

# 和漢医薬学総合研究所年報

---

富 山 大 学

第 49 卷 2022 年

Annual Report  
Institute of Natural Medicine  
University of Toyama  
Vol. 49, 2022



# 和漢医薬学総合研究所年報

富 山 大 学

第 49 卷 2022 年

**Annual Report of Institute of Natural Medicine**

**University of Toyama Vol. 49, 2022**

富 山 大 学

和漢医薬学総合研究所



## 目次

<b>巻頭言</b> .....	1
<b>総 説</b>	
研究開発部門資源開発分野資源科学領域	
庄司 翼.....	2
<b>各部門・センターの活動と業績</b>	
研究開発部門	
資源開発分野    天然物創薬学領域.....	9
病態制御分野    神経機能学領域.....	19
生体防御学領域.....	27
複雑系解析分野    .....	34
未病分野    .....	37
国際共同研究分野    .....	43
薬用資源管理部門    .....	47
臨床応用部門    .....	51
産官学連携部門    .....	52
和漢医薬教育研修センター    .....	54
民族薬物資料館    .....	60
2022年度の活動記録.....	62

## 2022 年度 共同利用・共同研究活動

### 【特定研究】

山藁麹エキスの作製と生物活性の検討.....	63
<i>De novo</i> 発がんマウスモデルを用いたがん臨界点の同定と 予防先制医療への応用.....	68
タンパク質メチル化に対する和漢薬作用の生化学的効果の検証と 代謝疾患への応用.....	72
マウス ES 細胞の初期分化過程における単細胞 RNA シーケンスの データに対する DNB 解析の適応条件の検討と遷移状態の生物学的な理解.....	76
植物稀少有用化合物の生産を指向した 放線菌休眠二次代謝覚醒化システムの確立.....	79
植物性医薬品開発のための和漢薬の網羅的精密分析.....	83

### 【探索研究】

生薬・漢方ライブラリを用いた嫌気性腸内細菌の増殖評価.....	87
運動神経―骨格筋間の軸索投射を促進する生薬エキスの探索と慢性 期脊髄損傷マウスの運動機能改善作用への効果.....	88

伝統医学は人類が自然の摂理と天然の恵みを巧みに利用し、疾病の予防、治療にあたってきた経験知の集積です。和漢医薬学総合研究所は、現代の先端科学技術を駆使して、和漢薬をはじめとする伝統医学や伝統薬物を科学的に研究し、東洋医薬学と西洋医薬学の融合を図り、新しい医薬学体系の構築と自然環境の保全を含めた全人的医療の確立に貢献することを使命として、①天然薬物資源の確保と保全、②和漢医薬学の基礎研究の推進と東西医薬学の融合、③漢方医学における診断治療体系の客観化と人材の育成、④伝統医薬学研究の中核的情報発信拠点の形成 の重点課題を設けて、研究を推進しております。

特に、世界的に問題になっている高齢化の進行、多因子性疾患の増加、及び天然資源の枯渇に鑑み、本研究所では令和 2 年度から重点研究プロジェクト（高齢者疾患対策研究、代謝・免疫疾患対策研究、未病医療・創薬研究及び資源開発研究[令和 5 年度現在]）を推進し、その成果を社会実装することを目指しています。これらの目標を達成するための組織として、研究開発部門として 5 分野（資源開発、病態制御、複雑系解析、未病、国際共同研究）が連携し、特に臨床研究への橋渡しを目指した基礎研究や新規メカニズムに基づく創薬基盤の構築を目指した研究を行っています。この他の部門として、薬用資源管理部門では、和漢薬をはじめとする伝統薬物や天然薬物などの薬用資源の管理と維持、さらに天然物創薬を指向してこれらを活用した学内外との共同研究を推進しています。臨床応用、産官学連携の 2 部門では、本学附属病院や企業と協力して臨床試験や医薬品候補の発掘を推進しています。加えて、和漢医薬教育研修センターでは漢方医学教育を実践できる教員の育成とその教育研修システムの確立を目的とした教育研究活動を推進しています。また昨年度は研究所の改修工事が実施され、今年度からは新たな改善された環境で教育研究活動を行うことができます。今回の施設改修に伴い、研究所では大胆な研究スペースの共有化を行い、物理的にも組織内での研究連携を推進できる体制が準備できました。本研究所は、これらの 4 部門 1 センターが互いに連携し、東西医薬学の融合を基盤とした次世代型医療科学を創生して、健康長寿社会の形成に貢献することを目指します。

新型コロナウイルス感染症を経験し、我々の日常生活も大きな変換点を迎え、大学での教育研究活動も新しい日常への対応と変化が求められています。今後も新たな感染症への対応や、長寿高齢化社会を背景とした疾患の多様化への対応が重要な課題であることは明白です。我々人類が健康長寿社会を実現するためには、これまでに長きにわたり持続して保健医療に用いられてきた歴史を持つ伝統医薬学を活用することが肝要と考えられます。その実現のため、重要先端の生命科学・自然科学や科学技術を駆使して科学的エビデンスに基づく研究を念頭に、和漢医薬学領域と異分野領域との融合型共同研究を行うことが重要です。この方針の下、教育研究を進める所存ですので、皆様方の一層のご支援とご協力を、よろしくお願い申し上げます。

令和 5 年 4 月 1 日

和漢医薬学総合研究所 所長 早川芳弘





# 総説



## 植物二次代謝を制御する ERF 転写因子

富山大学和漢医薬学総合研究所 研究開発部門 資源科学領域  
庄司 翼

### はじめに

植物は生物活性を有するアルカロイドやテルペノイドなどの化学構造的にも多様な二次代謝産物を生産・蓄積します。厳しい自然環境において植物がよりよく生育・繁殖するために天然化合物は重要な役割を果たします。人類は古来より医薬、色素、香料、工業原料などとして植物由来成分を利用してきました。植物独自の APETALA2/ETHYLENE RESPONSE FACTOR (AP2/ERF) ファミリー (Nakano et al. 2006) に属する転写因子が、複数の植物系統で、ニコチン (Shoji et al. 2010) やステロイドグリコアルカロイド (SGA) (Cardenas et al. 2016; Thagun et al. 2016) などの毒性天然物や、アルテミシニン (Lu et al. 2013)、ビンブラスチン、ビンクリスチン (van der Fits and Memelink 2000) などの医薬などの多くの代謝産物の生合成を制御します (図 1)。これらの ERF 遺伝子は、相同遺伝子とともにゲノムにおいて遺伝子クラスターを構成し、植物の防御シグナルであるジャスモン酸 (JA) によって誘導されます。本稿では、ERF 転写因子の機能、遺伝子構成、分子進化、代謝工学への応用などに関する最近の進展を解説します。関連する総説 (Shoji 2019; Shoji and Yuan 2021) もご参照ください。

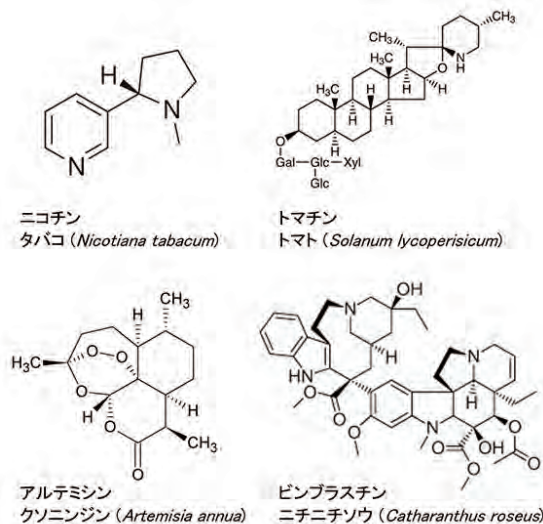


図1 ERF転写因子により制御される天然化合物

### 二次代謝の転写制御

植物やそれらのエキスは有史以前から薬用に供されてきました。人類の長年にわたる経験知に基づく伝統医薬は、生活に根付いた貴重な創薬基盤です。抗マラリア薬のセスキテルペンラクトンであるアルテミシン、抗がん性のジテルペンであるパクリタキセル (タキソール)、同じく抗がん性のモノテルペノイドアルカロイド (MIA) であるビンクリスチンとビンブラスチンなど数多くの天然化合物は、植物由来の医薬として用いられています。天然化合物は複数の光学中心を含む複雑な化学構造をもち、化学合成で効率的には生産できないことから、野生もしくは栽培された薬用植物から抽出・精製などの工程を経て供給されています。近年、植物における生理活性成分の生合成過程については、分子クローニングやゲノム科学の進展により急速に明らかにされつつあります。

多くの生理活性天然成分は植物の特定組織のみに微量で含有されます。また、同じ植物種でも遺伝的に異なる系統間で含量が異なったり、生育・栽培条件などにより含量が変動したりします。有用成分 (有効性) を安定的に得るためには、成分生合成の制御様式やそのメカニズムを理解する必要があります。二次代謝生合成遺伝子の発現は外的環境や内的な発生プログラムなどに応答してダイナミックに変動

します。こうした発現変動は主に転写レベルでの制御に依存しています。合成経路を構成する多数の遺伝子（生合成酵素やトランスポーターをコードする遺伝子）は、転写因子によって協調的に転写制御されます。例えば、アントシアニン色素や関連フラボノイドの合成経路は、MYB ファミリーや bHLH ファミリーに属する転写因子によって制御されます。最近では色素ばかりでなく変異が発見しづらい無色の代謝産物に関しても理解が進み、転写因子が成分変異の多くの原因であることもわかってきました (Shoji et al. 2021)。

脂肪酸由来の一群の化合物である JA 類は、植物において食害や感染に対する防除応答を惹起する代表的な植物ホルモンです。防御物質として二次代謝産物は JA シグナルによって蓄積が誘導されることがよく知られており、組織培養系において有用成分を誘導するエリシターとしてもしばしば利用されます。JA シグナル伝達経路に関しては受容から転写誘導に至るメカニズムが明らかにされており、プロテアソーム依存性の JAZ リプレッサーの分解とそれに伴う bHLH ファミリーに属する MYC2 などの転写因子の活性化が中心的な役割を果たしています (Shoji et al. 2008)。この JA シグナル伝達カスケードは AP2/ERF 転写因子などを介してさらに下流の防御応答・代謝経路につながります (Shoji and Hashimoto 2011a)。

## 二次代謝を制御する ERF 転写因子

AP2/ERF ファミリーは植物独自の転写因子スーパーファミリーで、一般的に各植物種で 100 以上のメンバー遺伝子が存在します (Nakano et al. 2006)。このスーパーファミリーは 4 つのファミリー (AP2, ERF, RAV, Soloist) に区別され、発生・生育やストレス応答など広範な過程に関与しています。AP2/ERF 転写因子は 3 つのβ鎖からなるシートと 1 つのαヘリックスから構成される特徴的な DNA 結合ドメインを有し、GCC 配列 (5' -AGCCGCC-3') などのシス制御要素を特異的に認識します (Allen et al. 1998)。

キョウチクトウ科の園芸・薬用植物ニチニチソウ (*Catharanthus roseus*) において JA 応答性の ERF ファミリー転写因子である Octadecanoid-derived Responsive Catharanthus AP2-domain 3 (ORCA3) が MIA 生合成を制御することを、ベルギーの研究グループが 2000 年に報告しました (van der Fits and Memelink 2000)。この報告以降、ORCA3 の相同因子で ERF ファミリー/グループ IXa/クレード II (Nakano et al. 2006; Shoji et al. 2013) に属する JA 応答性転写因子が、いくつもの植物系統において多様な二次代謝経路を制御することが次々に分かってきました。これらの転写因子には、ナス科嗜好品作物タバコ (*Nicotiana tabacum*) においてニコチンを制御する ERF189 (Shoji et al. 2010) と ERF199 (Shoji et al. 2022)、ナス科食用作物トマト (*Solanum lycopersicum*) においてトマチンなどの SGA を制御する JA-Responsive ERF 4 (JRE4) (Cardenas et al. 2016; Thagun et al. 2016)、キク科薬用植物クソニンジン (*Artemisia annua*) においてアルテミシンを制御する AaORC (Lu et al. 2013) などがあります。これらの ERF 転写因子は、GCC 配列やその類似配列である GC リッチ配列をそれぞれ特異的に認識することが知られています (Shoji and Hashimoto 2011b; Shoji et al. 2013)。シス配列の認識特異性は種間で若干異なるものの概ねは共通しており、例えば、ERF189 に制御されるニコチン生合成遺伝子プロモーターはトマトでは JRE4 によってコントロールされること (Shoji and Hashimoto 2019) や、タバコとニチニチソウの種間で互いの転写因子を機能的に交換可能であること (Paul et al. 2017) が報告されています。

## ERF遺伝子クラスター

ERFファミリー/グループ IXa/クレード II に属する転写因子遺伝子は、広範な真正双子葉植物において複数コピーの遺伝子として存在し、多くの場合、それらはゲノム中で遺伝子クラスターを形成しています(Shoji and Yuan 2021) (図2)。アブラナ科モデル植物シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) の *AtERF13* は例外的に1コピーで存在しますが、タバコでは10遺伝子(Kajikawa et al. 2017)、ジャガイモ (*Solanum tuberosum*) では9遺伝子(Cardenas et al. 2016)、トマトでは5遺伝子(Cardenas et al. 2016; Thagun et al. 2016)、ニチニチソウでは5遺伝子がクラスターを形成しています。さまざまな酵素ファミリーの遺伝子で構成される生合成遺伝子クラスターとは異なり、これら *ERF* 遺伝子クラスターでは相同遺伝子が縦列で整列しています。不等交差などによる遺伝子重複の繰り返しによってクラスターが形成されたと考えられます。植物ファミリーごとにクラスター化した *ERF* 遺伝子が分子系統樹上でまとまっていること(Shoji and Yuan 2021) (図2) から、それぞれの植物ファミリーで独立してクラスターが形成されたと考えられます。大きなスーパーファミリーの中で、なぜ特定の *ERF* のみが何度も多重化したのかは、*ERF* クラスターの生物学的、進化的意義を考える上で重要です。

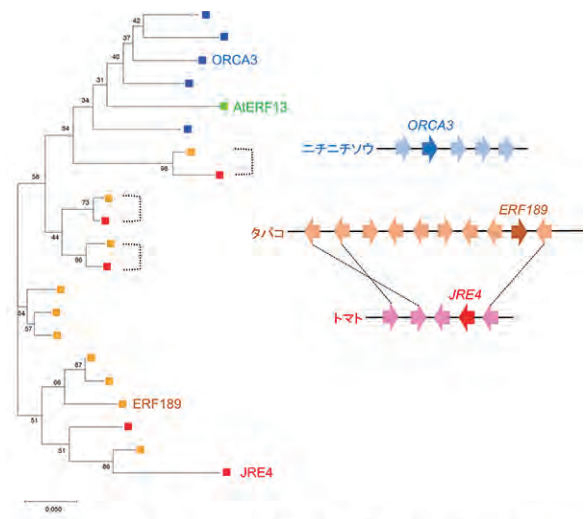


図2 ERF転写因子の分子系統樹と遺伝子クラスター  
ニチニチソウ(青)、タバコ(茶)、トマト(赤)のクラスターを構成するそれぞれ5つ、10つ、5つの *ERF* 遺伝子とシロイヌナズナの *AtERF13* (緑) について、DNA結合ドメインの配列を用いて分子系統樹(NJ法)を作成した。タバコとトマトで相同な3対の遺伝子について破線で示した。

## タバコ ERF189 と ERF199 によるニコチン生合成制御

ニコチンは毒性アルカロイドとしてタバコ属植物の根で生合成され全草に蓄積して、殺虫性の防御物質として機能します。ニコチン性アセチルコリン受容体に結合し強い薬理活性を示します。喫煙の習慣性に関わる成分としても注目されてきました。

1930年代に東欧で偶然発見されたタバコ系統はニコチン含量が低い(低ニコチン)ことから、低ニコチンタバコの育種に利用されました。育種を通じて遺伝学的な基盤が明らかとなり、

独立した2つの遺伝子座 *NIC1* と *NIC2* の二重変異 (*nic1-1nic2-1*) が低ニコチン形質(野生型の10~20%程度)の原因であることが分かりました(Legg and Collins 1971)。栽培種であるタバコは2つの野生種 *N. sylvestris* と *N. tomentosiformis* に由来する複二倍体です。*NIC* 遺伝子座の分子実体は長い間不明でしたが、筆者らの研究により、*NIC1* は *N. sylvestris* 由来の第7染色体上の *ERF199* であ

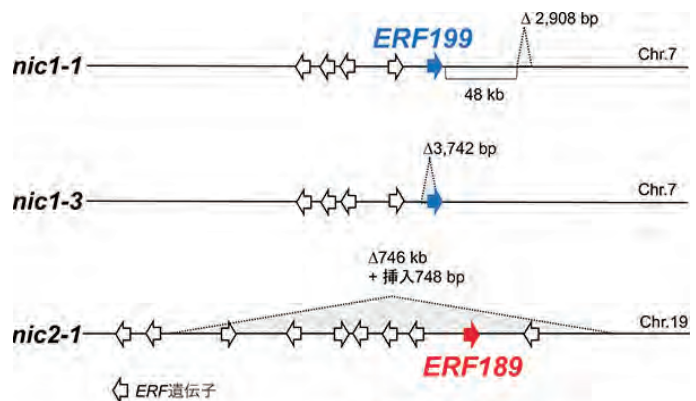


図3 タバコ *NIC1* と *NIC2* 遺伝子の変異アレル



り, *NIC2*は *N. tomentosiformis* 由来の第 19 染色体上の *ERF189*であることが分かりました(Kajikawa et al. 2017; Shoji et al. 2022) [2014 年のゲノム配列決定(Sierro et al. 2014)により詳細判明] (図 3)。それぞれのゲノム領域には 5 個と 10 個の *ERF* 遺伝子が縦列で並びクラスターを形成しています。発現や機能に関するいくつかの証拠(Kajikawa et al. 2017; Shoji and Hashimoto 2015)から, 多数の相同遺伝子のうち *ERF199*と *ERF189*の 1 対の遺伝子のみがニコチン制御に関与するものと考えられます。機能的に重複する *ERF199*と *ERF189*がともに機能欠損することで, 明瞭な低ニコチン表現型が現れます。*nic2-1*変異では *ERF189*と他 7 個の *ERF*を含む 746 kb の領域が欠損しています(図 3)。一方, *nic1-1*変異では *ERF199*周辺には変異箇所はなく, *ERF199*の下流 48 kb の部分に 2,908 bp の欠失があり, おそらく遠位制御配列として機能するその領域の欠失のため, *ERF199*の発現減弱が引き起こされています(図 3)(Shoji et al. 2022)。*ERF199*と *ERF189*は構造的にも非常に良く似ているばかりでなく, 転写活性化能や転写産物レベルの発現量の点でもほぼ同等であるにもかかわらず, *ERF189*が完全欠損している *nic2-1*変異よりも *ERF199*の発現が減弱している *nic1-1*変異の方がより表現型が強いのかという問題は未解決です(Shoji et al. 2022)。

### トマト JRE4 によるステロイドグリコアルカロイド生合成制御

トマトやジャガイモなどのナス属植物の主に非食部分には *SGA* が毒性成分として蓄積されています。ジャガイモの芽や未成熟塊茎にはソラニンやチャコニンなどの *SGA* が高濃度で含まれ, しばしば食中毒の原因になります。ジャガイモの品質管理上, *SGA* を削減することは大切です。最近では *SGA* 生合成酵素遺伝子をゲノム編集技術で破壊することで *SGA* をほとんど含まないジャガイモが実用化されつつあります。

筆者らはタバコ *ERF* の研究を進めている過程で, トマトゲノム[2012 年配列決定(Tomato Genome 2012)]に相同 *ERF* 遺伝子が存在し, 5 つの遺伝子からなるクラスターを形成することに気がつきました。発現やその他の性状から *JRE4* に着目し, *JRE4* の機能改変システムを形質転換によって作出したり, 変異集団から *TILLING* 法で *jre4-1* 変異 (DNA 結合ドメインの高度に保存された残基のアミノ酸置換変異) を得たりしました(Nakayasu et al. 2018; Thagun et al. 2016)。*JRE4* の機能改変に応じて上流のメバロン酸経路を含むアセチル-CoA から最終産物に至る *SGA* 生合成経路の大部分の遺伝子の発現が変動していました。また, *jre4-1* ホモ変異体ではトマチンなどの *SGA* 含量が野生型の 2%程度にまで減少し, 耐虫性が低下していました(Nakayasu et al. 2018)。タバコの *ERF199* や *ERF189* と同様に, クラスター内で *JRE4* のみが *SGA* を制御すると考えられます。トマト以外のナス属植物ジャガイモ(Cardenas et al. 2016)やナス(Shoji and Saito 2022)に関してもトマト *JRE4* のオルソログが *SGA* を制御しています。

### 代謝進化のリクルート説

タバコとトマトというナス科の 2 つの系統で, 進化的によく保存された *ERF* 転写因子が, それぞれニコチンと *SGA* という化学構造や生合成経路 (生合成遺伝子群) が異なる二次代謝産物を制御しています。プロモーター領域内に転写因子により認識されるシス配列が出現することで, 生合成遺伝子は転写因子に制御されるようになります。こうした「リクルート」が代謝経路を構成する多数の生合成遺伝

子で繰り返されることで、転写因子が多数の下流生合成遺伝子を制御するレギュロンが段階的に確立していきます。代謝レギュロンの確立がタバコとトマトの系統が分離したのちにそれぞれ独立に起こったと考えられます。比較的短いシス配列の高頻度での出現は、頻繁なリクルートを可能とし、複数の生合成酵素の組み合わせが探索的に試されていくと考えられます。生合成遺伝子のリクルートとともに新たな代謝の流れや新規代謝物が出現します。そうした新規代謝産物が例えばニコチンや SGA のように防御化合物のように植物生存に有利であるような場合、より選択されやすくなると考えられます。少しでも有利な代謝の流れが生じた場合、その流れを強化するようなリクルートやリクルートされた酵素の触媒特性の変異がより選択されやすくなるでしょう。概念的仮説で数理的な裏付けなどは現時点では希薄ですが、遺伝子発現を考慮した新しい代謝進化仮説として筆者は「代謝進化のリクルート説」(Shoji 2019)を提唱しました。

## 代謝工学への応用

トマト *jre4-1* 変異による SGA 含量の減少(Nakayasu et al. 2018)に比べると、タバコ二重変異 *nic1-1nic2-1* によるニコチン含量の減少は限られています。これは *nic1-1* 変異では *ERF199* の機能が部分的にしか失われていないためです。ゲノム編集により得た *ERF199* の機能完全欠損アレル *nic1-2* や *ERF199* が欠失した天然変異アレル *nic1-3* (図 3) は、単独変異でも二重変異 *nic1-1nic2-1* に匹敵する低ニコチン形質を生じます(Shoji et al. 2022)。 *nic1* ヌル変異アレルを *nic2-1* や新たに編集で作出したヌル変異アレル *nic2-2* と組み合わせることで、超低ニコチン形質(野生型の 2%程度)を生じることが分かってきました(Hayashi et al. 2020; Shoji et al. 2022)。ニコチン含量に影響を与えるさまざまな変異アレルが分子レベルで解明されたことで低ニコチンや超低ニコチンタバコを迅速に育種することが可能となりました。これらの変異は植物の生育には目立った影響を与えない点でも優れています(Hayashi et al. 2020)。

タバコ *ERF189* の過剰発現によりニコチン蓄積が誘導されます。ベンサムアナタバコ *N. benthamiana* の葉で一過的に *ERF189* を過剰発現した場合、蓄積が数百倍ほどになりました(Hayashi et al. 2020)。一方、*ERF189* を過剰発現させたタバコ形質転換体でも蓄積は増加しましたが、数倍ほどの増加に止まり、生育の阻害も生じました(Hayashi et al. 2020)。植物にとってもアルカロイドなどの天然化合物を構成的に過剰蓄積することは生育などに負荷が大きいと考えられます。生育阻害の問題を回避するためにも一過的発現系を天然化合物の生産に利用する必要がありそうです。

遺伝子組換えが容易なタバコやトマトを用いた筆者らの研究で、転写因子を標的とすることで効率的に代謝改変できることが明らかとなりました。今後、さまざまな薬用資源植物で同様の方法論により代謝改変が可能になると考えられます。

## 今後の展望

ゲノム配列情報が存在し形質転換が容易なナス科植物タバコやトマトを対象として筆者らは二次代謝を制御する ERF 転写因子について遺伝子構成、発現、転写活性化能などを解明し、代謝工学に応用しました。進化的に保存された転写因子は広範な植物種で防御性二次代謝産物を制御しています。同様の例は ERF ファミリー以外の転写因子でも知られるようになってきました(Shoji 2019)。二次代謝産物は

特定の種や属のみに特異的に存在することから、化合物や生合成酵素のレベルの研究は代謝経路ごとの「各論」になりがちですが、転写因子などの上流制御メカニズムは代謝系を超えて共通しており「総論」を語ることができそうです。低ニコチン変異のような天然変異・バリエーションについて分子的・ゲノム科学的アプローチで遺伝的基盤を解明し、効果的に成分制御することが重要です。多種多様な薬用資源植物のゲノム配列情報が今後の研究展開を加速することが期待されます。

## 文献

- Allen MD, Yamasaki K, Ohme-Takagi M, Tateno M, Suzuki M (1998) A novel mode of DNA recognition by a beta-sheet revealed by the solution structure of the GCC-box binding domain in complex with DNA. *EMBO J* 17: 5484-5496
- Cardenas PD, Sonawane PD, Pollier J, Vanden Bossche R, Dewangan V, Weithorn E, Tal L, Meir S, Rogachev I, Malitsky S, et al. (2016) GAME9 regulates the biosynthesis of steroidal alkaloids and upstream isoprenoids in the plant mevalonate pathway. *Nat Commun* 7: 10654
- Hayashi S, Watanabe M, Kobayashi M, Tohge T, Hashimoto T, Shoji T (2020) Genetic Manipulation of Transcriptional Regulators Alters Nicotine Biosynthesis in Tobacco. *Plant Cell Physiol* 61: 1041-1053
- Kajikawa M, Sierro N, Kawaguchi H, Bakaher N, Ivanov NV, Hashimoto T, Shoji T (2017) Genomic Insights into the Evolution of the Nicotine Biosynthesis Pathway in Tobacco. *Plant Physiol* 174: 999-1011
- Legg PD, Collins GB (1971) Inheritance of percent total alkaloids in *Nicotiana tabacum* L. II. genetic effects of two loci in Burley21 x LA Burley21 populations. *Can J Genet Cytol* 13: 287-291
- Lu X, Zhang L, Zhang F, Jiang W, Shen Q, Zhang L, Lv Z, Wang G, Tang K (2013) AaORA, a trichome-specific AP2/ERF transcription factor of *Artemisia annua*, is a positive regulator in the artemisinin biosynthetic pathway and in disease resistance to *Botrytis cinerea*. *New Phytol* 198: 1191-1202
- Nakano T, Suzuki K, Fujimura T, Shinshi H (2006) Genome-wide analysis of the ERF gene family in *Arabidopsis* and rice. *Plant Physiol* 140: 411-432
- Nakayasu M, Shioya N, Shikata M, Thagun C, Abdelkareem A, Okabe Y, Ariizumi T, Arimura GI, Mizutani M, Ezura H, et al. (2018) JRE4 is a master transcriptional regulator of defense-related steroidal glycoalkaloids in tomato. *Plant J* 94: 975-990
- Paul P, Singh SK, Patra B, Sui X, Pattanaik S, Yuan L (2017) A differentially regulated AP2/ERF transcription factor gene cluster acts downstream of a MAP kinase cascade to modulate terpenoid indole alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus*. *New Phytol* 213: 1107-1123
- Shoji T (2019) The Recruitment Model of Metabolic Evolution: Jasmonate-Responsive Transcription Factors and a Conceptual Model for the Evolution of Metabolic Pathways. *Front Plant Sci* 10: 560
- Shoji T, Hashimoto T (2011a) Tobacco MYC2 regulates jasmonate-inducible nicotine biosynthesis genes directly and by way of the NIC2-locus ERF genes. *Plant Cell Physiol* 52: 1117-1130
- Shoji T, Hashimoto T (2011b) Recruitment of a duplicated primary metabolism gene into the nicotine biosynthesis regulon in tobacco. *Plant J* 67: 949-959
- Shoji T, Hashimoto T (2015) Stress-induced expression of NICOTINE2-locus genes and their homologs encoding



- Ethylene Response Factor transcription factors in tobacco. *Phytochemistry* 113: 41-49
- Shoji T, Hashimoto T (2019) Expression of a tobacco nicotine biosynthesis gene depends on the JRE4 transcription factor in heterogenous tomato. *J Plant Res* 132: 173-180
- Shoji T, Kajikawa M, Hashimoto T (2010) Clustered transcription factor genes regulate nicotine biosynthesis in tobacco. *Plant Cell* 22: 3390-3409
- Shoji T, Mishima M, Hashimoto T (2013) Divergent DNA-binding specificities of a group of ETHYLENE RESPONSE FACTOR transcription factors involved in plant defense. *Plant Physiol* 162: 977-990
- Shoji T, Moriyama K, Sierro N, Ouadi S, Ivanov NV, Hashimoto T, Saito K (2022) Natural and induced variations in transcriptional regulator genes result in low-nicotine phenotypes in tobacco. *Plant J*
- Shoji T, Ogawa T, Hashimoto T (2008) Jasmonate-induced nicotine formation in tobacco is mediated by tobacco COI1 and JAZ genes. *Plant Cell Physiol* 49: 1003-1012
- Shoji T, Saito K (2022) A Jasmonate-Responsive ERF Transcription Factor Regulates Steroidal Glycoalkaloid Biosynthesis Genes in Eggplant. *Plants (Basel)* 11
- Shoji T, Umemoto N, Saito K (2021) Genetic divergence in transcriptional regulators of defense metabolism: insight into plant domestication and improvement. *Plant Mol Biol* 109:401-411
- Shoji T, Yuan L (2021) ERF Gene Clusters: Working Together to Regulate Metabolism. *Trends Plant Sci* 26: 23-32
- Sierro N, Battey JN, Ouadi S, Bakaher N, Bovet L, Willig A, Goepfert S, Peitsch MC, Ivanov NV (2014) The tobacco genome sequence and its comparison with those of tomato and potato. *Nat Commun* 5: 3833
- Thagun C, Imanishi S, Kudo T, Nakabayashi R, Ohyama K, Mori T, Kawamoto K, Nakamura Y, Katayama M, Nonaka S, et al. (2016) Jasmonate-Responsive ERF Transcription Factors Regulate Steroidal Glycoalkaloid Biosynthesis in Tomato. *Plant Cell Physiol* 57: 961-975
- Tomato Genome C (2012) The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. *Nature* 485: 635-641
- van der Fits L, Memelink J (2000) ORCA3, a jasmonate-responsive transcriptional regulator of plant primary and secondary metabolism. *Science* 289: 295-297



## 各部門・センターの活動と業績



## 研究開発部門

Department of Research and Development

## 資源開発分野

Division of Medicinal Resources

## 天然物創薬学領域

Section of Natural Products &amp; Drug Discovery

## 【天然物化学ユニット】

教授	森田 洋行	Prof. Hiroyuki Morita
助教	児玉 猛	Assist. Prof. Takeshi Kodama
助教	中嶋 優	Assist. Prof. Yu Nakashima

## 【天然薬物開発ユニット】

准教授	スレス アワレ	Assoc. Prof. Suresh Awale
研究員	マネネト ジュテャマルト	Postdoctoral Fellow Maneenet Juthamart

## ◆研究目的

2つの研究ユニットがそれぞれの視点に基づき、和漢薬をはじめとする世界の天然資源から有用天然物を探索し、医薬品等開発シードを世に提供することを主たる目的とする。さらに、それぞれのユニットが異なった研究手法を用いて、さらなる有用化合物の開発と作用機序の解明を図る。

## 天然物化学ユニット

- ・ 天然有機化合物の生合成経路の解明
- ・ 二次代謝酵素の立体構造基盤の確立
- ・ 新規医薬品開発を目指した酵素機能の改変
- ・ 植物,微生物,海洋生物からの生理活性物質の探索
- ・ アジアにおける未利用薬用資源の探索

## 天然薬物開発ユニット

- ・ ヒト膵臓がん細胞（例、PANC-1, MIA Paca2, KLM-1, NOR-P1, Capan-1, PSN-1 など）を利用して、がん細胞の栄養飢餓耐性を標的とした (antiausterity strategy), 各地の伝統生薬（漢方生薬, アユルヴェーダ生薬など）の抗がん活性のスクリーニング
- ・ 活性を指標にして最先端のクロマトグラフ及び分光分析 (NMR, MS, UV, IR, CD など) 技術を活用し、成分を分離・精製ならびに同定による天然薬物資源から栄養飢餓耐性を解除する活性物質 (antiausterity agent) の探索。有望な候補物質は、ヒト膵臓がんのマウスモデルを用いた *in vivo* での抗腫瘍活性効果の評価を行う
- ・ 活性天然化合物の構造活性相関研究ならびに栄養飢餓耐性を解除する機序の解明
- ・ Orbitrap-MS および FT-NMR 手法の活用による、活性物質 (antiausterity agent) の膵臓がん細胞の代謝に対する影響の解析

## ◆2022 年度研究概要

### 天然物化学ユニット

#### 1. 新規医薬品開発を目指した酵素機能の改変

アサ *Oryza sativa* が生産するテトラヒドロカンナビノールは医薬品としても重要な天然物である。我々は、昨年度において、アサのカンナビノイドの生合成において最初の基本骨格を構築するアサ由来テトラケタイド合成酵素 (TKS) とオリベトール酸閉環酵素 (OAC) に変異を導入することで、野生型酵素を用いた場合には生産することができなかった炭素数 11 のアルキル基を有するオリベトール酸アナログまでの生産を可能にした。これら生産したオリベトール酸アナログは、アルキル鎖の伸長により、化合物としての疎水性が増したことで新たな生物活性を獲得したことが期待される。そこで、これら得られたオリベトール酸アナログについて、*Staphylococcus aureus* と *Bacillus subtilis* に対する抗菌活性を評価した。その結果、天然型のオリベトール酸は活性を示さないものの、アルキル側鎖の炭素数が 8 以上になると、新たに抗菌活性を獲得することが明らかとなった。今後、これら作成したオリベトール酸アナログのさらなる生物活性を明らかにすることで、医薬品シードとしての可能性を詳細に検討する予定である。

#### 2. 植物,微生物,海洋生物からの生理活性物質の探索

ベトナムにおいては、ショウガ科植物である *Kaempferia marginata* 根茎のエタノール抽出溶液が解熱・鎮痛などの目的で伝統的に用いられている。ベトナム産 *K. marginata* 根茎の *n*-ヘキササン抽出物から抗炎症活性を指標として単離精製操作を繰り返すことで、天然においても希なセコ型のピマランジテルペンの新規 3 種の単離に成功した。これらの中には、オキサビシクロオクタン環を有した新規骨格のピマランジテルペンも含まれており、ピマランジテルペンの骨格多様性について新たな知見を与えた。また、ベトナム産 *K. marginata* には、タイや中国産の同植物には含まれていない骨格タイプのピマランジテルペンが含まれていることも明らかにした。さらにこれらの化合物が弱いながらも抗炎症活性を有していることを明らかにした。今後、本植物からのさらなる生物活性化合物の単離を進めるとともに、他の天然資源からの新規生物活性化合物の単離を進めることで、新たな医薬品シードの取得を目指す。

### 天然薬物開発ユニット

Natural Drug Discovery Laboratory has focused on the discovery of anti-austerity agents from medicinal plants and has achieved broader national and international collaboration in anticancer drug discovery. Our laboratory has made significant advances in the discovery of potent anti-cancer agents from medicinal plants. These discoveries hold immense potential for the development of new cancer therapies. Key achievements can be summarized as follows:

- Myrtucommulone A and other potent anticancer compounds were isolated from the medicinal plant *Callistemon subulatus*, and they demonstrated selective toxicity against PANC-1 human pancreatic cancer cells while leaving normal cells unharmed. These compounds also inhibited cell migration and downregulated key signaling pathways, indicating their potential for drug development.
- Callistrilone Q and epicallistrilone Q, two structurally unique callistrilone epimers, were isolated from *Callistemon citrinus* leaves. These compounds demonstrated unprecedented preferential cytotoxic activities against PANC-1 human pancreatic cancer cells at the nanomolar level and inhibited cell migration. Both compounds downregulated key proteins involved in the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway.
- Our laboratory collaborated with the Graduate School of Science and Engineering, University of Toyama, to synthesize novel piperonaline derivatives as anti-austerity agents

against human pancreatic cancer PANC-1 cells. The synthesized compounds have shown superior preferential cytotoxic activity against pancreatic cancer cell lines. One of the potent compounds was found to inhibit Akt activation and cancer cell migration, making it an extremely promising candidate compound for new pancreatic cancer agents based on the anti-austerity strategy.

- Our laboratory collaborated with the Graduate School of Science and Engineering, University of Toyama, and accomplished the total synthesis of 4'-O-Methylgrynullarin and related isoflavone natural products using Suzuki-Miyaura coupling of the prenylated iodochromones with the corresponding phenylboronic acids as the key step. The synthesized derivatives reveal a clear structure-activity relationship. We found that the 6-prenyl moiety and 7-phenolic hydroxy group on the isoflavone skeleton are essential for preferential cytotoxicity.
- Our laboratory collaborated with the Department of Surgery and Science, Faculty of Medicine, University of Toyama, to investigate the ethanolic extract of the stem of *Abies spectabilis*. The extract exhibited strong cytotoxicity against MIA PaCa-2 human pancreatic cancer cells preferentially under nutrient-deprived conditions. Phytochemical investigation of this bioactive extract led to the isolation of ten compounds, including a new abietane-type. Dehydroabietinol was identified as the most potent activity with a PC<sub>50</sub> value of 6.6 μM. Dehydroabietinol was also found to retard the MIA PaCa-2 cell migration under normal nutrient-rich conditions, displaying its anti-metastatic potential. Investigation on the mechanism suggested that dehydroabietinol is an inhibitor of the key cancer cell survival Akt/mTOR/autophagy signaling pathway.
- Our laboratory collaborated with Khon Kaen University to investigate the effects of Yakaer-Prajamduen-Jamod (YPJ), a Thai traditional medicine used to treat menopausal symptoms in Thailand, on cognitive deficits and its underlying mechanisms of action in ovariectomized (OVX) mice, an animal model of menopause. The results suggest that YPJ exerts its ameliorative effects on OVX-induced cognitive deficits in part by mitigating HPA axis overactivation, neuroinflammation, and oxidative brain damage. Therefore, Yakaer-Prajamduen-Jamod may be a novel alternative therapeutic medicine suitable for the treatment of cognitive deficits during the menopausal transition.

**Future direction:** Natural Drug Discovery Laboratory will continue to expand the international collaboration and explore new natural anticancer agents, investigate the effect of newly discovered compounds against cancer cell metabolism using Orbitrap-MS and ZipChip technology, continue research for the drug development against pancreatic cancer, and thus, contributing better health to the global human society.

