

機関番号：3 2 6 8 0

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：2 1 7 9 0 6 3 4

研究課題名 (和文) *Kaempferia parviflora* の代謝疾患予防効果および作用機序の解明研究課題名 (英文) Preventive effect of *Kaempferia parviflora* on metabolic Disease

研究代表者

嶋田 努 (SHIMADA TSUTOMU)

武蔵野大学・薬学研究所・講師

研究者番号：9 0 4 0 9 3 8 4

研究成果の概要 (和文): *Kaempferia parviflora* (KP) は自然発症肥満 2 型糖尿病モデル動物において抗肥満効果やインスリン抵抗性改善を始め種々の代謝性疾患に対して改善効果を示した。また、KP に含まれるポリメトキシフラボノイドは脂肪細胞の分化誘導効果を示したことから、KP は脂肪に直接作用しインスリン抵抗性を改善したことが示唆された。以上のことから KP は代謝性疾患に対する特定保健用食品や医薬品のシードとして有用であることが示された。

研究成果の概要 (英文): *Kaempferia parviflora* (KP), a Zingiberaceae plant, showed the preventive effects on metabolic diseases, including anti-obesity and improvement of insulin-resistance in spontaneously obese type II diabetic mice. Polymethoxyflavones, included in KP, enhanced the differentiation of adipocytes *in vitro*, suggesting that KP directly affected to adipocytes and improved insulin-resistance. It is concluded that KP is promising as a seed compound for developing therapeutic medicines or food for specified health use (FOSHU) for metabolic diseases.

交付決定額

(金額単位：円)

|         | 直接経費      | 間接経費    | 合計        |
|---------|-----------|---------|-----------|
| 2009 年度 | 1,100,000 | 330,000 | 1,430,000 |
| 2010 年度 | 500,000   | 150,000 | 650,000   |
| 年度      |           |         |           |
| 年度      |           |         |           |
| 年度      |           |         |           |
| 総計      | 1,600,000 | 480,000 | 2,080,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内科学一般 (含心身医学)

キーワード：*Kaempferia parviflora*、TSOD、3T3-L1 細胞、脂肪蓄積抑制効果、脂肪分化促進作用

## 1. 研究開始当初の背景

食の欧米化や交通手段の発達、ストレス社会などにより、日本をはじめ全世界において肥満患者が急増している。肥満症、特に内臓脂肪蓄積型肥満は、食後高血糖、高脂血症、

高血圧を惹起しやすく、長期病態が継続すると動脈硬化など重篤な脳血管性疾患や冠動脈疾患等を発症する、所謂「メタボリックシンドローム (MS)」のメインファクターであることが知られている。

ラオス原産であり現地の人々により日常的に摂取されている伝統生薬 *Kaempfeira parviflora* は古くから民間薬として滋養強壮、精力増進、血糖値の低減、体力回復、循環器系の改善、消化器系の改善などを目的に用いられており、また最近では抗胃潰瘍作用や抗菌作用等が報告されている。



これまでに申請者らは、自然発症肥満2型糖尿病モデル動物TSODマウスを用いて検討により *K. parviflora* 根茎末に抗肥満効果をはじめ、内臓脂肪の蓄積抑制効果を認めた。さらに、脂肪吸収に関与する腓リパーゼ阻害作用やコレステロールの排泄に関与する胆汁の分泌亢進作用などの脂質代謝に対する様々な効果も認められている。

## 2. 研究の目的

本研究では、*K. parviflora* の代謝性疾患に対する活性本体の探索およびその作用メカニズムの解明を目的に自然発症による内臓脂肪蓄積肥満2型糖尿病モデル動物であるTSODマウスおよび樹立細胞(脂肪前駆細胞、初代褐色脂肪細胞、肝癌細胞)を用い検討し、最終的には特定保険用食品や医薬品化をめざした。

