



研究分野

タンパク質の生物物理学

Measurement and functional analysis of proteins

教員とスタッフ

教授	伊藤 悦朗
講師	植木 正二
研究補佐員	山岸 美貴
研究補佐員	森川 美佳
研究補佐員	兼田 麦穂
研究補佐員	山下 真奈美

研究の概要

【課題1】極微量タンパク質の定量法の開発（伊藤悦朗、森川美佳、兼田麦穂）

1) 目的：1つの細胞の中の1つのタンパク質を定量する方法を開発し、極微量タンパク質超高感度定量法の試薬やキット製造などの事業化へと結びつける。

2) 成果：酵素サイクリング法を用いて、既存の方法の約1万倍の高感度検出までできるようになっており、現時点では簡便性や汎用性について検討を進めている。

3) 今後の予定：さらなる超高感度化を目指す一方、取り扱う対象を広げて、実用化を進める。また簡易型計測機の開発を進める。

4) 外部資金導入実績：文部科学省・イノベーション整備事業・地域イノベーションクラスタープログラム（グローバル型）、（独）科学技術振興機構・先端計測分析技術・機器開発事業、（独）日本学術振興会・科学研究費補助金。

5) 共同研究：複数の国内企業ならびに国内外他大学との共同研究。

【課題2】学習・記憶の分子機構（伊藤悦朗、山岸美貴、森川美佳、兼田麦穂）

1) 目的：モデル動物である軟体動物腹足類を用いて、学習・記憶の分子機構を明らかにする。

2) 成果：インスリンが長期記憶に深く関与することを明らかにできた。

3) 今後の予定：脳内でのグルコース濃度やインスリン濃度の測定を行い、満腹状態や飢餓状態での脳内機構を研究する。

4) 外部資金導入実績：文部科学省・イノベーション整備事業・地域イノベーションクラスタープログラム（グローバル型）、（独）日本学術振興会・科学研究費補助金。

5) 共同研究：複数の国内企業ならびに国内外他大学との共同研究。

【課題3】部位特異的スピンラベル（SDSL）電子スピン共鳴（ESR）によるタンパク質分子の動的構造研究（植木正二）

1) 目的：SDSL-ESR法を用いて、機能発現の際のタンパク質の構造変化や相互作用をとらえる。また、新規ESR装置の開発および測定法の開発。

2) 成果：モータータンパク質キネシンにおける基質結合の際の構造変化を測定した。

3) 今後の予定：新規スピンラベル法の開発、心筋収縮制御タンパク質トロポニンへの応用。

4) 外部資金導入実績：物質・デバイス領域共同研究拠点

5) 共同研究：国内他大学との共同研究。

外部誌上发表表（2010年~2015年3月）

[原著論文]

2014

- Okada, R., Ikeno, H., Kimura, T., Ohashi, M., Aonuma, H., and Ito, E. (2014) Error in the honeybee waggle dance improves foraging flexibility. *Sci Rep* 4, 4175.
- Mita, K., Yamagishi, M., Fujito, Y., Lukowiak, K., and Ito, E. (2014) An increase in insulin is important for the acquisition conditioned taste aversion in *Lymnaea*. *Neurobiol Learn Mem* 116, 132-138.
- Mita, K., Okuta, A., Okada, R., Hatakeyama, D., Otsuka, E., Yamagishi, M., Morikawa, M., Naganuma, Y., Fujito, Y., Dyakonova, V., Lukowiak, K., and Ito, E. (2014) What are the elements of motivation for acquisition of conditioned taste aversion? *Neurobiol Learn Mem* 107, 1-12.
- Matsuo, R., Kobayashi, S., Wakiya, K., Yamagishi, M., Fukuoka, M., and Ito, E. (2014) The cholinergic system in the olfactory center of the terrestrial slug *Limax*. *J Comp Neurol* 522, 2951-2966.
- Watabe, S., Kodama, H., Kaneda, M., Morikawa, M., Nakaishi, K., Yoshimura, T., Iwai, S., Miura, T., and Ito, E. (2014) Ultrasensitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) of proteins by combination with the thio-NAD cycling method. *BIOPHYSICS* 10, 49-54.
- Yasuda, S., Yanagi, T., Yamada, M., Ueki, S., Maruta, S., Inoue, A. and Arata, T. (2014) Nucleotide-dependent displacement and dynamics of the alpha-1 helix in kinesin revealed by site-directed spin labeling EPR. *Biophys Biochem Res Commun* 443, 911-916.

2013

- Murakami, J., Okada, R., Sadamoto, H., Kobayashi, S., Mita, K., Sakamoto, Y., Yamagishi, M., Hatakeyama, D., Otsuka, E., Okuta, A., Sunada, H., Takigami, S., Sakakibara, M., Fujito, Y., Awaji, M., Moriyama, S., Lukowiak, K., and Ito, E. (2013) Involvement of insulin-like peptide in long-term synaptic plasticity and long-term memory of the pond snail *Lymnaea stagnalis*. *J Neurosci* 33, 371-383.
- Elekes, K., Battonyai, I., Kobayashi, S., and Ito, E. (2013) Organization of the procererebrum in terrestrial pulmonates (*Helix*, *Limax*) reconsidered: Cell mass layer synaptology and its serotonergic input system. *Brain Struct Funct* 218, 477-490.
- Murakami, J., Okada, R., Fujito, Y., Sakakibara, M., Lukowiak, K., and Ito, E. (2013) Paired pulse ratio analysis of insulin-induced synaptic plasticity in the snail brain. *J Exp*

Biol 216, 1771-1773.

4. Hatakeyama, D., Okuta, A., Otsuka, E., Lukowiak, K., and Ito, E. (2013) Consolidation of long-term memory by insulin in *Lymnaea* is not brought about by changing the number of insulin receptors. *Commun Integr Biol* 6, e23955.
5. Ito, E., Watabe, S., Morikawa, M., Kodama, H., Okada, R., and Miura, T. (2013) Detection of H₂O₂ by fluorescence correlation spectroscopy. *Methods Enzymol* 526, 135-143.
6. Iwai, A., Yoshimura, T., Wada, K., Watabe, S., Sakamoto, Y., Ito, E., and Miura, T. (2013) Spectrophotometric method for the assay of steroid 5 α -reductase activity of rat liver and prostate microsomes. *Anal Sci* 29, 455-459.
7. Matsuo, R., Yamagishi, M., Wakiya, K., Tanaka, Y., and Ito, E. (2013) Target innervation is necessary for neuronal polyploidization in the terrestrial slug *Limax*. *Dev Neurobiol* 73, 609-620.
8. Otsuka, E., Matsunaga, M., Okada, R., Yamagishi, M., Okuta, A., Lukowiak, K., and Ito, E. (2013) Increase in cyclic AMP concentration in a cerebral giant interneuron mimics part of a memory trace for conditioned taste aversion of the pond snail. *BIOPHYSICS* 9, 161-166.
9. Tanimoto, E., Karasawa, S., Ueki, S., Nitta, N., Aoki, I., and Koga, N. (2013) Unexpectedly large water-proton relaxivity of TEMPO incorporated into micelle-oligonucleotides. *RSC Adv* 3, 3531-3534.

2012

1. Yamagishi, M., Ito, E., and Matsuo, R. (2012) Whole genome amplification in large neurons of the terrestrial slug *Limax*. *J Neurochem* 122, 727-737.
2. Ito, E., Otsuka, E., Hama, N., Aonuma, H., Okada, R., Hatakeyama, D., Fujito, Y., and Kobayashi, S. (2012) Memory trace in feeding neural circuitry underlying conditioned taste aversion in *Lymnaea*. *PLoS ONE* 7, e43151.
3. Okada, R., Akamatsu, T., Iwata, K., Ikeno, H., Kimura, T., Ohashi, M., Aonuma, H., and Ito, E. (2012) Waggle dance effect: dancing in autumn reduces the weight loss of a honeybee colony. *J Exp Biol* 215, 1633-1641.
4. Kobayashi, S., Matsuo, R., Sadamoto, H., Watanabe, S., and Ito, E. (2012) Excitatory effects of GABA on procerebrum neurons in a slug. *J Neurophysiol* 108, 989-998.
5. Okada, O., Odai, K., Sugimoto, T., and Ito, E. (2012) Molecular dynamics simulations for glutamate-binding and cleft-closing processes of the ligand-binding domain of GluR2. *Biophys Chem* 162, 35-44.
6. Ito, E., Okada, R., Sakamoto, Y., Otsuka, E., Mita, K., Okuta, A., Sunada, H., and Sakakibara, M. (2012) Insulin and memory in *Lymnaea*. *Acta Biol Hung* 63 (Suppl. 2), 320-327.
7. Matsuo, R., Yamagishi, M., and Ito, E. (2012) Analyses of DNA endoreplication in the brain neurons in the terrestrial slug *Limax valentianus*. *Acta Biol Hung* 63 (Suppl. 2), 297-304.
8. Kobayashi, S., and Ito, E. (2012) GABAergic effects on the slow oscillatory neural activities in the procerebrum of *Limax valentianus*. *Acta Biol Hung* 63 (Suppl.2), 217-221.
9. Okada, R., Ikeno, H., Kimura, T., Ohashi, M., Aonuma, H., and Ito, E. (2012) Mathematical analysis of the honeybee waggle dance. *Acta Biol Hung* 63 (Suppl. 2), 201-205.
10. Abe, J., Ueki, S., Arata, T., Nakazawa, S., Yamauchi, S., and Ohba, Y. (2012) Improved sensitivity by isotopic substitution in distance measurements based on double quantum coherence EPR. *Appl Magn Reson* 42, 473-485.

2011

1. Yamagishi, M., Ito, E., and Matsuo, R. (2011) DNA endoreplication in the brain neurons during body growth of an adult slug. *J Neurosci* 31, 5596-5604.
2. Matsuo, R., Kobayashi, S., Morishita, F. and Ito, E. (2011) Expression of Asn-d-Trp-Phe-NH₂ in the brain of the

terrestrial slug *Limax valentianus*. *Comp Biochem Physiol B* 160, 89-93.

3. Watabe, S., Sakamoto, Y., Morikawa, M., Okada, R., Miura, T. and Ito, E. (2011) Highly sensitive determination of hydrogen peroxide and glucose by fluorescence correlation spectroscopy. *PLoS ONE* 6, e22955.
4. Sadamoto, H., Saito, K., Muto, H., Kinjo, M. and Ito, E. (2011) Direct observation of dimerization between different CREB1 isoforms in a living cell. *PLoS ONE* 6, e20285.
5. Kawai, R., Kobayashi, S., Fujito, Y. and Ito, E. (2011) Multiple subtypes of serotonin receptors in the feeding circuit of a pond snail. *Zool Sci* 28, 517-525.
6. D'Este, L., Casini, A., Kimura, S., Bellier, J.-P., Ito, E., Kimura, H. and Renda, T.G. (2011) Immunohistochemical demonstration of cholinergic structures in central ganglia of the slug (*Limax maximus*, *Limax valentianus*). *Neurochem Int* 58, 605-611.
7. Kita, S., Hashiba, R., Ueki, S., Kimoto, Y., Abe, Y., Gotoda, Y., Suzuki, R., Uraki, E., Nara, N., Kanazawa, A., Hatakeyama, D., Kawai, R., Fujito, Y., Lukowiak, K. and Ito, E. (2011) Does conditioned taste aversion learning in the pond snail *Lymnaea stagnalis* produce conditioned fear? *Biol Bull* 220, 71-81.

2010

1. Matsuo, R., Kobayashi, S., Murakami, J., and Ito, E. (2010) Spontaneous recovery of the injured higher olfactory center in the terrestrial slug *Limax*. *PLoS ONE* 5, e9054.
2. Hatakeyama, D., Mita, K., Kobayashi, S., Sadamoto, H., Fujito, Y., Hiripi, L., Elekes, K. and Ito, E. (2010) Glutamate transporters in the central nervous system of a pond snail. *J Neurosci Res* 88, 1374-1386.
3. Matsuo, R., Kawaguchi, E., Yamagishi, M., Amano, T., and Ito, E. (2010) Unilateral memory storage in the procerebrum of the terrestrial slug *Limax*. *Neurobiol Learn Mem* 93, 337-342.
4. Sadamoto, H., Kitahashi, T., Fujito, Y., and Ito, E. (2010) Learning-dependent gene expression of CREB1 isoforms in the molluscan brain. *Front Behav Neurosci* 4, 25.
5. Matsuo, R., Kobayashi, S., Tanaka, Y., and Ito, E. (2010) Effects of tentacle amputation and regeneration on the morphology and activity of the olfactory center of the terrestrial slug *Limax valentianus*. *J Exp Biol* 213, 3144-3149.
6. Kobayashi, S., Hattori, M., Elekes, K., Ito, E., and Matsuo, R. (2010) FMRFamide regulates oscillatory activity of the olfactory center in the slug. *Eur J Neurosci* 32, 1180-1192.
7. Okada, R., Ikeno, H., Kimura, T., Ohashi, M., Aonuma, H., and Ito, E. (2010) Markov model of honeybee social behavior. *Information* 13, 1115-1130.
8. Miyamae, Y., Komuro, M., Murata, A., Aono, K., Nishikata, K., Kanazawa, A., Fujito, Y., Komatsu, T., Ito, D., Abe, T., Nagayama, M., Uchida, T., Gohara, K., Murakami, J., Kawai, R., Hatakeyama, D., Lukowiak, K., and Ito, E. (2010) Contrary effects of octopamine receptor ligands on behavioral and neuronal changes in locomotion of *Lymnaea*. *Biol Bull* 218, 6-14.
9. Aihara, T., Nakamura, M., Ueki, S., Hara, H., Miki, M., and Arata, T. (2010) Switch action of troponin on muscle thin filament as revealed by spin labeling and pulsed EPR. *J Biol Chem* 285, 10671-10677.

[英文総説]

1. Ito, E., Hsu, W.L., and Yoshioka, T. (2014) A role for proton signaling in the induction of somatic cells to pluripotent embryonic stem cells. *J Phys Chem Biophys* 4, 2.
2. Ito, E., Kojima, S., Lukowiak, K., and Sakakibara, M. (2013) From likes to dislikes: conditioned taste aversion in the pond snail *Lymnaea stagnalis*. *Can J Zool* 91, 405-412.



3. Ito, E., Matsuo, R., and Okada, R. (2013) Involvement of nitric oxide in memory formation in microbrains. *Neurosci Lett* 541, 1-3.
4. Matsuo, R., and Ito, E. (2012) Robustness and adaptive flexibility of the pulmonate's brain, (Snails: Biology, Ecology and Conservation, E. M. Hämäläinen and S. Järvinen eds., Nova Science Publishers, NY) pp.151-162.
5. Matsuo, R., and Ito, E. (2011) Spontaneous regeneration of the central nervous system in gastropods. *Biol Bull* 221, 35-42.
6. Matsuo, R., Kobayashi, S., Yamagishi, M., and Ito, E. (2011) Two pairs of tentacles and a pair of procerebra in Pulmonata: optimized functions and redundant structures in the sensory and central organs involved in olfactory learning of terrestrial pulmonates. *J Exp Biol* 214, 879-886.

[著書・訳書]

1. ラリー・R・スクワイア、エリック・R・カンドル著、訳者 (50音順) 伊藤悦朗、桐野豊、小西史朗、宋時栄 (2013)「記憶のしくみ」上下巻 講談社ブルーバックス、講談社.
2. 伊藤悦朗 (2013)「モノアラガイ」行動生物学辞典、東京化学同人.

[邦文総説・解説等]

1. 伊藤悦朗 (2013)「アメフラシの学習メカニズム」高校生物指導資料、東京書籍.
2. 岡田龍一、伊藤悦朗 (2013)「脳はどこまでわかってきたか：神経可塑性に着目して」*パリティ*、28 (4), 24-32.
3. 伊藤悦朗、渡部聡 (2012)「タンパク質超高感度測定法の開発 —ELISA 法と酵素サイクリング法との組み合わせの試み—」*臨床病理* 60, 1088-1093.
4. 定本久世、伊藤悦朗 (2011)「mRNA 絶対定量法によって明らかにされた長期記憶時の転写調節因子 CREB の増減」*生物物理* 51, 18-21.
5. 植木正二 (2010)「スピララベル法によるタンパク質研究の現在」*生物物理* 50, 212-213.

生物物理, 51: 18-21 (2011)

口頭発表・学会発表 (2014年~2015年3月)

1. 伊藤悦朗「転写調節因子のコトミメティクス」第26回自律分散システムシンポジウム (SICE2013) (東京) 2014年1月23日.
2. Ito, E. Insulin and glucose for conditioned taste aversion in *Lymnaea*. Hokkaido Neuroethology Workshop 2014, Small brains, bright minds: Learning and memory in invertebrates, Sapporo, Japan, Jul. 28, 2014.
3. 伊藤悦朗「神経細胞内ならびに神経細胞間のコト」日本動物学会第85回大会コトロジー創成 (仙台) 2014年9月12日.
4. Ueda, K., Yamamoto, A., Ueda, Y., Aihara, T., Ueki, S., Miki, M. and Arata, T. Calcium-dependent structural dynamics of actin and tropomyosin in the thin filament with bound myosin heads in rigor state as studied by spin-labeling EPR spectroscopy. APES-IES-SEST 2014, Nara, Japan, Nov. 12-16, 2014.

特許

1. なし

その他、新聞報道等

1. なし



研究分野

行動学的手法による神経科学研究

Behavioral Neuroscience

教員

- 教授 桐野 豊 着任年月日：2006年4月1日
 最終学歴：1972年3月 東京大学大学院薬学系研究科博士課程修了。薬学博士
 前職：東京大学大学院薬学系研究科 教授。東京大学理事・副学長
- 准教授 岸本泰司 着任年月日：2006年4月1日
 最終学歴：2001年3月 東京大学大学院薬学系研究科博士課程修了。博士（薬学）
 前職：日本学術振興会特別研究員(PD) (大阪大学医学部、金沢大学医学部、NIH/NIMH)
- 助教 窪田剛志 着任年月日：2005年4月1日
 最終学歴：2005年3月 九州大学大学院薬学府博士課程修了。博士（薬学）
 前職：九州大学大学院生（薬学府 博士課程）

研究の概要

課題 1. 瞬目反射条件付けをはじめとした各種行動学的解析手法による神経科学研究 (岸本、桐野)

1) 研究の達成目標、その意義・背景

瞬目反射条件付け(eyeblink classical conditioning; EBCC)は、条件刺激 (CS、音) と無条件刺激 (US、まぶたへの微弱な電気刺激) の時間的關係により、遅延課題とトレース課題の二つに大別される。遅延課題は、CS の開始に遅れて US が始まり、同時に終了する。この課題には小脳と脳幹が必須である。一方、トレース課題では、CS と US の間に無刺激の空白時間 (Trace Interval, TI と呼ぶ) がある。この課題のうち、TI が大きいものには、海馬が必須となる。これらのことは主としてウサギを用いた先人の研究から明らかにされていた。

我々は、遺伝子組み替え動物としてのマウスを用いる研究が重要になると考え、マウス、ラット等の小型齧歯類を用いた研究を 19 年前に開始した (東京大学薬学部薬品製造工学教室)。現在カニクイザル等の小型霊長類、さらにはヒトを用いた臨床心理検査研究へと展開をはかっている。現在、この瞬目反射条件付けのみならず、モリス式水迷路試験、恐怖条件付け、自発的行動解析システムといった多くの行動課題を併用することにより、疾病や薬の副作用のメカニズムの解明に切り込むことも目的として研究を進めている。

2) 目標達成状況

瞬目反射学習のメカニズムに関しては「小脳の長期抑圧 (LTD)」説という有力な仮説がある。この仮説の検証には、LTD を特異的に欠損するノックアウト (KO) マウスの学習能力を調

べることが最も有効である。そこで、1994年に利根川進(MIT)は、PKC γ 、あるいは、mGluR1 の KO マウスを作出した。しかしながら、これらの分子は、小脳以外の組織にも広く分布しているため、小脳LTDを特異的に阻害したマウスと言えず、LTD 仮説の検証に至らなかった。ところが、三品昌美(東大医)は、グルタミン酸受容体サブユニット $\delta 2$ (GluR $\delta 2$) が小脳LTDの生じる平行線維-プルキンエ細胞間シナプスのシナプス後側のみ特異的に発現している、LTD の誘起に必須の分子であることを示した。従って、GluR $\delta 2$ -KO マウスは、小脳LTD が特異的に欠損したマウスであると考えられる。そこで、我々は GluR $\delta 2$ -KO マウスを用いて、EBCC を行ったところ、遅延課題は強く障害されていたが、トレース課題は正常であった (Kishimoto *et al.*, *Eur. J. Neurosci.* 2001)。すなわち、遅延課題は小脳LTD を必須とするが、トレース課題では LTD を必要としない。このように、EBCC には複数のメカニズムがあり、その切り替えは、CS と US の時間的關係によるという、従来全く知られていなかった新規な現象を見出した。近年においては、ある種のフォスファターゼやCB1受容体などの数多くの機能分子が本学習獲得に必須であることを見出し (Kishimoto & Kano, *J. Neurosci.* 2006; Kakizawa *et al.*, *EMBO. J.* 2007; Kina *et al.* *Eur. J. Neurosci.* 2007) (図1参照)、また海馬や小脳の特定神経回路が記憶獲得に果たす機能も明らかにしている (Kishimoto *et al.*, *J. Neurosci.* 2006; Wada *et al.*, *PNAS* 2007, Miyata & Kishimoto *et al.*, *J. Neurosci.* 2011)。

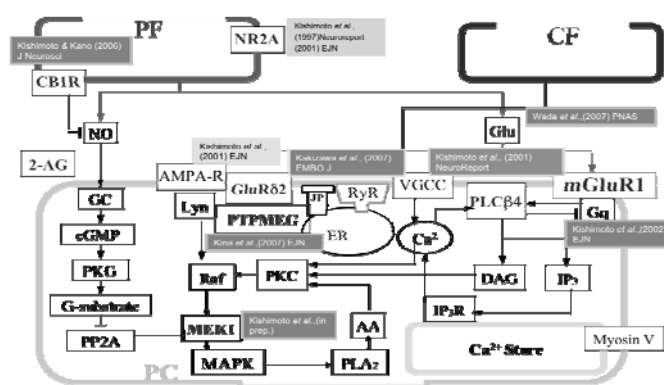


図1. 瞬目反射条件づけ記憶成立に関与する小脳内分子群 引用文献を付したものが我々によって同定された瞬目反射記憶獲得に関与する分子である (PC, プルキンエ細胞; PF, 平行線維; CF, 登上線維).

3) 成果の概要と自己評価

2014年度における主要な成果として、以下の2点を代表例としてあげる。いずれにおいても、種々の行動学解析系を適用することにより、これまでとは異なる新しい視座から、一

端の解明をみたものである。

i) アルツハイマー病モデルマウスの行動認知に対する慢性低還流の影響

脳血管性認知症はアルツハイマー型認知症(AD)と共に主要な認知性疾患である。しかしながら、AD 発症そのものに、脳血管の慢性低還流が関与しているかどうかは十分検討されていない。そこで本研究では、AD モデルマウスに慢性脳低灌流状態を施すことにより、認知機能の障害の発症時期に影響を与えるかどうかを明らかにすることを目的とした。方法として、両側頸動脈結索術を行い、脳への血液量を約 60%に低下させた3×Tg マウス(BCAS)と擬似手術を行った対照用のマウス(CT)に対し、術後一ヶ月後および3ヶ月後に各種認知・行動課題を行った。行動試験としては、モリス式水迷路試験(MWM)、Rota-rod 試験およびホームケージ自動振舞認識システムによる自発性活動試験を用いた。その結果、両側頸動脈結索術1ヶ月後では、BCAS 群と対照群間にMWMにおけるプラットホームへの到達時間に有意差は見られなかった。また Rota-rod 試験においても、有意な行動の変化はみられなかった。しかしながら、術後3ヶ月目では、BCAS 群でMWMにおけるプラットホームへの到達時間が有意に増加していた。これらの結果より、3ヶ月後という長期の慢性脳低灌流状態が、AD 関連認知症状の発現に影響を及ぼす可能性が示された。今後、慢性脳低灌流状態が、どのようなメカニズムでADの発症を加速させるかについて検討を行う予定である。

ii) レチノイン酸オールトランスレチノイン酸 (All Trans Retinoic Acid、以下 ATRA) は、ビタミン A の活性代謝物であり、主に核内受容体のレチノイン酸受容体 (RAR) およびレチノイド X 受容体 (RXR) を介して、その機能を発現する。近年、レチノイン酸およびその誘導体を、比較的長期間(数週間から数か月間)投与することで、アルツハイマー病(AD)モデル動物における Aβ の発現低下、さらには認知機能の回復も報告されている。しかし、こうした効果が、短期間の ATRA 投与によっても現れるかどうかについては十分に検討されていない。そこで、アルツハイマー病態モデルマウス (3×Tg マウス: 8ヶ月齢,オス) に対し、ATRA もしくは PBS を3日間にわたり腹腔内投与 (20 mg/kg/day)し、対照群との比較において、ATRA 投与群で、認知機能や自発行動に変化が生じるかどうかを各種行動課題により評価した。その結果、モリス水迷路において、ATRA 投与群では対象群に比べ、認知機能の有意な改善が認められた (p<0.05)。また、自発性行動試験 (オープンフィールドテストおよびホームケージ活動性解析) により、ATRA 投与が活動量の増加傾向をもたらすことが明らかになった。新奇物体探索試験や Rota-rod 試験においては、有意な行動変化は認められなかった。

外部資金導入状況

(桐野)

日本学術振興会 科学研究費補助金・基盤(C) (代表)

(岸本)

日本学術振興会 科学研究費補助金・基盤(C) (代表)

課題 2. α7 ニコチン性アセチルコリン受容体作動薬の作業記憶増強作用におけるマイクロ RNA-134 の関与 (窪田、桐野)

microRNA-134(miR-134)はα7ニコチン性アセチルコリン受容体(α7nAChR)によって調節される神経の生長や記憶・学習に関連した幾つかの遺伝子に結合することが遺伝子配列から予測されている。本研究では、老化が重大なリスクファクターであるアルツハイマー病の早期段階において障害が認められる作業記憶に着目し、遅延見本合わせ(DMTS)課題を用いて、老齢ラットの作業記憶におけるα7nAChRの関与について検討するとともに、α7nAChRの作用におけるmiRNA-134の影響を検討した。

DMTS 試験には15週齢および15か月齢の雄性Fischer系ラットを使用した。条件付けは3レバーオペラント装置を用い、15日間行った。刺激提示の遅延時間は3秒に固定した。α7nAChR作動薬であるPNU282987はDMTS試験開始30分前に腹腔内に投与した。miR-134オリゴヌクレオチドは72時間毎にDMTS試験開始24時間前に脳室内に投与した。

若齢ラットにおいて、PNU282987は作業記憶の獲得を促進した。そのときの前頭前皮質および海馬におけるmiR-134の発現量は低下していた。PNU282987とmiR-134を併用投与したところ、PNU282987単独投与による作業記憶の促進は抑制された。一方、老齢ラットでは作業記憶の獲得に障害が認められたが、PNU282987投与により回復した。miR-134はCREBやBDNFといったα7nAChRによって調節を受ける記憶関連遺伝子をターゲットとすることが示唆されている。本研究で求められたα7nAChR刺激により惹起した作業記憶の促進は、miR-134の発現低下によりCREBやBDNFのような記憶関連遺伝子の発現が増加したことに起因することが示唆された。

外部誌上発表 (2010年~2015年3月)

[原著論文]

2014

- Ohtani Y, Miyata M, Hashimoto K, Tabata T, Kishimoto Y, Fukaya M, Kase D, Kassai H, Nakao K, Hirata T, Watanabe M, Kano M, Aiba A. (2014) The synaptic targeting of mGluR1 by its carboxyl-terminal domain is crucial for cerebellar function. *J. Neurosci.* **34**, 2702-2712.
- Iihara N, Nishio T, Okura M, Anzai H, Kagawa M, Houchi H, Kirino Y. (2014) Comparing patient dissatisfaction and rational judgment in intentional medication non-adherence versus unintentional non-adherence. *J. Clin. Pharm. Therap.* **39**, 45-5.
- 飯原なおみ、吉田知司、岡田岳人、中妻 章、桐野 豊 (2014) 「わが国のナショナルレセプトデータベースが示した運転等禁止・注意医薬品の使用実態」*医療薬学*, **40** (2), 67-77
- Iihara N, Nishio T, Goda T, Anzai H, Kagawa M, Houchi H, Kirino Y (2014) "Effect of endurance for adverse drug reactions on the preference for aggressive treatments in cancer patients," *Support Care Cancer*, DOI

**2013**

1. Kishimoto Y, Hirono M, Atarashi R, Sakaguchi S, Yoshioka T, Katamine S, Kirino Y (2013) Age-dependent impairment of eyeblink conditioning in prion protein-deficient mice. PLOS ONE 8:e60627
2. Kishimoto Y, Kirino Y (2013) Presenilin 2 mutation accelerates the onset of impairment in trace eyeblink conditioning in a mouse model of Alzheimer's disease overexpressing human mutant amyloid precursor protein. Neurosci. Lett. 538:15-19.
3. Hiasa M*, Isoda Y*, Kishimoto Y*, Saitoh K, Kimura Y, Kanai M, Shibasaki M, Hatakeyama D, Kirino Y, Kuzuhara T (2013) Inhibition of MAO-A and stimulation of behavioural activities in mice by the inactive prodrug form of the anti-influenza agent oseltamivir. Br. J. Pharmacol. 169:115-129. (*Equal contribution)
4. Kishimoto Y, Higashihara E, Fukuta A, Nagao A, Kirino Y (2013) Early impairment in a water-finding test in a longitudinal study of the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. Brain Res. 1491:117-126
5. Ishihara Y, Itoh K, Mitsuda Y, Shimada T, Kubota T, Kato C, Song SY, Kobayashi Y, Mori-Yasumoto K, Sekita S, Kirino Y, Yamazaki T, Shimamoto N (2013) Involvement of brain oxidation in the cognitive impairment in a triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease: noninvasive measurement of the brain redox state by magnetic resonance imaging. Free Radic Res. 47: 731-9

2012

1. Kishimoto Y, Oku I, Nishigawa A, Nishimoto A, Kirino Y (2012) Impaired long-trace eyeblink conditioning in a Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. Neurosci. Lett. 506:155-159
2. Kirino Y. (2012) Regulatory science of medical products. Folia Pharmacol. Jpn. 139, 215-218

2011

1. Miyata, M*, Kishimoto Y*, Tanaka, M., Hashimoto, K, Hirashima, N., Murata, Y., Kano, M and Takagishi, Y. (2011) "A role for myosin Va in cerebellar plasticity and motor learning: a possible mechanism underlying neurological disorder in myosin Va disease. J. Neurosci. 31, 6067-6078. (*Equal contribution)
2. 飯原なおみ, 桐野 豊, 山肩大祐, 横井英人, 原量宏 (2011) 院外薬剤師の参加型チーム医療は患者の満足度をあげる—電子処方せんネットワークシステム実証事業のアンケート調査から—. 日本遠隔医療学会雑誌, 7(1): 35-38.

2010

1. 飯原なおみ, 桐野 豊, 原 量宏, 横井英人, 上野哲夫, 原田 顕徳, 中川昌彦, 斎藤幸夫, 森岡 慶, 尾形優子 (2010) 「病院と地域の薬局とを双方向に連携する電子処方せんネットワークシステムの開発」医療情報学, 30(4): 225-231
2. 岸本泰司 「古典的条件づけの学習理論と可逆的遺伝子発現制御システムを用いた実験的検証」生物物理 50, 4 195-198.

[著書・訳書]

1. 桐野 豊 (編著) 「知得流儀—キボウ」白川書院
2. 小西史朗, 桐野 豊, 伊藤悦朗, 宋 時榮=共訳 「記憶のしくみ (上)」講談社ブルーバックス (2013年11月21日). 原著, Larry R. Squire, Eric R. Kandel, "Memory,"

Roberts and Company Publishers, 2009.

3. 小西史朗, 桐野 豊, 伊藤悦朗, 宋 時榮=共訳 「記憶のしくみ (下)」講談社ブルーバックス (2013年12月20日). 原著, Larry R. Squire, Eric R. Kandel, "Memory," Roberts and Company Publishers, 2009.
4. 桐野 豊 (編著) 「徳島文理大学公開講座 No. 4~強い気持ちと柔らかな頭~」かんき出版(2010年12月) pp.284.
5. 桐野 豊 (著) 「薬局薬剤師 ~電子処方せんシステムによる薬局薬剤師の業務支援~」, p.274-279. In 「医療産業の変革 劇的なタイミング ~次世代につなげる生き残り戦略~」(木村廣通監修) かんき出版 (2010年9月) pp.331.
6. 桐野 豊 (編著) 「今を生きるための達人の教え~混迷の時代に一步踏み出そう~」かんき出版(2010年3月) pp.251
7. 桐野 豊 (編著) 「個の力で日本を変える—今こそ「地域」への原点回帰を!」かんき出版(2009年3月17日) pp.304

[邦文総説・解説等]

1. 岸本泰司 (2013) 「学術の頁: 正常プリオン蛋白の新機能」かがやく (香川県薬剤師会会誌) 151: 59-61.
2. 岸本泰司 (2013) 「認知機能へのプリオンタンパク質の関与を発見」徳島文理大学通信 ACANTHUS 70:4 (8月16日発行).
3. 岸本泰司, 中矢 正, 桐野 豊 (2012) 「ディファレンシャルディスプレイ」脳科学辞典.
4. 窪田剛志 (2012) 「カスパーゼ-3: アルツハイマー病における初期神経異常の標的か?」ファルマシア, 48: 63
5. 桐野 豊 (2011) 「東日本大震災に思う」徳島文理大学通信 64
6. 桐野 豊 (2011) 「さあ、本を読もう」徳島文理大学通信 65
7. 桐野 豊 (2011) 「祝辞」大塚芳満記念財団10周年記念誌
8. 桐野 豊 (2011) 「中央教育審議会“教員の資質能力向上特別部会”の審議経過報告等、文部科学省による“教員養成”と“教員免許制度改革”について」全私学新聞、2011年12月23日号
9. 桐野 豊 (2010) 「医療情報のIT化と薬局薬剤師」DLM センター・ニュース、42号, p.1-2.
10. 桐野 豊 「多くの友人とともに目標に向かって」徳島文理大学通信 60 (4月1日発行)
11. 桐野 豊 (2010) 「私の研究エポック—瞬目反射条件付け: 新参者の戦い」脳 21, 13(1): 106-110.

口頭発表・学会発表 (2014年~2015年3月)

1. 柿澤昌, 岸本泰司, 宮崎太輔, 棚会碧, 村山尚, 渡辺雅彦, 飯野正光, 竹島浩 「新規カルシウム放出機構—酸化窒素依存的カルシウム放出の小脳運動学習消去機構への関与」第37回日本神経科学大会、2014年9月11日-9月13日、パシフィコ横浜、横浜市.
2. 岸本泰司, 穴戸肇, 河井信行, 上野正樹, 窪田剛志, 田宮隆, 桐野 豊 「アルツハイマー病モデルマウスの認知機能に対する外傷性脳損傷の影響」第37回日本神経科学大会、2014年9月11日-9月13日、パシフィコ横浜、横浜市.
3. Yutaka Kirino and Yasushi Kishimoto 「Accelerated impairment of learning and memory by presenilin 2

行動学的手法による神経科学研究

mutation in APP transgenic mouse model of Alzheimer's disease」Neuroscience 2014 (北米神経学会)、2014年11月15-19日、Washington, DC, U.S.A.

4. 岸本泰司、宍戸肇、窪田剛志、上野正樹、田宮隆、河井信行、桐野豊「アルツハイマー病モデルマウスの認知機能に対する外傷性脳損傷の影響」日本薬学会第134年会、2014年3月27日-3月30日、熊本大学、熊本市.
5. 栗原直和、桐野豊、窪田剛志、岸本泰司「All-trans レチノイン酸の短期投与がアルツハイマー病モデルマウスの認知・行動に及ぼす効果」日本薬学会第134年会、2015年3月25日-3月28日、神戸学院大学、神戸市.
6. 澤西真由美、岸本泰司、豊田康則、田宮隆、河井信行、桐野豊「ADモデルマウスの認知機能に対する慢性脳低還流の影響」日本薬学会第134年会、2015年3月25日-3月28日、神戸学院大学、神戸市.
7. 窪田剛志、桐野豊「Biphasic effect of microRNA-132 on object recognition memory in Alzheimer's disease mouse models」第87回日本薬理学会年会、2014年3月19日-3月21日、仙台国際センター、仙台市.
8. 窪田剛志、田中洸輔、桐野豊「アルツハイマー病モデルマウスの物体認識記憶における microRNA-132 の役割」日本薬学会第134年会、2014年3月27日-3月30日、熊本大学、熊本市



研究分野

先端機器の開発と利用

Development and Application of Advanced Instrumentation in Analytical Chemistry

教員

教授 山口健太郎 着任年月日：2004年4月1日
最終学歴：1975年3月電気通信大学卒業。薬学博士（東京大学）
前職：千葉大学准教授

講師 川幡正俊 着任年月日：2006年4月1日
最終学歴：2006年3月徳島文理大学大学院博士課程修了。博士（薬学）
千葉大学大学院医学薬学府総合薬品科学専攻出身

助教 小原一朗 着任年月日：2010年4月1日
最終学歴：2010年3月東京大学大学院 博士（工学）

助教 駒川晋輔 着任年月日：2013年4月1日
最終学歴：2009年3月東京理科大学大学院博士課程修了。博士（理学）

研究補助員 山下夏子 着任年月日：2007年3月1日
最終学歴：2001年1月米国メリーランド州立
タウンソン大学卒業

研究補助員 弘瀬由香里 着任年月日：2014年12月1日
最終学歴：2002年3月横浜市立大学卒業

研究の概要

研究方針

先端機器の開発：装置開発は先端研究を行う上で非常に重要な要素である。我々は、特に見たいものを見る新規機器の開発こそ研究の独創性を担保するものと考え。科学機器は科学知識の生産者であり、これ無しで科学の進歩はあり得ない。世界をリードするためには世界に通用する機器を創造する必要があることを念頭に置いて、これを実現できる人材の養成と併せて、新しい道具作りを指向した研究を推進したい。

先端機器の利用戦略：「創造的先端研究」と「基盤研究」の両者を重視した総合的分析化学を確立することが香川薬学部における解析化学講座としての大きな使命であると考え。当講座では既にコールドスプレー質量分析装置(CSI-MS)を開発し、現在反応追跡装置(RTS)そして次世代の機器として超小型質量分析装置の開発を計画している。これらの利用戦略として、異なる構造解析機器を有機的に連結融合した次世代の機器分析システムの構築や、さらに具体的には巨大分子のイオン化

や分子コンピューティング、そして迅速診断、およびその他の新分野への展開を推進している。

研究概要

解析化学は分子（種）の構造、物性、反応性および機能を深く探求することにより創薬研究に寄与することを目的としている。特に溶液中の反応中間体や生体分子の動的構造と反応性-機能の関連に注目し、マクロな物性や機能の発現機構をミクロに解明する新しい解析法の創出や量子力学と統計力学に基づく溶液化学解析手法の開発を行なう。そして、これらの成果の創薬有機合成への応用を目指す。

質量分析装置の開発：質量分析とは、文字通り「分子の質量」を測定する分析法である。具体的には様々な方法で化合物をイオン化し、電場によって加速する。これらを種々の方法によってふるい分け、イオンの質量に関する情報を得る。これによって注目する分子の分子量はもちろん、例えばタンパク質などの巨大な生体分子では、アミノ酸配列まで明らかになる。このように質量分析は非常に強力な分析法である反面、化合物をイオン化するための条件が過酷なために比較的不安定な化合物の分析には不向きとされていた。我々の研究室ではこれらの問題点を克服するための装置開発を行っており、既にコールドスプレーイオン化法という非常に穏和な条件での測定に成功している。これによって、例えば水素結合などの非常に弱い相互作用によって結びついている分子集合体などを、イオン化によって破壊することなく観測することができる。

生体高分子の分析：我々の体は多様な生体高分子によって構築されている。これらの分子の溶液中での挙動を調べることは、生体内で起こっている様々な化学反応を知る上で極めて重要であり、分子生物学分野だけでなく、薬学分野においても不可欠な研究領域となっている。我々の研究室ではコールドスプレーイオン化質量分析を始めとする種々の分析法を用い、タンパク質、核酸、脂質など重要な生体内分子の振舞いを明らかにしてきた。その結果例えばDNAが4重らせん構造を取りうることを明らかにした。また、水はたくさんの分子がお互いに水素結合を介してネットワークを形成していると考えられているが、この事柄を直接観測するのは意外と困難である。我々は上記の分析機器を用いることで、多数の水分子が会合している様子を捉えることに成功した。

有機反応の追跡：有機反応の反応機構を理解することは生体内現象の根本的な理解につながる。当研究室では有機反

応において、原料、生成物ならびに反応中間体など反応系中に存在するすべての化学種を同時に観測し、それらの濃度の経時変化を質量分析によって追跡するシステムの開発を行っている。これによって反応中の各成分の振舞いが明らかとなり、例えば反応が効率よく行うためにはどのような工夫が必要か、などに対する予測が可能となる。

生体高分子などの複雑で巨大な分子の質量分析は一般に困難であり、ESIやMALDIを用いても測定できないことが多い。我々は最近、これらの分子を安定した多価イオンに導き、精密で迅速な質量分析を行う多価イオンプローブを開発した。これにより、生体高分子はもとより、フラレンなどのイオン化しにくい安定な化合物も多価イオンに導くことができる。現在、プローブイオン化法として新しいイオン化ジャンルを開発中である。

分子レベルで物理的運動を行う各種分子機械（マイクロマシン）の創製が注目されている。当講座においても分子コマの創製に成功し、種々の新規機能を備えた新素材として有望視している。この分子コマは回転子の軸が揃った単結晶を与えることがわかり、光との相互作用が興味深い。現在この分子コマ結晶の回転運動と物性との関係を考察中であり、種々の関連分子の創製を展開している。

唯一の高精度分子立方体構造解析法として知られる単結晶 X線構造解析において、近年新手法が発見された。これは、結晶化しない液体や油状試料の構造を解析するもので、多孔性錯体の空隙に試料分子を強制配列することにより X線解析を行う。薬学研究領域に於いて、液体および油状医薬品の三次元精密分子構造解析は特に重要であり、生体との相互作用を分子レベルで解析する手がかりと成る。結晶スポンジ法と命名された同手法の開発研究を当講座において開始した。

外部誌上発表 (2010年~2015年3月)

[原著論文]

2015

1. Danjo, H.; *Nakagawa, T.; Katagiri, K.; Kawahata, M.; Yoshigai, S.; Miyazawa, T.; Yamaguchi, K. (2015). Formation of Lanthanide(III)-Containing Metallo-supramolecular Arrays Induced by Tris(spiroborate) Twin Bowl. *Cryst. Growth. Des.*, 15, 384-389.

