

# 共同研究 研究紀要

2010

神戸薬科大学

## 共同研究 研究成果報告

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。

### 2009（平成21）年度共同研究（研究期間 2009. 4. 1.～2010. 3. 31.）

承認番号	共同研究課題名（研究テーマ）	研究代表者
1	脳血管および骨代謝における脂溶性リガンドの機能解析	衛生化学研究室 教授 岡野登志夫
2	膜貫通ドメイン含有ペプチドを用いた細胞内コレステロール制御機構の解明	薬品物理化学研究室 教授 斎藤 博幸
3	新規ドミノ型反応による機能性 $\gamma$ -アミノ酸類の効率的合成法の開発	薬品化学研究室 教授 宮田 興子
4	リン酸化による硫酸化グリコサミノグリカン鎖生合成の制御	生化学研究室 教授 北川 裕之
5	血清を測定対象としたミエリン塩基性タンパク（MBP）定量法の開発研究	病態生化学研究室 教授 太田 光熙
6	アラキドン酸由来生理活性物質 LipoxinA4 の粘膜免疫における役割	医療薬学研究室 教授 水野 成人
7	イソプレノイドを基盤とする脂溶性シグナル分子の開発	生命有機化学研究室 教授 和田 昭盛
8	抗イディオタイプ抗体フラグメント-酵素融合タンパク質をキーマテリアルとする高性能ハプテン免疫測定法の開発	生命分析化学研究室 教授 小林 典裕
9	吸湿性医薬品の混合粉碎による吸湿性低減効果	機能性分子化学研究室 教授 中山 尋量
10	Neferine 関連アルカロイドの合成と薬理活性に関する研究	薬化学研究室 教授 棚橋 孝雄
11	経皮吸収型フェンタニル（持続性痛治療剤）の新規マトリックス製剤の適正使用とその評価に関する研究	製剤学研究室 教授 北河 修治
12	植物におけるアルカロイド転流機構の解明	生薬化学研究室 教授 守安 正恭
13	心不全におけるエンドセリン系の病態生理学的役割の解明と創薬への応用	臨床薬学研究室 教授 江本 憲昭
14	ナノ粒子のアレルギーに与える影響およびそのメカニズムに関する研究	薬理学研究室 教授 吉野 伸
15	一酸化窒素産生抑制作用を有するイソキノリン化合物類の立体構造解明と活性相関	薬品物理化学研究室 講師 上垣内みよ子

## 神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 棚橋孝雄 様

研究代表者所属・職 衛生化学研究室・教授

研究代表者氏名 岡野登志夫

平成21年9月5日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成22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		脳血管および骨代謝における脂溶性リガンドの機能解析			
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
	岡野登志夫	神戸薬科大学	薬学部	教授	研究の統括
	加藤茂明	東京大学	分子細胞生物学研究所	教授	遺伝子改変・ゲノム解析
	榊利之	富山県立大学	工学部・ 生物工学研究センター	教授	脂溶性リガンドの代謝解析
	中川公恵	神戸薬科大学	薬学部	講師	脂溶性リガンドの活性評価
共同研究の成果					
<p>ビタミンD (D) 受容体 (VDR) 欠損により活性型D (1,25-D3) 作用が全く現れないVDRKO マウスと1,25-D3 生合成の鍵酵素であるD1位水酸化酵素を欠損したマウス (1<math>\alpha</math>-OHase KO) および両KOより作出できるダブルノックアウトマウス (WKO) の3種を用い、脳機能や骨代謝における新規D誘導体の作用を解析するため、WKOマウスの作出を行った。作出したWKOマウスの表現型は、VDRKOおよび1<math>\alpha</math>-OHase KOよりも骨形成状態が不良であった。CYP27B1-KOマウスにビタミンD誘導体を投与することによる骨形成への影響を検討した結果、ビタミンD誘導体投与によって骨形成が野生型マウスと同等にまで回復した。また、細胞レベルでは、マウス胎仔大脳より神経幹細胞を単離し、初代培養神経幹細胞に対する各種脂溶性リガンドの神経細胞分化誘導作用を検討した。その結果、all trans retinoic acid (ATRA) と同様に、1,25-D3 および 25-D3 に神経幹細胞をニューロンへと分化誘導する作用があることが明らかとなった。この1,25-D3 および 25-D3 の作用について、さらにVDRKOマウスあるいはCYP27B1-KOマウスより単離した神経幹細胞を用いて検討した結果、これらのマウスより単離した神経幹細胞においてもニューロンへの分化誘導作用が認められた。また、ビタミンKの様々な同族体についても同様に神経幹細胞に対する作用を検討した結果、menaquinone-4 (MK-4) に強いニューロン分化誘導作用があること、ビタミンKの側鎖構造の異なる同族体においてもニューロンへの分化誘導作用があることがわかった。特にニューロンへの分化誘導作用が強く見られたMK-4については、その作用メカニズムを解明するため、MK-4を処理した神経幹細胞についてDNAマイクロアレイ解析を行い、MK-4により発現が誘導される因子を数種見いだした。また、MK-4の側鎖構造を修飾した新規ビタミンK化合物数種について、核内受容体であるsteroid and xenobiotic receptor (SXR) を介した転写活性を検討し、側鎖二重結合の欠失により活性が低下することがわかった。本研究によって、VDRとCYP27B1の両方を欠損したWKOマウスの作出に成功し、またビタミンDおよびビタミンKいずれにおいても脳神経細胞の分化を制御する作用があることを明らかにした。</p>					

< 研究論文 >

著者名	論文標題			
Kuwabara, A., Tanaka, K., Tsugawa, N., Nakase, H., Tsuji, H., Shide, K., Kamao, M., Chiba, T., Inagaki, N., Okano, T., Kido, S.	High prevalence of vitamin K and D deficiency and decreased BMD in inflammatory bowel disease.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Osteoporos Int.	20(6)	2009	935-42	

著者名	論文標題			
Himeno, M., Tsugawa, N., Kuwabara, A., Fujii, M., Kawai, N., Kato, Y., Kihara, N., Toyoda, T., Kishimoto, M., Ogawa, Y., Kido, S., Noike, T., Okano, T., Tanaka, K.	Effect of vitamin D supplementation in the institutionalized elderly.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
J Bone Miner Metab.	27(6)	2009	733-7	

著者名	論文標題			
Ohta, H., Kuroda, T., Onoe, Y., Orito, S., Ohara, M., Kume, M., Harada, A., Tsugawa, N., Okano, T., Sasaki, S.	The impact of lifestyle factors on serum 25-hydroxyvitamin D levels: a cross-sectional study in Japanese women aged 19-25 years.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
J Bone Miner Metab.	27(6)	2009	682-8	

著者名	論文標題			
Kuwabara, A., Tsugawa, N., Tanaka, K., Fujii, M., Kawai, N., Mukae, S., Kato, Y., Kojima, Y., Takahashi, K., Omura, K., Kagawa, R., Inoue, A., Noike, T., Kido, S., Okano, T.	Improvement of vitamin D status in Japanese institutionalized elderly by supplementation with 800 IU of vitamin D(3).			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).	55(6)	2009	453-8	

< 総説 >

著者名	論文標題			
岡野登志夫	特集：骨粗鬆症—栄養からどのように支えるか、各種ビタミンと骨粗鬆症			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
臨床栄養	114(5)	2009	477-482	

著者名	論文標題			
岡野登志夫	特集：日本人の食事摂取基準2010年版 [2]、脂溶性ビタミン			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
臨床栄養	115(5)	2009	518-527	

著者名	論文標題			
岡野登志夫	血中ビタミンD、K測定 of 骨粗鬆症予防における活用			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Medical Technology	37(3)	2009	222-223	

著者名	論文標題			
岡野登志夫	ビタミンDの代謝および生理活性発現機構の解明と栄養疫学研究			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
ビタミン	83(1)	2009	1-8	

著者名	論文標題			
岡野登志夫、津川 尚子	特集：ビタミンと高齢者、ビタミンDと骨粗鬆症			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
ビタミン	83(12)	2009	651-658	

著者名	論文標題			
岡野登志夫、津川 尚子	特集：ビタミンDと骨粗鬆症、日本人における血中ビタミンD濃度とその臨床的意義			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
骨粗鬆症治療	8(4)	2009	282-290	

<資料>

著者名	論文標題			
岡野登志夫	日本人の食事摂取基準（2010年版）の概要			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
ファルマシア	11	2009	1152-1155	

<著書>

著者名	著書名			
岡野登志夫	日本人の食事摂取基準 [2010年版]			
出版社	発行年	ページ		
第一出版	2009	16-17		

<翻訳>

著者名	著書名			
岡野登志夫	骨の健康と栄養科学大辞典			
出版社	発行年	ページ		
西村書店	2009	219-241		

<学会発表>

発表者	学会名		
磯元 啓吾、中川 公恵、榑 利之、 加藤 茂明、岡野登志夫	ビタミン学会第61回大会		
タイトル	開催日	開催場所	
CYP27B1 遺伝子欠損マウスを用いたビタミンD誘導体の骨形成作用の解析	2009年 5月30日	京 都	

