

令和元年6月19日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K15407

研究課題名（和文）フレイル予防漢方薬の開発とパーソナライズ化

研究課題名（英文）Development of frailty-preventing Kampo and personalization

研究代表者

秋下 雅弘（AKISHITA, MASAHIRO）

東京大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：00261975

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：「補剤」による虚証改善で根本的な治療を目指す中医学の考えのなか、「補気」および「補血」作用がある漢方薬およびその生薬の虚弱関連臓器での作用機序を明確にすることが本研究の目的である。具体的には補気剤の生薬成分Ginsenoside Rb1と補血剤の生薬成分Paeoniflorinを血管、骨格筋細胞を用いて比較検討した。特に血管平滑筋細胞の石灰化において同じ抑制作用が認められたものの、機序はアンドロゲン様作用とエストロゲン様作用で異なることが分かった。さらに、性ホルモン様作用で懸念されるがん細胞の増殖能を両方もたないことから補気・補血作用を併せ持つ虚証改善製剤開発の可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では「補気」および「補血」作用がある生薬成分Ginsenoside Rb1 (Rb1)および Paeoniflorinの血管病態に対する作用機序を明らかにした。本研究を参考に他の効果をもつ生薬においても作用機序と臓器特異性の分類が可能となる。すべての生薬を有効成分レベルで分類できれば、調剤方法や技術の検討も必要ではあるが、より適切なpersonalized漢方薬開発への期待が高まる。高齢者にとって、様々な効果をもつ生薬構成成分を効果的に使用することにより、虚弱の改善のみならず、気力やQOL向上にもつながり、社会的フレイルの予防にもつながると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Improvement of frailty using herbs has been considered the fundamental therapy of Chinese medicine. However, the underlying mechanisms are poorly understood. The objective of this research is unraveling mechanisms of the components of herbs such as Ginseng and Peony in frailty-related organs including vessel. Using a calcification model of vascular smooth muscle cells, we found both Ginsenoside Rb1 (Rb1), one of major components of Ginseng and Paeoniflorin, one of major components of Peony, inhibited calcification and their inhibitions were attributed to androgenic and estrogenic actions, respectively. Further, when we tested carcinogenic actions of Rb1 and Paeoniflorin like sex hormone, we could not find their proliferative capacities in LNCaP (a human prostate cancer cell line) and MCF-7 (a human metastatic mammary carcinoma cell line). Our finding provides a novel pharmacological strategy preventing frailty, especially in vessel by combination of Rb1 and Paeoniflorin.

研究分野：老年医学

キーワード：気虚 Ginsenoside Rb1 アンドロゲン受容体 血管石灰化 フレイル

## 1. 研究開始当初の背景

東洋医学では個人が抱える疾患の背景に臓器予備能低下や免疫力低下などの虚弱があると捉えている。さらに、虚弱は「虚証」と捉えられ、「補剤」による虚証改善で根本的な治療を目指すのが中医学の考えである。しかし、このような補剤の明確な作用機序がわかっていないことから、漢方薬の処方是非科学的な「経験」に頼る部分が多く、漢方薬の有効活用ができていないのが現状である。本研究は補剤のなか、「補気」および「補血」作用がある漢方薬とその生薬に注目し、作用機序を明らかにすることを目的とする。各補剤の作用機序が明らかになれば、より personalized した虚証改善効果のある漢方薬が処方可能となり、西洋医学による特定疾患の治療と東洋医学による身体予備能改善の融合が相乗効果を発揮し、新たな治療戦略が構築できると考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究は「補気」および「補血」作用を有する補剤の生薬成分を用いて、虚弱関連臓器での補気と補血の作用機序を明確にすることを目的とする。具体的には血管、脳、骨格筋などの虚弱関連臓器別に臓器老化や機能低下に対する補気および補血剤生薬の作用機序及び特異性を明らかにする。それによって東洋医学での虚証改善という根本的な治療策を打ち出し、疾患治療と虚証改善といった西洋医学と東洋医学の融合による新たな治療戦略を提案することを目指す。

