

<平成 21 年度助成>

スパイスの摂取による温熱作用増感効果： 未病のバイオマーカーとしての終末糖化産物（AGEs）の ヒトにおける変化

上馬場 和夫^{1,3)}・小川 弘子²⁾・御影 雅幸²⁾・許 鳳浩³⁾
丁 宗鉄⁴⁾・趙 慶利⁵⁾・横澤 隆子⁶⁾・高橋 芳樹⁷⁾

¹⁾富山大学和漢医薬学総合研究所（現 帝京平成大学東洋医学研究所）²⁾金沢大学薬学部、

³⁾医療法人ホスピター浦田クリニック統合医療研究所、⁴⁾日本薬科大学漢方薬学科、

⁵⁾富山大学医学薬学研究部、⁶⁾富山大学産学官連携部門、⁷⁾ライフサイエンス研究所

研究の背景と目的

「未病」という言葉は、各種出版物や薬用酒のテレビ広告などに頻繁に見かけるようになりました。最近のように現代医学的な診断がつかない半健康人が増加したことが最大原因だと思われますが、さらには生活習慣病の増加と医療費の高騰などから予防医学が注目を浴びるようになったためと思われます。

元来「未病」という用語は、約 2000 年以上前（後漢）に著されたという黄帝内経素問・四気調神大論に「聖人不治已病，治未病」として初出ています¹⁾。日本未病システム学会によりますと、「未病」を、以下の M-I と M-II に分類しています²⁾。

M-I：自覚症状はないが遺伝子や生化学的検査等で異常が見られ放置すると重症化するもの

M-II：自覚症状はあるが検査では異常がないもの

ただ、当学会では、未病のマーカーに関する研究が進歩することで、未病のマーカーが確立されれば、M-II は M-I に移行するとしています。そこで、我々は、未病のマーカーとして、以下の A、B、C を分類しました。

A. 生理学的マーカー＝動脈硬化度、心拍変動解析、生体リズム

B. 生化学的マーカー＝酸化ストレス&抗酸化能、腫瘍マーカー、糖化ストレス：AGEs

C. 心理学的マーカー：睡眠の質、抑鬱度、疲労度、QOL（Quality of Life）

その過程では、現代医学的所見だけでなく世界中の伝統医学の研究からも考察することを試みました。その結果、伝統医学アーユルヴェーダで述べられている「アーマ」と呼ばれる疾病を起こす毒素が、現代医学の AGEs（最終糖化産物）に対応することを推定しました。これは、「蜂蜜を加熱すると有毒になる」という、アーユルヴェーダの古典^{3,4)}の記述から、実際に蜂蜜を、100℃ 30 分間加熱した結果、8 倍近い AGEs（CML：carboxymethyllysine：ELISA 法）が生成されることを確認したからです⁵⁾。実は、蜂蜜は、天然の糖質の中でも特殊なもので、自然界の花にあるオリゴ糖や多糖などを、一度ミツバチが自分の胃にいて消化して、単糖類のグルコースと果糖に変換して、花粉などのタンパク質と一緒に含ませたものなのです。

現代医学的に未病の生化学的バイオマーカーとなる AGEs（advanced glycation endproducts: 終末糖化産物）は、疾病の成り立ちにおいて大きな役割を担っていることが知られています⁶⁻¹⁰⁾。AGEs は、血糖と体内の各種タンパク質が、非酵素的に結合したのですが、糖尿病の進展だけでなく、動脈硬化などを含めた老化の仕組みに深く関与していることが知られているのです⁶⁻¹⁰⁾。

これまで、酸化ストレスが動脈硬化や老化に係ることが知られてきましたが、活性酸素は、

シグナル伝達や免疫機能にとって必要なものであり、それだけでは疾病の前駆状態や老化現象を説明することはできません。そこで登場した概念が、カルボニル・ストレスです。カルボニル・ストレスにより生成される毒素が、AGEs なのです。しかし AGEs は、メイラード生成物として長く知られてきたもので、それが疾病発症や老化に関与するとは考えられないという説も多くあります。最近では、AGEs を Toxic AGEs と Non-toxic AGEs に分類する試みもされています¹¹⁾が、AGEs の毒性は完全に確定されたものではありません。

しかし、竹内や光山らは、Toxic AGEs が血管内皮細胞などのもつ RAGE (Receptor for AGEs) として各種臓器の異常を来すことを提唱しています^{9,11)}。

AGEs の体内外の動態として、図 1 に示すように、外来的 (Exogenous) に食事から入るものと、内生的 (Endogenous) に、血糖と体内の各種タンパク質が非酵素的に結合して生成されるものか

らなっています。AGEs の排泄系は、腎臓からの排泄が主体ではありますが、細胞や組織内では、代謝系により分解されることは知られています。AGEs は細胞膜の RAGE に作用する以外に、細胞内外の各種タンパク質を凝集させることが知られており、コラーゲンを異常凝集することで、皮膚や骨の老化や疾病の発症に関与し、クリスタリンを異常凝集させることで、白内障を、ミエリンを異常凝集させることで特に糖尿病性神経症などの原因として知られています¹²⁾。

我々は、老化や疾病の基礎病変となる未病の病態は、図 1 のようにして形成させるのではないかと推定しました。

このような未病の病態の治療に関して、現代医学的研究からは AGEs の形成を抑制する製剤や AGEs とタンパク質との異常凝集を切る薬剤などの開発がなされています。しかし我々は、伝統医学アールヴェーダや漢方医学で、疾病の発症に「毒素」が関与すると言われ、その毒素を浄

