

令和 6 年 6 月 15 日現在

機関番号：32723

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06653

研究課題名(和文) 神経変性疾患における生薬人参を中心とした漢方薬の包括的な有用性の検討

研究課題名(英文) Comprehensive studies for effects of Panax ginseng on neurodegenerative diseases

研究代表者

亀卦川 真美 (Kikegawa, Mami)

横浜薬科大学・薬学部・助教

研究者番号：30896626

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：神経変性疾患における人参養栄湯の有用性を検討した。人参成分ジンセノサイド(PPDとPPT)はエストロゲン受容体アゴニスト作用を持ち、GABAR遺伝子発現を促進した。黄耆はBDNF/TrkBシグナル、当帰はBDNFとニューステロイドに関与し、各成分は異なるメカニズムでGABA受容体機能を促進し神経保護作用を示すことが考えられた。JADERデータベースからパーキンソン病様症状を引き起こす医薬品を抽出し、GABA受容体への関与が示唆された。このことから、GABA受容体を介した神経変性疾患の治療において、人参養栄湯が有用である可能性が見出された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

人参養栄湯の構成生薬(人参、黄耆、当帰)は異なるメカニズムでGABA受容体に作用して神経保護作用を示した。また、JADERデータベースを用いてパーキンソン様事象の医薬品を網羅的に解析した結果、GABA受容体に関与している可能性が見出された。この結果は、神経変性疾患の病態解明に貢献するもので学術的意義は高い。今までパーキンソン病についてGABA受容体に着目した研究は少ない。本研究は漢方薬の有用性を確立させ安全性の高い治療薬を提供するとともに神経変性疾患の病態解明、治療法の開発に重要な新しいモデルとして役立つものであり、社会的意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：We investigated the usefulness of Ninjinyoeito in neurodegenerative diseases. The ginseng components, ginsenosides (PPD and PPT), have estrogen receptor agonist effects and promote GABAR gene expression. Astragalus is involved in BDNF/TrkB signaling, whereas Angelica is involved in the production of BDNF and new steroids. Each component is thought to promote GABA receptor function and exhibit neuroprotective effects through different mechanisms. Drugs that cause Parkinsonian symptoms were extracted from the JADER database, and their involvement with GABA receptors was suggested. This implies that Ninjinyoeito may be useful in treating neurodegenerative diseases mediated by GABA receptors.

研究分野：漢方薬学

キーワード：神経変性疾患 生薬人参成分ジンセノサイド 計算機科学的解析 ヒトiPS細胞 ヒト脳オルガノイド 医薬品副作用データベース

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、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年増加傾向にあるアルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患における研究が進んでいるが、治療薬開発において実臨床に応用可能な段階には至っていない。また、生薬人参を含む人参養栄湯は神経変性疾患に対し効果が期待され必要性が高まっているが十分なエビデンスが蓄積されていない。そこで、本研究課題の核心をなす学術的「問い」は生薬人参成分であるジンセノサイド類はどのように脳神経保護をしているのだろうかというものである。さらに、神経変性疾患で使用されている医薬品の実態を整理し有用性の検討を行う。これらの研究により神経変性が関わる広範囲な疾患やフレイルに応用できる可能性に加え、認知症施策の推進に貢献する。

2. 研究の目的

上記の「問い」に答えるために、以下の3つの研究により神経変性疾患における生薬人参成分のジンセノサイド類の神経保護作用のメカニズムを解明することを目的とする。動物実験ではジンセノサイド類の性ホルモン作用や脳神経保護作用に関する報告がある。そこで、(1) ジンセノサイド類と性ホルモン受容体との分子間相互作用の検討 (2) ヒト細胞での薬理活性の検証 (3) 神経変性疾患における治療薬と人参含有漢方薬の包括的な薬理・副作用検討を行い、ジンセノサイド類が性ホルモン作用によって脳神経保護することを明らかにする。さらに人参養栄湯構成生薬について (1) (2) の方法を使って人参養栄湯の有用性を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) では、ジンセノサイド代謝物である PPD と PPT をエストロゲン受容体について分子間相互作用の検討を行った。統合計算化学システムである MOE を使用し、受容体と分子の X 線結晶座標は NCBI PubChem や PDB から取得した。さらに、バイオアッセイデータと比較し薬理作用の検証を行った。(2) では、ヒト MCF-7 細胞を利用してエストロゲン作用と遺伝子発現プロファイルを検証した。さらに、ヒト iPS 細胞由来の脳神経オルガノイドを育成し、脳組織での薬効評価が可能段階に達した。(3) では、JADER データベースを用いて人参含有漢方の副作用傾向および 148 漢方処方薬の薬物性肝障害リスクに加え神経変性疾患の関連医薬品をオッズ比と P 値から散布図を作成し網羅的に解析した。人参養栄湯の有用性を検討するため黄耆と当帰の分子相互作用を明らかにし、当帰は脳神経オルガノイドを用いて脳保護作用を検証した。

