

骨関連疾患治療薬としての杜仲の可能性

及川 弘崇, 藤川 隆彦

鈴鹿医療科学大学 薬学部 薬学科

総 説

骨関連疾患治療薬としての杜仲の可能性

及川 弘崇, 藤川 隆彦

鈴鹿医療科学大学 薬学部 薬学科

キーワード： トチュウ, 杜仲葉, 骨芽細胞, 軟骨細胞, 骨粗鬆症, geniposidic acid

要 旨

杜仲樹皮は様々な薬理作用を持つ生薬として中国、韓国そして日本の伝統医学において使用されてきた。杜仲樹皮は滋養強壮、腰痛、足腰の倦怠感、肝機能改善、高血圧そして腎虚改善に有効であり、副作用の無い上薬の医薬品として取り扱われている。また、杜仲葉は中国の一部族では食用として用いる。日本においても杜仲葉は食品として取り扱われており、杜仲茶として広く親しまれている。この杜仲茶は高血圧症のコントロールを念頭に入れた特定保健用食品として知られるだけでなく、高コレステロール血症やメタボリックシンドロームといった生活習慣病の改善や予防に働くことが期待されている。一方で、中国伝統医学において杜仲樹皮は腎虚による骨痺や骨痿に有効であることは知られていたが、2000年近く杜仲樹皮または杜仲葉の骨への有用性の検討はなされてこなかった。近年、杜仲樹皮と杜仲葉に抗骨粗鬆症能を有することが、卵巣摘出手術を行ったラットにおいて報告された。これにより、杜仲が骨関連細胞に及ぼす影響に注目が集まりつつある。そこで本稿では、最近の研究報告と、医薬品である杜仲樹皮の骨への影響、または食品である杜仲葉の骨への影響をまとめ、杜仲の骨粗鬆症への有用性を概説する。

1. はじめに

脊椎動物の基本的な特徴として知られる骨格系は、生体の支持や内臓の保護、運動機能の維持に役割を果たしている。それと同時に、生体内無機質の貯蔵庫としての役割を果たしている。中でもカルシウムの貯蔵庫として血中の Ca^{2+} 濃度の恒常性に寄与しており、骨は生体機能維持に欠かすことができない器官として周知されている。

骨格系の形成は2つの異なる様式により構成されている。一つは、胎生期より始まる骨新生や骨折後の治癒過程で認められる軟骨内骨化である。これは、軟骨細胞の分化と成熟を介した骨化様式であり、上腕骨や大腿骨、脛骨のような長管骨などで行われる。もう一方は、未分化間葉系幹細胞より分化した骨芽細胞により骨形成を行う膜性骨化である。これは頭蓋骨や下顎骨の一部、鎖骨で認められる骨化様式である。特に骨新生を遂げた骨では、前述の骨形成と、造血幹細胞由来の破骨細胞による骨吸収を繰り返すことにより、活発な骨の再構築（リモデリング）を行っている。このリモデリングによって骨の形態維持と機能維持、血中への Ca^{2+} 供給を行う。成熟した人体では年間で約20%もの骨がリモデリングにより置き換わり、ダイナミックに生体機能維持を行っている¹⁻³⁾。

このリモデリングでは、骨芽細胞が骨基質を産生し、石灰化を促すことで骨形成を担う。そして、破骨細胞は酸を分泌し、骨基質を溶解して骨吸収を担う。通常はこの両細胞がバランス良く制御されているため、骨形成量と骨吸収量がほぼ等しく維持されている。しかしながら、一旦このバランスが崩壊すると様々な骨代謝性疾患が引き起こされる。破骨細胞の異常で骨吸収が障害され骨形成が過剰となった場合、濃化異骨症や異所性骨化を起こす大理石骨病といった骨硬化性疾患を引き起こす。また、骨代謝疾患として原発性骨粗鬆症がよく知られている¹⁻³⁾。

この原発性骨粗鬆症には骨吸収亢進を原因とする高回転型のものとリモデリング活性の低下を原因とする低回転型の2つの型がある。

高回転型は閉経後骨粗鬆症と呼ばれ、閉経によるエストロゲンの減少により破骨細胞の活性が上昇し、リモデリ

ングバランスが相対的に骨吸収に傾くため、急速な骨量減少が生じる。また、低回転型は老人性骨粗鬆症と呼ばれ、老化に伴う骨芽細胞の低活性による骨形成の低下と、それに付随した破骨細胞の骨吸収活性の低下により、リモデリングが低回転になる。その結果、相対的な骨量が徐々に減少し、骨粗鬆症となる^{1,2)}。

2015年に編集された、骨粗鬆症の予防と治療のガイドラインによると、骨粗鬆症は人口の1割に当たる約1300万人が罹患していると推計される重要な疾病である⁴⁾。したがって、超高齢社会になった日本において、骨粗鬆症は避けては通れない重要な課題の一つとなっており、骨粗鬆症治療のための画期的な治療法や治療薬の開発が期待されている。

また一方では、骨関連細胞の代謝や相互作用がリモデリングに大きく影響していることから、骨関連細胞の各細胞における発生や増殖、分化、成熟そして細胞死のさらなる機構解明と骨粗鬆症治療への応用が期待されている。

2. 骨に影響を及ぼす中医薬

骨粗鬆症の治療法としては、エストロゲン製剤、カルシトニン製剤、イプリフラボン製剤、活性型ビタミン D_3 製剤、ビタミン K 製剤、ビスホスホネート製剤、カルシウム製剤、副甲状腺ホルモン製剤、タンパク質同化ホルモン製剤、モノクローナル抗体製剤といった薬剤による薬物治療が行われている。また、診断については、近年の目覚ましい医療機器の発達により、詳細な病態情報を得られるようになり、骨粗鬆症予備軍を含めた診断がより明確になってきた⁴⁾。しかしながら、骨粗鬆症は現代において明らかになった疾患ではない。古くは紀元前から続く中国医学の証（西洋医学における診断名）として腎虚から生じる骨痺や骨痿として知られている⁵⁾。ここでいう腎とは腎臓のことではなく、内分泌系、泌尿器系、生殖器系、免疫系そして骨格系のことを指し、腎虚とはこれらの機能低下のことをいう。すなわち、腎虚に伴う骨痺や骨痿とは、老化に伴う骨粗鬆症のことである。古来より証として骨粗鬆症が診断されていたということは、それに対応する生薬が存在した。2004年に Yin らは30種の