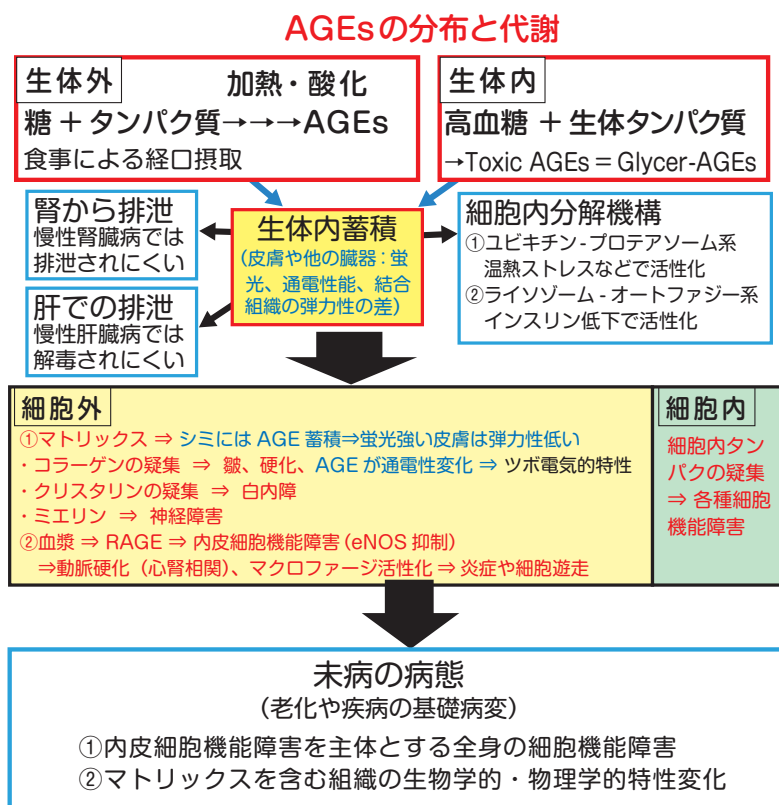


図 1 AGEs の体内外の動態 (in と out) と未病の病態への関与

化する治療がおこなわれていることから、伝統医学的治療法である各種薬草や、とりわけアーユルヴェーダで頻用するスパイスが、AGEsに影響することを推定しました

現代医学的研究においても、生体では、自己浄化システムが働いています。とりわけ、ユビキチン・プロテアソーム系とライソゾーム・オートファジー系の2つが知られています。HSPs、ユビキチン、プロテアソーム、オートファゴゾームなどが関与して、細胞内の異常タンパク質を分解すると推定されています。

実際、アーマを言及しているアーユルヴェーダでも、健康増進、あるいは疾患治療において、体系的な浄化療法が施されます¹³⁾。この浄化療法では、体内の余分な毒素を排泄して健康の維持増進や若返りを目指すものです。アーユルヴェーダにおいては、有効な治療法として認知されているものの、現代医学的・科学的見地からは、その有効性や機序についての研究は殆どありませんが、アーユルヴェーダの浄化療法では薬草オイル塗布と発汗法と呼ばれる薬草サウナを行います。

我々は、浄化療法でおこなわれる薬草中の親油性成分やサウナによる温熱負荷が、体内のAGEsの分解を促進するのではないかと推定しました。その結果、未病の生化学的マーカーであるAGEsが細胞内自己浄化システムによって分解されることを推定しました。

特に、ウコン中に多く含まれていると四童子や小川らが報告¹⁴⁾しているジテルペノイド・ゲラニルゲラニオール (GGOH) は、セルベックスとして知られている Geranylgeranyl acetone の構造類似体であり、六反らも強い HSP70 (Heat Shock Protein 70) 誘導増強作用があることを報告しています²¹⁾。また、温熱ストレスによってユビキチン・プロテアソーム系の細胞内浄化システムが活性化されることが知られていますので¹⁶⁾、アーユルヴェーダの浄化法の主体となる薬草サウナで

も、類似の変化が図6のように起きていることが推定されます。

現代医学的研究においても、Rattanらは、線維芽細胞の連続加温により線維芽細胞が長寿になることを報告し¹⁵⁾、Thomasら¹⁶⁾が、その仕組みとしてユビキチンを含むHSPsが誘導されて、プロテアソームが活性化し、その結果AGEsが分解されると仮説しているのです。

また、GGAと温熱負荷との相互作用については、京都府立医大の岡山らの報告があります。ここでは、温熱によるHSP70の誘導とNF- κ B抑制が、GGAを併用することで促進されることが知られています。

さらにスパイスを調理に使うことで食物中のAGEs含有量を少なくすることができることも、体内のAGEsプールを減少させる効果があります。食物中のAGEsの10%が血管内に吸収されることが報告されているからです。図1に示すように、体内のAGEs蓄積は体内由来と体外摂取由来のAGEsによっています。後者の外因性AGEsは、メイラード反応生成物として知られ、主に食品の加熱によって生成されます。そのため、本研究では、スパイス特にウコンを使った加熱調理によるAGEs生成の抑制も検討しました。

また、横澤らが報告していますように²³⁻²⁷⁾、内在的なAGEs生成が、スパイスや生薬の抗酸化作用で抑制されることも当然起こることも推定されます。

スパイスのヒトにおける薬物動態については報告は少ないのですが、我々はウコンをヒトに経口投与することで、クルクミンが血中に吸収されることを報告しました¹⁷⁾。さらに、スパイスの実験において我々は、*ex vivo* 実験を行うことにしました。これまでの生薬研究の多くは、試験管内や動物実験がほとんどでしたが、スパイスやカレーには多種類の生薬と数多くの成分が含まれており、一つの成分の作用に還元することは困難です。

また温熱負荷は、動物とヒトとでは体温調節機構が異なっており、単純に外挿できません。それらの問題を解消する研究手法として、我々は、多種類の漢方薬からなる複合製剤のヒトにおける抗酸化作用を、*ex vivo* 実験で明らかにし海外誌に報告しました¹⁸⁾。その経験から、ヒトに生薬を投与した後の血清や血中細胞を使って *ex vivo* 実験をすることが、複合成分からなる天然物のヒトでの研究に適していると考えました。

対象スパイスとして、数多くのスパイスの中で、ウコン（ハウス食品(株)製ターメリック *Curcuma longa* L.）は、我々がヒトにおける動態を既に明らかにし、3g までの安全性を確認し報告しました¹⁷⁾。また市場でも単品で広く摂取されていることから、今回もウコンを使うこととしました。森光らがスパイスの抗AGEs 生成作用をスクリーニングしていますが、ウコンは阻害が強い方でした¹⁹⁾。また、ウコンのクルクミンには、プロテアソームを活性化させる作用がAli らによって報告されています²⁰⁾。

実際に、ウコンを摂取した際の、そのクルクミンの血中濃度において、正常リンパ球と正常角化皮膚細胞の双方を使って、クルクミンがHSP70の温熱による誘導を調査した研究はこれまでにないため、今回の研究では検討しました。

また、HSP70の誘導促進作用があるGGOHを高含量含む薬草として、小川&四童子らは、聖書に出てくる有名な精油フランキンセンスを報告しています¹⁴⁾。そのため、GGOHの作用をみる温熱ヒト試験として、GGOH自体よりも、フランキンセンス精油の薬草ミストサウナを行いました。

以上のように背景のもと、本研究では、*Ex vivo* 実験も含む試験管内の実験を行った後、単回 & 反復ヒト試験も行うことで、薬草成分（クルクミン、GGOH）、それらを含有する薬草（ウコン、フランキンセンス精油）、温熱（ミストサウナ、温浴）との相互作用を、未病のバイオマーカーと推定さ

れるAGEsや、自己浄化システムに関わるHSPsに関連して検討することとしました。

研究方法

1) 試験管内実験

1) -1 GGOH, クルクミンのHSP70誘導促進作用の観察

定法にて空腹時健常ヒトリンパ球を比重遠心法にて得ました ($10^5/\text{cmm}$)。また、正常角質ヒト細胞 (HaCaT 細胞) も入手し 10^5 個 /cmm に調整しました。既報にてウコン 3g を経口投与 (牛乳 200ml にウコン粉末 3g を混合して摂取) した時のクルクミンの血中濃度は、1 時間後にピークになったことから、同じ方法にて経口投与し、その 1 時間後に採血して、その時の血清を得てHSPsの誘導促進効果を調査しました。さらに標品のGGOH、クルクミンも上記ヒトリンパ球、正常角質細胞に添加して、温熱刺激 (37℃と 41℃, 30 分) 後、3-6 時間培養による HSP70 産生量の変化を、ウェスタンブロット法にて測定しました。