2014

1. *Tominaga, M.; Yoneta, T.; Ohara, K.; Yamaguchi, K.; Itoh, T.; Minamoto, C.; *Azumaya, I. (2014). Self-Assembly of a Tetrapodal Adamantane with Carbazole Branches into Hollow Spherical Aggregates in Organic Media. *Org. Lett.*, 16, 4622-4625.
2. *Tominaga, M.; Ukai, H.; Katagiri, K.; Ohara, K.;

Yamaguchi, K.; *Azumaya, I. (2014). Tubular Structures Bearing Channels in Organic Crystals Composed of Adamantane-Based Macrocycles. *Tetrahedron*, 70, 2576-2581.

3. *Tominaga, M.; Iekushi, A.; Katagiri, K.; Ohara, K.; Yamaguchi, K.; *Azumaya, I. (2014). Channel-Dependent Conformations of Single-Strand Polymers in Organic Networks Composed of Tetrapodal Adamantanes with *N*-heterocyclic Moieties. *Tetrahedron Lett.*, 55, 5789-5792.
4. Maeno, Y.; *Fukami, T.; Kawahata, M.; Yamaguchi, K.; Tagami, T.; Ozeki, T.; Suzuki, T.; Tomono, K. (2014). Novel Pharmaceutical Cocrystal Consisting of Paracetamol and Trimethylglycine, a new Promising Cocrystal Former. *Int. J. Pharm.*, 473, 179-186.
5. Mu, Y.-J.; Yu, L.-N.; *Jiang, X.-F.; *Yu, S.-Y.; Yamaguchi, K. (2014). Self-Assembly of an Organo-Palladium Molecular Basket that Encapsulates Cobalticborane Anion in Water. *Inorg. Chem. Commun.*, 44, 119-123.
6. *Setaka, W.; Inoue, K.; Higa, S.; Yoshigai, S.; Kono, H.; Yamaguchi, K. (2014). Synthesis of Crystalline Molecular Gyrotops and Phenylene Rotation inside the Cage. *J. Org. Chem.*, 79, 8288-8295.
7. *Tominaga, M.; Ohara, K.; Yamaguchi, K.; *Azumaya, I. (2014). Hollow Sphere Formation from a Three-Dimensional Structure Composed of an Adamantane-Based Cage. *J. Org. Chem.*, 79, 6738-6742.
8. Wang, S.; *Otani, Y.; Liu, X.; Kawahata, M.; Yamaguchi, K.; *Ohwada, T. (2014). Robust trans-Amide Helical Structure of Oligomers of Bicyclic Mimics of β -Proline: Impact of Positional Switching of Bridgehead Substituent on Amide *cis-trans* Equilibrium. *J. Org. Chem.*, 79, 5287-5300.
9. Inagaki, Y.; Yamaguchi, K.; *Setaka, W. (2014). A Crystalline Molecular Gyrotop with Germanium Junctions Between a Phenylene Rotor and Alkyl Spokes. *RSC Adv.*, 4, 58624-58630.
10. Shinozaki, Y.; Yoshikawa, I.; Araki, K.; Ohara, K.; Yamaguchi, K.; Kawano, S.; Tanaka, K.; Araki, Y.; Wada, T.; *Otsuki, J. (2014). Coordination Oligomers and Polymers of an Oxazole-appended Zinc Chlorophyll Derivative. *Chem. Lett.*, 43, 862-864.
11. *Miyamoto, K.; Yokota, Y.; Suefuji, T.; Yamaguchi, K.; Ozawa, T.; Ochiai, M. (2014). Reactivity of Hydroxy- and Aquo(hydroxyl)- λ^3 -iodane-Crown Ether Complexes. *Chem. Eur. J.*, 20(18), 5447-5453.
12. *Setaka, W.; Higa, S.; Yamaguchi, K. (2014). Ring-closing Metathesis for the Synthesis of a Molecular Gyrotop. *Org. Biomol. Chem.*, 12, 3354-3357.
13. *Katagiri, K.; Sakai, T.; Hishikawa, M.; Masu, H.; Masu, H.;



Tominaga, M.; Yamaguchi, K.; *Azumaya, I. (2014). Synthesis, Structure, and Thermal Stability of Silver(I) Coordination Polymers with Bis(pyridyl) Ligands Linked by an Aromatic Sulfonamide: One-Dimensional-Straight Chain, One-Dimensional-Columnar with Helical Components, and Two-Dimensional-Layer Network Structures. *Cryst. Growth Des.*, 14, 199-206.

2013

- *Sasaki, M.; Fujiwara, M.; Kotomori, Y.; Kawahata, M.; Yamaguchi, K.; *Takeda, K. (2013). Chirality transfer in Brook rearrangement-mediated Se_2' solvolytic protonation and its use in estimation of the propensity for racemization of the α -lithiocarbanions of the substituents. *Tetrahedron*, 69, 5823-5828.
- *Tominaga, M.; Iekushi, A.; Katagiri, K.; Ohara, K.; *Yamaguchi, K. (2013). Organic Crystals Bearing Both Channels and Cavities Formed from Tripodal Adamantane Molecules. *Journal of Molecular Structure*, 1046, 52-56.
- *Setaka, W.; Yamaguchi, K. (2013). Order-Disorder Transition of Dipolar Rotor in a Crystalline Molecular Gyrotop and Its Optical Change. *J. Am. Chem. Soc.*, 135, 14560-14563.
- *Setaka, W.; Koyama, A.; Yamaguchi, K. (2013). Cage Size Effects on the Rotation of Molecular Gyrotops with 1,4-Naphthalenediyl Rotor in Solution. *Org. Lett.*, 15(19), 5092-5095.
- *Sasaki, M.; Takegawa, T.; Sakamoto, K.; Kotomori, Y.; Otani, Y.; Ohwada, M.; Kawahata, M.; Yamaguchi, K.; Takeda, K. (2013). Enantiodivergent Deprotonation-Acylation of α -Amino Nitriles. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 52, 1-6.
- *Danjo, H.; Iwaso, K.; Kawahata, M.; Ohara, K.; Miyazawa, T.; Yamaguchi, K. (2013). Preparation of Tris(spiroorthocarbonate) Cyclophanes as Back to Back Ditopic Hosts. *Org. Lett.*, 15(9), 2164-2167.
- *Ohara, K.; Tominaga, M.; Azumaya, I.; *Yamaguchi, K. (2013). Solvent-dependent Assembly of Discrete and Continuous $CoCl_2$ Adamantane-based Ligand Complexes: Observations by CSI-Mass Spectrometry. and X-ray Crystallography. *Anal. Sci.*, 29(8), 773-776.
- *Yamaguchi, K. (2013). Cold-Spray Ionization Mass Spectrometry: Applications in Structural Coordination Chemistry. *Mass Spec. Soc. J.*, 2, S0012
- Shinozaki, Y.; Richard G.; Ogawa, K.; Yamano, A.; Ohara, K.; Yamaguchi, K.; Kawano S.; Tanaka, K.; Araki, Y.; Wada, T.; *Otsuki, J. (2013). Double Helices of a Pyridine-Appended Zinc Chlorophyll Derivative. *J. Am. Chem. Soc.*, 135, 5262-5265.
- Kawakami, S.; Toyoda, H.; Harinantenaina, L.; Matsunami, *K.; Otsuka, H.; Shinzato, T.; Takeda, Y.; Kawahata, M.; Yamaguchi, K. (2013). Eight New Diterpenoids and Two Nor-Diterpenoids from the Stems of Croton. *cascarilloides. Chem. Pharm. Bull.*, 61(4), 411-418.
- *Ohwada, T.; Tani, N.; Sakamaki, Y.; Kabasawa, Y.; Otani, Y.; Kawahata, M.; *Yamaguchi, K. (2013). Stereochemical Evidence for Stabilization of a Nitrogen Cation by Neighboring Chlorine or Bromine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 110, 4206-4211.
- Uemura, Y.; Sugimoto, S.; Matsunami, K.; Otsuka, H.; *Takeda, Y.; Kawahata, M.; Yamaguchi, K. (2013). Microtropins A-I: 6'-O-(2"S,3"R)-2"-Ethyl-2",3"-dihydroxybutyrates of Aliphatic Alcohol β -D-glucopyranosides from the Branches of Microtropis Japonica. *Phytochemistry*, 87, 140-147.

2012

- Onishi, K.; Douke, M.; Nakamura, T.; Ochiai, Y.; Kakusawa, N.; Yasuike, S.; Kurita, J.; Yamamoto, C.; Kawahata, M.; Yamaguchi, K.; Yagura, T. (2012). A Novel Organobismuth Compound, 1-[(2-di-*p*-tolylbismuthanophenyl)diazanyl] Pyrrolidine, Induces Apoptosis in the Human Acute Promyelocytic Leukemia Cell Line NB4 via Reactive Oxygen Species. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 117, 77-84.
- Meng, X.; Moriuchi, T.; Sakamoto, Y.; Kawahata, M.; Yamaguchi, K.; Hirao, T. (2012). La(OTf)₃-mediated Self-organization of Guanosine with an Alkynyl-Au(I)PPH₃ Moiety to Induce Au(I)-Au(I) Interactions. *RSC Adv.*, 2, 4359-4363.
- Terada, S.; Katagiri, K.; Masu, H.; Danjo, H.; Sei, Y.; Kawahata, M.; Tominaga, M.; Yamaguchi, K.; Azumaya, I. (2012). Polymorphism of Aromatic Sulfonamides with Fluorine Groups. *Cryst. Growth Des.*, 12, 2908-2916.
- Ohara, K.; Yamaguchi, K. (2012). Cold-Spray Ionization Mass Spectrometric Detection of a Coordination Oligomer. *Anal. Sci.*, 28, 635-637.
- Setaka, W.; Yamaguchi, K. (2012). A Molecular Balloon: Expansion of a Molecular Gyrotop Cage Due to Rotation of the Phenylene Rotor. *J. Am. Chem. Soc.*, 134(30), 12458-12461.
- Iha, A.; Matsunami, K.; Otsuka, H.; Kawahata, M.; Yamaguchi, K.; Takeda, Y. (2012). Three New Aliphatic Glycosides from the Leaves of *Antidesma Japonicum* Sieb. et Zucc. *J. Nat. Med.*, 66, 664-670.
- Setaka, W.; Yamaguchi, K. (2012). Thermal Modulation of Birefringence Observed in a Crystalline Molecular Gyro-top. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109, 9271-9275.

8. Ito, F.; Ukari, T.; Takasaki, M.; Yamaguchi, K. (2012). New Application of Multiply Charged Ionic Probes as Cleavable Cross-linker and Polymerization Reagent. *Tetrahedron Lett.*, 53, 3378-3381.
9. Ito, F.; Yamaguchi, K. (2012). Synthetic Studies of Decursivine Derivatives: Preparation of Key Indole Alkaloids via α -Hydroxyalkylation. *Tetrahedron*, 68, 3708-3716.
10. Danjo, H.; Mitani, N.; Muraki, Y.; Kawahata, M.; Azumaya, I.; Yamaguchi, K.; Miyazawa, T. (2012). Tris(spiroborate)-Type Anionic Nanocycles. *Chem. Asian Journal*, 7, 1529-1532.
11. Otani, Y.; Hori, T.; Kawahata, M.; Yamaguchi, K.; Ohwada, T. (2012). Secondary Structure of Homo-thiopeptides Based on a Bridged β -proline Analogue: Preferred Formation of Extended Strand Structures with *trans*-thioamide Bonds. *Tetrahedron*, 68(23), 4418-4428.
12. Sasaki, M.; Takegawa, T.; Ikemoto, H.; Kawahata, M.; Yamaguchi, K. (2012). Enantioselective Trapping of an α -Chiral Carbanion of Acyclic Nitrile by a Carbon Electrophile. *Chem. Commun.*, 48, 2897-2899.
13. Ito, F.; Nakamura, T.; Yamaguchi, K. (2012). CSI-MS Measurement of Lanthanide-Series Ionic Probes for Ionic Probe Attachment Ionization. *Heterocycles*, 84(2), 929-944.
14. Ito, F.; Ando, S.; Iuchi, M.; Ukari, M.; Yamaguchi, K. (2012). Ionic Probe Attachment Ionization Mass Spectrometry. *J. Mass. Spectrom. Soc. Jpn.*, 60(1), 5-12.
- 2011**
1. Ikemoto, H.; Sasaki, M.; Kawahata, M.; Yamaguchi, K.; Takeda, K. (2011). Steric Course of the Electrophilic Substitution of a Lithiocarbanion Generated from (S,E)-1-Phenylbut-2-en-1-yl Diisopropylcarbamate and Solvent Effects. *Eur. J. Org. Chem.*, 6553-6557.
2. Ito, M.; Konno, F.; Kumamoto, T.; Suzuki, N.; Kawahata, M.; Yamaguchi, K.; Ishikawa, T. (2011). Enantioselective Synthesis of Chelidomine, a B/C-*cis*-11-hydroxyhexahydrobenzo[*c*]phenanthridine. *Tetrahedron*, 67, 8041-8049.
3. Oda, A.; Ohta, S.; Yamaguchi, K.; Hirono, S.; Endo, Y. (2011). Crystal Structure, Docking Study and Structure-Activity Relationship of Carborane-Containing Androgen Receptor Antagonist 3-(12-Hydroxymethyl-1,12-dicarba-closo-dodecarboran-1-yl)benzotrile. *Bioorg. Med. Chem.*, 19, 3540-3548.
4. Miura, M.; Inami, K.; Yoshida, M.; Yamaguchi, K.; Mashino, T. (2011). Isolation and Structural Identification of a Direct-acting Mutagen Derived from *N*-nitroso-*N*-methylpentylamine and Fenton's Reagent with Copper Ion. *Bioorg. Med. Chem.*, 5693-5697.
5. Kawakami, K.; Sei, Y.; Yamaguchi, K.; Tsuda, A. (2011). Doubly Activated Supramolecular Reaction: Transesterification of Acyclic Oligoether Esters with Metal Alkoxides. *J. Org. Chem.*, 76(12), 875-881.
6. Sumioka, H.; Harinantenaina, L.; Matsunami, K.; Otsuka, H.; Kawahata, M.; Yamaguchi, K. (2011). Linderolides A-F, Eudesmane-type Sesquiterpene Lactones and Linderoline, a Germacrane-type Sesquiterpene from the Roots of *Lindera Strychnifolia* and Their Inhibitory Activity on NO Production in Raw 264.7 Cells *in vitro*. *Phytochemistry*, 72, 2165-2171.
7. Ito, F.; Ando, S.; Iuchi, M.; Urari, T.; Takasaki, M.; Yamaguchi, K. (2011). ¹⁵N-D-Labeled Ionic Probes for Mass Spectrometry. *Tetrahedron*, 67(41), 8009-8013.
8. Meng, X.; Moriuchi, T.; Tohna, N.; Mikiji, M.; Kawahata, M.; Yamaguchi, K.; Hirao, T. (2011). Synthesis and Assembling Properties of Bioorganometallic Cyclometalated Au(III) Alkynyls Bearing Guanosine Moieties. *Org. Biomol. Chem.*, 9, 5633-5636.
9. Sasaki, M.; Kondo, Y.; Kawahata, M.; Yamaguchi, K.; Takeda, K. (2011). Enantioselective Synthesis of Siloxallenes from Alkynoylsilanes by Reduction and a Brook Rearrangement and Their Subsequent Trapping in a [4+2] Cycloaddition. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 50, 6375-6378.
10. Kimoto, T.; Tanaka, K.; Kawahata, M.; Yamaguchi, K.; Otsubo, S.; Sakai, Y.; Ono, Y.; Ohno, A.; Kobayashi, K. (2011). Bis(methylthio)tetracenes: Synthesis, Crystal-Packing Structures, and OFET Properties. *J. Org. Chem.*, 76(12), 5018-5025.
11. Meng, X.; Moriuchi, T.; Kawahata, M.; Yamaguchi, K.; Hirao, T. (2011). A G-octamer scaffold via self-assembly of a guanosine-based Au(I) isonitrile complex for Au(I)-Au(I) interaction. *Chem. Comm.*, 47, 4682-4684.
12. Arbain, D.; Syafni, N.; Deddi, F.; Putra, P.; Komala, I.; Yamaguchi, K.; Asakawa, Y. (2011). The Quaternary Indole Alkaloids from Two Sumatran *Lerchea* Species. *Natural Product Communications*, 6(3), 349-352.
13. Ito, F.; Yamaguchi, K. (2011). ¹⁵N-Labeled Ionic Probe Attachment Mass Spectrometry of Carbon Clusters. *Org. Biomol. Chem.*, 9(8), 2674-2679.
14. Ito, F.; Shudo, K.; Yamaguchi, K. (2011). Total Synthesis of (\pm)-Hyrtiazepine. *Tetrahedron*, 67, 1805-1811.
15. Kawahata, M.; Yasuike, S.; Kinebuchi, I.; Yamaguchi, K.; Kurita, J. (2011). {2-[(Dimethylamino)methyl]phenyl} bis(4-methylphenyl)bismuthane. *Acta. Cryst.*, E67, m25.
- 2010**



1. Yamaguchi, K. (2010). Cluster Structure Analysis by Using Cold Spray Ionization Mass Spectrometry in Combination with Other Analytical Instrumentations. *Bunseki Kagaku* 59(11), 985-1001.
2. Kakuta, H.; Azumaya, I.; Masu, H.; Matsumura, M.; Yamaguchi, K.; Kagechika, H.; Tanatani, A. (2010). Cyclic-tri(*N*-methyl-*meta*-benzamide)s: substituent effects on the bowl-shaped conformation in the crystal and solution states. *Tetrahedron* 66, 8254-8260.
3. Songkram, C.; Ohta, K.; Yamaguchi, K.; Pichierri, F.; Endo, Y. (2010). Conformational Control of Benzyl-*o*-carboranylbenzene Derivatives and Molecular Encapsulation of Acetone in the Dynamically Formed Space of 1,3,5-Tris(2-benzyl-*o*-carboran-1-yl)benzene. *Inorg Chem* 49(23), 11174-11183.
4. Danjo, H.; Hirata, K.; Noda, M.; Uchiyama, S.; Fukui, K.; Kawahata, M.; Azumaya, I.; Yamaguchi, K.; Miyazawa, T. (2010). Assembly Modulation by Adjusting Countercharges of Heterobimetallic Supramolecular Polymers Composed of Tris(spiroborate) Twin Bowls. *J Am Chem. Soc* 132(44), 15556-15558.
5. Iwai, Y.; Takahashi, H.; Hatakeyama, D.; Motoshima, K.; Ishikawa, M.; Sugita, K.; Hashimoto, Y.; Harada, Y.; Itamura, S.; Odagiri, T.; Tashiro, M.; Sei, Y.; Yamaguchi, K.; Kuzuhara, T. (2010). Anti-influenza activity of phenethylphenylphthalimide analogs derived from thalidomide. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 18, 5379-5390.
6. Zhao Z.; Matsunami, K.; Otsuka, H.; Shinzato, T.; Takeda, Y.; Kawahata, M.; Yamaguchi, K. (2010). Schefflerins A-G, New Triterpene Glucosides from the Leaves of *Schefflera arboricola*. *Chem Pharm Bull* 58(10), 1343-1348.
7. Hosoya, M.; Otani, Y.; Kawahata, M.; Yamaguchi, K.; Ohwada, T. (2010). Water-stable Helical Structure of Tertiary Amides of Bicyclic β -Amino Acid Bearing 7-Azabicyclo[2.2.1]heptane. Full Control of Amide Cis-Trans Equilibrium by Bridgehead Substitution. *J Am Chem Soc* 132(42), 14780-14789.
8. Kawakami, S.; Matsunami, K.; Otsuka, H.; Shinzato, T.; Takeda, Y.; Kawahata, M.; Yamaguchi, K. (2010). A Crotofolane-type Diterpenoid and a Rearranged nor-crotofolane-type Diterpenoid with a New Skeleton From the Stems of *Croton Cascarilloides*. *Tetrahedron Lett* 51, 4320-4322.
9. Ito, F.; Ando, S.; Iuchi, M.; Nakamura, T.; Yorita, S.; Yamaguchi, K. (2010). ¹⁵N-Labeled Ionic Probes for Bioanalytical Mass Spectrometry. *Org Biomol Chem* 8, 4408-4413.
10. Komala, I.; Ito, T.; Nagashima, F.; Yagi, Y.; Kawahata, M.; Yamaguchi, K.; Asakawa, Y. (2010). Zierane sesquiterpene lactone, cembrane and fusicoccane diterpenoids, from the Tahitian liverwort *Chandonanthus hirtellus*. *Phytochemistry* 71, 1387-1394.
11. Sun, G-F.; Iwasa, J.; Ogawa, D.; Ishido, Y.; Sato, S.; Ozeki, T.; Sei, Y.; Yamaguchi, K.; Fujita, M. (2010). Self-Assembled M₂₄L₄₈ Polyhedra and Their Sharp Structural Switch upon Subtle Ligand Variation. *Science* 328, 1144-1147.
12. Kohmoto, S.; Hisamatsu, S.; Mitsunashi, H.; Takahashi, M.; Masu, H.; Azumaya, I.; Yamaguchi, K.; Kishikawa, K. (2010). Reversal of regioselectivity (straight vs. cross ring closure) in the intramolecular [2+2] photocycloaddition of phenanthrene derivatives. *Org Biomol Chem* 8, 2174-2179.
13. Hayashi, Y.; Kumamoto, T.; Kawahata, M.; Yamaguchi, K.; Ishikawa, T. (2010). Ring-opening reaction of unactivated 3-arylaziridine-2-carboxylates with nitrile reagents. *Tetrahedron* 66, 3836-3841.
14. Ito, F.; Yamaguchi, K. (2010). Peptide Mass Spectrometry by ionic probe attachment ionization using NHS-TMPYBOX and MAL-TMPYBOX. *Heterocycles* 81, 985-990.
15. Kumamoto, T.; Shikii, K.; Kawahata, M.; Yamaguchi, K.; Nakanishi, W.; Ishikawa, T.; Seki, H. (2010). Characterization of Various *o*-Bisguanidinobenzenoic Acid Complexes in Solid and in Solution States. *Heterocycles* 80, 303-311.
16. Ito, T.; Suda, K.; Kumamoto, T.; Nakanishi, W.; Watanabe, T.; Ishikawa, T.; Seki, H.; Kawahata, M.; Yamaguchi, K.; Ogura, Y.; Suzuki, K. T. (2010). Complexability of *o*-bisguanidinobenzenes with arsenic and phosphoric acids in solution and solid states, and the potential use of their immobilized derivatives as solid base ligands for metal salts and arsenic acid. *Mol Divers* 14, 131-145.
17. Setaka, W.; Kira, M. (2010). Novel Organosilicon Compounds Performing as Molecular Machines. *J Syn Org Chem Japan* 930-938.
18. Setaka, W.; Ohmizu, S.; Kira, M. (2010) Molecular Gyroscope Having a Halogen-substituted *p*-Phenylene Rotator and Silaalkane Chain Stators. *Chem Lett* 39, 468-469.

口頭発表・学会発表 (2014年~2015年3月)

【一般講演】

1. 小原一朗, 山口健太郎 (2014). 錯体を対象としたコーロドスプレーイオン化質量分析法における精密質量検出と組成式解析法. 日本化学会第94春季年会, 3月27日~30日, 愛知
2. 坂井貴紘, 片桐幸輔, 菱川舞子, 榎 飛雄真, 富永昌英, 山口健太郎, 東屋功 (2014). スルホンアミドおよびアミドで連結した三座配位子の安定配座に由来する分子カプセルと配位高分子の構築. 日本化学会第94春季年会, 3月27日~30日, 愛知
3. 仲谷瑞貴, 川西裕子, 檀上博史, 宮澤敏文, 小原一朗, 川幡正俊, 山口健太郎 (2014). アミド基を有する環状スピロボラート型分子接合素子の開発と連鎖挙動評価. 日本化学会第94春季年会, 3月27日~30日, 愛知
4. 橋本祐希, 木谷和弘, 森田健太郎, 檀上博史, 小原一朗, 川幡正俊, 山口健太郎, 宮澤敏文 (2014). 大環状スピロボラートの調製と分子認識能評価. 日本化学会第94春季年会, 3月27日~30日, 愛知
5. 中川十志, 檀上博史, 小原一朗, 川幡正俊, 山口健太郎, 宮澤敏文 (2014). 環状スピロボラート型分子接合素子の官能基化. 日本化学会第94春季年会, 3月27日~30日, 愛知
6. 阪本達哉, 小原一朗, 山口健太郎, 築部 浩, 三宅弘之 (2014). 硝酸アニオンをトリガーとしたトリス(2,2'-ビピリジン)金属錯体のヘリシティ反転とタイムプログラミング. 日本化学会第94春季年会, 3月27日~30日, 愛知

先端機器の開発と利用

- 日, 愛知
7. 富永昌英, 橋本千尋, 伊藤努武, 小原一朗, 山口健太郎, 東屋 功 (2014). N-ヘテロ環を有する四脚分子の球状集合体を經由した結晶化. 日本化学会第94春季年会, 3月27日~30日, 愛知
 8. 西山洋平, 小山亜希子, 稲垣佑亮, 山口健太郎, 瀬高 涉 (2014). ナフタレン架橋分子ジャイロコマの合成と溶液中における回転子の運動. 日本化学会第94春季年会, 3月27日~30日, 愛知
 9. 片桐幸輔, 石田 馨, 駒川晋輔, 富永昌英, 山口健太郎, 東屋 功 (2014). ホスフィノカリックス[3]アミドにおけるキラリティー固定と光学分割. 日本化学会第94春季年会, 3月27日~30日, 愛知
 10. 中井彩夏, 小原一朗, 藤田 誠, 山口健太郎 (2014). 三次元細孔を有する有機金属錯体へのStilbene包接とレーザーイオン化質量分析. 日本薬学会第134年会, 3月27日~30日, 熊本
 11. 林 侑加子, 小原一朗, 山口健太郎 (2014). CSI-MSによる二種類の多座配位子を用いた錯形成追跡. 日本薬学会第134年会, 3月27日~30日, 熊本
 12. 川幡正俊, 檀上博史, 山口健太郎 (2013). 水溶性スピロボラートシクロファン合成研究. 日本薬学会第133年会, 3月27日~30日, 神奈川
 13. 福田朋也, 寧 桜唐, 尾谷優子, 大和田智彦, 川幡正俊, 山口健太郎 (2014). オキシム新転位反応のためのテトラロンのペリ位置換基導入法の確立. 日本薬学会第134年会, 3月27日~30日, 熊本
 14. 劉 シン, 岩間道政, 尾谷優子, 川幡正俊, 山口健太郎, 大和田智彦 (2013). 二環性 β -アミノ酸二量体の側鎖間架橋によるアミドのシス-トランス平衡の制御. 日本薬学会第133年会, 3月27日~30日, 神奈川
 15. 寧 桜唐, 福田朋也, 尾谷優子, 川幡正俊, 山口健太郎, 大和田智彦 (2014). ベックマン転位条件下で起きるオキシムの新規転位反応におけるハロニウム中間体の安定化. 日本薬学会第134年会, 3月27日~30日, 熊本
 16. 栗田城治, 澤矢千晶, 角澤直紀, 安池修之, 川幡正俊, 山口健太郎 (2014). 分子内Sb-N相互作用を持つトリアリールアンチモンをトランスメタル化剤とするヨウ化アリールとのクロスカップリング反応. 日本薬学会第134年会, 3月27日~30日, 熊本
 17. 駒川晋輔, 川幡正俊, 小原一朗, 片桐幸輔, 藤田 誠, 山口健太郎 (2014). 結晶スポンジ法による香料および油状薬物の構造解析. 日本薬学会第134年会, 3月27日~30日, 熊本
 18. 小原一朗, 綾野武司, 山口健太郎 (2014). 二成分配位子によるCo錯体の精密質量による追跡. 第62回質量分析総合討論会, 5月14日~16日, 大阪
 19. 小原一朗, 山口健太郎 (2014). 弱い相互作用からなるオリゴマー化学種の精密質量分析による追跡. 第74回分析化学討論会, 5月24日~25日, 福島
 20. 小原一朗, 山口健太郎 (2014). CSI-MS法による配位子比依存錯形成状態の溶液化学議論の可能性. 日本分析化学会第63年会, 9月17日~19日, 広島
 21. 石田馨, 駒川晋輔, 小原一朗, 川幡正俊, 藤田誠, 山口健太郎 (2014). 結晶スポンジ法による香料の三次元構造解析. 第53回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会・中四国支部学術大会, 11月8日~9日, 広島
 22. 劉シン, 岩間道政, 尾谷優子, 川幡正俊, 山口健太郎, 大和田智彦 (2015). 架橋した二環性 β -アミノ酸二量体のアミド結合の回転速度の鎖長効果. 日本薬学会第135年会, 3月25日~28日, 兵庫
 23. 明石貴吉, 川幡正俊, 駒川晋輔, 小原一朗, 藤田誠, 山口健太郎 (2015). 「結晶スポンジ法」による医薬品の3次元構造解析. 日本薬学会第135年会, 3月25日~28日, 兵庫
 24. 藤島利江, 山管真基, 大西翔太, 末長努, 川幡正俊, 山口健太郎 (2015). 20位ヒドロキシビタミンD誘導体の合成. 日本薬学会第135年会, 3月25日~28日, 兵庫
 25. 塩成博国, 稲垣佑亮, 山口健太郎, 瀬高涉 (2015). ピレンを回転子とする分子ジャイロコマの合成と蛍光特性. 日本化学会第95春季年会, 3月26日~29日, 千葉
 26. 藤原惇志, 稲垣佑亮, 山口健太郎, 瀬高涉 (2015). ビフェニレン架橋分子ジャイロコマの合成と結晶複屈折. 日本化学会第95春季年会, 3月26日~29日, 千葉
 27. 増田敏幸, 稲垣佑亮, 山口健太郎, 瀬高涉 (2015). シリル置換セレンフェン-1,1-ジオキシドの合成と構造. 日本化学会第95春季年会, 3月26日~29日, 千葉
 28. 佐藤康平, 稲垣佑亮, 山口健太郎, 瀬高涉 (2015). カゴ化合物による結晶内におけるパラベンゾキノンの配向整列と2色性. 日本化学会第95春季年会, 3月26日~29日, 千葉
 29. 富永昌英, 國富寛大, 伊藤努武, 小原一朗, 山口健太郎 (2015). アダマタン骨格からなる六角形状環状分子の構築と球状集合体形成. 日本化学会第95春季年会, 3月26日~29日, 千葉
 30. 富永昌英, 鶴飼厚行, 伊藤努武, 小原一朗, 山口健太郎 (2015). サレンとアダマタン部位からなる環状分子の構築と自己集合挙動. 日本化学会第95春季年会, 3月26日~29日, 千葉
 31. 小原一朗, 山口健太郎 (2015). 配位化合物のソフトイオン化質量分析と組成式解析の有用性. 日本化学会第95春季年会, 3月26日~29日, 千葉
 32. 仲谷瑞貴, 川西裕子, 檀上博史, 片桐幸輔, 宮澤敏文, 川幡正俊, 山口健太郎 (2015). アミド基を導入した環状スピロボラート型分子接合素子の調製と連鎖会合能評価. 日本化学会第95春季年会, 3月26日~29日, 千葉
 33. 貴傳名祐希, 野ヶ峯亜由美, 増田勇貴, 檀上博史, 片桐幸輔, 宮澤敏文, 川幡正俊, 山口健太郎 (2015). スピロボラート型中空分子の調製と認識挙動評価. 日本化学会第95春季年会, 3月26日~29日, 千葉
 34. 木谷和弘, 檀上博史, 片桐幸輔, 宮澤敏文, 川幡正俊, 山口健太郎 (2015). テトラピリジニウム型カチオンナノサイクルの調製. 日本化学会第95春季年会, 3月26日~29日, 千葉

【国際学会発表】

1. Komagawa, S.; Kawahata, M.; Ohara, K.; Fujita, M.; Yamaguchi, K. (2014). Crystal Structure of Perfume Solved by Using Crystalline Sponge Method Joint Congress of ACTS-2014 and CGOM11, Jun 17-20, Nara, Japan
2. Kawahata, M.; Komagawa, S.; Ohara, K.; Fujita, M.; Yamaguchi, K. (2014). Crystal Structure of Oily Drug, Clofibrate Solved by Using Crystalline Sponge Method Joint Congress of ACTS-2014 and CGOM11, Jun 17-20, Nara, Japan
3. Sakai, T.; Ishida, K.; Katagiri, K.; Kawahata, M.; Azumaya, I.; Fujita, M.; Yamaguchi, K. (2014). Crystal Structure of



- Aromatic Sulfonamide Solved by Using Crystalline Sponge Method
Joint Congress of ACTS-2014 and CGOM11, Jun 17-20, Nara, Japan
4. Ohara, K.; Tominaga, M.; Azumaya, I.; Yamaguchi, K. (2014). Identification of Crystalline Coordination Oligomers in Solution by Using Cold-spray Ionization Mass Spectrometry
Joint Congress of ACTS-2014 and CGOM11, Jun 17-20, Nara, Japan
5. Katagiri, K.; Ishida, K.; Komagawa, S.; Tominaga, M.; Yamaguchi, K.; Azumaya, I., (2014). Pseudopolymorphism and Optical Resolution of Calix[3]amide
Joint Congress of ACTS-2014 and CGOM11, Jun 17-20, Nara, Japan
6. Ohara, K.; Yamaguchi, K., (2014). Cold-Spray Ionization Mass Spectrometry of Coordination Complexes
5th Asia Oceania Mass Spectrometry Conference & 33rd Chinese Society for Mass Spectrometry Annual Conference, Jul 16-19, Beijing, China
7. Ohara, K.; Kawahata, M.; Hyodo, T.; Fujita, M.; Yamaguchi, K., (2014). Nanoporous Complex Assisted Laser Desorption Ionization
20th International Mass Spectrometry Conference, Aug 24-29, Geneva, Switzerland
8. Ohara, K.; Tominaga, M.; Azumaya, I.; Yamaguchi, K., (2014). Continuous Complexation of CoCl₂ and Admantane-Based Ligands Observer by CSI-MS
20th International Mass Spectrometry Conference, Aug 24-29, Geneva, Switzerland

特許

特許 (日本)

光応答性を有する遷移金属錯体

発明者 山口健太郎 小林 稔

特許権者 独立行政法人科学技術振興機構

特許第 4878170 号 (2011年12月9日)

特許出願 (日本)

π 電子系が結晶中で一軸回転する分子コマによる有機結晶材料と複屈折の制御方法

発明者 瀬高 渉, 山口健太郎

特許権者 独立行政法人科学技術振興機構

特開 2010-95354 (2010年4月16日)

特許出願 (日本)

結晶中で π 電子系が回転する分子コマおよびその製造方法

発明者 瀬高 渉, 山口健太郎

特許権者 独立行政法人科学技術振興機構

特開 2010-58374 (2010年3月15日)

特許出願 (日本)

皮膚感作性検定方法

発明者 岡本昌彦, 山口健太郎, 清 悦久

特許権者 住友化学 (株)

特開 2009-186253 (2009年)

特許出願 (日本)

質量分析用多価プローブ

発明者 山口健太郎 檀上博史 伊藤文博

出願人 山口健太郎 檀上博史 伊藤文博

特許出願 出願 2008-335877 (2008年12月2日)

特許出願 (日本)

イオン脱着を利用した光応答分子システム

発明者 山口健太郎 小林稔

特許権者 科学技術振興機構

特許出願 出願 2006-41931 (2006年2月20日)

特許出願 (日本)

ジホスフィン化合物の製造方法, この製造方法により製造されるジホスフィン化合物及び中間生成物

発明者 山口健太郎 檀上博史 小泉徹 今本恒雄

出願人 独立行政法人科学技術振興機構

特許出願 出願 2006-30519 (2006年2月18日)

特許出願 (日本)

ビス (ホスフィン) ボロニウム塩, ビス (ホスフィン) ボロニウム塩の製造方法, この製造方法により製造されるビス (ホスフィン) ボロニウム塩

発明者 山口健太郎 檀上博史 小泉徹 今本恒雄

出願人 独立行政法人科学技術振興機構

特許出願 出願 2006-30520 (2006年2月18日)

特許

コールドスプレー質量分析装置

発明者 山口健太郎, 小林達次

特許権者 科学技術振興事業団 日本電子株式会社

特許第 3786417 号 (2006年3月31日)

U.S. Pat. 6,977,369

(同上) Yamaguchi, K., Kobayashi, T.

JST, JEOL (Dec 20, 2005)

特許 (日本)

質量分析用試料スプレー装置

発明者 山口健太郎 三木伸一 佐保良二

特許権者 ブルカー・ダルトニクス株式会社

日本サーマルエンジニアリング

特許第 311642 号 (2005年10月26日)

特許 (日本)

分析用超伝導マグネット用液体ヘリウム再凝縮装置および液体ヘリウム再凝縮方法

発明者 山口健太郎 佐保良二 森山正人

特許権者 山口健太郎 池田宣征

特許第 238892 号 (2005年8月19日)

特許 (日本、中国、台湾、EU、オーストラリア他)

コールドスプレー質量分析装置

発明者 山口健太郎 小林達次

特許権者 科学技術振興機構 日本電子株式会社

特許第 3616780 号 (2004年11月)

先端機器の開発と利用

特許

三次元分子構造解析法

発明者 山口健太郎、首藤紘一

特許権者 山口健太郎、首藤紘一

特許第 3335680 号 (2002 年 8 月 2 日)

特許

包摂超分子錯体のホスト化合物および包摂超分子錯体

発明者 西郷和彦、相田卓三、金原数、尊健愚、田代健太郎、坂本茂、山口健太郎

特許権者 東京大学長

特許第 3256743 号 (2001 年 12 月 7 日)

特許

エレクトロスプレー質量分析手法及びその装置

発明者 山口健太郎

特許権者 科学技術振興事業団

特許第 3137953 号 (2000 年 12 月 8 日)

U.S.Pat. 6,642,515 (May 27, 2004)

特許

質量分析用標準物質および質量分析用標準物質キット

発明者 山口健太郎

特許権者 山口健太郎 日本電子株式会社

公開第 2000-310617 号 (2000 年 11 月 7 日)



研究分野

核内受容体リガンドの創製

Design and Synthesis of Novel Nuclear Receptor Ligands

教員

准教授 藤島 利江
博士 (薬学)

研究の概要

1. 有機化学を基盤とした生体分子へのアプローチ：新規核内受容体リガンドの創製 (藤島)
核内受容体を介する生理作用を、低分子リガンドと受容体タンパク高分子の反応という観点から捉えるとき、反応の interface を提供するのには核内受容体である。これまでのリガンドデザインは、受容体親和性上昇を目指したアプローチが大半であった。しかしながら、標的遺伝子上流に存在する DNA 結合領域にも配列に多様性があり、DNA 結合領域と転写開始点までの塩基数も標的遺伝子ごとに異なることが明らかとなってきている。特定の標的 DNA 配列に結合能力の高い受容体配座を生み出すリガンドは、その下流にある標的遺伝子の転写活性化を特異的に促進すると考えられる。そこで、内在性リガンドと異なる構造修飾・官能基導入を基盤に、受容体の安定構造に変化をもたらす低分子リガンドの創製、及び DNA 配列特異的な活性化能を有するリガンドの評価手法確立を目指し、研究を進めている。

外部誌上发表 (2010年~2015年3月)

[原著論文]

2014

1. Fujishima, T.; Suenaga, T.; Nozaki, T. (2014). Concise synthesis and characterization of novel *seco*-steroids bearing a spiro-oxetane instead of a metabolically labile C3-hydroxy group, *Tetrahedron Lett.*, **2014**, 55, 3805-3808.
2. Fujishima, T.; Suenaga, T.; Nozaki, T. (2014). Synthetic strategy and biological activity of A-ring stereoisomers of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and C2-modified analogues, *Current Topics Med. Chem.*, **2014**, 14, 2446-2453.
3. Liu, C.; Zhao, G.-D.; Mao, X.; Suenaga, T.; Fujishima, T.; Zhang, C.-M.; Liu, Z.-P. (2014). Synthesis and biological evaluation of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ analogues with aromatic side chains attached at C-17, *Eur. J. Med. Chem.*, **2014**, 85, 569-575.

2013

4. Fujishima, T.; Nozaki, T.; Suenaga, T. (2013). Design and synthesis of novel 1,25-dihydroxyvitamin D₃ analogues having a spiro-oxetane fused at the C2 position in the A-ring, *Bioorg. Med. Chem.*, **2013**, 21, 5209-5217.

2010

5. Fujishima, T.; Tsuji, G.; Tanaka, C.; Harayama, T. Novel vitamin D receptor ligands having a carboxyl group as an anchor to

Arginine 274 in the ligand binding domain. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **2010**, 121, 60.

6. Fujishima, T.; Fujii, S.; Harayama, T. Synthesis and biological activity of fluorinated vitamin D. *Current Org. Chem.*, **2010**, 14, 962.

[邦文総説・解説等]

7. 藤島利江 (2010) 「シトクロム P450sc_c によるビタミン D₃ の新たな代謝経路」 *ビタミン*, **84**; 557.

口頭発表・学会発表 (2014年~2015年3月)

1. 藤島利江, 山菅真基, 大西翔太, 末長努, 川幡正俊, 山口健太郎 (2015) 「20位ヒドロキシビタミンD誘導体の合成」, 日本薬学会第135年会, 神戸, 発表予定.
2. 末長努, 野崎孝徒, 藤島利江 (2014) 「A環部にスピロオキセタンを導入した新規ビタミンD誘導体の合成研究」, 日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会 第53回中国四国支部学術大会, 広島.
3. 藤島利江, 末長努, 野崎孝徒 (2014) 「A環部にスピロオキセタン構造を有するビタミンD₃誘導体の合成研究」, 日本ビタミン学会 第66回大会, 姫路.
4. 末長努, 藤島利江 (2014) 「A環にスピロオキセタン構造を有する活性型ビタミンD₃誘導体の合成」, 日本薬学会第134年会, 熊本.