4. 研究成果

生薬人参成分であるジンセノサイド類はどのように脳神経保護をしているのだろうかという「問い」に対して以下の研究成果を得た。

(1) ジンセノサイド代謝物 PPD と PPT と脳神経に関連のあるエストロゲン受容体 (ER) α との分子間相互作用を検討したところ、アゴニストとして作用することが仮定できた。具体的にはアゴニストの 17 β -エストラジオール (E2)ER α モデルで強く相互作用したがアンタゴニストのラロキシフェン ER α モデルではあまり相互作用を示さなかったことを根拠とする(図 1.A,B)。

(2) PPD と PPT の ER α 活性を検証するため、ER α を発現するヒト MCF-7 について E2 を指標として細胞増殖実験を行ったところ、E2 が最も強く PPD 及び PPT にも ER α 活性が認められた。(1) の結果より PPD と PPT の ER α 活性は E2 の相互作用様式とは異なっていたため、PPD と PPT を曝露した MCF-7 細胞から抽出した全 RNA を用いて次世代シーケンシングを行い遺伝子発現プロファイル明らかにした。E2 と PPD は類似していたが PPT の発現プロファイルは異なっていた。さらに、遺伝子発現結果をバイオインフォマティクスツールで解析すると E2、PPD、PPT のすべてにおいて神経伝達経路への関連が検出され、共通した遺伝子発現は GABBR、PTGDR であった。この結果により PPD 及び PPT は、ER α アゴニスト活性を持ち、GABA 受容体や抗炎症作用に関与するプロスタグランジン D2 受容体に関連して神経保護効果に寄与していることを示唆している。ここで示された事実はジンセノサイドの性ホルモン作用や脳神経保護作用、アルツハイマー型認知症やパーキンソン病と GABA 受容体の関連性においても過去の動物実験結果とも一致していた。

続いて、人参養栄湯構成生薬である黄耆、当帰についてはどのように脳神経保護をしているのだろうか。黄耆成分アストラガロシド (AST) IV は BDNF/TrkB シグナル伝達経路のアップレギュレーションにより神経新生を促進することが報告されているがその他の関連化合物について報告はない。ASTIII、ASTIV、ASTIV のアグリコンであるシクロアストラゲノールと TrkB との分子間相互作用を解析したところ、ASTIII がより強い相互作用を示した (図 1.C,D) (未発表)。当帰成分(Z)-リグスチリド (LIG) はニューステロイド関与によって抗うつ作用を示すことが報告されている。脳内ニューステロイドにおける生合成経路の1つにprogesterone (PROG) から5 α 還元酵素 (SRD5A1) によって生成されるアロプレグナロン (ALLO) がある。LIG は SRD5A1 を促進し ALLO を増加させ GABA A 受容体機能を促進させる。ヒト SRD5A1 における LIG との分子間相互作用について検討すると LIG が結合することで酵素がコンフォメーション

ン変化しSRD5A1とPROGとの結合親和性が高まった(図1.E,F)(未発表)。この結果を検証するために神経オルガノイドを用い5 α 還元酵素阻害薬であるデュタステリド、PROGを10日間曝露し次いでLIGを曝露した。LIG曝露の10日後に形態評価及び遺伝子発現量の評価を行ったところLIGは神経オルガノイドの神経新生を促進する可能性があることがわかった。また、遺伝子発現量ではSRD5A1及びBDNFの増加が認められた。このことにより、LIGはSRD5A1の活性化を介して脳内ALLOレベルを上昇させるとともにBDNF増加による神経新生促進作用を持つ可能性があることが示唆された(未発表)。これらの結果は、人参、黄耆、当帰が異なる作用機序でGABA神経やGABA受容体機能促進に関与している可能性を示唆している。

