

明 細 書

発明の名称：

生薬を用いた脳機能の維持又は改善のための剤及び方法

技術分野

[0001] 本発明は、生薬を用いた脳機能の維持若しくは改善、神経細胞の修復促進若しくは神経新生の誘導、脳に蓄積する神経変性疾患原因タンパク質の除去、又は、神経変性疾患の治療若しくは予防のための剤及び方法、並びに斯かる剤を含む食品及び医薬に関する。

背景技術

[0002] 社会の高齢化と生活習慣・食習慣の西洋化に伴い、認知症患者は世界で急増している。その医療・介護に要する社会費用と患者・家族の労働力低下による経済的損失は莫大で、大きな社会問題となっている。

[0003] 代表的な認知症として、アルツハイマー病、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症等が知られている。これらはいずれも神経変性疾患で、これらを原因とする認知症を変性性認知症と呼ぶ。これらの疾患では、神経系に特定のタンパク質が凝集・蓄積し、これが神経細胞を死に至らしめることで、認知症を発症すると考えられている。具体的には、アルツハイマー病ではA β 及びタウが、前頭側頭型認知症ではタウ及びTDP-43が、レビー小体型認知症では α シヌクレインが、それぞれ脳に蓄積する（非特許文献1：Spire s-Jones et al., Acta Neuropathol., (2017), 134[2]:187-205）。

[0004] 抗認知症薬として、これら原因タンパク質の産生を抑える、或いは原因タンパク質を脳から除去する薬の開発が進められている。斯かる抗認知症薬の候補として、アルツハイマー病に対しては、A β 産生酵素（ β セクレターゼや γ セクレターゼ）阻害薬（非特許文献2：Luo et al., Cell & Biosci., (2022), 12:2）、A β ワクチン（非特許文献3：Valiukas et al., Vaccines, (2022), 10[9]:1527）やA β 抗体（非特許文献4：Song et al., Transl. Neurodegener., (2022), 11:18）等が、前頭側頭型認知症に対しては、タウワ

クチン（非特許文献5：Medina, Int. J. Mol. Sci., (2018), 19[4]:1160）やタウ抗体（非特許文献6：Ji et al., Drugs, (2021), 81[10]:1135-1152）等、レビー小体型認知症に対しては、 α シヌクレインワクチンや α シヌクレイン抗体（非特許文献7：Alzforumウェブサイト、FBRI LLC、alpha-synuclein Targetの検索結果、https://www.alzforum.org/therapeutics/search?fda_statuses=&target_types%5B%5D=33416&therapy_types=&conditions=&keywords-entry=&keywords=、2022年12月検索）等が、それぞれ検討されてきた。

[0005] しかし、これまでに開発された抗認知症薬候補のほとんどは、認知症患者を対象とした臨床試験で期待された薬効が確認されず、失敗に終わっている（非特許文献8：Asher et al., Life Sciences, (2022), 306:120861）。

[0006] ハワイ原産のハーブであるママキ（Pipturus albidus）の葉は、ハワイでポピュラーなハーブティーの材料として使われている。ハワイではママキ、特にその果実は、血糖値、血圧、コレステロール値を調節し、ストレスや疲労を和らげ、炎症を軽減する天然の民間伝承薬として使われてきた歴史がある（非特許文献9：Rafii et al., Alzheimers Dement., (2022), 1-7）。しかし、認知症に効果があるかどうかは知られていない。

先行技術文献

非特許文献

[0007] 非特許文献1：Spires-Jones et al., Acta Neuropathol., (2017), 134[2]:187-205

非特許文献2：Luo et al., Cell & Biosci., (2022), 12:2

非特許文献3：Valiukas et al., Vaccines, (2022), 10[9]:1527

非特許文献4：Song et al., Transl. Neurodegener., (2022), 11:18

非特許文献5：Medina, Int. J. Mol. Sci., (2018), 19[4]:1160

非特許文献6：Ji et al., Drugs, (2021), 81[10]:1135-1152

非特許文献7：Alzforumウェブサイト、FBRI LLC、alpha-synuclein Targetの検索結果、https://www.alzforum.org/therapeutics/search?fda_statuses=&target_types%5B%5D=33416&therapy_types=&conditions=&keywords-entry=&keywords=

eywords=、2022年12月検索

非特許文献8 : Asher et al., Life Sciences, (2022), 306:120861

非特許文献9 : Rafii et al., Alzheimers Dement., (2022), 1-7

非特許文献10 : Chun et al., Native Hawaiian medicines, First People's Productions Honolulu, (1994), 216-217

非特許文献11 : Afzal et al., Molecules, (2022), 27[21]:7604

非特許文献12 : Payne et al., Biomolecules, (2022), 12[3]:371

非特許文献13 : Li et al., Neuroscience, (2009), 159[4]:1208-15

非特許文献14 : Yoo et al., Phytother Res., (2010), 24[7]:1065-70

非特許文献15 : Colucci-D'Amato et al., Int. J. Mol. Sci., (2020), 21[20]:7777

非特許文献16 : Horgusluoglu et al., Am. J. Med. Gene. B. Neuropsychiatr. Genet., (2017), 174[1]:93-112

非特許文献17 : Socala et al., Int. J. Mol. Sci., (2020), 22[1]:107

非特許文献18 : Gao et al., Drug Des. Devel. Ther., (2020), 14:1705-1716

非特許文献19 : Singh et al., Oxid. Med. Cell Longev., (2020), 2020:6571484

非特許文献20 : Liu et al., Drug Des. Devel. Ther., (2020), 14:51-60

非特許文献21 : Tahir et al., Biomed. Pharmacother., (2021), 137:111253

非特許文献22 : Xu et al., Behav. Brain Res., (2014), 264:173-80

非特許文献23 : Sun et al., J. Neuroinflammation, (2021), 18[1]:131

非特許文献24 : Moghbelinejad et al., Toxicol Lett., (2014), 224[1]:108-13

非特許文献25 : Umeda et al., Am. J. Pathol., (2013), 183[1]:211-25

非特許文献26 : Umeda et al., Ann. Clin. Transl. Neurol., (2015), 2[3]:241-55

非特許文献27 : Sturchler-Pierrat et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.

, (1997), 94[24]:13287-92

非特許文献28: Van Dam et al., Eur. J. Neurosci., (2003), 17[2]:388-96

非特許文献29: Umeda et al., Front. Neurosci., (2021), 15:763476

非特許文献30: Lee et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., (2002), 99[13]:8968-73

非特許文献31: Umeda et al., Int. J. Mol. Sci., (2021), 22:8453

非特許文献32: Liu et al., Neuron, (2016), 90[3]:521-534

非特許文献33: Hatanaka et al., Biomedicines, (2022), 10[5]:1080

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] 本発明の解決すべき課題は、脳機能の維持若しくは改善、神経細胞の修復促進若しくは神経新生の誘導、脳に蓄積する神経変性疾患原因タンパク質の除去、又は、神経変性疾患の治療若しくは予防のための新たな手段を提供することである。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明者等は鋭意検討の結果、ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬が、各々所定の形態において、脳機能の維持若しくは改善、神経細胞の修復促進若しくは神経新生の誘導、脳に蓄積する神経変性疾患原因タンパク質の除去、又は、神経変性疾患の治療若しくは予防等の各種作用を有することを見出し、本発明を完成させた。

[0010] 即ち、本発明の趣旨は、例えば以下に関する。

[項1] ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬を含有する、脳機能の維持又は改善剤。

[項2] 前記脳機能が、認知機能である、項1に記載の脳機能の維持又は改善剤。

[項3] ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬を含有する、神経細胞の修復促進又は神経新生の誘導剤。

[項4] ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬を含有する、脳に

蓄積する神経変性疾患原因タンパク質の除去剤。

〔項5〕神経変性疾患原因タンパク質が、アミロイド β ($A\beta$)、タウ、 α シヌクレイン、TDP-43、FUS/TLS、ポリグルタミン、RAN (repeat-associated non-ATG) 翻訳によるタンパク質、プリオン、及びSOD-1から選択される1種又は2種以上のタンパク質である、項4に記載の剤。

〔項6〕ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬を含有する、神経変性疾患の治療又は予防剤。

〔項7〕神経変性疾患が、変性性認知症である、項6に記載の剤。

〔項8〕変性性認知症が、アルツハイマー病、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症、及びパーキンソン病あるいは筋萎縮性側索硬化症に起因する認知症から選択される1種又は2種以上の認知症である、項7に記載の剤。

〔項9〕前記ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬が、ママキの葉及び／又は果実及び／又は種子の破砕物及び／又は抽出物である、項1～8の何れか一項に記載の剤。

〔項10〕前記生薬が、対象に対して0.01mg～10g／日の量で投与される、項1～9の何れか一項に記載の剤。

〔項11〕項1～10の何れか一項に記載の剤を含む食品。

〔項12〕項1～10の何れか一項に記載の剤を含む医薬。

〔項13〕対象の脳機能を維持又は改善するための方法であって、ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬を、それを必要とする対象に投与することを含む方法。

〔項14〕脳機能が認知機能である、項13に記載の方法。

〔項15〕対象の神経細胞の修復を促進し、又は神経新生を誘導するための方法であって、ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬を、それを必要とする対象に投与することを含む方法。

〔項16〕対象の脳に蓄積する神経変性疾患原因タンパク質を除去するための方法であって、ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬を、それ

を必要とする対象に投与することを含む方法。

[項17] 神経変性疾患原因タンパク質が、アミロイド β ($A\beta$)、タウ、 α シヌクレイン、TDP-43、FUS/TLS、ポリグルタミン、RAN (repeat-associated non-ATG) 翻訳によるタンパク質、プリオン、及びSOD-1から選択される1種又は2種以上のタンパク質である、項16に記載の方法。

[項18] 対象の神経変性疾患を治療又は予防するための方法であって、ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬を、それを必要とする対象に投与することを含む方法。

[項19] 神経変性疾患が、変性性認知症である、項18に記載の方法。

[項20] 変性性認知症が、アルツハイマー病、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症、及びパーキンソン病あるいは筋萎縮性側索硬化症に起因する認知症から選択される1種又は2種以上の認知症である、項19に記載の方法。

[項21] 前記ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬が、ママキの葉及び／又は果実及び／又は種子の破砕物及び／又は抽出物である、項13～20の何れか一項に記載の方法。

[項22] 前記生薬を、対象に対して0.01mg～10g／日の量で投与する、項13～21の何れか一項に記載の方法。

発明の効果

[0011] 本発明によれば、ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬を各々所定の形態において用いることにより、脳機能の維持若しくは改善、神経細胞の修復促進若しくは神経新生の誘導、脳に蓄積する神経変性疾患原因タンパク質の除去、又は、神経変性疾患の治療若しくは予防のための新たな手段が提供される。

図面の簡単な説明

[0012] [図1] 図1は、ママキの葉の熱水抽出物 (Leaf-extract) を1か月間経口投与したTau784マウス (表中「Tg+Leaf-extract」) のモリス

水迷路試験の結果を、対象として水を投与したT a u 7 8 4マウス（表中「T g」）及び非遺伝子組み換えマウス（表中「N o n - T g」）との比較で示すグラフである。図1 Aは、用量1 0 0 0 μ g / 日及び1 0 0 μ g / 日の群の結果を示すグラフであり、図1 Bは、用量3 0 μ g / 日の群の結果を示すグラフである。

[図2]図2は、ママキの葉の熱水抽出物（L e a f - e x t）を用量1 0 0 μ g / 日で1 か月間経口投与したT a u 7 8 4マウス（表中「T a u 7 8 4 + L e a f - e x t」）の嗅内皮質におけるタウ病理を、対象として水を投与したT a u 7 8 4マウス（表中「T a u 7 8 4」）との比較で示す図である。図2 Aはリン酸化タウ及びタウオリゴマーの染色結果を示す写真であり、図2 Bは各写真の染色強度を定量化した結果を示すグラフである。

[図3]図3は、ママキの葉の熱水抽出物（L e a f - e x t）を用量1 0 0 μ g / 日で1 か月間経口投与したT a u 7 8 4マウス（表中「T a u 7 8 4 + L e a f - e x t」）の海馬C A 2 / 3領域におけるシナプトフィジン病理を、対象として水を投与したT a u 7 8 4マウス（表中「T a u 7 8 4」）及び非遺伝子組み換えマウス（表中「N o n - T g」）との比較で示す図である。図3 Aはシナプトフィジンの染色結果を示す写真であり、図3 Bは各写真の染色強度を定量化した結果を示すグラフである。

