

共同研究 研究紀要

2017

神戸薬科大学

共同研究 研究成果報告書

本学では、産業界、国内外の大学等の教員・研究者と行う共同研究について、神戸薬科大学共同研究規程に基づき、共同研究委員会で審査を行っています。また、その研究成果を広く公表するため、次に「共同研究 研究成果報告」を掲載します。

2016(平成 28)年度共同研究 (研究期間 2016.4.1 ~ 2017.3.31)

承認番号	共同研究課題名(研究テーマ)	研究代表者
1	合成糖鎖を用いた硫酸化グリコサミノグリカンの生合成と機能の研究	生化学研究室 教授 北川 裕之
2	難治性アレルギー疾患の病態解明と制御	薬理学研究室 教授 吉野 伸
3	分子イメージング薬剤の開発研究	薬品物理学化学研究室 教授 向 高弘
4	妊娠による脳内神経回路の変化	衛生化学研究室 教授 長谷川 潤
5	新規エネルギー代謝ペプチドによる臓器間ネットワークに関する研究	病態生化学研究室 教授 加藤 郁夫
6	特異な縮環様式をもつ含窒素ヘテロ環化合物群の合成と抗癌活性評価	薬品化学研究室 教授 上田 昌史
7	特異抗体を活用したアポリポ蛋白 A- I 体内動態評価法の開発	生命分析化学研究室 教授 小林 典裕
8	神経血管ユニットの機能制御機構の解明	医療薬学研究室 教授 力武 良行
9	婦人科悪性腫瘍の治療に有効な生薬・天然物の探索	医薬細胞生物学研究室 教授 土反 伸和
10	レチナールアナログを利用した optogenetics ツールの開発	生命有機化学研究室 教授 和田 昭盛
11	リン酸化反応を利用した天然型配糖体の可溶化および新規化合物の合成	機能性分子化学研究室 教授 中山 尋量
12	未根治心房中隔欠損症における肺高血圧発症メカニズムの解明と治療法最適化への応用	臨床薬学研究室 教授 江本 憲昭
13	糖鎖による生体機能の新規調節機構の解明	微生物化学研究室 教授 小西 守周
14	生体内酸化還元反応に寄与する活性種のイメージングプローブならびにケージド化合物の開発研究	薬化学研究室 教授 奥田 健介
15	鼻腔内投与による生理活性ペプチド(ニューロメジン U 受容体アゴニスト CPN-116)の脳内送達	製剤学研究室 教授 坂根 稔康

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治 様

研究代表者所属 生化学研究室
研究代表者職・氏名 教授・北川 裕之

平成28年7月14日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成29年3月31日付けをもって終了し、次の成果を得ましたので報告いたします。

記

共同研究課題		合成糖鎖を用いた硫酸化グリコサミノグリカンの生合成と機能の研究			
構 成 員	氏名	所属学校・研究機関等名	学部・学科等名	職名	研究の役割分担
	北川 裕之 田村 純一	神戸薬科大学 鳥取大学	薬学部 地域学部	教授 教授	生合成および機能の解析と全体の総括 糖鎖合成
共同研究の成果					
<p>コンドロイチン硫酸およびヘパラン硫酸を含む硫酸化グリコサミノグリカン鎖は、多様な硫酸化修飾構造をもつ多糖鎖の一つであり、細胞接着、分化、神経回路網の形成などを調節する役割を果たしているが、その硫酸化構造の生合成と機能との相関は十分に解明されていない。本研究では、糖鎖有機合成の専門家の協力により、有機化学的に合成された糖鎖を用いて、硫酸化グリコサミノグリカン鎖の精密な生合成機構と機能を明らかにすることを目標としている。</p> <p>特に、コンドロイチン硫酸は、中枢神経系のマトリックスに豊富に存在することが知られ、軸索再生や神経可塑性の制御などに重要な役割を果たしていると考えられている。コンドロイチン硫酸は、グルクロン酸(GlcA)とN-アセチルガラクトサミン(GalNAc)が交互に繰り返した構造を基本糖鎖骨格にもち、その様々な部位が硫酸化修飾を受けて構造多様性を獲得する。我々は、コンドロイチン硫酸の多様な硫酸化パターンによって軸索再生や神経可塑性が制御されていると考え、有機化学的に合成された様々なコンドロイチン硫酸鎖を用いてその作用メカニズムを明らかにしようとした。</p> <p>本年度は、多様な生理活性を持つナマコ(<i>Apostichopus japonicus</i>)由来のフコシル化コンドロイチン硫酸に着目し、この神経突起伸長促進活性の解析を試みた。まず、<i>A. japonicus</i> から精製したフコシル化コンドロイチン硫酸の構造解析と神経突起伸長活性の評価を行った。次に化学合成したフコシル化コンドロイチン硫酸三糖β-D-GalNAc(4,6-O-disulfate)(1-4)[α-L-fucose(2,4-O-disulfate)(1-3)]-β-D-GlcAを用い、フコシル化コンドロイチン硫酸の神経突起伸長活性と構造との相関を解析した。<i>A. japonicus</i> 由来フコシル化コンドロイチン硫酸は、E unit [GlcA-GalNAc(4,6-O-disulfate)]を主要構成二糖単位にもつコンドロイチン硫酸鎖を基本骨格として、様々なパターンの硫酸化フコース分枝をもつ硫酸化多糖であることが明らかとなった。フコシル化コンドロイチン硫酸の神経突起伸長活性は、E unit が比較的少ないにもかかわらず、イカ軟骨由来のコンドロイチン硫酸-Eに匹敵した。さらに化学合成したフコシル化コンドロイチン硫酸三糖は、同じく化学合成したコンドロイチン硫酸-E四糖と同程度の神経突起伸長活性を示した。これらのことから、フコシル化コンドロイチン硫酸中のフコース分枝はコンドロイチン硫酸-E介在性神経突起伸長の活性を相補する働きがあると考えられた。このようなフコシル化コンドロイチン硫酸三糖構造の生理活性とコンドロイチン硫酸-E四糖構造の生理活性との相関は、コンドロイチン硫酸鎖の生理活性の発現機構を包括的に理解する一助となりうると考えられた(1)。</p> <p>(1) Shida, M., et al. (2017). <i>Biochem. Biophys. Res. Commun.</i> 487(3), 678-683.</p>					

〈研究論文〉

著 者 名	論 文 標 題			
Shida, M., Mikami, T., Tamura, J. and Kitagawa, H.	A characteristic chondroitin sulfate trisaccharide unit with a sulfated fucose branch exhibits neurite outgrowth-promoting activity: Novel biological roles of fucosylated chondroitin sulfates isolated from the sea cucumber <i>Apostichopus japonicas</i> .			
雑 誌 名	卷	発行年	ページ	
Biochem. Biophys. Res. Commun.	487	2017	678-683	

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治 様

研究代表者所属 薬理学研究室
研究代表者職・氏名 教授・吉野 伸

平成28年7月14日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成29年3月31日付けをもって終了し、次の成果を得ましたので報告いたします。

記

共同研究課題	難治性アレルギー疾患の病態解明と制御
--------	--------------------

氏名	所属学校・研究機関等名	学部・学科等名	職名	研究の役割分担
吉野 伸	神戸薬科大学	薬学部	教授	実験計画・研究総括
水谷 暢明	神戸薬科大学	薬学部	准教授	動物実験
奈邊 健	摂南大学	薬学部	教授	実験データの評価

共同研究の成果
<p>日本では、花粉症のなかでもスギ花粉に対するアレルギー性鼻炎および結膜炎の罹患率が約25%と非常に高い。しかし、スギ花粉症に対する治療としては、抗ヒスタミン薬などによる対症療法やスギ花粉エキスを皮下投与もしくは舌下投与することによる減感作療法が用いられている。減感作療法は、アレルギー疾患の根本的な治療法として用いられているが、長期間の投与が必要であること、さらには副作用の問題がある。最近、我々はスギ花粉に対するモノクローナル抗体 Fab をマウスの鼻腔内に曝露すると、スギ花粉によって誘導されるアレルギー性鼻炎は本アレルゲン特異的に抑制されることを報告した。このアレルゲン特異的モノクローナル抗体 Fab によるアレルギー性鼻炎の抑制は、Fab の特性、すなわち特異的アレルゲンとは結合するが、肥満細胞の脱顆粒などのエフェクター機能を有さないことによると考えられた。そこで、本年度はアレルギー性結膜炎モデルを用いて本モノクローナル抗体 Fab の効果を検討した。スギ花粉に対するモノクローナル抗体産生ハイブリドーマは、常法によりマウスをスギ花粉で感作し、得られる感作脾臓細胞をミエローマ(NS-1)と融合後、抗スギ花粉抗体産生細胞をクローニングすることによって樹立した。その結果、スギ花粉の代表的なアレルゲンである Cry j 1 に対するモノクローナル抗体(P1-8)が得られた。スギ花粉によるアレルギー性結膜炎の誘導のため、BALB/c マウスを水酸化アルミニウムゲルに吸着させたスギ花粉抽出物の腹腔内投与(days 0 および 14)によって感作し、days 28-30 および day 35 にスギ花粉を点眼した。パパイン消化によって作製した P1-8 Fab は、各スギ花粉惹起 15 分前に点眼した。その結果、スギ花粉惹起による結膜炎症状は、P1-8 Fab によって有意に抑制された。また、結膜炎組織中の肥満細胞および好酸球浸潤も P1-8 Fab によって有意に抑制された。さらに、血中の抗原特異的 IgE の上昇を抑制した。以上の結果から、スギ花粉症の結膜炎症状は、P1-8 Fab によってアレルゲン特異的に抑制されることを明らかにした。そのメカニズムは、Fab 曝露後、粘膜上でスギ花粉が P1-8 Fab によって捕捉され、これによりスギ花粉と抗スギ花粉抗体との結合が阻害されることによると考えられる。</p>