補腎薬および抗骨痿薬から骨芽細胞様細胞の分化を刺激し、破骨細胞形成を阻害する 8 種の生薬をスクリーニングした。そして、*Dendrobium nobile*, *Dioscorea spongiosa*, *Eucommia ulmoides*, *Lycium chinensis*, *Viscum coloratum* の 5 種の水抽出エキ스가骨芽細胞様細胞と破骨細胞に対して強い作用を示すことを明らかにした⁵⁾。ここで興味深いところは、*Eucommia ulmoides* (杜仲) が骨関連細胞に作用し、骨リモデリングを制御する可能性を持っているところである。

3. 杜仲とは

杜仲とは学名を *Eucommia ulmoides* Oliver といい、中国四川省原産の 1 科 1 属 1 種の落葉性高木である。また杜仲は雌雄異株の非常に珍しい植物である。中国における杜仲は、今から約 2000 年前に編纂された世界最古の医薬書である神農本草経にも記載のある伝統的な薬効植物であり、そこに編纂されている杜仲とは杜仲樹皮を指している。また、杜仲は無毒であり、長く多飲多用しても副作用がなく長寿を助けるという上薬に分類されている。他に、440 年前に中国で編纂された本草綱目にも記載があり、滋養強壮、腰痛、足腰の倦怠感、肝機能改善、腎機能改善、高血圧などへの有効性が記載されている。現在でも中国において、五大漢方薬 (杜仲・芍薬・人参・鹿茸・冬虫夏草) の一つとして杜仲の樹皮が使用されている。

一方日本においても、杜仲樹皮 (トチュウ) が医薬品として取り扱われており、日本薬局方に記載されている。また、杜仲葉は効能効果を謳わない限り食品として取り扱われており、1970 年代より売り出された杜仲葉を煎じた杜仲茶により、その名が広く知られるようになった。

近年では、杜仲茶は特定保健用食品として保健の効能効果を表示することが認められるようになった。このように日本では、トチュウは医薬品、杜仲葉は食品と明確に分けられている。そこで本稿では、杜仲の樹皮および葉が骨に及ぼす影響について着目する。

4. 杜仲樹皮と骨

先述のように、杜仲が骨に影響を及ぼすということは元来知られていたが、実際に杜仲と骨の関連性についての研究報告は、1990 年代後半から活発になってきた。特に、伝統的に医薬品として取り扱われているトチュウが注目された。2009 年に Zhang らは卵巢摘出手術 (OVX: ovariectomy) を施した雌性ラットを用いて、トチュウ粉末を水で懸濁した溶液 (EBS: *Eucommia* Bark Suspension) の効果を検討した。OVX ラットに対して 100, 300, または 500 mg/kg/day の濃度の EBS を 16 週間にわたり経口投与を行ったところ、OVX によって有意に上昇していた Ca^{2+} と P の尿中排泄が、300 および 500 mg/kg/day の高用量投与により有意に防止された。同時に、骨代謝マーカーである Alkaline phosphatase (ALP), Osteocalcin (OC), Deoxypyridinoline (DPD) の OVX による上昇が EBS により有意に抑制された。また、閉経後肥満および子宮萎縮に対しては有意な防止効果は観察されなかったものの、骨密度の減少抑制効果が二重エネルギー X 線吸収測定法により観察され、骨の微細構造の脱落防止効果がマイクロ CT により実証された⁶⁾。このように、OVX により引き起こされる骨密度の低下や骨微細構造の脱落といった器質的病変を閉経後骨粗鬆症とみなすと、トチュウの高用量投与には、骨粗鬆症のための潜在的な治療効果があることが証明された。一方では、4 週間後肢懸垂 (HLS: Hind Limb Suspension) することにより誘発される廃用性誘発骨粗鬆症のモデルラットに対してもトチュウの効果が検討された。EBS からエタノール抽出したエキスを HLS 開始 2 週間前から経口投与を行い、その後 HLS 終了までの 4 週間の計 6 週間継続的な経口投与を行ったところ、HLS により低下する骨密度を骨粗鬆症治療薬であるアレンドロネード投与群と同程度の骨密度まで回復することが観察され、骨密度減少防止効果を有することが実証された。また、HLS により増加する Ca^{2+} や P の尿中排泄量がトチュウエタノール抽出エキスにより増加が防止され、骨代謝マーカーである ALP, OC, DPD も sham 群と同レベルを維持した。さらに、HLS により脱落する骨の微細構造もトチュウエキスにより sham 群と同

レベルを維持することが観察された⁷⁾。これにより、ホルモンバランスにより惹起される骨粗鬆症だけではなく、物理的な影響により惹起される骨粗鬆症にもトチュウの適用が有用であることが証明された。