特許

1. 藤島利江, 原山尚 「2 α 位に置換基を有するビタミンD誘導体」, 特願2009-178092.
2. Yamana K., Harada Y., Azuma Y., Saito H., Takenouchi K., Takayama, H., Kittaka, A., Saito N., Fujishima, T. (2006) Vitamin D₃ lactone derivatives for treatment of osteoporosis. Jpn. Kokai Tokkyo Koho, JP 2006045109.
3. Takenouchi K., Anzai M., Saito, Okada K., Ishizuka S., Miura D., Takayama, H., Kittaka, A., Saito, H. N., Fujishima, T. (2004) Preparation of vitamin D₃ lactone derivatives for the treatment of Paget's bone diseases and hypercalcemia PCT Int. Appl. WO 2004067525.
4. Takayama, H., Kittaka, A., Fujishima, T., Saito, N. (2004) Preparation of 2-substituted vitamin D derivatives. PCT Int. Appl. WO 2004067504.
5. Takayama, H., Fujishima, T., Kittaka, A. (2003) Preparation of 2-substituted vitamin D derivatives. PCT Int. Appl. WO 2003055854.
6. Takayama, H.; Kittaka, A.; Sahara, Y., Fujishima, T. Preparation of vitamin D derivatives having substituent in 2-position. (2002) PCT Int. Appl. WO 2002066424.
7. Takayama, H., Fujishima, T. (2002) Preparation of 1-methyl-20-epivitamin D derivative. PCT Int. Appl., WO 2002014268.
8. Takayama, H., Fujishima, T. (2002) Preparation of 3-methyl-20-epi-vitamin D derivatives and their vitamin D

核内受容体リガンドの創製

- receptor binding effects. PCT Int. Appl., WO 2002012182.
9. Takayama, H., Fujishima, T. (2001) Preparation of 5,6-trans-2-alkylvitamin D derivatives. PCT Int. Appl., WO 2001090061.
 10. Takayama, H., Kittaka, A., Suhara, Y., Fujishima, T. (2001) Preparation of vitamin D derivatives having substituents at the 2 α -position. PCT Int. Appl., WO 2001062723.
 11. Takayama, H., Fujishima, T., Suhara, Y., Nihei K., Konno K. (2001) Preparation of vitamin D derivatives having substituents at the 2 α -position. PCT Int. Appl., WO 2001016099.
 12. Takayama, H., Fujishima, T., Liu Z., Konno K. (2000) Preparation of 2-alkylated vitamin D derivatives. PCT Int. Appl., WO 2000066548.
 13. Takayama, H., Fujishima, T. (2000) Preparation of 3-methylated vitamin D derivatives. PCT Int. Appl., WO 2000064870.
 14. Takayama, H., Konno K., Fujishima, T. (1998) Preparation of vitamin D₃ derivatives and their pharmaceutical uses. PCT Int. Appl., WO 9850353.

その他、新聞報道等

該当事項なし



研究分野

不斉結晶化と結晶多形

Spontaneous Resolution and Polymorphism

教員

准教授 富永昌英 着任年月日：2005年4月1日

最終学歴：2000年3月東京大学大学院博士課程 単位取得満期退学。同年5月博士（工学）

前職：東京大学大学院工学系研究科応用化学専攻 助手

研究の概要

主な研究テーマ

1. **ブロック分子のデザインと分子間に働く弱い相互作用を利用したナノ構造の構築**：複数の官能基をもつ分子を単位構造とし、これを共有結合で連結することにより特徴的な二・三次元構造をもつブロック分子を合成する。また、このブロック分子に水素結合や金属配位結合、疎水性相互作用など分子間に働く弱い相互作用を作用させ、チャンネル構造やらせん構造、ベシクルやファイバーなどの特徴的な立体構造や分子集合体を自発的に構築させる。

2. **アダマンタンを有する環状化合物の動的自己集合と結晶化**：特徴的な特性を有するアダマンタンからなる環状化合物を構築し、中空球状集合体や二次元ネットワーク集合体への自己組織化および結晶化を通じた動的挙動と相転移について調べる。

3. **不斉結晶化および結晶多形に関する研究**：不斉炭素などの不斉要素を持たないアキラルな化合物が、結晶化によってキラリティーを発生する不斉結晶化現象について、その機構を解明し、生命の持つキラリティーの起源との関連を調べる。また、単一の物質が条件により異なる分子配列をもつ結晶を与える結晶多形現象について、その条件と結晶形との関係を調べる。

外部誌上发表 (2010年~2015年3月)

[原著論文]

2015

1. Katagiri, K., Tohaya, T., Shirai, R., Kato, T., Masu, H., Tominaga, M., Azumaya, I. (2015). Folded-to-unfolded structural switching of a macrocyclic aromatic hexamide based on conformation changes in the amide groups induced by *N*-alkylation and dealkylation reactions. *J. Mol. Struct.* 1082, 23–28.
2. Tominaga, M., Kunitomi, M., Katagiri, K., Itoh, T. (2015). Adamantane-Based Oxacyclophanes Containing Pyrazines: Synthesis, Crystal Structure, and Self-Assembly Behavior. *Org. Lett.*, 17, 786–789.

2014

1. Tominaga, M., Iekushi, A., Katagiri, K., Ohara, K., Yamaguchi, K., Azumaya, I. (2014). Channel-dependent conformations of single-strand polymers in organic networks composed of tetrapodal adamantanes with *N*-heterocyclic moieties. *Tetrahedron Lett.*, 255, 5789–5792.
2. Tominaga, M., Yoneta, T., Ohara, K., Yamaguchi, K., Itoh, T., Minamoto, C., Azumaya, I. (2014). Self-Assembly of a Tetrapodal Adamantane with Carbazole Branches into Hollow Spherical Aggregates in Organic Media. *Org. Lett.*, 16, 4622–4625.
3. Tominaga, M., Ohara, K., Yamaguchi, K., Azumaya, I. (2014). Hollow Sphere Formation from a Three-Dimensional Structure Composed of an Adamantane-Based Cage. *J. Org. Chem.*, 79, 6738–6742.
4. Tominaga, M., Ukai, H., Katagiri, K., Ohara, K., Yamaguchi, K., Azumaya, I. (2014). Tubular structures bearing channels in organic crystals composed of adamantane-based macrocycles. *Tetrahedron*, 79, 2576–2581.
5. Katagiri, K., Sakai, T., Hishikawa, M., Masu, H., Tominaga, M., Yamaguchi, K., Azumaya, I. (2014). Synthesis, Structure, and Thermal Stability of Silver(I) Coordination Polymers with Bis(pyridyl) Ligands Linked by an Aromatic Sulfonamide: One-Dimensional-Straight Chain, One-Dimensional-Columnar with Helical Components, and Two-Dimensional-Layer Network Structures. *Cryst. Growth Des.*, 14, 199–206.

2013

1. Ohara, K., Tominaga, M., Azumaya, I., Yamaguchi, K. (2013). Solvent-dependent assembly of discrete and continuous CoCl₂ adamantane-based ligand complexes: observations by CSI-mass spectrometry and X-ray crystallography. *Analytical Sciences*, 29, 773–776.
2. Masu, H., Tominaga, M., Azumaya, I. (2013). Hydrogen-Bonded 1D Chains Formed from Adamantane-Based Bisphenols and Bispyridines: Influences of Substitution Groups on Phenol Ring. *Cryst. Growth Des.*, 13, 752–758.
3. Tominaga, M., Iekushi, A., Katagiri, K., Ohara, K., Yamaguchi, K., Azumaya, I. (2013). Organic crystals bearing both channels and cavities formed from tripodal adamantane molecules. *J. Mol. Struct.*, 1046, 52–56.
4. Sakai, T., Katagiri, K., Uemura, Y., Masu, H., Tominaga, M., Azumaya, I. (2013). Pseudopolymorphism and Polymorphic Transition Behavior of *N*-(4'-Methoxyphenyl)-2-naphthalenesulfonamide. *Cryst. Growth Des.*, 13, 308–314.

2012

1. Terada, S., Katagiri, K., Masu, H., Danjo, H., Sei, Y., Kawahata, M., Tominaga, M., Yamaguchi, K., Azumaya, I. (2012). Polymorphism of aromatic sulfonamides with fluorine groups. *Cryst. Growth Des.*, 12, 2908–2916.

2011

1. Tominaga, M., Masu, H., Azumaya, I. (2011). Pseudopolymorphism of an Adamantane-based Bisphenol containing Water Molecules: a Role of Clathrate Hydrates in Hydrogen-bonded Networks. *CrystEngComm*, 13, 5299–5302.
2. Tominaga, M., Azumaya, I. (2011). Fibrous Architectures and Organogels of Tris(phenylethynylphenyl)adamantane Molecules with Amino Acid Moieties: Their Solvato-controlled Helicity Induction. *Chirality*, 23, E59–E64.
3. Tominaga, M., Masu, H., Azumaya, I. (2011). Hydrogen-Bonding Networks of Adamantane-Based Bisphenol Molecules: Toward the Preparation of Molecular Crystals with Channels. *Cryst Growth. Des.*, 11, 542–546.
4. Katagiri, K., Furuyama, T., Masu, H., Kato, T., Matsumura, M., Uchiyama, M., Tanatani, A., Tominaga, M., Kagechika, H., Yamaguchi, K., Azumaya, I. (2011). Calix[3]amide-based Anion Receptors: High Affinity for Fluoride Ions and a Twisted Binding Model. *Supramolecular Chem.*, 23, 125–130.
5. Masu, H., Sagara, Y., Imabeppu, F., Takayanagi, H., Katagiri, K., Kawahata, M., Tominaga, M., Kagechika, H., Yamaguchi, K., Azumaya, I. (2011). Crystal Structure of Spherical Aromatic Amide: Pseudopolymorphs and Formation of infinite Water Cluster in the Channel Structure. *CrystEngComm*, 13, 406–409.

マンタンを有するオキサシクロファン設計とベシクル形成. 第53回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会・中国四国支部学術大会, 11月8日, 広島.

2010

1. Tohaya, T., Katagiri, K., Katoh, J., Masu, H., Tominaga, M., Azumaya, I. (2010). Polymorphism or Pseudopolymorphism of a Macrocyclic Compound: Helical Structure, Layered Structure, and Pseudorotaxane Constructed by Weak Intermolecular Interactions. *CrystEngComm*, 3492–3495.
2. Katagiri, K., Ikeda, T., Masu, H., Tominaga, M., Azumaya, I. (2010). Coordination polymers and networks constructed from bidentate ligands linked with sulfonamide and silver(I) ions. *Cryst. Growth Des.*, 10, 2291–2297.
3. Tominaga, M., Katagiri, K., Azumaya, I. (2010). Hydrogen-bonded networks formed from tri- and tetrasubstituted adamantanes bearing dimethoxyphenol moieties and their 1,3,5-trinitrobenzene complexes via charge-transfer interactions. *CrystEngComm*, 1164–1170.

口頭発表・学会発表 (2014年~2015年3月)

1. 富永昌英, 鶴飼厚行, 伊藤努武, 小原一朗, 山口健太郎 (2015). サレンとアダマタン部位からなる環状分子の構築と自己集合挙動. 日本化学会 第95春季年会, 3月27日, 千葉.
2. 富永昌英, 國富寛大, 伊藤努武, 小原一朗, 山口健太郎 (2015). アダマタン骨格からなる六角形状環状分子の構築と球状集合体形成. 日本化学会 第95春季年会, 3月27日, 千葉.
3. 富永昌英, 橋本千尋, 伊藤努武, 小原一朗, 山口健太郎, 東屋功 (2014). *N*-ヘテロ環を有する四脚分子の球状集合体を経由した結晶化. 日本化学会 第94春季年会, 3月28日, 愛知.
4. Tominaga, M., Ohara, K., Yamaguchi, K., Azumaya, I. (2014). Single-strand polymers in channels built from tetrapodal adamantanes with *N*-heterocyclic branches. Joint Congress of Asian Crystallization Technology Symposium-2014 (ACTS-2014) and 11th International Workshop on Crystal Growth of Organic Materials (CGOM11), 6月20日, Nara, Japan.
5. 國富寛大, 富永昌英, 片桐幸輔, 伊藤努武 (2014). アダ



研究分野

天然資源からの機能分子の探索

Search of the Functional Molecules from Natural Resources

教員

教授 代田 修 着任年月日：2013年4月1日
 香川薬学部着任年月日：2004年4月1日
 最終学歴：1994年3月東京薬科大学大学院薬学研究科薬学専攻博士後期課程修了。博士（薬学）
 前職：国立医薬品食品衛生研究所生薬部主任研究官
 助教 安元 加奈未 着任年月日：2005年4月1日
 最終学歴：2008年5月徳島大学大学院薬学研究科博士後期課程修了。博士（薬学）

研究の概要

「植物性違法ドラッグの成分に関する研究」(代田)

麻薬や覚せい剤などは法律により厳しく規制される一方、幻覚性植物がそれらの代用としてお香（スモークインセンス）や植物標本、観賞用植物などの名目で法律や監視の目を潜り抜けて売られてきた。これらはいわゆる「違法ドラッグ」であり、含有される成分が麻薬や覚せい剤、医薬品などの化合物とその構造が類似するものも多い。これら違法ドラッグの一つであったマジックマッシュルームが麻薬原料植物として規制され、また、幻覚物質であるサルビノリンAを含有するメキシコ原産の幻覚性サルビア（*Salvia divinorum*）が薬事法の指定薬物に指定されたことは記憶に新しい。この幻覚性サルビアは κ -オピオイドレセプター選択的アゴニストであるsalvinorin A (SalA) を含んでいることから強力な幻覚作用を示す。本研究では、これら植物系違法ドラッグの監視・取締に役立つような新しい分析法の開発、新規な鑑別法の確立を目指している。SalAのような低分子化合物の検出は、HPLC法などの機器分析が主流であり、高い信頼性を有するものの、簡便な手法とは言い難い。一方、免疫化学的分析手法は簡便で多検体同時分析可能な手法であり、現場での使用も可能な迅速分析法としての優位性を持つ。そこで、免疫化学的分析手法に着目し、抗体SalAモノクローナル抗体(MAb)を独自に作製した後、本MAbを活用したELISAの開発を行った。その結果、salvinorin類を特異的に認識するMABを得ることができ、本抗体を活用した間接競合法によるELISAの開発を行い、その特性を評価した結果、十分な感度と精度を備えた分析手法であることを確認した。本法は、幻覚成分を含有する*Salvia divinorum*の簡便、高感度な鑑別法として有用な手法といえる。

共同研究：九州大学

「*Ephedra* 属植物の成分解析」(代田)

麻黄は漢方処方において重要な生薬の一つであるが、その供給は100%輸入に依存している。現在、主たる輸入先である中

国からの輸出が規制され、麻黄の確保は大変重要な課題である。一方、世界の他地方を見てみると、ペルーを産地とする*Ephedra americana*は現地で民間薬として用いられているが、漢方生薬麻黄の主薬効成分であるエフェドリンは含まれていないとされ、またその成分研究もあまり行われていない。そこで本研究では*E. americana*の成分について検討を進めている。

外部資金導入実績：厚生労働省科学研究費助成事業（創薬基盤推進研究）

共同研究：昭和薬科大学

「有用食品からの生理活性成分の探索」(代田)

ミルクフルーツ（*Chrysophyllum cainito*）はアカテツ科の常緑樹である。果実を横に輪切りにすると星形の模様が浮か出ることから、英名ではスターアップルと呼ばれている。また、果実はゼリー状で白色の乳液を含んでいることから、東南アジア諸国ではミルクフルーツと呼ばれている。今回、我々は野菜や果物などから得た種子67品種および家庭菜園などに使用される市販の種子57品種、合計124品種の種子抽出液を用いて血液凝集素価を実施したところ、ミルクフルーツ種子抽出液のみに高力価の溶血を認めた。植物種子は、抗酸化作用や抗腫瘍作用の報告がされていることから、ミルクフルーツ種子および葉の生理活性成分について検討を開始した。

共同研究：香川県立保健医療大学、藤田保健衛生大学、南九州大学、純真学園大学

「天然薬物からのリーシュマニア症治療リード化合物の探索と作用メカニズムの解明」(安元)

熱帯感染症であるリーシュマニア症は原虫による寄生虫病でWHO指定の六大熱帯病の一つである。現在アンチモン剤が第一選択の治療薬とされているが高価で長期間の投与が必要であり、重篤な副作用を呈するため患者の多くは治療を受けられずに問題となっている。患者は発展途上国に多く、有効性・安全性に優れていると共に安価で簡便な医薬品、投与方法が求められている。両国の医療機関から、植物由来の有効な薬剤を探索して欲しいとの強い要望を受け、1999年から熱帯産薬用植物を対象に研究を行っている。

これまで実施した研究に続いて2013年は、ミャンマー産薬用植物についてスクリーニングを行い、活性を認めた*Tectona grandis*について検討を行い、18種の化合物を単離構造決定した。これらのうち、顕著な抗リーシュマニア活性を有しながらもマウスマクロファージ様細胞に細胞毒性を示さない4種の化合物を見出した。

また、同属（*Tectona* sp.）植物の成分研究も並行して行ってお

天然資源からの機能分子の探索

り、これまでに 12 種の活性成分を見出し、単離構造決定を行っている。

外部資金導入実績：科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）若手研究（B）

共同研究：昭和薬科大学，(独)医薬基盤研究所，静岡県立大学，お茶の水女子大学

「生薬・天然物からの AD 治療薬の探索」(安元)

アルツハイマー型認知症（AD）の発症に密接に関連すると考える A β 仮説に基づき、A β 1-42（A β 42）の凝集を抑制する化合物を薬用植物より見いだすべく、チオフラビンアッセイにより 15 種の熱帯植物エキス及び賦形剤を含まない漢方処方エキスに対しスクリーニングを行った。

この結果より選定したミャンマー産植物 7B について、原子間力顕微鏡を用いて A β 42 の凝集変化を確認した後、アッセイガイドに従ってクロマトグラフィーによる分離精製を行い、3 種の活性化合物を得た。得られた成分についてチオフラビンアッセイ及び SDS-PAGE、Western Blot による凝集阻害能を詳細に検討した。

共同研究：広島大学，昭和薬科大学，首都大学東京

「薬用植物の成分と知識の普及に関する研究」(安元)

薬学が 6 年制となり、またここ数年で医学部では漢方教育が必須事項となった事もふまえて、改めて天然由来の薬<薬用植物>の重要性を理解する必要がある。本研究計画は、医薬品としての薬用植物、生薬の理解を深め、サプリメント・健康食品としての正確な知識を深めることを目的とし、当大学と香川県の協力により、学生および一般県民、薬剤師を対象に薬用植物講演会・観察会を開催した。

「第 7 回身近な薬用植物を知ろう」

平成 27 年 2 月 21 日薬用植物講演会（参加者 29 名）、体験実習 1（薬用植物による和紙染色、参加者 20 名）2 月 22 日体験実習 2（布染色、参加者 30 名）

<過去の開催について>

「第 6 回身近な薬用植物を知ろう」

平成 25 年 10 月 20 日薬用植物講演会（参加者 69 名）、10 月 21 日薬用植物観察会（瀬戸内海国立公園 屋島北嶺）（50 名）

「第 5 回身近な薬用植物を知ろう」

平成 24 年 10 月 20 日薬用植物講演会（参加者 70 名）、10 月 21 日薬用植物観察会（飯野山ハイキングコース）（82 名）

「第 4 回身近な薬用植物を知ろう」

平成 23 年 11 月 26 日薬用植物講演会（参加者 57 名）、11 月 27 日薬用植物観察会（紫雲山ハイキングコース）（参加者 46 名）

「第 3 回身近な薬用植物を知ろう」

平成 22 年 10 月 23 日薬用植物講演会（参加者 87 名）、10 月 24 日薬用植物観察会（金刀比羅宮，旧伊予土佐街道）（参加者およそ 91 名）。

「第 2 回身近な薬用植物を知ろう」

平成 21 年 7 月 11 日薬用植物講演会（参加者 106 名）、7 月 12

日薬用植物観察会（瀬戸内海国立公園 屋島南嶺）（参加者 81 名）。平成 21 年度 特色ある教育研究（21 教育-8）。

「第 1 回身近な薬用植物を知ろう」。

平成 20 年 6 月 7 日薬用植物講演会（参加者 109 名）、6 月 8 日薬用植物観察会（香川県立公洲森林公園）。（参加者 79 名）
外部資金導入実績：平成 25 年度特色ある教育研究（25 社会 1）。

外部誌上発表（2010 年~2015 年 3 月）

[原著論文]

2014

1. Sallam, A., Nugroho, A.E., Hirasawa, Y., Chin-Piow, W., Kaneda, T., Shirota, O., Gedara, S.R., and Morita, H. (2014). Diterpenoids from *Fagonia mollis*. *Natural Product Communications* 9, 1243-1244.
2. Morita, H., Nugroho, A.E., Nagakura, Y., Hirasawa, Y., Yoshida, H., Kaneda, T., Shirota, O., and Ismail, I.S. (2014). Chrotacumines G-J, chromone alkaloids from *Dysoxylum acutangulum* with osteoclast differentiation inhibitory activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 24, 2437-2439.
3. Mori, R., Nugroho, A.E., Hirasawa, Y., Wong, C.P., Kaneda, T., Shirota, O., Hadi, A.H.A., and Morita, H. (2014). Opaciniols A-C, new terpenoids from *Garcinia opaca*. *Journal of Natural Medicines* 68, 186-191.
4. Kuroyanagi, M., Shirota, O., and Sekita, S. (2014). Transannular cyclization of (4S,5S)-germacrone-4,5-epoxide under basic conditions to yield eudesmane-type sesquiterpenes. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 62, 725-728.
5. Kiren, Y., Nugroho, A.E., Hirasawa, Y., Shirota, O., Bekenova, M., Narbekovich, N.O., Shapilova, M., Maeno, H., and Morita, H. (2014). Mumeric acids A-E: new diterpenoids from *mumiyo*. *Journal of Natural Medicines* 68, 199-205.
6. Deguchi, J., Sasaki, T., Hirasawa, Y., Kaneda, T., Kusumawati, I., Shirota, O., and Morita, H. (2014). Two novel tetracycles, cassibiphenols A and B from the flowers of *Cassia siamea*. *Tetrahedron Letters* 55, 1362-1365.
7. Yasumoto, K.; Yasumoto-Hirose, M.; Yasumoto, J.; Murata, R.; Sato, S.; Baba, M.; Mori-Yasumoto, K.; Jimbo, M.; Oshima, Y.; Kusumi, T.; Watabe, S. (2014) Biogenic polyamines capture CO₂ and accelerate extracellular bacterial CaCO₃ formation. *Marine Biotechnology*, 16(4), 465-474.
8. Morikawa, M., Kino, K., Asada, E., Katagiri, K., Mori-Yasumoto, K., Suzuki, M., Kobayashi, T., Miyazawa, H. (2014). N'-[2-(7,8-Dimethyl-2,4-dioxo-3,4-dihydrobenzo[g]pteridin-10(2H)-yl)ethylidene]-4-nitrobenzo hydrazide. *Molbank*, M836; doi: 10.3390/M836.

2013

1. Yamasaki, F., Machida, S., Nakata, A., Nugroho, A.E., Hirasawa, Y., Kaneda, T., Shirota, O., Hagane, N., Sugizaki, T., and Morita, H. (2013). Haworforbins A-C, new phenolics from *Haworthia cymbiformis*. *Journal of Natural Medicines* 67, 212-216.
2. Paudel, M.K., Shirota, O., Sasaki-Tabata, K., Tanaka, H., Sekita, S., and Morimoto, S. (2013). Development of an Enzyme Immunoassay Using a Monoclonal Antibody against the Psychoactive Diterpenoid Salvinorin A. *Journal of Natural Products* 76, 1654-1660.
3. Nugroho, A.E., Okuda, M., Yamamoto, Y., Hirasawa, Y., Wong, C.-P., Kaneda, T., Shirota, O., Hadi, A.H.A., and Morita, H. (2013). Walsogynes B-G, limonoids from *Walsura chrysoygne*. *Tetrahedron* 69, 4139-4145.
4. Hirasawa, Y., Arai, H., Rahman, A., Kusumawati, I., Zaini, N.C., Shirota, O., and Morita, H. (2013). Voacalgines A-E, new indole alkaloids from *Voacanga grandifolia*. *Tetrahedron* 69,



10869-10875.

- Fuchino, H., Kiuchi, F., Yamanaka, A., Obu, A., Wada, H., Mori-Yasumoto, K., Kawahara, N., Flores, D., Palacios, O., Sekita, S., Satake, M. (2013). New leishmanicidal stilbenes from a Peruvian folk medicine, *Lonchocarpus nicou*, Chem Pharm Bull 61(9), 979-982.
- Ishihara, Y., Itoh, K., Mitsuda, Y., Shimada, T., Kubota, T., Kato, C., Song, S., Kobayashi, Y., Mori-Yasumoto, K., Sekita, S., Kirino, Y., Yamazaki T., Shimamoto, N. (2013). Involvement of brain oxidation in the cognitive impairment in a triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease: Non-invasive measurement of the brain redox state by magnetic resonance imaging. Free Radical Research 47(9), 731-739.

2012

- Kuroyanagi, M., Murata, M., Nakane, T.; Shirota, O.; Sekita, S.; Fuchino, H.; Shinwari, Z. K. (2012). Leishmanicidal active withanolides from a Pakistani medicinal plant, *Withania coagulans*.: Chem Pharm Bull 60(7): 892-897.
- Kuroyanagi, M., Shirota, O., Sekita, S., Nakane, T. (2012). Transannular cyclization of (4*S*,5*S*)-germacrone-4,5-epoxide into guaiane and secoguaiane-type sesquiterpenes.: Nat Prod Comm 7(4): 441-446.
- Nugroho, A. E.; Hirasawa, Y.; Piow, W. C.; Kaneda, T.; Hadi, A. H. A.; Shirota, O.; Ekasari, W.; Widyawaruyanti, A.; Morita, H. (2012). Antiplasmodial indole alkaloids from *Leuconotis griffithii*.: J Nat Med 66(2): 350-353.
- Deguchi, J.; Hirahara, T.; Hirasawa, Y.; Ekasari, W.; Widyawaruyanti, A.; Shirota, O.; Shiro, M.; Morita, H. (2012). New tricyclic alkaloids, cassiarins G, H, J, and K from leaves of *Cassia siamea*.: Chem Pharm Bull 60(2): 219-222.
- He, F.; Nugroho, A. E.; Wong, C. P.; Hirasawa, Y.; Shirota, O.; Morita, H.; Aisa, H. A. (2012). Rupestines F-M, new guaipyridine sesquiterpene alkaloids from *Artemisia rupestris*.: Chem Pharm Bull 60(2): 213-218.
- Janar, J.; Nugroho, A. E.; Wong, C. P.; Hirasawa, Y.; Kaneda, T.; Shirota, O.; Morita, H. (2012). Sabiperones A-F, new diterpenoids from *Juniperus Sabina*.: Chem Pharm Bull 60(1): 154-159.
- Mori-Yasumoto, K., Izumoto, R., Fuchino, H., Ooi, T., Agatsuma, Y., Satake, M., Sekita, S. (2012). Leishmanicidal activities and cytotoxicities of bisnaphthoquinone analogues and naphthol derivatives from Burman *Diospyros burmanica*, Bioorganic and Medicinal Chemistry 20, 5215-5219.

2011

- Naoko Anjiki, Junko Hosoe, Hiroyuki Fuchino, Fumiyouki Kiuchi, Setsuko Sekita, Hidekazu Ikezaki, Masayuki Mikage, Nobuo Kawahara, Yukihiro Goda (2011). Evaluation of the taste of crude drug and Kampo formula by a taste-sensing system(4): taste of Processed Aconite Root, J. Nat. med. **65**, 293-300
- Rangel, M; Cabrera, M. P. S.; Kazuma K.; Ando, K.; Wang, X.; Kato, M.; Nihei, K.; Hirata, I. Y.; Cross, T. J.; Garcia, A. N.; Mauro, E. L. F.; Franzolin, M. R.; Fuchino, H.; Yasumoto, K. M.; Sekita, S.; Kadowaki, M.; Satake, M.; Konno, K. (2011). Chemical and biological characterization of four new linear cationic α -helical peptides from the venoms of two solitary eumenine wasps, *Toxicon*, 57(7-8), 1081-1092.
- Shirota, O., Oribello, J.M., Sekita, S., and Satake, M. (2011). Sesquiterpenes from *Blumea balsamifera*. J Nat Prod 74, 470-476.
- Tanaka, H., Atsumi, I., Shirota, O., Sekita, S., Sakai, E., Sato, M., Murata, J., Murata, H., Darnaedi, D., and Chen, I.-S. (2011). Three New Constituents from the Roots of *Erythrina variegata* and Their Antibacterial Activity against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Chem

Biodiversity 8, 476-482.

- Taha, H., Hadi, A.H.A., Nordin, N., Najmuldeen, I.A., Mohamad, K., Shirota, O., Nugroho, A.E., Piow, W.C., Kaneda, T., and Morita, H. (2011). Pseudovarines A and B, two new cytotoxic dioxaporphine alkaloids from *Pseuduvaria rugosa*. Chem Pharm Bull 59, 896-897.
- Qureshi Ahmad, K., Mukhtar Mat, R., Hirasawa, Y., Hosoya, T., Nugroho Alfarius, E., Morita, H., Shirota, O., Mohamad, K., Hadi, A.H.A., Litaudon, M., and Awang, K. (2011). Neolamarckines A and B, new indole alkaloids from *Neolamarckia cadamba*. Chem Pharm Bull 59, 291-293.
- Najmuldeen, I.A., Hadi, A.H.A., Awang, K., Mohamad, K., Ketuly, K.A., Mukhtar, M.R., Chong, S.-L., Chan, G., Nafiah, M.A., Weng, N.S., Shirota, O., Hosoya, T., Nugroho, A.E., and Morita, H. (2011). Chisomicines A-C, Limonoids from *Chisocheton ceramicus*. J Nat Prod 74, 1313-1317.
- Deguchi, J., Hirahara, T., Oshimi, S., Hirasawa, Y., Ekasari, W., Shirota, O., Honda, T., and Morita, H. (2011). Total Synthesis of A Novel Tetracyclic Alkaloid, Cassiarin F from the Flowers of *Cassia siamea*. Org Lett 13, 4344-4347.

2010

- Fuchino, H., Kawano, M., Mori-Yasumoto, K., Sekita, S., Satake, M., Ishikawa, T., Kiuchi, F., and Kawahara, N. (2010). In vitro leishmanicidal activity of benzophenanthridine alkaloids from *Bocconia pearcei* and related compounds, Chem Pharm Bull 58, 1047-1050.
- Liu, Y., Nugroho, A. E., Hirasawa, Y., Nakata, A., Kaneda, T., Uchiyama, N., Goda, Y., Shirota, O., Morita, H., and Aisa, H. A. (2010). Vernodalidimers A and B, novel orthoester elemanolide dimers from seeds of *Vernonia anthelmintica*.: Tetrahedron Lett 51, 6584-6587.
- Deguchi, J., Shoji, T., Nugroho, A. E., Hirasawa, Y., Hosoya, T., Shirota, O., Awang, K., Hadi, A. H. A., and Morita, H. (2010). Eucophylline, a Tetracyclic Vinylquinoline Alkaloid from *Leuconotis eugenifolius*. J Nat Prod 73, 1727-1729.
- Kawauchi, M., Arima, T., Shirota, O., Sekita, S., Nakane, T., Takase, Y., and Kuroyanagi, M. (2010). Production of sesquiterpene-type phytoalexins by hairy roots of *Hyoscyamus albus* co-treated with copper sulfate and methyl jasmonate. Chem Pharm Bull 58, 934-938.
- Ishida, Y., Shirota, O., Sekita, S., Someya, K., Tokita, F., Nakane, T., and Kuroyanagi, M. (2010). Polyprenylated benzoylphloroglucinol-type derivatives including novel cage compounds from *Hypericum erectum*. Chem Pharm Bull 58, 336-343.
- Komoto, N., Ichikawa, M., Ohta, S., Nakano, D., Nishihama, T., Ushijima, M., Kodera, Y., Hayama, M., Shirota, O., Sekita, S., and Kuroyanagi, M. (2010). Murine metabolism and absorption of lancemaside A, an active compound in the roots of *Codonopsis lanceolata*. J Nat Med 64, 321-329.
- Teh, C.-H., Morita, H., Shirota, O., and Chan, K.-L. (2010). 2,3-Dehydro-4 α -hydroxylongilactone, a novel quassinoid and two known phenyl propanoids from *Eurycoma longifolia* Jack., Food Chem 120, 794-798.
- Morita, H., Nagakura, Y., Hosoya, T., Ekasari, W., Widyawaruyanti, A., Mori-Yasumoto, K., Sekita, S., and Hirasawa, Y. (2010). Cephistigiamide A, and antiplasmodial activity of Cephalotaxus alkaloids from *Cephalotaxus harringtonia* form a fastigiata, Heterocycles 81, 441-450.

[邦文総説・解説等]

- 代田 修 (2014). 「生薬・天然物化学の研究 一脱法ハーブ (危険ドラッグ) について」, 香川県薬剤師会誌 155: 58-62.
- 代田 修 (2010). 「荷電化粒子検出器 (CAD) : HPLC の新しい普遍的検出技術」, FFI ジャーナル **215**: 144-153

天然資源からの機能分子の探索

1. 安元加奈未(2015), 第 4 回薬用資源の現地調査. 第 14 回ミャンマーフォーラム. 平成 27 年 2 月 18 日, 東京.
2. 野地裕美, 田元浩一, 代田 修, 関田節子, 齋 政彦, 伊藤建比古 (2011). 「ローヤルゼリー抽出物及びヒト骨芽細胞増殖抑制剤」 特許開 第 2011-032187

特許

1. 武藤 徳男, 黒柳 正典, 代田 修 (2014). 「抗アレルギー



研究分野

核酸関連化合物の創薬

Design and synthesis of novel nucleic acid analogs

教員

教授 丸山 徳見 着任年月日：2004年4月1日
 最終学歴：1976年3月大阪大学大学院薬学研究科博士後期課程修了。薬学博士、薬剤師
 元職：九州保健福祉大学薬学部・教授

教授 加藤 善久 着任年月日：2006年9月1日
 最終学歴：1983年3月静岡薬科大学大学院薬学研究科修士課程修了。博士（薬学）、薬剤師
 （財）日本薬剤師研修センター認定薬剤師
 静岡県立大学薬学部客員教授
 元職：静岡県立大学薬学部医療薬学大講座薬物動態学分野、同大学院薬学研究科機構薬剤学講座・講師

講師 榊原 紀和 着任年月日：2006年4月1日
 最終学歴：2005年3月京都大学大学院農学研究科博士後期課程修了。博士（農学）、薬剤師
 元職：京都大学生存圏研究所・教務補佐員

研究の概要

主な研究テーマ

1. 低分子型血管新生促進剤、COA-CI の医薬品を指向した基盤研究
2. 抗 HIV-1 作用を有する核酸塩基誘導体の創製研究

A. 低分子型血管新生促進剤、COA-CI の医薬品を指向した基盤研究（榊原紀和、加藤善久、丸山徳見）

A-1. 研究の達成目標、その意義・背景

現在用いられている血管新生促進剤は、生体由来の血管内皮細胞増殖因子(VEGF)や繊維芽細胞成長因子(FGF)といった高分子糖タンパク質である。これらは糖尿病患者における慢性閉塞性動脈硬化症やパージャ病といった、血流不足のために生じる様々な症状を治療するために必須であるが、化学的あるいは生物学的に不安定であり、これらVEGFやFGFといった生体由来の増殖因子以外に促進剤がほとんど知られていないために、現在も臨床応用は極めて少ないままであった。

ところが近年、我々は新規に合成した核酸類縁体 COA-CI (2クロル炭素環オキシセタノシン A) に強力な血管新生促進作用があることを明らかにした。COA-CI は、化学的に非常に安定で、そのプリン骨格の2位にクロル基、9位に炭素から成る4員環が結合したユニークな構造をしており、低分子化合物(分子量 284) としては唯一、血管新生促進作用を示す物質である。しかしながら基礎研究の段階において未解明な問題が残

されており、また臨床応用への展開に関しても検討することが多い。

本研究は COA-CI のまだ解明されていない基礎研究を完成させ、COA-CI およびその類縁体を利用した血管新生関連治療薬への臨床応用に展開するための基盤研究を行う。

本年度の具体的な研究達成目標は、以下の2点である。

- 1) COA-CI の構造異性体を化学合成し、その血管新生促進作用に対する構造活性相関を評価する。
- 2) COA-CI へ各種官能基を導入することにより、血管新生促進作用をさらに向上させる。

A-2. 目標達成状況

上記の目標 1) および 2) に関して、1) に関しては達成された。今後、2) についても検討してゆきたい。

A-3. 研究成果の概要と自己評価

我々は COA-CI の構造異性体を化学合成し、その血管新生促進作用に対する構造活性相関を評価した。その結果、COA-CI に匹敵する血管新生促進作用を有する COA-CI 構造異性体を見い出した(未発表データ)。今後、さらに高活性で且つ低毒性な COA-CI 異性体を創製してゆきたい。

A-4. 今後の課題

COA-CI の血管新生促進活性の詳細な作用機序は、未だ詳細には解明されていない。そこで COA-CI へ各種官能基を導入し、その活性を評価することにより、作用機序の解明の糸口を見い出してゆきたい。

A-5. 外部資金導入実績

1. 榊原紀和(代表個人)：低分子型血管新生促進剤・2クロル炭素環オキシセタノシン A の医薬品を指向した基盤研究、平成 24~27 年度 科学研究費助成事業(学術研究助成基金助成金(若手研究(B)))

A-6. 内部・外部との共同研究

学内) 物理化学講座 岸本泰司准教授
 学外) 香川大学医学部薬物生体情報学講座 塚本郁子准教授、
 香川大学医学部自律機能生理学講座 五十嵐淳介准教授

B. 抗 HIV-1 作用を有する核酸塩基誘導体の創製研究（榊原紀和、加藤善久、丸山徳見）

B-1. 研究の達成目標、その意義・背景

非核酸系逆転写酵素阻害剤(NNRTI)は、逆転写酵素の活性中心の近傍に存在するアミノ酸と相互作用し、その立体構造を変化させることによって酵素活性を失活させ抗 HIV-1 活性を示す。中でも、1-[(2-hydroxyethoxy)-methyl]-6-phenylthiothymine (1, HEPT) は、チミンを母骨格としながらも、HIV-1 の逆転写酵素を強力に

阻害する NNRTI であることが報告されている (Figure)。

一方、我々の研究グループにおいても、ウラシルを母骨格とした1-ベンジル-3-(3,5-ジメチルベンジル)ウラシルの6置換体が NNRTI として抗 HIV-1 活性を有することを見出し、特に6-アジド体 (2a) および6-アミノ体 (2b) について(Figure)、50%効果濃度(EC₅₀ 値)が何れも 0.07 ± 0.01 μM と優れた抗 HIV-1 活性を示すことを報告している。さらに6-アミノ-3-(3,5-ジメチルベンジル)-1-(4-ピコリル)ウラシル(2c)においては、EC₅₀ 値が 0.03 ± 0.03 μM、CC₅₀ 値が 100 μM 以上であり、治療係数(SI 値)は 2863 であり、ジドブジン(AZT)の結果(EC₅₀ 値: 0.04 ± 0.04 μM, CC₅₀ 値: 100 μM 以上, SI 値: 2769)に匹敵することを明らかにした。引き続き現在も、より低毒性で高い抗 HIV-1 活性を有する NNRTI となるような新規ウラシル誘導体の創製を目指し、研究を遂行している。

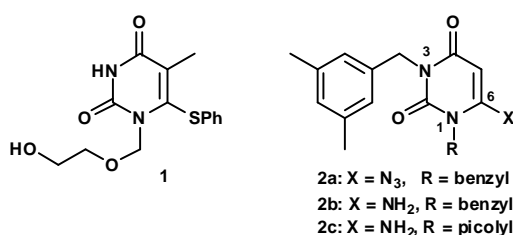


Figure. Structures of HEPT (1) and 1-substituted-3-(3,5-dimethylbenzyl)uracil derivatives (2a-c).

B-2. 目標達成状況

本年度の目標達成状況に関しては、上記、化合物 2a - c の抗 HIV-1 活性を上回るウラシル誘導体を見出したことから、概ね達成された。

B-3. 研究成果の概要と自己評価

今回合成した誘導体のうち、6-アミノ-3-(3,5-ジメチルベンジル)-1-(4-アミノベンジル)ウラシルについて、EC₅₀ 値が 0.010 ± 0.006 μM、CC₅₀ 値が 20 μM 以上であり、治療係数(SI 値)は 1923 であった。この結果は、ポジティブコントロールとして用いたエミビリンの結果(EC₅₀ 値: 0.013 ± 0.001 μM, CC₅₀ 値: 20 μM 以上, SI 値: 1539)に匹敵することを明らかにした。

B-4. 今後の課題

今後、新規ウラシル類縁体の構造活性相関情報ならびに HIV-1 逆転写酵素のネビラピン結合部位とのドッキングスタディを行うことにより、より低毒性で高い抗 HIV-1 活性を有する NNRTI となるような新規誘導体の創製を目指す。

一方、NNRTI も積極的な新薬開発が行われているが、既存薬との交叉耐性を回避することが大きな課題となっている。そこで我々が開発した各種ウラシル誘導体においても、既存の NNRTI との交叉耐性の有無についての検討を行ってゆきたい。

B-6. 内部・外部との共同研究

鹿児島大学大学院歯学総合研究科附属難治ウイルス病態制御研究センター感染防御学講座 馬場昌範教授

[原著論文]

2015

1. Sakakibara, N., Baba, M., Okamoto, M., Toyama, M., Demizu, Y., Misawa, T., Kurihara, M., Irie, K., Kato, Y., Maruyama, T. (2015). Design, synthesis, and anti-HIV-1 activity of 1-aromatic methyl-substituted 3-(3,5-dimethylbenzyl)uracil and N-3,5-dimethylbenzyl-substituted urea derivatives. *Antiviral Chemistry & Chemotherapy*, 24, 3-18.

2014

1. Igarashi, J., Hashimoto, T., Kubota, Y., Shoji, K., Maruyama, T., Sakakibara, N., Takuwa, Y., Ujihara, Y., Katanosaka, Y., Mohri, S., Naruse, K., Yamashita, T., Okamoto, R., Hirano, K., Kasaka, H., Takata, M., Konishi, R., Tsukamoto, I. (2014). Involvement of S1P1 receptor pathway in angiogenic effects of a novel adenosine-like nucleic acid analog COA-Cl in cultured human vascular endothelial cells. *Pharmacology Research & Perspectives*, 2, e00068.