〈研究論文〉

著 者 名	論 文 標 題			
Mizutani N, Nabe T, Yoshino S.	Topical ocular treatment with monoclonal antibody Fab fragments targeting Japanese cedar pollen Cry j 1 inhibits Japanese cedar pollen-induced allergic conjunctivitis in mice.			
雑 誌 名	卷	発行年	ページ	
Eur J Pharmacol.	798	2017	105-112	

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治 様

研究代表者所属 薬品物理化学研究室
研究代表者職・氏名 教授・向高弘

平成28年7月14日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成29年3月31日付けをもって終了し、次の成果を得ましたので報告いたします。

記

共同研究課題	分子イメージング薬剤の開発研究				
構 成 員	氏名	所属学校・研究機関等名	学部・学科等名	職名	研究の役割分担
	向高弘 佐治英郎	神戸薬科大学 京都大学大学院	薬学部 薬学研究科	教授 教授	研究総括 イメージング評価
共同研究の成果					
<p>亜鉛は、酵素の活性中心の形成、亜鉛イオン結合モチーフを持つ転写因子やシグナル伝達物質の構造維持に関与していることから、生体内における亜鉛イオンの動態や作用の解明を目的に亜鉛蛍光プローブの開発が活発に行われている。我々は前年度において、蛍光団として2-アミノピリジン環をピリドン環の代わりに導入したビピリジン誘導体を開発し、亜鉛イオンに対して高い親和性を保持していること、さらにそれが分子内互変異性化の制御に起因することを明らかにした。遊離亜鉛イオンは、細胞内では極わずかにしか存在しないが(nmol/L以下)、亜鉛シグナリングに大きく関与することが示唆されている。そこで本年度では、細胞内遊離亜鉛イオンの検出を目的に、高感度な亜鉛イオン検出を可能にする蛍光ON/OFF制御型および波長変化型のプローブを設計し、亜鉛蛍光プローブとしての評価を行った。その結果、合成した誘導体は、いずれも亜鉛イオン存在下において蛍光の増強を示した。亜鉛イオンとの錯体形成部位であるビピリジン骨格とフェニル基との距離を離すことにより蛍光のON/OFF制御が可能であることがわかった。また、フェニル基へメトキシ基等の電子供与基を導入することにより波長変化型の性質を示した。そこで、波長変化型の性質を示した誘導体を用いて細胞内遊離亜鉛の測定を行ったところ、細胞内に遊離した亜鉛イオンの検出が可能であることを認め、新たな亜鉛蛍光プローブになりえる可能性を示した。</p> <p>また、我々は共同でこれまでに、dendrimerにp-SCN-benzyl-diethylenetriamine pentaacetic acid (DTPA)を導入したものを核とし、polyethyleneimine (PEI)とγ-polyglutamic acid (PGA)を自己組織化させたIn-111複合体でセンチネルリンパ節イメージングに成功している。そこで本年度は、蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)に基づいた高精度な分子イメージングを目指し蛍光剤・消光剤結合PGA複合体の作製を試みた。蛍光剤TAMRAをpolyamidoamine G4 dendrimer (G4)と反応させた後DTPAを反応させG4-TAMRA-DTPAを得た。また、消光剤QSY7またはBHQ2をPEIと反応させPEI-QSY7とPEI-BHQ2を得た。そしてG4-TAMRA-DTPAを核としPEI-QSY7あるいはPEI-BHQ2、PGAを自己組織化させG4-TAMRA-DTPA/PEI-QSY7/PGA (QSY7複合体)およびG4-TAMRA-DTPA/PEI-BHQ2/PGA (BHQ2複合体)を得た。得られたQSY7複合体およびBHQ2複合体の蛍光強度は消光剤のない複合体と比べて低い値でありFRETによる消光効果と考えた。そこで細胞集積性について、マウスマクロファージ様細胞RAW264を用いて、蛍光イメージングにより評価したところ、細胞に添加後、経時的な蛍光シグナルの上昇を認めた。また、各複合体は、マクロファージのリソソーム内に局在していることが明らかとなった。さらに、正常マウスを用いたマウス膝下リンパ節の蛍光イメージングの結果からQSY7複合体によるリンパ節の検出が可能であることを示した。</p>					

〈研究論文〉

著者名	論文標題			
Masayori Hagimori, Eri Hatabe, Kohei Sano, Hirotaka Miyazaki, Hitoshi Sasaki, Hideo Saji, Takahiro Mukai	An Activatable Fluorescent γ -Polyglutamic Acid Complex for Sentinel Lymph Node Imaging.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Biol. Pharm. Bull.	40	2017	297-302	

〈学会発表〉

発表者	学会名		
萩森 政頼、佐治 英郎、向 高弘	第 27 回日本微量元素学会学術集会		
タイトル	開催日	開催場所	
細胞内遊離亜鉛イオンの検出を目的とした蛍光プローブの開発	2016/7/30-31	京都	

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治様

研究代表者所属 衛生化学研究室
 研究代表者職・氏名 教授・長谷川 潤

平成28年7月14日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成29年3月31日付けをもって終了し、次の成果を得ましたので報告いたします。

記

共同研究課題		妊娠による脳内神経回路の変化			
構 成 員	氏名	所属学校・研究機関等名	学部・学科等名	職名	研究の役割分担
	長谷川 潤	神戸薬科大学	薬学部	教授	研究統括・脳の機能変化
	中川 公恵	神戸薬科大学	薬学部	准教授	脳の形態変化
	鎌尾 まや	神戸薬科大学	薬学部	助手	性ホルモンの解析
	瀬木-西田 恵里	東京理科大学	基礎工学部	准教授	神経細胞新生
共同研究の成果					
<p>本研究では、妊娠中の母体における神経系の変化とそれを司る分子機構を明らかにする目的で研究を行ってきた。</p> <p>我々はこれまでの研究で、妊娠中の母親雌マウスの脳内で、特定の神経細胞が活性化されていることを示唆する予備実験の結果を得ていた。しかし、神経細胞が新しく生まれているのか、もしくは既存の神経細胞が長期にわたって活性化されているのかは不明なままであった。</p> <p>本年度は、記憶を司る脳内部位である海馬において、神経細胞新生が起きているかを組織学的に解析することを試みた。妊娠雌マウスと、対照として virgin 雌マウスより海馬を摘出し、抗 Ki67 抗体による染色を行った結果、妊娠中の雌マウス海馬では、神経新生が起きていることが明らかとなった。またこの神経新生をサポートするメカニズムとして、Matrix metalloproteinases (MMPs) ファミリーのタンパク質分解酵素の関与を検討することとした。MMPs の内源性阻害剤として知られる Tissue-inhibitor of metalloproteinases (Timps) の発現を検討した結果、妊娠中期の海馬において、Timps の特定の分子種の発現が上昇することがわかった。大脳皮質を用いた検討によっても、同様の結果を得ることができた。このことから、妊娠は脳内の MMPs の活性制御を介して、神経新生を行う可能性が示唆された。また、Timps の発現は、virgin 雌マウスに対する性ホルモン投与によっても起きたことから、妊娠中に起きる血中の性ホルモン濃度変化が脳内の Timps の発現変動を促している可能性が示唆された。</p>					

〈研究論文〉

著者名	論文標題			
Miura, Y., Ngo Thai Bich, V., Furuya, M., Hasegawa, H., Takahashi, S., Katagiri, N., Hongu, T., Funakoshi, Y., Ohbayashi, N., Kanaho, Y.	The small G protein Arf6 expressed in keratinocytes by HGF stimulation is a regulator for skin wound healing.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Scientific Reports	7	2017	46649	

著者名	論文標題			
Kamao, M., Hirota, Y., Suhara, Y., Tsugawa, N., Nakagawa, K., Okano, T., Hasegawa, H.	Determination of menadione by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using pseudo multiple reaction monitoring.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Analytical Sciences	33	2017	863-867	

〈総説〉

著者名	論文標題			
Minagawa, K., Hasegawa H.	Membrane phospholipid signaling for the regulation of cytoskeleton in neurons.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Internal Medicine Review	3	2017	-	

〈学会発表〉

発表者	学会名		
廣野 順介、川口貴美乃、鈴木 篤史、長谷川 潤	フォーラム 2016 衛生薬学・環境トキシコロジー		
タイトル	開催日	開催場所	
末梢神経損傷の損傷部位における血管内皮細胞の集積と役割	2016年9月10日	東京	

発表者	学会名		
中川 公恵、泰井麻由奈、横田 衣利、原 香織、三宅 智子、澤田 夏美、須田 義智、岡野登志夫、長谷川 潤	日本薬学会 第137年会		
タイトル	開催日	開催場所	
脳特異的ビタミン K2 合成酵素 UBIAD1 欠損マウスの脳機能解析	2017年3月27日	仙台	

発表者	学会名		
鈴木 篤史、正木 美有、鎌尾 まや、中川 公恵、瀬木-西田 恵里、長谷川 潤	日本薬学会 第137年会		
タイトル	開催日	開催場所	
妊娠期における Tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP) ファミリーの発現	2017年3月26日	仙台	

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治様

研究代表者所属 病態生化学研究室
研究代表者職・氏名 教授・加藤 郁夫

平成28年7月14日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成29年3月31日付けをもって終了し、次の成果を得ましたので報告いたします。

