

## マカ (*Lepidium meyenii*) は雌ラットにおいて黄体形成ホルモンサージを亢進する

内山 文昭、治京 玉記、竹田亮介、緒方みさと

中村学園大学・薬膳科学研究所

(2014年8月6日 受理)

### キーワード

*Lepidium meyenii*、マカ、黄体形成ホルモン、生殖力

### 要約

#### ●民族薬理学的な関連性

マカ (*Lepidium meyenii*) は多産を支える食材としてアンデス地域で伝統的に用いられている。

#### ●研究目的

本研究は性周期の発情前期でのマカの血清中の下垂体ホルモン濃度への影響について雌ラットを用いて調べた。

#### ●材料と方法

マカ粉末は学名 *Lepidium meyenii* Walp の塊茎から調製した。マカの塊茎はペルーのフニンの高原で採取、乾燥、粉碎されたものを(株)ヤマノ Yamano del Perú SAC より入手した。マカ粉末はケミカルプロファイリングおよび植物分類学的方法で同定した。ラット動物実験では Sprague-Dawley ラットを用い、コントロール群には通常飼育で用いられる餌 (CE2) を、テスト群では CE2 にマカ粉末を各々5%、25%、50% 含有させた餌を自由摂餌させて7週間飼育した。ラットの性周期をモニターし、発情前期の18時に断頭採血を行い、血清を採取した。血清中の下垂体ホルモン濃度は酵素結合免疫吸着法を用いて測定した。

#### ●結果

両群ラット間での摂餌量、体重において6週齢以降で有意差は認められなかった。50% マカ含有の餌を与えたラット群は、性周期の発情前期においてコントロール群のラットに比べて黄体形成ホルモン (LH) 血中濃度が4.5倍 ( $P < 0.01$ )、卵胞刺激ホルモン (FSH) では19倍 ( $P < 0.01$ ) に上昇した。LH および FSH を産生する

下垂体機能において、その他の下垂体ホルモンである成長ホルモン、プロラクチン、副腎皮質刺激ホルモン、甲状腺刺激ホルモンでは有意差は認められなかった。さらに、LH 血中濃度は3~30 g マカ /kg のマカ摂餌量において用量依存的な上昇した。

#### ●結論

本研究で、雌ラットの性周期の発情前期の LH サージのタイミングにおいて、マカは LH 血中濃度を特異的に上昇させること、そして、その作用は薬理学的かつ用量依存的な作用であることを証明した。これらの結果は、多産を促進する伝統的なマカの使用を支持し、その作用に LH が関与する分子メカニズムの可能性が示唆された。

### 1. 緒論

*Lepidium meyenii* はアブラナ科の二年草植物でペルーのアンデス高地に植生している。ペルーでは何世紀にも渡り、*Lepidium meyenii* の塊茎 (マカ) を滋養のある食物、および多産に効く薬草としてヒトや動物で摂取されてきた。ヒト臨床試験において、マカは軽い勃起性機能障害への効果<sup>1</sup>、更年期女性における性欲改善効果が示唆されている。これらの報告を含むマカの臨床試験のシステムティック・レビューではマカの有効性を支持する予備実験結果として位置づけられており、さらなる臨床研究の必要性に言及されている<sup>3</sup>。マカを用いた動物実験では、様々な健康に関するマカの生理学的、薬理学的特性が報告されてきた。それらは、生殖能力の促進作用<sup>4</sup>、性行動の亢進<sup>5,6</sup>、精子形成の促進<sup>7-9</sup>、骨粗鬆症改善<sup>10</sup>、神経細胞機能<sup>11</sup>、記憶障害の改善<sup>12-14</sup>、化

脚注 本論文は、Uchiyama F, Jikyo T, Takeda R, Ogata M, J Ethnopharmacol. 151, 897-902 (2014), *Lepidium meyenii* (Maca) enhances the serum levels of luteinising hormone in female rats にて最初に報告された研究に基づくものである。ただし論文内容に記載した文章表現を理解しやすいように表2を追加している。

学的、物理的ストレス反応の緩和<sup>15-17</sup>、前立腺肥大症改善<sup>18</sup>、自発運動の促進効果<sup>5</sup>に関して研究されている。

生殖能力は視床下部 - 下垂体 - 性腺系 (HPG 軸) の生理機能に基づいている。女性では発情前期に下垂体前葉から一過性に分泌される LH 分泌現象は LH サージと呼ばれ、卵子形成、排卵、黄体の発育の引き金役を担っている。発情前期に誘起される LH サージでは、LH 血中濃度がそれ以外の時期、いわゆる LH パルスで分泌される LH 血中濃度よりはるかに高い。LH 分泌には遺伝的な背景、環境、身体的状況に大きく影響される。マカは標高4,000m 以上の気候の厳しい環境下の生活においてヒトや動物の繁殖を促進する目的で伝統的に使用されてきた。しかし、マカ、あるいはマカの化学成分を用いた研究では、LH を含む下垂体ホルモンの血中濃度の変化は全く報告されていない<sup>19</sup>。それゆえ、生殖系に対してマカが作用するタンパク質は不明であり、マカの作用メカニズムの研究に対して全くアプローチすることができない。

本研究では、マカの LH サージでの雌ラットにおける LH 血中濃度の変化を検討した。

## 2. 材料、方法

### 2.1. 植物原料

本研究で使用した *Lepidium meyenii* Walp はペルーの標高4200~4500m の中央アンデス地域のフニンの高原で2010年に収穫した。*Lepidium meyenii* Walp の塊茎は、フニン高原の栽培場で集荷、乾燥、粉末状に粉碎した後、マカとして市販されており、このマカ粉末を (株) ヤマノの Yamano del Perú SAC から入手した。

