総説

伝統薬物研究が薬理学にもたらす新しい視点

東田 千尋, 久保山友晴

要約：伝統医学で用いる薬物（天然物）中から画期的な薬理作用を示す化合物がこれまで数多く同定されており，伝統薬物研究は新薬開発の重要な基盤となってきた．伝統薬物由来の化合物に関する薬理研究の報告は多いが，そのほとんどが薬効に関連したシグナリング分子の活性や発現の制御を示したもので，化合物の直接の作用点を示した報告は少ない．直接の作用点が不明なままでは，化合物の真のシグナリングが明らかになったとは言えない．さらに，化合物の作用点を明らかにすることは，対象となる疾患の治療ターゲット分子を提唱することに繋がり得る．そこで本総説では，近年，直接の作用点が明らかになった伝統薬物由来の化合物の報告を例に挙げ，伝統薬物の薬理研究が，疾患治療戦略に新しい視点を与える可能性について概説する．

1. はじめに

伝統医学とは，世界各地の文化圏伝統の医学体系として教育・医療体制が確立されているものであり，代表的なものとして，漢方（日本），中医学（中国），韓医学（韓国），アーユルヴェーダ医学（インドとその周辺），チベット医学，ユナニ医学（ギリシア・イスラム圏）がある．それぞれの伝統医学で疾病に対処するために用いられている薬，すなわち伝統薬物は，天然物由来の生薬である．生薬には，植物・動物・鉱物・菌類由来のものがあるが，大半は植物由来である．生薬に加えて，微生物や海洋天然物も含めると“天然物”という，より広いカテゴリーとなる．

モルヒネ，ジギトキシン，エフェドリン，アトロピン，サリシン等々，重要で強力な薬効を有する化合物が植物から同定された例はあまりにも有名である．しかしこのように生薬，天然物が薬の優れたリソースと

なることは，決して歴史上の過去の話ではない．2010年までの30年間，つまり近年，世界で承認された新薬のうち，天然物由来，および天然物由来化合物の修飾体の占める割合は約27%を占めている(1)．特に抗菌活性や抗腫瘍活性を有する薬物の開発は，天然物そのもの，あるいはそれをリード化合物として進められている確率がかなり高い(1)．

新薬開発のきっかけ，つまり創薬の基盤となるような，伝統薬物（生薬，または方剤（日本でいえば漢方方剤））の薬理活性に関する基礎研究は，種々の疾患に対して数多く報告され続けている．それらの研究では，生薬エキス中の活性探索に始まり最終的に活性成分の単離・同定に至るものもあるが，最初から生薬由来の特定の既知化合物に着目して研究しているケースも多い．いずれにしても，生体反応を引き起こす化合物が多く見出されているという事実は重要である．しかし，活性に関する知見の多さに比較して，それらのシグナリングメカニズムについては解明が十分でない．伝統薬物由来の成分は，ヒトや動物の生体内因子ではない場合がほとんどなので，生体のどこに（どの細胞の，どの分子に）作用するのか中々見当がつかない．そのため，得られた薬効から推測して，関連がありそうなシグナリングにあたりをつけて検討するというのが常套手段である．活性成分での刺激により，ある分子の発現が増減するとか，リン酸化の程度が変化するという検討で，“効果を説明しやすい”シグナリングが動くので薬理作用が分かったと言える，という結論になっている研究が非常に多い．しかしそれら分子が，本当に活性成分の直接作用する分子なのか，あるいは二次的に動員された間接的な関連分子であるのかはなかなかはっきりしない．活性成分の作用の全容を見ずに，活性を説明できそうな機序に断片的に着目しているだ

キーワード：伝統薬物，結合分子，活性からたどる作用機序

富山大学 和漢医薬学総合研究所 神経機能学分野（〒930-0194 富山県富山市杉谷 2630）

E-mail: chihiro@inm.u-toyama.ac.jp 原稿受領日：2013年9月18日，依頼原稿

Title: New perspective in pharmacology brought by studying traditional medicine Author: Chihiro Tohda, Tomoharu Kuboyama

