

共同研究 研究紀要

2015

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。

2014 (平成 26) 年度共同研究 (研究期間 2014.4.1 ~ 2015.3.31)

| 承認番号 | 共同研究課題名 (研究テーマ) | 研究代表者 |
|------|------------------------------------|------------------------|
| 1 | 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 |
| 2 | アレルギー疾患および自己免疫疾患の抗原特異的制御 | 薬理学研究室 教授 吉野 伸 |
| 3 | 合成化学的手法を用いた天然カロテノイドの立体構造解明研究 | 生命有機化学研究室 教授 和田 昭盛 |
| 4 | ビタミンK合成酵素 UBIAD1 の構造機能解析 | 衛生化学研究室 教授 岡野登志夫 |
| 5 | 天然物から婦人科悪性腫瘍に対する活性成分の探索 | 生薬化学研究室 准教授 土反 伸和 |
| 6 | 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 |
| 7 | 生体における分泌因子の役割の解明 | 微生物化学研究室 教授 小西 守周 |
| 8 | 特異な縮環様式をもつ含窒素複素環化合物群の合成と抗癌活性評価 | 薬品化学研究室 教授 宮田 興子 |
| 9 | 高等植物ならびに地衣類を起源とする DNA 代謝酵素阻害剤の探索 | 薬化学研究室 教授 棚橋 孝雄 |
| 10 | 新規摂食調節ペプチド adropin の食行動および情動に関する研究 | 病態生化学研究室 教授 加藤 郁夫 |
| 11 | 分子イメージング薬剤の開発研究 | 薬品物理化学研究室 教授 向 高弘 |
| 12 | シクロ三リン酸塩によるイミノ基のリン酸化の可能性 | 機能性分子化学研究室 教授 中山 尋量 |
| 13 | Cocrystal 形成による医薬品の物性および安定性の改善 | 製剤学研究室 教授 北河 修治 |
| 14 | 医薬融合アプローチによるエンドセリン拮抗薬臨床適応の再構築 | 臨床薬学研究室 教授 江本 憲昭 |

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・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26年6月23日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成27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 斉藤 博幸 | 神戸薬科大学 徳島大学大学院 | 薬学部 ヘルスバイオサイエンス研究部 | 教授 教授 | 抗 apoA-I 抗体の作製と応用 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、アテローム性動脈硬化症や家族性アミロイドポリニューロパチーなどのアミロイドーシスの原因となる。変異により構造が不安定化された ApoA-I は加水分解されやすく、切断されて生じた 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。アミロイドーシスは fibril が組織へ沈着し、臓器を障害することで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。そこで最も古くから知られるアミロイドーシス変異である Iowa 型 G26R 変異 ApoA-I について、患者血液や組織などの検体から変異 ApoA-I およびその N 末端フラグメントを検出し、線維化の機構を明らかにするための分析試薬として、モノクローナル抗体の新規作製およびそのアッセイ系の構築を試みた。</p> <p>目的のモノクローナル抗 ApoA-I 抗体はハイブリドーマ法により作製した。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)、変異を含まない ApoA-I 全長タンパク質 (ApoA-I-wt)、そして fr の重合体 (ApoA-I-fib) の 3 種をそのまま、あるいはヘモシアニン (KLH) との結合体を免疫原として、それぞれアジュバント (免疫増強剤) と混合したのち BALB/c マウス 5 匹の背部皮下へ投与した。この免疫投与を隔週で 4 回行ったのちに採血を行い、ELISA 法によりその血清中の抗体価を調べた。高い抗体価を示したマウスの腹腔および脾臓に免疫原を最終投与し、その 3 日後に脾臓を摘出して脾細胞を調製し、ポリエチレングリコールを用いて NS-1 ミエローマ細胞と融合させた。融合細胞を HAT 培地で培養してハイブリドーマを選別し、その培養上清を用いて ELISA を行い抗体の分泌についてスクリーニングを行った。強い陽性反応を示した細胞を限界希釈法によりクローニングした結果、ApoA-I-frg に特異的な抗体産生株が 5 種、ApoA-I-wt に特異的な抗体産生株が 10 種、frg および wt のいずれにも反応する抗体産生株が 6 種得られた。しかし ApoA-I-fib については安定したモノクローナル抗体産生株を得るに至らなかった。</p> <p>現在、各抗体の結合特異性を詳細に検討している。今回調製した抗体が、アミロイドーシス発症メカニズム解明の一助となることを期待している。</p> | | | | | |

〈研究論文〉

| 著者名 | 論文標題 | | | |
|---|--|------|-----------|--|
| Risa O., Kohjiro N., Norihiro K., Kazumitsu U., Hiroyuki S. | Direct detection of ABCA1-dependent HDL formation based on lipidation-induced hydrophobicity change in apoA- I | | | |
| 雑誌名 | 巻 | 発行年 | ページ | |
| <i>J. lipid Res.</i> | 55(11) | 2014 | 2423-2431 | |

〈著者〉

| 著者名 | 著書名 | | |
|---------------------------------|----------------|-------|--|
| 小林 典裕、上田 宏、 三宅 司郎、荒川 英俊 他 | 免疫測定法 基礎から先端まで | | |
| 出版社 | 発行年 | ページ | |
| 講談社 | 2014 | 1-335 | |

〈学会発表〉

| 発表者 | 学会名 | | |
|---|----------------|------|--|
| 大山 浩之、三宅沙也香、 森田いずみ、丹羽 俊文、 小林 典裕 | 日本分析化学会第 63 年会 | | |
| タイトル | 開催日 | 開催場所 | |
| 「高感度ヒト血清中コレステロール ELISA の開発を目的とする scFv- ルシフェラーゼ融合タンパク質の創製」 | 2014年9月19日 | 東広島 | |

| 発表者 | 学会名 | | |
|---|----------------|------|--|
| 森田いずみ、平井 杏奈、 西村 沙貴、大山 浩之、 太田 光熙、小林 典裕 | 日本分析化学会第 63 年会 | | |
| タイトル | 開催日 | 開催場所 | |
| 「改良型変異 scFv フラグメントを用いるヒト尿中コチニンのモノクローナル ELISA」 | 2014年9月19日 | 東広島 | |

| 発表者 | 学会名 | | |
|---------------------------------------|---------------|------|--|
| 大山 浩之、江浪 友理、 木口 裕貴、森田いずみ、 小林 典裕 | 日本薬学会第 135 年会 | | |
| タイトル | 開催日 | 開催場所 | |
| 抗エストロジオール scFv 試験管内親和性成熟機構の解析 | 2015年3月27日 | 神戸 | |

| 発表者 | 学会名 | | |
|---|---------------|------|--|
| 森田いずみ、西村 沙貴、 蓑田早耶香、木口 裕貴、 大山 浩之、小林 典裕 | 日本薬学会第 135 年会 | | |
| タイトル | 開催日 | 開催場所 | |
| 抗コチニン scFv の親和性成熟における部位特異的変異の効果 | 2015年3月27日 | 神戸 | |

| 発 表 者 | 学 会 名 | | |
|--|---------------|------------|------|
| 伊藤 綾、安尾まゆみ、 竜田 都加、森田いずみ、 大山 浩之、小林 典裕 | 日本薬学会第 135 年会 | | |
| タ イ ト ル | | 開催日 | 開催場所 |
| 大麻成分に対するモノクローナル抗体の調製とキャラクターゼーション | | 2015年3月27日 | 神戸 |

| 発 表 者 | 学 会 名 | | |
|---|---------------|------------|------|
| 堀江 有紀、土屋 沙織、 大山 浩之、小林 典裕、 斎藤 博幸 | 日本薬学会第 135 年会 | | |
| タ イ ト ル | | 開催日 | 開催場所 |
| アミロイドーシスの病態解明を目指した抗 ApoA-I モノクローナル抗体の 作製 | | 2015年3月27日 | 神戸 |

| 発 表 者 | 学 会 名 | | |
|---|---------------|------------|------|
| 木村 仁、武知 佑樹、 小林 典裕、齋藤 博幸 | 日本薬学会第 135 年会 | | |
| タ イ ト ル | | 開催日 | 開催場所 |
| バイオレイヤー干渉法を用いた人工 HDL 粒子と抗 apoA-I 抗体との相互 作用 | | 2015年3月27日 | 神戸 |