[図4]図4は、ママキの葉の熱水抽出物（L e a f - e x t）を用量1 0 0 μ g / 日で1 か月間経口投与したT a u 7 8 4マウス（表中「T a u 7 8 4 + L e a f - e x t」）の海馬（H C）及び大脳皮質（C T X）におけるミクログリア病理を、対象として水を投与したT a u 7 8 4マウス（表中「T a u 7 8 4」）及び非遺伝子組み換えマウス（表中「N o n - T g」）との比較で示す図である。図4 Aは活性化ミクログリアの染色結果を示す写真であり、図4 Bは各写真の陽性細胞数を示すグラフである。

[図5]図5は、ママキの葉の熱水抽出物（L e a f - e x t）を用量1 0 0 μ g / 日で1 か月間経口投与したA P P 2 3マウス（表中「T g + L e a f - e x t」）のモリス水迷路試験の結果を、対象として水を投与したA P P 2

3マウス（表中「Tg」）及び非遺伝子組み換えマウス（表中「Non-Tg」）との比較で示すグラフである。

[図6]図6は、ママキの葉の熱水抽出物（Leaf-extract）を用量100 μ g／日で1か月間経口投与したAPP23マウス（表中「APP23+Leaf-extract」）の脳皮質及び海馬におけるアミロイド病理を、対象として水を投与したAPP23マウス（表中「APP23」）との比較で示す図である。図6Aはアミロイド沈着及びA β オリゴマーの染色結果を示す写真であり、図6Bは各写真の染色強度を定量化した結果を示すグラフである。

[図7]図7は、ママキの葉の熱水抽出物（Leaf-extract）を用量100 μ g／日で1か月間経口投与したAPP23マウス（表中「APP23+Leaf-extract」）の海馬CA2／3領域におけるシナプトフィジン病理を、対象として水を投与したAPP23マウス（表中「APP23」）及び非遺伝子組み換えマウス（表中「Non-Tg」）との比較で示す図である。図7Aはシナプトフィジンの染色結果を示す写真であり、図7Bは各写真の染色強度を定量化した結果を示すグラフである。

[図8]図8は、ママキの葉の熱水抽出物（Leaf-extract）を用量100 μ g／日で1か月間経口投与したAPP23マウス（表中「APP23+Leaf-extract」）の海馬（HC）及び脳皮質（CTX）におけるミクログリア病理を、対象として水を投与したAPP23マウス（表中「APP23」）及び非遺伝子組み換えマウス（表中「Non-Tg」）との比較で示す図である。図8Aは活性化ミクログリアの染色結果を示す写真であり、図8Bは各写真の陽性細胞数を示すグラフである。

[図9]図9は、ママキの葉の熱水抽出物（Leaf-extract）を用量100 μ g／日で1か月間経口投与したHu α -Syn（A53T）マウス（表中「Tg+Leaf-extract」）のモリス水迷路試験の結果を、対象として水を投与したHu α -Syn（A53T）マウス（表中「Tg」）及び非遺伝子組み換えマウス（表中「Non-Tg」）との比較で示すグラフである。

[図10]図10は、ママキの葉の熱水抽出物（Leaf-extract）を用量10

0 μ g/日で1か月間経口投与したHu α -Syn (A53T) マウス (表中「 α Syn-Tg+Leaf-ext」) の海馬 (HC) および嗅内皮質 (EC) における α -シヌクレイン病理を、対象として水を投与したHu α -Syn (A53T) マウス (表中「 α Syn-Tg」) との比較で示す図である。図10Aはリン酸化 α -シヌクレインの染色結果を示す写真であり、図10Bは各写真の染色強度を定量化した結果を示すグラフである。

[図11]図11は、ママキの葉の熱水抽出物 (Leaf-ext) を用量100 μ g/日で1か月間経口投与したHu α -Syn (A53T) マウス (表中「 α Syn-Tg+Leaf-ext」) の海馬 (HC) および嗅内皮質 (EC) における α -シヌクレイン病理を、対象として水を投与したHu α -Syn (A53T) マウス (表中「 α Syn-Tg」) との比較で示す図である。図11Aは α -シヌクレインオリゴマーの染色結果を示す写真、図11Bは各写真の染色強度を定量化した結果を示すグラフである。

[図12]図12は、ママキの葉の熱水抽出物 (Leaf-ext) を用量100 μ g/日で1か月間経口投与したHu α -Syn (A53T) マウス (表中「 α Syn-Tg+Leaf-ext」) の海馬CA2/3領域におけるシナプトフィジン病理を、対象として水を投与したHu α -Syn (A53T) マウス (表中「 α Syn-Tg」) 及び非遺伝子組み換えマウス (表中「Non-Tg」) との比較で示す図である。図12Aはシナプトフィジンの染色結果を示す写真であり、図12Bは各写真の染色強度を定量化した結果を示すグラフである。

[図13]図13は、ママキの葉の熱水抽出物 (Leaf-ext) を用量100 μ g/日で1か月間経口投与したHu α -Syn (A53T) マウス (表中「 α Syn-Tg+Leaf-ext」) の海馬 (HC) 及び大脳皮質 (CTX) におけるミクログリア病理を、対象として水を投与したHu α -Syn (A53T) マウス (表中「 α Syn-Tg」) 及び非遺伝子組み換えマウス (表中「Non-Tg」) との比較で示す図である。図13Aは活性化ミクログリアの染色結果を示す写真であり、図13Bは各写真の陽性細胞

数を示すグラフである。

[図14]図14は、ママキの葉の熱水抽出物(L e a f - e x t)を用量100 μ g/日で1か月間経口投与したC9-500マウス(表中「Tg+L e a f - e x t」)のモリス水迷路試験の結果を、対象として水を投与したC9-500マウス(表中「Tg」)及び非遺伝子組み換えマウス(表中「Non-Tg」)との比較で示すグラフである。

[図15]図15は、ママキの葉の熱水抽出物(L e a f - e x t)を用量100 μ g/日で1か月間経口投与したC9-500マウス(表中「C9-500+L e a f - e x t」)の前頭前皮質(PFC)におけるC9orf72遺伝子の変異に起因する病理を、対象として水を投与したC9-500マウス(表中「C9-500」)との比較で示す図である。図15AはRNA G-quadruplex、poly-GA、poly-GP、およびリン酸化TDP-43の染色結果を示す写真であり、図15Bは各写真の染色強度を定量化した結果を示すグラフである。

[図16]図16は、ママキの葉の熱水抽出物(L e a f - e x t)を用量100 μ g/日で1か月間経口投与したC9-500マウス(表中「C9-500+L e a f - e x t」)の海馬CA2/3領域前頭前皮質(PFC)における2本鎖RNA依存性プロテインキナーゼ(PKR)病理を、対象として水を投与したC9-500マウス(表中「C9-500」)及び非遺伝子組み換えマウス(表中「Non-Tg」)との比較で示す図である。図16Aはリン酸化PKRの染色結果を示す写真であり、図16Bは各写真の染色強度を定量化した結果を示すグラフである。

[図17]図17は、ママキの葉の熱水抽出物(L e a f - e x t)を用量100 μ g/日で1か月間経口投与したC9-500マウス(表中「C9-500+L e a f - e x t」)の海馬CA2/3領域におけるシナプトフィジン病理を、対象として水を投与したC9-500マウス(表中「C9-500」)及び非遺伝子組み換えマウス(表中「Non-Tg」)との比較で示す図である。図17Aはシナプトフィジンの染色結果を示す写真であり、図1

7 Bは各写真の染色強度を定量化した結果を示すグラフである。

[図18]図18は、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) を用量100 μ g / 日で1か月間経口投与したC9-500マウス (表中「C9-500+L e a f - e x t」) の前頭前皮質 (P F C) におけるミクログリア病理を、対象として水を投与したC9-500マウス (表中「C9-500」) 及び非遺伝子組み換えマウス (表中「N o n - T g」) との比較で示す図である。図18 Aは活性化ミクログリアの染色結果を示す写真であり、図18 Bは各写真の陽性細胞数を示すグラフである。

[図19]図19は、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) 、葉の単純破碎粉末 (L e a f - p w d) 、及び果実 (種子を含む) の単純破碎粉末 (F r u i t - p w d) を用量30 μ g / 日で1か月間経口投与したT a u 784マウス (表中それぞれ「T g+L e a f - e x t」, 「T g+L e a f - p w d」, 及び「T g+F r u i t - p w d」) のモリス水迷路試験の結果を、対象として水を投与したT a u 784マウス (表中「T g」) 及び非遺伝子組み換えマウス (表中「N o n - T g」) との比較で示すグラフである。

[図20]図20は、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) 、葉の単純破碎粉末 (L e a f - p w d) 、及び果実 (種子を含む) の単純破碎粉末 (F r u i t - p w d) を用量30 μ g / 日で1か月間経口投与したT a u 784マウス (表中それぞれ「T g+L e a f - e x t」, 「T g+L e a f - p w d」, 及び「T g+F r u i t - p w d」) の嗅内皮質におけるタウ病理を、対象として水を投与したT a u 784マウス (表中「T a u 784」) との比較で示す図である。図20 Aはリン酸化タウ及びタウオリゴマーの染色結果を示す写真であり、図20 Bは各写真の染色強度を定量化した結果を示すグラフである。

[図21]図21は、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) 、葉の単純破碎粉末 (L e a f - p w d) 、及び果実 (種子を含む) の単純破碎粉末 (F r u i t - p w d) を用量30 μ g / 日で1か月間経口投与したT a u 7

84マウス（表中それぞれ「Tg+Leaf-ext」、「Tg+Leaf-pwd」、及び「Tg+Fruit-pwd」）の海馬CA2／3領域におけるシナプトフィジン病理を、対象として水を投与したTau784マウス（表中「Tau784」）及び非遺伝子組み換えマウス（表中「Non-Tg」）との比較で示す図である。図21Aはシナプトフィジンの染色結果を示す写真であり、図21Bは各写真の染色強度を定量化した結果を示すグラフである。

[図22]図22は、ママキの葉の熱水抽出物（Leaf-ext）、葉の単純破碎粉末（Leaf-pwd）、及び果実（種子を含む）の単純破碎粉末（Fruit-pwd）を用量30 μ g／日で1か月間経口投与したTau784マウス（表中それぞれ「Tg+Leaf-ext」、「Tg+Leaf-pwd」、及び「Tg+Fruit-pwd」）の脳皮質（CTX）におけるBDNF発現を、対象として水を投与したTau784マウス（表中「Tau784」）及び非遺伝子組み換えマウス（表中「Non-Tg」）との比較で示す図である。図22AはBDNFの染色結果を示す写真であり、図22Bは各写真の染色強度を定量化した結果を示すグラフである。

[図23]図23は、ママキの果実（種子を含む）の単純破碎粉末（Fruit-pwd）を用量30 μ g／日で1か月間経口投与したHu α -Syn（A53T）マウス（表中「 α Syn-Tg+Fruit-pwd」）の歯状回（DG）及び黒質（SN）における神経新生レベルを、対象として水を投与したHu α -Syn（A53T）マウス（表中「 α Syn-Tg」）及び非遺伝子組み換えマウス（表中「Non-Tg」）との比較で示す図である。図23AはBrdU（赤）及びダブルコルチン（DCX）（緑）の免疫蛍光染色写真である。BrdU（赤）及びDCX（緑）が共に陽性となる二重陽性細胞（黄色）を新生ニューロンと見なした。図23Bは各写真の二重陽性細胞（黄色）の数を定量化した結果を示すグラフである。

[図24]図24は、カテキン0.087 μ g、クロロゲン酸0.036 μ g、及びルチン0.123 μ gの混合物（表中「Tg+3 polyphenol

mixture」)、又はカテキン0.087 μg のみ(表中「Tg+catechin」)を1か月間経口投与したTau784マウスのモリス水迷路試験の結果を、対象として水を投与したTau784マウス(表中「Tg」)及び非遺伝子組み換えマウス(表中「Non-Tg」)との比較で示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0013] 以下、本発明を具体的な実施の形態に即して詳細に説明する。但し、本発明は以下の実施の形態に束縛されるものではなく、本発明の趣旨を逸脱しない範囲において、任意の形態で実施することが可能である。

