

# 共同研究 研究紀要

2013

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。

### 2012（平成 24）年度共同研究（研究期間 2012.4.1 ～ 2013.3.31）

承認番号	共同研究課題名（研究テーマ）	研究代表者
1	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
2	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
3	ビタミンK生合成酵素の高次構造機能解析と新規ビタミンK誘導体の開発	衛生化学研究室 教授 岡野登志夫
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	シクロ三リン酸塩による機能性アミノ酸のリン酸化	機能性分子化学研究室 教授 中山 尋量
6	合成糖鎖を用いた硫酸化グリコサミノグリカンの生合成と機能の研究	生化学研究室 教授 北川 裕之
7	RXR 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
8	生活習慣病, 加齢性疾患の早期発見と予防のためのコホート研究	医療薬学研究室 教授 水野 成人
9	うつ病における脳内神経ステロイドの役割に関する研究	病態生化学研究室 准教授 小林 吉晴
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	高等植物ならびに地衣類を起源とする DNA 代謝酵素阻害剤の探索	薬化学研究室 教授 棚橋 孝雄
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	遺伝子操作による臨床診断用抗体の in vitro 特異性成熟	生命分析化学研究室 教授 小林 典裕
14	経皮吸収型製剤からのフェンタニルの吸収性に関する研究	製剤学研究室 教授 北河 修治
15	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



神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治様

研究代表者所属・職 薬理学研究室・教授  
研究代表者氏名 吉野 伸

平成24年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成25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 奈邊 健	神戸薬科大学 京都薬科大学	薬学部 薬学部	講師 准教授	動物実験 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 (Fabs) 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 モノクローナル抗体 (mAb) Fabs (O1-10 Fabs) の鼻腔内暴露によって抗 OVAIgE が重要な役割を果たしているマウスアレルギー性鼻炎が制御されるかどうかについて検討した。方法としては、Al (OH)<sub>2</sub> に吸着させた OVA を day 0 と 14 に i.p. することによって BALB/c マウスを免疫し、day 28, 29, 30, 35 に OVA (150 μg) を点鼻しアレルギー性鼻炎を誘導した。O1-10 Fabs (450 μg) は OVA 各点鼻時あるいは点鼻 15 分前に鼻腔内投与した。その結果、くしゃみ回数、鼻掻き回数などによって評価されるアレルギー性鼻炎は O1-10 Fabs によって有意に抑制された。組織学的には OVA4 回惹起によってみられた杯細胞過形成、肺組織への好酸球および肥満細胞の浸潤は O1-10 Fabs によって抑制され、また、血中における mMCP-1 産生、抗 OVAIgE 抗体産生も本 Fab フラグメントによって抑制された。一方、Fab 化しない完全抗体 O1-10 投与によっては、くしゃみ回数、鼻掻き回数、好酸球浸潤、抗 OVAIgE 抗体産生は有意に増加あるいは増加傾向がみられた。in vitro において、前もって OVA を O1-10 Fabs 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、アレルギー性鼻炎は抗原特異的抗体 Fabs の鼻腔内暴露によって制御されると考えられる。そのメカニズムとしては、Fabs 暴露後、鼻腔粘膜上で OVA が Fabs 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, Takeshi Nabe, Shin Yoshino	Roles of basophils and mast cells infiltrating the lung by multiple antigen challenges in asthmatic responses of mice			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Immunology	139	2013	205-218	

著者名	論文標題			
Takeshi Nabe, Nobuaki Mizutani, Shin Yoshino, et al.	Roles of basophils and mast cells infiltrating the lung by multiple antigen challenges in asthmatic responses of mice			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
British Journal of Pharmacology	169	2013	462-476	

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治様

研究代表者所属・職 臨床薬学研究室・教授

研究代表者氏名 江本 憲昭

平成24年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成25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>昨年度の計画に引き続き、我々はエンドセリンの生理学的・病理学的役割の解明を主題に、臨床研究と基礎研究の両面から以下にあげる成果を得た。</p> <p>1. 臨床研究：神戸大学での肺高血圧症例の集積をさらに推し進め、エンドセリン拮抗薬をはじめとする肺血管拡張薬による治療を積極的に行い、肺高血圧患者の適切な重症度評価や最適な治療法の開発をめざし研究を積み重ねた。昨年度の報告書では心エコーによる2D speckle tracking法が肺高血圧患者の右心機能評価について有用であることを2011年J Am Soc Echocardiogrに発表したことを述べたが、今年度はさらに推し進めて同指標が1年以上の長期予後の予測因子として機能することを新たにCirculation Journal 2013.77.756-63に報告した。さらに心エコー以外のモダリティとして非侵襲的心拍出量測定機器NiCasにより測定された肺高血圧患者の心拍出量が、心エコーや心臓カテール検査のデータとよく相関し、簡便且つ複数回にわたり患者評価が行える事をCirculation Journal 2013.77.2383-9に報告した。侵襲的なカテールによる血行動態評価がゴールドスタンダードとされている臨床の現状の中で、特に循環器内科以外の肺高血圧診療に関わる臨床医にとって有意義な研究成果であると思われる。さらに治療に関してエンドセリン拮抗薬とPDE5阻害薬の併用療法による長期効果の検討や、慢性肺塞栓血栓性肺高血圧（CTEPH）患者への経皮的肺動脈形成術（BPA）と外科的肺動脈血栓内膜摘除術の治療効果の比較を行い、学会発表を行った。さらにCTEPH患者に対するBPA前後の心拍出量改善作用がエンドセリン拮抗薬を内服している人の方が内服していない人比べてよいという結果を学会発表した。</p> <p>2. 基礎研究：我々は昨年度の計画に引き続き肺高血圧をはじめ肺線維症、糖尿病性腎症、心不全といった病態に対するエンドセリンの病態学的関与の解明を各種動物モデルで行った。昨年度の報告の通りブ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2013年Am J Respir Cell Mol Biolに採択された。またエンドセリン-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、学会発表を行ったが、さらに今年度で機序解明を進め、その結果を2013年日本肺循環学会で招待講演にて発表した。現在論文投稿中である。そして尿管結紮腎不全モデルで、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2012年BBRCで論文発表した。糖尿病性腎症モデルでも同様の腎保護効果があることを2013年第13回国際エンドセリン学会で発表しYoung Investigator Awardを獲得した。大動脈結紮モデル・糖尿病心筋症モデルのそれぞれにおいて、エンドセリン系抑制による心機能改善作用と心筋線維化抑制作用を確認し、現在論文投稿にむけ準備中である。</p>					

〈研究論文〉

著者名	論文標題			
Kazuya Miyagawa, Emoto Noriaki	A New Class of Drug for Pulmonary Arterial Hypertension - Can a Rho-Kinase Inhibitor Break the Stagnation in Treating It?			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Circulation Journal	77(10)	2013	2477-8	

著者名	論文標題			
Purunomo, E., Emoto, N., Nugrahaningsih, D., Nakayama, K., Yagi, K., Heiden, S., Nadanaka, S., Kitagawa, H., and Hirata, K	Glycosaminoglycan overproduction in the aorta increases aortic calcification in murine chronic kidney disease.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
J. Am. Heart Assoc	28	2013	In press	

著者名	論文標題			
Hirowati Ali, Noriaki Emoto, Keiko Yagi, Nicolas Vignon-Zellweger, Kazuhiko Nakayama, Kinta Hatakeyama, Yujiro Asada, Yoshiyuki Rikitake, Ken-ichi Hirata	Localization and characterization of novel secreted protein, SCUBE2, in the development and progression of atherosclerosis			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Kobe J Med Sci.		2013	In press	

著者名	論文標題			
Dwi Aris Agung Nugrahaningsih, Noriaki Emoto, Nicolas Vignon-Zellweger, Eko Purnomo, Keiko Yagi, Kazuhiko Nakayama, Masao Doi, Hitoshi Okamura, Ken-ichi Hirata	Chronic hyperaldosteronism in Cryptochrome null mice induces high-salt- and blood pressure-independent kidney damage in mice			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Hypertension Res		2013	In press	

著者名	論文標題			
Mayasari DS, Emoto N, Yagi K, Vignon-Zellweger N, Nakayama K, Miyoshi T, Miyata O, Hirata K.	Rhodamine-labeled LDL as a tool to monitor the lipoprotein traffic in experimental model of early atherosclerosis in mice.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Kobe J Med Sci.	59	2013	E54-63	



著者名	論文標題		
Hartopo AB, Emoto N, Vignon-Zellweger N, Suzuki Y, Yagi K, Nakayama K, Hirata K.	Endothelin-converting enzyme-1 gene ablation attenuates pulmonary fibrosis via CGRP-cAMP/EPAC1 pathway		
雑誌名	巻	発行年	ページ
Am J Respir Cell Mol Biol.	48	2013	465-76

著者名	論文標題		
Taniguchi Y, Emoto N, Miyagawa K, Nakayama K, Kinutani H, Tanaka H, Shinke T, Hirata KI.	Noninvasive and Simple Assessment of Cardiac Output and Pulmonary Vascular Resistance With Whole-Body Impedance Cardiography Is Useful for Monitoring Patients With Pulmonary Hypertension.		
雑誌名	巻	発行年	ページ
Circ J.	77(9)	2013	2383-9

