

共同研究 研究紀要

2012

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。

2011（平成 23）年度共同研究（研究期間 2011.4.1 ～ 2012.3.31）

承認番号	共同研究課題名（研究テーマ）	研究代表者
1	合成糖鎖を用いた硫酸化グリコサミノグリカンの生合成と機能の研究	生化学研究室 教授 北川 裕之
2	遺伝子操作による臨床診断用抗体の高性能化と実用化	生命分析化学研究室 教授 小林 典裕
3	R X R 選択的アゴニストを指向した新規レチノイドの開発	生命有機化学研究室 教授 和田 昭盛
4	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
5	ビタミンK生合成酵素の高次構造機能解析	衛生化学研究室 教授 岡野登志夫
6	ジホスホン酸塩によるカテキンおよびその関連化合物のリン酸化	機能性分子化学研究室 教授 中山 尋量
7	黄体ホルモン製剤投与による早産児の晩期循環不全の予防効果に関する研究	病態生化学研究室 准教授 小林 吉晴
8	地衣菌の単離培養による新規有用物質の生産と培養条件の検討	薬化学研究室 教授 棚橋 孝雄
9	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
10	生体における分泌因子の役割の解明	微生物化学研究室 准教授 小西 守周
11	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
12	AA アミロイドーシス発症の分子基盤の解明	薬品物理化学研究室 教授 向 高弘
13	中成薬およびその構成生薬の生物活性に関する研究	生薬化学研究室 教授 守安 正恭
14	ホスファチジルエタノールアミンメチル基転移酵素発現による細胞膜胆汁酸耐性の変化に関する研究	製剤学研究室 教授 北河 修治
15	ヘリコバクター・ピロリ産生トキシンの摂食調節に対する影響	医療薬学研究室 教授 水野 成人

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 棚橋孝雄 様

研究代表者所属・職 生化学研究室・教授
研究代表者氏名 北川 裕之

平成23年10月11日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成24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は、β-グルクロン酸 (β-GlcA) と β-N-アセチルガラクトサミン (β-GalNAc) で構成された二糖単位の繰返し構造をもつ。また、構成糖の水酸基に結合する硫酸基の数や位置の違いによって、様々な硫酸化パターンを与える。コンドロイチン硫酸によって発現される生理活性には、この硫酸化パターンが密接に関係してくる。一方、天然に存在するコンドロイチン硫酸は、硫酸化パターンの異なる二糖単位の共重合体であるため、天然から単一の硫酸化パターンで構成されたコンドロイチン硫酸オリゴ糖を得ることはたいへん困難である。そのため、特異な生理活性を与えるコンドロイチン硫酸オリゴ糖の構造活性相関を知るためには、特定の硫酸化パターンをもつコンドロイチン硫酸オリゴ糖を化学合成によって正確に得る必要がある。本研究では、いくつかの硫酸化パターンをもつコンドロイチン硫酸四糖を化学合成し、糖鎖の微細構造が Midkine との相互作用に与える影響を明らかにすることとした。</p> <p>β-GalNAc-β-GlcA からなる二糖ユニット間の縮合により効率的にコンドロイチン硫酸四糖骨格を得た。コンドロイチン硫酸と Midkine との相互作用を確認する方法として、BIACORE システムを使用する。そのため、コンドロイチン硫酸四糖の還元末端に水溶性リンカーを導入し、その末端をビオチン化することによって、糖鎖を固相担体に保持できるように設計した。このようにして得られたコンドロイチン硫酸の硫酸化パターンの違いによって、Midkine との相互作用に有意な差がみられた。今後は、このビオチン化されたコンドロイチン硫酸を用いて、抗糖鎖抗体の反応性や Midkine 以外の増殖因子や形態形成因子などとの相互作用の解析を行う。</p> <p>1) Tamura, J., et al. (2012) Bioorg. Med. Chem. Lett. 22, 1371-1374.</p>					

〈研究論文〉

著者名	論文標題			
Tamura, J., Tsutsumishita, N., Nakao, Y., Kawano, M., Kato, S., Takeda, N., Nadanaka, S., and Kitagawa, H.	Synthesis and interaction with midkine of biotinylated chondroitin sulfate tetrasaccharides.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Bioorg. Med. Chem. Lett.	22(3)	2012	1371-1374	

〈学会発表〉

発表者	学会名		
Nadanaka, S., Kinouchi H., Taniguchi-Morita, K., Tamura, J., and Kitagawa, H.	The 7 th International Conference on Proteoglycans		
タイトル	開催日	開催場所	
Down-regulation of Chondroitin 4-O-sulfotransferase-1 by Wnt Signaling Triggers Diffusion of Wnt-3a	2011.10.16-20	Sydney	

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 棚橋孝雄様

研究代表者所属・職 生命分析化学研究室・教授
研究代表者氏名 小林典裕

平成23年10月11日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成24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	遺伝子操作による臨床診断用抗体の高性能化と実用化				
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
	小林典裕	神戸薬科大学	薬学部	教授	研究の統括
	大山浩之	神戸薬科大学	薬学部	助教	変異抗体ライブラリーの作成と分析系の構築
	森田いずみ	神戸薬科大学	薬学部	助手	変異抗体の結合能の解析
	丹羽俊文	東北大学大学院	医学系研究科・保健学専攻	准教授	分析系の臨床応用
共同研究の成果					
<p>臨床診断マーカーの検出と定量に免疫測定法は不可欠である。本法における「分析試薬」であるモノクローナル抗体は、現在、B細胞ハイブリドーマ法により調製されているが、動物の免疫応答が遺伝的統御を受けるため、必ずしも実用的な抗体は得られない。そこで、「試験管内分子進化」により、実用的な診断用変異抗体の創製に取り組んだ。婦人科領域の診断マーカーであるエストラジオール-17β (E₂) を取りあげ、変異抗体フラグメントの分子集団 (ライブラリー) を作製した。先に当研究室で樹立した、マウス抗 E₂ 抗体分泌ハイブリドーマから可変部ドメイン V_H と V_L の遺伝子をクローニングし、これらを連結して抗体一本鎖 Fv フラグメント (scFv) 遺伝子を構築した。この「野生型 scFv 遺伝子」にランダム変異を導入したのち、その産物 (scFv タンパク質) をファージ提示し、得られるファージのライブラリーから、当研究室独自のパンニング法により実用的な親和力と特異性を保有する scFv 提示ファージを選択・単離した。その結果、出発物質であるマウス抗体の Fab フラグメントに比べて 250 倍大きな親和定数 K_a を示す変異 scFv を得ることができた。本 scFv を組み込んだ ELISA 系は、Fab を用いる系に比べて 30 倍以上高感度であるうえ特異性も良好で、ヒト血清 E₂ レベルの測定において信頼性の高い測定結果を与えた。この研究成果は遺伝子操作による変異抗体が十分な実用性を有することを実証し、臨床診断薬の開発に携わる研究開発機関やメーカーが変異抗体のポテンシャルを認識する契機になる、と期待している。</p>					

〈研究論文〉

著者名	論文標題			
Kobayashi N., Odaka K., Uehara T., Imanaka-Yoshida K., Kato Y., Oyama H., Tadokoro H., Akizawa H., Tanada S., Hiroe M., Fukumura T., Komuro I., Arano Y., Yoshida T., and Irie T.	Toward in vivo imaging of heart disease using a radiolabeled single-chain Fv fragment targeting Tenascin-C.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
<i>Anal. Chem.</i>	83(23)	2011	9123-9130	

著者名	論文標題			
Kobayashi N.; Banzono E.; Shimoda Y.; Oyama H.; Kunihiro T.; Morita I.; Ohta M.	A monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay for human urinary cotinine to monitor tobacco smoke exposure.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
<i>Anal. Methods</i>	3(9)	2011	1995-2002	

〈総説〉

著者名	論文標題			
Kobayashi N.; Oyama H.	Antibody engineering toward high-sensitivity high-throughput immunosensing of small molecules.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
<i>Analyst</i>	136(4)	2011	642-651	

〈学会発表〉

発表者	学会名		
大山 浩之、田中 瑛梨、丹羽 俊文、小林 典裕	日本分析化学会第 60 年会		
タイトル	開催日	開催場所	
β 型抗イデオタイプ抗体 scFv - 酵素融合体を用いるハプテンイムノメトリックアッセイの試み	2011.09.15	名古屋	

発表者	学会名		
大山 浩之、寺本 隆佑、宮岡 広子、森田いずみ、小林 典裕	日本分析化学会第 60 年会		
タイトル	開催日	開催場所	
部位特異的変異導入による抗コチニン scFv の試験管内親和性成熟の試み	2011.09.15	名古屋	

発 表 者	学 会 名		
大山 浩之、山口 修子、 中田 茂利、小林 典裕	日本薬学会第 132 年会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
実用診断試薬を創出する試験管内分子進化 (3). 抗エストラジオール変異 scFv の諸性質		2012.03.29	札幌

発 表 者	学 会 名		
森田いずみ、大山 浩之、 石井 香好、渡部 芳郎、 太田 光熙、小林 典裕	日本薬学会第 132 年会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
実用診断試薬を創出する試験管内分子進化 (4). 抗コチニン変異 scFv の諸性質		2012.03.29	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 棚橋孝雄様

