

共同研究 研究紀要

2021
(2020年度共同研究)

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。

2020 年度共同研究（研究期間 2020.4.1 ～ 2021.3.31）

承認番号	共同研究課題名（研究テーマ）	研究代表者
1	薬物動態解析に基づく新規薬物送達キャリアの開発	製剤学研究室 教 授 坂根 稔康
2	革新的 DDS 技術による難治性がんの克服を目指した基礎的検討	薬剤学研究室 教 授 大河原賢一
3	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
4	脂質過酸化を標的とする分子プローブ・治療薬の開発	薬品物理化学研究室 教 授 向 高弘
5	輸送工学を用いた有用アルカロイド大量生産系の構築	医薬細胞生物学研究室 教 授 土反 伸和
6	細胞内シグナル伝達にかかわる活性種の高感度イメージングプローブの開発	薬化学研究室 教 授 奥田 健介
7	アミロイド病を標的とした構造特異抗体の開発と生体イメージングへの展開	生命分析化学研究室 教 授 小林 典裕
8	シクロデキストリンを用いる美白成分の複合体形成とそれらのチロシナーゼ阻害活性評価	機能性分子化学研究室 教 授 中山 尋量
9	消化管化学物質受容機構を介した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
10	カロテノイド酸化代謝物の合成と生理作用に関する研究	生命有機化学研究室 准教授 山野由美子
11	妊娠に伴う神経系の可塑的变化	衛生化学研究室 教 授 長谷川 潤
12	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
13	脳機能保護および修復に関する薬理学的研究	薬理学研究室 教 授 小山 豊
14	老化疾患の病態形成機構の解明と制御	医療薬学研究室 教 授 力武 良行
15	機器を用いた生理活性物質の分析・解析と臨床への応用	中央分析室 准教授 竹内 敦子

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 宮 田 興 子 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

2020 年 6 月 29 日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2021 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		薬物動態解析に基づく新規薬物送達キャリアの開発				
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	
	坂 根 稔 康	神 戸 薬 科 大 学	薬 学 部	教 授	研究の総括・データ解析	
	古 林 呂 之	神 戸 薬 科 大 学	薬 学 部	准教授	動物実験	
	田 中 晶 子	神 戸 薬 科 大 学	薬 学 部	助 教	キャリアの合成	
	山 本 昌	京 都 薬 科 大 学	薬 学 部	教 授	キャリアの最適化	
	勝 見 英 正	京 都 薬 科 大 学	薬 学 部	准教授	キャリアの物性評価	
共同研究の成果						
これまでの研究を通じて、アスパラギン酸（Asp）及びポリエチレングリコール（PEG）で化学修飾したポリアミドアミン（PAMAM）デンドリマー誘導体（PEG-Asp-PAMAM）は、骨組織に集積する薬物運搬体として有用であることを明らかにした。本研究では、PEG-Asp-PAMAM を用いて、薬物の骨組織標的化を図ることにより、癌の骨組織転移に対する効率的な治療法を開発することを目的として、PEG-Asp-PAMAM を利用した高分子ミセル製剤を開発した。本高分子ミセル製剤を利用して、抗がん剤・タモキシフェンの骨組織への集積性の向上を試みるとともに、癌の骨組織転移に対する治療効果について検討した。 PEG-Asp-PAMAM にコレステロールを化学的に結合させ、自己集合させることで、高分子ミセル製剤（PEG-Asp-PAMAM ミセル）を調製した。放射性同元素のインジウム 111（¹¹¹In）により、PEG-Asp-PAMAM ミセルをラベルし、放射活性を指標に体内動態を評価した。薬理効果として、癌骨転移モデルマウスを作成し、タモキシフェンを封入した PEG-Asp-PAMAM ミセルを投与し、その後の下肢骨中における癌細胞の増殖の程度を評価した。 [¹¹¹In] 標識 PEG-Asp-PAMAM 及び [¹¹¹In] 標識 PEG-Asp-PAMAM ミセルをマウスの静脈内に投与すると、両者は骨組織へ効率よく移行することが明らかとなった。特に、癌骨組織転移の病巣部位である関節部に効率的に集積した。さらに、癌の骨組織転移モデルマウスに対して、タモキシフェンを封入した PEG-Asp-PAMAM ミセルを投与することにより、下肢骨における癌細胞の増殖が顕著に抑制されることが認められた。 以上の結果より、PEG-Asp-PAMAM ミセルは癌の骨組織転移をはじめとする骨疾患治療において、骨組織に集積する有望な薬物運搬体であることが示された。						

〈学会発表〉

発 表 者	学 会 名		
吉岡 綾音、勝見 英正、 福井美奈子、高木 千聖、 山下 修吾、湯谷 玲子、 田中 晶子、古林 呂之、 木村 寛之、森下 将輝、 坂根 稔康、山本 昌	第 70 回日本薬学会関西支部総会・大会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
アスパラギン酸修飾ナノキャリアを用いた抗癌剤の骨標的化による骨転移抑制		2020年10月10日	立命館大学 (web 開催)

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 宮 田 興 子 様

研究代表者所属 薬剤学研究室
研究代表者職・氏名 教授・大河原 賢一

2020 年 6 月 29 日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2021 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		革新的 DDS 技術による難治性がんの克服を目指した基礎的検討			
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
	大河原 賢一	神戸薬科大学	薬 学 部	教 授	研究全般およびサイトカインレベル・遺伝子発現変動の定量的な評価
	檜 垣 和 孝	岡山大学	薬 学 部	教 授	ナノ粒子の腫瘍組織内動態の精緻な解析
共同研究の成果					
光線力学療法（photodynamic therapy, PDT）の中でも、血管を標的とした PDT は血管に対して様々な作用を引き起こすことが報告されている。血管を標的とした PDT は、がん細胞を標的とした通常の PDT と比較して、光増感剤投与から光照射までのインターバルを短くすることで、主に腫瘍組織の血管内で光増感剤の活性化を図るものである。 難治性と言われる一部のがんでは、一般的ながん組織に認められる組織学的な特徴が認められず、血管透過性が低い。ナノ粒子製剤化した抗がん剤を投与しても、十分な治療効果に繋がらないことが報告されている。このような背景のもと、当研究室では、腫瘍組織内の血管透過性が低いマウスメラノーマ（B16/BL6）モデルマウスに対し、低用量の光増感剤投与と光照射からなる腫瘍内血管を標的とした光線力学処置（Photo-triggered Vascular Treatment, PVT）を施すことで、腫瘍内血管の透過性亢進に基づき、その後投与するナノ粒子製剤の腫瘍組織移行量の増大並びに抗腫瘍効果の増強を引き起こすことを明らかにし、PVT が難治性がんへのナノ粒子製剤を用いたがん治療を行う上で有用な前処置となる可能性を報告している。しかし一方で、腫瘍組織内の血管透過性が高いマウス結腸がん（Colon-26）モデルマウス及びマウス肺がん（LLC）モデルマウスに対して PVT を施すと、血管透過性亢進作用は認められないものの、PVT 単独の処置により腫瘍の増殖を強く抑制することを明らかにした。 そこで我々は、このような背景に基づき、PVT 単独処置により腫瘍の増殖が抑制されたのは、腫瘍組織内の血管透過性が高いことに起因するのではないかと仮説を立てた。そこで本研究では、PVT により、血管透過性の高い広範ながん種において、腫瘍増殖の抑制が可能であるかを更に追求するため、皮下移植モデルマウスの腫瘍内血管透過性が高いことで知られる、マウス乳がん由来がん細胞（FM3A）及びマウス腹水がん細胞（Ehrlich）の 2 種を選択し、種々の検討を行った。まず、FM3A モデルマウス並びに Ehrlich モデルマウスに対して PVT を施したところ、FM3A モデルマウスにおいては、PVT 単独の処置により強い抗腫瘍効果が認められたものの、Ehrlich モデルマウスにおいては、PVT 単独の処置による抗腫瘍効果は認められなかった。また FM3A モデルマウスでは、血管内皮細胞のアポトーシス及び血栓の形成が誘導され、腫瘍内の血流を伴った血管が減少することで、血管周辺に存在していたがん細胞のアポトーシスを引き起こすこととなり、腫瘍増殖の抑制に至ったことが示された一方で、Ehrlich モデルマウスでは、FM3A モデルマウスで認められた血管内皮細胞のアポトーシス、血栓の形成、並びに腫瘍内の血流を伴う血管の割合の減少は認められなかった。以上の結果から、PVT はそれ単独で腫瘍の増殖を抑制する作用を示す、有用な処置となり得るものの、その効果は腫瘍内血管の構造特性により異なることが示唆された。					

〈研究論文〉

著 者 名	論 文 標 題			
S. Okawa, Y. Sumimoto, K. Masuda, K. Ogawara, M. Maruyama, K. Higaki	Improvement of lipid solubility and oral bioavailability of a poorly water- and poorly lipid-soluble drug, rebamipide, by utilizing its counter ion and SNEDDS preparation			
雑 誌 名	巻	発行年	ページ	
Eur. J. Pharm. Sci.	159	2021	105721	