使用製剤： ウコン 3g を内服し 1 時間後の血漿

標品のクルクミン 300-900 nM

標品のGGOH 10-30 nM

対象細胞： 健常ヒトリンパ球 (10^5 個 /cmm)

正常角質ヒト細胞 (HaCaT 細胞)

(10^5 個 /cmm)

温熱刺激： 37、41℃ 30 分間

評価方法： 各細胞における HSP70 の発現 (ウェスタンブロット法)

1) -2 調理によるAGEs生成の抑制の調査

体内AGEs生成の標準的方法を修飾し、実際の調理状況に合わせるため、BSA (bovine serum albumin) を糖添加下 100℃で 30 分間加熱し、スパイスやスパイス中成分の抑制効果を調査しました。BSAの最終濃度 10mg/mL、グルコース 25mM、フルクトース 25mM に、50mM リン酸バッファー (pH7.4) で調製し、混合液を得、沸騰湯煎中で 30 分

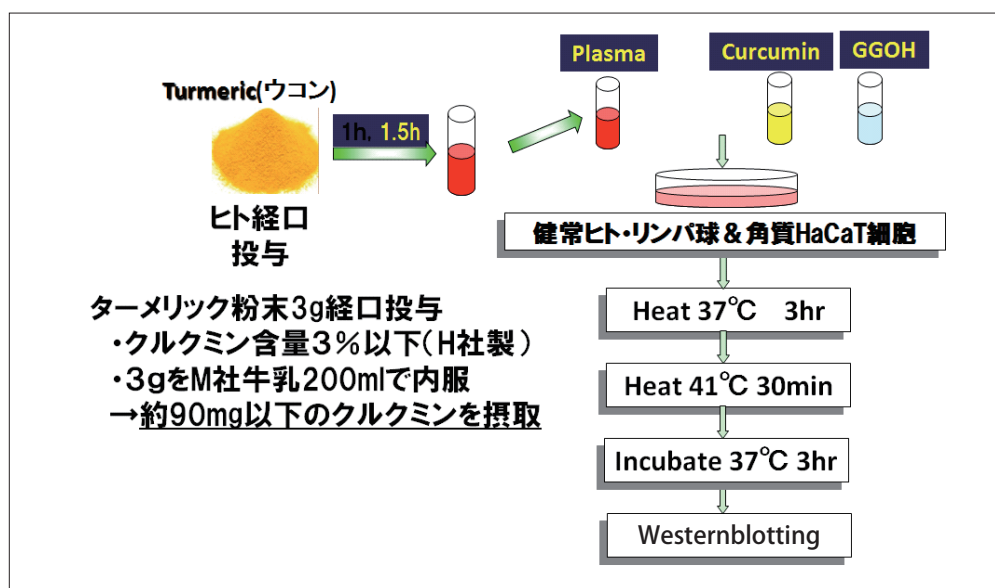


図2 リンパ球や角質細胞を用いた実験のプロトコール

間加熱。対照として4℃ 30分間放置した混合液をあてました。30分加温後、3500rpm 10分の遠心で上清を得て、蛍光法（蛍光強度 Ex.350nm、Em.450nm から AGEs 濃度を推定）で測定し、IC₅₀ を求めました。

加えて、蜂蜜・牛乳の加熱におけるスパイスの AGEs 生成抑制効果も同様に調査しました。ただし、この場合、AGEs は、CML として ELISA にて測定しました。（SRL ㈱に依頼）

2) ヒト試験

対象被験者：TRP-V1 受容体の遺伝子多型の有無などで温熱への反応性が大きく左右されることが予測されます。100名の志願者に足浴をさせて温度への反応性が十分な均一集団を、本実験の被験者として選別しました。被験者には実験の前に再度同意取得とスクリーニングを行い、1週間前からスパイス類を避け、7日前からシャワーのみの生活を指示しました。選択基準：20-50歳台男女、健常成人（検診で肝、腎、心、肺疾患がない）、除外基準：重篤な肝、心、腎、肺疾患で加療している、投薬をうけている、妊婦、妊娠を希望女性。割り付けはくじびき法で、無作為に2～3群に割り付けました。

倫理的配慮：ウコン摂取の安全性や、フランキン

センスなどの精油サウナの安全性については、伝統的に長く利用されてきたことから、安全性には問題ないと考えられました。また方法の科学性についても、医療法人ホスピター統合医療研究所倫理委員会にて承認を得、ヘルシンキ宣言を順守する形で実験を遂行しました。

2) -1 単回ヒト試験

被験者：健常成人男性 13名 文書による同意を取得後、試験に参加させました。

29-56歳：37 ± 11歳、BMI = 23 ± 2kg/m²
 無作為に2つのグループ（G1, G2）に分け、それぞれの群でクロスオーバー試験にて薬草蒸気浴を行ないました。G1は GGOH 含有のフランキンセンス精油を含むミストサウナを、G2は精油を含まないミストサウナとし、生理的、心理的、生化学的作用を比較しました。G1とG2の間隔は1週間以上としました。測定は、舌下温、VAS（不快度）変化、LF/HF（交感神経指標）変化率、H/(H+L)（副交感神経指標）変化率、及び ELISA 法にて血漿 AGEs を測定しました

臥卧式薬草サウナベッド（洞内サーモスタット付き）：首から下だけを加温する薬草サウナドームを作成しました。

設定温：43℃、20分（頭顔部の加熱を避ける

構造：顔面を外部に出す）

GGOHを含有するフランキンセンス精油：プラナロム社製（標準品）は、3リットルのお湯に0.3ml（GGOH 約 600 μ g）滴下しミストサウナとしました。なおフランキンセンス精油は、四童子&小川らの既報において最も多くGGOHを含有（2.3mg/ml）する精油であったことから今回の実験に用いました。

評価項目：AGEs は、カルボニル蛋白をELISA キット（製造元：Bio Cell, Ltd., New Zealand、販売元：日本老化制御研究所）を用いて測定し

ました。また、サウナの生理的・心理的・生化学的作用を比較しました。統計解析：two-way ANOVA.

