

【期待される治療薬・治療法】

糖尿病性腎症の進展抑制を目指した治療薬研究： 八味地黄丸と山茱萸*

横澤隆子** 朴 鑽欽***

はじめに

日本透析医学会が実施している統計調査「わが国の慢性透析療法の現況」によると、透析患者数は2014年末には320,448名と、前年より6,010名の増加であった。このうち原疾患は糖尿病性腎症が最も多く、全体の43.5%を占めている。糖尿病性腎症は持続的な高血糖状態によって種々の代謝異常を引き起こし、これが腎臓のメサングウム細胞に作用して、糸球体硬化へと進展していく慢性疾患であるが、治療薬としてアンジオテンシン変換酵素阻害薬やアンジオテンシンⅡ受容体拮抗薬が第一選択として用いられている。漢方治療として、柴苓湯が効果的であるという報告がみられたこともあったが、筆者らは、高血糖が終末糖化産物 (advanced glycation endproducts: AGEs) の蓄積をもたらすことに着目し、実験を開始した。臨床サイドで腎疾患や糖尿病に用いられている12種類の漢方方剤を選び、AGEs産生に及ぼす効果についてスクリーニング試験を行った結果、大黄剤、駆瘀血剤、地黄剤、柴胡剤の順に抑制作用を示し、また実験に用いた方剤の多くはアミノグアニジンより強い活性を示した¹⁾。本稿では、糖尿病性腎症に関する報告が皆無の地黄剤の八味地黄丸に注目し、さらに八味地黄丸の構成生薬の山

茱萸ならびに構成成分について、これまで筆者らが報告してきた成果を中心に紹介したい。

I 八味地黄丸と構成生薬

八味地黄丸は漢方の古典の中国の医書「金匱要略」に記載されている薬方で、疲れやすくて、四肢が冷えやすく、尿量減少または多尿で、ときに口渴のある諸症、すなわち下肢痛、腰痛、しびれ、高齢者のかすみ目、かゆみ、排尿困難、頻尿、むくみなどに効果が得られている。薬効を裏付ける基礎実験として、糖尿病抑制作用、循環器系に対する作用、骨代謝に対する作用、造精機能に対する作用、利尿作用、血圧降下作用、腎臓に対する作用などが報告されている。処方構成は、地黄6.0、山茱萸3.0、山薬3.0、沢瀉3.0、茯苓3.0、牡丹皮2.5、桂枝1.0、附子0.5の8味で構成されている。

II 八味地黄丸の効能・効果

1. 1型糖尿病性腎症モデルでの検討

1型モデルは、Wistar系雄性ラットに3/4腎摘を施し、次いでストレプトゾトシン25 mg/kg体重を腹腔内投与し作製した。八味地黄丸は50、

* Novel approaches to diabetic nephropathy : therapeutic potentials of Chinese prescription Hachimi-jio-gan and its crude drug Corni Fructus

key words : 糖尿病性腎症, 八味地黄丸, 山茱萸, 7-O-galloyl-D-sedoheptulose, morroniside, loganin

** 富山大学大学院理工学研究部 YOKOZAWA Takako

(〒930-8555 富山市五福3190)