著者名	論文標題		
Taniguchi Y, Emoto N, Miyagawa K, Nakayama K, Kinutani H, Tanaka H, Shinke T, Okada K, Okita Y, Hirata KI.	Subsequent shunt closure after targeted medical therapy can be an effective strategy for secundum atrial septal defect with severe pulmonary arterial hypertension: two case reports : Strategy for ASD with Severe PAH		
雑誌名	巻	発行年	ページ
Heart Vessels		2013	In press

著者名	論文標題		
Motoji Y, Tanaka H, Fukuda Y, Ryo K, Emoto N, Kawai H, Hirata K	Efficacy of right ventricular free-wall longitudinal speckle-tracking strain for predicting long-term outcome in patients with pulmonary hypertension.		
雑誌名	巻	発行年	ページ
Circ J	77(3)	2013	756-63

著者名	論文標題		
Satomi-Kobayashi S, Kinugasa M, Kobayashi R, Hatakeyama K, Kurogane Y, Ishida T, Emoto N, Asada Y, Takai Y, Hirata K, Rikitake Y.	Osteoblast-like Differentiation of Cultured Human Coronary Artery Smooth Muscle Cells by Bone Morphogenetic Protein Endothelial Cell Precursor-derived Regulator (BMPER)		
雑誌名	巻	発行年	ページ
J Biol Chem	287	2012	30336-30345

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			
Adiaro 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	

〈総説〉

著者名	論文標題			
宮川 一也、江本 憲昭	肺高血圧症診療の進歩			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Medicina	50	2013	916-918	

著者名	論文標題			
江本 憲昭	時計遺伝子と循環器疾患			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
BIO Clinica	27	2012	538-542	

著者名	論文標題			
江本 憲昭	エンドセリン受容体拮抗薬の新展開			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
炎症と免疫	20	2012	487-491	

著者名	論文標題			
江本 憲昭	肺高血圧の概念の変遷と最近の目覚ましい薬物治療の進歩			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
心エコー	13	2012	454-461	

著者名	論文標題		
江本 憲昭	特発性肺動脈性肺高血圧症に対するボセンタンの単剤療法—エンドセリン受容体拮抗薬によるリバースリモデリングの可能性		
雑誌名	巻	発行年	ページ
モダンフィジシャン	32	2012	6-8

著者名	論文標題		
江本 憲昭	体内リズムと循環器病 時計遺伝子と血圧変動—高血圧とどう関連するか—		
雑誌名	巻	発行年	ページ
Heart View	16	2012	803-807

著者名	論文標題		
江本 憲昭	日内リズムとアンチエイジング 時計遺伝子と高血圧		
雑誌名	巻	発行年	ページ
Anti-aging Science	4	2012	118-122

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

〈学会発表〉

発表者	学会名		
Dyah Samti Mayasari, Noriaki. Emoto, Keiko. Yagi, Kazuhiko. Nakayama, Nur. Arfian, Hirowati. Ali, Ken-ichi Hirata	81st European Atherosclerosis Society Congress		
タイトル		開催日	開催場所
TARGETING CHONDROITIN SULFATE N-ACETYLGALACTOSAMINYLTRANSFERASE 2 IN THE MODIFICATION OF SUBENDOTHELIAL LIPOPROTEIN RETENTION AND FOAM CELL FORMATION		2013年6月	France Lyon

発表者	学会名		
中山 和彦、 Anggoro B. Hartopo、 鈴木 陽子、 Sunu Budhi Raharjo、 江本 憲昭	第2回日本肺循環学会学術集会		
タイトル		開催日	開催場所
肺高血圧・肺線維症に対する新たなエンドセリン研究 - エンドセリン変換酵素阻害の可能性 -		2013年6月	東京

発表者	学会名	
中山 和彦、江本 憲昭、 谷口 悠、絹谷 洋人、 鈴木 陽子、新家 俊郎、 平田 健一	第2回日本肺循環学会学術集会	
タイトル		
Focusing right heart function for predicting the oral medical efficacy in pulmonary hypertension	開催日 2013年6月	開催場所 東京

発表者	学会名	
谷口 悠、江本 憲昭、 絹谷 洋人、中山 和彦、 新家 俊郎、平田 健一	第2回日本肺循環学会学術集会	
タイトル		
肺動脈性肺高血圧症患者に対するエンドセリン受容体拮抗薬およびPDE5阻害剤追加併用療法の長期効果の検討	開催日 2013年6月	開催場所 東京

発表者	学会名	
絹谷 洋人、江本 憲昭、 中山 和彦、谷口 悠、 新家 俊郎、大竹 寛雅、 平田 健一	第2回日本肺循環学会学術集会	
タイトル		
慢性肺血栓塞栓症と鑑別が困難であった原発性肺血管肉腫の一例	開催日 2013年6月	開催場所 東京

発表者	学会名	
谷口 悠、江本 憲昭、 絹谷 洋人、中山 和彦、 新家 俊郎、岡田 健次、 大北 裕、平田 健一	第2回日本肺循環学会学術集会	
タイトル		
Comparison between Balloon Pulmonary Angioplasty and Pulmonary Thromboendarterectomy on Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension	開催日 2013年6月	開催場所 東京

発表者	学会名	
Sunu B. Raharjo, Noriaki Emoto, Yoga Yuniadi, Kazuhiko Nakayama, Ganesja M. Harimurti	International conference of Endothelin (ET-13)	
タイトル		
Role of Bradykinin and Endothelin-Converting Enzyme-1 in Pulmonary Hypertension	開催日 2013年9月	開催場所 東京

発 表 者	学 会 名		
Nicolas Vignon-Zellweger, Susi Heiden, Kazuhiko Nakayama, Keiko Yagi, Marc Iglarz, Masashi Yanagisawa, Noriaki Emoto	International conference of Endothelin (ET-13)		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Absence of ETA receptors on podocytes is not antialbuminuric in diabetic mice		2013年9月	東京

発 表 者	学 会 名		
Kazuhiko akayama, Nicolas Vignon-Zellweger, Susi Heiden, Yoko Suzuki, Takuya Okano, Kazuya Miyagawa, Keiko Yagi, Masashi Yanagisawa, Noriaki Emoto	International conference of Endothelin (ET-13)		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Endothelin converting enzyme inhibition attenuates early albuminuria and late renal failure in streptozotocin induced diabetic mice		2013年9月	東京

発 表 者	学 会 名		
Nur Arfi an, Keiko Yagi, Kazuhiko Nakayama, Dwi C. Ratna Sari, Muhammad M. Romi, Untung Tranggono, Hary S. Muliawan, Noriaki Emoto	International conference of Endothelin (ET-13)		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Increased of Heparanase expression in hipoxic endothelial cells and kidney ischemic-reperfusion injury associates with Endothelin-1 elevation and eNOS reduction		2013年9月	東京

発 表 者	学 会 名		
Nur Arfi an, Keiko Yagi, Kazuhiko Nakayama, Nicolas Vignon-Zellweger, Susi Heiden, Tran V. Hung, Hary S. Muliawan, Gahan Satwiko, Noriaki Emoto	International conference of Endothelin (ET-13)		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Endothelial Cells-derived Endothelin-1 Exaggerates Kidney Fibrosis Through ETAR Activation in Renal Interstitial Cells		2013年9月	東京

発 表 者	学 会 名		
Daisuke Nakano, Noriaki Eomoto, Kazuhiko Nakayama, Masashi Yanagisawa, Akira Nishiyama	International conference of Endothelin (ET-13)		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Endothelial cell-derived ET-1 contributes to the severity of septic kidney injury		2013年9月	東京

発 表 者	学 会 名		
Susi Heiden, Nicolas Vignon-Zellweger, Kazuhiko Nakayama, Keiko Yagi, Masahi Yanagisawa, Noriaki Emoto,	International conference of Endothelin (ET-13)		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Renal Phenotype of Type 1 Diabetic Endothelial Cell Derived ET-1 Deficient Mice		2013年9月	東京

発 表 者	学 会 名		
Hung Van Tran, Noriaki Emoto, Nicolas Vignon-Zellweger, Kazuhiko Nakayama, Keiko Yagi, Yoko Suzuki, Ken-ichi Hirata	International conference of Endothelin (ET-13)		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Analysis of ET-1 system in mild and severe pulmonary arterial hypertension in mice		2013年9月	東京

発 表 者	学 会 名		
Kazuya Miyagawa, Kazuhiko Nakayama, Yoko Suzuki, Yu Taniguchi, Hiroto Kinutani, Toshiro Shinke, Ken-ich Hirata, Noriaki Emoto	International conference of Endothelin (ET-13)		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Serum Endothelin-1 and big endothelin-1 in patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension can be markers to predict hemodynamics after balloon pulmonary angioplasty		2013年9月	東京

発 表 者	学 会 名		
Naoki Yoshimura, Tomonori Higuma, Masaya Aoki, Yoshinori Doki, Hideyuki Nagkaoka, Keiichirou Ibuki, Sayaka Ozawa, Keiichi Hirono, Fukiko Ichida, Kazuhiko Nakayama, Takuya Okano, Noriaki Emoto	International conference of Endothelin (ET-13)		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Distinct expression of endothelin-1 and endothelin converting enzyme-1 in the lung of patients undergoing right heart bypass surgery : A preliminary study		2013年9月	東京

発 表 者	学 会 名		
宮川 一也、江本 憲昭、 中山 和彦、谷口 悠、 絹谷 洋人、新家 俊郎、 平田 健一	第一回日本肺高血圧学会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
BPA 前後における血中 ET-1 濃度測定とバイオマーカーとしての応用		2013年10月	東京