研究代表者所属・職 生命有機化学研究室・教授
研究代表者氏名 和田 昭盛

平成23年10月11日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成24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	RXR 選択的アゴニストを指向した新規レチノイドの開発				
構 成 員	氏名	所属学校・研究機関等名	学部・学科等名	職名	研究の役割分担
	和田 昭盛	神戸薬科大学	薬学部	教授	研究の統括糖鎖合成
	沖津 貴志	神戸薬科大学	薬学部	講師	アゴニストの合成
	加来田 博貴	岡山大学	医歯薬学総合研究科	准教授	生物活性の測定・評価
共同研究の成果					
<p>核内受容体 RXR (レチノイド X 受容体) は 9cRA (9-cis-レチノイン酸) をリガンドとし、他の核内受容体とヘテロダイマーを形成して種々の遺伝子応答配列に結合し、リガンド依存的に遺伝子発現を転写レベルで調節する。すなわち、RXR リガンド分子は各種ヘテロダイマーと結合して脂質代謝異常症や糖尿病のような生活習慣病の改善に効果を示すことや、ガンやアルツハイマーに対する治療薬候補品として期待されていることから、RXR を標的とした医薬品の創出が近年検討されている。これまでに申請者らは 9cRA を母核とする誘導体の構造活性相関研究を系統的に行っており、疎水性ユニットであるシクロヘキセン部を各種環状モノテルペノイドに置き換えた誘導体において高い RXR アゴニスト活性を示すことを見出している (<i>Bioorg. Med. Chem.</i> 2011, 19, 2939)。環状モノテルペノイドの中でも、(-)-メントンを組み込んだ誘導体 MentViMe に強力な RXR アゴニスト活性が見られたことから、更なる活性の増強と物理的安定性の向上を目指し、(-)-メントンとベンゼン環が縮環した二環性ハイブリッド誘導体 MentPhMe 及び MentPhEt を新規 RXR アゴニストとしてデザインし、その合成法の確立と生物活性の評価を行った。</p> <p>合成法としては、(-)-メントンから 4 工程で脂溶性部位に相当するトリフラート体を、プロパルギルアルコールから 3 工程で共役スズエステルを調製し、それらを我々が見出した CsF によって促進される Stille カップリング条件 (<i>Chem. Commun.</i> 2008, 6330) で連結し、最後に加水分解することで所望の 9-cis-レチノイン酸誘導体 MentPhMe 及び MentPhEt の合成を達成した。</p> <p>MentPhMe について RXR 及び RAR 転写活性能をレポーター遺伝子アッセイにて測定した結果、RXR 及び RAR 活性化能がいずれのアイソタイプ (α, β, γ) においても EC₅₀ 値が 3-20 nM と非常に強力なアゴニスト活性を有し、MentViMe に比較して活性が増強されることを見出した。今後、MentPhEt の RXR 及び RAR アゴニスト活性評価を行い、更に PPAR/RXR や LXR/RXR などのヘテロダイマーに対する転写活性評価を併せて実施する予定である。</p>					

〈特 許〉

著 者 名	著 書 名		
和田 昭盛、沖津 貴志、 加来田博貴	テルペノイド由来レチノイド化合物		
産業財産権の種類		出願年月日	番号
特 許		2012.02.29	特願 2012-043411

〈学会発表〉

発 表 者	学 会 名		
沖津 貴志、島 浩一、 山田 翔也、加来田博貴、 和田 昭盛	日本薬学会第 132 年会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
メントン由来の二環性骨格を有する 9- <i>cis</i> -レチノイン酸誘導体の合成		2012.03.30	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 棚橋孝雄 様

研究代表者所属・職 薬品化学研究室・教授

研究代表者氏名 宮田 興子

平成23年10月11日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成24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	講師	候補化合物の合成
	松野 研司	静岡県立大学	薬学研究科	講師	候補化合物の抗癌活性評価
共同研究の成果					
<p>はじめに、当研究室で開発したドミノ型ラジカル反応を用いて特異な縮環様式をもつ含窒素複素環化合物の合成を様々な条件で検討した。その結果、トリブチルスズヒドライド存在下、ラジカル開始剤としてアゾビスイソブチロニトリルを用いる条件において、期待した含窒素複素環化合物が効率良く得られることを見出した。合成した含窒素複素環化合物は、抗癌活性を有することが期待される新規化合物であるが、立体異性体の混合物であり、また、アミノ基が保護基で保護されている。そこで、含窒素複素環化合物の立体異性体の分離、脱保護および構造修飾を検討した。立体異性体の分離に関しては、カラムクロマトグラフィーの溶媒を検討し、最適溶媒を見出すことができ、分離に成功した。また、構造修飾に関しては、含窒素複素環化合物に含まれるアミノ基の修飾を検討した。アミノ基の保護基を常法に従って脱保護した後、様々な置換基をもつイソシアネートを用いて、アミノ基をアシル化することで、多様な尿素誘導体の合成に成功した。今後は、これらの尿素誘導体の細胞増殖阻害活性試験を行う予定である。</p>					

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 棚橋孝雄 様

研究代表者所属・職 衛生化学研究室・教授

研究代表者氏名 岡野 登志夫

平成23年10月11日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成24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 生合成酵素の高次構造機能解析				
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
	常磐 広明	立 教 大 学	薬 学 部	教 授	計算科学的解析
	中川 公恵	神戸薬科大学	薬 学 部	准教授	分子生物学的解析
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。これは、生体内で PK や MK-n から MK-4 が変換生成しているからである。この変換反応を担う鍵酵素が、申請者らにより Ubia prenyltransferase domain containing 1 (UBIAD1) であることが明らかにされている。しかし、UBIAD1 の酵素化学的性質や機能は未だ明らかにされていない。そこで、我々は、UBIAD1 の酵素化学的性質や機能を解析し、さらに基質となるビタミン K 同族体と UBIAD1 との結合様式および反応様式を明らかにすることを目的に当該共同研究を行うこととした。</p> <p>岡野・中川は、分子細胞生物学的手法により UBIAD1 の酵素化学的性質の解明を目指し、常磐は、UBIAD1 と類似のプレニル化活性を持つ既知の酵素の結晶構造をもとに、UBIAD1 の構造をモデリングし、基質とタンパク質との相互作用を計算化学的な解析を行った。岡野らは、UBIAD1 の点変異体を昆虫細胞 (Sf9 細胞) にバキュロウイルスを用いて発現させ、野生型および点変異 UBIAD1 の酵素化学的性質を解析することにより、UBIAD1 の酵素活性中心や基質認識領域の解析を行った。その結果、種を超えて高度に保存されているアミノ酸を欠損あるいは変異させることにより、UBIAD1 の酵素活性が著しく低下することが明らかとなった。また、様々な構造の基質リガンドを用いて、MK-4 への変換活性を評価することにより、UBIAD1 の基質認識特性の解析を行った結果、特定の構造を基質として認識し、MK-4 へ変換することを明らかにするとともに、UBIAD1 の活性を特異的に阻害する化合物を見いだした。常磐は、MK-4 が結合することが明らかとなっている核内受容体 SXR と MK-4 の結合構造の解析を行い、SXR のリガンド結合領域における MK-4 の結合様式を計算科学的に導きだした。また、プレニル化活性を持つ他の酵素の結晶構造を基に、UBIAD1 の分子構造を設計・モデリングし、UBIAD1 に結合する基質リガンドとの結合様式を解析した。現在、岡野らによる点変異 UBIAD1 の酵素活性評価結果と分子モデリング結果をもとに、UBIAD1 酵素によるメナキノノン-4 の生合成反応機構ならびに酵素活性中心の構造解析を行っている。今後さらに計算化学的アプローチにより、UBIAD1 による MK-4 生合成の反応機構の解析を行う。両グループの解析結果を統合することにより、UBIAD1 の酵素化学的性質や酵素活性中心、分子構造、MK-4 生合成機構を解明できることが期待される。</p>					

〈研究論文〉

著者名	論文標題			
Suhara Y, Hanada N, Okitsu T, Sakai M, Watanabe M, Nakagawa K, Wada A, Takeda K, Takahashi K, Tokiwa H, Okano T	Structure-activity relationship of novel menaquinone-4 analogues: modification of the side chain affects their biological activities.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
J Med Chem.	55(4)	2012	1553-8	

著者名	論文標題			
Nickerson ML, Bosley AD, Weiss JS, Kostiha BN, Hirota Y, Brandt W, Esposito D, Kinoshita S, Wessjohann L, Morham SG, Andresson T, Kruth HS, Okano T, Dean M.	The UBIAD1 prenyltransferase links menaquinone-4 synthesis to cholesterol metabolic enzymes.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Hum Mutat.		2012	In press	

著者名	論文標題			
Suhara Y, Watanabe M, Motoyoshi S, Nakagawa K, Wada A, Takeda K, Takahashi K, Tokiwa H, Okano T	Synthesis of New Vitamin K Analogues as Steroid and Xenobiotic Receptor (SXR) Agonists: Insights into the Biological Role of the Side Chain Part of Vitamin K.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
<i>J. Med. Chem.</i>	54(13)	2011	4918-22	

