

## 生薬を基盤としたインスリン抵抗性改善天然化合物の探索

092A09 高木 三千代

天然薬物作用学講座

## 【背景・目的】

近年、世界的に肥満が増加しており、肥満が種々の疾患の基盤になっていることが広く知られるようになってきた。肥満、糖尿病、脂質代謝異常症、高血圧などが一個人に集積する状態をメタボリックシンドロームと呼び、このような患者は動脈硬化症に起因する心血管疾患と脳血管疾患のリスクが非常に高くなっている。メタボリックシンドロームでは肥満を基盤としたインスリン抵抗性が存在しており、その改善は極めて重要であると考えられる。インスリン抵抗性とは、インスリンが標的臓器である肝、骨格筋、脂肪組織などにおいて十分な作用を発現できない状態であり、生理的なインスリンシグナル伝達機構のいずれかの段階で障害が生ずることにより発症すると考えられている。

最近の研究により、インスリン抵抗性の背景に、アディポカインと総称される脂肪組織で発現し循環血中に分泌される生理活性物質の関与が明らかになってきた。Retinol binding protein 4 (RBP4) はこのようなアディポカインの1つであり、血中レベルとインスリン感受性が逆相関することが報告されている<sup>1,2)</sup>。RBP4は血中で甲状腺ホルモン輸送体のtransthyretin (TTR) と複合体を形成しており、複合体が解離すると糸球体濾過を受けて速やかに体外へ排泄される。機能的なRBP4は血中に存在しており、少量の末梢血で検出することができるため、インスリン抵抗性のマーカーとしても薬物治療のターゲットとしても適している。そこで、本研究では新たなインスリン抵抗性改善薬を開発するために、漢方処方に繁用される生薬を用いて、血清RBP4レベルを低下させる天然物の探索と有効性の検討を行った。

## 【方法】

『一般用漢方処方の手引き』に記載されている漢方方剤210処方主に主に配合されている生薬よりMeOH抽出エキスを調製した。In vitroスクリーニングは、2型糖尿病モデルであるdb/dbマウスの血清から抗RBP4抗体を用いてRBP4-TTR複合体を免疫沈降し、その複合体の解離に

及ぼすMeOH抽出エキスの効果をWestern blot法で解析することにより行った。また、in vivoスクリーニングは、生薬熱水抽出エキスをdb/dbマウスに胃内強制投与し、血清RBP4レベルの低下作用をWestern blot法で解析することにより行った。さらに、db/dbマウスに熱水抽出エキスを経口投与し、インスリン抵抗性改善作用を検討した。

## 【結果】

In vitroスクリーニング系において、RBP4-TTR複合体に90種類の生薬MeOHエキス1 mg/mLを25℃で1時間反応させた結果、オウバク、ゴミシ、サンソウニン、チクジョ、ニンドウに再現性よく比較的強いRBP4-TTR複合体の解離活性が認められた。次に、in vitroスクリーニングにおいて何らかの活性が見られた16種類の生薬の熱水抽出エキスを1 g/kgの用量で胃内強制投与し、投与前と投与2時間後の血清RBP4レベルの変化を解析した。その結果、レンギョウに血清RBP4レベルの著しい低下作用が認められた。そこで、レンギョウのin vivoでのインスリン抵抗性改善作用を検討するために、db/dbマウス(オス、14週齢)にレンギョウ熱水抽出エキスを4週間自由飲水投与した。経日的に血清マーカーを測定したところ、レンギョウは血清RBP4レベル、血清トリグリセリド(TG)値を有意に低下させ、4週目において精巣周囲脂肪重量を有意に低下させた。しかし、空腹時血糖値、経口ブドウ糖負荷試験(OGTT)の結果から、耐糖能異常に影響は見られなかった。

## 【考察】

In vitroのアッセイ系で強い活性が見られた5つの生薬について、現在のところインスリン抵抗性改善作用あるいは血糖降下作用に関する報告はない。また、これまでに報告されている成分を検索してみると、5つの生薬全てに共通する成分はなく、複数の生薬に共通して含まれる成分としてフラボノイドとイリドイドがある。フラボノイドより生合成されるアントシアニジンはRBP4を低

下させることが報告されており<sup>3)</sup>、また、イリドイドは retinoic acid receptor (RAR) のアゴニスト活性を持つとの報告があり、レチノイド様の作用を持つ可能性が考えられる。一方、*in vivo*のアッセイ系においてレンギョウが著しい血清RBP4低下活性を示した。さらに、レンギョウ熱水抽出エキスの長期投与により、血清RBP4レベル、脂肪重量、血清TG値が低下したことから、レンギョウは血清RBP4レベルを低下させることにより、脂肪組織や他の臓器（肝、骨格筋）での脂質の代謝を改善している可能性が示唆された。しかし、レンギョウ熱水抽出エキスは*db/db*マウスの空腹時血糖値やインスリン抵抗性の指標であるOGTTの結果に影響を与えず、今回使用した実験系ではインスリン抵抗性の改善作用を示さなかった。本研究では既に過度の肥満に至った高齢のマウスにレンギョウを長期投与したため、重度に進行したインスリン抵抗性を改善することができなかった可能性が考えられる。

#### 【今後の展望】

現在、*in vitro*及び*in vivo*スクリーニング系でRBP4-TTR複合体の解離活性を示した生薬の抽出エキスより、活性成分の単離を進めている。今後、単離された天然物の構造活性相関を検討するとともに、レンギョウ及び活性成分のRBP4低下作用と、糖、脂質代謝に及ぼす作用及びインスリン抵抗性改善作用の関係を詳細に検討していく必要がある。さらに、これらの結果を基にインスリン抵抗性改善作用を有する新規漢方処方の開発を試みたい。

#### 【文献】

- 1) Nature, 436, 356-362 (2005),
- 2) Am J Physiol Endocrinol Metab., 294, E785-E793 (2008),
- 3) Biochem Pharmacol. 74(11), 1619-27 (2007),