さらに、RT-PCR 法にて、白血球中温熱ストレス関連酵素である HSPA1B（HSP70 の mRNA）、UBE2K（ユビキチン縮合酵素の mRNA）及び PSMC1（プロテアソーム 26S の mRNA）の発現量を測定しました。表 1 にタイムテーブルを示します。

2) -2 反復ヒト試験

被験者：健常成人 24 名（男 / 女 = 16/8, 22-48 歳：36 $\pm$ 9, BMI = 25 $\pm$ 3 kg/m²）を、文書による同意を取得後、無作為に 3 つのグループ（G1,



図 3 薬草温熱療法ベッドでの温熱療法

表 1 単回ヒト試験のタイムテーブル

時間経過 検査項目	前 5 分間 目)	0 分	サウナ 10 分目	サウナ 20 分目 終了直前	サウナ後 30 分目	サウナ後 100 分
血圧	● 座位	● 臥位	● 臥位	● 臥位	● 座位	● 座位
VAS	●	●	●	●	●	●
舌下温	●	●	●	●	●	●
心拍変動						
血漿 AGEs	●					●
サウナ						
RT-PCR	●					●

G2, G3)に分けました。表2にタイムテーブルを示しました。

G1) 温熱のみ 8名 (41℃ 10分間入浴 7日間)

38±8 歳、男/女 = 5/3、

BMI 25±3 kg/m²

G2) ウコンのみ 8名 (ウコン3g 内服/日、

シャワーのみ 7日間) 32 ± 10 歳、

男/女 = 7/1、BMI 25±2 kg/m²

ウコン：ハウス食品(株)製ウコン

(Curcuma longa L) 3g (クルクミン

約 90mg 含有)を牛乳 200ml で 2 分間で摂取。

対照群：牛乳のみ 200ml 摂取。

G3) ウコン+温熱 8名 (ウコン3g 内服/

日後 1hr 目に 41℃ 10 分間 7日間)

36±9 歳、男/女 = 4/4、

BMI 25±3 kg/m²

評価方法：血漿 AGEs は、カルボニル蛋白を ELISA

キット(製造元：Bio Cell, Ltd., New Zealand、販売元：日本老化制御研究所)を用いて測定しました。評価方法：血漿 AGEs 値への作用の比較。

出現率：χ² 二乗検定、対照実験との差：t- 検定、2way-ANOVA

なお、前記ヒト試験は、浦田クリニック統合医療研究所倫理委員会の審議の後、ヘルシンキ宣言にのった形で行われました。

結果と考察

1) 試験管内実験

1) -1 : ヒト正常リンパ球での HSP70 の誘導作用 (図 4)

HSP70 誘導促進作用として、nM オーダーの GGOH による作用は、10nM オーダーのクルクミンによるものに近いことから、GGOH はクルクミンに比べ、約 10,000 倍の力価を持つことが示されました。また、ウコン経口摂取 1.5 時間後のヒト

表 2 反復ヒト試験のタイムテーブル

時間経過 検査項目	初回			1 週間後				2 週間目
	前	1hr 後	3hr 後	ウコン前 1hr	ウコン後 1hr 温浴直前	41℃ 10 分 浴直後	浴開始後 2hr	
血圧・舌下温	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	
血漿 AGEs	●	●	●	●			●	●

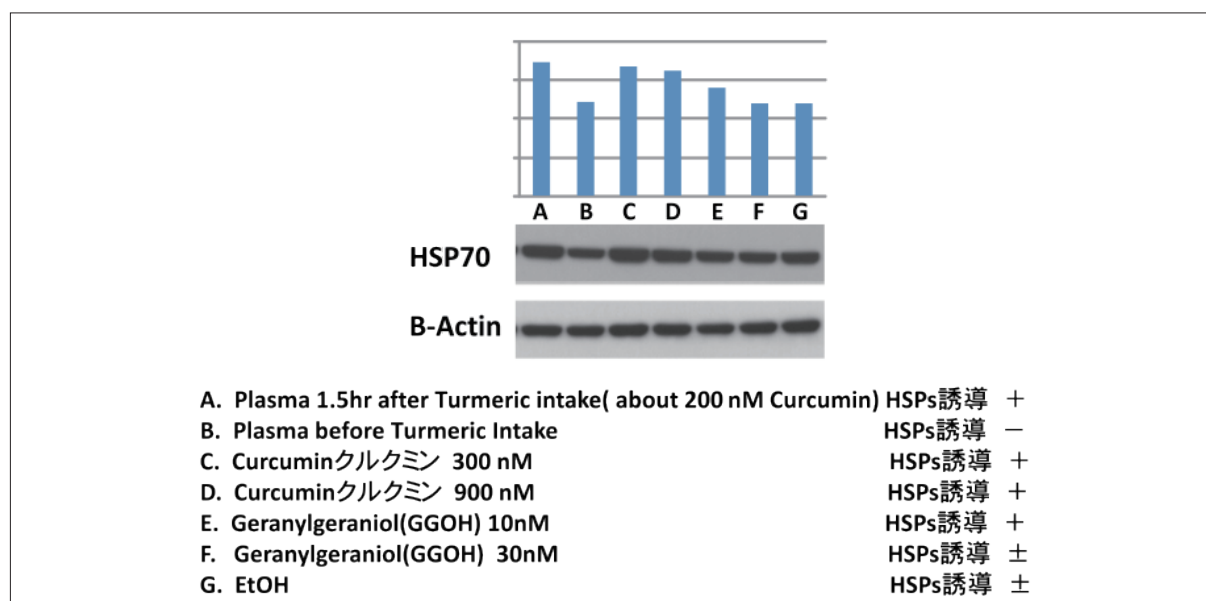


図 4 正常リンパ球での、クルクミン、GGOH による HSP70 誘導促進作用

血漿を添加しても、HSP70 誘導促進作用が観察されました(図4)。ヒト血漿には、平均 200nM 程度の総クルクミンが含有されることが、我々の既報¹⁷⁾で得ていることから、その成分が作用したことが推定されます。ただ、今回、クルクミンの実際の濃度を測定できなかったことから断定はできないものでした。

1) -2 正常ヒト角質細胞 (HaCaT 細胞) での HSP70 誘導促進作用 (図5)

クルクミン 100nM、GGOH (10, 20, 30nM) による温熱増強作用 (HSP70 誘導) を培養時間を追ってウエスタンブロット法にて調査しました。その結果、3-6hr 培養において、クルクミンの作用よりも、5-10 倍濃度が薄い GGOH が、2-3 倍も顕著に HSP70 を誘導することが示されました。ここでも GGOH が六反らの報告しているように²¹⁾、高い HSP70 誘導作用を持つことが示唆されました。フランキンセンスなどの精油は、まず皮膚細胞に接触することになりますが、今回の結果では、蒸

気中に含まれる GGOH がごく微量でも皮膚角質細胞への作用が出現する可能性が高いと推定されました。また、フランキンセンスに含まれる GGOH が経皮吸収、あるいはウコンの中の GGOH が吸収された場合、血中には低濃度しか出現しないことが推定されますが、10nM の低濃度で GGOH が作用することから、実際に生体においても効果を発揮する可能性は考えうるものと推定されました。