発表者	学会名		
磯元 啓吾、中川 公恵、榑 利之、 加藤 茂明、岡野登志夫	第27回日本骨代謝学会		
タイトル	開催日	開催場所	
CYP27B1 遺伝子欠損マウスを用いた新規活性型ビタミンD誘導体 ED-71 の骨形成作用の解析	2009年 7月24日	大 阪	

発表者	学会名		
Okano, T., Nakagawa, K., Isomoto, K., Okuda, N., Sawada, N., Sakaki, T., Kato, S.	<i>The 31th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research</i>		
タイトル	開催日	開催場所	
A Novel Active Vitamin D Analogue, ED-71, Increases Bone Mass and Bone Strength more Efficiently than Alfacalcidol in CYP27B1 Knockout Mice.	2009年 9月11日 ~12日	Denver	

発表者	学会名		
中川 公恵、磯元 啓吾、澤田 夏美、 榑 利之、加藤 茂明、岡野登志夫	第11回日本骨粗鬆症学会		
タイトル	開催日	開催場所	
新規活性型ビタミンD誘導体 ED-71 の骨形成作用に関する CYP27B1 遺伝 子欠損マウスを用いた解析	2009年10月15日	名古屋	

発表者	学会名		
磯元 啓吾、中川 公恵、榑 利之、 加藤 茂明、岡野登志夫	第59回日本薬学会近畿支部大会		
タイトル	開催日	開催場所	
CYP27B1 遺伝子欠損マウスを用いた新規活性型ビタミンD誘導体 Eldecalcitol (ED-71) の骨形成作用の解析	2009年10月24日	大 阪	

発表者	学会名		
木村 州作、中川 公恵、岡野登志夫	第59回日本薬学会近畿支部大会		
タイトル	開催日	開催場所	
ビタミンDおよびビタミンKの神経突起伸長作用	2009年10月24日	大 阪	

発 表 者	学 会 名		
鎌尾 まや、久戸瀬 純、木村 州作、 岡野登志夫	フォーラム2009：衛生薬学・環境トキシコロジー		
タ イ ト ル		開 催 日	開催場所
精巢におけるビタミンDおよびビタミンD代謝酵素 CYP2R1 の精巢における役割		2009年11月5日	宜野湾

発 表 者	学 会 名		
鎌尾 まや、久戸瀬 純、木村 州作、 岡野登志夫	日本薬学会第130年会		
タ イ ト ル		開 催 日	開催場所
ビタミンDおよびビタミンD代謝酵素 CYP2R1 の精巢における役割		2010年3月30日	岡山

## 神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 棚橋孝雄 様

研究代表者所属・職 薬品物理化学研究室・教授

研究代表者氏名 齋藤博幸（代理 田中 将史）

平成21年9月5日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成22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		膜貫通ドメイン含有ペプチドを用いた細胞内コレステロール制御機構の解明			
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
	齋藤博幸	神戸薬科大学	薬学部	教授	研究立案・統括
	田中将史	神戸薬科大学	薬学部	講師	ペプチド合成及び評価
	相本三郎	大阪大学	蛋白質研究所	教授	ペプチド合成
共同研究の成果					
<p>膜貫通型タンパク質をはじめ、細胞膜との相互作用を介して機能するタンパク質は、水溶性環境とは大きく異なる膜環境に適応するため必然的に疎水性が高く、その構造解析はもちろん試料調製は現在においても非常に困難な状況である。それゆえ、機能発現における構造的基盤が十分に解明されているとは言い難い。本研究では、タンパク質機能部位のみを切り出したフラグメントペプチドを化学的に合成・精製することで試料調製における困難を克服し、構造的見地から機能解明に繋げることを目的とする。具体的には、膜貫通型タンパク質として、細胞内のコレステロールホメオスタシスを制御する8回膜貫通型のSCAPを扱う。SCAPの2-6番目の膜貫通領域にはコレステロールを感知する“センサー機能”が備わっていると考えられており、ステロールセンシングドメインとよばれている。これまでの細胞生物学的研究から、SCAPがコレステロールを感知するとそのコンフォメーションが変化し、コレステロール合成や細胞内取り込みを司るタンパク質の転写活性が制御されると推定されている。しかしながら、SCAP分子がコレステロールを感知する機構については、現在のところ全く不明である。そこで、SCAPの膜貫通ドメイン含有ペプチドを合成化学的手法により調製し、コレステロールセンシング機構について物理化学的測定手法により解明することを試みた。</p> <p>SCAPの膜貫通領域のみを切り出したフラグメントペプチドは非常に疎水性が高く、一般的なペプチドの調製方法が適用できなかった。一方、疎水性を低減するために膜貫通領域外のアミノ酸を多く付加すると、膜への再構成において貫通型配置をとらず構造解析に支障をきたした。そこで、近年新しく開発された疎水性ペプチドに特化した精製手法を活用した。具体的には、目的ペプチドのN末端側にリンカーを介して親水性アミノ酸をいったん付加させ、精製後にリンカーと共に切り離す。HPLCに用いる移動相の選択においては、疎水性ペプチドに有効であることが示されているギ酸などを用いることで収率の改善を図る。この際、ギ酸は220nm領域にUV吸収をもつため、膜貫通配列中に280nm領域で検出可能な芳香族アミノ酸が存在しない場合には、切り離されるリンカーのN末端側に同様に付加する。このようにして、いくつかの膜貫通型ペプチドの調製に成功した。コレステロールは脂質膜の厚さなど膜の物性変化をもたらすことが知られている。そこでまず、アシル鎖長の異なるリン脂質を用いて二次構造に対する脂質組成依存性を評価した。また、フーリエ変換赤外分光計（FT-IR）によって得られる、垂直及び平行偏光に対する吸光度の比（二色比）から再構成膜におけるペプチドの配向性（傾き）を調べた。今後、コレステロールを添加し、SCAPのコンフォメーションに対する直接的な影響を調べる予定である。</p>					



<学会発表>

発 表 者	学 会 名		
田中 将史、大田 慎也、坂倉 広大、 川上 徹、相本 三郎、斎藤 博幸	膜シンポジウム 2009		
タ イ ト ル	開 催 日	開催場所	
脂質代謝異常に関与する血清アミロイドAの脂質膜結合機構の解明	2009年11月18日	広 島	

## 神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 棚橋孝雄 様

研究代表者所属・職 薬品化学研究室・教授

研究代表者氏名 宮田興子

平成21年9月5日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成22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		新規ドミノ型反応による機能性 $\gamma$ -アミノ酸類の効率的合成法の開発			
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
	宮田興子	神戸薬科大学	薬学部	教授	研究計画の立案・総括
	上田昌史	神戸薬科大学	薬学部	講師	ドミノ型ラジカル付加反応の検討
	三好哲也	神戸薬科大学	薬学部	助手	有機金属試薬による付加反応の検討
宮部豪人	兵庫医療大学	薬学部・医療薬学科	教授	遷移金属を触媒とする反応の開発	
共同研究の成果					
<p>共役イミンへのラジカル付加反応を基盤とするドミノ型反応を用いた<math>\gamma</math>-アミノ酸誘導体の合成研究を行った。炭素-炭素結合形成反応と酸素分子を用いたヒドロキシル化を連続的に行うヒドロキシアルキル化反応を検討した。はじめに、これまでの研究から炭素ラジカル種に対して高い反応性を示したエステルを有する共役オキシムエーテルを基質に選び、ラジカル開始剤としてトリエチルボランを用いてトルエン中、酸素雰囲気下、室温で反応を行ったところ、期待したとおりヒドロキシエチル化体が収率良く得られた。また、様々な反応条件を検討した結果、本反応は、溶媒効果を強く受けることが明らかとなった。すなわち、ジクロロメタン中では、目的のヒドロキシエチル化体はほとんど得られず、エチルラジカル付加のみが進行した付加体が優先して生成した。一方、興味深いことに、トリエチルアルミニウムを添加した場合、ジクロロメタン中でもヒドロキシアルキル化反応が効率的に進行した。本反応は、酸化剤として酸素分子を用いた環境に優しい反応であり、緩和な条件下、短時間で目的のドミノ型反応が進行する有用な反応であると考えられる。また、エチルラジカルとの反応のみでなく、各種ヨウ化アルキルを用いたヒドロキシアルキル化体の合成にも成功した。次に、本ヒドロキシアルキル化反応の反応経路を解明するため、種々の反応を検討し、さらに反応混合物の<math>^1\text{H-NMR}</math>測定および質量分析を行った。その結果、共役イミンへの位置選択的なラジカル付加後に生成するエナミルラジカルがトリエチルボランによって捕捉され、ボリルエナミンが反応中間体として生成することが、<math>^1\text{H-NMR}</math>測定および質量分析の結果から明らかとなった。さらに、反応の進行を<math>^1\text{H-NMR}</math>で追跡した。ボリルエナミンの生成を確認後、酸素を注入することにより、ボリルエナミンの消失が確認され、次に水に添加することで、ヒドロキシアルキル化体の生成が確認できた。この結果から、酸素によるボリルエナミンの酸化反応を経て水酸基が導入されることが明らかになった。すなわち、ボリルエナミンから酸素分子とのエンタイプの反応、もしくは、ボリルペルオキシラジカルの付加により、ボリルペルオキシドが生成し、続いて、還元、加水分解を経て、ヒドロキシエチル化体が得られると考えられる。最後に、不斉補助基としてカンファースルタムを有する共役オキシムエーテルへのジアステレオ選択的ヒドロキシアルキル化反応を検討した。その結果、目的のヒドロキシエチル化体が収率良く高立体選択的に得られ、<math>\gamma</math>-アミノ酸誘導体の不斉合成にも成功した。</p>					

