

氏名	ひらた まりか 平田 茉莉花		
学位の種類	博士（薬学）		
報告番号	甲第 1993 号		
学位授与の日付	令和 5 年 3 月 16 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当（論文博士）		
学位論文題目	老化促進マウス SAMP8 の嗅覚反応障害と認知機能障害への人参養栄湯の治療効果研究		
論文審査委員	(主査)	福岡大学	教授 岩崎 克典
	(副査)	福岡大学	教授 金城 順英
		福岡大学	准教授 細川 雅人

内容の要旨

Abstract

Olfactory dysfunction is observed at early stage of alzheimer's disease (AD), but a therapy for the olfactory dysfunction has not been established. Ninjinyoeito (NYT) is a Kampo medicine and is used for treatment of decline in physical strength, fatigue and anorexia. This study investigated whether SAMP8 mouse, which is one of AD models, shows alternations of olfactory responses to odorants and whether NYT affects the olfactory responses. SAMP8 mice reduced avoidance behaviors towards pentanal and hexanal, which are aldehydes, in comparison with SAMR1 mice. SAMP8 mice also showed decrease in neuronal activity in hypothalamic paraventricular nucleus (PVN) and amygdala when presented with hexanal. NYT improved poor olfactory performance and suppressed the decrease in neuronal activity in PVN. Therefore, it was suggested that the amelioration of abnormal olfactory nerve pathways to PVN contributes to the improvement of the decline in odor avoidance behavior by NYT. Furthermore, NYT improved spatial memory impairment and apathy-like behavior in SAMP8 mice, suggesting that NYT was effective against not only olfactory impairment but also memory impairment and psychiatric symptoms. It was reported that AD patients demonstrate reduced olfactory responses to wood and rose. Considering that wood and rose have aldehydes, AD patients may demonstrate deficit of olfactory response to aldehydes. Furthermore, it was shown the possibility that treatment of olfactory dysfunction may lead to prevention and therapy for core symptoms and peripheral symptoms such as memory impairment and lethargy-like behavior. This study suggests clinical application of NYT form early stage is useful to prevention of olfactory dysfunction and suppressing the progression of AD.

Keywords: AD; ninjinyoeito; SAMP8; olfaction

【緒言】

アルツハイマー病 (Alzheimer's disease: AD) は、認知症患者の約 7 割を占めており、世界中で 5000 万人が罹患している進行性の神経変性疾患である。AD 患者では認知機能障害が緩徐に増悪していき、AD 脳ではアミロイドβの蓄積やリン酸化タウによる神経原繊維変化が年月をかけて増加している。また、認知機能低下が発症するより早い段階から嗅覚障害が認められることが報告されているが⁽¹⁾、その病態の全貌は明らかではない。この段階から医療介入を開始することで AD への進行抑制が期待される。

人参養栄湯は、12 種の生薬から構成されており、気と血を補う漢方薬として使用されている。人参養栄湯は主に病後の体力低下や疲労倦怠、そしてそれに付随する、抑うつや無気力状態などの精神症状に対して処方されており、最近では高齢者の虚弱 (フレイル) や認知症の予防効果も期待されている。2014 年に日本老年医学会はフレイルとは介護前段階を意味する用語として提唱し、体重減少や筋力の衰えなどの身体的要素だけでなく、孤独、閉じこもりなどの社会的要素と、うつや無気力、認知機能障害などの精神・心理要素を含んでいる。身体的機能低下による歩行障害や転倒と認知機能の低下は双方に影響を及ぼし、身体的にフレイルであることは、後の認知機能低下のリスクであり⁽³⁾、認知症発症の危険因子であることが報告されている⁽⁴⁾。このような背景から、近年では人参養栄湯は AD を含む認知症予防に関しても有効性が期待されている。しかし、その科学的根拠は乏しい。

老化促進マウスである senescence-accelerated mouse prone 8 (SAMP8) マウスは、記憶障害や神経細胞数減少、さらにアミロイドβとリン酸化タウの増加を示し、その他にも AD と類似の病態変化が現れることから、AD モデルマウスとして提案されている⁽⁵⁾。しかし、SAMP8 マウスが AD 早期の嗅覚障害の病態を呈しているかは検討されておらず、それに対する人参養栄湯の治療効果も未検討である。この SAMP8 マウスを用いた早期嗅覚障害の検討は、AD の早期嗅覚障害の病態解明に繋がると考えられる。さらに人参養栄湯の治療効果の評価は、AD の嗅覚障害治療法の確立に繋がると期待される。

そこで本稿第 1 章では、SAMP8 マウスの悪臭回避行動と嗅覚神経経路の神経細胞活性を解析し、AD 早期の嗅覚障害との類似性とその病態メカニズムを検討した。続く第 2 章では SAMP8 マウスの嗅覚障害に対する人参養栄湯の治療効果を解析し、人参養栄湯の嗅覚障害治療薬としての有用性を検討した。また、第 3 章では SAMP8 マウスの記憶障害や精神症状に対する人参養栄湯の治療効果を解析し、AD の中核症状である認知機能障害と周辺症状である無気力や不安症状に対する人参養栄湯の効果を検討した。

第1章 老化促進マウス (SAMP8 マウス) の嗅覚反応障害の検討

【目的】

AD は認知機能障害が緩徐に進行していく疾患であり、認知機能障害が認められる以前から脳内では病理変化が現れていると提案されている。また、認知機能障害が発症するより早期から嗅覚障害も認められるており、早期のバイオマーカーとして提案されているが、その病態の全貌は明らかではない。