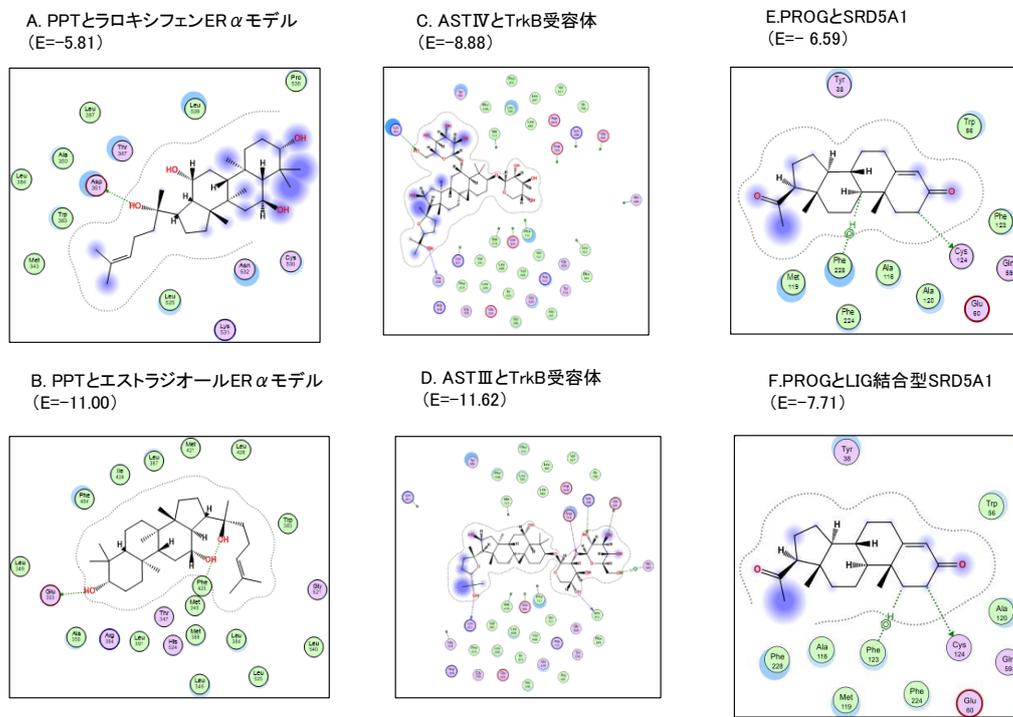
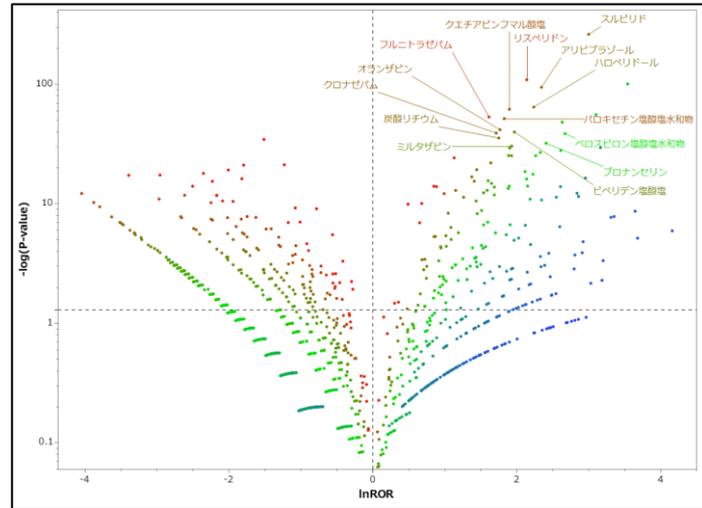


図1. 人参養栄湯含有生薬(黄耆, 当帰, 人参)における分子相互作用
 分子相互作用に関連する2次元座標を図で示した。リガンドと受容体との結合親和性はスコアリング関数により算出され結合エネルギーkcal/mol (E) で表される。Eが低いほど親和性が高い。人参成分代謝物のPPTはエストラジオール結合ER α モデルの親和性が高い結果であった(図1.A,B)。ASTIIIがASTIVより親和性が高い結果であった(図1.C,D)。当帰成分プロゲステロンにおけるSRD5A1酵素の結合親和性はLIG存在の方が高い結果であった(図1.E,F)。

