

平成 25 年度

博士學位論文

内容の要旨
および
審査結果の要旨

近畿大学大学院
薬学研究所

薬学 研究科

平成 25 年度

(論文提出による博士論文)

中 尾 紀 久 世

学位論文審査結果の報告書

氏 名 中尾 紀久世

生 年 月 日 (昭和)・平成 42 年 8 月 7 日

本 籍 (国籍) 和歌山県 (日本)

学位の種類 博 士 (薬 学)


学位記番号 薬 第 114 号


学位授与の条件 学位規程第5条2項該当
(博士の学位)

論 文 題 目 漢方医学に学ぶ薬食同源素材からの尿酸生成阻害作用生薬、
並びにその有効成分の探索に関する研究

審 査 委 員

(主 査) 松田 秀秋 教授 

(副主査) 村岡 修 教授 

(副主査) 岩城 正宏 教授 

(副 査) 

(副 査) 

論文内容の要旨

痛風は代謝性疾患の一つで、古来、「帝王病」と呼ばれ、美食を常とする富裕層が罹患しやすい疾患であることが知られてきた。日本においては近年、急速に患者数が増加しており、その原因は食事の欧米化やアルコール摂取量の増加などの食生活の変化によるものと考えられている。痛風は高尿酸血症が基礎的疾患であり、血液中に溶解しきれずに析出した尿酸塩の結晶が関節に蓄積して激しい痛みや炎症を引き起こす痛風性関節炎が起こるのが特徴である。また痛風に合併し尿酸結石や腎障害が起こる。高尿酸血症は尿酸の過剰生成や腎臓における尿酸排泄の減少により起こる。痛風や高尿酸血症の予防や治療には血中尿酸値のコントロールが最も重要であり、そのためには尿酸の生成阻害もしくは排泄を促進することが必要である。

Xanthine oxidase (XOD) は xanthine や hypoxanthine を酸化して尿酸に変換する鍵酵素であり、それゆえ痛風や高尿酸血症の治療の一つとして尿酸の生成を阻害する XOD 阻害剤が使用される。その代表的な XOD 阻害剤として allopurinol が長年使用されている。Allopurinol は xanthine に類似した構造を持ち、XOD の活性部位に結合して、その活性を強力に阻害する。しかし、allopurinol には中毒性表皮壊死融解症やスティーブンスジョンソン症候群などの重篤な副作用があり、また、その代謝物である oxypurinol が体内に過剰に蓄積するので腎機能障害がある患者への投与が難しい。代謝物が蓄積しない新しい構造の XOD 阻害剤として febuxostat が近年開発・上市されたが、重篤な肝機能障害が報告されている。それゆえ、より安全性の高い抗高尿酸血症剤が望まれている。また、近年の痛風・高尿酸血症の対策として、発症する以前の尿酸値をコントロールする代替的医療の一環として、サプリメントを用いることも必要と考えられている。

著者は現代医学の痛風に現れる症状と類似の症状に対して古代中国医学（以下、漢方医学とする）で用いられていた漢方処方に配合されている生薬を調査してその特徴を確認し、そこから得られた知見をもとに血中尿酸値を低下させる新規天然物素材を探索することを目的とした。漢方医学は紀元前からその膨大な経験と知識の集積のもとに治療法が確立され、様々な疾患の治療に利用されており、現在は基礎研究と臨床研究の両面において漢方処方と構成生薬の作用が次々に解明されつつある。ところが、漢方医学における疾患名は現在のもとの異なる場合が多々あり、漢方医学用語を現代の疾患名にそのまま適用することができないことがある。このような問題から、現代における痛風 (gout) を指す用語が漢方医学ではどの用語に該当するのかを検証する必要がある。

第1章第1節では、著名な中国の20種類の漢方医方書の各条文を精査し、痛風 (gout) の典型的症状である「関節の腫張と疼痛」に関するいくつかの漢方医学用語について現代の痛風 (gout) の病態と共通部分が存在するか否かを検討した。その結果、現代の痛風 (gout) に相当する病態が含まれる漢方医方書の用語として「歴節風」、「白虎」、「白虎風」、「白虎歴節」、「痛風」および「痛痺」の6種類を選定した。

第2節では、第1節で選定した6種類の用語に相当する病態を治療する漢方処方を検索し、次いで各処方 of 適応病態において、現代の痛風 (gout) の特徴である「飲酒や食事との関連性」、「夜間の疼痛」、「著しい疼痛」、「肥満」および「足部の痛み」に着目して検索した。その結果、『万病回春』の疎経活血湯、『世医得効方』の羌活湯を含む4処方において、その適応病態を表す条文中に「飲酒や食事との関連性」が見出された。同様に、「夜間の疼痛」については『聖剂総録』の沈香湯、『太平聖恵方』の赤芍薬散を含む11処方、「著しい疼痛」については『備急千金要方』の防已湯、『太平聖恵方』の桂心散を含む29処方、「肥満」については『万病回春』の羌活湯1処方、「足の痛み」については『万病回春』の疎経活血湯1処方が見出された。以上のごとく、現代の痛風 (gout) の特徴に共通する症状を適応とする処方合計46処方であった。

