

I-1 認知機能維持、ロコモティブシンドロームの予防、 あるいは頸椎症性脊髄症に有効な和漢薬の 臨床研究と製品開発

学術研究部薬学・和漢系（和漢医薬学総合研究所） 教授 東田千尋

協力者

学術研究部薬学・和漢系（和漢医薬学総合研究所） 助教 稲田祐奈

学術研究部薬学・和漢系（和漢医薬学総合研究所） 助教 楊熙蒙

研究目的

高齢化社会に直面している今、脳の衰えと身体の衰えをいかにくい止め、健康寿命を延伸させられるが大きな課題となっている。本研究は以下の3つの疾病に対して有効な薬物を開発することを目的としている。

増加し続ける認知症に対する対策は世界的急務であるが、現状、認知障害に有効な薬は開発されていない。また加齢に伴う運動器の衰えであるロコモティブシンドロームは、運動介入、食事療法が主体であり、それらの効果の程度は極めて限定的である。頸椎症性脊髄症は、頸椎脊柱管の狭い状態での頸椎の加齢性変化による脊髄圧迫によって脊髄麻痺（四肢のしびれ感、手指の巧緻運動障害、歩行障害、膀胱障害）を発症する疾患の総称であり、頸椎圧迫が生じる割合は年齢とともに増加し60歳以上では20%を超える。頸椎圧迫が高度の場合は手術適用となり、薬物療法としては鎮痛薬などの対症療法しかない。手術で圧迫を除去しても、それまでに進行した神経細胞のダメージによる機能障害は回復せず、根本的治療となるような機能改善薬の開発が望まれている。

以上の現状を解決するために本研究では、認知機能を維持する薬物として山薬エキスの基礎研究と臨床研究、ロコモティブシンドロームを予防する薬物としてニクジュヨウエキスの臨床研究、頸椎症性脊髄症に対するニクジュヨウエキスの効果を検討する基礎研究と臨床研究を進め、それぞれを治療薬として開発することを目指している。基礎研究でのメカニズム解明と並行させ、ヒトでの有効性と安全性のエビデンスを得て、かつ分担者・小松が進める、適切な生薬選定をすることで、単味生薬エキスとして医薬品へと開発するために必要なデータを蓄積する。

研究結果

1. 山薬に関する研究

1-1 ジオスゲニン高濃度山薬エキスによる臨床研究

<研究の背景および目的>

研究代表者・東田のこれまでの研究によって、ジオスゲニンが、アルツハイマー病モデ

ルマウスの記憶障害を顕著に改善し(1)、さらに正常マウスの認知機能をも高めることが明らかになった(2)。ジオスゲニンの特徴として、アルツハイマー病モデルマウス脳内のアミロイド凝集や神経原線維変化を減少させる作用を示すとともに、軸索変性を修復する作用がある(1)。これは現在の標準治療や開発中の候補薬にはない特性であり、認知機能の改善により効果が期待できる可能性がある。

昨年度に示したように、通常の高麗水エキスにはジオスゲニンが含有されず、認知機能に対する効果が期待できないため(3)、東田が以前に健常人を対象として行った臨床試験では、特定の製法によりジオスゲニンの含有量を16%にコントロールした高麗エキスを用いた。高麗は食薬区分において“医薬品的効能効果を標ぼうしない限り医薬品と判断しない成分本質”に区分されるため、その臨床研究では、ジオスゲニン含量が定量され、安全性が担保された食品素材として市販されている山芋エキスをソフトカプセルに充填した剤形とし、20歳から81歳までの健常人を対象とした臨床試験を実施した(2016年3月-2016年12月実施)(4)。ランダム化二重盲検クロスオーバー試験を行った結果、山芋エキス投与群ではプラセボ投与群と比較して有意に認知機能(RBANS試験の総指標得点により評価)が向上した。被験者を47歳未満・以上あるいは60歳未満・以上で層別解析すると、47歳以上および60歳以上の山芋エキス投与群で有意にRBANS総指標得点が増加した。試験期間中は一般血液検査も行い副作用の有無を検討したが、山芋エキス投与あるいはプラセボ投与により悪化した項目は見られなかった。この健常人での臨床研究の成果に基づき、本研究では認知機能障害の患者での同エキスの効果を検証する。将来的には、ジオスゲニンを一定量含有する高麗エキスを、単味生薬エキスとして医療用医薬品へ開発することを目指している。