けの研究になっていないか, その活性成分にはもっとプライマリーな作用分子がないのかという点に注意を払う必要がある。

逆に, もし活性成分の直接の標的分子を同定することができれば, 優れた薬効をもたらす真のシグナリングの解明に繋がる。この, 活性からたどる作用機序解析の試みに成功した例として代表的なものがcannabinoidやFTY720であろう。*Cannabis sativa*は植物名は麻(大麻草ともいう)で, 葉を乾燥させたものが麻薬のマリファナとなるが, 果実は生薬の麻子仁として緩下剤として漢方で用いられる。この植物中の Δ 9-tetrahydrocannabinol (THC) (図1A)が, 多幸感, 記憶の障害, 痛覚の低下, 幻覚などの精神神経反応や, 食欲増進をもたらす。このTHCの直接の作用分子として脳内のCB1受容体が新規にクロニングされ(2), そのサブタイプのCB2受容体も見出された(3)。さらに内在性リガンドのanandamide(4)や2-arachidonoyl

glycerol(5)も見発見された。THCの作用点を探ることで, 鎮痛作用や報酬系を制御する脳内cannabinoidシステムが発見されたのである。

FTY720は, 生薬である冬虫夏草の研究に端を発した, 日本発の経口多発性硬化症治療薬として承認された免疫抑制剤である(図1B)。リンパ球がリンパ節から体液中に遊出するのを阻害して免疫を抑制する。冬虫夏草は菌類の*Cordyceps sinensis*とそれが寄生したコウモリガ科の蛾の一種の幼虫との合体である。Fujitaらにより冬虫夏草属菌の一種*Isariasinclairii*に含まれる成分ISP-1に免疫抑制効果が見出されたことから(6), この化合物の構造に基づいて種々の誘導体が開発され, ついにFTY720開発に行き着いた(7)。FTY720の分子メカニズムは当初不明であったが, 米国のグループによって解明された(8)。FTY720は体内でスフィンゴシンキナーゼによってリン酸化されることでリンパ球表面のスフィンゴシン1リン酸(S1P)

Compound	Binding protein	Ref.
A) Δ9-tetrahydrocannabinol	CB1 receptor CB2 receptor	2 3
B) FTY720	S1P receptor	8
C) glycyrrhizin	HMGB1	10
D) Curcumin	CRM1	14
E) Diosgenin	1,25D ₃ -MARRS	20

図1 結合分子が同定された伝統薬由来の化合物

受容体に結合してそれを内在化させる。その結果、二次リンパ節や胸腺からの成熟T細胞の遊出が阻まれ、T細胞の体内移動が妨げられて免疫反応が抑えられる。薬物の作用機序を探ることで、疾病（多発性硬化症）治療のための分子メカニズムが新たに提示された好例である。

本総説では以下に、重要な活性が知られている伝統薬物由来の化合物のうち、近年、その直接の標的分子が明らかになったものを紹介する。

2. グリチルリチン

甘草は *Glycyrrhiza urarensis* または *Glycyrrhiza glabra* の根およびストロンであり、アジア、ヨーロッパで古くから薬として使用されてきた。また日本の漢方方剤の約7割は構成生薬に甘草を含む。グリチルリチン (glycyrrhizin) (グリチルリチン酸 glycyrrhizic acid とともいう) は、甘草の主要成分であるトリテルペン配糖体であり (図1C)、そのアグリコンはグリチルレチン酸 (glycyrrhetic acid) である。グリチルリチンは、砂糖の約200倍の甘みがあるため甘味料として使用されているほか、抗炎症作用、抗アレルギー作用、抗ウイルス作用、抗がん作用を有することがよく知られている。慢性肝炎に使用される強力ミノファージェンシー (ミノファージェン製薬) はグリチルリチンを主成分とした配合剤であるし、他にもグリチルリチンが配合された医薬品や美容用品が数多く上市されている。グリチルリチンの作用については、11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 を阻害することでコルチゾールの鉱質コルチコイド作用を促進させることが報告されていた (9)。しかし Mollica らはグリチルリチンの作用をより明快に説明しうる作用点として、high-mobility group box 1 (HMGB1) が結合分子であることを証明した (10)。

HMGB1 は、非ヒストン DNA 結合タンパク質で、通常は核内で転写活性を制御する。しかし炎症時、すなわち細胞が TNF- α 、IL-1 β 、IFN- γ にさらされると、HMGB1 が細胞外に放出される。細胞外 HMGB1 は toll-like receptor 2 (TLR2)、TLR4、receptors for advanced glycation end-products (RAGE) に作用することでさらに NF- κ B を活性化するなどして炎症を強めると考えられている (11)。Mollica らは、グリチルリチンが B 型肝炎、C 型肝炎に有効である事実と、B 型肝炎モデルマウスの肝障害に HMGB1 が関与しているという知見から、グリチルリチンが細胞外 HMGB1 に結合してその作用を阻害するという仮説を立てた。リコンビナント HMGB1 を用いた NMR 化学