記

共同研究課題		新規エネルギー代謝ペプチドによる臓器間ネットワークに関する研究			
構 成 員	氏名	所属学校・研究機関等名	学部・学科等名	職名	研究の役割分担
	加藤 郁夫	神戸薬科大学	薬学部	教授	神戸薬科大学での研究管理および研究主体
	多河 典子	神戸薬科大学	薬学部	講師	神戸薬科大学での研究
	藤波 綾	神戸薬科大学	薬学部	講師	神戸薬科大学での研究
	乾 明夫	鹿児島大学	大学院医歯学総合研究科	教授	鹿児島大学での研究管理
浅川 明弘	鹿児島大学	大学院医歯学総合研究科	准教授	鹿児島大学での研究主体	
共同研究の成果					
<p>本研究室では、エネルギー代謝調節機能を有する新規ペプチドである adropin、nesfatin-1、preptin および外因性ホルモン様ペプチドである rubiscolin-6 を中心に、これらペプチドの臓器間エネルギー代謝ネットワークにおける役割を解明することを目指している。現在、その研究の一環として、各ペプチドの睨機能及び摂食に対する影響を検討している。また、研究の有用な手段となる各ペプチドの ELISA を確立し、生理的意義やエネルギー代謝異常などの病態解析への応用を目指している。H28 年度に行った研究成果は以下の通りである。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 正常マウスへの adropin 腹腔内投与により、胃からの ghrelin 分泌が 60 分程度の短時間抑制されたことから、adropin の摂食抑制作用は、ghrelin 分泌抑制作用を介して発現することを明らかにした。来年度、この作用機序の解明のため、再現性、時間・用量依存性を検討する予定である。 2. 正常マウスへの rubiscolin-6 腹腔内投与により、胃からの ghrelin 分泌が促進されたことより、rubiscolin-6 の摂食亢進作用の機序の一つを明らかにした。来年度は、この作用の再現性、時間・用量依存性と機序の検討をする。 3. 正常マウスへの preptin 腹腔内投与により、in vivo においてインスリン分泌が促進されることを明らかにした。来年度、この作用の再現性、時間・用量依存性を検討する。 4. 正常マウスへの nesfatin-1 腹腔内投与により、in vivo においてインスリン分泌が促進されることを明らかにした。来年度、この作用の再現性、時間・用量依存性、作用機序を検討する。 5. Adropin は、インスリン分泌を調節して血糖値を正常化させるという仮説のもとに、非糖負荷状態における正常マウスへの adropin 腹腔内投与により、時間・用量依存性について検討したが、有意な効果は得られなかった。来年度は、adropin の睨ホルモン分泌調節作用について明らかにするため、糖負荷条件により、検討する。 6. 免疫測定法の開発:昨年度作製したマウス及びヒト adropin、nesfatin-1、preptin の特異抗血清を各々アフィニティ IgG 分画に精製後、サンドイッチ法及び競合法 ELISA 系の確立を検討し、ほぼ完成した。来年度は、これら ELISA 系を用いて、マウスの血清及び組織中の免疫活性分子を同定すると共に定量性を検討する。 7. 抗 rubiscolin-6 抗血清の作製に成功した。来年度は、ELISA 系を確立すると共に、肥満による慢性炎症への rubiscolin-6 の作用をマウス及び脂肪細胞を用いて検討する。 8. Preptin の生理的意義、各種病態(肥満及び糖尿病)との関連を検討するため、マウス血清 preptin の高感度 ELISA 確立を検討する予定である。 9. げっ歯類での adropin 及び Enho mRNA の発現動態: マウスの視床下部、肝臓において adropin をコードする遺伝子 Enho の発現は、肥満・糖尿病発症機序により異なる結果を得た。この成果は、第 37 回日本肥満学会(2016.10.7 東京)及び第 56 回日本臨床化学会年次学術集会(2016.12.3 熊本)で報告した。 					

〈学会発表〉

発表者	学会名		
多河 典子、浅川 明弘、 藤波 綾、乾 明夫、 加藤 郁夫	第 37 回日本肥満学会		
	タイトル	開催日	開催場所
	肥満モデルマウス肝臓及び視床下部での adropin の発現について	2016.10.7	東京

発表者	学会名		
多河 典子、浅川 明弘、 藤波 綾、乾 明夫、 加藤 郁夫	第 56 回日本臨床化学会年次学術集会		
	タイトル	開催日	開催場所
	エネルギー代謝関連ペプチド adropin の発現について	2016.12.3	熊本

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治 様

研究代表者所属 薬品化学研究室
研究代表者職・氏名 准教授・上田 昌史

平成28年7月14日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成29年3月31日付けをもって終了し、次の成果を得ましたので報告いたします。

記

共同研究課題		特異な縮環様式をもつ含窒素ヘテロ環化合物群の合成と抗癌活性評価			
構 成 員	氏 名	所属学校・研究機関等名	学部・学科等名	職 名	研究の役割分担
	上田 昌史	神戸薬科大学	薬 学 部	准教授	候補化合物の合成
	武田 紀彦	神戸薬科大学	薬 学 部	講 師	候補化合物の合成
	松野 研司	工 学 院 大 学	先進工学部・生命化学科	教 授	候補化合物の抗癌活性評価
共同研究の成果					
<p>オキサロ酢酸誘導体は HMG-CoA 還元酵素阻害作用や抗うつ作用、DNA や RNA の転写伸長阻害作用をもつ化合物の合成に利用される重要な合成素子である。そこでオキサロ酢酸誘導体の新規合成法の開発を目的として、ラジカル付加-脱離反応によるオキサロ酢酸誘導体の合成を検討した。すなわち、アセチレンジカルボン酸エステルに対するオキシムの付加反応によって得られる <i>O</i>-ビニルオキシムエーテルを炭素ラジカルと反応させることにより、ラジカル付加に続くイミニルラジカルの脱離によって α 位にアルキル基をもつオキサロ酢酸誘導体が得られると考えた。はじめにアセチレンジカルボン酸エステルとオキシムの付加反応を検討した。ジクロロメタン中 DABCO を塩基として用いて共付加反応を行ったところ、効率よく <i>O</i>-ビニルオキシムエーテルを得ることに成功した。次にシクロヘキサノン由来のオキシムエーテルを基質としてトリエチルボランとの反応を検討した。ベンゼン中、室温条件下で反応を行ったところ期待通りエチルラジカルによる付加-脱離反応が進行し、オキサロ酢酸誘導体が47%の収率で得られた。続いてオキシム部分の置換基と反応温度について検討した。その結果、アセトンから誘導されたオキシムエーテルを基質に用いて還流条件下で反応を行った場合に最も効率よく目的のオキサロ酢酸誘導体が得られることが明らかとなった。次に様々なヨウ化アルキルを用いてラジカル付加-脱離反応を検討したところ、様々な置換基を有するオキサロ酢酸誘導体を得ることに成功した。特に最もかさ高い <i>t</i>-BuI を用いた反応も効率的に進行し、オキサロ酢酸誘導体が73%で得られた。アセチレンジカルボン酸エステルを出発原料とする <i>O</i>-ビニルオキシムエーテルのラジカル付加-脱離反応によるオキサロ酢酸誘導体の新規合成法の開発に成功した。</p> <p>次に、反応条件によって異なる位置選択性で進行するトリクロロメチルシクロプロパンの開環反応を検討した。はじめにトリクロロメチルシクロプロパン類のテトラフルオロホウ酸銀を用いたフッ素化を伴う開環反応について検討した。<i>n</i>-ブチル基とエチルエステルを有するトリクロロメチルシクロプロパンを基質として用いて、テトラフルオロホウ酸テトラブチルアンモニウム存在下、テトラフルオロホウ酸銀との反応を-10℃で検討した。その結果、期待通り塩化物イオンの脱離、C2-C3結合の開裂、フッ素原子の導入が進行し、β位にフッ素原子および α位に <i>gem</i>-ジクロロビニル基をもつ鎖状エステルが81%の収率で立体選択的に得られた。また、トリクロロメチルシクロプロパンと酢酸銀との反応を THF 溶媒で封管中、100℃で検討したところ興味深いことに、フッ素化とは対照的に、シクロプロパン環の C1-C2 結合が開裂し、さらにエステルの α位に水素原子が導入された鎖状エステルが90%の収率で得られることが明らかとなった。また本反応が基質一般性に優れていることを確認し、様々な誘導体を合成した。現在、これら化合物群の抗癌活性評価を検討中である。</p>					

〈研究論文〉

著者名	論文標題			
Shohei Sato, Norihiko Takeda, Masafumi Ueda, and Okiko Miyata	Sequential [3,3]-Sigmatropic Rearrangement/Nucleophilic Arylation of <i>N</i> -Benzoyloxyenamides toward the Preparation of Cyclic β -Aryl- β -amino Alcohols			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Synthesis	48	2016	882-892	

著者名	論文標題			
Nobuyoshi Doi, Norihiko Takeda, Okiko Miyata and Masafumi Ueda	Regiodivergent Ring-Opening Reaction of Trichloromethylcyclopropane Carboxylates			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
J. Org. Chem.	81	2016	7855-7861	

〈学会発表〉

発表者	学会名		
杉田 翔一、武田 紀彦、宮田 興子、上田 昌史	第46回複素環化学討論会		
タイトル	開催日	開催場所	
<i>N</i> -アルコキシプロピルアミド類の閉環反応を基盤とするイソキサゾール合成	2016.9.26	金沢	

発表者	学会名		
土井 信佳、武田 紀彦、宮田 興子、上田 昌史	第66回日本薬学会近畿支部総会・大会		
タイトル	開催日	開催場所	
シクロプロペン類の亜硝酸エステルによるニトロ化反応の開発	2016.10.15	高槻	

