

機関番号：32305

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008 年度～2010 年度

課題番号：20580180

研究課題名(和文) きのこ(ヒカゲシビレタケ)を活用した神経疾患改善剤の開発

研究課題名(英文) Development of neurological disease remedy using mushroom (*Psilocybe argenticipes*)

研究代表者

江口 文陽 (EGUCHI FUMIO)

高崎健康福祉大学・健康福祉学部・教授

研究者番号：60337467

研究成果の概要(和文): ヒカゲシビレタケ菌糸体の生理学的特徴を明らかにした。また、ヒカゲシビレタケは、強迫性障害の治療に有用であることを明確にした。その作用機序の1つは脳内モノアミンの挙動へ与える影響であることを突き止めた。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に貢献するものである。

研究成果の概要(英文): I clarified the physiology characteristic about the mycelium of the *Psilocybe argenticipes*. *Psilocybe argenticipes* as the therapeutic drug of the obsessive-compulsive disorder is possible. One of the mechanism was action to the monoamine in the brain. This study was a result to help treatment of the obsessive-compulsive disorder.

交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：森林学・木質科学

キーワード：きのこ、シロシビン、シロシン、ヒカゲシビレタケ、マジック・マッシュルーム、抗うつ薬、担子菌類、神経系疾患

## 1. 研究開始当初の背景

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

ようとする考え方もつ「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」、「クエチアピン」、「オランザピン」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 argentipes* 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。このような背景から本実験に着手した。

## 2. 研究の目的

ヒカゲシビレタケ(*Psilocybe argentipes* K.Yokoyama)は、日本を代表する催幻覚性きのこの1種である。本菌は催幻覚性物質としてシロシピンとシロシンを産生する。これらは血液脳関門を通過することが可能であり、脳内のセロトニン(5-hydroxytryptamine: 5-HT)<sub>1A</sub>受容体、5-HT<sub>2A/2C</sub>受容体へ選択的に亢進作用を呈することが明らかとなっている。なお、シロシピンとシロシンによる催幻覚作用は、5-HT<sub>2A</sub>受容体に対する亢進作用が大きく関与することが明らかとなっている。Leonard HL and Rapoport JL (1987), Moreno FA and Delgado PL (1997)は、シロシピン群産生きのこが強迫性障害(Obsessive

compulsive disorder: OCD)の治療に効果を示した事例を報告した。OCDは、強迫的な観念により特定の行動を一定の回数行わなければならない特徴を持ち、重篤な症状では一般生活を送ることが困難となる難治療性の神経系疾患である。現在OCDの薬物治療には、選択的セロトニン再取り込み阻害薬が第一選択薬として用いられているが、半数近くの患者において満足な治療結果は得られていない。したがって有用な新規医薬品の開発が望まれている。ヒカゲシビレタケに代表される催幻覚性きのこはシロシピンとシロシンをはじめとしてプフォテニン、ペオシスチン等脳内神経系へ影響を与える物質を複数産生するという特徴を持ち、難治療性の神経系疾患治療における新たな選択枝となりうることを考える。しかし、催幻覚性きのこは食用としての利用が期待できないため、研究対象とされることは稀であり、心理療法以外に医薬品としての可能性は検討されていない。またヒカゲシビレタケは、日本では「麻薬及び向精神薬取締法」により採取、所持、栽培、売買、摂取などが規制され、その生理学的特徴は未解明な部分が大きい。しかし、きのこの研究において培養、実験環境を整えるために菌糸特性を把握することは必須である。以上のことから、ヒカゲシビレタケ菌糸体の栄養要求性、物理的要求性の解明、菌糸体の凍結保存方法の確立、脳内モノアミンの挙動へ与える影響の解明、OCDの動物モデルであるげっ歯類の玉覆い隠し行動へ与える影響についての検討、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。

## 3. 研究の方法

### (1) 催幻覚性きのこの研究に関する調査

催幻覚性きのこに関する世界各国の情報を文献より網羅的に調査をすることを実施した。

### (2) ヒカゲシビレタケの菌糸体培養

菌糸体培養に関する物理的・化学的栽培条件や生理学的なポイントについて詳細に培養法を改変して検索した。

### (3) 菌株保存法の確立

凍結保存に関する諸条件を詳細に検討し、シロシンやシロシピンの産生能が良好な菌株保存法を検索した。

### (4) 菌糸体からの催幻覚性物質の抽出および治療薬としての有用物質の単離

培養菌糸体より溶媒や抽出条件を変えての抽出効率などを解析し、その物質の機能効果を計量した。

### (5) マウスの玉覆い隠し行動試験

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。

#### 4. 研究成果

##### (1) 催幻覚性きのこの研究の調査

網羅的な調査研究をもとに催幻覚性きのこのに関する世界の研究動向を総説として学術雑誌に掲載した。

##### (2) 菌糸体培養系の確立

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体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体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体成長を示した。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体成長が良好であることが明らかとなった。本菌は10-35 °Cの条件下において生存が可能であり、至適成長温度は30 °C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(図1)の培養条件を確立した。なお、各条件で優れた菌糸体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。



