

原著

アンジオテンシン変換酵素に焦点を当てた認知症患者への 食事内容に関する基礎研究

内山道子¹⁾ 板垣史郎²⁾ 金澤佐知子²⁾ 細井一広²⁾
照井一史²⁾ 下山律子²⁾ 早狩 誠^{2,3)}

抄録 近年、高血圧治療標的アンジオテンシン変換酵素(ACE)は脳 AT4 受容体を介して記憶保持に関与していること、ならびに向精神病薬誘発性誤嚥性肺炎に関与している神経ペプチド、サブスタンス P (SP) の分解に関与している可能性が報告された。本研究では、栄養・機能成分の摂取経路である食事が認知症患者のQOL向上に寄与する可能性を有すること、カボチャが ACE 阻害成分を豊富に含有することの2点を踏まえ、カボチャの記憶保持増強効果ならびに SP 分解抑制効果について基礎的検討を行った。カボチャ40%を含む飼料を投与したラットでは、記憶保持亢進効果ならびに脳 AT4 受容体拮抗物質 LVV-H7 発現増加が確認された。一方、ラット血漿中 SP 濃度はカボチャ摂取により増加せず、またラット血漿中において SP は ACE 阻害剤カプトプリルの共存下でも分解を受けたことから、ラット血漿による SP の分解には ACE 以外の血漿中酵素が主たる寄与をしている可能性が示唆された。

弘前医学 64 : 41—49, 2013

キーワード : アンジオテンシン変換酵素 ; 認知症 ; カボチャ ; サブスタンス P ; 食事。

ORIGINAL ARTICLE

STUDY ON DIETARY SUPPORT FOR PATIENTS WITH DEMENTIA FOCUSED ON ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME

Michiko Uchiyama¹⁾, Shirou Itagaki²⁾, Sachiko Kanazawa²⁾, Kazuhiro Hosoi²⁾,
Kazufumi Terui²⁾, Ritsuko Shimoyama²⁾ and Makoto Hayakari^{2,3)}

Abstract Recently, it has been reported that brain penetrating angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors such as captopril can reduce the incidence of Alzheimer's disease in elderly hypertensive patients. Pneumonia is the reported cause of death in a high proportion of Alzheimer's disease patients. It has been reported that aspiration pneumonia in ambulatory Alzheimer's disease patients is significantly and independently associated with intake of neuroleptics. Substance P (SP) is associated with swallowing function and elevating serum SP in patients contributes to decrease the risk of aspiration pneumonia. Substance P is a neuropeptide and is a substrate of ACE. We have found that pumpkin, one of the major local products of Aomori prefecture, contains an ACE inhibitor (nicotianamine). The aim of this study was to elucidate whether pumpkin supplementation in the diet improves memory function and serum SP concentration. We found that pumpkin improved memory function of rat. On the other hand, serum SP concentration was not increased by pumpkin supplementation in the diet.

Hirosaki Med. J. 64 : 41—49, 2013

Key words: Angiotensin-converting enzyme; dementia; pumpkin; substance P; diet.

¹⁾ 一般財団法人愛成会弘前愛成会病院薬剤部

²⁾ 弘前大学医学部附属病院薬剤部

³⁾ 弘前大学大学院医学研究科薬理学講座

別刷請求先 : 早狩 誠

平成24年12月5日受付

平成24年12月20日受理

¹⁾ Department of Pharmacy, Hirosaki Aiseikai Hospital

²⁾ Department of Pharmacy, Hirosaki University School of Medicine & Hospital

³⁾ Department of Pharmaceutical Sciences, Hirosaki University Graduate School of Medicine

Correspondence: M. Hayakari

Received for publication, December 5, 2012

Accepted for publication, December 20, 2012

緒 言

我が国は世界に例のない超高齢化社会の最中にあり、2015年には65歳以上の高齢者が全人口の25%を占めると予想されている。このように急速な高齢化の進む我が国では、高血圧症、認知症、糖尿病などの生活習慣病の克服が大きな課題となってきた。

アンジオテンシン変換酵素(ACE)は、アンジオテンシンI(Ang I)から強力な血圧上昇作用を有するアンジオテンシンII(Ang II)への変換を司る酵素であり、生体の血圧調節において極めて重要な役割を担っている。ACEを標的とするACE阻害剤は、高血圧治療薬として広く臨床応用されている薬剤であり、レニン-アンジオテンシン系(RAS)において、Ang IIの産生を抑制することにより降圧作用を示す。ACE阻害剤は、心不全^{1,2)}、糖尿病性腎症^{3,4)}の改善作用をはじめとする臓器保護作用を有する。

