

パーキンソン症候群における生薬ニンジンのエストロゲン受容体を介した改善効果に関する研究

Estrogen Receptor-Mediated Improvement Effects of Ginseng Components in Parkinson's Syndrome

令和 3 年 度 入 学 亀 卦 川 真 美 (Kikegawa, Mami)

パーキンソン症候群（PDs）は，パーキンソン病（PD）と類似の運動緩慢，振戦，筋強剛を中心とした病態を呈する疾患群である．中でも医薬品の副作用として引き起こされるものを薬剤性パーキンソニズム（DIP）と呼び，主に抗精神病薬などのドパミン受容体遮断に起因するドパミン作用の減弱が要因とされている．DIPに関連が報告されている薬剤は幅広く，未知の D₂ 遮断が関与する薬剤やそれ以外の機序による DIP に関連しうる薬物の系統を探索するために，独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）が公開している医薬品副作用報告データベース（JADER）を用いて，本邦で使用されている医薬品の網

羅的な解析を実施した¹⁾．
JADER で報告された全医薬品と DIP との関連性を推定するため，報告オッズ比

	注目する副作用	それ以外の副作用
注目する医薬品	a	b
それ以外の医薬品	c	d

$$\text{ROR (Reporting Odds Ratio)} = (a/b)/(c/d) = ad/bc$$

表 1. 報告オッズ比の計算式

（Reporting odds ratio: ROR）と Fisher の正確検定による P 値を算出するとともに（表 1），両統計量の散布図（volcano plot）を作成することにより，その関連性を俯瞰的に評価した（図 1）. Volcano plot の右上にプロットされた医薬品は ROR が大きく統計学的信頼

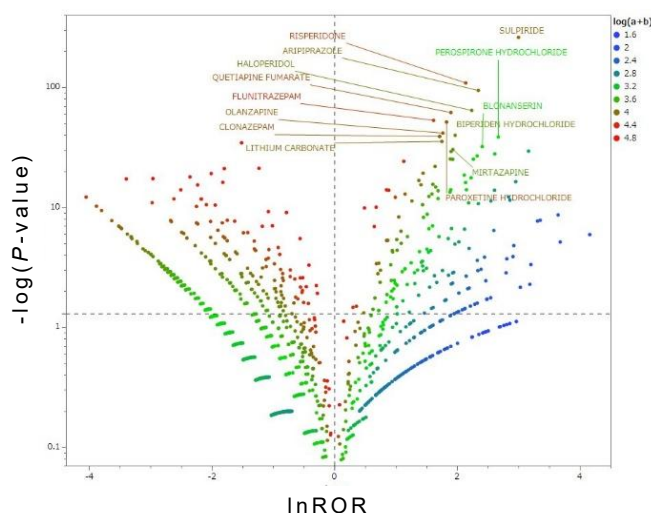


図 1. パーキンソン様事象と関連のある医薬品の観察

性も高いことから DIP との関連が推定される．この領域には DIP の原因として知られるドパミン D₂ 遮断薬に加え，GABA 受容体やセロトニン受容体に作用する医薬品が含まれることから，DIP の発症には複数の受容体が関与している可能性が示唆された．さらに，

女性における年齢ごとの副作用報告割合を解析した結果，閉経後女性の ROR が年齢依存的に大きくなることが判明した．エストロゲンは黒質線条体ドパミンニューロンに有益な効果をもたらし，その神経保護作用が PD の神経変性抑制に寄与する可能性が示唆された²⁾．今回の検討より，DIP の発症にも PD と同様にエストロゲンの低下が影響している可能性が示唆された．以上の背景より，エストロゲンが PD 治療薬になる可能性を見出した．しかしながら，エストロゲンは血栓や心血管イベントによりリスクを上回る治療効果が認められない．そこで，性ホルモン受容体を活性化することが知られる生薬ニンジンに着目した．生薬ニンジンの主成分はギンセノシド Rg1(GRg1)，ギンセノシド Rb1(GRb1)であり，多数のギンセノシド類が含有される．ギンセノシド類には MAPK, PI3K/Akt 経路のシグナル伝達による細胞の修復や ERα を介した神経保護作用が報告されている．また，同成分は血小板凝集を抑制し，血栓形成を防ぐことが報告され，心血管疾患の予防に対する有用性が示唆されている³⁾．ギンセノシド類の多くは配糖体であり，摂取後に体内の消

化酵素によって代謝され、アグリコンである 20(S)-プロトパナキサジオール(PPD)および 20(S)-プロトパナキサトリオール(PPT)となる。したがって、PPD、PPT におけるエストロゲン受容体アゴニスト活性を介した PD および PDs の神経変性改善の可能性を探るため、*in silico* のドッキングスタディとヒト細胞を用いた解析を行った。