< 研究論文 >

著 者 名	論 文 標 題		
Ueda, M., Miyabe, H., Kimura, T., Kondoh, E., Naito, T. and Miyata, O.	Aerobic Hydroxylation of <i>N</i> -Borylenamine: Triethylborane-mediated Hydroxyalkylation of $\alpha,\beta$ -Unsaturated Oxime Ether.		
雑 誌 名	巻	発行年	ページ
<i>Org. Lett.</i>	11(20)	2009	4632-4635

< 学会発表 >

発 表 者	学 会 名		
三好 哲也、宮川 貴行、上田 昌史、 宮田 興子	日本薬学会第130年会		
タ イ ト ル	開 催 日	開 催 場 所	
エナミンの極性転換反応	2010年 3 月 29 日	岡 山	

## 神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 棚橋孝雄 様

研究代表者所属・職 生化学研究室・教授

研究代表者氏名 北川裕之

平成21年9月5日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成22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	リン酸化による硫酸化グリコサミノグリカン鎖生合成の制御				
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	神戸薬科大学	薬学部	教授	リン酸基転移酵素活性の測定と糖鎖解析および全体の総括
	田村純一	鳥取大学	地域学部・地域環境学科	教授	リン酸基転移酵素反応の基質の調製
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は、細胞表面や細胞外マトリックスに存在する直鎖状の硫酸化糖鎖で、結合領域と呼ばれる四糖構造 (GlcA<math>\beta</math>1-3Gal<math>\beta</math>1-3Gal<math>\beta</math>1-4Xyl<math>\beta</math>1-O-Ser) を介してコアタンパク質に結合している。この四糖結合領域における Xyl 残基の 2 位は、一過的にリン酸化修飾を受けるが、Xyl 残基をリン酸化する酵素や Xyl 残基がリン酸化される生理的意義は不明であった。最近、コンドロイチン硫酸およびヘパラン硫酸鎖が減少し骨に異常を示す 2 種類のゼブラフィッシュ変異体が報告され、それぞれ Xyl 転移酵素-I (XylT-I) と Family with sequence similarity 20, member B (FAM20B) 遺伝子に変異があることが明らかにされた。したがって、FAM20B は XylT-I と同様にコンドロイチン硫酸およびヘパラン硫酸生合成に関与することが示唆された。FAM20B はゴルジ体に存在する他のリン酸化酵素と相同性を示すことから、我々は四糖結合領域における Xyl をリン酸化する酵素ではないかと考えた。</p> <p>FAM20B のリン酸基転移活性を、四糖結合領域を模擬した様々な化学合成基質を用いて解析を行った結果、FAM20B は Xyl をリン酸化する酵素であることが明らかとなった。また、HeLa 細胞において、FAM20B を過剰発現あるいはノックダウンすると、その発現量に応じてコンドロイチン硫酸およびヘパラン硫酸鎖の量が増減することが明らかとなった。さらに、コンドロイチン硫酸およびヘパラン硫酸鎖の鎖長を解析すると、FAM20B の発現量により、それらの鎖長は変化しなかったが、本数が変化していることが明らかとなった。</p> <p>これらの結果から、FAM20B は四糖結合領域における Xyl 残基のリン酸化を行い、コンドロイチン硫酸およびヘパラン硫酸の本数を制御することにより、コンドロイチン硫酸およびヘパラン硫酸の生合成を制御していると考えられる。</p> <p>(1) Koike, T., et al. (2009) Biochem. J. 421, 157-162</p>					

< 研究論文 >

著 者 名	論 文 標 題		
Koike, T., Izumikawa, T., Tamura, J., Kitagawa, H.	FAM20B is a kinase that phosphorylates xylose in the glycosaminoglycan-protein linkage region		
雑 誌 名	巻	発行年	ページ
Biochem. J.	421(2)	2009	157-162

< 学会発表 >

発 表 者	学 会 名		
小池 敏靖、泉川 友美、田村 純一、 北川 裕之	第29回日本糖質学会年会		
タ イ ト ル		開 催 日	開 催 場 所
FAM20B is a Kinase that Phosphorylates Xylose in the Glycosaminoglycan-Protein Linkage Region		2009年9月9日 ~11日	高 山

発 表 者	学 会 名		
小池 敏靖、泉川 友美、田村 純一、 北川 裕之	比較発生糖鎖生物学とその医工学への応用に関する日本・オーストリア二国間セミナー		
タ イ ト ル		開 催 日	開 催 場 所
FAM20B is a Kinase that phosphorylates Xylose in the Glycosaminoglycan-Protein Linkage Region		2009年9月21日 ~22日	葉 山

発 表 者	学 会 名		
小池 敏靖、泉川 友美、田村 純一、 北川 裕之	第82回日本生化学会大会		
タ イ ト ル		開 催 日	開 催 場 所
Regulation of glycosaminoglycan biosynthesis by a xylose kinase, FAM20B		2009年10月21日 ~24日	神 戸

発 表 者	学 会 名		
小池 敏靖、泉川 友美、北川 裕之	第9回次世代を担う若手ファーマ・バイオフィォーラム2010		
タ イ ト ル		開 催 日	開 催 場 所
キシロースリン酸化酵素によるグリコサミノグリカン生合成の制御		2010年10月2日 ~3日	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 棚橋孝雄 様

研究代表者所属・職 病態生化学研究室・教授

研究代表者氏名 太田光熙

平成21年9月5日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成22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	血清を測定対象としたミエリン塩基性タンパク (MBP) 定量法の開発研究				
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
	太田光熙	神戸薬科大学	薬学部	教授	全体的な企画立案 データの解析と考察
	藤波綾 太田潔江	神戸薬科大学 国立病院機構・宇多野病院	薬学部 臨床研究部	助教 研究員	実験担当とデータ整理 患者データの解析 データ整理
共同研究の成果					
<p>我々はこれまでに神経細胞の軸策突起上の髄鞘特異的に存在するミエリン塩基性タンパク (MBP) を高感度に検出できる ELISA 法を作製し、これを用いて多発性硬化症 (Multiple Sclerosis, MS) 患者の脳脊髄液 (CSF) 中レベルを測定し、臨床的増悪期に一致して脳脊髄液 (CSF) 中に MBP を検出できることを明らかにした (最近保険収載項目に採用: 保険点数650点)。一方、MS では脳画像上や剖検脳から広範囲に脱髄病変が見られる例が少なからず存在し、脳障害の広がりに応じて軸策突起 MBP の破壊断片化と脳血流を介した MBP の血中への流出が推定された。そこで、今回 CSF に比べ採取が簡便な血清検体を用いた高感度 ELISA 法の開発を行い、神経疾患患者の血中 MBP のレベルや陽性率を明らかにすることを目的とした。</p> <p>CSF および血清両検体で測定可能な ELISA が作製抗体の組み合わせ実験より開発できた。開発した方法は10pg/mLを測定感度、10-2000pg/mLを定量範囲とする測定系であった。日内、日差変動 (CV) はそれぞれ3.6%、7.2%を示し、希釈直線性も良好であった。健常者血清28例より平均値+2SDから基準値を求めた (49pg/mL)。次に、MS 患者増悪期よりの CSF および血清検体21例より、MBP レベルを求めた (CSF: 325+201pg/mL 陽性率100%、血清: 140+53pg/mL 陽性率28.6%) で、MBP レベルは CSF が有意に高値を示した。その他の神経疾患では血清検体で陽性を示したものとして、HTLV-1Myelopathy (HAM) 8 例中 2 例、Pallidotomy 手術後パーキンソン病 4 例中 3 例、脳腫瘍手術後 2 例中 2 例、脳梗塞 4 例中 1 例があったが、これらの多くは陽性が推定される神経疾患であった。また、脳梗塞から陽性例が検出されたことから、今後脳梗塞の病態把握 (予防や経過のマーカー) に活用可能か否かの検討が必要である。さらに、脳病変の画像情報と血清 MBP レベルとの詳細な関連も検討する必要がある。</p>					