また、アルツハイマー型認知症とACEの関連性についても、中枢移行性ACE阻害薬の投与がラットにおいて記憶保持亢進効果をもたらすとの報告^{5,6)}、中枢移行性ACE阻害薬がアルツハイマー型認知症の発症を有意に低下させるとの報告⁷⁾がなされている。近年では、中枢移行性ACE阻害薬を投与された高血圧患者では認知能の低下が生じにくい、という大規模臨床試験の結果も報告された⁸⁾。これらの報告は、アルツハイマー型認知症患者の症状進展抑制を図る上で、中枢に存在するACEが有用な標的となる可能性を示唆している。大脳皮質や海馬などに多く存在するAng IIの3-8フラグメントであるアンジオテンシンIV(Ang IV)受容体(AT4受容体)は記憶に関わることも知られている⁹⁻¹¹⁾。Ang IVと記憶保持の関連性については、Ang IVあるいはAng IVアナログの投与による記憶保持亢進が動物実験レベルで確認されており^{12,13)}、AT4受容体が記憶保持に深く関わることを示唆している。また、AT4受容体はインスリン応答性ペプチダーゼ(insulin-regulated aminopeptidase, IRAP)としての性質をも有する¹⁴⁾。骨格筋・脂肪組織に存在するIRAPは、インスリン刺激に反応して骨格筋・脂肪細胞へのグルコース取り込みを調節する^{15,16)}。

しかしながら、脳ではインスリン刺激によるグルコース取り込みは生じず¹⁷⁾、脳におけるIRAPの生理的意義は長らく不明な状態であった。しかしながら、近年、AT4受容体/IRAPのリガンドであるヘモグロビンのβ鎖由来物質LVV-ヘモルフィン7(Leu-Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr-Gln-Arg-Phe,LVV-H7)¹⁸⁾に焦点を当てた検討により、ラット脳室内へのLVV-H7ならびにAng IVの投与が記憶保持改善効果をもたらすことが報告され¹⁹⁾、AT4受容体/IRAPが記憶保持において重要な役割を担っている事が示唆された。

アルツハイマー型認知症の周辺症状に対しては向精神病薬がしばしば用いられる。しかしながら、向精神病薬には重篤な副作用として誤嚥性肺炎があり、アルツハイマー病患者に対する向精神病薬の使用は誤嚥性肺炎のリスクを3倍にも高めるとの報告²⁰⁾や、アルツハイマー病患者における向精神病薬の有効性は有害作用によって相殺されているとの報告がある²¹⁾。向精神病薬により誘発される誤嚥性肺炎の発症には、嚥下反射・咳反射を制御している神経ペプチド、サブスタンスP(SP)の関与が示唆されており^{22,23)}、その発症機序はドーパミン受容体の遮断によるSPの放出低下である。ACEは生体におけるSPの分解に関わる酵素の一つであり²⁴⁾、ACEと肺炎の関連性については、ACE阻害薬イミダプリルを服用している高血圧患者では肺炎の発症率が低いとの報告がある²⁵⁾。これらの報告は、アルツハイマー型認知症患者の治療をより安全かつ効果的に行う上で、ACE阻害剤が極めて有用な切り口となる可能性を示唆している。

認知症患者の治療においては、日常の食事も重要な意味を持つ。認知症の要介護度の悪化予防という点について、食事支援が認知症症状を緩和することが報告されている²⁶⁻²⁸⁾。さらに、医療現場において、食事は栄養・機能成分の摂取経路としての役割をも有する。

以上の背景から、認知症患者のQOL向上を目指す上で、食事を介した食品由来ACE阻害成分の摂取は大きな意味を有する可能性がある。筆者らはカボチャにACE阻害成分が豊富に含有されることを見出しており²⁹⁾、カボチャを認知症患者への食事支援に活用することを目標に、カボチャ

の記憶保持増強効果ならびに SP 分解抑制効果について検討を行った。

方 法

1. 実験材料

カボチャは市販品のメキシコ産を用いた。SP は株式会社ペプチド研究所(大阪)より、カプトプリルは SIGMA-Aldrich 社(St. Louis, MO)より購入した。Fmoc アミノ酸はアプライドバイオシステム社(Carlsbad, CA)より購入した。HPLC 用試薬およびその他の試薬は全て特級を用いた。

2. 実験動物

Sprague - Dawley (SD)ラット(雄, 体重250 g) は日本クレア株式会社より購入した。固形および粉の飼料はオリエンタル酵母株式会社 Certified Diet MF を用いた。飼料は自由摂食させた。

3. カボチャ含有飼料の調製

ラット投与飼料の調製は以下のように行った。まずカボチャ碎片を蒸留水と共にミキサーにて粉碎し、ラット用粉餌(Certified Diet MF)とカボチャ含有量がそれぞれ10%および40%となるように混合した。それらを適当な大きさに裁断したものを十分乾燥させ飼料として用いた。

4. RAS 抑制剤およびカボチャによる記憶認知機能亢進

プラットホームの位置を学習した SD ラットをコントロール飼料群, RAS抑制剤(カプトプリル: 5, 10および20 mg/kg, イミダプリル: 4 mg/kg, ロサルタン: 42 mg/kg) 投与群(各群 n=5)に分け, モーリス水迷路法にて記憶認知機能亢進効果を解析した。なお, 各種 RAS 抑制剤は毎日腹腔内投与した。

一方, カボチャによる記憶認知機能亢進改善については, コントロール飼料群ならびにカボチャ含有飼料(カボチャ含有量10%および40%)投与群(各群 n=5)に分け, モーリス水迷路法にて記憶認知機能亢進を解析した。なお実験期間中自由に摂食させた。動物実験については, 弘前大学医学部動物実験委員会の承認を得て実施した。

