

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
総括研究報告書

研究課題：漢方薬によるメタボリック症候群の病態基盤「自然炎症」の制御

研究代表者 丸山 征郎 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科・特任教授

研究要旨

メタボリック症候群の病態の基盤には“自然炎症”が存在すること、そしてこの自然炎症こそが、メタボリック症候群の臓器合併症（動脈硬化・血栓症、腎症など）の原因であることが解明されてきて、“自然炎症の発症機構とその制御”は緊急の課題となってきた。本研究では、メタボリック症候群で、自然炎症が惹起される仕組み、自然炎症を制御する手段として、伝統的に東洋で使われてきている漢方薬、あるいは植物、食品を選び、漢方薬構成生薬の抗自然炎症活性を吟味して、その作用機序を調べた。そして、これらの結果を踏まえ、自然炎症制御薬としての漢方薬、生薬、食品、などの可能性を検証した。

研究分担者 丸山 征郎 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科・特任教授
研究分担者 伊藤 隆史 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科・特任講師
研究分担者 川原 幸一 大阪工業大学生命工学科・教授
研究分担者 橋口 照人 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科・教授
研究分担者 大山 陽子 鹿児島大学医学部歯学部附属病院検査部・特任助教

A．研究目的

「過剰な炎症」の制御は、生物学的製剤、具体的には TNF，IL-6，IL-1 など炎症性サイトカインとその受容体に対する抗体や阻害剤の開発で可能となって来つつある。しかしメタボリック症候群の病態基盤をなす自然炎症（parainflammation）は、慢性、緩徐に進行し、動脈や腎などを標的として、動脈硬化・血栓症、腎症などを引き起こすので、上記生物学的治療の標的とならず、新しいストラテジーによる新規治療法が開発が求められている。そこでその手段の一つとして、申請者らは、生薬による自然炎症の制御の可能性について研究することを目的として研究を重ねてきた。

B．研究方法

1．生薬、食品中の抗自然炎症活性の検証

1) 精製 1,5-AF（生薬：遠志中に含まれている）の抗炎症活性を培養細胞とマウスを使った実験で行った。

in vitro 試験：培養ラット腹腔マクロファージを各種濃度の 1,5-AF 存在下で、エン

ドトキシン（LPS）と ATP，あるいはその他の DAMPs/PAMPs で刺激し、上清中の IL-1，TNF，HMGB1 を ELISA で測定した。

in vivo 実験：LPS 腹腔内投与前後で、1,5-AF を同じく腹腔内投与して生存率を調べた。

2) 1,5-AF の抗炎症活性の作用メカニズムの解析：1,5-AF に抗炎症活性を *in vitro*，*in vivo* 双方で認めたので、その分子機序を明らかにする目的で、免疫プロット法でインフラマソームの挙動を解析した。

2．食品中の自然炎症惹起分子の同定とその炎症惹起の分子細胞機構

1) 各種日本産イチゴの素分画、HPLC で高度に分画した成分について、その血小板活性化抑制作用、H0-1 発現誘導活性を調べた。血小板は周知のごとく、炎症性プロスタグランジン産生細胞であるからである。

2) 食品によるメタボリック症候群の発症機構を明らかにする目的で、パルミチン酸の pro-inflammatory，pro-coagulant 活性

とその分子細胞機構について解析した。

- 3 .血管代謝系と糖代謝のクロストークの研究
炎症の慢性化を血管 血管新生因子 糖代
アデニン投与による慢性腎不全ラットを作
製し、五苓散の効果とその分子細胞機構に
ついて解析した。

(倫理面への配慮)

すべての実験は学内倫理委員会の認可のも
と施行した。

C . 研究結果

- 1 . 遠志に含まれる 1,5-AF には抗炎症活性が
あり、それは 1,5-AF のインフラマソーム抑制
による。

in vitro, *in vivo* 双方の実験系で 1,5-AF に
は抗炎症活性があることを証明した。これは
1,5-AF によるインフラマソーム活性の抑制の
結果であること証明しえた。また 1,5-AF はエ
ンドトキシンによる敗血症モデルマウスにお
いて、救命的效果を示すとともに、多臓器不全
を軽減した。

- 2 .すでにイチゴ中に発見していた抗血小板活
性に加えて、H0-1 誘導活性の存在を発見した。
誘導された H0-1 は各種ラディカル、酸化スト
レス活性を発揮するもの考えられる。

- 3 .食品中のメタボリック症候群惹起分子の同
定とその作用の解析

高脂肪食は内臓脂肪蓄積を介して、動脈硬
化・血栓症を引き起こすことは周知であるが、
今回の研究では、パルミチン酸が直接マクロフ
ージ系細胞に TLR-2 を介して作用し、ヒス
トンや HMGB-1, 組織因子の発現を引き起こす
ことを照明した。これはパルミチン酸が内臓肥
満というステップを経ずに、直接炎症や血栓症
をひき起こすことを示すものと考えられた。

- 4 . 五苓散の抗炎症活性

先に申請者らは、アデニン投与腎不全ラット
の作製に成功しているが、このラットに五苓散
を投与してその活性を検討した。結果、五苓散
は腎炎の軽減化(組織像, HMGB1 蓄積、尿量、
尿中ラディカル排泄など)の傾向が観られた。