[0014] 〔概要〕

前述のように、従来検討されてきた抗認知症薬の殆どが失敗に終わった原因は、副作用の問題を別とすれば、薬の投与時期が遅すぎることにあり、及び、誤った分子を標的としていることにありと考えられる。A β の脳への蓄積はアルツハイマー病発症の20年以上も前から、タウの蓄積も約10年前から始まることが示されている。A β が蓄積し、タウが蓄積し、神経細胞が死に始め、その後ようやく認知症が発症する。つまり、認知症が発症する頃には、すでに多くの神経細胞が死んでいるのである。A β やタウを取り除くのなら、それは神経細胞が死に始める前でないといけない。すなわち、A β やタウを標的とする薬の役割は、治療ではなく予防にあるということである。また、以前は、老人斑や神経原線維変化(凝集したタウの蓄積物)等、タンパク質の不溶性凝集体が神経細胞を殺すことで病気が発症すると考えられていた。しかし、最近では、その前段階でできる可溶性のオリゴマーが神経細胞の機能を障害することで認知症が発症すると考えられている。従って、認知症の予防では原因タンパク質のオリゴマーを除去することが必要である。

[0015] 予防という観点からすると、A β 特異的、タウ特異的、或いは α シヌクレイン特異的ではなく、一剤で様々な原因タンパク質のオリゴマーに作用することが望ましい。さらに、オリゴマーによって傷んだ神経細胞を修復し、脳の機能を回復させる作用も必要である。また、認知症の予防は長期に渡る

ため、その予防薬は安全且つ安価で、できれば医者助けを借りず自分自身で非侵襲的に摂取できることが望ましい。このように認知症の予防薬に求められる要件は多いので、これを単一成分からなる医薬品で達成するのは困難である。また、認知症の予防のため、すべての中高齢者が長期間摂取すると、医薬品ではいずれ医療経済が破綻するおそれがある。

[0016] 斯かる問題を解決するべく、本発明者等は、長い歴史を持つ自然療法や中医学・漢方医学において用いられている生薬に着目した。認知機能改善に有効な生薬があれば、中高齢者は医者にかかることなく自分の判断で入手でき、また、食事等に加えて摂取することで、普段の生活から認知症予防に努めることができる。

[0017] そこで本発明者等は鋭意検討の結果、ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬が、脳機能の維持若しくは改善、神経細胞の修復促進若しくは神経新生の誘導、脳に蓄積する神経変性疾患原因タンパク質の除去、又は、神経変性疾患の治療若しくは予防等の各種作用を有することを見出した。本発明は斯かる知見に基づくものである。

[0018] すなわち、本発明の一側面によれば、ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬を含有する、脳機能の維持若しくは改善剤、神経細胞の修復促進若しくは神経新生の誘導剤、脳に蓄積する神経変性疾患原因タンパク質の除去剤、又は、神経変性疾患の治療若しくは予防剤（これらを総称して適宜「本発明の剤」という場合がある。）が提供される。

[0019] また、本発明の一側面によれば、本発明の剤を含む食品が提供される（これを適宜「本発明の食品」という場合がある。）。

[0020] また、本発明の一側面によれば、本発明の剤を含む医薬が提供される（これを適宜「本発明の医薬」という場合がある。）。

[0021] また、本発明の一側面によれば、ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬、本発明の剤、本発明の食品、及び本発明の医薬から選択される1種又は2種以上を対象に投与することを含む、脳機能の維持若しくは改善方法、神経細胞の修復促進若しくは神経新生の誘導方法、脳に蓄積する神経変

性疾患原因タンパク質の除去方法、又は神経変性疾患の治療若しくは予防方法（これらを総称して適宜「本発明の方法」という場合がある。）が提供される。

[0022] 「ママキ」

一実施態様によれば、本発明の剤は、ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬を含有する。上述のように、ハワイ原産のハーブであるママキ (*Pipturus albidus*) の葉は、ハワイでポピュラーなハーブティーの材料として使われている。ハワイでは、ママキ、特にその果実は、血糖値、血圧、コレステロール値を調節し、ストレスや疲労を和らげ、炎症を軽減する天然の民間伝承薬として使われてきた歴史がある（非特許文献 9 : Rafii et al., *Alzheimers Dement.*, (2022), 1-7）。しかし、認知症に効果があるかどうかは知られていない。

[0023] なお、ママキの葉の主要成分として、（+）-カテキン、クロロゲン酸、ルチンという三種のポリフェノールが同定されている（非特許文献 10 : Chun et al., *Native Hawaiian medicines, First People's Productions Honolulu*, (1994), 216-217）。ママキの葉のカテキン及びルチンの含有量は、他の市販の茶葉よりも有意に高い（上記非特許文献 10）。これらのポリフェノールは、神経変性疾患のモデルマウスやヒトに対して有益な効果を持つことが示唆されている。

[0024] カテキンは、フラボノイドの一種で、カテキンそれ自身とその誘導体からなり、お茶の葉に多く含まれる。それらは、サイトカインの産生と炎症経路をブロックし、金属イオンをキレートし、フリーラジカルを除去することにより、抗炎症および抗酸化作用を示す（非特許文献 11 : Afzal et al., *Molecules*, (2022), 27[21]:7604 ; 及び非特許文献 12 : Payne et al., *Biomolecules*, (2022), 12[3]:371）。カテキン、特にエピガロカテキン-3-ガレートは、 $A\beta$ 産生、タウリン酸化、アミロイドタンパク質凝集を阻害し、それによって AD および PD の認知機能低下を防ぐことが示されている（上記非特許文献 11 及び 12）。さらに、マウスに経口投与すると、脳由来神経

栄養因子BDNFの発現と神経新生が増加することも報告されている（非特許文献13：Li et al., *Neuroscience*, (2009), 159[4]:1208-15；及び非特許文献14：Yoo et al., *Phytother Res.*, (2010), 24[7]:1065-70）。BDNFや神経新生は脳の修復や再生に重要である（非特許文献15：Colucci-D'Amato et al., *Int. J. Mol. Sci.*, (2020), 21[20]:7777；及び非特許文献16：Horgusluoglu et al., *Am. J. Med. Gene. B. Neuropsychiatr. Genet.*, (2017), 174[1]:93-112）。

[0025] クロロゲン酸は、5-オ-カフェオイルキナ酸とも呼ばれ、コーヒー豆に多く含まれている。抗炎症作用、抗酸化作用、神経保護作用、肝臓保護作用、心保護作用、化学予防作用、抗糖尿病作用、抗肥満作用など、健康に有益な多彩な作用を有し、定期的に摂取することで神経変性疾患のリスクを軽減し、認知機能を改善することが示唆されている（非特許文献17：Socala et al., *Int. J. Mol. Sci.*, (2020), 22[1]:107）。ADおよびPDのモデルマウスに経口投与すると、マウスの記憶および運動機能が改善し（非特許文献18：Gao et al., *Drug Des. Devel. Ther.*, (2020), 14:1705-1716；及び非特許文献19：Singh et al., *Oxid. Med. Cell Longev.*, (2020), 2020:6571484）、脳虚血／再灌流のラットモデルに経口投与すると、BDNFおよび神経成長因子（NGF）の発現を促進することが示されている（非特許文献20：Liu et al., *Drug Des. Devel. Ther.*, (2020), 14:51-60）。

[0026] ルチンは、フラボノイドのサブタイプであるフラボノールのメンバーであり、さまざまな植物に含まれている。抗炎症作用、抗酸化作用、神経保護作用を示す（非特許文献21：Tahir et al., *Biomed. Pharmacother.*, (2021), 137:111253）。ADのモデルマウスに経口投与すると、A β およびタウオリグマーを減少させ、認知機能を改善する（非特許文献22：Xu et al., *Behav. Brain Res.*, (2014), 264:173-80；及び非特許文献23：Sun et al., *J. Neuroinflammation*, (2021), 18[1]:131）。さらに、A β を脳内注入したラットに腹腔内投与すると、BDNF発現を増加させることも報告されている（非特許文献24：Moghbelinejad et al., *Toxicol Lett.*, (2014), 224[

1]:108-13)。

[0027] 以上のように、ママキの葉に含まれる三種のポリフェノール、即ちカテキン、クロロゲン酸、及びルチンについては、認知機能改善等の効果が示唆されている。しかし、ママキの葉や果実については、認知機能改善等の効果は全く知られていない。

[0028] そこで本発明者等は、後出の実施例にて詳述するように、市販の乾燥ママキ茶葉から葉と果実（種子を含む）をより分け、それぞれの熱水抽出物及び単純破碎粉末を作製し、4種類の変性性認知症モデルマウスを用いてその認知機能と神経病理への効果を調べた。

[0029] まず、前頭側頭型認知症－タウ（F T D－T a u）のモデルとしてT a u 7 8 4 マウス（非特許文献25：Umeda et al., Am. J. Pathol., (2013), 183[1]:211-25；及び非特許文献26：Umeda et al., Ann. Clin. Transl. Neurol., (2015), 2[3]:241-55）を用い、ママキの葉の熱水抽出物（L e a f－e x t）を用量1 0 0 0 μ g／日、1 0 0 μ g／日、及び3 0 μ g／日で一ヶ月間投与した（実施例1）。その結果、認知機能（図1）、タウ病理（図2）、シナプトフィジン病理（図3）、及びミクログリア病理（図4）の何れについても、全ての用量で顕著な改善が見られた。中でも、用量1 0 0 0 μ g／日及び1 0 0 μ g／日で投与した場合には、同腹子の非遺伝子組換えマウスと同等のレベルにまで各病理が改善された。

[0030] また、アルツハイマー型認知症（A D）のモデルとしてA P P 2 3 マウス（非特許文献27：Sturchler-Pierrat et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., (1997), 94[24]:13287-92；非特許文献28：Van Dam et al., Eur. J. Neurosci., (2003), 17[2]:388-96；及び非特許文献29：Umeda et al., Front. Neurosci., (2021), 15:763476）を用い、ママキの葉の熱水抽出物（L e a f－e x t）を用量1 0 0 μ g／日で一ヶ月間投与した（実施例2）。その結果、認知機能（図5）、アミロイド病理（図6）、シナプトフィジン病理（図7）、及びミクログリア病理（図8）の何れについても、同腹子の非遺伝子組換えマウスと同等又はそれに近いレベルにまで各病理が改善さ

れた。

[0031] また、レヴィー小体型認知症（DLB）のモデルとしてHu α -Syn（A53T）マウス（非特許文献30：Lee et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., (2002), 99[13]:8968-73；及び非特許文献31：Umeda et al., Int. J. Mol. Sci., (2021), 22:8453）を用い、ママキの葉の熱水抽出物（Leaf-extract）を用量100 μ g／日で一ヶ月間投与した（実施例3）。その結果、認知機能（図9）、シヌクレイン病理（図10及び11）、シナプトフィジン病理（図12）、及びミクログリア病理（図13）の何れについても、同腹子の非遺伝子組換えマウスと同等又はそれに近いレベルにまで各病理が改善された。

[0032] また、前頭側頭型認知症-TDP（FTD-TDP）のモデルとしてC9orf72マウス（非特許文献32：Liu et al., Neuron, (2016), 90[3]:521-534；及び非特許文献33：Hatanaka et al., Biomedicines, (2022), 10[5]:1080）を用い、ママキの葉の熱水抽出物（Leaf-extract）を用量100 μ g／日で一ヶ月間投与した（実施例4）。その結果、認知機能（図14）、C9orf72遺伝子の変異に起因する病理（図15）、2本鎖RNA依存性プロテインキナーゼ（PKR）病理（図16）、シナプトフィジン病理（図17）、及びミクログリア病理（図18）の何れについても、同腹子の非遺伝子組換えマウスと同等又はそれに近いレベルにまで各病理が改善された。以上の結果は、ママキの葉が、認知機能の改善やそれに関連する各種病理の改善効果を有することを示唆している。

[0033] また、前頭側頭型認知症-タウ（FTD-Tau）のモデルとしてTau784マウス（上記非特許文献25及び26）を用い、ママキの葉の熱水抽出物（Leaf-extract）、葉の単純破碎粉末（Leaf-pwd）、及び果実（種子を含む）の単純破碎粉末（Fruit-pwd）を用量30 μ g／日で一ヶ月間投与した（実施例5）。その結果、認知機能（図19）、タウ病理（図20）、シナプトフィジン病理（図21）、及びBDNF発現（図22）の何れについても、全ての標品について顕著な改善が見られた。中

でも、ママキの葉の単純破碎粉末 (L e a f - p w d) 及び果実 (種子を含む) の単純破碎粉末 (F r u i t - p w d) では、同腹子の非遺伝子組換えマウスと同等又はそれに近いレベルにまで各病理が改善された。特に、ママキの果実 (種子を含む) の単純破碎粉末 (F r u i t - p w d) によれば、驚くべきことに、T a u 7 8 4 マウスの認知機能は同腹子の非遺伝子組換えマウスよりもさらに高いレベルまで著しく強化された。以上の結果は、ママキの葉や果実 (種子を含む) の破碎物が、抽出物よりも遙かに優れた認知機能の改善効果や各種病理の改善効果を有することを示唆している。

[0034] また、レヴィー小体型認知症 (D L B) のモデルとして H u α - S y n (A 5 3 T) マウス (上記非特許文献 3 0 及び 3 1) を用い、ママキの果実 (種子を含む) の単純破碎粉末 (F r u i t - p w d) を用量 1 0 0 μ g / 日で一ヶ月間投与した (実施例 6)。その結果、H u α - S y n (A 5 3 T) マウスの歯状回 (D G) 及び黒質 (S N) における神経新生レベルは、驚くべきことに、同腹子の非遺伝子組換えマウスをはるかに超えるレベルにまで改善された。以上の結果は、ママキの果実 (種子を含む) の破碎物が、ニューロンの修復や再生を通して、脳の若返りを促進する作用があることを示唆している。

[0035] また、ママキの葉や果実 (種子を含む) が有する上記の認知機能の改善効果や各種病理の改善効果が、ママキの葉に含まれる三種のポリフェノール、即ちカテキン、クロロゲン酸、及びルチンに起因する効果か否かを検証するため、以下の実験を行った。即ち、前頭側頭型認知症 - タウ (F T D - T a u) のモデルとして T a u 7 8 4 マウス (上記非特許文献 2 5 及び 2 6) を用い、ママキ果実 (種子を含む) の単純破碎粉末 3 0 μ g に含まれる量に相当するカテキン、クロロゲン酸、及びルチンの混合物、又はカテキン単品を一ヶ月間投与した。その結果、これらのカテキン / クロロゲン酸 / ルチン混合物及びカテキン単品による認知機能改善効果は、同腹子の非遺伝子組換えマウスよりも遙かに劣るものであり、不完全であった。従って、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t)、葉の単純破碎粉末 (L e a f - p w d)

）、及び果実（種子を含む）の単純破碎粉末（F r u i t - p w d）が有する上記の各種の効果は、前記の３種のポリフェノールのみ起因するものではなく、むしろママキに含まれる他の未知の成分の寄与が大きいことが分かる。

[0036] 〔生薬の形態〕

一実施態様によれば、ママキの葉、果実、及び種子としては、ママキの葉を単独で使用してもよく、ママキの果実を単独で使用してもよく、ママキの種子を単独で使用してもよく、ママキの葉、果実、及び種子のうち２種又は３種を併用してもよい。

[0037] ママキの葉及び／又は果実及び／又は種子は、任意の形態で用いることができる。斯かる形態の例としては、限定されるものではないが、ママキの葉及び／又は果実及び／又は種子をそのまま用いてもよく、或いは、破碎物及び／又は抽出物の形態で使用してもよい。

[0038] 具体的に、ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬を、破碎粉末等の破碎物の形態とする場合、その処理条件は特に制限されないが、例えば以下の通りである。まず、生薬に対して乾燥処理を行う。乾燥処理の条件は制限されず、公知の各種条件を用いればよいが、例としては、自然乾燥や加熱乾燥といった形で０～１００℃の温度で乾燥することが挙げられる。次に、乾燥後の生薬に対して破碎処理を行う。破碎処理の手段も制限されず、公知の各種手段を用いればよいが、手作業による破碎法や、湿式粉砕法や乾式粉砕法等の粉砕機を用いた粉砕が挙げられる。得られた生薬の破碎物を、そのまま用いてもよいが、篩を通して、粒径を所定値以下に制御した粉末を取得してもよい。例えば、開き目０．０２ｍｍ～２０ｍｍの篩を用いることで粒径を調整してもよい。

[0039] また、ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬を、抽出物の形態とする場合、その処理条件は特に制限されないが、例えば前記の生薬に対し、任意により乾燥処理及び／又は破碎処理を加えた上で、抽出溶媒を加えて抽出を行えばよい。具体的には、生薬の乾燥破碎物１質量部に対して、例え

ば1～100質量部の抽出溶媒を加え、例えば0.1～100時間にわたって保持することにより、抽出を行うことができる。抽出溶媒も特に制限されず、公知の各種溶媒を用いることが可能であるが、例としては水や、エタノール等の親水性有機溶媒が挙げられる。抽出溶媒を用いた抽出の際には常温或いは加熱して行う。例えば水で加熱する場合、破碎物に熱水を加えた状態で、30～100℃で加熱することができる。また、必要に応じて攪拌処理、超音波処理、加熱還流処理等を併用し、抽出効率を高めることもできる。抽出の完了後、手作業や濾過等の手段により液体成分と固体成分とを分離する。分離した液体成分を抽出物として用いることができる。何れも必要に応じて、溶媒を蒸発濃縮してから用いてもよい。

[0040] 〔剤の作用〕

一実施態様によれば、本発明の剤は、脳機能の維持又は改善剤である。本発明において「脳機能の維持又は改善」とは、限定されるものではないが、認知機能及び／又は運動機能の維持又は改善を意味する。

[0041] 本発明において「認知機能」の維持又は改善とは、限定されるものではないが、軽いもの忘れや、認知症などで見られる記憶障害、見当識障害、判断力・理解力の障害、実行機能障害、失行・失認・失語などの異常が起こらないようにすること、或いはそれらの異常を改善することを意味する。

[0042] 本発明において「運動機能」の維持又は改善とは、限定されるものではないが、加齢による運動機能低下や、パーキンソン病などで見られる振戦、筋固縮、姿勢反射障害、無動・寡動などのパーキンソニズム、ハンチントン病などで見られる不随意運動、脊髄小脳変性症などで見られる協調運動障害、筋萎縮性側索硬化症などで見られる筋力低下などの異常が起こらないようにすること、或いはそれらの異常を改善することを意味する。

[0043] 本発明の剤による脳機能の維持又は改善作用は、例えば後述の実施例に示すように、脳病理を発症するモデル動物に当該剤を投与した後、モリス水迷路試験等の認知機能試験やロータロッド試験等の運動機能試験に供することにより、又は、脳切片を染色して観察することにより、評価することができる。

る。

[0044] 一実施態様によれば、本発明の剤は、神経細胞の修復促進又は神経新生の誘導剤である。本発明において「神経細胞の修復促進」としては、限定されるものではないが、低下したシナプスの数や機能の回復、低下した神経細胞の機能の回復、シナプスや神経細胞の機能維持・回復を促し各種ストレスから神経細胞を保護する脳由来神経栄養因子（BDNF）や神経成長因子（NGF）などの発現亢進等が挙げられる。本発明において「神経新生の誘導」とは、限定されるものではないが、DNA合成を活発に行う未成熟な神経細胞の新たな出現を誘導することを意味する。DNA合成の指標としては、外から投与された核酸アナログBrdUなどを積極的に取り込んでいること、未成熟な神経細胞のマーカーとして、ダブルコルチンなどを発現していること等が挙げられる。本発明の剤による神経細胞の修復促進作用又は神経新生の誘導作用は、例えば後述の実施例に示すように、認知症又は脳病理を発症するモデル動物に当該剤を投与した後、脳由来神経栄養因子（BDNF）の発現誘導を観察することにより、又は、脳切片を染色して新生ニューロンを観察することにより、評価することができる。

[0045] 一実施態様によれば、本発明の剤は、脳に蓄積する神経変性疾患原因タンパク質の除去剤である。本発明において「神経変性疾患原因タンパク質」とは、認知症の原因物質として特定又は推定されているタンパク質を意味する。例としては、これらに限定されるものではないが、アミロイド β （A β ）、タウ、 α シヌクレイン、TDP-43、FUS/TLS、ポリグルタミン、RAN（repeat-associated non-ATG）翻訳によるタンパク質、プリオン、SOD-1等から選択される1種又は2種以上のタンパク質が挙げられる。本発明の剤による脳機能の維持又は改善作用は、例えば後述の実施例に示すように、認知症を発症するモデル動物に当該剤を投与した後、脳切片を染色して観察することにより、評価することができる。

[0046] 一実施態様によれば、本発明の剤は、神経変性疾患の治療又は予防剤である。本発明において「神経変性疾患」とは、限定されるものではないが、本

願明細書においては、前述の何れかの神経変性疾患原因タンパク質が脳に蓄積する神経変性疾患を意味する。神経変性疾患の例としては、限定されるものではないが、アルツハイマー病（ $A\beta$ 、タウ）、前頭側頭型認知症（タウ、TDP-43、FUS/TLS）、レビー小体型認知症（ α シヌクレイン）、パーキンソン病（ α シヌクレイン）、多系統萎縮症（ α シヌクレイン）、ハンチントン病（ポリグルタミン）、筋萎縮性側索硬化症（TDP-43、FUS/TLS、RANタンパク質、SOD-1）、脊髄小脳変性症（ポリグルタミン、RANタンパク質）、クロイツフェルト・ヤコブ病（プリオン）等が挙げられる（なお、各神経変性疾患において蓄積が見られる神経変性疾患原因タンパク質の例を括弧内に示す。）。中でも、本発明の神経変性疾患の治療又は予防剤は、変性性認知症の治療又は予防剤であることが好ましい。変性性認知症の例としては、限定されるものではないが、アルツハイマー病、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症、パーキンソン病あるいは筋萎縮性側索硬化症に起因する認知症等が挙げられる。中でも、タウが蓄積する前頭側頭型認知症をさらに細かく分類すれば、ピック病、大脳皮質基底核変性症、進行性核上性麻痺等が挙げられる。本発明の剤による神経変性疾患の治療又は予防作用は、例えば後述の実施例に示すように、神経変性疾患（例えば変性性認知症）を発症するモデル動物に当該剤を投与した後、モリス水迷路試験等の認知機能試験やロータロッド試験等の運動機能試験に供することにより、又は、脳切片を染色して観察することにより、評価することができる。

[0047] 〔剤の剤型、用法・用量〕

本発明の剤の剤型は特に制限されないが、例えばママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬を、破砕物、破砕物の抽出物、破砕物の抽出残渣等の任意の形態でそのまま、或いは所望の賦形剤及び／又は担体等のその他の成分と共に製剤化して使用することができる。また、本発明の剤を含む食品（本発明の食品）又は医薬（本発明の医薬）の形態で使用する場合には、本発明の剤の有効成分であるママキの葉及び／又は果実及び／又は種子を、そ

れぞれ食品又は医薬の形態に応じたその他の成分と共に混合して使用することができる。詳しくは後述する。

[0048] 本発明の剤の用法も特に制限されないが、通常は経口で投与される。特に本発明の剤は、食品（本発明の食品）又は経口医薬（本発明の医薬）の形態で使用することが好ましい。詳しくは後述する。

[0049] 本発明の剤の用量も特に制限されないが、例えば、本発明の剤は、その有効成分であるママキの葉及び／又は果実及び／又は種子が、通常0.01mg／日以上、又は0.1mg／日以上、中でも0.5mg／日以上、更には1.0mg／日以上、また、通常10g／日以下、中でも5g／日以下、更には1g／日以下の量となるように、対象に対して投与することができる。

[0050] [食品]

本発明の一側面によれば、本発明の剤を含む食品（本発明の食品）が提供される。本発明の食品は、本発明の剤のいずれか1つを含むことを特徴とし、その剤の用途に用いられる。

[0051] 本発明の食品は、溶液、懸濁液、乳濁液、粉末、固体成形物などの、経口摂取が可能な任意の形態とすることができる。また、後述の本発明の医薬と同様にして、カプセル、トローチ、シロップ、顆粒などの剤形に成形することができる。

[0052] 本発明の食品は、例えば、茶、紅茶、コーヒー、清涼飲料、アルコール飲料、炭酸飲料、乳飲料、果汁飲料、栄養ドリンク、濃縮飲料、粉末飲料（粉末ジュース、粉末スープなど）などの飲料；サプリメント；飴、グミ、ガム、チョコレート、クッキー、ビスケットなどの菓子類；アイスクリームなどの冷菓；ヨーグルト、加工乳などの乳製品；シリアル、パン、ケーキミックスなどの小麦粉製品；そばなどの麺類；マヨネーズ、ホイップクリーム、ドレッシングなどの油脂加工品；水産加工品；畜産加工品；農産加工品として製造することができる。これらの食品の製造時に、本発明の剤を添加して含有させることにより、本発明の食品を製造することができる。