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・職 薬理学研究室・教授

研究代表者氏名 吉野 伸

平成26年6月23日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成27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 | アレルギー疾患および自己免疫疾患の抗原特異的制御 | | | | |
| 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 |
| | 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>我が国では、花粉症のなかでもスギ花粉（JCP）に対するアレルギー性鼻炎の罹患率が約25%と非常に高く、国民病といわれている。しかし、スギ花粉症に対する治療としては多くが抗ヒスタミン薬などを用いた対症療法である。最近、我々は卵白アルブミン（OVA）に対するモノクローナル抗体（mAb）Fabをマウスに鼻腔内暴露すると、OVA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mAbFab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。本研究では、アレルゲンとしてJCPを用い、JCPに対するmAbFabのJCP誘導アレルギー性鼻炎に対する効果について検討した。JCPに対するmAb産生ハイブリドーマは、常法によりマウスをJCP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JCP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、JCPの代表的なアレルゲンであるCry j1に対するmAb（P1-8）が得られた。JCPによるアレルギー性鼻炎の誘導のため、BALB/cマウスをJCP/alumの腹腔内注射（days 0 & 14）によって感作し、days 28-30およびday 35にJCPを鼻腔内暴露した。パパイン消化によって作製した抗P1-8Fabは、各JCP惹起15分前に鼻腔内投与した。その結果、JCP惹起によるくしゃみ回数、鼻掻き回数は、P1-8Fabによって有意に抑制された。また、この時鼻腔粘膜組織の肥満細胞および好酸球浸潤、杯細胞増殖もP1-8Fabによって抑制された。さらに、P1-8FabをJCP惹起前1回のみ鼻腔内暴露した場合においても同様にくしゃみ回数、鼻掻き回数は抑制された。以上の結果から、スギ花粉症は、P1-8Fabによってアレルゲン特異的に制御されることを初めて見出した。そのメカニズムとしては、Fab暴露後、鼻腔粘膜上でJCPがO1-8Fabsによって補足され、これによりアレルギー誘導に必須であるJCPと抗JCP感作によって産生される抗体との結合が阻害されることによるとと思われる。</p> | | | | | |

〈研究論文〉

| 著者名 | 論文標題 | | | |
|--|--|------|---------|--|
| Nobuaki Mizutani, Takeshi Nabe, Shin Yoshino | Semaphorin 7A play a critical role in IgE-mediated airway inflammation in mice | | | |
| 雑誌名 | 巻 | 発行年 | ページ | |
| European Journal of Pharmacology | 764 | 2015 | 149-156 | |

| 著者名 | 論文標題 | | | |
|--|--|---------|---------|--|
| Nobuaki Mizutani, Takeshi Nabe, Shin Yoshino | IgE/antigen-mediated enhancement of IgE production is a mechanism underling the exacerbation of airway inflammation and remodeling in mice | | | |
| 雑誌名 | 巻 | 発行年 | ページ | |
| Immunology | 144 | 107-115 | 107-115 | |

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・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26年6月23日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成27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 | 合成化学的手法を用いた天然カロテノイドの立体構造解明研究 | | | | |
| 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 |
| | 和田 昭盛 | 神戸薬科大学 | 薬学部 | 教授 | 研究の統括 |
| | 山野 由美子 | 神戸薬科大学 | 薬学部 | 准教授 | カロテノイドの合成と天然物との比較同定 |
| | 眞岡 孝至 | 財団法人生産開発科学研究所 | 食物機能研究室 | 室長 | カロテノイドの単離 |
| 共同研究の成果 | | | | | |
| <p>カロテノイドの立体配置の確認は、機能や代謝経路の解明上重要であるが、明らかにされていないものが多く存在する。そこで、このようなカロテノイドを立体構造決定が可能な方法で合成し、天然から単離したカロテノイドとの比較同定を行って立体構造を明らかにすべく、共同研究を実施した。</p> <p>1. アセチレンカロテノイドの一種で新規な 3,6-dihydroxy-ϵ-末端構造を持つ gobiusxanthin や 3'-epigobiusxanthin のジオール部の立体配置は、6位がヒドロキシ基ではなく水素置換体である類似カロテノイドとの CD スペクトルの比較により推定されているのみであった。昨年度、gobiusxanthin のジオール部に関する4種の立体異性体をすべて全合成して天然物と CD スペクトルを比較することによって、gobiusxanthin のジオール部の立体配置は報告通りであったが、3'-epigobiusxanthin の立体配置は6'位の epi 体の誤りであることを明らかにすることができた。また、CD スペクトルによって、ジオール部の立体配置は判断できるが、アセチレン末端部ヒドロキシ基の立体配置は判断できないことがわかった。そこで、本年度はアセチレン末端部ヒドロキシ基が逆の gobiusxanthin 立体異性体も全合成して HPLC による立体異性体の分離条件を確立して、天然物と直接比較同定することにより、アセチレン末端部ヒドロキシ基の立体配置はいずれのカロテノイドも (3<i>R</i>) 配置であることを明らかにすることができた。これらの結果と推定生合成経路に関する考察について、論文報告 (Mar. Drugs, 2015, 13, 159) を行った。</p> <p>2. 共同研究者が柑橘果実ガックから、lycopene や γ-carotene の 5,6 位 (5',6' 位) のジヒドロキシ体を新規酸化代謝物として単離した。しかし、ジオール部の立体配置については、相対配置さえもスペクトルデータからは決定できなかった。そこで、これらを全合成し、天然物とスペクトルを比較することによって、天然物のジオール部の相対配置を明らかにすることができた。これらの結果について昨年度学会発表を行い、本年度論文報告 (J. Agric. Food Chem., 2015, 63, 1622) を行った。本年度は、さらに絶対立体配置についても明らかにすべく、ゲラニオールおよびネロールの Sharpless 不斉エポキシ化と続く位置および立体選択的なエポキシドの加水分解を鍵反応として、これらジヒドロキシカロテノイドの全立体異性体の合成を行った。さらに、HPLC による立体異性体の分離条件も確立した。残念ながら天然物が不安定で分解していたために、確立した HPLC 分離条件を用いて天然物の絶対立体配置を決定するには至っていないが、現在再度天然からのカロテノイドの単離を試みているところである。</p> | | | | | |

〈研究論文〉

| 著者名 | 論文標題 | | | |
|---|--|------|---------|--|
| Y. Yamano, K. Ematsu, H. Kurimoto, T. Maoka, A. Wda | Total synthesis of gobiuxanthin stereoisomers and their application to determination of absolute configuration of natural products: revision of reported absolute configuration of epigobiuxanthin | | | |
| 雑誌名 | 巻 | 発行年 | ページ | |
| Marine Drugs | 13 | 2015 | 159-172 | |

| 著者名 | 論文標題 | | | |
|---|--|------|-----------|--|
| T. Maoka, Y. Yamano, A. Wada, A. Etho, T. Terada, Y. Tokuda, H. Nishino | Oxidative Metabolites of Lycopene and γ -Carotene in Gac (<i>Momordica cochincinesis</i>) | | | |
| 雑誌名 | 巻 | 発行年 | ページ | |
| J. Agric. Food Chem. | 63 | 2015 | 1622-1630 | |

〈学会発表〉

| 発表者 | 学会名 | | |
|--|------------------|------|--|
| 山野由美子、西山 裕也、青木 敦志、和田 昭盛、眞岡 孝至 | 第29回 カロテノイド研究談話会 | | |
| タイトル | 開催日 | 開催場所 | |
| ガックより単離された lycopene-5,6-diol および γ -carotene-5',6'-diol の立体異性体の合成と HPLC 分離条件の確立 | 9月4日 | 東京 | |

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・職 衛生化学研究室・教授
研究代表者氏名 岡野 登志夫