また、腎組織中の HMGB1 を解析したところ、よ
り活性の弱い部分酸化型があることを観察し
た。

D . 考察

メタボリック症候群の病態の基盤をなすの
は、緩徐なしかし持続する炎症であることは明
らかになっている。この炎症は古典的な紅腫熱
疼を伴う急性炎症とは異なり、内皮細胞や上皮
細胞を炎症の場とし、紅腫熱疼ではなく、バリ
アーの障害、線維芽細胞の遊走や、HMGB1 やヒ
ストンなど DAMPs の産生・放出を主体とした緩
徐な炎症であることから、自然炎症とも呼ばれ
る。この自然炎症は、急性の古典的な炎症とは
異なり、いわゆる生物学的製剤の対象とはなら
ず、新規の治療法が待たれている。その理由は、
生物学的製剤が高価で、注射薬であること、感
染症などの重篤な副作用をも来たす危険性が
あるからである。

これらのことから我々は、自然炎症に対し、
伝統的な漢方薬で対処する可能性を模索した。
結果、遠志に抗炎症活性があること、それは遠
志中の 1,5-AF によることを見出した。そ
の細胞分子機構として、1,5-AF がインフ
ラマソーム阻害に基づくものであることを見
出した。

またイチゴのなかにも H0-1 の誘導を引き起
こす作用があり、これによって、ラディカル制
御活性を発現することも証明しえた。この本態
分子は現在分離中である。

さらにメタボリック症候群の中心病態であ
る血栓傾向、炎症傾向を、内臓脂肪蓄積を介せ
ず、直接脂肪分のなかのパルミチン酸が引き起
こすことを明らかにしたが、これはメタボリ
ック症候群発症機構の新側面を明らかにした
ものと考えられる。

自然炎症をコントロールしうる薬剤として
漢方薬中の五苓散に着目して検討したところ、
本漢方薬がアデニン誘発実験腎炎において、確
かに腎臓の炎症を軽減すること、それは腎組織
中のラディカル消去、HMGB1 の蓄積軽減な
ど、HMGB1 の量的、質的作用(分子修飾、
すなわち部分酸化型)のよることを明らかにし
たが、これは今後の生薬中の抗炎症活性を評価
する際の大きな視点になるものと考えられる。

また ectopic な部位と細胞からの VEGF-A がラ氏島外の ectopic な部位の細胞からのインスリン分泌性に作用することを見出したが、その病理的ないし治療標的としての意義は今後の問題であろう。

E . 結論

緩徐進行性の自然炎症の治療方策の一つとして食品や生薬は十分に評価に耐える可能性があることが示された。

特に遠志中の 1,5-AF の抗炎症活性の発見とその標的の解明は、今後に大きな期待を抱かせるものといえる。また食品中のパルミチン酸が DAMPs として作用する可能性を指摘したが、これはメタボリック症候群を防ぐ、あるいは回避するという食生活という視点からも、重要な発見であった。一方、メタボリック症候群で発生するラディカルを食品や漢方薬で制御しうる可能性とその展望が見えてきた。

F . 健康危険情報

特になし。

G . 研究発表

1. 論文発表

Shrestha C, Ito T, Kawahara KI, Shrestha B, Yamakuchi M, Hashiguchi T, Maruyama I: Saturated fatty acid palmitate induces extracellular release of histone H3: A possible mechanistic basis for high-fat diet-induced inflammation and thrombosis. *Biochem Biophys Res Commun*, 437, 573-578, 2013.

Sarikaphuti A, Nararatwanchai T, Hashiguchi T, Ito T, Thaworanunta S, Kikuchi K, Oyama Y, Maruyama I, Tancharoen S: Preventive effects of *Morus alba* L. anthocyanins on diabetes in Zucker diabetic fatty rats. *Exp Ther Med*, 6, 689-695, 2013.

丸山 征郎「炎症のトポロジーへの血球関与のスペクトラム」別冊 BIO Clinica 慢性炎症と疾患、丸山 征郎 編集、北隆館、9-13 頁、2013 年

伊藤 隆史「PAMPs /DAMPs のセンサー細胞としてのマクロファージ・樹状細胞」別冊 BIO Clinica 慢性炎症と疾患、丸山 征郎 編集、北隆館、84-89 頁、2013 年

Takenouchi K, Shrestha B, Yamakuchi M, Yoshinaga N, Arimura N, Kawaguchi H, Nagasato T, Feil R, Kawahara KI, Sakamoto T, Maruyama I, Hashiguchi T: Upregulation of non-Cell-derived Vascular Endothelial Growth Factor A Increases Small Clusters of Insulin producing Cells in the Pancreas. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 2014. in press

伊藤 隆史「メタボリックストレスと自然炎症」*Thrombosis Medicine*、第 4 巻、第 2 号、52-55 頁、2014 年

丸山 征郎「東洋医学における血管観」*血管医学*、第 15 巻、第 1 号、87-91 頁、2014 年

丸山 征郎「生体のシステムから見た漢方の有効性とその作用機序」*日本東洋医学会専門医学会誌 (DVD)*、2014 年

丸山 征郎「より大いなるヒトの生存の原理と戦略を俯瞰する - 漢方薬の論理と効果 - 」*Kampo Square*, 2014 年 印刷中

2. 学会発表

伊藤 隆史、第 36 回 日本血栓止血学会学術集会にて発表予定(平成 26 年 5 月 29 ~ 31 日)

大山 陽子、第 65 回 日本東洋医学会学術集会総会にて発表予定(平成 26 年 6 月 27 ~ 29 日)

H . 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

1, 5 - AF の抗炎症性に関しては国内、国外出願中

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし