

共同研究 研究紀要

2024

(2023 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。

2023 年度共同研究（研究期間 2023. 4. 1 ~ 2024. 3. 31）

- | <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システムの開発 | 製剤学研究室
教授 坂根 稔康 |
| 2. 腫瘍溶解性ウイルスと微粒子性抗がん剤の併用による高効率ながん治療法の開発 | 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. 病態診断・治療に資する薬剤開発研究 | 薬品物理化学研究室
教授 向 高弘 |
| 5. 薬用植物におけるアルカロイド生合成機構の解明と代謝工学 | 医薬細胞生物学研究室
教授 土反 伸和 |
| 6. 小胞体ストレス応答を標的とする創薬化学研究 | 薬化学研究室
教授 奥田 健介 |
| 7. 非環状型人工核酸を用いた革新的核酸医薬の開発に関する研究 | 生命分析化学研究室
教授 神谷 由紀子 |
| 8. 紫外線曝露により生じる光老化メカニズムの解明 | 機能性分子化学研究室
教授 田中 将史 |
| 9. ヘテロ環骨格の新規構築法の開発を基盤とした革新的機能性分子の創製 | 薬品化学研究室
教授 上田 昌史 |
| 10. 酸・塩基複合触媒を用いる高効率有機合成法と理論解析法の融合研究 | 生命有機化学研究室
教授 波多野 学 |
| 11. 脳疾患の病態制御に関わる分子メカニズムの解明 | 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 |

共同研究 成果報告書

神戸薬科大学 学長 様

所属	製剤学研究室
氏名	坂根稔康

2023年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2024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

共同研究テーマ名	薬物動態解析に基づく新規薬物送達システムの開発
----------	-------------------------

構成員	氏名	所属大学・研究機関等名	部局・学科等名	職名	本研究における役割	
構成員	本学	坂根稔康	神戸薬科大学	製剤学研究室	教授	ペプチドの定量
		古林呂之	神戸薬科大学	製剤学研究室	准教授	in vitro 安定性評価
		田中晶子	神戸薬科大学	製剤学研究室	講師	in vivo 動物実験
	連携先	岩永一範	大阪医科薬科大学	薬学部臨床薬学教育研究センター	教授	データの解析

共同研究の成果

近年、低分子有機化合物の創薬シーズの枯渇により、分子量が中程度(1 kDa ~ 2 kDa)の中分子化合物、中でも、中分子ペプチドに注目が集まっている。一般に、ペプチドは生理活性が高い一方で、生体内での安定性が問題となることが多い。我々は、これまでの研究で、Neuromedin Uの型受容体選択的アゴニストである中分子ペプチド(CPN116)を鼻腔内投与することにより、脳への送達を実現し、抗肥満作用を通じて、脳への送達を確認している。本研究では、より効率的な脳への送達を目標に、CPN116と比較して、生体内安定性が良好と考えられるCPN219を創製し、両ペプチドの体内動態を比較することにより、鼻腔内投与後の吸収および脳内送達に対する生体内安定性の影響を評価した。

in vitro で、ラットより採取した血漿および脳脊髄液を用いて、両ペプチドの安定性を測定したところ、CPN116に比べて、CPN219の濃度低下は遅延し、CPN219の安定性が有意に良好であることを確認することができた。次に、両ペプチドをラットの鼻腔内に投与した後の血中濃度の経時変化を評価したところ、CPN219の血漿中濃度が高いことが明らかとなった。両ペプチドの構造上の相違は小さく、膜透過性に大きな相違はないと予想されることから、高い血漿中濃度は、両ペプチドの血液中での安定性の相違に起因する可能性が示唆された。CPN219をラット鼻腔内に投与した後の脳内濃度は、腹腔内投与後と比較して有意に高く、CPN219も、鼻腔から脳内に直接、移行することが示された。さらに、血中濃度と同様、鼻腔内投与後の脳内濃度に関しても、CPN116と比較して、CPN219が高値を示すことが明らかとなった。

以上の結果より、ペプチドの生体内安定性は、その体内動態に多大な影響を及ぼすことが明らかとなった。安定性が悪いペプチドに関しては、その安定性を改善することにより、その有用性を大きく改善できると考えられる。

< 学会発表 >

発表者	学会名		
田中晶子、阪上結、山下彩里、高山健太郎、勝見英正、山本昌、岩永一範、古林呂之、坂根稔康	日本薬剤学会第 38 年会		
タイトル	開催日	開催場所	
鼻腔内投与による中分子ペプチドの脳への送達：ペプチドの体内動態に対する生体内安定性の影響	2023 年 5 月 18 日	ウインクあいち(名古屋 古屋市)	

共同研究 成果報告書

神戸薬科大学 学長 様

所属	薬剤学研究室
氏名	大河原 賢一

2023年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2024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

共同研究テーマ名	腫瘍溶解性ウイルスと微粒子性抗がん剤の併用による高効率ながん治療法の開発
----------	--------------------------------------

	氏名	所属大学・研究機関等名	部局・学科等名	職名	本研究における役割	
構 成 員	本 学	大河原 賢一	神戸薬科大学	薬剤学研究室	教授	抗がん剤内封微粒子製剤の体内動態および抗腫瘍効果の評価
	連 携 先	櫻井 文教	大阪大学	大学院薬学研究科分子生物学分野	准教授	腫瘍溶解性ウイルスを用いた検討全般

共同研究の成果

これまでの検討により、腫瘍溶解性ウイルスであるレオウイルスを担癌マウスに前投与することで、腫瘍内への微粒子性製剤(PEG修飾リポソーム)の送達効率向上による内封抗がん剤の抗腫瘍効果の増大に繋がることが明らかとなっていた。しかしながら、レオウイルスの腫瘍組織への移行性は依然として乏しく、改善が必要だと考えられた。そこで将来的な間葉系幹細胞を用いたウイルスデリバリー用の細胞製剤の開発に向けた予備実験として、まずは間葉系細胞としてヒト皮膚および肺線維芽細胞に腫瘍溶解性ウイルス(本検討ではレオウイルス)を作用させ、線維芽細胞における毒性および遺伝子発現プロファイルの変化を検討した。その結果、レオウイルスはヒト皮膚および肺線維芽細胞に顕著な細胞毒性を示さないことが明らかとなった。一方でレオウイルス作用後、ヒト皮膚および肺線維芽細胞においてコラーゲンなどの細胞外マトリックス遺伝子の発現が低下する傾向にあり、その点については今後、更なる検討が必要と考えられた。またヒト皮膚および肺線維芽細胞のみならず、間葉系幹細胞においてはレオウイルスの感染受容体である Junction Adhesion Molecule-Aの発現が低いことが示された。そこで間葉系幹細胞と同様にマクロファージを用いたDDS製剤の開発にも着手し、マクロファージに搭載予定の遺伝子をクローニングするとともに、その遺伝子を安定発現する細胞の作製にも成功した。これらの成果は、腫瘍溶解性ウイルスデリバリー用の細胞製剤の設計指針となる極めて重要な知見であった。

< 学会発表 >

発表者	学会名		
河野 裕允、神原 妃弥、檀上 早希、櫻井 文教、細川美香、大河原 賢一	第73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
磁場を利用したリポソーム修飾間葉系幹細胞の作製とその機能評価		2023年10月14日	神戸学院大学

共同研究 成果報告書

神戸薬科大学 学長 様

所属	臨床薬学研究室
氏名	江本 憲昭

2023年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2024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

共同研究テーマ名	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
----------	---------------------------