SAMP8 マウスは、学習記憶障害を示し、アミロイドβやリン酸化タウの脳蓄積が認められることから、AD モデルマウスの一つとして提案されている。従って、AD や MCI で認められる嗅覚障害の病態解明の手段の一つとして、SAMP8 マウスの病態解析は有効であると考えられる。しかし、SAMP8 マウスの嗅覚変化に関する報告は皆無である。

本章では、SAMP8 マウスが嗅覚障害の病態モデルとなるか否かの検討を目的として、様々な匂い物質に対する SAMP8 マウスの反応行動を解析した。さらに、嗅覚神経経路における神経活動の変化を検討した。

【実験方法】

実験動物

10 週齢の SAMP8 マウスと senescence-accelerated mouse resistant 1 (SAMR1) マウス (正常老化) を日本エスエルシー株式会社から購入した。

嗅覚嗜好テスト (olfactory preference test)

嗅覚の評価は、中型プラスチックケージ (25×35×17 cm) の端にろ紙を設置した装置を用いた。匂いを発する液体をろ紙に添加した後、装置内にマウスを入れ、上部からカメラでマウスの行動を 3 分間撮影した。撮影した動画の解析は、ビデオ・トラッキング・ソフトウェア ANY-maze を用いて、探索エリア (ろ紙を中心として半径 10cm 以内の範囲) と回避エリア (ろ紙を設置した壁の反対の壁から 5cm の範囲) の 2 つのエリア内での滞在時間を解析した。

使用した匂いを発する液体

Eugenol、2-MB、pentanal、hexanal、heptanal、n-octanal を使用した。ろ紙に各液体を 10μL 染み込ませた。

嗅覚神経経路の解析方法

eugenol または hexanal を暴露したマウス (11 ヶ月齢) の凍結冠状切片作成し、c-fos 抗体を用いて免疫染色を行った後、mouse brain atlas を参考にして⁽⁶⁾、顕微鏡 (KEYENCE、倍率 4 倍) 下で撮影した。撮影画像上で測定対象部位を 0.1 mm² の正方形にて囲い込み、盲検下でその範囲内における c-fos 陽性細胞数を測定した。

【結果・考察】

SAMP8 マウスは SAMR1 マウスと比較してアルデヒド臭 (pentanal、hexanal、heptanal、n-octanal) に対する回避行動の低下が認められた (Fig.1)。また、hexanal 暴露時の視床下部室傍核と扁桃体における c-fos 陽性細胞数が SAMP8 マウスで減少していることが認められた (Fig.2)。

これらの結果から、SAMP8 マウスでは嗅覚反応における視床下部室傍核と扁桃体での神経細胞活動低下が回避行動低下に関与することが示唆された。

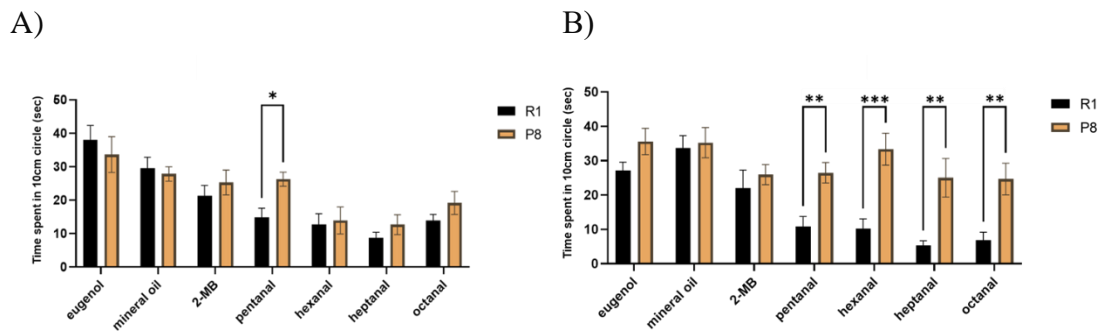


Fig. 1. Time spent in search area in olfactory preference test in SAMP8 mouse.

A) 3 months old B) 5 months old. unpaired t-test. **p < 0.01, ***p < 0.001, R1: SAMR1, P8: SAMP8

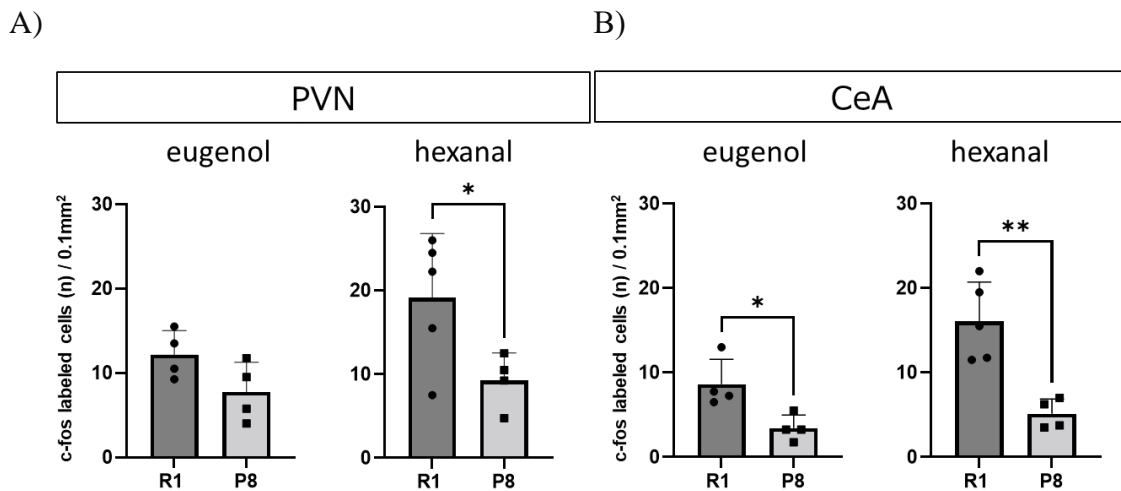


Fig. 2. Number of c-fos positive cells exposed to eugenol or hecanal for 1 hour

A) Hypothalamic paraventricular nucleus (PVN), B) Amygdala central nucleus (CeA). unpaired t-test. *p < 0.05, **p < 0.01, unpaired t-test. R1: SAMR1, P8: SAMP8.