<研究計画及び研究結果>

研究計画

以下の通り特定臨床研究「軽度認知障害および軽度アルツハイマー型認知症における山芋エキスの有効性を検討するランダム化二重盲検群間比較試験」を計画し、富山大学倫理委員会の承認を得て厚生労働大臣への届出を行った(臨床研究実施計画番号:jRCTs041200036)。

I. 適格性基準

- 1) 選択基準: 以下の基準に該当する患者を、本研究に組み入れる。
 - ・ 同意日の年齢が40歳以上85歳以下の方。
 - ・ 富山大学杉谷キャンパス内で行われる検査に参加可能な方。
 - ・ DSM-5による、軽度認知障害または軽度アルツハイマー病の診断基準を満たす方。軽度アルツハイマー病患者の場合、コリンエステラーゼ阻害薬(アリセプト、レミニール、またはリバスタッチ)のみの服用をしている方。

- ・スクリーニング時の簡易認知機能検査（Mini-Mental State Examination: MMSE）スコアが20点以上の方。
- ・臨床検査用の血液検体提供に同意する方。
- ・本人が試験薬の摂取可能で、本人または家族が試験薬の服薬管理をできる方。
- ・試験期間中は市販の山芋エキス製品を服用しないことに同意する方。
- ・試験期間中は運動習慣、食習慣等の生活習慣の極端な変更をしないことに同意する方。

2) 除外基準：以下の基準のいずれかに該当する患者は、本研究に組み入れない。

- ・神経発達症群、統合失調症スペクトラム障害および他の精神病性障害群、双極性障害および関連障害群、食行動障害および接食障害群、パーソナリティ障害群の患者の方。
- ・同意3か月以内に、コントロール不能で臨床的に問題のある健康状態（糖尿病、高血圧、甲状腺／内分泌疾患、うっ血性心不全、狭心症、心疾患、エストロゲンにより悪化する可能性のあるがん疾患（乳がん、子宮がん、卵巣がん等）、胃腸疾患、透析又は腎機能異常等）であった方。
- ・アルコールおよび薬物乱用の既往歴のある方
- ・山芋アレルギーの既往のある方
- ・他の介入臨床試験に参加中の方
- ・その他、研究担当者が被験者として不相当と判断した方

II. 試験薬による介入（二重盲検）

以下の通り投与する

プラセボ群：プラセボカプセルを1回につき3カプセルを、1日に2回（6カプセル/日）、水または白湯で飲む。これを24週間、毎日続ける。

試験薬群：試験薬カプセルを1回につき3カプセルを、1日に2回（6カプセル/日）、水または白湯で飲む。これを24週間、毎日続ける。

試験薬の用量

山芋エキスを添加剤とともにカプセル製剤化した試験薬カプセルを準備した。16.7 mg エキス/カプセル（ジオスゲニン量に換算すると 2.67 mg/カプセル）の量とした。プラセボ群用には、添加剤のみを入れたプラセボカプセルを準備した。

III. 目標症例数

合計 40 例 （プラセボ群 20 例、試験薬群 20 例）

IV. 主要評価項目

- 1) Mini Mental State Examination (MMSE)の質問項目の得点の合計を算出し、投与前後の得点の変化量を算出して群間比較する。
- 2) Alzheimer's Disease Assessment Scale-cognitive subscale (ADAS-cog)を用い、記憶、言語、行為の3領域12項目（単語再生、単語遅延再生、口頭言語能力、言語の聴覚的理解、自発話における喚語困難、口頭命令に従う、手指及び物品呼称、構成行為、観念運動、見当識、単語再認、テスト教示の再生能力）の機能評価を行なう。これに加えて、前頭葉機能をより詳細に評価するため、Verbal Fluency Test (VFT) による「言語流暢性」の評価を行う。それぞれについて、投与前後の得点の変化量を算出し、群間比較する。