<総説>

著者名	論文標題			
太田 光熙、太田 潔江	ミエリン塩基性蛋白 (MBP)、抗 SGPG 抗体、抗ミエリン PO 抗体			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
日本臨床	68	2010	641-644	

<学会発表>

発表者	学会名		
藤波 綾、下駄 祐子、太田 潔江、 太田 光熙	第131回日本薬学会		
タイトル	開催日	開催場所	
神経疾患患者血清を対象としたミエリン塩基性タンパク (MBP) 定量法の開発	2010年3月29日	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 棚橋孝雄 様

研究代表者所属・職 医療薬学研究室・教授

研究代表者氏名 水野成人

平成21年9月12日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成22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		アラキドン酸由来生理活性物質 LipoxinA4 の粘膜免疫における役割				
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	
	水野成人	神戸薬科大学	薬学部	教授	薬大での研究管理	
	三木生也	神戸薬科大学	薬学部	講師	研究の指導	
	増田充弘	神戸薬科大学	薬学部	助教	薬大での研究主体	
	東健	神戸大学	医学部	教授	神大での研究管理	
	吉田優 久禮泉	神戸大学 神戸大	医学部 医学部	准教授 大学院生	研究の指導 神大での研究主体	
共同研究の成果						
<p>ω6 多価不飽和脂肪酸であるアラキドン酸由来の生理活性物質であるリポキシン A4 の抗炎症活性について検討した。マウスの腹腔内マクロファージおよびマウス単球系の細胞株である RAW264.7 細胞において、リポキシン A4 が LPS 刺激による TNF-<math>\alpha</math> の産生を抑制することをリアルタイム PCR で確認した。また、リポキシン A4 が LPS 刺激による NF-<math>\kappa</math>B の核内移行を抑制することを確認した。LPS 刺激によるマウス急性炎症モデルを用いた検討において、リポキシン A4 は腸管上皮の TNF-<math>\alpha</math> mRNA 発現を抑制し、血清 TNF-<math>\alpha</math> レベルも低下させた。さらに、リポキシン A4 は LPS 由来の I<math>\kappa</math>B キナーゼのリン酸化を抑制し、腸上皮における NF-<math>\kappa</math>B の核内移行を抑制した。また、RAW264.7 細胞とヒト大腸癌由来の細胞株である Caco2 細胞の共培養系において、リポキシン A4 の添加は LPS 刺激による RAW264.7 細胞の TNF-<math>\alpha</math> 産生と、Caco2 細胞の IL-8 mRNA の発現を抑制した。以上の結果から、リポキシン A4 は NF-<math>\kappa</math>B 経路の抑制によって抗炎症効果を発揮することが示された。</p> <p>続いて、エイコサペンタエン酸由来の生理活性物質であるリゾルビン E1 についても同様の検討を行った。リゾルビン E1 の受容体である ChemR23 はマクロファージあるいは樹状細胞に発現している。マウスの腹腔内マクロファージをリゾルビン E1 で前処理し、LPS 刺激を行って炎症性サイトカインの転写活性を測定した。リゾルビン E1 による処理は腹腔内マクロファージにおいて炎症性サイトカインである TNF-<math>\alpha</math> および IL-12p40 の発現を抑制した。また、HEK293 細胞において TNF-<math>\alpha</math> 由来の NF-<math>\kappa</math>B の核内移行を ChemR23 依存性に抑制した。この結果は、リゾルビン E1 が ChemR23 を発現するマクロファージの炎症活性を調節していることを示唆した。マウスの腸炎モデルである DSS 腸炎の系を用いて、リゾルビン E1 の抗炎症作用について検討した。リゾルビン E1 を投与した群においては、DSS 投与による体重減少を抑制し、腸管短縮は抑制され、好中球や単核球の浸潤も抑制されていた。また、NF-<math>\kappa</math>B 経路について検討したところ、リゾルビン E1 投与群では遠位大腸における NF-<math>\kappa</math>Bp65 のリン酸化を抑制していた。リアルタイム PCR を用いて、大腸組織の NF-<math>\kappa</math>B 関連炎症性サイトカインの発現を検討した。その結果、TNF-<math>\alpha</math>、IL-1<math>\beta</math>、IL-6 の mRNA はリゾルビン E1 投与群において非投与群より有意に減少していた。さらに、腹腔内マクロファージの ChemR23 mRNA 発現について検討したところ、LPS 刺激は腹腔内マクロファージにおいて ChemR23 mRNA 発現を増加させた。また、DSS 投与によって、マウス大腸の ChemR23 mRNA 発現は有意に増加していた。これらの結果から、リゾルビン E1 はマクロファージの向炎症性反応を抑制することが示唆され、リゾルビン E1 および炎症によって誘導される ChemR23 が、炎症性腸疾患の治療ターゲットとして期待された。</p> <p>以上の研究結果は、J Pharmacol Exp Ther 誌および Inflamm Bowel Dis 誌に報告された。</p>						



< 研究論文 >

著 者 名	論 文 標 題		
Kure, I., Nishiumi, S., Nishitani, Y., Tanoue, T., Ishida, T., Mizuno, M., Fujita, T., Kutsumi, H., Arita, M., Azuma, T., Yoshida, M.	Lipoxin A(4) reduces lipopolysaccharide-induced inflammation in macrophages and intestinal epithelial cells through inhibition of nuclear factor-kappaB activation.		
雑 誌 名	巻	発行年	ページ
J Pharmacol Exp Ther	332	2010	541-548

著 者 名	論 文 標 題		
Ishida, T., Yoshida, M., Arita, M., Nishitani, Y., Nishiumi, S., Masuda, A., Mizuno, S., Takagawa, T., Morita, Y., Kutsumi, H., Inokuchi, H., Serhan, CN., Blumberg, RS., Azuma, T.	Resolvin E1, an endogenous lipid mediator derived from eicosapentaenoic acid, prevents dextran sulfate sodium-induced colitis.		
雑 誌 名	巻	発行年	ページ
Inflamm Bowel Dis	16	2010	87-95

## 神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 棚橋孝雄 様

研究代表者所属・職 生命有機化学研究室・教授

研究代表者氏名 和田昭盛

平成21年9月24日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成22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		イソプレノイドを基盤とする脂溶性シグナル分子の開発			
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
	須原義智	横浜薬科大学	薬学部	准教授	化合物のデザインと活性評価
	山野由美子	神戸薬科大学	薬学部	准教授	化合物の合成と構造解析
共同研究の成果					
<p>ゲラニルゲラノイン酸は、レチノイン酸の1-6結合を開裂し、7-8および11-12二重結合（ナンバリングはレチノイン酸のものを使用）を水素で飽和した化合物（テトラヒドロ体）であり、7-8二重結合のみを水素化した化合物（ジヒドロ体）は、非環式レチノイドとして知られ、肝癌特異的に有効で近年臨床応用にも試行されている化合物である。ゲラニルゲラノイン酸の還元体であるアルコールは癌遺伝子由来タンパク質であるRasファミリーのゲラニルゲラニル化に用いられ、癌細胞の活性化に重要な役割をはたしていることが知られている。また、ビタミンKはゲラニルゲラニル基を側鎖に持つ構造をしており、核内受容体SXRのシグナル分子となっている。そこで、ゲラニルゲラノイン酸をレチノイン酸アナログとしてとらえ、メチル基を1個除去したデメチル体や、飽和部分を脱水素化して二重結合を導入したアナログ化合物を合成し、その生物活性を検討することにした。</p> <p>まずデメチル誘導体の合成を検討した。その結果アセト酢酸誘導体を選択的にZ-トリフラートへ誘導し、パラジウム触媒の存在下、テトラメチルスズとのカップリング反応により水素基へと変換することができた。この反応を鍵反応として3-デメチル、7-デメチル、11-デメチルおよび15-デメチルの4種類のデメチルゲラニルゲラノイン酸を得ることができた。これらの生物活性を測定したところ3-デメチル体で強いアポトーシス誘導作用が見られ、この作用が核内受容体を介して発現していることが示唆された。さらに脱メチル基の位置によっても生物活性が大きく異なることが判明した。</p> <p>続いて、エノールトリフラートと重水素化ジメチル銅リチウムとの反応により重水素化したメチル基を導入後、エステル部分を重水素化リチウムアルミニウムヒドريدでの還元を行い、重水素5個で標識したゲラニルゲラノイン酸を合成することができた。本化合物は更に、市販のd<sub>8</sub>-ビタミンK<sub>3</sub>と反応させることにより、d<sub>12</sub>-メナキノン4へと誘導をすることができた。これらの重水素標識化合物は、現在ビタミンKの代謝などの生物機能の解明をめざした研究に利用しているところである。</p>					