第2章 SAMP8 マウスの嗅覚反応障害に対する人参養栄湯の検討

【目的】

人参養栄湯は12種の生薬から構成される漢方薬であり、気と血を補う漢方薬として使用されている。前章でSAMP8マウスが嗅覚障害を示すことが明らかとなった。そこで、本章ではSAMP8マウスの嗅覚障害に対する人参養栄湯の効果を検討するため、人参養栄湯のエキス剤をSAMP8マウスに投与し、嗅覚反応の評価を行った。

【実験方法】

人参養栄湯エキスを飲水ボトルに添加し、3ヶ月齢から11ヶ月齢の期間で飲水投与を行い、嗅覚嗜好テストおよび嗅覚識別テストを用いて嗅覚反応の評価を行った。

【結果・考察】

嗅覚嗜好テストにおいて、SAMP8マウスのhexanal回避行動低下を人参養栄湯は有意に抑制した (Fig. 3)。さらに、hexanal暴露時の視床下部室傍核におけるc-fos陽性細胞数減少を人参養栄湯が抑制する結果が認められた (Fig. 4)。このことから、人参養栄湯による悪臭回避行動低下改善には、視床下部室傍核への嗅覚神経経路異常の改善が寄与することが示唆された。また、嗅覚識別テストでは、SAMP8マウスの嗅覚識別障害に対する人参養栄湯の改善効果も認められた (Fig. 5)。MCIやAD患者では、嗅覚識別能の障害が報告されていることから⁽⁷⁾、本評価項目に関しても早期のAD患者の嗅覚障害病態を反映していることが考えられ、人参養栄湯が治療薬として有効であることが示唆された。