5. モーリス水迷路法

ラットの記憶能は空間認知記憶能を指標として, モーリス水迷路法により評価した。直径120 cm, 高さ46 cm の円形のビニールプールに水(水温 $25 \pm 1^\circ\text{C}$)を30 cm の深さまで入れたものを使用した。まず場所課題用逃避台(以下プラットホーム, 直径8.2 cm, 高さ28 cm)を置き固定した後, プラットホーム上面まで水を入れ, その上面に標的を載せた。この状態で, プール壁側の一定の位置よりラットを泳がせ, ラットがプラットホームに到達するまでの時間(遊泳時間:最大180秒間)を1日1回, 約4~5日間測定し, 学習訓練を行った。学習訓練最終日の翌日より, 標的を除去しプラットホームを水面下2 cm に水没させ, プール壁側の一定の位置よりラットを泳がせ, 遊泳時間を1日1回, 連続6日間測定した。

6. ラット脳内LVV-H7関連ペプチドの合成

Fmoc アミノ酸を用い, ペプチド合成装置(Applied Biosystems 432A, USA, CA)にて LVV-H7, VV-H7 ならびにLVV-H7 の末端にシステインを導入した Cys-LVV-H7 を合成した。合成したペプチドは HPLC にて精製し, 純度が95%以上であることを確認した後, 実験に用いた。

7. ラット抗 LVV-H7 抗体の作成

ラット抗 LVV-H7 抗体は, 以下の手順により作成した。4.13 mg の Cys-LVV-H7 を3.63 mg の m-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクニシミドエステル(MBS)で化学修飾したヘモシアニン(KLH)に結合させ, それを抗原としてウサギに10日間間隔で免疫した。1回の免疫は, ペプチド溶液300 μl (ペプチドを0.4 mg 含有)に700 μl の生理食塩水を加え, さらに, 1.0 ml のアジュバンドを加えた後攪拌して乳化したものをウサギの背面約10か所に皮下注射をした。得られた抗体は, 採血後分離した血漿を硫酸アンモニウムにて精製し用いた。なお, 本抗体はラット脳内に存在が知られている VV-H7 と交叉性を示した(データ未掲載)。

8. ラット脳内 LVV-H7の定量

ラット脳内 LVV-H7の定量は ELISA 法にて測定した。ELISA 法に用いた抗体は以下の方法にて作成した。カゼインをN-サクシニミジル 3-(2-ピリジルチオ)プロピオニルエステル(SPDP)と反応させた後、Sephadex G-25にてカゼイン-PDPを精製した。2.94 mgのカゼイン-PDPと2.33 mgの合成 Cys-LVV-H7を反応させた後、一昼夜 PBSにて透析し、ELISA 用マトリックスを調製した。調製した ELISA 用マトリックスを96穴マイクロタイタープレートの各ウェルに100 μ l 入れ、30分間室温にて静置した。続いて、3%スキムミルクを各ウェルに300 μ l 入れ、ブロッッキングを30分間行った。合成 LVV-H7 およびラット脳抽出試料(70 μ l)と抗 LVV-H7 抗体溶液(16,000倍希釈/1.5%スキムミルク/20 mM PBS, 70 μ l)を4℃にて一晩反応させた後、反応液の100 μ lをウェルに入れ、ELISA 用マトリックスと2時間反応させた。反応終了後、200 μ lの20 mM PBS/0.05% Tween20 溶液で5回洗浄した。洗浄後、西洋ワサビ由来ペルオキシダーゼ(HRP)標識抗ウサギ IgG 抗体溶液(Bio-Rad, 1,000倍希釈)をウェルに入れ1時間反応させた後、200 μ lの20 mM PBS/0.05% Tween20 溶液で5回洗浄した。100 μ lの α -フェニレンジアミン(OPD)溶液を加えて発色させた後、50 μ lの2N硫酸を加えて反応を停止させ、波長490 nmでの吸光度をマイクロプレートリーダー(Bio-Rad, Model 550)にて測定した。

なお、ラット脳内 LVV-H7 は常法により抽出を行った後、ラット脳内に存在する VV-H7 を HPLC 法にて排除し得られた LVV-H7 分画について ELIA 法にて定量した。すなわちラット脳を9倍量の1% TFA 溶液にて速やかにホモジナイズ後、沸騰水浴中10分間加熱処理を行った。水中冷却後4℃ 25,000xgにて30分間遠心後、上清をあらかじめ0.1% TFA 溶液にて平衡化した C18 カラム(2.0 x 5 cm)に付した。0.1% TFA 溶液にて十分洗浄後、0.1% TFA を含む50%アセトニトリルで LVV-H7 を溶出した。

溶出液を濃縮後、分取用 HPLC カラム(SHODEX C18, 8.0 x 250 mm)を用いて LVV-H7 分画を分取し濃縮し ELISA 用試料とした(図1)。なお、本

