



Nagoya City University Academic Repository

学位の種類	博士（薬科学）
報告番号	甲第1647号
学位記番号	第330号
氏名	高 勝莉
授与年月日	平成 30年 3月 26日
学位論文の題名	生薬・漢方薬成分のグルコーストランスポーターに対する作用
論文審査担当者	主査： 樋口 恒彦 副査： 牧野 利明, 湯浅 博昭, 尾関 哲也

氏名	こうしょうり 高 勝莉
学位の種類	博士（薬科学）
学位の番号	薬博第 330 号
学位授与の日付	平成 30 年 3 月 26 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	生薬・漢方薬成分のグルコーストランスポーターに対する作用
論文審査委員	(主査) 教授 樋口 恒彦 (副査) 教授 牧野 利明・教授 湯浅 博昭・教授 尾関 哲也

論文内容の要旨

生薬・漢方薬には、さまざまな天然由来化合物が配糖体として存在している。このような配糖体は、腸内細菌が持つβグルコシダーゼ等の酵素により糖部が加水分解された後、アグリコンとして吸収され、血液中に移行すると考えられていた。しかし近年では、血液中から配糖体そのままの分子構造でも吸収されるメカニズムの存在が推測され、その1つとして、グルコーストランスポーターを介して消化管上皮細胞膜を透過する可能性が示唆されている。

また、もし配糖体がグルコーストランスポーターにより消化管管腔内から上皮細胞内へ栄養素トランスポーターを介して移行するならば、その際に消化管内に存在するグルコース等の本来の基質と競合することから、生薬・漢方薬の作用として、メタボリックシンドローム患者などにおける糖尿病や肥満の抑制に関連する可能性が考えられる。

そこで本研究では、代表的な生薬である人参（ウコギ科 *Panax ginseng* の根）に含まれる ginsenoside 類などの配糖体が、消化管上皮細胞刷子縁膜側に多く発現している SGLT1 を介して輸送される可能性と、本来の基質であるグルコースの輸送を阻害作用について、またメタボリックシンドロームの予防のために使用される漢方薬である防風通聖散のフルクトースの吸収に関わる GLUT5 阻害作用とその有効成分に関する研究を行った。

1. 人参およびギンセノシド類の SGLT1 に対する作用

ヒト小腸 cDNA ライブラリーより、SGLT1 をコードする cDNA をクローニングし、哺乳類細胞用発現ベクター pCI-neo に組み込んだ。それを HEK293 細胞へリポフェクション法により導入して一過性に発現させた細胞に、¹⁴C methyl glucose を作用させた後、取り込まれた放射能を測定した。ニンジン熱水抽出エキスは濃度依存的に SGLT1 の機能を阻害した。次に、ニンジン熱水抽出エキスに含まれる SGLT1 阻害活性成分の探索を試み、ginsenoside 類を含む画分に活性があることを見いだした。そこで、各種 ginsenoside 類を 50 μM の濃度で SGLT1 阻害活性を評価したところ、ginsenoside Rd、Rg₃、F₂、Rh₂ および Compound K は SGLT1 に対する有意な阻害活性が認められた。Ginsenoside Rd、Rg₃、F₂、Rh₂ および Compound K は濃度依存的に SGLT1 を阻害し、ginsenoside F₂ が最も強い阻害作用を示した。

比較的強い SGLT1 阻害作用を示した ginsenoside F₂ と compound K は、SGLT1 の基質であるグルコースと競合した可能性がある。そこで、ginsenoside F₂ と compound K それぞれを SGLT1 導入 HEK293 細胞に作用させ、細胞内に取りこまれた量を LC/MS/MS で測定したが、mock 細胞および SGLT1 を導入した細胞の間で差が認められなかったことから、Compound K と ginsenoside F₂ は、SGLT1 の基質にはなっていないことが示された。

2. 防風通聖散の GLUT5 に対する作用

防風通聖散は、高血圧や肥満に伴う動悸・肩こり・のぼせ・むくみ・便秘、蓄膿症（副鼻腔炎）、湿疹・皮膚炎、ふきでもの（にきび）、肥満症の効能を持つ漢方薬であり、メタボリックシンドロームの予防のために汎用されている。

フルクトースはコーンシロップに多く含まれ、それを用いた清涼飲料水の飲用が子供の肥満増加の原因と考えられている。小腸でフルクトースの吸収を担う GLUT5 は、肥満症治療薬の作用のターゲットとなりうることから、防風通聖散の GLUT5 の機能に対する作用と、その有効性に寄与する生薬、活性成分の単離を目的とした研究を行った。

CHO-K1 細胞にヒト GLUT5 を安定発現させた細胞に、 $[^{14}\text{C}]$ fructose と各種サンプルを作用させ、細胞に取り込まれた放射能を測定した。防風通聖散エキスは、濃度依存的なフルクトースの取り込みの阻害した。

次に防風通聖散に含まれる 18 種類の生薬のうち、鉱物由来の生薬を除いた 15 種類の生薬について熱水抽出エキスを調製し、各エキス（500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）の GLUT5 阻害活性を検討した。その結果、白朮、川芎、山梔子、薄荷葉、生姜、防風、大黃、白朮、桔梗の各エキスが有意に GLUT5 に阻害した。それらのうち、p 値が 0.1%未満であった 5 種の生薬の各エキスについて、濃度依存性を確認し、防風、薄荷、桔梗、生姜、山梔子はそれぞれ用量依存的に GLUT5 阻害活性を示した。

そこで、活性の強かった防風、桔梗、生姜の各エキスから、活性を担う有効成分の探索を行ったが、防風と桔梗については活性が各分画物で分散してしまい、活性成分の探索は困難であった。生姜については、日本薬局方で指標成分として規定されている 6-gingerol に活性を認め、 IC_{50} は 39 μM であった。

防風通聖散の抗肥満作用のメカニズムとして消化管上皮細胞における GLUT5 阻害によるフルクトースの吸収抑制が寄与している可能性が示唆され、その有効成分として生姜に含まれる 6-gingerol を同定した。生姜はショウガ科 *Zingiber officinale* の根茎を基原とし、食用としても汎用されていることから、今後の機能性食品としての開発も期待される。

論文審査の結果の要旨

本論文は、消化管上皮細胞でグルコースの吸収に関わっているナトリウム依存性グルコーストランスポーター (SGLT) 1 に対する人参およびその含有成分ギンセノシド類の阻害作用、フルクトースの吸収に関わっているナトリウム非依存性グルコーストランスポーター (GLUT) 5 に対する漢方薬、防風通聖散の作用を評価したものである。これらの研究成果は、人参の抗糖尿病作用、防風通聖散の抗肥満作用の作用機序の一部を説明するものであり、一定の評価が得られる研究成果である。以上の点から、本論文は、博士（薬科学）の学位を授与するに値する。