	氏名	所属大学・研究機関等名	部局・学科等名	職名	本研究における役割	
構 成 員	本 学	江本 憲昭	神戸薬科大学	臨床薬学研究室	教授	臨床検体を用いた細胞生物学的および分子生物学的解析
	連 携 先	平田 健一	神戸大学	大学院医学研究科循環器内科学分野	教授	臨床データの解析
		谷口 悠	神戸大学	医学部附属病院循環器内科	助教	臨床データの収集

共同研究の成果

本共同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。

慢性血栓塞栓性肺高血圧症は肺高血圧症を構成する重要な一病型である。高齢者に好発することに加え、治療法の進歩に伴う疾患の認知の高まりとも相まって、わが国で症例数が増加している。特に血栓内膜摘除術や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。しかしながら疾患の発症機序や病態には今なお不明な点が多くある。

私たちは慢性血栓塞栓性肺高血圧症症例で認められる夜間低酸素の臨床的特徴についてバルーンカテーテルを用いた肺動脈形成術の術前と術後で解析した。その結果、バルーンカテーテルを用いた肺動脈形成術の術後には夜間低酸素の改善が認められ、その機序として肺における生理的な死腔の減少と関連することを示し、International CTEPH Conferenceで発表した。

また、慢性血栓塞栓性肺高血圧症の生命予後は著しく改善しているが、がんの合併が予後に及ぼす影響については知られていない。そこで、神戸大学医学部附属病院で2011～2022年に治療を受けた症例の予後と合併症について統計学的解析を実施した。その結果、慢性血栓塞栓性肺高血圧症の生命予後に最も影響を及ぼすのは診断時の血行動態ではなく、がんの合併であることが明らかとなった。本成果は日本循環器学会学術集会で発表した。

最後に慢性血栓塞栓性肺高血圧症の病態を解明する手術標本を用いて、シングルセルRNAシーケンス解析を行った。その結果、病変を構成する血管内皮細胞は遺伝子発現においてきわめて大きい多様性を示すことが明らかとなった。本研究成果は日本循環器学会学術集会で発表し、現在論文として投稿中である。

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。

< 学会発表 >

発表者	学会名		
Y. Taniguchi, M. Sakamoto, H. Fujii, K. Yanaka, N. Emoto, K. Hirata	ICC 2023 – International CTEPH Conference 2023		
タイトル		開催日	開催場所
Nocturnal desaturation in patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension		2023/9/30	San Diego, USA

発表者	学会名		
Hiroyuki Fujii, Yu Taniguchi, Miki Sakamoto, Kenichi Yanaka, Noriaki Emoto, Kenichi Hirata	第 88 回日本循環器学会学術集会		
タイトル		開催日	開催場所
The Association between the Prognosis and the Comorbidity of Cancer in Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension		2024/3/9	神戸

発表者	学会名		
Miki Sakamoto, Yu Taniguchi, Takuo Emoto, Sachiyo Yoneda, Hiroyuki Fujii, Kenichi Yanaka, Tomoyo Haman, Tomoya Yamashita, Noriaki Emoto, Kenichi Hirata, Kenji Okada	第 88 回日本循環器学会学術集会		
タイトル		開催日	開催場所
Single Nuclear RNA Sequencing Reveals Endothelial Cell Heterogeneity in Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension		2024/3/10	神戸

共同研究 成果報告書

神戸薬科大学 学長 様

所属	薬品物理化学研究室
氏名	向 高弘

2023年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2024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

共同研究テーマ名	病態診断・治療に資する薬剤開発研究
----------	-------------------

構 成 員	氏名	所属大学・研究機関等名	部局・学科等名	職名	本研究における役割
本 学	向 高弘	神戸薬科大学	薬品物理化学研究室	教授	研究統括・プローブ評価
	佐野 紘平	神戸薬科大学	薬品物理化学研究室	准教授	細胞・動物実験
	山崎 俊栄	神戸薬科大学	薬品物理化学研究室	講師	プローブ合成・物性評価
連 携 先	萩森 政頼	武庫川女子大学	薬学部・薬品分析学研究室	教授	プローブ設計・合成、物性評価

共同研究の成果

近年、がんやアルツハイマー病(アミロイドーシス)、動脈硬化症をはじめとする難治性疾患の病態が明らかとなりつつあり、これらの情報に基づく病態診断薬あるいは治療薬の開発に大きな期待が寄せられている。そこで本研究では、各種病態において重要な役割を果たす分子等を標的とした診断薬および治療薬の開発を目的とし、2023年度は以下に示す研究成果を得た。

我々はこれまでに、全身性アミロイドーシスの核医学診断を目的として、アミロイドに対して高い結合親和性を示すチオフラビンとコンゴレドの化学構造を融合した新規放射性ヨウ素標識プローブの開発を進めてきた。2023年度は、より高いコントラストでの全身性アミロイドーシス診断を達成すべく、正常組織から速やかに消失する酵素代謝型放射性薬剤を新たに設計・合成することに成功し、生体内アミロイドの高精度診断を達成できる可能性を示した。さらに、新規ベンゾチアゾール誘導体を複数種類合成することに成功し、アミロイドに対する結合親和性評価の結果、良好な結合性を示す化合物を見出すことができた。

動脈硬化症については、これまでに、不安定プラークの核医学診断を目的として、プラークの不安定化に関連する酵素を標的とした放射性標識薬剤を合成し、疾患に関連するマクロファージへ高く取り込まれることを明らかにしてきた。2023年度は、マクロファージのサブタイプの中でもM1マクロファージに酵素が高く発現すること、また、本薬剤がM1マクロファージへ高く取り込まれることを明らかにした。さらに、本薬剤を動脈硬化モデルマウスに投与し、標的酵素特異的に病変プラークに集積することを示した。本研究成果は国内学会において発表した。

また、がんの核医学診断および治療を目的として、多種多様ながんを高発現するNAD(P)H quinone dehydrogenase 1(NQO1)を標的とする放射性ヨウ素標識薬剤を新規に設計し、合成を進めた。

さらに、高濃度での生体蓄積が病態の発症に寄与する可能性のある、 Al^{3+} の生体内検出を目的にオフ-オン型ならびにレシオ型蛍光プローブの開発を行った。いずれのプローブも Al^{3+} 選択性を示し、オフ-オン型のプローブはヒト乳がん細胞に存在する Al^{3+} を明瞭に描出することに成功した。本研究成果は国内学会において発表した。

< 学会発表 >

発表者	学会名		
原 史子, 水山 奈央子, 藤野 毅, 向 高弘, 萩森 政頼	第 83 回分析化学討論会		
タイトル		開催日	開催場所
細胞内アルミニウムイオンのイメージングを目的とした蛍光プローブの開発		2023/5/20	富山

発表者	学会名		
原 史子, 水山 奈央子, 藤野 毅, 向 高弘, 萩森 政頼	日本分析化学会近畿支部創設 70 周年記念式典プレ企画		
タイトル		開催日	開催場所
蛍光性 6-アリール-2-ピロンを基盤とする細胞内 Al ³⁺ 検出用蛍光プローブの開発研究		2023/6/24	大阪

発表者	学会名		
原 史子, 水山 奈央子, 藤野 毅, 向 高弘, 萩森 政頼	第 35 回バイオメディカル分析科学シンポジウム		
タイトル		開催日	開催場所
レシオ型の蛍光特性を有するアルミニウム蛍光プローブの開発		2023/7/29	札幌

