



各種受容体亢進作用が与える影響についての検討を本研究の目的とした。

本研究の結果、栄養源では炭素源のスクロースとグルコース、窒素源ではアンモニア態窒素である $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ と $\text{NH}_4\text{NO}_3$ がヒカゲシビレタケの菌糸成長へ有効であることが明らかとなった。また、植物成長調節因子であるナフタレン酢酸は、ヒカゲシビレタケの菌糸成長を有意に阻害した。ヒカゲシビレタケ菌糸体は、一般的にきのこ栽培で使用されるスギ木粉、コナラ木粉をはじめ、米、麦など幅広い培養基において良好な菌糸成長を示した。一方、一般的に催幻覚性きのこ栽培で使用される牛糞、鶏糞、サトウキビ堆肥を用いた培養基では菌糸の伸長は貧弱であり、その生態が腐生性ではないことを示唆した。また、ヒカゲシビレタケはアルカリ性条件下において菌糸成長が良好であることが明らかとなった。本菌は 10-35 の条件下において生存が可能であり、至適成長温度は 30 であった。青、緑、黄、赤の 470-630nmLED に対する菌糸体の成長反応は、菌株により差異が確認されたが特に有用な波長は見出せなかった。以上の試験結果から、ヒカゲシビレタケ菌糸体の培養条件を確立した。なお、各条件で優れた菌糸成長を示した高崎健康福祉大学江口研究室保有の AM 株と GT 株をヒカゲシビレタケの有用菌株として選抜した。また、菌糸体凍結保存方法の検討では、凍結保護剤を添加しない直接凍結維持法においても AM 株では 6 ヶ月、GT 株では 12 ヶ月の生存が確認された。しかし両菌株共に産生物質量が大きく変動する傾向が観察された。-80 における凍結保存では、DMSO を凍結保護剤として用いた場合、10% 濃度では保存期間が長いほど生存率は低下し、菌糸の伸長も遅くなることが観察された。以上の結果は、ヒカゲシビレタケの細胞壁が薄く DMSO の細胞毒性に対する耐性が低いことを示した。グリセリンを凍結保護剤として用いた菌糸体では、その濃度によらず 12 ヶ月経過した後も 2 菌株共に生存率は 100%であり、シロシピン、シロシン産生能も安定的であった。以上の結果から、ヒカゲシビレタケ菌糸体は超低温槽を用いた簡易凍結保存が可能であること、凍結保護剤はグリセリンが有用であることが明らかとなった。

OCD の動物モデルとして広く使用されるマウスの玉覆い隠し行動試験(本試験は、マウスが覆い隠すガラス玉の個数の抑制率と自発行動量への影響の有無により抗 OCD 能の指標とする行動薬理学的試験である)を用いてヒカゲシビレタケの抗 OCD 能を測定した。ヒカゲシビレタケは 0.1g-1g/kgの投与量において自発運動量へ大きな影響を与えずにマウスのガラス玉覆い隠し行動を有意に抑制した。その効果は、医薬品の Fluvoxamine と同等以上であった。以上の結果はヒカゲシビレタケが OCD の臨床治療において有用であることを示唆した。また、5-HT<sub>1A</sub>、5-HT<sub>2A/2C</sub> 受容体拮抗剤は、それぞれヒカゲシビレタケの効果を抑制した。しかし、それぞれヒカゲシビレタケの効果を消失させるには至らなかった。以上の結果から、ヒカゲシビレタケの玉覆い隠し行動抑制作用は、5-HT<sub>1A</sub>、5-HT<sub>2A/2C</sub> 受容体亢進の相互作用によることが明らかとなった。また、ヒカゲシビレタケのメタノール抽出物は、投与後一時的にマウスとラットの脳内モノアミン含有量を減少させる傾向を示した。しかし、これらの影響は投与 12 時間後までに回復した。この脳内モノアミンの変動時間は、催幻覚性きのこによる肉体的、身体的症状の持続時間と類似しており、両者の相関関係を示唆し

た。またヒカゲシビレタケは、脳の多くの部位で 5-HIAA 含有量を低下させセロトニン謝回転の抑制を見せた。しかし、各種受容体拮抗剤は、それぞれ脳内の各部位において 5-HT の代謝回転阻害を抑制した。各投与群はヒカゲシビレタケの玉覆い隠し行動抑制効果も減少させており、5-HT 代謝回転の低下が動物試験におけるヒカゲシビレタケの抗強迫性障害効果へ寄与していることが明らかとなった。

