

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：37107

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07382

研究課題名(和文) 肥満症治療薬としての牛車腎気丸および六味丸の有用性とその機序の解明

研究課題名(英文) Elucidation of effect and action mechanism of Gosyajikigan and Rokumigan for obesity medication.

研究代表者

長島 史裕 (Nagashima, Fumihiro)

第一薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：60228012

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)：六味丸(RG)および牛車腎気丸(GJG)の抗肥満作用についての検討を行ったが、両漢方処方とも高脂肪食によって惹起された食餌性肥満を抑止することはできなかった。一方でRGは肥満によって誘導されたインスリン抵抗性を十分に抑止し、その機序として、骨格筋のインスリンシグナル伝達抑制を解除した。またRGは肝において糖新生を抑制したことから、肥満に伴う耐糖能異常の改善が示された。GJGは肥満に伴う骨格筋萎縮および慢性炎症を有意に改善し、その機序として、炎症性サイトカインによる骨格筋シグナル伝達を改善できた。この成果は、GJGもRG同様に肥満によるインスリン抵抗性の改善につなげられる可能性を示唆している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究でRGおよびGJGの抗肥満作用は証明されなかった。一方で肥満に伴う代謝性疾患であるインスリン抵抗性をRGは有意に改善することができた。GJGは肥満に伴った骨格筋萎縮や慢性炎症を改善できるという新たな機序を証明できた。これらの結果はRGもGJGも主に骨格筋の機能を改善することで、生活習慣病を抑止できることが示唆された。このことはサルコペニア肥満による代謝性疾患の発症を抑止する可能性も言及でき、加齢肥満マウスでの検討を進める必要性を課題として示唆できた点で学術的意義は高い。それだけでなく超高齢社会の中でこれらの処方が高齢者のQOLの改善に生かせる可能性を見いだせた点で、社会的意義も大きい。

研究成果の概要(英文)：We examined the anti-obesity effects of Rokumigan (RG) and Goshajinkigan (GJG), but both Kampo formulas failed to suppress dietary obesity induced by a high-fat diet. On the other hand, RG sufficiently suppressed obesity-induced insulin resistance and restored the suppression of insulin signaling in skeletal muscle. In addition, RG suppressed gluconeogenesis in the liver, indicating improvement of obesity-induced glucose intolerance. GJG significantly improved obesity-induced skeletal muscle atrophy and chronic inflammation, and could ameliorate skeletal muscle signaling induced by inflammatory cytokines. These results suggest that GJG, as well as RG, may be able to improve obesity-induced insulin resistance.

研究分野：天然物化学

キーワード：六味丸 牛車腎気丸 肥満 インスリン抵抗性 糖新生 Akt サイトカイン MuRF1

1. 研究開始当初の背景

近年、高齢者における肥満および2型糖尿病の易罹患に関連する「サルコペニア肥満」が、高齢者のQOL低下に拍車をかけ社会的問題となっている。サルコペニア肥満の罹患によって、サルコペニア単独および肥満単独よりもメタボリックシンドロームへの罹患リスクが高くなることが報告されている (Diabetes Care. 33, pp1652-1654, 2010)。よって、サルコペニア肥満を予防もしくは治療するための薬剤の開発は急務であり、高齢者を標的にした薬剤開発においては特に副作用の少ないことが開発には必須であると考えられる。

一方で、本研究課題に参画する共同研究者の研究報告により、高齢者が抱える諸疾患 (しびれ、下肢痛、かすみ目など) に適用がある漢方補腎剤「牛車腎気丸 (GJG)」は老化促進マウス SAMP8 のサルコペニアを予防することが報告され (Phytomedicine. 22, pp16-22, 2015)。研究代表者の現在までの研究成果において、肥満モデルである ob/ob マウスを用いた検討で、GJG は2型糖尿病のインスリン抵抗性病態 (インスリンシグナル障害) を改善することを証明してきた (未発表データ)。これらより、GJG がサルコペニア肥満治療およびサルコペニア肥満から派生する様々な代謝性疾患に対しても有用である可能性が考えられた。