平成26年6月23日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成27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 | ビタミン K 合成酵素 UBIAD1 の構造機能解析 | | | | |
| 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 |
| | 中川 公恵 | 神戸薬科大学 | 薬学部 | 准教授 | 分子生物学的解析 |
| | 須原 義智 | 芝浦工業大学 | システム理工学部 | 教授 | リガンド合成 |
| 共同研究の成果 | | | | | |
| <p>我々が食事から摂取するビタミン K は主に植物由来のフィロキノン (PK) と発酵食品由来のメナキノノン類 (MK-n) であるが、生体内にはメナキノノン-4 (MK-4) が高濃度に存在する。申請者らは、生体内で PK や MK-n から MK-4 が変換生成すること、この変換反応を担う鍵酵素が Ubia prenyltransferase domain containing 1 (UBIAD1) であることを明らかにしている。本研究では、UBIAD1 の生理学的機能および UBIAD1 の酵素化学的性質の解析を目的として研究を遂行した。岡野・中川は、UBIAD1 の酵素活性とタンパク構造との関連性を明らかにするため、昆虫細胞 (Sf9 細胞) や株化細胞に UBIAD1 の点変異体を発現させ、野生型および点変異 UBIAD1 の酵素活性評価を行った。その結果、UBIAD1 の酵素活性中心や基質認識に重要と推察される領域を見いだした。また、全身性 Ubiad1 遺伝子欠損マウスを作成し、UBIAD1 欠損により生じる個体の機能異常を解析した。その結果、UBIAD1 の欠損により胎生致死となり、UBIAD1 が個体形成に必須の因子であることが明らかとなった。これまでに、ゼブラフィッシュの UBIAD1 ホモログには、CoenzymeQ10 (CoQ10) を合成する活性があることが報告されていることから、ヒト UBIAD1 においても CoQ10 合成活性を持つかについて、UBIAD1 欠損マウス由来 ES 細胞を用いて検討した結果、UBIAD1 欠損マウス由来 ES 細胞では、CoQ10 合成能に変化は認められなかった。このことから、哺乳類における CoQ10 合成に UBIAD1 の関与は低いと推察された。須原は、UBIAD1 により MK-4 へ変換されるリガンドの特異性を明らかにするため、ビタミン K 同族体およびイソプレノイド化合物を分子基盤として様々な構造の基質リガンドを合成し、MK-4 と同等の神経細胞への分化を誘導する化合物を開発した。両研究機関の成果を踏まえ、現在は脳神経系特異的な UBIAD1 欠損マウスを作成解析するとともに、脳神経機能改善に寄与するビタミン K 誘導体の創製を目指して研究を進めている。</p> | | | | | |

〈研究論文〉

| 著者名 | 論文標題 | | | |
|---|--|------|---------|--|
| Nakagawa K, Sawada N, Hirota Y, Uchino Y, Suhara Y, Hasegawa T, Amizuka N, Okamoto T, Tsugawa N, Kamao M, Funahashi N, Okano T. | Vitamin K ₂ biosynthetic enzyme, UBIAD1 is essential for embryonic development of mice. | | | |
| 雑誌名 | 巻 | 発行年 | ページ | |
| <i>PLoS One</i> | 9 | 2014 | e104078 | |

| 著者名 | 論文標題 | | | |
|---|---|------|----------|--|
| Hirota Y, Nakagawa K, Sawada N, Okuda N, Suhara Y, Uchino Y, Kimoto T, Funahashi N, Kamao M, Tsugawa N, Okano T | Functional Characterization of the Vitamin K ₂ Biosynthetic Enzyme UBIAD1. | | | |
| 雑誌名 | 巻 | 発行年 | ページ | |
| <i>PLoS One</i> | 10 | 2015 | e0125737 | |

| 著者名 | 論文標題 | | | |
|---|--|------|---------|--|
| Suhara Y, Hirota Y, Hanada N, Nishina S, Eguchi S, Sakane R, Nakagawa K, Wada A, Takahashi K, Tokiwa H, Okano T | Synthetic small molecules derived from natural vitamin K homologues that induce selective neuronal differentiation of neuronal progenitor cells. | | | |
| 雑誌名 | 巻 | 発行年 | ページ | |
| <i>J. Med. Chem.</i> | 58 | 2015 | 7088-92 | |

〈学会発表〉

| 発表者 | 学会名 | | |
|---|--------------|------|--|
| 中川 公恵、澤田 夏美、廣田 佳久、内野 由理、須原 義智、岡野登志夫 | 日本薬学会 135 年会 | | |
| タイトル | 開催日 | 開催場所 | |
| ビタミン K ₂ 合成酵素 <i>Ubiad1</i> 遺伝子欠損マウスは胎生致死となる | 2015年3月28日 | 神戸 | |

| 発表者 | 学会名 | | |
|---|------------------|------|--|
| 中川 公恵、澤田 夏美、廣田 佳久、内野 由理、須原 義智、岡野登志夫 | 日本ビタミン学会第 67 回大会 | | |
| タイトル | 開催日 | 開催場所 | |
| ビタミン K ₂ 合成酵素 <i>Ubiad1</i> 遺伝子欠損マウスの表現型解析 | 2015年6月6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 北河修治様

研究代表者所属・職 生薬化学研究室・准教授
研究代表者氏名 士反伸和

平成26年6月23日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成27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 | 天然物から婦人科悪性腫瘍に対する活性成分の探索 | | | | |
| 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 | 准教授 | 統括 |
| | 西山由美 | 神戸薬科大学 | 薬学部 | 講師 | 成分の構造解析と活性試験 |
| | 須藤保 | 兵庫県立がんセンター | 研究部・婦人科 | 部長 | 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位であり、生涯でがんに罹患する確率は2人に1人、死亡率は3人に1人とも言われている。現在、治療効果の高い抗腫瘍薬もあるが、腫瘍の部位によっては、有効な抗腫瘍薬がほとんどないがんもある。また、同じ部位でも、多種の形態があり治療効果に差がでることもしばしばあることから、形態に合った抗腫瘍薬の開発も期待されている。</p> <p>婦人科悪性腫瘍は①子宮頸がん②子宮体がん③卵巣がんに分類できるが、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癌として発見されることが多く、抗がん剤治療が選択されることが多い。そこで我々は、まず卵巣がんを対象に、生薬などの天然物から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数種用いて検討した。そして、古くから婦人薬として利用され、特に子宮など女性のみが有する器官の不調を緩和する目的で利用されている生薬と、フラボノイドやアルカロイドなど生理活性を期待出来る化合物を多く含む生薬を対象に試験を行った。</p> <p>スクリーニングの結果、数種の生薬に卵巣がん細胞に対して細胞増殖抑制効果が認められた。その内、婦人薬として用いられる生薬のボタンピ（牡丹皮）、コウブシ（香附子）、コウコウ（降香）について、まず、活性成分の探索を行った。①ボタンピでは、これを含む漢方製剤にも細胞増殖抑制効果が認められたが、顕著な活性を示す化合物は確認できず、ボタンピはエキスとして用いる方が有効であると考えられた。②コウブシからは、強くはないが活性を有するセスキテルペン類を確認した。③コウコウからは、活性の強いイソフラボノイド数種を単離し、これらはアポトーシスを誘導し細胞周期に影響を与えることがわかった。一方、婦人薬以外の生薬においては、クジン（苦参）、マンケイシ（蔓荊子）、サンズコン（山豆根）などに活性が認められ、フラボノイドを基本骨格とする化合物に活性が認められた。今後、得られた活性成分については、その作用機序を検討すると共に、それをソースとしてより有効な化合物を探索していく予定である。</p> | | | | | |

〈学会発表〉

| 発表者 | 学会名 | | |
|--|--------------|----------------------|------|
| 寺井万里子、萱谷 梨絵、 西山 由美、土反 伸和、 守安 正恭、須藤 保 | 日本生薬学会第61回年会 | | |
| タイトル | | 開催日 | 開催場所 |
| サングコン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 | | 2014年9月 13日 - 14日 | 福岡 |

| 発表者 | 学会名 | | |
|--------------------------------|--------------|----------------------|------|
| 山口瑠璃子、西山 由美、 土反 伸和、須藤 保 | 日本生薬学会第62回年会 | | |
| タイトル | | 開催日 | 開催場所 |
| ヒト卵巣がん細胞 KOC7C 株に対するボタンピの抗腫瘍効果 | | 2015年9月 11日 - 12日 | 岐阜 |

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・職 生化学研究室・教授
研究代表者氏名 北川 裕之

平成26年6月23日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成27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・地域環境学科 | 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>本年度は、コンドロイチン硫酸およびヘパラン硫酸に共通したタンパク質への橋渡し領域4糖の合成糖鎖を用いて、4糖橋渡し構造に<i>N</i>-アセチルガラクトサミンを転移するコンドロイチン<i>N</i>-アセチルガラクトサミン転移酵素-1の基質特異性を詳細に調べた。</p> <p>コンドロイチン<i>N</i>-アセチルガラクトサミン転移酵素-1の欠損は、コンドロイチン硫酸鎖の数を減少させ、マウスでは骨格形成異常を引き起こすことを我々は以前報告した (Biochem. J. 2010)。このことは、コンドロイチン<i>N</i>-アセチルガラクトサミン転移酵素-1が正常な軟骨分化において、コンドロイチン硫酸鎖の数を制御していることを示唆していた。最近我々は、2-リン酸化キシロース脱リン酸化酵素も、コンドロイチン硫酸およびヘパラン硫酸に共通したタンパク質への橋渡し領域のキシロース残基を脱リン酸化することで、コンドロイチン硫酸鎖の数を制御していることを報告した (J. Biol. Chem. 2015)。しかしながら、コンドロイチン硫酸鎖の数を制御する際、コンドロイチン<i>N</i>-アセチルガラクトサミン転移酵素-1と2-リン酸化キシロース脱リン酸化酵素の関係はよくわかっていなかった。本研究では、野生型ではなくコンドロイチン<i>N</i>-アセチルガラクトサミン転移酵素-1の欠損マウスの成長軟骨板にのみキシロースがリン酸化されたままの橋渡し領域が存在することを発見した。この結果と一致して、コンドロイチン<i>N</i>-アセチルガラクトサミン転移酵素-1は、<i>in vitro</i>で優先的にキシロースがリン酸化された橋渡し領域4糖に<i>N</i>-アセチルガラクトサミンを転移した。さらに、コンドロイチン<i>N</i>-アセチルガラクトサミン転移酵素-1と2-リン酸化キシロース脱リン酸化酵素は生体内で相互作用し、このことによりキシロースがリン酸化された橋渡し領域4糖に<i>N</i>-アセチルガラクトサミンが転移された直後に、効率よく2-リン酸化キシロース脱リン酸化酵素により脱リン酸化が起こると考えられた。したがって、キシロースがリン酸化された橋渡し領域4糖は、コンドロイチン<i>N</i>-アセチルガラクトサミン転移酵素-1の良い基質となり、コンドロイチン<i>N</i>-アセチルガラクトサミン転移酵素-1と2-リン酸化キシロース脱リン酸化酵素は共同して成長軟骨板のコンドロイチン硫酸鎖の数を制御していることが判明した。Izumikawa, T. et al. J. Biol. Chem. 290, 5438-5448 (2015) .</p> | | | | | |