#### ◆原著論文

##### 【天然物化学ユニット】

- 1) Mori T, Nakashima Y, Morita H, Abe I. Structure, function, and engineering of plant polyketide synthases. *Methods Enzymol.* 2022;676:3-48. doi:10.1016/bs.mie.2022.06.003.
- 2) Tabakam GT, Kodama T, Tchuemogne MAT, Hoang NN, Nomin-Erdene B, Ngouela SA, Tene M, Morita H, Awouafack MD. Cytotoxic potential of dihydrochalcones from *Eriosema glomeratum* and their semi-synthetic derivatives. *Nat Prod Res.* 2022 Aug 13:1-12. doi: 10.1080/14786419.2022.2111563.
- 3) Quy NP, Hue BTB, Do KM, Quy HTK, De TQ, Phuong TTB, Trang PC, Quoc NC, Morita H. Design, Synthesis and Cytotoxicity Evaluation of Substituted Benzimidazole Conjugated 1,3,4-

- Oxadiazoles. Chem Pharm Bull (Tokyo). 2022;70(6):448-453. doi:10.1248/cpb.c22-00162.
- 4) Hamdy SA, Kodama T, Nakashima Y, Han X, Morita H. Catalytic potential of a fungal indole prenyltransferase toward  $\beta$ -carbolines, harmine and harman, and their prenylation effects on antibacterial activity. J Biosci Bioeng. 2022 Oct;134(4):311-317. doi: 10.1016/j.jbiosc.2022.07.004.
  - 5) Hamdy SA, Kodama T, Nakashima Y, Han X, Matsui T, Morita H. Enzymatic formation of a prenyl  $\beta$ -carboline by a fungal indole prenyltransferase. J Nat Med. 2022 Sep;76(4):873-879. doi: 10.1007/s11418-022-01635-0.
  - 6) Do KM, Kodama T, Nguyen HM, Ikumi N, Soeda C, Shiokawa KI, Morita H. Seco-and isopimarane diterpenoids from *Kaempferia marginata* rhizomes and their NO inhibition activities. Phytochemistry. 2023 Jan;205:113510. doi:10.1016/j.phytochem.2022.113510.
  - 7) Ayoub AT, Nishiura N, Teshima A, Elrefaiy MA, Muslimin R, Do KM, Kodama T, Lewis CW, Chan G, Morita H, Arakawa K. Bioinspired computational design of lankacidin derivatives for improvement in antitumor activity. Future Med Chem. 2022 Oct;14(19):1349-1360. doi: 10.4155/fmc-2022-0134.
  - 8) Htoo ZP, Kodama T, Win NN, Ikumi N, Shiokawa K, Morita H. A new sterol from the polypore fungus *Ganoderma luteomarginatum* and its cytotoxic activities. Nat Prod Commun, 2022;17(5): 1-6. doi: 10.1177/1934578X221098852
  - 9) Lee YE, Kodama T, Morita H. Novel insights into the antibacterial activities of cannabinoid biosynthetic intermediate, olivetolic acid, and its alkyl-chain derivatives. J Nat Med, 2023;77(2):298-305. doi: 0.1007/s11418-022-01672-9.
  - 10) Krishnamurthy P, Ravikumar MJ, Palanivelu SA, Pothiraj R, Suthanthiram B, Subbaraya U, Morita H. Phenylphenalenone-type phytoalexins in banana (*Musa* species): a comprehensive review for new research directions. Phytochem Rev, in press. doi: 10.1007/s11101-022-09839-8.

#### 【天然薬物開発ユニット】

- 1) Daodee S, Monthakantirat O, Tantipongpiradet A, Maneenet J, Chotritthirong Y, Boonyarat C, Khamphukdee C, Kwankhao P, Pitiporn S, Awale S, Matsumoto K, Chulikhit Y. Effect of Yakaeprajamduen-Jamod Traditional Thai Remedy on Cognitive Impairment in an Ovariectomized Mouse Model and Its Mechanism of Action. Molecules. 2022 Jul 5;27(13):4310. doi: 10.3390/molecules27134310.
- 2) Maneenet J, Tawila AM, Omar AM, Phan ND, Ojima C, Kuroda M, Sato M, Mizoguchi M, Takahashi I, Awale S. Chemical Constituents of *Callistemon subulatus* and Their Anti-Pancreatic Cancer Activity against Human PANC-1 Cell Line. Plants (Basel). 2022 Sep 21;11(19):2466. doi: 10.3390/plants11192466.
- 3) Okada T, Chino Y, Yokoyama K, Fujihashi Y, Duy Phan N, Maneenet J, Prudhvi L, Awale S, Toyooka N. Design and synthesis of novel piperonaline derivatives as anti-austerity agents against human pancreatic cancer PANC-1 cells. Bioorg Med Chem. 2022 Oct 1;71:116963. doi: 10.1016/j.bmc.2022.116963.
- 4) Phan ND, Omar AM, Sun S, Maneenet J, Dibwe DF, Sato M, Kalauni SK, Toyooka N, Fujii T, Awale S. Abietane diterpenes from *Abies spectabilis* and their anti-pancreatic cancer activity against the MIA PaCa-2 cell line. Bioorg Med Chem Lett. 2022 Jun 15;66:128723. doi: 10.1016/j.bmcl.2022.128723.
- 5) Tawila AM, Omar AM, Phan ND, Takahashi I, Maneenet J, Awale S. New callistrilone epimers from *Callistemon citrinus* and their antiausterity activity against the PANC-1 human pancreatic cancer cell line. Tetrahedron Lett. 2022 Jun;100:153881-153881.
- 6) Thanh Luan NN, Okada T, Arata R, Prudhvi L, Miyaguchi M, Kodama Y, Awale S, Toyooka N. Structure-activity relationship study of 4'-*O*-methylgrynullarin derivatives for the development of



- novel anticancer agents based on anti-austerity strategy. *Tetrahedron* 2022 Sep; 122:132931-132931.
- 7) Okada T, Thanh Luan NN, Arata R, Awale S, Toyooka N. Total Synthesis of 4'-O-Methylgrynullarin and Related Isoflavone Natural Products. *ChemistrySelect*. 2022 Apr;7:e202201136.
  - 8) Ngamkhae N, Monthakantirat O, Chulikhit Y, Boonyarat C, Maneenet J, Khamphukdee C, Kwankhao P, Pitiporn S, Daodee S. Optimization of extraction method for Kleeb Bua Daeng formula and comparison between ultrasound-assisted and microwave-assisted extraction. *J. Appl. Res. Med. Aromat.* 2022 Apr; 28:100369.
  - 9) Monthakantirat O, Chulikhit Y, Maneenet J, Khamphukdee C, Chotritthirong Y, Limsakul S, Punya T, Turapra B, Boonyarat C, Daodee S. Total Active Compounds and Mineral Contents in *Wolffia globosa*. *J Chem.* 2022 Sep; 9212872.
  - 10) Ngamkhae N, Chulikhit Y, Monthakantirat O, Maneenet J, Khamphukdee C, Boonyarat C, Daodee S. Development and validation of a high-performance liquid chromatography method for simultaneous determination of five active compounds in Kleeb Bua Daeng formula. *RJPR*, 2022;15: 3618-3626.

#### ◆著書

##### 【天然物化学ユニット】

- 1) 森田洋行. 人工沈香の開発に繋がる「沈香の香り成分生合成」に関わる鍵酵素. におい・かおり環境学会誌, 2022;53(284):242-253.
- 2) 中嶋優. 沈香の香り成分の生産に関わる酵素の発見. *ファルマシア*, 2022;58(12):1110-1114.

#### ◆学会報告

##### 【天然物化学ユニット】

(国際学会)

- \* 1) Yu Nakashima, Lennart Brewitz, Anthony Tumber, Eidarus Salah, and Christopher J. Schofield. Structural-based design of selective enhancement or inhibition of human 2-oxoglutarate dependent oxygenases. *JNU-UTokyo Joint Seminar on Natural Product Biosynthesis*; 2022 Jun 12; Tokyo (Online).
- 2) Yuan-E Lee, Yu Nakashima, Takeshi Kodama, Xinrui Chen, Hiroyuki Morita. Dual engineering of olivetolic acid cyclase and tetraketide synthase to generate longer alkyl-chain olivetolic acid analogs. *Active Enzyme Molecule* 2022; 2022 Sep 30; Toyama.
- \* 3) Hiroyuki Morita. Engineering of biosynthetic enzymes to synthesize unnatural compounds. 2022 International Symposium of Natural Products Research Institute; 2022 Dec 23; Seoul.
- 4) Hiroyuki Morita, Xiao-Hui Wang, Bo-Wen Gao, Yu Nakashima, Ikuro Abe, Peng-Fei Tu, She-Po Shi. Identification of a diarylpentanoid-producing polyketide synthase in the biosynthesis of 2-(2-phenylethyl)chromones in agarwood. 4th International Conference on Natural Product Discovery and Development in the Genomic Era; 2023 Jan 8-11; San Diego.
- 5) Yu Nakashima, Atsushi Kawakami, Yasushi Ogasawara, Tohru Dairi, Hiroyuki Morita. X-ray crystallographic analysis of lasso peptide epimerase; MslH. 4th International Conference on Natural Product Discovery and Development in the Genomic Era; 2023 Jan 8-11; San Diego.
- 6) Yuan-E Lee, Yu Nakashima, Takeshi Kodama, Hiroyuki Morita. Dual engineering of olivetolic acid cyclase and tetraketide synthase to generate longer alkyl-chain olivetolic acid analogs. 4th International Conference on Natural Product Discovery and Development in the Genomic Era; 2023 Jan 8-11; San Diego.
- 7) Saw Yu Yu Hnin, Yu Nakashima, Takeshi Kodama, Hiroyuki Morita. Crystal structure analysis of norbelladine 4'-O-methyltransferase from *Lycoris longituba*. 4th International Conference on

- Natural Product Discovery and Development in the Genomic Era; 2023 Jan 8-11; San Diego.
- 8) Rukman Muslimin, Natsumi Nishimura, Aiko Teshima, Hiroyuki Morita, Ahmed T. Ayoub, Kenji Arakawa. Chemoenzymatic synthesis and computational investigation of lankacidin derivatives for the improvement of antitumor activity. 4th International Conference on Natural Product Discovery and Development in the Genomic Era; 2023 Jan 8-11; San Diego.
  - \* 9) Hiroyuki Morita. Engineering of biosynthetic enzymes to synthesize bioactive compounds. Chungbuk Korean Medicine, Precision Medicine Forum 2023; 2023 March 2; Jecheon, Korea.
- (国内学会)
- 1) 中嶋優, 川上篤士, 小笠原泰志, 大利徹, 森田洋行. ラッソペプチド生合成を担うエピメリ化酵素 MslH の X 線結晶構造解析. 日本生薬学会第 68 回年会 ; 2022 Sep 10 ; 松山 (オンライン).
  - 2) Kiep Minh Do, Takeshi Kodama, Min-Kyoung Shin, Lien Huong Ton Nu, Hien Minh Nguyen, Son Van Dang, Ken-ichi Shiokawa, Yoshihiro Hayakawa, Hiroyuki Morita. Four new pimarane diterpenoids from *Kaempferia marginata* and their NO production inhibitory activities. 日本生薬学会第 68 回年会 ; 2022 Sep 10 ; 松山 (オンライン).
  - 3) Saw Yu Yu Hnin, Yu Nakashima, Takeshi Kodama, Hiroyuki Morita. Structural-based engineering of norbelladine-O-methyltransferase. 日本生薬学会第 68 回年会 ; 2022 Sep 10 ; 松山 (オンライン).
  - 4) 川上篤士, 中嶋優, 森田洋行, 小笠原泰志, 大利徹. 新規ペプチドエピメラーゼ MslH の反応機構解析. 第 36 回日本放線菌学会大会 ; 2022 Sep 11 ; 福井.
  - 5) 中嶋優. X 線結晶構造に基づく 2OG 依存性酸化酵素の機能解析. 第 9 回食品薬物シンポジウム ; 2022 Oct 15 ; 富山
  - \* 6) 森田洋行. 植物の有効成分の生合成を担う鍵酵素の X 線結晶構造解析と機能改変. 日本薬学会第 143 年会 ; 2023 March 25-28 ; 札幌.
  - 7) Kiep Minh Do, Takeshi Kodama, Hien Minh Nguyen, Naoki Ikumi, Chigusa Soeda, Ken-ichi Shiokawa, Hiroyuki Morita. 9,10-Seco- and isopimarane diterpenoids from *Kaempferia marginata* rhizomes and their NO inhibition activities. 日本薬学会第 143 年会 ; 2023 March 25-28 ; 札幌.
  - 8) Yuan-E Lee, Hiroyuki Morita. Anti-bacterial activities of cannabinoid biosynthetic intermediate, olivetolic acid and its longer alkyl-chain analogs. 日本薬学会第 143 年会 ; 2023 March 25-28 ; 札幌.
  - 9) Saw Yu Yu Hnin, Yu Nakashima, Takeshi Kodama, Hiroyuki Morita. Catalytic Potential of O-methyltransferase in the Biosynthesis of Amaryllidaceae Alkaloids with Different Substrates. 日本薬学会第 143 年会 ; 2023 March 25-28 ; 札幌.
  - 10) 中嶋 優, 川上 篤士, 小笠原 泰志, 大利 徹, 森田 洋行. X 線結晶構造解析に基づくラッソペプチドエピメリ化酵素 MslH の酵素反応機構の解明. 日本薬学会第 143 年会 ; 2023 March 25-28 ; 札幌.

【天然薬物開発ユニット】

(国際学会)

- 1) Suresh Awale. How to Find a Cure for Pancreatic Cancer? Strategies and Leads from Natural Medicine, Foods, Dietary supplements, and Herbal products treating the Diseases of 21st Century: moving from Traditional to Scientific Research (Invited Lecture, Online). 2022 Dec 16, India.
- 2) Phan Duy Nguyen, Suresh Awale. Potent In Vitro and In Vivo Anticancer Activities of Nicolaoidesin C, a Natural Product with the Ability to Eliminate Cancer Cells' Tolerance to Nutrition Starvation. Natural Products and Bioactive Compounds (GRS) Gordon Research Seminar, 2022 July 31, Andover, NH, United States.
- 3) Juthamart Maneenet, Ahmed M. Tawila, Ashraf M. Omar, Suresh Awale. Chemical Constituents of *Callistemon subulatus* with Antiausterity Activities against the PANC-1 Human Pancreatic Cancer

Cell Line. The 4th Pharmaceutical Research Conference 2022 (PRC): 2022 Dec 3, University of Puthisastra, Cambodia.

- 4) Nguyen Ngoc Thanh Luan, Takuya Okada, Ruta Arata, Suresh Awale, Naoki Toyooka, Total synthesis of 4'-O-methylgrynullarin and their derivatives. European Pancreatic Club (EPC) 2022: 54th Meeting (Online), 2022 Jun 22, Kyiv, Ukraine.

(国内学会)

- 1) 千野友莉, 横山慧太, Lanke Prudhvi, 岡田卓哉, Nguyen Duy Phan, Juthamart Maneenet, Suresh Awale, 豊岡尚樹. 次世代型膵臓がん治療薬の開発研究—新規 piperonaline 誘導体の合成および活性評価. 2022 年度有機合成化学北陸セミナー; 2022 Oct 11; 福井.
- 2) 江口健太, 馳川史章, 岡田卓哉, Suresh Awale, 豊岡尚樹. 2,6-trans-ピペリジン骨格構築法の開発と天然物合成への応用. 2022 年度有機合成化学北陸セミナー; 2022 Oct 11; 福井.
- 3) 千野友莉, 横山慧太, Lanke Prudhvi, 岡田卓哉, Nguyễn Duy Phan, Juthamart Maneenet, Suresh Awale, 豊岡尚樹. 画期的膵臓がん治療薬開発を目指した栄養飢餓選択的毒性を示す新規 piperonaline 誘導体の創製. 創薬懇話会 2022; 2022 Jun 30; 名古屋.

#### ◆受賞

【天然物化学ユニット】

- 1) 中嶋優: 令和 4 年生薬天然物部会 奨励研究賞「X 線結晶構造に基もとづく 2OG 依存性酸化酵素の機能解析」2022, 6.
- 2) 森田洋行: 2023 年度日本薬学会 学術振興賞「植物由来生物活性化合物の探索と生合成酵素の立体構造解析」2022.12.

#### ◆共同研究

【天然物化学ユニット】

(海外)

- 1) Subehan Ambo Lallo (インドネシア・ハサヌディン大学薬学部): インドネシア産天然資源からの生物活性化合物の単離・構造決定, 2016~
- 2) Prema (ミャンマー・ヤンゴン大学化学部): ミャンマー産薬用植物の生物活性化合物に関する研究, 2016~
- 3) Dan Hu (中国・暨南大学薬学部): メチル基転移酵素の結晶構造解析と機能同定, 2019~
- 4) Shepo Shi (北京中医薬大学): 新規III型ポリケタイド合成酵素の X 線結晶構造解析, 2019~
- 5) Hoai Thi Nguyen (ベトナム・フエ大学医学薬学部): ベトナム産天然資源中の化学成分の解析, 2016~
- 6) Bui Thi Buu Hue (ベトナム・カントー大学自然化学部): 細胞毒性を有する新規アルカロイドの合成, 2019~
- 7) Christopher J Schofield (英国・オックスフォード大学化学部): 2-オキシグルタル酸オキシゲナーゼ天然阻害剤の探索, 2021~
- 8) Maurice D. Awouafack (カメルーン・チャング大学): カメルーン産薬用植物からの生物活性化合物の探索, 2021~

(国内)

- 1) 大利 徹 (北海道大学大学院工学研究院): 新規ラセマーゼの触媒機構の解析, 2017~
- 2) 尾仲宏康 (東京大学大学院農学生命科学科): ゴードスポリン耐性作用メカニズムの構造学的解析, 2018~
- 3) 荒川賢治 (広島大学大学院先端物質科学研究科): 新規マクロライド環化酵素の触媒機構の解析, 2019~
- 4) 濱野吉十 (福井県立大学生物資源学科生物資源学研究科): Streptothricin 類縁体生合成酵素の X 線結晶構造解析, 2020~

(学内)

- 1) 田浦太志 (薬学部) : 大麻カンナビノイド生合成の改変, 2018～

【天然薬物開発ユニット】

(海外)

- 1) Prof. Gerhard Bringmann (Institut fuer Organische Chemie, Universitat Wuerzburg, Germany) : Discovery of potential natural anticancer agents, 2016～
- 2) Prof. Heiko Ihmels (Universitaet Siegen, Germany): Synthesis of naphthylisoquinoline alkaloids as potential anticancer agent against pancreatic cancer, 2020～
- 3) Prof. Hermann Stuppner (Institute of Pharmacy/Pharmacognosy, University of Innsbruck, Austria): Discovery of novel secondary metabolites from higher plants with anticancer activities, 2017～
- 4) Prof. Simon Lewis (Department of Chemistry, University of Bath, United Kingdom): Synthesis of grandifloracin analogues as the potential anticancer agents, 2017～
- 5) Dr. Sirivan Athikomkulchai (タイ・シーナカリンウィロート大学) : タイ薬用植物の栄養飢餓耐性を標的とする抗がん物質の探索研究, 2011, 4～
- 6) Dr. Ampai Phrutivorapongkul (タイ・チェンマイ大学) : タイ薬用植物の栄養飢餓耐性を標的とする抗がん物質の探索研究, 2017～
- 7) Dr. Surya Kant Kalauni (ネパール・トリブバン大学) : ネパール薬用植物の栄養飢餓耐性を標的とする抗がん物質の探索研究, 2011, 4～
- 8) Dr. Mai Thanh Thi Nguyen (ベトナム・国立ホーチミン市大学) : ベトナム薬用植物の栄養飢餓耐性を標的とする抗がん物質の探索研究, 2011, 4～
- 9) Prof. Lih-Geeng Chen (Department of Microbiology, Immunology and Biopharmaceuticals, National Chiayi University, Taiwan): Screening of Taiwanese medicinal plants for antiausterity activity and discovery of natural anticancer agents, 2015, 9～
- 10) Prof. Yu-Jang Li (Department of Applied Chemistry, National Chiayi University, Taiwan): Synthesis of antiausterity strategy based anticancer agents, 2015, 9～
- 11) Prof. Yaowared Chulikhit (Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kane University). Isolation and identification of bioactive constituents from *Jatropha multifida*. 2022～
- 12) Prof. Chantana Boonyarat (Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kane University). Isolation and identification of bioactive constituents from *Mesua ferrea* Linn. 2022～

(国内)

- 1) 上田純也 (広島国際大学薬学部) : 天然物由来 antiausterity 化合物の検索, 2015～
- 2) 友原啓介 (基幹教育院 九州大学) : Ugi 反応を利用した新規抗がん剤の創製, 2022～

(学内)

- 1) 藤井努 (医学部), 奥村知之 (附属病院) : 選択した化合物の抗膵臓癌活性に関する研究, 2018～
- 2) 豊岡尚樹 (工学部・生命工学科) : 天然物から着想を得た抗がん剤の合成, 2016～
- 3) 渡辺志朗 (和漢医薬学総合研究所) : エゴマ葉の成分分析とその新に関する研究その新規活用法, 2016～
- 4) 松谷裕二 (薬学部) : 合成 Guggulsterone 誘導体の antiausterity 評価, 2018～
- 5) 田浦太志 (薬学部) : 生合成された CBGA 誘導体の抗膵臓癌活性, 2020～
- 6) 高崎一郎 (工学部・生命工学科) : NR4a1 拮抗薬の antiausterity 活性に関する研究, 2018～

#### ◆研究費取得状況

【天然物化学ユニット】

- 1) 基盤(B) (代表: 森田洋行) 「AchE 阻害活性アルカロイドの骨格生合成酵素の機能解析と改変」

- 2) 基盤(S) (代表：大利徹，分担：森田洋行)「天然ペプチド系化合物に構造・機能多様性をもたらす新規酵素・生合成機構の解明と応用」
- 3) AMED (代表：尾仲宏康，分担：森田洋行)「SRP (シグナル認識粒子) に作用する抗生剤の探索」
- 4) 若手研究 (代表：中嶋優)「ヒト由来 2-オキソグルタル酸依存性酸化酵素の天然阻害剤の探索とその誘導体合成」
- 5) 田村科学技術振興財団助成 (代表：中嶋優)「難治療性癌を標的としたヒト由来 2-オキソグルタル酸依存性ジオキシゲナーゼ阻害活性物質の探索」
- 6) 小林国際奨学金財団研究助成 (代表：中嶋優)「難治療性癌に高発現している AspH の阻害物質を探索し，癌治療薬リード化合物の開発に資する」
- 7) 小林国際奨学金財団研究助成 (代表：児玉猛)「ベトナム産天然資源からのヘム依存性二量体化蛋白質 PGRM1 の阻害活性物質の探索」
- 8) 武田科学振興財団 (代表：中嶋優)「難治療性癌に高発現する AspH を標的とした抗癌剤リード化合物の探索」
- 9) 日本予防医学研究所共同研究費 (代表：森田洋行，分担：児玉猛)「新たな薬用資源の探索」

#### ◆研究室在籍者

##### 【天然物化学ユニット】

学部3年生：岩井晴太  
 学部3年生：山口達也  
 大学院修士1年：銭 荘  
 大学院修士2年：Saw Yu Yu Hnin  
 大学院修士2年：Zin Paing Htoo  
 大学院修士2年：韓嘯傑  
 大学院博士2年：Hoang Nam Nhat (10月入学)  
 大学院博士2年：邊 輝庸  
 大学院博士3年：高 準徽  
 大学院博士3年：Sherif Ahmed Muhammed Ahmed Hamdy (9月修了)  
 大学院博士3年：Kiep Minh Do  
 大学院博士3年：Yuan-E Lee  
 研究生：Ginsha Zakatina Rahman (10月～)  
 外国人客員研究員：KRISHNA MURTHY Panneerselvam (5月～1月)  
 外国人客員研究員：Siau Hui Mah (11月)

##### 【天然薬物開発ユニット】

学部4年生：尾島智遥  
 学部4年生：黒田真弘  
 学部5年生：佐藤真央  
 学部6年生：溝口美生  
 学部6年生：高橋郁衣  
 外国人客員研究員：Kusawadee Plekratoke (8月～10月)

#### ◆学位 (修士，博士) 取得者

##### 【天然物化学ユニット】

修士論文

Paing Htoo : Studies on chemical constituents of *Ganoderma luteomarginatum* collected in Myanmar and their cytotoxic activities  
 Saw Yu Yu Hnin : Structural basis for *para*- and *meta*-*O*-methylation properties of Amaryllidaceae *O*-methyltransferase

韓嘯傑 : Studies on synthesis of caged carbazoles with specific tricyclic ring  
博士論文

Sherif Ahmed Muhammed Ahmed Hamdy : Enzymatic formation of prenyl  $\beta$ -carbolines by a fungal indole prenyltransferase

Kiep Minh Do : Studies on chemical constituents of *Kaempferia marginata* and *Crinum asiaticum* collected from Vietnam and their NO inhibitory activities

Yuan-E Lee : Dual engineering of olivetolic acid cyclase and tetraketide synthase for the formation of longer alkyl-chain olivetolic acid analogs and their antibacterial activities



## 研究開発部門

Department of Research and Development

## 病態制御分野

Division of Bioscience

## 神経機能学領域

Section of Neuromedical Science

## 【神経機能学ユニット】

教授	東田 千尋	Prof. Chihiro Tohda
助 教	楊 熙蒙	Assist. Prof. Ximeng Yang
助 教	稲田 祐奈	Assist. Prof. Yuna Inada
研究員	小松 かつ子	Postdoctoral Fellow Katsuko Komatsu

## 【和漢薬知統合学ユニット】

准教授	東田 道久	Assoc. Prof. Michihisa Tohda
-----	-------	------------------------------

## ◆研究目的

## 神経機能学ユニット

- ・神経機能の維持・亢進に関わる神経回路形成機序
- ・アルツハイマー病，脊髄損傷，頸椎症，サルコペニア，緑内障に対する根本的治療を目指した和漢薬研究
- ・神経機能を制御する，中枢神経と末梢臓器のクロストークの分子基盤
- ・基礎研究を植物性医薬品開発，漢方方剤の効能拡大に繋げるための臨床研究
- ・ヒトの心身の健康状態に影響する要因分析とバイオマーカーの探索

## 和漢薬知統合学ユニット

- ・和漢薬理論に対するエビデンスの提供とそれを基盤にした新たな研究戦略の提供
- ・生体反応に寄り添った和漢薬独自の作用の解明とそれに基づく超低濃度作働性治療薬の開発
- ・和漢薬理論に立脚したうつ病の分類，発症機序の解明と，新規抗うつ薬の開発
- ・「抗がん薬副作用による心不全」「致死性再発心筋梗塞」を予防する和漢薬処方の開発

## ◆2022 年度研究概要

## 1) 認知症に関する研究

アルツハイマー病モデルマウスの記憶障害の改善に軸索修復・再伸展が重要であることを示し（原著論文 1, 7），その現象を担う分子として Gal-1 と Secernin-1 の相互作用メカニズムを見出した（原著論文 5, 8）。若齢のアルツハイマー病モデルマウスの骨格筋を廃用性筋萎縮させると，記憶障害発症が早まる現象を発見したことから，その予防戦略について検討を進めている（総説 2）。

## 2) 頸椎症性脊髄症に関する研究

頸椎症性脊髄症をもたらす疾患の一つである後縦靭帯骨化症について，そのモデルマウス ttw の運動機能障害を感度良く検出する新しいスコアリング法を開発した（論文 4）。

## 3) 基礎研究を植物性医薬品開発に繋げるための臨床研究

これまで，ジオスゲニンやジオスゲニン高濃度ヤマイモエキスに関して，アルツハイマー病モデルマウスでの記憶障害改善用や正常マウスでの記憶亢進作用（基礎研究）と，健常人での認知機能亢進作用（臨床研究）示してきた。ジオスゲニン高濃度ヤマイモエキスに関して，軽度認知障害および軽

度アルツハイマー型認知症への効果を検討する特定臨床研究を実施・終了し、結果の解析に入った。またこれまで、脊髄損傷モデルマウスにおいて運動機能障害改善作用を示し（基礎研究）、ロコモティブシンドロームでの歩行機能改善作用を示した（臨床研究）ニクジュウエキスに関して、頸椎症性脊髄症患者の機能改善効果を検討する特定臨床研究を実施中である（総説1）。

#### 4) ヒトの心身の健康状態に影響する要因分析とバイオマーカーの探索

富山県内に住む65歳以上の健康な高齢者を対象とし、認知機能検査、歩行機能検査、ウェルビーイングの状態を測る生活の質(QOL)アンケート、幸福度アンケートを実施し、また加速度計装着による日常生活での活動量を計測した。分析結果から、日々の身体活動の多さが運動機能の高さを説明し、運動機能の高さが認知機能の高さを説明し、さらに認知機能の高さがウェルビーイング(QOL, 幸福度)の高さを説明することが示された(論文11)。

#### 5) 和漢薬作用の独自性に関する研究(和漢薬知統合学ユニット)

和漢薬・漢方薬効果の独自性として a) 生体に作働薬として作用(純薬のほとんどが抑制薬), b) 生薬の組み合わせ効果(対薬), c) 超微量成分の有効性, が考えられる。これらを明らかにすることにより、和漢薬に関する新しい研究戦略の提供とそれに基づく治療戦略の構築を目指した研究を、2020年度までに構築した120種生薬個々の成分プロファイルと細胞作用の基礎的検討(形態変化観察と発現遺伝子ライブラリーの構築)を出発点として推進している。

本年度は抗うつ効果との関連性を示唆しているBNIP-3のmRNA発現に及ぼす各種生薬の効果についての知見を得て、その増減と気の上下との関連性についての考察に歩を進めている。また補中益気湯に関する作用解析はこれまでも継続してすすめているが、その構成生薬である黄耆に関して、上記BNIP-3上昇に加えて、small RNA発現変化も見出している。今後は、黄耆を軸にした生薬の組み合わせによる効果の変化と作用の分子的機序に関する検討を進めるとともに、network pharmacology的な机上解析と実験結果を対比することで、各種うつ病態における関連生体内因子の分類と和漢薬・漢方薬の作用・使い分けについての検討を推進する。

#### ◆原著論文

##### 【神経機能学ユニット】

- 1) Huang YH, Ding WL, Li XT, Cai MT, Li HL, Yang ZY, Piao XH, Zhu S, Tohda C, Komatsu K, Wang SM, Ge YW. Memory enhancement effect of saponins from *Eleutherococcus senticosus* leaves and blood-brain barrier-permeated saponins profiling using a pseudo targeted monitoring strategy. *Food Funct.* 2022 Mar 21;13(6):3603-3620. doi: 10.1039/d1fo03078g.
- 2) Ngwe Tun MM, Luvai E, Nwe KM, Toume K, Mizukami S, Hirayama K, Komatsu K, Morita K. Anti-SARS-CoV-2 activity of various PET-bottled Japanese green teas and tea compounds in vitro. *Arch Virol.* 2022 Jul;167(7):1547-1557. doi:10.1007/s00705-022-05483-x.
- 3) Suyama M, Nagase-Iki T, Tohda C. New Evaluation Methods with High Sensitivity for Motor Function of the Ossification of the Posterior Longitudinal Ligament in ttw/ttw Mouse Model. *Neurochemical J.* 2022 July;16(2) 214-218.
- 4) Yoshino T, Yoneda T, Yang X, Nishihara M, Ogawa K, Kitamura M, Ando H, Nakashima S, Horie I. Conference report: Second annual young researcher forum of the Japan Society of Medical and Pharmaceutical Sciences for Traditional Medicine. *Trad. & Kampo Med.* 2022 Aug; 9(2):144-147. doi: 10.1002/tkm2.1311.
- 5) Chino K, Izuo N, Noike H, Uno K, Kuboyama T, Tohda C, Muramatsu SI, Nitta A. Shati/Nat8l overexpression improves cognitive decline by upregulating neuronal trophic factor in Alzheimer's disease model mice. *Neurochem Res.* 2022 Sep;47(9):2805-2814. doi: 10.1007/s11064-022-03649-2.
- 6) Yang Z, Song C, Ge YW, Tohda C. Editorial: Treatment of Alzheimer's disease-discovery of natural products based on neurite outgrowth and neuroprotection. *Front Pharmacol.* 2022 Nov 18;13:1079783. doi: 10.3389/fphar.2022.1079783.



- 7) Yang X, Tohda C. Axonal regeneration mediated by a novel axonal guidance pair, Galectin-1 and Secernin-1. *Mol Neurobiol.* 2023 Mar;60(3):1250-1266. doi: 10.1007/s12035-022-03125-6.
- 8) Liu Q, Komatsu K, Toume K, Zhu S, Tanaka K, Hayashi S, Anjiki N, Kawahara N, Takano A, Miyake K, Nakamura N, Sukrong S, Agil M, Balachandra I. Essential oil composition of Curcuma species and drugs from Asia analyzed by headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry. *J Nat Med.* 2023 Jan;77(1):152-172. doi: 10.1007/s11418-022-01658-7.
- 9) 内山奈穂子, 新井玲子, 田中誠司, 丸山卓郎, 伊藤雅文, 柴原豪了, 武田修己, 小栗志織, 佐々木隆宏, 岡秀樹, 白鳥誠, 秋田幸子, 植村清美, 浅野年紀, 日向野太郎, 杉本智潮, 近藤誠三, 吉田雅昭, 西川加奈子, 山田修嗣, 山本豊, 玉木智生, 木内文之, 東田千尋, 竹林憲司, 小笠原勝, 中村高敏, 中川和也, 横倉胤夫, 神本敏弘, 高尾正樹, 高橋喜久美, 高杉泰弘, 岡坂衛, 佐々木博, 井川裕之, 高谷和広, 川原信夫, 河野徳昭, 袴塚高志. 局外生規 2022 新規収載単味生薬エキスの確認試験及び定量法の設定について. *生薬学雑誌.* 2023 Feb; 77(1) 7-23.
- 10) Inada Y, Tohda C. Causal relationships between daily physical activity, physical function, and cognitive function ultimately leading to happiness. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2023 Feb; 20(4):3016. <https://doi.org/10.3390/ijerph20043016>

【和漢薬知統合学ユニット】

- 1) Hosokai H, Suzuki R, Zhao Q, Tohda M. Effects of herbal extracts on mRNA expression of intrinsic antidepressant-related candidate factor BNIP-3 in cultured neuronal and glial cell lines: Relationship with the Kampo concept of Qi. *Trad. Kampo. Med.* 2022. in press. <https://doi.org/10.1002/tkm2.1351>.

◆総説

【神経機能学ユニット】

- 1) 東田千尋, 楊熙蒙, 稲田祐奈. 高齢者疾患 (認知症・サルコペニア) に有効なボタニカルプロダクト. 月刊「細胞」. 2022 Dec 31; 54 (14): 804-7.
- 2) 東田千尋. 運動不足で筋肉が減るほど脳に炎症が起り、認知症を招きやすくなると最新研究で判明. あなたが 5 年後 10 年後認知症に進む恐れがないかズバリわかる「運動不足度チェック」. 脳活道場. 2022 Dec 26; 2(48); 6-8.

◆学会報告

【神経機能学ユニット】

(国際学会)

- 1) Tsukasa Iki, Chihiro Tohda. Hemopexin, newly identified as unbeneficial myokine, mediates skeletal muscle atrophy-induced cognitive impairment. *Neuroscience 2022*; 2022 Nov 12-16; San Diego, USA.
- 2) Shogo Shibue, Chihiro Tohda. Recovery of optic nerve projection in a mouse model of normal tension glaucoma. *Neuroscience 2022*; 2022 Nov 12-16; San Diego, USA.
- 3) Ximeng Yang, Chihiro Tohda. Identification of molecular mechanism for accurate axonal regeneration in Alzheimer's disease model mouse brains. *Neuroscience 2022*; 2022 Nov 12-16; San Diego, USA.
- 4) Yuna Inada, Chihiro Tohda. Factors related to subjective well-being and responsible molecules interacting the brain and the locomotor system. *Neuroscience 2022*; 2022 Nov 12-16; San Diego, USA.

(国内学会)

- 1) 楊熙蒙, 東田千尋. Diosgenin が脳での軸索再伸長と記憶回復を引き起こすメカニズムの解明. *Neuro2022* ; 2022 Jun 30-Jul 3 ; 沖縄.

- 2) 井城綸沙, 東田千尋. アルツハイマー病モデルマウスの認知機能低下を防ぐ血中因子の探索. Neuro2022 ; 2022 Jun 30-Jul 3 ; 沖縄.
- 3) 久保山友晴, 岡本陽里, 東田千尋. HDAC3 inhibition ameliorates dystrophic axons and memory function via secretion of IGFBP6 from microglia in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. Neuro2022 ; 2022 Jun 30-Jul 3 ; 沖縄.
- 4) 稲田祐奈, 東田千尋. 高い幸福健康度に関連する要因と血中分子の検討. Neuro2022 ; 2022 Jun 30-Jul 3 ; 沖縄.
- 5) 須山真聡, 楊熙蒙, 東田千尋. 頸椎症性脊髄症に対するニクジュヨウエキスの効果. Neuro2022 ; 2022 Jun 30-Jul 3 ; 沖縄.
- 6) 渋谷省吾, 東田千尋. 正常眼圧緑内障モデルマウスにおける視神経伸長を促す薬物の検討. Neuro2022 ; 2022 Jun 30-Jul 3 ; 沖縄.
- 7) 稲田祐奈. 子供の嗅覚を知ること. 第17回日本小児自部咽喉科学会総会・学術講演会 ; 2022 Jul 21-22 ; 富山.
- 8) 楊熙蒙, 東田千尋. Mature ニューロンの軸索伸長活性が diosgenin によって高まる分子機構の解明. 第39回和漢医薬学会 ; 2022 Aug 27-28 ; 東京(オンライン).
- 9) 渋谷省吾, 東田千尋. 正常眼圧緑内障モデルマウスにおける視神経伸長を促す薬物の検討. 第39回和漢医薬学会 ; 2022 Aug 27-28 ; 東京(オンライン).
- 10) Katsuko Komatsu, Shu Zhu : Strategy to expand domestic production of peony root based on comprehensive study on diversity of *Paeonia lactiflora*, First International Symposium for Kampo Medicine organized by JSOM, Japan Society for Oriental Medicine, 2022 Aug 26; Tokyo (オンライン).
- 11) 丸山卓郎, 小栗一輝, 清水聖子, 鈴木淳子, 小松かつ子, 川原信夫, 河野徳昭, 高野昭人, 酒井英二, 中嶋順一, 山口茂治, 徳本廣子, 伊藤美千穂. 日本薬局方における生薬の性状記載の改正及び整備について. 第8回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム ; 2022 Aug 26 ; 東京.
- 12) 小松かつ子. 薬用植物の多様性解析研究等から見出した新規機能性とその応用. 第37回日本ゴマ科学会大会 ; 2022 Sep 3 ; 富山.
- 13) 東田千尋, 楊熙蒙, 稲田祐奈. 認知症に有効な和漢薬 : Diosgenin による軸索修復作用と臨床研究への展開. 第23回応用薬理シンポジウム ; 2022 Sep 10 ; 仙台 (オンライン).
- 14) 小松かつ子. サステナビリティと標準化を指向したアジア産薬用植物の多様性解析研究. 日本生薬学会第68回年会 ; 2022 Sep 10-11 ; 松山 (オンライン).
- 15) 久保山友晴, 堀田健一郎, 浅沼舞, 當銘一文, 山寄琢磨, 小松かつ子. 長野県栽培 Rheum 属植物由来根茎のマイクログリア M2 化に着目した品質評価. 日本生薬学会第68回年会 ; 2022 Sep 10-11 ; 松山 (オンライン).
- 16) 董昱卓, 當銘一文, 君島伸, 張含培, 朱姝, 何毓敏, 蔡少青, 丸山卓郎, 小松かつ子. 骨碎補の品質標準化を目指した NMR メタボローム分析. 日本生薬学会第68回年会 ; 2022 Sep 10-11 ; 松山 (オンライン).
- 17) 丸山卓郎, 河野徳昭, 朱姝, 曾根美佳子, 木谷友紀, 吉田雅昭, 近藤誠三, 松浦匡, 白鳥誠, 横倉胤夫, 山本豊, 山田修嗣, 岡本拓也, 小松かつ子, 伊藤美千穂. 遺伝子情報を利用したロクジョウの確認試験及びトナカイに対する純度試験について. 日本生薬学会第68回年会 ; 2022 Sep 10-11 ; 松山 (オンライン).
- 18) 近藤真由菜, 文田昌盛, 小松かつ子, 川原信夫, 河野徳昭, 高野昭人, 伊藤美千穂, 中嶋順一, 鈴木淳子, 清水聖子, 小栗一輝, 山口茂治, 徳本廣子, 丸山卓郎, 酒井英二. ヨクイニン末の確認試験, 純度試験について. 日本生薬学会第68回年会 ; 2022 Sep 10-11 ; 松山 (オンライン).
- 19) 今井卓也, 平倉一弘, 神本敏弘, 小栗一輝, 青木勝之, 松浦匡, 山路弘樹, 齊建凱, 刀志灵, 山本豊, 白鳥誠, 小松かつ子, 河野徳昭, 丸山卓郎, 袴塚高志. テンモンドウ基原植物及び近縁植物の含有成分差異. 日本生薬学会第68回年会 ; 2022 Sep 10-11 ; 松山 (オンライン).