著者名	論文標題			
Suhara Y, Watanabe M, Nakagawa K, Wada A, Ito Y, Takeda K, Takahashi K, Okano T	Synthesis of novel vitamin K2 analogues with modification at the ω -terminal position and their biological evaluation as potent steroid and xenobiotic receptor (SXR) agonists.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
<i>J. Med. Chem.</i>	54(12)	2011	4269-73	

〈総説〉

著者名	論文標題			
須原 義智、渡辺 雅人、 中川 公恵、和田 昭盛、 武田 収功、高橋 和彦、 岡野登志夫	側鎖末端部を修飾した新規ビタミン K 誘導体の合成と核内受容体 SXR を介した転写活性の検討			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
ビタミン	86(9)	2012	493-8	

著者名	論文標題		
須原 義智、元吉沙也加、 廣田 佳久、澤田 夏美、 中川 公恵、常盤 広明、 岡野登志夫	核内受容体 SXR (Steroid and Xenobiotic Receptor) のアゴニスト活性を持つ 新規ビタミン K 誘導体の合成と構造活性相関の検討		
雑誌名	巻	発行年	ページ
薬学雑誌	132(8)	2012	881-6

著者名	論文標題		
中川 公恵	哺乳類におけるメナキノン 4 生合成の分子機構と生物学的意義		
雑誌名	巻	発行年	ページ
腎と骨代謝	24(3)	2011	187-194

著者名	論文標題		
中川 公恵	ビタミン D およびビタミン K を分子基盤とするがんおよび骨粗鬆症治療薬の 開発研究		
雑誌名	巻	発行年	ページ
ビタミン	85(1)	2011	9-17

著者名	論文標題		
中川 公恵、鎌尾 まや、 津川 尚子、岡野登志夫	化学的アプローチによるビタミン K の生理作用の解析と生理活性物質への応 用		
雑誌名	巻	発行年	ページ
ビタミン	85(5・6)	2011	271-279

著者名	論文標題		
岡野登志夫、中川 公恵、 廣田 佳久、澤田 夏美	ビタミン K の代謝活性化と骨作用の分子機構 骨形成を助けるビタミン K2 変換酵素の発見		
雑誌名	巻	発行年	ページ
化学と生物	49(6)	2011	372-374

〈著書〉

著者名	著書名		
中川 公恵	「ビタミンの科学と最新応用技術」 ビタミン K2 誘導体の開発		
出版社	発行年	ページ	
シーエムシー出版	2011	115-123	

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 棚橋孝雄 様

研究代表者所属・職 機能性分子化学研究室・教授
研究代表者氏名 中山 尋量

平成23年10月11日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成24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		ジホスホン酸塩によるカテキンおよびその関連化合物のリン酸化			
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
	中山 尋量	神戸薬科大学	薬学部	教授	総括
	成相 裕之	神戸大学	工学部	准教授	リン酸化剤の調製
	前田 秀子	神戸薬科大学	薬学部	助教	リン酸化反応
共同研究の成果					
<p>本研究ではジホスホン酸塩 (DP) によるカテキンのリン酸化反応を検討した。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、カテキンの 3' または 4' 位の OH 基にホスホン酸が結合した二種類の生成物が得られることがわかった。カテキンには、3、5、7 位にも OH 基があるが、DP と反応するのは 3' および 4' 位の OH 基であることがわかった。HPLC により、生成物の収率を求め、最適反応条件を検索した。カテキンと DP とを 0.1 mol/L : 0.1 mol/L (1 : 1) ~ 0.1 mol/L : 1.5 mol/L (1 : 15) と変化させ、pH 6、25 °C で反応を行うと、DP 過剰の方が、収率が高いことがわかった。しかしながら、モル比 1 : 10 と 1 : 15 では収率が変わらないため、1 : 10 で良いと判断した。反応温度は、10 °C ではカテキンが析出するため、25 および 40 °C で行った。40 °C では、反応速度が速いが生成物の分解が速かったため、温度は 25 °C が良いことがわかった。次に、反応溶液の pH の影響について検討した。混合割合 1 : 10、25 °C、pH 5 の場合、10 日後でも収率 14 % であった。一方、pH 7 および 8 では、pH 6 の場合と比べて反応速度が大きいが、反応開始直後から反応溶液が着色し、反応生成物の安定性も悪いことがわかった。従って、DP によるカテキンのホスホニル化の最適反応条件は、モル比 1 : 10、25 °C、pH 6 であることが明らかとなった。</p> <p>DP によるカテキンのリン酸化反応は、生成物が生成した後に生成物が分解するため、生成物の安定性を維持することが必要だ。そこで、カテキンと DP との混合割合 1 : 10、pH 8 で 1.5 時間反応を行った反応溶液を 25 °C で pH 3、5 または 8 に保ち、生成物の収率の経時変化を調べた。pH 8 では、生成物は急激に分解し、9 日後には 2 % に減少した。pH 3、5 では、pH 8 に比べゆるやかに減少した。従って、pH を下げると生成物の分解を防ぐことができることがわかった。同様に、pH 8 で 1.5 時間反応を行った反応溶液を 10 °C、pH 3 に保ち、生成物の収率の経時変化を検討したところ、ホスホニル化された生成物は 10 °C でも析出しなかったことから、反応温度を 25 から 10 °C に下げると生成物の安定性はさらに高くなることがわかった。</p> <p>さらに、得られた生成物の単離精製についても検討を行った。まず初めに、陰イオン交換樹脂によるカラムクロマトグラフィーを行ったが、生成物の単離が難しかった。そこで、逆相シリカカラムクロマトグラフィーを用い、単離を行った。二種類の生成物を分離することは出来なかったが、カテキンのリン酸化生成物を単離する方法を確立した。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、DP によるカテキンのリン酸化が新規なリン酸化ポリフェノールを得る簡便な合成法であるといえる。リン酸基を導入したポリフェノールは、生体内でホスファターゼにより分解されるため、生物学的利用率は変わらないと考えられる。また、リン酸基を導入したポリフェノールは、水溶性の向上が期待されたため、医薬品、食品、サプリメントへの応用が期待される。</p>					

〈研究論文〉

著 者 名	論 文 標 題			
H. Maeda, Y. Terashita, T. Matsushima, T. Nagai, M. Tsuhako, H. Nariai, H. Nakayama	Phosphonylation of catechin with sodium diphosphonate in aqueous solution			
雑 誌 名	卷	発行年	ページ	
Phosphorus Res. Bull.	27	2012	6-10	

〈学会発表〉

発 表 者	学 会 名		
前田 秀子、寺下 陽子、 津波古充朝、中山 尋量	第 21 回無機リン化学討論会		
タ イ ト ル	開催日	開催場所	
ジホスホン酸塩によるカテキンのホスホニル化反応	2011.9.30	名古屋	

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 棚橋孝雄 様

研究代表者所属・職 病態生化学研究室・准教授
研究代表者氏名 小林 吉晴

平成23年10月11日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成24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	黄体ホルモン製剤投与による早産児の晚期循環不全の予防効果に関する研究				
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
	小林 吉晴	神戸薬科大学	薬 学 部	准教授	代表者
	多河 典子	神戸薬科大学	薬 学 部	講 師	分担者
	楠田 聡	東京女子医科大学	母子総合医療センター	教 授	分担者
共同研究の成果					
<p>神戸薬科大学・病態生化学研究室と東京女子医科大学・母子総合医療センターはこれまで連携しながら、早産児の晚期循環不全の発症機序の解明の研究に取り組んで来た。これまでの研究で我々は、晚期循環不全を発症した患児では患児のストレスに見合ったコルチゾールの生合成が行われていないこと、しかも、コルチゾールの生合成の前駆体となるプロゲステロンが患児で低下している事を明らかにした (Pediatr. Res. 63, 686 (2008))。本研究は晚期循環不全の発症予防に黄体ホルモン製剤であるプロゲステロンが有効であることを立証し、晚期循環不全の予防法を確立することを目的とし、研究を行った。東京女子医科大学・母子総合医療センターで出生した在胎期間28週未満の18例の早産児に対し、生直後とその後1週間に1回プロゲステロン製剤の筋注を行った。修正週数35週まで投与を続け、晚期循環不全の発症率の変化を統計的に検討した。今回のプロゲステロン投与量は、安全性を考慮し、筋注用の製剤における設定可能な最低投与量である0.1 ml/kg/dose (2.5 mg/kg/dose) とした。なお、対象者は製剤投与に関し保護者に文書での同意の得られた児である。2週間に1回、採血し血算、肝機能、腎機能、電解質を測定した。神戸薬科大学ではこれら血液検体中のステロイドホルモン濃度をGC/MS法やELISA法により測定した。投与期間中に晚期循環不全と診断され、ステロイド投与基準を満たした症例を晚期循環不全群とし、発症率を検証した。さらに、プロゲステロン製剤投与の安全性についても確認を行った。プロゲステロン投与群18例中9例、非投与群17例中4例で晚期循環不全の発症が認められた。今回の結果から、投与したプロゲステロン量が十分ではなかったのではないかと考えられた。しかし、プロゲステロン投与の有無にかかわらず、晚期循環不全発症児で血中コルチゾールの値の上昇が認められず、以前行った結果と同様に患児のストレスに見合ったコルチゾールの生合成が行われていないことを確認することができた。また、今回のプロゲステロン投与量では、特筆する副作用は認められなかった。今後、プロゲステロン投与量を増量し、プロゲステロンの投与の意義についてさらに検討する予定である。</p>					