1) -3 調理時の AGEs 生成に対するスパイスによる抑制効果

BSA と糖による AGEs 生成は、体内環境を想定し、37℃、1~2 週間加熱することで得られますが、本研究では調理環境を想定し、約 100℃、30 分間の加熱を行いました。

まず、蜂蜜を 100℃ 30 分間調理した時の AGEs 増加について、AGEs 中の CML を ELISA にて測定し、ウコンを添加してその阻害作用を検討した結果、ウコンは、1% (W/V) にて、8 倍増加する AGEs を 3 倍までに抑制しました。調理で使うウ

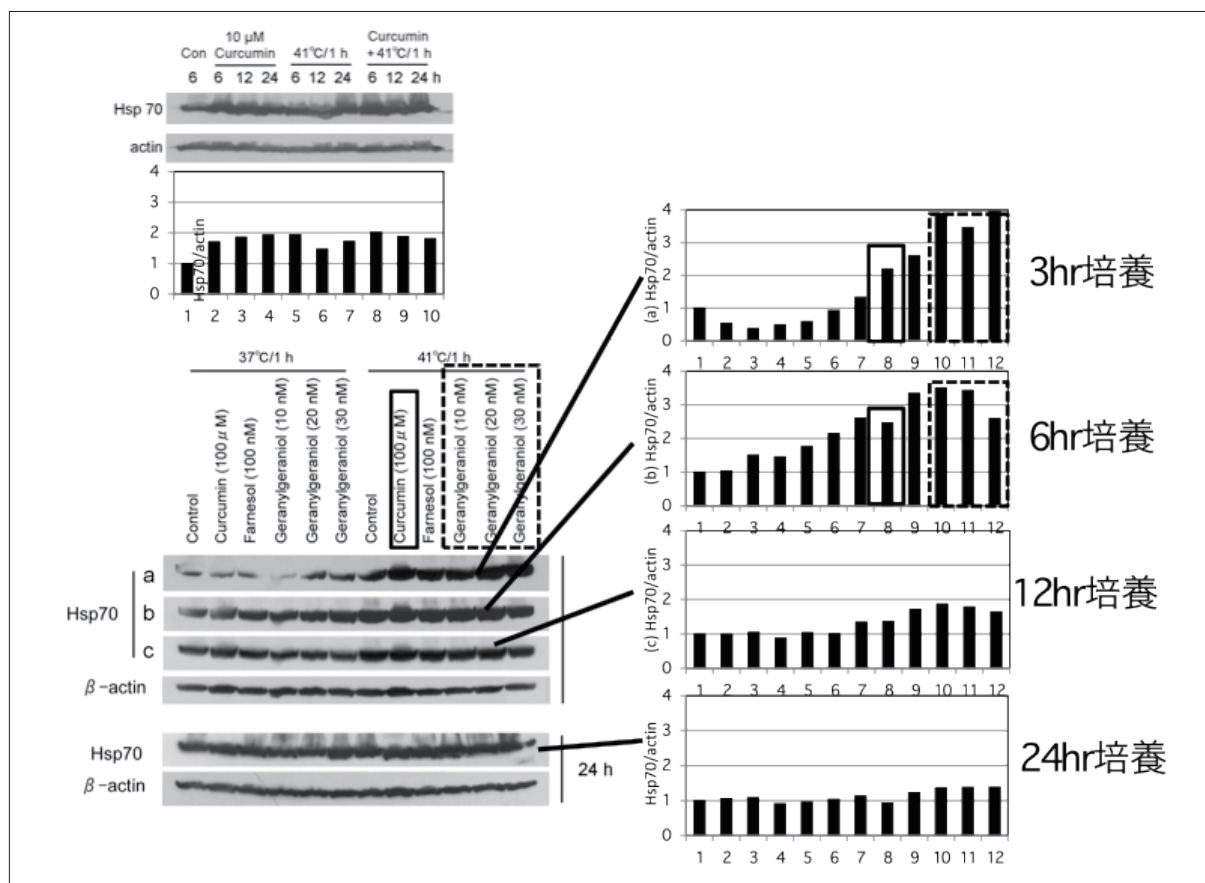


図5 HaCaT 細胞での、クルクミン、GGOH による温熱増強作用 (HSP70 誘導)

コンは、1%程度と推定されますので、実際の調理の場でも、ウコンがAGEs生成を阻害している可能性は高いと推定されました。

さらに、BSAブドウ糖の加熱によるAGEs（蛍光法による測定）の増加に対して、ウコンの脂溶性、水溶性分画、テトラヒドロクルクミン、クルクミン、アミノグアニジンがどのように作用するかを検討しました。細胞系ではなく調理時での結果ではありますが、BSAとブドウ糖加熱によるAGEs増加に対して、細胞レベルでAGEs生成阻害作用が知られているアミノグアニジンと同程度のAGEs生成阻害作用を、ウコンのクルクミンが示しました（図6）。表3には、各分画のIC₅₀%を示します。ウコンの脂溶性分画は主成分はクルクミンと推定されますので、アミノグアニジンとクルクミンに、調理時のAGEs生成抑制作用が存在

することが示唆されます。

2) ヒト試験

2)-1 単回ヒト試験

精油の有と無での臥位式薬草サウナでは、いずれも舌下温の約1℃上昇を認めました。フランキンセンス精油（GGOH含有）添加サウナでは、終了後100分目で、生理的には副交感神経機能が優位となり（図7）、心理的には有意に快適性が高く、生化学的には血漿AGEsが低下傾向にありました（図8）。

フランキンセンスは、伝統的に聖書の時代からリラクゼーションに用いられてきた精油であることを考えると、快適な体験を促すことは予想される結果であります。GGOHには、心理的作用は報告されておらず、ラベンダーの酢酸リナリルなどの精油成分も、副交感神経を有意にする作用が人体