- 20) 東田千尋, 井城綸沙. 骨格筋萎縮が誘発する認知機能障害—筋から分泌される悪性マイオカイン—. 第 64 回歯科基礎医学会学術大会; 2022 Sep 17-19; 徳島.
- 21) 楊熙蒙, 東田千尋. 和漢薬成分 diosgenin により見出されたアルツハイマー病の新規治療戦略. 第 9 回食品薬学シンポジウム「特別シンポジウム 新規機能性天然素材の開拓」; 2022 Oct 15-16; 富山.
- 22) 小松かつ子. アジア広域を産地とするウコン類生薬と縮砂の標準化. 日本生薬学会関西支部令和 4 年度秋期講演会; 2022 Oct 21; 大阪.
- 23) 東田千尋, 楊熙蒙, 稲田祐奈. 食薬区分を生かした和漢薬からの創薬研究. 第 96 回日本薬理学会年会; 2022 Nov 30-Dec 2; 横浜.
- 24) 井城綸沙, 東田千尋. 骨格筋萎縮により分泌が増加するヘモペキシンは 5XFAD マウスの認知障害発症を加速する. 第 96 回日本薬理学会年会; 2022 Nov 30-Dec 2; 横浜.
- 25) 渋谷省吾, 東田千尋. 正常眼圧緑内障モデルマウスにおける視神経伸長を促す薬物とそのメカニズム. 第 96 回日本薬理学会年会; 2022 Nov 30-Dec 2; 横浜.
- 26) 羽柴圭悟, 東田千尋. 頸椎症性脊髄症のマウスモデルの確立と acteoside による改善効果. 第 96 回日本薬理学会年会; 2022 Nov 30-Dec 2; 横浜.
- 27) 楊熙蒙, 東田千尋. アルツハイマー病モデルマウスの脳内で軸索が再伸長する分子メカニズムの解明. 第 96 回日本薬理学会年会; 2022 Nov 30-Dec 2; 横浜.
- 28) 須山真聡, 東田千尋. 頸椎症性脊髄症に対するニクジュヨウエキスの効果. 第 96 回日本薬理学会年会; 2022 Nov 30-Dec 2; 横浜.
- 29) 永田朋也, 楊熙蒙, 東田千尋. 記憶障害改善の要因は何か. 第 96 回日本薬理学会年会; 2022 Nov 30-Dec 2; 横浜.
- 30) 楊熙蒙, 東田千尋. Diosgenin による Galectin-1 の増加は、アルツハイマー病モデルマウスにおいて脳での軸索再伸長と記憶回復を引き起こす. 日本薬学会 第 143 年会; 2023 Mar 25-28; 札幌.
- 31) 山路弘樹, 小栗一輝, 王浩涵, 齊建凱, 司馬真央, 曾根美佳子, 松浦匡, 成暁, 刀志霊, 田中伸幸, 山本豊, 白鳥誠, 小松かつ子, 河野徳昭, 丸山卓郎, 袴塚高志, 伊藤美千穂. 中国で流通する「天門冬」原植物の多様性に関する追加検討—ミャンマー産, 雲南省産生薬の原植物解明, 日本薬学会 第 143 年会; 2023 Mar 25-28; 札幌.
- 32) 董昱卓, 當銘一文, 君島伸, 張含培, 朱姝, 何毓敏, 東田千尋, 楊熙蒙, 蔡少青, 丸山卓郎, 小松かつ子. 骨碎補の品質標準化を目指した NMR メタボローム分析. 日本薬学会 第 143 年会; 2023 Mar 25-28; 札幌.

#### ◆特許

##### 【神経機能学ユニット】

- 1) 東田千尋, 長瀬綸沙, inventors; 国立大学法人富山大学, assignee. 神経変性疾患の予防, 治療及び/又は改善剤. PCT/JP2022/ 18676. 2022 Apl 25.
- 2) 東田千尋, 渋谷省吾, inventors; 国立大学法人富山大学, assignee. 視神経障害の治療又は予防. 特願 2022 - 121223. 2022 Jul 29.

#### ◆その他

##### 【神経機能学ユニット】

- 1) 東田千尋. 認知症に有効な漢方薬・生薬. 漢方薬・生薬薬剤師講座. 2022 Jul 10.
- 2) 東田千尋. 「和漢薬と創薬」和漢薬からの創薬を目指した基礎研究と臨床研究. 富山大学サマースクール 創薬・製剤コース 2022. 2022 Sep 30-Dec 13.
- 3) 東田千尋. 健康寿命延長と和漢薬. 令和 4 年度富山市民大学「生活医薬学を学ぶ」. 2022 Sep 30.
- 4) 東田千尋. 和漢薬研究が人に役立つために. 富山大学公開講座. 2022 Nov 26.
- 5) 東田千尋. 食薬区分を生かした和漢薬からの創薬研究. 第 42 回和漢医薬学総合研究所特別セミナー「オール富山大学での創薬・ヘルスケア社会実装共創拠点の形成に向けて」.

2022 Nov 28.

- 6) 楊熙蒙. 令和4年度富山大学杉谷キャンパス高大連携企画 かけがえのない「いのち」を守る座談会. 2022 Nov 13.
- 7) 井城綸沙. 認知症発症を加速する新規骨格筋分泌性因子の研究. Toyama academic GALA 2022. 2022 Oct 26.
- 8) 井城綸沙. 認知症発症を加速する新規骨格筋分泌性因子の研究. フォーラム富山「創薬」第56回研究会. 2022 Nov 8.
- 9) 井城綸沙. お年寄りの運動不足こそ認知症の原因か? 骨格筋から出て脳に移行し, 認知障害を早める分子を発見! PhD リクルートフォーラム. 2022 Sep 20.
- 10) 井城綸沙. 認知症発症を加速する新規骨格筋分泌性因子の研究. 生化学若い研究者の会北陸支部 冬の研究交流会 in にいがた. 2022 Dec 17.
- 11) 小松かつ子. 総論 日本における漢方薬・生薬の応用の現状と展望, 特集 漢方薬・生薬研究の最前線—臨床応用を主眼として, 細胞 54(12): 2-3, 2022, ニューサイエンス社.
- 12) 小松かつ子. 「富山のくすし」10周年に思う, 特定非営利活動法人 富山のくすし—設立10周年の歩み—, pp. 56-59, 2022 Oct. 富山.
- 13) Komatsu K. Quality Evaluation of Crude Drugs (Herbal Drugs). PMDA-ATC Quality Control (Herbal Medicine) Webinar 2022. 2022 Aug 23. 富山 (オンライン).
- 14) 小松かつ子. 「薬膳に応用できる植物・生薬」第13回「富山やくぜん」研修会, 富山市商工労働部. 2022 Aug 25. 富山.
- 15) 小松かつ子. 「世界の民族薬物 和漢医薬学総合研究所附属民族薬物資料館の紹介」富山大学サマースクール〈創薬・製剤コース〉2022 on WEB. 2022 Sep 5-Dec 13. 富山 (オンライン).
- 16) 小松かつ子. 「和漢薬の基礎と薬膳への応用」NPO 法人富山のくすし, 令和4年度漢方医学と生薬講座 (第5回). 2022 Sep 16. 富山.
- 17) 小松かつ子. 「生薬は生きている～薬用植物・生薬の多様性を活かす」第288回大阪生薬協会技術部会特別講演会. 2022 Oct 17. 大阪.
- 18) 小松かつ子. 「民族薬物資料館現地学習」令和4年度富山市民大学「生活医学薬学を学ぶ」. 2022 Oct 28. 富山.
- 19) 小松かつ子. 「薬草利用の昔と今—胡黄連の代用品センブリからブランド芍薬の作出まで—」令和4年度「くすりの語り部」公開講座 (特別講演), 富山市商工労働部. 2022 Oct 29. 富山.
- 20) 小松かつ子. 「民族薬物資料館の生薬について」NPO 法人富山のくすし, 令和4年度漢方医学と生薬講座 (第7回). 2022 Nov 19. 富山.
- 21) 小松かつ子. 「和漢薬の持続可能性と標準化」2022年度後期富山大学公開講座「こんなに“おもしろい”和漢薬学研究: 基礎研究から生まれる新世界」. 2022 Nov 26. 富山.
- 22) 小松かつ子. 「遺伝子から見た世界の薬用植物—トピックス生薬」漢方薬・生薬認定薬剤師研修会. 2022 Dec 11. 東京.

#### 【和漢薬知統合学ユニット】

- 1) 東田道久. 和漢薬原点回帰: 和漢薬の知の“軽い理解”がもたらす「正しい使用法」と「新しい研究視点」. 令和4年度富山市民大学「生活医学薬学を学ぶ」2022.6.24.
- 2) 東田道久. 和漢薬原点回帰. 富山大学公開講座「こんなに“おもしろい”和漢薬学研究: 基礎研究から生まれる新世界」2022.11.19.

#### ◆受賞

##### 【神経機能学ユニット】

- 1) 井城綸沙: Neuro 2022 若手道場優秀発表賞. アルツハイマー病モデルマウスの認知機能低下を防ぐ血中因子の探索. 2022 Jun 30-Jul 3.
- 2) 楊熙蒙: 第39回和漢医薬学会 優秀発表賞. Mature ニューロンの軸索伸長活性が diosgenin によって高まる分子機構の解明. 2022 Aug 27-28.



- 3) 井城綾沙：Toyama academic GALA 2022 優秀ポスター賞. 認知症発症を加速する新規骨格筋分泌性因子の研究. 2022 Oct 26.
- 4) 井城綾沙：PhD リクルートフォーラム ポスター賞. お年寄りの運動不足こそ認知症の原因か？骨格筋から出て脳に移行し、認知障害を早める分子を発見！ 2022 Sep 20.
- 5) 小松かつ子：2022 年度日本生薬学会賞「伝統薬のサステナビリティと標準化を指向したアジア産薬用植物の多様性解析研究」2022, 9.
- 6) Farid M M., Nagase T, Yang X, Nomoto K, Kuboyama T, Inada Y, Tohda C.: 日本食品化学学会 第 17 回論文賞「Effects of *Trigonella foenum-graecum* seeds extract on Alzheimer's disease transgenic model mouse and its potential active compound transferred to the brain」2022, 5.

#### ◆共同研究

##### 【神経機能学ユニット】

(国内)

- 1) 徳田隆彦 (量子科学技術研究開発機構)：軸索修復の血漿バイオマーカーの研究, 2019～2022
- 2) 日本生物製剤：中枢神経基礎研究および開発支援に関する学術指導, 2021～
- 3) 内山奈穂子 (国立医薬品食品衛生研究所)：高齢者疾患をターゲットとした生薬エキスの品質評価法に関する研究, 2021～
- 4) 奥津果優 (鹿児島大学)：山薬麴エキスの作製と生物活性の検討, 2022
- 5) 小林憲太：2022 年度生理学研究所計画共同研究「新規緑内障治療薬の開発研究」, 2022
- 6) アルプス薬品工業：可溶化フラボノイドの骨格筋委縮に対する効果, 2021～

(学内)

- 1) 鈴木道雄 (神経精神科), 川口善治 (整形外科), 林龍二 (臨床腫瘍部), 貝沼茂三郎 (和漢診療科), 當銘一文: 富山大学学長裁量経費「和漢薬による健康長寿創薬プロジェクト」, 2022～
- 2) 鈴木道雄 (神経精神科)：特定臨床研究「軽度認知障害および軽度アルツハイマー型認知症における山芋エキスの有効性を検討するランダム化二重盲検群間比較試験」, 2020～
- 3) 川口善治 (整形外科)：特定臨床研究「頸椎症性脊髄症に対するニクジュヨウエキスの有効性を検討するランダム化二重盲検群間比較試験」, 2021～
- 4) 林龍二 (臨床腫瘍部)：特定臨床研究「慢性閉塞性肺疾患 (COPD)患者に対するニクジュヨウエキスの忍容性試験」, 2021～

#### ◆研究費取得状況

##### 【神経機能学ユニット】

- 1) 平成 30 年度国立研究開発法人日本医療研究開発機構, 創薬基盤推進研究事業 薬用植物種苗供給の実装化を指向した開発研究 (分担：當銘一文, 協力：小松かつ子, 朱 妹)：「早期生薬生産・成分評価システムの構築」
- 2) 科学研究費 基盤研究(B) (代表：東田千尋, 分担：稲田祐奈, 楊熙蒙) 頸椎症性脊髄症の機能を軸索修復により根本的に回復する新しい植物性医薬品の開発
- 3) 富山大学運営費交付金機能強化費 (代表：東田千尋, 分担：楊熙蒙, 稲田祐奈) 和漢薬による健康寿命創薬プロジェクト
- 4) 富山県アンメットメディカルニーズ創薬・製剤研究 (代表：東田千尋) 高齢者疾患を制する和漢薬研究：製品化に向けた臨床研究と品質研究
- 5) 富山大学学長裁量経費 機能強化推進経費 (部局間連携研究経費) (代表：川口善治, 分担：東田千尋) 頸椎症性脊髄症に対するニクジュヨウエキスの有効性を検討する臨床研究とリバーストランスレーショナルリサーチによるメカニズム解析
- 6) 公益財団法人田村科学技術振興財団 2021 年度下期助成事業 (代表：楊熙蒙) 軸索が正しいターゲットに再伸長するための脳内新規分子機構の解明
- 7) 科学研究費 若手研究 (代表：楊熙蒙) 脳内の軸索再伸長をターゲットとしたアルツハイ

- マー病の根本的治療法の開発  
8) 科学研究費 若手研究 (代表: 稲田祐奈) 言語発達を考慮した幼児用嗅覚検査の開発

◆研究室在籍者

【神経機能学ユニット】

学部3年: 石井雄翔  
学部3年: 東山綾花  
学部3年: 末上亜里沙  
学部4年: 永田朋也  
学部4年: 羽柴圭悟  
学部4年: 金田みづほ  
大学院修士1年: 渋谷省吾  
大学院博士前期2年: 須山真聡  
大学院博士前期2年: 近藤麻布  
大学院博士後期2年: 井城綸沙

【和漢薬知統合学ユニット】

学部6年生: 鈴木玲奈

◆学位(修士, 博士)取得者

【神経機能学ユニット】

修士論文

須山真聡: ニクジュヨウエキスによる頸椎症性脊髄症の機能回復に関する研究

博士論文

楊熙蒙: Diosgenin による軸索再伸長を基盤としたアルツハイマー病の記憶障害回復メカニズムに関する研究

【和漢薬知統合学ユニット】

博士論文

趙慶峰: 漢方薬の理論に立脚した新しい治療戦略と薬開発に関する研究  
(在籍中の成果に基づき博士(工学)を取得)

## 研究開発部門

Department of Research and Development

## 病態制御分野

Division of Bioscience

## 生体防御学領域

Section of Host Defences

## 【がん・免疫ユニット】

教授	早川 芳弘	Prof. Yoshihiro Hayakawa
助 教	薄田 健史	Assist. Prof. Takeshi Susukida
助 教	佐々木 宗一郎	Assist. Prof. So-ichiro Sasaki

## 【脂質代謝ユニット】

准教授	渡辺 志朗	Assoc. Prof. Shiro Watanabe
-----	-------	-----------------------------

## ◆研究目的

## 【がん・免疫ユニット】

がん・免疫ユニットでは病態における生体防御機構の役割に関する研究、和漢薬の生体防御機構に及ぼす効果に関する研究について、特に免疫システムに着目して研究することを目的とする。生体防御システムを制御して疾患の発症予防や疾患の悪性化進展を阻止しうる薬効を生薬エキス、漢方方剤、天然物由来化合物、食物由来成分等から探索し、それらを活用して予防先制医療へと応用することを目指す。特に免疫疾患（がん・炎症・アレルギー病態）の制御について、生体防御に重要な自然免疫細胞に着目し、なかでもナチュラルキラー（Natural Killer: NK）細胞のバイオロジーや疾患制御における重要性について研究を進める。また、がん細胞の免疫逃避機構や免疫原性の制御によってがん免疫応答を強化する方法を見出すための研究を行う。さらに遠隔転移に代表されるがん進展における免疫応答や組織微小環境の役割について、病態モデルや *in vivo* イメージングを用いた解析に加え、和漢薬による免疫疾患の制御に関する研究を行う。

## 【脂質代謝ユニット】

脂質代謝ユニットの研究目的は、和漢薬ならびにその主要成分が有する病態生理制御効果を、脂肪酸と胆汁酸の網羅的分析をとおして、それらの新しい作用機構の概念を提唱することである。

## ◆2022 年度研究概要

## 【がん・免疫ユニット】

がん・免疫ユニットの 2022 年度の研究成果の概要

## 1. 免疫疾患における生体防御機構の役割に関する研究

細胞内解毒酵素の一種であり、酸化ストレス応答に関わる分子であるグルタチオン-S-トランスフェラーゼ A4 (GSTA4) が、悪性黒色腫の免疫応答に対する抵抗性と遠隔臓器への転移能を獲得するために重要であることを明らかにした。また、モデル動物における SARS-CoV-2 の感染を生物発光イメージングで定量評価する方法の開発、ならびにこのモデルを用いた中和抗体の感染防御効果について明らかにした。

## 2. 生体防御システムをターゲットとした疾患制御に関する研究

がん悪性化進展や慢性炎症病態に関わる炎症性シグナルをターゲットとして和漢薬ならびに天然物由来化合物、またその誘導体の薬効について探索研究を行い、さまざまな化合物の有用性について明らかにした。

## 【脂質代謝ユニット】

豚胆汁(豚胆)の主要構成胆汁酸であるヒオデオキシコール酸 (HDCA) の経口投与が、デキストラン

硫酸ナトリウム (DSS) によって誘導される大腸炎症状を軽減することを、マウスを用いて明らかにした。糞便についての LCMS 解析から、胆汁酸受容体に対する活性化作用の強い胆汁酸の増加が、HDCA の投与によって起こっていた。腸内細菌の胆汁酸代謝変動などを介して、HDCA が大腸炎症状の軽減に寄与するものと推測した。

#### ◆原著論文

##### 【がん・免疫ユニット】

- 1) Boonyarat C, Tantiwatcharakunthon M, Takomthong P, Yenjai C, Hayakawa Y, Dejkriengkraikul P, Chaiwiwatrakul S, Waiwut P. Neuroprotective and anticancer effects of 7-Methoxyheptaphylline via the TAK1 pathway. *Oncol Rep.* 2023 Jan;49(1):15. doi: 10.3892/or.2022.8452.
- 2) Ucce S, Yokoyama S, Mojic M, Oki K, Ohshima C, Tsuihiji H, Takasaki I, Tahara H, Hayakawa Y. GSTA4 governs melanoma immune resistance and metastasis. *Mol Cancer Res.* 2022 Sep 27;MCR-22-0369. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-22-0369.
- 3) Do KM, Kodama T, Shin MK, Nu LHT, Nguyen HM, Dang SV, Shiokawa KI, Hayakawa Y, Morita H. Marginols A–H, unprecedented pimarane diterpenoids from *Kaempferia marginata* and their NO inhibitory activities. *Phytochemistry.* 2022 Apr;196:113109. doi: 10.1016/j.phytochem.2022.113109.
- 4) Nakamura T, Kobayashi E, Hamana H, Hayakawa Y, Muraguchi A, Hayashi A, Ozawa T, Kishi H. Evaluation of chimeric antigen receptor of humanized rabbit-derived T cell receptor-like antibody. *Cancer Sci.* 2022 Oct;113(10):3321-3329. doi:10.1111/cas.15478.
- 5) Gao WY, Boonyarat C, Takomthong P, Plekratoke K, Hayakawa Y, Yenjai C, Kaewamatawong R, Chaiwiwatrakul S, Waiwut P. Acridone Derivatives from *Atalantia monophylla* Inhibited Cancer Cell Proliferation through ERK Pathway. *Molecules.* 2022 Jun 16;27(12):3865. doi: 10.3390/molecules27123865.
- 6) Lallo S, Hardianti B, Sartini S, Ismail I, Laela D, Hayakawa Y. Ethyl P-Methoxycinnamate: An Active Anti-Metastasis Agent and Chemosensitizer Targeting NFκB from *Kaempferia galanga* for Melanoma Cells. *Life (Basel).* 2022 Feb 24;12(3):337. doi: 10.3390/life12030337.
- 7) Ozawa T, Tani H, Anraku Y, Kita S, Igarashi E, Saga Y, Inasaki N, Kawasuji H, Yamada H, Sasaki SI, Somekawa M, Sasaki J, Hayakawa Y, Yamamoto Y, Morinaga Y, Kurosawa N, Isobe M, Fukuhara H, Maenaka K, Hashiguchi T, Kishi H, Kitajima I, Saito S, Niimi H. Novel super-neutralizing antibody UT28K is capable of protecting against infection from a wide variety of SARS-CoV-2 variants. *MAbs.* 2022 Jan-Dec;14(1):2072455. doi: 10.1080/19420862.2022.2072455.
- 8) Yamada H, Sasaki SI, Tani H, Somekawa M, Kawasuji H, Saga Y, Yoshida Y, Yamamoto Y, Hayakawa Y, Morinaga Y. Author Correction: A novel hamster model of SARS-CoV-2 respiratory infection using a pseudotyped virus. *Sci Rep.* 2022 Dec 7;12(1):21138. doi: 10.1038/s41598-022-25678-1.
- 9) Sabra RT, Abdellatef AA, Abdel-Sattar E, Fathy M, Meselhy MR, Hayakawa Y. Russelioside A, a Pregnane Glycoside from *Caralluma tuberculata*, Inhibits Cell-Intrinsic NF-κB Activity and Metastatic Ability of Breast Cancer Cells. *Biol Pharm Bull.* 2022;45(10):1564-1571. doi: 10.1248/bpb.b22-00508.
- 10) Abdellatef AA, Meselhy MR, El-Askary HI, Elmekawy SA, Hayakawa Y. Anti-metastatic function of triterpene phytochemicals from guggul by targeting tumor-intrinsic NF-κB activation in triple-negative breast cancer cells. *Phytomedicine Plus.* 2022; 2(4): 100345. doi: 10.1016/j.phyflu.2022.100345.

##### 【脂質代謝ユニット】

- 1) Watanabe S, Chen Z, Fujita K, Nishikawa M, Ueda H, Iguchi Y, Une M, Nishida T, Imura J. Hyodeoxycholic acid (HDCA) prevents development of dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice: possible role of synergism between DSS and HDCA in increasing fecal bile acid



- levels. *Biol Pharm Bull.* 2022;Oct;45(10):1503-1509. doi: 10.1248/bpb.b22-00373.
- 2) Tsuneki H, Sugiyama M, Ito T, Sato K, Matsuda H, Onishi K, Yubune K, Matsuoka Y, Nagai S, Yamagishi T, Maeda T, Honda K, Okekawa A, Watanabe S, Yaku K, Okuzaki D, Otsubo R, Nomoto M, Inokuchi K, Nakagawa T, Wada T, Yasui T, Sasaoka T. Food odor perception promotes systemic lipid utilization. *Nat Metab.* 2022 Nov;4(11):1514-1531. doi: 10.1038/s42255-022-00673-y.
  - 3) Ichimura-Shimizu M, Watanabe S, Kashirajima Y, Nagatomo A, Wada H, Tsuneyama K, Omagari K. Dietary Cholic Acid Exacerbates Liver Fibrosis in NASH Model of Sprague-Dawley Rats Fed a High-Fat and High-Cholesterol Diet. *Int J Mol Sci.* 2022 Aug;17;23(16):9268. doi: 10.3390/ijms23169268.
  - 4) Nishidono Y, Yahata H, Niwa K, Kitajima A, Tezuka Y, Watanabe S, Tanaka, K. Fluctuations in the chemical constituents of *Panax ginseng* subterranean tissues with cultivation duration. *Trad Kampo Med* 2022; Apr;9(1):41-48. 10.1002/tkm2.1309.
  - 5) Kasai K, Igarashi N, Tada Y, Kani K, Takano S, Yanagibashi T, Usui-Kawanishi F, Fujisaka S, Watanabe S, Ichimura-Shimizu M, Takatsu K, Tobe K, Tsuneyama K, Furusawa Y, Nagai Y. Impact of vancomycin treatment and gut microbiota on bile acid metabolism and the development of non-alcoholic steatohepatitis in mice. *Int J Mol Sci.* 2023 Feb;17;24(4):4050. doi: 10.3390/ijms24044050.

#### ◆学会報告

##### 【がん・免疫ユニット】

(国際学会)

- 1) Sisca Ucce, 早川芳弘. Metabolic immune escape mechanism of cancer cells by limiting responsiveness to ferroptosis. *Iron, Reactive Oxygen Species & Ferroptosis in Life, Death & Disease*; 2022 Oct 10-14; Awaji.
- \* 2) Yoshihiro Hayakawa. Understanding host defense system and its application to drug discovery. *International Conference and Exhibition Pharmaceutical Sciences and Technology 2022 (PST2022)*; 2022 Jun 23-24, Thailand (online).

(国内学会)

- 1) Sisca Ucce, 早川芳弘. Metabolic switch in cancer cell glycolytic pathway impairs responsiveness to IFN- $\gamma$ . *日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会 (JSICR/MMCB 2022 合同シンポジウム)*; 2022 Jun 9-10; 東京.
- \* 2) 早川芳弘. がん細胞の免疫適応機構に関わる分子探索研究. *日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会 (JSICR/MMCB 2022 合同シンポジウム)*; 2022 Jun 9-10; 東京.
- 3) 佐々木宗一郎, 早川芳弘. マウス乳がん細胞自然骨転移モデルを用いた, 骨髄内線維芽細胞による骨転移促進機構の解明. *第 31 回日本がん転移学会学術集会*; 2022 Jul 7-8; 京都.
- 4) 對比地 遥, 早川芳弘. 免疫逃避により発現亢進する GSTA4 はメラノーマ細胞の転移制御因子である. *第 31 回日本がん転移学会学術集会*; 2022 Jul 7-8; 京都.
- 5) Ka He, 早川芳弘. MHC クラス I 阻害は NK 細胞による転移抑制作用を増強する. *第 31 回日本がん転移学会学術集会*; 2022 Jul 7-8; 京都.
- \* 6) 早川芳弘. NK 細胞の抗腫瘍エフェクター機能の制御メカニズム解明. *第 26 回日本がん免疫学会学術総会*; 2022 Jul 20-22; 松江.
- 7) 薄田健史, 佐々木宗一郎, 白柳智弘, 青木重樹, 伊藤晃成, 早川芳弘. 薬物-HLA 相互作用による腫瘍免疫原性の改善を志向とした新規がん免疫治療戦略の開発. *第 26 回日本がん免疫学会学術総会*; 2022 Jul 20-22; 松江.
- 8) 山口叶大, 関戸景子, 薄田健史, 佐々木宗一郎, 早川芳弘. 免疫チェックポイント阻害剤の抗腫瘍効果に対する十全大補湯の併用効果の解析. *第 39 回和漢医薬学会学術大会*; 2022 Aug 27-28; オンライン.

- \* 9) 早川芳弘. 和漢薬による抗腫瘍免疫応答の調節. 第 39 回和漢医薬学会学術大会 ; 2022 Aug 27-28 ; オンライン.
- \* 10) 早川芳弘. The clinical practice and basic research of traditional medicines in Japan. 第 62 回日本臨床化学学会年次総会 ; 2022 Sep 30-Oct 2 ; 富山.
- 11) 薄田健史, 青木重樹, 早川芳弘. 細胞内代謝環境の変化が HLA 多型の関与する薬物過敏症の発症に及ぼす影響. 第 29 回日本免疫毒性学会学術年会 ; 2022 Sep 12-13 ; 札幌.
- 12) Sisca Ucche, 横山 悟, 佐々木宗一郎, 竹田和由, 早川芳弘. Critical involvement of glycolytic metabolic shift in cancer cell resistance to host immunity. 第 81 回日本癌学会学術総会 ; 2022 Sep 29-Oct 1 ; 横浜.
- 13) 山前 結, 川田 学, 早川芳弘. Identification of PP2A as an intrinsic checkpoint of T-bet and anti-tumor effector function of NK cells. 第 81 回日本癌学会学術総会 ; 2022 Sep 29-Oct 1 ; 横浜.
- 14) Ka He, 山前 結, 佐々木宗一郎, 田原秀晃, 早川芳弘. Role of homeostatic MHC class I recognition in regulating anti-tumor effector function of NK cells. 第 81 回日本癌学会学術総会 ; 2022 Sep 29-Oct 1 ; 横浜.
- 15) Takeshi Susukida, So-ichiro Sasaki, Shigeki Aoki, Yoshihiro Hayakawa. Development of a novel anti-cancer immunotherapy based on tumor immunogenicity improvement by HLA-drug interaction. 第 81 回日本癌学会学術総会 ; 2022 Sep 29-Oct 1 ; 横浜.
- 16) 佐々木宗一郎, 薄田健史, 田原秀晃, 早川芳弘. 2 型インターフェロンを介した腫瘍細胞骨転移抑制機構の解明. 第 81 回日本癌学会学術総会 ; 2022 Sep 29-Oct 1 ; 横浜.
- 17) 西部壮志, 横山 悟, 周 越, 早川芳弘, 櫻井宏明. DNA 損傷は非特異的な IRF1 誘導を介して腫瘍免疫原性を増強する. 第 81 回日本癌学会学術総会 ; 2022 Sep 29-Oct 1 ; 横浜.
- 18) Muhammad I. Rasul, 立浪秀剛, 佐々木宗一郎, 薄田健史, 野口誠, 早川芳弘. Innate immune responses against oral squamous carcinoma in an orthotopic murine model. 第 81 回日本癌学会学術総会 ; 2022 Sep 29-Oct 1 ; 横浜.
- 19) Takeshi Susukida, Shigeki Aoki, Yoshihiro Hayakawa. Intracellular metabolism change affects the susceptibility to HLA-mediated idiosyncratic drug toxicity. 日本薬物動態学会第 37 回年会 ; 2022 Nov 7-10 ; 横浜.
- \* 20) 早川芳弘. がん免疫療法における漢方薬の可能性. 第 37 回日本生殖免疫学会・学術集会. 2022 Nov 17-19 ; 高知.
- 21) 山前 結, 早川芳弘. Protein phosphatase 2A regulates NK cell effector function through mTOR pathway. 第 51 回日本免疫学会学術集会 ; 2022 Dec 7-9 ; 熊本.
- 22) Ka He, 山前 結, 佐々木宗一郎, 田原秀晃, 早川芳弘. Role of homeostatic MHC class I recognition in regulating the function of mature tissue-resident NK cells. 第 51 回日本免疫学会学術集会 ; 2022 Dec 7-9 ; 熊本.
- 23) Sisca Ucche, 佐々木宗一郎, 竹田和由, 早川芳弘. Metabolic adaptation of cancer cells to escape from immune-editing process. 第 51 回日本免疫学会学術集会 ; 2022 Dec 7-9 ; 熊本.
- 24) 薄田健史, 青木重樹, 早川芳弘. 細胞内エネルギー代謝環境の変化が HLA 多型の関与する薬物過敏症の発症に及ぼす影響. 日本薬学会第 143 年会 ; 2023 Mar 25-28 ; 札幌.

#### 【脂質代謝ユニット】

(国際学会)

- 1) Watanabe Y, Fujisaka S, Watanabe S, Nawaz A, Kado T, Nishimura A, Bilal M, Rahil M, Morinaga Y, Tobe K. Isoxanthohumol improves obesity and insulin resistance through both pharmacological and gut microbial pathways. International Human Microbiome Consortium 9th congress; 2022.11.08;Kobe.

(国内学会)

- 1) 渡邊善之, 藤坂志帆, 桑野剛英, 西村 歩, 角 朝信, 五十嵐喜子, Rahil Muhammad Aslam, Bilal Muhammad, Nawaz Allah, 八木邦公, 渡辺志朗, 森永芳智, 戸邊一之. イソキサントフモールは腸内細菌の変化を介して宿主の小腸栄養トランスポーターを制御し抗肥満作

- 用を發揮する。第 65 回日本糖尿病学会年次学術集会；2022.5.14；神戸。
- 2) 葛西海智, 古澤之裕, 多田有希, 五十嵐直哉, 渡辺志朗, 藤坂志帆, 戸邊一之, 市村-清水真祐子, 常山幸一, 長井良憲. 非アルコール性脂肪性肝炎の新規モデルマウス“3-F マウス”における腸内細菌叢及び胆汁酸組成の解析. 第 65 回日本糖尿病学会年次学術集会；2022.5.14；神戸。
  - 3) 渡邊善之, 藤坂志帆, 桑野剛英, 西村 歩, 角 朝信, 五十嵐喜子, Rahil Muhammad Aslam, Bilal Muhammad, Nawaz Allah, 八木邦公, 渡辺志朗, 森永芳智, 戸邊一之. イソキサントフモールは腸内細菌の変化を介して宿主の小腸栄養トランスポーターを制御し抗肥満作用を發揮する. 第 95 回日本内分泌学会学術総会；2022.6.2；別府。
  - 4) 土手陽世, 浅倉礼奈, 山田祥大朗, 守田雅志, 渡辺志朗, 宗 孝紀. ペルオキシソーム膜 ABCD1 タンパク質の機能欠損は脂肪滴形成を促進する. 日本生化学会北陸支部；2022.6.4；富山。
  - 5) 渡辺志朗, 坂本来那, 武田紗矢香. ヒオデオキシコール酸およびウルソデオキシコール酸がマウス肝臓脂質含量に及ぼす影響の比較. 日本薬学会第 143 年会；2023.3.25；札幌。
  - 6) 道志 勝, 名取雄人, 石井 晃, 渡辺志朗, 細山田 真, 赤江 豊. 脳虚血マウスの海馬および血清のメタボローム解析. 日本薬学会第 143 年会；2023.3.25；札幌。

#### ◆その他

##### 【がん・免疫ユニット】

- 1) Takeshi Susukida. A Novel Strategy for Cancer Immunotherapy Based on Tumor Immunogenicity Improvement by HLA-Drug Interaction. FoPPS Seminar Series, University of Alberta; 2022 Jul 25; Edmonton (Canada).

#### ◆受賞

##### 【がん・免疫ユニット】

- 1) 賀 卡：International Conference and Exhibition on Pharmaceutical Sciences and Technology 2022・Outstanding poster presentation award – Second prize 「Role of homeostatic MHC class I recognition in regulating anti-tumor effector function of lung tissue-resident NK cells」2022,6.

#### ◆共同研究

##### 【がん・免疫ユニット】

(海外)

- 1) Varisa Pongrakhananon ( Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Thailand) : Collaboration in cancer metastasis research. 2018～
- 2) Pornthip Waiwut (Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubon Ratchathani University, Thailand) : Collaboration in cancer metastasis research. 2017～
- 3) Meselhy Ragab M. Zayed (Faculty of Pharmacy, Cairo University, Egypt) : Collaboration in cancer metastasis research. 2017～
- 4) Adnan A. Bekhit (Faculty of Pharmacy, Alexandria University, Egypt) : Collaboration in cancer metastasis research. 2018～
- 5) Moustafa Fathy (Faculty of Pharmacy, Minia University, Egypt) : Collaboration in cancer metastasis research. 2019～
- 6) Subehan Lallo (Faculty of Pharmacy, Hasanuddin University, Indonesia) : Collaboration in cancer drug discovery research. 2020～

(国内)

- 1) 昆 俊亮 (東京理科大学生命医科学研究所) : de novo 発がんマウスモデルを用いたがん臨界点の同定と予防先制医療への応用, 2021～
- 2) 田原秀晃 (東京大学医科学研究所) : がん免疫応答に関する研究, 2012～
- 3) 佐々木 史 (富山県農林水産総合技術センター森林研究所) : 薬用・食用菌類の抗腫瘍活

性に関する研究, 2017～

- 4) 一條秀憲 (東京大学薬学部) : がん転移制御に関する研究, 2012～
- 5) 磯濱洋一郎 (東京理科大学薬学部), 堀江一郎 (山口東京理科大学薬学部) : がん免疫療法における補剤の有用性に関する基礎研究, 2019～
- 6) 竹田和由 (順天堂大学医学部) : がん免疫逃避メカニズムに関する研究, 2017～
- 7) 伊藤晃成, 青木重樹 (千葉大学大学院薬学研究院) : 薬物-HLA 相互作用を利用した低免疫原性腫瘍に対する新規治療法に関する研究, 2020～

(学内)

- 1) 岸 裕幸 (医学部免疫学) : 腫瘍浸潤リンパ球の解析に関する共同研究, がん抗原得的 T 細胞療法に関する共同研究, 2017～
- 2) 佐藤 勉 (医学部血液内科教授) : CAR-T 細胞療法の開発に関する共同研究, 2019～
- 3) 野口 誠 (医学部歯科口腔外科教授) : 口腔がんに対する免疫応答に関する共同研究, 2020～
- 4) 林 龍二 (附属病院臨床腫瘍部教授) : がん免疫療法に関する共同研究, 2020～
- 5) 横山 悟 (薬学部がん細胞生物学准教授) : がん免疫原性の制御メカニズムに関する共同研究, 2018～

#### 【脂質代謝ユニット】

(国内)

- 1) 古澤之裕 (富山県立大学) : 漢方薬による腸管内胆汁酸構成の改変における腸内細菌叢の役割の解明, 2019～
- 2) 能勢充彦 (名城大学薬学部) : 消化管に作用する漢方方剤の腸管内胆汁酸構成ならびに粘液分泌に及ぼす影響の解析, 2017～
- 3) 道志 勝 (帝京大学薬) : 動物胆構成胆汁酸による実験的脳虚血一再灌流後の神経細胞死の軽減効果の評価, 2018～
- 4) 田中 謙 (立命館大学薬学部) : 生薬の外界刺激に対する防御機構における脂質代謝産物の関与に関する研究, 2021～
- 5) 長井良憲 (富山県立大学医薬品工学科) : マウスにおける脂肪性肝炎形成における胆汁酸と腸内細菌の役割に関する研究, 2021～

(学内)

- 1) 和田 努, 笹岡利安 (富山大学大学院医学薬学研究部(薬学)) : 脂肪肝形成におけるペルオキシゾーム ABCD1 の役割の解明, 2018～
- 2) 恒枝宏史, 笹岡利安 (富山大学大学院医学薬学研究部(薬学)) : 嗅覚を介する脂質代謝制御に関する研究, 2021～
- 3) Suresh Awale (富山大学和漢医薬学総合研究所) : すい臓がん細胞移植マウスに対する天然化合物の効果に関する研究, 2019～
- 4) 守田雅志 (富山大学大学院医学薬学研究部(薬学)) : 副腎白質ジストロフィーにおけるペルオキシゾーム極長鎖脂肪酸代謝の異常の機構解明に関する研究, 2015～
- 5) 藤坂志帆, 戸邊一之 (富山大学大学院医学薬学研究部(医学)) : 腸内細菌を介したフラボノイドの脂質代謝改善効果に関する研究, 2021～
- 6) 田渕圭章 (富山大学大学院医学薬学研究部(薬学)) : 腸管上皮細胞の機能制御における胆汁酸の役割, 2021～

#### ◆研究費取得状況

【がん・免疫ユニット】

- 1) 文部科学省科学研究費 基盤研究(C)最終 R6 (代表: 本間崇浩, 分担: 早川芳弘, 佐々木宗一郎, 薄田健史) 「帯電性ナノバブルによる胸膜播種抑制効果の研究」(R4.9.15～R7.3.31)
- 2) 令和3年度共同研究費 共同研究 早川 (広貫堂) (代表: 早川芳弘) 「網羅的遺伝子解析手法を用いた生薬の薬効解析」(R4.2.17～R4.12.31)

- 3) 地方大学・地域産業創生事業費 ☆くすり産業創生事業（代表：早川芳弘）「臨床における患者背景を考慮し，ゲムシタビンとパクリタキセルを用いた抗癌剤療法とゴボウシエキスとの併用効果について *in vitro*, *in vivo* で評価を実施する」(R4.9.7～R5.3.31)
- 4) 令和4年度共同研究費 共同研究 早川（ツムラ）（代表：早川芳弘）「漢方薬の免疫系に対する薬理作用研究」(R4.5.20～R6.3.31)
- 5) 令和4年度共同研究費 共同研究 早川（TL Genomics）（代表：早川芳弘）「マイクロ流路デバイスによる組織試料の細胞分離および解析に係る研究」(R4.4.1～R5.3.31)
- 6) 令和4年度共同研究費 共同研究 早川（ルカ・サイエンス）（代表：早川芳弘）「*In vivo* イメージング法を用いたミトコンドリア製剤の体内動態観察」(R4.5.27～R6.3.31)
- 7) 令和4年度産学連携等研究費 受託研究 早川（名古屋大学）橋渡し研究分担（代表：佐藤勉）「CD26を標的とした新たなCAR-T細胞療法の開発」(R4.4.1～R5.3.31)
- 8) 令和4年度産学連携等研究費 受託研究 早川（富山県）フロンティア事業（代表：早川芳弘）「舌下免疫療法用の効率的なスギ花粉アレルギー採取技術の確立」(R4.7.15～R5.3.10)
- 9) 令和4年度産学連携等研究費 受託事業費 学術指導 早川（テルモ）（代表：早川芳弘）「癌研究に関する学術指導」(R4.4.1～R5.3.31)

#### ◆研究室在籍者

##### 【がん・免疫ユニット】

学部3年生：大河原克己，坂野上 拓

学部4年生：千葉遊太，村越魁吏，関 夢乃

学部5年生：魚住茉紘，山口叶大

学部6年生：遠藤麻夜，對比地 遥

大学院修士1年：原 大輔

大学院修士1年：孫 英喆（10月入学）

大学院修士2年：山本奨也

大学院博士1年：山前 結

大学院博士2年：賀 卡（10月入学）

大学院博士2年：山本祥雅

大学院博士3年：Sisca Ucche

特別研究学生：熊 詩若

外国人客員研究員：Besse Hardianti, Rahma Tharwat Ahmed Hamdy Mohamed Sabra, Suthasinee Seephan, Muhammad Irshad Farooq, Sana Jabbar

協力研究員：佐々木 史（富山県森林研究所）

##### 【脂質代謝ユニット】

学部4年生：高橋杏佳

学部5年生：坂本来那

学部5年生：武田沙也香

#### ◆学位（修士，博士）取得者

##### 【がん・免疫ユニット】

博士論文

Besse Hardianti : Identification of anti-inflammatory agents from natural products by targeting NF- $\kappa$ B activity and their application to inflammation-associated diseases

Sisca Ucche : GSTA4 governs melanoma cell resistance to anti-tumor immunity





## 研究開発部門

Department of Research and Development

## 複雑系解析分野

Division of Complex Biosystem Research

教授	中川 嘉	Prof. Yoshimi Nakagawa
准教授	金 俊達	Assoc. Prof. Jundal Kim
研究員	室井 慎一	Postdoctoral Fellow Shin-ichi Muroi
研究員	齋藤 穂高	Postdoctoral Fellow Hodaka Saito (7月～)

## ◆研究目的

生活習慣病の発症に係る分子メカニズムを解明するとともに、その知見を基に和漢薬による生活習慣病の改善作用を分子レベルで解明することを目的とし研究を行う。

## ◆2022 年度研究概要

## 1. CREBH による食餌誘導性肝がん発症メカニズム

CREBH KO マウスに長期間、高脂肪・高シヨ糖食を負荷すると肝臓でがんが発症するデータを得た。CREBH は肝臓、小腸でのみ発現し、肝臓では脂質代謝を、小腸では脂質吸収を担っていることを明らかにしてきている。現在、肝臓での脂質代謝異常→炎症→線維化の増悪化に対する CREBH の機能の解析、小腸での脂質吸収、構造異常による炎症、腸内細菌叢の変化に対する CREBH の機能を解析している。脂肪肝誘導食において CREBH KO マウスでは早期に肝硬変を呈すとともに、がん関連遺伝子の発現変化も観察した。さらに、腸内細菌叢の変化も確認している。今後、これら変化と病態との関連を詳細に解析していく。CREBH 欠損による肝がん発症のメカニズムが解明できれば、生活習慣病を発端とする肝がん発症のメカニズムの解明、CREBH を標的とした肝がん治療薬開発に期待できる。

## 2. SREBP-1 欠損マウスを用いた脂肪肝発症メカニズムの解明

SREBP-1 にはスプライシングバリエーションとして SREBP-1a と SREBP-1c が存在する。SREBP-1c が生理学的に主要であり、脂質合成に関わる酵素群の発現を制御する。一方、SREBP-1a の機能については注目されてこなかった。我々は SREBP-1a の組織特異的 KO マウスを作成し、食餌誘導性の脂肪肝に対する機能を解析した。肝臓、マクロファージで SREBP-1a を欠損するマウスに対し、メチオニン・コリン欠損食を負荷し、脂肪肝を発症させた。どちらの KO マウスでも脂肪肝から派生する脂肪肝炎が増悪化することを確認した。SREBP-1a は脂肪酸合成に関連する遺伝子の発現を強く促進させることから、SREBP-1a の欠損では脂肪肝を改善させることを想定していたが、実際には脂肪肝から肝炎を惹起する予想外の結果を得た(Araki *AJP-GL* 2022)。

## 3. Wogonin による生活習慣病改善ホルモン FGF21 の発現誘導メカニズムの解明

生活習慣病改善ホルモンである FGF21 の発現を誘導する和漢薬成分を同定するため、和漢薬ライブラリーを用いスクリーニングした。オウゴン、および、その成分の一つ Wogonin は転写因子 ATF4 の発現を誘導し、その結果、FGF21 の発現を誘導することを見出した(Yamada *Nutrients* 2022)。

## ◆原著論文

- 1) Kobayashi T, Kim JD, Naito A, Yanagisawa A, Jujo-Sanada T, Kasuya Y, Nakagawa Y, Sakao S, Tatsumi K, Suzuki T. Multi-omics analysis of right ventricles in rat models of pulmonary arterial hypertension: Consideration of mitochondrial biogenesis by chrysin. *Int J Mol Med*. 2022 May;49(5):69. doi:10.3892/ijmm.2022.5124.
- 2) Yamada Y, Saito H, Araki M, Tsuchimoto Y, Muroi SI, Suzuki K, Toume K, Kim JD, Matsuzaka T, Sone H, Shimano H, Nakagawa Y. Wogonin, a Compound in *Scutellaria baicalensis*, Activates ATF4-FGF21 Signaling in Mouse Hepatocyte AML12 Cells. *Nutrients*. 2022 Sep 21;14(19):3920.



doi:10.3390/nu14193920.

- 3) Araki M, Nakagawa Y, Saito H, Yamada Y, Han SI, Mizunoe Y, Ohno H, Miyamoto T, Sekiya M, Matsuzaka T, Sone H, Shimano H. Hepatocyte- or macrophage-specific SREBP-1a deficiency in mice exacerbates methionine- and choline-deficient diet-induced nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2022 Dec 1;323(6):G627-G639.  
doi: 10.1152/ajpgi.00090.2022.
- 4) Istiqamah N, Matsuzaka T, Shimizu M, Motomura K, Ohno H, Hasebe S, Sharma R, Okajima Y, Matsuda E, Han SI, Mizunoe Y, Osaki Y, Aita Y, Suzuki H, Sone H, Takeuchi Y, Sekiya M, Yahagi N, Nakagawa Y, Shimano H. Identification of key microRNAs regulating ELOVL6 and glioblastoma tumorigenesis. *BBA Advances*. 2023. in press.  
doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbadv.2023.100078>.

#### ◆学会報告

(国内学会)

- 1) 韓松伊, 中久木正則, 宮本崇, 中川嘉, 島野仁. ロンボイドプロテアーゼ RHBDL4 は小胞体で SREBP-1c を切断し脂質代謝を制御する. 第 45 回日本分子生物学会年会 ; 2022 Dec 1 ; 千葉.
- 2) 加藤かざし, 柳下玲奈, 宇田川里奈, 林優樹, 村谷匡史, 金俊達, 木村圭. DONSON pre-mRNA の適切なスプライシングを介した細胞分裂期制御機構の解明. 第 45 回日本分子生物学会年会 ; 2022 Dec 1 ; 千葉.
- 3) 兼森芳紀, 前田和香, 久保田美結, 金俊達, 柏原真一. RNA 結合タンパク質 TB-RBP の原始卵胞における機能解析. 第 45 回日本分子生物学会年会 ; 2022 Dec 1 ; 千葉.
- 4) 室井慎一, 金俊達, 深水昭吉, 中川嘉. 妊娠高血圧症候群モデルマウスにおける心臓アドレナリン  $\alpha 1A$  受容体の発現減少は心肥大を悪化させる. 2022 Nov 11 ; 第 95 回日本生化学会大会 ; 名古屋.
- 5) 金俊達, 川本晃大, 廣瀬末果, 葛原美和, 池上暁子, 大徳浩照, 加香孝一郎, 清水敏之, 加藤貴之, 上久保裕生, 深水昭吉, 藤間祥子. コファクター結合が制御する PRMT1 自己集合機構の構造科学研究. 第 95 回日本生化学会大会 ; 2022 Nov 11 ; 名古屋.
- 6) 日比美咲, 橋本美涼, 松久保幸也, 木村均, 中川千春, 市原淳弘, 金俊達, 深水昭吉, 中川寅. (プロ) レニン受容体が神経幹細胞の増殖能・分化能及び胎仔脳発達に与える影響. 第 95 回日本生化学会大会 ; 2022 Nov 11 ; 名古屋.
- 7) 姚 遠, 加香孝一郎, Kowit Hengphasatporn, 重田育照, 本村香織, 金俊達, 深水昭吉. ヒト型アルギニンメチル化酵素 PRMT1 遺伝子改変マウスの作出とその解析. 第 95 回日本生化学会大会 ; 2022 Nov 11 ; 名古屋.
- 8) 荒木雅弥, 中川嘉, 韓松伊, 水之江雄平, 島野仁. SREBP-1a による脂質合成制御の腸管における重要性. 第 54 回日本動脈硬化学会総会・学術集会 ; 2022 July 23 ; 久留米.
- 9) 山田泰成, 中川嘉, 松尾和哉, 荒木雅弥, 韓松伊, 水之江雄平, 大野博, 金俊達, 松坂賢, 島野仁. 絶食応答代謝調節因子が制御する成長ホルモンシグナル抑制による個体成長遅延作用. 第 76 回日本栄養・食糧学会大会 ; 2022 June 14 ; 神戸.
- 10) Yuan Y, Kim JD, Daitoku H, Muromachi N, Kako K, Ishida J, Hengphasatporn K, Shigeta Y, Fukamizu A. Integrated experimental-theoretical approaches to deciphering how H179Y substitution affects the biological functions of PRMT1. 2022 年度日本生化学会関東支部例会 ; 2022 June 18 ; 千葉.
- 11) 室井慎一, 中川嘉, 深水昭吉, 金俊達. 妊娠高血圧症モデルマウスにおける心肥大に対するアドレナリン  $\alpha 1A$  受容体発現減少の役割. 日本生化学会北陸支部第 40 回大会 ; 2022 June 4 ; 富山.
- 12) 山田泰成, 中川嘉, 金俊達. Wogonin による生活習慣病改善ホルモン FGF21 の発現誘導メカニズム. 日本生化学会北陸支部第 40 回大会 ; 2022 June 4 ; 富山.
- 13) 山田泰成, 中川嘉, 松尾和哉, 荒木雅弥, 韓松伊, 水之江雄平, 大野博, 金俊達, 松坂

賢, 島野仁. 絶食シグナルと成長シグナルを繋ぐ肝臓 CREBH による個体成長のメカニズム. 第 65 回日本糖尿病学会年次学術集会; 2022 May 14; 神戸.

#### ◆受賞

- 1) 室井慎一: 第 95 回日本生化学会大会 若手優秀発表賞「妊娠高血圧症候群モデルマウスにおける心臓アドレナリン  $\alpha$ 1A 受容体の発現減少は心肥大を悪化させる。」2022, 11.

#### ◆共同研究

(国内)

- 1) 大矢修生 (宇部興産株式会社 ライフサイエンス研究室): 部材を用いる細胞培養研究の応用展開, 2021~

#### ◆研究費取得状況

- 1) 令和 4 年度~令和 5 年度 科学研究費補助金 挑戦的研究 (萌芽) (代表: 中川嘉)「腸構成細胞連関による小腸構造と腸内環境の維持を介した全身性栄養代謝の制御機構」
- 2) 令和 4 年度~令和 5 年度 科学研究費補助金 研究活動スタート支援 (代表: 齋藤穂高)「CREBH による小胞体恒常性維持機能を介した肝がん発症抑制機構の解明」
- 3) 令和 4 年度~令和 5 年度 科学研究費補助金 研究活動スタート支援 (代表: 室井慎一)「AQP1 を起点とする妊娠高血圧症候群における胎盤機能不全の理解と治療戦略の創出」
- 4) 令和 3 年度~令和 6 年度 科学研究費補助金 基盤研究 (A) (代表: 中川嘉)「腸肝連関における脂質代謝異常が誘導する肝がん発症メカニズムの解明」
- 5) 令和 4 年度 筑波大学 TARA プロジェクト「公募型研究」(代表: 中川嘉)「腸肝連関における栄養代謝を制御する遺伝子発現ネットワークの解明」

#### ◆研究室在籍者

学部 3 年生: 伊藤衣理  
学部 3 年生: 深山怜華  
学部 4 年生: 鈴木恭平  
学部 4 年生: 槌本侑平  
大学院修士 1 年: 山田泰成



## 研究開発部門

Department of Research and Development

## 未病分野

Division of Presymptomatic Disease

## 【未病創薬ユニット】

教授	小泉 桂一	Prof. Keiichi Koizumi
助教	条 美智子	Assist. Prof. Michiko Jo (～9月)
研究員	犬鷲 明子	Postdoctoral Fellow Akiko Inujima (～7月)

## 【情報科学ユニット】

特命准教授	奥 牧人	Spec. App. Assoc. Prof. Makito Oku
-------	------	------------------------------------

## 【腸管疾患ユニット】

助教	山本 武	Assist. Prof. Takeshi Yamamoto
助教	林 周作	Assist. Prof. Shusaku Hayashi

## ◆研究目的

日本の伝統医学（漢方医学）で未病として知られている疾病前状態は、東洋医学の概念であり、いまだ科学的に理解されていない。当分野では、発症過程における遺伝子、タンパク質、行動などの生体情報のゆらぎや発現変化を解析し、未病の状態を科学的に検出し、その生物学的意味を明らかにする研究を、富山大学未病研究センターと共同で行っている。メタボリックシンドロームなどの複合疾患の著しい増加に基づいて、現代の医薬品だけを使用してそれらを治療することは困難な状況である。一方で、疾病状態を標的とする現代の医薬品による治療とは対照的に、未病を標的とする医薬品は、予防および先制医療における大きな潜在的利点を持っている可能性がある。そのため、未病に対する医薬品の開発、ひいては新たな医療戦略を目指している。なお、本分野の研究は、富山大学未病研究センターと連携をとることで、効率的かつ迅速に遂行される仕組みとなっている。

<https://www.u-toyama.ac.jp/academics/rcpds/rcpds-center/>

## ◆2022年度研究概要

## 1. 未病創薬ユニット

当該ユニットでは、未病を理解することは生体情報のゆらぎの理解することと位置付けている。本研究に関しては、昨年度までに、ラマン顕微鏡による測定波長に DNB 解析を行うことで、T細胞の活性化におけるゆらぎを検出することができ、今年度は、詳細なデータを取得後に論文化を行なった。この研究を基盤に、現在、正常骨髄細胞、前がん状態の骨髄細胞および骨髄腫に対してラマンスペクトルを測定し、これら3種類の状態の細胞の分離の予測式を構築中である。さらに、未病のデータベース構築のために、高脂肪食負荷 C57BL/6 マウスの多臓器の経時的な遺伝子発現量データを取得中である。また、未病の標的分子と考えているグルタミンナーゼの阻害剤の開発に関しては、昨年度に特許申請を行った内容を論文投稿行い、現在、審査中である。

## 2. 情報科学ユニット

当該ユニットでは、和漢薬や未病に関する研究と和漢研のデータベース管理をしている。2022年度の主な成果を列挙する。ただし、未病創薬ユニットや腸管疾患ユニットとの共同研究のうち、それらが主導したものについては、重複となるため省略する。(A) 和漢薬に関する研究：漢方処方次元削減分析を行い国内学会で発表した。(B) 未病に関する研究：(B-1) 妊娠高血圧および妊娠高血圧腎症の発症予測に関する臨床研究（整理番号 R2021021）では昨年引き続きデータ収集を行い、国内学会で現状を報告した。(B-2) 未病と関連する異常ゆらぎを検出するための理

論および手法の研究を進めて国際学会発表 2 件と国内学会発表 1 件を行った。(B-3) 未病と関連する異常揺らぎに着目し、メタボリックシンドロームのモデルである TSOD マウスの多臓器の経時的な遺伝子発現量データを解析した。(C) 和漢研のデータベース管理：国内学会で現状を報告した。(D) その他：糖尿病などの生活習慣病に関する臨床研究 2 件（整理番号 R2020203 と R2021070）を進めてそれぞれ国内学会で 1 件ずつ発表した。2023 年度は、高脂肪食負荷 C57BL/6 マウスの多臓器の経時的な遺伝子発現量データの解析を最優先で行い、他の研究課題も可能な範囲で進める予定である。

### 3. 腸管疾患ユニット

当該ユニットでは、生体防御の最前線で働く消化管において高度に発達した腸管粘膜免疫系および腸管神経系に着目し、これらのバランス異常が大きく関与する腸管免疫系疾患、特に炎症性腸疾患と食物アレルギーの病態解明研究、それに基づいた有用な治療戦略の創出を目指す研究を行っている。今年度、私たちは、腸管上皮細胞には G タンパク質共役型受容体である BLT1 受容体が発現しており、BLT1 受容体が腸管上皮細胞の遊走を促進することで、傷害された腸管粘膜の治癒を促す役割を担うことを初めて明らかにした (Hayashi et al., JCI Insight. 2022)。また、食物アレルギー性消化器症状に伴う腸管炎症が、マウスの大腸におけるコリン作動性の起電性電解質輸送を機能不全にすることを報告した (Yamamoto et al., Biomed Res. 2023)。今後、これらの基礎研究から見出した知見を臨床応用に繋げる研究を進めると共に、腸管免疫系疾患での未病の解明に取り組む予定である。

## ◆原著論文

### 【未病創薬ユニット】

- 1) Haruki T, Yonezawa S, Koizumi K, Yoshida Y, Watanabe TM, Fujita H, Oshima Y, Oku M, Taketani A, Yamazaki M, Ichimura T, Kadowaki M, Kitajima I, Saito S. Application of the Dynamical Network Biomarker Theory to Raman Spectra. *Biomolecules*. 2022 Nov 22;12(12):1730. doi: 10.3390/biom12121730.
- 2) Suzuki Y, Munakata L, Omata D, Koizumi K, Suzuki R. Feasibility study of novel nanoparticles derived from *Glycyrrhizae radix* as vaccine adjuvant for cancer immunotherapy. *Immunotherapy*. 2023 Jan 4. doi: 10.2217/imt-2022-0179.

### 【情報科学ユニット】

- 1) Hayashi S, Muraleedharan CK, Oku M, Tomar S, Hogan SP, Quiros M, Parkos CA, Nusrat A. Intestinal epithelial BLT1 promotes mucosal repair. *JCI Insight*. 2022 Dec 8;7(23):e162392. doi: 10.1172/jci.insight.162392.
- 2) Haruki T, Yonezawa S, Koizumi K, Yoshida Y, Watanabe TM, Fujita H, Oshima Y, Oku M, Taketani A, Yamazaki M, Ichimura T, Kadowaki M, Kitajima I, Saito S. Application of the Dynamical Network Biomarker Theory to Raman Spectra. *Biomolecules*. 2022 Nov 22;12(12):1730. doi: 10.3390/biom12121730.

### 【腸管疾患ユニット】

- 1) Hayashi S, Muraleedharan CK, Oku M, Tomar S, Hogan SP, Quiros M, Parkos CA, Nusrat A. Intestinal epithelial BLT1 promotes mucosal repair. *JCI Insight*. 2022 Dec 8;7(23):e162392. doi: 10.1172/jci.insight.162392.
- 2) Yamamoto T, Katsuki Y, Kanauchi Y, Hayashi S, Kadowaki M. Allergic inflammation disrupts epithelial electrolyte transport through cholinergic regulation in the mouse colon. *Biomed Res*. 2023;44(1):31-40. doi: 10.2220/biomedres.44.31.

## ◆総説

### 【腸管疾患ユニット】

- 1) Kadowaki M, Yamamoto T, Hayashi S. Neuro-immune crosstalk and food allergy: Focus on enteric neurons and mucosal mast cells. *Allergol Int*. 2022 Jul;71(3):278-287.

doi: 10.1016/j.alit.2022.03.004.

- 2) 山本武, 林周作, 門脇真. 食物アレルギーモデルマウスにおける  $Fc\epsilon RI$  を発現する腸管神経と粘膜型マスト細胞の相互作用. 臨床免疫・アレルギー科. 2023 Mar;79(3):1-7.

## ◆学会報告

### 【未病創薬ユニット】

(国内学会)

- 1) 竹谷皓規, 山崎萌絵, 田原旬, 小泉桂一, 山本武, 大嶋佑介, 春木孝之. ラマン分光法と DNB 解析を用いた炎症反応における細胞遷移状態の解明. レーザー学会第 566 回研究会; 2022 Sep 2; 富山.
- 2) 深津日向子, 町田雄大, 赤木一考, 小泉桂一. Exploring the physiological functions of GLS using mouse and Drosophila models. 15th Japanese Drosophila Research Conference; 2022 Nov 13; 名古屋.
- \* 3) 赤木一考, 小泉桂一. 未病の生物学的理解におけるキイロショウジョウバエの活用. 第 95 回日本生化学会大会; 2022 Nov 9; 名古屋 (招待講演).
- \* 4) 小泉桂一. DNB 理論に基づく未病研究. 第 8 回研究倫理を語る会; 2023 Mar 4; 東京 (招待講演).
- 5) 小泉桂一. The benefits and challenges of detecting the pre-disease state. 日本生理学学会第 100 回記念大会シンポジウム; 2023 Mar 16; 京都.

### 【情報科学ユニット】

(国際学会)

- 1) Shen X, Morishita M, Imura J, Oku M, Aihara K. Low-sample-size data-driven re-stabilization of gene network systems. ROCOND 2022; 2022 Sep 2; オンライン.
- 2) Oku M. Estimation of the critical transition probability using quadratic polynomial approximation with skewness filtering. NOLTA 2022; 2022 Dec 12; オンライン.

(国内学会)

- 1) 朴木久恵, 藤坂志帆, 今度悠樹, 圓角麻子, 渡邊善之, 瀧川章子, 八木邦公, 中條大輔, 奥牧人, 戸邊一之. 企業健診における生活習慣を含む食事記録の解析と健診データと腸内細菌叢解析の関係性について. 第 65 回日本糖尿病学会年次学術集会; 2022 May 12; 神戸.
- 2) 奥牧人. 構成生薬の分量に基づく漢方処方次元削減分析. 第 39 回和漢医薬学会学術大会; 2022 Aug 27; オンライン.
- 3) 奥牧人. 和漢医薬学総合研究所の漢方関連データベースの紹介. 第 11 回生命医薬情報学連合大会; 2022 Sep 13; 豊中.
- 4) 奥牧人. 家庭血圧測定による妊娠高血圧/妊娠高血圧腎症の発症予測. 第 62 回日本臨床化学会年次学術集会; 2022 Oct 1; 富山.
- 5) 福原志音, 伊藤遼, 戸邊一之, 奥牧人, 四方雅隆, 春木孝之, 木村巖, 永田義毅, 山上孝司, 上田肇一. 機械学習による糖尿病発症予測の試み -BMI によるサブグループ化と予測精度-. 第 25 回情報論的学習理論ワークショップ; 2022 Nov 21; つくば.
- 6) 奥牧人. 対照群を用いない同期性揺らぎ遺伝子の抽出法. 第 72 回バイオ情報学研究会; 2022 Nov 29; 東京.

### 【腸管疾患ユニット】

(国際学会)

- 1) Hayashi S, Hertati A, Yamamoto T, Kadowaki M. GPR41-positive enteric sensory neurons are in close proximity to intestinal macrophages in the colonic mucosa of murine colitis model. Cell Symposia: The Neuro-Immune Axis; 2022 Sep 11-13; Lisbon.
- 2) Miyata K, Ogata H, Yamamoto T, Hayashi S, Kadowaki M. Neurogenesis and neurodegeneration in enteric neurons of DSS colitis mouse colon. Cell Symposia: The Neuro-Immune Axis; 2022 Sep 11-13; Lisbon.



(国内学会)

- 1) 山本武, 後藤由佳, 門脇真. 病態モデルマウスを用いた AhR アゴニストによる食物アレルギーの治療効果の検討. 第 39 回和漢医薬学会学術大会; 2022 Aug 27-28; オンライン.
- 2) 山本武, 後藤由佳, 門脇真. 芳香族炭化水素受容体活性化の食物アレルギーへの効果と制御性 T 細胞の誘導の病態マウスを用いた検討. 第 71 回日本アレルギー学会学術大会; 2022 Oct 07-09; 東京 (ハイブリット).
- 3) 林周作, Quiros M, 奥牧人, Parkos CA, Nusrat A. 腸管上皮 BLT1 は腸管粘膜の創傷治癒において重要な役割を担う. 第 96 回日本薬理学会年会; 2022 Nov 30- Dec 03; 横浜.
- 4) 竹谷皓規, 山崎萌絵, 田原旬, 小泉桂一, 山本武, 大嶋佑介, 春木孝之, 和田暁法, 佐藤勉. ラマン分光法と DNB 解析の組み合わせによる炎症反応における細胞遷移状態の解明. レーザー学会学術講演会第 43 回年次大会; 2023 Jan 18- 20; 名古屋.

◆特許

- 1) 小泉桂一, 中川崇, 戸邊一之, 五十嵐喜子, 恒枝宏史, 笹岡利安, inventor; 富山大学長, 協和発酵バイオ株式会社, assignee. 抗肥満剤. 特許第 7156856 号. 2022 Oct 19.

◆その他

【腸管疾患ユニット】

- 1) 林周作. くすりと薬学研究の最前線 (3) 潰瘍性大腸炎治療薬. 北日本新聞 (朝刊). 2022 Jul 12: 16.
- 2) 山本武. くすりと薬学研究の最前線 (13) アレルギー疾患. 北日本新聞 (朝刊). 2022 Nov 29: 16.

◆共同研究

【未病創薬ユニット】

(海外)

- 1) Luonan Chen (Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, China, Professor): Medical applications in DNB theory, 2014~

(学内)

- 1) 春木孝之 (都市デザイン学部), 大嶋佑介 (工学部): DNB 解析による未病の検出, 2020~
- 2) 森寿 (医学部), 中川崇 (医学部), 高雄啓三 (研究推進総合支援センター), 笹岡利安 (薬学部), 戸邊一之 (医学部), 豊岡尚樹 (工学部): 種々の疾患に対する GLS1 の役割の解明と医薬品開発, 2020~

【情報科学ユニット】

(国内)

- 1) 戸邊一之, 朴木久恵, 奥牧人, 藤坂志帆, 中條大輔, 岡部圭介, 今度悠樹 (富山大学) / 高嶋修太郎, 篠田千恵, 鈴木ひかり (高岡ふしぎ病院) / キュアコード株式会社 / オンキョースポーツ株式会社: パーソナルヘルスレコード (PHR) 介入によるメタボリック症候群の予防・進行抑制効果の検証 (R2020203), 2020 年 12 月 21 日~2026 年 3 月 31 日.
- 2) 塩崎有宏, 中島彰俊, 米田哲, 米田徳子, 伊藤実香, 津田さやか, 小泉桂一, 奥牧人, 齋藤滋 (富山大学) / 目時弘仁 (東北医科薬科大学) / 谷川原真吾, 星和彦, 田中耕平, 山田雅明 (スズキ記念病院): 家庭血圧測定による妊娠高血圧/妊娠高血圧腎症の発症予測—多施設共同, 前方視的, 数理科学的未病研究— (R2021021), 2021 年 4 月 22 日~2024 年 5 月 31 日.

- 戸邊一之, 門脇真, 上田肇一, 木村巖, 春木孝之, 奥牧人, 中條大輔, 寺元剛, 福原志音, 伊藤遼, 四方雅隆 (富山大学) / 山上孝司, 永田義毅 (北陸予防医学協会): 生活習慣病および関連する疾患の発症を予測する手法の開発 (R2021070), 2021年8月19日～2024年3月31日.

#### 【腸管疾患ユニット】

(海外)

- Asma Nusrat (アメリカ合衆国・ミシガン大学): 腸管免疫性疾患における腸管上皮の役割に関する研究, 2019, 1～

(国内)

- 加藤伸一 (京都薬科大学 病態薬科学系 薬物治療学分野): 抗がん剤起因性腸炎に対する大建中湯, 紫苓湯および関連方剤の効果に関する研究 (和漢医薬学総合研究所 2012-2013年度, 2015年度公募型共同研究 採択課題), 2012, 4～
- 合原一幸 (東京大学 国際高等研究所 ニューロインテリジェンス国際研究機構): 漢方医薬学と数理情報科学の融合による未病の科学的予測に基づく創薬研究 (和漢医薬学総合研究所 2014-2015年度公募型共同研究 採択課題), 2013, 11～
- 山西芳宏 (九州工業大学大学院 情報工学研究院 生命化学情報工学研究系): 和漢薬のターゲットタンパク質のインシリコ探索によるドラッグ・リポジショニング (和漢医薬学総合研究所 2014-2015年度公募型共同研究 採択課題), 2014, 4～
- 天ヶ瀬紀久子 (立命館大学 大学院薬学研究科 病態薬理学研究室): 難治性消化管疾患の病態薬理学的解析および治療ターゲット分子の探索研究, 2022, 2～

#### ◆研究費取得状況

##### 【未病創薬ユニット】

- JST, ムーンショット (課題参加者: 小泉桂一, 継続) 「複雑臓器制御系の未病科学的研究」
- AMED 創薬基盤推進研究事業 (代表: 内山奈穂子, 分担: 小泉桂一) 「ナノソーム技術に基づく生薬漢方等の製剤学的なリポジショニングの検討」
- 第一工業製薬, 共同研究 (代表: 小泉桂一, 継続) 「生薬抽出成分由来の天然多糖類ナノ粒子を活用した応用研究」
- 協和発酵バイオ, 共同研究 (代表: 小泉桂一, 継続) 「アミノ酸分解酵素阻害化合物の研究」

##### 【腸管疾患ユニット】

- 日本学術振興会科学研究費基盤研究(C) (代表: 林周作) 「粘膜バリアの再構築に基づく再燃予防を目指す炎症性腸疾患に対する治療戦略の創出」
- 日本学術振興会科学研究費基盤研究(C) (代表: 山本武) 「漢方薬併用経口免疫療法による食物抗原耐性獲得の検討と治療評価血液マーカーの探索」 補助事業期間延長
- 日本学術振興会科学研究費国際共同研究加速基金 (国際共同研究強化) (代表: 林周作) 「炎症性腸疾患において腸管マクロファージが腸管粘膜の損傷を修復するメカニズムの解明」 補助事業期間延長
- 公益財団法人喫煙科学研究財団特定研究 (代表: 門脇真, 分担: 林周作, 山本武) 「腸内細菌による腸管神経系を介した脳腸相関の制御機構の解明と喫煙の影響」
- 学術指導 キッセイ薬品工業株式会社 (代表: 林周作) 「腸管由来オルガノイド作成及び評価に関する技術指導」

#### ◆研究室在籍者

##### 【未病創薬ユニット】

学部3年生: 越山翔太, 青山音哉, 木曾田千咲  
学部4年生: 深津日向子  
学部5年生: 田原旬

学部6年生：山崎萌絵

大学院修士1年：金英杰（10月入学）

大学院修士2年：町田雄大（4月入学）

【腸管疾患ユニット】

学部4年生：平石亞希

◆学位（修士，博士）取得者

【未病創薬ユニット】

修士論文

町田雄大：アミノ酸飢餓におけるグルタミンナーゼ 1(GLS1)の役割

【腸管疾患ユニット】

博士論文

金内優也：大腸炎症におけるアセチルコリン受容体，特にニコチン性アセチルコリン受容体の生理学的および病態生理学的役割の解明

## 研究開発部門

Department of Research and Development

## 国際共同研究分野

Division of International Cooperative Research

教授（兼）	早川 芳弘	Prof. Yoshihiro Hayakawa
客員教授,	Visiting Prof.	Shao-Qing Cai
客員教授,	Visiting Prof.	Pornanong Aramwit
客員教授,	Visiting Prof.	Meselhy Ragab Meselhy Zayed
客員教授	合田 幸広	Visiting Prof. Yukihiro Goda
客員教授	福田 真嗣	Visiting Prof. Shinji Fukuda
客員教授	紺野 勝弘	Visiting Prof. Katsuhiko Konno

## ◆研究目的及び概要

目覚ましい発展を遂げた現代西洋医学においても治療に難渋する疾患が多く、天然物を活用した伝統医学に関する研究成果や臨床効果に期待が寄せられている。伝統医学に関わる研究を高い水準で維持・発展させるためには、最新の研究方法論や天然物に関する情報交換が必要である。和漢医薬学総合研究所は天然物の研究を発展させるために、3カ国・3機関との間に国際協力拠点（ICC）を形成するとともに、9カ国・16機関と部局間協定を締結している。

国際共同研究分野は、各国の大学及び研究機関の研究者と連携して、伝統医学と現代医学を融合した国際共同研究を促進することを目的に、(1) タイ・チュラロンコン大学薬学部やエジプト・カイロ大学薬学部との国際協力拠点を通じた国際共同研究の推進、(2) 大学間や部局間協定締結機関とのジョイントシンポジウム、学生交流を通じた国際共同研究の維持・発展を図っている。

## ◆原著論文

- 1) Chen SM, Feng JN, Zhao CK, Yao LC, Wang LX, Meng L, Cai SQ, Liu CY, Qu LK, Jia YX, Shou CC. A multi-targeting natural product, aiphanol, inhibits tumor growth and metastasis. *Am J Cancer Res.* 2022 Nov 15;12(11):4930-4953.
- 2) Zhang J, Lv Y, Zhang J, Shi WJ, Guo XY, Xu JJ, Wang PP, Chen XT, Xiang LH, Xu F, Wang X, Cai SQ. Metabolism of Paeoniae Radix Rubra and its 14 constituents in mice. *Front Pharmacol.* 2022 Oct 4;13:995641. doi: 10.3389/fphar.2022.995641.
- 3) Zhang J, Lv Y, Zhang J, Bai YS, Li MY, Wang SQ, Wang LL, Liu GX, Xu F, Shang MY, Cai SQ. Analysis of In Vivo Existence Forms of Nardosinone in Mice by UHPLC-Q-TOF-MS Technique. *Molecules.* 2022 Oct 26;27(21):7267. doi:10.3390/molecules27217267.
- 4) Xu JJ, Xu F, Wang W, Zhang YF, Hao BQ, Shang MY, Liu GX, Li YL, Yang SB, Wang X, Cai SQ. Elucidation of the Mechanisms and Effective Substances of Paeoniae Radix Rubra Against Toxic Heat and Blood Stasis Syndrome With a Stage-Oriented Strategy. *Front Pharmacol.* 2022 Mar 4;13:842839. doi: 10.3389/fphar.2022.842839. (前年度未掲載)
- 5) Xu JJ, Xu F, Wang W, Wang PP, Xian J, Han X, Shang MY, Liu GX, Wang X, Cai SQ. Paeoniae Radix Rubra can enhance fatty acid  $\beta$ -oxidation and alleviate gut microbiota disorder in  $\alpha$ -naphthyl isothiocyanate induced cholestatic model rats. *Front Pharmacol.* 2022 Oct 21;13:1002922. doi: 10.3389/fphar.2022.1002922.
- 6) Chen SM, Zhao CK, Yao LC, Wang LX, Ma YN, Meng L, Cai SQ, Liu CY, Qu LK, Jia YX, Shou CC. Aiphanol, a multi-targeting stilbenolignan, potently suppresses mouse lymphangiogenesis and lymphatic metastasis. *Acta Pharmacol Sin.* 2023 Jan;44(1):189-200. doi: 10.1038/s41401-022-00940-4.