発 表 者	学 会 名		
新家 俊郎、谷口 悠、 絹谷 洋人、宮川 一也、 中山 和彦、大竹 寛雅、 高谷 具史、江本 憲昭、 平田 健一	第一回日本肺高血圧学会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
慢性肺血栓塞栓症（CTEPH）治療におけるバルーン肺動脈形成術（BPA） の位置づけと治療手技の実際		2013年10月	東京

発 表 者	学 会 名		
Kazuya Miyagawa, Noriaki Emoto, Yu Taniguchi, Hiroto Kinutani, Kazuhiko Nakayama, Toshiro Shinke, Ken-ichi Hirata	American Heart Association 2013 Scientific Sessions		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Balloon Pulmonary Angioplasty Improves Clinical Status and Hemodynamics in Patients With Non-operable Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension in Comparison to Pulmonary Endarterectomy in Operable Patients		2013年11月	USA Dallas

発 表 者	学 会 名		
Hiroto Kinutani, Toshiro Shinke, Hiromasa Otake, Tomofumi Takaya, Masayuki Nakagawa, Tsuyoshi Osue, Yu Taniguchi, Masamichi Iwasaki, Ryo Nishio, Akihide Konishi, Masaru Kuroda, Hachidai Takahashi, Daisuke Terashita, Noriaki Emoto, Kazuhiko Nakayama, Kazuya Miyagawa, Ken-ichi Hirata	European Society of cardiology 2013		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Hemodynamic Improvement through Beneficial Vessel Reaction Following Balloon Pulmonary Angioplasty for Distal-type Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension		2013年8月	オランダ アムステルダム
発 表 者	学 会 名		
Yu Taniguchi, Noriaki Emoto, Hiroto Kinutani, Hiromasa Otake, Toshiro Shinke, Ken-ichi Hirata	European Society of cardiology 2013		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Efficacy and Safety of Balloon Pulmonary Angioplasty for Non-operable Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension in Comparison to Pulmonary Endarterectomy for Operable Patients		2013年8月	オランダ アムステルダム
発 表 者	学 会 名		
Yu Taniguchi, Noriaki Emoto, Hiroto Kinutani, Hiromasa Otake, Toshiro Shinke, Ken-ichi Hirata	TCT2013		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Efficacy and Safety of Balloon Pulmonary Angioplasty for Non-operable Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension in Comparison to Pulmonary Endarterectomy for Operable Patients		2013年10月	米国 サンフランシスコ
発 表 者	学 会 名		
江本 憲昭	第76回日本循環器学会総会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Molecular Dissection of Pathophysiological Roles of the Endothelin System in Pulmonary Arterial Hypertension: Lessons from Genetically Modified Mice		2013年3月	横浜



発 表 者	学 会 名		
Dwi Aris Agung Nugrahaningsih, Noriaki Emoto, Eko Purnomo, Nur Arfian, Anggoro Budi Hartopo, 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
High Salt Treated Cryptochrome Null Mice, Hyperaldosteronism Mice, Showed Glomerular Endothelial Surface Layer Damage and Proteinuria		2013 年 3 月	横浜

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 aggravated bleomycin-induced pulmonary vascular remodeling through promoting "outside-in" -mediated remodeling of adventitial fibroblasts and alternatively activated- macrophages		2013 年 3 月	横浜

発 表 者	学 会 名		
Dyah S. Mayasari, Noriaki Emoto, Keiko Yagi, Kazuhiko Nakayama, Nur Arfian, Hirowati Ali, 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
Proatherogenic Effect of Chondroitin Sulfate N-acetylgalactosaminyltr ansferase 2 is Mediated by the Induction of Subendothelial Lipoprotein Retention and Foam Cell Formation		2013 年 3 月	横浜

発 表 者	学 会 名		
Kazuhiko Nakayama, Noriaki Emoto, Yu Taniguchi, Hiroto Kinutani, Yoko Suzuki, Toshiro Shinke, 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
Impaired right heart function predicts the inefficacy of oral pulmonary vasodilators in the patients with pulmonary hypertension.		2013 年 3 月	横浜

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 76 回日本循環器学会総会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Temporal course of vessel healing after everolimus-eluting stent implantation: Long term serial follow-up by optical coherence tomography		2013 年 3 月	横浜

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		
Dwi Aris Agung Nugrahaningsih, Noriaki Emoto, Eko Purnomo, Nur Arfian, Anggoro Budi Hartopo, Kazuhiko Nakayama, Keiko Yagi, Ken-ichi Hirata	第 35 回日本高血圧学会総会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Skin Lymphatic Capillary Role on Blood Pressure Maintenance of High Salt Treated Hyperaldosteronism Mice		2012 年 9 月 20～22 日	名古屋

発 表 者	学 会 名		
Eko Purnomo, Noriaki Emoto, Dwi Aris Agung Nugrahaningsih, Keiko Yagi, Kazuhiko Nakayama, Satomi Nadanaka, Hiroshi Kitagawa, Ken-ichi Hirata	第 35 回日本高血圧学会総会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Altered Cell Surface Heparan Sulfate (HS) Expressions Induce Osteoblastic Differentiation and Attenuate Phagocytosis Activity of Human Coronary Artery Smooth Muscle Cells (HCASMCs)		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		
Dwi Aa. Nugrahaningsih Noriaki Emoto, Purnomo Eko, Nur Arfian, Anggoro B. Hartopo, 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
Lymphatic Capillary Density Increase on Salt Treated Hyperaldosteronism Mice Restrain Hypertension Development		2012年3月 3~4日	福岡

発表者	学 会 名		
Dwi Aa. Nugrahaningsih Noriaki Emoto, Purnomo Eko, Nur Arfian, Anggoro B. Hartopo, 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
Lymphatic Capillary Density Increase on Salt Treated Hyperaldosteronism Mice Restrain Hypertension Development		2012年3月 3~4日	福岡

発 表 者	学 会 名		
Noriaki Emoto	第 76 回日本循環器学会総会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
Clock Abnormality in the Pathogenesis of the Cardiovascular Dysfunction		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 —病態への関与と治療標的としての展望—		2012年8月 10～11日	浜松



神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治様

研究代表者所属・職 衛生化学研究室・教授

研究代表者氏名 岡野 登志夫

平成24年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成25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と新規ビタミン K 誘導体の開発				
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
	岡野 登志夫	神戸薬科大学	薬学部	教授	研究の統括
	須原 義智	芝浦工業大学	システム理工学部	教授	新規誘導体合成
	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ン類 (MK-n) であるが、生体内にはメナキノン 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り、申請者らはこの変換反応を担う鍵酵素が UbiA prenyltransferase domain containing 1 (UBIAD1) であることを明らかにしている。申請者らは、UBIAD1 の酵素化学的性質の解析を進めており、本研究では UBIAD1 の高次構造機能を酵素タンパク側からの解析と同時に、基質リガンド側からの解析も行い、MK-4 を生合成する反応機構や本酵素の基質認識特性の解明を試みた。岡野・中川は、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。まず、酵素反応条件を詳細に検討し、至適反応条件を見出した。構造的特徴としては、UBIAD1 の変異が発症要因である疾患 Schnyder Corneal Dystrophy (SCD) で報告されている変異を導入することで、UBIAD1 の酵素活性が有意に変化すること、膜貫通領域を欠損させることで活性が消失することを明らかにした。さらに、本酵素を His-tag 融合タンパクとして発現させて Ni カラム精製を行い、酵素活性を保持したタンパク質として単離することを試みた。高純度に精製はできたが、膜タンパク質であるため酵素活性を保持したままの精製には至らず、継続して検討している。須原は、ビタミン K 同族体およびイソプレノイド化合物を分子基盤として様々な構造の基質リガンドを合成し、MK-4 と類似の活性を有するリガンドおよび UBIAD1 による MK-4 への変換基質として有効なリガンドの創製を試みた。MK-4 と類似の活性を持つリガンドについては、MK-4 が結合する核内受容体である SXR への結合性を指標に活性評価を行い、MK-4 と同等の活性を持つリガンドの構造的特徴を見出した。また、種々の構造修飾を行ったリガンドを開発し、MK-4 と同等の活性を持ちかつ MK-4 への変換効率の高い化合物の創製を試みた。</p> <p>以上より、UBIAD1 の酵素化学的性質および MK-4 と同等の活性を有する新規ビタミン K 誘導体や UBIAD1 の基質となるリガンドを創製することができた。今後さらに両研究機関で協力して研究を行うことにより、UBIAD1 による MK-4 生合成機構の全貌解明ができるものと期待している。</p>					

〈研究論文〉

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.	34(2)	2013	317-29	

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	

〈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			
Suhara Y, Motoyoshi S, Hirota Y, Sawada N, Nakagawa K, Tokiwa H, Okano T.	Structure-activity relationship of novel vitamin K analogues as steroid and xenobiotic receptor (SXR) agonists.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Yakugaku Zasshi.	132(8)	2012	881-6	

〈学会発表〉

発表者	学会名		
K. Nakagawa, Y. Uchino, Y. Suhara, T. Okano	American Society for Bone and Mineral Research (ASBMR) 2012 Annual Meeting		
タイトル	開催日	開催場所	
Substrate Recognition of Human Menaquinone-4 Biosynthetic Enzyme UBIAD1	2012.10.14	ミネソタ州、米国	