〈研究論文〉

著 者 名	論 文 標 題			
小林 吉晴、多河 典子、 織田 祥子、中原友里恵、 増本 健一、青柳 裕之、 楠田 聡	GC/MS を用いた新生児の副腎皮質機能検査			
雑 誌 名	巻	発行年	ページ	
日本未熟児新生児学会誌	24	2012	6-10	

〈学会発表〉

発 表 者	学 会 名		
N. Tagawa, Y. Kobayashi, S. Oda, H. Aoyagi, K. Masumoto, S. Kusuda	15 th International & 14 th European Congress of Endocrinology		
タ イ ト ル	開催日	開催場所	
Dysfunction of adrenal steroidgenesis in preterm infants with late-onset circulatory collapse	May 6, 2012	Florence, Italy	

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 棚橋孝雄様

研究代表者所属・職 薬化学研究室・教授
研究代表者氏名 棚橋 孝雄

平成23年10月11日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成24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	地衣菌の単離培養による新規有用物質の生産と培養条件の検討				
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
	棚橋孝雄	神戸薬科大学	薬学部	教授	統括
	竹仲由希子 濱田信夫	神戸薬科大学 大阪市立環境科学研究所	薬学部 微生物保健グループ	講師 研究副主幹	成分の構造決定と培養条件の検討 地衣菌の単離培養
共同研究の成果					
<p>ベトナムで採集した3種の地衣から孢子由来の地衣菌を単離培養し、代謝物の成分検索を行った。それぞれの培養地衣菌から既知物質とともに新規化合物を単離し、各種スペクトルデータの解析および化学的手法を用いて構造決定を行った。</p> <p><i>Sarcographa tricos</i> の培養地衣菌からは、ergosterol peroxide と6種の既知 eremophilane 型セスキテルペン、sporogen-AO1, dihydrosporogen-AO1, petasol, isopetasol, JBIR-27, 1β-hydroxypetasol とともに、3種の新規セスキテルペンを単離し、構造決定した。eremophilane 型セスキテルペンを培養地衣菌から単離したのは今回が最初の例である。</p> <p><i>Graphis vestitoides</i> の培養地衣菌からは、5種の既知イソクマリン 6,8-dihydroxy-3-(hydroxymethyl) isocoumarin, 4,6-dihydroxy-3,9-dehydromellein, cis-4,6-dihydroxymellein, trans-5,7-dihydroxy-3-(1-hydroxyethyl)phthalide, cis-5,7-dihydroxy-3-(1-hydroxyethyl)phthalide とともに、1種の新規イソクマリンと1種の新規14員環マクロライドを単離し、構造決定した。14員環マクロライドを地衣体や培養地衣菌から単離したのは今回が最初の例である。</p> <p><i>Trypethelium eluteriae</i> の培養地衣菌からは、既に <i>T. eluteriae</i> の培養地衣菌から単離された trypethelon methyl ether とともに、3種の新規関連化合物を単離し、構造決定した。</p> <p>さらに、単離した化合物のうち、比較的多量に得られた dihydrosporogen-AO1, petasol, 4,6-dihydroxy-3,9-dehydromellein, 6,8-dihydroxy-3-(hydroxymethyl)isocoumarin のポリメラーゼ α, β および κ に対する阻害活性を評価したが、強い活性は認められなかった。</p>					

〈研究論文〉

著者名	論文標題			
Duy Hoang Le, Yukiko Takenaka, Nobuo Hamada and Takao Tanahashi	Eremophilane-type sesquiterpenes from the cultured lichen mycobionts of <i>Sarcographa tricos</i> a			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Phytochemistry		2012	doi:10.1016/ j.phytochem. 2012.01.009	

著者名	論文標題			
Duy Hoang Le, Yukiko Takenaka, Nobuo Hamada, Hiromi Miyawaki, and Takao Tanahashi	A 14-Membered Macrolide and Isocoumarin Derivatives from the Cultured Lichen Mycobionts of <i>Graphis vestitoides</i>			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Chem. Pharm. Bull.	61	2013	358-362	

〈学会発表〉

発表者	学会名		
Duy Hoang Le, Yukiko Takenaka, Nobuo Hamada, Takao Tanahashi	日本地衣学会第10回大会		
タイトル	開催日	開催場所	
A 14-membered macrolide and isocoumarins from the cultured mycobionts of the Vietnamese lichen <i>Graphis vestitoides</i>	2011年7月10日	神戸	

発表者	学会名		
竹仲由希子、 Le Hoang Duy、 棚橋 孝雄、濱田 信夫	日本生薬学会第59回年会		
タイトル	開催日	開催場所	
培養地衣菌 <i>Sarcographa tricos</i> a の生産するセスキテルペン類について	2012年9月18日	木更津	

発表者	学会名		
竹仲由希子、内藤 裕樹、 棚橋 孝雄、濱田 信夫、 Le Hoang Duy	日本薬学会第133年会		
タイトル	開催日	開催場所	
<i>Trypethelium eluteriae</i> 単離培養地衣菌の成分研究	2013年3月29日	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 棚橋孝雄様

研究代表者所属・職 臨床薬学研究室・教授

研究代表者氏名 江本 憲昭

平成23年10月11日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成24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
	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	助手	データベースの構築
	平田 健一	神戸大学大学院	医学研究科	教授	臨床データ解析
共同研究の成果					
<p>我々は様々な病態におけるエンドセリンの生理学的・病理学的役割を解明し、将来の臨床試験の計画・遂行に有益な知見を集積し、新たな治療概念を構築することである。</p> <p>具体的には以下に挙げる4つの病態において研究を行い学会発表ならびに論文発行を行った。</p> <p>1. 肺高血圧：エンドセリン-1 (ET-1) 欠損マウスならびにエンドセリン変換酵素 (ECE) 欠損マウスを用いて、エンドセリン系の抑制が低酸素誘発性肺高血圧モデルにおいて有意に肺高血圧の増悪を押さえている事を確認し、その機序が血管のリモデリング抑制である事を明らかにした。特に ECE 抑制が ET-1 経路の抑制以外に様々な血管拡張性ペプチド賦活作用を有している事を見出し、現行のエンドセリン受容体拮抗薬とは異なる治療戦略となる可能性が期待される。本研究報告により2011年国際エンドセリン学会で Young investigator award を獲得した。</p> <p>2. 肺線維症：プレオマイシン誘発性肺線維症マウスモデルにおいて、エンドセリンが線維化促進・炎症亢進の病的因子として働いている事を明らかにした。線維化抑制作用は ET-1 欠損マウスより ECE 欠損マウスの方が強く、ECE 阻害薬がエンドセリン受容体拮抗薬が臨床肺線維症患者に無効な現状に対する新たな切り札となる可能性が示唆される。2013年 Am J Respir Cell Mol Biol に投稿しアクセプトされた。</p> <p>3. 腎不全：糖尿病性腎症モデル・尿管結紮腎不全モデルをそれぞれ解析し、エンドセリン抑制による蛋白尿抑制作用や腎糸球体タコ足細胞の形態学的変化の抑制、さらに腎線維化の抑制を確認し学会報告を行った。2011年第75回日本循環器学会学術総会で Young Investigator award 優秀賞を獲得し、2012年 BBRC より論文が発表された。</p> <p>4. 心不全：大動脈結紮心不全モデル、糖尿病心筋症モデルを用いてエンドセリンのアポトーシス誘発による心抑制作用と心筋線維化抑制作用を確認し、エンドセリン抑制が異なる病態を介して心不全増悪にも抑制にも働くことを明らかにした。抗アポトーシス薬として TNF α 阻害薬を併用投与する事でアポトーシスのみを抑制し結果的にエンドセリン抑制単独群に比べて心機能を改善する事が出来た。エンドセリン受容体拮抗薬と TNF α 阻害薬併用療法という新たな治療法の可能性を示し、2011年国際エンドセリン学会で Young Investigator award を獲得した。</p> <p>以上、主に動物を使った基礎実験の成果であるが、我々は同時に現在126名の肺高血圧患者の診療を行い、治療効果をデータベース化し臨床研究も合わせて行った。心エコーにおける新たな肺高血圧モニター指標の有用性を2011年 J Am Soc Echocardiogr に発表し、またエンドセリン受容体拮抗薬の治療反応性の良し悪しに関する研究や肺動脈血管拡張術による肺血管リモデリングの寛解作用に関する研究など多くの学会発表を行っている。研究代表者である江本憲昭教授は多くの招待講演で研究成果を報告した。</p>					

〈研究論文〉

著者名	論文標題			
Anggoro B. Hartopo, Noriaki Emoto, Nur Arfian, Dwi A.A. Nugrahaningsih, Nicolas Vignon-Zellweger, Susi Heiden, Kazuhiko Nakayama, Keiko Yagi, Ken-ichi Hirata,	Endothelin-converting enzyme-1 suppression prevented bleomycin-induced lung fibrosis through limiting inflammation to fibrosis transition			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Am J Respir Cell Mol Biol		2013	In press	