- 7) Napavichayanun S, Yamdech R, Pienpinijtham P, Srichana T, Chencharoenwong S, Reddy N, Aramwit P. Using polyvinyl alcohol-ionic hydrogels containing a wound healing agent to manage wounds in different environments. *J Wound Care*. 2022 Aug 1;31(Sup8):S12-S21. doi: 10.12968/jowc.2022.31.Sup8.S12.
- 8) Fongsodsri K, Thaipitakwong T, Rujimongkon K, Kanjanapruthipong T, Ampawong S, Reamtong O, Aramwit P. Mulberry-Derived 1-Deoxynojirimycin Prevents Type 2 Diabetes Mellitus Progression via Modulation of Retinol-Binding Protein 4 and Haptoglobin. *Nutrients*. 2022 Oct 28;14(21):4538. doi: 10.3390/nu14214538.
- 9) Napavichayanun S, Vasuratna A, Santibenchakul S, Cherdchom S, Aramwit P. Evaluating efficacy and safety of the topical silicone gel containing onion extract in the treatment of post-cesarean surgical scars. *J Cosmet Dermatol*. 2022 Jul;21(7):2908-2915. doi: 10.1111/jocd.14524.
- 10) Rujimongkon K, Ampawong S, Isarangkul D, Reamtong O, Aramwit P. Sericin-mediated improvement of dysmorphic cardiac mitochondria from hypercholesterolaemia is associated with maintaining mitochondrial dynamics, energy production, and mitochondrial structure. *Pharm Biol*. 2022 Dec;60(1):708-721. doi: 10.1080/13880209.2022.2055088.
- 11) Tuentam K, Aramwit P, Reamtong O, Supasai S, Chaisri U, Fongsodsri K, Yamdech R, Tirawanchai N, Sukphopetch P, Ampawong S. Sericin-Based Poly(Vinyl) Alcohol Relieves Plaque and Epidermal Lesions in Psoriasis; a Chance for Dressing Development in a Specific Area. *Int J Mol Sci*. 2022 Dec 21;24(1):145. doi:10.3390/ijms24010145.
- 12) Fahmy SA, Nematallah KA, Mahdy NK, El-Askary HI, Meselhy MR, El-Said Azzazy HM. Enhanced Antioxidant, Antiviral, and Anticancer Activities of the Extract of Fermented Egyptian Rice Bran Complexed with Hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin. *ACS Omega*. 2022 Jun 1;7(23):19545-19554.
- 13) Farag DBE, Yousry C, Al-Mahallawi AM, El-Askary HI, Meselhy MR, AbuBakr N. The efficacy of *Origanum majorana* nanocubosomal systems in ameliorating submandibular salivary gland alterations in streptozotocin-induced diabetic rats. *Drug Deliv*. 2022 Dec;29(1):62-74. doi: 10.1080/10717544.2021.2018522.
- 14) Nematallah KA, Elmekawy S, Abdollah MRA, Elmazar MM, Abdel-Sattar E, Meselhy MR. Cheminformatics Application in the Phytochemical and Biological Study of *Eucalyptus globulus* L. Bark as a Potential Hepatoprotective Drug. *ACS Omega*. 2022 Feb 24;7(9):7945-7956. doi: 10.1021/acsomega.1c07011. (前年度未掲載)
- 15) Abdellatef AA, Meselhy MR, El-Askary HI, Elmekawy SA, Hayakawa Y. Anti-metastatic function of triterpene phytochemicals from guggul by targeting tumor-intrinsic NF- $\kappa$ B activation in triple-negative breast cancer cells. *Phytomedicine Plus*. 2022; 2(4): 100345. doi: 10.1016/j.phyplu.2022.100345.
- 16) Uchiyama N, Kiyota K, Hosoe J, Komatsu T, Sugimoto N, Ishizuki K, Koide T, Murabayashi M, Kobayashi K, Fujimine Y, Yokose T, Ofuji K, Shimizu H, Hasebe T, Asai Y, Ena E, Kikuchi J, Fujita K, Makino Y, Iwamoto Y, Miura T, Muto Y, Asakura K, Suematsu T, Muto H, Kohama A, Goto T, Yasuda M, Ueda T, Goda Y. Quantitative  $^{31}\text{P}$ -NMR for Purity Determination of Sofosbuvir and Method Validation. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 2022 Dec 1;70(12):892-900. doi:10.1248/cpb.c22-00639.
- 17) Yamamoto E, Hosogi N, Takechi-Haraya Y, Izutsu KI, Uchiyama N, Goda Y. Folded, undulating, and fibrous doxorubicin sulfate crystals in liposomes. *Nanomedicine*. 2023 Jan;47:102631. doi: 10.1016/j.nano.2022.102631.
- 18) Shibata H, Nishimura K, Maeda T, Honma M, Goda Y, Ishii-Watabe A, Saito Y. Evaluation of the analytical performance of anti-SARS-CoV-2 antibody test kits distributed or developed in Japan. *Bioanalysis*. 2022 Mar;14(6):325-340. doi:10.4155/bio-2021-0254. (前年度未掲載)
- 19) Watanabe M, Ohnishi T, Arai S, Kawakami T, Hayashi K, Ohya K, Hirose S, Yoshinari T, Taharaguchi S, Mekata H, Taniguchi T, Ikarashi Y, Honma M, Goda Y, Hara-Kudo Y. Survival of



- SARS-CoV-2 and bovine coronavirus on common surfaces of living environments. *Sci Rep.* 2022 Jun 23;12(1):10624. doi:10.1038/s41598-022-14552-9.
- 20) Yoshinari T, Hayashi K, Hirose S, Ohya K, Ohnishi T, Watanabe M, Taharaguchi S, Mekata H, Taniguchi T, Maeda T, Orihara Y, Kawamura R, Arai S, Saito Y, Goda Y, Hara-Kudo Y. Matrix-Assisted Laser Desorption and Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry Analysis for the Direct Detection of SARS-CoV-2 in Nasopharyngeal Swabs. *Anal Chem.* 2022 Mar 15;94(10):4218-4226. doi:10.1021/acs.analchem.1c04328. (前年度未掲載)
  - 21) Huang X, Hyuga S, Amakura Y, Hyuga M, Uchiyama N, Hakamatsuka T, Goda Y, Odaguchi H, Hanawa T, Kobayashi Y. Overlooked switch from transient sedation to sustained excitement in the Biphasic effects of Ephedra Herb extract administered orally to mice. *J Ethnopharmacol.* 2023 Jan 30;301:115827. doi:10.1016/j.jep.2022.115827.
  - 22) Tsuji G, Uchiyama N, Goda Y, Demizu Y. Study on the elimination of harmful reagents on the testing methods in Japanese Pharmacopoeia IV. *Pharmaceutical and Medical Device Regulatory Science.* 2022; 53 (1): 37-52.
  - 23) Shibata H, Nomura Y, Kawakami T, Yamamoto E, Koide T, Ando D, Uchiyama N, Tokumoto H, Sakoda H, Yoshida H, Abe Y, Hakamatsuka T, Ikarashi Y, Haishima Y, Ishii-Watabe A, Izutsu K-i, Homma M, Goda Y. Investigation of foreign particles in Moderna COVID-19 vaccine. *Yakugaku Zasshi.* 2022; 142(8):867-874. Japanese. doi: 10.1248/yakushi.22-00067.
  - 24) Yamagishi R, Kamachi F, Nakamura M, Yamazaki S, Kamiya T, Takasugi M, Cheng Y, Nonaka Y, Yukawa-Muto Y, Thuy LTT, Harada Y, Arai T, Loo TM, Yoshimoto S, Ando T, Nakajima M, Taguchi H, Ishikawa T, Akiba H, Miyake S, Kubo M, Iwakura Y, Fukuda S, Chen WY, Kawada N, Rudensky A, Nakae S, Hara E, Ohtani N. Gasdermin D-mediated release of IL-33 from senescent hepatic stellate cells promotes obesity-associated hepatocellular carcinoma. *Sci Immunol.* 2022 Jun 24;7(72):eabl7209. doi: 10.1126/sciimmunol.abl7209.
  - 25) Yakabe K, Higashi S, Akiyama M, Mori H, Murakami T, Toyoda A, Sugiyama Y, Kishino S, Okano K, Hirayama A, Gotoh A, Li S, Mori T, Katayama T, Ogawa J, Fukuda S, Hase K, Kim YG. Dietary-protein sources modulate host susceptibility to *Clostridioides difficile* infection through the gut microbiota. *Cell Rep.* 2022 Sep 13;40(11):111332. doi: 10.1016/j.celrep.2022.111332.
  - 26) Sezaki M, Hayashi Y, Nakato G, Wang Y, Nakata S, Biswas S, Morishima T, Fakruddin M, Moon J, Ahn S, Kim P, Miyamoto Y, Baba H, Fukuda S, Takizawa H. Hematopoietic stem and progenitor cells integrate microbial signals to promote post-inflammation gut tissue repair. *EMBO J.* 2022 Nov 17;41(22):e110712. doi:10.15252/embj.2022110712.
  - 27) Yoshida Y, Shimizu I, Shimada A, Nakahara K, Yanagisawa S, Kubo M, Fukuda S, Ishii C, Yamamoto H, Ishikawa T, Kano K, Aoki J, Katsuumi G, Suda M, Ozaki K, Yoshida Y, Okuda S, Ohta S, Okamoto S, Minokoshi Y, Oda K, Sasaoka T, Abe M, Sakimura K, Kubota Y, Yoshimura N, Kajimura S, Zuriaga M, Walsh K, Soga T, Minamino T. Brown adipose tissue dysfunction promotes heart failure via a trimethylamine N-oxide-dependent mechanism. *Sci Rep.* 2022 Sep 1;12(1):14883. doi: 10.1038/s41598-022-19245-x.
  - 28) Jangid A, Fukuda S, Seki M, Suzuki Y, Taylor TD, Ohno H, Prakash T. Gut microbiota alternation under the intestinal epithelium-specific knockout of mouse *Piga* gene. *Sci Rep.* 2022 Jun 25;12(1):10812. doi:10.1038/s41598-022-15150-5.
  - 29) Ishihara S, Sato T, Fujikado N, Miyazaki H, Yoshimoto T, Yamamoto H, Fukuda S, Katagiri K. *Rap1* prevents colitogenic Th17 cell expansion and facilitates Treg cell differentiation and distal TCR signaling. *Commun Biol.* 2022 Mar 4;5(1):206. (前年度未掲載)
  - 30) Jangid A, Fukuda S, Suzuki Y, Taylor TD, Ohno H, Prakash T. Shotgun metagenomic sequencing revealed the prebiotic potential of a grain-based diet in mice. *Sci Rep.* 2022 Apr 25;12(1):6748. doi: 10.1038/s41598-022-10762-3.
  - 31) Shiroma H, Shiba S, Erawijantari PP, Takamaru H, Yamada M, Sakamoto T, Kanemitsu Y, Mizutani S, Soga T, Saito Y, Shibata T, Fukuda S, Yachida S, Yamada T. Surgical Treatment for Colorectal



- Cancer Partially Restores Gut Microbiome and Metabolome Traits. *mSystems*. 2022 Apr 26;7(2):e0001822. doi:10.1128/msystems.00018-22.
- 32) Jangid A, Fukuda S, Kato T, Seki M, Suzuki Y, Taylor TD, Ohno H, Prakash T. Impact of dietary fructooligosaccharides (FOS) on murine gut microbiota and intestinal IgA secretion. *3 Biotech*. 2022 Feb;12(2):56. doi:10.1007/s13205-022-03116-3. (前年度未掲載)
- 33) Kure A, Tsukimi T, Ishii C, Aw W, Obana N, Nakato G, Hirayama A, Kawano H, China T, Shimizu F, Nagata M, Isotani S, Muto S, Horie S, Fukuda S. Gut environment changes due to androgen deprivation therapy in patients with prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 2022 Apr 13. doi:10.1038/s41391-022-00536-3.
- 34) Yukawa-Muto Y, Kamiya T, Fujii H, Mori H, Toyoda A, Sato I, Konishi Y, Hirayama A, Hara E, Fukuda S, Kawada N, Ohtani N. Distinct responsiveness to rifaximin in patients with hepatic encephalopathy depends on functional gut microbial species. *Hepatol Commun*. 2022 Aug;6(8):2090-2104. doi:10.1002/hep4.1954.
- 35) Goto Y, Nishimoto Y, Murakami S, Nomaguchi T, Mori Y, Ito M, Nakaguro R, Kudo T, Matsuoka T, Yamada T, Kobayashi T, Fukuda S. Metabologenomic Approach Reveals Intestinal Environmental Features Associated with Barley-Induced Glucose Tolerance Improvements in Japanese: A Randomized Controlled Trial. *Nutrients*. 2022 Aug 24;14(17):3468. doi: 10.3390/nu14173468.
- 36) Tanaka Y, Yamashita R, Kawashima J, Mori H, Kurokawa K, Fukuda S, Gotoh Y, Nakamura K, Hayashi T, Kasahara Y, Sato Y, Fukudo S. Omics profiles of fecal and oral microbiota change in irritable bowel syndrome patients with diarrhea and symptom exacerbation. *J Gastroenterol*. 2022 Oct;57(10):748-760. doi:10.1007/s00535-022-01888-2.
- 37) Nishimoto Y, Mizuguchi Y, Mori Y, Ito M, Miyazato S, Kishimoto Y, Yamada T, Fukuda S. Resistant Maltodextrin Intake Reduces Virulent Metabolites in the Gut Environment: A Randomized Control Study in a Japanese Cohort. *Front Microbiol*. 2022 May 4;13:644146. doi: 10.3389/fmicb.2022.644146.
- 38) Miyaho K, Sanada K, Kurokawa S, Tanaka A, Tachibana T, Ishii C, Noda Y, Nakajima S, Fukuda S, Mimura M, Kishimoto T, Iwanami A. The Potential Impact of Age on Gut Microbiota in Patients with Major Depressive Disorder: A Secondary Analysis of the Prospective Observational Study. *J Pers Med*. 2022 Nov 3;12(11):1827. doi: 10.3390/jpm12111827.
- 39) Nakamura Y, Suzuki S, Murakami S, Nishimoto Y, Higashi K, Watarai N, Umetsu J, Ishii C, Ito Y, Mori Y, Kohno M, Yamada T, Fukuda S. Integrated gut microbiome and metabolome analyses identified fecal biomarkers for bowel movement regulation by *Bifidobacterium longum* BB536 supplementation: A RCT. *Comput Struct Biotechnol J*. 2022 Oct 25;20:5847-5858. doi:10.1016/j.csbj.2022.10.026.
- 40) Hayasaka A, Konno K, Tanaka K, Hashimoto M. Isolation, identification, and DFT-based conformational analysis of sesquiterpene lactone and its congeners from freshwater Dothideomycetes *Neohelicascus aquaticus* KT4120. *Bull. Chem. Soc. Jpn*. 2022 Mar 26;95: 833-845. doi:10.1246/bcsj.20220063. (前年度未掲載)
- 41) Kanehara R, Tonouchi A, Konno K, Koshino H, Hashimoto M. Isolation of cyclohumulanoids from *Daedaleopsis Tricolor* and their biosynthesis based on *in silico* simulations. *Tetrahedron*. 2022 Aug 28;123:133006. doi:10.1016/j.tet.2022.133006.

## 薬用資源管理部門

Department of Medicinal Resources Management

教授(兼) 早川 芳弘  
准教授 當銘 一文  
助教 条 美智子

Prof. Yoshihiro Hayakawa  
Assoc. Prof. Kazufumi Toume  
Assist. Prof. Michiko Jo

### ◆研究目的

本部門は和漢薬をはじめとする伝統薬物や天然薬物などの薬用資源の管理と維持、さらにこれらを用いた学内外との共同研究を推進する。特に本研究所が目指す和漢薬研究の中核的共同研究拠点としての機能を強化するため、薬用資源ライブラリーの作成、遺伝学的、成分科学的、薬理学的解析と評価とそれらの情報管理、さらに薬用資源を活用した共同研究推進のサポートを目的としている。

### ◆2022 年度研究概要

#### 1. 和漢薬ライブラリーの調製、提供

和漢薬を用いた共同研究を推進すべく、生薬エキス 119 種 (123 サンプル)、漢方方剤エキス 42 種、生薬由来化合物 96 種で構成される和漢薬ライブラリーを調製し、当研究所で公募している共同研究「探索研究」の採択者に対して配布した (学内 3 件、学外 2 件)。また、探索研究の進展により必要となったサンプルの追加配布を行った。本事業で配布している生薬エキス、漢方方剤エキスについて LC-MS による成分プロファイリングを実施し、その結果を和漢薬データベース上で公開している。また、和漢薬ライブラリーを活用した共同研究を推進した。(原著論文 1-3)

#### 2. 和漢薬の成分プロファイリング研究

ニクジュヨウエキスは骨格筋機能の改善作用が期待でき、その活性成分としてフェニルエタノイド類が報告されている。基原種、産地の異なるニクジュヨウおよびその基原植物の肉質茎の成分多様性を明らかにし、同生薬の標準化に寄与することを指向し HPLC および <sup>1</sup>H NMR 法による成分プロファイリング研究を進めた。Echinacoside などのフェニルエタノイド類の含量は、基原や産地の違いより、個体差による影響が大きいことがわかった。引き続き検討を行い、高い有効性が期待できるニクジュヨウの選別法および加工調製法の確立を目指す。

#### 3. 漢方方剤による二次性リンパ浮腫改善機序の解明

リンパ浮腫とは、リンパ輸送システムの機能不全によって間質腔にリンパが蓄積した状態である。その治療として様々な対症療法が用いられているが有効性が明らかではない。今回、単離したラット腸管膜リンパ管に五苓散とその構成生薬の各凍結乾燥エキスを投与し、腸管膜リンパ管の収縮期および拡張期の直径、収縮速度および頻度を測定・解析をした。五苓散およびその構成生薬である茯苓には、ラット腸管膜リンパ管の収縮に対する効果は認められなかったが、沢瀉についてはリンパ管収縮速度を有意に低下させた。また、リンパ管新生因子である VEGFC の主な受容体である VEGFR3 は、五苓散または沢瀉の投与により、コントロールに比べて有意に上昇した (Jo et al., 2022)。今後は、炎症状態のラットおよび、炎症状態の腸管膜リンパ管を用いて、各種濃度の五苓散およびその構成生薬を投与しリンパ管新生に関わる因子についてタンパク質発現量の検討を行う。

#### 4. アクアポリン 1 遺伝子改変マウスの作製と表現型解析

水チャンネルであるアクアポリンが様々な病態やその治療、あるいは水分代謝において重要な役割を果たしていることが明らかとなっている。AQP1 は様々な組織に発現し、多様なヒトの疾患に対する発症機構の理解や予防・治療法の開発するための標的として注目されている。そこで我々は新たにアクアポリン 1 遺伝子改変マウスを作製した。今後は、表現型の解析を行い、多様なヒトの疾患に対する発症機構の理解や予防・治療法の開発に取り組む。

## 5. 薬用植物の早期生産を指向した栽培研究

組織培養-圃場ハイブリッド栽培したセンブリを低温処理することにより、従来法より栽培期間を約200日短縮できることを見出し、swertiamarinなどの含量が高いことを確認した。また、成分含量の面から最適な収穫時期、収穫後の最適な乾燥条件に関する知見を得た。シヤクヤク、エゾウコギについても栽培研究を行い、得られた作出物の薬用部位の成分をHPLC法により定量し、品質評価研究を行った。

### ◆原著論文

- 1) Tayama Y, Mizukami S, Toume K, Komatsu K, Yanagi T, Nara T, Tieu P, Huy NT, Hamano S, Hirayama K. Anti-Trypanosoma cruzi activity of Coptis rhizome extract and its constituents. Trop Med Health. 2023 Mar;51(1):12.doi:10.1186/s41182-023-00502-2.
- 2) Yamada Y, Saito H, Araki M, Tsuchimoto Y, Muroi SI, Suzuki K, Toume K, Kim JD, Matsuzaka T, Sone H, Shimano H, Nakagawa Y. Wogonin, a Compound in *Scutellaria baicalensis*, Activates ATF4-FGF21 Signaling in Mouse Hepatocyte AML12 Cells. Nutrients. 2022 Sep;14(19):3920. doi:10.3390/nu14193920.
- 3) Ngwe Tun MM, Luvai E, Nwe KM, Toume K, Mizukami S, Hirayama K, Komatsu K, Morita K. Anti-SARS-CoV-2 activity of various PET-bottled Japanese green teas and tea compounds in vitro. Arch Virol. 2022 Jul;167(7):1547-1557. doi:10.1007/s00705-022-05483-x.
- 4) Liu Q, Komatsu K, Toume K, Zhu S, Tanaka K, Hayashi S, Anjiki N, Kawahara N, Takano A, Miyake K, Nakamura N, Sukrong S, Agil M, Balachandra I. Essential oil composition of Curcuma species and drugs from Asia analyzed by headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry. J Nat Med. 2023 Jan;77(1):152-172. doi: 10.1007/s11418-022-01658-7.
- 5) Jo M, Trujillo AN, Shibahara N, Breslin JW. Impact of Goreisan components on rat mesenteric collecting lymphatic vessel pumping. Microcirculation. 2022 Sep:e12788. doi: 10.1111/micc.12788.

### ◆総説

- 1) Lampejo AO, Jo M, Murfee WL, Breslin JW. The Microvascular-Lymphatic Interface and Tissue Homeostasis: Critical Questions That Challenge Current Understanding. J Vasc Res. 2022;59(6):327-342. doi: 10.1159/000525787.

### ◆学会報告

(国内学会)

- 1) 董昱卓, 當銘一文, 君島伸, 張含培, 朱姝, 何毓敏, 東田千尋, 楊熙蒙, 蔡少青, 丸山卓郎, 小松かつ子. 骨砕補の品質標準化を目指した NMR メタボローム分析. 日本薬学会第143年会; 2023 Mar 26-28; 札幌.
- \* 2) 當銘一文. 天然薬物の活性成分の探索. 日本薬学会北陸支部第134回例会; 2022 Nov 20; 富山 (招待講演).
- 3) 酒井麻衣, 水谷玲那, 澤幡雅仁, 歌大介, 當銘一文, 小松かつ子, 久米利明. 接触性皮膚炎モデルマウスに対する和漢薬エキスの抗炎症作用の検討. 日本薬学会北陸支部第134回例会; 2022 Nov 20; 富山.
- 4) 久保山友晴, 堀田健一郎, 浅沼舞, 當銘一文, 山崎琢磨, 小松かつ子. 長野県栽培 *Rheum* 属植物由来根茎のマイクログリア M2 化に着目した品質評価. 日本生薬学会第68回年会; 2022 Sep 10-11; 松山 (Web開催).
- 5) 董昱卓, 當銘一文, 君島伸, 張含培, 朱姝, 何毓敏, 蔡少青, 丸山卓郎, 小松かつ子. 骨砕補の品質標準化を目指した NMR メタボローム分析. 日本生薬学会第68回年会; 2022 Sep 10-11; 松山 (Web開催).
- 6) 山本祥雅, 山本奨也, 平田卓也, 新宮領勇輝, 曾根美佳子, 當銘一文, 小松かつ子, 早川芳弘. ナチュラルキラー細胞のエフェクター機能を増強する生薬の探索. 第39回和漢

医薬学会学術大会；2022 Aug 27-28；東京（Web 開催）。

#### ◆その他

- 1) 當銘一文. 「くすり・毒になる天然の成分」富山大学公開講座 2022 年度後期「こんなに“おもしろい”和漢薬学研究：基礎研究から生まれる新世界」. 2022 Oct 29. 富山.
- 2) 當銘一文. 「くすり・毒になる天然の成分」令和 4 年度富山市民大学「生活医学薬学を学ぶ」. 2022 Jul 8. 富山.
- 3) 當銘一文. 「くすり・毒になる天然の成分」NPO 法人富山のくすし, 令和 3 年度漢方医学と生薬講座（第 3 回）. 2022 May 14. 富山.

#### ◆受賞

- 1) 董昱卓：日本薬学会第 143 年会学生優秀発表賞（ポスター発表の部）「骨砕補の品質標準化を目指した NMR メタボローム分析」2023 Mar.

#### ◆共同研究

（海外）

- 1) Jerome W. Breslin (Department of Molecular Pharmacology and Physiology, Morsani College of Medicine, University of South Florida, Professor): Lymphatic contraction mechanisms, 2017～

（国内）

- 1) 秋山信彦（東海大学海洋学部），上田徹（シーシーティー・ジャパン）：養殖タツノオトシゴの品質評価を指向した成分研究，2022～
- 2) 森田公一，Mya Myat Ngwe Tun，平山謙二，水上修作（長崎大学熱帯医学研究所）：COVID-19 感染症に有効な漢方方剤・和漢薬の探索，2020～
- 3) 丸山卓郎（国立医薬品食品衛生研究所）：植物性医薬品開発のための和漢薬の網羅的精密分析，2019～
- 4) 吉松嘉代（(独)国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所 薬用植物資源研究センター）：薬用植物種苗供給の実装化を指向した開発研究，2018～
- 5) 田村隆幸（富山県薬用植物指導センター）：早期生薬生産・成分評価システムの構築，2018～
- 6) 平山謙二，水上修作（長崎大学熱帯医学研究所）：漢方方剤・和漢薬由来新規抗トリパノソーマ薬の探索，2017～
- 7) 大槻 崇（日本大学生物資源科学部）：和漢薬の品質評価を目指した定量 NMR に関する研究，2014～

（学内）

- 1) 高雄啓三（研究推進総合支援センター），藤井一希（研究推進総合支援センター）：アクアポリン 1 遺伝子改変マウスの作製と表現型解析，2020～
- 2) 東田千尋（和漢薬学総合研究所）：高齢者疾患を制する和漢薬研究：製品化に向けた臨床研究と品質研究，2020～
- 3) 早川芳弘（和漢薬学総合研究所）：抗腫瘍エフェクター細胞の機能に作用する生薬成分の探索，2019～
- 4) 久米利明（大学院医学薬学研究部）：生体内抗酸化酵素を誘導する生薬成分に関する研究，2019～

#### ◆研究費取得状況

- 1) 文部科学省科学研究費，基盤研究(C)（代表：条美智子，継続）「漢方方剤による二次性リンパ浮腫改善機序の解明」
- 2) 文部科学省科学研究費，基盤研究(C)（第 2 年度）（代表：當銘一文）「和漢薬の品質評価を指向した網羅的成分プロファイリング」
- 3) 平成 30 年度国立研究開発法人日本医療研究開発機構，創薬基盤推進研究事業「薬用植物

種苗供給の実装化を指向した開発研究」(分担：當銘一文)：「早期生薬生産・成分評価システムの構築」

- 4) 富山大学運営費交付金機能強化費(分担：當銘一文)「漢方薬による認知症予防への取り組みと地域活性化」
- 5) 令和4年度和漢医薬学総合研究所公募型共同研究，特定研究(総括：當銘一文)「植物性医薬品開発のための和漢薬の網羅的精密分析」
- 6) 富山県受託研究「アカデミア創薬支援事業(アンメットメディカルニーズ創薬・製剤研究)」(分担：當銘一文)「認知機能維持，ロコモティブシンドロームの予防，あるいは頸椎症性脊髄症に有効な和漢薬の品質研究」

#### ◆研究室在籍者

学部5年生：小菅智正，木本花音，堀田知里

大学院博士3年：董 昱卓(10月入学)



## 臨床応用部門

Department of Clinical Application

教授（兼）	嶋田 豊	Prof. Yutaka Shimada
准教授（兼）	藤本 誠	Assoc. Prof. Makoto Fujimoto
助教（兼）	渡り 英俊	Assist. Prof. Hidetoshi Watari
客員教授（兼）	田原 英一	Visiting Prof. Eiichi Tahara

### ◆研究目的

本部門は、医療用漢方製剤の新たな応用を目指した臨床試験、植物性医薬品の開発を目指した臨床試験を推進する。即ち、和漢医薬学総合研究所における基礎研究から得られたシーズを基に、附属病院の臨床研究管理センターと連携し、トランスレーショナルリサーチの推進を図る。また、診療における疑問点を和漢医薬学総合研究所にフィードバックし、リバーstransレーショナルリサーチへの橋渡しを図る。

### ◆2022 年度研究概要

- ・医療用漢方製剤の新たな応用を目指した臨床試験
  - (1) 特定臨床研究「軽度アルツハイマー型認知症を対象とする八味地黄丸の認知機能に対する有効性と安全性を確認する探索的オープン標準治療対照無作為化割付多施設共同試験」を終了し、結果を学会及び論文として発表した。(和漢診療科 貝沼茂三郎特命教授)
  - (2) 特定臨床研究「メニエール病に対する苓桂朮甘湯のプラセボ対照無作為化二重盲検試験」の症例登録を進めた。(耳鼻咽喉科 將積日出夫教授)
  - (3) 医師主導治験「パクリタキセル (Tri-weekly) 誘発性の筋肉痛・関節痛に対する芍薬甘草湯の緩和作用を検討するプラセボ対照二重盲検クロスオーバー試験」の症例登録を進めた。(産科婦人科 中島彰俊教授)
- ・植物性医薬品の開発を目指した臨床試験
  - (1) 特定臨床研究「軽度認知障害および軽度アルツハイマー型認知症における山芋エキスの有効性を検討するランダム化二重盲検群間比較試験」に関して、すべての服薬と検査を終了した。(和漢研 東田千尋教授)
  - (2) 特定臨床研究「頸椎症性脊髄症に対するニクジュヨウエキスの有効性を検討するランダム化二重盲検群間比較試験」の症例登録を進めた。(和漢研 東田千尋教授, 整形外科 川口善治教授)
  - (3) 特定臨床研究「COPD 患者に対するニクジュヨウエキスの忍容性試験」の症例登録を進めた。(和漢研 東田千尋教授, 臨床腫瘍部 林 龍二教授)

### ◆原著論文

- 1) Yakubo S, Baba M, Odaguchi H, Wakasugi A, Sekine M, Hanawa T, Mitsuma T, Namiki T, Arai M, Muramatsu SI, Shimada Y, Shibahara N. Kampo Formula-Pattern Models: The Development of 13 New Clinically Useful Standard Abdominal Pattern Models in the Fukushin Simulator. *Front Pharmacol.* 2022 Apr 29;13:688074. doi:10.3389/fphar.2022.688074.
- 2) 山田理絵, 山本寛樹, 藤本誠, 堀悦郎, 金森昌彦. 医師の視線行動と模擬患者の発話量の関連 ウェアラブル型アイトラッカーを用いた検討. *日本健康医学会雑誌.* 2022 Jul;31(2):139-149.





## 産官学連携部門

Department of Academia-Industry-Government Collaboration

教授（兼） 小泉 桂一 Prof. Keiichi Koizumi

### ◆目的

当研究所の使命の1つは、新薬の発見と開発であり、これには産業、政府、学際領域の協力が必要である。産官学連携部門は、医薬品開発を促進するために研究室の医薬品候補を発掘し、他の企業や公的機関にその候補を紹介し、さらに、これら医薬品候補を基盤に、起業を希望する当研究所の職員に対してのサポートを行う。なお、本部門の業務は、富山大学学術研究・産学連携本部と連携をとることで、効率的かつ迅速に遂行される仕組みとなっている。

<https://www.u-toyama.ac.jp/collaboration/cooperation/about/>

### ◆2022 年度活動概要

本年度は、以下を実施した。

- (1) 研究所所員が協調した企業との共同研究体制の構築を行った。具体的には、産官学連携部門が窓口になり、生体防御学領域、複雑系分野、および未病分野の3研究室合同で、近々、富山県の医薬品企業との共同研究を締結予定である。
- (2) 和漢医薬学総合研究所の研究者が中核となるムーンショット型研究開発制度（内閣府、JST）の管理運営の補助業務をコーディネートした。

今後は、上記の業務を発展させることで、和漢医薬学総合研究所の産官学連携に貢献する。

### ◆原著論文

- 1) Haruki T, Yonezawa S, Koizumi K, Yoshida Y, Watanabe TM, Fujita H, Oshima Y, Oku M, Taketani A, Yamazaki M, Ichimura T, Kadowaki M, Kitajima I, Saito S. Application of the Dynamical Network Biomarker Theory to Raman Spectra. *Biomolecules*. 2022 Nov 22;12(12):1730. doi: 10.3390/biom12121730.
- 2) Suzuki Y, Munakata L, Omata D, Koizumi K, Suzuki R. Feasibility study of novel nanoparticles derived from *Glycyrrhizae radix* as vaccine adjuvant for cancer immunotherapy. *Immunotherapy*. 2023 Jan 4. doi: 10.2217/imt-2022-0179.

### ◆学会報告

(国内学会)

- 1) 竹谷皓規, 山崎萌絵, 田原旬, 小泉桂一, 山本武, 大嶋佑介, 春木孝之. ラマン分光法と DNB 解析を用いた炎症反応における細胞遷移状態の解明. レーザー学会第 566 回研究会; 2022 Sep 2; 富山.
- 2) 深津日向子, 町田雄大, 赤木一考, 小泉桂一. Exploring the physiological functions of GLS using mouse and Drosophila models. 15th Japanese Drosophila Research Conference; 2022 Nov 13; 名古屋.
- \* 3) 赤木一考, 小泉桂一. 未病の生物学的理解におけるキイロショウジョウバエの活用. 第 95 回日本生化学会大会; 2022 Nov 9; 名古屋 (招待講演).
- \* 4) 小泉桂一. DNB 理論に基づく未病研究. 第 8 回研究倫理を語る会; 2023 Mar 4; 東京 (招待講演).
- 5) 小泉桂一. The benefits and challenges of detecting the pre-disease state. 日本生理学学会第 100 回記念大会シンポジウム; 2023 Mar 16; 京都.

### ◆特許

- 1) 小泉桂一, 中川崇, 戸邊一之, 五十嵐喜子, 恒枝宏史, 笹岡利安, inventor; 富山大学長, 協和発酵バイオ株式会社, assignee. 抗肥満剤. 特許第 7156856 号. 2022 Oct 19.

