

機関番号：32622

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20590011

研究課題名 (和文) 血糖調節機構における神経伝達物質の関与に着目した生薬由来の血糖上昇抑制成分の研究

研究課題名 (英文) Hypoglycemic Effects of Compounds from Crude Drugs focused on the participation of Monoamine Neurotransmitters in Blood Glucose Regulation

研究代表者

堀 由美子 (HORI YUMIKO)

昭和大学・薬学部・講師

研究者番号：60317584

研究成果の概要 (和文)：

本研究では、生薬ショウキョウ・カンキョウ由来スルホン化誘導体の糖尿病に対する有用性を検討した。この研究過程で、スルホン化誘導体は α -グルコシダーゼ阻害活性を有し、健常マウスに対する食後過血糖抑制作用を示すこと、糖尿病モデル KK-*A^y*マウスの高血糖に対する抑制効果を示すことが明らかになった。また、血糖値の変動には脳内モノアミンレベルの関与が示され、特に 6-gingesulfonic acid 投与による血糖上昇抑制には脳内セロトニン濃度の上昇を促すような神経伝達物質を介した作用であることが示唆された。

研究成果の概要 (英文)：

The sulfonated derivatives from Shokyo and Kankyo have a glucose-lowering effect on loading sugar, which may be based on inhibition of the activity of saccharide hydrolyzing enzyme. Also, the repeated administration of 6-gingesulfonic acid for five weeks showed continuous hypoglycemic effects throughout the experimental periods in KK-*A^y* mice. Concomitantly, the hypoglycemic effects of 6-GS were correlated with the increased brain serotonin levels. These findings suggest that serum glucose concentrations influence on the brain monoamine neurotransmitters metabolism in KK-*A^y* mice.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,260,000	300,000	1,560,000
2009 年度	900,000	270,000	1,170,000
2010 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	2,660,000	720,000	3,380,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・科学系薬学

キーワード：生姜、乾姜、スルホン化誘導体、血糖値、神経伝達物質

1. 研究開始当初の背景

生薬ショウキョウ (生姜) から見出されたスルホン化誘導体は、基原であるショウガ根茎の辛味成分：gingerol類やshogaol類、あるいはdiarylheptanoid類が製品加工上の硫黄燻

蒸処理によってスルホン化された化合物群である。申請者らは本化合物群をショウキョウやカンキョウ (乾姜) から初めて単離し、生薬調製過程で生成する二次生成物であることを証明した。また、本邦市場に流通する

ショウキョウにはほぼ全てに含有されること、カンキョウには約半数のものに含有されることを見出した。

これらスルホン化誘導体のユニークな点は構造上の特徴にある。すなわち、スルホン基の導入により元来脂溶性であった成分が水溶性へと極端な性状変化を伴う点であり、体内動態についても興味深い。また、ショウガにもともと高含量で含まれる主要成分が容易にスルホン化するために、硫黄燻蒸処理された生薬中に占めるスルホン化誘導体の割合は大きく、薬味という点で従来のショウキョウと質を異にする可能性もある。

このような点から、申請者らは、スルホン化誘導体の生理活性について新しい観点から検討したところ、*in vivo* の系で糖尿病や肥満の抑制作用を支持する大変興味深い知見を得た。

このような報告は他には例が無いばかりか、加えて、各種スルホン化誘導体の一定程度の量を純品の化合物として確保している我々のみが検討でき得た成績である。

また、近年、摂食内容により脳内代謝が容易に変動することが明らかになってきた。スルホン化誘導体摂取により血糖値が変動するのであれば、相関して脳内神経伝達物質の合成量も影響を受けると考えられ、血糖調節機構における新たな評価系を確立できるものと考えた。