シフト実験により、グリチルリチンは HMGB1 に結合することを示し、さらに HMGB1 の構造中 A box DNA-binding 領域、B box DNA-binding のいずれもが、それぞれ独立してグリチルリチンと結合することも明らかにした。また、核内の HMGB1 に対してはグリチルリチンは弱い結合活性しか示さなかった (10)。

抗がん薬により死滅した細胞から分泌される HMGB1 による炎症反応が、がん細胞を再び増殖させてしまうことが知られている。グリチルリチンによる HMGB1 抑制作用がわかったことから、抗がん薬とグリチルリチンを共に処置する方法も検討されている。C57BL/6 マウスに B16-F10 メラノーマ細胞を移植し腫瘍サイズを継続的に計測した実験で、抗がんペプチド CAMEL 単独投与に比べて CAMEL とグリチルリチンの同時投与で劇的に腫瘍縮小が見られた (12)。また HMGB1 刺激による微小血管増加がグリチルリチン処置で抑制された (12)。これは、グリチルリチンの作用点が明らかになったことが、その活用法を広げることに繋がった例である。

3. クルクミン

クルクミン (curcumin) は、生薬ウコン (*Curcuma longa* (和名：鬱金、英名：ターメリック) の根茎) の主要な成分であり、他の *Curcuma* 属植物にも広く含有される (図1D)。元来、ウコンは健胃薬、利胆薬であるのだが、近年クルクミンの抗炎症、抗腫瘍、抗アルツハイマー病作用といった多彩な活性が注目されている。基礎研究だけでなく、がん患者、認知症患者等に対する臨床試験も種々進められている (13)。クルクミンに関してはこれまでに、転写活性因子の NF- κ B、STAT3、AP-1、Egr-1 等の活性化を抑制する、PPAR- γ を活性化させる、あるいは mTOR 系や MAP kinase 系を抑制するなど、様々な経路が報告されてきたが、クルクミン処置によって変化を受ける分子があまりにも多く、その引き金を引くシグナリングの最上流分子が結局何であるのかは未解決であった。Niu らは、クルクミンの結合分子として CRM1 に着目した (14)。CRM1 は、p53、p21、FOXO1、I κ B- α 、c-ABL、NPM など、転写因子やがん抑制因子を核内から細胞質に運び出す働きをしており、それら核内タンパク質の作用の持続を妨げる。CRM1 に対する既存の阻害薬はいずれも、CRM1 の求核性の高い Cys528 のチオール基とのマイケル付加反応で結合する。一方、クルクミンの構造の特徴である α,β -不飽和カルボニル基は、マイケル反応の良い受容体になって求核付加を受けることから、クルクミンが CRM1 に結合しその作用

を抑制するという仮説が立てられ検証された。

CRM1 の N 末側にある nuclear export signal と GFP との融合タンパク質を Hela 細胞にトランスフェクションし、クルクミンを処置すると融合タンパク質は核内に留まる。FOXO1-GFP 融合タンパク質と HA タグ CRM1 の共トランスフェクションでも同様にクルクミンによる核外移行抑制が見られたが、CRM1 の Cys528 を Ser に変異させた場合は、クルクミンを処置しても FOXO1-GFP は細胞質に移行した。コンピュータドッキングシミュレーションでも、クルクミンと CRM1 の結合が支持された。クルクミンが CRM1 を作用点として、抗腫瘍、抗炎症に関わる複数のタンパク質を核内に留めることは、クルクミンが非常に多くの分子に変化を与えることを説明しうる機序として説得力がある。またクルクミンは、アルツハイマー病モデルマウスの脳内のマイクログリアやアストロサイトを減少させ、amyloid β の量も抑制させる (15)。これまで、認知症改善のシグナリングとして CRM1 の働きが着目されたことはなかったが、今後は新たな展開が期待される。