◆共同研究

(海外)

- 1) Luonan Chen (Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, China, Professor): Medical applications in DNB theory, 2014～

(学内)

- 1) 春木孝之 (都市デザイン学部), 大嶋佑介 (工学部) : DNB 解析による未病の検出, 2020～
- 2) 森寿 (医学部), 中川崇 (医学部), 高雄啓三 (研究推進総合支援センター), 笹岡利安 (薬学部), 戸邊一之 (医学部), 豊岡尚樹 (工学部) : 種々の疾患に対する GLS1 の役割の解明と医薬品開発, 2020～

◆研究費取得状況

- 1) JST, ムーンショット (課題参加者: 小泉桂一, 継続) 「複雑臓器制御系の未病科学的研究」
- 2) AMED 創薬基盤推進研究事業 (代表: 内山奈穂子, 分担: 小泉桂一) 「ナノソーム技術に基づく生薬漢方等の製剤学的なリポジショニングの検討」
- 3) 第一工業製薬, 共同研究 (代表: 小泉桂一, 継続) 「生薬抽出成分由来の天然多糖類ナノ粒子を活用した応用研究」
- 4) 協和発酵バイオ, 共同研究 (代表: 小泉桂一, 継続) 「アミノ酸分解酵素阻害化合物の研究」

## 和漢医薬教育研修センター

Kampo Education and Training Center

教授	柴原 直利	Prof. Naotoshi Shibahara
教授（兼）	嶋田 豊	Prof. Yutaka Shimada
教授（兼）	加藤 敦	Prof. Atsushi Kato
准教授（兼）	藤本 誠	Assoc. Prof. Makoto Fujimoto
助教（兼）	渡り 英俊	Assist. Prof. Hidetoshi Watari

### ◆研究目的

文部科学省は医学・薬学・看護教育のモデルコアカリキュラムにおいて漢方教育について記載しており、2018年の医学教育モデルコアカリキュラムには、「漢方医学の特徴と主要な漢方処方への適応及び薬理効果を概説できる」とある。このモデルコアカリキュラムに基づき、多くの医療系学部が漢方教育に取り組んでいるが、漢方医学的概念を理解して漢方医学教育を実践できる教員はほとんどいない。したがって、漢方教育が可能な教員の育成が必要である。そこで本センターは、(1) 漢方医学教育における研修システムを確立すること、(2) 医師および薬剤師に漢方臨床研修を提供することを目的としている。

### ◆2022年度研究概要

#### (1) 漢方医学教育

##### ① 和漢医薬学入門

医学部医学科、看護学科、薬学部薬学科、創薬学科の2年次の全学生を対象として和漢医薬学について講義するもので、2022年度は対面形式で「人を診る・漢方診断学 漢方医学総論」とのテーマで講義を行った。

##### ② 東洋医学概論

薬学部薬学科及び創薬学科の3年次の学生を対象にグループ学習により和漢薬に関わる基礎力、実践力および総合力を習得するもので、2022年度は10月より1月にかけて対面形式で行った。

##### ③ 和漢医薬学演習

薬学部薬学科及び創薬学科の4年次の和漢薬コースを選択した学生を対象に東洋医学の基本的概念や診断・治療法について講義するもので、2022年度は4月より7月にかけて対面形式で症例検討、発表準備と発表会を行った。

##### ④ 和漢医薬学実習

薬学部薬学科及び創薬学科の4年次の和漢薬コースを選択した学生を対象に外来見学および漢方調剤・漢方煎剤作製を体験するもので、2022年度は4月より8月にかけて対面形式で行った。

##### ⑤ 薬学実務実習

薬学部薬学科の5年次の学生を対象に、漢方専門外来に陪席して症例を通して診療の実際や薬剤について学習するもので、2022年度は9月より11月にかけて対面で実習を行った。

2023年度も①～⑤を継続する予定である。

#### (2) 漢方医学研修

##### ① 疾患別漢方ショー・トレクチャー

学内初期研修医と後期研修医及び医師、薬剤師、学生を対象とし、疾患毎の漢方方剤のエビデンスおよび頻用漢方薬を解説するもので、「冷え症に対する漢方薬」、「虚弱に対する漢方薬」、「夏バテに使用される漢方薬」、「全身倦怠感に対する漢方治療」、「下痢に対する漢方薬」、「痛みに対する漢方治療」、「尿トラブルの漢方治療」、「研修医が知っておくべき漢方の知識ならびに代表的方剤」、「便秘に対する漢方治療」のテーマで開催した。

##### ② 和漢医薬研修プログラム

医師・薬剤師・鍼灸師の資格を有する医学部及び薬学部の教員を対象に、漢方医学関連講義や症例検討

会、外来陪席による研修プログラムを実施するものだが、今年度は参加希望者がみられなかった。

### ③ 漢方診療研修

漢方に興味のある医師・薬剤師・鍼灸師を対象に、漢方専門外来に陪席して症例を通した漢方診療を研修するものであるが、今年度は参加希望者がみられなかった。

### ④ 漢方専門医臨床研修

漢方専門医の取得を希望する医師を対象とし、基本領域専門医取得後より週1回以上の外来及び入院診療を通した3年間の臨床研修を実施するものだが、今年度は参加希望者がみられなかった。

### ⑤ 漢方診断研修

漢方を扱う富山県内の医師・薬剤師・鍼灸師を対象とし、提示した症例について追加質問事項を含めて漢方医学的診断に基づいた治療を研修するものである。偶数月に開催した。

### ⑥ 漢方薬剤師研修

富山県内の漢方薬を扱う薬剤師に対し、附属病院薬剤部の協力の下、生薬や漢方調剤・服薬指導を研修するもので、富山大学公開講座「薬局調剤のための漢方実践講座」として、①漢方診断体験、②漢方薬（煎剤）の調剤及び煎出、③桂枝茯苓丸（丸剤）及び当帰芍薬散（散剤）の作製の内容で実施した。

2023年度は①及び⑤を継続するとともに、②③④⑥の研修を開催したいと考えている。

## ◆原著論文

- 1) Yakubo S, Baba M, Odaguchi H, Wakasugi A, Sekine M, Hanawa T, Mitsuma T, Namiki T, Arai M, Muramatsu SI, Shimada Y, Shibahara N. Kampo Formula-Pattern Models: The Development of 13 New Clinically Useful Standard Abdominal Pattern Models in the Fukushin Simulator. *Front Pharmacol.* 2022 Apr 29;13:688074. doi:10.3389/fphar.2022.688074.
- 2) Jo M, Trujillo AN, Shibahara N, Breslin JW. Impact of Goreisan components on rat mesenteric collecting lymphatic vessel pumping. *Microcirculation.* 2022 Sep;2022:e12788. doi: 10.1111/micc.12788.
- 3) Shibahara N, Shimada Y, Morita A, Jinhang Du J. Clinical study related to oketsu (blood stasis) "1st International Symposium on Kampo Medicine". *Trad. & Kampo Med.* 2022 Dec 5;9(3): 200-201. doi: 10.1002/tkm2.1343
- 4) Yakubo S, Baba M, Odaguchi H, Wakasugi A, Sekine M, Hanawa T, Mitsuma T, Namiki T, Arai M, Muramatsu SI, Shimada Y, Shibahara N. Kampo Formula-Pattern Models: The Development of 13 New Clinically Useful Standard Abdominal Pattern Models in the Fukushin Simulator. *Front Pharmacol.* 2022 Apr 29;13:688074. doi:10.3389/fphar.2022.688074.
- 5) 山田理絵, 山本寛樹, 藤本誠, 堀悦郎, 金森昌彦. 医師の視線行動と模擬患者の発話量の関連 ウェアラブル型アイトラッカーを用いた検討. *日本健康医学会雑誌.* 2022 Jul;31(2):139-149.
- 6) Wang JZ, Cheng B, Kato A, Kise M, Shimadate Y, Jia YM, Li YX, Fleet GWJ, Yu CY. Design, synthesis and glycosidase inhibition of C-4 branched LAB and DAB derivatives. *Eur J Med Chem.* 2022 Apr 5;233:114230. doi:10.1016/j.ejmech.2022.114230.
- 7) Li YX, Wang JZ, Shimadate Y, Kise M, Kato A, Jia YM, Fleet GWJ, Yu CY. Diastereoselective Synthesis, Glycosidase Inhibition, and Docking Study of C-7-Fluorinated Casuarine and Australine Derivatives. *J Org Chem.* 2022 Jun 3;87(11):7291-7307. doi: 10.1021/acs.joc.2c00485.
- 8) Olajide OA, Iwuanyanwu VU, Banjo OW, Kato A, Penkova YB, Fleet GWJ, Nash RJ. Iminosugar Amino Acid idoBR1 Reduces Inflammatory Responses in Microglia. *Molecules.* 2022 May 23;27(10):3342. doi: 10.3390/molecules27103342.
- 9) Wang JZ, Shimadate Y, Kise M, Kato A, Jia YM, Li YX, Fleet GWJ, Yu CY. trans, trans-2-C-Aryl-3,4-dihydroxypyrrolidines as potent and selective  $\beta$ -glucosidase inhibitors: Pharmacological chaperones for Gaucher disease. *Eur J Med Chem.* 2022 Aug 5;238:114499. doi: 10.1016/j.ejmech.2022.114499.
- 10) Zi D, Song YY, Lu TT, Kise M, Kato A, Wang JZ, Jia YM, Li YX, Fleet GWJ, Yu CY. Nanomolar  $\beta$ -glucosidase and  $\beta$ -galactosidase inhibition by enantiomeric  $\alpha$ -1-C-alkyl-1,4-dideoxy-1,4-

- imino-arabinitol derivatives. *Eur J Med Chem.* 2023 Feb 5;247:115056.  
doi: 10.1016/j.ejmech.2022.115056.
- 11) Kato A, Nakagome I, Yoshimura K, Kanekiyo U, Kishida M, Shinzawa K, Lu TT, Li YX, Nash RJ, Fleet GWJ, Tanaka N, Yu CY. Introduction of C-alkyl branches to L-iminosugars changes their active site binding orientation. *Org Biomol Chem.* 2022 Sep 21;20(36):7250-7260. doi: 10.1039/d2ob01099b.
  - 12) Li YX, Wang JZ, Shimadate Y, Kise M, Kato A, Jia YM, Fleet GWJ, Yu CY. C-6 fluorinated casuarines as highly potent and selective amyloglucosidase inhibitors: Synthesis and structure-activity relationship study. *Eur J Med Chem.* 2022 Dec 15;244:114852.  
doi: 10.1016/j.ejmech.2022.114852.
  - 13) Campkin DM, Shimadate Y, Bartholomew B, Bernhardt PV, Nash RJ, Sakoff JA, Kato A, Simone MI. Borylated 2,3,4,5-Tetrachlorophthalimide and Their 2,3,4,5-Tetrachlorobenzamide Analogues: Synthesis, Their Glycosidase Inhibition and Anticancer Properties in View to Boron Neutron Capture Therapy. *Molecules.* 2022 May 26;27(11):3447. doi: 10.3390/molecules27113447.
  - 14) Balo R, Fernández AG, Chopdat A, Ayadi SE, Kato A, Estévez RJ, Fleet GWJ, Estévez JC. Stable D-xylose ditriflate in divergent syntheses of dihydroxy prolines, pyrrolidines, tetrahydrofuran-2-carboxylic acids, and cyclic  $\beta$ -amino acids. *Org Biomol Chem.* 2022 Dec 7;20(47):9447-9459.  
doi: 10.1039/d2ob01255c.

#### ◆学会報告

(国際学会)

- 1) Shibahara N, Fujimoto M, Watari H, Kainuma M, Shimada Y. Clinical Study Related to Oketsu (Blood Stasis): Correlation between "oketsu" syndrome and autonomic nervous activity. 1st International Symposium on Kampo Medicine; 2022 Aug 26-27; Tokyo.
- 2) Shimada Y, Fujimoto M, Kainuma M, Shibahara N. Effects of keishibukuryogan, a blood stasis-resolving formula. 1st International Symposium on Kampo Medicine; 2022 Aug 26-27; Tokyo.
- 3) 柴原直利. 日本漢方医学の発展. 尼山世界中医薬フォーラム; 2022 Sep 27; 中国山東省曲阜市.
- 4) 柴原直利. 日本における感染症の漢方治療. 中西医結合疫病フォーラム; 2022 Oct 15; 北京.

(国内学会)

- 1) 向野晃弘, 渡り英俊, 藤本誠, 貝沼茂三郎, 柴原直利, 嶋田豊. 重度の体感幻覚症、アパシーに抑肝散加陳皮半夏が有効であったParkinson症候群の1例. 第72回日本東洋医学会学術総会; 2022 May 27-29; 札幌.
- 2) 柴原直利. 医療倫理・医療安全講習会. 第72回日本東洋医学会学術総会; 2022 May 27-29; 札幌.
- 3) 柴原直利. 指導医講習会. 第72回日本東洋医学会学術総会; 2022 May 27-29; 札幌.
- 4) 柴原直利. 専攻医のための説明会. 第72回日本東洋医学会学術総会; 2022 May 27-29; 札幌.
- 5) 柴原直利, 宋迦楠, 条美智子, 犬寫明子, 小泉桂一, 渡り英俊, 藤本誠, 嶋田豊. 不眠を訴える患者の漢方治療に関する研究. 第39回和漢医薬学会学術大会; 2022 Aug 27-28; 東京.
- 6) 藤本誠, 渡り英俊, 向野晃弘, 貝沼茂三郎, 柴原直利, 嶋田豊. 酸化マグネシウム製剤とエロビキシバット水和物製剤が無効だった慢性便秘症に麻子仁丸エキスが有効であった一例. 第47回日本東洋医学会北陸支部例会; 2022 Oct 16; 富山.
- 7) 渡り英俊, 向野晃弘, 藤本誠, 貝沼茂三郎, 柴原直利, 嶋田豊. 口腔内異常感症に漢方治療が有効であった2例. 第47回日本東洋医学会北陸支部例会; 2022 Oct 16; 富山.



◆その他

- 1) 柴原直利. 腰痛に対する漢方治療. 第27回疾患別漢方ショートレクチャー; 2022 Apr 14; 富山 (オンライン).
- 2) 柴原直利. 感染症と漢方治療2022年度第1回漢方医学と生薬講座; 2022 Apr 23; 富山.
- 3) 柴原直利. 漢方医学の基本的な考え方. 富山大学公開講座 健康と漢方医学; 2022 Apr 23; 富山 (オンライン).
- 4) 柴原直利. 症例検討. 第63回漢方診断研究会; 2022 Apr 24; 富山.
- 5) 柴原直利. 漢方診断体験. 富山大学公開講座 薬局調剤のための漢方実践講座; 2022 Apr 26; 富山.
- 6) 柴原直利. 漢方医学の基本的な考え方. 令和4年度富山市民大学 生活医学薬学を学ぶ; 2022 May 13; 富山.
- 7) 柴原直利. 漢方薬の副作用2022年度第2回漢方医学と生薬講座; 2022 May 14; 富山.
- 8) 柴原直利. 感染症の漢方治療. 富山大学公開講座 健康と漢方医学; 2022 May 14; 富山 (オンライン).
- 9) 柴原直利. 症例検討. 第90回富山漢方談話会; 2022 May 17; 富山.
- 10) 柴原直利. 漢方薬(煎剤)の調剤及び煎出. 富山大学公開講座 薬局調剤のための漢方実践講座; 2022 May 22; 富山.
- 11) 柴原直利. 不眠症の漢方治療. 令和4年度富山市民大学 生活医学薬学を学ぶ; 2022 Jun 10; 富山.
- 12) 柴原直利. 症例検討. 第64回漢方診断研究会; 2022 Jun 16; 富山.
- 13) 柴原直利. 心の病の漢方治療2022年度第3回漢方医学と生薬講座; 2022 Jun 18; 富山.
- 14) 柴原直利. 不眠症の漢方治療. 富山大学公開講座 健康と漢方医学; 2022 Jun 18; 富山 (オンライン).
- 15) 柴原直利. 桂枝茯苓丸(丸剤)及び当帰芍薬散(散剤)の作製. 富山大学公開講座 薬局調剤のための漢方実践講座; 2022 Jun 19; 富山.
- 16) 柴原直利. 認知症の漢方治療. 富山大学公開講座 健康と漢方医学; 2022 Jul 02; 富山 (オンライン).
- 17) 柴原直利. 症例検討. 第91回富山漢方談話会; 2022 Jul 19; 富山.
- 18) 柴原直利. 婦人科疾患の漢方治療2022年度第4回漢方医学と生薬講座; 2022 Jul 23; 富山.
- 19) 柴原直利. 頻用される漢方薬と漢方薬の副作用. 富山大学公開講座 健康と漢方医学; 2022 Jul 23; 富山 (オンライン).
- 20) 柴原直利. 症例検討. 第65回漢方診断研究会; 2022 Aug 18; 富山.
- 21) 柴原直利. 耳鼻咽喉科疾患の漢方治療2022年度第5回漢方医学と生薬講座; 2022 Sep 17; 富山.
- 22) 柴原直利. 関節痛に対する漢方治療. 第30回疾患別漢方ショートレクチャー; 2022 Sep 22; 富山 (オンライン).
- 23) 柴原直利. 症例検討. 第92回富山漢方談話会; 2022 Sep 27; 富山.
- 24) 柴原直利. 日本漢方医学の発展. 尼山世界中医薬フォーラム; 2022 Sep 27; 青島 (オンライン).
- 25) 柴原直利. 循環器疾患と漢方治療2022年度第6回漢方医学と生薬講座; 2022 Oct 15; 富山.
- 26) 柴原直利. 日本における感染症の漢方治療. 中西医結合疫病フォーラム; 2022 Oct 15; 北京 (オンライン).
- 27) 柴原直利. 症例検討. 第66回漢方診断研究会; 2022 Oct 20; 富山.
- 28) 柴原直利. 症例検討. 第93回富山漢方談話会; 2022 Nov 15; 富山.
- 29) 柴原直利. 腰痛・関節痛の漢方治療. 2022年度第7回漢方医学と生薬講座; 2022 Nov 19; 富山.
- 30) 柴原直利. 腎・泌尿器疾患の漢方治療. 2022年度第8回漢方医学と生薬講座; 2022 Dec 10; 富山.
- 31) 柴原直利. 症例検討. 第67回漢方診断研究会; 2022 Dec 15; 富山.

- 32) 柴原直利. 症例検討. 第94回富山漢方談話会 ; 2023 Jan 17 ; 富山.
- 33) 柴原直利. 臨床で頻用される10方剤. 2022年度第9回漢方医学と生薬講座 ; 2023 Jan 28 ; 富山.
- 34) 柴原直利. 症例検討. 第68回漢方診断研究会 ; 2023 Feb 16 ; 富山.
- 35) 柴原直利. 高齢者の漢方治療. 2022年度第10回漢方医学と生薬講座 ; 2023 Feb 25 ; 富山.
- 36) 柴原直利. 症例検討. 第95回富山漢方談話会 ; 2023 Mar 14 ; 富山.
- 37) 柴原直利. 健康と漢方医学. 電気記念日式典 ; 2023 Mar 24 ; 富山.

#### ◆共同研究

##### (海外)

- 1) 方剛 (広西中医薬大学 荘医学准教授) : 中日国際協力プロジェクトによる荘医学の新展開に関わる研究, 2017~
- 2) Nguyen Phuong Dung (University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh city, Faculty of Traditional Medicine, Professor): 伝統薬の薬効評価に関わる日越共同研究, 2017~

##### (国内)

- 1) 花輪壽彦 (北里大学東洋医学総合研究所 所長), 小田口浩 (北里大学東洋医学総合研究所 副所長), 三瀨忠道 (島県立医科大学 会津医療センター漢方医学講座教授), 並木隆雄 (千葉大学大学院医学研究院和漢診療学講座准教授), 新井信 (東海大学医学部内科学系准教授), 村松慎一 (自治医科大学内科学講座 神経内科学部門 特命教授), 嶋田豊 (富山大学 学術研究部医学系和漢診療学講座教授) : 漢方標準化プロジェクト, 2013~
- 2) クラシエ製薬株式会社 : 瘀血における漢方処方有用性の薬理的検討, 2014~
- 3) 医療法人社団ファインメッド : 五苓散の経口投与と経直腸投与による血中成分濃度の相違に関する研究, 2016~
- 4) 小田口浩 (北里大学東洋医学総合研究所 副所長), 五野由佳理 (北里大学病院 漢方外来), 松田隆秀 (聖マリアンナ医科大学 総合診療内科), 並木隆雄 (千葉大学医学部 附属病院和漢診療科), 新井信 (東海大学医学部 附属病院東洋医学科), 石上友章 (横浜市立大学 附属病院循環器内科, 血液・リウマチ・感染症内科), 平畑光一 (医療法人社団創友会 ヒラハタクリニック), 村松慎一 (自治医科大学 附属病院脳神経センター 内科部門漢方外来), 高山真 (東北大学病院 総合診療科漢方内科), 貝沼茂三郎 (富山大学 附属病院和漢診療科), 三瀨忠道 (福島県立医科大学 会津医療センター漢方内科), 及川哲郎 (東京医科大学病院 漢方医学センター), 伊藤隆 (証クリニック 神田) : 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 罹患後の後遺症症状 (Long COVID) に対する漢方薬治療の効果と安全性についての実態調査, 2021~
- 5) ロート製薬株式会社 : 漢方診断のデジタル化, 2021~
- 6) 源平製薬 : 漢方薬問診プログラムにおける学術指導, 2022~

##### (学内)

- 1) 嶋田豊 (富山大学学術研究部医学系和漢診療学講座教授) : 漢方医学の臨床研修プログラムの開発, 1999~
- 2) 中島彰俊, 島友子, 伊東雅美, 安田一平, 竹村京子 (富山大学 附属病院産科婦人科), 林龍二, 梶浦新也 (富山大学 附属病院臨床腫瘍部), 嶋田豊 (富山大学 附属病院和漢診療科), 藤井努, 松井恒志 (富山大学 附属病院消化器・腫瘍・総合外科), 野口誠, 富原圭 (富山大学 附属病院歯科口腔外科), 北村寛, 西山直隆, 坪井康真 (富山大学 附属病院腎泌尿器科), 将積日出男, 石田正幸, 阿部秀晴 (富山大学 附属病院耳鼻咽喉科) : パクリタキセル投与に伴う筋肉痛・関節痛に対する芍薬甘草湯の有効性を検討する第Ⅲ相臨床試験, 2020~
- 3) 齋藤滋 (学長), 北島勲 (理事・副学長), 門脇真 (学長補佐), 小泉桂一 (薬学・和漢系教授), 赤木一考 (教育研究推進系 特命助教), 犬寫明子 (教育研究推進系 特命助教), 上田肇一 (理学系教授), 大嶋佑介 (工学系准教授), 奥牧人 (薬学・和漢系 特命准教授), 小野木康弘 (教育研究推進系 特命助教), 甲斐田大輔 (医学系准教授), 木村巖 (理学系

- 准教授), 久米利明 (薬学・和漢系教授), 櫻井宏明 (薬学・和漢系教授), 笹岡利安 (薬学・和漢系教授), 佐藤勉 (医学系教授), 澤聡美 (教育学系講師), 柴原直利 (薬学・和漢系教授), 鈴木道雄 (医学系教授), 関根道和 (医学系教授), 高雄啓三 (医学系教授), 高崎一郎 (工学系准教授), 竹谷皓規 (教育研究推進系特命助教), 藤秀人 (薬学・和漢系教授), 戸邊一之 (医学系教授), 豊岡尚樹 (工学系教授), 中川崇 (医学系教授), 中島彰俊 (医学系教授), 成行泰裕 (教育学系准教授), 仁井見英樹 (医学系准教授), 長谷川英之 (工学系教授), 春木孝之 (都市デザイン学系准教授), 藤本孝子 (教育学系准教授), 堀田裕弘 (都市デザイン学系教授), 望月貴年 (理学系教授), 森寿 (医学系教授), 山本武 (薬学・和漢系助教), 米澤翔汰 (未病研究センター研究支援員), 米田真美 (未病研究センター事務補佐員), 和田暁法 (医学系講師): ムーンショット研究, 2020～
- 4) 山田理絵 (富山大学学術研究部医学系成人看護学講座 I), 嶋田豊 (富山大学学術研究部医学系和漢診療学講座), 藤本誠 (富山大学学術研究部医学系和漢診療学講座), 貝沼茂三郎 (富山大学学術研究部医学系和漢診療学講座), 渡り英俊 (富山大学学術研究部医学系和漢診療学講座): 視線計測に基づく漢方専門医の経験知の解明, 2021～
- 5) 加藤敦 (富山大学附属病院薬剤部): 漢方方剤のセラミド分解抑制効果・保湿効果に関する研究, 2021～

#### ◆研究室在籍者

- 学部3年生: 植村文哉  
学部4年生: 小西真央  
学部5年生: 小藪未歩  
学部5年生: 鳥山花甫  
学部6年生: 榎並魁人  
大学院博士2年: 宋迦楠 (10月入学)

## 民族薬物資料館

Museum of Materia Medica

館長（教授） 森田 洋行      Curator / Prof. Hiroyuki Morita  
技能補佐員 出口 鳴美      Research Assist. Narumi Deguchi

### ◆目的

世界の諸民族の伝統薬物を蒐集、保存、展示するとともに、それらの学術情報を収載したデータベースを構築し、伝統薬物に関する共同研究を推進する。

### ◆活動概要

#### I) 民族薬物データベース (ETHMEDmmm) の構築

当資料館には、和漢薬、アーユルヴェーダ生薬、ユナニー生薬、タイ生薬、インドネシア生薬、チベット生薬など約 31,500 点の生薬標本が保存されている。これらに関するデータベース（以下、DB）について順次、生薬標本情報並びに学術情報を更新、整理している。

### ◆原著論文

- 1) Do KM, Kodama T, Shin MK, Nu LHT, Nguyen HM, Dang SV, Shiokawa KI, Hayakawa Y, Morita H. Marginols A–H, unprecedented pimarane diterpenoids from *Kaempferia marginata* and their NO inhibitory activities. *Phytochemistry*. 2022 Apr;196:113109. doi: 10.1016/j.phytochem.2022.113109.
- 2) Yamada Y, Saito H, Araki M, Tsuchimoto Y, Muroi SI, Suzuki K, Toume K, Kim JD, Matsuzaka T, Sone H, Shimano H, Nakagawa Y. Wogonin, a Compound in *Scutellaria baicalensis*, activates ATF4-FGF21 signaling in mouse hepatocyte AML12 cells. *Nutrients*. 2022 Sep 21;14(19):3920. doi: 10.3390/nu14193920.

### ◆学会報告

(国内学会)

- 1) Kiep Minh Do, Takeshi Kodama, Min-Kyoung Shin, Lien Huong Ton Nu, Hien Minh Nguyen, Son Van Dang, Ken-ichi Shiokawa, Yoshihiro Hayakawa, Hiroyuki Morita. Four new pimarane diterpenoids from *Kaempferia marginata* and their NO production inhibitory activities. 日本生薬学会第 68 回年会；2022 Sep 11；松山（オンライン）。
- 2) Kiep Minh Do, Takeshi Kodama, Hien Minh Nguyen, Naoki Ikumi, Chigusa Soeda, Ken-ichi Shiokawa, Hiroyuki Morita. 9,10-Seco- and isopimarane diterpenoids from *Kaempferia marginata* rhizomes and their NO inhibition activities. 日本薬学会第 143 年会；2023 Mar 25-28；札幌。

### ◆その他

- 1) 小松かつ子, 出口鳴美. 現地学習 (民族薬物資料館). 令和 4 年度富山市民大学講座「生活医学薬学を学ぶ」；2022 Oct 28；富山大学。
- 2) 木内文之, 小松かつ子, 三巻祥浩編. パートナー生薬学改訂第 4 版増補 [電子版付]. 東京：南江堂；2023 Feb. 生薬画像提供。

### ◆記録

#### I) 見学者 (2022 年 4 月 1 日 ~2023 年 3 月 31 日)

来館者総数：264 名 (日本人 240 名, 外国人 24 名)

案内総回数：29 回 (日本人 26 回, 外国人 3 回)

- 【国内】 文部科学省，国公立大学 7 校，公立高校 1 校，富山市民大学，  
製薬企業他
- 【海外】 駐日パキスタン大使館，The University of Trans-disciplinary Health  
Sciences and Technology，ネブラスカ大学

**Ⅱ) 民族薬物データベース (2022 年 4 月 1 日 ～2023 年 3 月 31 日)**

アクセス数 : 45,537 件

**Ⅲ) 証類本草データベース (2022 年 4 月 1 日 ～2023 年 3 月 31 日)**

アクセス数 : 11,860 件

専門検索登録者数 : 64 名

# 活動記録





## 2022年度 和漢医薬学総合研究所活動記録

- 7月15日 令和3年度共同研究報告セミナー（民族薬物資料館3階会議室）
- 9月13日 第430回和漢医薬学総合研究所セミナー  
畠中 史幸 博士（Altos Labs Inc. 研究員）  
*In vivo* application of CRISPR/Cas9-based technology
- 9月14日 令和4年度第1回東西医薬学交流セミナー  
兼第431回和漢医薬学総合研究所セミナー  
清水 忠道 教授（医学部皮膚科学）  
皮膚科ではこう使う 漢方処方ー富山大学皮膚科における処方ー
- 11月7日 令和4年度第1回和漢医薬学総合研究所重点研究プロジェクト合同集会
- 11月28日 第42回和漢医薬学総合研究所特別セミナー（富山大学五福キャンパス 黒田講堂）  
オール富山大学での創薬・ヘルスケア社会実装共創拠点の形成に向けて
- 1月31日 第432回和漢医薬学総合研究所セミナー  
合田 幸広 博士（国立医薬品食品衛生研究所 所長）  
国立衛研で実施するレギュラトリーサイエンスと天然物医薬品  
福田 真嗣 博士（慶應義塾大学先端生命科学研究所 特任教授）  
「腸内デザイン」～ベストな自分でいられるために～
- 2月7日 和漢医薬学総合研究所運営協議会（民族薬物資料館3階会議室）
- 2月17日 第433回和漢医薬学総合研究所セミナー  
城村 由和 博士（金沢大学がん進展制御研究所 教授）  
細胞老化を標的とした先進的な健康寿命延伸法の創出を目指して
- 2月28日 第434回和漢医薬学総合研究所セミナー  
赤木 一考 博士（未病研究センター 特命助教）  
未病、老化、和漢薬研究におけるキイロショウジョウバエの活用  
竹谷 皓規 博士（未病研究センター 特命助教）  
未病を知るためのラマン分光技術開発
- 2月28日 令和4年度第2回東西医薬学交流セミナー  
兼第435回和漢医薬学総合研究所セミナー  
田原 英一 博士（(株)麻生 飯塚病院 東洋医学センター 漢方診療科部長）  
不眠の漢方治療



**2022年度  
共同利用・共同研究活動**



## 山薬麴エキスの作製と生物活性の検討

申請代表者	奥津 果優	鹿児島大学農学部	特任助教
所外共同研究者	高峯 和則 吉崎 由美子	鹿児島大学農学部 鹿児島大学農学部	教授 准教授
研究統括者	東田 千尋	神経機能学領域	教授
所内共同研究者	楊 熙蒙	神経機能学領域	助教

### ■背景・目的

山薬とは長芋や山芋の根茎を乾燥させた生薬の一つである。その山薬はデンプン、アミノ酸、糖タンパク質、コリン、ジアスターゼなどの成分が含有されており、滋養強壮、止渴、止瀉薬として効果があるとされている。また漢方薬にも山薬は使われており、八味地黄丸、牛車腎気丸、六味丸、啓脾湯、参苓白朮散などの重要な成分として含まれている。

日本における認知症患者は年々増え続けており、アルツハイマー病は認知症の原因の過半数を占めている。アルツハイマー病は、脳内のアミロイドβの沈着および、タウタンパク質の過剰リン酸化による神経原繊維の変化が原因とされている。山薬の主要な有効成分の一つであるジオスゲニンが損傷した神経回路の機能的回復、アミロイドβとリン酸化タウタンパク質の減少に働くということが発見された。ステロイドサポゲニンであるジオスゲニンは、山薬中で配糖体ジオスチンとして存在している。このジオスゲニンは、胃酸などでジオスチンのグリコシド結合が切断されることで遊離し、生体利用される。ジオスチン状態では体内吸収効率が悪く、認知機能効果が期待できない。そのためジオスチンを加水分解する加工が必要となる。これまでに強酸によってジオスゲニン抽出を可能にした研究は存在するが、安全面や環境配慮の面から酵素を活用した方法の検討が期待されている。

麴とは、穀類原料に麴菌を生育させたものであり、日本の発酵食品における伝統的な酵素剤である。麴菌はその高い酵素生産能力から工業的に注目されている。また麴菌は、基材となる植物原料によって生成する酵素群に変化が生じることが知られている。近年、酵素反応を利用した常温常圧の温和な反応条件や、簡単な操作による物質生産が、環境への負荷を低減させる生産技術として期待されている。そこで、山薬を基材として山薬麴を作製することで、麴菌がジオスゲニン遊離に寄与する酵素の生成を誘導させ、これを加工に用いることで安全性や機能性の高いジオスゲニン抽出方法の提供が可能であると考えられる。

そこで本研究では、山薬麴の作製によるジオスゲニン遊離量増強を目的とした。具体的には山薬を基材とした山薬麴の作製、ジオスゲニン遊離に与える酵素、製麴時間、pHおよび糖化温度の影響についての探索を行い、山薬麴エキスの作製を試みた。

### ■結果・考察

#### 1. 山薬麴の製麴と糖化によるジオスゲニン強化

日本の伝統的な酵素剤でもある麴に着目し、山薬を麴の基材として用いて山薬麴を作製することで、山薬に含まれるジオスチンからジオスゲニンを遊離する酵素の生成と、酵素反応処理を施すことによるジオスゲニン生成の強化について検討した。焼酎用白麴を種麴とし、山薬を麴基材として恒温恒湿器にて麴の



## 種目 (特定研究)

作製を行った。醸造用において一般的な製造時間である 46 時間後に観察すると、表面に麹菌の十分な生育が観察され、麴となっていることが確認できた。

山薬麴のジオスゲニン遊離に対する糖化の有効性を確認するために、山薬、山薬麴ならびに糖化した山薬麴のジオスゲニン量を比較した。このときの糖化温度は、低い温度帯では、糖化中に雑菌汚染を引き起こす可能性があり、また高い温度帯では酵素の失活を引き起こし、十分に酵素反応が継続できない可能性が考えられた。そこで本研究では糖化温度と時間は、麴甘酒の作製方法を参考にし、55°C で 16 時間とした。この温度であれば、雑菌の増殖を防ぐことができ、かつ酵素活性が維持されることで 16 時間の反応が継続できると考えた。その結果、山薬と山薬麴にはジオスゲニンと一致するピークがみられなかったが、糖化处理後の山薬麴にはジオスゲニンのピークが認められた。このことから山薬を麴とする際、麹菌によるジオスゲニン遊離に働く酵素生産が起きていること、さらにこれに水を加えて糖化反応を促進することがジオスゲニン量増強に有効であることが確認された。麴基材である山薬を酸加水分解して得られるジオスゲニン量の測定をしたところ、山薬麴糖化物のジオスゲニン量 (7.10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  乾燥山薬) は酸加水分解の試料 (113.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  乾燥山薬) の約 6% であることがわかった。このことからジオスゲニン量を増強させる製麴方法の更なる探索が必要であると考えた。

## 2. ジオスゲニン強化を目指した麹菌のスクリーニング

麴作製のための種麴は、焼酎用や清酒用、味噌用など用途に応じて異なるものがあり、それぞれ生産する酵素の量比や特性が異なる。したがって、麹菌株のスクリーニングがジオスゲニン増強に有効であると考え、醸造用の黒麹種麴 2 種、白麹種麴 2 種、黄麹種麴 6 種で山薬麴を作製した (Fig. 1)。



Fig. 1. 山薬麴

## 3. 山薬麴の $\beta$ -グルコシダーゼおよび $\alpha$ -ラムノシダーゼ活性と糖化物中ジオスゲニン量の相関

ジオスゲニンは、麴の  $\beta$ -グルコシダーゼによって配糖体ジオスチンより遊離すると考えた。またジオスチンは、ジオスゲニンにグリコシド結合したグルコースに、ラムノースが 2 つ結合する形で構成されている。そのためにラムノシダーゼがラムノース・グルコース間の結合を切断することで、 $\beta$ -グルコシダーゼの基質を認識しやすくさせ、ジオスゲニン量増強に影響を与えている可能性があると考えた。そこで、各麴の  $\beta$ -グルコシダーゼ活性ならびに  $\alpha$ -ラムノシダーゼ活性を調べた。その結果、使用した菌株によって  $\beta$ -グルコシダーゼおよび  $\alpha$ -ラムノシダーゼ活性に違いが認められた (Table 1)。また一般的な米麴の  $\beta$ -グルコシダーゼ活性と比較すると、山薬麴の方が著しく高い活性を示していることがわかった。これらの麴を用いて糖化处理を行い、ジオスゲニン量を測定し、 $\beta$ -グルコシダーゼ活性および  $\alpha$ -ラムノシダーゼ活性と比較した。その結果、味噌用黄麹や焼酎用黒麹のような、 $\beta$ -グルコシダーゼ活性の低い麴はジオスゲニン量も少なかったが、他の麴に関しては  $\beta$ -グルコシダーゼ活性の高さに関係なく、各麴でジオスゲニン量に大きな差が見られなかった。このことから、ジオスゲニン量増強への寄与には、 $\beta$ -グルコシダーゼの他にも要因があると考えられた。

## 種目（特定研究）

$\alpha$ -ラムノシダーゼ活性は、いずれの菌株においても  $\beta$ -グルコシダーゼと比べて非常に低い活性を示した (Table 1)。 $\alpha$ -ラムノシダーゼ活性と各麹糖化物中のジオスゲニン量を比較したところ、活性とジオスゲニン量の相関を確認することができなかった。そこで、測定した  $\beta$ -グルコシダーゼ活性およびラムノシダーゼ活性の相乗的な役割でジオスゲニンが生成すると予測し、両酵素活性を乗じた値と糖化物のジオスゲニン量の相関を確認した。その結果、回帰直線より大きく外れた麹はあるものの、相関が見られた (Fig. 2)。このことから、 $\beta$ -グルコシダーゼと  $\alpha$ -ラムノシダーゼの両方が相乗的に働くことで、ジオスゲニン量に影響を与えていることが考えられた。これらの結果からスーパー紫、河内黄麹がジオスゲニンを多く遊離できる菌株としてスクリーニングされた。

Table 1. 山薬麹の酵素活性および麹糖化物中のジオスゲニン量

Koji	$\beta$ -glucosidase (U/g)	$\alpha$ -Rhamnosidase (U/g)	Diosgenin content ( $\mu$ g/kg)
黒	834.3	6.1	2.20
河内黒	1901.6	1.15	5.68
白	1072.3	1.46	6.94
河内白	1931.2	1.19	5.68
甘酒	1780.3	not detected	3.15
味噌	523.7	86.77	3.95
醤油	2576.1	127.16	5.62
清酒	2757.1	not detected	5.44
スーパー紫	2112.4	299.26	10.01
河内黄	3077.4	145.91	6.55

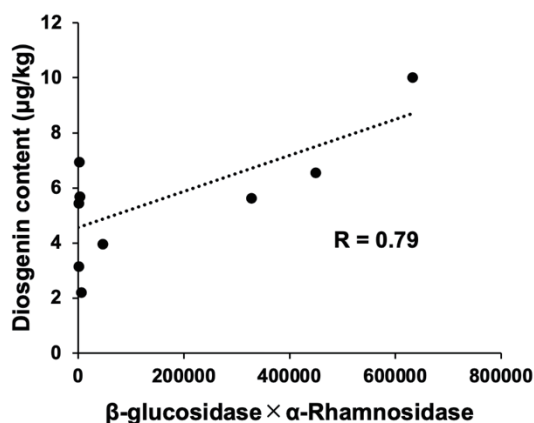


Fig. 2. 麹中  $\beta$ -グルコシダーゼおよび  $\alpha$ -ラムノシダーゼ活性を乗じた値と麹糖化物ジオスゲニン量との相関

#### 4. 製麹時間がジオスゲニン遊離量に与える影響

醸造用麹の場合、製麹時間が延びるほど酵素活性は高くなることがわかっている。そこで製麹時間による酵素活性の増加を試みた。河内黄麹を種麹として製麹時間を46時間、68時間、または92時間とした山薬麹を3種類作製した。 $\beta$ -グルコシダーゼ活性は予想とは異なり、製麹時間を延長しても増加しないことが確認

## 種目（特定研究）

された (Table 2). このことから現在の製麴方法・条件では 46 時間が麴菌の成長に適しており、製麴時間の延長はジオスゲニン遊離量の強化に影響を与えないことが確認された。

Table 2. 製麴時間の異なる山薬麴の  $\beta$ -グルコシダーゼ活性と麴糖化物中のジオスゲニン量

	Incubation periods		
	66 hours	90 hours	114 hours
$\beta$ -glucosidase (U/g)	4938.2	3274.7	4571.7
Diosgenin content ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	10.65	7.25	8.56

### 5. pH および糖化温度がジオスゲニン遊離量に与える影響

焼酎用白麴を種麴とした山薬麴は、 $\beta$ -グルコシダーゼと  $\alpha$ -ラムノシダーゼ活性が低いにも関わらず、糖化物のジオスゲニン量が 2 番目に多かった。このことから酵素活性以外の要因が糖化物のジオスゲニン量に影響していることが示唆された。焼酎用白麴では多量のクエン酸を分泌することから、焼酎用白麴を種麴とした山薬麴は低い pH において糖化反応を行ったことが考えられた。ジオスチンは酸性条件において加熱することで糖が切断され、アグリコンであるジオスゲニンが遊離する。本研究において糖化条件を 55°C と比較的高い温度に設定していることから、酵素反応と同時に加熱反応により生成する部分も含まれることが予想された。そこで各麴の抽出液の pH と糖化物のジオスゲニン量を比較した。その結果、予想と反して各麴抽出液において pH に大きな差はないことがわかった (Table 3)。一方で、また酵素活性は低いが生産量の多かった白麴製山薬麴の抽出液の pH は、わずかであるがすべての麴の中で最も低く、低 pH がジオスゲニン遊離に影響する可能性が考えられた。

Table 3. 山薬麴抽出液の pH

Koji	黒	河内 黒	白	河内 白	甘酒	味噌	醤油	清酒	スーパ ー紫	河内 黄
pH	6.1	5.8	5.6	6.1	6.1	6.2	6.8	6.3	6.3	6.5

これまで我々の研究室において、55°C で加熱後、75°C に移行して加熱することで機能性成分の生成を促すことができることを報告している。そこで山薬麴の糖化温度の影響を調べた。初めに糖化温度を 75°C の一定加熱 (17 時間) を行った。その結果、55°C に比べて 75°C の方が、全体的にジオスゲニン遊離量が減少した (Table 4)。しかしながら、温度上昇に伴い、ジオスゲニン遊離量が減少しているものがある一方で、河内白麴や河内黄麴のように 55°C と同等のジオスゲニン遊離量を示す麴もあった。そこで先行研究を参考にし、55°C または 75°C で一定加熱 (17 時間) した場合と、55°C で 17 時間加熱後、75°C で 17 時間加熱する Stepwise 加熱法を行った。種麴は 55°C 一定加熱でジオスゲニン遊離量が多かったスーパー紫と河内黄麴に加えて、ジオスゲニン遊離量の少なかった味噌用黄麴を比較対象に用いた。その結果、全ての麴において 55°C 一定加熱によるジオスゲニン遊離量が最も高く、75°C ならび Stepwise 加熱方法は低いことが確認された (Table 4)。このことからジオスゲニン遊離のための加熱温度は 55°C が適しており、酵素の影響が大きいことが示唆された。

これらの研究結果より山薬を麴基材として用いることで、温和な条件でジオスゲニンを生成できることが確認でき、環境負荷の低い製造方法を提供できると考えられた。

種目（特定研究）

Table 4. 麴の糖化温度と糖化物中ジオスゲニン量

Koji	Diosgenin content (µg/kg)		
	55°C	75°C	55°C→75°C
黒	2.20	0.59	-
河内黒	5.68	2.81	-
白	6.94	1.11	-
河内白	5.68	4.16	-
甘酒	3.15	1.25	-
味噌	3.95	0.73	1.84
醤油	5.62	2.25	-
清酒	5.44	1.22	-
スーパー 紫	10.01	0.41	0.44
河内黄	6.55	4.74	4.81