[0053] 本発明の食品には、他の食品素材のほか、必要に応じて、甘味料、着色料

、保存料、増粘剤、安定剤、ゲル化剤もしくは糊料、アスコルビン酸等の酸化防止剤、発色剤、漂白剤、防かび剤もしくは防ばい剤、イーストフード、ガムベース、かんすい、苦味料、酵素、光沢剤、香料、酸味料、チューインガム軟化剤、調味料、豆腐用凝固剤、乳化剤、pH調整剤、膨脹剤、ビタミン類、ミネラル類、アミノ酸類などの栄養強化剤、製造用剤などの添加物を添加することができる。

[0054] 本発明の食品は、各国の制度の下、本発明の剤の作用、効果、機能、もしくは用途を表示した食品として提供してもよい。例えば、日本においては、本発明の食品は、保健機能食品（特定保健機能食品、機能性表示食品、栄養機能食品）として製造することもできる。

[0055] 本発明の食品における、本発明の剤の有効成分であるママキの葉及び／又は果実及び／又は種子の含有量は、本発明の剤と同様にして、本発明の効果が得られる範囲で適宜設定することができる。具体的には、本発明の剤の有効成分であるママキの葉及び／又は果実及び／又は種子が、通常0.01mg／日以上、又は0.1mg／日以上、中でも0.5mg／日以上、更には1.0mg／日以上、また、通常10g／日以下、中でも5g／日以下、更には1g／日以下の量となるように、その含有量を調整すればよい。

[0056] 本発明の食品の摂取回数及び頻度は任意であり、1日1～数回ずつ、毎日、隔日、2日おき、又は1週間に1～7日の任意の回数及び頻度で適宜設定することができる。所望の摂取回数及び頻度に応じて、本発明の剤の効果をj得るために必要な量のママキの葉及び／又は果実及び／又は種子を食品に配合することにより、所望の作用効果の種類に応じて所望の効果が期待できる本発明の食品を提供することができる。

[0057] 本発明の食品は、本発明の剤を含有することを特徴としているため、各種の本発明の剤の利点を共有し、極めて有用である。また、食品であり、特定の疾患に罹患した患者だけでなく、健常人にも、安全かつ簡便に用いられる。

[0058] また、本発明の食品はヒトの他に、本発明の剤の用途が適用され得るヒト

以外の動物にも用いることができる。

[0059] 〔医薬〕

本発明の一側面によれば、本発明の剤を含む医薬（本発明の医薬）が提供される。本発明の医薬は、本発明の剤のいずれか1つを含むことを特徴とし、その剤の用途に用いられる。

[0060] 本発明の医薬の投与経路は限定されないが、通常は経口的に投与される内服薬（経口剤）である。

[0061] 本発明の医薬は、本発明の剤を有効成分として添加し、錠剤、軟カプセル、硬カプセルなどのカプセル剤、散剤、顆粒剤、ドロップ、丸剤などの固形製剤、ゼリー等の半固形製剤、シロップ剤、懸濁剤、内用液剤などの液状製剤の任意の剤形として製造することができる。この場合、本発明の医薬は、本発明の剤と経口剤の製造に通常用いられる他の添加物とを組み合わせた医薬組成物として、当業者に公知の医薬品の製造方法により製剤化することができる。

[0062] 本発明の医薬の製造に用いられる添加物としては、例えば、賦形剤、崩壊剤、結合剤、滑沢剤、コーティング剤、分散剤、流動化剤、安定剤、保存剤、緩衝剤、矯味剤、懸濁化剤、乳化剤、着香剤、溶解補助剤、着色剤、粘稠剤などが挙げられる。また、医薬的に許容される担体をさらに組み合わせることにより、本発明の剤の作用・効果をさらに高めた、本発明の医薬を提供することができる。

[0063] 本発明の医薬には、各国の制度の下、医薬品に準じた製品も含まれる。これには例えば、日本における医薬部外品が挙げられる。

[0064] 本発明の医薬における、本発明の剤の有効成分であるママキの葉及び／又は果実及び／又は種子の含有量は、本発明の剤と同様にして、本発明の効果が得られる範囲で適宜設定することができる。具体的には、本発明の剤の有効成分であるママキの葉及び／又は果実及び／又は種子が、通常0.01mg／日以上、又は0.1mg／日以上、中でも0.5mg／日以上、更には1.0mg／日以上、また、通常10g／日以下、中でも5g／日以下、更

には 1 g / 日以下の量となるように、その含有量を調整すればよい。

[0065] 本発明の医薬の投与回数及び頻度は任意であり、1 日 1 ～数回ずつ、毎日、隔日、2 日おき、又は 1 週間に 1 ～7 日の任意の回数及び頻度で適宜設定することができる。所望の投与回数及び頻度に応じて、本発明の剤の効果をを得るために必要な量のママキの葉及び／又は果実及び／又は種子を配合することにより、所望の作用効果の種類に応じて所望の効果が期待できる本発明の投与を提供することができる。

[0066] 本発明の医薬は、本発明の剤を含有することを特徴としているため、その剤の利点を共有し、極めて有用である。

[0067] また、本発明の医薬はヒトの他に、本発明の剤の用途が適用され得るヒト以外の動物にも用いることができる。

[0068] 〔方法〕

本発明の一側面によれば、ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬、本発明の剤、本発明の食品、及び本発明の医薬から選択される 1 種又は 2 種以上を対象に投与することを含む、脳機能の維持若しくは改善方法、神経細胞の修復促進若しくは神経新生の誘導方法、脳に蓄積する神経変性疾患原因タンパク質の除去方法、又は、神経変性疾患の治療若しくは予防方法（本発明の方法）が提供される。

[0069] 本発明の方法は、本発明の剤の有効成分であるママキの葉及び／又は果実及び／又は種子を、本発明の剤、本発明の食品、及び／又は、本発明の医薬の形態で、対象に投与すればよい。その詳細については、本発明の剤、本発明の食品、及び本発明の医薬に関する上記説明において詳述したとおりである。

実施例

[0070] 以下、本発明を実施例に則して更に詳細に説明するが、これらの実施例はあくまでも説明のために便宜的に示す例に過ぎず、本発明は如何なる意味でもこれらの実施例に限定されるものではない。

[0071] 〔材料及び方法〕

・ ママキの葉および果実の熱水抽出物及び非抽出単純破碎粉末の調製

ママキの乾燥茶葉は、N a k i h a l a n i F a r m, L L C (ハワイ、米国) から購入した。ママキの葉の熱水抽出物は、テクノプロL & D社 (東京、日本) で調製した。250gのママキ茶葉を3Lの水に加え、1時間浸漬した。攪拌しながら15分間沸騰させた後、混合物を24時間放置した。茶葉を取り除いた後、孔径8 μ mの濾紙を用いて吸引濾過を行った。濾液をエバポレーターを用いて40℃で加熱しながら500mLまで濃縮した。濃縮液を凍結乾燥し、エキス粉末66gを得た。ママキの葉と果実の非抽出単純破碎粉末は当研究室で調製した。市販のママキ茶葉のパッケージには少量の果実 (種子を含む) が混ざっていたので、茶葉と果実を手作業で分離し、グラインダー (F i n e P o w d e r M i l l F M - 1 0 0、L a b o n e c t、堺、日本) を使用して、それぞれを20~50 μ mの粒子に破碎した。これらの粒子を集めて未抽出単純破碎粉末とした。

[0072] ・ ママキの成分分析

ママキの葉には、主成分としてカテキン、クロロゲン酸、ルチンが含まれていることが知られている (非特許文献10: Chun et al., Native Hawaiian medicines, First People's Productions Honolulu, (1994), 216-217)。上で調製したママキ標品を日本食品分析センター (東京、日本) に送付し、これらポリフェノールの含有量を測定した。

[0073] カテキンの場合、0.4gの物質を30mLのメタノールとシュウ酸の混合物 (8:2) に懸濁し、10分間振とう抽出した。遠心分離後、上清を回収し、沈査をさらに2回メタノール抽出にかけた。3回の抽出の上清を合わせて、総量100mLにした。抽出物を希釈し、0.1%酢酸とアセトニトリル混合物 (89:11) を移動相とする逆相 I n e r t S u s t a i n C 1 8 カラム (G L S c i e n c e s、東京、日本) を用いた高速液体クロマトグラフィー (H P L C) で分離した。溶出画分を X e v o T Q M S (W a t e r s C o r p o r a t i o n、ミルフォード、マサチューセッツ州) を使用したエレクトロスプレーイオン化 (E S I) - 質量分析 (M S) によ

り連続的に分析した。

- [0074] クロロゲン酸の場合、0.2 gの物質を80 mLのメタノールと0.02 M過塩素酸の混合物（1：9）に懸濁し、10分間振とう抽出した。遠心分離後、上清を回収し、沈査をさらに2回メタノール抽出にかけた。3回の抽出の上清を合わせて、総量250 mLにした。抽出物を、水、アセトニトリル、およびリン酸混合物（920：80：2）を移動相とする逆相CAPCELL PAK C18 ACRカラム（大阪ソーダ、大阪、日本）を用いたHPLCで分離した。溶出画分の325 nmにおける吸光度を測定した。
- [0075] 最後に、ルチンの場合、0.4 gの物質を60 mLのメタノールと2.5 %酢酸の混合物（8：2）に懸濁し、10分間振とう抽出した。遠心分離後、上清を回収し、沈査をさらに2回メタノール抽出にかけた3回の抽出の上清を合わせて、総量200 mLにした。抽出物を希釈し、0.4 %クエン酸を含む水、アセトニトリル、および2-プロパノール混合物（200：38：2）を移動相とする逆相Unison UK-C18カラム（Imtakt USA、ポートランド、オレゴン州、米国）を用いたHPLCによって分離した。溶出画分の360 nmにおける吸光度を測定した。
- [0076] ・マウス
- 4種の異なる神経変性認知症マウスモデルを使用した。
- [0077] Tau784マウスは、タウイントロン変異の存在により、成体年齢で3反復及び4反復ヒトタウの両方を発現する（うち4反復ヒトタウが優性発現する）FTDモデルである（非特許文献25：Umeda et al., Am. J. Pathol., (2013), 183[1]:211-25；及び非特許文献26：Umeda et al., Ann. Clin. Transl. Neurol., (2015), 2[3]:241-55）。本発明者等の過去の研究によれば、これらのマウスは、タウアイソフォームの不均衡な発現により、生後6ヶ月でタウ過剰リン酸化、タウオリゴマー形成、シナプス喪失、及び記憶障害を示し、生後12ヶ月でミクログリア活性化を示し、生後15ヶ月で神経原線維変化の形成及びニューロンの喪失を示す。
- [0078] APP23マウスは、Swedish（KM670／671NL）変異を

持つヒトA P Pを発現するA Dモデルである（非特許文献27：Sturchler-Pierrat et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., (1997), 94[24]:13287-92；非特許文献28：Van Dam et al., Eur. J. Neurosci., (2003), 17[2]:388-96；及び非特許文献29：Umeda et al., Front. Neurosci., (2021), 15:763476）。これらのマウスは、生後3ヶ月で記憶障害を示す。本発明者等の過去の研究によれば、これらのマウスは、生後15ヶ月でA β オリゴマーの蓄積、シナプスの喪失、及びアミロイドの沈着を示す。

[0079] H u α -S y n (A 5 3 T) 系統G 2-3マウスは、本来はA 5 3 T変異を有するヒト α -シヌクレインを発現するP Dモデルとして作製された（非特許文献30：Lee et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., (2002), 99[13]:8968-73；及び非特許文献31：Umeda et al., Int. J. Mol. Sci., (2021), 22:8453）。本発明者等の過去の研究によれば、これらのマウスは、生後4ヶ月から α -シヌクレインオリゴマーの蓄積を示し、生後6ヶ月で認知障害、生後9ヶ月で運動機能障害を示す。従って、生後9ヶ月までD L Bのモデルと見なすことができる。

