

トピックス

骨格筋の健康におけるメトキシフラボンの有用性

The beneficial effect of methoxyflavones on skeletal muscle health

はじめに

植物色素として知られていたフラボノイドに生理活性があることが1936年に初めて報告された¹⁾。ビタミンCは毛細血管壁の透過性と脆弱性が増加する病態に対して効果がないが、Hungarian red pepper または lemon juice の抽出物を投与するとこの病状が回復した。毛細血管壁の透過性と脆弱性が増加する病態を回復させる物質は、Hungarian red pepper や lemon juice の抽出物の分画において、フラボノイド (flavone または flavonol glycoside) の画分で見つかった。この活性化物質のフラボノイドは動物の生命に重要な役割を果たすことからビタミンPとの命名が提案されたが、後にビタミンPでの欠乏症がみられず、ビタミンPがビタミンであることは否定された。ポリフェノールの代表格として位置づけられるフラボノイドは、植物が太陽光からのストレスを軽減するために紫外線を吸収し、活性酸素を除去する役割を持ち、また外敵から身を守るために消化酵素を阻害する役割を持っていると考えられる。これらの背景から、フラボノイドの生理活性についての研究は、抗酸化作用や酵素の阻害剤に着目して進められてきた。しかし近年、10,000以上のフラボノイドが発見され、上記とは異なる役割でフラボノイドが疾病予防に有益であることを示す科学的な証拠が蓄積されてきている。

フラボノイドは2個のベンゼン環(A環とB環)が3個の炭素原子(C3)で結合し、C3が酸素原子を含むヘテロ環(C環)としてA環に縮合した基本構造からなる。フラボノイドはC環の構造から、flavanones, flavones, flavonols, flavan-3-ols, anthocyanins および iso-flavones の6つの主要なサブグループに分類される。植物中では多くのフラボノイドは糖が結合した配糖体 (glycoside) として存在し、糖が脱離したアグリコン (aglycon) として存在することは少ない。フラボノイドはアグリコンの状態では水に溶けにくく、メチル基が導入されるとさらに脂溶性が高まる。

日本では黒ショウガと呼ばれる *Kaempferia parviflora* はショウガ科に属する植物であり、タイにおいて民間薬や食品として使われてきた。これまでに、*K. parviflora* の根茎の抽出物に以下のような生理活性があることが報告されている：(a) P-糖タンパク質機能に及ぼす阻害効果²⁾；(b) 抗プラスモジウム活性、抗菌活性および抗マイコバクテリア活性³⁾；(c) がん細胞に対する細胞毒性効果⁴⁾；(d) 抗コリンエステラーゼ活性⁵⁾；(e) 抗アレルギー活性⁶⁾；(f) 多剤耐性関連タンパク質の機能に及ぼす抑制効果；(g) 抗胃潰瘍効果⁷⁾；(h) 抗肥満効果⁸⁾；(i) 催淫活性⁹⁾；(j) 筋肉細胞におけるATP産生とグルコース取り込みに及ぼす促進効果¹⁰⁾。*K. parviflora* の根茎から少なくとも10種類のメトキシフラボン(6種の5,7-ジメトキシフラボン(DMF)誘導体と4種の5-ヒドロキシ-7-メトキシフラボン(HMF)誘導体)がこれまでに単離されており、これらの成分の機能性に注目が寄せられている(図1)。本稿ではメトキシフラボンの骨格筋の健康における有用性について紹介する。

メトキシフラボンと骨格筋

骨格筋は健常人で最大の組織であり、身体を支え、動かすという機能の他に、グリコーゲンを貯蔵し、あるいはグルコースや脂質を代謝する役割を担う。したがって、骨格筋量の低下は活動量の低下だけでなく、肥満や2型糖尿病に罹患するリスクを増加させる。骨格筋量を低下させる要因として加齢がある。サルコペニアと呼ばれる加齢に伴った骨格筋の萎縮は全てのヒトに訪れる現象であるが、疾病状態(心疾患や内分泌疾患など)や栄養状態(栄養不足など)によって萎縮の程度は変わる。一方で、骨格筋の萎縮は長期の寝たきりによる不活動によっても誘発されるが、デスクワークを主体とする座りがちなライフスタイルによる活動量の低下によっても誘発される。「平成28年国民健康・栄養調査結果の概要(厚生労働省)」によると、20歳から59歳までの全ての年代において運動習慣のある者の割合は男女ともに低く、慢性的な運動不足と言える。

