

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 15 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23790754

研究課題名（和文） 核内受容体活性化を基盤とした漢方方剤における厚朴配合の意義の解明

研究課題名（英文） Clarify the meaning of *Magnolia obovata* in Kampo medicine on nuclear receptor activation.

研究代表者：

小谷 仁司 (KOTANI HITOSHI)

慶應義塾大学・医学部・特任助教

研究者番号：10594640

研究成果の概要（和文）：本研究により、漢方方剤に含まれる厚朴に含有される honokiol が新規 RXR アゴニストとして、様々な核内受容体アゴニストによる作用を増強する機能を明らかにした。結果として、honokiol はヘテロダイマーパートナーアゴニストと共存することにより、ABCA1 や GLUT4 の mRNA 発現誘導を大きく増強する作用を有していることが明らかになった。さらに、honokiol は動脈硬化症やメタボリックシンドロームに有用な作用を有していることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：Honokiol was found to be a novel natural RXR ligand and show some synergistic effects in combination with other nuclear receptor agonists. As one of pharmacological actions, honokiol appears to have beneficial effect on atherogenesis or metabolic syndrome.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内科学一般（含心身医学）

キーワード：東洋医学、核内受容体、生薬学、天然物化学、メタボリックシンドローム、動脈硬化、レチノイド、RXR

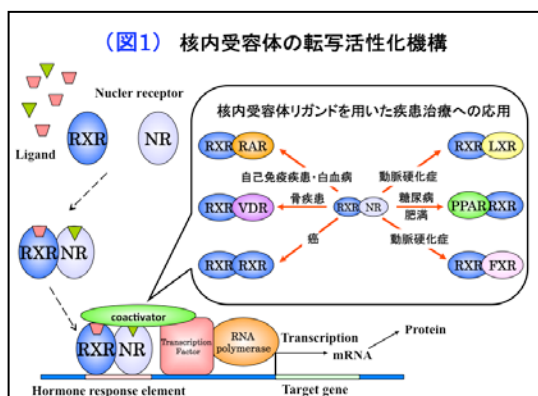
1. 研究開始当初の背景

日本の医療は西洋医学の飛躍的な発展によって国民の福利厚生に大きく貢献したが、超高齢化社会の到来と共に、これまで以上に QOL を重視した医療・予防面での充実、医療の効率化などが求められている。そこで、日本の伝統医療である民間薬や漢方方剤などを見直し、状況や必要に応じて東西の医学を組み合わせたり、使い分けをしていくことが今後の医療において重要であると考えられ

る。漢方方剤は患者の「証」をみて適応する漢方方剤を決めることが知られている。この「証」は重要な概念であるが、この漢方的診断を身につけることは難しく、漢方方剤を処方し難くする一つの要因であると考えられる。従って、基礎的研究により、漢方方剤の薬理学的な科学的根拠を提供することは、漢方方剤の利用を促進することにつながると考えられる。

本研究で対象とする核内受容体は、脂溶性

低分子化合物であるリガンド依存的に、様々な転写を制御する転写因子であり、生体内の内因性リガンドとしては、エストロゲン、アンドロゲン、レチノイン酸、ビタミンD、脂肪酸、酸化コレステロール、胆汁酸などがあり、糖代謝・脂質代謝・骨代謝や細胞の分化に関わる重要な受容体である。



2. 研究の目的

本研究は漢方方剤の臨床応用を目指して、メタボリックシンドロームへの有効性の科学的なエビデンスを示すことを目的としている。科学的なエビデンスの一つとして、生薬の核内受容体活性化に注目している。特に、厚朴に様々な薬剤の増強作用があるのではないかという仮説を立て、その増強作用を *in vitro* および *in vivo* の両面から証明することにより、漢方方剤における厚朴の配合意義を証明するとともに、これまで理解が困難であった複合製剤としての漢方方剤の作用メカニズムの一部分について解明することができると思われる。

3. 研究の方法

核内受容体に対するルシフェラーゼレポーターアッセイを用いて、生薬のメタノール抽出エキスのスクリーニングを行い、RXR アゴニスト活性を見出した厚朴含有成分である honokiol について、様々な核内受容体ア

ゴニストと併用することによるアゴニスト活性増強作用を調べた。使用した細胞は、脂肪細胞 (3T3-L1 細胞を分化させたもの)、マクロファージ、骨格筋様細胞 (C2C12 細胞を分化させたもの) を用いた。