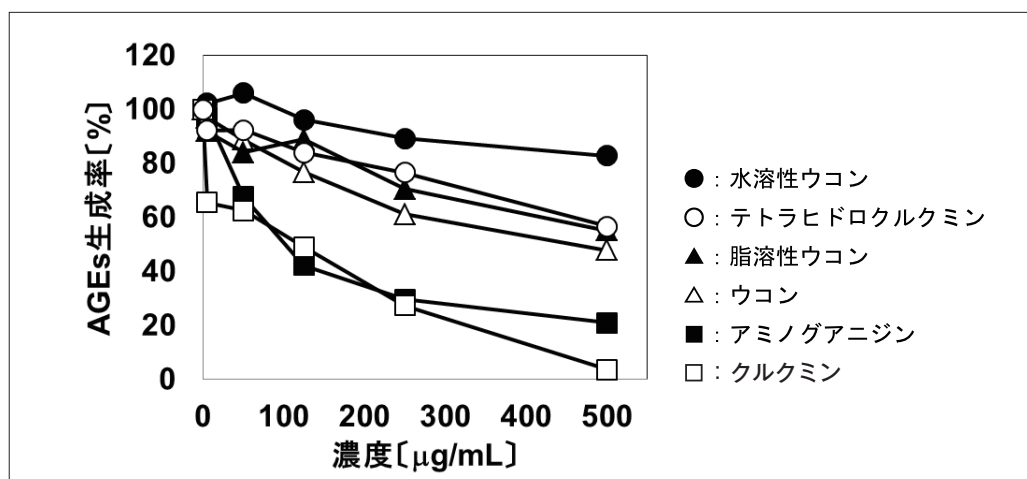


図6 BSAの加熱によって生成するAGEs（蛍光法）へのウコンの影響

表3 ウコン成分のAGEs（蛍光法）生成抑制作

	ウコン	ウコン 水溶性分画	ウコン 脂溶性分画
AGEs 蛍光 強度より (l g/mL)	646	1799	642
カルボニル化 蛋白より (l g/mL)	605	2700	636
	クルクミン	テトラヒドロクルクミン	アミノグアニジン
AGEs 蛍光 強度より (l g/mL)	99 (0.27mM)	661 (1.78mM)	167 (1.51 mM)
カルボニル化 蛋白より (l g/mL)	343 (0.93mM)	257 (0.69mM)	249 (2.26mM)

値は IC₅₀

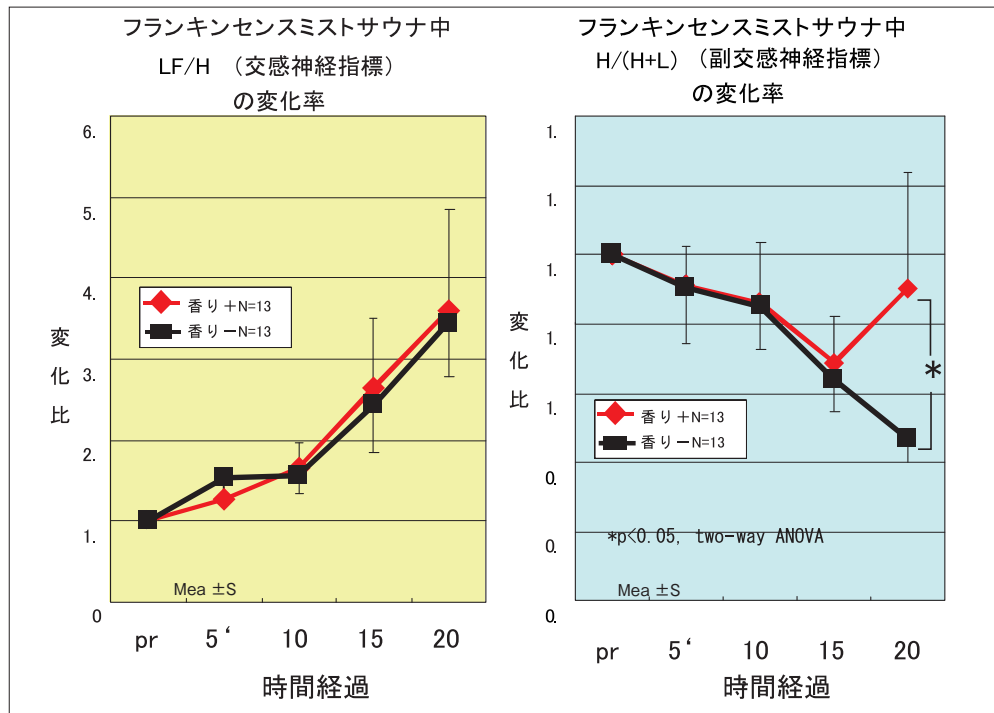


図7 単回温熱負荷試験における自律神経機能の変化

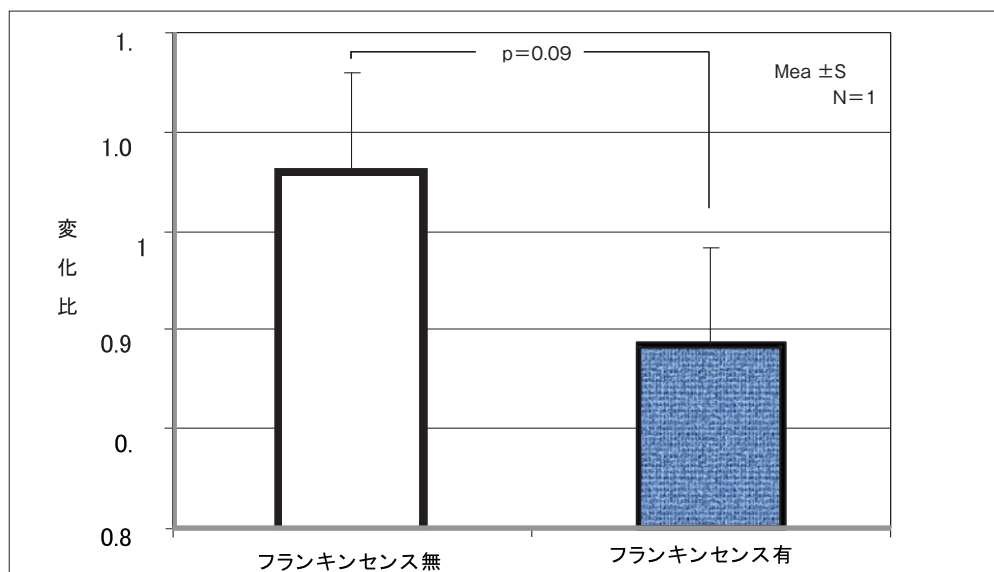


図8 フランキンセンス精油(GGOH含有)の有無での血漿中AGEsのミストサウナによる変化

で報告されていることから²²⁾、フランキンセンスに含有される向精神作用成分インセンソールなどがその作用を担っていることが推定されました。

フランキンセンス精油を添加したサウナにおいて、前後で血中AGEsが低下傾向を示しました(図8)。これは、フランキンセンス精油のありなしとで、RT-PCRによる3種類の酵素のmRNA発現を調査したところ(図8)、フランキンセンスを使用した場合、3種類(HSP70、ユビキチン縮合酵素、プロ

テアソーム26S)すべての酵素活性が、香りが無い場合よりも大きく誘導されたという図10の結果も含めて考察するに、AGEs分解系が活性化されたために出現した現象と推定されました。

反復ヒト試験においても、初日のAGEsは、温熱療法で増加を認めている(図10)ことから、フランキンセンス精油添加群では、単回試験でAGEsが低下したことは、その作用を支持するものです。

2) -2 反復ヒト試験

反復ヒト試験での温熱療法は、41℃ 10 分間温浴のみとし、薬草療法は、ウコン 3g/日内服としました。これは、家庭で実践できるようにとの配慮から温熱療法のスタイルを決定したものです。対照実験は、温熱療法を行う 7 日前後での AGEs の変化としました。その間は、シャワーだけとしました。温熱療法を 7 日間継続した群も、薬草療法（ウコン 3g 摂取とシャワー 7 日間）のみの 7 日