同じ漢方補腎剤である「八味地黄丸 (HJG) (= GJG から牛膝および車前子を除いた処方)」を用いた共同研究者の研究成果では、HJG による熱産生亢進とエネルギー代謝促進に伴う抗肥満作用が見出されつつある。さらに、研究代表者の研究において、HJG は GJG 同様に2型糖尿病のインスリン抵抗性 (インスリンシグナル障害) を改善することが判明した (未発表データ)。

GJG と HJG は「附子」を含む「附子剤」とされ、交感神経を介した脂質代謝亢進によって代謝性疾患に効果を発揮している可能性が考えられるが、附子を含まない漢方補腎剤である「六味丸 (RG) (= HJG から桂皮と附子を除いた処方)」の場合における抗肥満・抗糖尿病作用およびその機序は未解明のままである。

これらの報告より、「サルコペニア肥満の罹患を予防・治療するために、漢方補腎剤である GJG および RG は HJG 同様にエネルギー代謝亢進に伴う抗肥満作用およびそれに付随する代謝性疾患の改善に寄与できるのではないか」という新たな可能性が課題として挙げられ、漢方補腎剤のサルコペニア肥満およびそれによって惹起される多種の代謝性疾患予防および改善できれば、これら疾患に対する新薬開発に繋がられる。

2. 研究の目的

これらの背景を踏まえて、本研究では、GJG および RG が生体の熱産生を亢進し、エネルギー代謝を促進する作用を見出し、抗肥満作用およびその機序を検討することで、サルコペニア肥満による代謝性疾患の予防・治療に寄与するためのエビデンスを構築することを目的とする。

具体的には、

(1) HJG に「牛膝」および「車前子」が加わった GJG にフォーカスを当て、研究代表者および研究分担者の独自の研究成果を基として、抗肥満作用が見出されつつある HJG の研究成果を鑑みて、高齢者の代謝性疾患・サルコペニア肥満を予防・治療できる可能性を見出すこと。

(2) HJG から「附子」および「桂皮」が除かれた RG にフォーカスを当て、HJG の抗肥満作用に対して「附子」の交感神経興奮作用を介した作用機序が寄与する可能性を検討すること。

(3) 臨床で既に使用されている3種の漢方補腎剤に着目し、本来の作用とは別に、新たな作用点を見出すことで、容易に臨床研究に移行・応用できる「ドラッグリポジショニング」を達成すること。

これら3つの目的を掲げ、サルコペニア肥満とその罹患によって誘導される代謝性疾患の予防・治療に対する新たなアプローチを提案する。

3. 研究の方法

上記の目的を達成するために、以下の方法を試みた。

(1) 普通食、高脂肪食 (HFD) および HFD + 各漢方薬混餌を C57BL/6J マウスに8週間自由給餌し、毎週体重測定を行った。また、RG に関しては、インスリン負荷試験として、4時間絶食ののち、1U/kg インスリンを腹腔内投与し、投与前、投与後30分、60分、90分および120分における血糖値を測定した。加えて、RG に関しては、一昼夜絶食後、ピルビン酸負荷試験として、1g/kg のピルビン酸ナトリウムを腹腔内投与したのち、投与前、投与後30分、60分、90分および120分における血糖値を測定した。

(2) 8週後のマウスを安楽死後に解剖し、血清、肝および骨格筋を採取した。

(3) RG に関して、血清は血中レプチンおよびアディポネクチン濃度を ELISA 法で測定した。肝は RNA を抽出・精製し、リアルタイム PCR 法で糖新生 (PEPCK)・解糖系 (GK) に関わる遺伝子発現を定量した。GJG に関して、血清は血中レプチンおよび TNF α 濃度を ELISA 法で測定した。肝および骨格筋を用いて Folch 法の改変法に則って全脂質を抽出後に、各組織に含有されてい