4. ジオスゲニン

ジオスゲニン (diosgenin) はステロイドサポゲニンであり、滋養強壮を効能として漢方で用いられている山薬 (ヤマノイモ *Dioscorea japonica* またはナガイモ *D. batatas* の根茎) の成分として知られている (図 1E)。その他、トリゴネラ属 (*Trigonella* spp.)、アマドコロ属 (*Polygonatum* spp.)、シオデ属 (*Smilax* spp.) のようなハーブ薬等いくつかの種の植物の構成成分である。ジオスゲニンは、*in vivo* では抗がん (16)、抗食物アレルギー (17)、ガラクトース投与による酸化ストレス誘発性の記憶障害の抑制効果 (18) および糖尿病性神経障害の改善作用 (19) 等が報告されている。我々は、アルツハイマー病モデルマウス 5XFAD に対するジオスゲニンの効果を検討し、記憶障害改善作用、軸索変性改善作用、amyloid β 抑制作用、tau リン酸化抑制作用があることを見出した (20)。ジオスゲニンのシグナリングについては、血管平滑筋細胞における TNF- α 誘発の Akt, ERK, JNK, p38 のリン酸化抑制 (21)、肝がん細胞における STAT3 リン酸化の抑制 (22) などが報告されていたが、神経系での検討はされていなかった。我々はジオスゲニンの直接の標的分子を明らかにするために、drug affinity responsive target stability (DARTS) (23) 法を用いた。その結果、ジオスゲニンに結合するタンパク質として、1,25D₃-membrane-associated rapid-response steroid binding protein

(1,25D₃-MARRS) が同定された (20)。1,25D₃-MARRS は、生体内の活性型ビタミン D₃ の転写を介さない速い反応を引き起こす時の受容体として同定されたものである (24)。活性型ビタミン D₃ は、転写因子である VDR に作用して genomic response を引き起こす場合はトランス型構造をとっており、一方、細胞膜近傍で別の受容体に作用して non-genomic response を表す場合はシス型構造をとることが知られていた (25)。シス型ビタミン D₃ の構造は、ジオスゲニンのようなステロイド構造と近い。1,25D₃-MARRS はその下流に少なくとも PKA, PKC, ERK, PI3K を動員させることが知られているが (26-28)、これまでに 1,25D₃-MARRS の神経系での機能は報告されていなかった。我々の検討では、ジオスゲニンの 1,25D₃-MARRS を介したシグナルは軸索伸展に関与していることが示され、記憶改善に至る新たな経路として 1,25D₃-MARRS を介した軸索伸展反応が見出されたことになる。

5. 直接結合分子の網羅的な解析法

伝統薬由来の成分のように、生体のどこに (どの細胞の、どの分子に) 作用するのか見当がつかない場合、その化合物のプライマリーな作用点を探索する方法が必要である。

Handa のグループは、ferriteglycidyl methacrylate (FG) ビーズに、結合分子を探したい化合物をコンジュゲートさせ、アフィニティークロマトグラフィ法にて、化合物に結合する細胞内分子を単離同定する方法を開発した (29)。この手法により、サリドマイドの結合分子としてセレブロン (cereblon) が同定された。サリドマイドは催眠鎮静薬として使用されていたが、妊娠初期に服用した場合に重い先天性欠損症 (四肢欠損) や死産が発生したため 1960 年代初頭にその目的での使用は禁止された。サリドマイドが cereblon と結合することで、cereblon によって調節されているユビキチンリガーゼの活性が阻害され、それが催奇形性の原因となることが明らかとなった。この方法では、アフィニティ FG ビーズに結合させた化合物に細胞のライセートを合わせ、洗浄をくり返したのち、ビーズ上の化合物に結合した分子を溶出させる。ビーズに化合物をコンジュゲートさせるために化合物の構造を多少修飾しなければならず、その過程で時間とコストがかかる。またビーズへのコンジュゲートが難しい化合物もあり、あらゆる化合物に適応できるわけではない。

一方、前述した DARTS 法は、化合物に何の処置もせずそのままの状態で行い結合分子を探る方法である (23)。化合物と細胞ライセートを合わせ、化合物とそ

れが結合するタンパク質の複合体を形成させる。化合物が結合したタンパク質は、サーモライシン処置に対する分解抵抗性が増し断片化を免れることから、化合物非存在下でプロテアーゼ処置した対照群と比較して SDS-PAGE 上でバンドとして太く見える。それを切り出し、LC-MS/MS 等で質量パターンを検討することで、そのタンパク質が何であるかという情報を得ることができる。この方法では、化合物が結合したタンパク質と非結合タンパク質を分別する際、洗浄過程が少ないため、比較的低いアフィニティーで結合している場合にも検出が可能であると考えられる。この方法での結合分子同定の例はまだ少ないが、今後の活用が期待される。