一方、(3)ではJADERデータベースを用いて神経変性疾患や漢方含有処方について包括的かつ多面的に解析した。人参含有漢方薬は間質性肺疾患や薬剤性肝障害などの副作用が起こりやすく、低カリウム血症や偽アルドステロン症などの副作用を減少させる傾向が見られ、それぞれの報告オッズ比は1.79、1.20、0.40、0.29であった。さらに148漢方処方に含有される生薬について薬物性肝障害リスクを網羅的に解析したところ、黄芩、山梔子、生姜、川芎、半夏、人参などがあり、報告オッズ比は8.63、8.43、6.75、6.68、6.47、6.03であった。一方、神経変性疾患のうちパーキンソン様事象を起こす医薬品を同様に解析したところ報告数が10000件を超える高リスク医薬品にはスルピリド、アリピプラゾール、リスペリドン、フマル酸ケチアピンなどがあり、報告オッズ比は20.10、10.44、8.50、6.68であった(図2)。抽出された医薬品はD₂受容体関与するものに加えGABA受容体やセロトニン受容体に関与するものが含まれているという特徴があった(未発表)。また、オッズ比が低い傾向にあるものがいくつか抽出された。これらの結果は、パーキンソン様事象はD₂遮断作用だけではなく黒質でのGABA受容体やセロトニン受容体に関与する医薬品の影響を受ける可能性を示唆している。今までパーキンソン様事象はD₂遮断作用によって引き起こされることは広く知られているが、GABA受容体に関する副作用の報告はほとんど見られない。

図 2.パーキンソン様事象と医薬品との関係

X 軸は報告オッズ比の自然対数を示し、Y 軸は Fisher の正確検定の P 値の常用対数の逆数を示している。Y 軸の点線は P 値が 0.05 であることを表す。ROR はクロス集計表を使用して計算し、赤色のプロットは報告された有害事象が多いことを表す。 $\ln ROR > 1.5$ 、 $-\log(P\text{-value}) > 30$ が示す 14 医薬品は特に副作用リスクが高い。



このように本研究によって人参養栄湯の構成生薬である人参のジンセノサイド代謝物 PPD、PPT や黄耆の ASTⅢ、当帰の LIG が異なる作用機序で GABA 神経や GABA 受容体を介して脳神経保護作用の可能性やパーキンソン様事象が D_2 受容体、セロトニン受容体、GABA 受容体などの影響を受ける可能性が明らかとなった。これらの成果はパーキンソン病の運動神経疾患メカニズムを新たな視点で解明するために重要であり、多くの神経変性疾患と関係している。また、人参養栄湯及び内包する化合物群が新たな治療薬として発展する可能性が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kimura Kyosuke, Kikegawa Mami, Kan Yusuke, Uesawa Yoshihiro	4. 巻 16
2. 論文標題 Identifying Crude Drugs in Kampo Medicines Associated with Drug-Induced Liver Injury Using the Japanese Adverse Drug Event Report Database: A Comprehensive Survey	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Pharmaceuticals	6. 最初と最後の頁 678 ~ 678
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ph16050678	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kikegawa Mami, Nakajima Azusa, Yu Jing, Asai Masashi, Uesawa Yoshihiro, Sone Hideko	4. 巻 813
2. 論文標題 Molecular profiling of ginsenoside metabolites to identify estrogen receptor alpha activity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Gene	6. 最初と最後の頁 146108 ~ 146108
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.gene.2021.146108	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Hideko Sone, Xian-Yang Qin, Tomohiro Ito, Mami Kikegawa
2. 発表標題 Driver Gene Detection through Bayesian Network Integration of Cellular Phenotypes and Expression Profiles.
3. 学会等名 日本バイオインフォマティクス学会年会第 11回 生命医薬情報学連合大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 亀卦川 真美
2. 発表標題 種々パーキンソン様症状と誘発医薬品に関する網羅的解析
3. 学会等名 67回日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 本元恒越, 嶋津知美, 伊藤智彦, 速水耕介, 曾根秀子
2. 発表標題 iPS細胞由来マイクロオルガノイドを用いたin vitro神経発達毒性評価法の開発
3. 学会等名 フォーラム2022 衛生薬学・環境トキシコロジー
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 亀卦川真美, 曾根秀子	4. 発行年 2022年
2. 出版社 北隆館	5. 総ページ数 6
3. 書名 「人参養栄湯に関する包括的な薬理作用の探索」漢方薬・生薬研究の最前線 臨床応用を主眼として月刊「細胞」2022年12月臨時増刊号	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	福田 秀子 (曾根秀子) (Sone Hideko) (60280715)	横浜薬科大学・薬学部・教授 (32723)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------