る中性脂肪量をキット（酵素法）を用いて定量した。骨格筋は、RNA およびタンパク質を抽出したのち、筋萎縮に関わる遺伝子群、慢性炎症に関わる遺伝子群の発現およびシグナル伝達に関わるタンパク質の発現およびリン酸化の測定に供した。

（４）RG の研究では、骨格筋のインスリンシグナル伝達障害の程度を検討するため、マウスに生理食塩水もしくはインスリン（5U/kg）を投与し、タンパク質を抽出後、Akt リン酸化の程度を確認した。

4．研究成果

以下に、各研究方法から得られた結果を示した。

（１）HFD によって誘導された体重増加は、RG 投与によって有意な抑制は認められなかった。GJG に関しても同様で、HFD による体重増加を抑えることができなかった。一方で、インスリン負荷試験の結果、RG は HFD によって誘導されたインスリンによる血糖低下作用の障害を有意に改善し、インスリン抵抗性を改善したことが分かった。加えて、ピルビン酸負荷試験の結果、RG 投与は HFD によって誘導された過度な糖新生を抑制し、糖新生を正常化することが分かった。これらの結果より、RG および GJG には抗肥満作用が見いだせなかったが、RG は肥満によって誘導された代謝性疾患を改善できる可能性が示唆された。

（２）RG の血中レプチン濃度を測定したところ、HFD によって惹起された高レプチン血症を RG は正常にまで低下させた。血中アディポネクチン濃度は RG 投与によって有意に上昇し、HFD によって誘導されたインスリン抵抗性を改善するための機序の 1 つと考えられた。肝糖新生の律速酵素である PEPCK 遺伝子発現は、RG 投与で有意に低下し、肝解糖系の律速酵素である GK 遺伝子発現は RG 投与によって有意に上昇した。このことは、RG が肝糖代謝を制御し、血糖上昇を抑制している可能性が考えられた。

（３）GJG の血中レプチン濃度を測定した結果、RG 同様に HFD によって誘導された高レプチン血症を抑制した。炎症性サイトカインである血中 TNF α 濃度は HFD によって有意に上昇したが、GJG 投与によって制御できた。GJG に関しては HFD によって増加した肝および骨格筋中の含有中性脂肪量を有意に抑え、特に骨格筋では各炎症性サイトカインである IL-1 β および IL-6 の遺伝子発現も低下した。これらの結果は、GJG が HFD によって誘導された慢性炎症を抑制し、骨格筋における代謝機能を改善できる可能性が示唆された。骨格筋の筋萎縮誘導遺伝子である MuRF1 は GJG によってその発現が抑えられ、炎症性サイトカインによって誘導される細胞内シグナル伝達が低下したことから、おそらく、HFD によって惹起される骨格筋の萎縮を改善できる可能性も認められた。

（４）インスリン投与の結果、RG は HFD によって減少したインスリンシグナル伝達分子である Akt リン酸化を改善し、上記で示したように RG 投与が HFD によって惹起されたインスリン抵抗性を改善したことから、インスリン抵抗性改善作用の機序として、骨格筋におけるインスリンシグナル伝達の改善が示唆された。

（５）以上の結果は、RG が肥満に伴った代謝性疾患であるインスリン抵抗性を改善する能力を有していることを示唆しており、GJG は全身や特に骨格筋における慢性炎症を改善する結果、肥満に伴った骨格筋萎縮を有意に改善できることを示唆している。RG の結果は、HJG の結果と解釈を共に考えた場合、少なくとも桂皮もしくは附子が HJG の抗肥満作用の責任生薬であることが考えられ、今後この 2 種類の生薬での詳細な検討を行うヒントが得られた。GJG は高齢肥満マウスへの投与を行うことで今後、高齢者の骨格筋萎縮であるサルコペニアと肥満病態を併せ持った「サルコペニア肥満」の改善へ有用な方向性を示すことができた。

