的とし、本年度より、岡田(生理心理学)・臼杵(天然物化学)による学内共同研究を開始した。現在までの進捗状況を報告する。

2. 研究の方法・内容と共同研究員の役割分担

A. ギンコライド・ピロバライドの単離・精製 (臼杵)

これまで報告されているギンコライド・ピロバライドの単離・精製法の改良を行った。まず、収集したイチョウ葉を酢酸エチル中で1時間還流して得られた溶液をろ過した。この有機相に活性炭を加え1時間攪拌後、ろ過し有機溶媒を除去した。このようにして得られた粗精製物を、順層のフラッシュカラムクロマトグラフィーに供し、精製を行った。そこで分離しきれなかったギンコライドの混合物は、示差屈折計を備えた高速液体クロマトグラフ(HPLC)を用いて、分離・精製を試みた。

B. シナプス伝達への影響 (岡田)

海馬の下位領域(CA1領域・CA3領域・歯状回)間で機能差がみられることが筆者らのこれまでの行動実験・電気生理学的実験から明らかになっているので、ピロバライドがシナプス伝達に及ぼす影響について、この3領域すべてについて検討した。3週齢 Wistar ラット

(雄) 脳から 400 μm 厚のスライス標本を作製し、各入力線維にテスト刺激を与えた際のシナプス応答を細胞外記録した。シナプス入力 (presynaptic volley) とシナプス応答 (field EPSP) との関数関係をビロバライドの存在下・非存在下で海馬下位領域ごとに比較した。

3. 結果

イチヨウ葉を煮沸する際、これまでは 5% 過酸化水素水で行っていたが、酢酸エチルに切り替えたところ、得られる収量が増大した。また、活性炭で洗浄することで、不純物のギンコール酸を飛躍的に除去できた。フラッシュカラムクロマトグラフィーで、ビロバライドの単離・精製に成功した。その際、ギンコライドは混合物として得られたが、示差屈折計を備えた高速液体クロマトグラフ (HPLC) により、それらの分離・精製に目処がついた。

ビロバライド (50 μM) が海馬シナプスにおけるベースライン応答に及ぼす影響については、下位領域のうち海馬 CA1 シナプスにおいて、入力-出力関係がビロバライドによって促進的に影響を受けた (ビロバライド存在下において活動電位あたりのシナプス後電位の大きさが増加した)。一方、CA3 シナプスおよび歯状回シナプスにおいては、ベースラインの入力-出力関係に影響を及ぼさなかった。

4. 今後の予定

A. 構造活性相関のための有機合成による構造改変 (臼杵)

ギンコライド・ビロバライドの精製法をさらに改善すると共に、それらの構造改変に着手する。ギンコライド・ビロバライドは、ユニークかつ複雑な構造をしており、その一部分を変更しただけで機能にかなりの変化が生じることが予想される。最先端の有機合成化学を駆使し、それら誘導体の網羅的合成を行い、非天然化合物の調製による構造活性相関研究を目指すことで、より強く脳機能へ影響を及ぼす構造を決める。

B. シナプス可塑性および学習成績に及ぼす影響を調べる実験 (岡田)

ベースライン応答への影響の有無が下位領域ごとに明らかになったので、次の段階として、記憶の生物学的基礎の候補とされる海馬シナプス応答の長期増強に対する影響を電気生理学的に検討する。また、アミロイド β ペプチド投与によって長期増強・学習成績を低下させた標本・動物における、これら抽出物 (および誘導体) の促進的影響の有無および機序について調べる予定である。

5. 本共同研究の意義

本共同研究は 2009~2011 年度の 3 年間で予定している。異分野を融合した本研究を遂行することで、記憶の生物学的基礎の一つとされる海馬シナプス可塑性に対し影響を及ぼすイチヨウ葉成分が明らかになれば、従来の視点とは異なったアルツハイマー型認知症治療の創薬に貢献しうる。また、その作用機序を明らかにすることにより、記憶の機序を調べる基礎研究においてイチヨウ葉成分を有力な研究ツールとして新たに用いることが強く期待できる。

6. 謝辞

本研究は、上智大学研究機構学内共同研究 (2009 年度) としての助成を受けた。また本研究の実施にあたり、鈴木江津子氏 (心理学科)、武澤遼太氏 (理工学研究科)、佐藤麻希子氏 (化学科) の多大なる協力を得た。深謝します。