入手したマカ粉末は植物標本 (MG-2A/YDP-S002-2011) として San Marcos University Natural History Museum の植物博物館に預けた。そこでマカ粉末は Cronquist 分類法に基づき *Lepidium meyenii* Walp であることを植物分類学的に同定した。

### 2.2 溶媒と化学物質

アセトニトリル、EDTA ニカリウム塩 (EDTA-2K)、石油エーテル、トリフルオロ酢酸は (株) 和光純薬から入手した。

### 2.3 石油エーテル抽出物の製法

マカ粉末の石油エーテル溶媒抽出は McCollom らの方法<sup>20</sup>に基づいて行った。マカ粉末10 g に石油エーテル50 ml を加え、20 °C、150 rpm で24時間攪拌した。濾過後、抽出液の溶媒を除去し、43.0 mg の残渣 (石油エーテル抽出物) を得た。残渣はアセトニトリ

ル1ml に溶解させ、0.45  $\mu$  m PTFE シリンジフィルター (Millipore) で濾過した後、HPLC-UV-MS/MS 分析に付した。

### 2.4 HPLC 分析

HPLC は紫外可視 (UV-vis) 検出器を備えた Shimadzu LC-30A HPLC システムを使用した。macamide 類の定性・定量分析には Inertsil ODS-3 カラム (250×4.6 mm2id, 5  $\mu$  m 粒子) (GL Science) を用いた。溶媒システムは (A) 0.005% トリフルオロ酢酸水溶液と (B) 0.005% トリフルオロ酢酸アセトニトリルで20:80 (A:B) から0:100の濃度勾配を24分間で行った。カラムオープンに40°Cに設定し、5  $\mu$  l のサンプルを注入した。macamide 類の定量は210nm と280nm の波長のピークエリアを算出し、その相対値から各ピークの質量を算出した。

macamide 類の化合物同定は保持時間、紫外線吸収率と可視光吸収の比率、およびサンプルの公知データの MS 分析値の比較により行った<sup>20,21</sup>。

### 2.5 Macamide 類の MS/MS 分析

HPLC-MS/MS システムはサンプル自動注入器、bi-Pump、紫外可視検出器を備えた Shimadzu LC-30A HPLC システムと Thermo Fisher Scientific series Q-Exactive MS/MS から構成されるものを使用し、測定動作パラメーターは high voltage capillary, 4500 V; capillary exit, 143.6V; skimmer 1, 31.1V; trap drive, 44.2; scan range (m/z), 1800を用いた。質量分析計は正イオン検出モードで測定した。MS/MS 測定時の HPLC は分析用 HPLC と同じ条件で使用した。

### 2.6 動物と飼育

2週齢の雌 Sprague-Dawley ラット (チャールズリバー) はオリエンタルイーストより入手し、8週間中村学園大学アニマルセンターで飼育した。ラットは1匹ずつ個別にステンレス網のケージに入れ、常温 (25°C)、日照時間12時間 (6時点灯18時消灯) の条件下で飼育した。ラットは自由摂餌で、7週間飼育した。本論文に述べる動物実験は本学の動物倫理委員会の承認を得て行った。

コントロール飼料は CE2 飼料 (日本クレア) を使用した。5%、25%、50% マカを含むテスト飼料は、CE2 にそれぞれ乾燥重量として5%、25%、50% (w/w) のマカ粉末を加え、100回攪拌したものを使用した。CE2、マカ含有飼料は室温で保管した。マカ栄養成分の分析は日本食品分析センターに依頼して分析し、使用した CE2 ロットの栄養成分の分析は日本クレア (株) より入手し

マカ (*Lepidium meyenii*) は雌ラットにおいて黄体形成ホルモンサージを亢進する。

た。

ラットは実験開始1週間前からアニマルセンターで飼いなされた後、ランダムに3つのテストグループと1つのコントロールグループにわけた。テスト1グループには5% マカ含有飼料を (n=10)、テスト2グループには25% マカ含有飼料を (n=10)、テスト3グループには50% マカ含有飼料を (n=20)、コントロールグループにはコントロール飼料 (n=20) を与えた。体重、摂餌量は8時15分から9時の間で2日毎に測定した。ラットの摂餌量は残渣量を2日毎に測定し、給与量から残渣量を減算して算出した。飼料効率は摂餌量 (g) / 体重 (kg) で表した。

## 2.7 性周期測定

性周期は膣のスミア検査を2週間毎日行った。スミア検査にはラットの膣口の表皮細胞を用いた。スミア採取は8時30分から9時の間に行った。スミア検査は採取したスミアをギムザ染色液 (メルク) で染色し顕微鏡検査により行った。発情期は有核細胞数と角化細胞数の比率により判定した。各細胞数の測定はBurker-Turk血球計算器を用いて顕微鏡下で行った。この判定に基づき4日周期の性周期のサイクルを測定した。

## 2.8 断頭とサンプル採取

全てのサンプルの採取は各ラットの発情前期の16時30分から18時 (±15分) の間に断頭後、ただちに胴体から血液をEDTA-2K入りとなしの空のチューブに採血し、3000rpmで10分遠心を行った。採取した血清、血漿は - 80℃で保存した。ラットの各臓器は解剖学的に分離し、脂肪を除去後、重量を測定した。

## 2.9 ホルモンの定量

LH、FSH、成長ホルモン (GH)、甲状腺刺激ホルモン (TSH) の血清濃度の測定はそれぞれ、Libs® Rat LH ELISA kit、Libs® Rat FSH ELISA kit、Libs® Rat GH ELISA kit、Libs® Rat TSH ELISA kit (シバヤギ) を用いる酵素結合免疫吸着法 (ELISA) で行った。血清 PRL 濃度の測定はPama-test® Rat PRL EIA kit (Panapharm Laboratories) を用いる酵素免疫測定法 (EIA) で行った。血漿の副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) 濃度測定はSiemens-Immulyze® R ACTH II (Siemens Healthcare Diagnostics) を用いる生物発光酵素免疫測定法 (CLEIA) で行った。全ての測定手順はメーカーのプロトコールに従って行った。

## 2.10 データ解析

データは平均値±標準偏差 (SD) で表示した。また、

2群間比較はIBM SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) Version 19 (IBM) を使用し、Student's t-testにより一元配置分散分析で分析した。P < 0.01の値を有意差とした。

## 3. 結果

### 3.1 ケミカルプロファイリングによるマカの品質評価

多くの植物と同様に、*Lepidium meyenii Walp* の塊茎 (マカ) は栽培地、栽培方法、気候等により化学成分が変化することが知られている。Macamide類は*Lepidium meyenii* の特異的な二次代謝産物であり、品質管理のマーカーとしてよく用いられている<sup>20,21</sup>。本研究で使用したマカの macamide 類を定量した。マカ粉末を石油エーテルで抽出したところ0.460% w/wの収率でマカ抽出物を得、HPLC-UV-MS 測定の実行を行った。抽出物から検出した12種類の macamide は質量分析スペクトルでの分子イオンピーク、保持時間、および紫外/可視吸収スペクトルの吸収比率は*Lepidium meyenii Walp* のものと一致した<sup>20,21</sup>。その結果を表1に示す。マカ塊茎の macamide 類の化学構造を同定するために、

表1. マカ粉末の HPLC-UV-MS/MS 分析による macamide 化合物のケミカルプロファイリング

Compound Number	Identified Chemical Structure	Retention Time (min.)	[M-H] <sup>+</sup>	Main Fragment Ions MS <sup>2</sup>	Relative amount (%)	CV%
1		15.8	332.3	[332.3]; 91.1	0.19	11.2
2		18.2	346.3	[346.3]; 91.1	13.56	4.4
3		20.8	360.3	[360.3]; 91.1	0.10	10.8
4		12.4	368.3	[368.3]; 91.1	4.73	5.7
5		15.2	370.3	[370.3]; 91.1	5.73	0.8
6		18.7	372.3	[372.3]; 91.1	2.28	8.3
7		23.4	374.3	[374.3]; 91.1	3.37	9.7
8		17.6	376.3	[376.3]; 121.1	4.82	4.3
9		12	398.3	[398.3]; 91.1, 121.1	0.82	7.9
10		14.7	400.3	[400.3]; 91.1, 121.1	0.46	3.1
11		18.1	402.3	[402.3]; 91.1, 121.1	<0.10	NC
12		22.6	404.4	[404.4]; 91.1, 121.1	3.37	3.5
13		10.3	279.2		35.40	1.5
14		12.9	281.2		25.16	1.3

Compound number カラムの 1-12 は macamide 類を示し、13、14 は各々 ヴァリノレン酸、リノール酸を示す。化合物の含量は4回の分析結果の平均値を用い、マカ抽出物の相対値を%表示で relative amount のカラムに示す。4回の分析結果 CV 値を平均値に対する%で表示した。NC は化合物は同定できたが、定量の限界値以下を示す。

macamide 由来のイオンフラグメントピークの MS/MS 分析を行った。macamide の12種類の化合物のうち、7種類の macamide と5種類の macamide は各々、m/z 91.05、m/z 121.06の MS/MS イオンフラグメントピークを示し、それぞれベンジルイオン (C<sub>7</sub>H<sub>7</sub><sup>+</sup>)、メトキシベンジル (C<sub>8</sub>H<sub>9</sub><sup>+</sup>) として同定した (表 1)。抽出物の主成分は、MS 分析によりリノール酸とリノレン酸を同定した (表 1)。これらの結果は、使用したマカ粉末は化学的に *Lepidium meyenii* の塊茎であること、および実験項に記載した植物分類学の結果から、本研究で使用するマカは *Lepidium meyenii* Wlap であることおよびその化学成分である macamide 類は表 1に示す成分含量比から構成されていることを示している。

### 3.2. ラット実験における一般所見

飼料間における栄養成分分析の結果を表 2に示している。すべての飼料においてラット飼育の栄養必要量を満たしており、飼料間における栄養成分による生理学的影響は望めない。本研究を通して、マカを摂餌したラット、摂餌していないラットにおいて摂餌量 (図 1a)、体重増加による成長曲線 (図 1b) を図 1に示している。体重では23日齢 (食餌実験開始2日目) 以降、摂餌量では43日齢 (食餌実験開始22日目) 以降において両群間で有意差は認められなかった。摂餌量は38日齢から一定値となり15 g/日であった。50%マカ摂餌したテスト

群とコントロール群の間で HPG 軸に関連する臓器である卵巣、子宮、視床下部、下垂体の臓器重量差は認められなかった (表 3)。また、その他の臓器の重量においても有意差は認められなかった。以上の結果、マカの摂餌によるラットの成育における一般所見に差異は認められなかった。