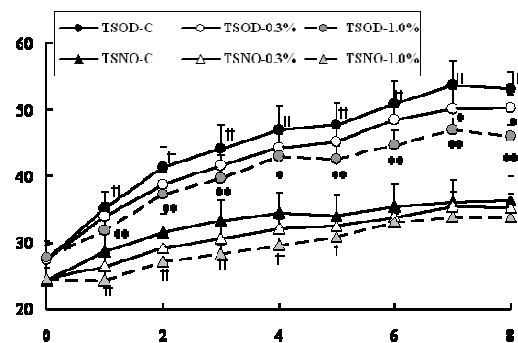
## 3. 研究の方法

自然発症肥満2型糖尿病モデル動物TSODマウスに対する *K. parviflora* の酢酸エチル可溶部エキスによるMS諸症状予防効果の検討を実施した。また、作用機序の解明や、有効

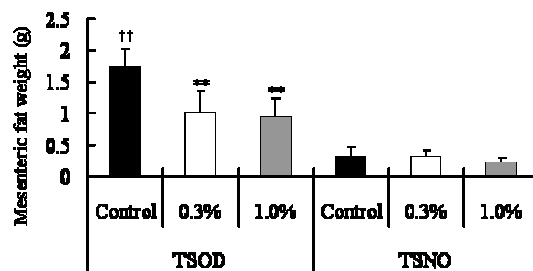
粗分画・特定成分の絞込みの検討を行なうため、脂肪前駆細胞(3T3-L1)や初代褐色脂肪細胞、肝癌細胞(HepG2)を用いた *in vitro* 系実験により詳細な作用点や有効成分を検討した。

## 4. 研究成果

*K. parviflora* の主要画分である酢酸エチル可溶部エキス(KPE)の代謝性疾患予防作用を自然発症肥満2型糖尿病モデル動物TSODマウスおよび対照動物TSNOマウスを用いて検討した結果、KPEは両マウスにおいて用量依存的に抗肥満効果を示し、TSNOマウスにおいてのみ摂餌量抑制効果が認められた。



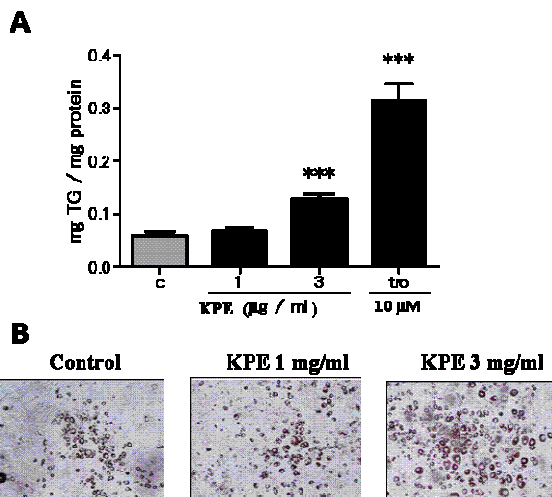
KPEに見られた抗肥満効果には中枢での摂食抑制作用が一部関与することが示唆された。X線CT解析によりKPEはTSODマウスにおいて皮下脂肪及び内臓脂肪蓄積を経時的に抑制し、また代謝性疾患の基盤である腸間膜脂肪重量も減少させた。このことから、KPEの抗肥満効果には脂肪蓄積抑制効果が関与することが示された。



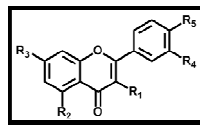
さらに、KPEはインスリン抵抗性改善作用、血圧抑制作用なども示した。一方、*K.*

*parviflora* の根茎粉末に見られた脂質代謝異常改善効果は KPE には認められず、酢酸エチル可溶部以外にも活性成分が含まれることが示唆された。以上より KPE は強い代謝性疾患予防効果を示し、その作用部位として脂肪細胞の関与が示唆された。