## 3. 研究の方法

補気剤の「四君子湯」と補血剤の「四物湯」に注目し、主な生薬である人参（主成分：Ginsenoside Rb1；Rb1）と芍薬（主成分：Paeoniflorin）のそれぞれの臓器予備能改善作用の解明を目標に、細胞実験を中心に行った。虚弱関連臓器の細胞である血管細胞（ヒト大動脈由来平滑筋細胞：HASMC）、筋肉細胞系細胞株（C2C12）、ヒト前立腺がん細胞株（LNCaP）とヒト乳がん細胞株（MCF-7）を用いて、作用機序としてエネルギー産生作用、性ホルモン作用、抗炎症作用を想定して検討を行った。特に血管病態モデルである血管石灰化に対する Rb1 と Paeoniflorin の抑制作用を検討し、その作用機序の特異性を調べた。さらに、細胞実験で出た結果を動物実験に展開し、老化病態誘導マウスを用いてそれぞれの作用を検証した。

## 4. 研究成果

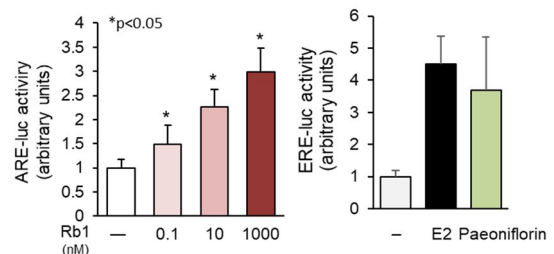
（1）血管細胞における Rb1 と Paeoniflorin の作用を性ホルモン作用中心に検討を行った。

その結果、ヒト大動脈平滑筋細胞において、

Rb1 は濃度依存的に androgen response element（ARE）を濃度依存的に活性化したが、

estrogen response element（ERE）活性に対する影響はなかった。一方、Paeoniflorin は ARE の活性化には影響しなく、エストロゲン同様に ERE を活性化することが分かった（図1）。次に、このような Rb1 と Paeoniflorin の性ホルモン様作用が血管老化病態の抑制に寄与するかについて、血管平滑筋細胞の石灰化モデルを

図1. 血管平滑筋細胞におけるRb1およびPaeoniflorinの性ホルモン様作用



用いて検討を行った。その結果、Rb1 と Paeoniflorin いずれも有意に血管石灰化を抑制し、さらに、Rb1 の抑制作用はアンドロゲン受容体 (AR) 阻害剤である bicalutamide (B) により、Paeoniflorin の抑制作用はエストロゲン受容体 (ER)  $\alpha$  の阻害剤である MPP により打ち消されることから、血管において、Rb1 と Paeoniflorin はそれぞれアンドロゲン様作用とエストロゲン様作用により保護的に作用することが明らかになった (図2)。

(2) 性ホルモン作用として懸念される発がん作用について、LNCaP と MCF-7 を用いて検討を行った。その結果、Rb1 と Paeoniflorin はいずれも性ホルモンとは異なり ARE および ERE の活性や細胞増殖に対する影響が認められなかった (図3)。したがって、Rb1 および Paeoniflorin の性ホルモン様作用には組織特異性があり、血管においては性ホルモン同様の保護作用があるのに対して、がん細胞においては性ホルモンとは異なる作用があることから性ホルモン受容体のモジュレーターとして作用することが示唆された。

(3) 血管平滑筋細胞の石灰化において、Rb1の性ホルモン様抑制作用の機序をさらに、追及したところ、Rb1はアンドロゲン同様にアンドロゲン受容体を介して応答遺伝子である Gas6 ( growth-arrest specific gene 6 ) の転写を活性化し、タンパク発現を亢進することが分かった。Rb1によるGas6の発現亢進が細胞生存シグナルを活性化することでアポトーシスを抑制し、石灰化を抑制することが明らかになった。一方、ヒト前立腺がん細胞株 (LNCaP) においてはテストステロン (T) が応答遺伝子であるPSA ( prostate-specific antigen ) の転写を活性化するのに対して、Rb1単独ではPSAの転写活性に影響を及ぼなかった。しかしながら、テストステロンとRb1の同時添加の条件下ではテストステロンによるPSAの転写活性がRb1により打ち消されることから、LNCaPにおいて、Rb1はアンドロゲン作用を抑制する働きがあることが示された (図4)。