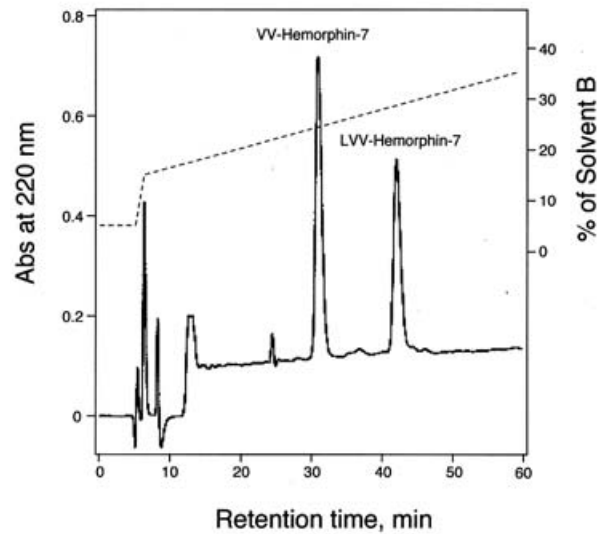


図1 HPLC 法による LVV-H7 の分離。

HPLC 法による標準 LVV-H7(125 μ M)の回収率は90%以上であった。

9. ラット血漿中 SP の測定条件

カボチャ含有飼料を SD ラットに3,6,および10週間投与した後、ラット血液をノボヘパリンで処理したチューブに採取し、速やかに4℃ 2,500回転にて遠心分離した。得られた血漿の5 ml にアプロチニン(添加最終濃度:0.014 TIU/ml)を添加し測定まで-20℃にて凍結保存した。

ラット血漿中 SP 濃度は市販キット(Parameter, Substance P Assay, R&D Systems, MN)を用いて測定した。なお、本キットでの SP の検出限界は16.8~43.8 pg/ml である。

10. ラット血漿による合成 SP の分解活性測定

ラット血漿による SP の分解は HPLC により以下の条件で実施した。カラム; TSK-80 (4.6 x 250 mm, TOSOH), 溶離液; A:0.1% TFA 用液 B:80%/アセトニトリル0.1%TFAの2種, グラジエント条件; 0-3分A:B=90:10, 3-60分A:B=45:55, 流速; 1.0 ml/min, 試料注入量; 50 μ l, カラム温度35℃とした。ピークの検出には UV 検出器(HITACHI D-2500)を用い、測定波長は230 nm とした。

11. ラット血漿中 ACE による SP の分解活性測定

ラット血漿による標準 SP の分解は、以下の手

順にて実施した。SP 溶液 (250 μ M) 25 μ l を 50 μ l の蒸留水もしくはラット血漿と混合し、50 μ l の HEPES バッファー (125 mM, 500 mM NaCl および 25 μ M ZnSO₄ 含有, pH 7.5) を加えて 37°C でインキュベートした。反応は、25 μ l の 10% TFA 溶液の添加にて停止した。次に反応液を Amicon Ultra-10 (Millipore) にてろ過し、ろ過液 50 μ l を HPLC に注入し、標準 SP のピーク面積値から SP の分解活性を形跡した。

12. 統計解析

統計的評価を要する実験結果は平均値 \pm 標準偏差で表した。統計学的解析は、ANOVA4 on the Web (Ryan's method 等) を用いて解析を行った。

結 果

1. RAS 抑制剤およびカボチャによるラット記憶認知機能亢進

ラットの記憶保持能は遊泳時間の減少から評価・解析した。コントロール群は遊泳回数の増加に伴い徐々に遊泳時間の短縮が認められた、一方、RAS 抑制剤投与群では、カプトプリル投与群においてのみ、日数の経過に伴い投与開始後 5 日目でコントロール群に比べて優位に遊泳時間の短縮が認められたが (図 2)、中枢非移行性の ACE 阻害薬 イミダプリル群ならびにアンジオテンシン II 受容体拮抗薬 (ARB) であるロサルタン群では遊泳時間の短縮はコントロール群とほぼ同様の経過を示した。

また、カボチャ投与群では 10% および 40% カボチャ摂取群の遊泳時間は、投与開始後 5 日目から 6 日目でコントロール群に比べて優位に短かった ($p < 0.05$) (図 3)。

2. カプトプリル投与ならびにカボチャ摂取がラット脳 LVV-H7 の発現に与える影響

SD ラット (雄, 250 g) にカプトプリル (20 mg/kg) および 40% カボチャ投与群 (3 週間飼育) のラット脳の LVV-H7 濃度を測定した。その結果、カプトプリル投与群およびカボチャ投与群いずれも脳 LVV-H7 の発現上昇が確認された ($p < 0.08$ および $p < 0.05$) (図 4)。