また、2015年にKimらは、4週齢の成長期のラットに対して、トチュウ粉末よりエタノール抽出された geniposidic acid を含むトチュウエキスをを用いて、30 または 100 mg/kg を 1 日 2 回 4 日間経口投与した。その結果、100 mg/kg/1 回経口投与群において、脛骨の骨端成長板が長軸方向に有意に増加することが明らかとなった。この骨端成長板は軟骨細胞から構成されており、軟骨内骨化を担っている。この軟骨細胞は静止軟骨層から成長軟骨に分化し、II 型コラーゲンをはじめとする軟骨細胞特異的な細胞外マトリックスを放出しつつ増殖し、骨原基を伸長させる。その後、軟骨細胞自身は肥大化軟骨細胞、石灰化軟骨細胞へと分化し骨化を進める。Kim らの報告によると、成長板内における、静止軟骨層、成長軟骨層、肥大化軟骨層の各々において、bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) と insulin-like growth factor-1 (IGF-1) の発現上昇がトチュウエキスによって誘発されることが明らかとなった⁸⁾。BMP-2 は骨組織や軟骨組織の分化誘導を促進する分子として知られており、また、IGF-1 は骨基質に最も豊富に存在する細胞増殖因子であり、脳下垂体から分泌される成長ホルモンにより分泌促進され、骨形成や骨量維持に寄与していることが知られている。トチュウエキス特に geniposidic acid は、この両成長因子の分泌を促進することにより、軟骨内骨化を促進する可能性が明らかとなった⁸⁾。また、2000 年に Li らの研究グループが老化モデルラットに肉芽腫を作成させ、その肉芽腫に対してトチュウエタノール抽出物の影響を、コラーゲンの主成分の一つである hydroxyproline を指標に検討した。その結果、トチュウエタノール抽出の水画分に多く含まれる eucommiol が肉芽腫内の hydroxyproline 量を有意に上昇させた⁹⁾。したがって、トチュウ成分中の eucommiol の軟骨細胞への影響により軟骨内骨化を促進する可能性が示唆される。

骨病変とは異なるが、加齢性の軟骨性疾患の一つの変形性骨関節症においても、トチュウの水抽出物が PI3K/

Akt 経路を阻害し、炎症性サイトカインを減少させ、MMP-3 の分泌を防止することにより、軟骨変性の進行を抑制するという可能性が示唆されている¹⁰⁾。しかしながら、この抗炎症作用と軟骨変性抑制作用がトチュウのどの成分から得られるのかは定かではない。

次に、2014 年に Zhang らはトチュウエキスに含有される成分のうち、pinoresinol や pinoresinol glucoside を含む総 lignan (TL: total lignan) を抽出し OVX ラットに投与した。OVX ラットに 16 週にわたり 20, 40, 80 mg/kg/day の TL (TL20, TL40, TL80) を各々経口投与した結果、閉経後肥満や子宮萎縮に対しての抑制効果は得られなかったものの、TL80 経口投与した群において、Ca²⁺ や P の尿中排泄量や骨代謝マーカーがコントロール群と同程度のレベルを示した。また、OVX による骨密度の減少も完璧ではないものの、有意な減少防止効果が TL80 で観察された。さらに、マイクロ CT の結果からも骨密度減少防止効果が再現されており、若干の骨微細構造の脱落が観察されるものの、estradiol と同程度の防止効果が観察された。それに相関する力学的係数の改善効果も示された。また、ラット新生仔頭蓋骨から立ち上げられた初代培養骨芽細胞に TL を濃度勾配的に最大 300 µg/mL 適用すると、濃度依存的に有意な細胞増殖が観察され、骨芽細胞マーカータンパク質である ALP も濃度依存的に有意に増加した。同時に、培養骨芽細胞のカルシウム沈着も TL 濃度依存的に有意に増加した¹¹⁾。

破骨細胞前駆細胞に発現する RANK と結合することにより、破骨細胞へ分化誘導するサイトカインとして RANKL (Receptor Activator of NF-κB Ligand) が知られているが、この RANKL は骨芽細胞の成熟により分泌される。また、OPG (osteoprotegerin) は RANKL と同様に骨芽細胞から産生され、RANK-RANKL を介するシグナル伝達を阻害し、破骨細胞分化を抑制する。このように、骨芽細胞は骨形成を行うだけでなく、破骨細胞とのクロストークを行うことにより、骨吸収を制御する。

そこで、RANKL と OPG が TL の適用によってどのように変化するのかを検討したところ、培養骨芽細胞への TL 適用によって濃度依存的に RANKL の mRNA は有意に減少し、また、OPG の mRNA は有意に増加した。ト

チュウに含まれる pinoresinol や pinoresinol glucoside と
言った lignan 類が閉経後骨粗鬆症様病態の進行を阻止
するとともに、骨芽細胞の石灰化を促進し、かつ、
RANKL や OPG の分泌をコントロールすることによって、
破骨細胞による骨吸収を抑制的に制御する可能性が示唆
された¹¹⁾。

これらの報告のように、現在医薬品として使用されてい
るトチュウには抗骨粗鬆症作用だけではなく、骨形成促
進作用、特に骨芽細胞に対して促進的な作用が観察され
た。この作用は ALP、OC といった骨形成マーカーの分
泌異常がトチュウエキスによって正常値に維持されること
や、骨密度や骨微細構造の維持によって推察される。ま
た、DPD の分泌異常の正常化による骨芽細胞に対する
促進作用だけではなく、破骨細胞に対する抑制作用も内
包することが推察された。これらの作用は、トチュウ内に
含まれる pinoresinol や pinoresinol glucoside といった
lignan 類が一部制御する可能性があり、骨芽細胞から分
泌される RANKL の減少や OPG の増加により破骨細胞
の分化成熟を抑制することが示唆された（図 1）。また、

骨芽細胞の促進作用だけではなく、軟骨細胞に対しても
促進的な作用を及ぼす可能性があり、長管骨における軟
骨内骨化の促進も抗骨粗鬆症効果に寄与していることが
示唆された（図 1）。しかしながら、これらの報告で使用
されているトチュウエキスは、抽出方法が様々であり、骨
形成作用は確かに存在するが、全てを同一に論述するこ
とはできない。実際に、トチュウの水抽出物の投与の場
合と、lignan 類が多量に含まれるエタノール抽出物を投
与した場合は、骨密度や微細構造の回復は観察される
ものの、骨の硬化度に違いが見られている^{6,7) 11)}。トチュ
ウの水抽出物の投与の場合は硬化度が上昇し、エタノ
ール抽出物の場合は硬化度の回復は観察されない^{6,7)}。こ
のことより、トチュウエキスの抽出方法による含有成分の
違いが、骨組織の構成に影響を与える可能性が示唆され
る。特に lignan 類の投与では骨の硬化度の回復は期待
できない¹¹⁾。したがって、全てを同一に論述するには調
製方法による検討や、有効成分の同定が必要であると考
える。