LH 分泌は概日リズム<sup>22</sup>、排卵周期<sup>23</sup>、およびストレス<sup>24</sup>に強く影響を受け、LH 血中濃度は変化することが知られている。そのため、排卵周期、排卵時間に基づいてサ

表 2. 乾燥重量100g 当たりのコントロール飼料、マカ粉末含有率5%、25%、50%飼料の各栄養成分比較

成分	コントロール飼料	マカ粉末 5%含有飼料	マカ粉末 25%含有飼料	マカ粉末 50%含有飼料	推奨量
水分 (g)	8.5	8.3	7.6	6.7	-
タンパク質 (g)	25.0	24.3	21.5	17.9	12.0
脂質 (g)	4.7	4.7	4.7	4.7	5.0
炭水化物 (g)	6.7	6.6	6.1	5.4	-
糖質 (g)	51.0	51.1	51.6	52.3	-
食物繊維 (g)	3.9	4.8	5.5	13.0	-
エネルギー (kcal)	346	346	346	345	380
カルシウム (mg)	200.0	215.2	255.8	181.7	30.0
リン (mg)	1010.0	975.0	840.0	670.0	400.0
鉄 (mg)	27.7	26.6	22.2	16.7	3.5
カルシウム (mg)	1070.0	1030.0	871.5	673.0	500.0
カリウム (g)	1.0	1.0	1.1	1.2	0.4
マグネシウム (mg)	320.0	307.7	258.4	195.9	40.0
銅 (mg)	0.7	0.7	0.6	0.5	0.5
亜鉛 (mg)	5.5	5.4	4.8	4.2	1.2
マンガン (mg)	9.9	9.5	7.9	6.0	5.0
ビタミン B1 (μg)	425.5	391.2	309.1	312.8	120.0
ビタミン B2 (μg)	+	9.9	1.9	3.0	2.5
ビタミン B6 (μg)	+	+	+	+	3
ビタミン B12 (mg)	1.8	1.7	1.4	1.0	0.5
ビタミン B12 (μg)	1.3	1.3	1.2	1.1	0.5
ビタミン B6 (mg)	1.3	1.3	1.2	1.1	0.6
ビタミン B12 (μg)	16.0	15.6	14.0	12.0	5.0
ビタミン E (mg)	7.1	6.9	6.3	5.4	3.0
ビタミン C (mg)	17.0	16.2	12.8	8.5	+

+: 抽出されていないことを示す。  
 \*: 推奨量が設定されていないことを示す。  
 推奨量は BG Warner, LH Deuser Jr. NUTRIENT requirements of laboratory animals (1972)を参照した。

図 1 A

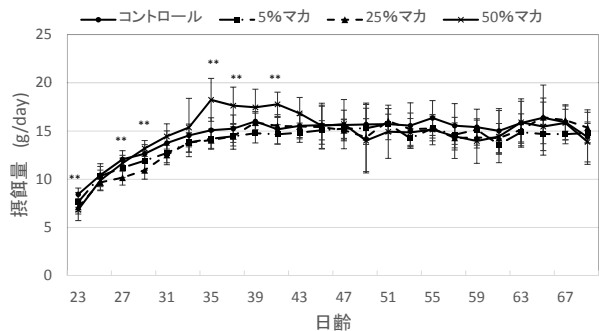


図 1 B

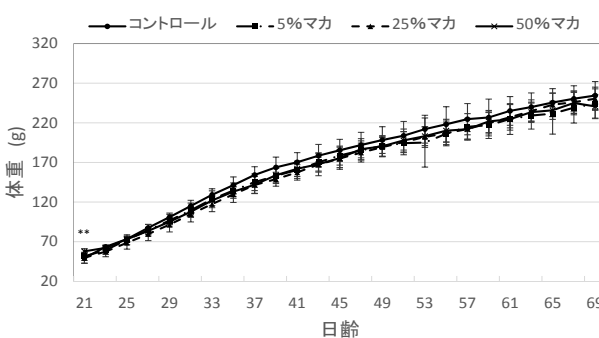


図 2

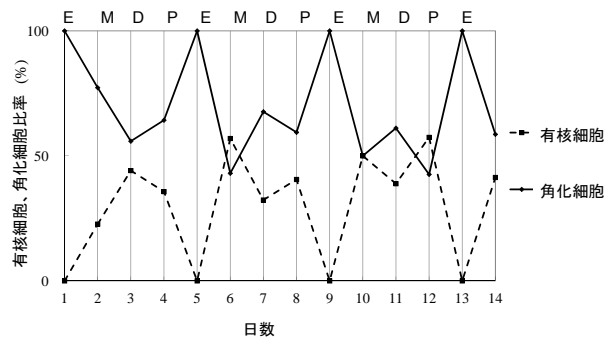


表 3. 50%マカ粉末の添加有無による10週間の飼育での体重変化と臓器重量 (n = 10/ 群)

重量 (g あるいは mg 単位)	コントロール群	50% マカ群
体重 (g)	260.0 ± 20.7	237.6 ± 16.1
下垂体 (mg)	14.31 ± 2.60	15.71 ± 2.44
視床下部 (mg)	90.68 ± 19.21	88.58 ± 13.14
卵巣 (右) (mg)	9.62 ± 1.23	11.26 ± 3.73
卵巣 (左) (mg)	10.78 ± 1.48	11.60 ± 4.40
子宮 (mg)	34.38 ± 4.44	34.40 ± 3.41