2013

1. Sakakibara, N., Hamasaki, T., Baba, M., Demizu, Y., Kurihara, M., Irie, K., Iwai, M., Asada, E., Kato, Y., and Maruyama, T. (2013). Synthesis and evaluation of novel 3-(3,5-dimethylbenzyl)uracil analogs as potential anti-HIV-1 agents. *Bioorg. Med. Chem.*, 21, 5900-5906.
2. Sakakibara, N., Tsukamoto, I., Isono, Y., Takata, M., Konishi, R., Kato, Y., and Maruyama, T. (2013). A new method for synthesis and angiogenic evaluation of leteprinim potassium and its novel analogs. *Heterocycles*, 87, 2369-2384.
3. Umezawa, T., Ragamustari, S.K., Nakatsubo, T., Wada, S., Li, L., Yamamura, M., Sakakibara, N., Hattori, T., Suzuki, S., and Chiang, V.L. (2013). A lignan O-methyltransferase catalyzing the regioselective methylation of matairesinol in *Carthamus tinctorius*. *Plant Biotechnology*, 30, 97-109.
4. Okabe, N., Nakamura, E., Himi, N., Narita, K., Tsukamoto, I., Maruyama, T., Sakakibara, N., Nakamura, T., Itano, T., and Miyamoto, O. (2013). Delayed administration of the nucleic acid analog 2Cl-C.OXT-A attenuates brain damage and enhances functional recovery after ischemic stroke. *Brain Research*, 1506, 115-131.

2012

1. Sakakibara, N., Tsukamoto, I., Tsurura, T., Takata, M., Konishi, R., and Maruyama, T. (2012). Novel synthesis of carbocyclic oxetanocin analogs (2-alkoxy-C.OXT-A) and their tube formation activities of human umbilical vein endothelial cells (HUVEC). *Heterocycles*, 85, 1105-1116.
2. Ordonez, P., Hamasaki, T., Isono, Y., Sakakibara, N., Ikejiri, M., Maruyama, T., and Baba, M. (2012). Anti-human immunodeficiency virus type 1 activity of novel 6-substituted 1-benzyl-3-(3,5-dimethylbenzyl)uracil derivatives. *Antimicrob Agents Chemother*, 56, 2581-2589.
3. Sakakibara, N., Kakoh, A., and Maruyama, T. (2012). First synthesis of [6-¹⁵N]-cladribine using ribonucleoside as a starting material. *Heterocycles*, 85, 171-182.
4. Demizu, Y., Doi, M., Kurihara, M., Maruyama, T., Suemune, H., and Tanaka, M. (2012). One-Handed Helical Screw Direction of Homopeptide Foldamer Exclusively Induced by Cyclic α-Amino Acid Side-Chain Chiral Centers. *Chem. Eur. J.*, 18, 2430-2439.

2011

1. Sakakibara, N., Komatsu, M., and Maruyama, T. (2011). One-pot synthesis of 2-nitrooxyalkoxylated inosine analogs using cyclic ether and isoamyl nitrite. *Heterocycles*, 83, 2865-2872.
2. Sakakibara, N., Tsuruta, T., Komatsu, M., Iwai, M., and Maruyama, T. (2011). A new method for synthesis of



- 2-alkoxyadenosine analogs. *Heterocycles*, 83, 2299-2311.
- Isono, Y., Sakakibara, N., Ordonez, P., Hamasaki, T., Baba, M., Ikejiri, M., and Maruyama, T. (2011). Synthesis of 1-benzyl-3-(3,5-dimethylbenzyl)uracil derivatives with potential anti-HIV activity. *Antiviral Chemistry & Chemotherapy*, 22, 57-65.
 - Yamamura, M., Wada S., Sakakibara, N., Nakatsubo, T., Suzuki, S., Hattori, T., Takeda, M., Sakurai, N., Suzuki, H., Shibata, D., and Umezawa, T. (2011). Occurrence of guaiacyl/*p*-hydroxyphenyl lignin in *Arabidopsis thaliana* T87 cells. *Plant Biotechnology*, 28, 1-8.

2010

- Tsukamoto, I., Sakakibara, N., Maruyama, T., Igarashi, J., Kosaka, H., Kubota, Y., Tokuda, M., Ashino, H., Hattori, K., Tanaka, S., Kawata, M. and Konishi, R. (2010). A novel nucleic acid analogue shows strong angiogenic activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 399, 699-704.
- Suzuki, S., Sakakibara, N., Li, L., Umezawa, T. and Chiang, V., L. (2010). Profiling of phenylpropanoid monomers in developing xylem tissue of transgenic aspen (*Populus tremuloides*). *Journal of Wood Science*, 56, 71-76.

[邦文総説・解説等]

- 榑原紀和, 丸山徳見, 加藤善久 (2013). 「血管新生促進作用および抗 HIV-1 作用を有する新規核酸類縁体の創製」香川県薬剤師会誌 かがやく, 150: 68-70.

口頭発表・学会発表 (2014年~2015年3月)

- 榑原紀和, 塚本郁子, 磯野洋平, 高田麻紀, 小西良士, 加藤善久, 丸山徳見 (2014). 「ネオトロフィン及びその誘導体の新規合成法の開発と血管新生促進作用の評価」日本化学会第 94 春季大会, ポスター番号, 2PC-52, 3月 27~30 日, 名古屋.
- Tsukamoto, I., Takata, M., Kubota, Y., Kawanami, Y., Sakakibara, N., Maruyama, T., Tokuda, M., and Konishi, R. (2014). Physiological activities of the rare sugar derivatives, Rare Sugar Symposium 2014 in Kagawa, Abst. No. S12, 29-30 April, Kagawa, Japan.
- 榑原紀和, 馬場昌範, 岡本実佳, 外山政明, 出水庸介, 栗原正明, 入江晃司, 加藤善久, 丸山徳見 (2014). 「新規 3-(3,5-ジメチルベンジル)ウラシル誘導体の合成とそれらの抗 HIV-1 活性評価」第 24 回抗ウイルス療法研究会総会, 講演要旨集, p66, 5月 7~9 日, 山梨.
- 榑原紀和, 馬場昌範, 岡本実佳, 外山政明, 出水庸介, 栗原正明, 入江晃司, 加藤善久, 丸山徳見 (2014). 「抗 HIV-1 剤を指向した 1-置換型 3-(3,5-ジメチルベンジル)ウラシルの創製研究」第 9 回日本ケミカルバイオロジー学会, 講演要旨集, p104, 6月 11~13 日, 大阪.
- 塚本郁子, 五十嵐淳介, 橋本剛, 山下哲生, 榑原紀和, 丸山徳見, 高田麻紀, 窪田泰夫, 平野勝也, 小西良士 (2014). 「HUVEC における COA-Cl の血管新生作用に対する S₁P レセプターの関与」第 87 回日本生化学会大会, 演題番号, 3P-391, 10月 15~18 日, 京都.
- Sakakibara, N., Baba, M., Okamoto, M., Toyama, M., Demizu, Y., Misawa, T., Kurihara, M., Irie, K., Kato, Y., and Maruyama, T. (2014). Design, synthesis, and anti-HIV-1 activity of 1-aromatic methyl-substituted 3-(3,5-dimethylbenzyl)uracil and *N*-3,5-dimethylbenzyl-substituted urea derivatives. The 41th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2014, Abst. No. P028, 5-7 November, Kitakyushu, Japan.
- 榑原紀和, 馬場昌範, 岡本実佳, 外山政明, 出水庸介,

特許

- Tsukamoto, I., Konishi, R., Tokuda, M., Kubota, Y., Maruyama, T., Kosaka, H., Igarashi, J. Preparation of cyclobutylpurine derivatives as angiogenesis promoting agents, lumenization promoting agents, neurocyte growth promoting agents, and drugs. *PCT Int. Appl.* (2010), 95pp.

その他、新聞報道等

該当事項なし



研究分野

分子生物学研究

Research on Molecular Biology

教員

教授 宮澤 宏 着任年月日：2004年4月1日

最終学歴：1986年3月東京大学大学院薬学研究科博士課程修了。薬学博士

前職：国立医薬品食品衛生研究所・遺伝子細胞医薬部・室長

元職：東京工業大学生命理工学部・助手、理化学研究所細胞生理学研究室前任研究員、国立公衆衛生院・衛生薬学部・室長

准教授 喜納克仁 着任年月日：2004年4月1日

2012年に講師から准教授に昇格。

最終学歴：2002年3月東京医科歯科大学大学院医学研究科博士課程修了。博士（医学）

1998年3月京都大学大学院工学研究科合成・生物化学専攻修了。修士（工学）

前職：理化学研究所基礎科学特別研究員（細胞生理学研究室）

元職：日本学術振興会特別研究員（DC1）

助手 小林隆信 着任年月日：2005年4月1日

最終学歴：2003年3月東京理科大学大学院薬学研究科修士課程修了。修士（薬学）

前職：東京理科大学大学院薬学研究科博士課程（中退）

研究の概要

1. 神経細胞への分化誘導機構の解明（小林・小森・宮澤）

マウス胚性腫瘍細胞 P19 は、異なる条件での培養により異なる組織特異的細胞への分化が誘導されるという多分化能をもった細胞株である。分化の一条件として、凝集状態での培養と一定濃度のレチノイン酸添加によって、神経細胞集団が生じることが知られる。

我々はこの系を用いて、未分化細胞から組織特異的細胞への分化にかかわる分子機構を明らかにしようとしている。近年の研究により、分化には増殖因子や分化誘導因子による刺激、3 次元的な細胞間相互作用などが特に重要な役割を果たしていることが明らかになってきている。しかし、分化は様々な要因が総合的にかかわり合っている複雑な過程であるため、どんなシグナル分子がいつどのように関与して細胞分化が誘導されるかを全体的に捉えることはできていない。未分化細胞が組織特異的細胞へと分化する機構を明らかにすることは、基礎研究として興味深いばかりではなく、最近の医療現場で注目されている再生医療技術をより進歩させるためにも重要である。

我々はまず、レチノイン酸添加によって P19 細胞が神経細胞へと分化する条件について検討した。レチノイン酸処理時間と分化誘導率を調べ、最も効率よく神経細胞へと分化させる条件を確立した。次に、DNA マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析を行い、レチノイン酸添加によって転写量が変動する遺伝子群を明らかにした。これらの遺伝子のうち、神経分化との関連やレチノイン酸による発現変動機構が明らかにされていない遺伝子に注目し、詳しい解析を行っている。例えば、特徴的なドメインをもつタンパク質をコードする遺伝子の一つが、上記条件を満たすことが明らかになった。このタンパク質と同ファミリーに属するタンパク質のいくつかについては、細胞周期や DNA 修復等を始めとする様々な生物現象に関与していることが既に報告されている。しかし、我々が注目したタンパク質については、まだそのような報告がなされていない。そのため、①レチノイン酸添加と発現量変動の関連性、②他因子との相互作用、③該当遺伝子の発現変動が P19 細胞の神経分化誘導に果たす役割等について、現在解析を進めている。また、解析ターゲットとして選別した他の複数の遺伝子についても同時に解析を行っており、これらの結果を統合することによって、未分化細胞からの神経分化誘導にかかわる分子機構の詳細な解明に結び付けたいと考えている。

該当遺伝子の一つとして、カゼイン κ (Csn3) 遺伝子に注目した。P19 細胞にレチノイン酸を投与し神経細胞分化誘導をさせた時、分化の初期段階でカゼイン κ (Csn3) 遺伝子の発現が上昇することを見いだした。レチノイン酸受容体である RAR α が Csn3 遺伝子上流の RARE に結合することで発現上昇することを明らかにした。カゼイン κ は、乳中に存在するタンパク質であるが、タンパク質の凝集を防ぐ機能もあり、神経分化へ運命が決定される時にこの機能の関与が示唆される。

2. DNA 損傷の発生・生体内への影響、修復機構の解明（喜納）

DNA は生命現象を営むための遺伝情報を蓄えており、自身の情報を複製によって子孫に残すことができる。この情報に誤りが生じる（突然変異）と、老化、ガン化、様々な遺伝病の引き金になる。DNA の情報の変化のひとつとして、DNA の酸化損傷による変異があげられる。ガンマ線による被爆、太陽光による光励起された皮膚内色素、さらには体内の代謝過程で生成する活性酸素種など様々な要因で DNA は酸化される。

a) グアニン酸化損傷

これまで、DNA を酸化する多くの系で、グアニンからチミンやシトシンへの突然変異が観察されてきた。このうち、グアニンの酸化生成物である 8 オキソグアニン(8-oxoG)の場合、

分子生物学研究

DNA 複製においてアデニンを取り込み、塩基対を形成することが判明している。この性質がグアニンからチミンへの突然変異をひき起こすと提唱されている。しかしこれまでのところ、グアニンからシトシンへの突然変異をひき起こす酸化生成物は知られていなかった。

我々は、紫外線により励起させたリボフラビンを用いて、DNA 中において 8-oxoG とともにイミダゾロン(Iz)が生成することを明らかにした。また、DNA 複製において Iz の分解生成物であるオキサゾロン(Oz)の相手にグアニンが取り込まれることを示した。よって、Oz は 8-oxoG とともに生体内で生成し、グアニンからシトシンへの突然変異をひき起こしている可能性を初めて提唱できた。現在は、グアニジノヒダントイン(Gh)やスピノヒダントイン(Sp)もグアニンからシトシンへの突然変異を引き起こすことが報告されており、これらがグアニンと塩基対形成の可能性があることを *ab initio* 計算で示した。

また、8-oxoG の酸化剤として新たにヨウ素を見出し、各種酸化損傷の調整に役立つことを見出した。また、この研究過程で、Gh や酸化型 Gh(Ghox)、オキサリリックアシッド(Oxa) は酸性条件で生成することを確認し、Gh は系中でさらに Ghox に酸化されていること、Ghox は熱分解により Oxa に誘導されていることを確認した。一方、Sp や Iz は塩基性条件で生成することを確認した。また、これまで存在が予測されていた中間体ジイミン(Dim)を世界で初めて検出・同定した。

上記の研究とは別に、ヒト NEIL1 および NTH1 は Oz に対し、修復活性を持つことを明らかにした。

最近では、4 本鎖 DNA 中における 1 電子酸化反応を解析し、3'側に特異的に酸化がおきることを明らかにし、HOMO に起因することを発見した。また、生成物は 1 本鎖とは異なること、1 本鎖と 2 本鎖での反応解析との比較から 1 位の脱プロトンのしやすさで生成物が正誤されていることを明らかにした。

b) フラビン誘導体の化学

ビタミン B₂ はフラビン骨格を持っており、酸化還元酵素の中心的役割をになっている。我々はカチオンラジカル発生剤として、フラビン誘導体の簡便な合成法を開発し、それを DNA 末端に共有結合で固定した。末端にフラビンを固定した 2 本鎖 DNA に光を照射した時、8-oxoG から Iz が生成することを明らかにした。以前のキノンの実験とあわせると、8-oxoG→Iz という反応が DNA 内ホール移動で起こりうることを間違いないものとした。

さらに、この研究で作成したいくつかのフラビン誘導体を用いて、それ自身の光分解性を解析し、ルミクロムに分解することを再確認した。

あわせて、カルボキシメチルフラビン、ルミフラビン、ルミクロムの経済的で簡便な合成方法を確立した。

【外部研究資金】

- ・平成 23～26 年度：科研費基盤 C (喜納)
- ・平成 23 年度～24 年度；百十四銀行学術文化振興財団 産

業・学術部門助成金 (喜納)

- ・平成 23 年度；放射線影響協会 研究奨励助成金 (喜納)
- ・平成 23 年度～24 年度；中富健康科学振興財団 研究助成金 (喜納)
- ・平成 23 年度；北野生涯教育振興会 生涯教育研究助成金 (喜納)
- ・平成 23 年度：特色ある教育・研究助成金 (教育) (喜納)
- ・平成 22 年度：特色ある教育・研究助成金 (教育) (喜納)
- ・平成 20～22 年度：私立大学戦略的研究拠点形成支援事業助成金 (分担者)
- ・平成 20～21 年度：通産省地域イノベーション創出研究開発事業助成金獲得 (分担者)
- ・平成 20 年度：国際科学技術財団 研究助成金 (喜納)
- ・平成 21 年度：科研費若手 B 繰越申請 (喜納)
- ・平成 19～20 年度：科研費若手 B (喜納)
- ・平成 17～18 年度：科研費若手 B (喜納)
- ・平成 17 年度：特色ある教育・研究助成金 (共同研究) (喜納)
- ・平成 16 年度：特色ある教育・研究助成金 (共同研究) (喜納)

【主な共同研究先】静岡大学

3. DNA との結合を標的とした新規 NF- κ B 低分子阻害剤の同定 (小林・喜納)

NF- κ B は、様々なシグナル応答の調節に中心的な役割を果たす転写因子の一つである。NF- κ B による転写調節のみだれは、様々な病気と関わりがあると考えられており、NF- κ B の特異的阻害剤は、シグナルの収束段階を制御できることから、それらの病気の有望な治療薬となることが期待される。これまで、我々は DNA と NF- κ B の結合を阻害する低分子化合物の同定を目的として、*in silico* での docking study により低分子化合物候補を選定し、それらの化合物による DNA と NF- κ B との結合阻害能の解析をおこなってきた。コンピュータを用いた structure-based virtual screening (SBVS)法を利用して、我々が所有する virtual chemical library から、DNA と NF- κ B との結合を阻害する低分子化合物候補を選定した。次に、選んだ化合物の阻害能を、MF20 molecular interaction analytical system (Olympus)による Fluorescence Correlation Spectroscopy (FCS)を用いて評価した。さらに、類似化合物と比較検討したところ、有意な差が認められた。このうち効果が認められたものに関して、Electrophoresis Mobility Shift Assay (EMSA)法により、阻害能の検討を行った。現在、これらの化合物に関して、細胞における阻害能等の検討を重ねている。今後は、これらの低分子化合物のメカニズム解析、最適化合物への分子設計を行うことにより、創薬リード化合物となる新規 NF- κ B 阻害剤の開発を進める予定である。

最近では、2—b とも関連するが、新たな阻害剤の探索を行っているところである。

【外部研究資金】



- ・平成22年度：東京生化学研究会 研究奨励金 (小林)
【共同研究先】東京理科大学、東京大学

4. DNA複製装置調節の解明 (宮澤)

DNAは生命の設計図といえる遺伝情報を含んでいる。DNAの維持、複製とDNAに含まれる情報の発現は、あらゆる生命現象の基本である。また、生命は 10^9 にも及ぶ情報単位を細胞の核内にきわめてコンパクトに収納(凝縮)している。細胞の増殖時や発生分化の段階で、凝縮と脱凝縮をダイナミックに繰り返し、しかも厳密に制御されて、遺伝情報の維持・発現を行っている。

我々は、DNA複製に関与している因子群および相互作用するタンパク質の機能を解析し、さらにDNA修復やDNA転写などDNA上に起こる各種の反応との関係、核構造の中での挙動を明らかにし、DNA複製装置がどう調節されているかを解明したいと考えている。

これまでに、染色体DNA複製酵素のひとつであり、DNA修復にも関与するDNAポリメラーゼ ϵ の第二サブユニット(DPE2)とヒストンデアセチラーゼ(HDAC)を含むSin3複合体構成サブユニットSAP18との相互作用を見いだした。HDACはヒストンを脱アセチル化することで、クロマチン構造を凝縮へと導き、遺伝子発現を抑制する。複製因子との相互作用から、複製前後のクロマチン構造の保持に機能していることが予測され、細胞分裂を経ても遺伝子発現情報が保持されるエピジェネティック制御機構との関連が示唆された。今後は多くのエピジェネティクス制御系に関与するタンパク質のうち、DNAメチル化酵素、ヒストンアセチル化酵素、ヒストン脱アセチル化酵素のタンパク質とDNAポリメラーゼ ϵ (pole)を中心とした複製複合体との相互作用が、複製の進行および分化状態の変化でどのように変化し制御されているかを明らかにしていく予定である。

外部誌上发表 (2010年~2015年3月)

2015

1. Kobayashi T., Suzuki M., Morikawa M., Kino K., Tanuma S., Miyazawa H.* "Transcriptional Regulation of Tal2 Gene by All-trans Retinoic Acid (atRA) in P19 Cells." *Biol. Pharm. Bull.*, 2015, 38, 248-256.

2014

1. Suzuki M., Kino K.*, Morikawa M., Kobayashi T., Miyazawa H. "Calculating distortions of short DNA duplexes with base pairing between an oxidatively damaged guanine and a guanine." *Molecules*, 2014, 19(8), 11030-11044.
2. Morikawa M., Kino K.*, Senda T., Suzuki M., Kobayashi T., Miyazawa H. "Formation of a flavin-linked peptide." *Molecules*, 2014, 19(7), 9552-9561.
3. Morikawa M., Kino K.*, Oyoshi T., Suzuki M., Kobayashi T., Miyazawa H. "Direct analysis of guanine oxidation products in double-stranded DNA and proposed guanine oxidation pathways in single-stranded, double-stranded or quadruplex DNA." *Biomolecules*, 2014, 4(1), 140-159.

4. Morikawa M., Kino K.*, Asada E., Katagiri K., Mori-Yasumoto K., Suzuki M., Kobayashi T., Miyazawa H. "N'-[2-(7,8-Dimethyl-2,4-dioxo-3,4-dihydrobenzo[g]pteridin-10(2H)-yl) ethylidene]-4-nitrobenzohydrazide." *Molbank*, 2014, 2014(4), M836.
5. Kobayashi T., Komori R., Ishida K., Kino K., Tanuma S.-I., Miyazawa H.* "Tal2 expression is induced by all-trans retinoic acid in P19 cells prior to acquisition of neural fate." *Scientific Reports*, 2014, 4, 4935.
6. Suzuki M., Kawada T., Morikawa M., Kobayashi T., Miyazawa H., Kino K.* "Analysis of nucleobases incorporated opposite an oxidative guanine damage by human REV1" *Photomed. Photobiol.*, 2014, 36, 39-40.
7. Suzuki M., Ohtsuki K., Kino K.*, Kobayashi T., Morikawa M., Kobayashi T., Miyazawa H. "Effects of stability of base pairs containing an oxazolone on DNA elongation." *J Nucleic Acids.*, 2014, 2014, 178350.

2013

1. Morikawa M., Kino K.*, Oyoshi T., Suzuki M., Kobayashi T., Miyazawa H. (2013) "Product analysis of photooxidation in isolated quadruplex DNA; 8-oxo-7,8-dihydroguanine and its oxidation product at 3'-G are formed instead of 2,5-diamino-4H-imidazol-4-one." *RSC Adv*, 3, 25694-25697.
2. Komori R., Kobayashi T., Matsuo H., Kino K., Miyazawa H.* (2013) "Csn3 Gene Is Regulated by All-Trans Retinoic Acid during Neural Differentiation in Mouse P19 Cells." *PLOS ONE*, 8(4), e61938.
3. Suzuki M., Ohtsuki K., Morikawa M., Watanabe T., Kobayashi T., Miyazawa H., Kino K.* (2013) "The stability of an oxidative guanine damages pairing with guanine in DNA polymerases." *Photomed. Photobiol.*, 35, 17-18.
4. Morikawa M., Oyoshi T., Suzuki M., Kobayashi T., Miyazawa H., Kino K.* (2013) "The oxidation of single-strand, double-strand, or quadruplex DNA by UVA radiation with riboflavin." *Photomed. Photobiol.*, 35, 19-20.

2012

1. Kino K.*, Takao M., Miyazawa H., Hanaoka F.* (2012) "A DNA oligomer containing 2,2,4-triamino-5(2H)-oxazolone is incised by human NEIL1 and NTH1." *Mutat. Res.* 734 (1-2), 73-77.
2. Suzuki M., Kino K.*, Morikawa M., Kobayashi T., Komori R., Miyazawa H. (2012) "Calculation of the stabilization energies of oxidatively damaged guanine base pairs with guanine." *Molecules* 17, 6705-6715.
3. 喜納克仁 (2012) 「香川県の化学系生涯学習 (Lifelong learning lectures in area of chemistry in Kagawa.)」*化学と教育* 60(5), 233
4. Kino K.*, Suzuki M., Morikawa M., Miyazawa H. (2012) "Studies of guanine oxidation products." *Photomed. Photobiol.* 34, 3-4.
5. Suzuki M., Izumi T., Ohtsuki K., Kobayashi T., Komori R., Miyazawa H., Kino K.* (2012) "Analysis of translesion synthesis past an oxidative guanine damage by DNA polymerase." *Photomed. Photobiol.* 34, 69-70.
6. Morikawa M., Oyoshi T., Kobayashi T., Komori R., Miyazawa H., Kino K.* (2012) "Formation of quadruplex DNA affects photooxidation of guanine by UVA." *Photomed. Photobiol.* 34, 71-72.

2011

1. Oyoshi T.[†], Kino K.[†], Arai S., Kurakawa R., Takahama K. (2011) "Identification of Ewing's Sarcoma Protein (EWS) as

- a G-quadruplex DNA- and RNA-binding Protein." FEBS J., 278, 988-998. †These authors contributed equally to this work.
- Suzuki M., Morikawa M., Kobayashi T., Komori R., Miyazawa H., Kino K.* (2011) "Calculation of the stabilization energy when the oxidative guanine damages pair with guanine" 15th Int. Electron. Conf. Synth. Org. Chem., E. Computational Chemistry: e656.
 - Kino, K.*, Suzuki, M., Morikawa, M., Kobayashi, T., Komori, R., Miyazawa, H. (2011) "Analysis of nucleobases incorporated opposite an oxidative guanine damage by DNA polymerase delta." Photomed. Photobiol., 33, 31-32.

2010

- Kino, K.*, Morikawa, M., Kobayashi, T., Kobayashi T., Komori, R., Sei, Y., Miyazawa, H. (2010) "The oxidation of 8-oxo-7,8-dihydroguanine by iodine." Bioorg. Med. Chem. Lett., 20, 3818-3820.

[著書・訳書]

- Morikawa M., Kino K.*, Suzuki M., Kobayashi T., Komori R., Miyazawa H. (2012) "Oxidation of 8-oxoguanine with iodine and proposed mechanisms." Iodine: Characteristics, Sources and Health Implications, pp.121-133. (Nova Science Pub.)
- Kino, K.*, Kobayashi T., Komori, R., Miyazawa, H. (2011) "Chapter 7: Science education through research." Sci. Edu. Rapidly Changing World, pp.125-136. (Nova Science Pub.) & Sci. Edu. through Res. (単独 Online 著書としても同時刊行; https://www.novapublishers.com/catalog/product_info.php?cPath=23_54&products_id=17694)
- 荒牧弘範、大戸茂弘編集、鹿志毛信広、宮澤宏ほか 11 名 (2010) コンパス分子生物学、南江堂、東京、pp209-227.

[邦文総説・解説等]

- 小林隆信、喜納克仁、宮澤宏 「神経細胞への運命決定に関与する因子の探索」香川県薬剤師会会誌, 2014, 154, 65-66.
- 鈴木雅代、喜納克仁*、宮澤宏 (2012) 「グアニン酸化損傷に対する DNA ポリメラーゼの塩基選択性 (Selectivity of bases incorporated opposite oxidative guanine damages by DNA polymerases.)」放射線生物研究 47(2), 137-164.
- 森川雅行、喜納克仁*、宮澤宏 (2010) DNA 損傷の発生と細胞への影響に関する化学的視点 放射線生物研究, 45 (3), 268-285.

口頭発表・学会発表 (2014 年~2015 年 3 月)

- 森川雅行、大吉崇文、鈴木雅代、小林隆信、小森理絵、宮澤宏、喜納克仁 「4 本鎖 DNA におけるグアニン光酸化生成物の解析」日本化学会 第 94 春季年会、2014 年 3 月
- 小林隆信、中平佑甫、岡本奈々、森啓朗、喜納克仁、宮澤宏 「P19 細胞の神経分化過程における Tal2 遺伝子の発現調節」日本薬学会 第 134 年会 2014 年 3 月
- 鈴木雅代、喜納克仁、森川雅行、渡邊泰平、浅田恵理子、小林隆信、宮澤宏 「グアニン酸化損傷とグアニンの塩基対を含む二本鎖 DNA の安定性」日本薬学会 第 134 年会 2014 年 3 月
- 鈴木雅代、川田大周、森川雅行、小林隆信、宮澤宏、喜納克仁 「REV1 を用いたグアニン酸化損傷に対する塩基取り込み解析」第 35 回日本光医学・光生物学会 2014 年 7 月

- 川田大周、鈴木雅代、喜納克仁、森川雅行、小林隆信、宮澤宏 「グアニン酸化損傷に対する DNA ポリメラーゼ κ の損傷乗り越え反応」第 53 回日本薬学会 中四国支部学術大会 2014 年 11 月
- 小林隆信、喜納克仁、森川雅行、鈴木雅代、宮澤宏 「atRA による Tal2 遺伝子の転写調節」第 53 回日本薬学会 中四国支部学術大会 2014 年 11 月
- 鈴木雅代、川田大周、喜納克仁、森川雅行、小林隆信、宮澤宏 「REV1 と DNA polymerase ζ のグアニン酸化損傷に対する塩基の取り込み解析」日本分子生物学会 第 37 回年会 2014 年 11 月
- 鈴木雅代、川田大周、森川雅行、小林隆信、宮澤宏、喜納克仁 「REV1 と DNA ポリメラーゼ ζ によるグアニン酸化損傷に対する損傷乗り越え DNA 合成」第 43 回日本環境変異学会 2014 年 12 月
- 小林隆信、鈴木雅代、森川雅行、喜納克仁、宮澤宏 「P19 細胞神経分化誘導初期に観察される Tal2 遺伝子の転写機構」日本薬学会 第 135 年会 2015 年 3 月

特許

該当事項なし

その他、新聞報道等

該当事項なし



研究分野

エピジェネティクス制御の多様性と発がん機構

Diversity of Epigenetics Regulation and Malignancies

教員

准教授 大島隆幸

最終学歴：筑波大学大学院農学研究科博士後期課程修了
博士(農学)

前職：京都大学ウイルス研究所 博士研究員

研究の概要

タンパク質の翻訳後修飾を介した機能制御機構の解析
(大島)

研究テーマ

21世紀の生命科学はまさに「ポストゲノム」であり、限られた数のタンパク質はリン酸化や糖鎖付加、メチル化、アセチル化など様々な修飾により、その機能が厳密に制御されている。また近年、ユビキチン分子に代表されるポリペプチドの付加による翻訳後修飾というものが注目されつつある。SUMO (small ubiquitin-related modifier) はその代表的な修飾分子であり、その名前の由来からも明らかなように、非常にユビキチンに類似した構造をしている。しかし、その機能はユビキチンとは異なり、修飾されたタンパク質は分解には至らず、タンパク質間の相互作用、活性、局在などにおいて変化を受ける。こういった機能が転写制御、染色体組換え・分配、クロマチン動態などに関与し、個体発生や細胞分化・増殖の制御を行っているということが明らかになってきた。私たちの研究室では、がんウイルスを含め、細胞のがん化や増殖・分化に関わる因子に着目し、この SUMO による分子修飾とそれに関連した化学修飾を介したエピジェネティックな遺伝子発現制御や細胞の環境応答の分子基盤を理解するための研究を行っている。

またヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (HTLV-1) のゲノムにコードされる転写制御因子に関して、宿主細胞因子との相互作用を介した生理機能の発現に関して研究を進めている。特に HTLV-1 のマイナス鎖にコードされる HBZ と相互作用する宿主因子を多数同定し、現在その生理学的意義の解析を行っている。

外部誌上発表 (2010年~2015年3月)

[原著論文]

2015

- Mukai, R., Ohshima, T. (2013) HTLV-1 bZIP factor suppresses the centrosome protein B (CENP-B)-mediated trimethylation of histone H3K9 through the abrogation of DNA binding ability of CENP-B. *J. Gen. Virol.* 96, 159-164.

2014

- Mukai, R., Ohshima, T. (2013) HTLV-1 HBZ positively regulates the mTOR signaling pathway via inhibition of GADD34 activity in the cytoplasm. *Oncogene* 33, 2317-2328.

- Toyama, M., Aoyama, H., Mukai, R., Nakamura, M., Okamoto, M., Ohshima, T., Hashimoto, Y., Baba, M. (2013) A novel tetramethylnaphthalene derivative selectively inhibits adult T-cell leukemia (ATL) cells in vitro. *Anticancer Res.* 34, 1771-1778.

2012

- Torikoshi, K., Abe, H., Matsubara, T., Hirano, T., Ohshima, T., Murakami, T., Araki, M., Mima, A., Iehara, N., Fukatsu, A., Kita, T., Arai, H., and Doi, T. (2012). Protein Inhibitor of Activated STAT, PIASy Regulates alpha-Smooth Muscle Actin Expression by Interacting with E12 in Mesangial Cells. *PLoS One*, 7, e41186-41199.

2011

- Mukai, R., and Ohshima, T. (2011). Dual effects of HTLV-1 bZIP factor in suppression of interferon regulatory factor 1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 409, 328-332.

2010

- Ohshima, T., Mukai, R., Nakahara, N., Matsumoto, J., Isono, O., Kobayashi, Y., Takahashi, S., Shimotohno, K. (2010). HTLV-1 basic leucine-zipper factor, HBZ, interacts with MafB and suppresses transcription through a Maf recognition element. *J. Cell. Biochem.* 111, 187-194.
- Murata, T., Nakayama, S., Toyama, S., Noda, C., Hotta, N., Chiba, S., Kanda, T., Isomura, H., Ohshima, T., and Tsurumi, T. (2010). Transcriptional repression by sumoylation of Epstein-Barr virus BZLF1 protein correlates with association of histone deacetylase. *J. Biol. Chem.* 285, 23925-23935.

口頭発表・学会発表 (2014年~2015年3月)

[学会発表]

向井理紗、大島隆幸

CENP-B 依存的なヒストンメチル化修飾における HTLV-1 bZIP factor の役割

第1回 日本 HTLV-1 学会学術集会、
東京大学医科学研究所、2014年8月

向井理紗、大島隆幸

HTLV-1 由来産物 HBZ タンパク質による CENP-B の機能抑制メカニズムの解析

第87回 日本生化学会大会、
京都、2014年10月

丹由香里、向井理紗、大島隆幸

HTLV-1 HBZ とユビキチン E3 リガーゼ cullin1 の相互作用を介した宿主機能の攪乱

第37回 日本分子生物学会学術集会、
横浜、2014年11月

特許

該当事項なし

その他、新聞報道等

該当事項なし



研究分野

核内受容体リガンドによる免疫系機能調節

Regulation of Immune functions through nuclear receptors

教員

- 教授 岩田 誠 着任年月日：2005年5月1日
最終学歴：1980年3月東京大学大学院博士課程修了。薬学博士
前職：三菱化学生命科学研究所部長
- 准教授 大岡 嘉治 着任年月日：2005年9月1日
最終学歴：1993年3月東京工業大学大学院博士課程修了。理学博士
前職：大阪大学医学部助手
- 准教授 竹内 一 (衛生薬学講座兼任)
着任年月日：2005年8月15日
最終学歴：1997年3月東京大学大学院博士課程修了。医学博士
前職：チューリッヒ大学 Postdoctrand
- 助教 中妻(横田) 彩 着任年月日：2006年8月1日
最終学歴：2004年3月北里大学大学院博士課程修了。博士(医学)
前職：独立行政法人産業技術総合研究所・年齢軸生命工学研究センター 第1号契約職員

研究の概要

2014年の研究活動の概要:

研究テーマと目標:

免疫細胞の移動と免疫反応の制御のメカニズム。特に、ビタミンA、Dや種々のホルモンなどの核内受容体リガンドによる免疫系機能調節の役割について、腸管などの粘膜系を中心に研究し、アレルギーや自己免疫病などの免疫学的疾患やその他の炎症性疾患および腫瘍に対する治療および創薬への新たな基盤造りを目指している。

背景と成果の概要:

免疫系がその役割を果たすためには、必要な機能を持つ免疫細胞が体的確な場所に移動する必要がある。免疫系の司令塔であるT細胞は血液やリンパ液の流れに乗って全身を巡回しているが、抗原と出会い活性化されるまでは二次リンパ系器官以外の組織には移入できない。しかし、一旦、二次リンパ系器官で抗原と出会って活性化/メモリーT細胞となると通常の組織にも移入できるようになる。但し、抗原との出会いの場所である二次リンパ系器官が所属する組織に特異的に移入(ホーミング)する傾向がある。例えば、腸関連の二次リンパ系器官(パイエル板や腸間膜リンパ節)で抗原刺激を受けたT細胞は、小腸に特異的にホーミングする傾向がある。T細胞の組織特異的なホーミング制御の分子機序は全く不明だったが、2004年に私達は、ビタミンA由来のレチノイン酸が、

T細胞に小腸ホーミング特異性をインプリントする生理的因子であることを発見し、さらに、パイエル板や腸間膜リンパ節の樹状細胞の中には、レチノイン酸合成の鍵を握る酵素RALDH (retinaldehyde dehydrogenase) を発現してビタミンA (レチノール) からレチノイン酸を生成する能力を持つものが存在することを発見した (Immunity 21:527-538, 2004)。これらの樹状細胞は、T細胞に抗原提示する際にレチノイン酸を与えることで、小腸ホーミング特異性をインプリントする。B細胞の小腸へのホーミングについても同様なメカニズムが関与しており、レチノイン酸がT細胞非依存性IgA抗体産生を促進することも、2006年に von Andrian 教授 (Harvard大) らとの共同研究で明らかにした (Science 314:1157-1160, 2006)。

2009年には、個々の樹状細胞において、RALDHの相対活性を計測する方法を確立し、レチノイン酸産生能力を持つ樹状細胞サブpopulationを同定した。レチノイン酸産生能力は、樹状細胞の成熟とRALDHのアイソフォームRALDH2の発現にほぼ依存していた。それに基づき、腸において樹状細胞にRALDH2発現を誘導する生理的因子を探索し、GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) が、主要な役割を果たすことを発見した。レチノイン酸自体も必須補助因子として関与していた。また、IL-4とIL-13は、GM-CSFと同様な効果を示し、GM-CSFと相乗的に作用したが、受容体欠損マウスの解析から、これらは必須因子ではないことが判明した。Toll様受容体からの刺激も、樹状細胞の成熟と同時にRALDH2発現を促進した (Int Immunol 21:361-377, 2009)。

レチノイン酸は、以前よりT細胞のヘルパーT細胞1型(Th1)および2型(Th2)への機能分化にも影響を与えることが、私達の研究を含めて明らかとなっていた (Int Immunol 15:1017-1025, 2003)。2007年になって、私達の発見したレチノイン酸産生樹状細胞が、リンパ球の移動ばかりでなく、誘導型Foxp3+制御性T細胞(iTreg)の分化を促進し、炎症促進性Th17細胞の分化を抑制することが、複数のグループによりほぼ同時期に報告された。これは、レチノイン酸が、経口免疫寛容の成立と、それによる全身性の抗原特異的免疫反応の抑制に関与する可能性、および炎症反応の制御に関与する可能性を示唆した。私達は最近、ビタミンA欠乏下では、T細胞ばかりか、腸間膜リンパ節の樹状細胞の性質が著しく変化し、経口抗原特異的でIL-13とTNF- α (tumor necrosis factor- α)を高産生する新規炎症性Th細胞を誘導することを見出した。ビタミンA欠乏下では一般に抗体産生反応が低下

核内受容体リガンドによる免疫系機能調節

することが広く知られていたが、私達は、食物抗原に対しては、著しく強い IgG1 抗体産生および IgE 抗体産生が IL-13 依存性に誘導されうることも見出した。この反応には上記 IL-13 高産生性の新規炎症性 Th 細胞が関与すると考えられる

(*Mucosal Immunol* 7:786-801, 2014 [2013 Nov 13. Epub ahead of print])。現在、この新規 Th 細胞の性質と分化誘導機序およびアレルギー炎症性疾患における役割について解析を進めている。

このように、ビタミン A レベルによる免疫反応の制御と免疫学的疾患との関係を解析しており、さらに、免疫細胞の腸組織ホーミング受容体発現におけるレチノイン酸作用の分子機序 (*J Immunol* 186:733-744, 2011)、T 細胞におけるレチノイン酸分解系の免疫制御における役割 (*PLoS ONE* 6:e16089, 2011)、そして、レチノイン酸受容体 (RAR) とヘテロダイマーを形成する RXR のリガンドや環境化学物質によるレチノイン酸シグナルの増幅と攪乱 (*J Immunol* 185:5289-5299, 2010; *J Immunol* 191:3725-3733, 2013) についても研究を進めている。さらに、樹状細胞における RALDH2 発現の分子機構を解析し、レチノイン酸の結合した RAR/RXR ヘテロダイマーが、RALDH2 遺伝子の直近上流に存在する通常の半分のレチノイン酸応答配列 (RARE) half-site に結合することが重要であり、この配列が多く種の共通に存在することを明らかにした (*PLoS ONE* 9:296512, 2014)。

外部資金導入実績

- 1) 科学研究費補助金：基盤研究 C 「腸管免疫系の恒常性維持におけるレチノイン酸産生酵素の役割とその発現制御機構の解明」(2012 年度 - 2014 年度) 代表：大岡嘉治
- 2) 科学研究費補助金：新学術領域研究「免疫空間における腸型樹状細胞の誘導とその攪乱」(2013 年度 - 2014 年度) 代表：岩田 誠
- 3) 科学研究費補助金：基盤研究 C 「レチノイン酸産生能を有する腸型樹状細胞の機能制御に基づく粘膜免疫強化法の研究」(2013 年度 - 2015 年度) 代表：中妻 彩
- 4) 科学研究費補助金：基盤研究 B 「IL13 を高産生する新規炎症性ヘルパー T 細胞のアレルギー炎症性疾患における役割」(2014 年度 - 2016 年度) 代表：岩田 誠
- 5) 武田科学振興財団 薬学系研究奨励金：「新規 IL-13 高産生炎症性 T 細胞によるアレルギー炎症性疾患の発症機序の解明」(2014 年度-2016 年度)代表：中妻 彩

内部・外部との共同研究

- 1) 宋時榮教授, 加藤千恵子助手 (徳島文理大学香川薬学部病態生理学講座) 組織化学的解析
- 2) 樗木俊聡教授 (東京医科歯科大学難治疾患研究所、生体分子医学研究部門、生体防御学分野) 樹状細胞分化解析

- 3) 稲葉カヨ教授 (京都大学大学院生命科学研究所) 樹状細胞機能解析
- 4) 門脇則光准教授 (京都大学大学院医学研究科) ヒト樹状細胞の分析、粘膜組織における炎症性疾患の治療技術の開発
- 5) 影近弘之教授 (東京医科歯科大学生体材料工学研究所) レチノイドおよび RAR, RXR アゴニスト、アンタゴニスト
- 6) Dr. Mi-Na Kweon (Chief, Mucosal Immunology Section, Laboratory Science Division, International Vaccine Institute, Seoul, Korea) ビタミン A 欠乏マウスにおける DC の性質解析
- 7) 星野友昭教授 (久留米大学医学部内科学) BALB/c バックグラウンドの IL-13 欠損マウス
- 8) 八木田秀雄准教授 (順天堂大学医学部免疫学) 抗 TNF- α 抗体

外部誌上発表 (2014 年~2015 年 3 月)

[原著論文]

2014

1. Ohoka, Y., Yokota-Nakatsuma, A., Maeda, N., Takeuchi, H., and Iwata, M.: Retinoic acid and GM-CSF coordinately induce retinal dehydrogenase 2 (RALDH2) expression through cooperation between the RAR/RXR complex and Sp1 in dendritic cells. *PLoS One*. 9(5): e96512 (2014).
2. Yokota-Nakatsuma, A., Takeuchi, H., Ohoka, Y., Kato, C., Song, S.-Y., Hoshino, T., Yagita, H., Ohteki, T., and Iwata, M.: Retinoic acid prevents mesenteric lymph node dendritic cells from inducing IL-13-producing inflammatory Th2 cells. *Mucosal Immunol*. 7(4):786-801 (2014). Epub 2013 Nov 13.