発 表 者	学 会 名		
T. Okano, K. Nakagawa, Y. Hirota, Y. Suhara.	American Society for Bone and Mineral Research (ASBMR) 2012 Annual Meeting		
タ イ ト ル	開催日	開催場所	
Statins and Bisphosphonates Inhibit Menaquinone-4 Biosynthesis in Bone	2012.10.15	ミネソタ洲、 米国	



神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治様

研究代表者所属・職 薬品化学研究室・教授  
研究代表者氏名 宮田 興子

平成24年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成25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・薬学科	教授	研究計画の立案・総括
	上田 昌史	神戸薬科大学	薬学部・薬学科	准教授	候補化合物の合成
	松野 研司	岡山大学大学院	医歯薬学総合研究科	准教授	候補化合物の抗癌活性評価
共同研究の成果					
<p>今日の製薬業界において、これまでになかった全く新しい作用機序をもつ医薬品の開発は、極めて困難である。それは、既存の化合物ライブラリーを用いたハイスループットスクリーニングに強く依存しているためである。この現状を打開するためには、新規骨格をもつ化合物の合成およびそのライブラリー構築が急務である。特に、含窒素複素環は医薬品や生物活性化合物に含まれる重要な基本骨格であり、これまでに多くの合成法が報告されているが、未開拓な含窒素複素環化合物も多く、新規医薬品のリードとなる可能性が高い化合物群である。</p> <p>そこで、まず、<i>N</i>-アルコキシ-<i>o</i>-アルキニルベンズアミドの閉環反応によるイソキノリン骨格の新規構築法の開発研究を行った。様々な遷移金属触媒をスクリーニングした結果、触媒としてPdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>を用いて、ベンゾキノロン存在下、1,2-ジクロロエタン中、還流条件下で反応を行ったところ、位置選択的に6-<i>endo-dig</i>様式の閉環反応が進行し、4位に水素原子が導入された<i>N</i>-メチルイソキノリノンが収率良く得られることが明らかとなった。</p> <p>次に、インドール酢酸類の新規合成法を確立することを目的として、共役ヒドラゾンを経たラジカル付加反応とFischer型インドール合成が連続するドミノ型反応を検討した。ヨウ化亜鉛存在下、ラジカル開始剤としてトリエチルボランを用いて共役ヒドラゾンへのエチルラジカル付加反応を行ったところ、期待通りドミノ型反応が進行し、インドール酢酸誘導体が得られた。また、本反応を利用して、様々な置換基をもつインドール酢酸誘導体の合成にも成功した。</p>					

〈研究論文〉

著者名	論文標題			
Manita Jithunsa, Masafumi Ueda, Naoki Aoi, Shoichi Sugita, Tetsuya Miyoshi, Okiko Miyata.	Palladium-Catalyzed Synthesis of Isoquinolinones via Sequential Cyclization and N-O Bond Cleavage of N-Methoxy-o-alkynylbenzamides			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
<i>Synlett</i>	(4)	2013	475-478	

〈学会発表〉

発表者	学会名		
上田 昌史、伊藤 勇太、松田奈央美、三好 哲也、松野 研司、宮田 興子	第 63 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	
ラジカル付加反応を基盤とする新規ドミノ型反応を利用したインドール合成法の開発	平成 25 年 10 月 12 日	京田辺市	

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治 様

研究代表者所属・職 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24年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成25年3月31日付けをもって終了し、次の成果を得ましたので報告いたします。

記

共同研究課題	シクロ三リン酸塩による機能性アミノ酸のリン酸化				
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	神戸大学大学院	工学研究科	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>分岐鎖アミノ酸であるバリンまたはロイシンとシクロ三リン酸塩 (P<sub>3m</sub>) によるリン酸化反応を行った。リン酸化生成物の構造を、<sup>31</sup>P および <sup>1</sup>H NMR で解析したところ、バリンまたはロイシンの NH<sub>2</sub> 基に一リン酸が結合した生成物が得られることがわかった。バリンまたはロイシンには、NH<sub>2</sub> 基と COOH 基があるが、P<sub>3m</sub> と反応するのは NH<sub>2</sub> 基であることがわかった。また副生成物としてバリンまたはロイシンの三リン酸塩誘導体が生成することから、反応機構を以下のように考察した。バリンまたはロイシンのアミノ基のローンペアが P<sub>3m</sub> のリン原子を求核攻撃すると P<sub>3m</sub> が開環し三リン酸塩誘導体が生成する。しかしながら、この三リン酸塩誘導体は不安定で、分子内求核反応により環状の一リン酸塩誘導体を経て鎖状の一リン酸塩誘導体が生成すると考えられた。そこで、HPLC によりこれらの一リン酸塩誘導体の収率を求め、最適反応条件を検索した。</p> <p>リン酸化の最適反応条件は、バリンまたはロイシン:P<sub>3m</sub> = 0.5 mol/L:0.5 mol/L、pH 12、25 °C で収率 40 % であった。バリンおよびロイシンは、それ自身の水溶性が低く、反応モル濃度を 0.5 mol/L 以上にできなかったため収率が低くなったことが考えられた。</p> <p>さらに、バリンまたはロイシンのリン酸化生成物の単離を検討した。陰イオン交換樹脂を充填したカラムクロマトグラフィーでの単離を行ったが、生成物が中性付近の pH では不安定であり、高純度では得られなかったため、別な単離方法の開発が望まれる。</p> <p>一方、シトルリンの P<sub>3m</sub> によるリン酸化反応では、収率は 85 % と高かった。また、生成物の構造は、各種 NMR 測定の結果からシトルリンの一リン酸塩誘導体であることがわかった。シトルリンには、反応部位が 4 か所あるが、2 位の NH<sub>2</sub> 基のみが選択的にリン酸化されることがわかった。反応の最適条件は、シトルリン:P<sub>3m</sub> = 1.0 mol/L:0.5 mol/L、pH 12、25 °C であり、シトルリン過剰条件が良かった。</p> <p>次にシトルリンのリン酸化生成物の単離を検討した。陰イオン交換樹脂を充填したカラムクロマトグラフィーでの単離を行ったところ生成物が中性付近の pH では不安定であるため、高純度では得られなかった。そこで、有機溶媒によってリン酸化生成物を沈殿させる方法を検討した。リン酸化生成物は、エタノールを添加すると粘性のある液状になって底に沈殿することがわかった。この粘性のある液体をエバポレーターで濃縮し、シロップ状の固体を得た。単離した生成物の同定は、<sup>31</sup>P、<sup>1</sup>H NMR および ESI-MS で行った。</p> <p>以上のような結果より、P<sub>3m</sub> による機能性アミノ酸のリン酸化が新規なリン酸化アミノ酸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アミノ酸は、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機能性アミノ酸は、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, T. Kita, T. Iiduka, M. Tsuhako, H. Nariai, H. Nakayama	Phosphorylation of citrulline with cyclo-triphosphate in aqueous solution			
雑 誌 名	卷	発行年	ページ	
Phosphorus Res. Bull.	28	2013	<i>in press</i>	

〈学会発表〉

発 表 者	学 会 名		
前田 秀子、飯塚 高之、北 友明、津波古充朝、中山 尋量	第22回無機リン化学討論会		
タ イ ト ル		開催日	開催場所
シクロ三リン酸塩による機能性アミノ酸のリン酸化反応		2012.9.26	神戸

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治様

研究代表者所属・職 生化学研究室・教授  
研究代表者氏名 北川裕之

平成24年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成25年3月31日付けをもって終了し、次の成果を得ましたので報告いたします。

記

共同研究課題	合成糖鎖を用いた硫酸化グリコサミノグリカンの生合成と機能の研究				
構 成 員	氏名	所属学校・研究機関等名	学部・学科等名	職名	研究の役割分担
	北川裕之 田村純一	神戸薬科大学 鳥取大学	薬学部 地域学部・地域環境学科	教授 教授	生合成および機能の解析と全体の総括 糖鎖合成
共同研究の成果					
<p>コンドロイチン硫酸およびヘパラン硫酸を含む硫酸化グリコサミノグリカン鎖は、多様な硫酸化修飾構造をもつ多糖鎖の一つであり、細胞接着、分化、神経回路網の形成などを調節する役割を果たしているが、その硫酸化構造の生合成と機能との相関は十分に解明されていない。本研究では、糖鎖有機合成の専門家の協力により、有機化学的に合成された糖鎖を用いて、硫酸化グリコサミノグリカン鎖の精密な生合成機構と機能を明らかにすることを目標としている。</p> <p>昨年度は、コンドロイチン硫酸 E の 4 糖や 6 糖、および硫酸化されていないコンドロイチンの 4 糖や 6 糖を化学合成し、それらを用いて Midkine と呼ばれる増殖因子との相互作用解析を行った。本年度は、さらにコンドロイチン硫酸 A の 4 糖や 6 糖を新たに合成し、N-カドヘリンおよびカドヘリン -11 と呼ばれる細胞接着分子との相互作用解析を行った。さらに、膜内骨化をシミュレートできるマウス頭蓋骨由来骨芽細胞様細胞株である MC3T3-E1 細胞を用いて、合成されたコンドロイチン硫酸の骨芽細胞分化やシグナル伝達機構に与える影響を解析した。また、コンドロイチン硫酸 E の 4 糖、コンドロイチン硫酸 A の 4 糖、および硫酸化されていないコンドロイチンの 4 糖などの還元末端側にビオチンをつけたものも合成した。これらを用いて Biacore の基盤に固着化し、N-カドヘリンおよびカドヘリン -11 との相互作用解析を詳細に行った。その結果、コンドロイチン硫酸 E が細胞間接着分子である N-カドヘリンおよびカドヘリン -11 と結合し、Smad3 および Smad1/5/8 といった細胞内シグナルを調節することで、骨芽細胞分化を制御することが明らかになった。</p> <p>1) Koike, T., et al. (2012) Biochem. Biophys. Res. Commun., 420, 523-529.</p>					