1. 生薬ニンジン代謝産物の ER α 活性作用の検証

PPD および PPT のエストロゲン受容体アゴニスト活性を予測するため、以下の 5 つの ER α モデルとのドッキングスタディを実施した。ER α アゴニストに 17 β -エストラジオール (E2) およびジエチルスチルベストロール (DES), 部分アゴニストにレスベラトロール (RES), アンタゴニストにラロキシフェン (RAL), さらに ER α アゴニストおよび ER β アンタゴニストを示すゲニス테인 (GEN) の相互作用モデルと比較した。その結果、PPD, PPT はアゴニストである E2, DES, RES, GEN のモデルで強く相互作用したが、アンタゴニストである RAL のモデルでは強い相互作用を示さなかった (図 2)。これらの結果より、PPD および PPT はアゴニストとして作用

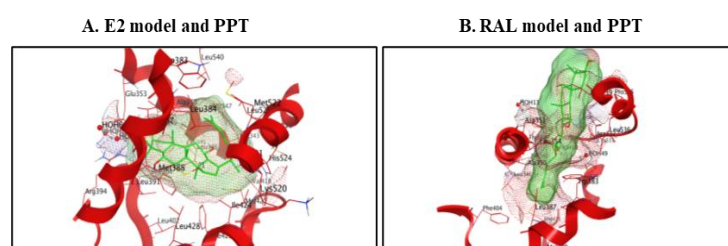


図 2. ER α モデルと PPT の分子間相互作用

することが仮定できた。次に PPD と PPT の ER α 活性を検証するため ER α を高濃度に発現するヒト乳がん細胞 MCF-7 について E2 を指標として細胞増殖実験を行った。MCF-7 にそれぞれ 5 種類の濃度の E2, PPD, PPT を曝露し 48 時間後に細胞内脱水素酵素によるホルマザン色素の比色定量を指標と

する細胞増殖数を測定して評価を行ったところ、E2 に最も強く増殖活性を認め、PPD および PPT にも増殖活性が見られた（図 3）。

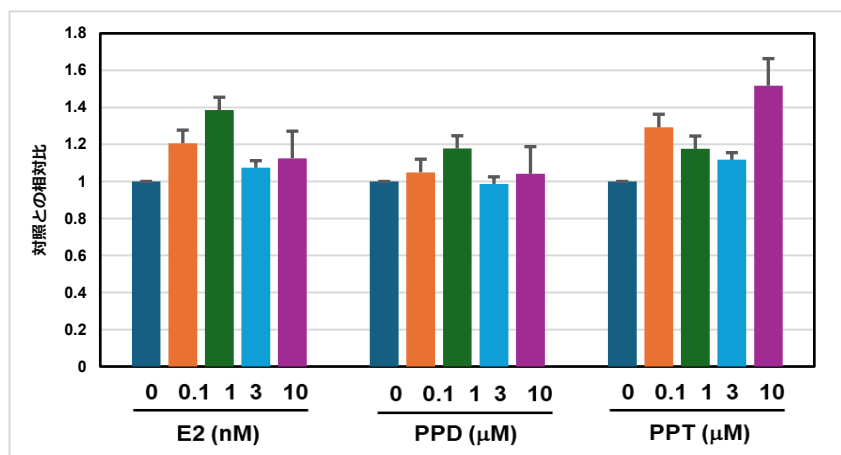


図 3 . MCF-7 細胞における ER α 依存性細胞増殖

2. 生薬ニンジン代謝産物の遺伝子発現プロファイル

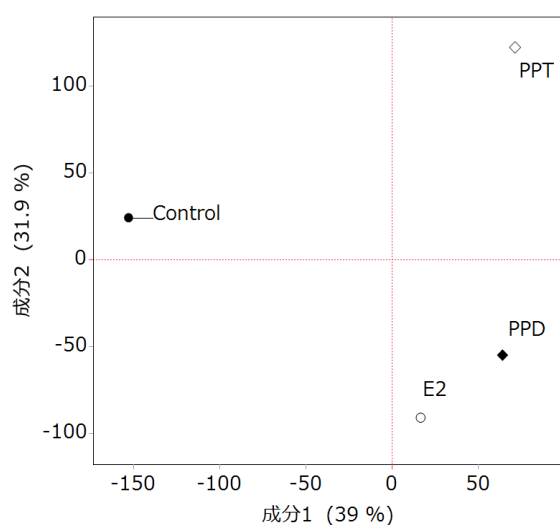


図 4. E2,PPD,PPT が MCF-7 細胞の遺伝子発現プロファイリングに及ぼす影響

PPD および PPT が PD および PDs に対して神経保護作用を持つ可能性を探り、そのメカニズムを解明するため、探索的評価を行った。E2, PPD および PPT を曝露した MCF-7 細胞から全 RNA を抽出し、次世代シーケンシングを行った。

コントロールに比べ 2 倍以上増減のあった遺伝子についてプロファ

イルを解析した。主成分分析では、E2 と PPD が類似した傾向を示したが、PPT の発現プロファイルは異なっていた（図 4）。さらに、遺伝子発現データについて Fold Change > 1.7 または < 0.59 を基準として作成した遺伝子リストをバイオインフォマティクスツール

である DAVID で機能的アノテーションを行った結果，E2，PPD，PPT のすべてにおいて，神経伝達経路に関連する遺伝子群が検出され，特に共通して発現が認められた遺伝子は GABBR2 および PTGER4 であった（図 5）。