[0080] C 9-5 0 0マウスは、ヒト全長C 9 o r f 7 2遺伝子を導入したF T D /A L Sのモデルである（非特許文献32：Liu et al., Neuron, (2016), 90[3]:521-534；及び非特許文献33：Hatanaka et al., Biomedicines, (2022), 10[5]:1080）。イントロン1 aのG G G G C C配列が約5 0 0回に異常伸長する変異（ヘキサヌクレオチドリピートエクспанジョン、H R E）を有しており、T D P-4 3を含む様々な病理を呈することが報告されている（上記非特許文献32）。我々は、このマウスが3か月齢でR N A f o c iを形成するR N A G-quadruplex、p o l y-G Aやp o l y-G Pなどのジペプチドリピートタンパク質（D P R）、リン酸化T D P-4 3などの蓄積を示し、6か月齢でシナプス消失、ニューロン消失、ミクログリア活性化を示すことを確認した（上記非特許文献33）。ちなみに、D P Rは2本鎖R N A依存性プロテインキナーゼ（P K R）により制御されるリピート関連A T G非依存性翻訳（R A N翻訳）によって生み出される。この

マウスの認知機能は4. 5 か月齢で低下し始めるが、運動機能は1 2 か月齢でも正常なままであった（上記非特許文献3 3）。つまり、このマウスは1 2 か月齢まではF T D－T D Pのモデルと見なすことができる。

[0081] 全てのトランスジェニック（T g）マウスは、ヘテロ接合動物として維持され、使用された。全ての動物実験は、大阪公立大学（大阪、日本）の倫理委員会によって承認され、大阪公立大学動物実験ガイドに従って実施された。

[0082] ・マウスの処置

ママキ葉の熱水抽出物の効果を調べるために、エキス粉末を超音波処理により水に3. 3 3、0. 3 3、および0. 1 0 m g / m Lの濃度で懸濁した。3 0 0 μ Lの各懸濁液（1, 0 0 0、1 0 0、および3 0 μ g粉末含有）をオスおよびメスのT a u 7 8 4マウスに週5日（月曜日から金曜日）1 か月間経口投与した。コントロールとして、同月齢のT gおよびn o n－T g同腹仔に同量の水を投与した。A P P 2 3、H u α －S y n（A 5 3 T）、およびC 9－5 0 0マウスには、0. 3 3 m g / m Lの懸濁液（1 0 0 μ g粉末 / 3 0 0 μ L）をオスおよびメスのマウスに1 か月間経口投与した。

[0083] ママキ葉の熱水抽出物、ママキ葉の単純破碎粉末、ママキ果実の単純破碎粉末の3つのママキ標品の効果を比較するために、各粉末を超音波処理により水に0. 1 0 m g / m Lの濃度で懸濁した。3 0 0 μ Lの各懸濁液（3 0 μ g粉末含有）をT a u 7 8 4マウスに1 か月間経口投与した。

[0084] ママキに含まれるポリフェノールの効果を調べるために、カテキン、クロロゲン酸、ルチン（すべてF u j i f i l m－W a k o、大阪、日本）を1つのチューブに入れ、水に溶かして混合液を作製した。濃度はそれぞれ0. 2 9、0. 1 2、0. 4 1 μ g / m Lとなるように調製した。3 0 0 μ Lの混合液（カテキン0. 0 8 7 μ g、クロロゲン酸0. 0 3 6 μ g、ルチン0. 1 2 3 μ g含有）をT a u 7 8 4マウスに1 か月間経口投与した。これらポリフェノールの投与量は、果実の単純破碎粉末3 0 μ gに含まれる量に相当する。カテキンのみを含む溶液（0. 0 8 7 μ g / 3 0 0 μ L）もT a u

784 マウスに投与された。

[0085] ・行動試験

マウスの空間参照記憶は、モリス水迷路試験を使用して評価した（非特許文献34：Kelley Bromley-Brits et al., J. Vis. Exp., (2011), 53e2920）。直径1 mの円形プールの1カ所にマウスからは見えないように水面下1 cmの深さに直径10 cmのプラットフォームを設置した。マウスをプールに入れて60秒間泳がせ、プラットフォームに辿り着くまでの時間を計測した（Escape latencyとして表す）。60秒で辿り着かなかった場合は、実験者がマウスをプラットフォームに乗せ、しばらく休憩させた。この試行を各マウスにつき、5分間隔で1日5回、4日連続で行った。これにより記憶の獲得能を測定した。

[0086] ・神経病理の組織学的分析

行動試験終了後、各群のマウスを2つのグループに分け、1つは組織学的解析用、もう1つは将来の生化学的解析用とした。組織学的解析用のマウスを4%パラホルムアルデヒドで還流固定後、既報（非特許文献27：Sturchler-Pierrat et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., (1997), 94[24]:13287-92；及び非特許文献33：Hatanaka et al., Biomedicines, (2022), 10[5]:1080）従って脳切片を作製し、免疫組織化学により神経病理を染色した。以下に免疫組織化学で用いた抗体を示す。病理の評価は、一定範囲の脳領域における染色強度または染色面積をNIH Image Jソフトウェアを用いて定量化して行った。神経炎症（非特許文献35：Muzio et al., Front Neurosci., (2021), 24[15]:742065）は、Iba-1陽性となる活性化ミクログリアの数を一定範囲の脳領域でカウントして評価した。各神経病理と検出用抗体との対応を下記表に示す。

[0087]

[表1]

神経病理	抗体
リン酸化タウ	AT8 抗体 (pSer202/Thr205 認識) (Thermo Scientific, Waltham, MA)
タウオリゴマー	T22 抗体 (Sigma-Aldrich, St Louis, MO)
A β オリゴマー	11A1 抗体 (IBL、藤岡、日本)
アミロイド沈着	β 001 抗体 (自家製) (非特許文献 27)
リン酸化 α -シヌクレイン	EP1536Y 抗体 (pSer129 認識) (Abcam, Cambridge, UK)
α -シヌクレインオリゴマー	Syn33 抗体 (Sigma-Aldrich)
DNA/RNA G-quadruplex	BG4 抗体 (Absolute antibody, Cleveland, UK)
poly-GA, poly-GP	抗 poly-GA 抗体、抗 poly-GP 抗体 (両方ともコスモバイオ、東京、日本)
リン酸化 TDP-43	抗 phospho-TDP-43 抗体 (pSer409/410 認識) (コスモバイオ)
リン酸化 PKR	抗 phospho-PKR 抗体 (pThr446 認識) (MilliporeSigma, Burlington, MA)
シナプトフィジン (シナプスのマーカー)	SVP-38 抗体 (Sigma-Aldrich)
活性化ミクログリア	抗Iba-1抗体 (Fujifilm-Wako)

[0088] ・BDNF発現及び神経発生の組織学的分析

BDNF発現は、3種類のママキ標品を30 μ g/dayで1か月間投与されたTau784マウスで評価した。脳切片を抗BDNF抗体 (GTx132621; GeneTex, Irvine, CA) で染色し、一定範囲の脳領域における染色強度をNIH Image Jソフトウェアを用いて定量化した。

[0089] 神経新生の評価は、老齢のHu α -Syn (A53T) マウスを用いて行った。マウスに、ママキ果実の単純破砕粉末懸濁液を30 μ g/dayで1か月間経口投与した。増殖中の細胞のDNAに選択的に取り込まれるチミジン類似体である5-ブロモ-2'-デオキシウリジン (BrdU; Sigma

a-Aldrich) を Tris 緩衝生理食塩水、pH 7.6 に 5 mg/mL で溶解し、この溶液 300 μ L (1.5 mg 含有) を、ママキ投与の最後の 5 日間、マウスに毎日腹腔内投与した。脳切片を抗 BrdU マウスモノクローナル抗体 (IBL) と抗ダブルコルチンウサギポリクローナル抗体 (Abcam) で二重染色した。これらの 2 つの抗体の両方に陽性となる細胞を新たに生まれたニューロンとみなし、その数を一定範囲の脳領域でカウントした。

[0090] ・統計分析

3 以上の群間の平均の比較には、ANOVA 又は 2 因子反復測定 ANOVA (行動試験用) を用い、続いてフィッシャーの PLSD 試験を行った。p 値 < 0.05 の場合に、有意差であると判断した。

[0091] 〔実施例 1〕Tau784 マウスに対するママキの葉の熱水抽出物 (Leaf-extract) の効果の検討

Tau784 マウスに対するママキの葉の熱水抽出物 (Leaf-extract) の効果を検討した。12~14 か月齢の Tau784 マウス (平均体重 31.8 g) に、ママキの葉の熱水抽出物 (Leaf-extract) 粉末を 1000 μ g/日、100 μ g/日、又は 30 μ g/日で 1 か月間経口投与した。コントロールとして、同月齢の Tau784 マウス及び同腹子の非遺伝子組換えマウスに、同量の水を与えた。

[0092] 図 1 は、ママキの葉の熱水抽出物 (Leaf-extract) を 1 か月間経口投与した Tau784 マウス (表中「Tg+Leaf-extract」) のモリス水迷路試験の結果を、対象として水を投与した Tau784 マウス (表中「Tg」) 及び非遺伝子組み換えマウス (表中「Non-Tg」) との比較で示すグラフである。図 1 A は、用量 1000 μ g/日及び 100 μ g/日の群の結果を示すグラフであり、図 1 B は、用量 30 μ g/日の群の結果を示すグラフである。これらの結果から明らかなように、ママキの葉の熱水抽出物 (Leaf-extract) の投与により、Tau784 マウスの記憶は用量依存的に改善された。特に用量 1000 μ g/日及び 100 μ g/日の群では、

Tau784マウスの記憶は同腹子の非遺伝子組換えマウスと同等のレベルにまで改善された。

[0093] 図2は、ママキの葉の熱水抽出物 (Leaf-extract) を用量100 μ g /日で1か月間経口投与したTau784マウス (表中「Tau784 + Leaf-extract」) の嗅内皮質におけるタウ病理を、対象として水を投与したTau784マウス (表中「Tau784」) との比較で示す図である。図2Aはリン酸化タウ及びタウオリゴマーの染色結果を示す写真であり、図2Bは各写真の染色強度を定量化した結果を示すグラフである。これらの結果から明らかなように、ママキの葉の熱水抽出物 (Leaf-extract) の投与により、Tau784マウスのリン酸化タウ及びタウオリゴマーレベルは有意に減少した。

[0094] 図3は、ママキの葉の熱水抽出物 (Leaf-extract) を用量100 μ g /日で1か月間経口投与したTau784マウス (表中「Tau784 + Leaf-extract」) の海馬CA2 / 3領域におけるシナプトフィジン病理を、対象として水を投与したTau784マウス (表中「Tau784」) 及び非遺伝子組み換えマウス (表中「Non-Tg」) との比較で示す図である。図3Aはシナプトフィジンの染色結果を示す写真であり、図3Bは各写真の染色強度を定量化した結果を示すグラフである。これらの結果から明らかなように、ママキの葉の熱水抽出物 (Leaf-extract) の投与により、Tau784マウスの海馬CA2 / 3領域のシナプトフィジンレベルは、同腹子の非遺伝子組換えマウスと同等のレベルにまで改善された。

[0095] 図4は、ママキの葉の熱水抽出物 (Leaf-extract) を用量100 μ g /日で1か月間経口投与したTau784マウス (表中「Tau784 + Leaf-extract」) の海馬 (HC) 及び大脳皮質 (CTX) におけるミクログリア病理を、対象として水を投与したTau784マウス (表中「Tau784」) 及び非遺伝子組み換えマウス (表中「Non-Tg」) との比較で示す図である。図4Aは活性化ミクログリアの染色結果を示す写真であり、図4Bは各写真の陽性細胞数を示すグラフである。これらの結果から明ら

かなように、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) の投与により、T a u 7 8 4 マウスの海馬 (H C) 及び大脳皮質 (C T X) の活性化ミクログリアレベルは、何れも同腹子の非遺伝子組換えマウスと同等のレベルにまで改善された。

[0096] 〔実施例 2〕 A P P 2 3 マウスに対するママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) の効果の検討

A P P 2 3 マウスに対するママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) の効果を検討した。14～17 か月齢の A P P 2 3 マウス (平均体重 30.1 g) に、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) 粉末を 100 μ g / 日で 1 か月間経口投与した。コントロールとして、同月齢の A P P 2 3 マウス及び同腹子の非遺伝子組換えマウスに、同量の水を与えた。

[0097] 図 5 は、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) を用量 100 μ g / 日で 1 か月間経口投与した A P P 2 3 マウス (表中「T g + L e a f - e x t」) のモリス水迷路試験の結果を、対象として水を投与した A P P 2 3 マウス (表中「T g」) 及び非遺伝子組み換えマウス (表中「N o n - T g」) との比較で示すグラフである。これらの結果から明らかなように、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) の投与により、A P P 2 3 マウスの記憶は、同腹子の非遺伝子組換えマウス (n o n - T g) と同等に近いレベルにまで改善された。