〈学会発表〉

発 表 者	学 会 名		
松井はづき、高杉 裕太、 大河原賢一、丸山 正人、 檜垣 和孝	第 35 回日本薬剤学会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
パクリタキセル内封リポソーム製剤の転移性乳がんモデルマウスにおける抗 腫瘍効果に及ぼす血管正常化の影響		2020 年 5 月 14 日～ 16 日	熊本

発 表 者	学 会 名		
山之内慶太、石丸 智基、 大河原賢一、丸山 正人、 檜垣 和孝	第 35 回日本薬剤学会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Self-nanoemulsifying Drug Delivery System による難水溶性薬物 Clofazimine の経口吸収挙動改善とその機構解析に関する研究		2020 年 5 月 14 日～ 16 日	熊本

発 表 者	学 会 名		
家中 悠輔、東條 遥佳、 兵頭 健治、石原比呂之、 菊池 寛、大河原賢一、 丸山 正人、檜垣 和孝	第 35 回日本薬剤学会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
ドキシソルピシン内封リポソーム製剤の悪性黒色腫固形がん治療に及ぼす薬物 放出特性の影響		2020 年 5 月 14 日～ 16 日	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 宮 田 興 子 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

2020年6月29日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2021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		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
	谷 口 悠	神 戸 大 学 大 学 院 (現 神戸大学医学部附属病院所属)	医 学 研 究 科	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					
本研究の目的は肺高血圧症発症の新たな分子機序を解明し、最適な治療法を選択するためのエビデンスの集積に資する臨床的および基礎的データを蓄積することである。 肺高血圧症は原因不明の進行性・難治性疾患であり、適切な治療がなされなければ右心不全を来し死に至る予後不良の疾患である。そのため、病態の解明、新規診断マーカーの開発、治療や患者マネジメントの最適化が重要であり、その確立が急務とされている。このような背景のもと、肺高血圧症患者における臨床データあるいは臨床検体などを用い解析することで先に述べた臨床課題を解決する必要がある。そこで、本共同研究では、肺高血圧症症例について、血液・生理検査データや血行動態データの蓄積、統計解析を行うことで診断あるいは治療指標の同定を試みた。 慢性血栓塞栓性肺高血圧症は近年、治療法が進歩し、疾患の認知の高まりとも相まって症例数が増加している。特にバルーンカテーテルを用いた肺動脈形成術は患者の生命予後を劇的に改善してきた。私たちは、慢性血栓塞栓性肺高血圧症におけるデュアルエネルギーCTを用いた治療効果の評価法を確立した(Pulm Circ. 2021)。また、2018年の肺高血圧ワールドシンポジウムで提案された新たな診断基準に対し、非侵襲的に心臓超音波検査で評価する方法を確立した(Circ. Rep. 2020)。さらに基礎研究的なアプローチとして、アクチビンAが肺高血圧症の病態形成に重要な役割を果たすことを見出しこれを発表した。(Nat. Commun. 2021)。これら3つの論文により、肺高血圧症の病態メカニズムから臨床的診断・治療における新たな知見まで成果を得ることができた。 同時に、慢性血栓塞栓性肺高血圧症に対するカテーテル治療の効果の臨床的比較・検討、カテーテル治療後の呼吸機能の改善などについて日本循環器学会で発表を重ねてきた。これらの学会発表については論文として発表するべく、現在論文作成中である。 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3報の論文発表及び3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。					

〈研究論文〉

著 者 名	論 文 標 題			
Ryanto GRT, Ikeda K, Miyagawa K, Tu L, Guignabert C, Humbert M, Fujiyama T, Yanagisawa M, Hirata KI, Emoto N.	An endothelial activin A-bone morphogenetic protein receptor type 2 link is overdriven in pulmonary hypertension			
雑 誌 名	卷	発行年	ページ	
Nat. Commun.	12	2021	1720	

著 者 名	論 文 標 題			
Onishi H, Taniguchi Y, Matsuoka Y, Yanaka K, Izawa Y, Tsuboi Y, Mori S, Kono A, Nakayama K, Emoto N, Hirata KI.	Evaluation of microvasculopathy using dual-energy computed tomography in patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension			
雑 誌 名	卷	発行年	ページ	
Pulm Circ.	11	2021	2045894020983162	

著 者 名	論 文 標 題			
Sumimoto K, Tanaka H, Mukai J, Yamashita K, Tanaka Y, Shono A, Suzuki M, Yokota S, Matsumoto K, Taniguchi Y, Emoto N, Hirata KI.	Optimal Cut-Off of Tricuspid Regurgitation Velocity According to the New Definition of Pulmonary Hypertension - Its Use in Predicting Pulmonary Hypertension -			
雑 誌 名	卷	発行年	ページ	
Circ Rep.	2	2020	625-629	

〈学会発表〉

発 表 者	学 会 名		
松岡庸一郎、谷口 悠、柿崎 俊介、中村 公一、藤本 大地、福山 裕介、高橋 悠、谷村 幸亮、中野 慎介、杉崎陽一郎、竹重 遼、大西 裕之、長澤 智、鳥羽 敬義、川森 裕之、大竹 寛雅、江本 憲昭、平田 健一	第 84 回日本循環器学会学術集会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
The Assessment of Lung Function and Residual Hypoxemia after Balloon Pulmonary Angioplasty for Patients with Chronic Thromboembolic Hypertension.		2020/7/27-8/2	オンライン

発 表 者	学 会 名		
大西 裕之、谷口 悠、 住本 恵子、松岡庸一郎、 伊澤 有、坪井 康典、 鳥羽 敬義、大竹 寛雅、 小林 成美、江本 憲昭、 平田 健一	第 84 回日本循環器学会学術集会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Assessment of Microvasculopathy in Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension after Interventional Treatment.		2020/7/27- 8/2	オンライン

発 表 者	学 会 名		
Taniguchi Y., Matsuoka Y., Onishi H., Emoto N., Nakai H., Okada K., Hirata K.	第 84 回日本循環器学会学術集会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
The Role of Balloon Pulmonary Angioplasty in Patients with Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension, Current and Future Direction.		2020/7/27- 8/2	オンライン

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 宮 田 興 子 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

2020 年 6 月 29 日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2021 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		脂質過酸化を標的とする分子プローブ・治療薬の開発			
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
	向 高 弘	神 戸 薬 科 大 学	薬 学 部	教 授	研究総括、プローブ評価
	佐 野 紘 平	神 戸 薬 科 大 学	薬 学 部	准教授	プローブ評価
	山 崎 俊 栄	神 戸 薬 科 大 学	薬 学 部	助 教	プローブ・治療薬合成
	山 田 健 一	九 州 大 学	薬 学 研 究 院	教 授	治療薬評価
共同研究の成果					
脂質過酸化は脂質炭素ラジカル（以下、脂質ラジカル）の生成を起点とする酸化反応であり、連鎖的反応によって周囲へと伝播し、脂質過酸化物の蓄積が生じる。結果、細胞死が起これ、がんや神経変性疾患、老化などの病態が発現することから、脂質過酸化の検出はこれらの病態の診断および発症・進展機構の解明に有益な情報をもたらすと考えられる。また、脂質過酸化は、酸化の関与する疾患と密接に関連していると考えられており、その分析手法の構築や脂質過酸化を抑制する薬剤の開発が期待されている。そこで本研究では、「脂質過酸化を標的とする分子プローブ・治療薬の開発」を目的とし、まず、脂質ラジカルに対して高い反応性を示すニトロキシドに放射性ヨウ素を標識した化合物の開発を進めた。前年度までに開発した化合物は、生体内還元物質であるアスコルビン酸によって迅速に還元されやすく、生体適用時にラジカル捕捉能の消失が示唆されたことから、2020 年度はラジカル捕捉能の消失を抑えた化合物開発を行った。具体的には、ラジカル近傍にペンチル基を導入した誘導体を合成した。本誘導体のアスコルビン酸との反応性は約 1/20 に低下し、脂質ラジカルに対する高い反応選択性を示した。また、培養細胞実験において、脂質ラジカル産生刺激を与えた場合に、産生刺激のない場合に比べて高い細胞滞留性が見られた。そこで、in vivo での検証を進めるため、健常マウスでの分布を放射性ヨウ素標識体を用いて確認したところ、肝臓や小腸、脾臓、肺、腎臓などに分布し、24 時間後にはほとんどの臓器から消失した。つぎに、脂質ラジカル産生モデルである急性肝障害モデルマウスにて検討した。本モデルでは、肝臓や腎臓、肺、脾臓などの臓器で脂質過酸化が亢進することが知られている。今回の検討で、これらの臓器への高い放射能集積を認めたが、これは標識体が脂質過酸化の起点となる脂質ラジカルを捕捉することで滞留した結果ではないかと考えられた。これらの結果より、開発化合物は生体内で産生する脂質ラジカルの検出プローブとして機能する可能性が示された。以上の成果は、Free Radic Biol Med 誌にて報告した。 さらに、脂質過酸化を抑制し得る治療用候補化合物の探索も進めてきた。前年度までに合成した化合物の脂質過酸化抑制効果について培養細胞を用いて検討を進めた。また、本化合物の生体内分布を明らかにするべく、放射性ヨウ素の標識前駆体化合物を合成した。これらの検討から、構造活性相関を明らかにし、脂質過酸化を抑制する有用な候補化合物の創出につながることが期待される。					