2013

1. Takeuchi, H., Yokota-Nakatsuma, Y., Ohoka, Y., Kagechika, H., Kato, C., Song, S.-Y., and Iwata, M.: Retinoid X receptor agonists modulate Foxp3⁺ regulatory T cell and Th17 cell differentiation with differential dependence on retinoic acid receptor activation. *J Immunol* 191(7): 3725-3733 (2013). Epub 2013 Aug 26.
2. Sato, T., Kitawaki, T., Fujita, H., Iwata, M., Iyoda, T., Inaba, K., Ohteki, T., Hasegawa, S., Kawada, K., Sakai, Y., Ikeuchi, H., Nakase, H., Niwa, A., Takaori-Kondo, A., and Kadowaki, N.: Human CD1c⁺ myeloid dendritic cells acquire a high level of retinoic acid-producing capacity in response to vitamin D₃. *J Immunol* 191(6):3152-3160(2013). Epub 2013 Aug 21.

2011

1. Chaya T., Shibata S., Tokuhara Y., Yamaguchi W., Matsumoto H., Kawahara I., Kogo M., Ohoka Y., and Inagaki S. (2011).



- Identification of a negative regulatory region for the exchange activity and characterization of T332I mutant of Rho guanine nucleotide exchange factor 10 (ARHGGEF10). *J Biol Chem* 286: 29511-29520. Epub 2011 Jun 30.
2. Tezuka, H., Abe, Y., Asano, J., Sato, T., Liu, J., Iwata, M., and Ohteki, T. (2011). Prominent role for plasmacytoid dendritic cells in mucosal T cell-independent IgA induction. *Immunity* 34(2): 247-257. Epub 2011 Feb 17.
 3. Takeuchi, H., Yokota, A., Ohoka, Y., and Iwata, M. (2011). CYP26B1 regulates retinoic acid-dependent signals in T cells and its expression is inhibited by transforming growth factor- β . *PLoS ONE* 6(1): e16089.
 4. Ohoka, Y., Yokota, A., Takeuchi, H., Maeda, N., Iwata, M. (2011). Retinoic acid-induced CCR9 expression requires transient TCR stimulation and cooperativity between NFATc2 and the retinoic acid receptor/retinoid X receptor complex. *J Immunol* 186: 733-744. Epub 2010 Dec 8.
- を決める分子機構」*リンパ学* 34 (2): 112-116.
10. 岩田 誠 (2011). 「組織特異的リンパホーミング」*炎症と免疫*. 19 (5): 2 (444)-7 (449).
 11. 横田 彩 (2011). 「腸管におけるレチノイン酸産生樹状細胞とリンパ球の動態」*臨床免疫・アレルギー科* 55 (4): 454-459.
 12. 竹内 一、大岡嘉治、岩田 誠 (2011). 「粘膜系リンパ球の腸管指向性獲得の分子メカニズム」*細胞工学* 30 (4): 381-386.
 13. 横田 彩、岩田 誠 (2010). 「腸管樹状細胞のレチノイン酸産生誘導要因」*臨床免疫・アレルギー科* 54 (4): 492-98.
 14. 岩田 誠 (2010). 「粘膜組織における樹状細胞機能とその制御」*炎症と免疫* 18 (5): 14 (474) -18 (478).
 15. 横田 彩、岩田 誠 (2010). 「ビタミンと免疫-ビタミンAを中心に」*Functional Food* 4(1):61-65.
 16. 岩田 誠 (2010). 「腸管免疫におけるレチノイン酸の役割」*化学と生物* 48 (6): 389-394.

2010

1. Takeuchi, H., Yokota, A., Ohoka, Y., Kagechika, H., Kato, C., Song, S.-Y., and Iwata, M. (2010). Efficient induction of CCR9 on T cells requires co-activation of retinoic acid receptors and retinoid X receptors (RXR): Exaggerated T cell homing to the intestine by RXR activation with organotins. *J Immunol* 185: 5289-5299. Epub 2010 Sep 29.
2. Chang, S.-Y., Cha, H.-R., Chang, J.-H., Ko, H.-J., Yang, H., Malissen, B., Iwata, M., Kweon, M.-N. (2010). Lack of retinoic acid leads to increased langerin-expressing dendritic cells in gut-associated lymphoid tissues. *Gastroenterology* 138(4): 1468-78.

[邦文総説・解説等]

1. 岩田 誠 (2014). 「レチノイン酸産生樹状細胞とその機能」*臨床免疫・アレルギー科* 62(6): 588-592
2. 岩田 誠 (2014). 「免疫を健全に保つビタミンAの働き」*香川県薬剤師会誌* かがやく 153: 49-50.
3. 中妻 彩、岩田 誠 (2014). 「ビタミンAによる炎症誘導性樹状細胞の制御」*炎症と免疫* 22(4): 295-299.
4. 岩田 誠 (2013). 「レチノイン酸による Treg の分化と機能の制御」*医学のあゆみ* 246 (10): 857-863.
5. 中妻 彩 (2013). 「樹状細胞のレチノイン酸産生誘導の機序」*臨床免疫・アレルギー科* 59 (3): 392-297.
6. 岩田 誠 (2012). 「リンパ球ホーミングからみた炎症性腸疾患」*G. I. Research (Journal of Gastrointestinal Research)* 20 (6): 41 (493) - 45 (497).
7. 中妻 彩 (2012). 「樹状細胞へのビタミンAの作用と分化誘導される T 細胞」*臨床免疫・アレルギー科* 57 (1): 8-13.
8. 岩田 誠 (2011). 「小腸特異的リンパ球ホーミング」*Surgery Frontier*. 18 (4): 68 (402) -71 (405).
9. 岩田 誠 (2011). 「リンパ球トラフィッキングの組織指向性

[著書・訳書]

1. Mora, JR, and Iwata, M. Retinoids and the immune system. In *The Retinoids: Biology, Biochemistry and Disease*. Pascal Dollé and Karen Niederreither, eds. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ. in press.
2. Iwata, M., and Yokota, A. (2011). Retinoic acid production by intestinal dendritic cells. In *Vitamins & Hormones, Volume 86, "Vitamins and The Immune System"* Chapter Six, G. Litwack, ed. Elsevier, p.127-152.
3. 岩田 誠 (2010). 「粘膜免疫におけるダイナミックな細胞移動、b レチノイン酸の関与」*臨床粘膜免疫学* 227-235. 清野 宏 編集. シナジー.

口頭発表・学会発表 (2014年~2015年3月)

[招待講演]

1. 中妻 彩 「ビタミンAによる腸管免疫応答制御」
日本農芸化学会 2014年大会シンポジウム、神奈川県、3月30日、2014.
2. 岩田 誠 「レチノイドシグナルによる免疫・炎症反応の制御」
日本薬学会第135年会シンポジウム、兵庫県、3月26日、2015

[学会発表]

1. 中妻 彩、岩田 誠 「ビタミンA欠乏はIL-13産生炎症性T細胞を誘導することにより食物抗原に対するアレルギー反応のリスクを増加させる」*日本薬学会第134年会*、熊本県、3月28日、2014.
2. 大岡嘉治、中妻 彩、竹内 一、岩田 誠 「樹状細胞におけるレチノイン酸合成酵素 RALDH2 の遺伝子発現誘導機構の解析」*第13回四国免疫フォーラム*、徳島県、6月21日、2014
3. 中妻 彩、岩田 誠 「レチノイン酸産生能を有し腸管指向性制

核内受容体リガンドによる免疫系機能調節

御性 T 細胞を誘導する CD103 陽性樹状細胞の分化誘導系の構築」日本食品免疫学会 第 10 回学術大会、東京都、10 月 17 日、2014

4. OHOKA Yoshiharu, YOKOTA-NAKATSUMA Aya, TAKEUCHI Hajime, IWATA Makoto Cooperation between Sp1 and the RAR α /RXR α complex is involved in the regulation of RALDH2 expression in dendritic cells 第 87 回日本生化学会大会、京都府、10 月 16 日～17 日、2014
5. YOKOTA-NAKATSUMA Aya, TAKEUCHI Hajime, OHOKA Yoshiharu, IWATA Makoto E-cadherin enhances the expression of retinal dehydrogenase 2 in dendritic cells and confers the ability to induce gut-tropic regulatory T cells 第 43 回日本免疫学会学術集会、京都府、12 月 12 日、2014
6. 中妻彩、亀井進太郎、松山盛和、岩澤春奈、玉井里奈、竹内一、大岡嘉治、岩田誠 「E-cadherin は腸管指向性制御性 T 細胞の誘導能を有する抗炎症性樹状細胞の分化を促進する」日本薬学会第 135 年会、兵庫県、3 月 28 日、2015

特許

1. 駒野肇、岩田誠 (2001). 「新規タンパク質およびこれをコードする遺伝子」特許開 2001 - 128687 号
2. 駒野肇、岩田誠 (2003). 「新規 DNA およびその利用」特許開 2003 - 018993 号
3. 岩田誠 (2004). 「新規蛋白質およびこれをコードする DNA」特許開 2004 - 016084 号
4. 岩田誠、宋時栄 (2004). 「T 細胞の腸組織へのホーミング誘導剤」特許開 2004 - 153548 号

その他、新聞報道等

[受賞]

1. 岩田 誠 「平成 25 年度日本食品免疫学会賞」
2. 中妻 彩 「第 9 回日本食品免疫学会学術大会ポスター賞」



研究分野

炎症性免疫疾患の病態形成調節機構

Regulatory mechanism of inflammatory immune diseases

教員

教授 野地 裕美 (2013年4月)

着任年月日: 2006年4月1日

最終学歴: 北海道医療大学薬学部卒業。

博士(薬学)、薬剤師、臨床検査技師

前職: 北海道医療大学 助手

准教授 竹内 一

着任年月日: 2013年4月1日(生体防御学講座から異動)

最終学歴: 東京大学大学院博士課程修了。博士(医学)

前職: チューリッヒ大学 Postdoctrand

助教 桐山 賀充 着任年月日: 2005年4月1日

最終学歴: 北海道大学大学院薬学研究科博士課程修了。

博士(薬学)、薬剤師

前職: McGill University Health Center 博士研究員

研究の概要

[研究の達成目標、その意義・背景]

研究テーマ: 関節リウマチの病態形成におけるリゾリン脂質の役割(野地)

リゾホスファチジン酸(LPA)などのリゾリン脂質は、Gタンパク質共役型受容体を介して多彩な細胞機能を調節しており、様々な疾患の病態形成とも関連している。慢性炎症性自己免疫疾患の関節リウマチ(RA)関節病変では、著しい血管新生が認められ、滑膜細胞が異常増殖してパンヌスを形成し、関節軟骨が破壊される。リゾリン脂質が血管新生を亢進することから、血清中に多量存在するリゾリン脂質が滑膜の肥厚に必要な血管新生や関節組織細胞の活性化を促して、関節の破壊に深く関与していると考えられる。さらに、滑膜細胞が異常増殖して激しい炎症が生じるRAでも関節滑液のpHは低下しており、この関節腔内の局所的酸性化が炎症を増幅してRAの病態の増悪に寄与している可能性が考えられる。この点を明らかにする目的で、細胞外pHの酸性化がRASCのLPA刺激で誘発する炎症応答に及ぼす影響を解析した。その結果、細胞外pHが低下すると、プロトン感受性受容体(OGR1)を介してCOX-2やADAMTS4の発現を著しく誘導するが、LPAを共存させるとCOX-2やADAMTS4の発現量が相乗的に増大した。生理的条件下では、LPAはLPA₁を介してCOX-2の発現を一過性に誘導するが、酸性環境下で認められる持続的なCOX-2の発現はLPA₂を介して生じていることが明らかになった。以上の結果は、RAなどの炎症性関節疾患において、関節滑液に含まれるLPAが炎症性サイトカインや細胞外pHの低下と協

同して炎症反応を相乗的に増強し、病態の増悪を促している可能性を示しており、RAの新しい治療法や治療薬の開発のための糸口を与えていると考える。

[内部・外部との共同研究]

1. 田元浩一教授(青森大学薬学部衛生薬学講座)免疫学的解析

研究テーマ: レチノイドX受容体(RXR)刺激によるT細胞分化への影響の解析(竹内)

レチノイン酸(RA)刺激は、リンパ球の分化に影響を与えることが知られている。RA刺激を受けたT細胞は、免疫抑制性の制御性T細胞への分化が促進される一方、炎症性サイトカインを分泌するTh17細胞への分化は抑制される。RA受容体は、RXRとヘテロ二量体を形成するが、RA刺激の役割が上記のように明らかになりつつあるのに対して、RXR刺激が与える影響については未だ不明である。そこで我々はRXR刺激がT細胞分化に与える影響について解析を行った。

その結果、RXR刺激はRA刺激と協調して制御性T細胞分化を促進することが明らかになった。また、RXR刺激はRA刺激のみならず、他の核内受容体刺激とも協調してTh17分化を抑制することが判明した。これらの作用は*in vivo*でのT細胞分化誘導系でも機能したことから、RXR刺激を用いた新たな免疫制御法の開発の基盤的知見となった。

[内部・外部との共同研究]

1. 岩田誠教授, 大岡嘉治准教授, 中妻彩助教(徳島文理大学香川薬学部生体防御学講座)免疫学的解析
2. 宋時榮教授(徳島文理大学香川薬学部病態生理学講座)組織化学的解析
3. 影近弘之教授(東京医科歯科大学生体材料工学研究所): RAR, RXR アゴニスト、アンタゴニストの提供

研究テーマ: オートファジーおよびマイトファジーの機構に関する研究(桐山、野地)

アンモニアや抗アレルギー薬等の塩基性薬物を好塩基球形白血球細胞に作用させると細胞内に巨大な液泡が形成される。我々は、この巨大な液泡がオートリソソームであることを見出している。そこで、塩基性薬物による巨大なオートリソソームの形成過程を詳細に解析したところ、この巨大なオートリソソームにオートファジーの進行に重要な役割を持つLC3の関連タンパク質であるGABARAPL1、ミトコンドリアおよびミトコンドリア結合タンパク質であるNixが局在することを見出した。さらに、塩基性薬物によりGABARAPL1およびNixが誘導されることを明らかにした。ま

た、塩基性薬物による GABARAPL1 の誘導が、一般的なオートファジーの誘導経路である mTOR を介した経路ではないことも見出ししている。一方、ミトコンドリアに障害をもたらす脱共役剤である CCCP でも同様に GABARAPL1 および Nix が誘導された。以上のことから、GABARAPL1 がミトコンドリアを取り込むマイトファジーに関与することが示唆された。マイトファジーが誘導されるしくみを明らかにすることは、ミトコンドリアの障害が原因となる様々な疾患の病態の解明と細胞の機能調節機構の詳細を理解する上で大いに役立つものと考えており、分子レベルの解析をさらに進めている。

外部誌上発表 (2010 年~2015 年 3 月)

2014

1. Ohoka, Y., Yokota-Nakatsuma, A., Maeda, N., Takeuchi, H., and Iwata, M.: Retinoic acid and GM-CSF coordinately induce retinal dehydrogenase 2 (RALDH2) expression through cooperation between the RAR/RXR complex and Sp1 in dendritic cells. *PLoS One*. 9(5): e96512 (2014).
2. Yokota-Nakatsuma, A., Takeuchi, H., Ohoka, Y., Kato, C., Song, S.-Y., Hoshino, T., Yagita, H., Ohteki, T., and Iwata, M. Retinoic acid prevents mesenteric lymph node dendritic cells from inducing IL-13-producing inflammatory Th2 cells. *Mucosal Immunol*. 7(4):786-801 (2014). Epub 2013 Nov 13.

2013

1. Takeuchi, H., Yokota-Nakatsuma, Y., Ohoka, Y., Kagechika, H., Kato, C., Song, S.-Y., and Iwata, M.: Retinoid X receptor agonists modulate Foxp3⁺ regulatory T cell and Th17 cell differentiation with differential dependence on retinoic acid receptor activation. *J Immunol* 191(7): 3725-3733 (2013).

2012

2011

1. Takeuchi, H., Yokota, A., Ohoka, Y., and Iwata, M. (2011). CYP26B1 regulates retinoic acid-dependent signals in T cells and its expression is inhibited by transforming growth factor- β . *PLoS ONE* 6(1): e16089.
2. Ohoka, Y., Yokota, A., Takeuchi, H., Maeda, N., Iwata, M. (2011). Retinoic acid-induced CCR9 expression requires transient TCR stimulation and cooperativity between NFATc2 and the retinoic acid receptor/retinoid X receptor complex. *J Immunol* 186: 733-744.

2010

1. Liu, IP., Komachi, M., Tomura, H., Mogi, C., Damirin, A., Tobo, M., Takano, M., Nochi, H., Tamoto, K., Sato, K., and Okajima, F. (2010). Ovarian cancer G protein-coupled receptor 1-dependent and -independent vascular actions to acidic pH in human aortic smooth muscle cells. *Am. J. Physiol.*, 299, 731-742.
2. Takeuchi, H., Yokota, A., Ohoka, Y., Kagechika, H., Kato, C., Song, S.-Y., and Iwata, M. (2010). Efficient induction of CCR9 on T cells requires co-activation of retinoic acid receptors and retinoid X receptors (RXR): Exaggerated T cell homing to the intestine by RXR activation with organotins. *J Immunol* 185: 5289-5299.

[邦文総説・解説等]

1. 竹内 一, 大岡嘉治, 岩田 誠 (2011). 「粘膜系リンパ球の腸管指向性獲得の分子メカニズム」細胞工学 30 (4): 381-386.

口頭発表・学会発表 (2014 年~2015 年 3 月)

1. 桐山賀充, 野地裕美, 田元浩一「塩化アンモニウムによる p38 MAPK を介した GABARAP11 の mRNA 発現」日本薬学会第 134 年会, 熊本, 2014.3.28
2. 大岡嘉治, 中妻彩, 竹内一, 岩田誠「樹状細胞におけるレチノイン酸合成酵素 RALDH2 の遺伝子発現誘導機構の解析」第 13 回国免疫フォーラム, 徳島県, 6 月 21 日, 2014
3. OHOKA Yoshiharu, YOKOTA-NAKATSUMA Aya, TAKEUCHI Hajime, IWATA Makoto Cooperation between Sp1 and the RAR/RXR α complex is involved in the regulation of RALDH2 expression in dendritic cells 第 87 回日本生化学会大会, 京都府, 10 月 16 日~17 日, 2014
4. Kiriyama Y., Ozaki A, Nochi H. CCCP induces the expression of GABARAPL2 and the participation of GABARAPL2 in mitophagy in C6 glioma cells. 第 37 回分子生物学会年会, 横浜, 2014.11.26
5. YOKOTA-NAKATSUMA Aya, TAKEUCHI Hajime, OHOKA Yoshiharu, IWATA Makoto E-cadherin enhances the expression of retinal dehydrogenase 2 in dendritic cells and confers the ability to induce gut-tropic regulatory T cells 第 43 回日本免疫学会学術集会, 京都府, 12 月 12 日, 2014
6. 扶川晴香, 宮武未来, 春木結衣, 田中信行, 岡島史和, 田元浩一, 野地裕美「関節リウマチ滑膜細胞の細胞外 pH の酸性化による COX-2 発現誘導機構の解析」日本薬学会第 135 年会, 兵庫県, 3 月 28 日
7. 中妻彩, 亀井進太郎, 松山盛和, 岩澤春奈, 玉井里奈, 竹内一, 大岡嘉治, 岩田誠「E-cadherin は腸管指向性制御性 T 細胞の誘導能を有する抗炎症性樹状細胞の分化を促進する」日本薬学会第 135 年会, 兵庫県, 3 月 28 日, 2014.

特許

1. 野地裕美, 田元浩一ほか (2011) 「ロイヤルゼリー抽出物及びヒト骨芽細胞増殖抑制剤」特開平 2011-32187.

その他、新聞報道等

該当事項なし



研究分野

抑制性シナプス制御と可塑性の神経科学的研究

Neuroscience Study on Regulation and Plasticity at Inhibitory Synapses

教員

- 教授 小西史朗 着任年月日：2006年 4月 1日
 最終学歴：1973年3月東京医科歯科大学医学研究科博士課程修了。医学博士
 前職：早稲田大学先端バイオ研究所 教授
- 講師 栗生俊彦 着任年月日：2006年 4月 1日
 最終学歴：1998年3月大阪大学大学院博士後期課程修了。理学博士
 前職：東京医科歯科大学 COE 脳統合機能拠点形成特別研究員
- 助教 鴻海俊太郎 着任年月日：2012年 4月 1日
 最終学歴：2009年3月岡山大学医歯薬学総合研究科博士後期課程修了。博士(薬学)
 前職：日本大学歯学部薬理学講座 博士研究員
- 講師 定本久世 着任年月日：2005年 4月 1日
 最終学歴：北海道大学大学院生物科学専攻博士課程修了。博士(理学)
 前職：徳島文理大学香川薬学部 助教
- 大学院生(修士課程)
 平岡 隼・花房愛美 (M2)

研究の概要

2007年4月から、神経科学研究所が拡充され、当講座のスタッフも香川薬学部教員と併任の形で、以下のような研究活動を開始した(なお、小西は本研究所所長を兼務している)。2008年10月、私立大学戦略的研究基盤形成事業の「研究拠点を形成する研究」として神経科学研究所が中心となって申請した「アルツハイマー病の初期発症機構の解明と早期診断法の確立」(代表・小西史朗)の課題が採択され、アルツハイマー病に関する研究プロジェクトを2010年から2014年の5年間にわたり実施した。

当講座では脳神経科学の研究を以下に述べる五つの研究課題について実施している。(I) 抑制性 GABA シナプス伝達の可塑性を制御する細胞・分子機構の解明(小西・栗生・鴻海)、(II) 興奮および抑制性シナプス活動を可視化するためのイメージング法の構築と解析(栗生・小西)、(III) 神経伝達物質受容体のシナプス部位配送を支配する分子基盤の解明(栗生・定本・小西)および(IV) GABA シナプスに関連した精神疾患治療薬の考案につながる創薬基盤の探索(小西・栗生・鴻海)。(V) アルツハイマー病の発症機構を理解し治療薬を探るため、モデル・マウスにおけるシナプス機構の変調を検討している(栗生・鴻海・小西)。これらの研究目標の背景の

概略は以下のとおりである。

運動や喜怒哀楽(感情)、さらには知情意のような多彩な生理機能を支配する脳の働きは、神経細胞のつぎ目であるシナプスにおける情報伝達およびその制御機構のうえに成り立っている。外界からの刺激の繰返し、すなわち経験などの情報は脳内シナプスに蓄積され、これによって脳が出来事などの事象や手続きを記憶学習できる。したがって、脳内シナプス、すなわち興奮および抑制性シナプスは、脳の働きを支える基本的な装置として重要な役割を果たしている。これら二種類のシナプスでは、それぞれグルタミン酸および GABA のような化学メッセンジャー(神経伝達物質)を利用した化学伝達によって情報が処理されている。

このような脳内シナプスの伝達効率(シナプス強度つまり情報処理の程度)は、様々な化学物質で仲介される調節機構によって修飾されており、この伝達効率を変調する仕組みはシナプス可塑性と呼ばれ、学習記憶など脳機能を支える重要な役割を担っている。この伝達効率を支配するシナプス可塑性の仕組みに異常がおこると、不安、うつ、認知障害や統合失調症など多くの精神疾患の発症にいたる。これら精神機能の疾患を改善し克服するためには、シナプス伝達の制御機構を解明し、神経伝達物質受容体などのシナプス関連分子を標的とした有効な治療薬の考案が大切である。したがって『脳の働きに関する創薬』を実現させるには、脳内シナプス可塑性の制御機構に関与する細胞・分子的メカニズムを理解することが、不可欠の重要なステップとなる。このような創薬基盤を達成することを、本講座の研究目的の一つとしている。

これまで本講座では、とくに GABA 作動性の抑制性シナプスに焦点を絞って研究を進めている。その理由は、正常な脳の働きは抑制性 GABA シナプスの活動に強く依存しているにもかかわらず、興奮性シナプスに比べて抑制性シナプスの研究は著しく立ち遅れていたことであった。抑制性 GABA シナプスの脳機能に果たす重要性は、たとえば GABA シナプス作動薬であるベンゾジアゼピン類が今日の医療で最も多く処方されている薬物である事実からも容易にうかがわれる。したがって GABA シナプスの働きやその制御の仕組みを解明することは、脳機能の基礎的な理解を深めるだけでなく、脳機能の異常に関連した疾患を治療するための創薬応用にも資する大きな意義があるといえる。このような意図で研究を進め最近数年間の研究から、GABA シナプスの働きは多様な化学メッセンジャーにより巧妙に制御されていることを明らかにしてきた。大別すると GABA シナプスの伝達効率は、これまで知ら

抑制性シナプス制御と可塑性の神経科学研究

れていなかった三種類の分子メカニズムによって制御されていることが示されてきた（発表論文リストを参照）。

第一の機構では、モノアミン（ノルアドレナリンやセロトニン）さらにプリン化合物（ATP など）によって GABA シナプスの伝達効率が短期的および長期的に増強される。この機構には、前シナプス神経終末からの神経伝達物質 GABA の放出機構の促進と後シナプス標的細胞における GABA レセプター（受容体）感受性の増加が分子基盤として関与することが明らかにされてきている。

第二に、これまで興奮性神経伝達物質の代表と考えられてきたグルタミン酸が、GABA シナプスにおける前シナプス終末からの GABA 放出を阻害する前シナプス抑制も起こすことを発見した。またこの作用は、これまでもっぱら興奮性信号を受け渡すと考えられてきた AMPA 型グルタミン酸受容体によって仲介されることが示され、この受容体が刺激されると前シナプス終末の電位依存性カルシウムチャネル活性が抑制され GABA 放出阻害にいたることが明らかにされた。

GABA シナプス周辺における第三の新しいシナプス機構は、受容体クロストークの発見である。抑制性ニューロンから放出された GABA は、興奮性シナプス周辺部の代謝型 GABA_B 受容体を刺激してもう一方の代謝型グルタミン酸受容体の働きを著明に促進することが証明された。これらの例からも明らかのように、興奮および抑制性シナプスの間には多様な伝達制御様式が存在し、これらは精神疾患を治療するための創薬にとって格好の薬物標的なることが強く期待される。

これらの事実に基づき、当講座では抑制性 GABA シナプスの働きと制御の仕組みをさらに解明することを試みると同時に、抑制性シナプス活動を可視化して GABA シナプスの働きに影響する選択的作用薬を探索スクリーニングできるシステムを構築する研究プロジェクトも進めている。今年度は、栗生俊彦講師が、3 色の蛍光標識たんぱく質の発現系を構築して、抑制性 GABA シナプスを可視化する方法を確立した。

アルツハイマー病に関する研究プロジェクトでは、3 種類のモデルマウスを導入し、現在は 3×Tg-AD マウス（APP、presenilin1、Tau 変異遺伝子を発現）を中心に、海馬スライスによる電気生理学および 3×Tg-AD マウスと別系統マウスを交差交配して新系統のマウスの作出を進め、アルツハイマー病の発症機構、とくに発症初期のシナプス異常を追究している。鴻海俊太郎助教の参入により、新たに側坐核、前頭前野スライスを用いた報酬系におけるシナプス機構の解析も開始している。2010 年度から、AD モデルマウス脳の遺伝子網羅的解析の学内共同プロジェクトを実施しており、いくつかの遺伝子が同定されてきた。第 4 回 AD 勉強会を開催し（2011 年 12 月 22 日）、その成果とりまとめを発行した。また、私立大学戦略的研究基盤形成事業を開始して 2014 年度は 5 年目を

迎えた（研究費総額 7500 万円）。

外部資金導入実績：

競争的研究資金については、以下の外部資金が採択されている。

（1）平成 20 年度・私立大学戦略的研究基盤形成事業（研究拠点を形成する研究）「アルツハイマー病の初期発症機構の解明と早期診断法の確立」（事業番号 S0891080）2008 年～2013 年（代表・小西史朗）

（2）基盤研究（C）「抑制性シナプス可塑性を制御する分子機構の解明」（課題番号 20500296）2008 年～2010 年（代表・栗生俊彦）

（3）武田科学振興財団・薬学系研究奨励「分子動態イメージング法を用いた抑制性シナプス制御機構の解明と創薬への応用」2008 年（代表・栗生俊彦）

（4）若手（スタートアップ）「側坐核ニューロンに対するドパミン受容体活性化による修飾作用」（課題番号 21890265）2009 年～2010 年（鴻海俊太郎）

（5）若手研究（B）「軟体動物の行動変化に関わるセロトニン放出量調節機構に関わる研究」（課題番号 19770059）2007 年～2008 年（定本久世）

（6）若手研究（B）「そしゃく行動に関わるインシュリンによる体液性調節機構の解析」（課題番号 21770081）2009 年～2010 年（定本久世）

（7）基盤研究（C）「セロトニントランスポーター遺伝子多型と学習行動との関連」（課題番号 24570091）2012 年～2015 年（定本久世）

（8）若手研究（B）「ドパミン作動性神経の可塑性に関する研究」（課題番号 26870775）2014 年～2015 年（鴻海俊太郎）

外部機関との共同研究：

（1）シンガポール国立 Nanyang 工科大学・生物科学部で NMRC(National Medical Research Council)研究資金で支援される研究課題「漢方薬 TCM 成分から精神神経疾患治療薬の探索」（2005 年～2009 年）を代表として実施していたが、その後 James Tam 教授、Alex Law 教授と共同研究を継続し、2012 年度にその成果の一部を論文発表した（小西）。

（2）自然研究機構・生理学研究所の佐竹伸一郎助教および井本敬二教授と、シナプス前終末の AMPA 型グルタミン酸受容体の生理的意義について共同研究を実施している。同志社大学・高等研究機構の脳科学研究所・チャンネル病態生理部門の廣野守俊准教授と小脳抑制性神経回路について共同研究をおこなっている（小西）。

（3）東京大学大学院医学系研究科・医学部 岡部繁男教授と「興奮性シナプス足場蛋白質 GKAP/SAPAP の動態制御機構」、「自閉症モデルマウスのシナプス動態」についての共同研究を継続しており、2013、2014 年度にその成果を論文発表



した(栗生)。

(4) 自然科学研究機構・生理学研究所 鍋倉淳一教授と「抑制性シナプスの in vivo imaging」について、群馬大学医学部 柳川右千夫教授と「GAD65/67 ダブルノックアウトマウスを用いた抑制性シナプス形成機構の解明」についての共同研究をそれぞれ継続している。また、東京都医学研究機構・東京都神経科学総合研究所の客員研究員として、同研究所 岡戸晴生副参事研究員と研究協力関係を継続している(栗生)。

(6) 今年度より、大阪大学大学院薬学研究科 橋本均教授、中澤敬信特任准教授ならびに大阪大学医学部附属病院神経科・精神科 橋本亮太准教授らと、「統合失調症患者からのリンパ芽球由来の人工多能性幹細胞(iPS細胞)樹立とそれを用いた病態解析・治療法探索」について、共同研究を開始した。(栗生)

外部誌上发表 (2010年~2015年3月)

[原著論文]

2014

1. Okabe A, Shimizu-Okabe C, Arata A, Konishi S, Fukuda A & Takayama C. (2015) KCC2-mediated regulation of respiration-related rhythmic activity during postnatal development in mouse medulla oblonga. *Brain Res.* 1601: 31-39.
2. Isshiki M., Tanaka S., Kuriu T., Tabuchi K., Takumi T., Okabe S. (2014) Enhanced synapse remodelling as a common phenotype in mouse models of autism. *Nature Commun.* 5: 4742: 1-15.

2013

1. Watanabe T., Sadamoto H. and Aonuma H. (2013) Molecular basis of the dopaminergic system in the cricket *Gryllus bimaculatus*. *Invert Neurosci* 13, 107-23.
2. Sadamoto H. and Muto H. (2013) Fluorescence Cross-correlation Spectroscopy (FCCS) to Observe Dimerization of Transcription Factors in Living Cells. *Methods Mol Biol.* 977, 229-41.
3. Murakami J., Okada R., Sadamoto H., Kobayashi S., Mita K., Sakamoto Y., Yamagishi M., Hatakeyama D., Otsuka E., Okuta A., Sunada H., Takigami S., Sakakibara M., Fujito Y., Awaji M., Moriyama S., Lukowiak K. and Ito E. (2013) Involvement of insulin-like peptide in long-term synaptic plasticity and long-term memory of the pond snail *Lymnaea stagnalis*. *J Neurosci.* 33, 371-83.
4. Shin E., Kashiwagi Y., Kuriu T., Iwasaki H., Tanaka T., Koizumi H., Gleeson JG., Okabe S*. (2013) Doublecortin-like kinase enhances dendritic remodeling and negatively regulates synapse maturation. *Nature Commun.* 4: 1440: 1-14.

2012

1. Hirono M*, Saitow F, Kudo M, Suzuki H, Yanagawa Y, Yamada M, Nagao S, Konishi S*, Obata K. (2012) Cerebellar Globular Cells Receive Monoaminergic excitation and

monosynaptic inhibition from Purkinje cells. *PLoS One* 7: e29663.

2. Kohnomi S., Koshikawa N, Kobayashi M*. (2012) D₂-like dopamine receptors differentially regulate unitary IPSCs depending on presynaptic GABAergic neuron subtypes in rat nucleus accumbens shell. *J. Neurophysiol.* 107: 692-703. PMID: 22049335
3. Kuriu T., Yanagawa Y, Konishi S.* (2012) Activity-dependent coordinated mobility of hippocampal inhibitory synapses visualized with presynaptic and postsynaptic tagged-molecular markers. *Mol. Cell. Neurosci.* 49: 184-195. PMID: 22146684
4. Sadamoto, H., Takahashi, H., Okada, T., Kenmoku, H., Toyota, M., Asakawa, Y. (2012) De novo sequencing and transcriptome analysis of the central nervous system of mollusc *Lymnaea stagnalis* by deep RNA sequencing. *PLoS One* 7, e42546.
5. Kobayashi, S., Matsuo, R., Sadamoto, H., Watanabe, S., and Ito, E. (2012) Excitatory effects of GABA on procererebrum neurons in a slug. *J Neurophysiol* 108, 989-998.

2011

1. Xue JG, Masuoka T, Gong XD, Chen KS, Yanagawa Y, Law SK, Konishi S.* (2011) NMDA receptor activation enhances inhibitory GABAergic transmission onto hippocampal pyramidal neurons via presynaptic and postsynaptic mechanisms. *J Neurophysiol.* 105: 2897-2011. PMID: 21471392
2. Sadamoto, H., Saito, K., Muto, H., Kinjo, M. and Ito, E. (2011) Direct observation of dimerization between different CREB1 isoforms in a living cell. *PLoS ONE* 6, e20285.
3. Watanabe, T., Sadamoto, H., and Aonuma, H. (2011) Identification and expression analysis of the genes involved in serotonin biosynthesis and transduction in the field cricket *Gryllus bimaculatus*. *Insect Mol Biol* 20, 619-35.

2010

1. Satake, S., Song, S.-Y., Konishi, S.*, and Imoto, K. (2010). Glutamate transporter EAAT4 in Purkinje cells controls intersynaptic diffusion of climbing fiber transmitter mediating inhibition of GABA release from interneurons. *Eur J Neurosci.* 32 (11): 1843-53. PMID: 21070388
2. Saito K, Kakizaki T, Hayashi R, Nishimaru H, Furukawa T, Nakazato Y, Takamori S, Ebihara S, Uematsu M, Mishina M, Miyazaki JI, Yokoyama M, Konishi S. Inoue K, Fukuda A, Fukumoto M, Nakamura K, Obata K, Yanagawa Y. (2010) The physiological roles of vesicular GABA transporter during embryonic development: a study using knockout mice. *Mol Brain.* 3 (1): 40. PMID: 21190592; PMC3023674.
3. Masuoka, T., Mikami, A., Kamei, C. (2010) Ameliorative effect of a hippocampal metabotropic glutamate- receptor agonist

抑制性シナプス制御と可塑性の神経科学的研究

on histamine H1 receptor antagonist-induced memory deficit in rats. *J Pharmacol Sci* 113(1): 41-47.

4. Kohnomi, S., Suemaru, K., Goda, M., Choshi, T., Hibino, S., Kawasaki, H., Araki, H. Ameliorating effects of tropisetron on dopaminergic disruption of prepulse inhibition via the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor in Wistar rats. *Brain Res*. 1353: 152-158. PMID: 20673759.
5. Hatakeyama, D., Mita, K., Kobayashi, S., Sadamoto, H., Fujito, Y., Hiripi, L., Elekes, K. and Ito, E. (2010) Glutamate transporters in the central nervous system of a pond snail. *J Neurosci Res* 88, 1374-1386.
6. Sadamoto, H., Kitahashi, T., Fujito, Y., and Ito, E. (2010) Learning-dependent gene expression of CREB1 isoforms in the molluscan brain. *Front Behav Neurosci* 4, 25.

[英文総説]

1. Konishi S. and Satake S. (2013) Physiological interactions between neurons and glia: roles of transporters in the control of intersynaptic crosstalk. Chapter 9, In *Glial Cells: Embryonic Development, Types, Functions and Role in Disease*, edit by K. Charanjit and Eng-Ang Ling, pp.177-191, Nova Science Publishers, New York.

[著書・訳書]

1. 小西史朗, 桐野 豊, 伊藤悦朗, 宋 時榮 (2013) 共訳「記憶のしくみ」(原著: "Memory From Mind to Molecules" by E.R. Kandel & L.R. Squire) 講談社ブルーバックス(東京), pp. 597

[邦文総説・解説等]

1. 定本久世, 高橋宏暢 (2012) 技術ノート「次世代シーケンサーを用いた de novo トランスクリプトーム解析」比較生理生化学 29, 131-134
2. 定本久世, 伊藤悦朗 (2012) 「mRNA 絶対定量法によって明らかにされた長期記憶時の転写調節因子 CREB の増減」生物物理 51, 18-21
3. 小西史朗, 彼杵 隆 (2011) 可塑性の基礎: 長期増強(LTP)と長期抑圧(LTD) Konishi S., & Sonogi T. (2011) Basic aspect of synaptic plasticity: Long-term potentiation and long-term depression. *Clinical Neuroscience* 29(7): 749-754. (Japanese)
4. 佐竹伸一郎, 小西史朗, 井本敬二 (2011) ニューロン型グルタミン酸トランスポーターが制御する異種シナプス間クロストーク Satake S., Konishi S. & Imoto K. (2011) Heterosynaptic cross-talk regulated by neuron-type glutamic acid transporter. *Brain* 114(4): 26-31. (Japanese)

口頭発表・学会発表 (2014年~2015年3月)

1. 平岡隼, 鴻海俊太郎, 小西史朗 (2015) 慢性拘束負荷マウスの内側前頭皮質におけるセロトニン 5-HT₃ 受容体機能の変化 第88回薬理学会年会 3月20日(名古屋) 発表予定
2. Hanafusa M, Sadamoto H., Kuriu T. & Konishi S. (2014)

Developmental changes in localization of the presynaptic cell-adhesion molecule neurexin-1b during hippocampal inhibitory synapse formation. Proceedings of the 91st Annual Meeting S138, 1P-086, March 16-18, Kagoshima, Japan

3. 庄司正樹, 江角朋之, 鴻海俊太郎, 山本千, 高橋悦久, 小西史朗, 木戸博, 葛原隆 (2014) バクチオール抗インフルエンザ活性における標的探索 第37回日本分子生物学会年会 11月25日(横浜)
4. 栗生俊彦 (2014) 抑制性シナプスにおける形態と機能の可塑的变化とその分子基盤 大阪大学医学部 第62回統合失調症勉強会/分子精神神経薬理学研究セミナー 11月28日(大阪) [招待講演]
5. 栗生俊彦, 定本久世, 柳川右千夫 (2014) 抑制性シナプス前・後部に局在する機能分子の可視化 第18回活性アミンに関するワークショップ 8月30日(高松)
6. 栗生俊彦, 定本久世, 柳川右千夫, 小西史朗 (2014) 抑制性シナプスにおける neurexin/neurexin-2 の動態解析 自然科学研究機構生理学研究所 シナプス研究会 12月3日(岡崎)
7. Kuriu T., Sadamoto H., Yanagawa Y. and Konishi S. (2014) Localization changes of cell adhesion proteins, neurexin and neuroligin-2, during hippocampal inhibitory synapse development. The 37th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, September 11-13, Yokohama, Japan
8. 定本久世, 栗生俊彦, 柳川右千夫 (2014) 海馬抑制性シナプス形成にともなう VAMP2 および VAMP4 の細胞内分布と機能解析 サンポートホール高松 第18回活性アミンに関するワークショップ 8月30日(高松)
9. Sadamoto H., Kuriu T., Yanagawa Y. and Konishi S. (2014) Synaptic localization and function of VAMP4 in developing inhibitory neurons. The 37th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, September 11-13, Yokohama, Japan.