次に活性成分の探索研究および詳細な作用機序の解明を目的に *in vivo* 実験において強い効果が認められた脂肪組織に注目し *in vitro* 実験系としてマウス前駆脂肪細胞である 3T3-L1 細胞に対する KPE の効果を検討した。KPE は対照薬であるトログリタゾンと同様、前駆脂肪細胞の分化誘導作用を示した。



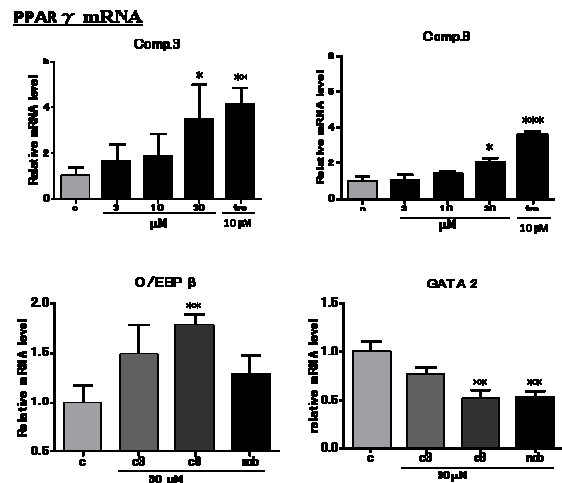
引き続き、KPE の活性成分の探索研究を行ったところ 13 種類のポリメトキシフラボノイド (PMF) を同定した。



|  | R <sub>1</sub>   | R <sub>2</sub>   | R <sub>3</sub>   | R <sub>4</sub>   | R <sub>5</sub>   |
|--|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Comp. 1 (5-hydroxy-3,7-dimethoxyflavone)           | OCH <sub>3</sub> | OH               | OCH <sub>3</sub> | H                | H                |
| Comp. 2 (3,5,7-trimethoxyflavone)                  | OCH <sub>3</sub> | OCH <sub>3</sub> | OCH <sub>3</sub> | H                | H                |
| Comp. 3 (3,5,7,4'-tetramethoxyflavone)             | OCH <sub>3</sub> | OCH <sub>3</sub> | OCH <sub>3</sub> | H                | OCH <sub>3</sub> |
| Comp. 4 (5-hydroxy-3,7,4'-trimethoxyflavone)       | OCH <sub>3</sub> | OH               | OCH <sub>3</sub> | H                | OCH <sub>3</sub> |
| Comp. 5 (5,7-dimethoxyflavone)                     | H                | OCH <sub>3</sub> | OCH <sub>3</sub> | H                | H                |
| Comp. 6 (5-hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone)          | H                | OH               | OCH <sub>3</sub> | H                | OCH <sub>3</sub> |
| Comp. 7 (5-hydroxy-3,7,3',4'-tetramethoxyflavone)  | OCH <sub>3</sub> | OH               | OCH <sub>3</sub> | OCH <sub>3</sub> | OCH <sub>3</sub> |
| Comp. 8 (3,5,7,3',4'-pentamethoxyflavone)          | OCH <sub>3</sub> | OCH <sub>3</sub> | OCH <sub>3</sub> | OCH <sub>3</sub> | OCH <sub>3</sub> |
| Comp. 9 (5-hydroxy-7-methoxyflavone)               | H                | OH               | OCH <sub>3</sub> | H                | H                |
| Comp. 10 (5,7,4'-trimethoxyflavone)                | H                | OCH <sub>3</sub> | OCH <sub>3</sub> | H                | OCH <sub>3</sub> |
| Comp. 11 (5,3'-dihydroxy-3,7,4'-trimethoxyflavone) | OCH <sub>3</sub> | OH               | OCH <sub>3</sub> | OH               | OCH <sub>3</sub> |
| Comp. 12 (5,4'-dihydroxy-7-methoxyflavone)         | H                | OH               | OCH <sub>3</sub> | H                | OH               |