〈研究論文〉

著 者 名	論 文 標 題			
Risa Azuma, Toshihide Yamasaki, Kohei Sano, Masayuki Munekane, Yuta Matsuoka, Ken-ichi Yamada, Takahiro Mukai	A Radioiodinated Nitroxide Probe with Improved Stability against Bioreduction for In Vivo Detection of Lipid Radicals.			
雑 誌 名	巻	発行年	ページ	
Free Radical Biology & Medicine	163	2021	297-305	

〈学会発表〉

発 表 者	学 会 名		
東 里沙、山崎 俊栄、 佐野 紘平、宗兼 将之、 松岡 悠太、山田 健一、 向 高弘	第 70 回日本薬学会関西支部大会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
生体内脂質ラジカルを非侵襲検出する放射性プローブの合成及び脂質過酸化誘発モデルマウスでの評価		2020/10/10	オンライン

発 表 者	学 会 名		
東 里沙、山崎 俊栄、 佐野 紘平、宗兼 将之、 松岡 悠太、山田 健一、 向 高弘	電子スピンスサイエンス学会 2020		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
脂質ラジカルの核医学イメージングを目的とした新規放射性プローブの開発		2020/11/14	オンライン

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 宮 田 興 子 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

2020 年 6 月 29 日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2021 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		輸送工学を用いた有用アルカロイド大量生産系の構築			
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
	士 反 伸 和	神 戸 薬 科 大 学	薬 学 部	教 授	統括、遺伝子解析
	南 博 道	石 川 県 立 大 学	生物資源工学研究所	准教授	アルカロイド生産菌の作出と提供
	山 田 泰 之	神 戸 薬 科 大 学	薬 学 部	助 教	輸送体発現菌の作出と解析
共同研究の成果					
植物が生産する特化代謝産物は多様な化学構造や生理活性を有し、医薬品原料などに用いられる。しかし近年、基原となる植物の減少や、植物中の含量の少なさなどから、植物由来の薬用資源の確保は急務の課題となっている。それら有用化合物の大量生産の一つの手法として、大腸菌など微生物に生合成酵素遺伝子を組み込み生産させる「代謝工学（合成生物学）」が発展してきた。共同研究者である石川県立大学 南准教授はアルカロイドの大腸菌生産において世界最先端の研究をしており、様々な有用化合物の生産に成功している。しかしながら、微生物において細胞内に代謝物が蓄積する場合があることや、培地への放出促進により生産性の向上が期待されることもあり、代謝工学に輸送工学を組み合わせた研究領域の開拓を本研究では目指した。本研究では、レチクリンを生産する大腸菌にアルカロイド輸送体 AtDTX1 を発現させ、生産効率を高めることを試みている。これまでに輸送体の発現により細胞内での生産や培地への放出が促進されることを確認していたが、本年度はそのメカニズム解明を目指してトランスクリプトーム解析などを進めた。その結果、AtDTX1 の発現により 1300 以上の遺伝子がコントロール株よりも 2 倍以上の変動を示していることを確認した。生合成系における発現変化を調べたところ、レチクリン生合成に関わるペントースリン酸経路やメチオニン生合成経路などに関わる酵素遺伝子の発現が有意に上昇していた。すなわち、AtDTX1 を介した培地への放出により、細胞内でのレチクリン濃度が減少し、その結果、生合成に関わる酵素遺伝子の発現が向上することで、最終的に細胞での生産および培地への放出が全体として向上したと推定された。これらの解析結果は bioRxiv (https://doi.org/10.1101/2021.02.01.429260) に報告するとともに、学術論文雑誌に投稿した。これら成果から、輸送工学を用いたより効率的な物質生産系の可能性が示されたと考えている。今後、さらに本技術が発展するよう研究を進めていきたいと考えている。					

〈研究論文〉

著 者 名	論 文 標 題			
Yasuyuki Yamada, Miya Urui, Hidehiro Oki, Kai Inoue, Haruyuki Matsui, Yoshito Ikeda, Akira Nakagawa, Fumihiko Sato, Hiromichi Minami & Nobukazu Shitan	Transport engineering for improving production and secretion of valuable alkaloids in <i>Escherichia coli</i>			
雑 誌 名	巻	発行年	ページ	
bioRxiv (プレプリント論文)		2021		

〈学会発表〉

発 表 者	学 会 名		
潤井 みや、山田 泰之、南 博道、佐藤 文彦、土反 伸和	第 70 回日本薬学会関西支部大会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
アルカロイド生産性ピキア酵母を用いた培地によるアルカロイド生産性の検討		2020 年 10 月 10 日	オンライン @ 立命館大学

発 表 者	学 会 名		
山田 泰之、潤井 みや、大木 秀浩、井上 開、佐藤 文彦、南 博道、土反 伸和	日本農芸化学会 2021 年度仙台大会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
輸送工学を利用した大腸菌における効率的なアルカロイド生産		2021 年 3 月 18 日 ～ 21 日	オンライン 開催

発 表 者	学 会 名		
潤井 みや、山田 泰之、池田 義人、南 博道、佐藤 文彦、土反 伸和	日本薬学会第 141 回年会（広島）		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
ピキア酵母用培地によるアルカロイド生産性ピキア酵母および大腸菌のアルカロイド生産性の検討		2021 年 3 月 26 日 ～ 29 日	オンライン 開催

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 宮 田 興 子 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

2020 年 6 月 29 日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2021 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		細胞内シグナル伝達にかかわる活性種の高感度イメージングプローブの開発			
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
	奥 田 健 介	神 戸 薬 科 大 学	薬 学 部	教 授	プローブの分子設計・合成、 <i>in vitro</i> 及び培養細胞系での性能評価
	原 宏 和	岐 阜 薬 科 大 学	薬 学 部	准教授	分子細胞生物学的手法による培養細胞を用いた性能評価
共同研究の成果					
生体内での微量元素の中でも亜鉛イオンや銅イオン等が細胞内でセカンドメッセンジャーとしてふるまいシグナル伝達物質として働くこと、活性硫黄種等のレドックス・シグナリングを介してもシグナル伝達系に関与すること、さらに亜鉛イオン、銅イオン共に糖尿病やアルツハイマー病、がんの進展など様々な病態に関わっていることが明らかとなっている。申請者らはこれら金属種と活性硫黄種とのクロストークに興味を持ち、活性硫黄種の一つである H₂S 検出蛍光プローブを活用してこれら金属の毒性発現に関して、H₂S が亜鉛の毒性を軽減することを 2019 年度までに見出して発表するなど、活性硫黄種と金属イオンとのかかわりの解明を行ってきた。 2020 年度においては、亜鉛の場合とは対照的に H₂S が銅の毒性を増悪させることを見出し、その仕組みを明らかにして発表したため、以下詳細を述べる。まず、銅による細胞毒性は H₂S 共存下に増強される一方で、銅キレート剤添加によりその細胞毒性は軽減した。次いで、銅による活性酸素の発生、ミトコンドリア機能障害、および ATP 産生量の減少が H₂S により顕著に促進された。さらに、銅単独で投与した場合に比べて H₂S を共存させた場合には金属応答転写因子が活性化されていた。また、銅単独で投与した場合に比べて H₂S を共存させた場合に細胞内の銅は多くなり、銅排出トランスポーターの発現は H₂S により抑制されていた一方、銅取り込みトランスポーターの発現には H₂S による影響が認められなかった。以上の結果より、H₂S による銅の毒性増悪は、銅排出トランスポーターのレベルが低下して銅の細胞内蓄積が促進されることに由来すると結論づけた。 その一方で、生体内の微量な亜鉛を高感度に検出することができるような、亜鉛を触媒回転させて発シグナル反応を引き起こす高感度蛍光イメージングプローブを開発し、<i>in vitro</i> 及び培養細胞系における検出法を確立することにも 2020 年度において成功した。このプローブは、セフェム骨格を基にして亜鉛選択的な配位子と消光された蛍光団を導入して設計・合成したものである。本プローブが亜鉛選択的に蛍光応答する仕組みとしては、プローブ分子と錯体を形成した亜鉛に配位する水分子が活性化されて β-ラクタムを加水分解し、この反応に伴い消光されていた蛍光団が放出されて蛍光を発する。続いて分解したプローブから亜鉛が放出されて未反応のプローブと反応し、同様な反応を繰り返すことにより蛍光シグナルが増幅される。所望のプローブ分子を合成後、まず本プローブが緩衝液中にて亜鉛選択的に応答して蛍光シグナルを発することを明らかにし、期待した通りに既存の亜鉛蛍光プローブよりも高感度に亜鉛を検出することを見出した。さらに、細胞膜透過性を付与した誘導体を設計・合成し、培養細胞系を用いて評価を行ったところ、今回開発した蛍光プローブは実際に既存の細胞膜透過性亜鉛蛍光プローブよりも細胞内の亜鉛を低濃度でも検出することが明らかとなった。こちらの亜鉛イオンイメージングに関しては、中枢での様々な病態モデル系での亜鉛イオンの動態を解明する強力なツールとして活用し、共同研究を発展させる。					