特許

1. 柳川右千夫・小西史朗ほか(2005) 「小脳 GABA トランスポーター遺伝子欠損マウス」特許 2005-35361
2. 小西史朗・鈴木秀典・柳川右千夫(2002) 「非ヒト遺伝子改変動物およびその応用」特許 342969

その他、新聞報道等

1. 「記憶のしくみ」(講談社ブルーバックス) が読売新聞書評「本よみうり堂」に掲載・読売新聞 2014年1月12日
2. 「神経科学研究所セミナー」の開催 2014年8月29日
場所: 香川薬学部・1階会議室
講師1: 柳川右千夫 教授(群馬大院・医・遺伝発達行動)
演題: 「GABA 合成酵素の酒害と精神神経疾患: ノックアウトマウスを利用した研究」
講師2: Dmitri A. Rusakov 教授(UCL Institute of Neurology, University College London, UK)
演題: "A tortuous fate of glutamate in the cleft: from diffusion retardation to LTP"
3. 学会開催:
「第18回活性アミンに関するワークショップ」
(日本薬学会・日本薬理学会協賛)



場所：サンポートホール高松

日時：2014年8月30日



研究分野

抑制性シナプス制御と可塑性の神経科学的研究

Neuroscience Study on Regulation and Plasticity at Inhibitory Synapses

教員

- 教授 小西史朗 着任年月日：2006年 4月 1日
 最終学歴：1973年3月東京医科歯科大学医学研究科博士課程修了。医学博士
 前職：早稲田大学先端バイオ研究所 教授
- 講師 栗生俊彦 着任年月日：2006年 4月 1日
 最終学歴：1998年3月大阪大学大学院博士後期課程修了。理学博士
 前職：東京医科歯科大学 COE 脳統合機能拠点形成特別研究員
- 助教 鴻海俊太郎 着任年月日：2012年 4月 1日
 最終学歴：2009年3月岡山大学医歯薬学総合研究科博士後期課程修了。博士（薬学）
 前職：日本大学歯学部薬理学講座 博士研究員
- 講師 定本久世 着任年月日：2005年 4月 1日
 最終学歴：北海道大学大学院生物科学専攻博士課程修了。博士（理学）
 前職：徳島文理大学香川薬学部 助教
- 大学院生（修士課程）
 平岡 隼・花房愛美（M2）

研究の概要

2007年4月から、神経科学研究所が拡充され、当講座のスタッフも香川薬学部教員と併任の形で、以下のような研究活動を開始した（なお、小西は本研究所所長を兼務している）。2008年10月、私立大学戦略的研究基盤形成事業の「研究拠点を形成する研究」として神経科学研究所が中心となって申請した「アルツハイマー病の初期発症機構の解明と早期診断法の確立」（代表・小西史朗）の課題が採択され、アルツハイマー病に関する研究プロジェクトを2010年から2014年の5年間にわたり実施した。

当講座では脳神経科学の研究を以下に述べる五つの研究課題について実施している。(I) 抑制性 GABA シナプス伝達の可塑性を制御する細胞・分子機構の解明（小西・栗生・鴻海）、(II) 興奮および抑制性シナプス活動を可視化するためのイメージング法の構築と解析（栗生・小西）、(III) 神経伝達物質受容体のシナプス部位配送を支配する分子基盤の解明（栗生・定本・小西）および (IV) GABA シナプスに関連した精神疾患治療薬の考案につながる創薬基盤の探索（小西・栗生・鴻海）。(V) アルツハイマー病の発症機構を理解し治療薬を探るため、モデル・マウスにおけるシナプス機構の変調を検討している（栗生・鴻海・小西）。これらの研究目標の背景の

概略は以下のとおりである。

運動や喜怒哀楽（感情）、さらには知情意のような多彩な生理機能を支配する脳の働きは、神経細胞のつぎ目であるシナプスにおける情報伝達およびその制御機構のうえに成り立っている。外界からの刺激の繰返し、すなわち経験などの情報は脳内シナプスに蓄積され、これによって脳が出来事などの事象や手続きを記憶学習できる。したがって、脳内シナプス、すなわち興奮および抑制性シナプスは、脳の働きを支える基本的な装置として重要な役割を果たしている。これら二種類のシナプスでは、それぞれグルタミン酸および GABA のような化学メッセンジャー（神経伝達物質）を利用した化学伝達によって情報が処理されている。

このような脳内シナプスの伝達効率（シナプス強度つまり情報処理の程度）は、様々な化学物質で仲介される調節機構によって修飾されており、この伝達効率を変調する仕組みはシナプス可塑性と呼ばれ、学習記憶など脳機能を支える重要な役割を担っている。この伝達効率を支配するシナプス可塑性の仕組みに異常がおこると、不安、うつ、認知障害や統合失調症など多くの精神疾患の発症にいたる。これら精神機能の疾患を改善し克服するためには、シナプス伝達の制御機構を解明し、神経伝達物質受容体などのシナプス関連分子を標的とした有効な治療薬の考案が大切である。したがって『脳の働きに関する創薬』を実現させるには、脳内シナプス可塑性の制御機構に関与する細胞・分子的メカニズムを理解することが、不可欠の重要なステップとなる。このような創薬基盤を達成することを、本講座の研究目的の一つとしている。

これまで本講座では、とくに GABA 作動性の抑制性シナプスに焦点を絞って研究を進めている。その理由は、正常な脳の働きは抑制性 GABA シナプスの活動に強く依存しているにもかかわらず、興奮性シナプスに比べて抑制性シナプスの研究は著しく立ち遅れていたことであった。抑制性 GABA シナプスの脳機能に果たす重要性は、たとえば GABA シナプス作動薬であるベンゾジアゼピン類が今日の医療で最も多く処方されている薬物である事実からも容易にうかがわれる。したがって GABA シナプスの働きやその制御の仕組みを解明することは、脳機能の基礎的な理解を深めるだけでなく、脳機能の異常に関連した疾患を治療するための創薬応用にも資する大きな意義があるといえる。このような意図で研究を進め最近数年間の研究から、GABA シナプスの働きは多様な化学メッセンジャーにより巧妙に制御されていることを明らかにしてきた。大別すると GABA シナプスの伝達効率は、これまで知ら

抑制性シナプス制御と可塑性の神経科学的研究

れていなかった三種類の分子メカニズムによって制御されていることが示されてきた（発表論文リストを参照）。

第一の機構では、モノアミン（ノルアドレナリンやセロトニン）さらにプリン化合物（ATP など）によって GABA シナプスの伝達効率が短期的および長期的に増強される。この機構には、前シナプス神経終末からの神経伝達物質 GABA の放出機構の促進と後シナプス標的細胞における GABA レセプター（受容体）感受性の増加が分子基盤として関与することが明らかにされてきている。

第二に、これまで興奮性神経伝達物質の代表と考えられてきたグルタミン酸が、GABA シナプスにおける前シナプス終末からの GABA 放出を阻害する前シナプス抑制も起こすことを発見した。またこの作用は、これまでもっぱら興奮性信号を受け渡すと考えられてきた AMPA 型グルタミン酸受容体によって仲介されることが示され、この受容体が刺激されると前シナプス終末の電位依存性カルシウムチャネル活性が抑制され GABA 放出阻害にいたることが明らかにされた。

GABA シナプス周辺における第三の新しいシナプス機構は、受容体クロストークの発見である。抑制性ニューロンから放出された GABA は、興奮性シナプス周辺部の代謝型 GABA_B 受容体を刺激してもう一方の代謝型グルタミン酸受容体の働きを著明に促進することが証明された。これらの例からも明らかのように、興奮および抑制性シナプスの間には多様な伝達制御様式が存在し、これらは精神疾患を治療するための創薬にとって格好の薬物標的なることが強く期待される。

これらの事実に基づき、当講座では抑制性 GABA シナプスの働きと制御の仕組みをさらに解明することを試みると同時に、抑制性シナプス活動を可視化して GABA シナプスの働きに影響する選択的作用薬を探索スクリーニングできるシステムを構築する研究プロジェクトも進めている。今年度は、栗生俊彦講師が、3 色の蛍光標識たんぱく質の発現系を構築して、抑制性 GABA シナプスを可視化する方法を確立した。

アルツハイマー病に関する研究プロジェクトでは、3 種類のモデルマウスを導入し、現在は 3×Tg-AD マウス（APP、presenilin1、Tau 変異遺伝子を発現）を中心に、海馬スライスによる電気生理学および 3×Tg-AD マウスと別系統マウスを交差交配して新系統のマウスの作出を進め、アルツハイマー病の発症機構、とくに発症初期のシナプス異常を追究している。鴻海俊太郎助教の参入により、新たに側坐核、前頭前野スライスを用いた報酬系におけるシナプス機構の解析も開始している。2010 年度から、AD モデルマウス脳の遺伝子網羅的解析の学内共同プロジェクトを実施しており、いくつかの遺伝子が同定されてきた。第 4 回 AD 勉強会を開催し（2011 年 12 月 22 日）、その成果とりまとめを発行した。また、私立大学戦略的研究基盤形成事業を開始して 2014 年度は 5 年目を

迎えた（研究費総額 7500 万円）。

外部資金導入実績：

競争的研究資金については、以下の外部資金が採択されている。

（1）平成 20 年度・私立大学戦略的研究基盤形成事業（研究拠点を形成する研究）「アルツハイマー病の初期発症機構の解明と早期診断法の確立」（事業番号 S0891080）2008 年～2013 年（代表・小西史朗）

（2）基盤研究（C）「抑制性シナプス可塑性を制御する分子機構の解明」（課題番号 20500296）2008 年～2010 年（代表・栗生俊彦）

（3）武田科学振興財団・薬学系研究奨励「分子動態イメージング法を用いた抑制性シナプス制御機構の解明と創薬への応用」2008 年（代表・栗生俊彦）

（4）若手（スタートアップ）「側坐核ニューロンに対するドパミン受容体活性化による修飾作用」（課題番号 21890265）2009 年～2010 年（鴻海俊太郎）

（5）若手研究（B）「軟体動物の行動変化に関わるセロトニン放出量調節機構に関わる研究」（課題番号 19770059）2007 年～2008 年（定本久世）

（6）若手研究（B）「そしゃく行動に関わるインシュリンによる体液性調節機構の解析」（課題番号 21770081）2009 年～2010 年（定本久世）

（7）基盤研究（C）「セロトニントランスポーター遺伝子多型と学習行動との関連」（課題番号 24570091）2012 年～2015 年（定本久世）

（8）若手研究（B）「ドパミン作動性神経の可塑性に関する研究」（課題番号 26870775）2014 年～2015 年（鴻海俊太郎）

外部機関との共同研究：

（1）シンガポール国立 Nanyang 工科大学・生物科学部で NMRC(National Medical Research Council)研究資金で支援される研究課題「漢方薬 TCM 成分から精神神経疾患治療薬の探索」（2005 年～2009 年）を代表として実施していたが、その後 James Tam 教授、Alex Law 教授と共同研究を継続し、2012 年度にその成果の一部を論文発表した（小西）。

（2）自然研究機構・生理学研究所の佐竹伸一郎助教および井本敬二教授と、シナプス前終末の AMPA 型グルタミン酸受容体の生理的意義について共同研究を実施している。同志社大学・高等研究機構の脳科学研究所・チャンネル病態生理部門の廣野守俊准教授と小脳抑制性神経回路について共同研究をおこなっている（小西）。

（3）東京大学大学院医学系研究科・医学部 岡部繁男教授と「興奮性シナプス足場蛋白質 GKAP/SAPAP の動態制御機構」、「自閉症モデルマウスのシナプス動態」についての共同研究を継続しており、2013、2014 年度にその成果を論文発表



した(栗生)。

(4) 自然科学研究機構・生理学研究所 鍋倉淳一教授と「抑制性シナプスの in vivo imaging」について、群馬大学医学部 柳川右千夫教授と「GAD65/67 ダブルノックアウトマウスを用いた抑制性シナプス形成機構の解明」についての共同研究をそれぞれ継続している。また、東京都医学研究機構・東京都神経科学総合研究所の客員研究員として、同研究所 岡戸晴生副参事研究員と研究協力関係を継続している(栗生)。

(6) 今年度より、大阪大学大学院薬学研究科 橋本均教授、中澤敬信特任准教授ならびに大阪大学医学部附属病院神経科・精神科 橋本亮太准教授らと、「統合失調症患者からのリンパ芽球由来の人工多能性幹細胞(iPS細胞)樹立とそれを用いた病態解析・治療法探索」について、共同研究を開始した。(栗生)

外部誌上发表 (2010年~2015年3月)

[原著論文]

2014

1. Okabe A, Shimizu-Okabe C, Arata A, Konishi S, Fukuda A & Takayama C. (2015) KCC2-mediated regulation of respiration-related rhythmic activity during postnatal development in mouse medulla oblonga. *Brain Res.* 1601: 31-39.
2. Isshiki M., Tanaka S., Kuriu T., Tabuchi K., Takumi T., Okabe S. (2014) Enhanced synapse remodelling as a common phenotype in mouse models of autism. *Nature Commun.* 5: 4742: 1-15.

2013

1. Watanabe T., Sadamoto H. and Aonuma H. (2013) Molecular basis of the dopaminergic system in the cricket *Gryllus bimaculatus*. *Invert Neurosci* 13, 107-23.
2. Sadamoto H. and Muto H. (2013) Fluorescence Cross-correlation Spectroscopy (FCCS) to Observe Dimerization of Transcription Factors in Living Cells. *Methods Mol Biol.* 977, 229-41.
3. Murakami J., Okada R., Sadamoto H., Kobayashi S., Mita K., Sakamoto Y., Yamagishi M., Hatakeyama D., Otsuka E., Okuta A., Sunada H., Takigami S., Sakakibara M., Fujito Y., Awaji M., Moriyama S., Lukowiak K. and Ito E. (2013) Involvement of insulin-like peptide in long-term synaptic plasticity and long-term memory of the pond snail *Lymnaea stagnalis*. *J Neurosci.* 33, 371-83.
4. Shin E., Kashiwagi Y., Kuriu T., Iwasaki H., Tanaka T., Koizumi H., Gleeson JG., Okabe S*. (2013) Doublecortin-like kinase enhances dendritic remodeling and negatively regulates synapse maturation. *Nature Commun.* 4: 1440: 1-14.

2012

1. Hirono M*, Saitow F, Kudo M, Suzuki H, Yanagawa Y, Yamada M, Nagao S, Konishi S*, Obata K. (2012) Cerebellar Globular Cells Receive Monoaminergic excitation and

monosynaptic inhibition from Purkinje cells. *PLoS One* 7: e29663.

2. Kohnomi S., Koshikawa N, Kobayashi M*. (2012) D₂-like dopamine receptors differentially regulate unitary IPSCs depending on presynaptic GABAergic neuron subtypes in rat nucleus accumbens shell. *J. Neurophysiol.* 107: 692-703. PMID: 22049335
3. Kuriu T., Yanagawa Y, Konishi S.* (2012) Activity-dependent coordinated mobility of hippocampal inhibitory synapses visualized with presynaptic and postsynaptic tagged-molecular markers. *Mol. Cell. Neurosci.* 49: 184-195. PMID: 22146684
4. Sadamoto, H., Takahashi, H., Okada, T., Kenmoku, H., Toyota, M., Asakawa, Y. (2012) De novo sequencing and transcriptome analysis of the central nervous system of mollusc *Lymnaea stagnalis* by deep RNA sequencing. *PLoS One* 7, e42546.
5. Kobayashi, S., Matsuo, R., Sadamoto, H., Watanabe, S., and Ito, E. (2012) Excitatory effects of GABA on procererebrum neurons in a slug. *J Neurophysiol* 108, 989-998.

2011

1. Xue JG, Masuoka T, Gong XD, Chen KS, Yanagawa Y, Law SK, Konishi S.* (2011) NMDA receptor activation enhances inhibitory GABAergic transmission onto hippocampal pyramidal neurons via presynaptic and postsynaptic mechanisms. *J Neurophysiol.* 105: 2897-2011. PMID: 21471392
2. Sadamoto, H., Saito, K., Muto, H., Kinjo, M. and Ito, E. (2011) Direct observation of dimerization between different CREB1 isoforms in a living cell. *PLoS ONE* 6, e20285.
3. Watanabe, T., Sadamoto, H., and Aonuma, H. (2011) Identification and expression analysis of the genes involved in serotonin biosynthesis and transduction in the field cricket *Gryllus bimaculatus*. *Insect Mol Biol* 20, 619-35.

2010

1. Satake, S., Song, S.-Y., Konishi, S.*, and Imoto, K. (2010). Glutamate transporter EAAT4 in Purkinje cells controls intersynaptic diffusion of climbing fiber transmitter mediating inhibition of GABA release from interneurons. *Eur J Neurosci.* 32 (11): 1843-53. PMID: 21070388
2. Saito K, Kakizaki T, Hayashi R, Nishimaru H, Furukawa T, Nakazato Y, Takamori S, Ebihara S, Uematsu M, Mishina M, Miyazaki JI, Yokoyama M, Konishi S. Inoue K, Fukuda A, Fukumoto M, Nakamura K, Obata K, Yanagawa Y. (2010) The physiological roles of vesicular GABA transporter during embryonic development: a study using knockout mice. *Mol Brain.* 3 (1): 40. PMID: 21190592; PMC3023674.
3. Masuoka, T., Mikami, A., Kamei, C. (2010) Ameliorative effect of a hippocampal metabotropic glutamate- receptor agonist

抑制性シナプス制御と可塑性の神経科学的研究

on histamine H1 receptor antagonist-induced memory deficit in rats. *J Pharmacol Sci* 113(1): 41-47.

4. Kohnomi, S., Suemaru, K., Goda, M., Choshi, T., Hibino, S., Kawasaki, H., Araki, H. Ameliorating effects of tropisetron on dopaminergic disruption of prepulse inhibition via the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor in Wistar rats. *Brain Res*. 1353: 152-158. PMID: 20673759.
5. Hatakeyama, D., Mita, K., Kobayashi, S., Sadamoto, H., Fujito, Y., Hiripi, L., Elekes, K. and Ito, E. (2010) Glutamate transporters in the central nervous system of a pond snail. *J Neurosci Res* 88, 1374-1386.
6. Sadamoto, H., Kitahashi, T., Fujito, Y., and Ito, E. (2010) Learning-dependent gene expression of CREB1 isoforms in the molluscan brain. *Front Behav Neurosci* 4, 25.

[英文総説]

1. Konishi S. and Satake S. (2013) Physiological interactions between neurons and glia: roles of transporters in the control of intersynaptic crosstalk. Chapter 9, In *Glial Cells: Embryonic Development, Types, Functions and Role in Disease*, edit by K. Charanjit and Eng-Ang Ling, pp.177-191, Nova Science Publishers, New York.

[著書・訳書]

1. 小西史朗, 桐野 豊, 伊藤悦朗, 宋 時榮 (2013) 共訳「記憶のしくみ」(原著: "Memory From Mind to Molecules" by E.R. Kandel & L.R. Squire) 講談社ブルーバックス(東京), pp. 597

[邦文総説・解説等]

1. 定本久世, 高橋宏暢 (2012) 技術ノート「次世代シーケンサーを用いた de novo トランスクリプトーム解析」比較生理生化学 29, 131-134
2. 定本久世, 伊藤悦朗 (2012) 「mRNA 絶対定量法によって明らかにされた長期記憶時の転写調節因子 CREB の増減」生物物理 51, 18-21
3. 小西史朗, 彼杵 隆 (2011) 可塑性の基礎: 長期増強 (LTP) と長期抑圧 (LTD) Konishi S., & Sonogi T. (2011) Basic aspect of synaptic plasticity: Long-term potentiation and long-term depression. *Clinical Neuroscience* 29(7): 749-754. (Japanese)
4. 佐竹伸一郎, 小西史朗, 井本敬二 (2011) ニューロン型グルタミン酸トランスポーターが制御する異種シナプス間クロストーク Satake S., Konishi S. & Imoto K. (2011) Heterosynaptic cross-talk regulated by neuron-type glutamic acid transporter. *Brain* 114(4): 26-31. (Japanese)

口頭発表・学会発表 (2014年~2015年3月)

1. 平岡隼, 鴻海俊太郎, 小西史朗 (2015) 慢性拘束負荷マウスの内側前頭前皮質におけるセロトニン 5-HT₃ 受容体機能の変化 第 88 回薬理学会年会 3月 20 日 (名古屋) 発表予定
2. Hanafusa M, Sadamoto H., Kuriu T & Konishi S (2014)

Developmental changes in localization of the presynaptic cell-adhesion molecule neurexin-1b during hippocampal inhibitory synapse formation. Proceedings of the 91st Annual Meeting S138, 1P-086, March 16-18, Kagoshima, Japan

3. 庄司正樹, 江角朋之, 鴻海俊太郎, 山本千, 高橋悦久, 小西史朗, 木戸博, 葛原隆 (2014) バクチオール抗インフルエンザ活性における標的探索 第 37 回日本分子生物学会年会 11月 25 日 (横浜)
4. 栗生俊彦 (2014) 抑制性シナプスにおける形態と機能の可塑的变化とその分子基盤 大阪大学医学部 第 62 回統合失調症勉強会/分子精神神経薬理学研究セミナー 11月 28 日 (大阪) [招待講演]
5. 栗生俊彦, 定本久世, 柳川右千夫 (2014) 抑制性シナプス前・後部に局在する機能分子の可視化 第 18 回活性アミンに関するワークショップ 8月 30 日 (高松)
6. 栗生俊彦, 定本久世, 柳川右千夫, 小西史朗 (2014) 抑制性シナプスにおける neurexin/neuroigin-2 の動態解析 自然科学研究機構生理学研究所 シナプス研究会 12月 3 日 (岡崎)
7. Kuriu T., Sadamoto H., Yanagawa Y. and Konishi S. (2014) Localization changes of cell adhesion proteins, neurexin and neuroigin-2, during hippocampal inhibitory synapse development. The 37th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, September 11-13, Yokohama, Japan
8. 定本久世, 栗生俊彦, 柳川右千夫 (2014) 海馬抑制性シナプス形成にともなう VAMP2 および VAMP4 の細胞内分布と機能解析 サンポートホール高松 第 18 回活性アミンに関するワークショップ 8月 30 日 (高松)
9. Sadamoto H., Kuriu T., Yanagawa Y. and Konishi S. (2014) Synaptic localization and function of VAMP4 in developing inhibitory neurons. The 37th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, September 11-13, Yokohama, Japan.

特許

1. 柳川右千夫・小西史朗ほか(2005) 「小脳 GABA トランスポーター遺伝子欠損マウス」特許 2005-35361
2. 小西史朗・鈴木秀典・柳川右千夫(2002) 「非ヒト遺伝子改変動物およびその応用」特許 342969

その他、新聞報道等

1. 「記憶のしくみ」(講談社ブルーバックス) が読売新聞書評「本よみうり堂」に掲載・読売新聞 2014 年 1 月 12 日
2. 「神経科学研究所セミナー」の開催 2014 年 8 月 29 日
場所: 香川薬学部・1 階会議室
講師 1: 柳川右千夫 教授 (群馬大院・医・遺伝発達行動)
演題: 「GABA 合成酵素の酒害と精神神経疾患: ノックアウトマウスを利用した研究」
講師 2: Dmitri A. Rusakov 教授 (UCL Institute of Neurology, University College London, UK)
演題: "A tortuous fate of glutamate in the cleft: from diffusion retardation to LTP"
3. 学会開催:
「第 18 回活性アミンに関するワークショップ」
(日本薬学会・日本薬理学会協賛)



場所：サンポートホール高松

日時：2014年8月30日



研究分野

モデル動物を用いた神経疾患の病理学的解析

Pathological analysis of neural diseases using animal model

教員

教授 宋 時榮 着任年月日：2006年4月1日
 最終学歴：1983年3月東京医科歯科大学 医学研究科
 大学院博士課程修了。医学博士
 前職：三菱化学生命科学研究所 組織病理室 室長
 助手 中島健太郎 着任年月日：2006年11月1日
 最終学歴：2005年3月横浜国立大学大学院 修士課程
 修了。工学修士
 前職：ニッピコラーゲン工業株式会社 化粧品製造
 開発部
 実験助手 藤井理恵 着任年月日：2013年11月1日
 最終学歴：2007年3月 崇城大学 工学部 応用生命科
 学学科
 前職：帝国製薬株式会社 製剤研究部 研究助手

研究の概要

1. 脳における Lanosterol 14- α Demethylase の発現と髄鞘形成、再生過程での発現変化 (中島健太郎、小原来夢、福井 光、藤井理恵、宋時榮)

Lanosterol 14- α Demethylase (LDM, CYP51) は CYP 酵素唯一の cholesterol 生合成過程に関わる酵素であり、真核生物におけるステロール合成経路に必須である。Cholesterol は、細胞膜の主な構成成分、ステロイドホルモンの合成原料、さらには神経細胞の軸索の周りを覆う髄鞘の主な構成成分として生体内で重要な分子である。Cholesterol は主に肝臓で合成されているが、血液脳関門を通過する事が出来ないため、脳内の cholesterol は全て脳内で合成されていると考えられている。哺乳類では lanosterol を脱メチル化し、follicular fluid meiosis-activating sterol (FF-MAS) への代謝を触媒しており、他の代謝経路への関与は知られていない。そのため、イソプロテノイド合成にも関与している代表的な cholesterol 合成阻害剤である HMG-CoA 還元酵素阻害剤に比べ、LDM は副作用の少ない cholesterol 合成阻害剤のターゲット分子になり得ると考えられる。

これまでに、成体マウスの各臓器を用いた Western blot 解析では、LDM は坐骨神経で中度に、大脳・小脳で軽度の発現が確認されており、免疫組織化学的検索では、中枢で oligodendrocyte に、末梢で Schwann cell に発現している事が

認められている。さらに、cuprizone 投与により脱髄を誘起させた実験的脱髄-髄鞘再生モデルマウスを用いた解析では、髄鞘の再生に伴って LDM の発現増加が確認されている。以上のことから、LDM は神経系において髄鞘の形成や再生に関わる重要な酵素であり、多発性硬化症をはじめとする脱髄疾患の創薬ターゲットになり得ると考えられるが、その詳細は明らかになっていない。そこで我々は、髄鞘再生過程における LDM の機能的役割を個体レベルで詳細に解析するため、oligodendrocyte 特異的に LDM を過剰発現すトランスジェニックマウスの作製を試みた。そのために、これまでトランスジェニックマウスの作製実績もあり、髄鞘の生後発達過程ならびに脱髄後の髄鞘再生過程において LDM と同様の発現パターンを示す proteolipid protein (PLP) の promoter を用いた。遺伝子発現カセットの構築に必要な multi cloning site を導入した vector に、マウス由来の PLP promoter (mPLPp)、LDM 遺伝子、SV40 由来の polyadenylation signal のクローニングを行った。次に、培養細胞 (HEK293T, Oli-neu) を用いて、構築した vector による mPLPp 依存的な LDM の発現を確認した。Oli-neu 細胞は、マウス oligodendrocyte 由来の株化細胞であり、PLP を発現している事が知られている。遺伝子導入後に免疫染色を行った結果、Oli-neu 細胞においてのみ LDM タンパク質の強い発現を確認出来た事から、構築した LDM 発現カセットを導入したトランスジェニックマウスでは、内在性の LDM に加えて mPLPp 依存的な、oligodendrocyte での LDM の発現が期待された。トランスジェニックマウスの作出は外部業者に委託し、樹立された系統を本学の動物実験施設に導入して検索を進めた。トランスジェニックマウスおよび対照となる C57BL/6 マウスの各臓器から抽出した蛋白を用いた Western blot 解析では、cholesterol の主な合成場である肝臓では LDM の発現レベルに目立った差は認められなかったが、脳と脊髄では対照に比べてトランスジェニックマウスで明らかな発現増大が確認された。免疫組織化学的検索でもトランスジェニックマウスの脳および脊髄の白質において対照よりも強い LDM 免疫活性が認められた。従って、得られたトランスジェニックマウスでは、oligodendrocyte 特異的に LDM 発現増大が起こっているものと判断された。現在、このマウスを用いて生後発達期における LDM の発

現および髄鞘形成過程、MOG ペプチドあるいは cuprizone 投与によって誘発した実験的脱髄後の髄鞘再生過程を対照動物と比較し、LDM 高発現が髄鞘形成、髄鞘再生に与える影響を検討している。

2. 脱髄、神経変性過程での神経およびグリア細胞における Stearoyl-CoA desaturase アイソフォームの発現変 (中島健太郎、稲田健二、藤井理恵、宋時栄)

Stearoyl-CoA desaturase (SCD)は、飽和脂肪酸を一価不飽和脂肪酸に代謝する酵素である。SCD により生成されるオレイン酸は、髄鞘の構成成分として知られており、発生過程で神経細胞での MAP2 の発現、細胞体から樹状突起への移行を誘導することや、神経障害からの回復過程において神経栄養因子のような働きをすることが報告されている。さらに最近では、アルツハイマー病患者において SCD の発現が増加していることが報告されている。これらの報告は、脳の発達や病理現象における一価不飽和脂肪酸の代謝の多様な役割を示唆している。しかしながら、これらの過程における SCD 発現細胞やそのサブタイプは明らかにされていない。ヒトでは SCD1 と SCD5、マウスでは SCD1-4 のアイソフォームが同定されている。RT-PCR によって、マウスの脳では主に SCD1 と SCD2 が発現していることを、また SCD1 および SCD2 mRNA に対する特異的な RNA プローブを用いた *in situ* hybridization によって、神経細胞とオリゴデンドログリアでは主に SCD2 が発現していることを確認した。レーザーキャプチャマイクロダイセクション(LCM)と定量的 PCR を組み合わせた細胞レベルでの定量的な発現解析の結果、神経細胞では SCD2 の他に SCD1 も発現していることが分かったが、大脳皮質、海馬の錐体細胞層および放線状層いずれでも、SCD2 mRNA に比べて SCD1 mRNA の発現レベルは極めて低く、*in situ* hybridization で SCD1 mRNA が検出されなかったのは検出感度以下であったためと考えられた。

一方、病理検体の免疫組織学的解析では、cuprizone 投与による実験的脱髄モデルマウスの大脳白質で、また生後 200 日齢の 3 x Tg アルツハイマー病モデルマウスの海馬 CA1 領域の放線状層で SCD 免疫活性の増大が認められた。これらの結果は、脱髄や神経変性などの脳障害に対する神経細胞あるいはグリア細胞の応答に SCD が関与していることを示唆している。これらの発現増大が SCD1、SCD2 いずれによるのかを、LCM と定量的 PCR を組み合わせた発現解析と SCD1、SCD2 特異的抗体を用いた免疫組織化学的検索で検討した。Cuprizone 投与による実験的脱髄後の髄鞘再生過程では、白質での SCD2 mRNA が顕著に増大することが明らかとなった。さらに 3 x Tg アルツハイマー病モデルマウスの海馬の錐体細胞層では、対照となる野生型マウスと比較して SCD1 免疫活性は目立った変化を示さないのに対し、SCD2 免疫活性は明らかに減少した。従って髄鞘再生過程や神経変性過程で主として発現が変化するのは SCD2 であり、その機能的意味が今後の検討課題である。

外部誌上発表 (2010 年~2015 年 3 月)

2014

1. Yokota-Nakatsuma A, Takeuchi H, Ohoka Y, Kato C, Song S-Y, Hoshino T, Ohteki T and Iwata M. Retinoic acid prevents mesenteric lymph node dendritic cells from inducing IL-13-producing inflammatory Th2 cells. *Mucosal Immunol* 7:786-801 (2014).

2013

1. Ishihara Y, Itoh K, Mitsuda Y, Shimada T, Kubota T, Kato C, Song S-Y, Kobayashi Y, Mori-Yasumoto K, Sekita S, Kirino Y, Yamazaki T, Shimamoto N. Involvement of brain oxidation in the cognitive impairment in a triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease: noninvasive measurement of the brain redox state by magnetic resonance imaging. *Free Radic Res* 47: 731-739 (2013).
2. Takeuchi H, Yokota-Nakatsuma A, Ohoka Y, Kagechika H, Kato C, Song S-Y and Iwata M. Retinoid X Receptor Agonists Modulate Foxp3 + Regulatory T Cell and Th17 Cell Differentiation with Differential Dependence on Retinoic Acid Receptor Activation. *J Immunol* 191: 3725 -3733 (2013).

2011

1. Yanagisawa M, Mukai A, Shiomi K, Song S-Y and Hashimoto N. Community effect triggers terminal differentiation of myogenic cells derived from muscle satellite cells by quenching smad signaling. *Exp Cell Res* 317: 221-233 (2011).

2010

1. Akieda-Asai S., Zaima N., Ikegami K., Kahyo T., Yao I., Hatanaka T., Iemura S., Sugiyama R., Yokozeki T., Eishi Y., Koike M., Ikeda K., Chiba T., Yamaza H., Shimokawa I., Song S.-Y., Matsuno A., Mizutani A., Sawabe M., Chao M.V., Tanaka M., Kanaho Y., Natsume T., Sugimura H., Date Y., McBurney M.W., Guarente L. and Setou M. SIRT1 Regulates Thyroid-Stimulating Hormone Release by Enhancing PIP5Kgamma Activity through Deacetylation of Specific Lysine Residues in Mammals. *PLoS One*. 5: e11755 (2010).
2. Takeuchi H., Yokota A., Ohoka Y., Kagechika H., Kato C., Song S.-Y. and Iwata M. Efficient Induction of CCR9 on T Cells Requires Coactivation of Retinoic Acid Receptors and Retinoid X Receptors (RXRs): Exaggerated T Cell Homing to the Intestine by RXR Activation with Organotins. *J Immunol* 185: 5289-99 (2010).
3. Satake S., Song S.-Y., Konishi S. and Imoto K. Glutamate transporter EAAT4 in Purkinje cells controls intersynaptic diffusion of climbing fiber transmitter- mediating inhibition of GABA release from interneurons. *European Journal of Neuroscience*, 32: 1843-53 (2010).

[英文総説]

[著書・訳書]

[邦文総説・解説等]

口頭発表・学会発表 (2014 年~2015 年 3 月)

1. Nakashima K., Fukui H., Fujii R., Song S.-Y. (2014). Expression changes of Stearoyl-CoA desaturase isoforms in neuronal and glial cells during the processes of demyelination and neurodegeneration. The 37th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan. Nov. 25-27, Yokohama, Japan.



特許

1. 発明の名称： 抗癌剤のスクリーニング方法及び組織の癌化の判定方法

公開番号 : 2004-131435

公開日 : 2004年4月30日

発明者 : 石見幸男、宋 時栄、木村 宏、岡安 勲

2. 発明の名称： T細胞の腸組織へのホーミング誘導剤

出願番号 : 特願 2004-153548

提出日 : 2004年5月24日

発明者 : 岩田 誠、宋 時栄



研究分野

脳神経疾患の病態と治療薬に関する研究

Research on Pharmacotherapy and Experimental Neurology

教員

教授 伊藤 康一 着任年月日：2004年04月01日
 最終学歴：1983年03月 昭和薬科大学大学院薬学研究科修了。医学博士、薬剤師
 (財)日本薬剤師研修センター認定薬剤師
 前職：(財)東京都医学研究機構・東京都臨床医学総合研究所・薬理研究部門、研究員

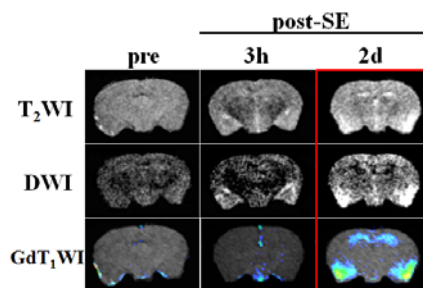
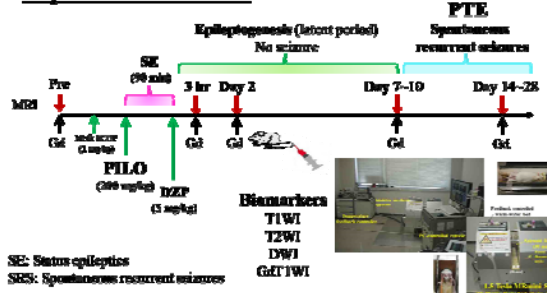
助教 小森理絵 着任年月日：2005年04月01日
 当講座着任：2014年07月01日
 最終学歴：2003年03月 奈良女子大学大学院人間文化研究科博士後期課程修了。博士(理学)
 前職：(財)ヒューマンサイエンス振興財団流動研究員(国立循環器病センター研究所・病因部)

研究の概要

1. 続発性てんかんけいれん発作と脳浮腫、血液脳関門機能不全との関係

てんかんの治療は、バルプロ酸をはじめとする優れた治療薬により一定の効果をもたらしてきた。しかし、最近既存の抗てんかん薬(AED)による薬物治療の限界が広く認識されている。特に、てんかん患者の30%以上が何らかのAED治療抵抗性となり、最高度のQOL達成に困難が生じている。この問題を解決するために、既存AEDの作用機序とは異なる新たなAEDの開発が課題となっている。新規AEDの標的部位を探索することを目的とし、特に全般発作発症を防ぐ標的として血液脳関門(BBB)との関連に着目した。本研究では続発性てんかん発症過程を検討するため、症候性局所関連てんかんモデルであるピロカルピン重積けいれんモデルマウスを用いた。一方、生きている動物でのBBB機能の検討には、従来の手法である低分子色素(エバンスブルーなど)や高分子量(IgGなど)の脳実質内拡散を観察するのでは不可能である。けいれん獲得過程での検討を行うため、同一個体でごとけいれん発作を観察しBBBの時空間的観察は困難であるため小動物用MRI(MRmini、1.5T写真)を用い非侵襲条件下で同一個体の形態学およびBBB不透過ガドリニウム(Gd)造影剤投与下で造影MRI撮像を行いBBB変化の時空間的観察を行い、けいれん発作発症時およびけいれん発作獲得過程でのBBB変化を定性・定量的に解析した。

Experimental schedule



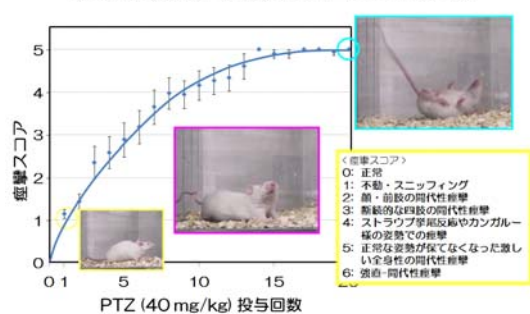
脳浮腫とBBB破綻状態のMRI所見 (SE:重積けいれん、GdT1WI:BBB破綻評価法)

2. 全般てんかん発作発症の分子メカニズム解明

全般てんかん発作は、全般てんかん患者の30%近くを占めるが、その発症機構に関しては不明な点が多い。我々は、痙攣発作発症におけるNOの関与について、ペンチレンテトラゾール (PTZ) 誘発全般てんかんモデルマウスを用い検討している。電子常磁性共鳴 (EPR) 装置を用い、脳内で発生するNOを直接的にかつ定量的に測定したところ、NOの発生量が全般発作の痙攣強度を規定していることを見出した。さらにいくつかの抗てんかん薬には、NO発生量の制御を伴う抗てんかん作用を有していることを見出した。一方、てんかん痙攣発作時におけるBBBの一過性脆弱化、キンドリング獲得時におけるBBBの不可逆的破綻を見出し、痙攣発作発症におけるBBBの関与が示唆された。

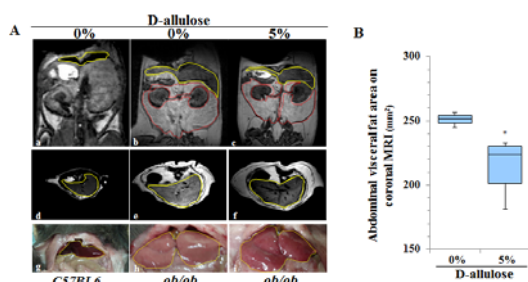
そこで現在、下図に示すような痙攣発作獲得過程におけるNOとBBB破綻との関係を、前述のMRIを用いた薬理的検討をベースに、分子レベルにて詳細に検討した。

マウスにおけるPTZ誘発キンドリング獲得過程



3. 希少糖 D-allulose (D-Psicose)の肥満動物(*ob/ob* マウス)における体重、体脂肪、脂肪肝、空腹時血糖に対する影響の検討

レプチン欠損により肥満となる *ob/ob* マウスを用いて研究を行った。この肥満に対して5% D-allulose (自由摂取)の投与によって肥満(体重減少)が軽減した。その体重減少は体脂肪量と肝臓重量の減少が反映している。さらに脂肪肝に対し5% D-allulose の投与で肝臓組織において中性脂肪の脂肪滴蓄積が軽減したことから、特別な運動およびダイエットをすることなく肥満による体重減少および脂肪肝が軽減されることが明らかとなった。また、脂肪肝の評価に MRI の手法を用い非侵襲的に脂肪肝の状態を観察できる方法を確立した。さらにこの肥満マウスは高血糖を呈している。その空腹時血糖も低下させることを明らかにした。



D-allulose の脂肪肝抑制効果

外部誌上発表 (2010年~2015年3月)

[原著論文]

2015

- Ishihara Y., **Itoh K.**, Ishida A., Yamazaki T. (2015) Selective estrogen-receptor modulators suppress microglial activation and neuronal cell death via an estrogen receptor-dependent pathway. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 145:85-93
- Itoh, K.**, Inamine, M., Oshima, W., Kotani, M., Chib, Y., Ueno, M., Ishihara, Y., (2015) Prevention of status epilepticus-induced brain edema and neuronal cell loss by repeated treatment with high-dose levetiracetam. *Brain Res.*, accepted

2014

- Kobayashi T., **Komori R.**, Ishida K., Kino K., Tanuma S., Miyazawa H., (2014) Tal2 expression is induced by all-trans retinoic acid in P19 cells prior to acquisition of neural fate. *Sci. Rep.*, 4, 4935

2013

- Danjo, S., Ishihara, Y., **Watanabe, M.**, Nakamura, Y. and **Itoh, K.** (2013) Pentylentetrazole-induced loss of blood-brain barrier integrity involves excess nitric oxide generation by neuronal nitric oxide synthase. *Brain Res.* 1530, 44-53.
- Watanabe, M.**, Miyai, A., Danjo, S., Nakamura, Y. and **Itoh, K.** (2013) The threshold of pentylentetrazole-induced convulsive seizures, but not that of nonconvulsive seizures, is controlled by the nitric oxide levels in murine brains. *Exp. Neurol.* 247, 645-652.
- Fujii H. G., Sato-Akaba H., Emoto M. C., **Itoh K.**, Ishihara Y., Hirata H., (2013) Noninvasive mapping of the redox status in septic mouse by in vivo electron paramagnetic resonance imaging. *Magn. Reson. Imag.*, 31:130-138
- Ishihara Y., **Itoh K.**, Mitsuda Y, Shimada T, Kubota T, Kato C, Song Si-Y, Kobayashi Y, Mori-Yasumoto K, Sekita S, Kirino Y, Yamazaki T, Shimamoto N. (2013) Involvement of brain oxidation in the cognitive impairment in 3xTg-AD mice: Non-invasive measurement of the brain redox state by magnetic resonance imaging. *Free Radical Res.* 47: 731-739

2012

- Hama, S., Ishihara, Y., **Watanabe, M.**, Danjo, S., Nakamura, Y. and **Itoh, K.** (2012) Effects of Sulfaphenazole after Collagenase-induced Experimental Intracerebral Hemorrhage in Rats. *Biol. Pharm. Bull.* 35, 1849-1853.
- Kotani, M., **Itoh, K.**, Ito, T., Yamashita, T. and Imada, M. (2012) Generation and characterization of a monoclonal antibody, Namu mAb, which reacts to the subependymal zone and the neurospheres in mouse brain, *Neuroreport.* 23, 830-834.
- Myllykoski, M., **Itoh, K.**, Kangas, SM., Heape, AM., Kang, SU., Lubec, G, Kursula, I. and Kursula, P. (2012) The N-terminal domain of the myelin enzyme 2',3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase: Direct molecular interaction with the calcium sensor calmodulin. *J. Neurochem.* 123, 515-524.