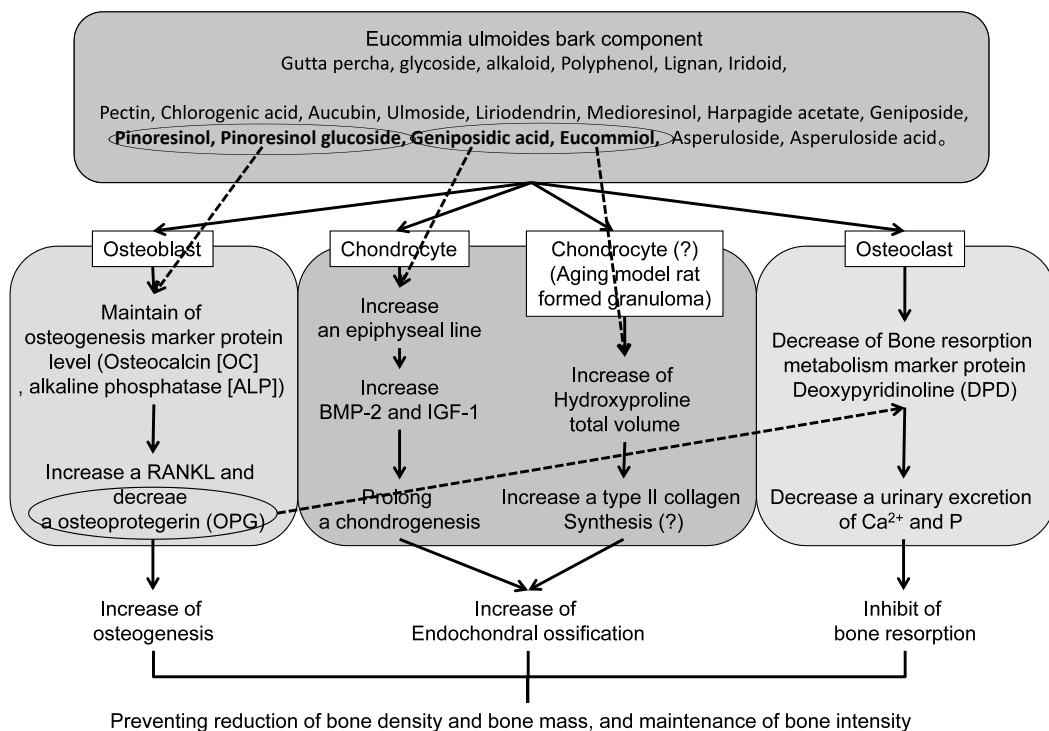


図 1 Schematic model of the effect of *Eucommia ulmoides* bark component for the bone-related cells
トチュウ成分が骨関連細胞に及ぼす影響の模式図

5. 杜仲葉と骨

440 年前に中国で編纂された本草綱目において、杜仲の葉は野菜として食することが記載されている。また、現在においては中国の一部族が食用として粥や脂濃い物と一緒に食しており基本は食品である。日本において杜仲葉は杜仲茶として知られており、近年その保健用の作用が注目されている。杜仲茶には高コレステロール血症、高血圧症、そしてそれらを内包するメタボリックシンドロームといった生活習慣病の改善や予防に効果を示すことが期待されており、杜仲葉と骨に関連する報告は 1990 年代後半から散見される様になった。2011 年に Zhang らは OVX ラットを用いて、杜仲葉抽出物 (ELE: Eucommia Leave Extract) の効果を検討した。OVX ラットに対して、estradiol、または異なる濃度の ELE 懸濁液 1.25 %, 2.5 %, 5 % を 12 週間経口投与した。その結果、OVX により増殖する内臓脂肪における白色脂肪細胞量が、ELE 5 % 投与群において減少することが観察され、抗閉経後肥満効果が確認された。また、ELE 5 % 投与群において、OVX による大腿骨および脛骨の有意な骨密度と骨量の減少防止効果が観察され、同時に骨強度のパラメーターの減少防止効果が観察された。また、ELE 5 % 投与群において、DPD の有意な抑制効果と OC の有意な上昇効果が観察された。以上ことから、高濃度の ELE 経口投与により、骨吸収と骨形成といったリモデリングの恒常性制御を担い、OVX による骨粗鬆症様病態を改善させることが証明された¹²⁾。

高回転型の閉経後骨粗鬆症に対する ELE の影響が報告された一方で、低回転型の老人性骨粗鬆症に対する杜仲葉抽出物の報告もなされた。老人性骨粗鬆症の原因の一つとして、加齢に伴う酸化ストレス増大により骨芽細胞機能を低下させ、骨基質の減少を誘発することが明らかとなっている。そこに着目し、2011 年に Lin らが、骨芽細胞株細胞 MC3T3-E1 を用いて H₂O₂ 誘発性細胞死に対する杜仲葉の影響を検討した。主成分として、caffeotannic acid と geniposide が含まれる杜仲葉エタノール抽出物を、6.25, 12.5, 25, 50, 100 µg/mL に調整し使用した。その結果、50, 100 µg/mL 杜仲葉エタノール

抽出物適用群で 800 µg/mL H₂O₂ 誘発性細胞死が有意に抑制された。また、細胞にアポトーシスを起こさせるシグナル伝達経路を構成する cysteine protease 群の caspase3, 6, 7, 9 が 50, 100 µg/mL 杜仲葉エタノール抽出物適用群で有意に抑制された。これらの結果から、杜仲葉の抗酸化作用が証明され、骨芽細胞の細胞保護が抗骨粗鬆症作用に一部関与していることが示唆された¹³⁾。