発表者	学会名		
松田 有加、武田 紀彦、松野 研司、宮田 興子、上田 昌史	第66回日本薬学会近畿支部総会・大会		
タイトル	開催日	開催場所	
ラジカル付加-脱離反応を用いるオキサロ酢酸誘導体の合成	2016.10.15	高槻	

発表者	学会名		
西田 唯香、武田 紀彦、宮田 興子、上田 昌史	第42回反応と合成の進歩シンポジウム		
タイトル	開催日	開催場所	
クロロホルムをカルボニル炭素源とするアミノカルボニル化反応の開発	2016.11.7	静岡	

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治様

研究代表者所属 生命分析化学研究室
 研究代表者職・氏名 教授・小林 典裕

平成28年7月14日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成29年3月31日付けをもって終了し、次の成果を得ましたので報告いたします。

記

共同研究課題		特異抗体を活用したアポリポ蛋白A-I 体内動態評価法の開発			
構 成 員	氏名	所属学校・研究機関等名	学部・学科等名	職名	研究の役割分担
	小林 典裕	神戸薬科大学	薬学部	教授	抗 apoA-I 抗体の作製と応用
	大山 浩之	神戸薬科大学	薬学部	助教	抗 apoA-I 抗体の大量調製
	森田 いずみ	神戸薬科大学	薬学部	助手	抗 apoA-I 抗体の解析
	斎藤 博幸	京都薬科大学	薬品物理化学分野	教授	apoA-I 体内動態の解析
	三河 志穂	京都薬科大学	薬品物理化学分野	特別研究学生	apoA-I 体内動態の解析
木村 仁	京都薬科大学	薬品物理化学分野	科目等履修生	apoA-I 体内動態の解析	
共同研究の成果					
<p>ApoA-I は HDL を構成するアポリポタンパク質で、体内余剰コレステロールの肝臓への運搬を補助するため、動脈硬化抑制作用が示唆されている。しかしアミノ酸配列に変異を生じた ApoA-I は加水分解されやすく、生じた N 末端フラグメント (fr) が重合し、線維状のアミロイドタンパク質 (fibril) が形成される。この fibril が組織へ沈着し、アミロイドーシスを発症すると考えられているが、その機構の全貌は未だ明らかにされていない。その解明を目的として、前年度は、G26R 変異 ApoA-I の N 末端フラグメント (ApoA-I-frg; 1-83 番アミノ酸からなる) および変異を含まない ApoA-I 全長タンパク質 (ApoA-I-wt) に対するモノクローナル抗体を作製した。今年度は、ApoA-I-frg の重合体 (ApoA-I-fib) に特異的なモノクローナル抗体の調製を試みた。</p> <p>組換え ApoA-I-frg を重合させて得られた ApoA-I-fib を KLH 結合体としたのち、 Freund のアジュバントとともに BALB/c および A/J マウス各 5 匹に繰り返し免疫投与した。ビオチン化した ApoA-I-fib に対する血清中抗体価の上昇を確認したのち、BALB/c、A/J 各 2 匹のマウスに最終免疫を行い、得られた計 4 種の脾細胞を別々に NS1 ミエローマ細胞とポリエチレングリコールを用いて融合させた。融合細胞を HAT 選択したのち、培養上清をビオチン化 ApoA-I-fib と反応させて目的抗体の分泌を調べた。陽性反応が認められた細胞を限界希釈によりクローニングし、計 4 種の抗 ApoA-I-fib 抗体分泌ハイブリドーマ株 (#7-5、#4-18、#37-9、#40-5) を樹立した。これらが分泌する抗体は、いずれもビオチン化 ApoA-I-fib に対して用量依存的に反応した。なかでも A/J マウスに由来する #4-18 は ApoA-I-fib に対して良好な特異的を示し、同質量の未重合モノマー (すなわち ApoA-I-frg; ビオチン化したもの) に比べて 5.5 倍高い反応性を示した。今後、これら抗体を活用して、ApoA-I-fib の生成過程を解析する予定である。</p>					

〈研究論文〉

著者名	論文標題			
H. Kameyama, H. Nakajima, K. Nishitsuji, S. Mikawa, K. Uchimura, N. Kobayashi, K. Okuhira, H. Saito, N. Sakashita.	Iowa mutant Apolipoprotein A-I (ApoA-I _{Iowa}) fibrils target lysosomes			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
<i>Sci. Rep</i>	6	2016	30391-30402	

著者名	論文標題			
H. Nakajima, K. Nishitsuji, H. Kawashima, K. Kuwabara, S. Mikawa, K. Uchimura, K. Akaji, Y. Kashiwada, N. Kobayashi, H. Saito, N. Sakashita	The polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate prevents apoA-I _{Iowa} amyloidosis <i>in vitro</i> and protects human embryonic kidney 293 cells against amyloid cytotoxicity			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
<i>Amyloid</i>	23(6)	2016	17-25	

著者名	論文標題			
H. Nakajima, K. Nishitsuji, H. Kawashima, K. Kuwabara, S. Mikawa, K. Uchimura, K. Akaji, Y. Kashiwada, N. Kobayashi, H. Saito, N. Sakashita	IImmunochemical Approach for Monitoring of Structural Transition of ApoA-I upon HDL Formation Using Novel Monoclonal Antibodies			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
<i>Sci. Rep.</i>	7(1)	2017	2988-2998	

〈学会発表〉

発表者	学会名		
Shiho Mikawa, Chiharu Mizuguchi, Izumi Morita, Hiroyuki Oyama, Teruhiko Baba, Akira Shigenaga, Toshinori Shimanouchi, Norihiro Kobayashi, Akira Otaka, Kenichi Akaji, Hiroyuki Saito	第53回ペプチド討論会		
タイトル	開催日	開催場所	
Effect of Heparin on Amyloid Fibril Formation of ApoA-I Fragment Peptides	2016年10月26日 ~28日	京都	

発表者	学会名		
三河 志穂、木村 仁、森田いずみ、大山 浩之、小林 典裕、斎藤 博幸	日本薬学会第137年会		
タイトル	開催日	開催場所	
ApoA-I 構造特異抗体の開発に向けた抗体評価系の確立	2017年3月25日	仙台	

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治様

研究代表者所属

医療薬学研究室

研究代表者職・氏名

教授・力武 良行

平成28年7月14日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成29年3月31日付けをもって終了し、次の成果を得ましたので報告いたします。

記

共同研究課題	神経血管ユニットの機能制御機構の解明				
構 成 員	氏名	所属学校・研究機関等名	学部・学科等名	職名	研究の役割分担
	力武良行	神戸薬科大学	薬学部	教授	研究の統括
	堀部紗世	神戸薬科大学	薬学部	助教	細胞・組織培養と解析
	平田健一	神戸大学大学院	医学研究科	教授	データの解析
共同研究の成果					
<p>(1)アストロサイトの形態形成機構：アストロサイトは複数の突起を伸長した特有の形態をとるが、その突起の伸長機構は不明である。これまでの培養法による初期培養アストロサイトは、上皮細胞のように扁平な形状をとり、突起を形成しなかった。それに対し、神経幹細胞の浮遊培養による細胞集塊であるニューロスフェアから分化誘導することによって、多数の突起を伸長するアストロサイトが得られた。このアストロサイトは、細胞外マトリックスであるコラーゲン上に培養した時よりも、同じく細胞外マトリックスであるラミニン上に培養した時の方が、突起の数は多く、突起の長さは長くなり、突起形成が促進された。ラミニンとどのようなシグナル受容機構を介して相互作用する結果、突起形成が促進されているのかについて明らかにするために、ラミニンの受容体の一つであるジストログリカンをノックダウンしたところ、突起形成は抑制された。ジストログリカンをノックダウンすると、アクアポリン-4 (AQP4)の発現が減少したため、AQP4をノックダウンしたところ、突起形成は同様に抑制された。したがって、ラミニンはジストログリカンを介してAQP4の発現を調節し、突起形成を促進していることが明らかになった。(2)培養アストロサイトと単離マウス脳血管との共培養系の構築：マウスより脳血管を単離し、培養アストロサイトと共培養することによって、アストロサイトと脳血管の相互作用をin vitroで評価できる実験系の構築を試みた。培養アストロサイトは、成獣マウスより単離した脳血管とも、胎児マウスより単離した脳血管とも、コンタクトを形成した。しかし、コンタクト部位におけるAQP4の濃縮は成獣マウスより単離した脳血管の場合は、脳血管に発現しているAQP4と培養アストロサイトに発現しているAQP4とが判別できなかった。それに対し、胎児マウスより単離した脳血管の場合は、脳血管に発現しているAQP4の発現レベルは低く、コンタクト形成部位へのAQP4の濃縮が観察できた。(3)アストロサイトと血管内皮細胞における細胞内シグナル伝達：血管内皮細胞における細胞内シグナルの伝達機構について生化学的に解析し、血管内皮細胞より炎症に関わるFAM5CはN型糖鎖付加を受けており、FAM5Cの分泌にはN型糖鎖付加が必要であることを明らかにした。さらに、細胞接着分子Necl-4及び細胞内シグナル分子のRhoGAPの一つであるArhGAP29が血管新生を誘導するシグナル伝達を制御していることを明らかにした。</p>					

〈研究論文〉

著者名	論文標題		
Terao Y, Fujita H, Horibe S, Sato J, Minami S, Kobayashi M, Matsuoka I, Sasaki N, Satomi-Kobayashi S, Hirata K, Rikitake Y.	Interaction of FAM5C with UDP-glucose:glycoprotein glucosyltransferase 1 (UGGT1): Implication of N-glycosylation in FAM5C secretion.		
雑誌名	巻	発行年	ページ
Biochem Biophys Res Commun.	486	2017	811-816