〈研究論文〉

| 著者名 | 論文標題 | | | |
|--|---|------|-----------|--|
| Izumikawa, T., Sato, B., Mikami, T., <u>Tamura,</u> L., Igarashi, M., and <u>Kitagawa, H.</u> | GlcUA β 1-3Gal β 1-3Ga β 1-4Xyl(2-O-phosphate) is the preferred substrate for chondroitin N-acetylgalactosaminyltransferase-1 | | | |
| 雑誌名 | 巻 | 発行年 | ページ | |
| J. Biol. Chem. | 290 | 2015 | 5438-5448 | |

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・職 微生物化学研究室・教授
研究代表者氏名 小西 守周

平成26年6月23日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成27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 | | 生体における分泌因子の役割の解明 | | | |
| 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 三宅 歩 | 神戸薬科大学 京都大学 | 薬学部 薬学研究科 | 教授 講師 | 主に培養細胞を用いた解析 主に遺伝子改変動物を用いた解析 |
| 共同研究の成果 | | | | | |
| <p>多細胞生物においては、個々の細胞同士が相互に情報を交換し、協調的に働くことが必要となる。この情報交換の際に用いられるツールが細胞外分泌因子である。本研究では、我々が新たに同定した細胞外分泌因子の生理的な役割を明らかにすることを目的とし、特に免疫機構を中心に共同研究を行った。</p> <p>①ニューデシンの生理的な役割の解明 ニューデシンは、生体の様々な臓器において発現する細胞外分泌因子である。これまでにニューデシンはエネルギー代謝調節因子として肥満症の発症に重要であることが明らかにされていた。一方、当研究室において、WTマウスとニューデシンKOマウス（KOマウス）に敗血症を発症させると、WTマウスに比べKOマウスで脾臓の活性化Treg数が増加する傾向にあることが明らかにされた。Tregは、免疫反応を抑制するT細胞であり、敗血症のみならず個体の免疫調節において重要な役割を果たす。そこで、本年度ではTregの分化制御などへの関わりを明らかにするために、in vitroのTreg誘導時におけるニューデシンタンパクの添加効果を検討した。その結果、ニューデシンはTregの活性化には影響しないものの、分化を抑制する可能性が示唆された。Tregは、自己免疫疾患を抑制する一方で、敗血症や癌の病態の悪化に寄与することから、ニューデシンの投与が、同疾患の治療法の開発につながる可能性が期待された。</p> <p>②FGF23の自然免疫における役割の解明 細胞外分泌因子FGF23についても、免疫機能との関わりについて検討を試みた。FGF23は、一般的にビタミンD代謝などを調節する腎臓由来の内分泌因子であると考えられていた。しかし、本研究によりFGF23が、敗血症誘導時に血中濃度が著しく上昇すること、またそのときの産生臓器、細胞は、脾臓や胸腺のマクロファージ、樹状細胞であることが明らかとなった。これらの細胞において、FGF23は、LPSなどの複数のPAMPS (Pathogen-associated molecular pattern) の刺激により活性化される転写因子NF-κBにより発現誘導された。また誘導されたFGF23は、受容体を有するマクロファージに対し、細胞数の増加を誘導し、また炎症性サイトカインであるTNF-αの産生を促すことが示された。以上の結果より、FGF23は樹状細胞やマクロファージの活性化を促し、その結果として炎症反応の惹起に関与する可能性が示唆された。この研究成果は、2015年2月においてBiological & Pharmaceutical Bulletin誌に公表した。</p> <p>③BrorinとBrorin-likeの神経細胞、アストロサイト分化における役割の解明 BMPは骨や神経など様々な組織、細胞の分化増殖を制御する分泌因子である。Brorin及びBrorin-likeは、我々が同定した神経細胞が発現する分泌性のBMPアンタゴニストである。本年度ではBrorinとBrorin-likeのノックアウトマウスの表現形質を検討した。その結果、両遺伝子のダブルノックアウトマウスでは、野生型マウスと比較して、中脳や線条体においてアストロサイト、ニューロンの数の異常が生じることが明らかとなった。この研究成果は、第37回日本分子生物学会年会上において公表した。</p> | | | | | |

〈研究論文〉

| 著 者 名 | 論 文 標 題 | | | |
|--|--|------|---------|--|
| Masuda, Y., Ohta, H., Morita, Y., Nakayama, Y., Miyake, A., Itoh, N., and Konishi, M. | Expression of Fgf23 in activated dendritic cells and macrophages in response to immunological stimuli in mice. | | | |
| 雑 誌 名 | 卷 | 発行年 | ページ | |
| Biological & Pharmaceutical Bulletin | 38 | 2015 | 687-693 | |

〈学会発表〉

| 発 表 者 | 学 会 名 | | |
|--|------------------|-------------|--|
| 村上 温子、平松 丈朗、 田松 秀和、山上 誠人、 小西 守周、三宅 歩、 伊藤 信行 | 第 37 回日本分子生物学会年会 | | |
| タ イ ト ル | 開催日 | 開催場所 | |
| 新規分泌性 Bmp antagonist, Brorin 及び Brorin-like の神経細胞とアストロサイトの分化における機能解析 | 2014年11月27日 | パシフィコ 横浜 | |

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・職 薬品化学研究室・教授

研究代表者氏名 宮田 興子

平成26年6月23日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成27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複素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 |
| | 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 | 准教授 | 候補化合物の合成 |
| | 松野 研司 | 岡山大学大学院 | 医歯薬学総合研究科 | 准教授 | 候補化合物の抗癌活性評価 |
| 共同研究の成果 | | | | | |
| <p>架橋構造を有する含窒素複素環骨格は、多くの生物活性物質や天然物に含まれる基本骨格の一つである。そこで、新規架橋型含窒素複素環化合物の創製を目的として、α位にアルキンを有するオキシムエーテルのドミノ型反応を検討した。すなわち、遷移金属触媒を用いた閉環反応により生成するアゾメチンイリド中間体を利用し、[3+2]環化付加反応を行うことで、容易に架橋型含窒素複素環化合物が得られると考えた。はじめに、基質としてα位にアルキンを有するシクロヘキセノンのオキシムエーテル誘導体、親双極子としてマレイミド、および触媒として塩化金を用いて1,2-ジクロロエタン還流条件で反応を検討した。その結果、期待通り閉環反応に続く環化付加反応が進行したと考えられる、7-azabicyclo[2.2.1]heptane骨格を有する含窒素複素環化合物が27%の収率で得られた。次に、収率の向上のため、様々な金触媒、および溶媒を用いて反応を検討した。その結果、触媒としてAuCl(PCy₃)を用いて、クロロホルム還流条件で反応を行った場合に、最も高収率で目的の架橋型含窒素複素環化合物が得られることが明らかとなった。</p> <p>次に、分子内に親双極子を有するO-アリルオキシムエーテルを基質として、分子内反応を検討した。はじめに、触媒としてAuCl(PCy₃)を用いて、クロロホルム中還流条件で反応を行ったところ、閉環反応と分子内での環化付加反応が進行した3,6-methanopyrrolo[1,2-b]isoxazole骨格を有する架橋型含窒素複素環化合物、およびそれが開環したと考えられるニトロロンが得られた。一方、反応温度を上げるためにクロロベンゼンを溶媒とし、AuCl(PPh₃)存在下還流条件で反応を検討したところ、興味深いことに、新たに2,6-methanopyrrolo[1,2-b]isoxazole骨格を有する化合物が55%の収率で得られた。さらに最適化を行った結果、(AuCl)₂dppm存在下、クロロベンゼンを溶媒とし、封管中反応を行うと、90%まで収率が向上することが明らかとなった。次に、基質一般性について検討した。その結果、様々な置換基をもつ架橋型含窒素複素環化合物の合成に成功した。以上のように、α位にアルキンを有するオキシムエーテルを基質とした、金触媒によるドミノ型閉環-環化付加反応を開発した。さらに、分子内反応では、特異な架橋構造を有する3,6-methanopyrrolo[1,2-b]isoxazole、および2,6-methanopyrrolo[1,2-b]isoxazoleを、それぞれ選択的に合成することに成功した。今後は、これら化合物群の抗癌活性を評価する予定である。</p> | | | | | |