〈研究論文〉

著 者 名	論 文 標 題			
Norika Goto, Hirokazu Hara, Mao Kondo, Naomi Yasuda, Tetsuro Kamiya, Kensuke Okuda, and Tetsuo Adachi	Hydrogen sulfide increases copper-dependent neurotoxicity <i>via</i> intracellular copper accumulation			
雑 誌 名	卷	発行年	ページ	
<i>Metallomics</i>	12	2020	868–875	

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 宮 田 興 子 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

2020 年 6 月 29 日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2021 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		アミロイド病を標的とした構造特異抗体の開発と生体イメージングへの展開			
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	apoA-I 抗体の設計・作製
	大 山 浩 之	神 戸 薬 科 大 学	薬 学 部	准教授	apoA-I 抗体の評価
	森 田 い ず み	神 戸 薬 科 大 学	薬 学 部	講 師	抗 apoA-I 抗体の応用
	斎 藤 博 幸	京 都 薬 科 大 学	薬 学 部	教 授	apoA-I 体内動態および病態発現の解析
	扇 田 隆 司	京 都 薬 科 大 学	薬 学 部	助 教	apoA-I 抗体の物性評価
共同研究の成果					
HDL タンパク質である apoA-I の Iowa (G26R) 変異体は、断片化した 1-83 残基がアミロイド線維として組織に沈着し、アミロイドーシスを引き起こすことが知られている。先に我々は、Iowa 変異型 apoA-I アミロイド線維でマウスを免疫することで、apoA-I モノマーには反応せず、線維を特異的に認識する 4 種のモノクローナル抗体 (mAb) を開発した。そこで本年度は、これら新規 mAb の apoA-I 凝集構造の認識能およびパーキンソン病の原因タンパク質である α-シヌクレインのアミロイド線維に対する反応性について検討を行った。 Iowa 変異型 apoA-I の N 末 1-83 フラグメントと α-シヌクレインは大腸菌発現系にて作製した。タンパク質を 37℃ でインキュベーションすることによりアミロイド線維を作製し、mAb に対する反応性はドットプロットにより評価した。この凝集反応の産物を経時的にサンプリングして各 mAb との反応性を評価した結果、24 h までの産物 (非線維凝集体) に対しては反応性が低かったが、36 h 以降の産物 (成熟線維) に対しては高い反応性を示した。また、α-シヌクレイン線維については、4 種 mAb 間で反応性に違いはあるものの、認識することが示された。 以上の結果から、新規 mAb は apoA-I に特有のアミノ酸配列により構成される立体構造を認識するのではなく、アミロイド線維に共通の立体構造を認識していることが示唆された。					

〈研究論文〉

著 者 名	論 文 標 題			
H. Oyama, Y. Kiguchi, I. Morita, C. Yamamoto, Y. Higashi, M. Taguchi, T. Tagawa, Y. Enami, Y. Takamine, H. Hasegawa, A. Takeuchi, N. Kobayashi	Seeking high-priority mutations enabling successful antibody-breeding: systematic analysis of a mutant that gained over 100-fold enhanced affinity.			
雑 誌 名	巻	発行年	ページ	
<i>Sci. Rep.</i>	10	2020	4807	

著 者 名	論 文 標 題			
Y. Kiguchi, H. Oyama, I. Morita, M. Morikawa, A. Nakano, W. Fujihara, Y. Inoue, M. Sasaki, Y. Saijo, Y. Kanemoto, K. Murayama, Y. Baba, A. Takeuchi, N. Kobayashi	Clonal array profiling of scFv-displaying phages for high-throughput discovery of affinity-matured antibody mutants.			
	巻	発行年	ページ	
<i>Sci. Rep.</i>	10	2020	14103	

著 者 名	論 文 標 題			
I. Morita, H. Oyama, Y. Kiguchi, A. Oguri, N. Fujimoto, A. Takeuchi, R. Tanaka, J. Ogata, R. Kikura-Hanajiri, N. Kobayashi	Immunochemical monitoring of psilocybin and psilocin to identify hallucinogenic mushrooms.			
	巻	発行年	ページ	
<i>J. Pharm. Biomed. Anal.</i>	190	2020	113485	

〈学会発表〉

発 表 者	学 会 名		
中野 未悠、扇田 隆司、 森田いずみ、大山 浩之、 小林 典裕、斎藤 博幸	日本薬学会第 141 年会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
新規抗アボ A-I アミロイド抗体は配列非依存的に線維構造を認識する		2021.03.28	オンライン (広島)

発 表 者	学 会 名		
大山 浩之、福田 千紘、 井上あやめ、森田いずみ、 木口 裕貴、小林 典裕	日本薬学会第 141 年会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
CDR 内チロシン置換の抗 Δ^9 -テトラヒドロカンナビノール scFv 抗原結合 能への影響		2021.03.28	オンライン (広島)

発 表 者	学 会 名		
梅澤 直子、永田 泰大、 木口 裕貴、大山 浩之、 森田いずみ、小林 典裕	日本薬学会第 141 年会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
H 鎖 FR1 へのアミノ酸挿入による高親和力抗コルチゾール scFv の創製		2021.03.28	オンライン (広島)

発 表 者	学 会 名		
永田 泰大、梅澤 直子、 木口 裕貴、大山 浩之、 森田いずみ、小林 典裕	日本薬学会第 141 年会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
H 鎖 FR1 のアミノ酸置換による高親和力抗コルチゾール scFv の創製		2021.03.28	オンライン (広島)

発 表 者	学 会 名		
森田いずみ、大山 浩之、 木口 裕貴、田中 理恵、 緒方 潤、花尻(木倉)瑠理、 小林 典裕	第 70 回日本薬学会関西支部大会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
マジックマッシュルーム中シロシビン、シロシンの ELISA		2020.10.10	オンライン (立命館大学)

発 表 者	学 会 名		
大山 浩之、木口 裕貴、 森田いずみ、丹羽 俊文、 小林 典裕	第 70 回日本薬学会関西支部大会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
高感度な発光 ELISA を目的とする scFv 融合用レポーター酵素の比較検討		2020.10.10	オンライン (立命館大学)

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 宮 田 興 子 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

2020 年 6 月 29 日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2021 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		シクロデキストリンを用いる美白成分の複合体形成とそれらのチロシナーゼ阻害活性評価			
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
	中山 尋量	神戸薬科大学	薬 学 部	教 授	総括
	梶 並 昭彦	神 戸 大 学	工学部工学研究科	准教授	メカノケミカル法での固体の調製
	田 中 将 史	神戸薬科大学	薬 学 部	准教授	物性評価
	前 田 秀子	神戸薬科大学	薬 学 部	講 師	分光光学的な解析
共同研究の成果					
4-メトキシサリチル酸 (4MSA) は美白成分の一つで、酵素チロシナーゼの活性を抑え、メラニン生成を抑制するだけでなく、シミ部位で生じている慢性的な角化プロセスの乱れに作用して、溜まったメラニンを排出する効果を持つ。一方、4-プロチルレソルシノール (Ruc) は、メラニン生成のプロセスである酵素チロシナーゼとチロシンの合体を防ぎ、メラニンを作らせないように働く。しかしながら、4MSA および Ruc は、水に溶けにくい。そこで本研究では、シクロデキストリン (CD) と包接複合体を作ることによって 4MSA または Ruc の水に対する溶解性を高めることを検討した。 まず、4MSA について α-CD、β-CD、γ-CD および修飾 CD (ヒドロキシプロピル-α-β-γ-CD、メチル-β-CD、スルホプロチルエーテル-β-CD) のうち、いずれの CD を用いた場合に溶解性が向上するかどうかを検討した。その結果、β-CD および β-CD 誘導体を用いた場合、4MSA の溶解度が高くなることがわかった。4MSA の構造異性体である 3-メトキシサリチル酸 (3MSA) および 5-メトキシサリチル酸 (5MSA) についても同様に検討した結果、3MSA および 5MSA においても β-CD および β-CD 誘導体を添加した場合に溶解性の向上が認められた。しかしながら、3MSA と β-CD との安定度定数は、300 L/mol であり、4MSA および 5MSA では 600 L/mol であった。すなわち、嵩高いメトキシ基が 3 位に結合している 3MSA は、CD と安定な包接複合体を形成するのが難しいことがわかった。 次に 4MSA または 5MSA と β-CD との包接複合体の構造を調べるために、Job's plot および $^1\text{H}-^1\text{H}$ ROESY NMR の測定を行った。その結果、4MSA および 5MSA と β-CD は、1:1 で包接複合体を形成していること、4MSA または 5MSA のフェニル基が β-CD の空洞内に包接された構造であることがわかった。 さらに物理的混合、混練、凍結乾燥法により、4MSA と β-CD との固体複合体が生成するかを調べた。XRD および DSC の結果より、4MSA に特徴的なピークが、凍結乾燥法を用いて作製した固体では、消失することがわかった。5MSA についても固体を作製し、同様に検討したところ、凍結乾燥法で作成した固体のみ固体複合体が形成されることがわかった。 そこで、4MSA、5MSA と β-CD とを凍結乾燥法で作製した固体複合体がチロシナーゼ阻害活性を有しているかを評価した。比較のために物理的混合および混練法で作製した固体についても同様にを行った。その結果、凍結乾燥法で作製した固体は、それぞれの原末と同じ程度のチロシナーゼ阻害活性があることが判明した。すなわち、固体複合体の形でもチロシナーゼ阻害活性を有していることがわかった。 最後に 4MSA の原末と凍結乾燥法を用いて作製した固体複合体を用いて溶出試験を行った。4MSA 原末では、10 分後の溶出率が 20 % 程度であったが、凍結乾燥法による固体複合体では、70 % の溶出率を示すことがわかった。以上の結果より、凍結乾燥法により作製した固体複合体は、4MSA の溶解性を改善することが明らかとなった。					