第3節では、第2節で見出された46処方に配剤されている生薬の使用頻度を算定し、頻用上位生薬の特徴を古代中国の本草書『神農本草経』で確認した。その結果、痛風に現れる症状の改善に用いられる生薬の特徴は、薬の性質を五行説で分類するのに用いられている五味の一つである「辛」の範疇に分類されるものが約半数を占めることが確認された。「辛」に分類される生薬には蘇葉、桂皮、生姜、山椒などのように料理にも使われているものも多く、これらはスパイス・ハーブ類でもある。したがって、本研究では日常的に摂取可能な薬食同源素材、つまり薬としても食品としても使用される生薬、およびそれらと同科植物を原植物とする薬食同源素材の中から痛風に有効な新規天然物素材の探索を行うことにした。

第2章では、五行説の「薬味」分類において「辛」に該当する生薬で、かつ食品としても利用されている蘇葉 (チリメンジソ *Pelliera frutescens* var. *crispa* の葉) およびその同科植物であるペパーミント (*Mentha piperita*)、スペアミント (*M. spicata*)、ハッカ (*M. arvensis*)、セージ (*Salvia officinalis*)、オレガノ (*Origanum vulgare*)、およびローズマリー (*Rosmarinus officinalis*) の葉の50%エタノール抽出エキスのXOD阻害作用を検討した。その結果、7種類全てのエキスをXOD阻害作用が認められた。特にペパーミント葉エキスに最も強い阻害作用が認められ、200 $\mu\text{g/ml}$ における抑制率は32%であった。XOD阻害作用を指標にペパーミント葉の有効成分を探索したところ、isoflavone である pratensein (1) (IC_{50} 値=2.3 μM) と他に flavone の apigenin (2) を単離・同定した。Pratensein (1) のXOD阻害作用は今回初めて見出された。

第3章では、五行論の「薬味」分類において「辛」に該当する生薬で、かつ食品としても利用されている生姜 (ショウガ *Zingiber officinale* の根茎) およびその同科植物であるウコン (*Curcuma longa*)、ガジュツ (*C. zedoaria*)、および *Kaempferia parviflora* (以下、黒ショウガと称す) の根茎の70%メタノール抽出エキスのXOD阻害作用を検討した。その結果、黒ショウガの抽出エキスに最も強いXOD阻害作用が認められ、50, 200, 500 $\mu\text{g/ml}$ における抑制率はそれぞれ、14, 26, 38%であった。本エキスから既知の10種のmethoxyflavone成分(3-12)を単離し、NMRとX線結晶構造解析によってそれらの構造を決定した。各化合物のXOD阻害作用を比較検討したところ、3,5,7,3'4'-pentamethoxyflavone (4) に最も強い阻害作用を見出し、その IC_{50} 値は0.9 mMであった。黒ショウガと3,5,7,3'4'-pentamethoxyflavone (4) のXOD阻害作用は今回初

めて見いだされた。

第4章では、五行説の「薬味」分類において「辛」に該当する生薬で、かつ食品としても利用されている胡椒（コショウ *Piper nigrum* の果実）およびその葉、茎、さらにはその同科植物であるカワ（*P. methysticum*）の葉、茎、根茎、ヒハツ（*P. longum*）の全草、フウトウカズラ（*P. kadsura*）の葉、茎、根、根茎、キンマ（*P. betle*）の葉およびヒッコウカ（*P. cubeba*）の果実の50%エタノール抽出エキスのXOD阻害作用を検討した。その結果、キンマの葉に最も強いXOD阻害作用が認められ、50、200 $\mu\text{g/ml}$ における抑制率はそれぞれ、41、78%であった。XOD阻害作用を指標にキンマエキスの有効成分を探索したところ、フェノール性化合物である hydroxychavicol (13) を単離・同定した。その IC_{50} 値は 16.7 μM であり、医薬品として頻用されている allopurinol の IC_{50} 値 (30.7 μM) よりも低値であった。Hydroxychavicol (13) が強いXOD阻害作用を有することは今回初めて見いだされた。