また、これまでに杜仲葉抽出物のコラーゲン形成促進作用が報告されている。コラーゲンには 19 種類の型が存在し、中でも I 型コラーゲンは骨芽細胞の分化マーカーとしても知られており、体内では 1 番多く存在している。また、II 型コラーゲンは主に軟骨細胞に存在すると言われている。これらコラーゲンは様々な組織に対して力学的な強度を与えることに寄与しており、骨組織には弾力性を与えている。Li らは老化モデルラットに肉芽腫を作成させ、その肉芽腫を用いて杜仲葉抽出物の影響をコラーゲンの主成分の一つである hydroxyproline を指標に検討を行った。杜仲葉エタノール抽出物の投与により、肉芽腫における hydroxyproline の総量の有意な増加が確認された。さらに、杜仲葉エタノール抽出物から、ヘキサミン画分、酢酸エチル画分、アセトン画分、エタノール画分を各々抽出し、肉芽腫における hydroxyproline 量を検討したところ、アセトン画分より得られた抽出物において、より有意な hydroxyproline 総量の増加が観察された。アセトン画分には、geniposidic acid や aucubin といった iridoid 類が含まれており、geniposidic acid と aucubin において同様の検討を行ったところ、両成分ともに肉芽腫内の hydroxyproline 量を有意に上昇させた¹⁴⁾。

これらの報告のように、現在食品として使用されている杜仲葉にはトチュウと同様に、抗骨粗鬆症作用だけではなく、骨形成促進作用が観察される。また、ELE にはトチュウでは観察されなかった抗閉経後肥満が認められた。両者の間には一部成分に違いがあり、その効能効果にも若干の違いがあることが推察された。

骨芽細胞において、杜仲葉に含まれる caffeotannic acid と geniposide が酸化ストレスにより誘発される細胞死を caspase の下方制御によって抑制することが明らかとなった。さらに、杜仲葉に含まれる geniposidic acid と aucubin

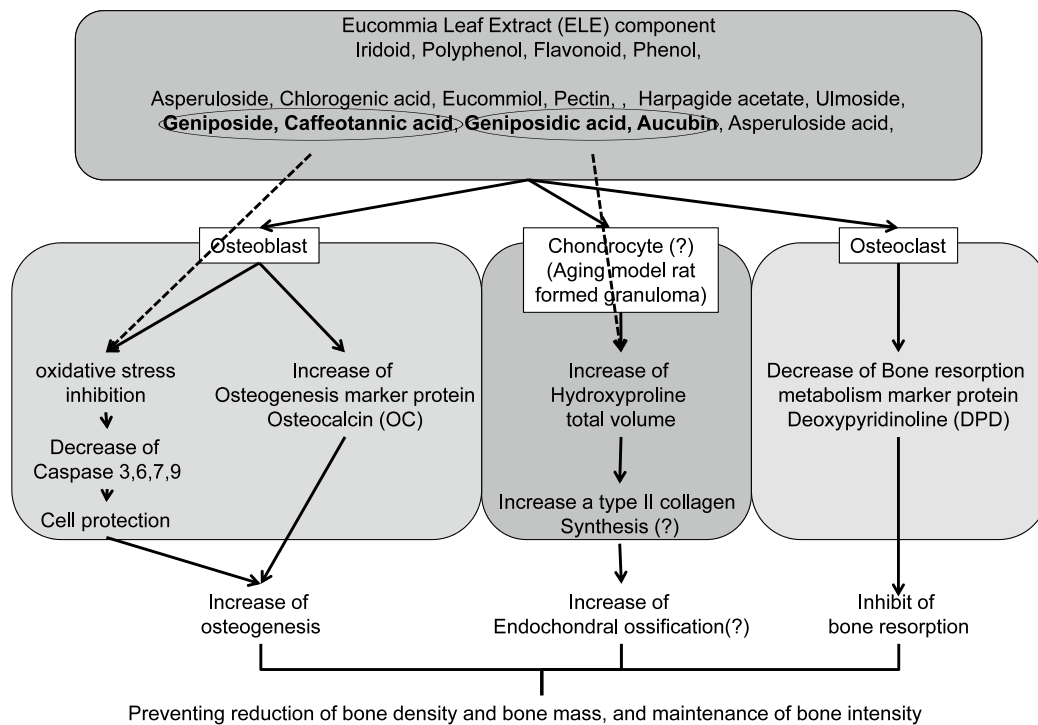


図2 Schematic model of the effect of Eucommia leaf component for the bone-related cells
杜仲葉成分が骨関連細胞に及ぼす影響の模式図

がコラーゲンを構成する hydroxyproline の合成量を増加させることが明らかとなった。したがって、杜仲葉は骨芽細胞の細胞死抑制による骨形成増進と、軟骨細胞におけるコラーゲン生成増進による骨基質増進作用により、抗骨粗鬆症効果に寄与していることが推察された（図2）。骨形成作用は確かに存在するが、今後の展開として杜仲葉成分による生体内のシグナル機構の検討や新規有効成分の解析同定が必要であると考ええる。

6. 樹皮と葉の成分の違い

杜仲の含有成分は、樹皮においては約10%が gutta percha という天然ゴム成分であり、他は glycoside, alkaloid, pectin, polyphenol 類 (chlorogenic acid), lignan 類や iridoid 類が確認されている。lignan 類では pinoresinol, pinoresinol glucoside, liriodendrin, medioresinol が知られており、iridoid 類では aucubin, harpagide acetate, ulmoside, geniposide, geniposidic acid, asperuloside, asperuloside acid が知られている。

葉においては eucommiol, iridoid 類, flavonoid 類, phenol 類が確認されており、中でも iridoid 類の geniposidic acid, asperuloside, asperuloside acid, pectin, polyphenol 類の chlorogenic acid 等が同定されている¹⁵⁾。2003年の報告において、これらの成分で、iridoid 類の geniposidic acid, geniposide, aucubin の骨粗鬆症に対する治療効果が報告されている¹⁶⁾。ヒト骨肉腫株細胞である MG-6 と Saos-2 を骨芽細胞様細胞として、geniposidic acid, geniposide, aucubin の影響を検討したところ、強い骨芽細胞の増殖作用が観察されている。また、マウス骨髄細胞とマウス骨髄間質株細胞である ST-2 の共培養系から破骨細胞系を立ち上げ geniposidic acid, geniposide, aucubin を適用したところ、破骨細胞の増殖を強く抑制した¹⁶⁾。また、トチュウメタノール抽出物からのヘキサン画分、クロロホルム画分、および酢酸エチル画分から得られた抽出物にはマウス下垂体細胞から成長ホルモン（全身を回って IGF-I 放出させる）の強力な誘導が観察された。すなわち、トチュウの抽出画分の geniposidic acid, geniposide, または aucubin が、骨形成を促進するための骨芽細胞の活性