著者名	論文標題			
Nakayama K, Emoto N, Suzuki Y, Vignon-Zellweger N, Yagi K, Hirata K.	Physiological relevance of hydrolysis of atrial natriuretic Peptide by endothelin-converting enzyme-1.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Kobe J Med Sci.	58	2012	E12-18	

著者名	論文標題			
Adiarto S, Heiden S, Vignon-Zellweger N, Nakayama K, Yagi K, Yanagisawa M, Emoto N.	ET-1 from endothelial cells is required for complete angiotensin II-induced cardiac fibrosis and hypertrophy.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Life Science	15	2012	651-657	

著者名	論文標題			
Arfian N, Emoto N, Vignon-Zellweger N, Nakayama K, Yagi K, Hirata K.	ET-1 deletion from endothelial cells protects the kidney during the extension phase of ischemia/reperfusion injury.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Biochem Biophys Res Commun.	425	2012	443-449	

著者名	論文標題			
Fukuda Y, Tanaka H, Sugiyama D, Ryo K, Onishi T, Fukuya H, Nogami M, Ohno Y, Emoto N, Kawai H, Hirata K.	Utility of right ventricular free wall speckle-tracking strain for evaluation of right ventricular performance in patients with pulmonary hypertension.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
J Am Soc Echocardiogr.	24	2011	1101-1108	

〈総説〉

著者名	論文標題			
Vignon-Zellweger N, Heiden S, Miyauchi T, Emoto N.	Endothelin and endothelin receptors in the renal and cardiovascular systems.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Life Science	15	2012	490-500	

著者名	論文標題		
Vignon-Zellweger N, Heiden S, Emoto N.	Renal function and blood pressure: molecular insights into the biology of endothelin-1.		
雑誌名	巻	発行年	ページ
Contrib Nephrol.	172	2011	18-34

著者名	論文標題		
江本 憲昭	肺循環・肺高血圧を識る—診断・治療の現在— エンドセリン受容体拮抗薬		
雑誌名	巻	発行年	ページ
Heart View	15	2011	67-73

〈学会発表〉

発表者	学会名		
江本 憲昭	第35回日本高血圧学会総会		
タイトル	開催日	開催場所	
エンドセリンによる心血管リモデリング—体血管と肺血管の類似点と相違点—	2012年9月20～22日	名古屋	

発表者	学会名		
谷口 悠、江本 憲昭、絹谷 洋人、中山 和彦、大竹 寛雅、新家 俊郎、志手 淳也、平田 健一	第1回日本肺循環学会		
タイトル	開催日	開催場所	
心房中隔欠損症に伴う肺高血圧症に対する「treat & repair」アプローチ	2012年9月22日	東京	

発表者	学会名		
谷口 悠、江本 憲昭、絹谷 洋人、中山 和彦、大竹 寛雅、新家 俊郎、志手 淳也、平田 健一	第1回日本肺循環学会		
タイトル	開催日	開催場所	
肺高血圧患者における、NICaS（全身バイオインピーダンス計測法）を用いた非侵襲的心拍出量評価方法の有用性	2012年9月22日	東京	

発表者	学会名		
絹谷 洋人、江本 憲昭、谷口 悠、中山 和彦、大竹 寛雅、新家 俊郎、志手 淳也、平田 健一	第1回日本肺循環学会		
タイトル	開催日	開催場所	
慢性血栓塞栓性肺高血圧症に対する肺動脈バルーン拡張術後の肺血管リモデリングの機能的・形態学的解析	2012年9月22日	東京	

発 表 者	学 会 名		
江本 憲昭	第 60 回日本心臓病学会学術集会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
エンドセリンのトランスレーショナルリサーチ分子遺伝学的研究から肺高血圧症の治療応用まで		2012年9月 14～16日	金沢

発 表 者	学 会 名		
Anggoro B. Hartopo, Noriaki Emoto, Nur Arfian, Dwi A.A. Nugrahaningsih, Nicolas Vignon- Zellweger, Susi Heiden, Kazuhiko Nakayama, Keiko Yagi, Ken-ichi Hirata	第 76 回日本循環器学会総会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Contribution of Endothelial Endothelin-1 in Right Ventricular Inflammation and Fibrosis Following Experimental Interstitial Lung Disease in Mice		2012年3月 3～4日	福岡

発 表 者	学 会 名		
Anggoro B. Hartopo, Noriaki Emoto, Nur Arfian, Dwi A.A. Nugrahaningsih, Nicolas Vignon- Zellweger, Susi Heiden, Kazuhiko Nakayama, Keiko Yagi, Ken-ichi Hirata	第 76 回日本循環器学会総会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Endothelial Endothelin-1 Preserves Microvessels in Fibrotic Tissue Through Maintaining Angiogenic Factor, VEGF-A		2012年3月 3～4日	福岡

発 表 者	学 会 名		
Anggoro B. Hartopo, Noriaki Emoto, Nur Arfian, Dwi A.A. Nugrahaningsih, Nicolas Vignon- Zellweger, Susi Heiden, Kazuhiko Nakayama, Keiko Yagi, Ken-ichi Hirata	第 76 回日本循環器学会総会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Endothelial Endothelin-1 Knockout Mice is Protected From Pulmonary Panvascular Remodeling in Interstitial Lung Disease Model		2012年3月 3～4日	福岡

発 表 者	学 会 名		
Nur Arfian, Noriaki Emoto, Keiko Yagi, Kazuhiko Nakayama, Hirowati Ali, Dyah Samti Mayasari, Eko Purnomo, Dwi Aris Agung Nugrahaningsih, Anggoro Budi Hartopo, Masashi Yanagisawa, Ken-ichi Hirata	第 76 回日本循環器学会総会		
タ イ ト ル	開催日	開催場所	
Targeting Endothelin-1 and ETAR Interaction by Deletion of Endothelin-1 from Endothelial Cells Attenuates Kidney Fibrosis via Reducing Myofibroblast Formation and capillary Loss	2012年3月 3～4日	福岡	

発 表 者	学 会 名		
江本 憲昭	第 17 回日本病態プロテアーゼ学会学術集会		
タ イ ト ル	開催日	開催場所	
肺高血圧症におけるエンドセリン変換酵素ー病態への関与と治療標的としての展望ー	2012年8月 10・11日	浜松	

発 表 者	学 会 名		
Nur Arfian, Noriaki Emoto, Keiko Yagi, Kazuhiko Nakayama, Vita Yanti Anggraeni, Hirowati Ali, Dyah Samti Mayasari, Eko Purnomo, Dwi Aris Agung Nugrahaningsih, Anggoro Budi Hartopo, Masashi Yanagisawa, Ken-ichi Hirata	The 12th International Conference on Endothelin		
タ イ ト ル	開催日	開催場所	
Endothelial cell specific Endothelin-1 knockdown attenuates kidney fibrosis by reducing peritubular capillary loss and pericyte to myofibroblast transition	2011年9月 11～14日	英国 Cambridge	

発 表 者	学 会 名		
Anggoro B. Hartopo, Nur Arfian, Noriaki Emoto, Dwi A.A. Nugrahaningsih, Nicolas Vignon-Zellweger, Susi Heiden, Kazuhiko Nakayama, Keiko Yagi, Ken-ichi Hirata	The 12th International Conference on Endothelin		
タ イ ト ル	開催日	開催場所	
Endothelin converting enzyme-1 genetic inhibition prevents bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice	2011年9月 11～14日	英国 Cambridge	

発 表 者	学 会 名		
Bambang Widyanoro, Noriaki Emoto, Takashi Suzuki, Masashi Yanagisawa, Ken-ichi Hirata	The 12th International Conference on Endothelin		
タ イ ト ル	開催日	開催場所	
Endothelial Cell-Derived Endothelin-1 Promotes Cardiac Lipid Accumulation in Diabetic Heart	2011年9月 11～14日	英国 Cambridge	

発 表 者	学 会 名		
Nicolas Vignon-Zellweger, Bambang Widyanoro, Susi Heiden, Kazuhiko Nakayama, Keiko Yagi, Masashi Yanagisawa, Noriaki Emoto	The 12th International Conference on Endothelin		
タ イ ト ル	開催日	開催場所	
The ET-1 / Endothelin A receptor axis for the integrity of the glomerular filtration barrier under diabetes in mice	2011年9月 11～14日	英国 Cambridge	

発 表 者	学 会 名		
Nicolas Vignon-Zellweger, Suko Adiarto, Susi Heiden, Kazuhiko Nakayama, Keiko Yagi, Masashi Yanagisawa, Noriaki Emoto	The 12th International Conference on Endothelin		
タ イ ト ル	開催日	開催場所	
ET-1 from endothelial cells is required for complete Angiotensin-II induced development of cardiac fibrosis and hypertrophy in mice	2011年9月 11～14日	英国 Cambridge	

発 表 者	学 会 名		
Susi Heiden, Nicolas Vignon-Zellweger, Shigeru Masuda, Keiko Yagi, Kazuhiko Nakayama, Masashi Yanagisawa, Noriaki Emoto	The 12th International Conference on Endothelin		
タ イ ト ル	開催日	開催場所	
Anti-TNF- α therapy ameliorates cardiac function in mice with reduced endogenous endothelin-1 and increased afterload	2011年9月 11～14日	英国 Cambridge	