発表者	学会名		
田中 志歩, 佐野 紘平, 小平 美優, 佐々木 直人, 田中 亨, 灘中 里美, 山崎 俊栄, 力武 良行, 北川 裕之, 萩森 政頼, 向 高弘	第 73 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
不安定プラークの検出を目的としたヘパラーゼ標的放射性ヨウ素標識薬剤の開発		2023/10/14	神戸

発表者	学会名		
佐野 紘平, 田中 志歩, 小平 美優, 佐々木 直人, 田中 亨, 灘中 里美, 山崎 俊栄, 力武 良行, 北川 裕之, 萩森 政頼, 向 高弘	日本薬学会第 144 年会		
タイトル		開催日	開催場所
動脈硬化病変における不安定プラークの検出に資するヘパラーゼ標的放射性薬剤の開発		2024/3/29	横浜

共同研究 成果報告書

神戸薬科大学 学長 様

所属	医薬細胞生物学研究室
氏名	土反 伸和

2023年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2024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

共同研究テーマ名	薬用植物におけるアルカロイド生合成機構の解明と代謝工学
----------	-----------------------------

	氏名	所属大学・研究機関等名	部局・学科等名	職名	本研究における役割	
構 成 員	本 学	土反 伸和	神戸薬科大学	医薬細胞生物学研究室	教授	研究統括
		山田 泰之	神戸薬科大学	医薬細胞生物学研究室	講師	発現制御因子や酵素の機能解析
	連 携 先	寺坂 和祥	名古屋市立大学	薬学研究科医療機能薬学専攻	講師	生合成酵素や輸送体の解析

共同研究の成果

本年度も前年度に引き続き、ウマノスズクサ (*Aristolochia debilis*) が産生するアリストロキア酸などベンジルイソキノリンアルカロイド(BIA) 生合成に関わるO-メチル基転移酵素の解析を行った。

これまでに、TR41268、TR22431の2つのO-メチル基転移酵素をウマノスズクサRNA-seqデータから単離し、これらの酵素がシンプレイソキノリン型BIAの6位ないし7位水酸基のメチル化に関与することを明らかにしてきた。今年度は、TR41268の基質特異性をより詳細に調べるために、さらに多様な11種類のBIAに対する反応性を、精製酵素を用いた酵素アッセイ系で評価した。その結果、TR41268は前年度から既に明らかにしていたものを含む3種類のBIAを除いて全く反応しなかった。また、TR41268とnorlaudanosoline (NLS)との反応では、6位水酸基のメチル化だけでなく、6位以外の水酸基もメチル化された生成物が複数得られたのに対し、すでに6位水酸基がメチル化された6-O-methylNLSに対しては、TR41268は全く反応しなかった。

そこで、TR41268の酵素機能の特性を構造生物学的視点から考察するために、AlphaFold2およびAutodock4を用いたホモロジーモデリングと基質とのドッキングシミュレーションを行った。その結果、他のBIA生合成に関わるOMTにも広く保存されている複数のアミノ酸残基がTR41268と基質との結合に重要であるだけでなく、TR41268に特異的なアミノ酸残基も結合に重要である可能性が示唆された。また、TR41268と6-O-methylNLSとのシミュレーションでは、重要だと推察されたアミノ酸残基の一部が6-O-methylNLSから離れてしまっていた。これは、前述の酵素アッセイ系で生成物が得られなかった基質に共通して観察されたことから、これらアミノ酸残基と基質との結合がTR41268の反応に重要であると考えられるだけでなく、NLSの多段階のメチル化反応は、酵素基質複合体の中での連続的な反応によって生じた可能性も示唆された。TR22431についても同様に基質認識に重要なアミノ酸残基を複数見出したので、今後酵素アッセイ系を行うことで基質特異性などをより詳細に明らかにしていく予定である。

< 学会発表 >

発表者	学会名		
清水 優香、松井 俊樹、土反 伸和、寺坂 和祥、佐藤文彦、山田 泰之	第 73 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
ウマノズクサのアリストロキア酸生合成系における O-methyltransferase の機能解析 アリストロキア酸生合成酵素の探索と機能解析		2023 年 10 月 14 日	神戸学院大学

共同研究 成果報告書

神戸薬科大学 学長 様

所属	薬化学研究室
氏名	奥田 健介

2023年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2024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

共同研究テーマ名	小胞体ストレス応答を標的とする創薬化学研究
----------	-----------------------

構成員	氏名	所属大学・研究機関等名	部局・学科等名	職名	本研究における役割	
					分子設計、合成、in vitroおよび培養細胞を用いた活性評価系統	
構成員	本学	奥田 健介	神戸薬科大学	薬化学研究室	教授	分子設計、合成、in vitroおよび培養細胞を用いた活性評価系統
		高木 晃	神戸薬科大学	薬化学研究室	講師	分子設計、合成の支援
	連携先	大橋 憲太郎	岐阜大学	工学部	准教授	分子細胞生物学的手法による培養細胞を用いた評価

共同研究の成果

酸素及び栄養の不足で活性化するシグナル伝達系の一つとして知られる小胞体ストレス応答のunfolded protein response (UPR) シグナル伝達系は、がん微小環境における重要な適応機構であることが示され、難治性のがん細胞で特に活性化している。本共同研究では、このストレス応答バランスを崩す化合物の創製を目的としており、以下に当該年度での成果を述べる。

1. 栄養飢餓耐性解除能に着目したアリーリデン(およびアルキリデン)・ヘテロ5員環の構造活性相関研究
ベンジリデン・チアゾリジンジオン(およびロダニン)誘導体が低栄養選択毒性を有することを当研究室ではこれまでに見出し、低栄養選択毒性に関するフェニル基上の置換基は許容範囲が広いものであり強力な電子供与性基を除いては比較的許容されること、ベンゼン環をナフタレン環およびヘテロ環に変換した誘導体の構造活性相関からも芳香環が適度な電子密度を有していることが活性に必要であることも2022年度までに明らかにしていた。今年度はさらにベンゼン環を(シクロ)アルキル基に変換した誘導体の構造活性相関を検討したところ、適度な大きさの(シクロ)アルキル基であれば(シクロ)アルキリデン・チアゾリジンジオン(およびロダニン)誘導体が低栄養選択毒性を有することを改めて見出した。

2. 栄養飢餓耐性解除能を有するアシル化グルコース誘導体の創薬化学研究
安価なD-glucoseのベンゾイル化によって得られる1,3,6-tribenzoyl-D-glucoseが、がん細胞が獲得した栄養飢餓耐性の解除能を有することで注目されている天然物(-)-uvaridacol Lと立体構造が類似している点に着目して検討を進めた結果、期待通りにD-glucoseよりわずか1行程にて合成可能な1,3,6-tribenzoyl-D-glucoseが、低栄養環境を特徴の一つとするがん微小環境を標的とするリード化合物として有用であることを2022年度までにすでに見出し、今年度はさらなる構造活性相関を検討するべく、1位アノマー水酸基が修飾されることなく保持されている2,3,6-(および2,4,6-)tribenzoyl-D-glucoseを合成・評価したところ、いずれもアノマー混合物であるにもかかわらず1,3,6-tribenzoyl-D-glucoseに匹敵する低栄養選択毒性を有することを見出した。以上の結果より、栄養飢餓耐性解除能を有するアシル化グルコースのファーマコフォアに関する有用な知見を得ることができた。

< 学会発表 >

発表者	学会名		
高木晃, 北西悟司, 大橋憲太郎, 奥田健介	第 26 回癌治療増感研究会		
タイトル		開催日	開催場所
がんの栄養飢餓耐性解除能を有するアリーリデン・チアゾリジンジオン誘導体の構造活性相関研究		2023.6.30.- 7.1.	石垣

