

メタボリック症候群関連肝疾患モデル動物を用いた和漢薬・機能的 食品の効果解析と臨床への展開

富山大学医学薬学研究部 病理診断学
准教授 常山幸一

【はじめに：メタボリック症候群関連肝疾患とは】

メタボリック症候群は肥満を契機に、糖尿病や高脂血症、動脈硬化等の全身疾患を次々に惹起する難治性疾患であり、その肝臓での表現形は非アルコール性脂肪性肝障害 (Non-alcoholic fatty liver disease :NAFLD) と呼ばれる。日本における NAFLD 患者数は2千万人を超えるともいわれており、その 10-20%は重篤型である非アルコール性脂肪性肝炎 (Non-alcoholic steatohepatitis: NASH) と推定されている。NASH は進行性、不可逆性疾患であり、無症状のうちに肝硬変や肝臓に進展する症例も多く、有効な予防、治療法の確立が世界的な急務となっている。

【新しい NAFLD モデル動物の開発】

NAFLD モデル動物としては、従来より、コリン・メチオニン欠乏食誘導モデルや、高脂肪食誘導モデル、*ob/ob* マウスや *db/db* マウス、脂質代謝関連遺伝子改変マウス、などが用いられている。しかしながら、ヒト同様の経過でメタボリック症候群の諸症状を背景に肝病変をきたすモデルは少なく、また、病態も重篤で和漢薬や天然薬物などの緩徐な効果を解析するには不向きなものが多い。我々は新たな NAFLD/NASH モデル動物の探索・開発を試み、現在まで下記の6種類のモデル動物を新しい NAFLD 解析モデルとして報告した。

高コレステロール食投与ウサギ (#1)、高脂肪食 SD ラット、ガレクチン3欠損マウス、SHR/NDmcr-cp ラット、MSG マウス (#2)、TSOD マウス

このうち、MSG マウスは、生後すぐに体重 (g) あたり 4mg の MSG (グルタミン酸ナトリウム) を1回皮下投与して作成する簡便な誘導モデルである。MSG マウスは通常の飼育条件で、2-3ヶ月齢以降、肥満、2型糖尿病、高脂血症を次々に発症し、5ヶ月齢以降 NASH を発症する。病態はメスよりもオスのほうが重篤であり、12ヶ月齢では高頻度 (80%以上) に肝腫瘍を発症する。MSG マウスは、①ヒトに近い経過で緩やかに病態が進行する、②データのばらつき (個体差) が少ない、③マウス標準食で飼育するため、各種薬剤の混餌投与が可能である、④肝病変の程度を、ヒト NASH scoring system に準じて点数化して比較できる、⑤肝臓以外のメタボリック症候群の諸症状 (肥満、糖尿病、高脂血症) の改善効果も併せて検討できる、⑥予期せぬ肝病変の出現 (薬剤性肝障害) をスクリーニングできる、など多くのアドバンテージを有している。

【モデル動物を用いた和漢薬・生薬、機能性食品の効果解析】

① 桂枝茯苓丸

高コレステロール食投与ウサギモデルを用いて、各種和漢薬（桂枝茯苓丸、黄蓮解毒湯、小柴胡湯）の効果を検討した。その結果、桂枝茯苓丸は、西洋薬であるピオグリタゾンに匹敵する程度に脂質代謝の改善、酸化ストレスの改善、肝線維化の進展抑制を示すことがわかった（#3）。

② 紅麹

漢方薬の一つである紅麹は、米に *Monascus purpureus* を植菌・培養して作製される発酵製品である。紅麹には、MHG-CoA 還元酵素阻害剤であるモノコリンKが含有されており、血清コレステロールや中性脂肪を低下させる事が知られているが、モノコリンK以外の構成成分について検討された報告はない。我々はグンゼ（株）より供与を受けたモノコリンKの含有量が違う2種類の紅麹について、MSG マウスを用いて有効性を検討した。紅麹はモノコリンKの多寡に関わらず、体重増加抑制効果、内臓脂肪の炎症抑制効果、インスリン抵抗性改善効果、脂質関連因子改善効果を示し、NAFLDへの進展も抑制していた。さらに、モノコリンK低含有紅麹では有意に血清アディポネクチンが上昇していた。以上の結果から、紅麹中には、モノコリンK以外にもメタボリック症候群の諸病変に対する有効成分が含まれていると考えられた（#5）。

③ スピルリナ/フィコシアニン

スピルリナはカロテノイド、ビタミンE、フィコシアニン、クロロフィルなどを高率に含有する藻類の一種であり、抗酸化作用や肝庇護作用が報告されている。我々は、スピルリナ、及びスピルリナ含有量に相当するフィコシアニンについて、MSG マウスを用いて検討した。スピルリナは体重増加抑制効果、インスリン抵抗性改善効果、脂質関連因子改善効果を示し、NAFLDへの進展も抑制していた。フィコシアニンの効果は、スピルリナ群と対照群の中間程度であったが、フィコシアニン群でのみアディポネクチンの増加が認められた（#6）。