〈研究論文〉

| 著者名 | 論文標題 | | | |
|---|---|------|-----------|--|
| Masafumi Ueda, Nobuyoshi Doi, Hitoki Miyagawa, Shoichi Sugita, Norihiko Takeda, Tetsuro Shinada and Okiko Miyata | Reaction of Cyclopropenes with a Trichloromethyl Radical: Unprecedented Ring-opening Reaction of Cyclopropanes with Migration | | | |
| 雑誌名 | 巻 | 発行年 | ページ | |
| <i>Chem. Commun.</i> | 51 | 2015 | 4204-4207 | |

| 著者名 | 論文標題 | | | |
|--|---|------|-----------|--|
| Shohei Sato, Norihiko Takeda, Tetsuya Miyoshi, Masafumi Ueda and Okiko Miyata | Vicinal Functionalization of <i>N</i> -Alkoxyen-amines: Tandem Umpolung Phenylation/Nucleophilic Addition Reaction Sequence | | | |
| 雑誌名 | 巻 | 発行年 | ページ | |
| <i>Eur. J. Org. Chem.</i> | | 2015 | 3899-3904 | |

〈学会発表〉

| 発表者 | 学会名 | | |
|---|----------------|------|--|
| 上田 昌史、杉田 翔一、 齋藤 誠、武田 紀彦、 宮田 興子 | 第44回複素環化学討論会 | | |
| タイトル | 開催日 | 開催場所 | |
| アルキニルオキシムエーテル類の閉環-環化付加反応による架橋型含窒素複素環の合成 | 平成26年 9月11日 | 札幌 | |

| 発表者 | 学会名 | | |
|---|---|------|--|
| Masafumi Ueda, Shoichi Sugita, Makoto Saito, Norihiko Takeda, Kenji Matsuno, Okiko Miyata | The Ninth International Symposium on Integrated Synthesis | | |
| タイトル | 開催日 | 開催場所 | |
| Synthesis of <i>N</i> -bridged heterocycles via Au-catalyzed cyclization -cycloaddition reaction of α -alkynyl oxime ether | 平成26年 10月15日 | 淡路 | |

| 発表者 | 学会名 | | |
|---|----------------------|------|--|
| 上田 昌史、杉田 翔一、 武田 紀彦、宮田 興子 | 第13回次世代を担う有機化学シンポジウム | | |
| タイトル | 開催日 | 開催場所 | |
| <i>N</i> -アルコシアゾメチンイリドを経由する新規連続的環化付加反応の開発 | 平成27年 5月22日 | 草津 | |

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・職 薬化学研究室・教授

研究代表者氏名 棚橋 孝雄

平成26年6月23日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成27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 | 高等植物ならびに地衣類を起源とする DNA 代謝酵素阻害剤の探索 | | | | |
| 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 |
| | 棚橋 孝雄 | 神戸薬科大学 | 薬学部 | 教授 | 統括 |
| | 竹仲 由希子 | 神戸薬科大学 | 薬学部 | 講師 | 成分の構造決定 |
| | 水品 善之 | 神戸学院大学 | 栄養学部食健康学部門 | 准教授 | 活性の評価 |
| 共同研究の成果 | | | | | |
| <p>これまでに、ベトナム産の地衣類 <i>Parmotrema mellissii</i> より、スピロ環を有する新規デブシド類を単離、構造決定しているが、単離した化合物について、DNA ポリメラーゼ α, β, κ に対する阻害活性ならびにヒト子宮がん細胞 HeLa の増殖抑制活性の評価を行った。単離した化合物のうち、既知地衣成分のデブシド類 α-electronic acid と α-collatolic acid、さらにジアリルエーテル類の β-electronic acid と β-collatolic acid が比較的強い活性を示すことを明らかにした。(この結果は現在論文投稿中)</p> <p><i>Haematomma</i> 属の地衣類より孢子由来の地衣菌を単離培養し、既知の地衣成分 usnic acid とともに 2-aza-anthraquinone 類を単離した。これら化合物とともに、既に <i>Trypethelium</i> 属の培養地衣菌より単離、構造決定している naphthoquinone および関連化合物の DNA ポリメラーゼ阻害活性ならびにヒトがん細胞 HeLa の増殖抑制活性を精査し、若干の知見を得た。</p> <p>昨年度に引き続き、ベトナムで採取した <i>Garcinia mangostana</i> の葉部のキサントン誘導体の生物活性について検討した。β-mangostin が強い DNA ポリメラーゼ阻害活性とヒト子宮がん細胞増殖抑制活性を示したことから、アポトーシスとの関連性について検討した。その結果、がん細胞を β-mangostin で処理したところ、アポトーシス誘導が観察され、β-mangostin 54.4 μM, 12 時間処理で Caspase 3 の活性が最大となることが明らかとなった。</p> | | | | | |

〈学会発表〉

| 発表者 | 学会名 | | |
|---------------------------------------|---|------------|------|
| 竹仲由希子、角田 文香、 棚橋 孝雄、濱田 信夫、 水品 善之 | 日本薬学会第 135 年会 | | |
| | タイトル | 開催日 | 開催場所 |
| | <i>Haematomma</i> sp. 単離培養地衣菌の代謝物の構造と生物活性 | 2015年3月27日 | 神戸 |

| 発表者 | 学会名 | | |
|--|--|------------|------|
| 竹仲由希子、神前 祥子、 坂井 奈々、多田 彩華、 Duy Hoang Le, 棚橋 孝雄、小野寺威文、 坂本 裕香、水品 善之、 山浦 高夫 | 日本薬学会第 135 年会 | | |
| | タイトル | 開催日 | 開催場所 |
| | <i>Garcinia mangostana</i> の葉部と果皮のキサントン類の DNA ポリメラーゼ阻害活性 | 2015年3月27日 | 神戸 |

| 発表者 | 学会名 | | |
|---|--|------------|------|
| 小野寺威文、坂本 裕香、 竹仲由希子、神前 祥子、 棚橋 孝雄、水品 善之 | 日本農芸化学会 2015 年度大会 | | |
| | タイトル | 開催日 | 開催場所 |
| | マンゴスチン (<i>Garcinia mangostana</i>) から単離したキサントン類の DNA 合成酵素阻害活性と抗がん作用について | 2015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 北河修治様