〈学会発表〉

発 表 者	学 会 名		
前田 秀子、橋谷 優里、 田中 将史、梶並 昭彦、 中山 尋量	日本薬学会第 141 年会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
シクロデキストリンによるルシノールの溶解性の改善とチロシナーゼ阻 害活性の評価		2021/3/27	オンライン 開催

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 宮 田 興 子 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

2020 年 6 月 29 日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2021 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		消化管化学物質受容機構を介した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	研究総括、化学的及び免疫化学実験
	桑 原 厚 和	立 命 館 大 学	総合科学技術研究機構	客員教授	立命館大学での研究管理及び研究主体
	丸 中 良 典	立 命 館 大 学	総合科学技術研究機構	客員教授	生理的研究
	浅 野 真 司	立 命 館 大 学	総合科学技術研究機構	客員教授	生理的研究
	多 河 典 子	神 戸 薬 科 大 学	薬 学 部	講 師	免疫化学の実験
共同研究の成果					
本研究は、消化管粘膜上皮、特に腸内分泌細胞に発現している各種化学物質受容細胞とその刺激により分泌される各種脳腸ホルモンを介した脳－腸相関及び各臓器間ネットワークを介したエネルギー代謝制御機構を明らかにすることを目的としている。近年、食行動や消化管運動などのエネルギー代謝制御に関する消化管ペプチドとして注目されている xenin に着目して研究を遂行している。本年度は、すでに確立した xenin 特異 ELISA 法をさらに高感度化し、本 ELISA 法を用いて正常および 2 型糖尿病モデル TSOD マウスの消化管における免疫活性 xenin および <i>Copa</i> mRNA の発現を検討した。本研究で確立した ELISA 法の測定範囲は、9.17 pg/mL ～ 6.76 ng/mL と高感度で再現性も良好であり、構造類似の neurotensin との交差反応性は 0.22% 未満と xenin 特異的であった。マウスにおいて、xenin は上部小腸で高濃度に発現しており、その発現は 2 型糖尿病で減少することを明らかにした（第 60 回日本臨床化学会年次学術集会、東京、2020 年 10 月）。また、xenin のラット遠位結腸輪走筋の収縮に対する効果を検討した。その結果、xenin は内在性求心性神経の substance P 神経、そして VIP および apamin 感受性 NO 神経を介して自発的な輪走筋収縮を阻害し、また、これらに引き続いて起こる高頻度の自発収縮は、カハール介在細胞を介した apamin 感受性 NO 神経活性化のオフセットによって誘発されることを示した。さらに、xenin は筋肉の neurotensin 受容体 1 を介して筋弛緩を起こすことを明らかにした。これら xenin の複合的な作用により遠位結腸輪走筋の自発的収縮が調節されていることを示唆した（Physiol. Rep., 2021, 9 (4) ; e14752）。以上の結果より、xenin は、摂食刺激により腸内分泌細胞から分泌され、食後の遠位結腸輪走筋収縮に対して重要なモジュレーターとして作用していることが考えられる。2021 年度は、xenin の大腸に対する運動や構造類似の neurotensin とイオン輸送に対する作用を比較検討して行きたいと考える。本研究の成果は、これら消化管ホルモンの分泌異常により発症する糖尿病や肥満症等のエネルギー代謝障害などの診断、病状評価、さらには予防や治療のための新薬開発における基礎的知見を提供できるものと考ええる。					

〈研究論文〉

著 者 名	論 文 標 題			
Y. Kuwahara, I.Kato, T. Inui, Y. Marunaka, A. Kuwahara	The effect of Xenin25 on spontaneous circular muscle contractions of rat distal colon in vitro			
雑 誌 名	巻	発行年	ページ	
Physiol. Rep.	9(4)	2021	e14752	

〈学会発表〉

発 表 者	学 会 名		
多河 典子、浅野 真司、 中張 隆司、桑原 厚和、 丸中 良典、加藤 郁夫	第 60 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
腸管ペプチド xenin の ELISA 法の確立とマウス小腸組織での定量		2020/10/30	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 宮 田 興 子 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 准教授・山野 由美子

2020 年 6 月 29 日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2021 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		カロテノイド酸化代謝物の合成と生理作用に関する研究			
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
	山野 由美子	神 戸 薬 科 大 学	薬 学 部	准教授	化合物合成と全体の統括
	沖 津 貴 志	神 戸 薬 科 大 学	薬 学 部	講 師	化合物合成
	細 川 雅 史	北 海 道 大 学 大 学 院	水産科学研究所	教 授	生理作用の評価
共同研究の成果					
カロテノイドは、抗酸化作用をはじめ多くの生理作用が認められることからヒトにとって有用な食品成分である。生体内においては、末端の環構造部分が様々な代謝を受けるほか、その一部は、側鎖二重結合部の酸化開裂を受けて代謝されることが知られており、代謝物の生理作用について近年注目されている。しかし、天然から得られるこれらの代謝物はごく微量であるため、作用メカニズムや種々の有用な生理作用の評価を行うことは難しく、さらなる研究の推進と応用展開には調製法の確立が必要であった。そこで、本研究では、個々のカロテノイドに特徴的な末端の環構造部分に二重結合部分の長さの異なる側鎖を導入したアナログを系統的に化学合成して、その生理作用について調べることにした。 昨年度は、エポキシ環、共役ケトン、アレン構造など特徴的な構造をもつ機能性カロテノイド・フコキサンチンの推定酸化開裂物をいくつか化学合成し、それらの生理作用として様々な疾病の発症基盤となる炎症に対する抑制効果について調べた。その結果、10'位や12'位での酸化開裂物(10'および12'-アポフコキサンチナール)が、フコキサンチンと同程度の炎症抑制効果を示し、抗酸化酵素発現誘導能はフコキサンチンよりも強いことを明らかにした。 本年度は、さらに、これらの構造活性相関について調べるため、最も炎症抑制効果の高かった12'-アポフコキサンチナールを指標にして種々の末端構造をもつ12'-アポカロテナール類の効果を調べた結果、フコキサンチンの側鎖のケトカルボニル基が炎症抑制効果に関与することが示唆された。これらの結果からは、エポキシ環の関与については不明であったことから、12'-アポフコキサンチナールのエポキシ環をC=Cに置き換えた化合物を合成して炎症抑制効果を調べたところ、C=Cに置き換えた化合物には効果が全く認められなかったことから、末端環構造的部分のエポキシ環も炎症抑制効果に大きく寄与していることがわかった。末端環構造部位のヒドロキシ基や共役系の長さの影響については、さらに調べる必要のあることもわかった。 一方、β-カロテンの化学的な酸化開裂反応によりごく微量に得られたセコ-β-8'-カロテナール(末端環構造部のC=Cと側鎖8'位での酸化開裂物)にも炎症抑制効果が認められることが明らかとなり、アポフコキサンチナールと同様に側鎖のポリエン部と共役するケトカルボニル基が炎症抑制効果に寄与することが示唆された。アポフコキサンチナール類の研究結果から、ポリエン部はもう少し短い方が炎症抑制効果が高くなることが予想されたため、現在これらの誘導体合成を行っているところである。					

