

抗肥満性ホルモン FGF21 に作用する天然物の探索と 生活習慣病予防への応用

研究代表者：平居貴生（医療生命薬学研究ユニット）

【背景と目的】

健康長寿社会の実現に向けて、国民の健康寿命の延伸が必要不可欠である。特に、食生活の変化に伴って、肥満とそれに基づくメタボリックシンドロームの患者の増加が深刻な社会問題になっているのが現状である。すなわち、肥満あるいはメタボリックシンドロームの原因の解明と根本的な予防法や治療法の確立が極めて重要である。一方、近年、生活習慣病改善能を有するホルモンとして Fibroblast growth factor 21 (FGF21) が同定され、その機能的役割が明らかになりつつある。これまでの研究成果から、FGF21 は肥満や脂質異常症、あるいは糖尿病にも効果があることが示され、特に、FGF21 アナログ製剤は、マウス実験においてアディポネクチンを介した作用により肥満や脂質異常症、あるいは糖尿病の治療に有効である可能性が示唆されている。しかしながら、ヒトを対象とした臨床研究の成果では、糖尿病に対する FGF21 アナログ製剤の治療効果を確認することができないなど、克服すべき問題点も多い (*Cell Metabolism* 23, 427-440, 2016)。したがって、本研究では、生活習慣病予防に寄与する天然物の探索を目的に、FGF21 発現を制御する天然物の探索によって、FGF21 を標的とした生活習慣病の予防・治療薬の創出と新しい治療理論の構築による健康長寿社会の実現に寄与することを目的とした。

【方法】

褐色脂肪組織 (BAT) は熱産生を行い、体温の維持や代謝の制御に関与することから、肥満・生活習慣病の治療標的として関心が高まっている。

BAT は熱産生を行い、体温の維持や代謝の制御に関与することから、肥満・生活習慣病の治療標的として関心が高まっている。本研究では、C3H10T1/2 褐色脂肪様細胞、及び初代培養褐色脂肪様細胞を用いて、FGF21 産生を増強する生薬抽出物のスクリーニングを試みた。各生薬抽出物を添加後 20 時間における培養液を回収した後、ELISA を用いて培養液中の FGF21 を測定した。C3H10T1/2 褐色脂肪様細胞における *Fgf21* mRNA 発現量はリアルタイム PCR 法を用いて測定した。

【結果・考察】

漢方方剤常用生薬エキス 88 種類の生薬エキスを用いたスクリーニングの結果、C3H10T1/2 褐色脂肪様細胞において FGF21 産生を 2 倍以上増強する 6 種類の生薬エキスを見出した。高い活性を示したオウレン、オウバクに着目した結果、主要成分である berberine は C3H10T1/2 褐色脂肪様細胞における FGF21 産生を濃度依存的に増強した。また、C3H10T1/2 褐色脂肪様細胞、及び初代培養褐色脂肪細胞における *Fgf21* mRNA の変動を検討した結果、berberine 刺激後 6 時間目における *Fgf21* mRNA 発現量の有意な増加が確認された。さらに、berberine 刺激による *Fgf21* mRNA 発現増加は、AMP 活性化プロテインキナーゼ (AMPK) 阻害剤 Compound C によって有意に抑制された。以上の結果より、褐色脂肪様細胞における FGF21 発現増加には AMPK 経路の活性化が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

近年、体内時計の変調と生活習慣病の間には関連性があることが明らかになりつつある。一方、

FGF21 は時計遺伝子 Rev-erb α 及び Nfil3/E4BP4 などによって制御される時計制御遺伝子であることが既に知られている。したがって、berberine による FGF21 発現制御における概日時計制御系の関与の可能性について検討した。

高脂肪食摂取肥満マウスにおける時計遺伝子 brain-muscle ARNT-like protein 1 (Bmal1)、period2 (Per2)の遺伝子発現を解析した結果、高脂肪食摂取肥満マウスから摘出した BAT の Bmal1 と Per2 の遺伝子発現の変動と Fgf21 mRNA 発現量の有意な減少が確認された。一方、高脂肪食摂取肥満マウスに対して berberine (5 mg/kg/日) を 4 週間投与した場合、高脂肪食摂取による体重の増加は、berberine 投与によって有意に抑制されることを確認した。同時に、高脂肪食摂取肥満マウスに対する berberine 投与による遺伝子発現への影響について解析した結果、BAT の Fgf21、Ucp1、および Bmal1 遺伝子発現は、berberine 投与によって対照群に比して有意に増加することが判明した。

以上の結果より、berberine の抗肥満効果には BAT における FGF21 の発現増加が関与する可能性が示唆された。また、berberine による FGF21 発現制御には時計遺伝子 Bmal1 が重要な役割を果たしている可能性が示唆される。細胞レベルおよび個体レベルの両面から FGF21 発現制御機構を明らかにする本研究が FGF21 を標的とした生活習慣病に対する創薬に向けた一助となることを期待したい。また、将来的には生活習慣病だけでなく、FGF21 を標的とした各種疾患に対する新規治療薬創出の可能性について検討したい。

【謝辞】

愛知学院大学医療生命薬学研究所医療生命薬学助成により、本研究を実施できましたことに感謝申し上げます。

【成果発表】

論文発表

1. Takao Hirai, Michiyo Takagi, Ken-ichi Nakashima, Makoto Inoue, *YAKUGAKU ZASSHI -Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 139(6), 861–865 (2019).
2. Takao Hirai, Kohei Nomura, Rie Ikai, Ken-ichi Nakashima, Makoto Inoue, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 109, 503–510 (2019).
3. Takao Hirai, Yuhei Mitani, Karen Kurumisawa, Kohei Nomura, Michiyo Takagi, Wei Wang, Ken-ichi Nakashima, Makoto Inoue, *Biochemical Pharmacology*, 164, 165-176 (2019).

学会発表

1. Kohei Nomura, Takao Hirai, Ken-ichi Nakashima, Makoto Inoue : Baicalein regulates FGF21 expression through ROR α -mediated transcriptional activity, 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (WCP2018), 2018年7月 (Kyoto)
2. Yuhei Mitani, Takao Hirai, Michiyo Takagi, Ken-ichi Nakashima, Makoto Inoue : Berberine stimulates FGF21 expression via activation of AMP-activated protein kinase in brown and beige adipocytes, 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (WCP2018), 2018年7月 (Kyoto)
3. 胡桃澤香蓮, 平居貴生, 三谷侑平, 高木三千代, 野村康平, 中島健一, 井上 誠 : 代謝調節因子 FGF21 を制御する天然物の探索, 第 35 回和漢医薬学会学術大会, 2018年9月 (岐阜)
4. 野村康平, 平居貴生, 三谷侑平, 胡桃澤香蓮, 中島健一, 井上 誠 : Baicalein による代謝調節因子 Fibroblast Growth Factor 21 の制御には ROR α が関与する, 第35回和漢医薬学会学術大会, 2018年9月 (岐阜)
5. 平居貴生, 中島健一, 井上 誠 : Fibroblast growth factor 21 を制御する天然物の概日時計制御系への影響, 第 36 回和漢医薬学会学術大会, 2019年9月 (富山)