著者名	論文標題		
Yamana S, Tokiyama A, Fujita H, Terao Y, Horibe S, Sasaki N, Satomi-Kobayashi S, Hirata K, Rikitake Y.	Necl-4 enhances the PLC γ -c-Raf-MEK-ERK pathway without affecting internalization of VEGFR2.		
雑誌名	巻	発行年	ページ
Biochem Biophys Res Commun.	490	2017	169-175

〈学会発表〉

発表者	学会名		
Yuya Terao Y, Hidenobu Fujita, Sayo Horibe, Junya Sato, Satomi Minami, Ken-ichi Hirata, Yoshiyuki Rikitake.	第 89 回日本生化学会大会		
タイトル	開催日	開催場所	
Importance of <i>N</i> -glycosylation in the Secretion of FAM5C interacting with UDP-glucose glycoprotein glycosyltransferase (UGGT1)	2016.9.25	仙台	

発表者	学会名		
Toru Tagashira, Kazuha Nakamura, Sayo Horibe, Hidenobu Fujita, Ken-ichi Hirata, Yoshiyuki Rikitake	第 89 回日本生化学会大会		
タイトル	開催日	開催場所	
Role of ArhGAP29 in VEGF-induced network formation and migration of vascular endothelial cells	2016.9.25	仙台	

発表者	学会名		
藤田 英伸、佐藤 淳哉、堀部 紗世、南 智美、平田 健一、力武 良行	第 39 回日本分子生物学会年会		
タイトル	開催日	開催場所	
ラミニンによるアストロサイト突起形成の促進	2016.11.30	横浜	

発 表 者	学 会 名		
宇野 楨優、堀部 紗世、 井上 咲那、後藤 麻友、 西岡 詩織、河内 正二、 佐々木直人、平田 健一、 力武 良行	日本薬学会第137年会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
ラミニンによるアストロサイトの突起伸長の促進		2017.3.25	仙台

発 表 者	学 会 名		
岡 奈津美、河内 正二、 垣内 貴瑛、小巻美菜子、 堀田 優衣、堀部 紗世、 佐々木直人、平田 健一、 力武 良行	日本薬学会第137年会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
マウス脳血管とアストロサイトの相互作用モデルの構築		2017.3.25	仙台

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治様

研究代表者所属 医薬細胞生物学研究室
研究代表者職・氏名 教授・士反伸和

平成28年7月14日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成29年3月31日付けをもって終了し、次の成果を得ましたので報告いたします。

記

共同研究課題		婦人科悪性腫瘍の治療に有効な生薬・天然物の探索			
構 成 員	氏名	所属学校・研究機関等名	学部・学科等名	職名	研究の役割分担
	士反伸和	神戸薬科大学	薬学部	教授	統括
	西山由美 須藤保	神戸薬科大学 兵庫県立がんセンター	薬学部 研究部・婦人科	講師 部長	成分の構造解析と活性試験 活性試験と評価・考察
共同研究の成果					
<p>1981年より、がんは脳卒中を抜いて日本人死亡原因の第1位となっている。現在、治療効果の高い抗腫瘍薬もあるが、有効な抗腫瘍薬がほとんどないがんもある。また、強い副作用により治療続行が困難となる場合もあり、新たな抗腫瘍薬の開発が期待されている。</p> <p>婦人科悪性腫瘍の1つである卵巣がんは初期症状が乏しく、発見された時にはすでに手術不能の進行がんとして発見され、抗がん剤治療が選択されることが多い。また、初期の治療では有効であった抗がん剤に耐性が生じてしまうことも度々観察されている。そこで我々はまず、数種の卵巣がん細胞株を用いて、生薬などの天然物から新たな抗腫瘍薬またはそのソースとなる化合物の探索を目指し、細胞増殖抑制試験を用いてスクリーニングを行った。細胞は兵庫県立がんセンターが保有する卵巣がん細胞株を用い、数種の生薬を対象に試験を行った。</p> <p>一方、漢方薬もがん治療において、副作用の軽減や免疫力の増強などを目的に多く使われるようになってきている。また、そのエビデンスも徐々に増えてきている。我々ががん治療において、もっと漢方薬が利用できるのではないかと考え、抗腫瘍薬との併用効果の検討を行った。</p> <p>スクリーニングの結果、卵巣がん細胞株に対していくつかの生薬に細胞増殖抑制効果が認められた。その中で、チンピ、アザミ根、アカネ根について、活性成分の探索及び作用機序の検討を行った。①チンピからは、数種のポリメトキシフラボン類を確認しその構造を決定した。ポリメトキシフラボンについては、他の生薬から単離して得られた化合物を入手し、構造活性相関についても検討し幾つかの知見を得た。②アザミ根からは、活性の強いアセチレン系化合物を単離しその構造を決定した。このうち最も強い活性を示した化合物は、細胞周期に対してG₀/G₁期からS期への移行を阻害し、アポトーシスを誘導することがわかった。③アカネ根からは、アリザリン型アントラキノン数種を活性成分として単離し構造を決定した。また、前年度からの継続した実験においては、コウコウから活性を有するフラボノイドを単離し構造を決定した。一方、アフリカ産植物 <i>Cassipourea malosana</i> から単離した新規化合物であるポリフェノールのメチル誘導体に細胞増殖抑制試験において強い活性が認められたので、作用機序を検討中である。今後は、アザミ根、アカネ根については引き続き活性成分を探索する予定である。また、活性を認めているタクシャ、ビャクシについて活性成分の探索を行う予定である。</p> <p>漢方薬と抗がん剤(シスプラチン)の併用効果については、前年度に引き続き、漢方薬の種類を増やして試験を行った。今回の試験では、シスプラチンの効果を強める相乗効果が一部の漢方薬に認められた。現在、耐性株を作成しているため、今後は完成した耐性株を用いて、併用効果を検討する予定である。</p>					

〈学会発表〉

発表者	学会名		
森本 真衣、西山 由美、 土反 伸和、須藤 保	日本生薬学会第 63 回年会		
タイトル	開催日	開催場所	
ヒト卵巣がん細胞に対する陳皮の抗腫瘍効果	2016/09/24-25	富山	
発表者	学会名		
山下奈菜海、西山 由美、 土反 伸和、須藤 保	日本生薬学会第 63 回年会		
タイトル	開催日	開催場所	
アザミ根のヒト卵巣がん細胞に対する抗腫瘍活性成分の探索	2016/09/24-25	富山	
発表者	学会名		
西谷 琴葉、鎌田真里杏、 宮川 夏実、西山 由美、 土反 伸和、須藤 保	日本薬学会第 137 年会		
タイトル	開催日	開催場所	
降香のヒト卵巣がん細胞 KOC7C 株に対する抗腫瘍活性成分の探索 2	2017/03/24-27	仙台	
発表者	学会名		
宮川 夏実、西谷 琴葉、 西山 由美、土反 伸和、 須藤 保	日本薬学会第 137 年会		
タイトル	開催日	開催場所	
アカネ根のヒト卵巣がん細胞に対する抗腫瘍活性成分の探索	2017/03/24-27	仙台	

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治様

研究代表者所属 生命有機化学研究室
研究代表者職・氏名 教授・和田 昭盛

平成28年7月14日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成29年3月31日付けをもって終了し、次の成果を得ましたので報告いたします。

記

共同研究課題		レチナールアナログを利用した optogenetics ツールの開発			
構 成 員	氏名	所属学校・研究機関等名	学部・学科等名	職名	研究の役割分担
	和田 昭盛	神戸薬科大学	薬学部	教授	研究の統括・計画
	山野 由美子	神戸薬科大学	薬学部	准教授	レチナールアナログの合成
	沖津 貴志	神戸薬科大学	薬学部	講師	レチナールアナログの合成
	七田 芳則	京都大学大学院	理学研究科	教授	人口チャンネルロドプシンの特性解析
	今元 泰	京都大学大学院	理学研究科	准教授	人口チャンネルロドプシンの特性解析
山下 高廣	京都大学大学院	理学研究科	助教	人口チャンネルロドプシンの特性解析	
共同研究の成果					
<p>前年度に合成した A1 アルデヒドの 4 位から二重結合を 2 個延長した化合物(I)および A2 アルデヒドの 3 位から二重結合を 1 個延長した化合物(II)について、タンパク質オプシンとの結合実験をしたところ、いずれの発色団もタンパク質中に取り込まれ新たな ChR アナログが生成した。2 種の新規 ChR の吸収極大は、天然の ChR の吸収極大(λ_{max})に比べて I で 7 nm II で 12 nm 長波長シフトしていた。また、これまでのアナログから得られた新規 ChR の場合と同様、吸収曲線にブロードバンド化が認められ、$1/2\lambda_{max}$ の吸収波長を比較すると I で 40 nm、II で 50 nm と大きく長波長シフトしていることが判明した。I と II は、二重結合の数が同じことから、より長波長シフトする発色団を設計する場合には、A2 アルデヒドの 3 位から二重結合を延長する方がより効果的なことが判明した。また、生成した新規 ChR について、光反応を検討したが活性化は起こらず、応答しないことが明らかになった。</p> <p>他の発色団としては、β-イオンを出発原料として、A1 アルデヒドより側鎖二重結合が 1 個伸びたアナログを側鎖の延長と官能基変換により合成を行った。すなわち、側鎖の延長には、C2 ホスホネートあるいは C5 ホスホネートとの Horner-Emmons 反応により炭素数を増加し、官能基変換は、エステルの還元と酸化によりアルデヒドへと変換した。ホスホネートの組み合わせを変えることにより、8 位、12 位および 14 位の後にそれぞれ二重結合を導入したアナログ 3 種を合成した。これらの化合物の UV 吸収スペクトルにおける吸収極大波長は、A1 アルデヒドに比べ約 30nm 長波長シフトしていた。</p> <p>更に、レチナールのシクロヘキセン環を芳香環状に代えたアナログ化合物として、クロメン環、p-ジメチルアミノベンゼン環、p-メトキシベンゼン環を持つ化合物を合成した。</p> <p>今後、これら新規に合成したアナログとタンパク質との結合実験し、これまでのように吸収極大のブロードバンド化が見られるか比較検討する予定である。</p>					