つまり慢性的な運動不足も考慮すると、骨格筋量の低下が危惧されるのは現代においては全ての年代のヒトが対象となる。したがって、骨格筋量の維持・増加は減少した運動能力やエネルギー代謝能を回復させるための対策となりうるため、多くの研究が骨格筋の健康を改善するために有効な食品成分の発見と生化学的機能に着目している。

加齢に関連した身体活動量の低下の要因として、フリーラジカルによる酸化損傷がある¹¹⁾。血中の抗酸化剤の濃度は身体能力や体力と正に相関しており、ビタミンCの摂取が高齢者の筋力と関連する¹²⁾。Wattanathornら¹³⁾は*K. parviflora*に抗酸化活性があるので、*K. parviflora*が高齢者の体力や抗酸化状態を改善するとの仮説を立て、*K. parviflora*抽出物(25 mg または 90 mg の*K. parviflora*根茎抽出物を含むカプセル)を45名の健康な高齢者(60歳以上)に8週間摂取させ、4週間おきに体力テスト(30秒間の椅子からの立ち上がりテスト、握力テスト、6分間歩行テスト、タンデム姿勢保持テスト)と酸化ストレス状態(malondialdehyde量と以下の抗酸化酵素活性: superoxide dismutase, catalase および glutathione peroxidase)を測定した。介入試験の結果は、90 mg の*K. parviflora*抽出物を8週間摂取すると、体力に関しては握力テストとタンデム姿勢保持テスト(バランスの保持を測定するテスト)における数値は影響を受けなかったが、30秒間の椅子からの立ち上がりテスト(脚力を測定するテスト)と6分間歩行テスト(運動耐容能を測定するテスト)における数値は増加し、酸化ストレス状態に関しては3つの抗酸化酵素活性が増加し、malondialdehyde量が低下した。これらのことから、*K. parviflora*抽出物摂取による酸化ストレスの軽減が体力改善に一部寄与しており、*K. parviflora*抽出物が高齢者の健康にとっては有益なサプリメントとなりうる可能性があると示唆されている。一方で、Promthepら¹⁴⁾はアスリートの体力に及ぼす*K. parviflora*の効果を検証した。スポーツスクールで日常的にトレーニングしている60名のサッカー選手(15~18歳)に*K. parviflora*抽出物(180 mg の*K. parviflora*根茎抽出物を含むカプセル)を12週間朝食前に摂取させ、4週間おきに体力測定(左右の握力テスト、背筋力テスト、脚力テスト、長座位体前屈テスト、40ヤードテクニカルテスト、50 m スプリントテストおよび心肺フィットネステスト)を実施した。介入試験の結果は、プラセボ群に比べて*K. parviflora*抽出物摂取群では右手の握力が4週間後に増加し、左手の握力は8週間後に増加したが、他のテストで有意な効果は認められなかった。しかし、心肺フィットネステストに関し

ては12週間後に最大酸素摂取量(mL/kg/min)が 45.09 ± 9.88 から 51.05 ± 8.40 ($p = 0.05$)に増加傾向を示した。以上のことから、Promthepらは12週間の*K. parviflora*抽出物の摂取がサッカー選手の体力を増強するかもしれないと結論づけている。上記の2つのヒトへの介入試験で使用された*K. parviflora*根茎抽出物には、5,7-dimethoxyflavone (2.1%), 5,7,4'-trimethoxyflavone (3.1%) および 3,5,7,3',4'-pentamethoxyflavone (2.3%) の3種類のDMF誘導体が含まれているが、HMF誘導体を含む他のメトキシフラボン誘導体に関する情報はない。