*** 韓国農村振興庁国立園芸特作科学院 PARK Chan Hum

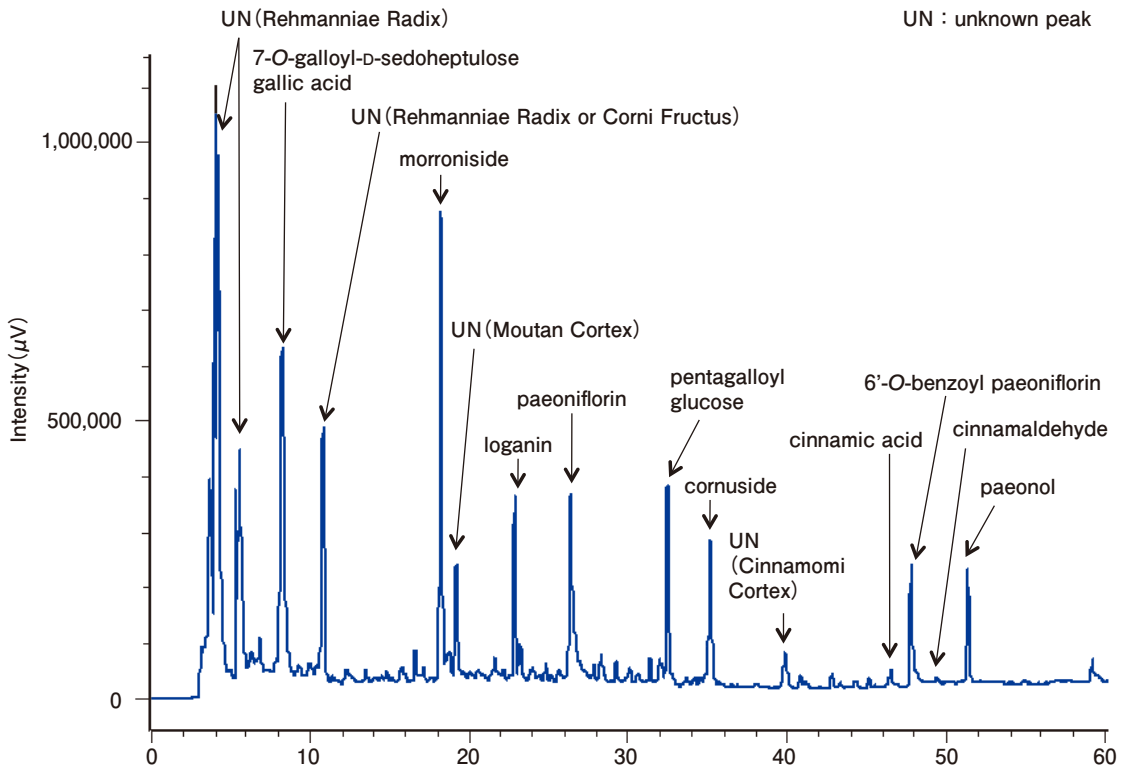


図1 八味地黄丸のHPLCプロファイル

100, 200 mg/kg 体重/日の投与量を胃ゾンデで15週間連日経口投与した。血糖値は投与6週目から投与量に依存して低下し、12週目以降、すべての投与群で有意に低下していた。尿蛋白排泄量は3週目から著しく低下し、クレアチニンクリアランス (Ccr) は3週目で投与量に依存して上昇していたが、12週目から有意な上昇がみられ、15週でも同様の結果であった。15週間投与後の腎組織学的評価は、糸球体、尿細管、間質のいずれにおいても八味地黄丸投与群で腎組織中の病変は改善し、スコア化した場合も糸球体を中心に有意に低下していた²⁾。

2. 2型糖尿病性腎症モデルでの検討

過食、肥満、高血糖、蛋白尿、インスリン分泌不全などを呈する OLETF (Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty) ラットと、正常対照として LETO (Long-Evans Tokushima Otsuka) ラットを用いた。血糖値の上昇を待って22週齢まで飼育

した後、八味地黄丸を先の実験と同様、50, 100, 200 mg/kg 体重/日を32週間連日経口投与した。血糖値は八味地黄丸投与16週目から投与量に依存して低下し、24週では有意な低下作用を示した。血清中の総コレステロールと尿蛋白排泄量は八味地黄丸投与群で低下し、Ccrは上昇していた。32週目では、血清 glycosylated protein が投与量に依存して低下し、TBARS (thiobarbituric acid-reactive substance) がわずかに低下していた。腎組織中の AGEs は投与量の最も低い50 mg 群から正常値レベルにまで低下し、ミトコンドリアの TBARS レベルはすべての投与群で有意に低下し、血中より強い作用を示していた。さらに、糖尿病性腎症進展の鍵の TGF- β_1 と細胞外基質蛋白の fibronectin、さらに酸化ストレスに関与している蛋白について、腎皮質を用い Western blot 解析を行った。その結果、TGF- β_1 と fibronectin はいずれも投与量に依存して低下し、特に100, 200 mg 群では正常レベル以下にまで低下していた。ま