さらに、*in vivo* における検討として、短期経口投与による腸管上皮細胞での遺伝子発現変化を調べた。

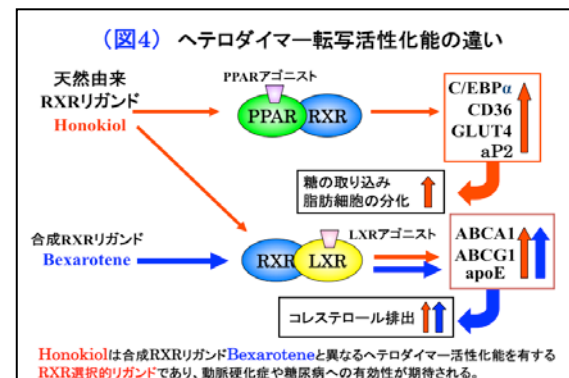
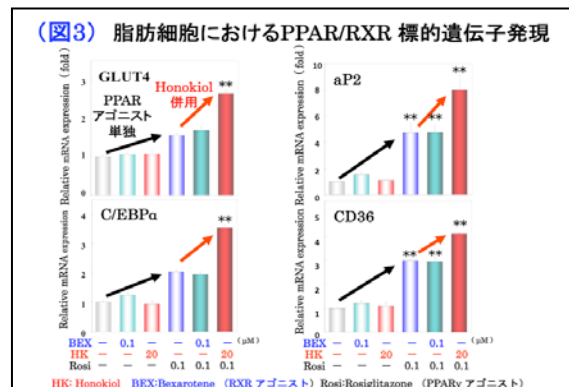
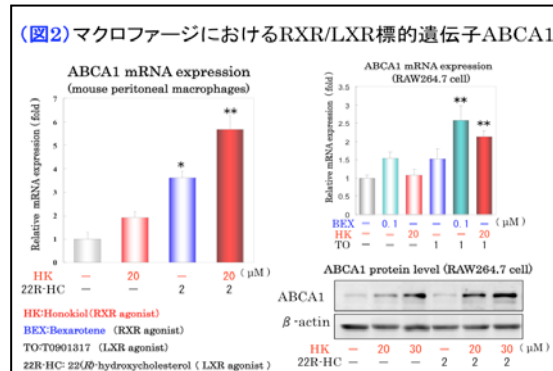
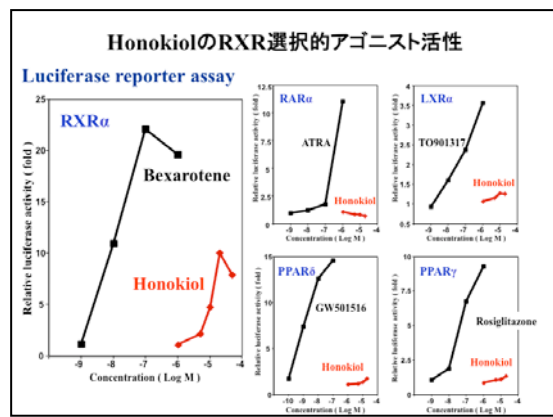
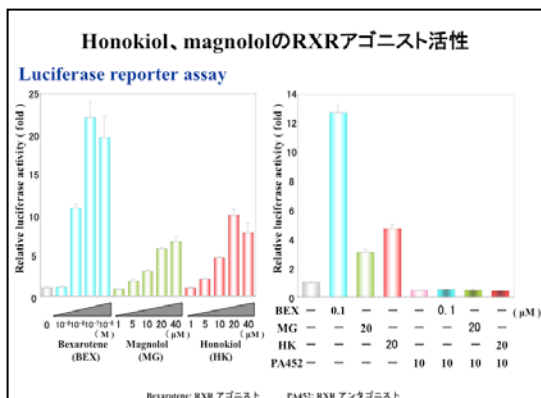
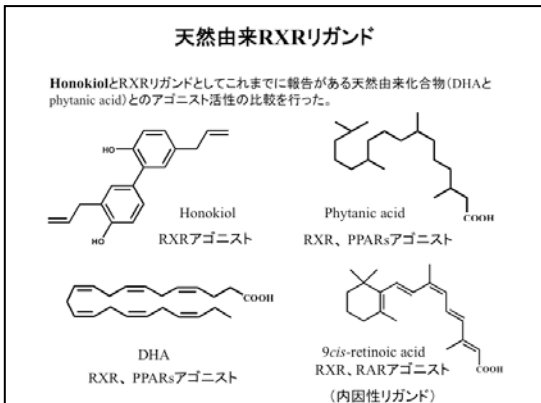
4. 研究成果