これまでにメトキシフラボンが骨格筋量に及ぼす影響に関する情報はなかったが、Leeら¹⁵⁾は*K. parviflora*根茎抽出物の骨格筋量に及ぼす試験を実施した。*K. parviflora*根茎抽出物(14.1% DMF誘導体を主要な生理活性物質として含有するが、HMF誘導体に関する情報はない)を1日あたり100 mg/kg (KPE100群)または200 mg/kg (KPE200群)の割合で8週齢の2型糖尿病・肥満モデルマウス(C57BL/6J-ob/ob)に8週間経口投与したところ、コントロール群に比較してKPE100群とKPE200群では走行距離が延び、また握力が増加した。筋重量に関しては、KPE投与群ではKPE濃度に依存して腓腹筋が肥大し、筋重量は増加した。骨格筋においてPI3K/Akt/mTOR経路は主要なタンパク質合成経路であり、ユビキチンリガーゼであるAtrogin-1とMurflはユビキチン-プロテアソーム系を介したタンパク質分解に寄与する。Leeら¹⁵⁾はKPE100群とKPE200群ではPI3K, Akt, mTORのリン酸化レベルが増加し、Atrogin-1とMurflのmRNAの発現レベルが低下していたことから、KPEがタンパク質合成促進とタンパク質分解抑制を誘発することで筋量の増加に寄与すると推測している。

「はじめに」で述べたように、*K. parviflora*根茎抽出物には6種の5,7-ジメトキシフラボン(DMF)誘導体の他に、4種の5-ヒドロキシ-7-メトキシフラボン(HMF)誘導体が含まれる。Onoら¹⁶⁾は図1に示す10種のメトキシフラボンがマウス由来C2C12筋管細胞の肥大に及ぼす影響を検討し、6種のDMF類は筋肥大に影響を及ぼさないが、4種のHMF類はそれぞれが筋肥大を誘発すると報告した。HMF類に関して構造-活性相関を評価したところ、5位のOH基と7位のメトキシ基の両方の存在が筋肥大誘発に必要であった(図2)。*K. parviflora*根茎抽出物から、6種のDMF類を含まず、4種のHMF類を含むHMF類混合物(HMF-mix)を調製し、老化促進モデルマウス(SAMP1)に0.1% HMF-mixを含むAIN-76を24週齢の時点から4週間摂取させた。HMF-mixは5-hydroxy-3,7,3,4-tetrame-

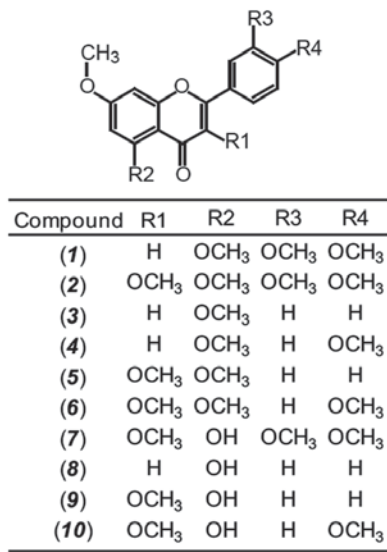


図1 *Kaempferia parviflora* 由来のメトキシフラボン類の化学構造

(1) 5,7,3',4'-tetramethoxyflavone, (2) 3,5,7,3',4'-pentamethoxyflavone, (3) 5,7-dimethoxyflavone, (4) 5,7,4'-trimethoxyflavone, (5) 3,5,7-trimethoxyflavone, (6) 3,5,7,4'-tetramethoxyflavone, (7) 5-hydroxy-3,7,3',4'-tetramethoxyflavone, (8) 5-hydroxy-7-methoxyflavone, (9) 5-hydroxy-3,7-dimethoxyflavone, and (10) 5-hydroxy-3,7,4'-trimethoxyflavone.

thoxyflavone ([7] 3.9%), 5-hydroxy-7-methoxyflavone ([8] 22.1%), 5-hydroxy-3,7,dimethoxyflavone ([9] 20.6%) および 5-hydroxy-3,7,4-trimethoxyflavone ([10] 29.7%) から構成されており, 76% の HMF 類を含有していた. コントロール食を摂取させた SAMP1 (SMP1-Con 群) に比べて HMF-mix を摂取させた SAMP1 (SAMP1-MF 群) ではヒラメ筋が肥大し, 筋重量が増加した. ヒラメ筋重量の増加に伴い, 持久力に關与する遅筋型 (I 型) のミオシン重鎖タンパク質の量が増加した. 骨格筋量は筋線維のタンパク質の合成と分解のバランスによって調節されているが, 4 種の HMF 類それぞれと HMF-mix は C2C12 筋管細胞においてタンパク質合成を促進した. これらのタンパク質合成促進が細胞外 Ca²⁺ 非存在下でも起こったが, 細胞内 Ca²⁺ キレーター (BAPT-AM) によって阻害された. このことから, 4 種の HMF 類によるタンパク質合成には細胞内 Ca²⁺ が關与しているようである. しかし, HMF 類がタンパク質合成を促進する詳細な分子機構は不明であり, 今後の解明が待たれる.