〈研究論文〉

著 者 名	論 文 標 題			
Koike, T., Izumikawa, T., Tamura, J., and Kitagawa, H.	Chondroitin sulfate-E fine-tunes osteoblast differentiation via ERK1/2, Smad3 and Smad1/5/8 signaling by binding to N-cadherin and cadherin-11.			
雑 誌 名	卷	発行年	ページ	
Biochem. Biophys. Res. Commun.	420	2012	523-529	



## 神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治様

研究代表者所属・職 生命有機化学研究室・教授  
 研究代表者氏名 和田 昭盛

平成24年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成25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
	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	岡山大学大学院	医歯薬学総合研究科	准教授	生物活性・評価
共同研究の成果					
<p>【背景】 Retinoid X receptors (RXRs; isotypes <math>\alpha</math>, <math>\beta</math>, <math>\gamma</math>) は、自身とホモ二量体もしくは他の核内受容体である retinoic acid receptors (RARs), vitamin D receptors (VDRs), peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs)、liver X receptors (LXR<math>\alpha</math>), farnesoid X receptors (FXR<math>\alpha</math>) などとヘテロ二量体を形成し、リガンド結合依存的に転写を調節する核内受容体の一つである。RXR の内因性リガンドとされる 9-<i>cis</i>-レチノイン酸は RXR のみならず RAR のアゴニストとしても機能するが、9-<i>cis</i>-レチノイン酸の構造に近い 9cUAB30 は RXR 選択的アゴニスト活性を示す。そこで、我々は 9-<i>cis</i>-レチノイン酸のシクロヘキセン環を種々変換したところ、単環テルペノイドである (-)-メントンに置き換えた誘導体 MentViMe が RXR 選択的アゴニストとして機能することを明らかにした (<i>Bioorg. Med. Chem.</i> 2011)。Bexarotene や NEt-TMN はその脂溶性部位として 1,1,4,4-テトラメチルテトラリン構造を有している。今回我々は MentViMe の RXR 選択性向上と安定性の改善を期待して、MentViMe と 1,1,4,4-テトラメチルテトラリン構造をハイブリッドさせたメントン由来の二環性骨格を有する誘導体 MentPhMe 及び MentPhEt をデザインし、その合成と転写活性を検討した。</p> <p>【方法・結果】 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と、プロバ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 カップリング条件で連結し、最後に加水分解することで所望の 9-<i>cis</i>-レチノイン酸誘導体 MentPhMe 及び MentPhEt を合成した。合成化合物の RXR 及び RAR 転写活性能についてレポータージーンアッセイにて測定した結果、単環性化合物 MentViMe の側鎖の一部を MentPhMe のようにベンゼン環で縮環することで RXR 及び RAR 活性化能がいずれのアイソタイプについても増強されることを見出した。また MentPhMe の側鎖部の置換基 R をメチル基から MentPhEt のエチル基にすることで RXR 活性化能が約 4 倍増強し、尚且つ RAR 活性化能が 1/3 ~ 1/8 程度に減弱し、結果として RXR &gt; RAR 選択性が発現することを明らかにした。NEt-TMN は高い RXR 選択性且つ強力な転写活性を示す一方で、化合物 MentPhEt は <math>10^{-8}</math> M では NEt-TMN と同程度の RXR アゴニスト活性を有するだけでなく RAR <math>\alpha</math> のパーシャルアゴニスト (Am80 に比較して RAR <math>\alpha</math> の efficacy 61%, EC<sub>50</sub> = 66 nM) としての特性を持ち合わせている。また MentPhEt は他の核内受容体である PPAR <math>\gamma</math> や LXR <math>\alpha</math> に対しても転写活性を殆ど示さず、尚且つ RXR <math>\alpha</math> とのヘテロ二量体である PPAR <math>\gamma</math> / RXR <math>\alpha</math> や LXR <math>\alpha</math> / RXR <math>\alpha</math> に対しても NEt-TMN と比較して転写活性を抑えたパーシャルアゴニスト活性を示すことが分かった。MentPhEt がこれらのヘテロダイマーに対し適度な活性化を示す結果は、RXR フルアゴニストに見られるトリグリセリド上昇などの副作用回避、さらに LXR/RXR 活性化に起因したアルツハイマー治療効果などにも通じると考えられることから、非常に興味深い知見であると言える。</p>					

〈学会発表〉

発表者	学会名		
沖津 貴志、山田 翔也、 加来田博貴、和田 昭盛	第30回メディシナルケミストリーシンポジウム		
	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創製	2012.11.28	東京

## 神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治様

研究代表者所属・職 医療薬学研究室・教授

研究代表者氏名 水野 成人

平成24年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成25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	生活習慣病，加齢性疾患の早期発見と予防のためのコホート研究				
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
	水野 成人	神戸薬科大学	医療薬学研究室	教授	研究・解析の統括
	渡邊 能行	京都府立医科大学	地域保健医療疫学	教授	研究・検診の統括
	栗山 長門	京都府立医科大学	地域保健医療疫学	准教授	研究・検診の担当
	尾崎 悦子	京都府立医科大学	地域保健医療疫学	助教	研究・検診の担当
共同研究の成果					
<p>J-MICC スタディは、協力者（参加者）の健康状況を長期に追跡し、生活習慣、遺伝子型、血液成分と疾患の関係を検討する全国規模の多施設共同コホート研究である。神戸薬科大学と京都府立医科大学の共同研究では、京都府下の J-MICC スタディ協力者を対象として、栄養摂取状態、運動習慣、血液成分、ヘリコバクター・ピロリ感染による慢性的な胃機能低下などが骨粗鬆症、がんをはじめとする生活習慣病や加齢性疾患に与える影響に着目し、検討を進めている。</p> <p>今回は、栄養摂取状況と骨密度、骨代謝マーカーの関連について解析を行った。対象は J-MICC スタディ京都フィールドの女性協力者 219 名であり、ホルモン剤使用者と閉経前で不規則の者は解析から除外した。協力者を閉経前群（121 名、平均年齢 42.2 歳）と閉経後群（49 名、平均年齢 58.6 歳）に分けて検討した。栄養状態は協力者の提出した食事記録から各栄養素の計算を行った、骨計測は超音波骨密度計 LD-100 を用い、橈骨の皮質骨厚、海綿骨密度、海綿骨弾性定数を測定した。骨代謝マーカーは BAP と TRACP-5b を測定した。</p> <p>閉経前後で比較すると、閉経後群では橈骨の皮質骨厚、海綿骨密度、海綿骨弾性定数はすべて低値であり、骨代謝マーカー TRACP-5b の有意な増加がみられた。閉経後群において、たんぱく質、脂質、ビタミン D の摂取が多いほど皮質骨厚、海綿骨密度が高値であり、脂質、ビタミン K、ビタミン B<sub>6</sub> の摂取が多いほど TRACP-5b は低値であった。閉経前群では栄養摂取量によるこれらの有意な差異を認めなかった。</p> <p>この結果から、骨密度の低下しやすい閉経後では、栄養摂取状況が骨密度・強度に影響を及ぼすことが示された。また、閉経前群は閉経後群に比較して全般的に栄養摂取量が少ない傾向がみられた。女性では肥満だけではなく過度なダイエットなど栄養不良の問題もあり、今後の加齢・閉経に伴う骨粗鬆症の進行が危惧された。</p> <p>平成 24 年度を通して繰り返し京都府下で J-MICC の検診を実施し、データの収集・測定を進めてきた。しかし、協力者数と測定項目が増加していることから、解析が十分に進んでいない面がある。今後は収集したデータの解析を急ぎ、検討結果の公表を進めていく予定である。</p>					

〈総 説〉

著 者 名	論 文 標 題			
渡邊 能行、水野 成人、 松川 泰子、廣畑 弘、 尾崎 悦子、栗山 長門	胃癌リスク診断の臨床疫学的課題			
雑 誌 名	卷	発行年	ページ	
臨床消化器内科	28	2013	1097-1100	

〈学会発表〉

発 表 者	学 会 名		
尾崎 悦子、栗山 長門、 渡邊 功、吉川 綾、 原 久美子、稲葉 雅章、 今西 康雄、水野 成人、 真野 功、渡邊 能行	第14回日本骨粗鬆症学会		
タ イ ト ル	開催日	開催場所	
日本人女性における骨と栄養摂取に関する検討	2012年 9月27日	新潟市	