化に関与し、そして破骨細胞活性の抑制により骨溶解を阻害することが示唆された。また、geniposidic acid, geniposide, aucubin は軟骨細胞増加に寄与する IGF-I を放出させる成長ホルモン分泌増加が示唆されるため、軟骨内骨化を促進させる可能性が示された。ここで着目したい点は、この報告で抽出されたトチュウエタノール抽出物には geniposidic acid, geniposide, aucubin が含有されているのに対して、杜仲葉抽出物には geniposide, aucubin が含有されない事と、含有される geniposidic acid の量がトチュウに含有される量より多い点である。これは、トチュウまたは杜仲葉の使用量や抽出方法によって、含有する有効成分に差異が起こることによる。確かにこれらの iridoid 類の 3 成分が骨代謝にポジティブな影響を与える可能性は示されたが、高用量の geniposide を投与すると臓器肥大の副作用が誘発される事が報告されている⁹⁾。一方で、geniposidic acid と aucubin の高用量投与では臓器肥大は誘発されない¹⁴⁾。このような有効成分量による作用の違いを考えた場合、杜仲の骨代謝関連疾患への臨床適用には、使用部位、抽出方法、そして投与方法または投与量のさらなる検討が必要であると考えられる。

7. 最近の研究

これまで行われてきたほとんどの実験手法は、*in vivo* では卵巣摘出ラットや老化モデルラットで作成した肉芽腫、*in vitro* では骨芽細胞様細胞株や骨芽細胞と破骨細胞の共培養系を用いた研究であり、単離された骨関連細胞での初代培養の研究は少ない。一方で、食品である杜仲葉成分の報告は、杜仲葉抽出成分の投与により老化モデルラットの肉芽腫内コラーゲン量が増加するという報告と、ELE 投与による卵巣摘出ラットの骨粗鬆症防止効果の報告である。具体的な骨関連細胞についての研究は未だ不十分であったため、著者はラット由来初代培養骨芽細胞とラット由来初代培養軟骨細胞に対して ELE を適用し、細胞の分化成熟への影響を検討した。

出生 1 日後のラット新生児の肋軟骨から初代培養軟骨細胞を立ち上げ 10 µg/mL の ELE を恒常的に適用し、最大 28 日目まで培養したところ、分化軟骨細胞に相当する

時期には ELE 適用による有意な細胞増殖が観察され、肥大化軟骨細胞に相当する時期には ALP 活性が ELE 適用により有意に増加した。また、石灰化軟骨細胞に相当する時期には ELE 適用により、Ca²⁺ 濃度の有意な上昇と Ca²⁺ 蓄積の上昇が観察された。このことより、軟骨細胞に対する促進的な作用が確認された (図 3)。

また、出生 1 日後のラット新生児の頭頂骨から初代培養骨芽細胞を立ち上げ 10 µg/mL の ELE を恒常的に適用し、最大 28 日目まで培養した。その結果、骨前駆細胞後期から、前骨芽細胞、骨芽細胞に分化成熟するまでに ELE は有意な影響を及ぼさなかったが、骨前駆細胞後期に相当する時期において、RANKL と Cola1 (コラーゲン I 型 a) の有意な上昇が観察された。したがって ELE は、間葉系幹細胞から骨前駆細胞までの間に促進的に影響を与える可能性が示唆された。また、骨化に必要な ALP 活性の有意な上昇と Ca²⁺ 濃度の有意な上昇が前骨芽細胞に相当する時期に観察された。したがって、ELE は軟骨細胞の分化から石灰化までに促進的に影響を与え、骨芽細胞に対しては間葉系幹細胞から骨前駆細胞の分化増殖に影響し、結果的に前骨芽細胞期での Ca²⁺ 蓄積に影響を与えることが明らかとなった (図 4)。また、geniposidic acid と asperuloside の単剤適用で同様の検討を行ったところ、ELE 適用と同様の結果が得られた。特に asperuloside の骨関連細胞への影響解析は未だ検討されていない分野であり、今後のさらなる分子機構の解明が期待される。

8. おわりに

トチュウと杜仲葉の骨に対する影響が解明されつつある。その有効な成分として、トチュウ抽出物では pinoresinol や pinoresinol glucoside を含む lignan 類と geniposide, aucubin, geniposidic acid を含む iridoid 類の可能性が示唆されている。一方、杜仲葉抽出物では geniposidic acid や asperuloside といった iridoid 類が影響していることが示唆されている。杜仲緑葉の水抽出成分を解析すると、geniposidic acid, asperuloside, chlorogenic acid が多く含まれていることが知られている¹⁵⁾。このこと