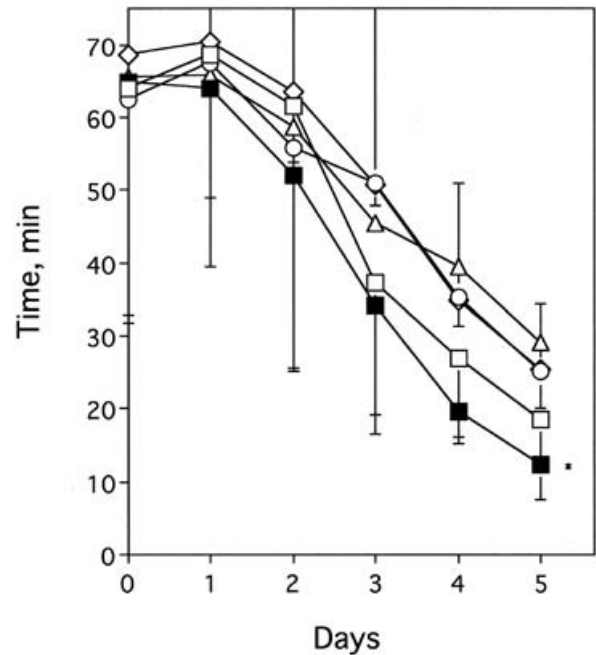


図 2 モーリス迷路法により評価された、ラット遊泳時間に対する RAS 抑制剤の影響。

コントロール：○，カプトプリル：10 mg/kg：□，20 mg/kg：■，イミダプリル：4 mg/kg：◇，ロサルタン：42 mg/kg：△。N=5，*， $p < 0.05$ vs Control.

3. カボチャ摂取がラット血漿中 SP 濃度に与える影響

SD ラット (雄, 150 g) を 3 週間, 6 週間, 10 週間飼育し、カボチャの摂取が血漿中 SP 濃度に与える影響を評価した (図 5)。飼育期間 3 週間のラットではカボチャ飼料 10% 群、飼育期間 6 週間のラットではカボチャ飼料 40% 群において、コントロール群に比較して血漿中 SP 濃度の低下が確認された。飼育期間 10 週間のラットではカボチャ摂取による血漿中 SP 濃度の低下は確認されなかった。しかしながら、いずれの飼育条件においてもカボチャ摂取による血漿中 SP 濃度の上昇は確認されなかった。

4. ラット血漿による SP の分解

ラット血漿による合成 SP の分解について検討した。合成 SP はラット血漿と 15 分および 120 分間した。その結果、15 分間では SP は $91.3 \pm 1.3\%$ が分解され、120 分間では SP は完全に分解されることが明らかとなった (図 6)。次に、SP は ACE

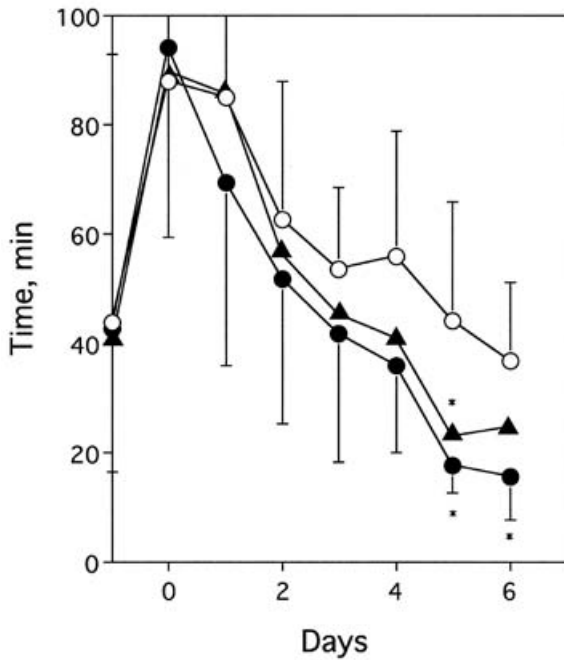


図3 モーリス迷路法により評価された, ラット遊泳時間に対するカボチャの影響.
 コントロール; ○, Pum10: カボチャ10%含有飼料:
 ▲, Pum40: カボチャ40%含有飼料: ●.
 N=5, *, p<0.05 vs Control.

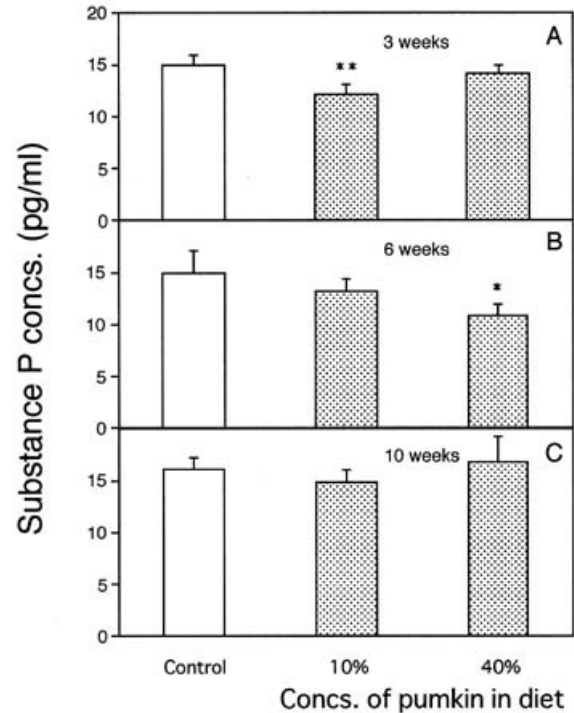


図5 カボチャの摂取がラット血漿中SP濃度に与える影響.
 A: 投与3週間後, B: 投与6週間後, C: 投与10週間後.
 N=4, *, p<0.05; **, p<0.01 vs Control.