(4) 細胞実験で出た結果を動物実験に展開し、血管老化病態である大動脈瘤の誘導モデル (塩化カルシウムの局所刺激とアンジオテンシン II の持続投与) を用いて、瘤の形成および進行に対する Rb1 の抑制効果をアンドロゲンの作用とともに検討した。まず、アンドロゲンによる大動脈瘤の形成および進行に対する抑制効果を確認したところ、テストステロンは精巣摘出後、補充を行ったところ血中テストステロンの上昇とともに瘤の形成を濃度依存的に抑制することが分かった。一方、Rb1 は精巣摘出後、補充を行った結果、一定の濃度でテストステロンと同様に瘤形成の抑制効果が認められた。

図2. 血管平滑筋細胞の石灰化に対するRb1およびPaeoniflorinの性ホルモン受容体を介した抑制作用

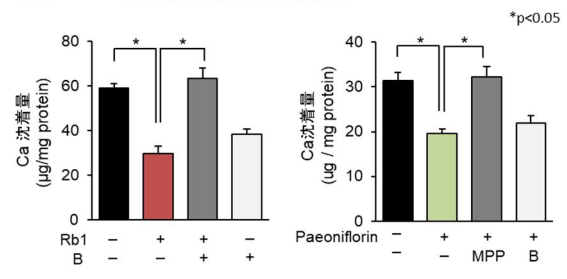


図3. 前立腺がん細胞や乳がん細胞におけるRb1およびPaeoniflorinの性ホルモンと異なる作用

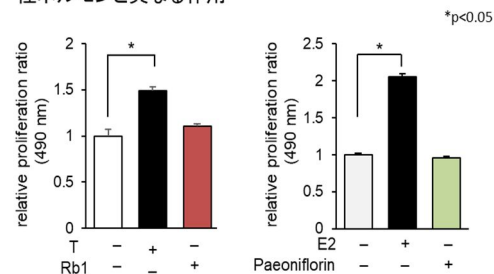
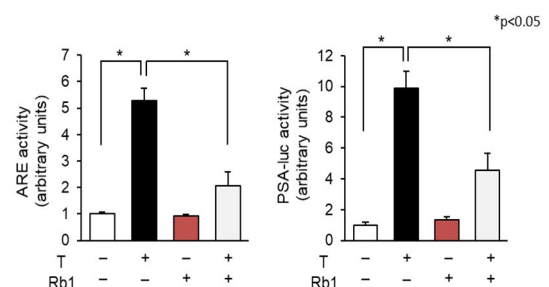


図4. 前立腺がん細胞でのRb1のテストステロン作用に対する拮抗作用



## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計7件)