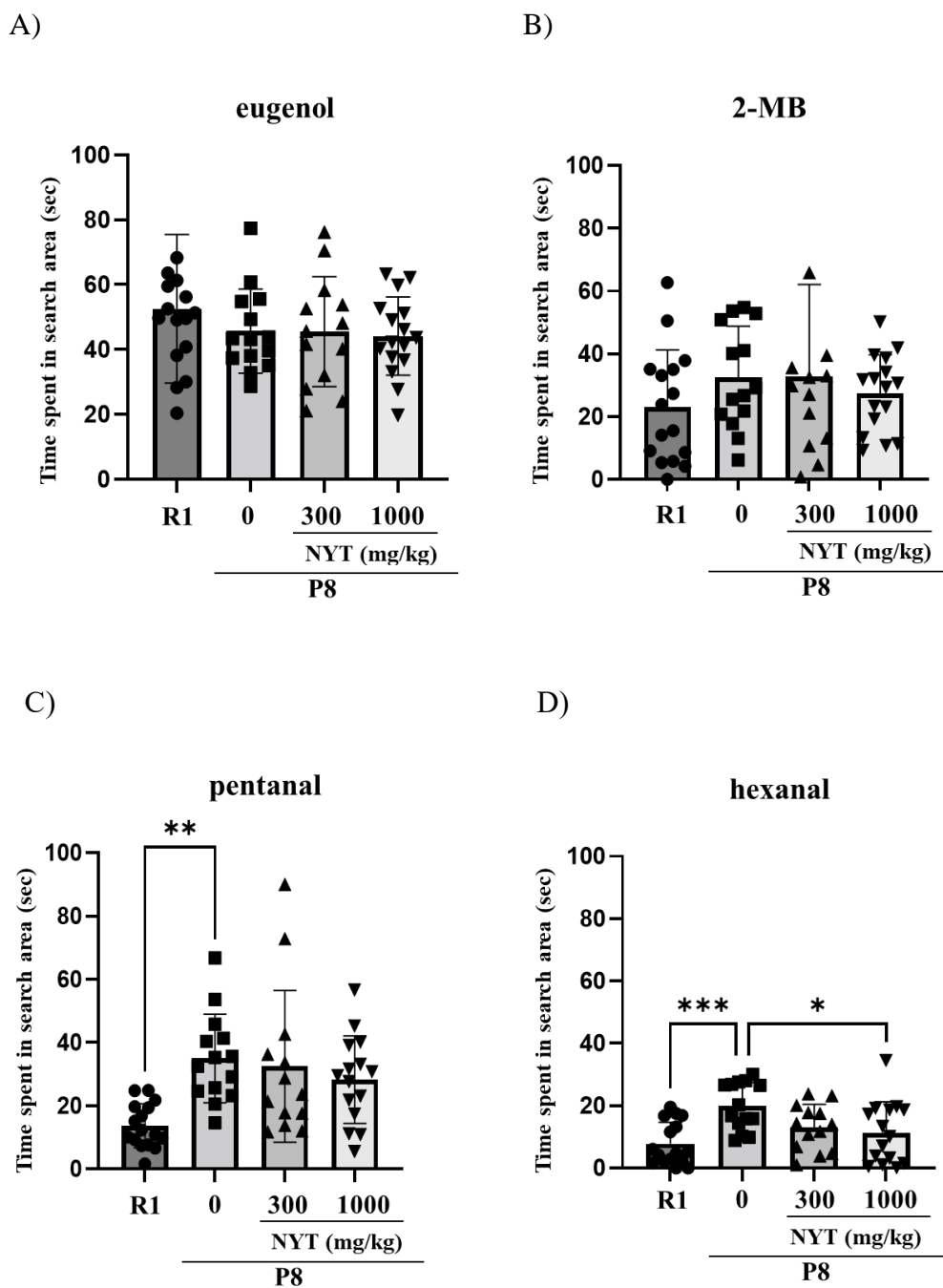


Fig. 3. Time spent in search area in olfactory preference test in SAMP8 mouse (8 months old). Data were subjected to Tukey's multiple comparison tests after one-way ANOVA. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. R1: SAMR1, P8: SAMP8, NYT : Ninjinyoeito

hexanal の暴露は、SAMR1 マウスと比較して SAMP8 マウスでは、大脳辺縁系である視床下部室傍核および扁桃体中心核の c-fos 陽性細胞数を有意に減少し、神経細胞活動の低下が示唆された。さらに、人参養栄湯 1000 mg/kg 投与は、視床下部室傍核における c-fos 陽性細胞数の有意な増加を示した。一方、扁桃体中心核において増加は認められなかった。また、人参養栄湯投与は、前嗅核の c-fos 陽性細胞数を減少させ、海馬 CA3 の c-fos 陽性細胞数を増加させた(Fig.4)。前嗅核での減少は、回避行動の増加による嗅覚刺激の減少によることが考えられた。

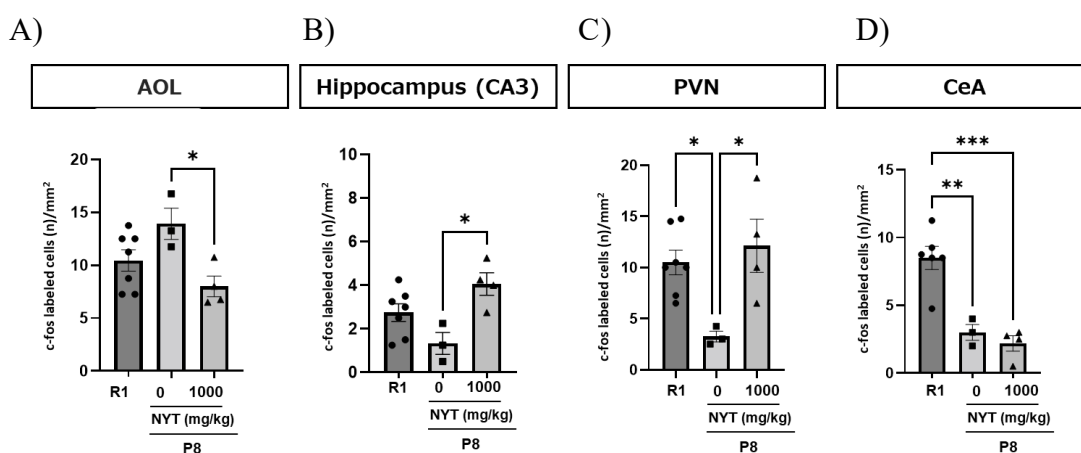


Fig. 4. The number of c-fos-positive cells in each brain region of the olfactory nerve pathway in 11-month-old SAMP8 mice exposed to hexanal for 1 hour.

A) Anterior olfactory nucleus, B) Hippocampus (CA3), C) PVN, D) CeA.

Data were subjected to Tukey's multiple comparison tests after one-way ANOVA.

* $p < 0.05$, *** $p < 0.001$. R1: SAMR1、P8: SAMP8、NYT : Ninjinyoeito

嗅覚識別テストでは、hexanal または eugenol の臭いと砂糖粒を関連付ける訓練を行った SAMP8 マウスおよび SAMR1 マウスを用いた。SAMP8 マウスでは hexanal が置かれたアームと pentanal が置かれたアームに滞在した時間に差は認められなかった。一方、人参養栄湯 1000mg/kg の投与により hexanal が置かれたアームに滞在する時間が有意に増加した (Fig.5)。このことから、SAMP8 マウスは hexanal と pentanal の臭いの識別能の低下が考えられ、人参養栄湯はその低下を改善することが示唆された。

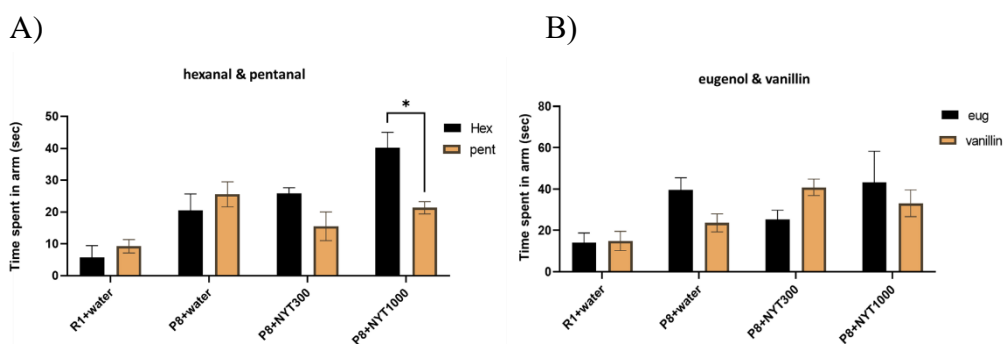


Fig. 5. Arm dwell time of SAMP8 mice in olfactory discrimination test. A) hexanal (sugar +) & pentanal, B) eugenol (sugar +) & vanillin. Unpaired t-test. * $p < 0.05$. Hex: hexanal、pent: pentanal, eug: eugenol