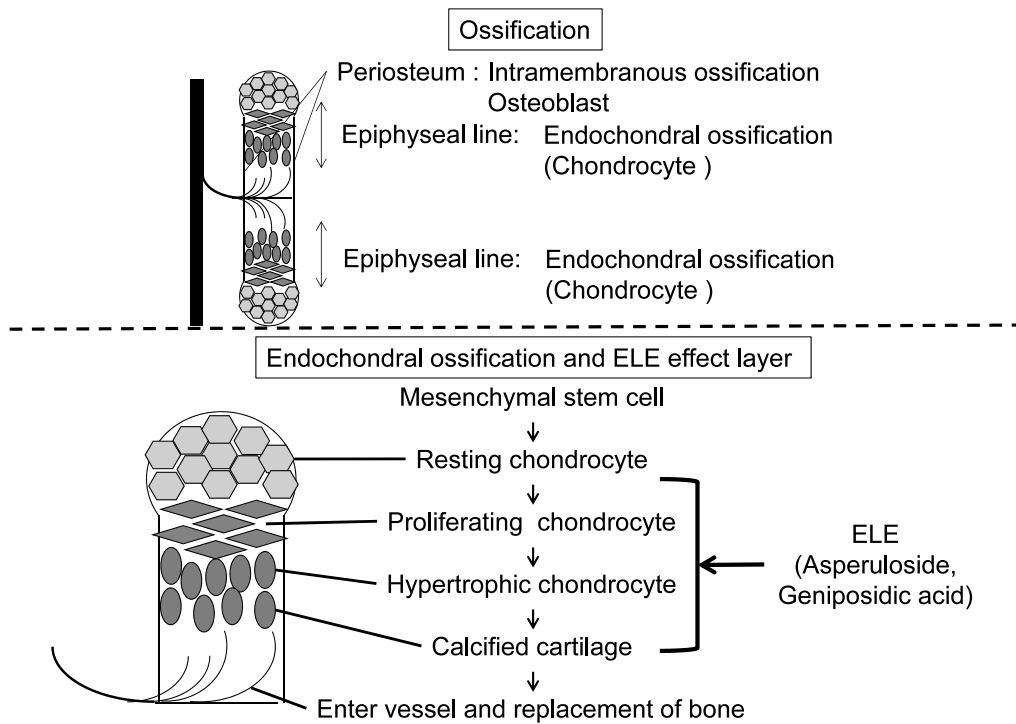


図3 Schematic model of the effect of ELE for endochondral ossification
軟骨内骨化の様式と杜仲葉抽出物が軟骨内骨化に及ぼす影響の模式図

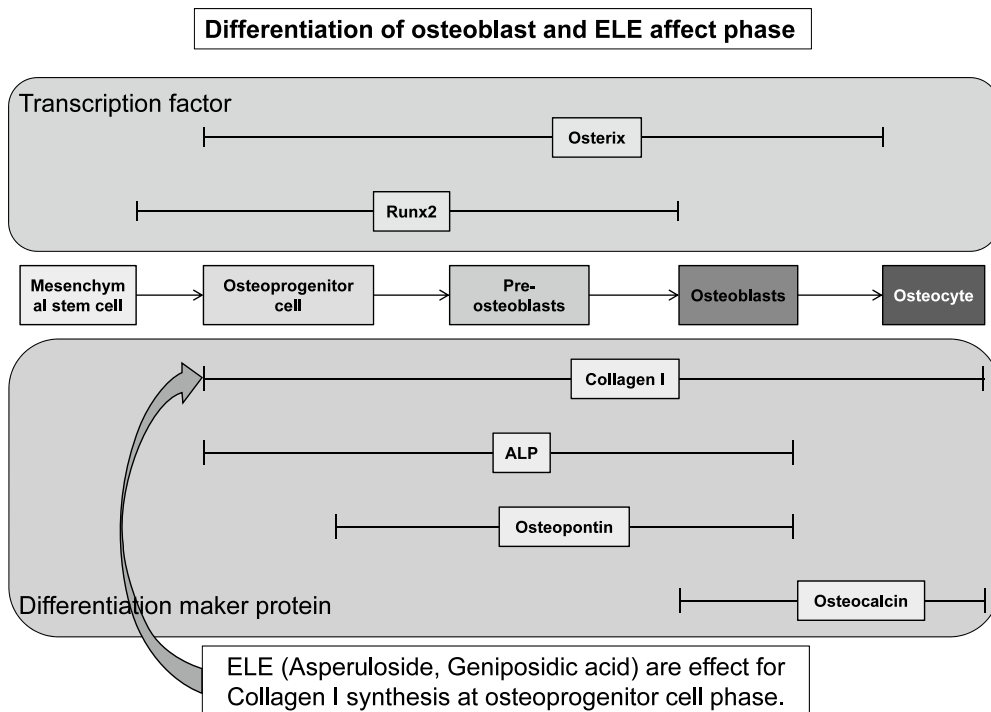


図4 Schematic model of the effect of ELE for osteoblast
骨芽細胞の分化フェーズと杜仲葉抽出物が影響を与える時期の模式図

から, geniposidic acid や pinoresinol, または asperuloside の単剤解析により, 骨粗鬆症を始めとした骨形成不全を誘発する病態治療薬としての応用が期待される。また, 杜仲葉は食品として取り扱われており, 特にトクホである杜仲茶は簡易で安価に入手ができる。予防薬理学の観点から, 食品としての杜仲葉を摂取し, 健康管理を行うことによって, 未病の段階からの骨粗鬆症のコントロールが可能と考えられる。さらに, 超高齢社会の日本における骨粗鬆症患者の QOL の改善につながると考えられる。