<研究論文>

著者名	論文標題		
Wada, A., Wang, F., Suhara, Y., Yamano, Y., Okitsu, T., Nakagawa, K., and Okano, T.	Efficient synthesis and biological evaluation of demethyl geranylgeranoic acid derivatives		
雑誌名	巻	発行年	ページ
<i>Bioorg. Med. Chem.</i>	18(16)	2010	5795-5806

<口頭発表>

発表者	学会名		
和田 昭盛、須原 義智、山野由美子、 沖津 貴志	第53回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会		
タイトル	開催日	開催場所	
重水素標識したゲラニルゲラニオールおよびビタミンKの合成	2009年11月7日	奈良	

## 神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 棚橋孝雄 様

研究代表者所属・職 生命分析化学研究室・教授

研究代表者氏名 小林典裕

平成21年9月5日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成22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	抗イディオタイプ抗体フラグメント-酵素融合タンパク質をキーマテリアルとする高性能ハプテン免疫測定法の開発				
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 丹羽俊文	神戸薬科大学 東北大学大学院	薬学部 医学研究科	教授 准教授	抗体試薬の創製 免疫測定法の構築
共同研究の成果					
<p>高感度で特異的なハプテンの酵素免疫測定法を確立するうえで、均質な化学形をもち、高感度に追跡可能な酵素標識ハプテンが求められる。従来は、測定対象のハプテンと酵素を化学的に連結していたが、両者の結合モル比の制御が困難であるうえ、未反応の抗原・酵素や重合体の混入が避けられない。標的ハプテンに対する抗体（第1抗体）のパラトープを認識するβ型の抗イディオタイプ抗体はハプテンと同様の免疫反応性を示すうえ、その一本鎖Fvフラグメント（scFv）は単一遺伝子の産物として得られる。したがって、scFvと酵素の融合遺伝子を発現させることで、両者がモル比1対1で直結した均質な“酵素標識ハプテン”を得ることができる。そこで、細胞工学と遺伝子工学の技術を駆使してこのscFv-酵素融合タンパク質を新規に調製し、これを活用したハプテンの高性能免疫測定法の確立を検討した。</p> <p>標的ハプテンとして、下垂体副腎系疾患の診断マーカーである11-デオキシコルチゾール（11-DC）をとりあげた。先に樹立したマウス抗11-DC抗体のパラトープを認識するモノクローナルβ型抗Id抗体について、そのH鎖とL鎖の可変部の遺伝子（<math>V_H</math>と<math>V_L</math>）をクローニングし、両者を連結してscFv遺伝子を構築した。さらに、その3'末端に大腸菌アルカリホスファターゼ（ALP）遺伝子を連結し、大腸菌に発現させて、11-DC結合能とALP活性を併せ持つ融合タンパク質（β-Id-scFv-ALP）を調製した。</p> <p>マイクロプレートにマウス抗11-DC抗体を固定化し、樹立したβ-Id-scFv-ALPおよび11-DCを加えて37℃で1時間の競合反応を行った後、p-ニトロフェニルリン酸を加えて結合型ALP活性を測定した。11-DCに対し、10-5,000pg/wellの範囲で測定可能な用量作用曲線が得られ、β-Id-scFv-ALPが標識抗原として十分に機能することが確認された。また、近縁ステロイドとの交差反応性を検討したところ、従来法で調製した11-DC-酵素標識抗原を用いたEIAとほぼ同等の結果が得られ、β-Id-scFv-ALPがハプテンミックスとして優れた性質を持つことが示された。</p> <p>本研究で創製した融合タンパク質β-Id-scFv-ALPは、理想的な結合モル比（1：1）を持つ酵素標識ハプテンと等価であるうえ再現性よく調製することが可能であり、より高い感度が期待できる置換型のイムノメトリックアッセイを構築するうえでも有用と期待される。</p>					

<学会発表>

発表者	学会名		
大山 浩之、加藤 芳徳、小林 典裕	日本薬学会第130年会		
タイトル	開催日	開催場所	
ハプテンの高感度測定を目的とする抗イディオタイプ抗体 scFv-酵素融合体の調製と諸性質	2010年3月29日	岡山	

## 神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 棚橋孝雄 様

研究代表者所属・職 機能性分子化学研究室・教授

研究代表者氏名 中山尋量

平成21年9月5日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成22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		吸湿性医薬品の混合粉碎による吸湿性低減効果			
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
	林重紀	神戸薬科大学	薬学部	助教	試料調製
成相裕之	神戸大学	工学部	准教授	混合粉碎効果の検討	
共同研究の成果					
<p>当研究室では、非常に吸湿性が高く扱いにくい医薬品の代表である抗てんかん薬バルプロ酸ナトリウムを制酸剤として広く利用されているハイドロタルサイトと複合化することによりバルプロ酸ナトリウムの吸湿性を劇的に低減できることを見出した。</p> <p>本研究課題では、複合化の手法として、ハイドロタルサイトと医薬品との混合粉碎について検討した。この研究により DDS キャリアーとしての可能性が最近検討されているハイドロタルサイトの複合体の新たな合成法を確立するとともに、非常に簡便な手法によって医薬品の吸湿を劇的に低減できる新たな手法を確立できる。</p> <p>医薬品としてバルプロ酸ナトリウム、ソルビン酸、ソルビン酸カリウム、アスパラギン酸カリウムと硝酸型ハイドロタルサイトおよび塩化物型ハイドロタルサイトについて検討した。硝酸型ハイドロタルサイトでは約5分という短時間の混合によりほぼ交換容量まで取り込まれ、その際に20<math>\mu</math>L程度の微量な水の添加が有効であることがわかった。また、混合するバルプロ酸ナトリウムの量を増やすと、それに比例して取り込まれることがわかった。一方、塩化物型ハイドロタルサイトで反応は進行するが、その交換量は硝酸型の半分以下であった。ソルビン酸、ソルビン酸カリウム、アスパラギン酸カリウムを同様に検討したところ、ソルビン酸では反応せず、ソルビン酸カリウム、アスパラギン酸カリウムではバルプロ酸ナトリウムとほぼ同様な結果が得られた。</p> <p>バルプロ酸ナトリウムについて得られた複合体を固体 NMR により調べたところ、層間の硝酸イオンや塩化物イオンとバルプロ酸イオンとの交換反応が起こっていることがわかった。この事は粉末 X線回折により硝酸ナトリウムによるピークが観測されたことから確認できた。また、この試料の吸湿特性を調べたところ、水溶液を用いて得られた複合体と同等の吸湿性抑制効果が得られることがわかった。</p> <p>この研究により吸湿性医薬品とハイドロタルサイトを混合粉碎することで、吸湿性を大幅に抑制できる複合体を合成できることが明らかとなった。</p>					

<研究論文>

著者名	論文標題		
Nakayama, H., Akasaka, H. and Tshako, M.	Complete Protection of Sodium Valproate from Humidity by Using a Hydrotalcite Composite		
雑誌名	巻	発行年	ページ
J. Pharm. Sci.	98	2009	46-49

著者名	論文標題		
Hayashi, A., Nakayama, H. and Tshako, M.	Intercalation of Melamine into Layered Zirconium Phosphates and Their Adsorption Properties of Formaldehyde in Gas and Solution Phase		
雑誌名	巻	発行年	ページ
Solid State Sci.	11	2009	1007-1015

<総説>

著者名	論文標題		
Nakayama, H.	Intercalation of Organic Molecules into Layered Phosphate -Correlation between Structure and Function-		
雑誌名	巻	発行年	ページ
Phosphorus Res. Bull.	23	2009	1-9

<著書>

著者名	著書名		
中山尋量 (共著)	粘土ハンドブック		
出版社		発行年	ページ
技報堂出版		2009	656-657

<学会発表>

発表者	学会名		
林 亜紀、中山 尋量	第53回粘土科学討論会		
タイトル		開催日	開催場所
層状複水酸化物を用いた固体-固体反応の検討		2009年9月11日	盛岡