〈研究論文〉

著 者 名	論 文 標 題			
N. Takatani, D. Taya, A. Katsuki, F. Beppu, Y. Yamano, A. Wada, K. Miyashita, M. Hosokawa	Identification of Paracentrone in Fucoxanthin-Fed Mice and Anti-Inflammatory Effect against Lipopolysaccharide-Stimulated Macrophages and Adipocytes			
雑 誌 名	卷	発行年	ページ	
Mol. Nutr. Food Res.	65	2021	305-310	

著 者 名	論 文 標 題			
N. Takatani, F. Beppu, Y. Yamano, T. Maoka, M. Hosokawa	Seco-Type β -Apocarotenoid Generated by β -Carotene Oxidation Exerts Anti-Inflammatory Effects against Activated Macrophages			
雑 誌 名	卷	発行年	ページ	
J. Oleo Sci.	70	2021	549-558	

〈学会発表〉

発 表 者	学 会 名		
高谷 直己、別府 史章、 山野由美子、沖津 貴志、 眞岡 孝至、細川 雅史	日本油化学会第 59 回年会		
タ イ ト ル	開催日	開催場所	
β - Carotene 由来アポカロテノイドによる炎症抑制機構	2020.11.02-07	Web 開催	

発 表 者	学 会 名		
山野由美子、藤田 直也、 沖津 貴志、波多野 学、 高谷 直己、細川 雅史	日本薬学会第 141 年会		
タ イ ト ル	開催日	開催場所	
セコカロテノイドの合成研究	2021.03.27	Web 開催	

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 宮 田 興 子 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

2020 年 6 月 29 日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2021 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		妊娠に伴う神経系の可塑的变化			
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	研究総括・遺伝子発現解析
	瀬木(西田) 恵里	東 京 理 科 大 学	基 礎 工 学 部	准教授 (現教授)	細胞新生・生理学的解析
	北 條 寛 典	神 戸 薬 科 大 学	薬 学 部	助 教	末梢組織の組織学的解析
共同研究の成果					
本研究においては、妊娠時の母体の組織構造変化とそれに伴う母体神経系の変化について明らかにすることを目的とした。 ① T 細胞の分化・発育を担うことで細胞性免疫の中心として機能する胸腺は、妊娠時に退縮することが知られている。2019 年度までに我々は、マウスにおいても妊娠時に胸腺が退縮すること、退縮した胸腺内ではマクロファージが活性化されていることを見出していた。そこで 2020 年度は、胸腺退縮におけるマクロファージの役割を明らかにすることを目的として検討を行った。マクロファージに貪食されることで毒性を発揮するクロドロン酸リポソームを用いて、マクロファージを除去したマウスを作製することを試みた。しかしクロドロン酸リポソームの投与は、胸腺内のマクロファージに影響しなかった。このことから、胸腺内マクロファージは貪食能が弱いことが考えられた。一方、胸腺退縮に伴い、脾臓も退縮することを見出した。脾臓内のマクロファージはクロドロン酸リポソームに感受性であり、クロドロン酸リポソームの投与により脾臓の退縮が部分的に抑制されたことから、脾臓退縮にはマクロファージの活性化が一定の役割を担っていることを見出した。 Advillin-Cre:Rosa-Tomato マウスを用いた解析も予定していたが、動物実験施設内の感染事故のため、解析まで至らなかった。 ② 妊娠すると腹部皮膚の面積が増大する。この母体腹部皮膚の変化は、胎児の成長に伴う物理的な張力によるものである可能性と、妊娠による血中エストラジオール濃度の上昇によるものである可能性が考えられる。本研究では、エストラジオールの影響を検討するために、卵巣摘出マウスにエストラジオールを投与し、腹部皮膚の変化を観察した。その結果、エストラジオールは皮膚の細胞増殖の活性化、血管及び末梢神経軸索のリモデリングを促すことがわかった。 ③ 胎児が着床した子宮では血管新生が盛んに起きる。この血管新生に伴い、子宮に投射する末梢神経軸索のリモデリングが起きる可能性を検討した。2019 年度までに胎児の着床部付近で神経軸索のリモデリングが起きている可能性を見出していたため、2020 年度はその更なる解析とメカニズムの検討を行った。その結果、同じ胎児の着床部付近で脱分化シュワン細胞の集積が認められること、また一部のシナプスタンパク質の集積が観察された。これらの結果から、胎児の着床部付近では、末梢神経軸索のリモデリングが起きており、新たなシナプスの形成が起きている可能性が考えられた。軸索のリモデリングを誘導する因子としては、Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) 及び Neurotrophin-4/5 の関与が考えられた。					

〈研究論文〉

著 者 名	論 文 標 題			
Hohjoh H, Horikawa I, Nakagawa K, Segi-Nishida E, Hasegawa H.	Induced mRNA expression of matrix metalloproteinases Mmp-3, Mmp-12, and Mmp-13 in the infarct cerebral cortex of photothrombosis model mice.			
雑 誌 名	卷	発行年	ページ	
Neuroscience Letters	739	2020	135406	

著 者 名	論 文 標 題			
Hasegawa H, Kondo M, Hohjoh H, Nakayama K, Segi-Nishida E.	C-C chemokine receptor 5 (CCR5) expression in the infarct brain of the photothrombosis mouse model.			
雑 誌 名	卷	発行年	ページ	
BPB Reports	3	2020	208-215	

〈学会発表〉

発 表 者	学 会 名		
Razali N., Hohjoh H., Nakagawa K., Hasegawa H.	第 47 回日本毒性学会学術年会		
タ イ ト ル	開催日	開催場所	
デキサメタゾン誘導性の胸腺退縮における未熟胸腺 T 細胞の分極化	2020年6月30日	オンライン	

発 表 者	学 会 名		
長谷川 潤、北條 寛典、堀川 伊和、中川 公恵、瀬木(西田) 恵里	フォーラム 2020 衛生薬学・環境トキシコロジー		
タ イ ト ル	開催日	開催場所	
光血栓性脳梗塞モデルにおける Mmp-3, -12, -13 の発現誘導	2020年9月5日	オンライン	

発 表 者	学 会 名		
Razali N., Hohjoh H., Hasegawa H.	フォーラム 2020 衛生薬学・環境トキシコロジー		
タ イ ト ル	開催日	開催場所	
Comparative analyses of the molecular mechanisms regulating thymic involutions induced by dietary restriction and glucocorticoid treatments.	2020年9月5日	オンライン	

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 宮 田 興 子 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

2020 年 6 月 29 日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2021 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	神 戸 薬 科 大 学	薬 学 部	教 授	生合成の解析と全体の総括
	灘 中 里 美	神 戸 薬 科 大 学	薬 学 部	准教授	糖鎖の機能解析
	田 村 純 一	鳥 取 大 学	農学部・生命環境農学科	教 授	糖鎖合成
共同研究の成果					
ペリニューロナルネット (PNN) は一部の神経細胞の周囲を覆う特殊な細胞外マトリクスである。PNN が神経細胞を密に取り囲むことで、シナプスが新たに作られることを妨ぎ、特定の神経回路網が固定化される。そのため、神経可塑性は PNN の成熟にともなって失われていくのである。では、PNN はどのように神経可塑性を調節しているのだろうか。その詳細は不明であるが、PNN に含まれるコンドロイチン硫酸プロテオグリカン (CS-PGs) がガイダンス分子の一つセマフォリン 3A (Sema3A) やホメオタンパク質 Otx2 を捕捉し、これらの分子を PNN に蓄積させることで神経可塑性を調節すると考えられている。Sema3A や Otx2 はコンドロイチン硫酸 (CS) と結合するため、その結合に関わる糖鎖構造を明らかにすることが重要である。先行研究では <i>in vitro</i> の結合実験が行われ、<i>N</i>-アセチルガラクトサミンの 4 位あるいは 4 位と 6 位が硫酸化された糖鎖構造 (それぞれ CS-A あるいは CS-E 構造) が Sema3A との結合部位を形成する可能性を報告している。本共同研究では、化学合成オリゴ糖及び CS-E ノックアウトマウスを用いて、Sema3A の結合に関わる糖鎖構造について再考した。その結果、予想外にも、CS-E 構造の存在しない CS-E ノックアウトマウスにおいても PNN が正常に形成されていること、硫酸化パターンの異なるコンドロイチン硫酸由来合成四糖を用いた <i>in vitro</i> の結合実験から Sema3A は硫酸化されていない四糖 (GalNAc-GlcA-GalNAc-GlcA) に特異的に結合することが明らかになった (Biomolecules 10, 1499, 2020)。PNN を構成するコンドロイチン硫酸における CS-E 構造の発現量は非常に低いため、このような微量の糖鎖構造がガイダンス因子である Sema3A の捕捉に関わるのかどうか、議論の余地が残されていたが、今回の結果により、この疑問が解消された。 コンドロイチン硫酸は、増殖因子などによるシグナル伝達経路を調節し、幹細胞の性質を制御することが知られているが、コンドロイチン硫酸のうち、6 位が硫酸化されたコンドロイチン硫酸は皮膚に存在する幹細胞の増殖を EGFR 経路を介して制御することを明らかにした。さらに、この糖鎖構造の合成低下は皮膚のバリア機能を損ね、乾癬を発症しやすい弱い皮膚を作り出すことを明らかにした (Commun. Biol. 4, 114, 2021)。もやもや病 (MMD) は脳の血管に異常が生じる病気であるが、その原因は明らかではない。MMD の疾患感受性遺伝子として知られる RNF213 は糖鎖合成酵素遺伝子の一部であるため、MMD の発症を糖鎖の変化に注目して解析した。この研究の中で、MMD 患者由来の iPS 細胞より誘導した内皮細胞の糖鎖合成酵素遺伝子の発現や糖鎖分析を行い、血管内皮細胞の周囲のマトリクスの構成成分である糖鎖の変化が、血管にかかる "ずり応力" に対する脆弱性を生み出し、もやもや病の発症に関わる可能性が示唆された (Sci. Rep. 11, 1552, 2021)。					