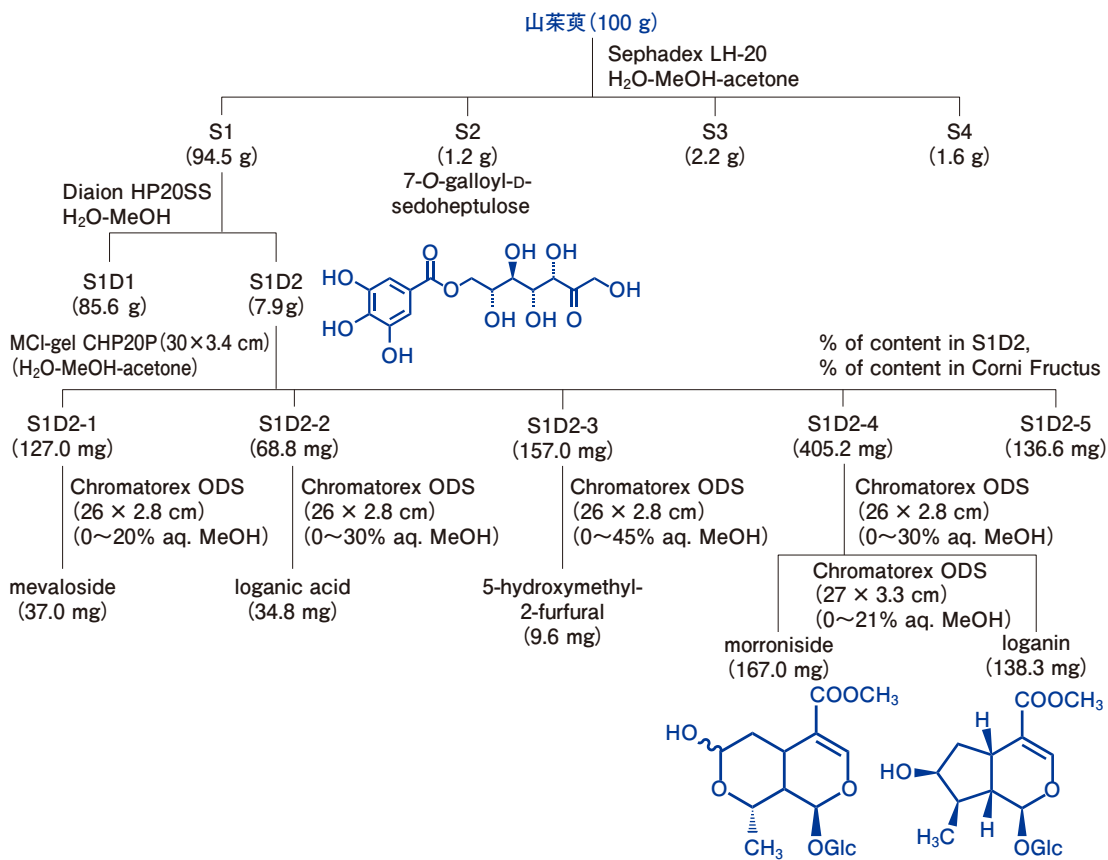


図2 山茱萸の成分の分画精製

た、OLETF ラットで増加した酸化ストレス関連蛋白は、iNOS を中心に八味地黄丸投与群で発現増加を抑制していた³⁾。なお、自然発症糖尿病モデル WBN/Kob ラットを用いた検討においても、類似した結果を確認している⁴⁾。

III 八味地黄丸の活性成分の探索

八味地黄丸の HPLC プロファイルから、主要成分として 7-O-galloyl-D-sedoheptulose, gallic acid, morroniside, loganin, paeoniflorin, pentagalloyl glucose, cornuside, cinnamic acid, 6'-O-benzoyl paeoniflorin, cinnamaldehyde, paeonol が検出された (図1)。このなかで含量が非常に多い 7-O-galloyl-D-sedoheptulose, morroniside, loganin はいずれも山茱萸由来成分であり、山茱萸について詳細な検討を試みた。

IV 山茱萸と山茱萸から単離した成分の効能・効果

山茱萸は、漢方医学では重要な生薬として多くの漢方方剤に、また単味で用いられている。効能としては、古来より血糖低下、抗腫瘍活性、抗菌作用、肝腎機能亢進作用などが示され、経験的にこれら疾患に用いられている。筆者らは、山茱萸の作用を糖尿病性腎症モデルを用いて検討し、糖毒性の低下や腎機能の改善、糖化蛋白・酸化炎症関連蛋白に対する改善作用を明らかにし、山茱萸に八味地黄丸と類似した作用を認めた⁵⁾。

さらに、山茱萸の活性成分の探索を試みた。図2に示したように、非常に多量の低分子ポリフェノールの 7-O-galloyl-D-sedoheptulose を単離し⁶⁾、この化合物について db/db マウスを用い検討した。その結果、7-O-galloyl-D-sedoheptulose

投与群の血液成分 (ROS, TBARS, 中性脂肪, 遊離脂肪酸, LDL/VLDL, アディポネクチン, 尿素窒素, クレアチニン), 腎組織中のグルコース, 中性脂肪, TBARS, ROSが改善し, Nox-4, p22^{phox}, Nrf2, NF- κ B, COX-2, iNOS, SREBP-1の腎での蛋白発現が低下し, 2型糖尿病性腎症モデルの脂質代謝異常や酸化ストレス状態を是正している知見を見出した⁷⁻⁹⁾。また, この化合物は肝や脂肪組織における糖尿病による代謝異常も是正する作用を有し^{9,10)}, 新しい素材として有用である可能性が示唆された。一方, 古くから知られているイリドイド配糖体について, 同じく *db/db* マウスを用い検討した結果, morroniside では脂質や酸化ストレス関連因子の発現を調節し¹¹⁾, loganinは高血糖の改善や, それに伴ったAGE受容体 (RAGE) と AGEs の産生を抑制する作用が認められ¹²⁾, 山茱萸から単離したこれら3つの化合物は腎に相補的に作動している実態を実験的に証明した。このような知見は, 山茱萸のポリフェノール, イリドイド配糖体が糖尿病治療薬として, また合併症 (糖尿病性腎症) を予防する新しい素材として有用である可能性が示唆された。

