

N-1

生薬成分の抗非アルコール性脂肪肝疾患 (NAFLD) 作用の *in vitro* 評価系の確立と ミャンマー生薬中の抗 NAFLD 成分の探索

Establishment of an *in vitro* assay system for anti-non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) effects
and elucidation of anti-NAFLD components from Myanmar herbal medicine

○張 華弦¹, 浮谷基彦¹, 仁科淳良¹

*Kagen Cho¹, Motohiko Ukiya¹, Atsuyoshi Nishina¹

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is currently one of the most common forms of chronic liver disease and is strongly associated with obesity, type 2 diabetes and insulin resistance. We focused on Myanmar herbal medicines, which have been handed down to have a hepatoprotective effect and attempted to isolate compounds with anti-NAFLD effects from them. As the result, two compounds were isolated and identified as eupomatenoid 7 and piperolein B. Until the day of the presentation, we attempt to elucidate the anti-NAFLD effects and action mechanism of the two isolated compounds.

研究の目的

非アルコール性脂肪肝疾患 (NAFLD) は現在, 慢性肝疾患の最も一般的な形態の一つであり, 肥満, 2 型糖尿病, インスリン抵抗性と強く関連している. NAFLD の一部の患者は, 非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) と呼ばれる非特異的な炎症性浸潤物である肝細胞バルーニングを伴う壊死性炎症を発症する. NASH の発症は脂肪症と酸化ストレスによる炎症であることが提案されているが, 未だ NASH に対応する医薬品は実用化されていない. 一方, ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 (PPAR) は肝脂質代謝と密接に関連しているため, NAFLD で重要な役割を果たすと考えられており, PPAR のアゴニストは NAFLD 治療薬の候補となる可能性がある.

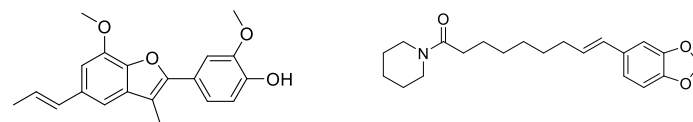
本研究ではまず, 株化肝細胞 (HepG2 細胞) を用いた NAFLD のモデル系を確立した. 次に, 肝機能を改善する伝承を有するミャンマー生薬 (*Piper attenuatum*) の NAFLD モデル系に対する作用を測定し, 活性のある含有成分を単離して生理活性を測定することにより有効成分を特定するとともに, HepG2 細胞の PPAR に対する有効成分の作用を測定することにより作用機構の解明を試みた.

実験方法

1. HepG2 細胞を用いて①最適脂肪酸添加量の把握②細胞内脂質蓄積測定法の最適化を行うことにより NAFLD の *in vitro* 評価系を確立した.
2. 肝保護作用が伝承されている伝統生薬 (*Piper attenuatum*) の各種抽出物を培地に添加し, 上記の実験条件で細胞内脂質蓄積抑制作用を測定することにより *Piper attenuatum* 抽出物の細胞内脂質蓄積抑制作用を明らかにした.
3. 2 で生理活性が認められた抽出物を各種クロマトグラフィーを用いて精製し, 有効成分の単離を試みた.
4. 活性が認められた単離化合物を培地に添加し, 上記の最適実験条件で細胞内脂質蓄積抑制作用を明らかにした.
5. 細胞内脂質蓄積抑制作用を有する成分による細胞内脂質の変動を測定するとともに脂肪蓄積関連タンパク (PPAR α , ATGL, SREBP1) や炎症関連タンパク (NF κ B, COX, PGE2) の変動をウエスタンブロットや ELISA で測定し作用機序の推定を試みた.

結果と考察

HepG2 細胞を用いて被験化合物による細胞内脂質蓄積抑制作用が再現性良く測定できる条件を最適化した. 当該測定法により細胞内脂質蓄積抑制作用を示した抽出物から 2 種の成分 (eupomatenoid 7 と piperolein B) を単離・同定した. 発表当日までに 2 種の単離化合物の HepG2 に対する生理活性と作用機構を明らかにする予定である.



eupomatenoid 7

piperolein B

図1 単離化合物