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治様

研究代表者所属・職 病態生化学研究室・准教授  
研究代表者氏名 小林吉晴

平成24年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成25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	うつ病における脳内神経ステロイドの役割に関する研究				
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	研究の総合的企画立案、実験、データ解析と考察、論文投稿
	山田潤	横浜薬科大学	薬学部	教授	実験、データ解析、考察
	杉本由美	横浜薬科大学	薬学部	教授	立案、実験、データ解析、考察
	多河典子	神戸薬科大学	薬学部	講師	実験、データ処理、解析、考察
共同研究の成果					
<p>本研究ではシグマ1受容体アゴニストであるDHEASの抗うつ作用に対する感受性が高い雌性DBA/2系マウスと低い雄性ICR系マウスの2系統で、神経ステロイドの脳内各部位（frontal cortex, hippocampus, cerebellum, hypothalamus）における濃度を測定し、それらの脳内分布を調べ、抗うつ様作用との関連を検討した。またこれらの各ステロイド含有量の性差も検討した。DBA/2系マウスの各脳内ステロイド含有量は、ICR系マウスと同程度あるいは低値であったが、視床下部では全てのステロイド含有量は雄雌ともにICR系マウスよりDBA/2系マウスで有意に低値または低下傾向であった。また、DBA/2系マウスの海馬では雄雌ともにICR系よりcorticosterone含有量は有意に低値であり（雄：P&lt;0.01、雌：P&lt;0.05）、GR mRNA発現量は有意に高値（雄：P&lt;0.001、雌：P&lt;0.001）であった。一方、海馬ではcorticosterone以外のステロイド含有量は2系統間の差は認められなかった。大脳皮質では雌性DBA/2系Preg（P&lt;0.05）及びDHEAS含有量（P&lt;0.05）はICR系より有意に低値であったが、雄性では2系統で差は認められなかった。DBA/2系マウスは、ストレス応答の中核を担う視床下部で、シグマ1受容体のリガンドとなる脳内ステロイドレベルがICR系マウスより低いと推定され、シグマ1受容体リガンドであるDHEASに対する感受性がICR系マウスより高いのではないかと考えられた。また、corticosteroneはうつ誘発作用を有することが知られている。脳内corticosterone含有量とGR mRNA発現量の系統差も抗うつ薬に対する感受性に関連することも考えられた。</p> <p>学習・記憶、認知・うつに関わる海馬及び大脳皮質前頭葉では脳内ステロイドレベルに著明な系統差を認めなかったため、さらに、シグマ1受容体の発現量の系統差と脳内シグマ1受容体の分布について検討を行った。海馬のシグマ1受容体mRNA発現量（p&lt;0.01）及びタンパク発現量（p&lt;0.05）はICR系に比べDBA/2系マウスで有意に高かった。また大脳皮質前頭葉及び小脳でもタンパク発現量はDBA/2系マウスの方が多い傾向が見られた。また、シグマ1受容体の蛍光免疫染色では抗シグマ1受容体抗体（+）で（-）に比べ強染色が観察され、シグマ1受容体は脳組織の全領域で検出されたが、特に学習・記憶に関わる海馬でより組織特異的に局在していることを確認した。</p> <p>以上に結果より、DHEASの抗うつ様作用の感受性がICR系マウスよりDBA/2系マウスの方が高い原因として、DBA/2系マウスでは視床下部での脳内ステロイド含有量及び海馬でのcorticosterone含有量がICR系マウスより低値であること、また、DBA/2系マウスの海馬及び大脳皮質前頭葉でのシグマ1受容体の発現量がICR系マウスより多いことが関与していると考えられた。</p> <p>本研究により、不安、うつ、認知などの精神機能に視床下部での神経ステロイド及びcorticosteroneが関与すること、さらに海馬でのシグマ1受容体発現量が関与することが明らかとなった。これらの結果は精神機能異常発症の抑制に、神経ステロイドとシグマ1受容体が関与していることを示唆するものであり、神経ステロイドとシグマ1受容体がうつ病を含む精神機能疾患治療薬創出に寄与するものと考えられる。</p>					

〈研究論文〉

著者名	論文標題			
Sugimoto Y, Tagawa N, Kobayashi Y, Mitsui-Saito K, Hotta Y, Yamada J	Involvement of the sigmal receptor in the antidepressant-like effects of fluvoxamine in the forced swimming test in comparison with the effects elicited by paroxetine.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
Eur J Pharmacol.	696(1-3)	2012	96-100	

〈学会発表〉

発表者	学会名		
杉本由美 <sup>1)</sup> 、多河典子 <sup>2)</sup> 、小林吉晴 <sup>2)</sup> 、斎藤久美子 <sup>3)</sup> 、堀田芳弘 <sup>3)</sup> 、山田 潤 <sup>1)</sup> 、 <sup>1)</sup> 浜薬大・薬理、 <sup>2)</sup> 神戸薬大・病態生化学、 <sup>3)</sup> 金城学院大・薬横	第 86 回日本薬理学会年会		
タイトル	開催日	開催場所	
Antidepressant-like effects of a neurosteroid dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) in mice 神経ステロイド Dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) のマウスにおける抗うつ様作用について	2013.3.21~23	福岡	

発表者	学会名		
多河典子 <sup>1)</sup> 、杉本由美 <sup>2)</sup> 、山田 潤 <sup>2)</sup> 、小林吉晴 <sup>1)</sup> 、 <sup>1)</sup> 神戸薬大、 <sup>2)</sup> 横浜薬大	日本薬学会第 133 年会		
タイトル	開催日	開催場所	
大脳皮質及び海馬中の神経ステロイド含量におけるマウス系統差の検討 Strain differences of neurosteroid levels in cerebral cortex and hippocampus of normal mouse	2013.3.27~30	横浜	

発表者	学会名		
畑 幸織 <sup>1)</sup> 、白井那奈 <sup>1)</sup> 、多河典子 <sup>1)</sup> 、杉本由美 <sup>2)</sup> 、戸田雄大 <sup>2)</sup> 、山田 潤 <sup>2)</sup> 、田中将太 <sup>1)</sup> 、片山瑞補 <sup>1)</sup> 、寺尾紀実香 <sup>1)</sup> 、藤波 綾 <sup>1)</sup> 、小林吉晴 <sup>1)</sup> 、加藤郁夫 <sup>1)</sup> 、 <sup>1)</sup> 神戸薬大、 <sup>2)</sup> 横浜薬大	第 86 回日本薬学会近畿支部総会		
タイトル	開催日	開催場所	
抗うつ様作用にみられるマウス系統差と脳内ステロイド及びシグマ1受容体の関わりについて	2013.10.12	京田辺	

発 表 者	学 会 名	
戸田雄大 <sup>1)</sup> 、長谷川宏幸 <sup>2)</sup> 、 大橋晶子 <sup>2)</sup> 、多河典子 <sup>3)</sup> 、 加藤郁夫 <sup>3)</sup> 、堀田芳弘 <sup>4)</sup> 、 山田 潤 <sup>1)</sup> 、杉本由美 <sup>1)</sup> 、 <sup>1)</sup> 横浜薬大・薬理、 <sup>2)</sup> 日本大・医・機能形態学、 <sup>3)</sup> 神戸薬大・病態生化学、 <sup>4)</sup> 金城学院大・薬	第 87 回日本薬理学会年会	
タ イ ト ル	開催日	開催場所
Tetrahydrobiopterin (BH4) はマウスにおいて抗うつ様作用を示す Tetrahydrobiopterin (BH4) induces antidepressant-like effects in mice	2014.3.19~21	仙台

発 表 者	学 会 名	
多河典子 <sup>1)</sup> 、杉本由美 <sup>2)</sup> 、 白井那奈 <sup>1)</sup> 、戸田雄大 <sup>2)</sup> 、 山田 潤 <sup>2)</sup> 、藤波 綾 <sup>1)</sup> 、 小林吉晴 <sup>1)</sup> 、加藤郁夫 <sup>1)</sup> 、 <sup>1)</sup> 神戸薬大、 <sup>2)</sup> 横浜薬大	日本薬学会第 134 年会	
タ イ ト ル	開催日	開催場所
Dehydroepiandrosterone sulfate の抗うつ様作用とシグマ 1 受容体発現との関連について Involvement of sigma 1 receptor expression in brain in antidepressant-like effects of dehydroepiandrosterone sulfate	2014.3.27~30	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 北河修治様

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24年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成25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 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。昨年度までに得られた知見より、このニューデシンが免疫細胞の機能や分化に関わることが期待された。本年度では、全脾臓細胞に対して、組換えニューデシンタンパクを処置したときのサイトカイン発現にあたる影響と、ニューデシンノックアウトマウスにおける制御性T細胞について検討を行った。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、インターロイキン12(IL-12)に代表される細胞性免疫に関わるサイトカインや、IL-4に代表される液性免疫に関わるサイトカインの発現は変化しなかったものの、IL-2、IL-10、TGF-<math>\beta</math>の発現は増加した。IL-2は制御性T細胞の維持に、IL-10、TGF-<math>\beta</math>は制御性T細胞の分化に関わるサイトカインであることから、生体においてニューデシンは制御性T細胞の維持や分化を促進する可能性が示唆された。そこで、通常飼育したニューデシンノックアウトマウスの脾臓における制御性T細胞数や、IL-10、TGF-<math>\beta</math>の発現を検討したが、野生型マウスとほとんど差は認められなかった。一方で、制御性T細胞は敗血症などの病態で増減することが報告されていることから、今後はニューデシンノックアウトマウスに対し敗血症を誘導し、制御性T細胞の挙動を検討することを考えている。</p> <p>②FGF21の生理的な役割の解明 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。骨格筋や肝臓においてオートファジーを抑制したマウスは、高脂肪食による肥満症やインスリン抵抗性が減弱した。このとき、オートファジーが抑制された臓器において FGF21 が発現誘導されることから、FGF21 ノックアウトマウスにおいてオートファジーを抑制したところ、体重増加抑制などが消失した。その他の知見も総合して、FGF21 は、オートファジーの抑制やその結果起こるミトコンドリア機能の減弱により誘導され、食餌性肥満やそれに伴い起こる代謝異常を抑制する mitokine であることが明らかとなった。</p> <p>さらに、FGF21の胸腺内T細胞分化における役割について検討を行った。FGF21 ノックアウトマウスでは、胸腺内のCD8陽性細胞の減少が認められる。そこで、胸腺における FGF21 の産生細胞の同定を試みた。その結果、FGF21は胸腺内の上皮細胞(TEC)に発現することが明らかとなった。また胸腺内のCD8陽性細胞の分化には、IL-7とIL-7受容体のシグナルが重要である。FGF21 ノックアウトマウスのCD8陽性細胞ではIL-7受容体<math>\alpha</math>鎖の発現が、わずかではあるものの減少していた。以上の結果より、胸腺上皮細胞由来の FGF21 はIL-7受容体の発現重要であることが明らかになった。</p>					