## 神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 棚橋孝雄 様

研究代表者所属・職 薬化学研究室・教授

研究代表者氏名 棚橋孝雄

平成21年9月5日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成22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	Neferine 関連アルカロイドの合成と薬理活性に関する研究				
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
	棚橋孝雄	神戸薬科大学	薬学部	教授	総括
	西村克己	神戸薬科大学	薬学部	講師	化学合成
	山田潤	横浜薬科大学	薬学部・臨床薬学科	教授	活性評価
	杉本由美	横浜薬科大学	薬学部・臨床薬学科	准教授	活性測定
共同研究の成果					
<p>スイレン科の植物ハス (<i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn.) の種子の成熟した緑色の胚芽である蓮子心には、多くのアルカロイドが含まれている。これらアルカロイドのうち、ハスの他の部位に比べて蓮子心に特徴的な成分が、ベンジルイソキノリンがエーテル結合によって二量化したビスベンジルイソキノリンアルカロイドであり、Nefrine, Liensinine, Isoliensinine が知られている。我々は先に、これらのアルカロイドが自発運動抑制などの中枢作用を有することを明らかにした。また、Neferine に存在する二つの不斉炭素の立体化学を不斉合成によって作り分け、天然型以外の三つの立体異性体を合成し、それらの薬理活性を調べたところ、いずれの化合物も天然型の Neferine と同様に自発運動抑制活性をもつことが分かった。不斉炭素の立体配置が変われば、分子の形も大きく変わるにも関わらず、自発運動抑制に顕著な差が見られなかったことから、我々は Neferine 分子の部分構造に着目し、ベンジルトetraヒドロイソキノリンそのものの薬理活性を調べるため、その不斉合成を行った。すなわち、我々が先に開発したキラルな 1-(1-ナフチル)エチル基をキラル補助基とする Pictet-Spengler 反応によってベンジルトetraヒドロイソキノリン骨格を不斉構築し、キラル補助基の除去、官能基変換を経て、光学的に純粋なベンジルトetraヒドロイソキノリンの両方のエナンチオマーを合成することができた。また、Nefrine, Liensinine, Isoliensinine の構造上の相違に注目すると、これらのベンジルイソキノリン二量体を四つの部分構造に分けることができる。そこで、これらの構造をもつ化合物の薬理活性を調べるため、これら四つの化合物の両エナンチオマーを不斉 Pictet-Spengler 反応を鍵反応として合成することができた。さらに、Neferine および関連するアルカロイドの鎮痛作用とその機序について調べるため、アルメパビン、O-メチルアルメパビン、ノルアルメパビン、および O,O-デメチルコクラウリンの不斉合成を行った。これらの化合物の薬理試験を行ったところ、鎮痛活性を有することが分かった。また、その作用機序は、化合物によって異なることが分かった。以上本研究では、蓮子心に由来する Neferine および関連化合物の不斉合成を行い、その薬理活性について明らかにすることができた。</p>					



< 研究論文 >

著 者 名	論 文 標 題		
Sugimoto, Y., Furutani, S., Nishimura, K., Itoh, A., Tanahashi, T., Nakajima, H., Oshiro, H., Sun, S. and Yamada, J.	Antidepressant-like effects of neferine in the forced swimming test involve the serotonin <sub>1A</sub> (5-HT <sub>1A</sub> ) receptor in mice		
雑 誌 名	巻	発行年	ページ
<i>European Journal of Pharmacology</i>	634	2010	62-67

< 学会発表 >

発 表 者	学 会 名		
杉本 由美、山田 潤、西村 克己、 伊藤 篤子、棚橋 孝雄、中島 宏、 大城日出男、孫 樹 建	日本生薬学会第57回年会		
タ イ ト ル	開 催 日	開催場所	
蓮子心に含有されるアルカロイドの研究（第13報）Neferineの抗うつ様作用の解析	2010年9月25日	徳島	

## 神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 棚橋孝雄 様

研究代表者所属・職 製剤学研究室・教授

研究代表者氏名 北河修治

平成21年9月5日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成22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		経皮吸収型フェンタニル（持続性癌疼痛治療剤）の新規マトリックス製剤の適正使用とその評価に関する研究			
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
	北河修治	神戸薬科大学	薬学部	教授	研究全般の総括
	寺岡麗子	神戸薬科大学	薬学部	講師	実験、データの解析
	江本憲昭	神戸薬科大学	薬学部	教授	研究企画
	八木敬子	神戸薬科大学	薬学部	講師	実験、データの解析
	沼田千賀子	特定医療法人 誠人会協和病院	薬剤科	薬剤科科長	患者データの収集、解析
平井みどり	神戸大学	医学部附属病院	教授・薬剤部長	研究企画	
共同研究の成果					
<p>フェンタニル貼付剤は持続性癌疼痛治療剤でモルヒネ製剤から切り替えて用いられる。3日毎の貼り替えて、72時間安定した血中濃度を維持し、鎮痛効果を維持することが可能な経皮吸収型製剤である。従来のフェンタニル貼付剤は、フェンタニルを含むゲルを封入したリザーバータイプの製剤であったが、最小規格が2.5mgであったため、用量調整が制限される等の理由から、2008年7月にさらに小用量の規格製剤があり、粘着層にフェンタニルを溶解させた、マトリックス型の製剤が新たに発売された。これらの両プラセボ貼付剤を用いた皮膚障害に関する調査結果から、いずれの貼付剤においても貼付部位のそう痒感や発疹などの副作用が発現することが判明したが、後者の方が発赤症状は発現しにくいことが明らかとなり、使用感も優れていることが明らかとなった。しかし、貼付中に、マトリックス型製剤の方は剥がれやすいという指摘があった。そこで、剥がれた場合の放出量の影響を検討するために、貼付面をラップで覆って放出面積を変化させて貼付剤の溶出試験を行った。実験には、デュロテップ MT パッチ2.1mgを用いた。これまでの実験で、食品用ポリ塩化ビニリデンフィルム（食品用ラップ）を貼付面に貼ると薬物の放出が全く起こらないことが明らかになっているので、これを貼付面に貼ることによって放出面積を50%、69%にコントロールした。試験液には0.1Mリン酸緩衝液（pH 6）500mLを用い、USPのpaddle over disk法で、50rpm、32±0.5℃で溶出試験を行った。経時的に溶出液を採取し、溶出したフェンタニル量をHPLC法で測定した。72時間後の薬物放出率は、貼付面積を50%にした場合、食品用ラップを用いない場合の約1/2となり、放出量は、貼付面積の影響を受け、粘着層中での薬物の移動はほとんど起こらないことが明らかになった。また、マトリックスからの薬物放出率に適用される Higuchi 式から算出した放出速度定数は、放出面積が制限されると大きくなった。以上の結果から、マトリックス型の場合、貼付中に剥がれが生じた場合、放出量の低下が起こり、疼痛コントロールが不良になる可能性があるため、患者への説明を十分に行う必要があると考えられた。</p>					

<学会発表>

発 表 者	学 会 名		
沼田千賀子、寺岡 麗子、江本 憲昭、 八木 敬子、平井みどり、北河 修治	第19回日本医療薬学会年会		
タ イ ト ル	開 催 日	開催場所	
経皮吸収型フェンタニル製剤の貼付後の皮膚障害 ーリザーバー型と MT 型の比較ー	2009年10月24日	長 崎	

## 神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 棚橋孝雄 様

研究代表者所属・職 生薬化学研究室・教授

研究代表者氏名 守安正恭

平成21年9月5日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成22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		植物におけるアルカロイド転流機構の解明			
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
	守安正恭	神戸薬科大学	薬学部	教授	研究の企画・総括 HPLCの測定・考察
	矢崎一史	京都大学	生存圏研究所	教授	異種発現系を用いた輸送機能解析
	士反伸和	神戸薬科大学	薬学部	助教	植物遺伝子の発現解析
共同研究の成果					
<p>植物二次代謝産物は強い生理活性を有し、医薬品として用いられるものも多い。その原料供給においては、非常に複雑な化学構造を有するために有機化学合成が不可能、または高コストから、現在も植物体からの抽出が主な原料の供給源となっている。しかしながら、植物中における含量が非常に少ない、乱獲によって植物資源の枯渇が懸念される、など安定供給が難しい化合物も多い。近年、植物における大量生産を目的に生合成機構の解明などが行われてきたが、トランスポーターを介した最終産物の液胞への輸送隔離も植物での安定生産に必須であることが明らかとなってきた。タバコのニコチンは根で生産された後、導管を介して地上部に転流され、最終的に葉の液胞に蓄積する。そこで本研究では、この転流過程に関わる複数のニコチントランスポーターを同定し、有用アルカロイド高生産植物の分子育種への応用基盤とすることを目的に研究を行った。これまでに、ニコチン輸送体候補として3種類の遺伝子（C-215、T-449、T-408）が単離されている。本研究では特にC-215、T-408について、下記のような成果を得た。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>植物組織発現解析（根、茎、葉） 植物体各組織からRNAを抽出し、半定量RT-PCRによる解析を行った。その結果、C215は通常条件下では殆ど発現しておらず、ジャスモン酸処理した際に葉に特異的に強く発現誘導されることを明らかとした。一方T-408は根、茎、葉全ての組織で発現しているが、ジャスモン酸処理することで根における発現が顕著に誘導されることを明らかとした。</li> <li>細胞内局在決定 C-215については、ショ糖密度勾配及びウェスタン解析により局在膜の同定を試みたが、決定に至らなかった。T-408は、葉緑体単離及びウェスタン解析ならびにGFP融合タンパク質の蛍光顕微鏡観察により、葉緑体局在を明らかとした。</li> <li>ヘテロ発現系におけるニコチン輸送解析 出芽酵母にC-215を発現させ、細胞輸送系を用いてニコチン輸送能を検討した。C-215発現酵母における細胞内ニコチン含量は有意にコントロールよりも低く、ニコチン排出活性を有することが示唆された。</li> <li>遺伝子組換え体を用いた生理的役割の解明 各種遺伝子の過剰発現株、抑制株を作成し、植物体におけるニコチン含量や多様な化合物の含量を測定した。C-215過剰発現タバコにおけるニコチン含量はコントロールよりも低く、ニコチンの転流に関わると考えられた。T-408形質転換タバコにおいては、NADを含め一次代謝産物に差のある化合物が観察され、ニコチン生産と一次代謝産物の生産に関わることが示唆された。 また、酵母を用いた二次代謝産物の高生産を目的に、植物プレニルフラボノイドの耐性遺伝子としてSfRPT2のクローニングにも成功した。</li> </ol>					