〈研究論文〉

著 者 名	論 文 標 題			
Okitsu, T.; Matsuyama, T.; Yamashita, T.; Ishizuka, T.; Yawo, H.; Imamoto, Y.; Shichida, Y.; Wada, A	Alternative Formation of Red-Shifted Channelrhodopsins: Noncovalent Incorporation with Retinal-Based Enamine-Type Schiff Bases and Mutated Channelopsin			
雑 誌 名	卷	発行年	ページ	
<i>Chem. Pharm. Bull.</i>	65(4)	2017	356-358	

〈学会発表〉

発 表 者	学 会 名		
神崎さくら子、石井菜穂子、 沖津 貴志、和田 昭盛	日本ビタミン学会第 68 回大会		
タ イ ト ル	開催日	開催場所	
共役したクロメン環を有するレチナルアナログの合成研究	6月18日	富山	

発 表 者	学 会 名		
和田 昭盛、山野由美子、 沖津 貴志、山下 高廣、 今元 泰、七田 芳則	日本レチノイド研究会第 27 回学術集会		
タ イ ト ル	開催日	開催場所	
レチナル環構造に共役系を導入したアナログの合成とタンパク質オプシンの相互作用	10月21日	町田	

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治様

研究代表者所属 機能性分子化学研究室
研究代表者職・氏名 教授・中山 尋量

平成28年7月14日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成29年3月31日付けをもって終了し、次の成果を得ましたので報告いたします。

記

共同研究課題		リン酸化反応を利用した天然型配糖体の可溶化および新規化合物の合成			
構 成 員	氏名	所属学校・研究機関等名	学部・学科等名	職名	研究の役割分担
	中山 尋量	神戸薬科大学	薬学部	教授	総括
	前田 秀子	神戸薬科大学	薬学部	講師	リン酸化反応および単離
	成相 裕之	神戸大学	工学研究科	教授	リン酸化剤の調製
共同研究の成果					
<p>初めにβ-D-グルコース配糖体であるβ-アルブチンのシクロ三リン酸塩(P_{3m})によるリン酸化反応を行った。P_{3m}とβ-アルブチンとの反応溶液の経時変化をHPLCにより測定した。保持時間14分のβ-アルブチンのピーク以外に9および11分に生成物のピークが見られた。9分のピークは、反応開始直後から見られ、反応が進行するにつれ急激に大きくなった。一方、11分のピークは、NMR測定の結果から、副生成物であることがわかった。</p> <p>生成物の構造を調べるため、³¹P, ¹H-³¹P HMBC, ¹H-¹H COSY NMRの測定を行った。その結果、リン酸化反応は、β-アルブチンのフェノール部分のヒドロキシル基で起こり、生成物は4-triphospho-β-arbutinであることがわかった。</p> <p>さらに、この反応の最適反応条件を探した。その結果、β-アルブチン : P_{3m} = 0.1 mol/L : 0.5 mol/L, pH 11, 40℃で反応を行うのが良いことがわかり、このときの収率は、94%と高収率であった。</p> <p>そこで、生成物の単離を行った。まず初めにWakosil®40C18を充填した逆相カラムクロマトグラフィーで行った。原料のβ-アルブチンと生成物との分離は出来たが、未反応のP_{3m}を取り除くことができなかった。</p> <p>次に、陰イオン交換カラムクロマトグラフィーで行った。100-200メッシュ、Cl⁻型のDowex 1-X2樹脂を充填し、溶出液に0.3 mol/L塩化カリウム水溶液を用いた。50 mLずつ溶出し、HPLCで生成物が含まれる画分を探した。そして生成物が多く含まれる画分を凍結乾燥後、脱塩して精製した。構造を各種NMRおよびESI-MS分析で解析したところ、4-triphospho-β-arbutinであることが明らかとなった。さらに、³¹P NMRの積分強度比から、生成物の純度が94%であることがわかった。</p> <p>次にβ-アルブチンのジホスホン酸塩(DP)によるリン酸化反応を行った。主生成物は、4-phosphonyl-β-arbutinであり、P_{3m}の場合と同様にβ-アルブチンのフェノール部分のヒドロキシル基がリン酸化されることがわかった。副生成物として、β-アルブチンのグルコース部分のヒドロキシル基がリン酸化されたものも得られたが、いずれもモノホスホン酸エステルであった。</p> <p>当研究室ではすでに、天然型配糖体である2-hydroxymethylphenyl-β-D-glucopyranoside(サリシン)のDPによるリン酸化反応について検討し、サリシンのグルコース部分の2'位と4'位のヒドロキシル基の両方にホスホン酸が結合したジホスホン酸エステルを得たことを報告している。サリシンと構造が良く似ているβ-アルブチンのリン酸化においても1分子内に同時に複数カ所リン酸基が導入される反応が起こるのではないかと予想していたが、予想通りにはならなかった。しかしながら、リン酸基の導入によってβ-アルブチンの水溶性の向上が認められたため、利尿作用や尿路殺菌薬としての利用が期待される。</p>					

〈研究論文〉

著 者 名	論 文 標 題			
Hideko Maeda, Mako Katsushiro, Hiroyuki Nariai, Hirokazu Nakayama	Introduction of phosphate group into β -arbutin by cyclo-triphosphate			
雑 誌 名	卷	発行年	ページ	
Phosphorus Research Bulletin	33	2017	21-25	

〈学会発表〉

発 表 者	学 会 名		
前田 秀子、勝代 眞子、 成相 裕之、中山 尋量	The 9th International Symposium on Inorganic Phosphate Materials (ISIPM-9)		
タ イ ト ル	開催日	開催場所	
Phosphorylation of arbutin with cyclo-triphosphate in aqueous solution	2016. 9 26	八王子	

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治様

研究代表者所属 臨床薬学研究室
研究代表者職・氏名 教授・江本 憲昭

平成28年7月14日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成29年3月31日付けをもって終了し、次の成果を得ましたので報告いたします。

記

共同研究課題	未根治心房中隔欠損症における肺高血圧発症メカニズムの解明と治療法最適化への応用				
構 成 員	氏名	所属学校・研究機関等名	学部・学科等名	職名	研究の役割分担
	江本 憲昭	神戸薬科大学	薬学部	教授	臨床検体解析
	中山 和彦	神戸大学	医学部附属病院	特命助教	臨床データ解析
	平田 健一	神戸大学大学院	医学研究科	教授	臨床検体収集
共同研究の成果					
<p>私たちの長期的な研究目的は肺高血圧症の病態を探索し、診断や治療における有益な知見を集積し、新たな治療概念を構築することである。未根治心房中隔欠損症は本邦における肺高血圧症の原因として大きな割合を占め、肺血管拡張薬による治療がある一定の成果をあげつつあるが、重症化例の治療法は未だ確立していない。そこで、本研究では未根治心房中隔欠損症の症例を含めた肺高血圧症の登録を神戸大学で行いつつ、患者より得られた採血検体を用いて本症の新規病態解明と新たな創薬標的探索を分子遺伝学的手法を用いて解析する。基礎および臨床の両面からのアプローチにより、新規治療法開発に関する成果を目指す。</p> <p>心房中隔欠損症に伴う肺高血圧症の予後を規定する因子は右心機能であることが明らかにされている。しかし、右心機能を正確に評価する方法は右心カテーテルや心臓MRIであり、簡便で有効なスクリーニング目的の手法は確立されていない。そこで、私たちは心エコーで右心機能の評価及び予後予測の因子を探索した。その結果、従来右心機能を反映するとされていた心エコーによるTAPSEが過大評価すること(Echocardiography 2016a)、新たな指標であるストレイン解析が右心機能評価に有効であること(Echocardiography 2016b)、右心室の壁厚が予後予測に有効であること(Int J Cardiovasc Imaging 2016)を見出し、それぞれ論文として発表した。また、異なるカテゴリーの肺高血圧である慢性血栓塞栓性肺高血圧症のカテーテル治療における合併症の予測因子を明らかにし、肺高血圧症の治療法の最適化に資する知見を発表した(IJC Heart & Vasc 2016)。</p> <p>さらに、未根治心房中隔欠損症に対する治療として汎用されているボセンタンによる肝機能障害を予測し得る遺伝子変異を網羅的に解析した結果、これまでに報告されていない遺伝子多型を見いだすことに成功した。この成果は2016年10月に開催された第1回日本肺高血圧・肺循環学会学術集会で発表され、現在論文作成中である。また、慢性血栓塞栓性肺高血圧症のカテーテル治療の治療最適化の手法に関して、第1回日本肺高血圧・肺循環学会学術集会において2題の発表を行った。一方、慢性血栓塞栓性肺高血圧症の治療において治療後の生活の質を反映する指標についての解析を行い、その成果は2017年3月にThe 81st Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Societyで発表された。</p> <p>以上、本共同研究の結果、肺高血圧症に関する臨床的課題に関して4報の論文発表及び5件の学会発表を行い、同症の発症メカニズムの解明と治療法最適化において着実に成果をあげることができた。</p>					