V. 副次評価項目

- 1) 血漿 NF-L の定量を行う。NF-L は軸索を構成する中間系線維の一つであり、軸索変性に伴って血中に増えかつ安定的に検出され、しかもアルツハイマー病発症前から徐々に血漿中に増加し始めることが知られているバイオマーカーである(18)。これは副次的有効性評価項目ではあるが、被験者脳内の神経軸索が器質的に修復されるかどうかを判断するものである。
- 2) 血漿 A β 42 および A β 40 の定量を行い A β 42/40 の比を求める。
- 3) 血漿 GFAP の定量を行う。

VI. 安全性評価項目

- 1) 一般血液検査
- 2) 有害事象

VII. 併用許可薬剤

被験者が軽度アルツハイマー病患者の場合、研究期間中、以下の薬剤の併用を許可する。コリンエステラーゼ阻害薬（アリセプト、レミニール、リバスタッチ）

VIII. 研究の実施体制

研究責任医師

鈴木道雄（富山大学附属病院・神経精神科・教授）

研究分担医師

笹林大樹（富山大学附属病院・神経精神科・助教）

データマネジメント担当者

伊東裕子、嶋岡由枝（富山大学附属病院 臨床研究管理センター）

統計解析担当者

稲田祐奈（富山大学 和漢医薬学総合研究所・神経機能学・助教）

モニタリング担当責任者

稲垣晶一（富山大学附属病院 臨床研究管理センター）

研究責任医師以外の研究を総括する者：

東田千尋（富山大学 和漢医薬学総合研究所・神経機能学・教授）

研究協力者（認知機能試験実施担当）：

稲田祐奈（富山大学 和漢医薬学総合研究所・神経機能学・助教）

研究結果

2020年8月より被験者リクルートを開始しており、2020年12月には症例登録が開始された。2022年1月28日現在の症例組み入れ数は37名である。引き続き、症例登録と試験実施、および研究全体のモニタリングを継続的に行っている。副次評価項目の血漿NF-L、血漿Aβ42およびAβ40の定量、血漿GFAPの測定は、被験者の全てのvisitが終了するまで血漿サンプルを保存し一斉定量を行う。またこれらの定量には超高感度ELISAでの測定が必須であるため、専用プレート（Simoa Human Neurology 4-Plex Eプレート）の準備を行った。

2. ニクジュヨウに関する研究

2-1 ニクジュヨウエキスによるロコモティブシンドロームに対する臨床研究

<研究結果>

昨年度に実施した、ロコモティブシンドロームに対するニクジュヨウエキスの効果を評価する臨床研究の結果を論文にまとめた(5)。この論文は、ニクジュヨウエキスが単味生薬エキスガイダンスに掲載されるかどうかのエビデンス調査の対象となっている。

2-2 ニクジュヨウエキスによる頸椎症性脊髄症に対する臨床研究

<研究の背景および目的>

頸椎症性脊髄症は、頸椎脊柱管の狭い状態での頸椎の加齢性変化による脊髄圧迫によって脊髄麻痺を発症する疾患の総称であり、頸椎圧迫が生じる割合は年齢とともに増加し60歳以上では20%を超える。脊髄が圧迫されることにより、手先の動作が不器用になる、歩行で脚がもつれる、手足がしびれるといった症状が出る。診断は、神経学的所見、重症度の頸椎JOAスコア（日本整形外科頸椎症治療判定基準）およびJOA Cervical Myelopathy Evaluation Questionnaireによる評価、X線やMRIによる画像診断などによって総合的に判断する。

MRI診断により脊髄の圧迫が高度な場合や、後述する保存療法に抵抗性である場合は、手術適用により圧迫を除去する。保存療法のうち薬物治療は、消炎鎮痛剤、ビタミン12、筋弛緩剤、抗不安薬、プロスタグランジン製剤、ステロイドなどだが、これらが脊髄症状

に有効であるという報告はない(6)。頸椎カラー装着や頸椎牽引療法による保護療法も取られる場合がある。

頸椎症性脊髄症を未治療のままの場合の予後については、患者の 75%が外傷などで症状が悪化、20%が徐々に悪化、5%が急速な悪化となり、自然治癒はまずない(7)。保存療法では、改善 24%、不変 14%、悪化 62%であり、有効であるとは言えない(8)。よってこれまで有効とされる投薬などの治療はないとされてきた。