発 表 者	学 会 名		
Yoko Suzuki, Sunu Budhi Raharjo, Kazuhiko Nakayama, Nicolas Vignon, Susi Heiden, Nur Arfian, Anggoro Budi Hartopo, Keiko Yagi, Noriaki Emoto	The 12th International Conference on Endothelin		
タ イ ト ル	開催日	開催場所	
Potentiating Bradykinin Pathway by Genetic Suppression of Endothelin-converting Enzyme-1 Prevented Hypoxic induced Pulmonary Hypertension and Right Ventricular Hypertrophy.	2011年9月 11～14日	英国 Cambridge	

発 表 者	学 会 名		
Suzuki Yoko, Emoto Noriaki, Nakayama Kazuhiko, Taniguchi Yu, Fukuda Yoko, Ryo Keiko, Hirata Kenichi	第 75 回日本循環器学会総会・学術集会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Investigation on the Clinical Efficacy of Bosentan-based Therapy for Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension		2011 年 8 月 3 ~ 4 日	横浜

発 表 者	学 会 名		
Nakayama Kazuhiko, Emoto Noriaki, Bambang Widyanoro, Vignon-Zellweger Nicolas, Heiden Susi, Anggraeni Vita Yanti, Ali Hirowati, Mayasari Dyah Samti, Arfian Nur, Nugcahaningsih Dwi Aris Agung, Hart Opo Anggoro Budi, Suzuki Yoko, Morihiko Maeda, Toshio Hayashi, Masashi Yanagisawa	第 75 回日本循環器学会総会・学術集会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Potentiating ANP-cGMP-PKG pathway by Genetic Suppression of Endothelin-converting Enzyme-1 Improves Diabetic Hindlimb Ischemia via Promotion of Collateral Development		2011 年 8 月 3 ~ 4 日	横浜

発 表 者	学 会 名		
Nur Arfian, Noriaki Emoto, Keiko Yagi, Kazuhiko Nakayama, Vita Yanti Anggraeni, Hirowati Ali, Dyah Samti Mayasari, Eko Purnomo, Dwi Aris Agung Nugrahaningsih, Anggoro Budi Hartopo, Masashi Yanagisawa, Ken-ichi Hirata	第 75 回日本循環器学会総会・学術集会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Endothelial Cell Specific Endothelin-1 Knockdown Preserves Renal Blood Flow and Vascular Remodeling in Kidney Fibrosis Model in Mice		2011 年 8 月 3 ~ 4 日	横浜

発 表 者	学 会 名		
Nur Arfian, Noriaki Emoto, Keiko Yagi, Kazuhiko Nakayama, Vita Yanti Anggraeni, Hirowati Ali, Dyah Samti Mayasari, Eko Purnomo, Dwi Aris Agung Nugrahaningsih, Anggoro Budi Hartopo, Ken-ichi Hirata	23rd Congress of International Society of Thrombosis & Haemostasis		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Preservation of Renal Microvasculature in Vascular Endothelial Endothelin-1 Knock Out (VEETKO) Mice After Kidney Fibrosis		2011 年 7 月 23 ~ 28 日	京都

発 表 者	学 会 名		
Anggoro B. Hartopo, Noriaki Emoto, Keiko Yagi, Kazuhiko Nakayama, Vita Y. Anggraeni, Hirowati Ali, Nur Arfian, Dyah S. Mayasari, Dwi A.A. Nugrahaningsih, Eko Purnomo, Ken-ichi Hirata.	23rd Congress of International Society of Thrombosis & Haemostasis		
タ イ ト ル	開催日	開催場所	
ROLE OF ENDOTHELIAL CELL-DERIVED ENDOTHELIN-1 IN THE INTERPLAY BETWEEN FIBROSIS AND LYMPHANGIOGENESIS	2011年7月 23～28日	京都	

発 表 者	学 会 名		
Anggoro B. Hartopo, Noriaki Emoto, Keiko Yagi, Kazuhiko Nakayama, Vita Y. Anggraeni, Hirowati Ali, Nur Arfian, Dyah S. Mayasari, Dwi A.A. Nugrahaningsih, Eko Purnomo, Ken-ichi Hirata.	18th Congress of Asia Pacific Society of Cardiology		
タ イ ト ル	開催日	開催場所	
ENDOTHELIAL CELL-DERIVED ENDOTHELIN-1 CONTRIBUTES TO PULMONARY VASCULAR REMODELING IN MICE MODEL OF PULMONARY FIBROSIS	2011年5月 5～8日	マレーシア Kuala Lumpur	

発 表 者	学 会 名		
Anggoro B. Hartopo, Noriaki Emoto, Keiko Yagi, Kazuhiko Nakayama, Vita Y. Anggraeni, Hirowati Ali, Nur Arfian, Dyah S. Mayasari, Dwi A.A.	18th Congress of Asia Pacific Society of Cardiology		
タ イ ト ル	開催日	開催場所	
ROLE OF ENDOTHELIN-CONVERTING ENZYME-1 INHIBITION IN PULMONARY VEIN REMODELING DURING DEVELOPMENT OF SECONDARY PULMONARY HYPERTENSION	2011年5月 5～8日	マレーシア Kuala Lumpur	

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 棚橋孝雄様

研究代表者所属・職 微生物化学研究室・准教授
研究代表者氏名 小西 守周

平成23年10月11日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成24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 伊藤信行	神戸薬科大学 京都大学	薬学部 薬学研究科	准教授 教授	培養細胞による解析 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。この細胞同士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、共同研究を行い下記の成果を得た。</p> <p>①ニューデシンの生理的な役割の解明</p> <p>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。特に胎生期の神経細胞に強く発現することから、神経系の形成において重要な役割を果たすものと期待されていた。そこで、ニューデシンノックアウトマウスを作製し生理的意義の解析を進めてきた。ニューデシンノックアウトマウスについては、当初予想されていた脳神経系においては明らかな異常が認められなかったものの、通常食飼育においては体重の増加抑制、さらに高脂肪食による肥満症発症に対し耐性を示すことが明らかとなった。そこで、本研究課題においては、この肥満症耐性のメカニズムの解明と、近年肥満症との関わりで注目される個体の免疫システムにおけるニューデシンの役割について検討を試みた。その結果、まずニューデシンは肥満症の発症のみならず、肥満症により惹起される耐糖能異常や脂質異常症、脂肪肝の発症にも深く関わることを見いだした。さらに、肥満症において、ニューデシンは摂食量や脂質の消化、あるいは脂肪細胞における中性脂肪の蓄積には直接関わらないものの、エネルギー消費量を低下させることで、発症に関わることを見いだした。以上の結果は、メタボリックシンドロームに対する治療法の開発に有用なものと期待している。さらに、ニューデシンは成体の脾臓、胸腺においても発現が認められる。そこで、本研究課題において、ニューデシンの成体の免疫システムにおける役割についても検討を試みた。LPSの腹腔内投与による敗血症モデルマウスでは、脾臓においてニューデシンの発現が減少した。そこで、脾臓における発現細胞を培養系を用いて検討したところ、脾臓のマクロファージあるいは樹状細胞がニューデシンの発現細胞であること、さらにその発現が培養系でもLPS刺激により減少することを明らかにした。また全脾臓細胞へのニューデシン組換えタンパクの処置により、制御性T細胞のマーカー遺伝子である<i>Foxp3</i> 遺伝子の発現が増加したことから、ニューデシンは制御性T細胞への分化を促進している可能性が示唆された。このノックアウトマウスを用いた解析を進めて行くことで、生理的意義や、医療への応用に有益な知見が得られるものと期待している。</p> <p>②FGF21の生理的な役割の解明</p> <p>ニューデシンと同じく細胞外分泌因子 FGF21についてもノックアウトマウスを用いた解析を行った。今回は成長ホルモンによる代謝調節における役割を中心に検討を試みた。その結果、成長ホルモンにより白色脂肪細胞で脂肪分解の結果産生される遊離脂肪酸が肝臓に作用し、肝臓において FGF21 を産生させること、肝臓で産生された FGF21 は成長ホルモンによる白色脂肪細胞の脂肪分解を抑制することを明らかにした。この結果により、成長ホルモンによる脂肪分解において、FGF21 がネガティブフィードバック因子として機能することが明らかとなった。</p>					

〈研究論文〉

著 者 名	論 文 標 題			
Chen, W., Hoo, RL., Konishi, M., Itoh, N., Lee, PC., Ye, HY., Lam, KS., Xu, A.	Growth Hormone Induces Hepatic Production of Fibroblast Growth Factor 21 through a Mechanism Dependent on Lipolysis in Adipocytes.			
雑 誌 名		卷	発行年	ページ
J. Biol. Chem.		2011	286	34559-34566

〈学会発表〉

発 表 者	学 会 名		
杉村 絵理、椎野 円、 小西 守周、木村 郁夫、 松村 成暢、井上 和夫、 伏木 亨、伊藤 信行	第 34 回 日本分子生物学会年会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
新規分泌性因子 Neudesin の遺伝子欠損マウスは高脂肪食誘導肥満に耐性を示す		2011 年 12 月 13 日～ 16 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 棚橋孝雄様