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 加藤 郁夫

平成26年6月23日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成27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 | | 新規摂食調節ペプチド adropin の食行動および情動に関する研究 | | | |
|--|-------|------------------------------------|-------------|-------------|---------------------|
| 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>本研究は、新規摂食調節ペプチドである adropin の食行動や情動に関する研究の一環として、げっ歯類を用いた adropin の中枢における作用解析、および adropin 発現の変動と摂食障害や代謝異常などの病態との関連を検討することを目的とする。本年度は、以下の項目について検討を行った。</p> <p>1. Adropin ELISA 系の確立： 昨年度、作製した抗 adropin 特異抗血清 3 種から調製した IgG 分画を用いて、サンドイッチ法または競合法による ELISA 系の開発が可能か検討した。抗体の反応性を検討したところ、サンドイッチ法では、用量依存的反応性は認められなかったが、競合法では、最も高い用量依存性が得られたのは、RK-IK-ST-2 抗体を用いた場合で、測定可能範囲は、約 3 ~ 800 ng/mL であった。今後、低濃度の血清 adropin を特異的に測定するため、さらに特異性と感度の高いサンドイッチ法の開発が必要であると考えられた。このため、次年度は、新たに免疫原を合成し、RK-IK-ST-2 抗体と異なる部位を認識する抗体の作製を行うこととした。</p> <p>2. げっ歯類での adropin 及び <i>Enho</i> mRNA の発現動態： 昨年度、マウスの視床下部、脂肪組織において adropin をコードする遺伝子 <i>Enho</i> の発現は、エネルギーバランスの変動に応じ、短時間に増減することが明らかにし、エネルギー代謝・収支のバランス維持に関わることを支持する結果を得たこと第 10 回 TSOD 研究会 (2015.3.6 つくば) で報告した。本年度は、肥満・糖尿病発症機序の異なる 2 種類のモデルマウスを用いて、エネルギー代謝に関わる臓器である肝臓における <i>Enho</i> および adropin 発現を検討した。</p> <p>正常 C57BL /6J 系マウスを高脂肪食により肥満を誘導した高脂肪食誘導肥満マウスでは、<i>Enho</i> mRNA および adropin 発現は、コントロール群より有意に上昇していた ($p < 0.05$)。一方、多因子変異による自然発症糖尿病・肥満モデルである TSOD マウス肝臓の <i>Enho</i> mRNA および adropin 発現は、コントロール群に比べ、有意に低下していた ($p < 0.05$)。以上の結果より、摂取と消費するエネルギーバランスが正常に釣り合った状態からエネルギー摂取過剰となるとき、エネルギーバランスの均衡を保つため、肝臓では adropin の発現が増加し、また、慢性的なエネルギー摂取過剰状態では、adropin の発現が減少すると考えられた。この結果は、昨年度、視床下部、脂肪組織で得られた結果に一致するものであった。</p> <p>次年度に、引き続き、エネルギー代謝、肥満・糖尿病に関わる臓器について、adropin 発現の生理的意義を検討する予定である。</p> | | | | | |

〈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 | TSOD 研究会 第 10 回情報交換会 | | |
| タイトル | 開催日 | 開催場所 | |
| TSOD マウスの視床下部及び脂肪組織での新規エネルギー代謝関連ペプチドの発現について | 平成27年 3月6日(金) | つくば 国際会議場 | |

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・職 薬品物理化学研究室・教授
研究代表者氏名 向高弘

平成26年6月23日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成27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 動物による評価 |
| 共同研究の成果 | | | | | |
| <p>・放射性ガリウムを標識核種とする放射性薬剤の開発を目指し、標的組織の認識部位と金属核種結合部位とを一分子内に独立して有する二官能性キレートという分子設計概念の基に、安定な Ga-DOTA 錯体において2つのカルボキシル基が錯体形成に関与していないことに着目して、このカルボキシル基に、悪性腫瘍に発現するケモカイン受容体、CXCR4 リガンドペプチド Ac-TZ14011 を導入した Ga 標識化合物の開発を計画した。DOTA の 1,7 位のカルボキシル基を選択的に保護した誘導体と Ac-TZ14011 とをジメチルホルムアミド中、室温で 24 時間反応させた後、保護基を脱保護し、さらに HPLC にて精製することにより、DOTA- (Ac-TZ14011) 2 を得た。比較対照として、ペプチドを 1 分子のみ導入した DOTA-Ac-TZ14011 も併せて合成した。次に、DOTA- (Ac-TZ14011) 2 および DOTA-Ac-TZ14011 を、硝酸ガリウムと室温にて 3 日間反応させ、非放射性 Ga 錯体を合成した。得られた非放射性 Ga 錯体について、I-125-stromal cell derived factor-1 α を用いた競合ラジオアッセイ法により CXCR4 に対する阻害活性を算出した。その結果、Ga-DOTA-Ac-TZ14011 と比較して、Ga-DOTA- (Ac-TZ14011) 2 は、約 100 倍以上高い阻害活性を有することが示され、所期の目的通り、マルチメリック効果に基づく親和性の向上が示された。</p> <p>・亜鉛の生体内における機能解明を目的に、蛍光団と亜鉛イオンとの錯体形成部位としての機能を併せもった分子骨格に基づいた低分子量亜鉛蛍光プローブの開発を行った。ピリジン - ピリドン骨格のピリドン環はケト - エノール互変異性化しており、亜鉛イオンとの配位に関与しないケト型の存在により亜鉛イオンに対する親和性の低下をもたらしている可能性がある。そこで、互変異性化しない 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各種合成したところ、3,000 倍以上の親和性の向上を示す誘導体を見出した。さらに、RAW264 細胞において亜鉛イオン濃度依存的に蛍光の増強を認められたことから生体内に微量に存在する亜鉛イオンの検出が可能であることが示された。</p> <p>・悪性腫瘍の転移におけるセンチネルリンパ節のイメージングを目的に、蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) に基づいた蛍光剤・消光剤結合 γ-ポリグルタミン酸被覆ナノ粒子の作製を行った。蛍光剤 TAMRA を第四世代の 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 を PEI と反応させ PEI-QSY7 を得た。そして G4-TAMRA-DTPA を核とし PEI-QSY7、γ-ポリグルタミン酸を自己組織化させた複合体を得た。得られた複合体は FRET により蛍光のオフオンを示すとともに、RAW264 細胞を用いて評価したところ、細胞内でのみ蛍光シグナルが認められた。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 γ-ポリグルタミン酸複合体によるリンパ節の検出可能であることが明らかになった。</p> | | | | | |

〈研究論文〉

| 著者名 | 論文標題 | | | |
|---|--|------|-----------|--|
| Kohei Sano, Ryo Masuda, Hayato Hisada, Shinya Oishi, Kenta Shimokawa, Masahiro Ono, Nobutaka Fujii, Hideo Saji, Takahiro Mukai: | A radiogallium-DOTA-based bivalent peptidic ligand targeting a chemokine receptor, CXCR4, for tumor imaging, | | | |
| 雑誌名 | 巻 | 発行年 | ページ | |
| Bioorganic & Medicinal Chemistry Letter | 24 | 2014 | 1386-1388 | |

〈学会発表〉

| 発表者 | 学会名 | | |
|---|---------------------|------|--|
| 萩森 政頼、畑辺 恵里、佐野 紘平、佐々木 均、佐治 英郎、向 高弘 | 第9回日本分子イメージング学会学術集会 | | |
| タイトル | 開催日 | 開催場所 | |
| センチネルリンパ節イメージングを目指した蛍光標識 γ -ポリグルタミン酸複合体の開発 | 2014年5月 22日-23日 | 豊中 | |

| 発表者 | 学会名 | | |
|------------------------------|-------------------------|------|--|
| 萩森 政頼、水山奈央子、富永 義則、佐治 英郎、向 高弘 | 第24回金属の関与する生体関連反応シンポジウム | | |
| タイトル | 開催日 | 開催場所 | |
| ピピリジン骨格に基づく低分子量亜鉛蛍光プローブの開発 | 2014年6月 14日-15日 | 京都 | |

| 発表者 | 学会名 | | |
|------------------------------------|------------------|------|--|
| 萩森 政頼、梅村 侑加、中城 有紀、水山奈央子、佐治 英郎、向 高弘 | 第25回日本微量元素学会学術集会 | | |
| タイトル | 開催日 | 開催場所 | |
| 亜鉛イオンに対する親和性の向上を目指した蛍光プローブの開発 | 2014年7月 3日-4日 | 岡山 | |

| 発表者 | 学会名 | | |
|---|---------------------|------|--|
| 千石 梓、畑辺 恵里、萩森 政頼、佐野 紘平、佐々木 均、佐治 英郎、向 高弘 | 第14回放射性医薬品・画像診断薬研究会 | | |
| タイトル | 開催日 | 開催場所 | |
| センチネルリンパ節の蛍光イメージングを目指した γ -ポリグルタミン酸被覆ナノ粒子の作製 | 2014年9月13日 | 京都 | |

| 発 表 者 | 学 会 名 | | |
|--|---------------------------------------|----------------------|-------|
| Masayori Hagimori, Eri Hatabe, Kohei Sano, Hitoshi Sasaki, Hideo Saji, Takahiro Mukai | 2014 World Molecular Imaging Congress | | |
| タ イ ト ル | | 開催日 | 開催場所 |
| Development of fluorescent γ -polyglutamic acid complex for sentinel lymph node imaging | | 2014年9月 17日 - 20日 | Seoul |

| 発 表 者 | 学 会 名 | | |
|--|---------------------------------------|----------------------|-------|
| Masayori Hagimori, Naoko Mizuyama, Yasuchika Yamaguchi, Hideo Saji, Takahiro Mukai | 2014 World Molecular Imaging Congress | | |
| タ イ ト ル | | 開催日 | 開催場所 |
| High affinity fluorescent probe for Zn^{2+} based on bipyridine scaffold | | 2014年9月 17日 - 20日 | Seoul |

