

漢方薬のメタボリックシンドロームの予防・治療効果の研究における SHRSP.Z-Lepr^{fa}/IzmDmcrモデル動物の有用性

武庫川女子大学薬学部・東洋医薬研究室 高明、吉富久恵

肥満をはじめとする糖尿病、高血圧、高脂血症などの生活習慣病が重積して起こるメタボリックシンドローム（以下、MS）において、インスリン抵抗性（IR）はその根本的な背景メカニズムのひとつとして捉えられている。現在 MS 患者の多い日本や欧米において東洋医学に対する関心が高まっており、西洋医学と東洋医学を組み合わせた治療が注目されている。漢方薬は長期服用しても副作用が少なく安全性も高いことから、MSに対するこれらの予防・治療効果が期待される。

SHRSP.Z-Lepr^{fa}/IzmDmcr（別称SHRSP/IDmcr-faと以下表記）ラットは若齢より IR を示す典型的な MS の病態と加齢に伴う重篤な臓器病変を呈することが確認されており MS が関与する病態解明や新しい治療法の研究開発に有用であると考えられる¹⁾。当研究室ではこれまでに、このモデル動物を用いて、多種類の漢方生薬やその抽出エキスなどの MS に対する予防・改善効果の検討を行ってきた。今回はその中の「グァバ（Psidium guajava）葉」の70%エタノール抽出物（GLE）の MS に対する効果を SHRSP/IDmcr-fa を用いて検討を行ったので、メカニズム解析も合わせその一部を紹介する。

SHRSP/IDmcr-fa における GLE 投与の効果

7週齢雄性 SHRSP/IDmcr-fa に2g/kg/day の GLE を6週間強制経口投与したところ、体重増加抑制、血圧上昇抑制ならびに糖代謝改善作用が認められた。さらに、個々の組織を解析した結果、精巣周囲脂肪重量が GLE 群で有意な減少を示した。また、肝臓内のトリグリセリド値も GLE 群で有意に減少しており、脂肪肝を改善されていた（表）。

	対照群	GLE群
体重 (g)	394.3 ± 14.6	371.0 ± 28.8 *
脂肪重量 (g)	9.8 ± 0.8	8.4 ± 0.7 *
肝臓重量 (g)	13.6 ± 1.3	12.4 ± 0.7
肝内中性脂肪 (mg/g)	21.4 ± 1.4	12.9 ± 1.3 *
経口糖負荷試験 (mg/dL)	0 (hr)	115.3 ± 4.2
	30 (hr)	220.6 ± 15.9
	60 (hr)	204.1 ± 11.1
	120 (hr)	153.6 ± 6.3
血中インスリン濃度 (ng/mL)	11.6 ± 1.9	13.8 ± 3.2
収縮期血圧 (mmHg)	240.0 ± 3.9	198.9 ± 5.9 *

* P < 0.05 対照群との有意差

表 SHRSP/IDmcr-faのGLE投与開始6週目の時点におけるメタボリックパラメーターの比較

GLE 投与による

MS 改善メカニズムの検討

GLE の MS に対する有用性が確認できたことから、我々は引き続き in vivo と in vitro の両面からそのメカニズムの解明を試みた。

1. GLE の抗肥満メカニズムの検討

はじめに着目したのは脂肪重量の減少である。肥満は前駆脂肪細胞の分化、成熟小型細胞の肥大化、あるいは脂肪細胞の死（アポトーシス）といった脂肪細胞のライフサイクルが密接に関係していると考えられることから、各プロセスにおける GLE の影響を検討した。SHRSP/IDmcr-fa の脂肪細胞から DNA とタンパク質を抽出し、DNA ladder と caspase-3 を検討することで、アポトーシスに対する影響を、一方、HE 染色を行った脂肪組織切片にて脂肪細胞の長径を計測することで脂肪細胞肥大化に対する影響を調べたが、有意な変化は見られなかった。次に分化に対する影響を 3T3-L1 細胞にて検討したところ、GLE は前駆脂肪細胞から成熟脂肪細胞への分化を抑制した。さらに詳細を調べたところ、この効果はエネルギー代謝を司る酵素である²⁾ AMP-activated protein kinase (AMPK) のリン酸化の活性化を介していることが明らかとなった。同じく、SHRSP/IDmcr-fa の脂肪組織の AMPK は対照群に比べ GLE 群のリン酸化比率は有意に増加していた。SHRSP/IDmcr-fa のような肥満状態の脂肪組織では、カロリー過剰摂取と高インスリン血症により前駆脂肪細胞から脂肪細胞への分化を伴う増殖と、肥大化が亢進している状態であると考えられる。本結果から、GLE の投与により SHRSP/IDmcr-fa の脂肪組織において成熟脂肪細胞への分化が抑制され、脂肪組織重量を減少させた可能性が高いと考えられる。