■結論

本研究では、山薬麴を作製することで山薬中のジオスチンからジオスゲニンを遊離する酵素の生成と酵素反応処理によるジオスゲニン生成強化を試みた。山薬と山薬麴からジオスゲニンは検出されず、山薬麴糖化物にはジオスゲニンが検出され、その量は山薬酸分解物の約6%であった。そこで、適した種麴を選抜するために黒麴2種、白麴2種および黄麴6種で山薬麴を作製した。糖化後、すべての山薬麴でジオスゲニンは検出できたが、その量と菌種による関係性は認められなかった。一方で山薬麴のβ-グルコシダーゼおよびα-ラムノシダーゼ活性を乗じた値と糖化物ジオスゲニン量には相関が認められ、両酵素はジオスゲニンの遊離に影響を与えていることが示された。製麴時間を43時間から68時間または92時間に延長しても麴の酵素活性および糖化物ジオスゲニン量はほとんど変化しなかった。また酵素活性は低いが生産量の多かった白麴製山薬麴の抽出液のpHは、すべての麴の中で最も低く、低pHがジオスゲニン遊離に影響する可能性が考えられた。糖化温度を①55°C一定17時間、②75°C一定17時間、③55°Cで17時間加熱後、75°Cで17時間加熱で行った。結果、55°C一定加熱のジオスゲニン量が最も多かった。このことからジオスゲニン遊離には酵素の影響が大きいことが示唆された。以上より、山薬麴を作製することで環境負荷の低いジオスゲニン抽出方法を提供できることが示された。



*De novo* 発がんマウスモデルを用いたがん臨界点の同定と予防先制医療への応用

申請代表者	昆 俊亮	東京理科大学・生命医科学研究所	准教授
所外共同研究者	上羽 悟史	東京理科大学・生命医科学研究所	准教授
研究統括者	昆 俊亮	東京理科大学・生命医科学研究所	准教授
所内共同研究者	早川 芳弘	生体防御学領域	教授

## ■背景・目的

がんの80%以上は上皮細胞を起源とする固形癌であり、近年の診断技術や治療法の著しい進歩にも関わらず、本邦におけるがん死亡者数は年々増加している。腫瘍組織は特殊な微小環境が整備されており、がん細胞によって教育された線維芽細胞、脈管系内皮細胞、免疫細胞等の間質細胞が腫瘍進展に有利に作用する。これまでのがん研究は、腫瘍化した組織の悪性化がん細胞自身または周辺に存在する腫瘍関連間質細胞の生物学的特性やこれらの細胞間における相互作用機構の解明に重点的に取り組まれてきた。その成果として、分子標的薬の開発や第4の治療法と称される免疫チェックポイント阻害剤の登場により、がん治療法に新たな選択肢が近年加えられてきた。しかしながら、がん種によっては高い奏効率が得られないことや治療抵抗性を獲得するがん細胞の出現など、万能ながん治療法の確立には至っていない。このような背景より、がん治療戦略の抜本的な見直し、さらには既存のアプローチとは異なる基礎研究が求められている。これまでのがん研究の大半は、最終的に悪性化した腫瘍組織もしくはがん細胞を対象として、これらと正常組織もしくは正常細胞との性状の違いを調べることにより、「がん」という疾病を理解しようと試みられてきた。しかしながら、がん細胞が誕生した瞬間、すなわち平和的な多細胞細胞社会に突如としてがん細胞が出現した際にどのような生体内反応が生じるかはよく分かっていない。がん細胞に従順し、がん細胞の生存・増殖を支持するような環境を直ちに整備するのか、もしくはがん細胞に抗い、がん細胞を駆逐しようと作用するのか、その実態は不明である。また、がん細胞が産生されて腫瘍が形成する過程において、どの段階より正確に「がん」と科学的解釈をもって判断できるのかを具体的に定義されたことはこれまでになく、何を指標に「がん」とするのか曖昧のままである。このような腫瘍細胞社会の形成プロセスを理解するためには、がん細胞が出現した特異点における間質内での事象を多角的に解析し理解する必要があるが、これまでに適切なマウスモデルが存在しなかったことなどから、がん細胞誕生の瞬間にどのような生体内反応が生じているかはがん研究のブラックボックスである。

研究代表者はこれまでに、正常細胞とがん変異細胞との間で互いに生存を争う「細胞競合」研究に従事してきた。細胞競合とは、性質の異なる上皮細胞が共存したとき、一方が生存し他方が排除されることと定義されている。最近の研究より、ショウジョウバエもしくはマウス生体において、代謝不全、極性異常、酸化ストレスが増加した変異細胞などが細胞競合によって排除されることが明らかとなってきた。代表者の研究グループでは、マウス腸管の最終分化した吸収上皮細胞にて、少量のタモキシフェン依存的に活性化 Ras 変異をモザイクに誘導することが可能な細胞競合マウスモデルを作出し (Villin-CreERT2/LSL-RasV12-ires-eGFP マウス)、ほとんどの Ras 変異細胞が管腔へと排除されることを明らかにし、哺乳類生体内においても細胞競合によってがん変異細胞が排除されることを世界に先駆けて報告した (Kon et al., Nat. Cell Biol., 2017)。さらに、この細胞競合マウスモデルの解析を深化させ、がん関連遺伝子の変異

## 種目 (特定研究)

蓄積の負荷による変異細胞の排除効率の変化を検討した結果、APC 遺伝子の変異による Wnt シグナルが活性化した上皮層に少数 Ras 変異を誘導すると、変異細胞の一部は基底膜を分解し、絨毛内間質へと浸潤することを見出した(図1)。このことから、APC 遺伝子の変異によって細胞競合の機能が変容し、変異細胞が上皮層より逸脱する方向性が転換することによって、浸潤性のがん細胞が産生されることが分かった。また、Ras 変異誘導 30 日後には、間質内へと浸潤したがん変異細胞は包巣を形成し、またこの腫瘍形成部位周辺には腺腫の成分が全く認められなかったことから(図2)、正常腸粘膜より直接的に発がんする(*de novo* 型発がん)と結論づけた。従って、本マウス(APCmin/Villin-CreERT2/LSL-RasV12-ires-eGFP マウス)は、これまで確立されていなかった *de novo* 発がんマウスモデルになり得ること、また「がん細胞が誕生した瞬間」を可視化することが出来るため、正常間質からがん間質への遷移を解析するための生体モデルとして非常に有用であることが考えられた。

研究代表者と所内共同研究者らは、がん成立という特異的臨界点の直前では組織を正常化する機能が弱まり、がん化と正常化のプロセスの拮抗作用により大きな揺らぎが生じるという仮説を立て、何らかの細胞の遺伝子発現量の少なくとも一部が強い同期性揺らぎを示すだろうとの着想に至った。そこで本研究では、研究代表者らが作出した単一細胞レベルでがん細胞が基底膜を超えて間質組織内へと浸潤し発がんする *de novo* 発がんマウスモデルを用いて、がん細胞が正常間質をがん間質へと遷移させる「がん臨界」の本態を解明することを目的とした。そのために、がん細胞誕生から腫瘍が形成されるまでの複数のタイムポイントにおいて、時系列的に時空間細胞アトラス情報と包括的な 1 細胞トランスクリプトーム情報を取得、統合的に解析することによってがん細胞と周辺間質細胞の遺伝子発現様式の変化を網羅的に俯瞰する。さらに、がん細胞の出現により間質細胞ネットワークに生じる攪乱度の指標として「揺らぎ」を同期性揺らぎ遺伝子理論に基づく数理解析により定量化し、正常組織で保たれていた複雑系としての上皮-間質細胞間ネットワークの均衡が破綻する変曲点となる臨界点を同定することを目指した。

## ■結果・考察

がん細胞が誕生した瞬間より、がん細胞が拡張し腫瘍を形成するまでの周辺正常細胞の遺伝子発現の変化を解析することにより、がん臨界付近で発現レベルに揺らぎが生じる遺伝子群を同定し、がんの臨界点の分子実体を同定することが本研究の目的である。そこで、*de novo* 発がんマウスを用いて、がん細胞誕生からがん形成までの時空間的遺伝子発現アトラス情報の取得に注力した。具体的には、APCmin/Villin-

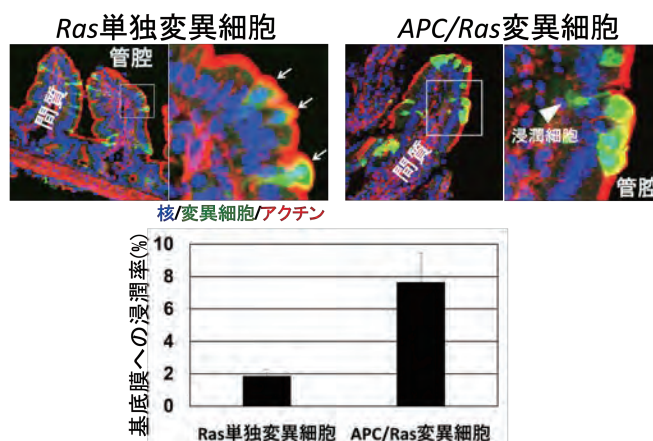


図1. 小腸絨毛でのがん変異細胞の挙動

Ras 誘導 3 日後の小腸絨毛の様子を示す。Ras 変異細胞のほとんどは管腔へ排除されるのに対し(上左図、矢印)、APC/Ras 変異細胞では基底膜に浸潤する細胞数が増加する(上右図、矢頭; 下図)

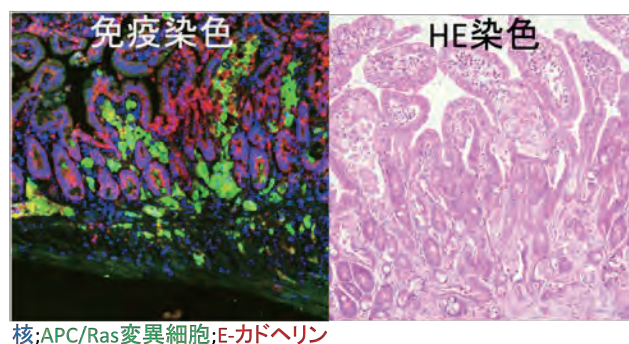


図2. APC/Ras 変異マウスで観察される *de novo* 型発がん

Ras 変異誘導 30 日後の腸管の様子を免疫染色像(左図)と HE 染色像(右図)を示す。



種目 (特定研究)

CreERT2/LSL-RasV12-ires-eGFP マウスにタモキシフェンを投与し、APCmin/RasV12 の二重変異がん細胞を産生させた後、14 日後のがん初期、28 日後のがん形成期のマウス腸管を回収、スイスロール法にて凍結サンプルを作成し、腸管全領域をモニタリングしながら、GFP 蛍光の指標より腫瘍形成部位を同定した。そして、その周辺領域をクライオスタットにより薄切、スライドガラスに貼付し、組織切片の全細胞の遺伝子発現を空間情報を維持したまま解析することが可能な Visium 解析を行なった。Visium 解析では、直径 55  $\mu\text{m}$  のスポットを 5000 箇所等間隔に設定し、各部位に関して RNAseq を実施する。各スポットと免疫染色画像とを照らし合わせ、腫瘍が小さい領域を「がん発生期」、腫瘍が大きい領域を「がん形成期」と定義し、これらと正常組織でのデータを統合して、各がん形成段階における遺伝子発現情報を取得した(図3)。その結果、がん発生期とがん形成期の各フェーズにおいて、特異的に発現低下もしくは発現増加する遺伝子群を複数同定した。さらに、がん形成期での遺伝子発現変化を詳細に解析した結果、内皮-間葉転換 (Endothelial-Mesenchymal Transition; EndMT) に特徴的なマーカー分子の変化が複数認められた。そこで、代表的な EndMT マーカーである Transgelin の免疫染色を行った結果、腫瘍部に存在するリンパ管内皮細胞で Transgelin の発現が著増していることが分かった(図4)。この結果より、APC/RasV12 ががん細胞はリンパ管内皮細胞の EndMT を誘導することにより、リンパ管構造を脆弱化させ、その結果リンパ管侵襲することが示唆された。しかしながら、Visium による遺伝子発現解析では1細胞レベルでの遺伝子発現の「揺らぎ」を解析するための空間的分解能を得ることが難しいため、single cell RNAseq 解析を行うための実験法の確立に取り組んだ。その結果、がんを発症した小腸絨毛のみを選択的に単離・回収するプラットフォームを立ち上げ、がんの発生初期または形成期の絨毛組織を回収し、高感度 RNAseq 法である TAS-seq 解析を行なった。このデータを基にがん細胞の産生から腫瘍形成に至る過程の種々の細胞群のクラスタリングを行い、各細胞群において「揺らぎ」が生じる分子の同定を進める予定である。

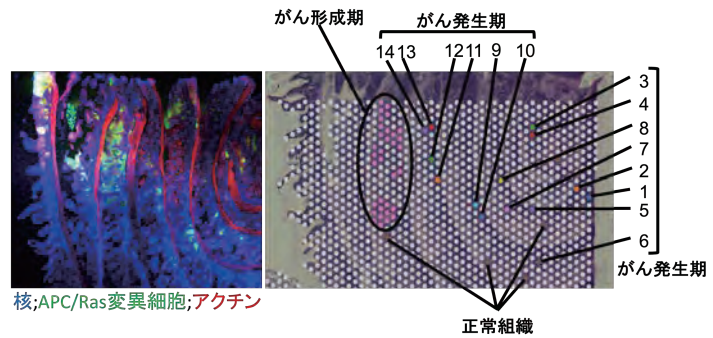


図3. Visium 解析の実際

*de novo* 発がんマウスに Ras 変異誘導 28 日後の腸管の様子を免疫染色像(左図)と Visium での解析部位(右図)を示す。腫瘍の大きさによりがん発生期とがん形成期とを区別した。

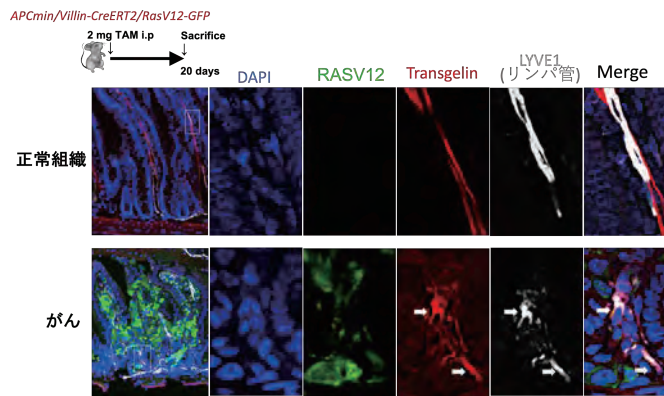


図4. *de novo* 発がんマウスで観察される EndMT

*de novo* 発がんマウスに Ras 変異誘導 20 日後の腸管での Transgelin、もしくはリンパ管の免疫染色像を示す。また、リンパ管内皮細胞で Transgelin の発現が認められる(矢印)。

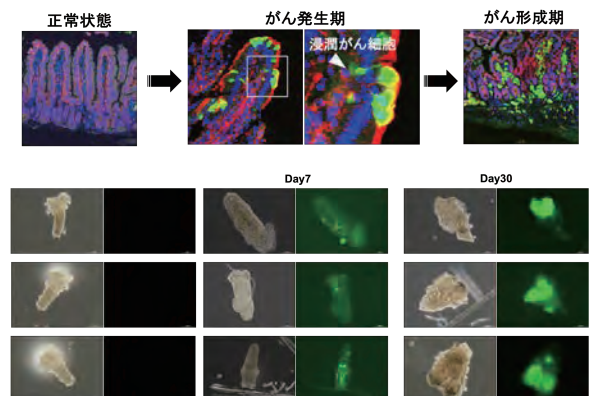


図5. *de novo* 発がんマウスの時期特異的絨毛の回収  
*de novo* 発がんマウスに Ras 変異誘導 7, 30 日後の絨毛を回収した様子を示す。

## ■結論

本研究では、*de novo* 発がんマウスを用いた Visium 解析を行い、がんが進行する過程における遺伝子発現様式の遷移を追跡した。その結果、リンパ管内皮細胞にて EndMT が誘導されることを突き止めた。本マウスはリンパ行性特異的にがん細胞が転移することが以前に分かっていた。また、腸管の whole mount 染色法を立ち上げ、がん細胞がリンパ管に侵襲する様子を詳細に解析した結果、腸管間質内に浸潤したがん細胞が組織内を拡充するにつれて、腸管の既存リンパ管構造である乳糜管が退行することがこれまでに明らかとなっている。一般的に、がん細胞は血管新生と同様にリンパ管の新生を促し（腫瘍リンパ管新生）、これががん細胞のリンパ管侵襲を助長するという説がこれまでの趨勢であったが、今回発見した現象はこれとは相反する結果であった。また、個体の老化や慢性炎症などの病変では EndMT が誘導され、リンパ管の構造が脆弱化することが知られているが、がんと EndMT の関連についてはよく分かっていない。本研究で得られた成果より、*de novo* がん細胞はリンパ管内皮細胞に EndMT を誘導することにより、リンパ管構造を破綻させ、リンパ管内に侵襲することが十分考えられた。従って、本成果はがん細胞のリンパ管転移機構の理解に資することが今後期待でき、将来的にはこの過程を制御する分子群を同定し、新規のリンパ行性転移の治療法確立へと昇華していきたい。

Visium 解析を行ううえで十分に考慮すべきことは、1つのスポットではおおよそ 10 細胞ほどが含まれているため、これら複数の細胞の遺伝子発現の平均を解析していることである。すなわち、1細胞レベルで発現に「揺らぎ」が生じる分子を同定することは Visium 解析では不可能であるため、真のがん臨界点を同定するためには異なる解析法が必須である。本研究では、がん発生期またはがん形成期の絨毛を 1 本単位単離し、1細胞 RNAseq 解析を行う手法を確立した。今後は、このオミクスデータを解析し、がん臨界点を規定する揺らぎ分子群や、がん臨界点で同期的に揺らぎが生じる間質細胞クラスターとしての揺らぎ細胞群を同定する予定である。

## タンパク質メチル化に対する和漢薬作用の生化学的効果の検証と代謝疾患への応用

申請代表者	深水 昭吉	筑波大学 生存ダイナミクス研究センター	教授
所外共同研究者	加香 孝一郎	筑波大学 生命環境系	講師
所外共同研究者	大徳 浩照	筑波大学 生存ダイナミクス研究センター	講師
研究統括者	中川 嘉	和漢医薬学総合研究所	教授

### ■背景・目的

メチル化は、DNA、RNA（mRNA、tRNA、rRNA、lncRNA）やタンパク質に共通する化学修飾であり、遺伝情報のエピゲノム制御を介して、脂質・糖代謝、血圧や細胞老化など、生活習慣や栄養代謝調節と密接に関連する生体機能に大きな役割を果たしている。ヒストン、転写因子やシグナル伝達因子などのタンパク質のメチル化は、メチル基供与体である *S*-adenosyl-L-methionine（SAM）を利用してメチル基転移酵素（MTase）によって触媒される。MTase は、塩基性アミノ酸のリジン、アルギニンやヒスチジン残基の側鎖に SAM からメチル基を転移させ、タンパク質の活性や安定性、タンパク-タンパク間相互作用などを調節するが、メチル化の変動が生活習慣病発症の一因となることも報告されている。

当研究室では、メチルアミノ酸を網羅的に解析する測定系を開発し、アルギニン残基やヒスチジン残基をメチル化する酵素の同定に成功している。2021 年度には、メチルアミノ酸網羅的解析技術を活用し、生薬由来化合物のタンパク質メチル化に対する生化学的効果を検証し、代謝性疾患の治療への応用をめざすことを目的とした研究を開始し、複雑系解析分野の中川 嘉 教授グループとの共同研究として、抗アレルギーや胆汁酸分泌促進の作用で知られる黄芩（コガネバナ）の成分について、マウス肝臓由来の AML12 細胞を用いてタンパク質メチル化に対する影響を調べたところ、アルギニン及びヒスチジンのメチルアミノ酸では、いずれの化合物を添加した場合も顕著な変化が認められなかったのに対し、メチルリジン、特に MML 及び DML においてのみ、バイカリン添加で顕著に減少していることが明らかとなった。バイカリンによるこの作用は、アグリコンであるバイカレイン部分の作用に加え、グルクロン酸部分の代謝を介してリジンメチル化タンパク質の脱メチル化酵素 LSD1 を活性化しているという新しい可能性を示唆することができた。

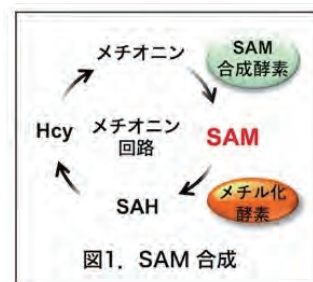
昨年度は、上記のような培養細胞を用いることのメリットを活かした実験系で、リジン残基のメチル化に対する生薬の効果を検討することができた。そこで本年度では、昨年度に変化が把握できなかったアルギニンメチル化タンパク質の反応に対する生薬の生化学的作用について、*in vitro* のメチル化アッセイを利用して、タンパク質のアルギニンメチル化反応への作用の測定を試みることにした。

### ■結果・考察



## 種目 (特定研究)

必須アミノ酸であるメチオニンと ATP から SAM 合成酵素によって生成される SAM は、MTase によるタンパク質のメチル化反応に利用される (図 1)。さらに最近では、RNA のメチル化にも SAM が利用され、スプライシングなどの細胞機能に重要な役割を果たしていることが明らかになりつつある (*EMBO J.* 40, e106434, 2021)。従って、SAM 誘導体である adenosine dialdehyde (AdOx) や 5'-methylthioadenosine (MTA) は細胞内メチル化反応に対する広汎な阻害剤として作用する (*Nature Rev. Cancer* 13, 37, 2013)。一方で、メチル化反応を活性化するような分子は同定されておらず、これらの研究は大きく立ち遅れている。

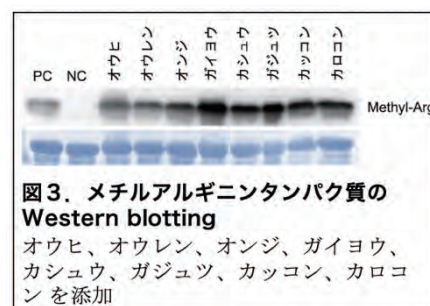
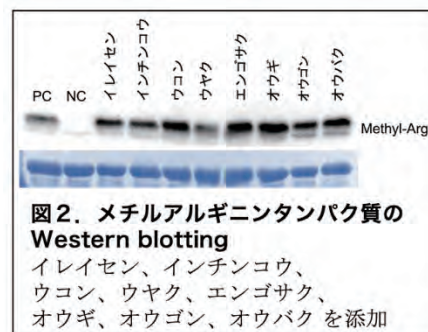


本申請研究においては、生薬由来の化合物を細胞に添加して、タンパク質を抽出後に酸加水分解し、メチルアミノ酸が酸加水分解後も安定であることを利用して、メチルリジン、メチルアルギニンとメチルヒスチジンの変動をタンパク質メチル化への生化学的効果と捉えることが可能となっている (*J. Biol. Chem.* 297, 101230, 2021; *J. Biochem.* in press, doi: 10.1093/jb/mvad042, 2023)。さらに、より簡便な方法として、抗-メチルアルギニン抗体 (anti-ASYM26) を用いることで、アルギニンメチル化タンパク質を Western blotting で検出できる方法が確立されているため (*Mol. Cell. Biol.* 37, e00504-16, 2017)、生薬のアルギニンメチル化触媒反応への抑制、あるいは活性化効果を検討することが可能である。

そこで「タンパク質メチル化に対する和漢薬作用の生化学的効果の検証」として、貴研究所が所有する生薬ライブラリーを活用させていただき、生薬の持つタンパク質アルギニンメチル化の効果を検討した。尚、本来であれば培養細胞を用いた検証が理想的であるが、生薬成分の細胞への浸透性などに鑑み、まずは *in vitro* のメチル化反応系を利用して、32 種類の生薬について、それらアルギニンメチル化への効果を検証した。32 種類の生薬は、以下のものを使用した：イレイセン、インチンコウ、ウコン、ウヤク、エンゴサク、オウギ、オウゴン、オウバク、オウヒ、オウレン、オンジ、ガイヨウ、カシュウ、ガジュツ、カッコン、カロコン、カンキョウ、カンゾウ、キキョウ、キクカ、キジツ、キョウカツ、キョウニン、クジン、クマザサ、ケイガイ、ケイケツトウ、ケイヒ、ゲンジン、コウカ、ゴウカンビ、コウジン。

本研究で使用したタンパク質のアルギニンメチル化反応は、大腸菌で発現させて精製した GST-PRMT1 と、その基質として Ewing's sarcoma タンパク質である EWS の一部である GST-RGG3 を用いて、メチル基供与体である SAM を加え、そこに貴研究所の生薬を添加することで *in vitro* のアッセイ系とした。アルギニンメチル化の *in vitro* メチル化アッセイ系は、実施者らによって既に確立されている (*Int. J. Mol. Med.* 22, 309-315, 2008; *Mol. Cell* 32, 221-231, 2008; *Cell Metab.* 13, 505-516, 2011; *Science Adv.* 4, e1500615, 2015; *iScience* 8, 200-213, 2018)。

まず、図 2～図 5 の *in vitro* 反応系 (37°C、2 時間) では、positive control (PC) として「GST-PRMT1+GST-RGG3+SAM」を、negative control (NC1) として「GST-PRMT1+GST-RGG3 (SAM 不添加)」を使用した。図 2 では「GST-PRMT1+GST-RGG3+SAM」の反応系にイレイセン、インチンコウ、ウコン、ウヤク、エンゴサク、オウギ、オウゴン、オウバクをそれぞれ添加して Western blotting を行った。図 3 ではオウヒ、オウレン、オンジ、ガイヨウ、カシュウ、ガジュツ、カッコン、カロコンを、図 4 ではカンキョウ、カンゾウ、キキョウ、キクカ、キジツ、キョウカツ、キョウニン、クジン、図 5 ではクマザサ、ケイガイ、ケイケツトウ、ケイヒ、ゲンジン、コウカ、ゴウカン



## 種目 (特定研究)

ビ、コウジンをそれぞれ添加して、anti-ASYM26を用いてWestern blottingを行った。また、図2～図5までの結果について、Image Lab (ver. 6.1, BIO-RAD) で測定し、それらの変化を、図6にまとめた。

図6からは、興味深い結果が幾つか読み取れる。その一つが、PRMT1を起点とするアルギニンメチル化の*in vitro*反応に対して、オウギ、オウバク、ガイヨウ、ガジュツ、カッコン、カロコン、キクカ、キジツ、キヨウカツ、キョウニン、クジン、ケイヒが2倍以上の活性化を誘導しており、その中でも、ガイヨウ、ガジュツ、カッコンは3倍程度の活性化作用を有していることが伺える。一方、カンキョウはPRMT1を起点とするアルギニンメチル化の*in vitro*反応に対して、その活性を半分程度に抑制する効果が観察された。

さて、PRMTファミリー遺伝子はゲノム中に9種類が同定されているが、その中でも非対称型アルギニンメチル化を触媒するPRMT1と、対称型アルギニンメチル化を触媒するPRMT5は抗がん剤開発の標的分子としても注目されている (Nat. Rev. Drug Discov. 20, 509-530, 2021)。今回の研究によって、本来は嘔吐、咳、下痢、手足の冷え、腹部・腰部・胸部の疼痛を改善する薬方に配合されるカンキョウが、PRMT1を起点とするアルギニンメチル化の*in vitro*反応に対してその活性を半分程度に抑制する作用を有する可能性が見出されたことから、新しい効果の検討材料になる可能性が示唆される。抗がん作用というPRMT活性の抑制という観点からは、対称型メチル化反応を触媒する

PRMT5に対しても生薬が作用する可能性も考えられる。今後は、*in vitro*のアルギニンメチル化反応系を利用したPRMT5に対する生薬の効果を検討することも価値のあることではないかと推察される。

カンキョウのPRMT1を起点とするアルギニンメチル化の*in vitro*反応に対する抑制効果に対して、オウギ、オウバク、ガイヨウ、ガジュツ、カッコン、カロコン、キクカ、キジツ、キヨウカツ、キョウニン、クジン、ケイヒが2倍以上の活性化を誘導している点は、現在までPRMTの活性化剤に関する報告がほとんどない中、重要な示唆を与える結果であると考えられる。細胞や個体からPRMT1ノックダウン、あるいはノックアウトした場合、細胞種やノックダウン、ノックアウトのタイミングにも依存するが、細胞死や個体死が誘導されるケースが多く報告されていることから、PRMT1は恒常性維持に必須であると推察される。以上のことから、生薬によってPRMT1を活性化できるとすると、細胞や個体の恒常性維持に貢献することが期待できる。

今回、*in vitro*のアッセイ系に生薬を加えるが、メチル基供与体であるSAMを添加しない「GST-PRMT1+GST-RGG2+生薬」の反応系は行っていない。このもう一つのnegative control (NC2)の反応性の設定は、新たなメチル基供与体を内包している生薬を見出すことにもつながるのではと推察される。このアイデアを想起させる論文として、Szegediらは亜鉛要求性の金属酵素であるヒトbetaine-homocysteine methyltransferase-2 (BHMT-2)が、キャベツ由来の生薬成分であるS-methylmethionine (SMM: vitamin U)をメチル基供与体として利用しているというものが挙げられる (J. Biol. Chem. 283, 8939-8945, 2008)。すなわ

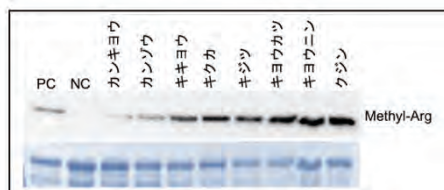


図4. メチルアルギニンタンパク質の Western blotting

カンキョウ、カンゾウ、キキョウ、キクカ、キジツ、キヨウカツ、キョウニン、クジン

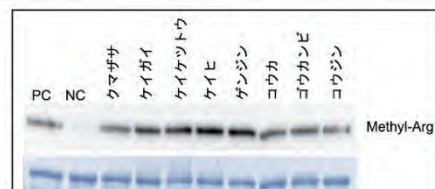


図5. メチルアルギニンタンパク質の Western blotting

クマザサ、ケイガイ、ケイケツトウ、ケイヒ、ゲンジン、コウカ、ゴウカンピ、コウジンを添加

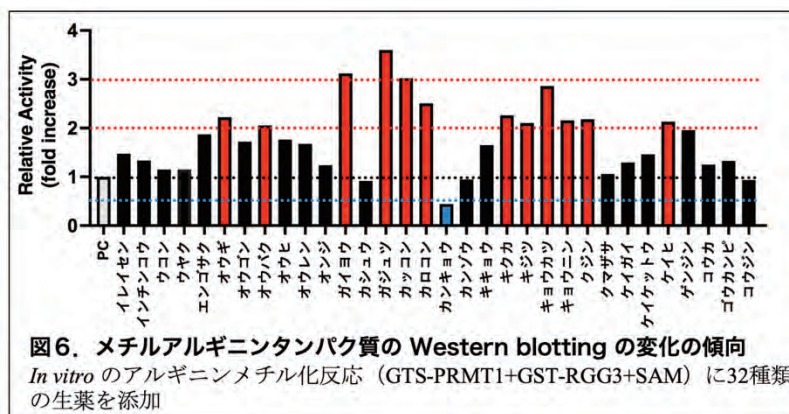


図6. メチルアルギニンタンパク質の Western blotting の変化の傾向

*In vitro*のアルギニンメチル化反応 (GTS-PRMT1+GST-RGG3+SAM) に32種類の生薬を添加

## 種目（特定研究）

ち、NC2の反応から、もしアルギニンメチル化反応が検出されるとすると、SAMだけでなく、SMMやそれ以外のメチル基供与体が生薬の中に包含されている可能性が浮上する。このように、生薬には未知なる地平線が広がっていることが期待できる。

## ■結論

32種類の生薬（イレイセン、インチンコウ、ウコン、ウヤク、エンゴサク、オウギ、オウゴン、オウバク、オウヒ、オウレン、オンジ、ガイヨウ、カシュウ、ガジュツ、カッコン、カロコン、カンキョウ、カンゾウ、キキョウ、ククカ、キジツ、キョウカツ、キョウニン、クジン、クマザサ、ケイガイ、ケイケツトウ、ケイヒ、ゲンジン、コウカ、ゴウカンビ、コウジン）を利用し、PRMT1を介するアルギニンメチル化の*in vitro*反応に対する効果を検証した結果、オウギ、オウバク、ガイヨウ、ガジュツ、カッコン、カロコン、ククカ、キジツ、キョウカツ、キョウニン、クジン、ケイヒが2倍以上の活性化を誘導しており、その中でも、ガイヨウ、ガジュツ、カッコンは3倍程度の活性化作用を有している可能性が示唆された。また、カンキョウはPRMT1を起点とするアルギニンメチル化の*in vitro*反応に対して、その活性を半分程度に抑制する効果が観察された。



## マウス ES 細胞の初期分化過程における単細胞 RNA シーケンスのデータに対する DNB 解析の適応条件の検討と遷移状態の生物学的な理解

申請代表者	佐々木 健介	理化学研究所生命機能科学研究センター・先端バイオイメーjing研究チーム	研究員
所外共同研究者	渡邊 朋信	理化学研究所生命機能科学研究センター・先端バイオイメーjing研究チーム	チームリーダー
所外共同研究者	春木 孝之	富山大学学術研究部都市デザイン学系	准教授
所外共同研究者	米澤 翔汰	富山大学学術研究部都市デザイン学系	研究支援員
研究統括者	小泉 桂一	富山大学研究開発部門未病分野	教授

### ■背景・目的

複雑系数理学の動的ネットワークバイオマーカー (DNB) 理論を用いて<sup>1)</sup>、生体の遺伝子レベルでのゆらぎを捉える事により未病状態 (健康から疾病への遷移状態) を検出できることが、研究統括者の小泉らによって示されている<sup>2)</sup>。この報告を深化させることで、DNB 理論は未病状態のみならず細胞分化の遷移状態も検出可能であるとの仮説のもと基礎研究を行ってきた。実際に 2019~2020 年の共同研究により、T 細胞の活性化および iPS 細胞の分化過程の経時的なランダムスペクトルデータを DNB 解析することで、それぞれの遷移状態の検出が可能であることが、渡邊らとの共同研究によって明らかにされた<sup>3, 4)</sup>。しかしながら、個々のランダムスペクトルデータのピークからは特定の分子を完全には同定することができないため、T 細胞の活性化および iPS 細胞の分化の遷移状態の生物学的な理解は難しい。また、マイクロアレイやバルク RNA シークエンシング (RNA-seq) の遺伝子発現データは、アレイデザインにより検出される遺伝子数が制限されること、平均化により稀有な細胞や低発現遺伝子の検出が困難であるという問題点があった。

マウス胚性幹細胞 (ES) は着床前胚盤胞の内部細胞塊から樹立され、成体のすべての組織へ分化する多能性を持つが、着床後胚のエピブラストから樹立されるエピブラスト幹細胞 (EpiSC) は、生殖系列への寄与が ES 細胞に比べて劣るという性質を持ち、前者は Naïve 型、後者は Primed 型幹細胞と呼ばれている<sup>5)</sup>。Naïve から Primed へ培養下で状態遷移を誘導することができ、両者の間では遺伝子発現状態が変化することが明らかにされているが、その中間状態における遺伝子発現ネットワークのゆらぎと分化の関連性については明らかでない。本研究では生物学的な機能情報が類推可能な単細胞 RNA-seq (scRNA-seq) のデータ、特に Naïve から Primed へ状態遷移にあるマウス ES 細胞のデータに対して、DNB 解析を適応するための情報解析学的な条件検討を行い、検出された遷移状態におけるゆらぎの生物学的な理解を目指す。

### ■結果・考察

本研究では Naïve から Primed へ遷移している mES 細胞 (MB3 株) の scRNA-seq データを用いた<sup>6)</sup>。ここでは mES 細胞を分化誘導用の培地 (ActivinA, bFGF, knockout serum replacement、および IWP2 を含む DMEM/F12 培地) で数日間培養し、分化誘導前 (day0) から 1 日ごとに細胞を回収し (day1~4) scRNA-seq を行っている (n=70 cells, day0; 83, day1; 76, day2; 74, day3; 132, day4)。取得された 47,069 個の遺伝子のうち、タンパク質コード領域は 22,007 個であった。さらに、すべての時点で閾値以下の遺伝子を除くと 18,176 個であった。scRNA-seq のデータは細胞個々から取得される遺伝子発現データである

## 種目 (特定研究)

ため、ノイズやダイナミックレンジが大きく、また欠損値（発現量0）も多くなる。DNB 理論では等分散検定を行い、相関係数を算出するため、細胞状態に依存して発現がなくなるような変化の大きい遺伝子は解析から除外されてしまう。これら遺伝子を回収するためにまず欠損値穴埋めを検討した（図1）。

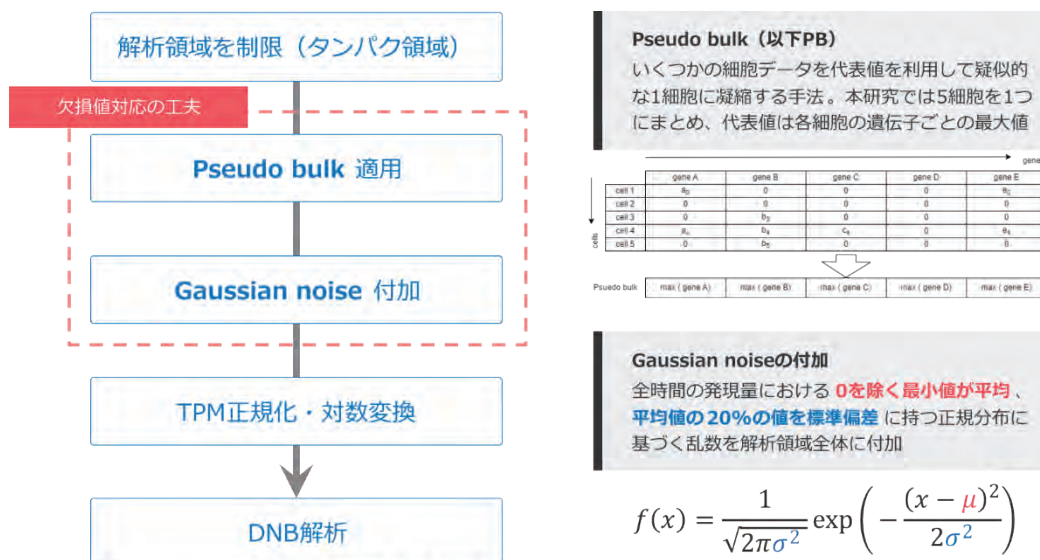


図1. DNB解析のためのscRNA-seqデータ欠損値処理方法

主成分分析でデータの分布を調べたところ、疑似バルク (PB) に導入する細胞数が増えるにつれてばらつきが小さくなっていたが、遷移状態のデータ分布に変化は見られなかった。一方、ガウスノイズで穴埋めした場合には、データの分布にほとんど影響しなかった。5細胞の最大値でPBを適用し、さらにガウスノイズを付加した場合には、欠損値が原因で解析対象から除外されていた2,823の遺伝子のうち、99.7% (2814) の遺伝子を上記手法により回収することができた（表1）。