〈研究論文〉

著 者 名	論 文 標 題			
Kim KH, Jeong YT, Oh H, Kim SH, Cho JM, Kim YN, Kim SS, Kim do H, Hur KY, Kim HK, Ko T, Han J, Kim HL, Kim J, Back SH, Komatsu M, Chen H, Chan DC, Konishi M, Itoh N, Choi CS, Lee MS.	Autophagy deficiency leads to protection from obesity and insulin resistance by inducing Fgf21 as a mitokine.			
雑 誌 名	卷	発行年	ページ	
<i>Nature medicine</i>	19	2013	83-92	

〈学会発表〉

発 表 者	学 会 名		
増田 有紀、筒井 沙耶、神田由紀子、太田 紘也、伊藤 信行、小西 守周	第 35 回分子生物学会		
タ イ ト ル	開催日	開催場所	
Fgf21 の胸線内 CD8+ T 細胞の分化、成熟における役割	12 月 14 日	マリンメッセ 福岡	

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治様

研究代表者所属・職 薬化学研究室・教授  
研究代表者氏名 棚橋 孝雄

平成24年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成25年3月31日付けをもって終了し、次の成果を得ましたので報告いたします。

記

共同研究課題	高等植物ならびに地衣類を起源とする DNA 代謝酵素阻害剤の探索				
構 成 員	氏名	所属学校・研究機関等名	学部・学科等名	職名	研究の役割分担
	棚橋 孝雄	神戸薬科大学	薬学部・薬学科	教授	統括
	竹仲 由希子	神戸薬科大学	薬学部・薬学科	講師	成分の構造決定
	水品 善之	神戸学院大学	栄養学部食・健康学部門	准教授	活性の評価
共同研究の成果					
<p>ベトナム産の <i>Pyrenula</i> 属の地衣より、孢子由来の単離地衣菌を培養し、新規ポリケタイド pyrenulic acid 類を構造決定し、DNA ポリメラーゼ <math>\alpha</math> および <math>\beta</math> の阻害活性、ならびにヒトがん細胞 HCT116 の増殖抑制活性を精査した。その結果、6種の pyrenulic acid 類のうち pyrenulic acid A が最も強い活性を示した。pyrenulic acid A は <math>100 \mu\text{M}</math> の濃度で、DNA ポリメラーゼ <math>\alpha</math>、<math>\beta</math> いずれに対しても 90%以上の阻害活性を示し、<math>10 \mu\text{M}</math> の濃度で 50%以上の HCT116 増殖抑制活性を示した。また他の pyrenulic acid 類との比較により、構造-活性相関についても若干の知見を得た。</p> <p>タイ産の薬用植物 <i>Acronychia pedunculata</i> (L.) Miq. について成分検索を行い、既知のステロイド、リグナンとともに、3種の新規化合物を含む 5種の acetophenone 誘導体を単離、構造決定した。さらに、これら単離した 5種の acetophenone 誘導体について、DNA ポリメラーゼ <math>\alpha</math>、<math>\beta</math> に対する阻害活性およびヒトがん細胞 HCT116 の増殖抑制活性を評価し、これら化合物が弱い活性を持つことを明らかにした。</p>					

〈研究論文〉

著者名	論文標題			
Sachiko Kozaki, Yukiko Takenaka, Yoshiyuki Mizushina Takao Yamaura Takao Tanahashi	Three Acetophenones from <i>Acronychia pedunculata</i>			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
J. Nat. Med.		2014	印刷中	

〈学会発表〉

発表者	学会名		
Yukiko Takenaka, Takao Tanahashi, Duy Hoang Le, Nobuo Hamada, Yoshiyuki Mizushina	52 <sup>nd</sup> Annual Meeting of the Phytochemical Society of North America		
タイトル	開催日	開催場所	
BIOACTIVE POLYKETIDES FROM CULTURED LICHEN MYCOBIONTS OF <i>PYRENULA</i> SP.	2013年 8月3~7日	Oregon, USA	

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治様

研究代表者所属・職 薬品物理化学研究室・教授  
研究代表者氏名 向高弘

平成24年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成25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	神戸薬科大学	薬学部	講師	ペプチド合成及び評価
	斎藤博幸	徳島大学	薬学部	教授	相互作用解析
共同研究の成果					
<p>SAA の断片化ペプチドを用いて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 SAA 分子の N 末端領域以外に、中間領域がヘパリン存在下で線維形成能を持つ部位であるということ初めて明らかにした。興味深いことに、この中間領域にはアミノ酸変異をもつアイソフォームが存在し、日本人においてはアイソフォーム間で AA アミロイドーシスへの罹患率が異なるという報告がある。そこで、各アイソフォームに対応する中間領域ペプチドを作製し、線維形成能評価を行った。その結果、各アイソフォームに対応する中間領域ペプチドでは線維形成能が異なることが明らかとなった。すなわち、SAA 分子の中間領域が線維形成に関与するかどうか AA アミロイドーシスへの罹患率に影響を及ぼすと推察された。次に、SAA の全長タンパク質を用いて線維形成を評価した結果、いずれのアイソフォームも線維形成能を示したが、形成された線維の形態がアイソフォーム間で異なることが電子顕微鏡観察により示唆された。アミロイド線維の形態が細胞毒性を発揮する一つの要素であると考えられているため、現在これら各アイソフォームが形成する異なる形態の線維について細胞毒性評価を行っている。</p> <p>SAA の大部分は血中において高密度リポ蛋白質 (HDL) に結合した状態で存在する。そこで、脂質への結合が線維形成に与える影響について調べた。ヘパリン存在下、SAA ペプチドに脂質として中性のリゾホスファチジルコリン (lysoPC) を臨界ミセル濃度 (CMC) 以上加えた。チオフラビン T 蛍光の増大と <math>\beta</math> シート構造の形成を観察することで線維形成の指標とした。N 末端ペプチドは lysoPC ミセルに結合し、<math>\alpha</math> ヘリックス構造を示した。N 末端ペプチドにヘパリンを添加すると線維形成が認められるが、lysoPC を共存させると線維形成は抑制された。一方、中間領域ペプチドは lysoPC ミセルには結合せず、ランダムコイル構造のままであった。また、中間領域ペプチドにヘパリンを添加した際に認められる線維形成は、lysoPC を共存させても影響を受けなかった。すなわち、SAA ペプチドの線維形成が脂質への結合に依存することが示された。今後は、脂質組成の影響についても検討する予定である。</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	587	2013	510-515	

〈学会発表〉

発表者	学会名		
星川 梢、辻野奈緒美、 田中 将史、斎藤 博幸、 向 高弘	第 63 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	
アポ E 含有脂質ナノディスクの腫瘍細胞への集積性評価	2013/10/12	京田辺	

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治様

研究代表者所属・職 生命分析化学研究室・教授  
研究代表者氏名 小林 典裕

平成24年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成25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 in vitro 特異性成熟			
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>免疫測定法は抗原抗体反応に基づく分析法で、臨床診断マーカーの検出と定量に重用される。本法では、測定対象物質に対する抗体が分析試薬として働くが、動物を免疫して得られる抗体は免疫応答が遺伝的統御を受けるため、必ずしも実用的な結合能を示さない。そこで、天然の抗体を上回る変異抗体の創製を目指して、抗体遺伝子へランダム変異を導入する「試験管内分子進化」により、既存のモノクローナル抗ステロイド抗体の特異性の改善を試みた。下垂体副腎疾患マーカーのコレチゾール、婦人科領域の診断マーカーであるエストラジオール-17βについて、既に当研究室が保有している抗体分泌ハイブリドーマから可変部ドメイン VH と VL 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。さらに、この野生型 scFv 遺伝子に error-prone PCR によりランダム点変異を導入してファージ提示し、得られた scFv 提示ファージのライブラリーから、パンニング法により野生型より高い特異性を示すファージクローンの選択を試みた。コレチゾールについては、パンニングで回収したファージのうち約 50 クローンについて、代表的な交差反応性物質である 11-デオキシコレチゾール (11-DC) との反応性を指標として特異性の変化を評価した。その結果、11-DC との交差性が、野生型の 80% から 50% まで低下したクローンを見出した。そこで、この scFv クローンの VH と VL にさらにランダム点変異を加えた 2 次ライブラリーを構築し、現在、さらに特異性が改善された変異体を探索中である。</p>					