本研究により、ヒカゲシビレタケ菌糸体の各種生理学的特徴を明らかとした。また、ヒカゲシビレタケが抗強迫性障害の治療へ有用であることを示し、その作用機序の一端と共に脳内モノアミンの挙動へ与える影響を明らかとした。これらの結果は、催幻覚性きのこの基礎研究および強迫性障害をはじめとした神経系疾患治療の研究へ広く貢献するものと考えられる。

#### 【論文審査の結果の要旨】

近年、高度な医療技術の進歩により、従来は治療を困難としていた疾患も早期発見や徐々にではあるが克服できるようになっている。その反面、医療費の高騰は生活に響いており、自らの手で「健康」を確保せねばならないことも現実である。既に以前から懸念されているが、「団塊の世代の高齢化」や日常生活における不規則習慣から「生活習慣病」や「精神性の疾患(神経症<殊に不安神経症>・鬱病・心身症)、睡眠障害」などの患者やその予備軍の増加が社会問題となっている。これらに属する疾患の多くは自覚症状に気づくことが遅く、おかしいと思った時には重篤な状態となっていることが多い。特に神経性疾患の患者数は増加している。しかしながら、現況では患者数に対する専門医やカウンセラーの数が十分とはいえない。さらに、神経性疾患はその特効薬がなく、長時間を費やしてのカウンセリング療法や自然治癒力を高めようとする考え方をもち「ホリスティック医学」などが取り組まれているが、それらはいずれも神経性疾患の問題となる対象と患者とを隔離するような対処療法が一般的であり、疾患の根治には至らないことが多い。さらに、近年の社会的事情を背景として疾患者は増加していく傾向にある。現在、神経性疾患のなかでも精神分裂症は「統合失調症」と称され、その発症機序は、神経発達障害仮説が有力であるが、生物学的過程での進展(環境・対人・社会事情なども含む)も示唆されることがある。これらの治療薬剤としては、非定型抗精神病薬の「ルーラン」<sup>1)</sup>、「クエチアピン」<sup>2)</sup>、「オランザピン」<sup>3)</sup>などが処方されることが多い。特に、「オランザピン」はセロトニン 5-HT<sub>2</sub> 受容体やドーパミン D<sub>2</sub> 受容体の阻害だけでなく、グルタミン酸系神経伝達を回復させる可能性が示唆されており、臨床的には、陽性症状、陰性症状、抑うつ気分だけでなく認知障害に対しても効果があると報告されている。この薬剤は、錐体外路症状などの副作用は少ないが、体重増加に留意する必要性や糖尿病患者には禁忌であることからわかるように症例を選択しての処方が必要となっている。

本研究が新しい原理の発見や斬新な着想や方法論の提案を行うものである点としては、神経性疾患の予防や治療に、我が国で特異的に生育している麻薬性きのこに分類されるヒカゲシビレタケ(*Psilocybe argenticipes* K.Yokoyama)を利用することがその一つである。ヒカゲ

シビレタケは、1977年に横山和正博士によって新種記載された日本にのみ生息するきのこである。このきのこの大きな特徴は、催幻覚作用を持つ事であり、摂取すると、色覚の変化や幻覚視、精神の変容などの症状を引き起こす。しかしながら、ヒカゲシビレタケ抽出物には、上述した医薬品での害作用を発現しない薬剤開発も期待できるものである。

ヒカゲシビレタケの催幻覚成分としては、トリプトファン由来のインドールアルカロイドであるシロシピンと、その脱リン酸化物質であるシロシンを産生する。これらの物質は神経伝達物質であるセロトニンに構造が類似している。そのため、シロシピンとシロシンが脳内中枢神経系のセロトニンレセプターへ作用することによって催幻覚作用が引き起こされる。催幻覚性はその物質の危険因子と取られがちであるが、セロトニン受容体リガンドの合成技術や分子生物学的技法の発達とともにシロシピン、シロシンは、脳内のセロトニンレセプターでも特に5-HT<sub>1A</sub>レセプター、5-HT<sub>2A</sub>レセプターへアゴニストとして作用することが明らかとなっている。また、5-HT<sub>2C</sub>レセプターへのアゴニストとしての作用を示すことも著者の行った試験からも明確なものとなっている。シロシピンやシロシンが脳内神経系へ作用することが明らかとなった事により、医薬的な利用法の可能性が重要視される。特にこのような作用を有する物質は、神経系疾患の一種である強迫神経症に抑制的に働くことが明らかで、治療薬剤として有用であり、天然物および合成薬剤を用いてアメリカにおいては、2005年より、米食品医薬品局(FDA)の許可を受けた病院で臨床実験が開始され始めている。すなわちスタート期の臨床試験ともなっている。なお、これらの薬剤の多くは、その副作用が大きく問題解決に多くの時間が要するものと考えられる。しかしながら、この実験で使用する予定のヒカゲシビレタケを含む多くの催幻覚性きのこは、毒性が非常に低いことや肉体的依存性が無いことが既に証明されている。したがって、その脳内神経系への詳細な作用を調べる事で幻覚作用点を解離すれば、その他の有用成分は治療が困難である神経系疾患などへの有効な薬物、あるいは病者用食品や機能性食品として利用できる可能性がある。