〈研究論文〉

著 者 名	論 文 標 題			
Nadanaka, S., Miyata, S., Yaqiang, B., <u>Tamura, J.</u> Habuchi, O., and <u>Kitagawa, H.</u>	Reconsideration of the Semaphorin-3A Binding Motif Found in Chondroitin Sulfate Using <i>Galnac4s-6st</i> -Knockout Mice.			
雑 誌 名	卷	発行年	ページ	
Biomolecules	10	2020	1499	

著 者 名	論 文 標 題			
Matsuo, M., <u>Nadanaka, S.</u> , Soga M., Sugiyama, T., Serigano S., Shimano, K., Ichinose, F., Nakamura, T., Maeda, T., Houkin, K., Era, T., and <u>Kitagawa, H.</u>	Vulnerability to shear stress caused by altered peri-endothelial matrix is a key feature of Moyamoya disease.			
雑 誌 名	卷	発行年	ページ	
Sci. Rep.	11	2021	1552	

著 者 名	論 文 標 題			
Kitazawa, K., <u>Nadanaka, S.</u> , <u>Kadomatsu, K.</u> , and <u>Kitagawa, H.</u>	Chondroitin 6-sulfate represses keratinocyte proliferation in mouse skin, which is associated with psoriasis.			
雑 誌 名	卷	発行年	ページ	
Commun. Biol.	4	2021	114	

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 宮 田 興 子 様

研究代表者所属	薬理学研究室
研究代表者職・氏名	教授・小山 豊

2020 年 6 月 29 日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2021 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		脳機能保護および修復に関する薬理学的研究			
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
	小 山 豊	神 戸 薬 科 大 学	薬 学 部	教 授	脳損傷・脳梗塞
	久 米 利 明	富 山 大 学	薬 学 部	教 授	脳梗塞・アルツハイマー病
	八 巻 耕 也	神 戸 薬 科 大 学	薬 学 部	准教授	精神疾患（自閉症）
	泉 安 彦	神 戸 薬 科 大 学	薬 学 部	講 師	パーキンソン病
共同研究の成果					
現在の脳疾患に対する治療法には対症療法が多く、発症メカニズムに基づいた根治的な治療法の開発が求められている。中枢神経系を構成する細胞には、神経細胞だけでなくアストロサイトやミクログリアといったグリア細胞が存在する。また脳機能の調節に重要な役割を果たす血液脳関門は、血管内皮細胞とアストロサイトの相互作用によって形成されている。本研究では、脳疾患の病態形成における神経細胞以外の寄与に注目し、非神経細胞が神経細胞傷害に与える役割を明らかにすることを目的とした。研究代表者の小山は、エンドセリン ET_B 受容体アンタゴニストがアストロサイトの過剰な活性化を抑制し、脳損傷後の血液脳関門の破綻を抑制することを報告した (Neuropharmacology. 2020, 175:108182.; J Neurochem. 2020, 154:330-348.)。この成果は、エンドセリン ET_B 受容体アンタゴニストが脳損傷後脳浮腫に対して有望な治療薬となる可能性を示唆している。共同研究先である富山大学の久米は、以前からの共同研究で見出した青ジソ由来 Nrf2-ARE 経路活性化物質の神経保護作用を解析した。Nrf2-ARE 経路とは、酸化ストレスに対する生体防御機構の一つで、その活性化は抗酸化酵素の発現などを誘導する。培養大脳皮質細胞において Nrf2-ARE 経路活性化物質が脳梗塞時の神経傷害を模したグルタミン酸神経細胞毒性を抑制することを報告し、その機序にアストロサイトから供給される抗酸化物質のグルタチオンの関与を示唆した (Biol Pharm Bull. 2020, 43, 184-187.)。構成員の泉は、以前の共同研究において化合物ライブラリーから見出した新規 Nrf2-ARE 経路活性化物質のパーキンソン病モデル動物での薬理作用を解析した。本化合物は、パーキンソン病モデルマウスにおいてドパミン神経保護作用を示し、運動症状を改善した。さらに、その機序はアストロサイトを介するものであることを報告した (Neurosci Lett. 2020;736:135268.)。これらの成果から、アストロサイトにおける Nrf2-ARE 経路の活性化が神経保護薬の新たな標的となる事が示された。また、Nrf2-ARE 経路活性化物質は、ミクログリアの炎症性活性化を抑制し、神経保護的に作用することを学会報告した。ミクログリアの過剰な活性化が主な原因となる神経炎症は、パーキンソン病やうつ病の病態進行に関与するため、ミクログリアを標的とした脳疾患治療薬として Nrf2-ARE 経路活性化物質が新たな提案となるかもしれない。また、構成員の八巻は、食物アレルギーマウスがうつ様症状を誘発することを見出しており、末梢の免疫細胞が精神疾患に及ぼす新たな機序の可能性を示唆した。本共同研究の成果として、脳疾患は神経機能が障害を受けることで発症するが、非神経細胞の関与が重要であることをより明確にできた。さらに、脳疾患の克服につながる非神経細胞の有望な治療標的を複数見出すことができた。					

〈研究論文〉

著 者 名	論 文 標 題			
Michinaga S., Inoue A., Yamamoto H., Ryu R., Inoue A., Mizuguchi H., Koyama Y.	Endothelin receptor antagonists alleviate blood-brain barrier disruption and cerebral edema in a mouse model of traumatic brain injury: A comparison between bosentan and ambrisentan.			
雑 誌 名	巻	発行年	ページ	
Neuropharmacology	175	2020	108182	

著 者 名	論 文 標 題			
Michinaga S., Tanabe A., Nakaya R., Fukutome C., Inoue A., Iwane A., Minato Y., Tujiuchi Y., Miyake D., Mizuguchi H., Koyama Y.	Angiopietin-1/Tie-2 signal after focal traumatic brain injury is potentiated by BQ788, an ET _B receptor antagonist, in the mouse cerebrum: Involvement in recovery of blood-brain barrier function.			
雑 誌 名	巻	発行年	ページ	
J Neurochem	154	2020	330-348	

著 者 名	論 文 標 題			
Taguchi K., Izumi Y., Takada-Takatori Y., Akaike A., Kume T.	Protective effect of 2',3'-dihydroxy-4',6'-dimethoxychalcone on glutamate-induced neurotoxicity in primary cortical cultures.			
雑 誌 名	巻	発行年	ページ	
Biol Pharm Bull	43	2020	184-187	

著 者 名	論 文 標 題			
Inose Y., Izumi Y., Takada-Takatori Y., Akaike A., Koyama Y., Kaneko S., Kume T.	Protective effects of Nrf2-ARE activator on dopaminergic neuronal loss in Parkinson disease model mice: Possible involvement of heme oxygenase-1			
雑 誌 名	巻	発行年	ページ	
Neurosci Lett	736	2020	135268	

著 者 名	論 文 標 題			
Yamaki K., Terashi M., Ogura S., Inoue S., Naka N., Nakagaki T., Oka N., Koyama Y.	Anti-allergic effect of the Src family kinase inhibitor saracatinib			
雑 誌 名	巻	発行年	ページ	
Pharmazie.	75	2020	339-343	

〈学会発表〉

発 表 者	学 会 名		
道永昌太郎、井ノ上彩奈、園田 清美、水口 博之、小山 豊	第 138 回 日本薬理学会近畿部会		
タ イ ト ル	開催日	開催場所	
エンドセリン ET _B 受容体拮抗薬 BQ788 による sonic hedgehog の発現増加を介した頭部外傷後の Blood-brain barrier 破綻に対する抑制効果	2020/11/14	大阪	

発 表 者	学 会 名		
井川紗央里、泉 安彦、 久米 利明、八巻 耕也、 小山 豊	第 70 回日本薬学会関西支部大会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
神経炎症に対する Nrf2 活性化薬によるドパミン神経保護作用～人工知能による計数～		2020/10/21	草津