共同研究 成果報告書

神戸薬科大学 学長 様

所属	生命分析化学研究室
氏名	神谷 由紀子

2023年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2024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

共同研究テーマ名	非環状型人工核酸を用いた革新的核酸医薬の開発に関する研究
----------	------------------------------

構 成 員	氏名	所属大学・研究機関等名	部局・学科等名	職名	本研究における役割
本 学	神谷由紀子	神戸薬科大学	生命分析化学研究室	教授	機能性核酸の設計と評価
	有吉純平	神戸薬科大学	生命分析化学研究室	助手	機能性核酸の合成と評価
連 携 先	浅沼浩之	名古屋大学	大学院工学研究科	教授	研究の統括と人工核酸の設計

共同研究の成果

2023年度の共同研究により、特に anti-miRNA核酸の開発、ギャップマー型アンチセンス核酸の毒性軽減法の開発、に関する成果を得たので報告する。

anti-miRNA核酸の開発と作用機序解明
腫瘍細胞で高発現しているmiR-21はがん抑制遺伝子を標的とし、その機能を阻害することでがん細胞の増殖を促進すると考えられている。そこでmiR-21に着目し、非環状型人工核酸SNAからなる抗miR-21核酸の開発を進めた。その結果、人工塩基の導入により、抗miR-21核酸の活性向上を達成することができた。また、FRETを用いた可視化解析を進め、抗miR-21核酸の細胞内作用機序を明らかにすることができた。本成果はACS Chem. Biol.誌に報告した。

ギャップマー型アンチセンス核酸の毒性軽減法の開発
ギャップマー型アンチセンス核酸は細胞内のRNaseHの触媒作用によりmRNAを切断し、効率的に遺伝子発現を抑制することが可能なアンチセンス核酸として古くから注目されている。しかし核酸塩基配列、人工核酸の化学構造、ホスホロチオエート修飾に依存して、肝毒性や神経毒性を生じることが課題となっている。共同研究により、人工核酸の修飾によりギャップマー型アンチセンス核酸の毒性軽減が可能であることを見出すことができた。本成果は関連学会にて報告した。

< 研究論文 >

著者名	論文標題		
Yukiko Kamiya, Siyuan Lao, Jumpei Ariyoshi, Fuminori Sato, Hiroyuki Asanuma	Unexpectedly stable homopurine parallel triplex of SNA:RNA*SNA and L-aTNA:RNA*L-aTNA		
雑誌名	巻	発行年	ページ
Chem. Commun.	60	2024	1257-1260

著者名	論文標題		
Hongyu Zhu, Yukiko Kamiya, Hiroyuki Asanuma	Illuminating miRNA inhibition: Visualizing the interaction between anti-miRNA oligonucleotide and target miRNA using FRET		
雑誌名	巻	発行年	ページ
ACS Chem. Biol.	18	2023	2281-2289

< 学会発表 >

発表者	学会名		
神谷由紀子、樋口昌也、浅沼浩之	日本核酸医薬学会第8回年会		
タイトル	開催日	開催場所	
非環状型人工核酸によるギャップマー型アンチセンス核酸の細胞死抑制	2023年7月11-14日	名古屋大学豊田講堂	

発表者	学会名		
神谷由紀子、樋口昌也、有吉純平、浅沼浩之	第17回バイオ関連化学シンポジウム		
タイトル	開催日	開催場所	
非環状型人工核酸の導入による Gapmer 型アンチセンス核酸の毒性軽減	2023年9月8-10日	東京理科大学野田キャンパス	

発表者	学会名		
Yukiko Kamiya, Hongyu Zhu, Hiroyuki Asanuma	19 th Annual Meeting of the Oligonucleotide Therapeutics Society		
タイトル	開催日	開催場所	
Visualizing the interaction between anti-miRNA oligonucleotide and target miRNA using FRET	2023年10月22-25日	バルセロナ(スペイン)	

発表者	学会名		
神谷 由紀子、佐藤 史経、 浅沼 浩之	日本化学会第 104 春季年会		
タイトル		開催日	開催場所
非環状型人工核酸からなる抗 miR-21 核酸の開発		2024 年 3 月 18-21 日	日本大学理学部 船橋キャンパス

発表者	学会名		
有吉 純平, 樋口 昌也, 浅 沼 浩之, 神谷 由紀子	日本化学会第 104 春季年会		
タイトル		開催日	開催場所
非環状型人工核酸導入による Gapmer 型アンチセンス核酸の毒 性変化		2024 年 3 月 18-21 日	日本大学理学部 船橋キャンパス

発表者	学会名		
有吉純平, 樋口昌也, 今村 早希, 大塚彩乃, 奥野未央 佳, 谷川望, 南川綾香, 大山 浩之, 浅沼浩之, 神谷由紀 子	日本薬学会第 144 年会		
タイトル		開催日	開催場所
Gapmer アンチセンス核酸の毒性調節における非環状型人工核 酸の効果		2024 年 3 月 28-31 日	パシフィコ横浜

共同研究 成果報告書

神戸薬科大学 学長 様

所属	機能性分子化学研究室
氏名	田中将史

2023年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2024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

共同研究テーマ名	紫外線曝露により生じる光老化メカニズムの解明
----------	------------------------

構 成 員	本 学	氏名	所属大学・研究機関等名	部局・学科等名	職名	本研究における役割
		田中将史	神戸薬科大学	機能性分子化学研究室	教授	新規評価系の構築
	連 携 先	坂本光	北里大学	薬学部放射性同位元素研究室	講師	データの解析
		高瀬ひろか	北里大学	薬学部放射性同位元素研究室	助教	研究の遂行

共同研究の成果

紫外線に曝露された皮膚細胞は、自身が損傷を受けるだけでなく、DAMPsと総称される内因性炎症誘導物質の放出を介したバースタンダー効果によって、周囲の細胞に対して紫外線による間接的な影響をもたらす。光老化に関わるバースタンダー効果因子を明らかにするため、DAMPsの一つであるATPが線維芽細胞のコラーゲン線維の分解に及ぼす影響を検討した。ヒト真皮線維芽細胞(Hs68)へのATP処置により、コラーゲン分解酵素であるMMP-1タンパク質の産生量の増加が認められた。同条件下における培養上清において、HMGB1及びIL-6の産生量が未処置の培養上清に比べて増加したことから、細胞外ATPによるMMP-1の産生亢進には、HMGB1及びIL-6が仲介因子として寄与することが考えられた。次に、分解されたコラーゲン線維の細胞内への取り込みに関わる受容体Endo180の産生量を評価した。ATP処置したHs68細胞では、Endo180の発現量は減少し、それに伴い培養上清に含まれるコラーゲン線維の分解産物は増加傾向を示した。以上の結果より、細胞外ATPはバースタンダー効果因子として細胞外マトリックスの分解を促すとともに、コラーゲン線維の再合成を抑制することにより、光老化の進行に寄与することが示唆された。

また、ヒト表皮角化細胞HaCaTへの紫外線曝露(UVAを1 cm²あたり10 J照射)で誘導される炎症誘導物質の同定を試みた。培養上清をアセトン沈殿により濃縮後、SDS-PAGEで分離し、紫外線の照射による変動が認められたいくつかのバンドをゲルカットした。トリプシンによるゲル内消化を行い、LC-MS/MSにより分析した結果、細胞骨格タンパク質や核タンパク質が同定された。これらは当初に想定した炎症誘導物質とは異なるが、今後はこの再現性を確認するとともに、生理的意義の解明が必要である。