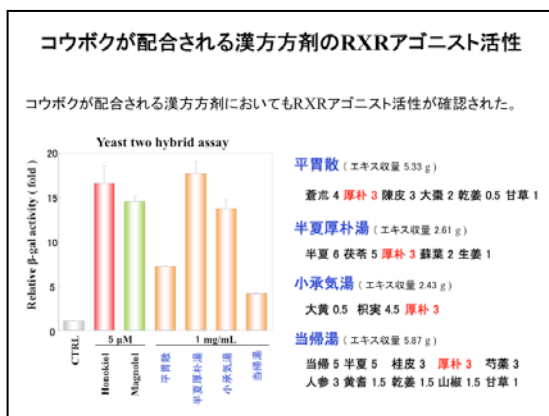
メタボリックシンドロームに関わる核内受容体として、PPAR γ および PPAR δ のアゴニストと honokiol を共存させた際における標的遺伝子発現の誘導作用の変化について調べた。その結果、脂肪細胞において脂肪細胞の分化誘導を促進するとともに、標的遺伝子である aP2, C/EBP α , GLUT4, adiponectin などの発現誘導を増強する作用を honokiol が持つ結果が得られた。また、骨格筋細胞においては熱産生などに関わる遺伝子である UCP-2 の遺伝子発現誘導を増強する結果も得られた。これらの結果より、脂肪組織や骨格筋において adiponectin を産生したり、糖の取り込みや熱産生を活性化することにより、メタボリックシンドロームに有効性が期待される。また、これまでにスクリーニングを行ってきた生薬エキスの数を 60 種類ほど増やしたところ、厚朴と同様に RXR アゴニスト活性を示す生薬エキスを見出し、アゴニスト成分を同定した。ガンマ, PPAR デルタのアゴニストと共存させた際の標的遺伝子発現の誘導作用を網羅的に見るため、200~300 程度の遺伝子発現が解析できる生活習慣病マイクロアレイで解析を行った。その結果、合成アゴニスト bexarotene では LXR とのヘテロダイマー活性化が強く、honokiol では PPAR とのヘテロダイマーのほうが活性化作用が

強い傾向が見られた。In vivo 実験に関しては、honokiol の短期経口投与を試みたがあまり大きな遺伝子発現変化は見られなかった。

ヘテロダイマーパートナー受容体の活性化を促進する生薬を探索するため、PPAR γ 、PPAR δ 、RAR、LXR に対するルシフェラーゼレポーターアッセイも行い、核内受容体活性化を示す生薬エキスを見つけ出し、さらに活性成分の単離同定を行った。その結果、PPAR δ のアゴニストとして脂肪酸類、RAR のアゴニストとしてセスキテルペン類などが見付き、それらについても遺伝子発現に及ぼす影響を調べた。

今後それらの成分を有する生薬と厚朴を組み合わせる in vivo の解析を行っていきたくと考えている。





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)

[雑誌論文] (計 2 件)

(1) Kotani H, Tanabe H, Mizukami H, Amagaya S, Inoue M.,

「A Naturally Occurring Rexinoid, Honokiol, Can Serve as a Regulator of Various Retinoid X receptor Heterodimers.」査読有り

Biological and Pharmaceutical Bulletin Vol.35(1), 1-9, 2012 DOI: 10.1248/bpb.35.1

(2) Yoshida H, Suzuki M, Sakaguchi R, Tani I, Kotani H, Shudo N, Yoshimura A.

「Preferential induction of Th17 cells in vitro and in vivo by Fucogalactan from Ganoderma lucidum(Reishi).」査読有り

Biochem Biophys Res Commun. Vol. 25;422(1), 174-80, 2012 DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.04.135.

[学会発表] (計 5 件)

(1) 石田幸大 中島健一 田邊宏樹 小谷仁

司 永津明人 井上誠

「山豆根由来 RXR アゴニスト活性成分の同定と機能解析」

日本生薬学会第 59 回年会 2012 年 9 月 17 日～18 日 (千葉)

(2) 小谷仁司 勝川千尋 中村知世 石田幸大 田邊宏樹 井上誠

「生薬からの天然由来 PPAR δ リガンドの探索と機能解析」

日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬学会東海支部合同学術大会 2011 年 11 月 23 日 (名古屋)

(3) 片桐由里絵 小谷仁司 田邊宏樹 井上誠

「黄連含有イソキノリンアルカロイドの脂肪細胞分化抑制作用に関する機序解析」

日本生薬学会第 58 回年会 2011 年 9 月 25 日 (東京)

(4) 田邊宏樹 小谷仁司 安井友浩 野口教好 槇島誠 井上誠

「漢方方剤常用生薬由来レチノイン酸受容体アゴニストの探索と有用性の解析」
第 28 回和漢医薬学会学術大会 2011 年 8 月 27 日 (富山)

(5) 小谷仁司 田邊宏樹 水上元 井上誠

「天然由来核内受容体 RXR リガンド honikiol によるヘテロダイマー活性化調節作用の検討」

第 57 回日本薬学会東海支部総会・大会 2011 年 7 月 9 日 (名古屋)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小谷 仁司 (KOTANI HITOSHI)
慶應義塾大学・医学部・特任助教
研究者番号：10594640

(2) 研究分担者

なし

(3) 研究協力者

井上 誠 (INOUE MAKOTO)
愛知学院大学・薬学部・教授
研究者番号：50191888

永津 明人 (NAGATSU AKITO)
金城学院大学・薬学部・教授
研究者番号：70244572

槇島 誠 (MAKISHIMA MAKOTO)
日本大学・医学部・教授
研究者番号：70346146

田邊 宏樹 (TANABE HIROKI)
愛知学院大学・薬学部・講師
研究者番号：10415606