2011

- Ichikawa, Y., and **Itoh, K.** (2011) Blood-arachnoid barrier disruption in experimental rat meningitis detected using gadolinium-enhancement ratio imaging. *Brain Res.* 1390, 142-149.
- Watanabe, M.**, and **Itoh, K.** (2011) Characterization of a novel posttranslational modification in neuronal nitric oxide synthase by small ubiquitin-related modifier-1. *Biochem. Biophys. Acta* 1814, 900-907.
- Itoh, K.**, Fujisaki K., and **Watanabe, M.** (2011) Human LICAM carrying the missense mutations of the fibronectin-like type III domains is localized in the endoplasmic reticulum and degraded by poly-ubiquitylation. *J. Neurosci. Res.* 89, 1637-1645.
- Ishihara, Y., Katayama, K., Sakabe, M., Kitamura, M., Aizawa, M., Takara, M., and **Itoh, K.** (2011) Antioxidant properties of rare sugar D-allose: Effects on mitochondrial reactive oxygen species production in Neuro2A cells. *J. Biosci. Bioeng.* 112, 638-642.

2010

- Suzuki, A., Arikawa, C., Kuwahara, Y., **Itoh, K.**, **Watanabe, M.**, Watanabe, H., Suzuki, T., Funakoshi, Y., Hasegawa, H., and Kanaho, Y. (2010) The scaffold protein JIP3 functions as a downstream effector of the small GTPase ARF6 to regulate neurite morphogenesis of cortical neurons. *FEBS Lett* 584, 2801-2806.



[邦文総説・解説等]

1. 伊藤康一 (2012) 「MRI 用ガドリニウム造影剤を用いた脳関門の時空間的解析」 -特集・薬理学領域における磁気共鳴画像法の可能性 (伊藤康一、藤井博匡・編)- *日薬理誌* 140, 151-155.
2. 檀上園子, 石原康宏, 中村祐, 伊藤康一 (2011) 「脳関門破壊と脳神経疾患との関連 -アルツハイマー病モデルマウスと小動物用 MRI-」 *アニテックス*, 23, 5-11.
3. 市川弘之, 伊藤康一 (2011) 「MRI を用いた脳関門障害の定量解析法 -髄膜炎発症と脳関門障害-」 *アニテックス*, 23, 12-18.
4. 伊藤康一 (2009) 「NMDA 受容体の刺激による脳へのマンガン取り込みの増強」 *生体の科学* 特集「伝達物質と受容体」, 60, 364-365.

口頭発表・学会発表 (2014年~2015年3月)

1. 川真・実来, 水野翔童, 大島航, 大江優美, 小森理絵, 石原康宏, 伊藤康一, 肥満モデルマウスの血糖値に対する希少糖(D-Psicose)の効果. 第53回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会 中国四国支部学術大会, 11月8-9日, 広島.
2. 大江優美, 稲嶺盛佳, 川真田実来, 小森理絵, 石原康宏, 伊藤康一, てんかん原性の五苓散による予防的治療効果の可能性, 第53回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会 中国四国支部学術大会, 11月8-9日, 広島.
3. 石原康宏, 伊藤康一, 石田敦彦, 山崎岳, Toll 様受容体下流で発現する Mn-SOD によるミクログリア活性制御, 第53回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会 中国四国支部学術大会, 11月8-9日, 広島.
4. Itoh, K., Ishihara, Y., Chiba, Y., Ueno, M., HIGH DOSE LEVETIRACETAM COULD BE USED PROPHYLACTICALLY TO REDUCE THE SEVERITY OF BRAIN DAMAGES ASSOCIATED WITH STATUS EPILEPTICS IN PILO MODEL, 68th Annual meeting American Epilepsy Society, Seattle, USA 12/5~9/2014
5. 川真田実来, 水野翔童, 大島航, 大江優美, 小森理絵, 石原康宏, 伊藤康一, 希少糖(D-allulose)の肥満に対する効果. 日本薬学会 135 年会 3月25-28日, 神戸.
6. 大江優美, 稲嶺盛佳, 川真田実来, 小森理絵, 石原康宏, 伊藤康一, てんかん原性初期に発現する脳浮腫に対する五苓散の効果, 日本薬学会 135 年会 3月25-28日, 神戸.

特許

伊藤康一,

1. 特願 (2003) 「細胞刺激装置及び細胞刺激方法」 第 116895 号
2. PCT 国際出願 (2004) 「細胞刺激装置及び細胞刺激方法」 PCT/JP2004?005818

その他、新聞報道等

該当事項なし



研究分野

脳情報処理の神経回路システム研究

Laboratory for Neural Circuit Systems

教員

准教授 富永貴志 着任年月日：2005年 10月 1日
 最終学歴：1994年 3月筑波大学大学院博士課程修了。
 理学博士
 前職：理化学研究所脳科学総合研究センター研究員
 (Staff Scientist)
 委嘱 講師(国立大学法人徳島大学歯学部) 2014年4月7
 日～

実験補助員 富永洋子

研究の概要

研究の概要

研究室の目下の研究分野は以下の2つにまたがっている。

[研究分野]

I. 記憶・学習に関わる脳神経回路機構の光計測による研究
 脳を構成する神経細胞の神経回路がどのように、「記憶」「学習」といった高次機能を実現しているかを研究している。その手法として、一個一個の神経細胞の膜電位を測る電気生理学という手法と、膜電位感受性色素という特別な分子プローブを使って、神経回路の活動を目に見える光の情報として捉える光計測法を使っている。また、この手法の開発にも携わり、この計測を行うための特殊な顕微鏡の開発を行った。

II. 細胞の膜興奮と行動制御の関連の生理学的解析

細胞の膜電位の情報統合の役割に着目して、もっとも単純なモデル生物として単細胞動物のゾウリムシを使い、その興奮性膜の性質と行動制御の関係を研究している。最近、繊毛構成タンパク質を RNA 干渉技術を使ってノックダウンすることで起こる行動異常を電気生理学的手法で調べている。

上記の研究分野で以下の研究テーマについて研究を進めている。

[研究テーマ]

研究分野 I に関して

海馬-嗅内皮質内-扁桃体の神経回路機構の光計測による研究
 光計測法を使って大範囲での神経活動を可視化することで側頭葉陳述記憶、情動回路(辺縁系回路)の動作を一挙に計測することを可能にし、この回路の働きを明らかにしている。特に、嗅内野-海馬間の反響回路の発見(Science, 1996)、PCでの情報統合(Neurosci. Res., 2008)、嗅内野第3層からの海馬神経回路の機能的役割の発見(Science, 2011)などを行った。また、この回路への嗅皮質からの情報統合(Eur. J. Neurosci., 2007)も明らかにした。

2012年度には、産業技術総合研究所の梶原利一博士との共同

研究(科研費 基盤(C))において、嗅内野での神経活動統合にD-カレントが重要な役割をはたすことを示した(日本神経科学会、北米神経科学会)

海馬神経回路シナプスの種々の因子による神経回路応答調節機構に関する研究

光計測の定量性の改善を通して海馬の主にCA1野でアルツハイマー病のような病態に関わる遺伝子、物質など神経回路動作の変化への作用を調べることができるようになった(J Neurosci., 1996; Neurosci Letter, 1997; J Neurosci, 2002; PNAS 2004, Neuropharmacol., 2005)。

海馬の抑制性シナプス応答による神経回路興奮調節機構の研究

他の生体イメージング法と比べた時の、膜電位感受性色素による光計測の最大の特徴は、抑制性の神経応答(過分極応答)を計測できることである。この観点から海馬での抑制性応答に特に着目し、高頻度刺激に対する応答(J Neurophysiol, 2002; Pflugers Arch, 2010)や、計測の困難であったフィードフォワード抑制の可視化(Neurosci Res, 2009)などを行なっている。

光計測法を効率的に行う顕微鏡、スライス標本取り扱い装置などの開発研究

光計測を効率良く行うためには、その光学的要求にあった顕微鏡の開発が不可欠であった。そこで顕微鏡やスライス標本取り扱い装置の開発(特許 1999a, 1999b, 米国特許 2002)などを通して大きな改善を得た(J. Neurosci Methods, 2000)。このような改善は世界中の多くの研究室に伝えられ、光計測法の普及に役立った。また、実習装置の開発なども行なっており教育への寄与も期待できる。

2012年の11月からJSTのA-STEP探索タイプに採択され、新規のスライス標本保持装置の開発を進めた。

新規の光計測用共焦点顕微鏡系とパターン刺激-光計測顕微鏡の開発研究

光計測法では高速の撮像と低雑音性能が不可欠である。市販の共焦点顕微鏡ではこの要求に会うものがなかったので開発した(JST シーズ発掘、A-STEP)。この顕微鏡に関する論文は本年度 Journal of Neurophysiology に掲載された。この論文はさらに、Global Medical Discovery に Key Scientific article に選ばれて紹介された。

また、神経回路への光刺激をパターン化して行うことを可能にした顕微鏡を開発した。

化学物質の発生発達期投与による遅発性脳機能調節機構の研究

厚労科研費を受け取り組んでいる課題で、発達期に摂取した化学物質が成長後に記憶情動回路の異常をおこす神経回路機構の解明を担当している。

2012年はうつ病の第一選択薬であるバルプロ酸の妊娠期投与によって、生まれてくる子供に特徴的な興奮・抑制バランスの破綻が起こることを示した(日本毒性学会 2012)。この研究は東北大学の種村健太郎先生、奈良先端大の中島欽一先生、日本医薬品食品衛生研究所の五十嵐勝秀先生らとの共同研究である。

この研究に関しては2013年度の日本神経科学学会(京都)で企画シンポジウムを東北大学の種村先生と共にオーガナイズすることができ、議論する事ができた。

ES細胞の機能検定への光計測法の適用に関する研究

平成24年度に新規に開始した研究で、多能性幹細胞から分化した細胞の機能同定の一つとして膜電位感受性色素による光計測を使用することを意図している。信州大学佐々木克典先生との共同研究(科学研究費基盤(A))。

新規の膜電位感受性蛋白質(VSFP)の導入による細胞特異的膜電位応答の可視化

2012年より理化学研究所のトーマスクヌッフエル博士との共同研究において、新規のVSFPを導入することによって海馬錐体細胞特異的な光信号の検出に成功した。この手法をさらに発展させることでin vivo標本から細胞特異的な信号の検出が可能になると考えている。

徳島大学歯学部吉村教授との共同研究がスタートし、定期的に行き来して共同実験を進めている。

米国ウッズホール海洋研究所(Woods Hole Marine Biological Laboratory; MBL)の谷博士との共同研究を行っており、2013年度、2014年度ともMBLに滞在して研究を行った。

研究分野IIに関して

ゾウリムシの収縮胞と浸透圧調節機構の生理学的研究

ゾウリムシの細胞内小器官である収縮胞の電気生理学をはじめて成功させその浸透圧調節機構を明らかにした(J Exp Biol, 1997a,b, 1998a,b; J Cell Sci, 1999; J Exp Biol 2005)

ゾウリムシの繊毛タンパク質と膜応答機構の生理学的研究

ゾウリムシの全ゲノム情報とRNA干渉によるノックダウン実験を組み合わせて、繊毛病や繊毛に関連する運動タンパクをノックダウンし、その行動様式と膜応答の関連を調べている(Eukary Cell, 2012)。山口大学堀学先生との共同研究。

外部資金導入実績:

競争的研究資金については、以下の科研費が継続課題として、またその他の競争的外部資金が採択された。

研究代表者として取得

平成24年 独立行政法人科学技術振興機構 第2回「研究成果最適展開支援プログラム(A-STEP)探索タイプ」「脳回路機能解析のためのセンサー統合スライス標本維持実験システム」平成25年10月まで。

平成22年度 JSTの研究成果最適展開支援事業(A-STEP)探索タイプ「マクロレンズ一体型超高速共焦点カメラユニ

ット」代表 富永貴志 マクロレンズ一体型の新規の共焦点超高速カメラユニットを開発した。

平成20年度「特色ある教育研究部門(教育学習方法等の改善)」プログラム:「新規光計測装置を用いた新しい「一目瞭然の」脳神経実習カリキュラム」研究代表者: 富永貴志(2,900千円) 平成18年度の同プログラムの課題で制作した実習用光計測装置を用いた最適の実習課題作成と、光計測の創薬などでの新規な利用法を模索するシンポジウムと大学院生向け実習コースの開催

平成19年度JSTシーズ発掘プログラム:「新規超高速共焦点光学系の開発」(代表: 富永、1,998千円) オリンパス光学株式会社と協力して新規の超高速共焦点顕微鏡を制作した。この試作の試みは成功して、改良版をすでに制作済である。

平成18年度「特色ある教育研究部門(教育学習方法等の改善)」プログラム:「新規創薬アッセイ・実習用電気生理計測ロボットの開発」研究代表者: 富永貴志(2,100千円) 薬学実習用の光計測・電気生理の自動化した装置を作成し、平成20年からの徳島文理大学香川薬学部での薬理学実習でも使用することに成功した。

分担者として参加

平成24年度 科学研究費補助金 基盤研究A「再生医療に多面的治療手段を提供する多能性幹細胞プロファイリングの開発研究」(代表 佐々木克典: H24-H27) 多能性幹細胞プロファイリングに光計測を取り入れるための基礎研究

平成24年度 科学研究費補助金 基盤研究C「快・不快情動が操る嗅覚表象の単離脳イメージング: 行動解析との統合的アプローチ」(代表 梶原利一: H24-H27) 嗅覚情報処理の脳神経回路機能解析

平成23年度 厚生労働科学研究費補助金(化学物質リスク研究事業)(H23-H25)神経系発生・発達の化学物質暴露による遅発中枢影響解析に基づく統合的な情動認知行動毒性評価系確立に資する研究(代表:種村健太郎:H23-H25)ビスフェノール様物質の発達初期の投与に対する神経回路毒性の調査法の開発

H21年度 科学研究費補助金 基盤研究C「繊毛病に関する繊毛打制御の分子機構の解析」(代表:堀学) 分担金 50千円

平成20年度 厚生労働科学研究費補助金(化学物質リスク研究事業)(H20-H22) 化学物質の情動・認知行動に対する影響の毒性学的評価法に関する研究-特に遅発性影響の評価系のメカニズム解明による確立(代表 北嶋聡: H19-21) H19年度分担金 4,500千円 農薬等化学物質の発達初期の投与が脳機能にどのような遅発的影響を与えるかを確度よく検定する検定法の開発を意図したもの

外部誌上発表 (2010年~2015年3月)

[原著論文]

*Corresponding author



2014-

2013

1. Takashi Tominaga^{CA}, Riichi Kajiwara, and Yoko Tominaga (2013) VSD imaging method of ex vivo brain preparation *Journal of Neuroscience and Neuroengineering* 2, 211-219 (2013) [Featured Article に採用]
2. Tominaga T^{CA} and Tominaga Y. (2013) A new non-scanning confocal microscopy module for functional voltage-sensitive dye and Ca2+ imaging of neuronal circuit activity *Journal of Neurophysiology J Neurophysiol* 110, 553-561; published ahead of print April 24, [Also featured as Key Scientific Articles on Global Medical Discovery]

2012

1. Kutomi, O., Hori, M., Ishida, M., Tominaga, T., Kamachi, H., Koll, F., Cohen, J., Yamada N and Noguchi M. (2012). Outer Dynein Arm Light Chain 1 Is Essential for Controlling the Ciliary Response to Cyclic AMP in Paramecium tetraurelia. *Eukaryotic cell*, 11(5), 645-653. doi:10.1128/EC.05279-11.

2011

1. Suh, J., Rivest, A.J., Nakashiba, T., Tominaga, T., and Tonegawa, S. (2011). Entorhinal cortex layer III input to the hippocampus is crucial for temporal association memory. *Science* 334, 1415-1420.

2010

1. Tominaga T*, and Tominaga Y. (2010) GABA(A) receptor-mediated modulation of neuronal activity propagation upon tetanic stimulation in rat hippocampal slices. *Pflugers Arch* 460: 875-889.

[英文総説]

1. Allen, R.D., Tominaga, T. and Naitoh, Y. (2008) The Contractile Vacuole Complex and Cell Volume Control in Protozoa In: Osmotic and Ionic Regulation: Cells and Animals. pp. 69-105 CRC Press, David H. Evans ed.

[著書・訳書]

1. 富永貴志 「"収縮胞--リズムカルに動く細胞のポンプ"」, 動物の「動き」の秘密にせまる: 運動系の比較生物学 (吉村健二郎編) 動物の多様な生き方 pp 38-60 共立出版社 (2009)

[邦文総説・解説等]

1. 富永貴志 富永洋子(2011) 「実践!膜電位感受性色素による神経回路解」生物物理 Tominaga T and Tominaga Y. Practice for the optical recording method of neuronal circuit analysis. *Seibutsu Butsuri* 51(2), 092-095.
2. 石田正樹、富永貴志(2006). 「ゾウリムシの収縮胞複合体」日本原生動物学会誌, **39**: 157-172

口頭発表・学会発表 (2014年~2015年3月)

[学会発表]

1. Y. TOMINAGA, K. IGARASHI, M. I. OTSUKA, Y. FURUKAWA, J. KANNO, K. TANEMURA, T. TOMINAGA Effect of maternal bisphenol A exposure on network excitability in mouse hippocampal slices assessed by voltage-sensitive dye imaging. 507.14/H12

Neuroscience Meeting Planner. Washington DC, Society for Neuroscience, 2014

2. 富永 貴志1,富永 洋子1,五十嵐 勝秀2,3,大塚 まき2,3,古川 佑介2,菅野 純2,種村 健太郎4 「膜電位感受性色素イメージングによる胎生期ビスフェノール A 暴露による海馬神経回路興奮性変化の検出」 O3-I-4-1 Neuro2014 第37回日本神経科学大会 パシフィコ横浜 (口頭発表)
3. 吉村 弘1,2,須貝 外喜夫2,富永 貴志3,富永 洋子3,長谷川 敬展1,姚 陳娟1,赤松 徹也1,加藤 伸郎2 「ラット大脳新皮質損傷後の振動性信号の皮質内伝播様式」 P3-342 Neuro2014 第37回日本神経科学大会 パシフィコ横浜

特許

1. Tominaga T., Ichikawa M (2002) Experimental apparatus for sliced specimen of biological tissue and specimen holder US 6,448,063 B2 US patent
2. 富永貴志, 山田整 (1999) 生体試料観察装置. 特許 3405252 号、特許公開 2000-235147 特許平 11-037739 号. 日本.
3. 富永貴志, 市川道教 (1999) 生体組織スライス標本用実験装置および標本保持具. 特許 3405301 号、特許平 11-359966 号. 日本.

社会貢献

- 1) 出張講義 CBI (Content-based Illustration) 高松第一高等学校 “biological membrane” 2014年7月9日
- 2) 出張講義 CBI (Content-based Illustration) 高松第一高等学校 “brain” 2014年7月16日
- 3) 論文査読: Journal of Neuroscience Methods, Frontiers of Cellular Neuroscience 等
- 4) Reviewing Editor Frontiers in Cellular Neural Circuit (2014: IF4.2)
- 5) 国立大学法人徳島大学歯学部 委嘱 講師 生理学
- 6) 沖縄科学技術大学院大学(OIST) 招待講演 「Optical assay of neuronal circuit dynamics with voltage-sensitive dye imaging (VSDI)」 2015/02/04

管理・運営に係ること

教務委員会委員、評価FD委員会委員、CBT実施委員会委員、ネットワーク委員会長

その他、新聞報道等

Nature Publishing グループの Frontiers in Cellular Neuroscience (Impact Factor 4.2)の Reviewing Editor として Editorial Board に参加している。2014年9月10日より



研究分野

患者様に役立つ製剤開発と評価に関する研究

Design, Manufacturing and Evaluation of Novel Pharmaceutical Preparations for Patients

教員

教授 徳村忠一 着任年月日：2013年4月1日
最終学歴：香川大学大学院修士課程修了。薬学博士
前職：国際医療福祉大学 薬学部准教授

講師 栗田拓朗 着任年月日：2006年11月01日
最終学歴：2004年03月静岡県立大学大学院博士課程修了。博士（薬学）

研究の概要

研究活動は、研究の理念を作成しこれをもとに研究テーマを選択している。以下に研究テーマの概要と成果について記載する。

(1) フルチカゾンプロピオン酸エステルの大腸炎症性疾患用製剤の開発

大腸炎症性疾患の代表的なものとして、潰瘍性大腸炎とクローン病がある。抗炎症剤としてステロイド剤が経口投与されることが多いが、副作用の問題は回避できていない。気管支喘息においても同様の副作用の問題があったが、第二世代ステロイド剤の吸入により大幅に改善されている。本テーマは、第二世代ステロイド剤であるフルチカゾンプロピオン酸エステルに着目し、大腸炎症性疾患に対する管腔側から作用する製剤を開発することが目的である。

製剤設計では、フルチカゾンプロピオン酸エステルの物理化学的性質を正確に把握する必要がある。本化合物については情報が少なく測定を行ってきた。また、本化合物のアルカリ性分解物の化学構造を生薬・天然物化学講座の協力により明らかとした。本年度は、フルチカゾンプロピオン酸エステルの物理化学的性質と溶解性改善に関する論文発表を行った。さらに注腸剤開発に向けての基礎的データの取得を開始した。

テーマ担当者：徳村、栗田、卒論生
共同研究先等：生薬・天然物化学講座

(2) 口腔内速崩壊錠の崩壊過程における薬物と不溶性添加剤間の吸着現象の有無とその製剤の味や薬物放出への影響

アムロジピンベシル酸塩の製剤設計において、コーンスターチの量によって速崩壊錠の味が変わるとの情報があり、この現象は賦形剤との吸着で説明できると考え研究に着手した。アムロジピンベシル酸塩および速崩壊錠が市販されている化合物について、崩壊過程における薬物と不溶性添加剤間の吸着現象の有無とその製剤の味や薬物放出への影響について検討し、アムロジピンベシル酸塩含有口腔内速崩壊錠からの初期溶出時の吸着の影響を評価する装置を考案し、その評価を試みてきた。本年度は、アムロジピンベシル酸塩と同様に吸着

現象を示す薬物の探査と装置の改良を行った。

テーマ担当者：徳村、栗田、卒論生
共同研究先等：A社よりの委託研究

(3) 簡易懸濁法の製剤からの薬物溶出に与える影響

臨床現場において、経管投与のため経口固形製剤を簡易懸濁して投与することはよく行われている。この時事前に検討されていることは、管を通して投与が可能かどうかであって、簡易懸濁をすることによる製剤の溶出の変化は考慮されていない。そこで本テーマの目的は、先発品と後発品を同様に簡易懸濁として、溶出試験を行い、通常の投与と比較して生物学的利用能が変化する可能性があるかどうかを検討することである。

本年は、アムロジピンベシル酸塩製剤に加えエナラプリルマレイン酸塩製剤について溶出試験を行った。

テーマ担当者：徳村、栗田、卒論生
共同研究先等：A社よりの委託研究

(4) 調剤で使用される機械に対する洗浄バリデーション方法の確立と実施データの提供

調剤に使用される機械、例えば分包機では、1回使用すれば一部の粉体は機械に残ると考えられる。このため各薬局では、分包機の清掃方法を決めて実行しているはずである。製薬企業の製造ラインでは、使用する機器、器具についての洗浄バリデーションを行いその洗浄方法が妥当であることを検証し文書化している。そこで、本テーマの目的は、調剤で使用される機器について、洗浄バリデーションの考え方を導入し、実際にバリデーションの実施例を示すことによって、調剤に使用される機械の洗浄が適切に行われていることを示すことにある。

本年は、モデル製剤としてテオフィリン製剤を選択し、製剤の分包後の分包機の残留薬物量を減少させる目的で使用される、乳糖と炭酸水素ナトリウムの効果について検討した。

テーマ担当者：徳村、栗田、卒論生
共同研究先等：医療薬学講座

(5) エバスチンの水溶液中の安定性とシクロデキストリンによる安定化

エバスチンは賦形剤への吸着を検討する過程で、酸性溶液中で分解することを確認した。エバスチンの酸性溶液中での分解については一応報告されているものの速度論的な解析は行われていなかった。また、溶解性改善のためのシクロデキストリン(CD)による包接化についての報告はあるものの、CDによる安定化の報告はなされていなかった。そこでエバスチンの酸性溶液中の安定性に与えるCDの効果について検討した。また、CD自体の酸性溶液中の安定性についても検討を

行っている。

テーマ担当者：徳村、栗田、卒論生

共同研究先等：なし

(6) 難溶性化合物に対する製剤技術の向上に向けた検討

本講座で、クルクミンに関する研究は委託研究として実施され、これまでに多くのノウハウが蓄積されている。クルクミンは難溶性化合物であるので、難溶性薬物に対する製剤技術の向上に向けた研究材料として、さらなる研究を実施する。

具体的には、build-up 法 (造粒法) あるいは break-down 法 (粉碎法) によるナノ (あるいはサブミクロン) クルクミン粒子の創出と、水中における安定的な懸濁性の実現を目指す。

テーマ担当者：徳村、栗田、卒論生

共同研究先等：なし

amount of antibiotics in stomach based on the data of dissolution studies-. J Basic Clinical Pharmacy 001, 231-237.

[著書・訳書]

1. 徳村忠一(2014) 共著 改訂版「わかりやすい薬剤学計算問題の解き方[物理薬剤学・製剤学]」(寺田勝英・高山幸三 編集) ネオメディカル, pp.59-66
2. 徳村忠一(2012) 共著 改訂5版 「製剤化のサイエンス」(寺田勝英・高山幸三 編集) ネオメディカル, pp.207-221
3. 同上(2013) 改訂6版, pp.223-237

[邦文総説・解説等]

1. 栗田拓朗、牧野悠治 (2010) 「医療ニーズをふまえたマイクロニードルの製剤設計」 Pharm stage, 2010(109), 15-19.

外部誌上発表 (2010年~2015年3月)

[原著論文]

2014

1. Tokumura, T., Isaka, H., Kanou, M., Miyazaki, E., Kaneko, N., Kurita, T. (2015). An inclusion complex of fluticasone propionate with γ -cyclodextrin in aqueous solution and in a solid state. J. Drug Del. Sci. Tech. 26, 24-27.
2. Tokumura, T., Kanou, M., Miyazaki, E., Kaneko, N., Isaka, H. (2014). Degradation rate of fluticasone propionate in an alkaline solution of 0.1N NaOH : methanol = 1 : 1. Int. Res. J. Pharm. App. Sci., 4(5), 1-3.
3. Tokumura, T., Miyazaki, E., Isaka, H., Kaneko, N., Kanou, M., (2014). Solubility of fluticasone propionate in aqueous solutions measured by a method avoiding its adsorption to experimental tools. Int. Res. J. App. Sci., 4(4), 19-24.

2013

1. Kurita, T., Makino, Y. (2013). Novel curcumin oral delivery systems. Anticancer Res 33, 2807-2821.

2012

1. Kubodera, M., Tokumura, T., and Machida, Y., (2012). Determination of metronidazole in a rat stomach by HPLC for obtaining basic data of eradication therapy of *Helicobacter pylori*. J Pharmaceutical Analysis 2, 378-381.
2. Tokumura, T., Nagaoka, M., and Machida, Y., (2012). Effect of doses and dosage forms on the bioavailability of amoxicillin in non-fasted rats. J Drug Del Sci Tech 22, 568-570.

2011

4. Tokumura, T., Nagaoka, M., and Machida, Y., (2011). Effect of doses and dosage forms on the gastro-intestinal absorption of amoxicillin in rats. J Drug Del Sci Tech 21, 237-239.

2010

1. Hidaka, S., Tokumura, T., Tomono, K., Suzuki, T., Ueda, H., Nagai, T., Nagaoka, M., Nakane, R., and Machida, Y., (2010). Effect of β -cyclodextrin on the degradation rate of amoxicillin in acidic solution. Yakugaku Zasshi 130, 889-893.
2. Kamiya, S., Kurita, T., Miyagishima, A., Itai, S. and Arakawa, M. (2010). Physical properties of griseofulvin-lipid nanoparticles in suspension and their novel interaction mechanism with saccharide during freeze-drying. Eur. J. Pharm. Biopharm. 74(3), 461-466.
3. Kubodera, M., Tokumura, T. and Machida, Y. (2010). Are the optimum pharmaceutical preparations used for the second-line eradication therapy for *Helicobacter pylori* infection in Japan? -A discussion from a simulation for the

口頭発表・学会発表 (2014年~2015年3月)

1. 松元和樹、栗田拓朗、徳村忠一 (2015). ドネペジル塩酸塩のコンスターチ及び結晶セルロースへの吸着. 日本薬学会第 135 年会, 3 月 神戸.
2. 綾野将司、栗田拓朗、徳村忠一ほか (2015). 簡易懸濁法が錠剤の溶出性に与える影響について. 日本薬学会第 135 年会, 3 月 神戸.
3. 宮城佳紀、栗田拓朗、徳村忠一ほか (2015). 自動分割分包機の洗浄バリデーションに関する検討: テオドール DS20% 分包時のテオフィリン残留量の測定と 2 種類の乳糖の洗浄効果. 日本薬学会第 135 年会, 3 月 神戸.
4. 松山盛士、栗田拓朗、徳村忠一 (2015). 蒸発光散乱検出器を装着した HPLC による水溶液中のシクロデキストリン類の安定性評価: pH と温度の影響. 日本薬学会第 135 年会, 3 月 神戸.
5. 跡部一孝、栗田拓朗ほか (2015). ドキソルビシン・クルクミン封入リポソームによる抗腫瘍効果の検討. 日本薬学会第 135 年会, 3 月 神戸.
6. 徳村忠一、栗田拓朗、ほか (2014). フルチカゾンプロピオン酸エステルアルカリ溶液中の分解速度と分解物. 日本薬学会第 29 年会, 5 月 大宮.
7. 原田志保、栗田拓朗、徳村忠一ほか (2014). フルチカゾンプロピオン酸エステルアルカリ溶液中分解物の化学構造. 日本薬学会第 134 年会, 3 月 熊本.
8. 松浦優里、栗田拓朗、徳村忠一 (2014). 貧溶媒添加法による新規なクルクミン nano-suspension の調製とその粒子径特性. 日本薬学会第 134 年会, 3 月 熊本.
9. 三好康平、栗田拓朗、徳村忠一 (2014). 口腔内崩壊錠として上市されている薬物のコンスターチと結晶セルロースへの吸着. 日本薬学会第 134 年会, 3 月 熊本.
10. 渡邊尚希、栗田拓朗、徳村忠一 (2014). アムロジピンベシル酸塩口腔内崩壊錠の崩壊過程における賦形剤との吸着と溶出への影響. 日本薬学会第 134 年会, 3 月 熊本.
11. 西尾香子、栗田拓朗、中妻章、横田ひとみ、二宮昌樹、徳村忠一 (2014). 自動分包機の洗浄バリデーションに



関する検討: テオドール DS20%分包時のテオフィリン
残留量の測定. 日本薬学会第134年会, 3月 熊本.

12. 佐藤拓洋、栗田拓朗、徳村忠一ほか (2014). 簡易懸濁法
が口腔内崩壊錠及び速崩壊錠の溶出性に与える影響に
ついて. 日本薬学会第134年会, 3月 熊本.
13. 牧野悠治、栗田拓朗 (2014). クルクミンの経口吸収促進
方法. 日本薬学会第134年会, 3月 熊本.

特許

1. 牧野悠治、栗田拓朗、他「楯状の治具による剣山型マイクロ
ニードルの塗布方法」(特願 2010-241375)
2. 牧野悠治、栗田拓朗、他「溝付ベルトによる剣山型マイクロ
ニードルの塗布法」(特願 2010-242376)
3. 牧野悠治、栗田拓朗、他「剣山型マイクロニードルの薬物
担持法」(特願 2010-308962)
4. 牧野悠治、栗田拓朗、他「薬剤担持用治具とそれに用いた
マイクロニードルへの薬剤塗布方法」(PCTJP2010/00)

<h4>その他、新聞報道等</h4>

該当事項なし



研究分野

創薬と薬物の体内動態と薬効・毒性発現メカニズムの解明

Integrated study on pharmacokinetics and pharmacodynamics

教員

教授 加藤 善久 着任年月日：2006年9月1日
 最終学歴：1983年3月静岡薬科大学大学院薬学研究科修士課程修了。博士（薬学）、薬剤師
 （財）日本薬剤師研修センター認定薬剤師
 静岡県立大学薬学部客員教授
 元職：静岡県立大学薬学部医療薬学大講座薬物動態学分野、同大学院薬学研究科機構薬剤学講座・講師

講師 榊原 紀和 着任年月日：2006年4月1日
 最終学歴：2005年3月京都大学大学院農学研究科博士後期課程修了。博士（農学）、薬剤師
 元職：京都大学生存圏研究所・教務補佐員

助教 跡部 一孝 着任年月日：2007年4月1日
 最終学歴：2007年3月徳島大学大学院薬科学教育部博士後期課程修了。博士（薬学）、薬剤師

研究の概要

主な研究テーマ

1. 薬物の体内動態と薬効・毒性発現メカニズムの解明に関する研究
2. 薬物の甲状腺ホルモン攪乱作用機構の解明に向けた統合的研究：ヒトへの応用
3. LC/MS/MSによるヒト組織中の臭素化難燃剤及び関連物質の高感度定量法に関する研究
4. 低分子型血管新生促進剤、COA-Clの医薬品を指向した基盤研究
5. 抗癌剤封入りポソームによる癌の治療に関する研究

A. はじめに

薬物動態学講座は、創薬と医薬品の適正使用を目指して、薬の吸収、分布、代謝、排泄（体内動態）と薬効および副作用の発現に至る現象を科学的根拠に基づいて明らかにする研究に取り組んでいる。医薬品の合成、医薬品や化学物質の体内動態の解析、動態-薬効・副作用の解析手法を構築し、体内動態への影響要因を解明し、個別化医療の推進、副作用の発現防止に貢献したいと考えている。さらに、それらの研究を通して医療と健康における薬物の体内動態の重要性を理解し、薬物療法や副作用の予防に貢献できる薬剤師を養成することを責務と考えている。

B. 薬物の甲状腺ホルモン攪乱作用機構の解明に向けた統合

的研究：ヒトへの応用（加藤善久）

B-1. 研究の背景と達成目標

Polychlorinated biphenyl (PCB)による血中サイロキシシン(T₄)濃度の低下は、T₄の肝臓への移行量の増加に起因しているという仮説を証明するため、本研究を行った。

B-2. 研究成果の概要

3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl (CB77)によるC57BL/6系マウス及びDBA/2系マウスの血清中T₄濃度の低下は、主として肝臓へのT₄の蓄積によって起こり、胆汁中へのT₄のグルクロン酸抱合体の排泄や肝肥大も一部関与していることが示された。

B-3. 外部資金導入実績

1. 加藤善久（代表個人）：PCBの甲状腺ホルモン濃度低下作用発現に関する新規メカニズムの実体解明。平成26～28年度 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金（基盤研究(C)））

C. ESI-LC/MS/MSによる母乳中臭素系難燃剤の同時定量法の確立とそれらの濃度（加藤善久）

C-1. 研究の背景と達成目標

近年、イギリス、スウェーデン、スペイン、ノルウェーなどでは、ヒト母乳中から臭素化難燃剤であるhexabromocyclododecane (HBCD)が検出されている。しかし、日本人の母乳中HBCD濃度は十分に調べられていない。そこで、日本人の母乳中HBCD濃度を調査するために、ESI-LC/MS/MSを用いてヒト母乳中HBCD濃度の高感度定量法の確立を試みた。さらに、ESI-LC/MS/MS法を用いて、日本、韓国、中国におけるヒト母乳中HBCD濃度を定量し比較した。

C-2. 研究成果の概要

ESI-LC/MS/MSによる母乳中 α -、 β -、 γ -HBCD、tetrabromobisphenol A (TBBPA)及びtribromophenol (TBP)の高感度で選択的な同時定量法を確立した。その定量法を用いて母乳中の5種の難燃剤を測定したところ、日本人における β -、 γ -HBCD及びTBPの母乳中濃度は、韓国、中国人の濃度と類似していた。一方、 α -HBCDの母乳中濃度は日本人で高値を示し、TBBPAの母乳中濃度は韓国人で高値を示した。さらに、出産回数別による母乳中及び食事中の5種類の臭素化難燃剤の濃度についても検討した。

D. 低分子型血管新生促進剤、COA-Clの医薬品を指向した基盤研究（榊原紀和、加藤善久）

D-1. 研究の達成目標、その意義・背景

現在用いられている血管新生促進剤は、生体由来の血管内皮細胞増殖因子(VEGF)や繊維芽細胞成長因子(FGF)といった

創薬と薬物の体内動態と薬効・毒性発現メカニズムの解明

高分子糖タンパク質である。これらは糖尿病患者における慢性閉塞性動脈硬化症やバージャー病といった、血流不足のために生じる様々な症状を治療するために必須であるが、化学的あるいは生物学的に不安定であり、これら VEGF や FGF といった生体由来の増殖因子以外に促進剤がほとんど知られていないために、現在も臨床応用は極めて少ないままであった。

ところが近年、本学部薬事科学講座の丸山徳見教授らは新規に合成した核酸類縁体 COA-CI (2 クロロ炭素環オキセタノシン A) に強力な血管新生促進作用があることを明らかにした。COA-CI は、化学的に非常に安定で、そのプリン骨格の 2 位にクロル基、9 位に炭素から成る 4 員環が結合したユニークな構造をしており、低分子化合物 (分子量 284) としては唯一、血管新生促進作用を示す物質である。しかしながら基礎研究の段階において未解明な問題が残されており、また臨床応用への展開に関しても検討することが多い。

本研究は COA-CI のまだ解明されていない基礎研究を完成させ、COA-CI およびその類縁体を利用した血管新生関連治療薬への臨床応用に展開するための基盤研究を行う。

本年度の具体的な研究達成目標は、以下の 2 点である。

- 1) COA-CI の構造異性体を化学合成し、その血管新生促進作用に対する構造活性相関を評価する。
- 2) COA-CI へ各種官能基を導入することにより、血管新生促進作用をさらに向上させる。

D-2. 目標達成状況

上記の目標 1) および 2) に関して、1) に関しては達成された。今後、2) に関しても検討してゆきたい。

D-3. 研究成果の概要と自己評価

我々は COA-CI の構造異性体を化学合成し、その血管新生促進作用に対する構造活性相関を評価した。その結果、COA-CI に匹敵する血管新生促進作用を有する COA-CI 構造異性体を見出した (未発表データ)。今後、さらに高活性で且つ低毒性な COA-CI 異性体を創製してゆきたい。

D-4. 今後の課題

COA-CI の血管新生促進活性の詳細な作用機序は、未だ詳細には解明されていない。そこで COA-CI へ各種官能基を導入し、その活性を評価することにより、作用機序の解明の糸口を見い出してゆきたい。

D-5. 外部資金導入実績

1. 榑原紀和 (代表個人) : 低分子型血管新生促進剤・2 クロロ炭素環オキセタノシン A の医薬品を指向した基盤研究
平成 24~27 年度 科学研究費助成事業 (学術研究助成基金助成金 (若手研究(B)))

D-6. 内部・外部との共同研究

学内) 医薬化学講座 丸山徳見教授、物理化学講座 岸本泰司准教授

学外) 香川大学医学部薬物生体情報学講座 塚本郁子准教授、香川大学医学部自律機能生理学講座 五十嵐淳介准教授

E. ドキソルビシン-クルクミン封入リポソームによるガン治療に関する研究 (跡部一孝、加藤善久)

E-1. 研究の達成目標、その意義・背景

ガンを治療するためには、ガン細胞の増殖を抑制するだけでなく、新生血管形成や治療によって起こりえるガン細胞の耐性獲得を阻害することが必要である。現在市販されている抗ガン剤封入リポソーム製剤は、ガン細胞の増殖を抑制する効果は高いが新生血管形成を抑制することは難しく、ガンを完治させるまでには至っていない。

クルクミンは古くから抗炎症作用や抗酸化作用を持つことから民間療法薬として使用されていたが、近年の研究によってガン新生血管形成を抑制する効果を持つことが報告されてきている。しかし、クルクミンは難水溶性の薬物であるため水にほとんど溶けず、また生体内に経口投与した際もほとんどが吸収されないため、そのままでは抗腫瘍効果など期待することができない。

そこで従来のリポソーム製剤にクルクミンを追加で封入することでガン細胞だけでなく、新生血管形成をも抑制できるリポソームが調製できると考え、ドキソルビシンとクルクミンを封入したリポソームを用いて検討を行っている。

E-2. 目標達成状況

本研究の達成目標は、以下の 2 点である。

- 1) ドキソルビシンとクルクミンを封入したリポソームを用いて、ガン細胞と新生血管内皮細胞への効果を *in vitro* 実験系を用いて評価する。
- 2) ドキソルビシンとクルクミンを封入したリポソームを用いて、*in vivo* での抗腫瘍効果と新生血管阻害効果について評価する。

上記目標のうち、1) に関しては、ガン細胞と新生血管内皮細胞を用いて、細胞増殖の抑制や細胞の浸潤・転移の阻害効果を持つことを明らかとした。

E-3. 研究成果の概要と自己評価

我々はドキソルビシン-クルクミンを封入したリポソームを調製し、マウス肺ガン細胞を用いて *in vitro* 実験、*in vivo* 実験で評価した。その結果、ドキソルビシン-クルクミンを封入したリポソームは、マウス肺ガン細胞の増殖を抑制 (*in vitro* 実験) し、さらに担ガンマウスモデルを用いた実験においてもドキソルビシンのみを封入したリポソームよりも強い抗腫瘍効果が認められた。今後 *in vivo* 実験での効果の差について検討を行っていく予定である。