第3章 SAMP8 マウスの記憶障害・精神様症状に対する人参養栄湯の効果検討

【目的】

AD 患者は認知機能障害や遂行機能障害などの中核症状と、Behavioral and psychological symptoms of dementia (BPSD) と呼ばれる周辺症状を示し、嗅覚障害発症以降に中核症状と周辺症状が認められる。SAMP8 マウスのアルデヒド臭回避行動低下に対する人参養栄湯の予防効果を第2章で提示したが、AD の嗅覚障害発症後に現れる中核症状や周辺症状に対する人参養栄湯の効果は不明である。そこで本章では、人参養栄湯の予防的な長期摂取が SAMP8 マウスの記憶障害や精神症状様行動に対しても有効であるか検討を行った。

【実験方法】

第2章と同様に、NYT を3ヶ月齢から12ヶ月齢まで長期飲水摂取させた SAMP8 マウスおよび SAMR1 マウスを使用した。

モリス水迷路課題を用いた学習記憶障害の評価方法 (12ヶ月齢)

水を入れたプール (直径 150cm、高さ 45cm、水深 32cm) に直径 12 cm の透明なプラットフォームをプールの壁面から中心側へ 30 cm の位置に設置した。出発点からマウスがプラットフォームに遊泳して、到達するまでの行動を解析した。1日3試行 (各試行で各出発地点; A、B、C) し、毎日出発地点の順序を変えて5日間連続で課題を行い、その獲得過程を評価した。

Open-field テストを用いた不安様行動の評価 (5ヶ月齢、8.5ヶ月齢)

open-field 装置（底面直径 60cm、壁の高さ 50cm、壁の上縁の直径 80cm のバケツ状のもの）の中央に静かにマウスを入れ、その動きを 10 分間ビデオカメラにて撮影した。撮影した動画は、ビデオ・トラッキング・ソフトウェア ANY-maze を用いて、10 分間における総移動距離と内側エリア（Inner zone）滞在時間を測定した。総移動距離からマウスの運動量を、内側エリア滞在時間から不安症状を評価した。

Sucrose splash テストによる無気力様行動の評価（5ヶ月齢）

マウスをホームケージに入れた状態で、ホームケージを 30~50 lux の照明に設定した部屋に置いた。食紅で着色した 10%スクロース溶液をマウスの背部に一回噴霧し、300 秒間の行動をビデオカメラにて動画撮影した。撮影した動画は、Event Rec ソフトウェアを用いて、300 秒間における身繕いした時間を計測した

【結果・考察】

5 日間にわたる空間記憶獲得過程でのプラットフォーム到達時間の推移を Fig. 6 に示した。P8+water のプラットフォーム到達時間は、R1+water と比較し、2 日目および 4 日目、5 日目で有意に延長した。(2 日目：P=0.020、4 日目：P=0.006、5 日目：P=0.0002)。更に、5 日目の P8+NYT1000 のプラットフォーム到達時間は、P8+water と比較して有意に短縮したことから(5 日目：P=0.038)、人参養栄湯の投与により、学習記憶の獲得障害は予防される可能性があることが示唆された。

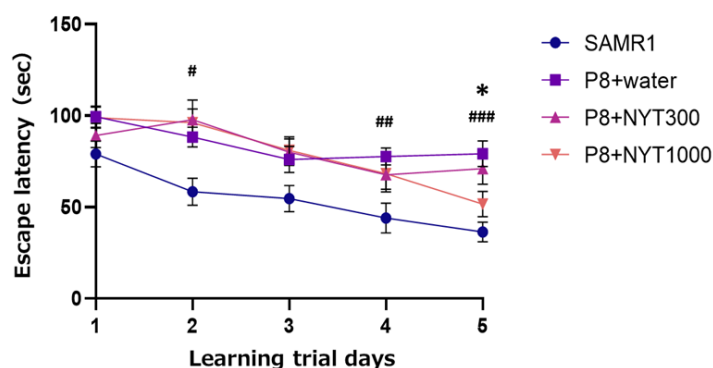


Fig. 6. Platform arrival time by 5-day water maze test. We evaluated learning and memory using the Morris water maze task. Three trials per day were analyzed for five days, and the data represent the average of the three trials. Data were subjected to

Tukey's multiple comparison tests after one-way ANOVA. #P<0.05, ##P<0.01, ###P<0.001 vs R1+water, *P<0.05 vs P8+water

Open-field test における SAMP8 マウスの総移動距離を Fig. 7 に示した。5 ヶ月齢の SAMP8 マウスにおいては、R1+water ならびに P8+water、P8+NYT300、P8+NYT1000 のどのグループ間においても、差は認められなかった。また、8.5 ヶ月齢においても同様の結果となった (Fig.7)。また、Open-field test における SAMP8 マウスの内側エリア滞在時間において、5 ヶ月齢の SAMP8 マウスでは、R1+water ならびに P8+water、P8+NYT300、P8+NYT1000 のどのグループ間においても、内側エリア滞在時間に差は認められなかった。また、老化が進行した 8.5 ヶ月齢においては、R1+water 群と比較して P8+water 群では、内側エリア滞在時間が有意に減少し、不安様行動の発現が認められた (Fig. 8)。しかし、この変化に対して人参養栄湯の 300 および 1000mg/kg 用量は共に影響を示さなかった。