頸椎症性脊髄症では脊髄が圧迫されており、Hori らの *microstructural MRI* 解析による定量では、頸椎症性脊髄症患者では健常人と比較すると、髄鞘には変化がないが軸索が変性している(細くなっている)ことが示されている(9)。Murphy らの *diffusion basis spectrum imaging* による解析でも、頸椎症性脊髄症の重症度に応じて軸索容量が減少することが示されている(10)。頸椎症性脊髄症の主たる臨床症状である運動機能の低下や感覚機能の低下は、脊髄中を走行する軸索の機能不全によってもたらされていることは明らかであるが、頸椎症性脊髄症の治療研究として「変性した軸索を修復する介入法」が試された例は、ヒトにおいても動物モデルにおいても未だない。

東田はこれまで、脊髄損傷の受傷後慢性期からの投与で、運動機能を改善する薬物の探索研究を行い、生薬「ニクジュヨウエキス」に有望な活性を見出した。ニクジュヨウエキスを脊髄損傷慢性期のマウスに経口投与あるいは後肢骨格筋注射すると、関節の動きや歩行機能といった運動機能が有意に改善し萎縮した骨格筋重量も回復することを見出した。ニクジュヨウエキス中の活性を担う成分が「アクテオシド」であることも見出し、アクテオシドの投与によっても同様に運動機能の改善と筋萎縮改善が認められた(11)。アクテオシド投与群の脊髄中では、軸索密度、および軸索と運動神経間のシナプス結合が有意に増しており、アクテオシドが脊髄内の軸索修復を可能にする成分であることが示された。また、後肢不動化による廃用性筋萎縮を呈したマウスに対しニクジュヨウエキスを経口投与すると、歩行機能が有意に改善することも見出した(12)。

さらに東田は、「ロコモティブシンドロームに対するニクジュヨウエキスの予防及び改善効果の研究」(UMIN000036275)をランダム化二重盲検により実施し、ニクジュヨウエキス(1800 mg/日)の 12 週間の経口服用により歩行機能の有意な良化作用と、特に副作用は見られないという結果を見出した(5)。

東田によるこれまでの基礎研究、および臨床研究の結果を総合して考えると、ニクジュヨウエキスの経口投与により、軸索変性が修復され運動機能が改善することが示唆された。またヒトにおける安全性も示された。これらの結果から、頸椎症性脊髄症に対してもニクジュヨウエキス経口投与が有効である可能性を考え、本研究は、頸椎症性脊髄症の被験者を対象として、アクテオシドが一定量含有されているニクジュヨウエキスによる頸椎症性脊髄症の機能改善作用を検討することを目的とする。対症療法ではなく頸椎症性脊髄症を根本的に治療できる効果をニクジュヨウエキスに見出すことができれば、多くの患者が存在する頸椎症性脊髄症の治療に大きく貢献する薬剤開発へとつながる。

＜研究計画および研究結果＞

研究計画

以下の通り、特定臨床研究「頸椎症性脊髄症に対するニクジュヨウエキスの有効性を検討するランダム化二重盲検群間比較試験」を計画し、富山大学倫理委員会の承認を受け実施している（jRCTs041200080）。

I. 適格性基準

- 1) 選択基準：以下の基準を全て満たす患者を対象とする。
 - ・同意日の年齢が40歳以上85歳以下の方。
 - ・富山大学附属病院で行われる検査に参加可能な方。
 - ・身体診察によって、頸椎症性脊髄症の診断基準を満たす方。
 - ・スクリーニング時の頸椎 JOA スコアがおおむね8点以上かつ15点以下の方。
 - ・臨床検査用の血液検体提供に同意する方。
 - ・本人が試験薬の摂取可能で、本人または家族が試験薬の服薬管理をできる方。
 - ・試験期間中は運動習慣、食習慣等の生活習慣の極端な変更をしないことに同意する方。