研究代表者所属・職 薬理学研究室・教授

研究代表者氏名 吉野伸

平成23年10月11日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成24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	講師	動物実験
	奈邊健	京都薬科大学	薬学部	准教授	実験データの評価
共同研究の成果					
<p>抗体 Fab フラグメント (Fab) は抗原との結合能を有しているが、Fc 部分を欠損しているためエフェクター機能を有さない。本研究では、卵白アルブミン (OVA) 特異的 IgG1 あるいは IgG2b モノクローナル抗体 (mAb) Fab の気管内暴露によって抗 OVAIgE が重要な役割を果たしているマウス喘息反応が制御されるかどうかについて検討した。その結果、これら Fab によって即時性および遅発性喘息反応は強く抑制されることが明らかになった。この抑制は気管支肺胞洗浄液中の mMCP-1 (肥満細胞の活性化の指標) および C3a (補体活性化の指標) の減少と関連していた。一方、これら Fab の全身投与および完全抗体の気管内暴露によっては喘息反応は影響を受けなかった。in vitro において、前もって OVA を O1-10 あるいは O2B-3Fab によって補足すると、補足された OVA に対する完全抗 OVA ポリクローナル抗体あるいは抗 OVAIgE mAb の結合は抑制された。しかし、この抑制は少量の抗体を用いた場合にみられ、大量の抗体の場合は無効であった。以上の結果から、即時性および遅発性喘息反応は抗原特異的抗体 Fab の気管内暴露によって制御されることが考えられる。そのメカニズムとしては、Fab 暴露後、気管支粘膜上で OVA が Fab によって補足され、アレルギー誘導に必須である抗原と完全抗体との結合が阻害されることによると思われる。</p>					

〈研究論文〉

著者名	論文標題			
Nobuaki Mizutani, Hirofumi Goshima, Takeshi Nabe, Shin Yoshino	Complement C3a-induced IL-17 plays a critical role in an IgE-mediated late-phase asthmatic response and airway hyperresponsiveness via neutrophilic inflammation in mice			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Journal of Immunology	188	2012	5694-5705	

著者名	論文標題			
Takeshi Nabe, Nobuaki Mizutani, Shin Yoshino, et al.	Regulatory role of antigen-induced interleukin-10, produced by CD4+ T cells, in airway neutrophilia in a murine model for asthma			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
European Journal of Pharmacology	677	2012	154-162-	

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 棚橋孝雄様

研究代表者所属・職 薬品物理化学研究室・教授
研究代表者氏名 向高弘

平成23年10月11日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成24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	AA アミロイドーシス発症の分子基盤の解明				
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
	向高弘	神戸薬科大学	薬学部	教授	研究統括
	田中将史 斎藤博幸	神戸薬科大学 徳島大学	薬学部 薬学部	講師 教授	ペプチド合成及び評価 相互作用解析
共同研究の成果					
<p>アミロイド線維が沈着することによって引き起こされる臓器の機能障害はアミロイドーシスと呼ばれる。関節リウマチなど慢性の炎症性疾患をもつ患者において死因の上位を占める最も重篤な合併症であるAAアミロイドーシスでは、アミロイド線維の成分としてアミロイドA蛋白質(AA)が沈着する。その前駆体は急性期蛋白質の一種である血清アミロイドA(SAA)である。生体内でのアミロイド線維形成にはSAAの血中濃度が高値を示すことが条件として挙げられるが、線維形成の詳細な分子基盤に関しては明らかになっていないのが現状である。多くのアミロイド原性蛋白質が細胞外に沈着することから、細胞外マトリックス成分であるグリコサミノグリカン(GAG)との関連が示唆されている。実際、沈着臓器からはAAがGAGと共存して見つかった。本研究では、SAAを断片化したペプチドを作製し、各種GAGとの相互作用やそれに伴う線維形成の評価、形成される線維の形態観察などを行うことで、SAAの線維形成・疾患発症メカニズムを分子レベルで解明することを試みた。</p> <p>SAA分子のN末端領域(1-27残基)、中間領域(43-63残基)、C末端領域(77-104残基)の三領域からなる断片化ペプチドをFmoc固相法により合成し、SAAの線維形成部位を検討した結果、これまでに線維形成能があるとされてきたN末端領域以外に、アイソフォームの変異部位を含む中間領域がヘパリン存在下で線維形成能を持つ部位だということを初めて明らかにした。しかし、N末端および中間領域が形成する線維には異なる点が多くあった。N末端領域は一般的なアミロイド線維と同様の特徴を持つ線維を形成するのに対し、中間領域が形成する線維は二次構造や線維形態が異なることが明らかとなった。</p> <p>次に、アミロイド線維の形成に与えるGAGの構造の影響を検討した。SAAのN末端および中間領域ペプチドではヘパリンのみならず他のGAG存在下でも線維形成が認められ、GAGが線維形成を促進することが分かった。また、その促進効果はある程度硫酸基含有量に依存していた。そこで、硫酸化度の異なるヘパリンを用いて実験を行った結果、ヘパリンの硫酸基含有量が多いほど線維化が促進されることが分かった。しかしながら、ヘパリン硫酸は硫酸化度が低いにもかかわらず高い線維形成促進効果を示しており、今後はヘパリン硫酸がもつ局所的に高度に硫酸化された領域(多硫酸化ドメイン)の影響について調べる予定である。</p>					

〈研究論文〉

著者名	論文標題			
Masafumi Tanaka, Yuki Takamura, Toru Kawakami, Saburo Aimoto, Hiroyuki Saito, Takahiro Mukai	Effect of amino acid distribution of amphipathic helical peptide derived from human apolipoprotein A-I on membrane curvature sensing			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
FEBS Letters		2013	in press	

〈学会発表〉

発表者	学会名		
高瀬ひろか、山本 亜季、 田中 将史、斎藤 博幸、 向 高弘	第 61 回日本薬学会近畿支部総会・大会		
タイトル	開催日	開催場所	
硫酸化度の異なるグリコサミノグリカンがヒト血清アミロイドAの線維形成に与える影響	2011/10/22	神戸	

発表者	学会名		
高瀬ひろか、宮川 幸子、 田中 将史、斎藤 博幸、 向 高弘	日本薬学会第 132 年会		
タイトル	開催日	開催場所	
ヒト血清アミロイド A (SAA) の中間領域の線維形成能評価	2012/3/30	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 棚橋孝雄様

研究代表者所属・職 生薬化学研究室・教授
研究代表者氏名 守安 正恭

平成23年10月11日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成24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	中成薬およびその構成生薬の生物活性に関する研究
--------	-------------------------

氏名	所属学校・研究機関等名	学部・学科等名	職名	研究の役割分担
守安 正恭	神戸薬科大学	薬学部	教授	総括
西山 由美	神戸薬科大学	薬学部	講師	活性試験 (in vivo, in vitro)
士反 伸和	神戸薬科大学	薬学部	講師	活性試験 (in vitro)
中谷 典義	株式会社カーヤ	薬事管理部		生薬製剤の分析
渡邊 恵美子	株式会社カーヤ	薬事管理部		生薬製剤の分析

共同研究の成果

「清宮寿桃丸」は、中国・清の時代に不老長寿、補腎強精、滋養強壯を目的に用いられた「蟠桃丸」を元に開発された製剤である。本製剤については、老化による代謝機能や内循環の失調を改変し、老化の諸症状を緩和調整する作用があるとされている。そこで、「清宮寿桃丸」について、まず効能に関連する次の試験を行った。

過剰な活性酸素の発生は、細胞に障害を与え、臓器への障害、老化の促進などさまざまな疾病の原因になることから、本製剤の老化症状の改善効果には抗酸化作用が関与すると考えられた。そこで、抗酸化活性として、まず「清宮寿桃丸」から得られたメタノール抽出エキス (SJ-M) について、DPPH を用いたフリーラジカル消去活性試験、SOD 様活性試験および NO 産生抑制試験について実験を行った。その結果、これらの試験で SJ-M は活性を示し、本製剤が抗酸化活性を有する事がわかった。

SJ-M に抗酸化活性が認められたことから、次に各構成生薬 (ジオウ、クコシ、ニンジン、ゴシツ、ヤクチ、テンモンドウ、ホコツシ、コトウイ) について同様の試験を行い、どの生薬が抗酸化活性を担っているのかを検討した。構成生薬のうち、ロクジンについては、入手困難であったため試験を行っていない。

DPPH フリーラジカル消去活性試験では、ホコツシ、コトウイ、ヤクチが活性を示し、中でもコトウイは特に強い活性を示した。SOD 様活性試験では、ジオウ、クコシ、ホコツシ、コトウイ、ヤクチが活性を示し、中でもコトウイは特に強い活性を示した。NO 産生抑制試験については、現在検討中である。

試験は完了していないが、清宮寿桃丸および構成生薬のいくつかに抗酸化活性が認められ、本製剤の抗老化や循環改善効果は、これらの作用が一部寄与しているものと考えられた。

〈学会発表〉

発表者	学会名		
山田 南雄、石原由美子、 西山 由美、守安 正恭、 中谷 典義	日本薬学会第 133 年会		
タイトル	開催日	開催場所	
清宮寿桃丸の抗酸化作用	3/27 ~ 3/30	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 棚橋孝雄様