< 学会発表 >

発表者	学会名		
村瀬 未遊、高瀬 ひろか、小林 咲帆、田中 将史、坂本 光	日本薬学会第 144 年会		
タイトル		開催日	開催場所
細胞外 ATP がバイスタンダー効果因子として ヒト皮膚線維芽細胞のコラーゲン線維の分解に及ぼす影響		2024 年 3 月 29 日	横浜

共同研究 成果報告書

神戸薬科大学 学長 様

所属	薬品化学研究室
氏名	上田昌史

2023年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2024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

共同研究テーマ名	ヘテロ環骨格の新規構築法の開発を基盤とした革新的機能性分子の創製
----------	----------------------------------

構成員	氏名	所属大学・研究機関等名	部局・学科等名	職名	本研究における役割
本学	上田昌史	神戸薬科大学	薬品化学研究室	教授	研究統括、反応開発
	武田紀彦	神戸薬科大学	薬品化学研究室	准教授	合成展開
連携先	松原 浩	大阪公立大学	理学研究科	教授	反応機構解析

共同研究の成果

ピラゾール骨格は多くの医薬品や天然物、生物活性化合物、機能性分子に含まれる重要な骨格である。そのため、ピラゾール骨格の様々な合成法がこれまでに開発されている。しかし、基質合成に多工程を有する、取り扱いが困難で特殊な基質を使用する、反応の位置選択性あるいは原子効率が十分でないなどの多くの問題点がある。そこで既存の合成法とは全く異なる新規ピラゾール合成法の開発を目的として、*N*-アリルヒドラゾンの遷移金属触媒を用いる酸化的環化反応を検討した。はじめに、*N*-アリルヒドラゾンを基質として、触媒としてPdCl₂、共酸化剤としてCuCl₂・2H₂Oを用いて、DMF中、酸素雰囲気下で反応を行ったところ、4位にホルミル基をもつピラゾールが86%の収率で得られた。次に反応条件について精査したところ、本反応はパラジウム非存在下でも進行することが明らかとなった。さらに最適化検討の結果、触媒としてCuCl₂を用いて、酢酸/MeCN = 5:1の混合溶媒中で反応を行った場合に最も収率良く、4-ホルミルピラゾールが得られることを見出した。次に基質一般性について検討した。置換基の電子的または立体的性質によって収率に違いはあるものの、いずれの場合も目的の4-ホルミルピラゾールが得られた。反応機構の解明について検討した。まず、最適条件にTEMPOを加えて反応を行ったところ、TEMPOによって捕捉された化合物は確認できず、また、シクロプロピル基をもつ基質を用いて最適条件下反応を行ったところ、シクロプロパン環が開環した化合物の生成は確認できなかった。このことから、本反応はフリーラジカル中間体を経由していないことが示唆された。また、計算化学を用いた反応機構解析を行った。反応条件の検討結果から、CuCl₂が酢酸およびMeCN中で二核錯体もしくは単核の錯体を形成していることが示唆されたため、銅錯体の構造最適化を検討したが難攻しており、現在のところ、真の触媒の構造の解明には至っていない。引き続き計算化学で反応機構解析を行い、実験化学との協働ですべての現象を解明していく。

< 学会発表 >

発表者	学会名		
(¹ 神戸薬大・ ² 阪公大院理) 一文字彩乃 ¹ 、武田紀彦 ¹ 、 安井基博 ¹ 、松原浩 ² 、上田昌 史 ¹	第43回有機合成若手セミナー		
タイトル		開催日	開催場所
銅触媒による N-アリルヒドラゾンの C-H 官能基化を利用した 4 -ホルミルピラゾールの合成		2023年8 月8日	京都工芸繊維大 学

発表者	学会名		
(¹ 神戸薬大・ ² 阪公大院理) 一文字彩乃 ¹ 、武田紀彦 ¹ 、 安井基博 ¹ 、松原浩 ² 、上田昌 史 ¹	第73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
N-アリルヒドラゾンの C-H 官能基化を利用した酸化的環化反応		2023年10 月14日	神戸学院大学

発表者	学会名		
(¹ 神戸薬大・ ² 阪公大院理) ○一文字彩乃 ¹ 、中山美来 ¹ 、 武田紀彦 ¹ 、安井基博 ¹ 、松原 浩 ² 、上田昌史 ¹	日本薬学会第144年会		
タイトル		開催日	開催場所
ヒドラゾンのイミン炭素を求核部位とした含窒素ヘテロ環の合成		2024年3 月29日	パシフィコ横浜

共同研究 成果報告書

神戸薬科大学 学長 様

所属	生命有機化学研究室
氏名	波多野 学

2023年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2024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

共同研究テーマ名	酸・塩基複合触媒を用いる高効率有機合成法と理論解析法の融合研究
----------	---------------------------------

構 成 員	氏名	所属大学・研究機関等名	部局・学科等名	職名	本研究における役割	
本 学	波多野 学	神戸薬科大学	生命有機化学研究室	教授	研究の総括	
	山田 健	神戸薬科大学	生命有機化学研究室	准教授	有機合成実験の遂行	
	平田 翼	神戸薬科大学	生命有機化学研究室	助教	有機合成実験の遂行	
	連 携 先	坂田 健	東邦大学	薬学部 薬品物理化学教室	教授	理論計算化学の遂行
		吉川 武司	東邦大学	薬学部 薬品物理化学教室	准教授	理論計算化学の遂行

共同研究の成果

医薬品や機能性材料などの有用な化学物質の効率的な合成方法の開発は、現代有機化学に課せられた大きな問題の一つである。特に、有害物質の使用を抑え、廃棄物を低減する環境低負荷な合成法が開発できれば、グリーンサステナブル・ケミストリーに立脚した現代ニーズにも適合する。本研究では、新しい触媒をデザインし、触媒の酸部位で基質を活性化すると同時に、触媒の塩基部位で反応剤を活性化するという、協奏的な酸・塩基複合触媒反応システムの開発を行った。こうした優れた触媒反応システムの特長を活かし、創薬の基盤となるより効率の高い触媒反応の実現や、従来の触媒では実現困難なマルチ選択性の反応制御などを実験化学的に検討した。一方で、次世代の触媒の創製や改善・改良には、反応中間体や遷移状態を含む反応メカニズムの考察が不可欠であり、実験化学的に検討が難しい項目について理論計算化学に基づくDFT計算を推進した。本年度は、亜鉛(II)触媒とグリニャール反応剤を用いる高選択的アルキル付加反応、酸・塩基複合型有機分子触媒を用いるエステル合成反応・アミド合成反応を中心に取り組んだ。高選択的アルキル付加反応では、亜鉛(II)アート錯体の形成が鍵となり円滑に進行させることに成功した。さらに、推定した多核錯体を強く支持する反応経路や中間体をDFT計算で特定することができた。また、リン酸有機触媒およびスルホン酸有機触媒を用いるエステル合成反応およびピリドン有機触媒を用いるアミド合成反応も円滑に進行する反応条件を開発できた。アミド合成反応は高精度ペプチド合成に発展中である。どの研究テーマも、実験結果と計算結果を酸・塩基複合触媒の特性の根拠につなげることができた。これらの研究成果は、日本化学会、日本薬学会、有機合成化学協会、日本プロセス化学会、有機触媒シンポジウム、ヨウ素学会、日本コンピュータ化学会などで発表した。また、研究論文としてSynlett誌に成果の一部を公開することができた。