間、さらに温熱と薬草療法を併用した群も、共に、対照実験と比較して、血漿 AGEs の有意な低下あるいは低下傾向が見られました。それらの結果から考察するに、薬草療法（ウコン経口摂取）も温熱療法単独も、併用も共に AGEs を低下させており、薬草療法の併用した場合の複合作用を支持する結果は得られないことになりました。

これは、通常のアールヴェューダの浄化療法では、単回試験のように薬草のサウナを行うところ

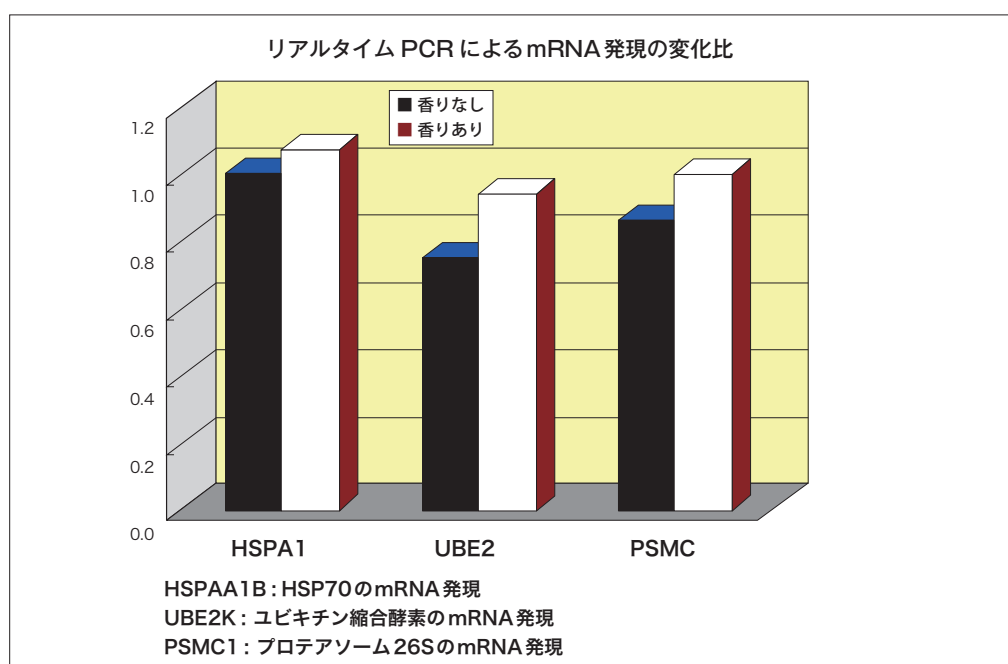


図 9 ミストサウナでのフランキンセンス精油 (GGOH 含有) の有無の白血球中温熱ストレス関連酵素 mRNA 発現の、サウナ前後での変化比 (N=3 の平均値)

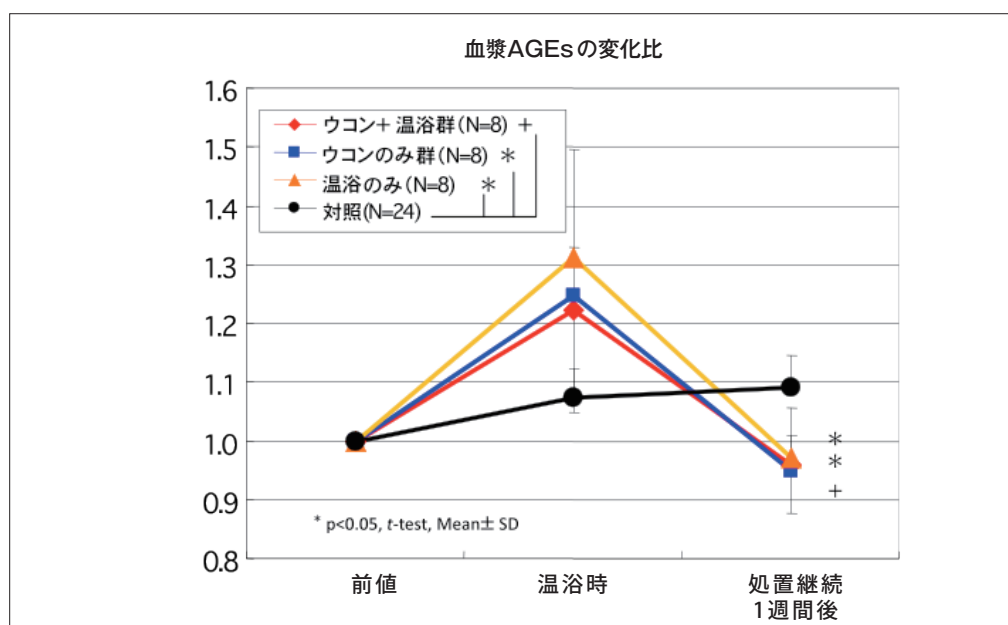


図 10 ウコン内服後 41℃ 10 分温浴継続による AGEs の変化

が、今回は、既報¹⁷⁾にクルクミンの薬物動態を得ていたことから、経口投与による薬草療法を行ったわけですが、伝統的な手法を行わなかったことも一因と推定されました。今後のさらなる検討が必要と考えられました。

結 論

スパイスとりわけウコンは、様々なレベルで未病のバイオマーカーである AGEs の生成を抑制することが示され、GGOH など薬草成分が、細胞の自己浄化システムに作用することが示唆されました。

まずウコンは、調理時に AGEs 生成を抑制する作用が示されました。これは含有されるクルクミンが担う作用と推定されます。また、正常リンパ球、正常皮膚角質細胞を使った実験において、クルクミンと GGOH は、細胞内浄化系を活性化する HSP70 の温熱による誘導を促進する作用が示されました。HSP70 や他の HSPs (とりわけユビキチン) は、細胞内自己浄化系を活性化することが知られていますので、試験管内において、クルクミンや、フランキンセンスなど精油に高濃度に含有される GGOH が、未病の生化学的マーカーである AGEs の浄化を促す結果が示唆されました。

それら試験管内のデータを支持するヒト試験結果として、単回ヒト試験において、GGOH を高濃度に含有するフランキンセンスの蒸気サウナにより、HSP70、ユビキチン縮合酵素、プロテアソーム 26S の酵素タンパクの mRNA の発現が促されました。そして、反復ヒト試験によって、薬草摂取と温熱療法において、血中 AGEs が 1 週間の反復試験によって低下することが示唆されました。ただ、反復ヒト試験においては、薬草療法 (スパイス) が温熱療法の効果を増強させる複合作用を支持する結果は得られませんでした。今後のさらなる研究が必要と思われます。