そこで、PMFs の脂肪細胞分化誘導効果を検討したところ 2 種類の PMF で強い分化誘導作用

が認められ、さらに分化誘導マーカーである peroxisome proliferator-activated receptor ; PPAR の発現誘導が認められた。PPAR はリガンドと結合することにより活性化されることから、PMF の PPAR リガンド作用を検討したところ、PMF には PPAR リガンド作用は認められなかった。前駆脂肪細胞から成熟脂肪細胞への分化過程には様々な因子により制御されていることが報告されている。そこで、脂肪細胞分化初期段階に關与する PPAR 発現調整因子に対する PMF の効果について検討した。PMF は PPAR 発現を正に制御する CCAAT-enhancer-binding proteins ; CEBP の発現を誘導し、一方 PPAR や CEBP 発現を負に制御する GATA-2 の発現を抑制した。



以上より、KPE に含まれる PMF の脂肪細胞分化誘導効果は、脂肪細胞の分化誘導初期段階において、分化の正の制御を増加させ、また、負の制御を抑制により調整されていることが示された。また、PMF には脂肪燃焼効果を示す褐色脂肪細胞の分化誘導効果を有すること、また *K. parviflora* のブタノールおよび水画分に肝臓での脂肪燃焼効果を有することも示した。以上より、*K. parviflora* は多角的な作用メカニズムにより抗肥満効果を示すことが認められ、医薬品ならびに特定

保健用食品のシードとして有用であることが示唆された。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計1件)

Akase T, Shimada T, Terabayashi S, Ikeya Y, Sanada H, Aburada M

Antiobesity effects of *Kaempferia parviflora* in spontaneously obese type II diabetic mice.

Journal of Natural Medicine 査読あり, 65, 2011, 73-80

[学会発表](計6件)

嶋田努、松尾洋孝、木下薫、徳原大介、田口貴章、小杉満孝、高橋邦夫、市瀬浩志、油田正樹 *Kaempferia parviflora* の薬理学的研究(3) 酢酸エチル画分の代謝性疾患諸症状に対する予防効果

第26回和漢医薬学会 2009年8月30日 千葉(幕張メッセ)

嶋田努 *Kaempferia parviflora* 酢酸エチル画分の代謝性疾患諸症状に対する予防効果

第9回日本臨床中医薬学会 2009年10月24日 東京(成瀬センター)

堀川琢心、嶋田努、田口貴章、木下薫、市瀬浩志、油田正樹、高橋邦夫

*Kaempferia parviflora* の薬理学的研究(4) -酢酸エチル画分の脂肪細胞に対する効果-

日本薬学会 第130年会 2009年3月29日 岡山(桃太郎アリーナ)

堀川琢心、嶋田努、田口貴章、木下薫、市瀬浩志、油田正樹、高橋邦夫

*Kaempferia parviflora* の薬理学的研究(5) -フラボノイドの脂肪細胞に対する効果-

第27回和漢医薬学会学術大会 2010年8月28日 京都(京都薬科大学)

堀川 琢心, 嶋田 努, 田口 貴章, 木下 薫, 小山 清隆, 市瀬 浩志, 油田 正樹, 高橋 邦夫

*Kaempferia parviflora* の薬理学的研究(6)-ポリメトキシフラボノイドの脂肪細胞分化誘導効果の作用メカニズムの解明-

日本生薬学会第57回年会・第5回日中韓生薬学合同シンポジウム 2010年9月26日 徳島(徳島文理大学徳島キャンパス)

堀川琢心、嶋田努、田口貴章、木下薫、小

山清隆、市瀬浩志、油田正樹、高橋邦夫 *Kaempferia parviflora* の薬理学的研究(8)

Kp フラボノイドの脂肪細胞分化に關与する転写因子に対する効果

日本薬学会 第131回年会 2010年3月31日 静岡(ツインメッセ静岡)

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者

嶋田 努 (SHIMADA TSUTOMU)

武蔵野大学・薬学研究所・講師

研究者番号: 90409384