〈研究論文〉

著者名	論文標題			
Kinutani H, Shinke T, Nakayama K, Taniguchi Y, Otake H, Takaya T, Osue T, Konishi A, Emoto N, Hirata KI.	High perfusion pressure as a predictor of reperfusion pulmonary injury after balloon pulmonary angioplasty for chronic thromboembolic pulmonary hypertension.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
IJC Heart & Vasc.	11	2016	1-6	

著者名	論文標題			
Sano H, Tanaka H, Motoji Y, Fukuda Y, Mochizuki Y, Hatani Y, Matsuzoe H, Hatazawa K, Shimoura H, Ooka J, Ryo-Koriyama K, Nakayama K, Matsumoto K, Emoto N, Hirata KI.	Right ventricular relative wall thickness as a predictor of outcomes and of right ventricular reverse remodeling for patients with pulmonary hypertension.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Int J Cardiovasc Imaging.	33	2016	313-321	

著者名	論文標題			
Fukuda Y, Tanaka H, Ryo-Koriyama K, Motoji Y, Sano H, Shimoura H, Ooka J, Toki H, Sawa T, Mochizuki Y, Matsumoto K, Emoto N, Hirata KI.	Comprehensive Functional Assessment of Right-Sided Heart Using Speckle Tracking Strain for Patients with Pulmonary Hypertension.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Echocardiography	33	2016	1001-1008	

著者名	論文標題			
Motoji Y, Tanaka H, Fukuda Y, Sano H, Ryo K, Sawa T, Miyoshi T, Imanishi J, Mochizuki Y, Tatsumi K, Matsumoto K, Emoto N, Hirata KI.	Association of Apical Longitudinal Rotation with Right Ventricular Performance in Patients with Pulmonary Hypertension: Insights into Overestimation of Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Echocardiography.	33	2016	207-215	

〈学会発表〉

発表者	学会名		
依藤健之介、鈴木 陽子、上村 裕子、辻 剛、八木 敬子、中山 和彦、池田 宏二、平田 健一、熊谷 俊一、江本 憲昭	第1回日本肺高血圧・肺循環学会学術集会		
タイトル	開催日	開催場所	
ボセンタンによる肝機能障害関連ゲノムバイオマーカーの探索	2016/10/1-2	東京	

発 表 者	学 会 名	
谷仲 謙一、中山 和彦、 玉田 直己、大西 裕之、 新倉 悠人、新家 俊郎、 江本 憲昭、平田 健一	第1回日本肺高血圧・肺循環学会学術集会	
タ イ ト ル		開催日
CTEPH に対する BPA 前後の病変別圧格差の特徴		2016/10/1-2
		開催場所
		東京

発 表 者	学 会 名	
新倉 悠人、中山 和彦、 谷仲 謙一、玉田 直己、 坪井 康典、田中 秀和、 小林 成美、新家 俊郎、 江本 憲昭、平田 健一	第1回日本肺高血圧・肺循環学会学術集会	
タ イ ト ル		開催日
圧正常化 CTEPH 患者に対する追加 BPA 効果の検討		2016/10/1-2
		開催場所
		東京

発 表 者	学 会 名	
Shinkura Y., Nakayama K., Tamada N., Yanaka K., Kuroda K., Uzu K., Tahara N., Nagasawa Y., Nagano Y., Yamamoto H., Tsukiyama Y., Terashita D., Takahashi H., Toba T., Ohtake H., Shinke T., Tsuboi Y., Tanaka H., Kobayashi S., Emoto N., Hirata KI.	The 81 st Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society	
タ イ ト ル		開催日
Safety of Complete Revascularization of Balloon Pulmonary Angioplasty on Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension beyond Normalized Mean Pulmonary Arterial Pressure		2017/3/17-19
		開催場所
		Kanazawa

発 表 者	学 会 名	
Tamada N., Nakayama K., Yanaka K., Onishi H., Shinkura Y., Tanaka H., Izawa K., Shinke T., Emoto N., Hirata KI.	The 81 st Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society	
タ イ ト ル		開催日
Improvement of Hemodynamics and Exercise Tolerance Should be Necessary to Achieve Better Quality of Life on Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension		2017/3/17-19
		開催場所
		Kanazawa

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治 様

研究代表者所属 微生物化学研究室
研究代表者職・氏名 教授・小西 守周

平成28年7月14日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成29年3月31日付けをもって終了し、次の成果を得ましたので報告いたします。

記

共同研究課題		糖鎖による生体機能の新規調節機構の解明			
構 成 員	氏名	所属学校・研究機関等名	学部・学科等名	職名	研究の役割分担
	小西 守周	神戸薬科大学	薬学部	教授	マウス血中ホルモンの測定
	中山 喜明	神戸薬科大学	薬学部	講師	遺伝子改変マウス神経機能解析
	黒坂 光	京都産業大学	総合生命科学部	教授	タンパク質活性の測定
共同研究の成果					
<p>生体においては、糖鎖は細胞同士のコミュニケーションツールである細胞外分泌因子や細胞膜上の接着分子・各種受容体の機能に重要な役割を果たす。従って、これらの役割やその分子メカニズムを明らかにすることは、生体のしくみの理解、またその破綻による病態の理解、さらには病態の治療法開発にも重要であると考えられる。Wbscr17は、我々と共同研究先の京都産業大学黒坂研究室によって2005年に同定された新規糖転移酵素様遺伝子である。Wbscr17は、これまで発現部位の同定や、腫瘍細胞における機能解析は行われてきたが、生理的な役割の解明は行われてこなかった。そこで本共同研究では、遺伝子改変動物を用い、Wbscr17の生理的な役割を明らかにし、さらにはWbscr17遺伝子と同一の遺伝子ファミリーに属するGalnt-Yサブファミリーの機能を明らかにすることを目的とする。本共同研究では、Wbscr17の生理的役割を解明するために遺伝子改変動物の解析を行った。Wbscr17遺伝子欠損マウスを作製したところ、この変異体マウスは、雄雌問わず軽度の成長不全を示し、さらに雌マウスでは分娩異常により繁殖能力を殆ど有していなかった。次に、これらの表現型に関するホルモンや血中パラメーターの測定を行い、Wbscr17遺伝子欠損マウスでは下垂体前葉ホルモンである成長ホルモンの分泌低下とプロラクチンの分泌亢進が起きていることを現在までに見出している。さらには下垂体ホルモンの分泌を調節する中枢であることが知られている視床下部における機能解析を進めたところ、視床下部領域におけるカテコラミンの分泌量が遺伝子欠損マウスで増加していることが明らかになった。一方で、Wbscr17の相同遺伝子であるGalnt18についてゲノム編集により遺伝子欠損ゼブラフィッシュを作成したところ、ゼブラフィッシュGalnt18a及びGalnt18bのそれぞれ単独の遺伝子欠損ゼブラフィッシュは正常に育成するのに対し、Galnt18a/bの両遺伝子欠損ゼブラフィッシュでは成魚まで育成できないことが明らかとなった。</p>					

〈学会発表〉

発表者	学会名		
中村 直介、辻本 優季、 高橋 由衣、川合多美子、 中山 喜明、小西 守周、 黒坂 光	第 35 回日本糖質学会年会		
タイトル		開催日	開催場所
脊椎生物特異的なポリペプチド N- アセチルガラクトサミン転移酵素を欠失したゼブラフィッシュ変異体の作製		2016.9.2	高知市

発表者	学会名		
中村 直介、辻本 優季、 高橋 由衣、川合多美子、 中山 喜明、小西 守周、 黒坂 光	第 89 回日本生化学会大会		
タイトル		開催日	開催場所
ゼブラフィッシュを用いた脊椎動物特異的ポリペプチド N- アセチルガラクトサミン転移酵素の機能解析		2016.9.26	仙台市

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治 様

研究代表者所属 薬化学研究室
研究代表者職・氏名 教授・奥田 健介

平成28年7月14日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成29年3月31日付けをもって終了し、次の成果を得ましたので報告いたします。