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・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26年6月23日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成27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 | | シクロ三リン酸塩によるイミノ基のリン酸化の可能性 | | | |
| 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 | 工学部 | 教授 | リン酸化剤の調製 |
| 共同研究の成果 | | | | | |
| <p>分子内にイミノ基 (NH 基) をひとつ有するプロリンおよびサルコシ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。リン酸化生成物の構造を、³¹P および ¹H NMR で解析したところ、プロリンまたはサルコシンのイミノ基に三リン酸が結合していることが明らかとなった。プロリンおよびサルコシンには、NH 基とカルボキシル基 (COOH 基) があるが、P_{3m} と反応するのは NH 基であることがわかった。</p> <p>リン酸化反応の最適反応条件は、プロリン: P_{3m} = 2.0 mol/L : 0.5 mol/L, pH 12, 10 °C であり、この場合の収率は 50% であった。プロリンのモル濃度が高いほど高収率となったが、プロリンは 2.0 mol/L 以上の濃度では溶けなかったため、2.0 mol/L が最適な濃度であることがわかった。一方、サルコシンは、サルコシン: P_{3m} = 1.0 mol/L : 0.5 mol/L, pH 12, 10 °C で収率 84 % に達した。サルコシンのモル濃度が高いほど高収率が得られたが、1.0 mol/L 以上にしても大きく変わらないため 1.0 mol/L が良いことがわかった。サルコシンの生成物が pH 12 で安定であるのに対し、プロリンで収率が低かったのは、生成物が分子内求核反応により 1 リン酸塩誘導体になる副反応が起こるためと考えられた。</p> <p>次に得られたプロリンまたはサルコシンの生成物の単離精製について、陰イオンカラムクロマトグラフィー、Wakosil®40C18 を充填した逆相カラムクロマトグラフィーおよび有機溶媒を添加する方法を検討した。その結果、逆相カラムクロマトグラフィーによる単離が最も良かったが、生成物の分解が見られた。</p> <p>さらに、分子内に NH 基と NH₂ 基の両方を有するアミノ酸である L-テアニンについて P_{3m} との反応を検討した。L-テアニンも P_{3m} によって容易にリン酸化されたが、各種 NMR 測定の結果から L-テアニンの NH₂ 基が反応していることがわかった。生成物の構造は、L-テアニンの 1 リン酸塩誘導体であった。従って、P_{3m} による反応性は、NH₂ 基の方が NH 基より高いことがわかった。また反応の最適条件は、L-テアニン: P_{3m} = 2.0 mol/L : 0.5 mol/L, pH 11, 10°C で収率 90% であった。次に L-テアニンのリン酸化生成物の単離を検討した。陰イオン交換樹脂を充填したカラムクロマトグラフィーによる単離を行ったところ、生成物が中性付近の pH では不安定であるため、高純度では得られなかった。そこで、最適反応条件で反応を行った溶液に 2-プロパノールを加え、リン酸化生成物を分離した。分離後の溶液をエバポレーターで濃縮し、凍結乾燥、真空乾燥を行って白色の固体を純度 80% で得た。単離した生成物の同定は、³¹P、¹H NMR および ESI-MS で行った。</p> <p>以上のような結果より、P_{3m} によるリン酸化反応ではイミノ基も反応し、新しい N-P 結合を持った化合物が生成することがわかった。N-P 結合を有する化合物は、難燃性を持つことが知られている。アミノ酸にリン酸基を導入した難燃剤は、生体への安全性が期待できるため、繊維やプラスチックの難燃化への応用が期待される。</p> | | | | | |

〈研究論文〉

| 著 者 名 | 論 文 標 題 | | | |
|--|---|------|-------|--|
| Hideko Maeda, Hitomi Kanazawa, Mae Komatsu, Hiroyuki Nariai, Hirokazu Nakayama | Phosphorylation of theanine with cyclo-triphosphate in aqueous solution | | | |
| 雑 誌 名 | 卷 | 発行年 | ページ | |
| Phosphorus Research Bulletin | 30 | 2015 | 15-18 | |

〈学会発表〉

| 発 表 者 | 学 会 名 | | |
|---------------------------------------|-----------------|-------|------|
| 前田 秀子、金澤ひとみ、小松 万恵、成相 裕之、中山 尋量 | 第 24 回無機リン化学討論会 | | |
| タ イ ト ル | | 開催日 | 開催場所 |
| シクロ三リン酸塩による機能性アミノ酸のリン酸化および反応生成物単離法の検討 | | 9月25日 | 高知 |

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・職 製剤学研究室・教授
研究代表者氏名 北河修治

平成26年6月23日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成27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 | | Cocrystal 形成による医薬品の物性および安定性の改善 | | | |
|---|------|--------------------------------|---------|-----|----------|
| 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 | 研究企画・統括 |
| | 寺岡麗子 | 神戸薬科大学 | 薬学部 | 准教授 | 測定、データ解析 |
| | 湯谷玲子 | 神戸薬科大学 | 薬学部 | 助手 | 測定、データ解析 |
| | 都出千里 | 神戸薬科大学 | 薬学部 | 講師 | 測定、データ解析 |
| | 長瀬弘昌 | 星薬科大学 | 薬学部 | 准教授 | 測定、データ解析 |
| 共同研究の成果 | | | | | |
| <p>【目的】ニューキノロン系抗菌薬はよく用いられているが、光に対する安定性が低く、光照射下で着色変化を起こすことが知られている。前年度の検討でインドメタシンやフロセミドの光安定性が cocrystal 化によって改善されることが明らかになった。そこで、この方法がニューキノロン系抗菌薬にも適用が可能なのか明らかにするために、レボフロキサシンの種々の cocrystal を調製し、その光安定性を原薬と比較した。また、レボフロキサシン cocrystal の結晶構造を明らかにするために、単結晶構造解析を行った。</p> <p>【方法】① Cocrystal の調製 インドメタシンの光安定化に有用であったサッカリンを coformer として用いて、Slurry 法により cocrystal を調製した。cocrystal の生成は粉末 X 線回折測定 (PXRD) と示差走査熱量測定 (DSC) で行った。</p> <p>②調製した結晶の光安定性 調製した試料を錠剤に成形し、D65 ランプ下で光安定性試験を行い、経時的に着色過程を追跡した。また、cocrystal の UV スペクトルと光源の分光放射エネルギー分布の比較から、光安定性を予測した。</p> <p>③測定可能な結晶については結晶構造解析を行った。</p> <p>【結果】レボフロキサシンの無水物、1/2 水和物、1 水和物の単結晶構造解析から、無水物の α-form の水和結晶が 1 水和物の結晶構造と一致し、1 水和物の脱水、再水和が可逆的な結晶間転移を起こすことが明らかとなった。1/2 水和物の脱水、再水和については 1 水和物とは異なる結晶間転移を示した。</p> <p>この 1/2 水和物を用いて slurry 法によりサッカリンとの cocrystal を調製した結果、物理的混合物と異なる PXRD プロファイルを示し、融点もレボフロキサシンとサッカリンとは異なっていたことから、cocrystal が生成することが明らかとなった。この cocrystal の固体 UV-Vis スペクトルは、物理的混合物と比較して、吸収波長範囲が低波長側にシフトした。336 時間光照射後の色差は物理的混合物、cocrystal それぞれで 20.4 と 8.9 となり、cocrystal において、物理化学的混合物より有意に光安定性が改善した。固体 UV-Vis スペクトル測定の結果、物理的混合物に比べて、cocrystal は吸収波長領域が低波長側にシフトした。</p> <p>【考察】D65 ランプの分光放射エネルギー分布は、可視部領域の放射割合が大きいことから、cocrystal の UV-Vis 吸収スペクトルが紫外部領域側にシフトすると、光安定性が改善されると考えられる。インドメタシン、フロセミド及びレボフロキサシンにおいて、cocrystal 化によって光安定性が改善されたので、cocrystal 化は光安定化に有用な方法であると考えられる。今後、cocrystal の単結晶構造解析を行い、結晶構造が固体 UV スペクトルのシフトに及ぼす影響を検討する予定である。</p> | | | | | |