参考文献

- 1) Siddiqui JA, Partridge NC.: Physiological Bone Remodeling: Systemic Regulation and Growth Factor Involvement. *Physiology (Bethesda)*. 31(3), 233-245, 2016.
- 2) Kini U, and Nandeesh B.N.: *Physiology of Bone Formation, Remodeling, and Metabolism. Radionuclide and Hybrid Bone Imaging*. Fogelman I, Gnanasegaranm G, van der Wall H. (Editors), Springer, Germany, 29-57, 2012.
- 3) Hadjidakis DJ, and Androulakis IL.: Bone remodeling. *Ann N Y Acad Sci*. 1092, 385-396, 2006.
- 4) 折茂 肇 (委員長): 骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン 2015 年版. 骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン作成委員会 (日本骨粗鬆症学会 日本骨代謝学会 骨粗鬆症財団), 日本, 2015.
- 5) Yin J, Tezuka Y, Kouda K, et al.: Antiosteoporotic activity of the water extract of *Dioscorea spongiosa*. *Biol Pharm Bull*. 27(4), 583-586, 2004.
- 6) Zhang R, Liu ZG, Li C, et al.: Du-Zhong (*Eucommia ulmoides* Oliv.) cortex extract prevent OVX-induced osteoporosis in rats. *Bone*. 45(3), 553-559, 2009.
- 7) Pan Y, Niu Y, Li C, et al.: Du-zhoung (*Eucommia ulmoides*) prevents disuse-induced osteoporosis in hind limb suspension rats. *Am J Chin Med*. 42(1), 143-155, 2014.
- 8) Kim JY, Lee JI, Song M, et al.: Effects of *Eucommia ulmoides* extract on longitudinal bone growth rate in adolescent female rats. *Phytother Res*. 29(1), 148-153, 2015.
- 9) Li Y, Kamo S, Metori K, et al.: The promoting effect of eucommiol from *Eucommiae* cortex on collagen synthesis. *Biol Pharm Bull*. 23(1), 54-59, 2000.
- 10) Xie GP, Jiang N, Wang SN, et al.: *Eucommia ulmoides* Oliv. Bark aqueous extract inhibits osteoarthritis in a rat model of osteoarthritis. *J Ethnopharmacol*. 162, 148-154, 2015.
- 11) Zhang R, Pan YL, Hu SJ, et al.: Effects of total lignans from *Eucommia ulmoides* barks prevent bone loss in vivo and in vitro. *J Ethnopharmacol*. 155(1), 104-112, 2014.
- 12) Zhang W, Fujikawa T, Mizuno K, et al.: *Eucommia* leaf extract (ELE) prevents OVX-induced osteoporosis and obesity in rats. *Am J chin Med*. 40(4), 735-752, 2012.
- 13) Lin J, Fan YJ, Mehl C, et al.: *Eucommia ulmoides* Oliv. Antagocizes H₂O₂-induced rat osteoblastic MC3T3-E1 apoptosis by inhibiting expressions of Caspases 3, 6, 7, and 9. *J Zhejiang Univ Sci B*. 12(1), 47-54, 2011.
- 14) Li Y, Sato T, Metori K, et al.: The promoting effects of geniposidic acid and aucubin in *Eucommia ulmoides* Oliver leaves on collagen synthesis. *Biol Pharm Bull*. 21(12), 1306-1310, 1998.
- 15) Hirata T, Ikeda T, Fujikawa T, et al.: Chapter 8-The Chemistry and Bioactivity of *Eucommia ulmoides* Oliver Leaves. *Studies in Natural Products Chemistry, Volume 41, ELSEVIER*, 225-260, 2014.
- 16) Ha H, Ho J, Shin S, et al.: Effects of *Eucommiae* Cortex on osteoblast-like cell proliferation and osteoclast inhibition. *Arch Pharm Res*. 26(11), 929-936, 2003.

The possibility of *Eucommia ulmoides* as a drug for treatment of bone-related disorders

Hiroataka OIKAWA, Takahiko FUJIKAWA

Pharmaceutical Science, Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Suzuka University of Medical Science

Key words: eucommia cortex, eucommia leaf, osteoblast, chondrocyte, osteoporosis, geniposidic acid

Abstract

Eucommia ulmoides bark has been used in traditional medicine as an herbal medicine in China, Korea and Japan for its various pharmacological effects. And *Eucommia ulmoides* bark has been known for having no side effect pharmaceutical agents. In addition, the *Eucommia* leaf has been eaten as an edible plant by some tribes in China. In Japan also, the *Eucommia* leaf has been treated as drink and it has been widely known as Du-Zhong tea. The Du-Zhong tea has been known as a beverage for specified health, which is aimed to control hypertension. It is expected to improve and prevent life style diseases such as a hypercholesterolemia and metabolic syndrome. Traditionally, *Eucommia ulmoides* bark in the traditional Chinese medicine has been known to be effective for bone numbness by renal. However, *Eucommia ulmoides* bark and *Eucommia* leaf has never been investigated in terms of its usefulness against the bone. In recent years, *Eucommia ulmoides* bark and *Eucommia* leaf extract has been reported for its anti-osteoporosis ability in ovariectomy rat. In addition, the effect of *Eucommia* extract has been evidenced for bone related cells maturation. As a result, the *Eucommia* is collecting a lot of attention to the effects on the bone related cells. This paper reviews the usefulness for the osteoporosis of *Eucommia* on the basis of the recent research report.

略 歴

及川 弘崇（博士〔薬学〕） 鈴鹿医療科学大学 薬学部 薬学科 助教

学 歴：

- 平成 15 年 北陸大学 薬学部 薬学科卒業
- 17 年 金沢大学大学院 自然科学研究科 生命薬学専攻 博士前期課程修了
- 20 年 金沢大学大学院 自然科学研究科 生命科学専攻 博士後期課程修了

職 歴：

- 平成 18 年 セントルイス大学 医学部 小児科医療遺伝学講座ムコ多糖症研究室（MO, USA）リサーチフェロー
- 22 年 セントルイス大学 医学部 小児科医療遺伝学講座ムコ多糖症研究室（MO, USA）博士研究員
- 22 年 シンガポール臨床科学研究所 Growth, Development and Metabolism, Neuroepigenetics
（Singapore, Singapore）博士研究員
- 26 年 鈴鹿医療科学大学 薬学部 薬学科 助手
- 28 年 鈴鹿医療科学大学 薬学部 薬学科 助教

受賞歴：

- 平成 18 年 BP/NP 2005 Osaka Outstanding Paper Award
- 18 年 International Society for Neurochemistry Travel Award
- 19 年 International Morquio Organization scholarship
- 20 年 International Morquio Organization scholarship
- 21 年 International Morquio Organization scholarship
- 22 年 International Morquio Organization scholarship
- 24 年 6th annual meeting of the Japanese Society for Epigenetics Travel support grant
- 26 年 日本杜仲研究会第 10 回研究助成受賞

学会活動：

- 日本薬学会（正会員）
- 日本薬理学会（正会員）
- 日本エピジェネティクス研究会（正会員）
- International Society for Neurochemistry（正会員）
- Society for Neuroscience（正会員）

主な研究分野：

- (1) 外部環境因子のインプットにより発達する哺乳動物脳の研究
（Neuroepigenetics, 薬理学, 神経科学, 分子生物学）
- (2) 杜仲葉抽出物の骨関連細胞への影響解析
（骨薬理学, 分子生物学）