〈研究論文〉

著者名	論文標題			
Oyama H., Tanaka E., Kawanaka T., Morita I., Niwa T., Kobayashi N.,	Anti-Idiotypic scFv - Enzyme Fusion Proteins : A Clonable Analyte-Mimicking Probe for Standardized Immunoassays Targeting Small Biomarkers			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
<i>Anal. Chem.</i>	85	2013	11553-11559	

〈総説〉

著者名	論文標題			
小林 典裕	理想のアッセイ原理を可能にする免疫センサー Quenchbody.			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
臨床化学	41	2012	268-269	

〈著者〉

著者名	著書名		
小林 典裕	スタンダード薬学シリーズ2・物理系薬学II, 化学物質の分析 (第3版)		
出版社	発行年	ページ	
東京化学同人	2012		

著者名	著書名		
小林 典裕	NEW 薬品分析化学 (第2版)		
出版社	発行年	ページ	
廣川書店	2012		

著者名	著書名		
小林 典裕 (分担執筆)	薬学用語辞典		
出版社	発行年	ページ	
東京化学同人	2012		

〈学会発表〉

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	



発 表 者	学 会 名		
大山 浩之、山口 修子、 中田 茂利、丹羽 俊文、 小林 典裕	第 52 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
試験管内分子進化による高親和力抗エストラジオール scfv の創製と応用		2012.09.07	盛岡



神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治様

研究代表者所属・職 製剤学研究室・教授  
研究代表者氏名 北河修治

平成24年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成25年3月31日付けをもって終了し、次の成果を得ましたので報告いたします。

記

共同研究課題		経皮吸収型製剤からのフェンタニルの吸収性に関する研究			
構 成 員	氏名	所属学校・研究機関等名	学部・学科等名	職名	研究の役割分担
	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
	沼田千賀子	神戸薬科大学	薬学部	教授	研究企画、患者データの収集
平井みどり	神戸大学	医学部附属病院	教授・ 薬剤部長	研究企画、データ解析	
共同研究の成果					
<p>【目的】 癌疼痛治療薬であるフェントス<sup>®</sup>テープ（以下テープ）は1日1回貼り替え型のフェンタニル持続性経皮吸収型製剤であるが、同用量貼付しても、患者間で血清中フェンタニル濃度が異なることが知られている。そこで、このフェンタニル吸収性に違いが生じた要因を明らかにするために、使用済みテープ中のフェンタニル残存率を測定した。</p> <p>【方法】 神戸大学医学部附属病院および市立芦屋病院の癌患者の使用済みテープを回収し、フェンタニル残存率を測定した。本研究では、テープを継続して20日間以上貼付した患者を対象とした。テープ中のフェンタニルを1 mol/L 塩酸とメタノールを加えて50℃、20時間振とうし抽出した後、メタノールで正確に100 mLとした。さらに、この溶液を10倍希釈し、HPLC分析を行い、フェンタニル残存率を測定した。</p> <p>【結果】 回収したテープ中のフェンタニル平均残存率は神戸大学医学部附属病院および市立芦屋病院で、それぞれ <math>30.6 \pm 14.4\%</math> (n=286)、<math>42.7 \pm 13.4\%</math> (n=542) であった。患者別に見ると、神戸大学医学部附属病院では <math>18.7 \pm 6.69 \sim 48.9 \pm 8.67\%</math>、市立芦屋病院では <math>16.3 \pm 9.3\% \sim 57.8 \pm 9.2\%</math> となり、患者間で大きな差が見られた。</p> <p>市立芦屋病院で最も長期に（89日間）貼付していた患者で1枚（1mg）貼付時（n=23）と2枚（1mgと4mg）貼付時（n=66）の平均残存率を比較したところ、2枚貼付時でいずれの用量のテープにおいても有意に残存率は高い値を示した。同じ病院で、48日間貼付していた患者で、皮膚等の付着物により貼付面が顕著に汚れていた2枚のテープの残存率は95.1%、91.1%と高値を示した。また、神戸大学医学部附属病院で、固定を目的としてテガダーム<sup>TM</sup>を使用したテープとテガダーム<sup>TM</sup>未使用のテープの残存率を比較したところ、4mg規格を除いて、テガダーム<sup>TM</sup>を使用したテープでフェンタニル残存率が有意に高かった。</p> <p>【考察】 2枚同時貼付時で、残存率が高くなったのは、複数枚貼付時には、貼付する部位が広くなり、1枚貼付時よりも皮膚に密着させにくくなったためではないかと考えられた。また、貼付面が清浄でない場合、薬物の放出が低下することが明らかとなった。これらのことからテープ剤の貼付状態が薬物放出量の変動要因の1つであることが示唆された。</p>					

〈学会発表〉

発表者	学会名		
中山みずえ、寺岡 麗子、 湯谷 玲子、沼田千賀子、 岡本 禎晃、平野 剛、 富田 猛、平井みどり、 北河 修治	第7回日本緩和医療薬学会年会		
タイトル		開催日	開催場所
1日貼り替え型フェンタニル貼付剤のフェンタニル放出量に影響を与える因子の検討		2013/09/15	幕張メッセ

発表者	学会名		
豎 ゆりか、寺岡 麗子、 湯谷 玲子、沼田千賀子、 岡本 禎晃、平野 剛、 富田 猛、平井みどり、 北河 修治	第7回日本緩和医療薬学会年会		
タイトル		開催日	開催場所
1日1回貼り替え型経皮吸収型持続性痛疼痛治療剤フェンタニル貼付剤の使用方法が製剤からのフェンタニル放出率に与える影響		2013/09/15	幕張メッセ

神戸薬科大学共同研究成果報告書

神戸薬科大学

学長 北河修治様

研究代表者所属・職 生薬化学研究室・教授  
研究代表者氏名 守安 正恭

平成24年7月18日付けで承認を受けた下記の共同研究は、平成25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				
構 成 員	氏名	所属学校・研究機関等名	学部・学科等名	職名	研究の役割分担
	守安 正恭	神戸薬科大学	生薬化学	教授	統括
	西山 由美	神戸薬科大学	生薬化学	講師	活性試験 (in vivo, in vitro)
	士反 伸和	神戸薬科大学	生薬化学	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					
<p>「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」を基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。本研究では、「清宮寿桃丸」の効能に関連して数種の試験を行ったので、その結果について以下に示す。</p> <p>まず、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、「清宮寿桃丸」および構成生薬から得られたメタノール抽出エキスについて、DPPHを用いたラジカル消去活性、スーパーオキシド消去活性およびNO産生抑制活性についての試験を行ってきた。その結果、これらの試験で清宮寿桃丸は活性を示し、本製剤が抗酸化活性を有する事がわかった。また、ホコツシ、コトウイ、ヤクチなどを、その抗酸化活性を担う生薬として確認した。</p> <p>一方、慢性的な炎症は、老化をはじめ様々な成人病の引き金になることがわかってきている。また、前述した活性酸素を発生させる要因の一つとしても、炎症が挙げられる。炎症は本来生体の防御反応ではあるが、慢性化した炎症による刺激は、内循環を悪化させ各種臓器障害や炎症性疾患を増悪させる。そこで、本製剤が炎症に対してどのような影響を与えるか検討した。前述のNOは活性酸素の1つではあるが、炎症にも大きく関与していることがわかっており、NO産生抑制試験においては、清宮寿桃丸および構成生薬のいくつかは、NO産生抑制活性が認められた。本年度においては、初期の炎症反応に関わる重要なサイトカインで、炎症反応を促進する役割を担っているTNF-<math>\alpha</math>の産生抑制作用について細胞および動物を用いて検討した。</p> <p>マウスマクロファージ細胞RAW264.7株を用いた実験では、清宮寿桃丸はTNF-<math>\alpha</math>の産生にほとんど影響を与えなかった。構成生薬においては、細胞毒性を示さない濃度で、テンモンドウ、コトウイ、クコシに産生抑制が認められた。</p> <p>次に、マウスを用いて実験を行った。細胞の実験では、清宮寿桃丸の添加は1回であったが、動物実験では4日間の連続投与を行った後に、LPSで起炎を行い、産生される血中TNF-<math>\alpha</math>の量をどれくらい抑制するか検討した。その結果、清宮寿桃丸はLPSによるTNF-<math>\alpha</math>の産生を有意に抑制することがわかった。TNF-<math>\alpha</math>は炎症の初期に産生されることから、このTNF-<math>\alpha</math>の産生を抑制することは、炎症の慢性化の予防には有効だと考えられる。今後、IL-6などの他のサイトカイン類に対する影響も検討したいと考えている。</p>					

〈研究論文〉

著 者 名	論 文 標 題			
西山 由美、石原由美子、 山田 南雄、土反 伸和、 守安 正恭、中谷 典義、 渡邊恵美子、佐々木泰介	清宮寿桃丸の効能に関する研究 -抗酸化活性について-			
雑 誌 名	卷	発行年	ページ	
生薬学雑誌 (投稿中)				

〈学会発表〉

発 表 者	学 会 名		
石原由美子、山田 南雄、 水田 有紀、西山 由美、 守安 正恭、中谷 典義、 佐々木泰介	日本生薬学会第60回年会		
タ イ ト ル	開催日	開催場所	
清宮寿桃丸のNOおよびTNF- $\alpha$ 産生抑制に対する作用の検討	9/7~9/8	北海道	