おわりに

K. parviflora の根茎抽出物が有する新しい生理機能として, 骨格筋に対する有用性が期待される. しかし,

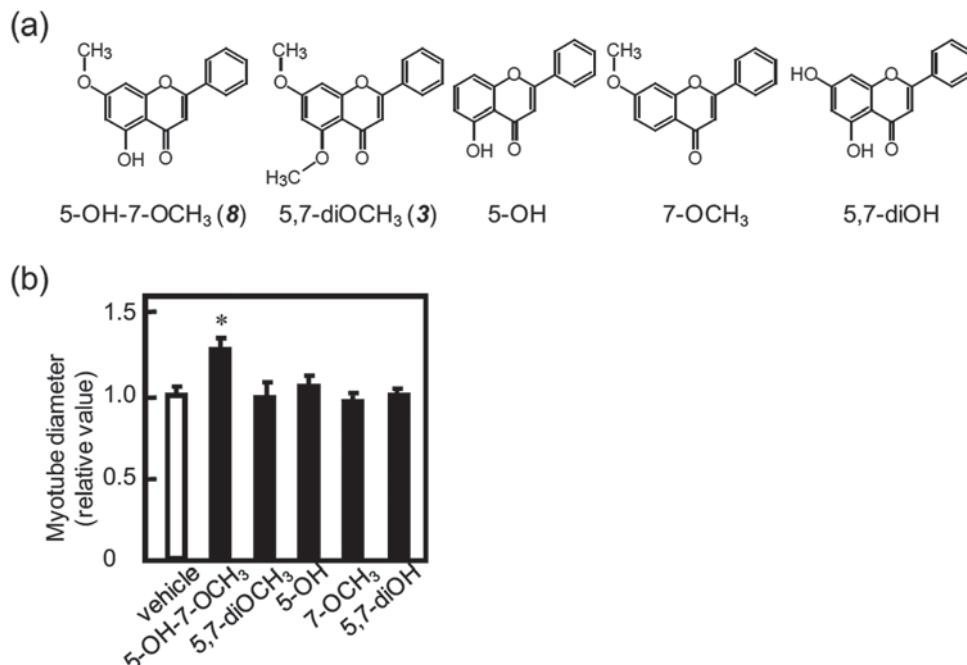


図2 5-hydroxy-7-methoxyflavone における 5-ヒドロキシ基と 7-メトキシ基の構造と筋肥大の相関関係

(a) 化学構造: 5-hydroxy-7-methoxyflavone (8) (5-OH-7-OCH₃), 5,7-dimethoxyflavone (3) (5,7-diOCH₃), 5-hydroxyflavone (5-OH), 7-methoxyflavone (7-OCH₃), 5,7-dihydroxyflavone (5,7-diOH).

(b) 筋管の直径に及ぼす HMF 類の効果

K. parviflora の根茎抽出物には DMF 類と HMF 類が存在し、それぞれが同じ機能を持つのか、あるいは別々の機能を有するのかは不明である。*K. parviflora* の根茎抽出物だけを使った研究だけでなく、構造-活性相関についての研究を進めるために DMF 類と HMF 類を分離して、それぞれの機能を解析する必要がある。これらの構造-活性相関に関する情報が集まり、臨床的あるいは疫学的な研究に応用されることを期待する。

(2019.3.30 受付)

Key Words: methoxyflavone, skeletal muscle, sarcopenia, hypertrophy

Division of Applied Life Sciences, Graduate School of Life and Environmental Sciences, Osaka Prefecture University