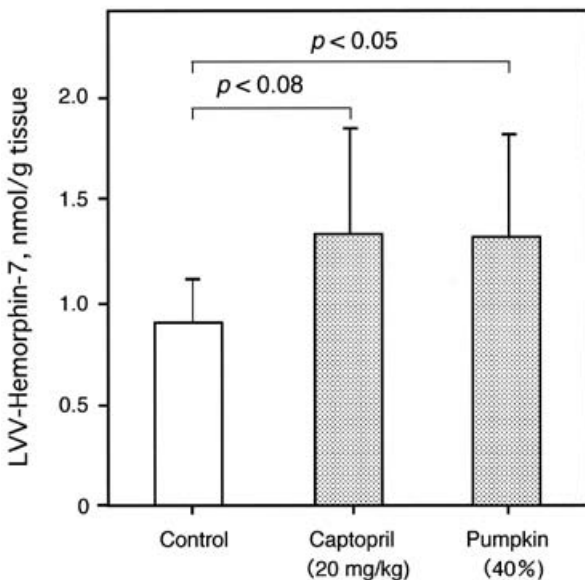


図4 カプトプリル投与ならびにカボチャ摂取がラット脳LVV-H7の発現に与える影響.

によって分解を受けることからカプトプリルを添加した条件でのSPの分解を検討した.なお,評価系におけるカプトプリル濃度は,健康成人5例にカプトプリルを1回50 mg経口投与した場合

の薬物動態学的パラメータ (C_{max} : 479 ± 65 ng/mL, T_{max} : 0.68 ± 0.02 hr, $t_{1/2}$: 0.43 ± 0.02 hr, mean \pm SE, カプトリル錠添付文書)を踏まえ, $1 \mu\text{M}$ とした.しかしながら,カプトプリルはラット血漿による合成SPの分解に対し,抑制効果を示さなかった(図6).

考 察

本研究では,認知症患者のQOL向上に貢献する手段として,認知症症状の緩和が報告されており,かつ,栄養・機能成分の摂取経路としての性格をも有する食事支援に着目し,認知症患者のQOL向上における食事支援の有用性に関する科学的根拠を集積することを目的とした.記憶とACE阻害薬の関連性についての報告⁵⁻⁸⁾ならびに誤嚥性肺炎とACE阻害薬の関連性についての報告²⁰⁻²⁵⁾を踏まえ,ACE阻害物質を含有するカボチャの記憶保持亢進効果ならびにSP分解抑制効果について検討を行った.

まず,高血圧症モデルラットを用いたACE阻

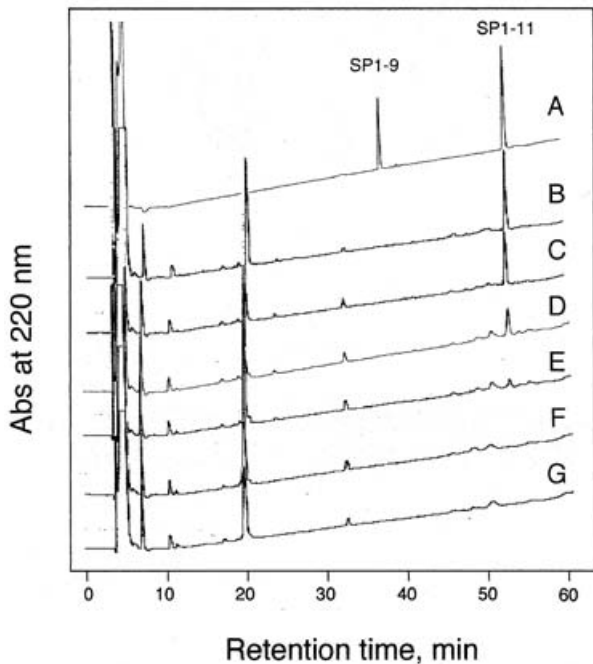


図6 ラット血漿によるSPの分解。
 (A) 標準SP 1-11(RPKPQQFFGRLM-NH₂) および SP 1-9(RPKPQQFFGR), 反応時間; (B): 0分間, (C): 10分間, (D): 30分間, (E): 60分間, (F): 120分間, (G): 1 μM カプトプリルの存在下120分間. 反応に用いたSP濃度はいずれも50 μM.

害薬の血圧降下作用評価の過程において, 中枢移行性のACE阻害薬がラットに記憶保持亢進効果をもたらすことが報告されている^{5,6)}. また, ヒトにおいても高血圧患者の治療に中枢移行性ACE阻害薬を用いた場合, 認知能の低下が生じにくいことが報告されている^{7,8)}. これらのACE阻害薬の服用による記憶認知機能亢進効果は, 高血圧を呈さずに認知能の低下を生じるストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットにおいても確認されており³⁰⁾, 中枢に存在する何らかのACEにより分解を受ける物質(基質)が記憶保持に関与する可能性が示唆されている. 我々は, モーリス水迷路法による空間認知記憶能に関する検討の結果, 中枢移行性ACE阻害薬であるカプトプリルがラットに記憶認知機構亢進効果をもたらすことを見出した. 一方, 中枢非移行性ACE阻害薬であるイミダプリルならびにARBであるロサルタンはラットに記憶認知機構亢進を示さなかった. これらの結果は前述の報告とよく一致するものであり, 中枢に存在するACEの基質等が記憶保持に