〈学会発表〉

| 発表者 | 学会名 | | |
|---|--------------------|-------------|------|
| 斎藤菜穂子、長瀬 弘昌、 古石 誉之、遠藤 朋宏、 上田 晴久、寺岡 麗子、 湯谷 玲子、都出 千里、 北河 修治 | 第 20 回創剤フォーラム若手研究会 | | |
| タイトル | | 開催日 | 開催場所 |
| レボフロキサシン 1/2 水和物の脱水、再水和による結晶多形の構造解析 | | 2014年11月29日 | 八王子市 |

| 発表者 | 学会名 | | |
|---|--------------------|-------------|------|
| 笹子 翔太、長瀬 弘昌、 古石 誉之、遠藤 朋宏、 上田 晴久、寺岡 麗子、 湯谷 玲子、都出 千里、 北河 修治 | 第 20 回創剤フォーラム若手研究会 | | |
| タイトル | | 開催日 | 開催場所 |
| レボフロキサシン 1 水和物、無水物および再水和物の結晶構造解析 | | 2014年11月29日 | 八王子市 |

| 発表者 | 学会名 | | |
|---|--------------------|-------------|------|
| 迫田 涼子、長瀬 弘昌、 古石 誉之、遠藤 朋宏、 上田 晴久、寺岡 麗子、 湯谷 玲子、都出 千里、 北河 修治 | 第 20 回創剤フォーラム若手研究会 | | |
| タイトル | | 開催日 | 開催場所 |
| レボフロキサシン 1/2 水和物の脱水・吸湿における多形現象の解明 | | 2014年11月29日 | 八王子市 |

| 発表者 | 学会名 | | |
|---|---------------|------------|------|
| 馬淵 はな、長瀬 弘昌、 都出 千里、湯谷 玲子、 寺岡 麗子、北河 修治 | 日本薬学会第 135 年会 | | |
| タイトル | | 開催日 | 開催場所 |
| レボフロキサシン - サッカリン Cocrystal の光安定性 | | 2015年3月27日 | 神戸市 |

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・職 臨床薬学研究室・教授

研究代表者氏名 江本 憲昭

平成26年6月23日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成27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 | 医薬融合アプローチによるエンドセリン拮抗薬臨床適応の再構築 | | | | |
| 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 |
| | 池田 宏二 | 神戸薬科大学 | 薬学部 | 准教授 | 臨床サンプルの解析 |
| | 八木 敬子 | 神戸薬科大学 | 薬学部 | 講師 | 疾患モデル動物解析 |
| | 中山 和彦 | 神戸薬科大学 | 薬学部 | 研究生 | 循環器疾患の診療統括 |
| | 平田 健一 | 神戸大学大学院 | 医学研究科 | 教授 | 臨床データの解析 |
| 共同研究の成果 | | | | | |
| <p>本共同研究は循環器領域の治療標的である心・血管・腎疾患への病態理解を深め、今後の新規治療法開発への有益な知見を集積し、新たな治療概念を構築することを目的とするものである。今回、血管作動物質であるエンドセリンが関与すると考えられる循環器疾患、特に難病である肺高血圧症に対する病態解明ならびに治療法介入に関して、基礎的アプローチと臨床的アプローチの両面から研究を遂行した。</p> <p>基礎的アプローチとしては、エンドセリン系の各種遺伝子改変マウスなどを用いて病態モデルの作成・表現型の解析を行った。その結果、新たな遺伝子導入法の開発 (Muliawan et al., Kobe J. Med. Sci., 2015)、新規重症肺高血圧モデルマウスの確立 (Satwiko et al., Biochem Biophys Res Commun.2015) に成功した。これらの成果を基盤として、今後は肺高血圧症における病態解明や新たな治療法の確立を目指すとともに、エンドセリンが関与する新たな治療標的、疾患の探索を進める。</p> <p>臨床的アプローチとして当該年度は、肺高血圧症患者およびその他各種疾患患者から得られた臨床データをデータベース化し、治療反応群と難治群といった臨床的パラメーターを蓄積・解析してきた。その成果の一部として、慢性血栓塞栓性肺高血圧症に対する侵襲的治療法と薬物治療法の有効性評価 (Taniguchi et al., EuroIntervention. 2014)、肺高血圧症の治療反応性に基づく予後規定因子の探索 (Motoji et al., Int. J. Cardiovasc. Imaging. 2014) を行い、その成果を論文発表した。臨床的研究は現在も進行中であり、患者の血清より抽出したDNAを次世代シーケンサーやDMET解析により特に難治群の遺伝的背景を明らかにしたい。また質量分析を用いアミノ酸代謝物を網羅的に解析する手法と基礎実験より得られた有力病態因子を特異的にELISAで解析し、新規バイオマーカーの発見を目指す。</p> <p>以上のように、本共同研究では、動物モデルで肺高血圧症などの循環器疾患の病態解明を目指す基礎的アプローチと実際の患者から得られた臨床データ解析という臨床的アプローチとを融合させることにより、一方のみでは達成し得ない成果を得ることが可能となった。今後も引き続き、基礎・臨床の成果を定期的なデータ報告会およびディスカッションによって統合し、研究の推進したい。</p> | | | | | |

〈研究論文〉

| 著者名 | 論文標題 | | | |
|--|--|------|---------|--|
| Taniguchi Y, Miyagawa K, Nakayama K, Kinutani H, Shinke T, Okada K, Okita Y, Hirata KI, Emoto N. | Balloon pulmonary angioplasty: an additional treatment option to improve the prognosis of patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension. | | | |
| 雑誌名 | 巻 | 発行年 | ページ | |
| EuroIntervention. | 10 | 2014 | 518-525 | |

| 著者名 | 論文標題 | | | |
|--|--|------|---------|--|
| Motoji Y, Tanaka H, Fukuda Y, Sano H, Ryo K, Imanishi J, Miyoshi T, Sawa T, Mochizuki Y, Matsumoto K, Emoto N, Hirata K. | Interdependence of right ventricular systolic function and left ventricular filling and its association with outcome for patients with pulmonary hypertension. | | | |
| 雑誌名 | 巻 | 発行年 | ページ | |
| Int J Cardiovasc Imaging. | 31 | 2014 | 691-698 | |

| 著者名 | 論文標題 | | | |
|--|---|------|---------|--|
| Satwiko MG, Ikeda K, Nakayama K, Yagi K, Hocher B, Hirata KI, Emoto N. | Targeted activation of endothelin-1 exacerbates hypoxia-induced pulmonary hypertension. | | | |
| 雑誌名 | 巻 | 発行年 | ページ | |
| Biochem Biophys Res Commun. | 465 | 2015 | 356-362 | |

| 著者名 | 論文標題 | | | |
|---|--|------|---------|--|
| Muliawan HS, Nakayama K, Yagi K, Ikeda K, Yagita K, Hirata KI, Emoto N. | Stable somatic gene expression in mouse lungs following electroporation-mediated Tol2 transposon delivery. | | | |
| 雑誌名 | 巻 | 発行年 | ページ | |
| Kobe J. Med. Sci. | 61 | 2015 | E47-E53 | |

〈学会発表〉

| 発表者 | 学会名 | | |
|---|---|----------------------|--|
| Muliawan HS, Hirata KI, Nakayama K, Ikeda K, Yagi K, Emoto N. | 14 th International Conference on Endothelin: Physiology, Pathophysiology and Therapeutics | | |
| タイトル | 開催日 | 開催場所 | |
| Knockout of endothelin-1 in vascular endothelial cells ameliorates cardiac mitochondria dysfunction after myocardial infarction in diabetes type2 mice. | 2015年9月 2日-5日 | Savannah, GA, USA | |

| 発 表 者 | 学 会 名 | | |
|---|---|--------------------|----------------------|
| Satwiko MG, Nakayama K, Muliawan HS, Suzuki Y, Yagi K, Ikeda K, Hirata KI, Emoto N. | 14 th International Conference on Endothelin: Physiology, Pathophysiology and Therapeutics | | |
| タ イ ト ル | | 開催日 | 開催場所 |
| Chronic hypoxia in endothelin-1 transgenic mice generates moderate pulmonary hypertension, not severe pulmonary hypertension and its plexyform lesions. | | 2015年9月 2日 - 5日 | Savannah, GA, USA |

| 発 表 者 | 学 会 名 | | |
|--|---|--------------------|----------------------|
| Nakayama K, Kinutani H, Shinkura Y, Tamada N, Suzuki Y, Emoto N, Hirata KI. | 14 th International Conference on Endothelin: Physiology, Pathophysiology and Therapeutics | | |
| タ イ ト ル | | 開催日 | 開催場所 |
| The evaluation of endothelin receptor antagonists for pulmonary hypertension with lung disease | | 2015年9月 2日 - 5日 | Savannah, GA, USA |

| 発 表 者 | 学 会 名 | | |
|--|---|--------------------|----------------------|
| Suzuki Y, Nakayama K, Muliawan HS, Satwiko MG, Hamamoto Y, Yagi K, Ikeda K, Emoto N. | 14 th International Conference on Endothelin: Physiology, Pathophysiology and Therapeutics | | |
| タ イ ト ル | | 開催日 | 開催場所 |
| The importance of cell cycle stretch in counter regulating chronic thromboembolic pulmonary hypertension by suppressing ERK1/2 signaling | | 2015年9月 2日 - 5日 | Savannah, GA, USA |