謝 辞

本研究は、平成 21 年度浦上財団の補助金によることを感謝します。また、浦田クリニック統合医療研究所の八塚幸枝氏、株式会社リンポテック社の小森啓一郎氏、大隅一興氏の協力を得ました。ここに深謝します。

文 献

- 1) 小曾戸丈夫, 浜田義利 (1971) 意訳黄帝内経素問, 築地書館.
- 2) 福生吉裕: 現代における未病医学とは. in 日本未病システム学会編集: 次世代の医学・医療がわかる未病医学入門, pp2-7, 金芳堂, 京都, 2006.
- 3) 日本アーユルヴェーダ学会誌: チャラカサンヒター総論篇. せせらぎ出版, 大阪, 2011.
- 4) Bhishagratna, K.L. 英訳, 伊東弥恵治原訳: スシュルタ大医典総論編. 人間と歴史社, 東京, 2005.
- 5) 小川弘子, 八塚幸枝, 許鳳浩, 上馬場和夫, 浦田哲郎, 御影雅幸: アーユルヴェーダの概念と現代医学の対応 - アーマと AGEs の類似性およびウコンによる AGEs 生成抑制 -. 第 30 回日本アーユルヴェーダ学会大阪研究総会抄録集 pp25, 2008.
- 6) Thornalley, P.: Dietary AGEs and ALEs and risk to human by their interaction with the receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) -an introduction. Mol. Nutr. Food Res. 51:1107-1110, 2007.
- 7) 稲城玲子, 宮田敏男, 黒川清: カルボニルストレスの病態生理学. Molecular Medicine 40:178-184, 2003.
- 8) 為本浩至, 川上正舒: AGEs と血管障害. 総合臨床. 50: 2625-2626, 2001.
- 9) 光山勝慶: RA 系による血管内皮細胞障害の新しい分子機序. 医学のあゆみ. 228:434-438, 2008.
- 10) 高橋素子, 谷口直之: 老化とグライケーション. THE LUNGS perspectives 15:203-207, 2006.
- 11) Takeuchi, M., Yamagishi, S.: TAGE (toxic AGEs) hypothesis in various chronic diseases. Med. Hypotheses. 63:449-52, 2004.
- 12) 上馬場和夫, 許鳳浩, 小川弘子, 八塚幸枝: 未病と治未病. 和漢医薬総合研究所年報 37 巻, 7-47, 2010.
- 13) 上馬場和夫: アーユルヴェーダとヨーガ改訂第 2 版, 金芳堂, 京都, 2010.
- 14) 小川弘子, 四童子廣好: 精油中に含まれる発癌抑制性ゲラニルゲラノイン酸及びその関連化合物. Jpn J Aromatherapy 7(1):1-7, 2006.

- 15) Rattan, S.I.S. : Hormetic Modulation of Aging and Longevity by Mild Heat Stress. Dose-Response 3:553-546, 2005.
- 16) Thomas, M., Forbes, J.M., MacIsaac, R., Jerums, G., Cooper, M.E. : Low-Molecular Weight Advanced Glycation End Products: Markers of Tissue AGE Accumulation and More?, Ann. N.Y. Acad. Sci. 1043:644-654, 2005.
- 17) Hui S., Hayashi T., Sakurai T., Jin S., Ishii S., Murai T., Uebaba K., Ogawa H., Chiba H., Kurosawa T.: Quantitative analysis of curcuminoids in human plasma by means of HPLC with UV detection. Rinsho Kagaku, 38(1):59-67, 2009
- 18) Ogawa H, Xu FH, Uebaba K, Origasa H, Kondoh K, Mikage M: Antioxidant potentiality of a Kampo formulation measured by an *ex vivo* study. J Alter Comple Med, 15(3), 267-274, 2009.
- 19) Morimitsu Y, Yoshida K, Esaki S, Hirota A: Protein glycation inhibitors from thyme (*Thymus vulgaris*). Biosci Biotechnol Biochem 59(11):2018-21, 1995.
- 20) Ali RE, Rattan SIS: Curcumin's biphasic hormetic response on proteasome activity and heat-shock protein synthesis in human keratinocytes. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1067:394-399, 2006.
- 21) 六反一仁：分子シャペロン誘導剤を用いた消化器疾患の治療戦略. 日薬理誌 121:15-20, 2003.
- 22) 上馬場和夫、許鳳浩、小川弘子ら：ラベンダーによるアロマトリートメントにおける変性意識体験の促進効果. Jpn J Aromatherapy 8(1):29-38, 2008.

Promotion of thermo-bioactivity by spices in humans: Changes of AGEs, biomarkers of presymptomatic stage

Kazuo Uebaba

*Institute of Natural Medicine, University of Toyama
(present: Institute of Eastern Medicine, Teikyo Heisei University)*

Mibyō (未病 : presymptomatic stage) was described for the first time in the classical Chinese Medical textbook. Mibyō system medical association in Japan proposed 2 types of Mibyō, M1 and M2. They say that by developing biomarkers of Mibyō, M2 would be included into M1. Considering traditional eastern medicines which said some toxins cause diseases, we have proposed three types of Mibyō markers, 1.physical, 2.chemical, and psychological markers, and found that AGEs (Advanced glycation endproducts) should be the most reasonable biomarker of Mibyō.

Many spices have been used in the traditional medicines for health maintenance. We have examined AGEs decreasing effects of turmeric by three stages of experiment, *in vitro*, *in vivo* human single study and multiple dose study.

In vitro study, AGEs decreasing effect of turmeric during cooking of turmeric. And we have examined effects of turmeric on HSPs dynamics self-detox mechanism *in vitro* and *ex vivo* study in humans. *In vitro* study, normal human lymphocytes and normal human keratinocytes showed increased HSP70 manifestation by incubation with turmeric, and GGOH (geranylgeraniol) which was contained in turmeric and essential oil from frankincense.

In vivo study, 13 subjects took 20 minutes herbal sauna with the essential oil from the frankincense in a single study. Blood AGEs concentration of the subjects decreased, and mRNAs (RT-PCR) of the enzymes related to self-detox such as HSP70, Ubiquitin conjugating enzyme and 26S subunit of proteasome manifested more than in no herb. AGEs may be detoxified by the herbal treatments. In the multiple dose study with 24 subjects in 3 groups who had herbs and heat (oral intake of turmeric 3 g/day with every day hot baths: 41°C 10 min) alone or in combination. Plasma AGEs decreased significantly in all the modes of combination of turmeric and heat, oral turmeric 3 g alone every day, heat alone and combination of them. All three groups showed decrease of plasma AGEs significantly comparing with pre-stages, which have not support the combination effects of turmeric and hot-bath groups have not yet been obtained.

As conclusion, turmeric and GGOH showed HSPs stimulating effects *in vitro* study, and *in vivo* human studies, which supported AGEs alleviating effects, although combination effects of turmeric and heat stress have not yet been obtained. Further studies were needed.