関与する可能性が強く示唆された. 大脳皮質や海馬などにはAT₄受容体が多く存在し¹⁴⁾, そのリガンドであるLVV-H7を脳室内に投与されたラットでは中枢移行性ACE阻害薬投与ラットと同様に記憶保持亢進効果が認められる¹⁹⁾. このことは, ACE阻害薬の記憶増進にAT₄受容体に関与している可能性を示唆する. カプトプリルの投与とラット脳LVV-H7の発現に与える影響を検討した結果, カプトプリルの投与により, ラット脳LVV-H7の発現が増加することが確認された(図4). これらの結果から, カプトプリル投与ラットにおける記憶認知機能亢進の作用機序としては, 1)カプトプリルによりLVV-H7の代謝が阻害され, 脳内濃度が上昇したLVV-H7によるAT₄受容体機能の抑制, 2)キレート形成能を有するカプトプリル自身によるAT₄受容体の抑制, 3)LVV-H7とは異なるAT₄受容体のリガンドに対するカプトプリルの影響, などの可能性が考えられる.

次に, カボチャの記憶認知機能亢進について検討した. 40%カボチャを含む飼料を投与したラットでは, 記憶認知機能亢進ならびに脳LVV-H7の発現増加が確認され(図3, 4)た. この結果は, カボチャはカプトプリルと同様に脳LVV-H7もしくはAT₄受容体を介して記憶認知機能亢進果を発揮している可能性を示唆するものであり, カボチャ中ACE阻害物質が記憶認知機能亢進に寄与していると考えられる.

カボチャの摂取がラット血漿中SP濃度に与える影響を評価した. しかしながら, カボチャの摂取によるラット血漿SP濃度の上昇は確認できなかった. SP血漿中酵素によるSPの分解については, ACE以外にも, ジペプチジルアミノペプチダーゼIV, アミノペプチダーゼM等の関与が示唆されている³¹⁾. 本研究においてラット血漿によるSPの分解に対するカプトプリルの抑制効果を検討した結果, カプトプリルはラット血漿によるSPの分解を抑制せず, ラット血漿によるSPの分解にはACE以外の血漿中酵素が主に寄与している可能性が示唆された.

このことから, 血漿中ACEによるSPの分解過程を標的として向精神病薬誘発肺炎予防法を構築していくためには, ヒト血漿によるSPの分解

機構について検討する必要があると考えられた。

本研究の結果により, カボチャを活用した認知症患者への食事内容の検討は, 認知症の進展抑制に有用な方法である可能性が示唆された。一方, カボチャを活用した食事支援が向精神病薬誘発性誤嚥性肺炎の予防に有用であるか否かについては, 更なる検討が必要であると考えられた。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり, 研究費の助成を頂きました公益財団法人上原記念生命科学財団と公益財団法人武田科学振興財団に深謝いたします。

引用文献

- 1) The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. Effects of an angiotensin-converting-enzyme inhibitor, ramipril, on cardiovascular events in high-risk patients. *N Engl J Med* 2000;342:145-53.
- 2) The European trial on reduction of cardiac events with perindopril in stable coronary artery disease Investigators. Efficacy of perindopril in reduction of cardiovascular events among patients with stable coronary artery disease: randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial (the EUROPA study). *Lancet* 2003;362:782-8.
- 3) The EUCLID Study Group. Randomised placebo-controlled trials of lisinopril in normotensive patients with insulin-dependent diabetes and normoalbuminuria or microalbuminuria. *Lancet* 1997;349:1787-92.
- 4) Ruggenti P, Fassi A, Ilieva AP, Bruno S, Iliev IP, Brusegan V, Rubis N, et al. Preventing microalbuminuria in type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2004;351:1941-51.
- 5) Hirawa N, Uehara Y, Kawabata Y, Numabe A, Gomi T, Ikeda T, Suzuki T, et al. Long-term inhibition of renin-angiotensin system sustains memory function in aged Dahl rats. *Hypertension* 1999;34:496-502.
- 6) Wyss JM, Kadish I, van Groen T. Age-related in spatial learning and memory: Attenuation by captopril. *Clin Exp Hypertens* 2003;25:455-74.
- 7) Ohru T, Tomita N, Sato-Nakagawa T, Matsui T, Maruyama M, Niwa K, Arai H, et al. Effects of brain-penetrating ACE inhibitors on Alzheimer disease progression. *Neurology* 2004;63:1324-25.
- 8) Sink KM, Leng X, Williamson J, Kritchevsky SB, Yaffe K, Kuller L, Yasar S, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitors and cognitive decline in older adults. *Arch Intern Med* 2009;169:1195-1202.
- 9) Chai SY, Bastias MA, Clune EF, Matsacos DJ, Mustafa T, Lee JH, McDowall SG, et al. Distribution of angiotensin IV binding sites (AT₄ receptor) in the human forebrain, midbrain and pons as visualized by in vitro receptor autoradiography. *J Chem Neuroanat* 2000;20:339-48.
- 10) Wright JW, Harding JW. The brain angiotensin system and extracellular matrix molecules in neural plasticity, learning, and memory. *Prog Neurobiol* 2004;72:263-93.
- 11) Fernando RN, Larm J, Albiston AL, Chai SY. Distribution and cellular localization of insulin-regulated aminopeptidase in the rat central nervous system. *J Comp Neurol* 2005;487:372-90.
- 12) Braszko JJ, Kupryszewski G, Witczuk B, Wiśniewski K. Angiotensin II-(3-8)-hexapeptide affects motor activity, performance of passive avoidance and a conditioned avoidance response in rats. *Neuroscience* 1988;27:777-83.
- 13) Lee J, Albiston AL, Allen AM, Mendelsohn FA, Ping SE, Barrett GL, Murphy M, et al. Effect of i.c.v. injection of AT₄ receptor ligands, Nle¹-angiotensin IV and LVV-hemorphin 7, on spatial learning in rats. *Neuroscience* 2004;124:341-9.
- 14) Albiston AL, McDowall SG, Matsacos D, Sim P, Clune E, Mustafa T, Lee J, et al. Evidence that the angiotensin IV (AT₄) receptor is the enzyme insulin-regulated aminopeptidase. *J Biol Chem* 2001;276:48623-26.
- 15) Kandror K, Pilch PF. Identification and isolation of glycoproteins that translocate to the cell surface from GLUT4-enriched vesicles in an insulin-dependent fashion. *J Biol Chem* 1994;269:138-42.
- 16) Kandror KV, Yu L, Pilch PF. The major protein