<学会発表>

発表者	学会名		
南 翔太 他	第32回日本分子生物学会年会		
タイトル		開催日	開催場所
Cloning and characterization of jasmonate-inducible transporter from <i>Nicotiana tabacum</i>		2009年12月9日 ～12日	横浜

発表者	学会名		
士反 伸和 他	第51回日本植物生理学会年会		
タイトル		開催日	開催場所
ジャスモン酸誘導性タバコトランスポーター T408 のクローニングと機能解析		2010年3月18日 ～21日	熊本

発表者	学会名		
南 翔太 他	第5回トランスポーター研究会年会		
タイトル		開催日	開催場所
ジャスモン酸誘導性タバコ新規トランスポーター Nt-T408 のクローニング及び機能解析		2010年7月10日 ～11日	東京

発表者	学会名		
士反 伸和 他	第5回トランスポーター研究会年会		
タイトル		開催日	開催場所
タバコ MATE 型トランスポーター Nt-C215 の発現特性と生理機能		2010年7月10日 ～11日	東京

発表者	学会名		
南 翔太 他	第28回日本植物細胞分子生物学会大会		
タイトル		開催日	開催場所
BY-2 細胞におけるジャスモン酸誘導性新規トランスポーターの解析		2010年9月2日 ～3日	仙台

発表者	学会名		
士反 伸和 他	Plant Membrane Biology 15 <sup>th</sup> International workshop		
タイトル		開催日	開催場所
Involvement of multidrug and toxic compound extrusion (MATE) transporters in nicotine translocation in <i>Nicotiana tabacum</i>		2010年9月19日 ～24日	オーストラリア

発表者	学会名		
南 翔太 他	第33回日本分子生物学会年会		
タイトル		開催日	開催場所
Functional analysis of jasmonate-inducible nucleobase cation symporter-1 (NCS-1) transporter from <i>Nicotiana tabacum</i>		2010年12月7日 ～10日	神戸

発 表 者	学 会 名		
南 翔太 他	日本生薬学会第57回年会		
タ イ ト ル		開 催 日	開催場所
培養細胞を用いた二次代謝産物の細胞内輸送機構の解析		2010年9月25日 ～26日	徳 島

発 表 者	学 会 名		
南 翔太 他	日本薬学会第130年会		
タ イ ト ル		開 催 日	開催場所
ニコチン生産時に発現誘導されるタバコ新規トランスポーターのクローニング及び機能解析		2010年3月28日 ～30日	岡 山

## 神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 棚橋孝雄 様

研究代表者所属・職 臨床薬学研究室・教授

研究代表者氏名 江本憲昭

平成21年9月5日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成22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	心不全におけるエンドセリン系の病態生理学的役割の解明と創薬への応用				
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	研究の総括・遂行
	八木敬子	神戸薬科大学	薬学部	講師	マウスの解析
	平田健一	神戸大学大学院	医学研究科	教授	組織学的検討
共同研究の成果					
<p>エンドセリンは多彩な生理活性を有するペプチドであり、その受容体拮抗薬は肺動脈性肺高血圧症の治療薬として臨床医学に貢献している。しかしながら、心不全に対する臨床試験では期待された結果を得ることはできなかった。</p> <p>私たちは心不全におけるエンドセリン系の病態生理学的役割を遺伝子改変マウスを用いて解明することによって、臨床的に有用なエンドセリン系抑制薬の開発に貢献することを目的として本研究を立案・遂行した。</p> <p>1) 心筋線維化機序におけるエンドセリンの役割の解明</p> <p>私たちは、血管内皮特異的エンドセリン遺伝子欠損マウスを作成し、このマウスを用いて糖尿病性心筋症モデルを作製・解析した。その結果、エンドセリン欠損マウスでは、野生型マウスに比較して明らかに心筋線維化が抑制されており、その分子機序として、内皮一問葉転換にエンドセリンが関与していることを明らかにした。この成果により、エンドセリン受容体拮抗薬が糖尿病性心筋症に伴う心不全を抑制する可能性が示唆された。</p> <p>2) 心筋細胞アポトーシスにおけるエンドセリンの役割の解明</p> <p>エンドセリンは不活性型の前駆体であるビッグエンドセリンがエンドセリン変換酵素によって切断・変換されることによって活性型のエンドセリンになる。私たちはエンドセリン変換酵素の遺伝子欠損マウスを作製・解析した。このマウスにドキシソルビシンを用いて心不全のモデルを作製したところ、エンドセリン遺伝子欠損マウスでは野生型マウスと比較して有意に心不全の発症が抑制された。その分子機構として、エンドセリン変換酵素がアポトーシスを抑制して心筋の生存に関わっていることが明らかとなった。すなわちエンドセリン変換酵素の活性を抑制することが心不全の発症抑制につながる可能性が示唆された。</p> <p>以上の結果、エンドセリンシグナルを遮断することは、種々の情報伝達経路を介して心不全を抑制することが示唆された。この成果に基づき、今後ヒトを対象とした心不全の臨床試験では、対象疾患と投与時期を制限することによりエンドセリン受容体拮抗薬の臨床効果が明らかになることが期待される。</p>					

< 研究論文 >

著 者 名	論 文 標 題		
Widyantoro, B., Emoto, N., Nakayama, K., Anggrahini, DW., Adiarto, S., Iwasa, N., Yagi, K., Miyagawa, K., Rikitake, Y., Suzuki, T., Kisanuki, YY., Yanagisawa, M., Hirata, KI.	Endothelial Cell-Derived Endothelin-1 Promotes Cardiac Fibrosis in Diabetic Hearts through Stimulation of Endothelial-to-Mesenchymal Transition.		
雑 誌 名	卷	発行年	ページ
Circulation	121	2010	2407-2418

著 者 名	論 文 標 題		
Miyagawa, K., Emoto, N., Widyantoro, B., Nakayama, K., Yagi, K., Rikitake, Y., Suzuki, T., Hirata, KI.	Attenuation of Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy by ECE-1 ablation through Prevention of Mitochondrial Biogenesis Impairment.		
雑 誌 名	卷	発行年	ページ
Hypertension	55	2010	738-746

< 学会発表 >

発 表 者	学 会 名		
八木 敬子、木佐貫 泰、大内 隆、 ウィディアントロ バンバン、 中山 和彦、柳沢 裕美、鈴木 貴、 柳沢 正史、平田 健一、江本 憲昭	第33回日本高血圧学会総会		
タ イ ト ル		開 催 日	開 催 場 所
血管内皮特異的エンドセリンノックアウトマウスの血行動態の解析		2010年10月15日 ~17日	福 岡

発 表 者	学 会 名		
中山 和彦、ウィディアントロ バンバン、 ニコラス ビグノン、宮川 一也、 八木 敬子、鈴木 貴、平田 健一、 江本 憲昭	第33回日本高血圧学会総会		
タ イ ト ル		開 催 日	開 催 場 所
血管内皮特異的エンドセリン-1欠損による1型糖尿病マウスの尿蛋白漏 出抑制効果の検討と糸球体タコ足細胞足突起構造の形態学的変化の観察		2010年10月15日 ~17日	福 岡