第5章では、柑橘類果実の中で、我が国で最も多く食されるウンシュウミカン（*Citrus unshiu*）果実の抗痛風作用を検討した。その理由は第1章で記した『万病回春』において痛風の項に記述されている漢方処方には「辛」に分類されるミカン科（Rutaceae）植物を基原とする生薬である陳皮や枳殻が多用されていたためである。ウンシュウミカン果実の主要 flavanone 配糖体成分は hesperidin (17) と narirutin (18) であり、未熟な時期の果実エキスの flavanone 配糖体含量は完熟期の果実エキスのそれより多いことが知られており、前者の hesperidin (17) 含量は後者の約2倍である。未熟な時期の果実と完熟期果実のそれぞれの50%エタノールエキスについて、オキソニン酸誘発高尿酸血症モデルラットを用いて血清尿酸値低下作用を検討した結果、前者のエキスが後者のエキスよりも強い低下作用を示すことを見出した。しかし、両エキスともにXOD阻害作用を示さなかった。そこで、未熟期の果実エキスの血中尿酸値低下作用の機序を解明するため、4種の主要 flavanone 誘導体の尿酸値低下作用とXOD阻害作用を検討した。Hesperidin (17) のアグリコンである hesperetin (19) は高尿酸血症モデルラットの血清尿酸値を有意に低下させた。一方、17は19よりも弱い阻害作用しか示さなかった。Narirutin (18) およびそのアグリコンである naringenin (20) にはその作用が認められなかった。一方、4種の主要 flavanone 誘導体のうち、hesperetin (19) のみにXOD阻害作用が認められた。これらの結果から、ウンシュウミカンの未熟期果実の血清尿酸値低下作用の一部は主要成分の hesperidin (17) が体内で代謝されて産生した hesperetin (19) のXOD阻害作用によることが今回初めて示唆された。

本研究において、現代医学の痛風に現れる症状と類似の症状に対して漢方医学で用いられていた処方に配合されている生薬を文献調査してそれらの特徴を確認し、そこから得られた知見をもとに痛風に有効な新規天然物素材を探索した結果、高い確率でXOD阻害作用もしくは血清尿酸値低下作用を有するいくつかの生薬およびスパイス・ハーブ類を見出すことができた。特に、ペパーミント（*M. piperita*）の葉、黒ショウガ（*K. parviflora*）の根茎、キンマ（*P. betle*）の葉、ウンシュウミカン（*C. unshiu*）の未熟果実は痛風や高尿酸血症の予防・治療に有効な素材になり得るものと思われる。

この手法を用いて、今後さらに世界各地の伝承薬物から、痛風・高尿酸血症に効果的な医薬品、機能性素材が見出される研究が展開されることを期待する。

論文審査結果の要旨

痛風は代謝性疾患の一つで、古来、「帝王病」と呼ばれ、美食を常とする富裕層が罹患しやすい疾患であることが知られてきた。日本においては近年、急速に患者数が増加しているのが問題となっている。

学位申請者は現代医学の痛風に現れる症状と類似の症状に対して古代中国医学で用いられていた漢方処方に配合されている生薬を調査してその特徴を確認し、そこから得られた知見をもとに痛風および高尿酸血症の予防や治療に有効な新規天然物素材を探索することを目的としている。

まず、著名な中国の漢方医方書の条文を精査して現代の痛風 (gout) に相当する病態が含まれる漢方用語を選定し、次いで、現代の痛風 (gout) の特徴と共通する症状を適応とする処方を選定している。そして、その処方の配剤生薬の使用頻度を算定して頻用上位生薬の特徴を確認することにより、薬の性質を表す「辛」の範疇に分類されるものが約半数を占めることを確認している。「辛」の生薬にはスパイス・ハーブなど食用として使用されているものが多いことから、次に、薬食同源素材である生薬およびそれらの同科植物から痛風に有効な新規天然物素材の探索を行っている。

そこで、蘇葉およびその同科植物の尿酸生成阻害作用を検討し、ペパーミント (*Mentha piperita*) 葉より活性成分の *pratensein* と *apigenin* を単離・同定、生姜およびその同科植物の尿酸生成阻害作用を検討し、黒ショウガ (*Kaempferia parviflora*) 根茎より活性成分の 3,5,7,3',4'-pentamethoxyflavone を単離・同定、胡椒およびその同科植物の尿酸生成阻害作用を検討し、キンマ (*Piper betle*) 葉より活性成分の *hydroxychavicol* を単離・同定している。

続いて、漢方医方書の精査により柑橘類が特徴的に使用されている書籍が存在することを確認したことから柑橘類果実の中で、我が国で最も多く食されるウンシュウミカン (*Citrus unshiu*) 果実の抗痛風作用を検討した結果、未熟果実およびその主要成分 *hesperidin* のアグリコンである *hesperetin* に血清尿酸値低下作用を見出し、その作用の一部が *hesperidin* が体内で代謝されて産生した *hesperetin* の尿酸生成阻害作用であることを明らかにしている。

以上の研究から、ペパーミント (*M. piperita*) の葉、黒ショウガ (*K. parviflora*) の根茎、キンマ (*P. betle*) の葉、ウンシュウミカン (*C. unshiu*) の未熟果実は痛風や高尿酸血症の予防や治療に有効な素材として有望であると思われる。

本論文は漢方医方書の精査により、高い確率で尿酸生成阻害作用を有する、もしくは血清尿酸値低下作用を有する天然物素材を見出した価値ある論文である。

よって、本論文は博士 (薬学) の学位論文に十分値するものと認める。