< 研究論文 >

著者名	論文標題		
Manabu Hatano*, Chiaki Nishioka, Ayaka Mimura, Risa Kimura, Yuki Okuda, Takeshi Yamada, Ken Sakata*	2,2'-Biphenol-Derived Phosphoric Acid Catalyst for the Dehydrative Esterification of Carboxylic Acids with Alcohols		
雑誌名	巻	発行年	ページ
Synlett	34	2023	2508-2514

< 学会発表 >

発表者	学会名		
梅澤 美帆、椿紗 穂里、吉川 武司、坂田 健、桑野 葵咲、飛鳥居 里穂、永吉 絢子、星原 遥花、平田 翼、波多野 学	日本コンピュータ化学会 2023 年春季年会		
タイトル	開催日	開催場所	
テトラヒドロフラン溶媒とグリニャール反応剤を用いるニトリルへの塩化亜鉛触媒的アルキル付加反応の量子化学的検討	2023 年 6 月 1-2 日	東京工業大学大岡山西 9 号館 2 階	

発表者	学会名		
山田 健、波多野 学、岡本 専太郎	第 122 回有機合成シンポジウム		
タイトル	開催日	開催場所	
3,5,6-トリフルオロ-2-ピリドン触媒を用いたインドール含有イソシアニドの Interrupted Passerini 反応	2023 年 7 月 19-20 日	東工大蔵前会館くらまえホール	

発表者	学会名		
平田 翼、桑野 葵咲、飛鳥居 里穂、永吉 絢子、星原 遥花、山田 健、梅澤 美帆、椿紗 穂里、吉川 武司、坂田 健、波多野 学	日本プロセス化学会 2023 サマーシンポジウム		
タイトル	開催日	開催場所	
塩化亜鉛触媒と Grignard 反応剤を用いる芳香族ニトリルへのアルキル付加反応	2023 年 8 月 3-4 日	タワーホール船堀	

発表者	学会名		
山田 健、西岡 千晃、三村 彩華、記村 璃咲、奥田 祐己、坂田 健、波多野 学	日本プロセス化学会 2023 サマーシンポジウム		
タイトル		開催日	開催場所
2,2'-ビフェノール由来のリン酸触媒を用いるカルボン酸とアルコールのエステル縮合反応		2023年8月3-4日	タワーホール船堀

発表者	学会名		
山田 健、岡本 専太郎、波多野 学	第26回ヨウ素学会シンポジウム		
タイトル		開催日	開催場所
酸・塩基複合型6-ヨード-2-ピリドン触媒による二重活性化機構を鍵とするエステルのアミノリシス		2023年9月15日	千葉大学 西千葉キャンパス けやき会館

発表者	学会名		
平田 翼、池上 あゆみ、古橋 奈緒、柳内 美咲、波多野 学	第73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
光触媒を用いる1,4-ジアリールブタジエンへの位置選択的付加反応の開発		2023年10月14日	神戸学院大学 ポートアイランド第1キャンパス

発表者	学会名		
平田 翼、池上 あゆみ、波多野 学	第16回有機触媒シンポジウム		
タイトル		開催日	開催場所
有機光触媒を用いる1,4-ジアリール-1,3-ブタジエンへのO-,N-,およびC-求核剤による位置選択的ヒドロ官能基化反応		2023年11月27-28日	東北大学大学院 理学研究科 大講義室

発表者	学会名		
平田 翼、波多野 学、新田 純基、山崎 貴子、富田 廉、秋山 勝宏	日本化学会第104春季年会(2024)		
タイトル		開催日	開催場所
N-トリフルオロメタンスルホニルイミダゾールを用いる高化学選択的トリフルル化反応		2024年3月18-21日	日本大学理工学部・船橋キャンパス

発表者	学会名		
石川 桃子、寺澤 蘭丸、神田 萌乃夏、池部 絵美、藤山 幸子、平田 翼、波多野学、新田 純基、山崎 貴子、富田 廉、秋山 勝宏	日本化学会第 104 春季年会(2024)		
タイトル		開催日	開催場所
N-トリフルオロメタンスルホニルイミダゾールを用いるフェノール類の高化学選択的トリフリル化反応		2024 年 3 月 18-21 日	日本大学理工学部・船橋キャンパス

発表者	学会名		
山田 健、辻 菜々子、那須史生子、伊丹 志織、米谷朋恵、波多野 学	日本薬学会第 144 年会(横浜)		
タイトル		開催日	開催場所
酸・塩基複合型 6-ヨード-2-ピリドン触媒を用いるエステルのアミノリシス		2024 年 3 月 28-31 日	パシフィコ横浜

共同研究 成果報告書

神戸薬科大学 学長 様

所属	衛生化学研究室
氏名	長谷川 潤

2023年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2024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

共同研究テーマ名	脳疾患の病態制御に関わる分子メカニズムの解明
----------	------------------------

構成員	氏名	所属大学・研究機関等名	部局・学科等名	職名	本研究における役割
本学	長谷川 潤	神戸薬科大学	衛生化学研究室	教授	研究統括・遺伝子発現評価
	中山 啓	神戸薬科大学	衛生化学研究室	講師	組織構造・細胞動態の評価
連携先	瀬木(西田) 恵里	東京理科大学	先進工学部生命システム工学科	教授	神経新生・神経活動の評価

共同研究の成果

本共同研究では、脳梗塞の病態進行におけるグリア細胞及び血管内皮細胞の役割と、それらの細胞種を結びつけるシグナル伝達系の解明を行うことを目的としている。2023年度は、2022年度までに引き続き卵巣ホルモンシグナルの影響を検討したほか、脳梗塞発症前の血管への影響が病態進行にどのように影響するかを検討し、以下の結果を得た。

(1) 2022年度までに、卵巣ホルモンであるエストロゲン投与がグリア瘢痕の形成を亢進させるという結果を得た。そこで2023年度は、もう一つの重要な卵巣ホルモンであるプロゲステロンがどのような影響を示すのかを検討した。光血栓性脳梗塞モデルを作製後7日間に渡り、プロゲステロン又は溶媒を投与した。投与終了翌日に脳の組織切片を解析したところ、プロゲステロン投与群ではペナンプラ領域へのアストロサイトの集積が弱く、グリア瘢痕の形成が不十分であることが分かった。エストロゲンとプロゲステロンの同時投与ではグリア瘢痕の形成は亢進したことから、両卵巣ホルモンの効果としてはエストロゲンが優位に働く可能性が示唆された。

(2) 2022年度までに、エタノールを4日間投与することにより大脳皮質の血管構造が乱れることを見出した。そこで、この血管構造の乱れが脳梗塞の病態進行にどのように影響するかを検討した。エタノールを前処置したマウスに光血栓性脳梗塞モデルを作製し、3日後及び7日後に病態を検討した。その結果、炎症性グリア細胞であるミクログリアの活性がコントロールマウスに比べてエタノール投与マウスでは低下していることが分かった。このミクログリアの活性低下は、脳梗塞発症側半球特異的に見られたが、脳梗塞部位からは離れた場所で顕著であった。反対に脳梗塞周辺部(ペナンプラ領域)のアストロサイトの活性はエタノール投与マウスの方が高く、グリア瘢痕の形成が亢進していた。エタノールの前処置は、脳梗塞部位における血管構造の変化には大きな影響を与えなかった。これらの結果から、エタノールの常用は脳梗塞を発症した場合の病態進行を悪化させる可能性が考えられた。