これまでにシロシピンやシロシンが脳内レセプターのどの領域に作用するかは明らかとなっているが、実際に脳内モノアミンの挙動がどのように変動するかは調べられていなかった。そこで著者は、催幻覚性きのこであるヒカゲシビレタケの関与成分を特異的に産生する栽培の基礎を確立すると共に、安定的成分の維持を指標とした菌糸体培養マニュアルの構築を行った。次に、脳内モノアミンとその代謝産物量が菌糸体や子実体の抽出物によってどのような挙動を示すかを検討するとともに、神経性疾患への脳内作用点との感作物質の構造的特性を明らかにして臨床への応用の基盤を整備した。

すなわち、産生物質の利用を考慮したデータ構築として、ヒカゲシビレタケ菌糸体および子実体の抽出物の投与によって、ドーパミン(DA)とその代謝物、ノルエフリン(NE)とその代謝物が脳皮質中でどのように変化するかを精査し、臨床への適応を探ったものである。

特に本研究の成果としてポイントは、シロシンやシロシピンを効率的に産生するヒカゲシビレタケ菌糸体の培養法と保存法を確立したこと。ヒカゲシビレタケからの抽出物を

0.1g-1g/kgの用量で投与することで自発運動量へ大きな影響を与えずに疾患改善作用を評価しているマウスのガラス玉覆い隠し行動を有意に抑制し、その効果は医薬品の Fluvoxamine と同等以上であったこと。ヒカゲシビレタケの玉覆い隠し行動抑制作用は、5-HT<sub>1A</sub>、5-HT<sub>2A/2C</sub>受容体亢進の作用によることが明らかとなったこと。ヒカゲシビレタケ抽出物は、投与後脳内モノアミン含有量を一時的に減少させたが、投与 12 時間後までに回復することを明らかにした。この作用は催幻覚性きのこによる肉体的、身体的症状の持続時間と類似していることも毒性学や今後の薬剤開発における催幻覚性きのこの利活用のための基盤となるデータを構築したものである。またヒカゲシビレタケ抽出物は、大脳辺縁系のみならず、脳の多くの部位で 5-HIAA 含有量を低下させセロトニン代謝回転を抑制したが、各種受容体拮抗剤は、それぞれ脳内の各部位において 5-HT の代謝回転阻害を抑制した結果から、著者はヒカゲシビレタケ抽出物の玉覆い隠し行動抑制効果の減少は、5-HT 代謝回転の低下が一つの要因であり、ヒカゲシビレタケの抗強迫性障害効果へ寄与しているものと多くの試験結果から結論付けている。

これらの成果は、天然物であるヒカゲシビレタケの菌糸体から産生する成分を有効的に抽出し、二次的害作用や薬物依存性の無い疾患改善薬を設計するため応用研究のための基盤に欠かせない成果を導き出しているものと判断した。

本研究成果は今後のこの分野の研究の発展に寄与すること大であるのみならず、きのこの産生する物質を機能性食品や医薬品素材として活用する端緒を与えたものである。

本論文に関しては、2010 年 1 月 27 日 10 時より高崎健康福祉大学において口頭試問を行い、論文に対して厳密な問題点および課題などが提起された。著者は口頭試問に対して的確な応答があり、論文の内容・特徴がより鮮明になった。さらに、2 月 12 日に発表会も実施され、出席者による質疑に対しても明瞭な応答があった。

以上により、論文審査および最終試験の結果に基づき、審査委員会において慎重に審査して結果、本論文の著者に博士(食品栄養学)の学位を授与するに値すると判定した。