記

共同研究課題	生体内酸化還元反応に寄与する活性種のイメージングプローブならびにケージド化合物の開発研究				
構 成 員	氏名	所属学校・研究機関等名	学部・学科等名	職名	研究の役割分担
	奥田 健介 永澤 秀子	神戸薬科大学 岐阜薬科大学	薬学部 薬学部	教授 教授	分子設計・合成 活性評価
共同研究の成果					
<p>近年、H₂SをはじめH₂S₂等の persulfide, polysulfide などの活性硫黄種によるレドックス・シグナリングが注目を集めている。このシグナル伝達系は、癌や発生分化をはじめ、きわめて多岐にわたる生命現象に関与していることが明らかにされつつあり、その恒常性の破綻がアルツハイマー病や肝硬変、胃粘膜損傷、肺高血圧症などの疾病を引き起こすことも報告されている。さらに、活性硫黄種は酸化還元反応を通して相互に変換し、生理的条件下ではタンパク質のCys 残基によって消去されるためH₂Sはさほど安定ではないと考えられており、活性硫黄種としての真の活性種に関しては混とんとしている。そこで、これら活性硫黄種個々に対応する高感度かつ迅速な検出法を確立することにより、レドックス反応に基づく新たな細胞内シグナル研究の基盤技術を提供することができれば、発がんや老化、生活習慣病など酸化ストレスに起因する様々な疾病治療に波及効果をもたらすことが期待される。さらに、これら活性硫黄種の過渡的なふるまいを明らかにすることを目的として、顕微鏡下での光照射により活性硫黄種発生の時空間制御を可能にするような、これら活性硫黄種のケージド化合物の創製をも目指している。</p> <p>そこでまず、細胞内で発生したH₂Sをトリガーとして自らH₂Sを放出すると同時に蛍光分子を放出し、連鎖的にH₂Sと蛍光を増幅して高感度に検出できるH₂S増幅型センサー分子の開発を行うべく、H₂S増幅型蛍光プローブの合成を申請者は行った。今後、選択性・特異性・検出感度などの一次評価を行い、結果をプローブデザインにフィードバックし、望ましい性質を有する誘導体を選抜する。次いで、<i>in vitro</i>培養細胞系でのH₂S検出実験に適応し、プローブの妥当性を評価する。細胞透過性・毒性などに問題が認められた場合には、適宜物理化学的なパラメータを考慮した誘導体化を行うことによりプローブの性能向上を図る予定である。</p> <p>また、蛍光法に比べて生体深部の観測に有利なモダリティである核磁気共鳴画像(MRI)法によるH₂S検出プローブの創製を目指し、生体内におけるバックグラウンドノイズが低い利点を有する¹⁹F核を利用して、第一世代のH₂S検出MRIプローブの創製に成功した。次いで¹⁹F-NMRによる一次評価を行ったところ、H₂Sとの反応性に優れたプローブには水系溶媒での安定性に問題があることが明らかとなった。そこで今後、プローブ自身の安定性とH₂Sとの反応性とのバランスの調整を行ってプローブを再度デザイン・合成する。続いて、先ほどと同様に¹⁹F-NMRによる評価を行って結果をプローブの設計にフィードバックし、プローブ自身の安定性とH₂Sとの選択性・特異性・検出感度などの点で優れた性質を有する誘導体の選抜を図り、第二世代プローブの創出へとつなげる。さらに、培養細胞系を用いて先ほどの蛍光プローブと同様の評価を行って、プローブの性能向上化を図る。</p> <p>ケージド活性硫黄化合物に関しては、申請者らが以前に開発したケージドH₂S₂化合物の構造単純化に成功した。今後、このケージド化合物の細胞内での安定性を保った上で光アンケージングの効率を高める分子設計を行っていく予定である。</p>					

〈研究論文〉

著者名	論文標題			
S. Fukuda, K. Okuda, G. Kishino, S. Hoshi, I. Kawano, M. Fukuda, T. Yamashita, S. Beheregaray, M. Nagano, O. Ohneda, H. Nagasawa, and T. Oshika	In vivo Retinal and Choroidal Hypoxia Imaging Using a Novel Activatable Hypoxia-Selective Near-Infrared Fluorescent Probe			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
<i>Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.</i>	254	2016	2373-2385	

〈学会発表〉

発表者	学会名		
平山 祐、奥田 健介、 永澤 秀子	第 20 回日本がん分子標的治療学会学術集会		
タイトル	開催日	開催場所	
ミトコンドリア局在型二価鉄蛍光プローブを使った鉄依存的細胞死の解析	2016.5.30.-6.1.	別府	

発表者	学会名		
丹羽 正人、平山 祐、 奥田 健介、永澤 秀子	日本ケミカルバイオロジー学会 第 11 回年会		
タイトル	開催日	開催場所	
細胞膜上に局在する鉄(II)イオン検出蛍光プローブの開発	2016.6.15.-17.	京都	

発表者	学会名		
奥田 健介	第 22 回癌治療増感研究会		
タイトル	開催日	開催場所	
がんのストレス応答系に関するケミカルバイオロジー研究	2016.7.2.	那覇	

発表者	学会名		
Hirayama T., Niwa M., Kadota S., Miki A., Okuda K., Nagasawa H.	World Molecular Imaging Congress 2016		
タイトル	開催日	開催場所	
Molecular imaging of iron metabolism during ferroptosis with a novel mitochondria-targeting fluorescent probe	2016.9.7-10.	New York	

発表者	学会名		
丹羽 正人、平山 祐、 奥田 健介、永澤 秀子	第 14 回がんとハイポキシア研究会		
タイトル	開催日	開催場所	
細胞内鉄(II)イオン濃度の変動を検出できる蛍光プローブの開発	2016.11.4.-5.	岐阜	

発 表 者	学 会 名		
永澤 秀子、平山 祐、 奥田 健介	第 19 回癌治療増感研究シンポジウム		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
がん微小環境を標的とする創薬研究		2017.2.3.-4.	奈良

発 表 者	学 会 名		
奥田 健介、占 文虎、 平山 祐、永澤 秀子	第 19 回癌治療増感研究シンポジウム		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
生体内硫化水素検出を目指した ¹⁹ F-MRI プローブの開発		2017.2.3.-4.	奈良

発 表 者	学 会 名		
丹羽 正人、平山 祐、 奥田 健介、永澤 秀子	日本薬学会第 137 年会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
細胞中での拡散性を高めた鉄(II)イオン蛍光プローブの開発		2017.3.25.-27.	仙台

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治様

研究代表者所属 製剤学研究室
研究代表者職・氏名 教授・坂根 稔康

平成28年7月14日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成29年3月31日付けをもって終了し、次の成果を得ましたので報告いたします。

記

共同研究課題	鼻腔内投与による生理活性ペプチド(ニューロメジンU受容体アゴニスト CPN-116)の脳内送達
--------	---

氏名	所属学校・研究機関等名	学部・学科等名	職名	研究の役割分担
坂根 稔康	神戸薬科大学	薬学部	教授	研究の統括・動物実験
寺岡 麗子	神戸薬科大学	薬学部	准教授	ペプチドの定量
湯谷 玲子	神戸薬科大学	薬学部	助教	<i>in vitro</i> 細胞層透過実験
林 良雄	東京薬科大学	薬学部	教授	CPN-116 の合成・提供
高山 健太郎	東京薬科大学	薬学部	助教	CPN-116 の合成・提供

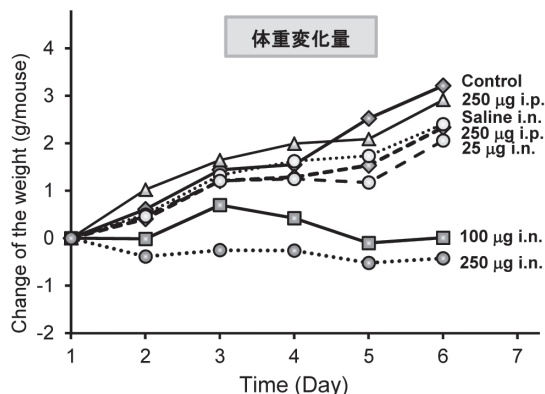
共同研究の成果

まず、静脈内投与後の体内動態と鼻腔内投与後の吸収動態、脳内移行動態を検討した。急速静脈内投与後の動態は線形1-コンパートメントモデルにしたがい、全身クリアランス(CL_{tot})は、6.13 (mL/min)、分布容積(V_d)は 74.1 (mL)であった。血液からの消失は予想通り速やかで、消失半減期は約8分であった。CPN-116 は血液中で thrombin により分解されることが明らかになっているが、腎排泄に加えて、血中での分解が血液からの速やかな消失に寄与している可能性が示唆された。

鼻腔内投与後の吸収率は予想に反して、約25%と良好であった。一方、ホモジナイズに伴う細胞内タンパク分解酵素による分解のために、CPN-116 の脳内濃度を LC/MS で測定することはできなかった。阻害剤カクテルの併用などにより、分解を抑える必要があり、今後の検討課題である。そこで、放射標識体を用いて、鼻腔内投与後の脳内移行動態を検討したところ、嗅球(olfactory bulb)とそれに続く大脳前半部分で CPN-116 由来の放射活性が高く、CPN-116 が鼻腔から脳内へと効率よく移行している可能性が明らかとなった。

次に、CPN-116 をマウスに腹腔内投与(250 μ g)、静脈内投与(250 μ g)、鼻腔内投与して、その後の体重及び摂餌量を観察した。鼻腔内投与に関しては、投与量を変化(25 μ g, 100 μ g, 250 μ g)させて、薬理活性の投与量依存性を確認した。腹腔内投与群、静脈内投与群の体重増加には、対照群(非投与群)と比較して、有意な相違は観察されなかった。対照的に鼻腔内投与群では、投与量に依存した体重増加と摂餌量の抑制が観察され、100 μ g 投与群、250 μ g 投与群における体重増加の抑制の程度は対照群と比較して、有意であった。

次に、薬理効果が CPN-116 の中枢作用であることを確認するために、corticosterone の血中濃度を指標に検討した。CPN-116 の鼻腔内投与時のみ、血中の corticosterone 濃度の増大が観察され、体重増加及び摂餌量の抑制が、中枢の Neuromedin U Type 2 受容体を介した作用であることを確認した。



〈学会発表〉

発表者	学会名		
Toshiyasu Sakane, Reiko. Yutani, Reiko Teraoka, Akiko Tanaka, Yuki Takemura, Koji Taketa, Kentaro Takayama, Yoshio Hayashi, Kosuke Kusamori, Hidemasa Katsumi, Akira Yamamoto	International Symposium on Drug Delivery and Pharmaceutical Sciences: Beyond the History		
タイトル	開催日	開催場所	
Transnasal delivery of the peptide to the brain	2017/3/9	Kyoto, Japan	

発表者	学会名		
坂根 稔康、田中 晶子、 竹村 有希、湯谷 玲子、 寺岡 麗子、武田 康嗣、 高山健太郎、草森 浩輔、 勝見 英正、林 良雄、 山本 昌	日本薬学会第 137 年会		
タイトル	開催日	開催場所	
鼻腔内投与による CPN-116 の脳内送達	2017/3/25	仙台市	