■ おわりに

糖尿病性腎症は1998年に透析導入原疾患の最大原因になって以来, 今なお増加の一途をたどっている。一方, 日本は世界で最も透析患者密度 (単位人口当たりの透析患者数) が高い国で, 医療経済上からも大きな問題を投げかけている。透析導入の最大原因の糖尿病性腎症がますます増加する勢いにあることを考えると, 糖尿病による種々の合併症を予防, あるいは悪化を防止する効果的な治療薬の開発が急務となっている。本研究において, 八味地黄丸が1型, 2型いずれの糖尿病性腎症に対しても糖代謝を中心とした改善作用に加え, 優れた腎保護作用を有し, また構成生薬の山茱萸, さらには山茱萸から単離した7-O-galloyl-D-sedoheptulose, morroniside, loganinに糖尿病性腎症の進展を抑制する新たな機能を見出した。今後, 前向き臨床試験によるエビデンスを期待

したい。

文 献

- 1) Yokozawa T, Nakagawa T, Terasawa K : Effects of Oriental medicine on the production of advanced glycation endproducts. *J Trad Med* **18** : 107-112, 2001
- 2) Yokozawa T, Yamabe N, Cho EJ, et al : A study on the effects to diabetic nephropathy of Hachimi-jio-gan in rats. *Nephron Exp Nephrol* **97** : e38-e48, 2004
- 3) Yamabe N, Yokozawa T : Activity of the Chinese prescription Hachimi-jio-gan against renal damage in the Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rat : a model of human type 2 diabetes mellitus. *J Pharm Pharmacol* **58** : 535-545, 2006
- 4) Nakagawa T, Yokozawa T, Yamabe N, et al : Long-term treatment with Hachimi-jio-gan attenuates kidney damage in spontaneously diabetic WBN/Kob rats. *J Pharm Pharmacol* **57** : 1205-1212, 2005
- 5) Yamabe N, Kang KS, Goto E, et al : Beneficial effect of Corni Fructus, a constituent of Hachimi-jio-gan, on advanced glycation end-product-mediated renal injury in streptozotocin-treated diabetic rats. *Biol Pharm Bull* **30** : 520-526, 2007
- 6) Yamabe N, Kang KS, Matsuo Y, et al : Identification of antidiabetic effect of iridoid glycosides and low molecular weight polyphenol fractions of Corni Fructus, a constituent of Hachimi-jio-gan, in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biol Pharm Bull* **30** : 1289-1296, 2007
- 7) Yamabe N, Kang KS, Park CH, et al : 7-O-galloyl-D-sedoheptulose is a novel therapeutic agent against oxidative stress and advanced glycation endproducts in the diabetic kidney. *Biol Pharm Bull* **32** : 657-664, 2009
- 8) Yokozawa T, Park CH, Noh JS, et al : Novel action of 7-O-galloyl-D-sedoheptulose isolated from Corni Fructus as a hypertriglyceridaemic agent. *J Pharm Pharmacol* **61** : 653-661, 2009
- 9) Park CH, Noh JS, Yamabe N, et al : Beneficial effect of 7-O-galloyl-D-sedoheptulose on oxidative stress and hepatic and renal changes in type 2 diabetic *db/db* mice. *Eur J Pharmacol* **640** : 233-242, 2010
- 10) Park CH, Tanaka T, Yokozawa T : Evaluation of 7-O-galloyl-D-sedoheptulose, isolated from Corni Fructus, in the adipose tissue of type 2 diabetic *db/db* mice. *Fitoterapia* **89** : 131-142, 2013
- 11) Park CH, Noh JS, Tanaka T, et al : Effects of morroniside isolated from Corni Fructus on renal lipids and inflammation in type 2 diabetic mice. *J Pharm Pharmacol* **62** : 374-380, 2010
- 12) Yamabe N, Noh JS, Park CH, et al : Evaluation of loganin, iridoid glycoside from Corni Fructus, on hepatic and renal glucolipotoxicity and inflammation in type 2 diabetic *db/db* mice. *Eur J Pharmacol* **648** : 179-187, 2010