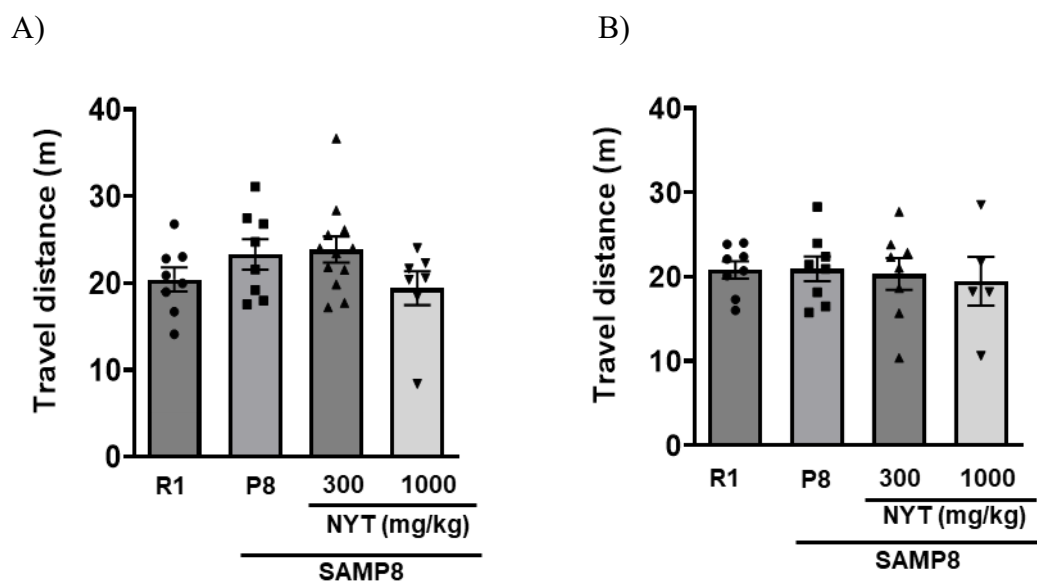


Fig. 7. Total distance of SAMP8 mice open-field test. We measured the moving distance for 10 minutes in the open-field. A) 5 months old, B) 8.5 months old

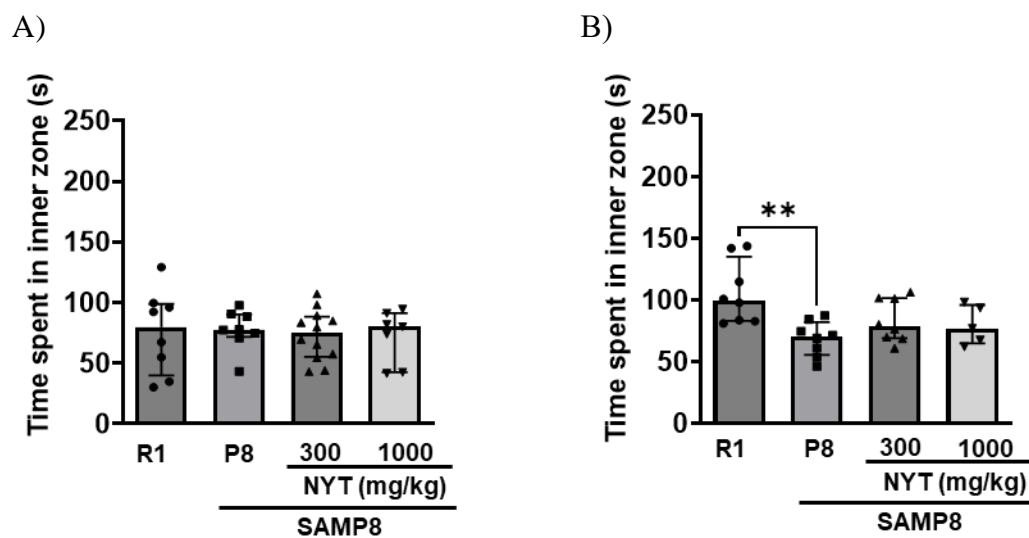


Fig. 8. Time spent in the inner zone of SAMP8 mice in open-field test. We measured the time spent in the inner zone of the open-field device and analyzed anxiety-like behavior. A) 5 months old, B) 8.5 months old. **p < 0.01. Data were subjected to Dunn's multiple comparison tests after one-way ANOVA. R1: SAMR1, P8: SAMP8

Sucrose splash テストにおける SAMP8 マウスの身繕い時間および身繕い回数を Fig. 9 に示した。R1+water と比較して P8+water では、身づくろい時間が有意に減少し、無気力様行動の発現が認められた。また、この減少は人参養栄湯 1000mg/kg の投与により、有意に改善された (Fig. 9)。このことから、無気力様症状に対して人参養栄湯は治療効果を有することが示唆された。一方、身繕い回数は、4 群間で有意な差は認められなかった。

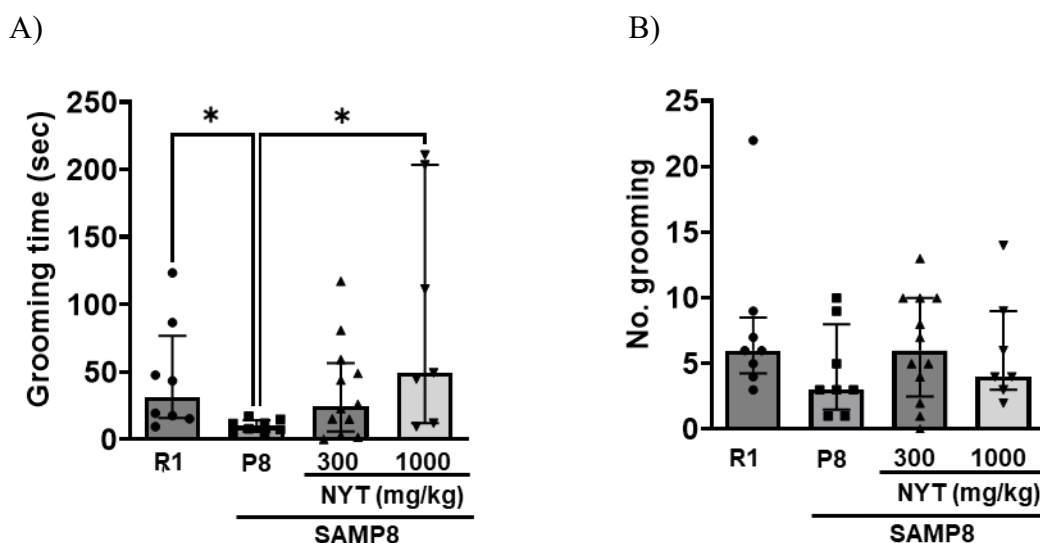


Fig. 9 Grooming time and number of SAMP8 mice in the sucrose splash test.

A) grooming time, B) grooming number * $p < 0.05$. one-way ANOVA. Dunn's multiple comparisons test R1: SAMR1, P8: SAMP8.

本章では、SAMP8 マウスの空間記憶障害と精神症状様行動に対する人参養栄湯の効果を検討した。SAMP8 マウスは空間記憶障害と無気力様行動、不安様行動を示し、人参養栄湯は空間記憶障害と無気力様行動を軽減した。一方、不安様行動に対して人参養栄湯は改善効果を示さなかった。このことから、人参養栄湯は、嗅覚障害だけでなく、記憶障害や精神症状の一部に有効であることが示唆された。

【総括】

ADの早期からの嗅覚障害発現と、嗅覚障害と認知機能障害の関連性は以前から報告されていたが⁽⁸⁾⁽⁹⁾、その病態の全貌は不明なままであり、予防・治療法も確立されていない。本研究では、ADモデルマウスであるSAMP8マウスの嗅覚障害の発現が明らかとなったことで、AD早期の嗅覚障害の病態を解明する糸口となる可能性が期待できた。更に、ADの嗅覚障害に対して人参養栄湯が有効であることが提案され、早期段階からの投与により記憶障害や無気力様行動などの中核症状や周辺症状の進行を予防する可能性も示された。本研究成果はADの嗅覚障害の病態解明に関する数少ない知見であり、人参養栄湯の治療効果に関する新たな科学的根拠となりえる。そして、AD患者の嗅覚障害の治療やADの進行抑制を目的として、人参養栄湯が臨床適応される可能性を示した。人参養栄湯はAD早期の嗅覚障害に対して、より安全性の高い新たな治療薬になり得る可能性が示された。

【参考文献】

1. Dan, Xiuli et al. "Olfactory dysfunction in aging and neurodegenerative diseases." *Ageing research reviews* vol. 70 (2021): 101416.
2. Rokot, Natasya Trivena et al. "A Role of Ginseng and Its Constituents in the Treatment of Central Nervous System Disorders." *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM* vol. 2016 (2016): 2614742.
3. Samper-Ternent, Rafael et al. "Relationship between frailty and cognitive decline in older Mexican Americans." *Journal of the American Geriatrics Society* vol. 56,10 (2008): 1845-52.
4. Kojima, Gotaro et al. "Frailty as a Predictor of Alzheimer Disease, Vascular Dementia, and All Dementia Among Community-Dwelling Older People: A Systematic Review and Meta-Analysis." *Journal of the American Medical Directors Association* vol. 17,10 (2016): 881-8.
5. Morley, John E et al. "The senescence accelerated mouse (SAMP8) as a model for oxidative stress and Alzheimer's disease." *Biochimica et biophysica acta* vol. 1822,5 (2012): 650-6.

6. Franklin KBJ, Paxinos G. The mouse brain in stereotaxic coordinates. Academic Press, 2007
7. Kouzuki, Minoru et al. "Comparison of olfactory and gustatory disorders in Alzheimer's disease." *Neurological sciences : official journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology* vol. 39,2 (2018): 321-328.
8. Djordjevic, Jelena et al. "Olfaction in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease." *Neurobiology of aging* vol. 29,5 (2008): 693-706.
9. Roberts, Rosebud O et al. "Association Between Olfactory Dysfunction and Amnesic Mild Cognitive Impairment and Alzheimer Disease Dementia." *JAMA neurology* vol. 73,1 (2016): 93-101.

審査の結果の要旨

アルツハイマー病 (Alzheimer's disease: AD) 患者では認知機能障害が緩徐に増悪していき、AD 脳ではアミロイド β の蓄積やリン酸化タウによる神経原繊維変化が年月をかけて増加することが知られている。また、認知機能低下が発症するより早い段階から嗅覚障害が認められることが報告されているが、その病態の全貌は明らかではない。この段階から医療介入を開始することで AD への進行抑制が期待される。人参養栄湯は、主に病後の体力低下や疲労倦怠、そしてそれに付随する、抑うつや無気力状態などの精神症状に対して処方されており、最近では高齢者の虚弱 (フレイル) や AD を含む認知症予防に関しても有効性が期待されている。しかし、その科学的根拠は乏しい。

本研究では、老化促進マウスである senescence-accelerated mouse prone 8 (SAMP8) マウスが、記憶障害や神経細胞数減少、さらにアミロイド β とリン酸化タウの増加を示し、その他にも AD と類似の病態変化を発現することから、AD モデルマウスとして実験を行った。第 1 章では、SAMP8 マウスの悪臭回避行動と嗅覚神経経路の神経細胞活性を解析し、AD 早期の嗅覚障害との類似性とその病態メカニズムを検討した。続く第 2 章では SAMP8 マウスの嗅覚障害に対する人参養栄湯の治療効果を解析し、人参養栄湯の嗅覚障害治療薬としての有用性を検討した。また、第 3 章では SAMP8 マウスの記憶障害や精神症状に対する人参養栄湯の治療効果を解析し、AD の中核症状である認知機能障害と周辺症状である無気力や不安症状に対する人参養栄湯の効果を検討した。

第 1 章 老化促進マウス (SAMP8 マウス) の嗅覚反応障害の検討

SAMP8 マウスが嗅覚障害の病態モデルとなるか否かの検討を目的として、様々な匂い物質に対する SAMP8 マウスの反応行動を解析した。さらに、嗅覚神経経路における神経活動の変化を検討した。その結果、SAMP8 マウスは SAMR1 マウスと比較してアルデヒド臭 (pentanal, hexanal, heptanal, n-octanal) に対する回避行動の低下が認められた。また、hexanal 暴露時の視床下部室傍核と扁桃体における c-fos 陽性細胞数が SAMP8 マウスで減少していることが認められた。これらの結果から、SAMP8 マウスでは嗅覚反応における視床下部室傍核と扁桃体での神経細胞活動低下が回避行動低下に関与することが示唆された。

第 2 章 SAMP8 マウスの嗅覚反応障害に対する人参養栄湯の検討

SAMP8 マウスの嗅覚障害に対する人参養栄湯の効果を検討するため、人参養栄湯のエキス剤を SAMP8 マウスに投与し、嗅覚反応の評価を行った。その結果、嗅覚嗜好テストにおいて、SAMP8 マウスの hexanal 回避行動低下を人参養栄湯は有意に抑制した。さらに、hexanal 暴露時の視床下部室傍核における c-fos 陽性細胞数減少を人参養栄湯が抑制する結果が認められた。このことから、人参養栄湯による悪臭回避行動低下

改善には、視床下部室傍核への嗅覚神経経路異常の改善が寄与することが示唆された。また、嗅覚識別テストでは、SAMP8 マウスの嗅覚識別障害に対する人参養栄湯の改善効果も認められた。MCI や AD 患者では、嗅覚識別能の障害が報告されていることから、本評価項目に関しても早期の AD 患者の嗅覚障害病態を反映していることが考えられ、人参養栄湯が治療薬として有効であることが示唆された。

第3章 SAMP8 マウスの記憶障害・精神様症状に対する人参養栄湯の効果検討

モリス水迷路課題を用いた学習記憶障害の評価、Open-field テストを用いた不安様行動の評価ならびに Sucrose splash テストによる無気力様行動の評価を行った。その結果、水迷路試験では、人参養栄湯の投与により学習記憶の獲得障害は予防される可能性があることが示唆された。Open-field test ではどのグループ間においても、差は認められなかったが、Sucrose splash テストにおける SAMP8 マウスの身繕い時間および身繕い回数を人参養栄湯 1000mg/kg の投与により有意に改善された。このことから、無気力様症状に対して人参養栄湯は治療効果を有することが示唆された。

本研究で、AD モデルマウスである SAMP8 マウスの嗅覚障害の発現が明らかとなったことで、AD 早期の嗅覚障害の病態を解明する糸口となる可能性が期待できた。更に、AD の嗅覚障害に対して人参養栄湯が有効であることが提案され、早期段階からの投与により記憶障害や無気力様行動などの中核症状や周辺症状の進行を予防する可能性も示された。本研究成果は AD の嗅覚障害の病態解明に関する数少ない知見であり、人参養栄湯の治療効果に関する新たな科学的根拠となりえる。そして、AD 患者の嗅覚障害の治療や AD の進行抑制を目的として、人参養栄湯が臨床適応される可能性を示した。人参養栄湯は AD 早期の嗅覚障害に対して、より安全性の高い新たな治療薬になり得る可能性が示された。

平田茉莉花、本人はフレイルの概念に興味を持ち、一旦発症するともはや治癒の可能性の低い AD 認知症を、未病領域での早期発見、早期治療、さらには認知症にならないための日頃からの漢方治療を目指して研究を行ってきた。嗅覚異常は臨床でも前向き研究として展開可能で AD 患者の早期発見ならびに人参養栄湯による治療に貢献するものと期待される。本人は新しく設置した、いわゆる PharmD 構想の一貫としてこの研究を実際の臨床に生かすべく、まずは福岡大学病院薬剤部で高度臨地実習を開始している。本論文については公聴会での発表態度、分かりやすい発表内容とスライド提示、質疑に対する応答も活発で問題なく完了した。従って本論文を薬学研究科の博士論文として承認する。