業績一覧

< 学会発表 >

発表者	学会名		
寺本 昂司, 押部 佑香, 近藤 真理, 中山 啓, 瀬木 - 西田 恵里, 長谷川 潤	第 96 回 日本生化学会大会		
タイトル		開催日	開催場所
脳梗塞の病態進行に対する発症前ストレスの影響		2023 年 11 月 1 日	福岡

共同研究 成果報告書

神戸薬科大学 学長 様

所属	生化学研究室
氏名	北川 裕之

2023年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2024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

共同研究テーマ名	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	本 学	氏 名	所属大学・研究機関等名	部局・学科等名	職 名	本研究における役割
		北川 裕之	神戸薬科大学	生化学研究室	教授	生合成の解析と全体の総括
	灘中 里美	神戸薬科大学	生化学研究室	准教授	糖鎖の機能解析	
	連 携 先	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

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、増殖、分化、神経回路網の形成、がん細胞の浸潤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。好中球由来のサイトカインが乳がん細胞の増殖を促進する時に働くコンドロイチン硫酸プロテオグリカンの機能と分子機構を明らかにした成果を論文発表した (Nadanaka, S. et al. (2024) Proteoglycan Res. 2, e15)。コンドロイチン硫酸は硫酸化糖鎖構造依存的に機能を発揮するので、機能発現に關与する硫酸化構造の特徴を捉えるために、化学合成オリゴ糖などを用いて受容体などのタンパク質との結合実験を行い、タンパク質によって認識される硫酸化構造を調べた結果を国際学会で発表した (Nadanaka, S., Tamura, J., and Kitagawa, H. (2023) GLYCO26, AG-004)。アルツハイマー病における認知機能の低下には、凝集タウタンパク質による神経原線維変化が脳内に拡がるのが密接に關与すると考えられているが、この現象は、異常タウタンパク質からなる凝集核が細胞間を伝播することにより起こる。タウ凝集核の受け取りと細胞内取り込みに細胞表面CS鎖が關与すること、この現象に關わる糖鎖構造を化学合成オリゴ糖を用いて明らかにした (投稿準備中、第70回生化学会近畿支部例会で発表)。

< 研究論文 >

著者名	論文標題		
Elham Koosha, Connor T A Brenna, Amir M Ashique, Niteesh Jain, Katie Ovens, Toshiyasu Koike, <u>Hiroshi Kitagawa</u> , B Frank Eames	Proteoglycan inhibition of canonical BMP-dependent cartilage maturation delays endochondral ossification.		
雑誌名	巻	発行年	ページ
Development	151	2023	201726

著者名	論文標題		
<u>Satomi Nadanaka</u> , Toshiyasu Koike, <u>Hiroshi Kitagawa</u>	Chondroitin sulfate proteoglycan promotes APRIL induced tumor cell proliferation		
雑誌名	巻	発行年	ページ
Proteoglycan Research	2	2024	e15

< 学会発表 >

発表者	学会名		
<u>Satomi Nadanaka</u> , <u>Jun-ichi Tamura</u> , <u>Hiroshi Kitagawa</u>	26th International Symposium on Glycoconjugates (Glyco26)		
タイトル	開催日	開催場所	
Chondroitin sulfate controls the invasive property of the triple-negative breast cancer cell lines, BT-549 and MDA-MB-231 cells	Aug 27- Sept 1, 2023	台北(台湾)	

共同研究 成果報告書

神戸薬科大学 学長 様

所属	薬理学研究室
氏名	小山 豊

2023年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2024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

共同研究テーマ名	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	所属大学・研究機関等名	部局・学科等名	職名	本研究における役割
	本学	小山 豊	神戸薬科大学	薬理学研究室	教授
八巻 耕也		神戸薬科大学	薬理学研究室	准教授	うつ病モデルの解析
泉 安彦		神戸薬科大学	薬理学研究室	講師	パーキンソン病モデルの解析
連携先	久米 利明	富山大学	学術研究部薬学・和漢系(応用薬理学)	教授	脳梗塞・アルツハイマー病モデルの解析

共同研究の成果

脳疾患の病態形成において、神経細胞以外の寄与が近年、注目されている。脳疾患の治療標的として、神経細胞のみならずグリア細胞や血管内皮細胞も考慮しなければならないが、それらの詳細は明らかにされておらず、非神経細胞を標的にした治療薬も非常に限られる。本共同研究では、脳疾患において非神経細胞が神経細胞傷害に与える役割を明らかにし、病態形成機序の解明を試みることを目的とした。

本年度、研究代表者の小山は、脳損傷時において放出されるエンドセリンが炎症反応を引き起こし、障害を増悪する機序を検討した。エンドセリンは、アストロサイトの受容体に結合し、特定のケモカインを誘導し、白血球を誘導することが分かった。また、エンドセリンは、アストロサイトでのIL-6やcyclooxygenase-2の発現を惹起し、その機序にRNA結合タンパク質が関与することを明らかにした。本成果は、脳損傷時の炎症抑制に対してエンドセリン受容体拮抗薬が有効であることを示唆している。また、連携先の久米は、アルツハイマー病の病態において重要な役割を果たすアミロイド (A β) の毒性コンフォマーがミクログリアに与える影響について検討した。その結果、A β 毒性コンフォマーはミクログリアの低酸素誘導因子(HIF)発現を抑制し、ミクログリアの炎症反応を増強する可能性を明らかにした。本成果は、アルツハイマー病態の進行におけるA β とミクログリアによる炎症反応の関連を明らかにする一助となる。八巻は、免疫グロブリンIgAによる末梢免疫応答抑制機構について検討した。IgAは脾臓B細胞の増殖およびサイトカイン産生を抑制し、その機序にはMAPK経路の抑制が関与することを明らかにした。本知見は、末梢免疫細胞と関連する脳精神疾患への新たな治療法としてIgA適用という提案になりえる。泉は、本共同研究で見出したNrf2-ARE経路活性化物質がマクロファージにおいて炎症性活性化を抑制する機序を検討した。その結果、炎症性サイトカインの発現に関与するERK経路の抑制が重要であることを明らかにし、その上流に存在するTAK1のキナーゼの活性を阻害していることを見出した。本化合物の抗炎症作用機序が明らかにされつつあり、神経炎症が関与する脳疾患への応用が期待される。

本共同研究の成果として、脳疾患における非神経細胞、すなわち、アストロサイト、ミクログリア、血管内皮細胞、免疫細胞の関与の詳細を明らかにでき、非神経細胞が脳疾患の克服につながる有望な治療標的であることをより明確にすることができた。

< 研究論文 >

著者名	論文標題		
Izumi Y, Kataoka H, Takada-Takatori Y, Koyama Y, Irie K, Akaike A, Kume T.	Isolation and Purification of Harpagogenin as an Nrf2-ARE Activator from the Tubers of Chinese Artichoke (<i>Stachys sieboldii</i>).		
雑誌名	巻	発行年	ページ
Biol Pharm Bull.	46	2023	1576-1582

著者名	論文標題		
Terashi M, Yamaki K, Koyama Y.	Development of a Novel IgG1 Anaphylaxis Mouse Model with Uniquely Characteristic Skin Manifestations Induced Through the Fc RIII-Histamine Pathway.		
雑誌名	巻	発行年	ページ
Immunol. Invest.	52	2023	83-103

著者名	論文標題		
Yamaki K, Tamura Y, Suzuki T, Uesaki Y, Dougan A, Koyama Y.	PI3K/mTOR inhibitor dactolisib attenuates allergic response through inhibitions of the sensitization and mast cell activation.		
雑誌名	巻	発行年	ページ
Pharmazie	78	2023	128-133