表1: 処理条件による解析可能遺伝子数の変化

解析領域	総遺伝子数	全時点で発現なしを除く	対照群で発現なしを除く
全遺伝子領域	47,069	29,856	22,376
タンパク質領域	22,007	18,176	15,353
PB(max, 5)+Noise	22,007	18,167	①18,167
PB(max, 5)	22,007	18,167	②15,353

回収された遺伝子を含む18,167のタンパク質コード遺伝子を用いてDNB解析を行った。Naïve状態からPrimedに遷移する際のDNBを検出するため、day0 (ES、Naïve状態)を対照群、それ以外を実験群として、各状態におけるDNB遺伝子候補 (DNBGs)を検出した (Day1DNB, Day2DNB, ..., Day4DNB、表2)。各時点においてもっとも大きなDNBGクラスターをみると、day1で最も大きなDNBGs候補が検出され、遷移が進むにつれて数が減少していた (表2、DNB1)。さらに、各時点には大きさのちがうDNBGクラスターが複数検出された。このことから、状態遷移の早期に遺伝子発現ネットワークの再構成が起きていること、そして、各状態において複数の遺伝子発現ネットワークがゆらいでいることが示唆された。Day3DNBクラスターおよびDay4DNBクラスターの中にはNanogやEsrrbなど、ゆらぎと分化の可能性が示唆されている遺伝子が見出された<sup>7, 8, 9)</sup>。以上の結果から、本手法によってscRNA-seqデータに対してDNB理論をすることで、生物学的意義のあるゆらぎを検出できる可能性が示された。

## 種目 (特定研究)

表 2. scRNA-seqデータから検出されたDNB遺伝子候補

	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4
DNB1	93	89	74	31
DNB2	55	74	73	29
DNB3	39	64	71	28

Naïve から Primed への遷移においては中間状態 epiblast like cell (EpiLC、およそ day2 に相当) が示唆されており<sup>10)</sup>、これを過ぎた EpiSC (Primed 状態) では生殖系列への分化能が著しく減少することが知られている。上記成果はこの中間状態を経て Primed に遷移する状態ゆらぎを検出していると期待できるが、本研究で検出された DNBGs と分化との関係性は明確ではなく、より詳細に調べる必要がある。加えて、Primed 状態の EpiSC は三胚葉へと分化する前の段階であるため、その前後においても何らかの遺伝子ネットワークにゆらぎが生じると考えられる。分化時間と細胞運命に応じた遺伝子発現ネットワークがゆらいでいる可能性を明らかにするため、さらなる研究が望まれる。

## ■結論

DNB 理論では、変数のゆらぎや変数間の相関を利用して遷移状態の早期予兆を検出する。本研究によって欠損値の多い scRNA-seq データに対して DNB 理論を適用するための処理方法を検証し、DNB 理論の適用範囲を拡大することに成功した。高次元な生体情報に対して「ゆらぎ」と「時間軸」の視点から遷移状態を検出できることが示された。DNBGs と既知の遺伝子機能や遺伝子発現ネットワークとの関連性を明らかにする必要があるが、遷移状態の生物学的な意義を解明することで細胞分化だけでなく未病を理解することの基盤になると期待している。

## 参考文献

- 1) Chen, L. (2012) Sci Rep. 2, 342. DOI: 10.1038/srep00342.
- 2) Koizumi, K. (2019) Sci Rep. 9, 8767. DOI: 10.1038/s41598-019-45119-w.
- 3) Ichimura, T. et al. (2016) Sci Rep 6, 37562. DOI:10.1038/srep37562
- 4) Haruki, T. et al. (2022) Biomolecules 12, 1730. DOI:10.3390/biom12121730
- 5) Weinberger, L. et al. (2016) Nat Rev Mol Cell Biol 17, 155. DOI:10.1038/nrm.2015.28
- 6) Bottcher, M. et al. (2020) bioRxiv. DOI:10.1101/2020.09.25.313239
- 7) Okamoto, K. et al. (2018) Sci Rep 8, 11965. DOI:10.1038/s41598-018-30461-2
- 8) Levy, SH. et al. (2022) Stem Cell Report 17, 1334. DOI: 10.1016/j.stemcr.2022.04.016
- 9) MacArthur, BD. et al. (2009) Nat Rev Mol Cell Bio 10, 672. DOI:10.1038/nrm2766
- 10) Hayashi, K. et al. (2011) Cell 4, 19. DOI: 10.1016/j.cell.2011.06.052

## 植物稀少有用化合物の生産を指向した放線菌休眠二次代謝覚醒化システムの確立

申請代表者 荒川 賢治 広島大学大学院統合生命科学研究科 准教授  
 所内共同研究者 森田 洋行 天然物創薬学領域 教授

### ■背景・目的

生薬資源の確保が困難になってきた今日にあつて、和漢薬等の有効成分の効率的生産法の開発や稀少有用成分高含量植物の生産法の開発は益々重要な課題である。その方策の一つとして、酵母等に天然物の生合成遺伝子を組み込むことで、稀少有用化合物を効率的に生産する方法などが挙げられる。一方、これらの生産性の向上を図る上で、導入した生合成遺伝子を効率的に高生産可能なシグナル分子や制御タンパク質の開発、および現在一般的に用いられている酵母等の宿主よりも高生産を可能にする宿主の探索も必要である。本研究では、放線菌を新たなモデル宿主として着目する。放線菌は微生物の中でも比較的早くゲノム解読が完了しており、2002年のモデル放線菌 *Streptomyces coelicolor* A3(2) の全塩基配列決定を契機として、現在では1,000株以上のゲノムが公開されている。特筆すべき点は、1株あたり30種類以上の二次代謝産物生合成遺伝子クラスターを有するが、約8割はゲノムの中に「休眠している状態」である。これらの休眠遺伝子を覚醒する試みが世界中の天然物生合成研究者によって試みられているが、休眠遺伝子を覚醒可能なシグナル分子や制御タンパク質を開発できれば、その休眠遺伝子部位に植物由来稀少有用化合物の生合成遺伝子を組み込むことで、放線菌を用いた稀少有用化合物の高生産系の開発に繋がることが期待される。そこで本研究では、シグナル分子と制御タンパクに注目し、その先行研究として、放線菌休眠遺伝子の覚醒化を目指した。

### ■結果・考察

#### 【課題1】シグナル分子による休眠遺伝子覚醒化の実証および分子基盤の解明

放線菌 *Streptomyces rochei* 7434AN4 株は2つの抗生物質ランカサイジン、ランカマイシン (図1A) を生産し、その生産誘導はブテノライド骨格を有するSRB (*Streptomyces rochei* butenolides) により引き起こされる。本分子は、今まで知られているシグナル分子 (図1B) と構造が異なり、異種放線菌で二次代謝誘導を引き起こす可能性が示唆された。そこで、概略図2に示した通り、シグナル分子による休眠二次代謝遺伝子覚醒化を目指した。シグナル分子SRBもしくはその炭化水素を簡略化したC10-SRB, C8-SRBを添加し、その代謝産物のプロファイル変化をSRB添加、非添加で比較検討し、SRBによる代謝誘導を調べた。各種単離放線菌への添加実験では、69株中11株における抗菌性の変化を確認した。この

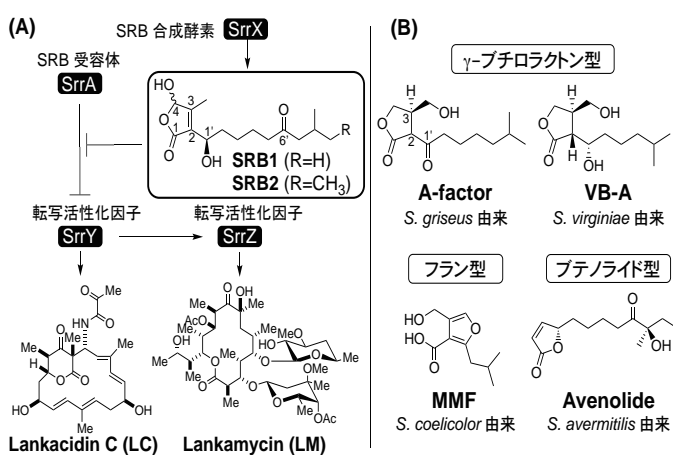


図1 (A) *S. rochei* 二次代謝カスケードおよびシグナル分子SRBの化学構造 (B) *Streptomyces* 属放線菌シグナル分子の化学構造

ことは、本誘導システムが放線菌二次代謝産物のゲノムマイニングに有効である可能性を示すものであり、さらなるその他新規分離源サンプルへの適用により、新規分子骨格を有する代謝産物の獲得が期待できる。



## 種目（特定研究）

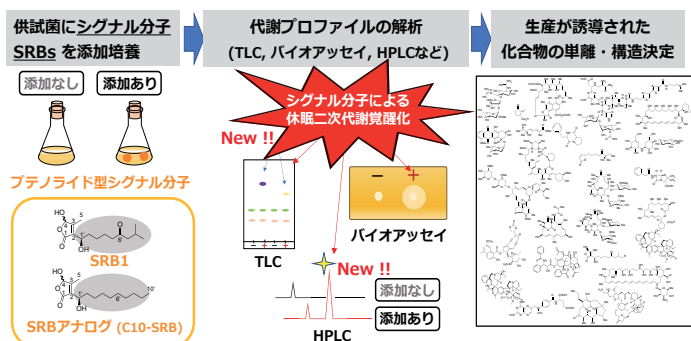


図2 SRBによる休眠遺伝子覚醒化システムの概略図

## [課題2] 膜透過性ポリリジンタグによる制御タンパクの修飾および細胞内送達

二次代謝誘導を制御する制御タンパクに着目し、本研究では activator と repressor に注目した。まずは稿発現系を構築し、次いでタンパクの結晶化に賦す。得られた結晶構造を解析し、タンパク表面のカチオン性残基を調べ、ポリリジンタグを導入しうるアミノ酸残基を選定し、さらにリガンド結合やDNA結合領域の特定を氏、二次代謝制御タンパクの分子基盤を解明する（図3A）。さらに、我々は図3B記載のように膜透過性ポリリジンタグの融合化を検証する。そして、膜透過性ポリリジンタグを融合させた制御タンパクを供試菌に添加して細胞内に送達させ、二次代謝プロファイルの変動を解析する。

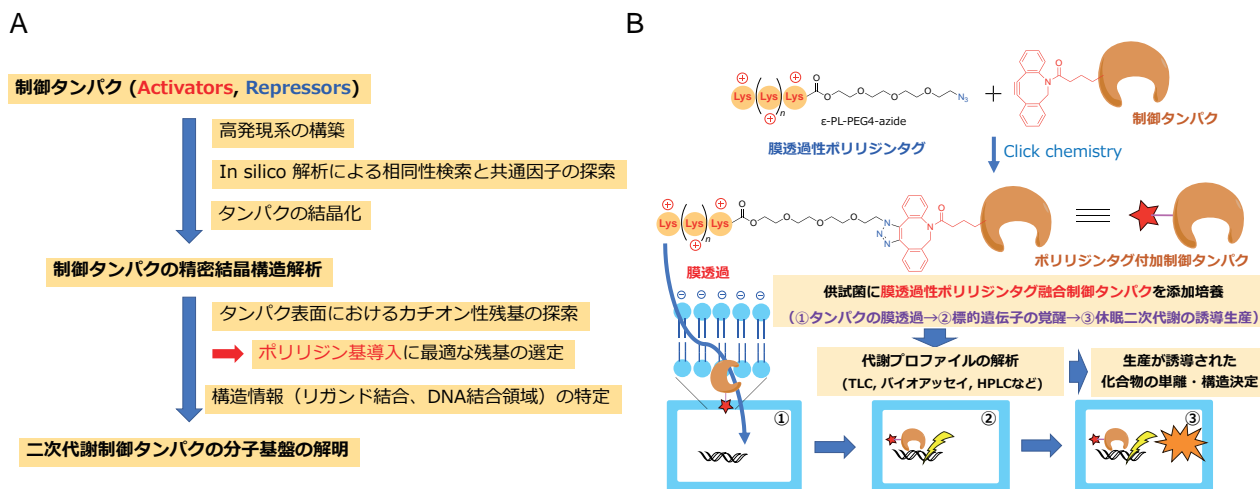


図3 二次代謝制御タンパクの分子基盤解明のフローチャート (A) および膜透過性ポリリジンタグの融合化 (B)

本研究では、森田博士には専門分野である結晶構造解析を担当していただいている。まず、repressor については、[課題1]でも掲げたシグナル分子 SRB の特異的受容体 SrrA を大腸菌にて異種発現し、高純度に精製した SrrA を用いて結晶化を行った結果、微結晶を得ることに成功した。現在、結晶化条件の最適化を進めているところである。一方、activator に関しては、SARP 型転写アクティベーターに注目し、まず、標的遺伝子配列の機能解析を完了(Biosci. Biotechnol. Biochem. 2010)した *Streptomyces rochei* の SARP (*Streptomyces* antibiotic regulatory protein) 型アクティベータータンパク SrrY, SrrZ に取り組んだ。まず、SrrZ を異種の放線菌である *Streptomyces lividans* に導入したところ、その形質転換体は青色色素 actinorhodin を生産した（図

## 種目（特定研究）

4)。このことは SrrZ による actinorhodin 生産誘導を示唆しており、 $\epsilon$ -PL タグ融合型 SrrZ が細胞壁と細胞膜をダイレクトに透過できれば、**遺伝子操作を必要としない休眠遺伝子覚醒の新しいアプローチ**になる。本課題では、大腸菌での大量発現系の構築を目指した。本酵素のタンパク発現は放線菌発現系でのみ可溶性画分での発現が認められていたが、タンパクの機能解析に賦すレベルのタンパク量の調達は困難であった。そこで、発現レベルの向上を目指し、大腸菌発現系で様々なベクター系を試した。しかし、可溶性画分への良好な発現は現段階では認められなかった。コドン usage の検討も含め、徹底的な条件検討を行っていく予定である。

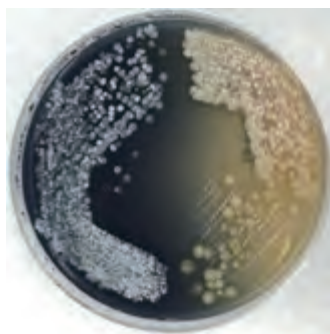


図4 SARP 型アクティベーター-SrrZ による *Streptomyces lividans* での actinorhodin 生産 (左:SrrZ 発現、右:空ベクター)

## ■結論

以下に将来展望と期待できる効果を示す。

生物資源の遺伝情報の中には**眠った医薬シーズの存在**が示唆され、健康長寿や農林水産業、環境保全など「持続可能な開発目標 (SDGs)」への還元が期待される。本研究では「シグナル分子 SRB の添加有無」の比較プロファイル解析に焦点を当てるため、**通常培養非生産の休眠二次代謝産物の検出と生物活性評価**が可能となる。新薬の開発本手法は、シグナル分子の系外からの添加に基づくため、**遺伝子組換えを要しない二次代謝誘導システム**である。このことは、屋外（開放系）試験が非制限であることを示しており、海外を含めた大規模利用が可能である。なお、課題1「シグナル分子による代謝活性化」に用いる SRB は、我々が世界で初めて見いだしたブテノライド型シグナル分子であり、従来のシグナル分子 (図1) と構造が異なる。我々は、SRB に関する構造特性や生化学的性質、さらに誘導體を含めた合成経路を確立しており、他グループの追随を許していない。将来的には、**微生物分離源の開拓**にて新規性の高い放線菌群を単離し、それらの**休眠二次代謝の活性化**を組み合わせる、という相乗効果により、新規化合物獲得の可能性が指数関数的に増強できる。その結果、課題2にて新薬候補となる抗原虫活性を有する新規化合物が見いだされることが大いに期待できる。

従来法においてはベクターによる強制発現が多用されている。しかし、ベクターの場合、宿主・ベクター系の相性により複製・形質転換効率が変動するため、各供試菌体における一律でのタンパク発現量の制御は困難である。ブチロラクトン型は 60%、avenolide 型は 24%の放線菌で利用されており、SRB に代表されるブテノライド型は稀少な構造と考えられる。また、放線菌のゲノム解析を行うと、一菌株あたり複数のシグナル分子受容体が存在しており、**異なる分子骨格のシグナル分子を認識する**可能性が示唆される。先行研究として、SRB を系外から添加したところ、84 株中 16 株において二次代謝生産の違い、11 株にて抗菌活性の変化が見られた。このことは、シグナル分子が各供試菌の細胞内に送達されること、さらに**休眠遺伝子の活性化に適用可能**であることを強く示唆している。さらに、シグナル分子は土壌中の自由拡散が可能と考えられ、



## 種目（特定研究）

植物・微生物間相互作用への関与が示唆される。本研究の遂行により、植物稀少有用化合物の生産も期待できる。**[課題 2]**にて取り組む**膜透過性タグ融合型タンパク**は、系外にて調製したタンパクを利用するため、細胞内制御を考える必要はなく、異種菌株の細胞内にも一律のタンパク量を送達可能である。結果・考察の項目でも述べたように、既に代表者らは、*Streptomyces lividans* TK64 に対する *S. rochei* 由来 SARP タンパク SrrZ の異種発現において、青色色素 actinorhodin の生産誘導を明らかにしている。このように**制御タンパクによる休眠二次代謝遺伝子の覚醒化**が期待できる。

さらに、本研究は放線菌の多様性に応じたシステム構築が可能であり、**[課題 1]** に関しては、ブテノライド骨格および C-2 位側鎖の**収束型合成スキーム**を既に構築済み (ChemBioChem 2012; Biomolecules 2020) であり、シグナル分子受容体の基質認識に即応した分子設計が可能である。さらに **[課題 2]** においては、ポリリジンタグを様々な制御タンパクに **click chemistry** にて縮合させるため、タグおよびタンパクの多様な組み合わせ設定が容易であり、本研究成果は、植物稀少有用化合物の生産に繋がることが期待される。

## 植物性医薬品開発のための和漢薬の網羅的精密分析

申請代表者	丸山 卓郎	国立医薬品食品衛生研究所	生薬部	主任研究官
所外共同研究者	政田 さやか	国立医薬品食品衛生研究所	生薬部	室長
所外共同研究者	後藤 佑斗	国立医薬品食品衛生研究所	生薬部	派遣研究員
研究統括者	當銘 一文	富山大学和漢医薬学総合研究所	薬用資源管理部門	准教授
所内共同研究者	小松 かつ子	富山大学和漢医薬学総合研究所	神経機能学領域	研究員

## ■背景・目的

天然物医薬品は、天然由来であるがゆえに、含有成分の組成、含量にバラツキが生じ、品質を一定に保つことが難しいという不安定な要素を持っている。生薬の品質に大きな影響を与える因子としては、原料植物の遺伝的背景の違い、栽培／野生の別、産地などの生育条件の違い、加工調製法の違いなどが挙げられる。このため、天然物医薬品の開発には、薬効成分の同定や臨床研究の他に、上記の因子を理解し、効果的なレギュレーションを課すことにより、一定した成分組成、量を有する生薬を確保することが重要である。

本研究では、検討対象品目として、ニクジュヨウ、バクモンドウ及びショウブコンを選択し、これらの生薬について、遺伝的多様性と LC/MS, GC/MS 分析の結果を結び付けた解析を実施し、各標的疾患に適した、あるいは、安全性の高い成分組成を持つ生薬資源の探索、特定を目指した。

## ■結果・考察

ニクジュヨウ（肉蓯蓉）は、古来、腎陽を補い、精血を増し、腸を潤し、便を通ずるなどの効能で応用されており、神農本草経の上品に収載されてきた。日本薬局方<sup>1</sup>においてその基原は、ハマウツボ科（Orobanchaceae）の *Cistanche salsa* (C. A. Meyer) G. Beck, *C. deserticola* Y. C. Ma, 又は *C. tubulosa* (Schrenk) Wight の肉質茎であると規定されている。これらの内、*C. deserticola* 及び *C. tubulosa* は中華人民共和国薬典<sup>2</sup>にも基原として規定されている。東田らは、ニクジュヨウに含まれる acteoside (= verbascoside) が骨格筋機能改善作用をもつこと、さらに本化合物の投与により、骨格筋から pyruvate kinase M2 (PKM2) が分泌され、中枢神経系へ移行し軸索伸展促進作用と骨格筋増加作用を示すことを明らかにしている<sup>3</sup>。さらに、acteoside にグルコースが 1 分子追加された echinacoside についても活性化化合物である可能性を検討している。本研究では、基原種や産地の異なるニクジュヨウの成分的多様性を明らかにし、それらに含まれる 2 つの活性化化合物及びそれらの関連化合物の含量を調べることを目的とした。昨年度までにニクジュヨウ抽出物に含まれる成分の <sup>1</sup>H NMR による定量法 (qHNMR 法) 及び、HPLC による定量法の開発を行っており、今年度は、これらを応用しニクジュヨウ抽出物に含まれる acteoside 関連化合物の定量を行った。

*Cistanche* 属肉質茎の 80%メタノール抽出物について、ODS カラムを用いた HPLC 法で echinacoside, acteoside, tubuloside A, isoacteoside の定量を行った。その結果、echinacoside の含量が最も高く、次いで acteoside, tubuloside A, isoacteoside の順であった。これら成分の含量は、サンプルにより大きくばらついており、基原や産地の違いより、個体差による影響が大きいことがわかった。個体差が大きい

## 種目（特定研究）

原因として、サンプリングを行った際の部位が統一できていなかった可能性が考えられた。今後は、複数の検体を用いて、肉質茎全体を細かく分けてサンプリングし、それぞれの抽出物の成分含量を定量することで、部位による含量の違いを検討したい。

昨年度の検討で、ニクジュヨウの代表的な成分である echinacoside, acteoside, isoacteoside の qHNMR 法による定量法を開発しており、今回本法を適用した定量を行った。echinacoside, acteoside の定量に用いるシグナルとして caffeic acid ユニットの 7 位のプロトンに由来するシグナル ( $\delta_{H7}$  7.9 ppm) を用いた。化学構造の類似性から、定量に用いたシグナルは両化合物で近いケミカルシフト値を示すことから区別が難しく、両者を合わせた量として定量を行った。qHNMR では、含量はモル濃度として算出されるため、得られた両化合物を合わせたモル濃度を acteoside のモル濃度として換算し、acteoside 換算の濃度として算出した。qHNMR と HPLC での echinacoside, acteoside の定量結果を acteoside 換算の濃度として比較したところ、定量値は完全に一致しているわけではなかったが、定量値の大小の傾向および、およその定量値は一致しており、qHNMR による定量は HPLC と比較し、定量性は少し劣るものの、簡便に echinacoside, acteoside の含量を見積もることができると考えられた。また、いくつかの検体において、HPLC での定量結果より、qHNMR の定量値が大きいものが確認された。この原因として、echinacoside, acteoside と構造が類似しているフェニルエタノイド類の含量が高く、今回 qHNMR で定量対象としたシグナルと重なってしまったことが考えられ、その結果、qHNMR での定量値が高かったことが推測された。

今回の検討では、個体差が大きく、産地や基原による成分含量の違いを見出すことはできなかつた。今後は、検体数を増やし分析を進めるとともに、できるだけ個体差が出ないようなサンプリング法の確立に向けた検討を行い、優良なニクジュヨウの基原種及び産地を明らかにしたい。さらにその結果をもとに、高い有効性が期待できるニクジュヨウの品質に関する知見を蓄積し、高品質のニクジュヨウの選別及びその加工調製法の確立に応用したい。

## 2. バクモンドウ

バクモンドウは、日本薬局方収載生薬の 1 つであり、鎮咳目的に汎用される麦門冬湯など、多数の漢方処方用に使われる重要生薬である。第 18 改正日本薬局方では、バクモンドウの基原をジャノヒゲ *Ophiopogon japonicus* の根の膨大部と規定しているが、原植物であるジャノヒゲには、ナガバジャノヒゲ、セッコウリュウノヒゲなど、分類学者によっては、ジャノヒゲとは、別種あるいは変種として扱われる植物がある<sup>4</sup>。

これらの植物は、狭義のジャノヒゲとは、葉身の形状や地下茎の有無などに違いがあるが、薬用部位である根の膨大部の成分とこれらの狭義の分類との相関関係については、明らかにされていない。そこで本研究では、バクモンドウの品質標準化を目的に、同一条件で栽培されたジャノヒゲ、ナガバジャノヒゲ、セッコウリュウノヒゲから調製したバクモンドウ及び国内市場品について、核 rDNA の internal transcribed spacer (ITS) 配列による基原種鑑別と LC/MS メタボロームによる成分組成解析を行った。

その結果、上記 3 系統は、いずれも ITS 配列に基づいて鑑別可能であり、現在の国内市場品は、ジャノヒゲを基原とすることが確認された。次に、各試料のメタノールエキスについて、LC-HRMS 分析を行い、得られたデータを主成分分析により比較した結果、ジャノヒゲ、ナガバジャノヒゲ及びセッコウリュウノヒゲ由来のバクモンドウは、それぞれ、独自の成分パターンを持つものとして、3つのグループに分離した。一方、各社より購入したバクモンドウ市場品は、ジャノヒゲを基原とするにも関わらず、セッコウリュウノヒゲに近い成分組成を示した。

これらの結果から、ジャノヒゲ、ナガバジャノヒゲ、セッコウリュウノヒゲは、独自の遺伝子配列、成分組成を示すことが判明した。また、このことから、含有成分組成には、遺伝的背景の違いが寄与するものと推定された。一方で、国内市場品との成分比較の結果から、その寄与の程度は、それほど大きくないと考えられた。従って、成分組成の面からは、日局が規定するジャノヒゲ *O. japonicus* は、広義の意味として、ナガバジャノヒゲ、セッコウリュウノヒゲを含むものと考えて問題ないものと考えられた。

## 種目 (特定研究)

続いて、それぞれのグループの分離に寄与する成分、すなわち、各グループを特徴付けている成分の推定を行った。Negative ion mode, positive ion mode のデータの主成分分析におけるローディングプロットを基に、各グループの分離に寄与していると推定された変数の精密質量値から推定された化合物は、以下の通りである。

**ジャノヒゲ**: ophiopogonin A, B, C'

**ナガバジャノヒゲ**: spirost-5-ene-1,3-diol glycoside, ophiojaponin E, borneol 7-O-glycoside, ophiopogonone E

**セッコウリュウノヒゲ**: ophiopogonin A, P, Q, ophiopogonin D, H, ophiofurospiside F

上記の化合物のうち、borneol 7-O-glycoside は、モノテルペン配糖体、ophiopogonone E は、ホモイソフラボンであり、その他は、全てステロイドサポニン類である。Ophiopogon 属植物の主二次代謝成分には、ステロイドサポニン類の他に、ホモイソフラボン類があるが、今回の主成分分析では、成分パターンの違いに寄与する化合物として、主にステロイドサポニン類が検出され、ホモイソフラボン類については、ナガバジャノヒゲにおいて、2化合物が検出されるのみであった。その背景として、ステロイドサポニン類とホモイソフラボン類の含量差があることが疑われた。そこで、今回の研究に使用した試料のメタノールエキスを調製し、混合物のまま <sup>1</sup>H-NMR スペクトルを測定した結果、ステロイドサポニン類に由来するメチレン水素のシグナルに比べて、ホモイソフラボン類に由来する芳香族水素のシグナルはわずかであった。このことから、全データを用いた主成分分析では、量的に多いステロイドサポニンの寄与が大きく見積もられたため、各グループの特徴成分として優位に検出されたものと推定された。

そこで次に、検索条件を変更し、分類に寄与するホモイソフラボン類の探索を行った。Ophiopogon 属植物から報告されているホモイソフラボン類の分子量は、大きいものでも 450 程度であり、分子量 600 を超えるステロイドサポニン類とは差があることから、この差を利用し、主成分分析に利用する LC/MS データから、質量数 450 を超えるものを削除して解析を行った。その結果、ジャノヒゲ、ナガバジャノヒゲ、セッコウリュウノヒゲの各グループに分離する点は、全データによる主成分分析の結果と変わらなかったが、ステロイドサポニン類の影響を排除した解析では、市場品も独立のグループを形成した。それぞれのグループの分離に寄与している成分をローディングプロットから推定した結果、以下に示す通り、多くのホモイソフラボン類が認められた。

**ジャノヒゲ**: ophiogonone F, ophiogonone C

**ナガバジャノヒゲ**: ophiogonone A, ophiopogonone E

**セッコウリュウノヒゲ**: ophiogonone C, 8-methylphiopogonone A

このことから、ジャノヒゲ、ナガバジャノヒゲ、セッコウリュウノヒゲは、ステロイドサポニン類だけでなく、ホモイソフラボン類の組成も異なっていることが明らかになった。

### 3. ショウブコン

ショウブコンは、ショウブ *Acorus calamus* の根茎を基原とする生薬であり、類似生薬であるセキショウコンとともに、一般用医薬品製造販売承認基準の胃腸薬基準に掲載されている。両者は、よく似た外観を有することから、しばしば誤用されるものの、ショウブコンには、公的規格がない。また、Sugimoto ら<sup>5</sup>は、ショウブコンに複数の精油型が存在することを報告している。そこで、本研究では、ショウブコンの品質標準化を目的に、ショウブコン及びセキショウコン市場品の遺伝子解析及び GC/MS 分析を行った。

昨年度、ショウブコン市場品 9 検体 (安徽省, 広西産, 各 3 ロット, 江西省, 浙江省, 湖北省産, 各 1 ロット), セキショウコン市場品 3 検体 (安徽省産 2 ロット及び四川省産) について、5S rDNA IGS 領域, 核 rDNA の ITS1 領域及び葉緑体 DNA の *psbA-trnH* IGS 領域の塩基配列解析を行い、5S rDNA IGS 領域及び ITS1 領域が、ショウブコン及びセキショウコンの鑑別に適していることを見出した。また、Sugimoto らは、国内で収集した *A. calamus* について、5S rDNA IGS 領域の塩基配列解析を行い、3 つの遺伝子型に分かれることを報告しているが、本研究の試料においては、このうちの 2 つと、両者の混合物が認められた。



## 種目（特定研究）

同じ試料について、GC/MSによる精油成分の分析を行った。Sugimotoらの報告通り、ほぼアサロンのみからなる chemotype A、アサロンは僅かで、セスキテルペン類と推定される多数の成分を含む chemotype B、両者の中間型である chemotype M の全てが認められたが、それらに属さない chemotype として、アサロンとメチルオイゲノールと推定される成分（chemotype C とする）が、同程度含まれるものが検出された。一方、セキショウコン市場品は、全て chemotype A であった。

それぞれの精油型を持つショウブコン試料及びセキショウコンを用いて TLC 分析を行った結果、いずれの試料にも、アサロンに相当するスポットは認められるが、その他のスポットのパターンに若干の差異が認められた。今後、展開条件を変えて検討を行い、アサロンの他に特徴となるスポットを見出し、セキショウコンとの鑑別が可能な確認試験の設定を行う。

## ■結論

ニクジュヨウについては、基原種や産地の異なるニクジュヨウの成分的多様性を明らかにすること、活性成分の定量を目的として、HPLC法、qHNMR法による検討を行い、フェニルエタノイド類の定量を行った。活性成分であるフェニルエタノイド類の高いサンプルの存在を確認した一方で、成分含量はサンプルにより大きくばらついており、基原や産地の違いより、個体差による影響が大きいことがわかった。本生薬については入手した材料ごとに成分含量をしっかりと評価する必要があると考えられた。

バクモンドウについては、広義のジャノヒゲに包含されるナガバジャノヒゲ、セッコウリュウノヒゲとの含有成分比較を行った結果、狭義のジャノヒゲも含めて、それぞれ、独自の成分組成を示したが、ジャノヒゲを基原とする中国産の国内市場品は、セッコウリュウノヒゲに近い成分組成を示したことから、含有成分に対する遺伝的な背景の寄与は大きくないと推察された。また、日局が規定するバクモンドウの基原植物 *Ophiopogon japonicus* は、成分化学的な面からは、広義のジャノヒゲと捉えて問題ないと考えられた。

ショウブコンについても、精油成分組成に多様性が確認され、既報の情報との比較から、主産地である中国では、国内産のものよりも、多様性が大きいことが示唆された。毒性物質であるアサロンの含量が低い個体も見出されていることから、今後、アサロン含量の低い個体に特徴的な成分を指標とした確認試験を設定することで、より安全性の高いショウブコンの流通を促すことができると考えている。

## 参考文献

- 1) 厚生労働省, 2021年. 第十八改正日本薬局方, pp. 2017-2018.
- 2) 国家薬典委員会編, 2015年. 中華人民共和国薬典 2015版, 第一部, p. 135, 中国医薬科技出版社, 北京.
- 3) Kodani A., Kikuchi T., Tohda C., *J. Neurotrauma.*, **36**, 1935-1948 (2019).
- 4) Fukuda T., *J. Jap. Bot.*, **94**, 306-317 (2019).
- 5) Sugimoto N., Kiuchi F., Mikage M., Mori M., Mizukami H., Tsuda Y., *Biol. Pharm. Bull.*, **22**, 481-485 (1999).

## 生薬・漢方ライブラリを用いた嫌気性腸内細菌の増殖評価

申請代表者	森永芳智	学術研究部医学系	教授
共同研究者	山田博司	学術研究部医学系	助教
	岡本世紀		元協力研究員

### ■背景・目的

漢方方剤は、少なくとも2種類以上の複数の生薬の組み合わせからなる複雑な多成分系製剤であり、生薬から抽出した有効成分には生薬由来化合物として特定されているものもある。近年、腸内細菌叢と宿主の健康や疾患との関係性についての理解が少しずつ深まってきており、漢方の有効性の背景にも細菌叢の影響が関係している可能性があると言われている。漢方方剤の多くが経口的に摂取された後、宿主と腸内細菌やそれらが産生する酵素による代謝を受け薬効を示すと考えられるが、嫌気性腸内細菌への影響は明らかになっていない。そこで、生薬由来化合物、生薬、漢方方剤からなる漢方エキスが腸管内偏性嫌気性細菌の増殖に与える影響についてスクリーニング実験を行った。

### ■結果・考察

偏性嫌気性菌6菌種について培養に与える漢方エキ斯拉イブラリーの影響を評価した。

全6菌種で増殖抑制効果を示した生薬由来化合物はBerberine、Coptisine、Glabridinであった。また、全6菌種で増殖促進効果を示した生薬由来化合物はNodakenin、Praeruptorin A、Gomisin A、Gomisin N、Schizandrin、Paeonol、[6]-shogaol、Rosmarinic Acid、Puerarin、Loganin、Limonin、Astragaloside IV、Ginsenoside RG1であった。生薬レベルでは、計24種類の生薬において6菌種すべてで増殖促進を示したが、増殖抑制を示したのは黄連の1種類のみであった。漢方方剤においては、葛根湯をはじめとした9種類で増殖促進を示した一方で、増殖抑制を示す漢方方剤は今回のスクリーニング実験において見つからなかった。

生薬由来化合物レベルで増殖抑制効果を示した化合物の2つは塩基性窒素をもつalkaroid類であり、この共通構造が細菌増殖を抑制する可能性があると考えられた。一方増殖促進効果を示した化合物では、coumarin類、lignan類、phenol類、polyphenol類に2つ以上の化合物を含んでおり、更に構造上phenylalanine骨格、phenol骨格を確認できるものを多く含み、アミノ酸代謝との関係が存在する可能性が示唆された。

化合物が持つ特定の構造が細菌の増殖の修飾に繋がっている可能性が考えられた。漢方を服用した際にも、腸内環境における嫌気性菌の増殖を修飾し、腸内細菌叢を介した作用が薬効に影響している可能性が考えられた。

### ■結論

漢方は、嫌気性腸内細菌の増殖を修飾する。その増殖修飾作用には、含まれる生薬由来化合物に特定の構造が関与している可能性がある。



## 運動神経—骨格筋間の軸索投射を促進する生薬エキスの探索と慢性期脊髄損傷マウスの運動機能改善作用への効果

申請代表者	楊 熙蒙	富山大学 和漢医薬学総合研究所 神経機能学領域	助教
共同研究者	東田 千尋	富山大学 和漢医薬学総合研究所 神経機能学領域	教授

### ■背景・目的

我々の先行研究により、後肢をギプス固定によって不動化させた廃用性筋萎縮モデルマウスでは、骨格筋萎縮及び運動機能障害が生じることと、骨格筋への運動神経の軸索投射が減少することを明らかにした。つまり、萎縮した骨格筋へは運動神経の軸索が投射しにくくなっており、それによって運動機能が障害される可能性が考えられた。そこで、もし種々の骨格筋萎縮を伴う病態（慢性期脊髄損傷、サルコペニア等）において、運動神経—骨格筋間の軸索投射を増強することができれば、運動機能の回復を目指せるのではないかと考えた。よって本研究では、骨格筋細胞への処置によって、運動神経細胞の軸索伸長を促進するような新たな素材を和漢薬ライブラリーの生薬エキスより探索することを目的とした。

### ■結果・考察

生後1日目の ddY マウス由来骨格筋細胞を7日間初代培養し、続いて各種生薬熱水抽出エキス (10 µg/ml) を2日間処置した。その後、各生薬エキスを含む培養液を除き、骨格筋細胞の上から胎生14日目の ddY マウス由来脊髄神経細胞（運動神経細胞を含む）を重層培養した。その7日後に、重層培養した脊髄神経細胞の軸索の長さを蛍光免疫染色で評価した。検討した20種類の生薬エキスのうち、骨格筋細胞への処置によって、重層培養された脊髄神経細胞の軸索が有意に伸長したものとして、黄耆、蒺藜子、五味子を見出した。また、これら黄耆、蒺藜子、五味子エキス (10 µg/ml) のいずれの処置によっても、初代培養骨格筋細胞の増殖及び分化が有意に促進された。本結果により、黄耆、蒺藜子、または五味子を骨格筋細胞に作用させることによって、運動神経の軸索が骨格筋細胞に投射しやすくなる可能性が示された。

### ■結論

骨格筋細胞への処置により、運動神経の軸索伸長を促進する生薬エキスとして黄耆、蒺藜子、五味子を見出した。運動機能改善を目指した従来の研究のほとんどは、運動神経の軸索を伸ばすことにのみ着眼されてきたが、本研究の結果は、運動神経の軸索の投射先である骨格筋側に変化を与えることで、運動神経の軸索伸長が高まることを示唆している。今後は、骨格筋萎縮病態のモデル動物に対するこれら生薬エキスの有効性を行動学的、組織学的に検討するとともに、効果を示した生薬エキス中の活性成分を同定し、その作用メカニズムの解明を進めていく。

和漢医薬学総合研究所年報

第49巻

令和5年4月

編集  
発行所


富山大学和漢医薬学総合研究所  
〒930-0194 富山市杉谷2630番地  
TEL (076) 434-2281(代)

印刷所

(株) なかたに印刷  
〒939-2741 富山市婦中町中名1554-23  
TEL (076) 465-2341(代)





リサイクル適性 

この印刷物は、印刷用の紙へ  
リサイクルできます。