すべての値を平均値±SD で示す。すべての重量において有意差はなかった。

マカ (*Lepidium meyenii*) は雌ラットにおいて黄体形成ホルモンサージを亢進する。

ンプル採取を厳密に行う必要があり、実験に使用したラットはスメア検査の結果から、4日周期の性周期サイクルパターンであることを確認した (図 2)。

### 3.3 LH サージ期におけるマカ摂餌による下垂体ホルモンの血中濃度

実験に使用したラットは4日周期の性周期サイクルのパターンで発情前期、発情期、発情後期、発情間期に分類することができた (図 2)。発情前期の LH サージは18時に起こり、排卵前に LH が最大濃度になることが知られている<sup>23</sup>。そのため、ラットの血液は発情前期の18時±15分で採取した。ラットの血清中下垂体ホルモンは ELISA を用いて測定した。その結果、血清中 LH は50% マカ群で22.1 ng/ml、コントロール群で4.9 ng/ml であり ( $P < 0.001$ )、FSH は50% マカ群で9.5 ng/ml、コントロール群で0.5 ng/ml であった ( $P < 0.01$ )。これらの結果はマカ摂餌が雌ラットで LH および FSH の血中濃度を有意に上昇させることを示している (表4)。一方、他の下垂体ホルモンである GH、ACTH、TSH、PRL は50% マカ群とコントロール群の間で有意差は認められなかった (表 4)。これらの結果は、発情前期の雌ラットにおいて、マカ摂餌後、血清中 LH レベルが特異的に4.5倍上昇すること ( $P < 0.01$ ) を示している。

スメア検査では、テスト群、コントロール群で排卵 (発情周期) は同様に正常の4日周期であることを示した。LH サージのタイミングは排卵のタイミングを判断する基準となるため、マカ摂餌後の LH 促進効果が LH サージのタイミングでの特異性および LH 分泌後に続いて分泌される FSH の血中濃度の上昇時期を調べた。LH サージの開始時間を判断するため、発情前期の18時以前での LH および FSH の血中濃度を測定した。その結果、図 3 に示すように LH サージのタイミングは50% マカ群、コントロール群で同じパターンを示し、17時に上昇し始めた。このことから LH サージのタイミングは50% マカ群、コントロール群での差異は認められなかった。また、FSH においても同様に50% マカを摂餌

表 4. 10週齢ラットにおける発情前期の±15分での下垂体ホルモンの血中濃度

下垂体ホルモン	コントロール群	50%マカ摂餌群
GH (pg/mL) <sup>a</sup>	1231.0 ± 725.5	1912.6 ± 1717.9
LH (ng/mL) <sup>a</sup>	4.9 ± 3.5	22.1 ± 10.7***
FSH (ng/mL) <sup>a</sup>	0.6 ± 1.0	9.45 ± 11.1**
PRL (ng/mL) <sup>a</sup>	18.8 ± 12.7	26.3 ± 6.9
TSH (ng/mL) <sup>a</sup>	2.4 ± 1.8	2.7 ± 3.7
ACTH (pg/mL) <sup>b</sup>	57.4 ± 25.9	119.4 ± 53.2*

すべての値は平均±SD値で示す。

<sup>a</sup> n = 10 匹/群

<sup>b</sup> n = 5 匹/群

\*  $P < 0.05$  vs. コントロール

\*\*  $P < 0.01$  vs. コントロール

\*\*\*  $P < 0.001$  vs. コントロール

したラットはコントロール群と同じタイミングで FSH 上昇を示した (図 3)。

このことはマカ摂餌の有無に関わらず、HPG 軸の作用経路において LH サージ開始時に FSH 血中濃度の上昇が開始されるという生理反応機構<sup>25</sup>に同調していた。これらの結果から、マカ摂餌は正常な LH サージのタイミングにおいて下垂体ホルモンのである LH の血中濃度を上昇させていることを示している。

LH 産生は LH サージとパルス期で異なるメカニズムが関与している。LH パルス期の LH の増加は閉経期との関連が示唆されているが、排卵誘導の改善の直接的作用の報告はない。マカの LH パルス期での影響を調べるため、発情前期の16時30分に血液を採取し、LH 血中濃度を測定し、LH サージ期に採取した血中濃度と比較した (図 4)。16時30分に採取したコントロール群の血清 LH レベルは低値 (1.8 ng/ml) であったが、およそ1時間後の LH サージ期で増加がみられた。(6.6 ng/ml,  $P < 0.01$ ) これらの結果は、排卵前期の16時30分は LH パルス期であることを示し<sup>23</sup>、この LH パルス期の LH 血中濃度では50% マカ群とコントロール群で有意差は認

図 3

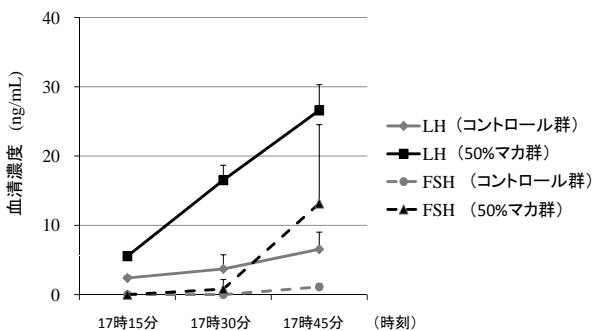
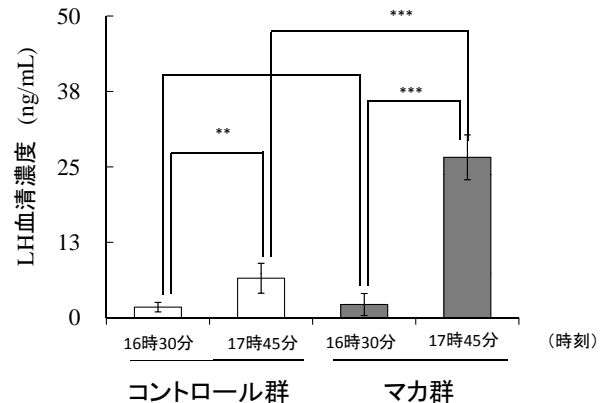


図 4

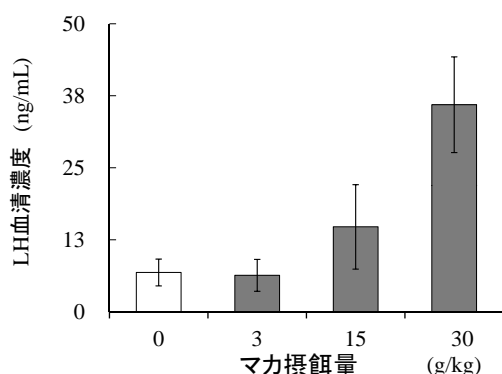


められなかった(図4)。それ故、マカ摂餌によるLH促進効果は正常なHPG軸の生理的なプロセスにおけるLHサージ期に特異的であることが判明した。

### 3.4 マカのLH血中濃度上昇作用における用量依存性

LH血中濃度の上昇と用量依存性の関係を評価するため、ラットに5%、25%、50%のマカ粉末を加えた飼料を与えて用量依存性を調べた。ラットの摂餌量は38日齢から一定になったため(図1A)、与えたマカ粉末の濃度はそれぞれ3.0、15、30g経口摂取に相当する。血液は10週齢のラットの発情前期の18時±15分に採取し、LH血中濃度をELISAで測定した。その結果、LH血中濃度とマカの摂餌量との用量依存的な関係が明らかになった(図5)。このLH血中濃度上昇作用は、25%マカの自由摂餌、すなわち15gマカ/kg/日以上で持続作用を示した。

図5



## 4. 考 察

これまでの研究において、マカの様々な健康促進効果が報告されてきた<sup>26</sup>。しかし、従来研究では、HPG軸を通して卵子形成における重要な役割を持つLHの血中濃度の変化は観察されていなかった。本研究は、マカ摂餌がパルス期でなく、LHサージ期において雌ラットのLH血中濃度を上昇させることを示した初めての研究である。このLH血中濃度の上昇作用は、マカがヒトや家畜において多産に寄与し、女性の生殖機能を促進させる効果があるという中央アンデスの伝統的薬食文化の知見に対して1つの科学的傍証を提供している。

マカの生殖機能における効果は臨床研究において上限3.5g/日の低い投与量で調査している<sup>3,27,28</sup>。そのような低い投与量では、マカによるヒトの血清中の生殖関連するホルモンの血中濃度の変化はみられなかった。投与量と生化学的パラメーターの変化に関して、これまでの動

物実験では、ラットで7.5g/kgのマカ粉末の単一投与による血漿中エストラジオールの上昇が報告されている<sup>29</sup>。また、マカ粉末の高用量摂餌で栄養価値が見出されており、30%マカ含有飼料を摂餌したマウスの総血清タンパク質やアルブミンは有意差のある上昇効果が報告されている<sup>30</sup>。これらの報告から考察すると、血清中のバイオマーカーの変化は齧歯類ではマカの高用量摂餌でのみ引き起こされている。本研究では、LHの血中濃度の上昇作用は15g/kg以上のマカ粉末の摂餌により観察された。このようにマカ摂餌の用量において齧歯類のバイオマーカー変化はマカの高い摂餌量が必要であるという従来の研究結果と一致している。一方、ヒトでのマカ摂食量では、ペルー・フニンの現地先住民は伝統的に、週に2~3回、1人当たり約50~100gのマカを食事として消費していた<sup>31</sup>。さらに、ValerioとGonzalesは中央アンデスの先住民は1日当たり100g以上のマカを使用していたことを報告している<sup>32</sup>。標高の高いアンデスにスペイン人が入った際、フニンでは周辺の先住民とは異なり、多産で背の高い成人が多いことに気づき、マカの食事摂取が多産になると推論し、マカの伝統的薬食文化が広まることになった<sup>33</sup>。現在の日常生活ではマカの使用は時代や生活環境で変化してきているが、標高4,000m以上の生活環境および代替食品がない時代において比較的多い量のマカ摂食が伝統的薬食文化を生み出したことになる。このような伝統的薬食文化を背景にして、標準的な生活環境におけるマカ臨床試験では3.5g/日のマカが使用されており、この用量は現在サプリメントとして用いられている用量である。残念なことにこれらの臨床試験では明確な効果としてまだコンセンサスが得られていない。本研究でラットにおけるマカの摂餌量がアンデス先住民の伝統的なマカの摂食に相当している。そのため、高用量のマカの摂食は、ある過酷な環境下でのヒトあるいは動物の繁殖に効果的であったかもしれない。

本研究では、下垂体ホルモンの一つであるLH血中濃度の特異的な上昇、LHサージに関する正常なタイミング、そしてLH分泌に続くFSH分泌についてそれらの血中濃度の変化を示した。これらの効果はHPG軸の下垂体機能による排卵作用を促進することになる。性腺刺激ホルモン放出ホルモンはLH分泌のメカニズムをコントロールしており、環境的、栄養的、及び身体的状況は発情前期のLHサージに強く影響する。これらの情報は視床下部に統合され、下垂体に生体信号を送り、その信号を受けた下垂体はLHを分泌する<sup>34</sup>。

本研究での発見は、LH血中濃度の上昇が正常な月経サイクルでの発情前期のLHサージ期に起因すること、そして月経サイクルがマカ群、コントロール群で同じタイムコースでみられたことを示した(図3)。このこと

マカ (*Lepidium meyenii*) は雌ラットにおいて黄体形成ホルモンサージを亢進する。

は LH サージにおいて、ストレスなどの影響で有効な血中 LH 濃度に達しない状態においてマカ摂取が有効な手段となりうる可能性を示している。また、本研究の結果は、マカの生体反応メカニズムを解析する上で LH および LH に関連するタンパク質に焦点を当てた研究、たとえばそれらの遺伝子発現研究に活用されるであろう。

結論として、マカの多産への伝統的な使用は、雌ラットの LH 血中濃度の上昇作用から考えると有効であった。本研究では、マカは雌ラットの LH サージ期において、下垂体ホルモンである LH の血中濃度を上昇させること、その効果は薬理的に用量依存的な様式を有することを実証した。また、本研究はマカを多産に使用するという伝統的薬食文化の様式を支持し、さらにその作用機構に LH を介した分子メカニズムが関与する可能性を示唆している。

## 謝 辞

本研究の遂行にあたり、中村学園大学・薬膳科学研究所の研究資金の支援に深謝します。また、技術面でのご指導、動物実験での動物飼育にご協力いただいた中村学園大学 中野裕史博士、中村学園大学 アニマルセンタ― 田中芳博氏に深く感謝申し上げます。

## 引用論文

- 1 Zenico, T., Cicero, A. F., Valmorri, L., Mercuriali, M. & Bercovich, E. Subjective effects of *Lepidium meyenii* (Maca) extract on well-being and sexual performances in patients with mild erectile dysfunction: a randomised, double-blind clinical trial. *Andrologia* 41, 95-99, doi:10.1111/j.1439-0272.2008.00892.x (2009).
- 2 Brooks, N. A. et al. Beneficial effects of *Lepidium meyenii* (Maca) on psychological symptoms and measures of sexual dysfunction in postmenopausal women are not related to estrogen or androgen content. *Menopause* (New York, N.Y.) 15, 1157-1162, doi:10.1097/gme.0b013e3181732953 (2008).
- 3 Shin, B. C., Lee, M. S., Yang, E. J., Lim, H. S. & Ernst, E. Maca (*L. meyenii*) for improving sexual function: a systematic review. *BMC complementary and alternative medicine* 10, 44, doi:10.1186/1472-6882-10-44 (2010).
- 4 Ruiz-Luna, A. C. et al. *Lepidium meyenii* (Maca) increases litter size in normal adult female mice. *Reproductive biology and endocrinology : RB&E* 3, 16, doi:10.1186/1477-7827-3-16 (2005).
- 5 Cicero, A. F., Bandieri, E. & Arletti, R. *Lepidium meyenii* Walp. improves sexual behaviour in male rats independently from its action on spontaneous locomotor activity. *Journal of ethnopharmacology* 75, 225-229 (2001).
- 6 Zheng, B.L., He, K., Kim, C.H., Rogers, L., Shao, Y., Huang, Z.Y., Lu, Y., Yan, S.J., Qien, L.C., Zheng, Q.Y., 2000. Effect of a lipidic extract from *lepidium meyenii* on sexual behavior in mice and rats. *Urology* 55, 598-602.
- 7 Chung, F., Rubio, J., Gonzales, C., Gasco, M. & Gonzales, G. F. Dose-response effects of *Lepidium meyenii* (Maca) aqueous extract on testicular function and weight of different organs in adult rats. *Journal of ethnopharmacology* 98, 143-147, doi:10.1016/j.jep.2005.01.028 (2005).
- 8 Gonzales, G. F. et al. Effect of *Lepidium meyenii* (Maca) on spermatogenesis in male rats acutely exposed to high altitude (4340 m). *The Journal of endocrinology* 180, 87-95 (2004).
- 9 Gonzales, C. et al. Effect of short-term and long-term treatments with three ecotypes of *Lepidium meyenii* (MACA) on spermatogenesis in rats. *Journal of ethnopharmacology* 103, 448-454, doi:10.1016/j.jep.2005.08.035 (2006).
- 10 Zhang, Y., Yu, L., Ao, M. & Jin, W. Effect of ethanol extract of *Lepidium meyenii* Walp. on osteoporosis in ovariectomized rat. *Journal of ethnopharmacology* 105, 274-279, doi:10.1016/j.jep.2005.12.013 (2006).
- 11 Pino-Figueroa, A., Nguyen, D. & Maher, T. J. Neuroprotective effects of *Lepidium meyenii* (Maca). *Annals of the New York Academy of Sciences* 1199, 77-85, doi:10.1111/j.1749-6632.2009.05174.x (2010).
- 12 Rubio, J., Caldas, M., Davila, S., Gasco, M. & Gonzales, G. F. Effect of three different cultivars of *Lepidium meyenii* (Maca) on learning and depression in ovariectomized mice. *BMC complementary and alternative medicine* 6, 23, doi:10.1186/1472-6882-6-23 (2006).
- 13 Rubio, J. et al. Aqueous and hydroalcoholic extracts of Black Maca (*Lepidium meyenii*) improve scopolamine-induced memory impairment in mice. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* 45, 1882-1890, doi:10.1016/j.fct.2007.04.002 (2007).
- 14 Rubio, J., Yucra, S., Gasco, M. & Gonzales, G. F. Dose-response effect of black maca (*Lepidium meyenii*) in mice with memory impairment induced by ethanol. *Toxicology mechanisms and methods* 21, 628-634, doi:10.3109/15376516.2011.583294 (2011).
- 15 Gonzales-Castaneda, C., Rivera, V., Chirinos, A. L., Evelson, P. & Gonzales, G. F. Photoprotection against the UVB-induced oxidative stress and epidermal damage in mice