[0098] 図 6 は、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) を用量 100 μ g / 日で 1 か月間経口投与した A P P 2 3 マウス (表中「A P P 2 3 + L e a f - e x t」) の大脳皮質及び海馬におけるアミロイド病理を、対象として水を投与した A P P 2 3 マウス (表中「A P P 2 3」) との比較で示す図である。図 6 A はアミロイド沈着及び A β オリゴマーの染色結果を示す写真であり、図 6 B は各写真の染色強度を定量化した結果を示すグラフである。これらの結果から明らかなように、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) の投与により、A P P 2 3 マウスのアミロイド沈着及び A β オリゴマーのレベルは有意に減少した。

[0099] 図7は、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) を用量 $100\mu\text{g}$ /日 で1か月間経口投与したA P P 2 3マウス (表中「A P P 2 3 + L e a f - e x t」) の海馬C A 2 / 3領域におけるシナプトフィジン病理を、対象として水を投与したA P P 2 3マウス (表中「A P P 2 3」) 及び非遺伝子組み換えマウス (表中「N o n - T g」) との比較で示す図である。図7 Aはシナプトフィジンの染色結果を示す写真であり、図7 Bは各写真の染色強度を定量化した結果を示すグラフである。これらの結果から明らかなように、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) の投与により、A P P 2 3マウスの海馬C A 2 / 3領域のシナプトフィジンレベルは、同腹子の非遺伝子組換えマウスと同等のレベルにまで改善された。

[0100] 図8は、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) を用量 $100\mu\text{g}$ /日 で1か月間経口投与したA P P 2 3マウス (表中「A P P 2 3 + L e a f - e x t」) の海馬 (H C) 及び大脳皮質 (C T X) におけるミクログリア病理を、対象として水を投与したA P P 2 3マウス (表中「A P P 2 3」) 及び非遺伝子組み換えマウス (表中「N o n - T g」) との比較で示す図である。図8 Aは活性化ミクログリアの染色結果を示す写真であり、図8 Bは各写真の陽性細胞数を示すグラフである。これらの結果から明らかなように、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) の投与により、A P P 2 3マウスの海馬 (H C) 及び大脳皮質 (C T X) の活性化ミクログリアレベルは、何れも同腹子の非遺伝子組換えマウスと同等のレベルにまで改善された。

[0101] 〔実施例3〕 H u α - S y n (A 5 3 T) マウスに対するママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) の効果の検討

H u α - S y n (A 5 3 T) マウスに対するママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) の効果を検討した。7～8か月齢のH u α - S y n (A 5 3 T) マウス (平均体重28.4g) に、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) 粉末を $100\mu\text{g}$ /日 で1か月間経口投与した。コントロールとして、同月齢のH u α - S y n (A 5 3 T) マウス及び同腹子の非遺伝子

組換えマウスに、同量の水を与えた。。

[0102] 図9は、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) を用量 $100\mu\text{g}$ /日 で1 か月間経口投与したHu α -Syn (A53T) マウス (表中「Tg+L e a f - e x t」) のモリス水迷路試験の結果を、対象として水を投与したHu α -Syn (A53T) マウス (表中「Tg」) 及び非遺伝子組み換えマウス (表中「Non-Tg」) との比較で示すグラフである。これらの結果から明らかなように、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) の投与により、Hu α -Syn (A53T) マウスの記憶は、同腹子の非遺伝子組換えマウス (n o n - T g) と同等に近いレベルにまで改善された。

[0103] 図10及び11は、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) を用量 $100\mu\text{g}$ /日 で1 か月間経口投与したHu α -Syn (A53T) マウス (表中「 α Syn-Tg+L e a f - e x t」) の海馬 (HC) および嗅内皮質 (EC) における α -シヌクレイン病理を、対象として水を投与したHu α -Syn (A53T) マウス (表中「 α Syn-Tg」) との比較で示す図である。図10Aはリン酸化 α -シヌクレインの染色結果を示す写真、図11Aは α -シヌクレインオリゴマーの染色結果を示す写真であり、図10B及び図11Bは各写真の染色強度を定量化した結果を示すグラフである。これらの結果から明らかなように、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) の投与により、Hu α -Syn (A53T) マウスのリン酸化 α -シヌクレイン及び α -シヌクレインオリゴマーのレベルは有意に減少した。

[0104] 図12は、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) を用量 $100\mu\text{g}$ /日 で1 か月間経口投与したHu α -Syn (A53T) マウス (表中「 α Syn-Tg+L e a f - e x t」) の海馬CA2/3領域におけるシナプトフィジン病理を、対象として水を投与したHu α -Syn (A53T) マウス (表中「 α Syn-Tg」) 及び非遺伝子組み換えマウス (表中「Non-Tg」) との比較で示す図である。図12Aはシナプトフィジンの染色結果を示す写真であり、図12Bは各写真の染色強度を定量化した結果を

示すグラフである。これらの結果から明らかなように、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) の投与により、H u α - S y n (A 5 3 T) マウスの海馬C A 2 / 3 領域のシナプトフィジンレベルは、同腹子の非遺伝子組換えマウスと同等のレベルにまで改善された。

[0105] 図13は、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) を用量100 μ g / 日で1か月間経口投与したH u α - S y n (A 5 3 T) マウス (表中「 α S y n - T g + L e a f - e x t」) の海馬 (H C) 及び大脳皮質 (C T X) におけるミクログリア病理を、対象として水を投与したH u α - S y n (A 5 3 T) マウス (表中「 α S y n - T g」) 及び非遺伝子組み換えマウス (表中「N o n - T g」) との比較で示す図である。図13Aは活性化ミクログリアの染色結果を示す写真であり、図13Bは各写真の陽性細胞数を示すグラフである。これらの結果から明らかなように、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) の投与により、H u α - S y n (A 5 3 T) マウスの海馬 (H C) 及び大脳皮質 (C T X) の活性化ミクログリアレベルは、何れも同腹子の非遺伝子組換えマウスと同等のレベルにまで改善された。

[0106] 「実施例4」C9-500マウスに対するママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) の効果の検討

C9-500マウスに対するママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) の効果を検討した。9~10か月齢のC9-500マウス (平均体重29.2 g) に、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) 粉末を100 μ g / 日で1か月間経口投与した。コントロールとして、同月齢のC9-500マウス及び同腹子の非遺伝子組換えマウスに、同量の水を与えた。

[0107] 図14は、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) を用量100 μ g / 日で1か月間経口投与したC9-500マウス (表中「T g + L e a f - e x t」) のモリス水迷路試験の結果を、対象として水を投与したC9-500マウス (表中「T g」) 及び非遺伝子組み換えマウス (表中「N o n - T g」) との比較で示すグラフである。これらの結果から明らかなように、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) の投与により、C9-50

0マウスの記憶は、同腹子の非遺伝子組換えマウス（non-Tg）と同等に近いレベルにまで改善された。

[0108] 図15は、ママキの葉の熱水抽出物（Leaf-extract）を用量100μg／日で1か月間経口投与したC9-500マウス（表中「C9-500+Leaf-extract」）の前頭前皮質（PFC）におけるC9orf72遺伝子の変異に起因する病理を、対象として水を投与したC9-500マウス（表中「C9-500」）との比較で示す図である。図15AはRNA G-quadruplex、poly-GA、poly-GP、およびリン酸化TDP-43の染色結果を示す写真であり、図15Bは各写真の染色強度を定量化した結果を示すグラフである。これらの結果から明らかなように、ママキの葉の熱水抽出物（Leaf-extract）の投与により、C9-500マウスの前頭前皮質（PFC）におけるC9orf72遺伝子の変異に起因する病理のレベルは有意に減少した。

[0109] 図16は、ママキの葉の熱水抽出物（Leaf-extract）を用量100μg／日で1か月間経口投与したC9-500マウス（表中「C9-500+Leaf-extract」）の前頭前皮質（PFC）における2本鎖RNA依存性プロテインキナーゼ（PKR）病理を、対象として水を投与したC9-500マウス（表中「C9-500」）及び非遺伝子組み換えマウス（表中「Non-Tg」）との比較で示す図である。図16Aはリン酸化PKRの染色結果を示す写真であり、図16Bは各写真の染色強度を定量化した結果を示すグラフである。これらの結果から明らかなように、ママキの葉の熱水抽出物（Leaf-extract）の投与により、C9-500マウスの前頭前皮質（PFC）のPKRレベルは、同腹子の非遺伝子組換えマウスと同等のレベルにまで減少された。

[0110] 図17は、ママキの葉の熱水抽出物（Leaf-extract）を用量100μg／日で1か月間経口投与したC9-500マウス（表中「C9-500+Leaf-extract」）の海馬CA2／3領域におけるシナプトフィジン病理を、対象として水を投与したC9-500マウス（表中「C9-500」）

及び非遺伝子組み換えマウス（表中「Non-Tg」）との比較で示す図である。図17Aはシナプトフィジンの染色結果を示す写真であり、図17Bは各写真の染色強度を定量化した結果を示すグラフである。これらの結果から明らかなように、ママキの葉の熱水抽出物（Leaf-ext）の投与により、C9-500マウスの海馬CA2/3領域のシナプトフィジンレベルは、同腹子の非遺伝子組換えマウスと同等のレベルにまで改善された。

[0111] 図18は、ママキの葉の熱水抽出物（Leaf-ext）を用量100 μ g/日で1か月間経口投与したC9-500マウス（表中「C9-500+Leaf-ext」）の前頭前皮質（PFC）におけるミクログリア病理を、対象として水を投与したC9-500マウス（表中「C9-500」）及び非遺伝子組み換えマウス（表中「Non-Tg」）との比較で示す図である。図18Aは活性化ミクログリアの染色結果を示す写真であり、図18Bは各写真の陽性細胞数を示すグラフである。これらの結果から明らかなように、ママキの葉の熱水抽出物（Leaf-ext）の投与により、C9-500マウスの前頭前皮質（PFC）の活性化ミクログリアレベルは、何れも同腹子の非遺伝子組換えマウスと同等に近いレベルにまで改善された。

[0112] 「実施例5」Tau784マウスに対するママキの葉の熱水抽出物（Leaf-ext）、葉の単純破碎粉末（Leaf-pwd）、及び果実（種子を含む）の単純破碎粉末（Fruit-pwd）の効果の検討

Tau784マウスに対するママキの葉の熱水抽出物（Leaf-ext）、葉の単純破碎粉末（Leaf-pwd）、及び果実（種子を含む）の単純破碎粉末（Fruit-pwd）の効果を検討した。7～9か月齢のTau784マウス（平均体重28.9g）に、ママキの葉の熱水抽出物（Leaf-ext）粉末、葉の単純破碎粉末（Leaf-pwd）、及び果実（種子を含む）の単純破碎粉末（Fruit-pwd）を、それぞれ30 μ g/日で1か月間経口投与した。コントロールとして、同月齢のTau784マウス及び同腹子の非遺伝子組換えマウスに、同量の水を与えた。

[0113] 図19は、ママキの葉の熱水抽出物（Leaf-ext）、葉の単純破碎

粉末 (L e a f - p w d)、及び果実 (種子を含む) の単純破碎粉末 (F r u i t - p w d) を用量 $30 \mu\text{g}$ / 日で 1 か月間経口投与した T a u 7 8 4 マウス (表中それぞれ「T g + L e a f - e x t」、「T g + L e a f - p w d」、及び「T g + F r u i t - p w d」) のモリス水迷路試験の結果を、対象として水を投与した T a u 7 8 4 マウス (表中「T g」) 及び非遺伝子組み換えマウス (表中「N o n - T g」) との比較で示すグラフである。これらの結果から明らかなように、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) の投与により、T a u 7 8 4 マウスの記憶は改善されたが、同腹子の非遺伝子組換えマウスには及ばなかった。ママキの葉の単純破碎粉末 (L e a f - p w d) の投与によれば、T a u 7 8 4 マウスの記憶は同腹子の非遺伝子組換えマウスと同等まで改善された。ママキの果実 (種子を含む) の単純破碎粉末 (F r u i t - p w d) の投与によれば、驚くべきことに、T a u 7 8 4 マウスの記憶は同腹子の非遺伝子組換えマウスよりもさらに高いレベルまで著しく強化された。