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 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kimura Ikuko, Kagawa Syota, Tsuneki Hiroshi, Tanaka Kaori, Nagashima Fumihiro	4. 巻 235
2. 論文標題 Multitasking bamboo leaf-derived compounds in prevention of infectious, inflammatory, atherosclerotic, metabolic, and neuropsychiatric diseases	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pharmacology & Therapeutics	6. 最初と最後の頁 108159 ~ 108159
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.pharmthera.2022.108159	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 Kagawa Syota, Tanabe Katsuya, Hiromura Makoto, Ogawa Kakuyou, Koga Takayuki, Maeda Takahiro, Amo-Shiinoki Kikuko, Ochi Hiroyuki, Ichiki Yui, Fukuyama Shogo, Suzuki Saori, Suizu Natsuki, Ohmine Takaaki, Hamachi Sakurako, Tsuneki Hiroshi, Okuya Shigeru, Sasaoka Toshiyasu, Tanizawa Yukio, Nagashima Fumihiro	4. 巻 14
2. 論文標題 Hachimijiogan, a traditional herbal medicine, modulates adipose cell function and ameliorates diet-induced obesity and insulin resistance in mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Pharmacology	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fphar.2023.1167934	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 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 香川正太、大嶺貴亮、濱地桜子、佐伯敦輝、田原青空、當山雄介、藤森大樹、長島史裕
2. 発表標題 漢方薬「六味丸」および「八味地黄丸」の肥満抑制作用への影響と各構成生薬の寄与について
3. 学会等名 第39回日本薬学会九州山口支部大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鈴木早織、香川正太、田部勝也、廣村 信、古賀貴之、椎木幾久子、水津菜月、大嶺貴亮、濱地桜子、奥屋 茂、木村郁子、谷澤幸生、長島史裕
2. 発表標題 八味地黄丸は個体における熱産生を亢進し、抗肥満作用を有する。
3. 学会等名 日本薬学会 第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 香川正太, 田部勝也, 廣村 信, 古賀貴之, 椎木幾久子, 鈴木早織, 水津菜月, 大嶺貴亮, 濱地桜子, 奥屋 茂, 木村郁子, 谷澤幸生, 長島史裕
2. 発表標題 八味地黄丸は熱産生を亢進し, 抗肥満作用を有する.
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 香川 正太, 田部 勝也, 廣村 信, 古賀 貴之, 椎木 幾久子, 鈴木 早織, 水津 菜月, 大嶺 貴亮, 濱地 桜子, 奥屋 茂, 木村 郁子, 谷澤 幸生, 長島 史裕
2. 発表標題 漢方薬「八味地黄丸」は熱産生作用および抗肥満作用を有する.
3. 学会等名 第38回日本薬学会九州山口支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤森大樹, 香川正太, 當山雄介, 明石羽菜, 横山真子, 長島史裕
2. 発表標題 漢方薬「六味丸」は肝糖代謝および骨格筋のインスリン感受性を制御することで、肥満に伴う耐糖能異常を改善する.
3. 学会等名 第40回日本薬学会九州山口支部大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 當山雄介, 香川正太, 藤森大樹, 明石羽菜, 横山真子, 小川鶴洋, 長島史裕
2. 発表標題 新規漢方処方「八味地黄丸去附子」の肥満および代謝性疾患改善効果の解明.
3. 学会等名 第40回日本薬学会九州山口支部大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 香川正太, 當山雄介, 藤森大樹, 明石羽菜, 横山真子, 小川鶴洋, 長島史裕
2. 発表標題 八味地黄丸の抗肥満作用に寄与する構成生薬の同定.
3. 学会等名 日本薬学会 第144年会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔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	香川 正太 (Kagawa Syota) (30463201)	第一薬科大学・薬学部・准教授 (37107)	

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