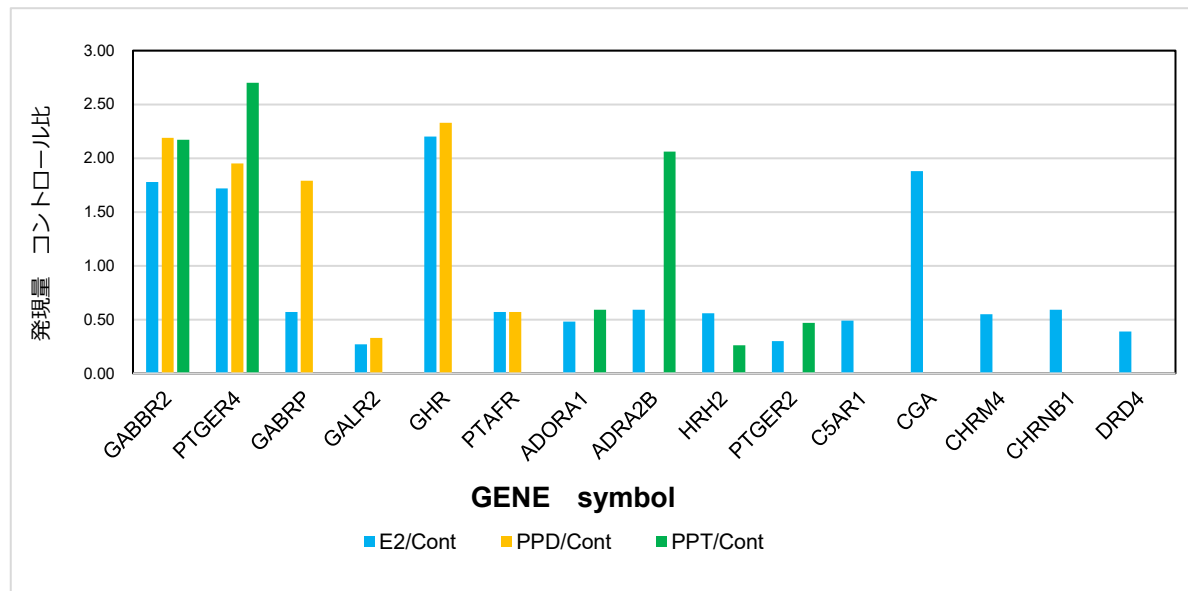


図 5. MCF-7 細胞における E2,PPD,PPT の発現量

GABBR2 は GABA 受容体をコードする遺伝子であり，その発現は鎮静，抗痙攣，抗不安作用を示し PD においても関与が報告されている．PTGER4 はプロスタグランジン D₂ 受容体をコードする遺伝子であり，炎症反応や睡眠に関与している．これらの結果より PPT はより抗炎症作用との関与の可能性が示唆された．さらに，PPD において GABRP は E2 の 3.14 倍発現量が多く特徴的であった．GABRP は GABA_A 受容体をコードする遺伝子であり，鎮静，抗痙攣，抗不安作用に加え睡眠や筋弛緩作用に関与する可能性がある．これらの結果から，PPD，PPT の遺伝子発現プロファイルが E2 とは異なった様々な機序によって神経保護に関与している可能性が示唆された³⁾。

結語

生薬ニンジンの最終代謝物 PPD および PPT はドッキングスタディにおいてアゴニストとして ER α に結合し，特定のコンフォメーションを誘導した．そして，ヒト細胞を用いた *in vitro* 実験によって ER α 依存性増殖活性を示し，GABA 受容体などの遺伝子群が神経伝達経路に関与する可能性が示唆された．これらの結果はエストロゲンとは異なる遺伝子プロファイルを示すものであった．PD の示す病態にはドパミン受容体と GABA 受容体による抑制作用が密接に関与している．これらの結果から，生薬ニンジン代謝物が PD・PDs に対して神経保護作用を示す可能性が示唆された．しかし，遺伝子プロファイルの結果は mRNA 発現データに基づくものであり，これらの遺伝子が実際に神経伝達経路の活性にどのように寄与しているかを評価するためには，さらなる実験的検証が必要である．今後の課題として，生薬ニンジンがエストロゲン受容体や GABA 受容体に関与することで，どのように神経細胞に対し保護作用を示すか詳細に検討していく必要がある．

《 参考文献 》

- 1) Kikegawa M., Sone H., Uesawa Y., *Pharmaceuticals (Basel)* ., **17(8)**:1099 (2024).
- 2) Lee Y.H., Cha J., Chung S.J., Yoo H.S., Sohn Y.H., Ye B.S., Lee P.H. *Sci Rep.*, **9(1)**:10531(2019).
- 3) Luo B.Y., Jiang J.L., Fang Y.F., Yang F., Yin M.D., Zhang B.C., Zhao R.R., Shao J.W. *Pharmacol Res.*, **159**:105031 (2020).
- 4) Kikegawa M., Nakajima A., Yu J., Asai M., Uesawa Y., Sone H., *Gene.*, **813**.146108 (2022).