④ 動物由来ペプチド

ヘモグロビンのプロテアーゼ分解物であるグロビン蛋白分解物（GD）は、体重減少効果、血糖低下効果、脂質代謝改善効果を示す機能性食品であり、有効成分の一つとして、テトラペプチド（Val-Val-Tyr-Pro）が同定されている。我々はMGファーマ（株）と共同で、MSG マウスを用いてGDの効果を検討しており、16週齢の時点でNASHの進展抑制効果を確認している。

【和漢薬・生薬、機能性食品の臨床への展開をめざして】

1) Retrospective study の試み

過去に桂枝茯苓丸を肝疾患以外の目的（肩こりの改善、など）で8-12週間投与された症例について、レトロスペクティブに解析した。その結果、元来NAFLDではない患者においては、肝トランスアミナーゼ値も血清脂質も変化が認められなかったのに対し、NAFLDと考えられた症例においては、肝トランスアミナーゼ値や血清脂質の有意な改善が認められた（#4）。

2) 前向き研究のデザイン

台湾長庚紀念病院中医部内科ではすでに台湾製の紅麴が臨床に広く使われている。そこで、グンゼ(株)から供与を受けたモノコリン高含有紅麴とモノコリン低含有紅麴を用い、高脂血症-NASH患者を対象に紅麴の臨床試験を進行中である(平成22年度台湾交流協会の研究助成)。

中国においてもNASH患者が急増しており、その対応が喫緊の課題となっている。我々は北京大学人民医院消化器内科や中国の主要病院、研究施設がすすめているNASHに対する臨床病理学的研究ネットワークに参画し、中国のNASH研究者、臨床医と交流を深めている。現在、MGファーマ(株)が計画するGDの臨床研究が、上海交通大学内科、中国科学技術大学免疫研究所、浙江大学等を結んで展開されている。

【まとめ】

和漢薬や機能性食品は、安全、安価に長期間継続的な摂取が可能なものが多く、メタボリック症候群の治療、予防のサポートとして適性が高い素材である。すぐれた動物モデルを用いて、ヒトへの有効性をシミュレートすると同時に、実際の臨床展開を視野に入れた、迅速な臨床研究の計画・実施が必要である。

文献・学会発表資料

1. Cholesterol-fed rabbit as a unique model of nonalcoholic, nonobese, non-insulin-resistant fatty liver disease with characteristic fibrosis. *J Gastroenterol.* 2006 Oct;41(10):971-80.
2. Monosodium glutamate (MSG): a villain and promoter of liver inflammation and dysplasia. *J Autoimmun.* 2008 Feb-Mar;30(1-2):42-50.
3. Evidence-based efficacy of Kampo formulas in a model of non alcoholic fatty liver. *Exp Biol Med (Maywood).* 2008 Mar;233(3):328-37.
4. The traditional Japanese formula keishibukuryogan reduces liver injury and inflammation in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Ann NY Acad Sci.* 2010 Mar;1190(1):151-8.
5. Monacolin K and other constituents of red yeast rice are effective against obesity, insulin-resistance, hyperlipidemia, and nonalcoholic steatohepatitis in a mouse model of NAFLD associated with metabolic syndrome. APASL, 2010, Beijing (top 10% poster award)
6. *Spirulina* and its constituent phycocyanin improve visceral fat macrophage aggregation, serum adiponectin level, and steatohepatitis in a mouse model of NAFLD associated with metabolic syndrome. APASL, 2010, Beijing (top 10% poster award)

略歴

常山 幸一 (つねやま こういち) ktsune@med.u-toyama.ac.jp

学歴

1992年3月 金沢大学医学部卒業
1996年9月 金沢大学大学院医学研究科博士課程修了(医学博士)
1992-1995年 カリフォルニア大学デービス校内科学留学

職歴

1996-1997 富山市民病院臨床研究検査部病理科 医師
1998-2002 金沢大学病理学第二講座 助手
2002-2004 富山医科薬科大学附属病院病理部助教授
2004-現在 富山医科薬科大学病理学第一講座助教授(名称変更を経て)
富山大学大学院医学薬学研究部病理診断学准教授
2007-現在 富山大学附属病院病理部診療教授(併任)
2008-現在 Assistant Clinical Professor, Volunteer series, Division
of Rheumatology, Allergy, & Clinical Immunology,
Department of Internal Medicine, University of California,
Davis (併任)
2009-現在 中国吉林大学第一医院客座教授(併任)