2. GLE の脂肪肝改善メカニズムの検討

脂肪肝は MS の肝臓における表現型である。近年、肥満、インスリン抵抗性により、 β 酸化関連酵素の発現や活性に関与しているアディポネクチンやその受容体の減少が報告されており³⁾、アディポネクチン受容体以下シグナリングの減弱が脂肪代謝の低下、肝臓においては脂肪肝を発症あるいは悪化させている原因の一つであると考えられている。当研究室では SHRSP/IDmcr-fa の肝臓もまた、アディポネクチン受容体の mRNA 発現量が正常ラットに比べ減少していることを確認している。GLE を投与したラットの肝臓ではアディポネクチン受容体遺伝子発現量が有意に増加していた。さらにその下流に位置し、 β 酸化を制御している AMPK^{4,5)} の活性と peroxisome proliferator-activated receptor-alpha (PPAR α) の遺伝子発現量は GLE 群で有意な高値を示していた。GLE は減弱したアディポネクチンシグナル経路を増強させ、脂肪蓄積を抑制している可能性が示唆された (図 1)。同様に、ラット由来肝癌細胞 (H4IIE) を用いて細胞内脂肪蓄積に対する GLE の効果を検討したところ、GLE 添加群で有意に蓄積量が減少しており、in vivo 実験の結果と一致していた。

3. GLE 投与による糖代謝改善メカニズムの検討

筋肉組織では糖輸送担体 Glut4 の細胞膜トランスロケーションにより、細胞内への糖の取り込みが可能となる。そこで、Glut4 の細胞膜移行型の割合を調べた結果、GLE 群で有意に上昇していた。Glut4 の膜トランスロケーションはインスリンに依存している。そこで、GLE 投与によるインスリンシグナルに対する影響を調べたところ、GLE 投与群の IRS、Akt の発現量とリン酸化の割合が増加していた。GLE はインスリン抵抗性を改善させていることが示唆された。さらに肝臓同様、GLE 群のアディポネクチン経路の増強がみられたことから、GLE は細胞内脂質代謝の亢進によりインスリン抵抗性を改善させている可能性が示唆された (図 2)。

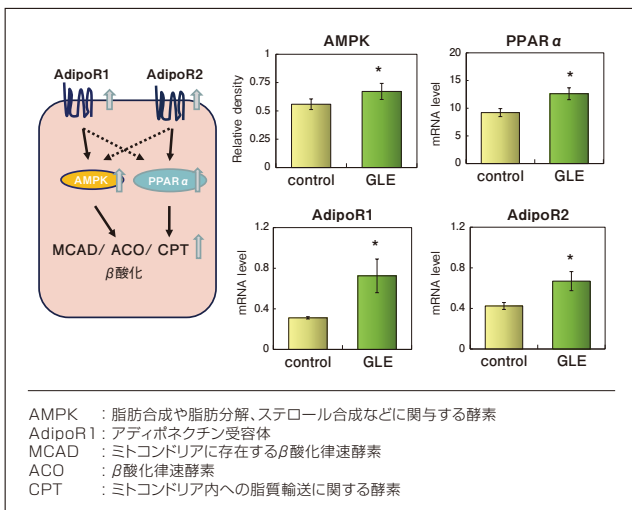


図1. SHRSP/IDmcr-faの肝臓においてGLEのエネルギー関連因子に対する影響

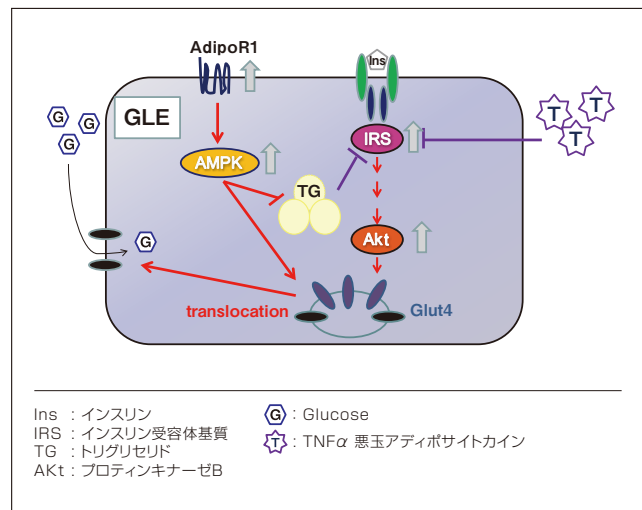


図2. GLEのインスリンシグナリング経路とアディポネクチン経路の増強により、糖代謝を促進する。

おわりに

ギャバ葉は「蕃石榴葉」として漢方にも使用されており、下痢や胃潰瘍、あせもの他、生活習慣病の諸症状に効果がある成分を多く含んでいるともいわれている。最近では、腸からの糖の吸収を穏やかにする効果として、ギャバ葉ポリフェノールが特定保健用食品として認可された。しかしながら、複合的な疾病を併せ持つ MS 病態においてギャバ葉の効能に対する報告は無かった。今回我々は、MS 病態モデル動物である SHRSP/IDmcr-fa を用いてギャバ葉が MS に対し有効であることを証明した。ギャバの葉のように古くから民間に使用されているが、その作用メカニズムが不明の漢方生薬は数多くある。それらの効果の確認および作用機序の解明に SHRSP/IDmcr-fa の活用が大きく期待される。

参考文献

- 1) Hiraoka-Yamamoto J, et al. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2004, 31; 107
- 2) Kemp BE, et al. Trends Biochem Sci. 1999, 24; 22.
- 3) Steinberg GR, et al. Can J Physiol Pharmacol. 2006, 84; 655.
- 4) Tsuchida A, et al. J Biol Chem. 2004, 279; 30817-22.
- 5) Reddy JK, et al. Annu Rev Nutr. 2001, 21; 193