- 2) 除外基準：以下のうち一つでも該当する患者は、対象として除外する。
 - ・同意を頂けない方。
 - ・同意3か月以内に、コントロール不能で臨床的に問題のある健康状態（糖尿病、高血圧、甲状腺／内分泌疾患、うっ血性心不全、狭心症、心疾患、がん等）、胃腸疾患、透析又は腎機能異常等）であった方。
 - ・アルコールおよび薬物乱用の既往歴のある方。
 - ・他の介入臨床試験に参加中の方。
 - ・スクリーニング時の頸椎 JOA スコアが16点以上で頸髄症がごく軽度の方。
 - ・スクリーニング時の頸椎 JOA スコアが7点以下で頸髄症が重篤であり、早期に手術が必要であると判断された方。
 - ・その他、研究担当者が被験者として不適当と判断した方。

II. 試験薬による介入（二重盲検）

プラセボ群：

プラセボ混合末を1日1回1包、服薬ゼリーに混ぜて飲む。これを24週間、毎日続ける。

試験薬群：

試験薬混合末を1日1回1包、服薬ゼリーに混ぜて飲む。これを24週間、毎日続ける。

1日摂取量（1包）あたり、ニクジュヨウエキス2400mg。

III. 目標症例数

合計 40 例 (プラセボ 群 20 例、試験薬 群 20 例)

IV. 主要評価項目

- 1) 頸椎 JOA スコア (日本整形外科頸椎症治療判定基準) および JOACMEQ (JOA Cervical Myelopathy Evaluation Questionnaire) の得点の合計を算出し、投与前、投与後 12 週間(3 か月)、24 週間(6 か月)の時点での得点の変化量を算出して群間比較する。
- 2) 身体診察所見 (10 秒テストの回数、握力) を投与前、投与前、投与後 12 週間(3 か月)、24 週間(6 か月)の時点での得点の変化量を算出して群間比較する。
- 3) EQ-5D (日本語版 EuroQol) の得点の合計を算出し、投与前、投与前、投与後 12 週間(3 か月)、24 週間(6 か月)の時点での得点の変化量を算出して群間比較する。
- 4) VAS (Visual Analog Scale) を投与前、投与後 12 週間(3 か月)、24 週間(6 か月)の時点での評定の変化量を算出して群間比較する。

プラセボ群と試験薬群それぞれにおいて、試験薬服用前と、服用後 12 週間後、服用終了後 (24 週間後) の間での値の変化量を求める。それらの平均値を群間比較するために、repeated measures two-way ANOVA により対応のない 2 群間の有意差検定を行う。有意水準は 0.05 とする。また、被験者個人の服用前、服用後 12 週間後、服用終了後 (24 週間後) の主要評価項目検査値を、群内で平均値化し、Dunn's multiple comparisons test により対応のある 3 点での有意差検定を行う。それをプラセボ群と、試験薬群それぞれで行い、群によって有意な変化の現れ方に違いがあるかを検証する。有意水準は 0.05 とする。

V. 副次評価項目

- ・単純レントゲン、MRI の所見を定性的に比較する。

VI. 安全性評価項目

- 1) 一般血液検査
- 2) 有害事象

VII. 研究の実施体制

研究責任医師

川口善治 (富山大学附属病院整形外科・教授)

その他の研究分担医師 (富山大学附属病院整形外科)

データマネジメント担当者

伊東裕子、嶋岡由枝 (富山大学附属病院 臨床研究管理センター)

統計解析担当者

稲田祐奈（富山大学 和漢医薬学総合研究所・神経機能学・助教）
モニタリング担当責任者

稲垣晶一（富山大学附属病院 臨床研究管理センター）
研究責任医師以外の研究総括者

東田千尋（富山大学 和漢医薬学総合研究所・神経機能学・教授）

研究結果

2022年1月17日現在、適格基準に合致し組み入れとなった被験者は18名である。想定した組み入れペースよりも早く進行している。引き続き、症例登録と試験実施、および研究全体のモニタリングを継続的に行っている。

2-3 ニクジュヨウエキスによる頸椎症性脊髄症に対する基礎研究

<研究の背景および目的>

臨床研究と並行して、頸椎症性脊髄症におけるニクジュヨウエキスの改善効果を動物レベルで検討し、さらにはその作用機序の詳細を解析するためには動物モデルが必要である。慢性的に脊髄を圧迫することで作製する頸椎症性脊髄症のげっ歯類モデルは報告例が少なく、またいずれも機能障害が発現するまでに1か月から数か月を要する点や、運動機能と感覚機能の両方を評価している例が極めて少ないといった課題がある。そこで、より早期から運動障害と感覚障害を安定的に表出させる新しいモデルマウスを確立することとした。