Ryoichi Yamaji

大阪府立大学大学院生命環境科学研究科応用生命科学専攻

山地 亮一

文 献

- 1) Rusznyak SP, Szent-Gyorgyi A (1936) Vitamin P: flavonols as vitamins. *Nature* **138**, 27
- 2) Patanasethanont D, Nagai J, Yumoto R, Murakami T, Sutthanut K, Sripanidkulchai BO, Yenjai C, Takano M (2007) Effects of *Kaempferia parviflora* extracts and their flavone constituents on P-glycoprotein function. *J Pharm Sci* **96**, 223-233
- 3) Yenjai C, Prasanphen K, Daodee S, Wongpanich V, Kittakoop P (2004) Bioactive flavonoids from *Kaempferia parviflora*. *Fitoterapia* **75**, 89-92
- 4) Yenjai C, Wanich S (2010) Cytotoxicity against KB and NCI-H187 cell lines of modified flavonoids from *Kaempferia parviflora*. *Bioorg Med Chem Lett* **20**, 2821-2823
- 5) Sawasdee P, Sabphon C, Sitthiwongwanit D, Kokpol U (2009) Anticholinesterase activity of 7-methoxyflavones isolated from *Kaempferia parviflora*. *Phytother Res* **23**, 1792-1794
- 6) Tewtrakul S, Subhadhirasakul S, Kummee S (2008) Anti-allergic activity of compounds from *Kaempferia parviflora*. *J Ethnopharmacol* **116**, 191-193
- 7) Rujjanawate C, Kanjanapothi D, Amornlerdpison D, Pojanagaron S (2005) Anti-gastric ulcer effect of *Kaempferia parviflora*. *J Ethnopharmacol* **102**, 120-122
- 8) Akase T, Shimada T, Terabayashi S, Ikeya Y, Sanada H, Aburada M (2011) Antiobesity effects of *Kaempferia parviflora* in spontaneously obese type II diabetic mice. *J Nat Med* **65**, 73-80
- 9) Chaturapanich G, Chaiyakul S, Verawatnapakul V, Yimlamai T, Pholpramool C (2012) Enhancement of aphrodisiac activity in male rats by ethanol extract of *Kaempferia parviflora* and exercise training. *Andrologia* **44 Suppl 1**, 323-328
- 10) Toda K, Takeda S, Hitoie S, Nakamura S, Matsuda H, Shimoda H (2016) Enhancement of energy production by black ginger extract containing polymethoxy flavonoids in myocytes through improving glucose, lactic acid and lipid metabolism. *J Nat Med* **70**, 163-172
- 11) De la Fuente M (2002) Effects of antioxidants on immune system ageing. *Eur J Clin Nutr* **56 Suppl 3**, S5-S8
- 12) Cesari M, Pahor M, Bartali B, Cherubini A, Penninx BW, Williams GR, Atkinson H, Martin A, Guralnik JM, Ferrucci L (2004) Antioxidants and physical performance in elderly persons: the Invecchiare in Chianti (InCHIANTI) study. *Am J Clin Nutr* **79**, 289-294
- 13) Wattanathorn J, Muchimapura S, Tong-Un T, Saenghong N, Thukhum-Mee W, Sripanidkulchai B (2012) Positive modulation effect of 8-week consumption of *Kaempferia parviflora* on health-related physical fitness and oxidative status in healthy elderly volunteers. *Evid Based Complement Alternat Med* **2012**, 732816
- 14) Promthep K, Eungpinichpong W, Sripanidkulchai B, & Chatchawan U (2015) Effect of *Kaempferia parviflora* extract on physical fitness of soccer players: A randomized double-blind placebo-controlled trial. *Med Sci Monit Basic Res* **21**, 100-108
- 15) Lee S, Kim C, Kwon D, Kim MB, Hwang JK (2018) Standardized *Kaempferia parviflora* Wall. ex Baker (Zingiberaceae) extract inhibits fat accumulation and muscle atrophy in *ob/ob* mice. *Evid Based Complement Alternat Med* **2018**, 8161042
- 16) Ono S, Yoshida N, Maekawa D, Kitakaze T, Kobayashi Y, Kitano T, Fujita T, Okuwa-Hayashi H, Harada N, Nakano Y, Yamaji R (2018) 5-Hydroxy-7-methoxyflavone derivatives from *Kaempferia parviflora* induce skeletal muscle hypertrophy. *Food Sci Nutr* **7**, 312-321