1. Hashizume T, Son BK, Taniguchi S, Ito K, Noda Y, Endo T, Nanao-Hamai M, Ogawa S, Akishita M. Establishment of Novel Murine Model showing Vascular Inflammation-derived Cognitive Dysfunction. Sci Rep. 査読有 2019;9:4023-4034. DOI : 10.1038/s41598-019-40726-z
2. Hashizume T, Son BK, Kojima T, Nanao-Hamai M, Asari Y, Umeda-Kameyama Y, Ogawa S, Akishita M. Sex difference in the association of androgens with aortic calcification. Geriatr Gerontol Int. 査読有 2018;18:1137-1138 DOI : 10.1111/ggi.13306.
3. Nomura K, Kojima T, Ishii S, Yonekawa T, Akishita M, Akazawa M. Identifying drug substances of screening tool for older persons' appropriate prescriptions for Japanese. BMC Geriatr 査読有 2018;18:154-168. DOI : 10.1186/s12877-018-0835-y.
4. Suzuki Y, Sakakibara M, Shiraishi N, Hirose T, Akishita M, Kuzuya M. Prescription of potentially inappropriate medications to older adults. A nationwide survey at dispensing pharmacies in Japan. Arch Gerontol Geriatr. 査読有 2018;77:8-12 DOI : 10.1016/j.archger.2017.12.010
5. Yakabe M, Ogawa S, Ota H, Iijima K, Eto M, Ouchi Y, Akishita M. Inhibition of interleukin-6 decreases atrogenic expression and ameliorates tail suspension-induced skeletal muscle atrophy. PLoS One 査読有 2018;13: e0191318. DOI : 10.1371/journal.pone.0191318
6. Ishii M, Yamaguchi Y, Isumi K, Ogawa S, Akishita M. Transgenic Mice Overexpressing Vitamin D Receptor (VDR) Show Anti-Inflammatory Effects in Lung Tissues. Inflammation 査読有 2017;40:2012-2019. DOI : 10.1007/s10753-017-0641-2
7. Nanao-Hamai M, Son BK, Hashizume T, Ogawa S, Akishita M. Protective effects of estrogen against vascular calcification via estrogen receptor  $\alpha$ -dependent growth arrest-specific gene 6 transactivation. Biochemical and Biophysical Research Communications. 査読有 2016;480:429-435. Doi: 10.1016/j.bbrc.2016.10.066.

〔学会発表〕(計11件)

1. Akishita M (Keynote Speech): New perspectives: Japan's policies on long-term care for the aged: past, present and future. International Symposium on Geriatric Care, Yunlin, Taiwan. 2019.3.30.
2. Akishita M (招待講演) : Principles of drug therapy in the elderly (Joint Session), Asia Pacific Congress on Cardiovascular Disease Prevention, Seoul, Korea, 2019.3.16.
3. Akishita M (招待講演) Guidelines and health care system for polypharmacy in Japan (Lecture) Taiwan-Japan Conference for Geriatric Medicine, Taipei, Taiwan. 2018.11.19
4. 秋下雅弘 女性の動脈硬化性疾患予防のための管理方針(学会指定プログラム)日本女性医学学会学術集会、岐阜 2018.11.4  
発表場所 :
5. 秋下雅弘 (招待講演) 脳心血管病と性差 : 高齢者における脳心血管病のリスクと治療における性差 . (Cutting-Edge Symposium) 日本動脈硬化学会総会、大阪、2018.7.13
6. 秋下雅弘 (招待講演) フレイル・サルコペニアと慢性疾患管理、日本消化器病学会、東京、2018.4.20
7. 秋下雅弘 (招待講演) サルコペニアの科学と臨床 : 高齢者薬物療法とサルコペニア (シンポジウム) 日本内科学会総会、京都、2018.4.13
8. 秋下雅弘 (教育講演) 循環器系の加齢とフレイル. 日本心臓病学会学術集会、大阪、2017.9.29
9. Akishita M (招待講演) Sex, Aging and Cognitive Decline (Plenary lecture) 8th Congress of the International Society for Gender Medicine, Sendai, 2017.9.15

10. 秋下雅弘(招待講演)動脈硬化性疾患と性ホルモン(教育講演)日本動脈硬化学会学術集会, 広島, 2017.7.6

11. 秋下雅弘(特別講演)フレイルやポリファーマシー、高齢者の定義見直し等について, 日本老年脳神経外科学会, 東京, 2017.4.21

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名: 孫 輔卿

ローマ字氏名: (SON BOKYUNG)

所属研究機関名: 東京大学

部局名: 高齢社会総合研究機構

職名: 特任助教

研究者番号(8桁): 20625256

研究分担者氏名: 矢可部 満隆

ローマ字氏名: (YAKABE MITSUTAKA)

所属研究機関: 東京大学

部局名: 医学部附属病院

職名: 助教

研究者番号(8桁): 10747265

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。