## 神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 棚橋孝雄 様

研究代表者所属・職 薬理学研究室・教授

研究代表者氏名 吉野 伸

平成21年4月1日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成22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	ナノ粒子のアレルギーに与える影響およびそのメカニズムに関する研究				
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
	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	講師	動物実験・細胞培養
	奈邊 健	京都薬科大学	薬学部	准教授	実験データの評価
共同研究の成果					
<p>ナノテクノロジーは、豊かな未来社会を担う技術として期待される一方で、ある種のナノ粒子はその特徴的な粒子形状や粒子サイズに起因していると考えられる細胞毒性を有していることから、ナノ粒子による健康や環境への影響が懸念されている。また、アレルギー患者の増加は環境汚染と密接な関係があることが指摘されており、今後ナノ粒子の生産増加に伴い、ヒトは大気中、または食事からナノ粒子に曝露される機会が増加することが予想され、鼻粘膜、肺組織さらには体内臓器への蓄積により免疫系が影響を受ける可能性がある。本研究においては、ナノ粒子のアレルギーに与える影響について検討した。これまでの研究からアレルギーにはTh2サイトカインのみならず、Th1およびTh17サイトカインなど種々のサイトカインが重要な役割を果たしている可能性が示唆されている。したがって、ナノ粒子のこれらサイトカイン産生に対する効果について検討した。方法として、7～9週齢の雄性BALB/cマウスに0.1mgの卵白アルブミン(OVA)をアジュバント(水酸化アルミニウム)とともに皮下注射・免疫した。ナノ粒子として超微粒子酸化亜鉛を用い、本超微粒子のサイトカイン産生に対する影響について調べるため、種々の用量の酸化亜鉛をOVA免疫前3週間(day -21~day 0)および/あるいは免疫後4週間(day 0~day 28)経口投与した。Day 21に脾臓のT細胞を抗原提示細胞およびOVAとともにin vitroで培養し、T細胞増殖反応に与えるナノ粒子の影響について検討した。また、同培養上清中に産生・遊離されるIL-2、IFN-g(Th1サイトカイン)、IL-4およびIL-5(Th2サイトカイン)およびIL-17(Th17サイトカイン)を測定し、Th1、Th2およびTh17免疫系に対するナノ粒子の効果について調べた。その結果、T細胞の増殖反応、Th2およびTh17細胞によってそれぞれ産生されるIL-4およびIL-5レベルは超微粒子酸化亜鉛暴露によって増強された。一方、IFN-g産生は酸化亜鉛による有意な影響を受けなかった。以上から、酸化亜鉛などのナノ粒子はTh2依存性アレルギーを増悪する可能性がある。本酸化亜鉛によるTh17産生促進については今後さらに検討する必要がある。</p>					

<研究論文>

著 者 名	論 文 標 題		
Mizutani, N., Yoshino, S., Nabe, T.	Intracheal sensitization/challenge-induced biphasic response and airway hyperresponsiveness in Guinea pigs		
雑 誌 名	巻	発行年	ページ
Biol Pharm Bull	33(12)	2010	1949-1952

<学会発表>

発 表 者	学 会 名	
水谷 暢明、奈邊 健、吉野 伸	第60回日本アレルギー学会秋季学術大会	
タ イ ト ル	開 催 日	開 催 場 所
抗原特異的 IgE モノクローナル抗体により産生増強された IgG1 の喘息症状に及ぼす影響	2010年11月25日 ～27日	東京（東京国際フォーラム）

## 神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 棚 橋 孝 雄 様

研究代表者所属・職 薬品物理化学研究室・講師

研究代表者氏名 上垣内 みよ子

平成21年9月5日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成22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		一酸化窒素産生抑制作用を有するイソキノリン化合物類の立体構造解明と活性相関			
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
	上垣内 みよ子	神戸薬科大学	薬学部	講師	合成、構造分析、エネルギー計算
	石田 寿昌	大阪薬科大学	薬学部・薬学科	教授	構造－活性相関解析
	尹 康子	大阪薬科大学	薬学部・薬学科	講師	X－線結晶構造解析
共同研究の成果					
<p>細胞は Nitric oxide synthase (NOS) に触媒され、L-Arginine から一酸化窒素 (NO) を産生する。この NO は多様な生理作用を有しており、虚血性疾患、インスリン依存性糖尿病、自己免疫疾患、アレルギー性疾患、慢性関節リウマチ等の炎症性疾患の発症および進展に関与している。従って、NO 産生を抑制する化合物はこれら疾患の予防・治療剤として有用である。我々は、NO 産生抑制作用を有するアルカロイド化合物と酵素タンパク質 NOS との相互作用を調べる目的で本研究を行った。誘導型 NOS (iNOS) を介する NO 産生に対する抑制作用と非誘導型 NOS (cNOS) を介する NO 産生に対する抑制作用を調べた。iNOS に関する実験はマクロファージ由来株化細胞 RAW264 を用い牛胎児血清含有ダルベッコ変法イーグル培養液中で、リポポリサッカライド (LPS) により刺激し、試験化合物は LPS と同時に細胞へ添加して、刺激後の培養夜中の NO 産生量を、グリース法により 540nm－650nm の吸光度測定から亜硝酸イオン量として評価した。cNOS に関する実験は培養した牛肺動脈内皮細胞 (CPAE) を、牛胎児血清を含むダルベッコ変法イーグル培養液中で、イオノマイシンにより刺激し、試験化合物はイオノマイシンと同時に細胞へ添加して、培養夜中の NO 産生量を、同様に吸光度測定から亜硝酸イオン量として評価した。抑制活性は化合物無添加での刺激細胞の NO 産生量と化合物無添加での無刺激細胞の NO 産生量の差の比率より評価した。標準物質としてデキサメサゾン (Dex) と NG－ニトロ－L－アルギニンメチルエステル (L-NAME) を用いて調べた結果、実験に用いたイソキノリンアルカロイド (プロトベルベリン型、プロトピン型、及びベンゾ [c] フェナンスリジン型等) の誘導体の 44 種類の化合物のうち、(+)-chelidonine(A)、(+)-O-chelidonine acetate(B)、(±)-corynoline(C)、(±)-corynoxine(D)、sanguinarine chloride(E)、(+)-homochelidonine(F)、protopine(G)、(±)-meso-corydaline(H)、13-methylberberine chloride(I)、13-ethylberberine chloride(J) に抑制作用が認められた。これらの化合物のうち、cNOS に A は比較的強い NO 産生抑制効果が認められ、iNOS に D が強い抑制効果が認められた。NO 産生抑制の活性強度の評価をふまえて、各化合物について立体構造に関する情報を得るため (±)-11,12-didehydro-11deoxycorynoline、(+)-11,13-didehydro-11-deoxychelidonine、(±)-deN-corynoline、(+)-11-oxo-corynoline そして D に関して X－線結晶構造解析や NMR スペクトル解析を行い詳細な立体構造を明らかにした。NO 産生抑制活性とこれらのアルカロイドの構造特徴との関係について、抑制効果を示さない類似分子との構造比較等により、得られた分子構造情報を用いて抑制物質の構造と NO 産生抑制活性との関係を NOS 酵素たんぱく質の活性部位における三次構造との相関性から評価し活性部位が構造の中心部にある iNOS の阻害剤との調べた化合物の中での D の構造的優位性を明らかにした。本研究により、細胞からの NO 産生抑制作用を有する A および D は、敗血症性ショック、低血圧症、炎症性組織障害、虚血性疾患、アレルギー性疾患、自己免疫疾患、慢性関節リウマチまたはインスリン依存性糖尿病の予防および/または治療に有用である事が明らかになった。又、イソキノリンアルカロイド誘導体が NOS 酵素に作用する NO 産生抑制の機能を有する医薬品のシーズとなる情報を提供できた。</p>					

< 研究論文 >

著 者 名	論 文 標 題		
Maekawa, Y., Sugiura, M., Takeuchi, A., Tomoo, K., Ishida, T., Kamigauchi, M.	Study of Lysozyme Glycation Reaction by MS and NMR Spectroscopy		
雑 誌 名	巻	発行年	ページ
Helv. Chim. Acta	93	2010	991-998

著 者 名	論 文 標 題		
Kamigauchi, M., Noda, Y., Iwasa, K., In, Y., Ishida, T.	Crystal Structure of ( <i>dl</i> )-Corynoxine		
雑 誌 名	巻	発行年	ページ
X-ray Structure Analysis Online	25	2009	1-2

著 者 名	論 文 標 題		
Kamigauchi, M., Maekawa, Y., Tode, C., In, Y., Ishida, T.	Conformational Studies of ( $\pm$ )-11,12-Didehydro-11-deoxycorynoline and (+)-11,13-Didehydro-11-deoxychelidonine, Hexahydrobenzo[ <i>c</i> ]phenanthridine-Type Alkaloid Derivatives, by X-Ray Crystal Structure and NMR Analyses		
雑 誌 名	巻	発行年	ページ
Helv. Chim. Acta	93	2010	25-32

著 者 名	論 文 標 題		
Kamigauchi, M., In, Y., Ishida, T.	X-ray structure analysis of ( <i>dl</i> )-deN-corynoline, derived from hexahydrobenzo[ <i>c</i> ]phenanthridine type alkaloid corynoline		
雑 誌 名	巻	発行年	ページ
X-ray Structure Analysis Online	25	2009	27-28

著 者 名	論 文 標 題		
Kamigauchi, M., In, Y., Ishida, T.	X-ray structure analysis of (d)-11-oxo-corynoline, a hexahydro- benzo- [c]phenanthridine-type alkaloid		
雑 誌 名	巻	発行年	ページ
X-ray Structure Analysis Online	25	2009	87-88

< 学会発表 >

発 表 者	学 会 名		
上垣内みよ子、岩佐 衣子、尹 康子、 石田 寿昌	第130回日本薬学会		
タ イ ト ル		開 催 日	開 催 場 所
Benzo[ <i>c</i> ]phenanthridine 型アルカロイドの一酸化窒素産生抑制作用と立体構造		2010年 3月29日	岡 山