- of GLUT4-containing vesicles, gp160, has aminopeptidase activity. *J Biol Chem* 1994;269:30777-80.
- 17) Fernando RN, Albiston AL, Chai SY. The insulin-regulated aminopeptidase IRAP is colocalised with GLUT4 in the mouse hippocampus—potential role in modulation of glucose uptake in neurones? *Eur J Neurosci* 2008;28:588-98.
- 18) Moeller I, Lew RA, Mendelsohn FA, Smith AI, Brennan ME, Tetaz TJ, Chai SY. The globin fragment LVV-hemorphin-7 is an endogenous ligand for the AT₁ receptor in the brain. *J Neurochem* 1997;68:2530-37.
- 19) De Bundel D, Smolders I, Yang R, Albiston AL, Michotte Y, Chai SY. Angiotensin IV and LVV-haemorphin 7 enhance spatial working memory in rats: effects on hippocampal glucose levels and blood flow. *Neurobiol Learn Mem* 2009;92:19-26.
- 20) Wada H, Nakajoh K, Satoh-Nakagawa T, Suzuki T, Ohruji T, Arai H, Sasaki H. Risk factors of aspiration pneumonia in Alzheimer's disease patients. *Gerontology* 2001;47:271-6.
- 21) Schneider LS, Tariot PN, Dagerman KS, Davis SM, Hsiao JK, Ismail MS, Lebowitz BD, et al. Effectiveness of atypical antipsychotic drugs in patients with Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2006;355:1525-38.
- 22) Nagamine T. Serum substance P levels in patients with chronic schizophrenia treated with typical or atypical antipsychotics. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2008;4:289-94.
- 23) Ebihara S, Saito H, Kanda A, Nakajoh M, Takahashi H, Arai H, Sasaki H. Impaired efficacy of cough in patients with Parkinson disease. *Chest* 2003;124:1009-15.
- 24) Couture R, Regoli D. Inactivation of substance P and its C-terminal fragments in rat plasma and its inhibition by Captopril. *Can J Physiol Pharmacol* 1981;59:621-25.
- 25) Sekizawa K, Matsui T, Nakagawa T, Nakayama K, Sasaki H. ACE inhibitors and pneumonia. *Lancet* 1998;352:1069.
- 26) 和田行男. 大逆転の痴呆ケア. 初版. 東京: 中央法規出版; 2003, p57.
- 27) 林田あゆみ, 山中克夫, 窪田理恵. 女性痴呆高齢者の調理場面における生活療法的ケアからの介入に関する事例研究. *日本痴呆ケア学会誌* 2004;3:222-9.
- 28) 初鹿静江. 介護予防の観点から認知症高齢者グループホームの食生活支援のあり方の検討. *医療看護研究* 2003;3:22-8.
- 29) 早狩 誠, 佐藤公彦. カボチャに見出されたアンジオテンシン変換酵素阻害物質による生体機能試験. *浦上財団研究報告書* 2005;13:40-7.
- 30) Manschot SM, Biessels GJ, Cameron NE, Cotter MA, Kamal A, Kappelle LJ, Gispen WH. Angiotensin converting enzyme inhibition partially prevents deficits in water maze performance, hippocampal synaptic plasticity and cerebral blood flow in streptozotocin-diabetic rats. *Brain Res* 2003;966:274-82.
- 31) Wang L, Ahmad S, Benter IF, Chow A, Mizutani S, Ward PE. Differential processing of substance P and neurokinin A by plasma dipeptidyl(amino)peptidase IV, aminopeptidase M and angiotensin converting enzyme. *Peptides* 1991;12:1357-64.