図1 ヒカゲシビレタケの菌糸体(液体培養菌)

##### (2) 菌株保存法の確立

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 °C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。

##### (3) 脳内神経系への影響

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行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代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。

##### (4) 研究成果ポイントと今後の可能性

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が明らかとなった。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する。

特に本研究のポイントは、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す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を明確にしたこと。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るが、投与 12 時間後までに回復することを明らかにしたこと。その作用は、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ことである。

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、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た。

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確信している。

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り、科学研究費補助金の有効的な活用による成果を得たものとする。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 8 件)

- 1) Consideration of Mushroom Functionality, Fumio EGUCHI, Noriko MIYAZAWA, Takahide MATSUDA, *Mushroom Science and Biotechnology*, 19(1)29-31(2011) 【査読有】.
- 2) 消費者のきのこに対する意識調査と新規利用法の開発、関根加奈子、鷲見亮、森伸夫、吉本博明、江口文陽、家政学会誌、

- 62(1)3-11(2011) 【査読有】.
- 3) 健康増進を考慮したきのこの活用法、柿沼亜希子、江口文陽、日本家政学会誌、61 巻 pp. 45-46(2010) 【査読無】.
- 4) *Coprinus comatus*, a newly domesticated wild nutraceutical mushroom in the Philippines: Reyes, R.G., Lopez, L.L.M.A., Kumakura, K., Kalaw, S.P., Kikukawa, T. and Eguchi, F.: *An International Journal of Agricultural Technology*, 5(2), 299-316(2009) 【査読有】.
- 5) Status and Prospects of Medicinal Mushroom Cultivation in Central Luzon Region of the Philippines: Renato G. Reyes, Sofronio P. Kalaw, Arce D. Bellere, Hiroaki Yoshimoto, Tadahiro Kikukawa, Miyato Higaki and Fumio Eguchi: *Mushroom Science and Biotechnology*, 17(2)87-89 (2009) 【査読無】.
- 6) Effects of *Psilocybe argentipes* on marble-burying behavior in mice: Yoshihiro Matsushima, Osamu Shiota, Ruri Kikura-Hanajiri, Yukihiko Goda, Fumio Eguchi: *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 73(8), 1866-1868 (2009) 【査読有】.
- 7) Mycelial Growth Requirements of *Psilocybe argentipes*: Yoshihiro Matsushima, Makoto Tanaka, and Fumio Eguchi: *Pharmacometrics*, 75(5/6)97-103(2009) 【査読有】.
- 8) Historical overview of psychoactive mushrooms: Yoshihiro Matsushima, Fumio Eguchi, Tadahiro Kikukawa and Takahide Matsuda: *Inflammation and Regeneration*, 29(1)38-47(2009) 【査読有】.

〔学会発表〕(計 6 件)

- 1) 中枢神経に作用するきのこ最前線…スギヒラタケからヒカゲシビレタケまで…、江口文陽、日本きのこ学会第 13 回ワークショップ(岐阜)2011 年 3 月
- 2) ヒカゲシビレタケの菌株保存法の検討、松島良紘、吉本博明、江口文陽、第 14 回日本きのこ学会(東京)2010 年 9 月
- 3) スギヒラタケ熱水抽出物中に含まれる健康危害物質の生体への影響、江口文陽、松島良紘、吉本博明、第 60 回日本木材学会大会(宮崎)2010 年 3 月
- 4) ヒカゲシビレタケの行動薬理的試験、松島良紘、江口文陽、第 11 回応用薬理シンポジウム、(静岡)2009 年 9 月
- 5) ヒカゲシビレタケのプロトプラスト再生株のシロシン・シロシピンの産生能の解析、田中芳枝、松島良紘、江口文陽、第 13 回日本きのこ学会(兵庫)2009 年 9 月
- 6) ヒカゲシビレタケがマウスの玉覆い隠し

行動へ与える影響 - 脳内受容体亢進作用の働き -、松島良紘、江口文陽、第 13 回日本きのこ学会（兵庫）2009 年 9 月

〔その他〕

ホームページ等

(1)

<http://www.takasaki-u.ac.jp/dept/eiyo/teacher/details.php?C=1042>

(2)

<http://egclab.blog10.fc2.com/>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

江口 文陽（EGUCHI FUMIO）

高崎健康福祉大学・健康福祉学部・教授

研究者番号：60337467