研究代表者所属・職 製剤学研究室・教授
研究代表者氏名 北河 修治

平成23年10月11日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成24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	ホスファチジルエタノールアミンメチル基転移酵素発現による細胞膜胆汁酸耐性の変化に関する研究
--------	---

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	実験、データ解析
寺田 智祐	滋賀医科大学	医学部附属病院	教授・ 薬剤部長	研究企画
森田 真也	滋賀医科大学	医学部附属病院	准教授	実験、データ解析

共同研究の成果	<p>ヒトの胆汁中に含まれている胆汁酸は、主にコール酸、デオキシコール酸、ケノデオキシコール酸であり、それらの大半がタウリン抱合もしくはグリシン抱合を受けている。毛細胆管中には、強力な界面活性作用をもつ高濃度の胆汁酸が存在しているにもかかわらず、正常な肝細胞は胆汁酸耐性を有する。一方、胆汁酸が肝細胞を傷害するようになると、肝細胞壊死や胆汁鬱血へと導かれる。しかし、その肝細胞の胆汁酸耐性獲得メカニズムは明らかになっていない。そこで、本研究では、ホスファチジルエタノールアミンメチル基転移酵素 (PEMT) による細胞膜リン脂質組成調節が、胆汁酸耐性の獲得に重要であると考え、PEMT 発現が細胞膜のリン脂質組成ならびに胆汁酸耐性に対して与える影響について検討を行った。</p> <p>まず、PEMT 発現による細胞内脂質量の変化について、酵素定量法により検討を行ったところ、PEMT 発現により細胞内 PC 量が増加し、PE 量は減少した。また、ESI-MS/MS により PC および PE のアシル鎖分析を行ったところ、PEMT 発現により主に長鎖脂肪酸をもつ PC およびエーテル結合型 PC が形成されていた。デュラマイシンは、環状ペプチド化合物で、膜中の PE に結合し、膜を破壊へと導くことが知られている。PEMT 安定発現細胞では、デュラマイシンに対する耐性が増加したことから、細胞膜の PE が減少していることが確認された。また、走査型顕微鏡を用いて細胞表面の微絨毛観察を行ったところ、PEMT 発現により微絨毛が太くなっていることが明らかとなった。そして PEMT が細胞膜の胆汁酸耐性に与える影響について調べたところ、PEMT 安定発現細胞では、非抱合型胆汁酸 (コール酸、デオキシコール酸、ケノデオキシコール酸) に対する耐性は低下したが、抱合型胆汁酸 (タウロコール酸、グリココール酸、タウロデオキシコール酸、グリコケノデオキシコール酸、グリコケノデオキシコール酸) に対する耐性は上昇した。この原因として、PEMT 発現により、細胞表面のリン脂質組成ならびに微絨毛構造が変化したことが挙げられる。毛細胆管中の大半の胆汁酸が抱合型をしているため、PEMT は、肝細胞の胆汁酸獲得において重要な働きをしていると考えられる。</p>
---------	---

〈研究論文〉

著者名	論文標題			
Shin-ya Morita, Noriaki Ikeda, Manami Horikami, Kuriko Soda, Kosuke Ishihara, Reiko Teraoka, Tomohiro Terada and Shuji Kitagawa	Effects of phosphatidylethanolamine N-methyltransferase on phospholipid composition, microvillus formation and bile salt resistance in LLC-PK1 cells			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
FEBS Journal	278	2011	4768-4781	

〈学会発表〉

発表者	学会名		
Shin-ya Morita	The Liver Meeting 2011		
タイトル	開催日	開催場所	
Effect of phosphatidylethanolamine N-methyltransferase on hepatocellular resistance to bile salts	2011/11/5	San Francisco	

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 棚橋孝雄様

研究代表者所属・職 医療薬学研究室・教授
研究代表者氏名 水野 成人

平成23年10月11日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成24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	ヘリコバクター・ピロリ産生トキシンの摂食調節に対する影響
--------	------------------------------

氏名	所属学校・研究機関等名	学部・学科等名	職名	研究の役割分担
水野 成人	神戸薬科大学	薬学部	教授	本学での研究管理
三木 生也	神戸薬科大学	薬学部	講師	本学での研究指導
近藤 靖之	神戸薬科大学	薬学部	助手	本学での研究主体
乾 明夫	鹿児島大学	医学部	教授	鹿大での研究管理
浅川 明弘	鹿児島大学	医学部	准教授	鹿大での研究指導

共同研究の成果

ヘリコバクター・ピロリ（HP）は、消化性潰瘍、胃がんなどの上部消化管疾患の原因となることが判明し、プロトンポンプ阻害薬と抗菌薬の併用による除菌療法が行なわれている。除菌成功例では消化性潰瘍の再発防止、早期胃がん内視鏡治療後の胃がん発生率減少などの効果が証明されているが、除菌後に胃酸逆流症状が出現したり、体重増加をきたす症例がある。また、HP感染者においては体重の低下傾向が認められるなど、HP感染はヒトの摂食行動や栄養状態に何らかの影響を及ぼす可能性がある。本共同研究では、HP感染と摂食調節の関連を明らかにするために、医療機関を受診して上部消化管内視鏡検査と採血を行った患者を対象とする臨床研究ならびに、げっ歯類を用いた基礎的検討を行った。

1. HP感染と摂食調節ペプチド、アディポカインの変動に関する臨床研究

HP感染とHPに対する除菌療法が、胃粘膜で産生され摂食促進作用のあるグレリンおよびその活性化酵素である Ghrelin O-Acyltransferase (GOAT) の mRNA 発現量、血中グレリン値（活性型、非活性型）、血中活性型グレリン比、患者のBMIや腹囲に及ぼす影響について検討した。HP感染者は非感染者に比べて胃粘膜のグレリンおよびGOATの mRNA 発現量が少なく、血中グレリン値は低値であった。また、HP除菌前後でグレリン mRNA および血中グレリン値の有意な変動が見られ、BMIに有意な変動はなかったが、腹囲は有意な上昇を認めた。

HP感染とHP除菌療法が、血中アディポネクチン値に及ぼす影響について検討した。HP感染者と非感染者間にはアディポネクチン値に有意な差を認めなかった。HP除菌に成功した患者では、血中総アディポネクチン値および各分画の有意な上昇を認めた。HP除菌に失敗した患者では、総アディポネクチン値および高分子量アディポネクチン値は有意に上昇したが、中・低分子量アディポネクチン値は有意に変化しなかった。

これらの結果から、HP感染はヒトの摂食調節や代謝に何らかの影響を及ぼすことが示された。

2. HP感染およびHP産生トキシンの摂食調節に関する基礎研究

HP感染が摂食調節ペプチドやアディポカインに影響を及ぼすメカニズムを検討するために、げっ歯類を用いた実験を行った。

スナネズミにHPを感染させたところ、有意な体重減少が認められた。また、C57BL/6マウス（7-10週齢）に対してHP産生トキシンであるCag Aを腹腔内投与したところ、体重減少は認められなかった。しかし、HPが産生するもう1種類のトキシンであるVac Aを脳室内および腹腔内に投与したところ、用量依存性に空腹期の摂食量を抑制した。このことから、HPの産生するVac Aが摂食抑制に関与することが示唆された。

今後は、エネルギー代謝におけるHP産生トキシンの作用メカニズムについて解明が望まれる。また、摂食・代謝調節への影響の解明は、HP感染率が高い日本人高齢者の健康管理に新たな知見をもたらすことが期待される。

〈研究論文〉

著者名	論文標題			
Ando T, Mizuno S, Ishida T, Kondo Y, Miki I, Yoshida M, Azuma T, Ishikawa T, Takagi T, Yagi N, Kokura S, Naito Y, Yoshikawa T, Asakawa A, Inui A.	Plasma ghrelin isoforms and gastric ghrelin O-acyltransferase expression are influenced by Helicobacter pylori status.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Nutrition	28	2012	967-972	

著者名	論文標題			
Ando T, Ishikawa T, Takagi T, Imamoto E, Kishimoto E, Okajima A, Uchiyama K, Handa O, Yagi N, Kokura S, Naito Y, Mizuno S, Asakawa A, Inui A, Yoshikawa T.	Impact of Helicobacter pylori Eradication on Circulating Adiponectin in Humans.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Helicobacter	Epub	2012		

〈学会発表〉

発表者	学会名		
Ando T, Ishikawa T, Mitsumoto Y, Imamoto E, Kishimoto E, Okajima A, Suzuki T, Mizushima K, Uchiyama K, Handa O, Takagi T, Yagi N, Kokura S, Naito Y, Mizuno S, Asakawa A, Inui A.	EUGW 2012		
タイトル	開催日	開催場所	
HELICOBACTER PYLORI ERADICATION INCREASES THE CIRCULATING ADIPONECTIN LEVELS IN HUMANS	October, 2012	Amsterdam	

発表者	学会名		
安藤 貴志、水野 成人、 乾 明夫	第 98 回日本消化器病学会総会		
タイトル	開催日	開催場所	
胃内グレリン・GOAT 発現および循環グレリン値に対する H.pylori 感染の影響	2012 年 4 月 19 日～ 21 日	東京	