- using leaves of three different varieties of *Lepidium meyenii* (maca). *International journal of dermatology* 50, 928-938, doi:10.1111/j.1365-4632.2010.04793.x (2011).
- 16 Lopez-Fando, A. et al. *Lepidium peruvianum* chacon restores homeostasis impaired by restraint stress. *Phytotherapy research : PTR* 18, 471-474, doi:10.1002/ptr.1455 (2004).
- 17 Rubio, J. et al. *Lepidium meyenii* (Maca) reversed the lead acetate induced -- damage on reproductive function in male rats. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* 44, 1114-1122, doi:10.1016/j.fct.2006.01.007 (2006).
- 18 Gasco, M., Villegas, L., Yucra, S., Rubio, J. & Gonzales, G. F. Dose-response effect of Red Maca (*Lepidium meyenii*) on benign prostatic hyperplasia induced by testosterone enanthate. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology* 14, 460-464, doi:10.1016/j.phymed.2006.12.003 (2007).
- 19 Gonzales, G. F., Gonzales, C. & Gonzales-Castaneda, C. *Lepidium meyenii* (Maca): a plant from the highlands of Peru--from tradition to science. *Forschende Komplementarmedizin* (2006) 16, 373-380, doi:10.1159/000264618 (2009).
- 20 McCollom, M. M., Villinski, J. R., McPhail, K. L., Craker, L. E. & Gafner, S. Analysis of macamides in samples of Maca (*Lepidium meyenii*) by HPLC-UV-MS/MS. *Phytochemical analysis : PCA* 16, 463-469 (2005).
- 21 Ganzera, M., Zhao, J., Muhammad, I. & Khan, I. A. Chemical profiling and standardization of *Lepidium meyenii* (Maca) by reversed phase high performance liquid chromatography. *Chemical & pharmaceutical bulletin* 50, 988-991 (2002).
- 22 McCormack, C. E. & Sridaran, R. Timing of ovulation in rats during exposure to continuous light: evidence for a circadian rhythm of luteinizing hormone secretion. *The Journal of endocrinology* 76, 135-144 (1978).
- 23 Cooper, R. L., Conn, P. M. & Walker, R. F. Characterization of the LH surge in middle-aged female rats. *Biology of reproduction* 23, 611-615 (1980).
- 24 Krulich, L., Hefco, E., Illner, P. & Read, C. B. The effects of acute stress on the secretion of LH, FSH, prolactin and GH in the normal male rat, with comments on their statistical evaluation. *Neuroendocrinology* 16, 293-311 (1974).
- 25 Butcher, R. L., Collins, W. E. & Fugo, N. W. Plasma concentration of LH, FSH, prolactin, progesterone and estradiol-17beta throughout the 4-day estrous cycle of the rat. *Endocrinology* 94, 1704-1708 (1974).
- 26 Gonzales, G. F. Ethnobiology and Ethnopharmacology of *Lepidium meyenii* (Maca), a Plant from the Peruvian Highlands. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM* 2012, 193496, doi:10.1155/2012/193496 (2012).
- 27 Gonzales, G. F. et al. Effect of *Lepidium meyenii* (Maca), a root with aphrodisiac and fertility-enhancing properties, on serum reproductive hormone levels in adult healthy men. *The Journal of endocrinology* 176, 163-168 (2003).
- 28 Meissner, H. O. et al. Hormone-Balancing Effect of Pre-Gelatinized Organic Maca (*Lepidium peruvianum* Chacon): (II) Physiological and Symptomatic Responses of Early-Postmenopausal Women to Standardized doses of Maca in Double Blind, Randomized, Placebo-Controlled, Multi-Centre Clinical Study. *International journal of biomedical science : IJBS* 2, 360-374 (2006).
- 29 Meissner, H. O., Kedzia, B., Mrozikiewicz, P. M. & Mscisz, A. Short and long-term physiological responses of male and female rats to two dietary levels of pre-gelatinized maca (*lepidium peruvianum chacon*). *International journal of biomedical science : IJBS* 2, 13-28 (2006).
- 30 Canales, M., Aguilar, J., Prada, A., Marcelo, A., Huaman, C., Carbajal, L., 2000. Nutritional evaluation of *Lepidium meyenii* (Maca) in albino mice and their descendants. *Archivos. latinoamericanos de nutricion* 50, 126-133.
- 31 Hermann, M., Bernet, T., 2009. The transition of maca from neglect to market prominence. *Bioversity International*, p21 (Chapter 3)
- 32 Sanchez Leon, A. 1996. Qui rica maca! *Somos* 495, 34-36
- 33 Valerio, L.G., Jr., Gonzales, G.F., 2005. Toxicological aspects of the South American herbs cat's claw (*Uncaria tomentosa*) and Maca (*Lepidium meyenii*): a critical synopsis. *Toxicological Reviews* 24, 11-35.
- 34 Levine, J. E. New concepts of the neuroendocrine regulation of gonadotropin surges in rats. *Biology of reproduction* 56, 293-302 (1997).