[0114] 図 20 は、ママキの葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t)、葉の単純破碎粉末 (L e a f - p w d)、及び果実 (種子を含む) の単純破碎粉末 (F r u i t - p w d) を用量 $30 \mu\text{g}$ / 日で 1 か月間経口投与した T a u 7 8 4 マウス (表中それぞれ「T g + L e a f - e x t」、「T g + L e a f - p w d」、及び「T g + F r u i t - p w d」) の嗅内皮質におけるタウ病理を、対象として水を投与した T a u 7 8 4 マウス (表中「T a u 7 8 4」) との比較で示す図である。図 20 A はリン酸化タウ及びタウオリゴマーの染色結果を示す写真であり、図 20 B は各写真の染色強度を定量化した結果を示すグラフである。これらの結果から明らかなように、嗅内皮質 (E C) のリン酸化タウのレベルは、ママキの葉の単純破碎粉末 (L e a f - p w d) 及び果実 (種子を含む) の単純破碎粉末 (F r u i t - p w d) の投与により有意に減少したが、その効果は果実 (種子を含む) の単純破碎粉末 (F r u i t - p w d) の方が強かった。一方、葉の熱水抽出物 (L e a f - e x t) はわずかな効果しか示さなかった。一方、タウオリゴマーのレベルは何

れの投与で有意に減少したが、その効果は果実（種子を含む）の単純破碎粉末（Fruit-pwd）で最も高く、葉の熱水抽出物（Leaf-ext）で最も弱かった。

[0115] 図21は、ママキの葉の熱水抽出物（Leaf-ext）、葉の単純破碎粉末（Leaf-pwd）、及び果実（種子を含む）の単純破碎粉末（Fruit-pwd）を用量30 μ g／日で1か月間経口投与したTau784マウス（表中それぞれ「Tg+Leaf-ext」、「Tg+Leaf-pwd」、及び「Tg+Fruit-pwd」）の海馬CA2／3領域におけるシナプトフィジン病理を、対象として水を投与したTau784マウス（表中「Tau784」）及び非遺伝子組み換えマウス（表中「Non-Tg」）との比較で示す図である。図21Aはシナプトフィジンの染色結果を示す写真であり、図21Bは各写真の染色強度を定量化した結果を示すグラフである。これらの結果から明らかなように、Tau784マウスの海馬CA2／3領域のシナプトフィジンレベルは、ママキの葉の単純破碎粉末（Leaf-pwd）及び果実（種子を含む）の単純破碎粉末（Fruit-pwd）の投与により有意に回復したが、その効果は果実（種子を含む）の単純破碎粉末（Fruit-pwd）の方が強かった。一方、葉の熱水抽出物（Leaf-ext）では不完全にしか回復しなかった。

[0116] 図22は、ママキの葉の熱水抽出物（Leaf-ext）、葉の単純破碎粉末（Leaf-pwd）、及び果実（種子を含む）の単純破碎粉末（Fruit-pwd）を用量30 μ g／日で1か月間経口投与したTau784マウス（表中それぞれ「Tg+Leaf-ext」、「Tg+Leaf-pwd」、及び「Tg+Fruit-pwd」）の脳皮質（CTX）におけるBDNF発現を、対象として水を投与したTau784マウス（表中「Tau784」）及び非遺伝子組み換えマウス（表中「Non-Tg」）との比較で示す図である。図22AはBDNFの染色結果を示す写真であり、図22Bは各写真の染色強度を定量化した結果を示すグラフである。これらの結果から明らかなように、Tau784マウスの脳皮質（CTX）のBD

N Fレベルは、ママキの果実（種子を含む）の単純破碎粉末（F r u i t - p w d）で同腹仔の非遺伝子組換えマウスよりも高いレベルまで、葉の単純破碎粉末（L e a f - p w d）で同腹仔の非遺伝子組換えマウスと同等のレベルまで有意に増加したが、葉の熱水抽出物（L e a f - e x t）はわずかな効果しか示さなかった。

[0117] 〔実施例6〕Hu α -Syn（A53T）マウスに対するママキの果実（種子を含む）の単純破碎粉末（F r u i t - p w d）の効果の検討

Hu α -Syn（A53T）マウスに対するママキの果実（種子を含む）の単純破碎粉末（F r u i t - p w d）の効果を検討した。10～11か月齢のHu α -Syn（A53T）マウス（平均体重28.9g）に、ママキの果実（種子を含む）の単純破碎粉末（F r u i t - p w d）を30 μ g／日で1か月間経口投与した。コントロールとして、同月齢のHu α -Syn（A53T）マウス及び同腹子の非遺伝子組換えマウスに、同量の水を与えた。

[0118] 図23は、ママキの果実（種子を含む）の単純破碎粉末（F r u i t - p w d）を用量30 μ g／日で1か月間経口投与したHu α -Syn（A53T）マウス（表中「 α Syn-Tg+F r u i t - p w d」）の歯状回（D G）及び黒質（S N）における神経新生レベルを、対象として水を投与したHu α -Syn（A53T）マウス（表中「 α Syn-Tg」）及び非遺伝子組み換えマウス（表中「Non-Tg」）との比較で示す図である。図23AはB r d U（赤）及びダブルコルチン（D C X）（緑）の免疫蛍光染色写真である。B r d U（赤）及びD C X（緑）が共に陽性となる二重陽性細胞（黄色）を新生ニューロンと見なした。図23Bは各写真の二重陽性細胞（黄色）の数を定量化した結果を示すグラフである。これらの結果から明らかなように、ママキの果実（種子を含む）の単純破碎粉末（F r u i t - p w d）の投与により、Hu α -Syn（A53T）マウスの歯状回（D G）及び黒質（S N）における神経新生レベルは、驚くべきことに、同腹子の非遺伝子組換えマウスをはるかに超えるレベルにまで改善された。斯かる結果

は、ママキの果実（種子を含む）に、ニューロンの修復や再生を通して、脳の若返りを促進する作用があることを示唆している。

[0119] 〔実施例 7〕 T a u 7 8 4 マウスに対する 3 種のポリフェノールの効果の検討

ママキに含まれる 3 種のポリフェノール、即ちカテキン、クロロゲン酸、及びルチンは、いずれも抗認知症作用を有すると報告されている。よって、ママキの葉の熱水抽出物（L e a f - e x t）、葉の単純破碎粉末（L e a f - p w d）、及び果実（種子を含む）の単純破碎粉末（F r u i t - p w d）が含む上記の各種の効果は、これらのポリフェノールに起因する可能性がある。そこで、T a u 7 8 4 マウスに対する 3 種のポリフェノール、即ちカテキン、クロロゲン酸、及びルチンの効果を検討した。

[0120] まず、ママキの葉の熱水抽出物（L e a f - e x t）、葉の単純破碎粉末（L e a f - p w d）、及び果実（種子を含む）の単純破碎粉末（F r u i t - p w d）各 1 0 0 g 中の 3 種のポリフェノールに含まれる 3 種のポリフェノール、即ちカテキン、クロロゲン酸、及びルチンの含有量を定量した。その結果を下記表に示す。

[0121] [表2]

ママキ標品100g中の3種のポリフェノールの含有量			
ポリフェノール	Leaf-ext	Leaf-pwd	Fruit-pwd
カテキン	0.031 g	0.15 g	0.29 g
クロロゲン酸	0.44 g	0.72 g	0.12 g
ルチン	0.83 g	1.3 g	0.41 g

[0122] 次いで、8～10か月齢のT a u 7 8 4マウス（平均体重32.0g）に、カテキン0.087μg、クロロゲン酸0.036μg、及びルチン0.123μgの混合物、又はカテキン0.087μgのみを1か月間経口投与した。これらのポリフェノールの投与量は、何れもママキ果実（種子を含む）の単純破碎粉末30μgに含まれる量に相当する。コントロールとして、同月齢のH u α - S y n（A53T）マウス及び同腹子の非遺伝子組換えマ

ウスに、同量の水を与えた。

- [0123] 図24は、カテキン0.087 μ g、クロロゲン酸0.036 μ g、及びルチン0.123 μ gの混合物（表中「Tg+3 polyphenol mixture」）、又はカテキン0.087 μ gのみ（表中「Tg+catechin」）を1か月間経口投与したTau784マウスのモリス水迷路試験の結果を、対象として水を投与したTau784マウス（表中「Tg」）及び非遺伝子組換えマウス（表中「Non-Tg」）との比較で示すグラフである。これらの結果から明らかなように、3種のポリフェノールの混合物の投与は、Tau784マウスの記憶を改善したが、その効果は同腹子の非遺伝子組換えマウスよりも遥かに劣るものであり、不完全であった。また、カテキン単独の投与は、ポリフェノール混合物よりも弱い効果しか示さなかった。これらの結果を、前記の実施例1～6の各々の効果と比較すれば、ママキの葉の熱水抽出物（Leaf-extract）、葉の単純破碎粉末（Leaf-powder）、及び果実（種子を含む）の単純破碎粉末（Fruit-powder）が有する上記の各種の効果は、前記の3種のポリフェノールのみ起因するものではなく、むしろママキに含まれる他の未知の成分の寄与が大きいことが分かる。

産業上の利用可能性

- [0124] 本発明は、認知機能の維持又は改善等が求められる機能性食品や医薬等の分野に広く適用でき、その利用価値は極めて大きい。

請求の範囲

- [請求項1] ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬を含有する、脳機能の維持又は改善剤。
- [請求項2] 前記脳機能が、認知機能である、請求項1に記載の脳機能の維持又は改善剤。
- [請求項3] ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬を含有する、神経細胞の修復促進又は神経新生の誘導剤。
- [請求項4] ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬を含有する、脳に蓄積する神経変性疾患原因タンパク質の除去剤。
- [請求項5] 神経変性疾患原因タンパク質が、アミロイド β ($A\beta$)、タウ、 α シヌクレイン、TDP-43、FUS/TLS、ポリグルタミン、RAN (repeat-associated non-ATG) 翻訳によるタンパク質、プリオン、及びSOD-1から選択される1種又は2種以上のタンパク質である、請求項4に記載の剤。
- [請求項6] ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬を含有する、神経変性疾患の治療又は予防剤。
- [請求項7] 神経変性疾患が、変性性認知症である、請求項6に記載の剤。
- [請求項8] 変性性認知症が、アルツハイマー病、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症、及びパーキンソン病あるいは筋萎縮性側索硬化症に起因する認知症から選択される1種又は2種以上の認知症である、請求項7に記載の剤。
- [請求項9] 前記ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬が、ママキの葉及び／又は果実及び／又は種子の破碎物及び／又は抽出物である、請求項1～8の何れか一項に記載の剤。
- [請求項10] 前記生薬が、対象に対して0.01mg～10g／日の量で投与される、請求項1～9の何れか一項に記載の剤。
- [請求項11] 請求項1～10の何れか一項に記載の剤を含む食品。
- [請求項12] 請求項1～10の何れか一項に記載の剤を含む医薬。

- [請求項13] 対象の脳機能を維持又は改善するための方法であって、ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬を、それを必要とする対象に投与することを含む方法。
- [請求項14] 脳機能が認知機能である、請求項13に記載の方法。
- [請求項15] 対象の神経細胞の修復を促進し、又は神経新生を誘導するための方法であって、ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬を、それを必要とする対象に投与することを含む方法。
- [請求項16] 対象の脳に蓄積する神経変性疾患原因タンパク質を除去するための方法であって、ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬を、それを必要とする対象に投与することを含む方法。
- [請求項17] 神経変性疾患原因タンパク質が、アミロイド β ($A\beta$)、タウ、 α シヌクレイン、TDP-43、FUS/TLS、ポリグルタミン、RAN (repeat-associated non-ATG) 翻訳によるタンパク質、プリオン、及びSOD-1から選択される1種又は2種以上のタンパク質である、請求項16に記載の方法。
- [請求項18] 対象の神経変性疾患を治療又は予防するための方法であって、ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬を、それを必要とする対象に投与することを含む方法。
- [請求項19] 神経変性疾患が、変性性認知症である、請求項18に記載の方法。
- [請求項20] 変性性認知症が、アルツハイマー病、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症、及びパーキンソン病あるいは筋萎縮性側索硬化症に起因する認知症から選択される1種又は2種以上の認知症である、請求項19に記載の方法。
- [請求項21] 前記ママキの葉、果実、及び種子から選択される生薬が、ママキの葉及び／又は果実及び／又は種子の破碎物及び／又は抽出物である、請求項13～20の何れか一項に記載の方法。
- [請求項22] 前記生薬を、対象に対して0.01mg～10g／日の量で投与する、請求項13～21の何れか一項に記載の方法。