<研究結果>

マウスの頸椎を露出させ、損傷させずに慢性圧迫する方法を種々基礎検討中である。また、前肢と後肢の運動機能や筋力を評価する方法として、modified inclined grid test (13)やinverted grid test、握力測定を検討中である。感覚機能の評価は、Von Frey Filamentによる痛覚過敏とアロディニアの測定、hot plate testによる痛覚過敏の測定などを検討中である。

参考文献

- (1) Tohda C, Urano T, Umezaki M, Nemere I, Kuboyama T. Diosgenin is an exogenous activator of 1,25D3-MARRS/Pdia3/ERp57 and improves Alzheimer's disease pathologies in
- (2) Tohda C, Lee YA, Goto Y, Nemere I. Diosgenin-induced cognitive enhancement in normal mice is mediated by 1,25D3-MARRS. *Sci Rep.* 2013;3:3395.
- (3) Yang X, Nomoto K, Tohda C. Diosgenin content is a novel criterion to assess memory

- enhancement effect of yam extracts. *J Nat Med.* 2021;75(1):207-216.
- (4) Tohda C, Yang X, Matsui M, Inada Y, Kadomoto E, Nakada S, Watari H, Shibahara N. Diosgenin-Rich Yam Extract Enhances Cognitive Function: A placebo-controlled, randomized, double-blind, crossover study of healthy adults. *Nutrients.* 2017;9(10):1160.
- (5) Inada Y, Tohda C, Yang X. Effects of *Cistanche tubulosa* Wight extract on locomotive syndrome: a placebo-controlled, randomized, double-blind study. *Nutrients.* (2021) 13: 264.
- (6) 田中雅人、杉本佳久、三澤治夫、高畑智宏、尾崎敏文. 頤椎症性脊髄症の診療ガイドライン. 岡山医学会雑誌 (2010) 122:67-71.
- (7) Schmidt MH, Quinones-Hinojosa A, Rosenberg WS. Cervical myelopathy associated with degenerative spine disease and ossification of the posterior longitudinal ligament. *Semin Neurol.* 2002 Jun;22(2):143-148.
- (8) 吉松弘喜、永田見生、後藤博史、菌田恭輔、久保学、井本浩樹、西田俊晴、真島武、高宮啓彰、井上明生. 過去3年間における頤椎症性脊髄症の非手術症例の検討. 整形外科と災害外科 (2000) 49:1006-1010.
- (9) Hori M, Hagiwara A, Fukunaga I, Ueda R, Kamiya K, Suzuki Y, Liu W, Murata K, Takamura T, Hamasaki N, Irie R, Kamagata K, Kumamaru KK, Suzuki M, Aoki S. Application of quantitative microstructural MR imaging with atlas-based analysis for the spinal cord in cervical spondylotic myopathy. *Scientific Reports* (2018) 8:5213.
- (10) Murphy RK, Sun P, Xu J, Wang Y, Sullivan S, Gamble P, Wagner J, Wright NN, Dorward IG, Riew D, Santiago P, Kelly MP, Trinka K, Ray WZ, Song SK. Magnetic Resonance Imaging Biomarker of Axon Loss Reflects Cervical Spondylotic Myelopathy Severity. *Spine* (2016) 41(9):751-756.
- (11) Kodani A, Kikuchi T, Tohda C. Acteoside improves muscle atrophy and motor function by inducing new myokine secretion in chronic spinal cord injury. *J Neurotrauma* (2019) 36(12):1935-1948.
- (12) Kimbara Y, Shimada Y, Kuboyama T, Tohda C. *Cistanche tubulosa* (Schenk) Wight extract enhances hindlimb performance and attenuates myosin heavy chain IId/IIx expression in cast-immobilized mice. *Evid Based Complement Alternat Med.* (2019) 2019:9283171.
- (13) Suyama M, Nagase-Iki T, Tohda C. New Evaluation Methods with High Sensitivity for Motor Function of the Ossification of the Posterior Longitudinal Ligament in ttw/ttw Mouse Model. *Neurochem J.* (2022) in press.