6. まとめ

長年にわたる経験と淘汰によって効果のあるものが選抜され伝承されてきたものが伝統薬物である。しかしその有用性に着目している研究者は、研究者全体から見ればまだマイノリティーである。伝統薬物は、それ自体が治療に貢献してきた云わば結実であるが、そのことだけが重要なのではない。薬理活性を導く伝統薬物のシグナリングが、本編で紹介したような方法などで次々と紐解かれていけば、有効な手立てがなかった疾患の治療戦略のカギとなる生体側のファクターが解明されていく。幸いなことに、現代科学の手法を持ってしても、活性の宝庫である伝統薬物からの活性成分の掘り出しはまだ尽きておらず、作用機序の解明に

至っては緒についたばかりである。

新しいパラダイムの芽が、伝統の中にある。

著者の利益相反：東田千尋（Dong-A Pharm）。

文 献

- 1) Newman DJ, et al. J Nat Products. 2012;75:311-335.
- 2) Matsuda LA, et al. Nature. 1990;346:561-564.
- 3) Munro S, et al. Nature. 1993;365:61-65.
- 4) Devane WA, et al. Science. 1992;258:1946-1949.
- 5) Sugiura T, et al. Biochem Biophys Res Commun. 1995;215:89-97.
- 6) Fujita T, et al. J Antibiot. 1994;47:208-215.
- 7) Suzuki S, et al. Transplantation. 1996;61:200-205.
- 8) Matloubian M, et al. Nature. 2004;427:355-360.
- 9) Ploeger B, et al. Drug Metab Rev. 2001;33:125-147.
- 10) Mollica L, et al. Chem Biol. 2007;14:431-441.
- 11) Sun Q, et al. Med Hypotheses. 2013;81:681-685.
- 12) Smolarczyk R, et al. Arch Immunol Ther Exp. 2012;60:391-399.
- 13) Gupta SC, et al. AAPS J. 2013;15:195-218.
- 14) Niu M, et al. Traffic. 2013. doi: 10.1111/tra.12090.
- 15) Lim GP, et al. J Neurosci. 2001;21:8370-8377.
- 16) Yan LL, et al. Exp Oncol. 2009;31:27-32.
- 17) Huang CH, et al. Planta Med. 2009;75:1300-1305.
- 18) Chiu CS, et al. Am J Chin Med. 2011;39:551-563.
- 19) Kang TH, et al. Biol Pharm Bull. 2011;34:1493-1498.
- 20) Tohda C, et al. Sci Rep. 2012;2:535.
- 21) Choi K, et al. Vascu Pharmacol. 2010;53:273-280.
- 22) Li F, et al. Cancer Lett. 2010;292:197-207.
- 23) Lomnick B, et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009;106:21984-21989.
- 24) Nemere I, et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2004;101:7392-7397.
- 25) Dormanen MC, et al. Biochem Biophys Res Commun. 1994;201:394-401.
- 26) Larsson B, et al. J Cell Biochem. 2003;90:901-913.
- 27) Rosso A, et al. Biochimie. 2012;94:146-154.
- 28) Buitrago C, et al. J Cell Biochem. 2012;113:1170-1181.
- 29) Ito T, et al. Science. 2010;327:1345-1350.

著者プロフィール

東田 千尋（とうだ ちひろ）

富山大学 和漢医薬学総合研究所 神経機能学分野、准教授、博士（薬学）。

◇ 1994 年北海道大学大学院薬学研究科博士後期課程薬学専攻修了。

久保山友晴（くぼやま ともはる）

富山大学 和漢医薬学総合研究所 神経機能学分野、助教、博士（薬学）。

◇ 2005 年富山医科薬科大学大学院薬学研究科博士後期課程修了。理化学研究所脳科学総合研究センター研究員を経て、2010 年から現職。

◇ 研究テーマ：中枢神経組織における神経回路網の再生。◇ 趣味：植物観察、スポーツ観戦。