著者名	論文標題		
Yamaki K, Egi T, Segawa K, Tomonaka A, Nakai Y, Koyama Y.	Co-induced allergic response to an unrelated allergen exacerbates imiquimod-induced psoriasis in mice.		
雑誌名	巻	発行年	ページ
Biol. Pharm. Bull.	46	2023	1484-1489

< 総説 >

著者名	論文標題		
Michinaga S, Hishinuma S, Koyama Y	Roles of astrocytic endothelin ETB receptor in traumatic brain injury.		
雑誌名	巻	発行年	ページ
Cells.	12	2023	719

< 学会発表 >

発表者	学会名		
泉 安彦、武田 紀彦、八巻 耕也、久米 利明、上田 昌史、小山 豊	日本薬学会 第 144 年会		
タイトル		開催日	開催場所
抗酸化ストレス応答転写因子 Nrf2 の活性化物質探索と作用解析		3月29日	横浜

発表者	学会名		
八巻 耕也、小山 豊	日本薬学会 第 144 年会		
タイトル		開催日	開催場所
アレルギー性の反応はイミキモド誘導乾癬モデルを悪化させる		3月29日	横浜

共同研究 成果報告書

神戸薬科大学 学長 様

所属	医療薬学研究室
氏名	力武 良行

2023年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、2024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

共同研究テーマ名	老化疾患の病態形成機構の解明と制御
----------	-------------------

構成員	氏名	所属大学・研究機関等名	部局・学科等名	職名	本研究における役割	
構成員	本学	力武 良行	神戸薬科大学	医療薬学研究室	教授	研究の統括
		佐々木 直人	神戸薬科大学	医療薬学研究室	准教授	実験とデータ解析
		堀部 紗世	神戸薬科大学	医療薬学研究室	講師	実験とデータ解析
	連携先	平田 健一	神戸大学大学院	医学研究科	教授	データ解析

共同研究の成果

15ヶ月齢において糖負荷試験及びインスリン負荷試験を実施し、アルツハイマー病モデルマウスでみられる耐糖能異常及びインスリン抵抗性が血管内皮細胞特異的の老化アルツハイマー病モデルマウスでは軽減していることを確認した。インスリン感受性に関わる骨格筋及び肝臓におけるAktのリン酸化、糖新生系遺伝子発現ならびに血中・脾臓中の免疫細胞の分布について解析した。また、アルツハイマー病モデルマウスでは脳内アミロイドプラーク形成前の3ヶ月齢においてすでに耐糖能が低下しており、血管内皮細胞特異的の老化アルツハイマー病モデルマウスではそれが軽減していることを見出した。

ケモカイン受容体CCR4のノックアウトマウスと動脈硬化モデルマウスを交配して作成したダブルノックアウトマウスとコントロール動脈硬化モデルマウスから制御性T細胞を分離し、動脈硬化モデルマウスに細胞移入を行い、動脈硬化抑制作用について評価した。ダブルノックアウトマウスの制御性T細胞を移入したマウスでは、コントロールマウスの制御性T細胞を移入したマウスと比較して動脈硬化病変の形成は有意に促進されており、制御性T細胞による動脈硬化の抑制においてCCR4は重要な役割を果たすことが示された。共培養実験により、制御性T細胞はCCR4を介して炎症性T細胞の活性化を抑制することを見出した。

動脈硬化モデルマウスにおいて、282 nmの波長の紫外線B波照射は、制御性T細胞を全身で増加させることで動脈硬化病変の形成を抑制した。この紫外線B波照射により、制御性T細胞の免疫抑制能力は増強されることを見出した。さらに、質量分析を用いて皮膚の脂質代謝物の測定を行い、この波長の紫外線B波照射により、皮膚における炎症性脂質代謝物の産生は抑制され、抗炎症性脂質代謝物の産生が増加することを見出した。以上の研究成果について原著論文として報告した。

< 研究論文 >

著者名	論文標題		
Horibe S, Emoto T, Mizoguchi T, Tanaka T, Kawauchi S, Sasaki N, Yamashita T, Ikeda K, Emoto N, Hirata KI, Rikitake Y	Endothelial senescence alleviates cognitive impairment in a mouse model of Alzheimer's disease.		
雑誌名	巻	発行年	ページ
Glia	72	2024	51-68

著者名	論文標題		
Tanaka T, Sasaki N, Krisnanda A, Shinohara M, Amin H.Z, Horibe S, Itoh K, Iwaya M, Fukunaga A, Hirata KI, Rikitake Y	Novel UV-B phototherapy with a light-emitting diode device prevents atherosclerosis by augmenting regulatory T-cell responses in mice.		
雑誌名	巻	発行年	ページ
J Am Heart Assoc	13	2024	e031639

< 総説 >

著者名	論文標題		
力武 良行	脳微小血管周囲へのアクアポリン 4 の局在に及ぼす血管内皮細胞老化の影響		
雑誌名	巻	発行年	ページ
ファルマシア	59	2023	730-734

< 学会発表 >

発表者	学会名		
佐々木直人、田中亨、Aga Krisnanda、篠原正和、福永淳、力武良行	第45回日本光医学・光生物学会		
タイトル	開催日	開催場所	
特定波長の紫外線 B 波照射による動脈硬化抑制機序の解明	2023年6月24日	出雲	

発表者	学会名		
佐々木直人、田中亨、力武良行	第55回日本動脈硬化学会総会・学術集会		
タイトル	開催日	開催場所	
動脈硬化性疾患とがんにおける T 細胞免疫応答の役割の違い	2023年7月8日	宇都宮	

発表者	学会名		
佐々木直人、田中亨、Aga Krisnanda、篠原正和、伊藤謙、堀部紗世、福永淳、力武良行	第 51 回日本臨床免疫学会総会		
タイトル		開催日	開催場所
特定波長の紫外線 B 波を用いた新規動脈硬化治療法の開発		2023 年 10 月 6 日	東京

発表者	学会名		
伊藤謙、佐々木直人、田中亨、Aga Krisnanda、堀部紗世、平田健一、力武良行	第 73 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
特定波長の紫外線 B 波による抗動脈硬化作用 動脈硬化モデルアポリポ蛋白 E 遺伝子欠損マウスを用いた解析		2023 年 10 月 14 日	神戸

発表者	学会名		
伊藤謙、佐々木直人、田中亨、Krisnanda Aga、堀部紗世、平田健一、力武良行	日本薬学会第 144 年会		
タイトル		開催日	開催場所
特定波長の紫外線 B 波照射療法は動脈硬化モデルマウスにおいて抗炎症性免疫応答の増強により病変形成を抑制する		2024 年 3 月 30 日	横浜

発表者	学会名		
堀部紗世、江本拓央、田中亨、河内正二、佐々木直人、山下智也、池田宏二、江本憲昭、平田健一、力武良行	日本薬学会第 144 年会		
タイトル		開催日	開催場所
血管内皮細胞老化を介したマイクログリアの機能変容はアルツハイマー病モデルマウスにおける認知機能低下を抑制する		2024 年 3 月 30 日	横浜

発表者	学会名		
山田夏華、堀部紗世、北野多恵子、土橋侑香、竹中理砂、田中亨、河内正二、佐々木直人、池田宏二、江本憲昭、平田健一、力武良行	日本薬学会第 144 年会		
タイトル		開催日	開催場所
血管内皮細胞老化によるアルツハイマー病モデルマウスの糖代謝異常の軽減		2024 年 3 月 30 日	横浜