発 表 者	学 会 名		
泉 安彦、上籠 桃子、 小林 史佳、八巻 耕也、 久米 利明、小山 豊	第 94 回日本薬理学会年会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Nrf2 活性化薬の抗炎症作用に Nrf2 遺伝子が関与しない可能性		2021/3/8	札幌

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 宮 田 興 子 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

2020 年 6 月 29 日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2021 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		老化疾患の病態形成機構の解明と制御			
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
	力 武 良 行	神 戸 薬 科 大 学	薬 学 部	教 授	研究の統括
	佐々木 直人	神 戸 薬 科 大 学	薬 学 部	准教授	動物実験と解析
	堀 部 紗 世	神 戸 薬 科 大 学	薬 学 部	講 師	細胞培養と解析
	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					
(1) アルツハイマー型認知症 (AD) の病態形成機構 アルツハイマー型認知症における血管老化の役割を明らかにするために、血管内皮特異的に TERF2-dominant negative 体を過剰発現する血管内皮細胞老化マウスと AD モデルマウスを交配した血管内皮細胞老化 AD モデルマウスを作出し、15 ヶ月齢において、モリスの水迷路試験と Y 字迷路試験を行って認知機能を評価した。いずれの試験においても、野生型マウスに比べて AD モデルマウスでは認知機能は低下していたが、血管内皮細胞老化 AD モデルマウスの認知機能は野生型マウスと同等であった。血管内皮細胞老化 AD モデルマウス的大脑皮質や海馬におけるアミロイド β プラークの形成は、AD モデルマウスに比べてプラーク数は少なく、個々のプラークサイズも小さかった。また、血管内皮細胞老化マウスではアストロサイトの活性化が生じており、アストロサイトのエンドフットと脳微小血管との接着面へのアクアポリン 4 ならびにその裏打ちタンパク質であるジストログリカンの局在が減少していた。 (2) 動脈硬化抑制に関わる分子の探索 動脈硬化の病態形成におけるケモカイン受容体 CCR4 の役割を明らかにするために、この分子の遺伝子欠損マウスと動脈硬化モデルマウスを交配して作出したマウスの表現型を解析した。コントロールマウスと比較して、CCR4 遺伝子欠損動脈硬化マウスでは動脈硬化病変形成は有意に促進された。このマウスの末梢リンパ組織において、抗炎症作用を有する制御性 T 細胞 (Treg) の割合が増加しているにもかかわらず、炎症性エフェクター T 細胞の割合は増加しており、T 細胞の免疫バランスが後者に傾くことにより動脈硬化病変形成が促進されたと考えられる。 (3) 炎症制御による動脈硬化の新規治療法の開発 発光ダイオードの技術を生かした特定波長の紫外線 B 波 (UVB) 照射装置を用いて、動脈硬化モデルマウスに UVB を照射し、Treg の誘導と動脈硬化の抑制に有効な波長を探索した。Treg の増加と動脈硬化抑制に有効な UVB 波長を見出したが、Treg を介さない動脈硬化抑制作用も示唆された。					

〈研究論文〉

著 者 名	論 文 標 題			
Amin HZ, Sasaki N, Hirata KI, Rikitake Y.	Cytotoxic T Lymphocyte-Associated Antigen-4 Protects Against Angiotensin II-Induced Kidney Injury in Mice.			
雑 誌 名	巻	発行年	ページ	
<i>Circ Rep.</i>	2	2020	339-342	

〈学会発表〉

発 表 者	学 会 名		
Amin HZ, Sasaki N, Hirata KI, Rikitake Y.	第 84 回日本循環器学会学術集会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Selective C-C chemokine receptor 4 inhibition aggravates atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice.		2020年7月27日 ～8月2日	京都

発 表 者	学 会 名		
Amin HZ, Sasaki N, Horibe S, Kawauchi S, Hirata KI, Rikitake Y.	European Society of Cardiology Congress, 2020		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Pharmacological inhibition of C-C chemokine receptor 4 aggravates atherosclerosis through prevention of regulatory T cell recruitment to the lesions.		2020年8月27日 ～30日	Amsterdam, Netherland

発 表 者	学 会 名		
田中 亨、佐々木直人、 西村 紗良、井戸 花乃、 山口 悠馬、武岡 侑希、 中村 百花、浜田 悠花、 Amin Hilman Zulkifli、 堀部 紗世、平田 健一、 力武 良行	日本薬学会第 141 年会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
特定波長の紫外線 B 波による動脈硬化抑制効果とその機序の解明		2021年3月28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 宮 田 興 子 様

研究代表者所属 中央分析室
研究代表者職・氏名 准教授・竹内 敦子

2020 年 6 月 29 日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2021 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		機器を用いた生理活性物質の分析・解析と臨床への応用			
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
	竹 内 敦 子	神 戸 薬 科 大 学	薬 学 部	准教授	分析法の確立
	都 出 千 里	神 戸 薬 科 大 学	薬 学 部	講 師	分析及び結果の解析
	西 尾 久 英	神 戸 学 院 大 学	総合リハビリテーション学部	教 授	臨床応用
共同研究の成果					
生体内のさまざまな生理活動を調節したり、活性化したりする生理活性物質は、生体に対して重要な役割を果たす。中には医薬品として開発されたものも多く、医薬品の資源としても注目される。これらの生理活性物質は生体内で微量であったり、化学構造が未知であったりするが、質量分析装置や NMR 装置などを用いる機器分析法によりさまざまな問題が解決されてきた。 (1) 質量分析装置の多様な発展に伴い、その手法は多岐にわたって利用されている。これまで質量分析法を用いて、生理活性を有する種々の低分子化合物やペプチド・タンパク質の分析法を確立し、医療の分野、特に病気の診断や治療、医薬品の開発などに役立てることを目的として継続して研究を行ってきた。その結果、各種質量分析計を目的に応じて使い分け、遺伝性疾患の診断と治療効果の判定への応用できる分析法を確立した。遺伝性筋疾患である Duchenne 型筋ジストロフィーや福山型筋ジストロフィー、脊髄性筋萎縮症 (SMA) などの遺伝性疾患などのバイオマーカーになると予想される生体成分の分析法を確立した。さらに、それらの血液または尿中含有量と疾患との関係から診断と治療効果の判定に適応可能かどうかについて検討した。その成果を日本薬学会年会で報告するとともに、Kobe J. Med. Sci. で論文として報告した。今後は、疾患中の新たな生体成分の定量法を確立するとともに、影響を及ぼす化合物の検索を行って継続して治療薬の開発を目指す予定である。 (2) 医薬品開発において結晶多形の分析は必須である。結晶多形の分析には粉末 X 線回折や赤外吸収スペクトルなどが用いられているが、固体 NMR でもその違いをみる事が出来る。固体 NMR シグナルを測定し、NMR による多形間の安定性評価へと発展させることを目指して研究を行った。医薬品の場合、結晶多形間での溶解性の違いは、その薬物の吸収性に影響を及ぼす。急性前骨髄球性白血病の治療薬であるレチノイン酸には安定形と準安定形の結晶多形が存在する。両多形を固体 NMR で測定したところ、ケミカルシフトに差異が生じた。その差異が結晶の安定性にどのように影響を及ぼしているのかを検討するため重水素ラベル化体の合成を順次行っている。レチノイン酸の 7,8 位のラベル化体の改良合成法の検討と準安定形の作成を行い、それらの固体 NMR を測定した。今後はロキソプロフェン Na 製剤中の主成分の結晶変化について、継続して検討する予定である。 (3) その他の分析法を用いて、先天性代謝異常症の治療法の確立のため、既存薬剤の応用や新規医薬の開発を目指して研究を行った。また、新生児スクリーニングやさまざまな迅速診断法を確立することを目的として研究を行った。乾燥血液スポット (DBS) は、血液サンプルを採取、運搬、保管するための簡単な手法であり、サンプル量が最小限で分析できる。DBS を用いて SMA の診断法となる新たなスクリーニング法を確立して種々の検体への応用性を検討した。今後は、検体数を増やして実用性の検証を行っていく予定である。					

〈研究論文〉

著 者 名	論 文 標 題			
Rochmah M.A., Wijaya Y.O.S., Harahap N.I.F., Tode C., Takeuchi A., Ohuchi K., Shimazawa M., Hara H., Funato M., Saito T., Saito K., Lai P.S., Awano H., Shinohara M., Nishio H., Niba E.T.E.	Phosphoethanolamine Elevation in Plasma of Spinal Muscular Atrophy Type 1 Patients.			
雑 誌 名	巻	発行年	ページ	
<i>Kobe J. Med. Sci.</i>	66	2020	E1-11	

〈学会発表〉

発 表 者	学 会 名		
竹内 敦子、都出 千里、西尾 久英	日本薬学会第 141 年会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
遺伝子疾患の診断システムの開発と応用		2021/3/27	広島