2. 研究の目的

生薬ショウキョウ由来スルホン化誘導体の 6-gingesulfonic acid や shogasulfonic acid A がメタボリックシンドロームのみならず現代病として膨大な患者数を抱える糖尿病やそのリスクファクターである肥満に対する治療・改善薬となり得る可能性がでてきた。このことを明らかにするために、(1) 実験動物を用いたスルホン化誘導体の短期・長期投与実験を行い、一般状態の観察、体重測定、臓器観察、血液生化学検査等を実施し、スルホン化誘導体の安全性を評価する。(2) 血糖値やインシュリン量の測定、内臓脂肪量および臓器重量の測定を行い、糖尿病や肥満に対するスルホン化誘導体の有効性を評価する。特に、糖尿病モデルマウスを利用し、その効果を図る。

またスルホン化誘導体の体内における消化・吸収と血糖値、脳内神経伝達物質合成量の関連性を明らかにするために、(3) 脳内のホルモンや神経伝達物質(モノアミン類)を測定する。

以上のことより、血糖値の変動と脳内神経伝達物質の合成量との相関性を明確にし、ス

ルホン化誘導体の体内動態についての知見を加え、血糖調節機構における新たな評価法の確立を試みる。

スルホン化誘導体の抗肥満、血糖上昇抑制効果を評価することで、時代が求めるメタボリックシンドローム増加阻止の課題に取り組めるとともに、これに留まらず $-SO_3H$ 基の置換効果を生理活性と関連して評価することは、将来新たな機序を持つ医薬品の開発に資する多くの知見が得られるものと考えられる。

3. 研究の方法

(1) 試料・被検薬となるスルホン化誘導体(6-gingesulfonic acid や shogasulfonic acid A など)を *in vivo* および *in vitro* 実験に対応するため、生薬ショウキョウまたはカンキョウから、各種カラムクロマトグラフィーを用いて単離・精製する。また、生薬からの成分単離には限界があるため、充分量のスルホン化誘導体を原料生薬から確保できない場合は、高含量で常在する gingerol 類や diarylheptanoid 類から有機合成によって作製する。

(2) スルホン化誘導体をマウスに対して単回/長期経口投与し、その安全性と生理活性について検討する。一般所見、体重測定、給飲量の測定、血糖値、内臓脂肪量や解剖学的検査、血液生化学的検査および脳内モノアミン量を測定することで評価する。

(3) スルホン化誘導体の糖尿病に対する有用性を検討するために、高血糖や尿糖陽性、高インスリン血症などの2型糖尿病症状を呈する KK-A^y 系マウスを用いて、スルホン化誘導体: 6-gingesulfonic acid (6-GS) の経口投与による影響を調べる。長期間 6-GS を反復投与する。血糖値の推移および血中インスリン量、血中アディポサイトカイン量、脳内モノアミン量などを測定することで、抗糖尿病効果を評価する。さらに、血糖値の変動と脳内モノアミン量との関連性について検討する。

4. 研究成果

ショウキョウ・カンキョウから見出された新規スルホン化誘導体の糖尿病に対する有用性を評価するために、健常マウスの食後過血糖や糖尿病モデルマウスの高血糖に対する抑制作用を検討した。また、その効果を評価するパラメーターとして血糖値や血中アディポサイトカイン量に加えて、脳内神経伝達物質(モノアミン類)濃度に着目し、それらの関連性について検討した。

(1) 成分の分離・精製: ショウキョウから 80%

MeOH 抽出エキスを調製した。このエキスを Et₂O と H₂O で分配し、それぞれの画分について各種カラムクロマトグラフィーを用いて分離・精製を繰り返し、Et₂O 移行部から 6-gingerol と 6-shogaol, hexahydrocurcumin を、H₂O 移行部から 6-gingesulfonic acid (6-GS) (Fig. 1) と shogasulfonic acid A を単離・精製した。

Et₂O 移行部から得られた 6-gingerol, hexahydrocurcumin を用いて、既報の化学合成法に従って 6-gingesulfonic acid および shogasulfonic acid A を調製した。

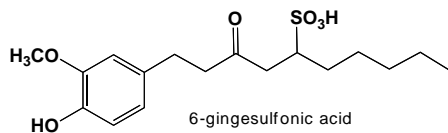


Fig. 1 6-gingesulfonic acid (6-GS) の化学構造

(2) スルホン化誘導体の単回/長期経口投与試験, スルホン化誘導体含有/非含有ショウキョウの熱水抽出エキスの 3 ヶ月投与試験ならびに 80%MeOH 抽出エキスの 12 ヶ月投与試験のいずれにおいても、試験終了時までにマウスの死亡例はなく、毒性発現を示唆するような異常は認められなかった。

(3) スルホン化誘導体は α -グルコシダーゼ阻害活性を有し、健常マウスに対する食後過血糖抑制作用を示すことが分かった。

(4) 健常マウスに対して 6-GS 含有/非含有ショウキョウエキス[6-GS(+)]/[6-GS(-)]を 12 ヶ月にわたり経口投与した。3, 6, 12 ヶ月経過時に各群から 5 匹ずつ無作為に抽出して、6-GS(+)群 / 6-GS(-)群の作用について検討した。

脳内モノアミンにおいて、6 ヶ月経過時に 6-GS(+) \cdot 6-GS(-)両群で視床下部領域のセロトニン (5-HT) が対象群と比較して増加した。このとき、両群の摂飲量が低値を示した。また、5-HT は海馬領域でも増加していた。海馬領域での 5-HT は行動に関与することが知られており、3, 6 ヶ月経過時の海馬における 5-HT の増加は 6, 9 ヶ月経過時に見られた自発運動量の増加に反映されていた。

血中アディポネクチン量を測定した結果、6 ヶ月経過時の 6-GS(+)群では他群に比べて有意な増加が見られた。12 ヶ月経過時も依然として高値を示した。血中アディポネクチン濃度の高値は、インスリン抵抗性を改善することで血糖値の上昇抑制効果を示し、抗糖尿病作用を発揮する。スルホン化誘導体含有ショウキョウエキスの継続投与に糖尿病に対する予防効果が期待された。

(5) 2 型糖尿病モデル KK-A^y マウスに 6-GS を 1 ヶ月間継続経口投与した結果、6-GS 低濃度 (GS-low) 投与群および高濃度 (GS-high) 投与群は対照群と比較して、血糖値の経日的な上昇を抑制する作用が認められた (Fig. 2)。

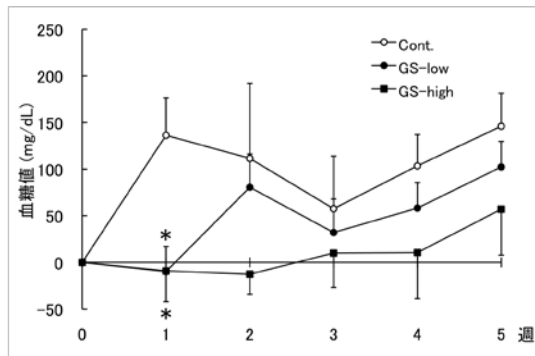


Fig. 2 KK-A^y マウスの血糖上昇に対する 6-GS 継続経口投与による作用 (* $p < 0.05$)

この血糖値の上昇抑制と相関するように血中アディポネクチン量の増加傾向が見られたことから、6-GS の継続的な摂取はインスリン感受性ホルモンであるアディポネクチンの分泌を促進して血糖値の上昇を抑制することが示唆された。

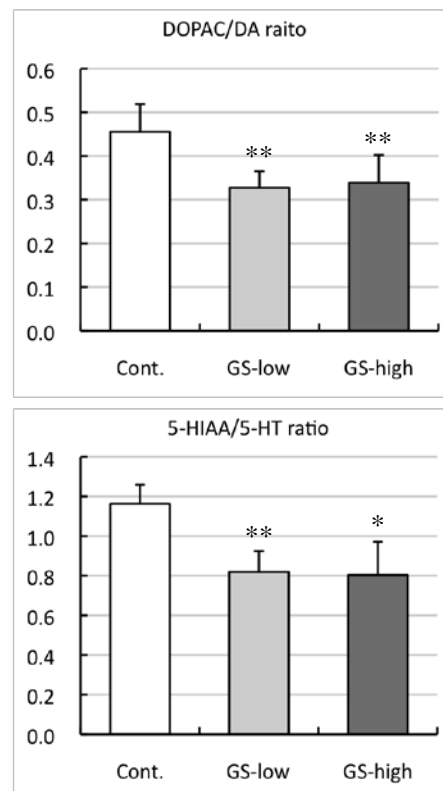


Fig. 3 KK-A^y マウスの 6-GS 継続経口投与後の視床下部におけるモノアミン濃度 (pmol/protein mg) (** $p < 0.01$, * $p < 0.05$)

また、視床下部における DA から DOPAC への代謝回転率および 5-HT の上昇に因る 5-HT から 5-HIAA への代謝回転率が有意に低下した (Fig. 3)。この結果は、血糖値と脳内モノアミン類との相補的な関係を支持するものである。

DA から DOPAC, 5-HT から 5-HIAA への代謝はどちらもモノアミンオキシダーゼ (MAO) によって代謝されるため、6-GS 投与により MAO 活性が抑制されていることが推察された。MAO 活性阻害が引き起こされるとインスリン分泌の促進および糖新生が抑制され血糖値が低下することが知られている。また、5-HT から 5-HIAA への代謝の抑制は、結果的には 5-HT の増加につながり、先のスルホン化誘導体含有ショウキョウエキスを投与した際に観察された 5-HT の増加効果を支持する結果だと考えられる。

以上のことから、今回の 6-GS の血糖上昇抑制効果には脳内 5-HT 含量や MAO 阻害が関与していることが示唆された。

また一方で、我々は健常マウスにおける 5-HT の腹腔内投与による血糖レベルの変化について検討したところ、5-HT の 10.0 あるいは 100.0 mg/kg 投与は血糖値を顕著に低下させるものの、低濃度 (1.0 mg/kg) 投与では血糖値を上昇させる方向に作用することを確認している。5-HT 濃度と血糖値の相補的な関係には複雑な制御機構があることが考えられ、5-HT 濃度に影響を及ぼす 6-GS の投与量についても、その効果を最大限に生かすための検討が必要と思われる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計 3 件)

- ① 石田雅人, 堀由美子, 吉積一真, 福村基徳, 渥美聡孝, 鳥居塚和生: ショウキョウ由来の血糖上昇抑制成分。日本生薬学会第 57 回年会, 2010 年 9 月 25 日, 徳島文理大学 (徳島市)。
- ③ 堀由美子, 古屋奈々子, 石田雅人, 伊田喜光, 鳥居塚和生: ショウガ製品中のスルホン化誘導体の含有状況ならびにスルホン化誘導体の糖負荷後の血糖上昇抑制効果。第 63 回日本栄養・食糧学会大会, 2009 年 5 月 21 日, 長崎ブリックホール (長崎市)。
- ③ 古屋奈々子, 堀由美子, 吉田武美, 鳥居塚和生, 伊田喜光: 市販ショウキョウ・カンキョウのスルホン化誘導体含有量状況ならびにスルホン化誘導体含有ショウキョウの長期経口投与がマウスに及ぼす影響。日本生薬学会 第 55 回年会, 2008 年 9

月 19 日, 長崎大学 (長崎市)。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

堀 由美子 (HORI YUMIKO)
昭和大学・薬学部・講師
研究者番号: 60317584

(2) 研究分担者

鳥居塚 和生 (TORIIZUKA KAZUO)
昭和大学・薬学部・教授
研究者番号: 60135035