E-4. 今後の課題

クルクミンはガン細胞への新生血管阻害効果だけではなく、薬剤耐性ガン細胞上の MRP 関連タンパク質を阻害することがわかっている。そこで薬剤耐性細胞へも本リポソームが効果が発揮するのかについて検討していきたい。

外部誌上发表 (2010 年~2015 年 3 月)

[原著論文]

2015

1. Ohta, C., Haraguchi, K., Kato, Y., Endo, T., Kimura, O., and Koga, N. (2015). Distribution and excretion of 2,2',3,4',5,5',6-heptachlorobiphenyl (CB187) and its



- metabolites in rats and guinea pigs. *Chemosphere*, 118, 5-11.
2. Sakakibara, N., Baba, M., Okamoto, M., Toyama, M., Demizu, Y., Misawa, T., Kurihara, M., Irie, K., Kato, Y., Maruyama, T. (2015). Design, synthesis, and anti-HIV-1 activity of 1-aromatic methyl-substituted 3-(3,5-dimethylbenzyl)uracil and *N*-3,5-dimethylbenzyl-substituted urea derivatives. *Antiviral Chemistry & Chemotherapy*, 24, 3-18.
 3. Endo, T., Kimura, O., Ogasawara, H., Ohta, C., Koga, N., Kato, Y., and Haraguchi, K. (2015). Mercury, cadmium, zinc and copper concentrations and stable isotope ratios of carbon and nitrogen in tiger sharks (*Galeocerdo cuvier*) culled off Ishigaki Island, Japan. *Ecol. Indic.*, 55, 86-93.
- 2014**
1. Kato, Y., Haraguchi, K., Onishi, M., Ikushiro, S., Endo, T., Ohta, C., Koga, N., Yamada, S., and Degawa, M. (2014). 3,3',4,4'-Tetrachlorobiphenyl-mediated decrease of serum thyroxine level in C57BL/6 and DBA/2 mice occurs mainly through enhanced accumulation of thyroxine in the liver. *Biol. Pharm. Bull.*, 37, 504-509.
 2. Kimura, O., Ohta, C., Koga, N., Haraguchi, K., Kato, Y., and Endo, T. (2014). Carrier-mediated uptake of nobiletin, a citrus polymethoxyflavonoid, in human intestinal Caco-2 cells. *Food Chemistry*, 154, 145-150.
 3. Fujii, Y., Nishimura, E., Kato, Y., Harada, K.H., Koizumi, A., and Haraguchi, K. (2014). Dietary exposure to phenolic and methoxylated organohalogen contaminants in relation to their concentrations in breast milk and serum in Japan. *Environ. Int.*, 63, 19-25.
 4. Matsubara, F., Sagara, Y., Kato, Y., Harada, K., Koizumi, A., and Haraguchi, K. (2014). Detection of antibodies to human T-cell leukemia virus types 1 and 2 in breast milk from East Asian women. *Biol. Pharm. Bull.*, 37, 311-314.
 5. Kimura, O., Haraguchi, K., Ohta, C., Koga, N., Kato, Y., and Endo, T. (2014). Uptake of aristolochic acid I into Caco-2 cells by the monocarboxylic acid transporters. *Biol. Pharm. Bull.*, 37, 1475-1479.
 6. Igarashi, J., Hashimoto, T., Kubota, Y., Shoji, K., Maruyama, T., Sakakibara, N., Takuwa, Y., Ujihara, Y., Katanosaka, Y., Mohri, S., Naruse, K., Yamashita, T., Okamoto, R., Hirano, K., Kasaka, H., Takata, M., Konishi, R., Tsukamoto, I. (2014). Involvement of S1P1 receptor pathway in angiogenic effects of a novel adenosine-like nucleic acid analog COA-Cl in cultured human vascular endothelial cells. *Pharmacology Research & Perspectives*, 2, e00068.
- 2013**
1. Kato, Y., Onishi, M., Haraguchi, K., Ikushiro, S., Ohta, C., Koga, N., Endo, T., Yamada, S., and Degawa, M. (2013). A possible mechanism for 2,3',4,4',5'-pentachlorobiphenyl-mediated decrease in serum thyroxine level in mice. *Biol. Pharm. Bull.*, 36, 1594-1601. (Highlighted paper selected by Editor-in-Chief に選定された)
 2. Hidaka, N., Suemaru, K., Kato, Y., and Araki, H. (2013). Involvement of $\alpha 4\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptors in working memory impairment induced by repeated electroconvulsive seizures in rats. *Epilepsy Research*, 104, 181-185.
 3. Endo, T., Hisamichi, Y., Kimura, O., Ogasawara, H., Ohta, C., Koga, N., Kato, Y., and Haraguchi, K. (2013). Levels of mercury in muscle and liver of star-spotted dogfish (*Mustelus manazo*) from the northern region of Japan: A comparison with spiny dogfish (*Squalus acanthias*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 64, 467-474.
 4. Sakakibara, N., Hamasaki, T., Baba, M., Demizu, Y., Kurihara, M., Irie, K., Iwai, M., Asada, E., Kato, Y., and Maruyama, T. (2013). Synthesis and evaluation of novel 3-(3,5-dimethylbenzyl)uracil analogs as potential anti-HIV-1 agents. *Bioorg. Med. Chem.*, 21, 5900-5906.
 5. Sakakibara, N., Tsukamoto, I., Isono, Y., Takata, M., Konishi, R., Kato, Y., and Maruyama, T. (2013). A new method for synthesis and angiogenic evaluation of leteprinim potassium and its novel analogs. *Heterocycles*, 87, 2369-2384.
 6. Umezawa, T., Ragamustari, S.K., Nakatsubo, T., Wada, S., Li, L., Yamamura, M., Sakakibara, N., Hattori, T., Suzuki, S., and Chiang, V.L. (2013). A lignan *O*-methyltransferase catalyzing the regioselective methylation of matairesinol in *Carthamus tinctorius*. *Plant Biotechnology*, 30, 97-109.
 7. Okabe, N., Nakamura, E., Himi, N., Narita, K., Tsukamoto, I., Maruyama, T., Sakakibara, N., Nakamura, T., Itano, T., and Miyamoto, O. (2013). Delayed administration of the nucleic acid analog 2Cl-C.OXT-A attenuates brain damage and enhances functional recovery after ischemic stroke. *Brain Research*, 1506, 115-131.
 8. 太田千穂、原口浩一、加藤善久、遠藤哲也、古賀信幸。(2013) : 2,2',3,4',5,5'-六塩素化ビフェニル (CB146) の *in vitro* 代謝の動物種差。福岡医学雑誌、104、161-169.
- 2012**
1. Kato, Y., Tamaki, S., Haraguchi, K., Ikushiro, S., Sekimoto, M., Ohta, C., Endo, T., Koga, N., Yamada, S., and Degawa, M. (2012). Comparative study on 2,2',4,5,5'-pentachlorobiphenyl-mediated decrease in serum thyroxine level between C57BL/6 and its transthyretin-deficient mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 263, 323-329.
 2. Kato, Y., Okada, S., Atobe, K., Endo, T., and Haraguchi, K. (2012). Selective determination of mono- and dihydroxylated analogs of polybrominated diphenyl ethers in marine sponges by liquid-chromatography tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.*, 404, 197-206.
 3. Sakakibara, N., Tsukamoto, I., Tsurura, T., Takata, M., Konishi, R., and Maruyama, T. (2012). Novel synthesis of carbocyclic oxetanocin analogs (2-alkoxy-C.OXT-A) and their tube formation activities of human umbilical vein endothelial cells (HUVEC). *Heterocycles*, 85, 1105-1116.
 4. Ordonez, P., Hamasaki, T., Isono, Y., Sakakibara, N., Ikejiri, M., Maruyama, T., and Baba, M. (2012). Anti-human immunodeficiency virus type 1 activity of novel 6-substituted 1-benzyl-3-(3,5-dimethylbenzyl)uracil derivatives. *Antimicrob Agents Chemother*, 56, 2581-2589.
 5. Sakakibara, N., Kakoh, A., and Maruyama, T. (2012). First synthesis of [6-¹⁵N]-cladribine using ribonucleoside as a starting material. *Heterocycles*, 85, 171-182.
- 2011**
1. Kato, Y., Onishi, M., Haraguchi, K., Ikushiro, S., Ohta, C., Koga, N., Endo, T., Yamada, S., and Degawa, M. (2011). A possible mechanism for 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl-mediated decrease in serum thyroxine level in mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 254, 48-55.
 2. Misaka, S., Kurosawa, S., Uchida, S., Yoshida, A., Kato, Y., Kagawa, Y., and Yamada, S. (2011). Evaluation of the pharmacokinetic interaction of midazolam with ursodeoxycholic acid, ketoconazole and dexamethasone by brain benzodiazepine receptor occupancy. *J Pharm Pharmacol* 63, 58-64.
 3. Koga, N., Ohta, C., Kato, Y., Haraguchi, K., Endo, T., Ogawa, K., Ohta, H., and Yano, M. (2011). *In vitro* metabolism of nobiletin, a polymethoxy-flavonoid, by human liver microsomes and cytochrome P450. *Xenobiotica* 41, 927-933.
 4. Haraguchi, K., Kato, Y., Ohta, C., Koga, N., and Endo, T. (2011). Marine sponge: a potential source for methoxylated polybrominated diphenyl ethers in the Asia-Pacific food web. *J Agric Food Chem* 59, 13102-13109.
 5. 太田千穂、原口浩一、加藤善久、遠藤哲也、古賀信幸 (2011)。 「2,2',3,4,4',5'-六塩素化ビフェニル (CB138) の モルモツ

創薬と薬物の体内動態と薬効・毒性発現メカニズムの解明

トにおける *in vivo* 代謝」福岡医学雑誌 **102**: 167-174.

6. Sakakibara, N., Komatsu, M., and Maruyama, T. (2011). One-pot synthesis of 2-nitrooxyalkoxylated inosine analogs using cyclic ether and isoamyl nitrite. *Heterocycles*, **83**, 2865-2872.
7. Sakakibara, N., Tsuruta, T., Komatsu, M., Iwai, M., and Maruyama, T. (2011). A new method for synthesis of 2-alkoxyadenosine analogs. *Heterocycles*, **83**, 2299-2311.
8. Isono, Y., Sakakibara, N., Ordonez, P., Hamasaki, T., Baba, M., Ikejiri, M., and Maruyama, T. (2011). Synthesis of 1-benzyl-3-(3,5-dimethylbenzyl)uracil derivatives with potential anti-HIV activity. *Antiviral Chemistry & Chemotherapy*, **22**, 57-65.
9. Yamamura, M., Wada S., Sakakibara, N., Nakatsubo, T., Suzuki, S., Hattori, T., Takeda, M., Sakurai, N., Suzuki, H., Shibata, D., and Umezawa, T. (2011). Occurrence of guaiacyl/*p*-hydroxyphenyl lignin in *Arabidopsis thaliana* T87 cells. *Plant Biotechnology*, **28**, 1-8.

2010

1. Kato, Y., Haraguchi, K., Kubota, M., Seto, Y., Okura, T., Ikushiro, S., Koga, N., Yamada, S., and Degawa, M. (2010). A possible mechanism for the decrease in serum thyroxine level by a 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin-like polychlorinated biphenyl congener, 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl in mice. *Drug Metab Dispos* **38**, 150-156.
2. Kato, Y., Haraguchi, K., Ito, Y., Fujii, A., Yamazaki, T., Endo, T., Koga, N., Yamada, S., and Degawa, M. (2010). Polychlorinated biphenyl-mediated decrease in serum thyroxine level in rodents. *Drug Metab Dispos* **38**, 697-704.
3. Kato, Y., Suzuki, H., Haraguchi, K., Ikushiro, S., Ito, Y., Uchida, S., Yamada S., and Degawa, M. (2010). A possible mechanism for the decrease in serum thyroxine level by phenobarbital in rodents. *Toxicol Appl Pharmacol* **249**, 238-246.
4. Ito, Y., Harada, T., Fushimi, K., Kagawa, Y., Oka, H., Nakazawa, H., Homma, R., Kato, Y., and Yamada, S. (2010). Pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of acetylcholinesterase inhibition by distigmine bromide in rats. *Drug Metab Pharmacokin* **25**, 254-261.
5. Tsukamoto, I., Sakakibara, N., Maruyama, T., Igarashi, J., Kosaka, H., Kubota, Y., Tokuda, M., Ashino, H., Hattori, K., Tanaka, S., Kawata, M. and Konishi, R. (2010). A novel nucleic acid analogue shows strong angiogenic activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **399**, 699-704.
6. Suzuki, S., Sakakibara, N., Li, L., Umezawa, T. and Chiang, V., L. (2010). Profiling of phenylpropanoid monomers in developing xylem tissue of transgenic aspen (*Populus tremuloides*). *Journal of Wood Science*, **56**, 71-76.

[邦文総説・解説等]

1. 榎原紀和, 丸山徳見, 加藤善久 (2013). 「血管新生促進作用および抗 HIV-1 作用を有する新規核酸類縁体の創製」香川県薬剤師会誌 *かがやく*, **150**: 68-70.
2. 太田千穂, 加藤善久, 原口浩一, 遠藤哲也, 古賀信幸(2013). 「ラットおよびモルモットの小腸と腎におけるノビレチンの代謝」中村学園大学・中村学園大学短期大学部研究紀要, **45**: 141-149.
3. 太田千穂, 原口浩一, 遠藤哲也, 加藤善久, 松原 大, 古賀信幸 (2012). 「海洋生物由来の 2,4,6-tribromoanisole の動物肝ミクロゾームによる代謝とその関連化合物の酸化活性化」中村学園大学・中村学園大学短期大学部研究紀要, **44**: 215-223.
4. 太田千穂, 森岡樹子, 加藤善久, 原口浩一, 遠藤哲也, 古賀信幸 (2011). 「フェニルプロパノイド類とフラボノイ

ド類の抗酸化作用と α -グルコシダーゼ阻害作用: 構造活性相関について」中村学園大学・中村学園大学短期大学部研究紀要, **43**: 243-249.

5. 加藤善久 (2011). 「はじめまして」香川県薬剤師会誌, **143**: 48-49.
6. 加藤善久 (2010). 「薬物の体内動態と薬効・毒性発現メカニズムの解明を目指して」薬剤学, **70**: 303-308.
7. 太田千穂, 原口浩一, 加藤善久, 遠藤哲也, 古賀信幸 (2010). 「2,3',4,5,5'-Pentachlorobiphenyl (CB120)とその予想代謝物の合成」中村学園大学・中村学園大学短期大学部研究紀要, **42**: 333-338.

[プロシーディング]

2014

1. Ohta, C., Haraguchi, K., Kato, Y., Endo, T., and Koga, N. (2014). The participation of rat CYP3A enzymes in the metabolism of 2,2',4,5,5'-pentachlorobiphenyl (CB101). *Organohalogen Compds* **76**, 466-469.

2013

1. Ohta, C., Haraguchi, K., Kato, Y., Endo, T., Kimura, O., and Koga, N. (2013). *In vitro* metabolism of 2,2',4,4',5-pentachlorobiphenyl (CB99) by rat and guinea pig liver microsomes. *Organohalogen Compds* **75**, 587-590.

2012

1. Kato, Y., Tamaki, S., Haraguchi, K., Ikushiro, S., Sekimoto, M., Ohta, C., Endo, T., Koga, N., Yamada, S., and Degawa, M. (2012). 2,2',4,5,5'-Pentachlorobiphenyl-mediated inhibition of a serum T₄-transthyretin complex formation is one of causes for the PCB-induced changes in the serum and hepatic T₄ levels in mice. *Organohalogen Compds* **74**, 1377-1380.
2. Ohta, C., Haraguchi, K., Kato, Y., Endo, T., and Koga, N. (2012). Involvement of rat CYP3A enzymes in the metabolism of 2,2',3,4,5',6-hexachlorobiphenyl (CB149). *Organohalogen Compds* **74**, 1475-1478.

2011

1. Kato, Y., Haraguchi, K., Onishi, M., Ikushiro, S., Ohta, C., Koga, N., Endo, T., Yamada, S., and Degawa, M. (2011). 2,2',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl-mediated decrease in serum thyroxine level in mice. *Organohalogen Compds* **73**, 726-729.
2. Haraguchi, K., Kato, Y., Ohta, C., Koga, N., and Endo, T. (2011). A Potential source for hydroxylated and methoxylated analogs of brominated diphenyl ethers in the Asia-Pacific food web. *Organohalogen Compds* **73**, 182-185.
3. Ohta, C., Haraguchi, K., Kato, Y., Endo, T., and Koga, N. (2011). Metabolism of 2,3',4,5,5'-pentachlorobiphenyl (CB120) by liver microsomes of rats and guinea pigs. *Organohalogen Compds* **73**, 2251-2254.

2010

1. Ohta, C., Haraguchi, K., Kato, Y., Endo, T., Matsubara F., and Koga, N. (2010). Species difference in the *in vitro* metabolism of 2,2',3,4,4',5,5'-heptachlorobiphenyl (CB180). *Organohalogen Compds* **72**, 1796-1799.

[研究報告書]

1. 加藤善久 (代表個人), 「PCBによるヒト甲状腺ホルモン攪乱作用発現メカニズムの解明を目指した包括的研究」平成 25 年度 科学研究費助成事業 (学術研究助成基金助成金 (基盤研究(C))) 実施状況報告書, pp.1-8.
2. 加藤善久 (代表個人), 「PCBによるヒト甲状腺ホルモン攪乱作用発現メカニズムの解明を目指した包括的研究」平成 24 年度 科学研究費助成事業 (学術研究助成基金



- 助成金(基盤研究(C))実施状況報告書, pp.1-7.
- 加藤善久(代表個人),「PCBによるヒト甲状腺ホルモン攪乱作用発現メカニズムの解明を目指した包括的研究」平成23年度科学研究費助成事業(学術研究助成基金助成金(基盤研究(C))実施状況報告書, pp.1-7.
 - 加藤善久(代表個人),「PCBの甲状腺ホルモン攪乱作用機構の解明に向けた統合的研究:ヒトへの応用」平成20年度~平成22年度科学研究費補助金(基盤研究(C))研究実績報告書, pp.1-6.
 - 加藤善久(代表個人),「PCBの甲状腺ホルモン攪乱作用機構の解明に向けた統合的研究:ヒトへの応用」平成22年度科学研究費補助金(基盤研究(C))研究実績報告書, pp.1-2.

- 丸山徳見, 高田麻紀, 窪田泰夫, 平野勝也, 小西良士(2014).「HUVECにおけるCOA-Clの血管新生作用に対するSiPレセプターの関与」第87回日本生化学会大会, 演題番号, 3P-391, 10月15~18日, 京都.
- Sakakibara, N., Baba, M., Okamoto, M., Toyama, M., Demizu, Y., Misawa, T., Kurihara, M., Irie, K., Kato, Y., and Maruyama, T. (2014). Design, synthesis, and anti-HIV-1 activity of 1-aromatic methyl-substituted 3-(3,5-dimethylbenzyl)uracil and N-3,5-dimethylbenzyl-substituted urea derivatives. The 41th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2014, Abst. No. P028, 5-7 November, Kitakyushu, Japan.
 - 榎原紀和, 馬場昌範, 岡本実佳, 外山政明, 出水庸介, 三澤隆史, 栗原正明, 入江晃司, 加藤善久, 丸山徳見(2014).「抗HIV-1剤を指向した1-置換型ウラシル誘導体および尿素誘導体の創製研究」第53回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会, 講演要旨集, p143, 11月8~9日, 広島.
 - 跡部一孝, 栗田拓朗, 榎原紀和, 牧野悠治, 加藤善久(2014).「In vivoにおけるドキシソルビシン・クルクミン封入PEG修飾リポソームの抗腫瘍効果の検討」第36回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム, 講演要旨集, p119, 11月20~21日, 徳島.
 - Haraguchi, K., Fujii, Y., Kato, Y., and Endo, T. (2015). Contamination trends of hexabromocyclododecanes, tribromophenol and tetrabromobisphenol a in Japanese breast milk. 54th The exposition of the Society of Toxicology Annual Meeting, Abst. No. PS389, p83, 22-26 March, San Diego, California, USA.
 - 遠藤哲也, 木村 治, 小笠原英樹, 太田千穂, 古賀信幸, 加藤善久, 藤井由希子, 原口浩一(2015).「イタチザメの成長に伴う水銀分布と炭素および窒素安定同位体比の変化」平成27年度日本水産学会春季大会, 講演要旨集, 1226, 3月27~31日, 東京.
 - 跡部一孝, 栗田拓朗, 榎原紀和, 牧野悠治, 加藤善久(2015).「ドキシソルビシン・クルクミン封入リポソームによる抗腫瘍効果の検討」日本薬学会第135年会, 講演要旨集, 26PB-pm199, 3月25~28日, 神戸.
 - 榎原紀和, 馬場昌範, 岡本実佳, 外山政明, 出水庸介, 三澤隆史, 栗原正明, 入江晃司, 加藤善久, 丸山徳見(2015).「3,5-ジメチルベンジル基を有するウラシル誘導体および尿素誘導体の合成とそれらの抗HIV-1活性評価」日本薬学会第134年会, 講演要旨集, 27PB-pm277, 3月25~28日, 神戸.
 - 太田千穂, 西村恵理, 原口浩一, 遠藤哲也, 加藤善久, 山本健太, 古賀信幸(2015).「海洋生物由来のTetrabromo-1,4-dimethoxybenzene (TDB)の動物肝ミクロゾームによる代謝」日本薬学会第135年会, 講演要旨集, 28PA-pm018, 3月25~28日, 神戸.

口頭発表・学会発表 (2014年~2015年3月)

- 遠藤哲也, 木村 治, 原口浩一, 太田千穂, 古賀信幸, 加藤善久(2014).「Caco-2細胞におけるアリストロキア酸の細胞内取込み機構」日本薬学会第134年会, 講演要旨集3, p.211, 3月27~30日, 熊本.
- 太田千穂, 西村恵理, 原口浩一, 遠藤哲也, 加藤善久, 山本健太, 古賀信幸(2014).「海洋生物由来のtetrabromoveratrole (TBV)の動物肝ミクロゾームによる代謝」日本薬学会第134年会, 講演要旨集3, p.213, 3月27~30日, 熊本.
- 榎原紀和, 塚本郁子, 磯野洋平, 高田麻紀, 小西良士, 加藤善久, 丸山徳見(2014).「ネオトロフィン及びその誘導体の新規合成法の開発と血管新生促進作用の評価」日本化学会第94春季大会, ポスター番号, 2PC-52, 3月27~30日, 名古屋.
- Tsukamoto, I., Takata, M., Kubota, Y., Kawanami, Y., Sakakibara, N., Maruyama, T., Tokuda, M., and Konishi, R. (2014). Physiological activities of the rare sugar derivatives, Rare Sugar Symposium 2014 in Kagawa, Abst. No. S12, 29-30 April, Kagawa, Japan.
- 榎原紀和, 馬場昌範, 岡本実佳, 外山政明, 出水庸介, 栗原正明, 入江晃司, 加藤善久, 丸山徳見(2014).「新規3-(3,5-ジメチルベンジル)ウラシル誘導体の合成とそれらの抗HIV-1活性評価」第24回抗ウイルス療法研究会総会, 講演要旨集, p66, 5月7~9日, 山梨.
- 山本健太, 緒方 瞳, 太田千穂, 原口浩一, 遠藤哲也, 西村恵理, 木村 修, 加藤善久, 古賀信幸(2014).「Kaempferol tetramethylether)のラット肝ミクロゾームによる代謝」第68回日本栄養・食糧学会大会, 講演要旨集, p.308, 5月30日~6月1日, 江別.
- 榎原紀和, 馬場昌範, 岡本実佳, 外山政明, 出水庸介, 栗原正明, 入江晃司, 加藤善久, 丸山徳見(2014).「抗HIV-1剤を指向した1-置換型3-(3,5-ジメチルベンジル)ウラシルの創製研究」第9回日本ケミカルバイオロジー学会, 講演要旨集, p104, 6月11~13日, 大阪.
- Ohta, C., Haraguchi, K., Kato, Y., Endo, T., and Koga, N. (2014). The participation of rat CYP3A enzymes in the metabolism of 2,2',4,5,5'-pentachlorobiphenyl (CB101). 34th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, Abst. p795-798, 31 August-5 September, Madrid, Spain.
- 西村恵理, 太田千穂, 原口浩一, 遠藤哲也, 加藤善久, 山本健太, 古賀信幸(2014).「海洋生物由来2,2'-dimethoxy-BB80のラットにおけるin vivo代謝」フォーラム2014: 衛生薬学・環境トキシコロジー, 講演要旨集, p.286, 9月19~20日, つくば.
- 塚本郁子, 五十嵐淳介, 橋本剛, 山下哲生, 榎原紀和,

特許

該当なし

その他、新聞報道等

該当なし



研究分野

薬効・毒性相関とファーマシューティカル・ケア

Pharmaceutical care and Drug efficacy, toxicity correlation

教員

教授 二宮 昌樹 着任年月日：2008年10月1日
 最終学歴：徳島大学大学院薬学研究科修士課程修了
 博士（医学） 薬剤師
 前職：香川大学医学部附属病院薬剤部副部长

助教 中妻 章 着任年月日：2005年4月1日
 最終学歴：2001年3月岡山大学大学院自然科学研究科博士課程後期修了
 博士（薬学） 薬剤師
 前職：株式会社山田養蜂場研究開発部

研究の概要

1. 薬物の体内動態、薬効・毒性相関に関する研究（中妻）

1-1 研究の達成目標、その意義と背景：医療現場における実際の薬物療法では、治療効果が明確に認められる一方で、期待される治療効果は得られず副作用のみを被る場合が見受けられる。これらの背景には、薬物の組織や受容体などの感受性のほか、薬物自体の生体内での動きが大きく影響していることが知られている。この場合、組織や作用部位への薬物の移行が不十分であることから、効果を発揮するための至適濃度や暴露時間を確保できないことが一要因となっている。医療薬学講座では、実際の臨床使用における治療効果への影響や副作用の発現に大きく関与する薬物や食品成分の体内動態とその機構を解明することを目標として研究を進めている。

薬物の体内動態は、その薬物を医薬品として適正に使用する際に必要な情報であるが、薬物による効果や副作用を予測するには、薬物の体内での動きを知ることが必須となる。しかしながら、薬物動態研究における留意点は、薬物がそれぞれに特性を持っているため、それらの薬物について一律に説明することができないところにある。そこで、これらの薬物を細胞内へ取り込んだり排出したりする働きを持つ、薬物輸送蛋白の性質を明らかにすることで、どの薬物がどのような動態を示すのか予測できると考えている。そのための方法論として、分子生物学的手法および実験動物を用い、これらの知見を統合して臨床使用が問題となる医薬品や食品成分の体内動態とその発現メカニズムを解明し、有効性や安全性に対して個人差の大きい薬物の使用方法を確立して医薬品の適正使用に貢献したいと考えている。

1-2 成果の概要：食品に含まれる成分中にはこれら分子群の基質となりうるものが含まれており、長期にわたる過剰な摂取は、医薬品との相互作用について懸念される。これまでの研究で kaempferol などの成分は MRPs による細胞外排泄が阻害され、MRPs の基質となる抗悪性腫瘍薬によっては、薬効が変化することあきらかとなった。

一方で Caco2 細胞の単相膜による薬物透過性に関する研究では、一部の健康茶において MDR1 が阻害されることが確認された。しかし、阻害された濃度は通常摂取するときの 10 倍以上であり、通常健康食品として抽出し、飲用するにおいては、薬物の吸収に大きな影響は無いと考えられた。

2. チーム医療に貢献するファーマシューティカル・ケアの実践（二宮）

抗がん剤治療による好中球減少症や免疫不全患者では、深部真菌感染症に罹患しやすい。トリアゾール系抗真菌薬であるイトラコナゾールは、カンジダ属、アスペルギルス族に対して強力な抗菌活性を示すが、肝臓や消化管における CYP 3A 4 代謝を阻害することから相互作用に注意しなければならない。粉末化されたカプセル剤では、難溶性であるため薬物動態に個体差が大きい。一方、溶解補助剤を添加し可溶化された内服液が新規承認されたが、その薬物動態についてはまだ不明な点が多い。血液がん病棟での服薬指導業務のなかで、骨髄移植を受けた患者で免疫抑制剤としてシクロスポリンとイトラコナゾール内服液を併用している患者について薬物動態から相互作用を検討した。その結果、カプセル剤を併用した場合と比較して、シクロスポリンの血中濃度が 5 から 10 倍上昇し、副作用防止のため減が必要となったことがわかった。この症例では、薬物血中濃度測定を通じて薬物療法の適正化に薬剤師の職能を発揮できた。

外部誌上発表（2010年~2015年）

【原著論文】

2014

1. 飯原なおみ、吉田知司、岡田岳人、中妻章、桐野豊 わが国のナショナルレセプトデータベースが示した運転等禁止・注意医薬品の使用実態 医療薬学 40号2巻 67-77

2010

1. Nakatsuma A, Fukami T, Suzuki T, Furuishi T, Tomono K, Hidaka S (2010): Effects of kaempferol on the mechanisms of drug resistance in human glioblastoma cell line T98G. PHARMAZIE 65, 379-383

口頭発表・学会発表（2014年~2015年3月）

1. 西尾香子、栗田拓朗、中妻章、横田ひとみ、二宮昌樹、徳村忠一 自動分包機の洗浄バリデーションに関する検討：テオドール DS20% 分包時のテオフィリン残留量の測定 第134回日本薬学会年会（熊本）2014.3.27-30
2. 飯原なおみ、吉田知司、岡田岳人、中妻章、山口裕加、桐野豊 ナショナルレセプトデータベースを用いた運転等禁止・注意医薬品使用における年齢層別比較 第134回日本薬学会年会（熊本）2014.3.27-30
3. 宮城佳紀、栗田拓朗、中妻章、横田ひとみ、二宮昌樹、徳村忠一 自動分割分包機の洗浄バリデーションに関する検討：テオドール DS20% 分包時のテオフィリン残留量の測定と2種類の乳糖の洗浄効果 第135回日本薬学会年



研究分野

情報科学による医薬品と薬物療法の評価

Evaluation of Medicines and Pharmacotherapy Based on Informatics

教員

教授 飯原 なおみ 着任年月日：2005年4月1日
 最終学歴：1983年3月東京理科大学薬学部薬学科卒業
 博士(薬学), 薬剤師
 前職：香川大学医学部附属病院薬剤部薬剤主任

助教 岡田 岳人 着任年月日：2013年4月1日
 (生薬・天然物化学講座から異動)
 最終学歴：千葉大学大学院医学薬学府博士課程修了
 博士(薬学), 薬剤師

研究の概要

1. 患者と医療者との関係構築に関する研究

素晴らしい医薬品が開発されても患者が服用しなければ効果はない。医薬品や薬物療法に対する患者の心理について解明し、患者と医療者との関係構築について探求する。

これまでに、患者の服薬や副作用に対する捉え方を評価する Medication Acceptance, Preference and Adherence Scale (MAPAS) を開発した。自己判断で服薬調節をする患者は、薬物療法や医療者に対する不満スコアが高いが、このような関連性は飲み忘れの患者では認められないことを明らかにした。また、がん患者では忍耐スコアが慢性疾患患者に比べて高く、特に化学療法初期の患者では副作用の強い治療を好んで選ぶことを明らかにした。

2. 医薬品使用適正化のための薬剤疫学研究

実臨床では、医薬品は複雑な病態下で多剤併用で用いられるが、このような状況での有効性や安全性は医薬品の承認段階では評価されていない。使用実態下における医薬品の評価を、薬剤疫学手法を用いて明らかにする。

これまでに、25歳以上の国民における運転等禁止・注意医薬品の使用状況について調査し、医薬品が投与された外来患者の73%でこれら医薬品が使用され、そのほぼ半数は複数成分を使用していたこと、また、高齢者において1日量の不適切な例が目立ったことが明らかになった。

3. 伝統医学や生物医薬資源のバイオケム情報・計算科学

漢方などの伝統医学、生物医薬資源を主な対象としたシステム解析研究を行っている。具体的には、生物学的・化学的実験データと実医療におけるエビデンスの双方についてデータベースを構築し、情報・計算科学の手法を駆使したビッグデータの因子分析・相関解析を進めている。

[学振科研費：若手研究(B)]

[厚労科研費：研究協力者]

外部誌上発表 (2010年~2015年3月)

[原著論文]

2015

1. Iihara, N., Nishio, T., Goda, M., Anzai, H., Kagawa, M., Houchi, H., and Kirino, Y. (2015). Effect of endurance for adverse drug reactions on the preference for aggressive treatments in cancer patients. *Support Care Cancer* 23(4), doi: 10.1007/s00520-014-2439-1.

2014

1. 飯原なおみ, 吉田知司, 岡田岳人, 中妻章, 桐野豊. (2014). わが国のナショナルレセプトデータベースが示した運転等禁止・注意医薬品の使用実態. *医療薬学*. 40(2), 67-77.

2013

1. Iihara, N., Nishio, T., Okura, M., Anzai, H., Kagawa, M., Houchi, H., and Kirino, Y. (2013). Comparing patient dissatisfaction and rational judgment in intentional medication non-adherence versus unintentional non-adherence. *J Clin Pharm Ther* 39(1), 45-52.

2012

1. Mochamad Afendi, F., Okada, T., Yamazaki, M., Hirai-Morita, A., Nakamura, Y., Nakamura, K., Ikeda, S., Takahashi, H., Alatuf-UI-Amin, M., Darusman, L.K., Saito, K., and Kanaya, S. (2012). KNApSACk Family databases: Integrated metabolite-plant species databases for multifaceted plant researches. *Plant Cell Physiol* 53(2), e1.
2. Sadamoto, H., Takahashi, H., Okada, T., Kenmoku, H., Toyota, M., and Asakawa, Y. (2012). *De Novo* sequencing and transcriptome analysis of the central nervous system of mollusc *Lymnaea stagnalis* by deep RNA sequencing. *PLoS One* 7(8), e42546.
3. 飯原なおみ, 西尾貴之, 横田ひとみ, 吉岡貴代, 岩本明彦, 小比賀信茂, 小坂信二, 十河八重子, 安西英明(2012) 保険薬局において副作用を疑う症例に対応する際の課題. *医薬品情報学*, 13(4):194-198.

2011

1. Bunsupa, S., Okada, T., Saito, K., and Yamazaki, M. (2011). An acyltransferase-like gene obtained by differential gene expression profiles of quinolizidine alkaloid-producing and nonproducing cultivars of *Lupinus angustifolius*. *Plant Biotechnol* 28(1), 89-94.
2. 飯原なおみ, 桐野豊, 山肩大祐, 横井英人, 原量宏 (2011) 院外薬剤師の参加型チーム医療は患者の満足度をあげる—電子処方せんネットワークシステム実証事業のアンケート調査から—. *日本遠隔医療学会雑誌*, 7(1): 35-38.

2010

1. Iihara N., Suzuki K, Kurosaki Y, Morita S, and Hori K (2010) Factorial invariance of a questionnaire assessing medication beliefs in Japanese non-adherent groups. *Pharmacy World & Science* 32, 432-439.
2. 飯原なおみ, 桐野豊, 原量宏, 横井英人, 上野哲夫, 原田顕徳, 中川昌彦, 齋藤幸夫, 森岡慶, 尾形優子 (2010) 病院と地域の薬局とを双方向に連携する電子処方せんネ

ットワークシステムの開発. 医療情報学, 30(4): 225-231.

[英文総説]

1. Okada, T., Afendi, F.M., Altaf-Ul-Amin, M., Takahashi, H., Nakamura, K., and Kanaya, S. (2010). Metabolomics of medicinal plants: the importance of multivariate analysis of analytical chemistry data. *Curr Comput Aided Drug Des* 6(3), 179-196.

[著書・訳書]

1. 岡田岳人, 野路征昭. (2014). 薬用植物・生薬のメタボローム解析 –マオウ代謝物の包括的質量分析とデータの変量解析を例として–. 薬用植物・生薬の最前線 ~ 国内栽培技術から品質評価, 製品開発まで~ (監修: 川原信夫). シーエムシー出版 (東京), pp. 122-131.
2. Okada, T., Mochamad Afendi, F., Katoh, A., Hirai, A., and Kanaya, S. (2013). Multivariate analysis of analytical chemistry data and utility of the KNApSAcK Family database to understand metabolic diversity in medicinal plants. (Chapter 18) In: Chandra, S., Lata, H., and Varma, A. (Eds.) *Biotechnology for medicinal plants: micropropagation and improvement*. Springer, Berlin Heidelberg, pp. 413-438.
3. Okada, T., and Katoh, A. (2011). Metabolomics: Data collection and analysis. (Chapter 27) In: Cseke, L.J., Kirakosyan, A., Kaufman, P.B., and Westfall, M.V. (Eds.) *Handbook of molecular and cellular methods in biology and medicine*, third edition. Taylor & Francis Group (CRC Press), London, pp. 471-484.
4. 飯原なおみ(2010) 「薬局薬剤師の業務を支援する「医療情報の IT 化」(桐野豊編「今を生きるための達人の教え」) かんき出版, pp.231-251.

[邦文総説・解説等]

1. 飯原なおみ(2014) 「副作用を推論する薬剤師を育てる「副作用診断教育プログラム」」 薬剤学. 74(5), 298-300.
2. 土屋文人, 飯原なおみ(2014) 「医療 IT と医薬品—医療の IT 化は医薬品の開発・安全性確保にどう影響するか」 YAKUGAKU ZASSHI. 134(5), 583-584.
3. 飯原なおみ, 桐野豊(2014) 「医・薬・患をつなぐ医療と、連携情報二次活用への期待」 YAKUGAKU ZASSHI. 134(5), 589-593.
4. 飯原なおみ(2012) 「患者の服薬行為ならびに化学療法の選好に係る潜在因子に関する研究」 第 18 回ヘルスリサーチフォーラム—社会に定着しつつあるヘルスリサーチ—講演録, 137-143
5. 飯原なおみ(2012) 「電子処方せんネットワークシステムによるチーム医療と副作用情報収集—今後の課題」 第 14 回日本医薬品情報学総会・学術大会記念誌, 78-83.
6. 飯原なおみ(2011) 「かがわ遠隔医療ネットワーク K-MIX ③—電子処方せんネットワークシステム開発のねらいと今後の課題」 *Medical View Point* 32:7.
7. 飯原なおみ(2011) 「『どこでも MY 病院』構想を読み解く」 調剤と情報 17:801-810.
8. 飯原なおみ(2011) 電子処方せんネットワークシステムの開発を通して知った、社会が見る薬剤師の姿 県薬だより-情報とくしま- 68:9-10.

データを用いた医薬品使用の課題解析 (1) —転倒に係る骨折発症—. 日本薬学会 第 135 年会, 平成 27 年 3 月 25-28 日, 神戸.

2. 中野太樹, 鈴木達也, 飯原なおみ, 岡田岳人, 吉田知司, 坂東義教, 西尾貴之, 大原昌樹, 桐野豊. (2015). ナショナルレセプトデータを用いた医薬品使用の課題解析 (2) —ふらつきを及ぼす薬の数と転倒に係る骨折発症—. 日本薬学会 第 135 年会, 平成 27 年 3 月 25-28 日, 神戸.
3. 野路征昭, 中渡瀬光華, 武岡志保, 後藤真弓, 兼目裕充, 高橋宏暢, 岡田岳人, 豊田正夫, 浅川義範. (2015). サイコサポニン合成に関与するシトクロム P450 遺伝子の単離と機能解析. 日本薬学会 第 135 年会, 平成 27 年 3 月 25-28 日, 神戸.
4. 飯原なおみ. (2014). 香川地区における電子処方・医薬連携実証事業とその課題. 第 24 回日本医療薬学会年会, 平成 26 年 9 月 27-28 日, 名古屋.
5. 岡田岳人, 竹治直哉, 秋山智, 飯原なおみ. (2014). 漢方薬の気血水データベース構築と多変量解析によるデータの集約・可視化・予測. 日本生薬学会 第 61 回年会, 平成 26 年 9 月 13-14 日, 福岡.
6. 野路征昭, 後藤真弓, 武岡志保, 兼目裕充, 高橋宏暢, 岡田岳人, 豊田正夫, 浅川義範. (2014). サイコサポニン合成に関与するシトクロム P450 の解析. 日本生薬学会 第 61 回年会, 平成 26 年 9 月 13-14 日, 福岡.
7. 桧山三香, 飯原なおみ, 岡田岳人. (2014). トウキ配合漢方薬の君臣佐使データベース構築と因子分析. 日本薬学会 第 134 年会, 平成 26 年 3 月 27-30 日, 熊本.
8. 飯原なおみ, 吉田知司, 岡田岳人, 中妻章, 山口裕加, 桐野豊. (2014). ナショナルレセプトデータベースを用いた運転等禁止・注意医薬品使用における年齢層別比較. 日本薬学会 第 134 年会, 平成 26 年 3 月 27-30 日, 熊本.

特許

1. 齊藤和季, 岡田岳人, 平井優美 (2009) 「アルカロイドアシル転移酵素をコードする遺伝子」 特許第 4254949 号.

その他、新聞報道等

1. 「7割強に運転等禁止・注意薬」薬事日報 2014 年 3 月 3 日 第 11393 号.

口頭発表・学会発表 (2014 年~2015 年 3 月)

1. 佐野祐子, 飯原なおみ, 岡田岳人, 吉田知司, 坂東義教, 西尾貴之, 大原昌樹, 桐野豊. (2015). ナショナルレセプト



研究分野

医薬品情報・副作用

Drug information and side effects

教員

教授 横田 ひとみ 着任年月日：2011年4月1日
 最終学歴：1970年3月大阪大学薬学部薬学科卒業
 薬剤師
 前職：香川県立中央病院 薬剤部長

研究の概要

医薬品の副作用を捉える手法の1つとして、薬剤師によるフィジカルアセスメントを位置づけ、その有用性、問題点等について研究するとともに、患者の身体的不調を訴える日常的な言葉の中から、副作用を見つけ出すコミュニケーション能力の育成並びツールの確立を目指している。

2025年問題として捉えられている後期高齢者医療において在宅医療の果たす役割が大きく、そこで活動する薬剤師にもこれまでと違った能力が求められている。その能力の一つとしてフィジカルアセスメント能力があると考えている。また、在宅患者の生活上の何気ない言葉から副作用を察知する力も要求されている。

2014年には2013年に続いて香川県薬剤師会開局部会との協働でフィジカルアセスメント研修会を実施した。アドバンストコース、ベーシックコースに分けて計5回の、研修会を実施し、昨年の研修の成果と現在の薬剤師のフィジカルアセスメント能力について現状把握した。昨年、4回の研修を受けたアドバンストコースの参加者には手技、態度、副作用把握を含めたフィジカルアセスメント能力の向上および定着が見られこの研修会の有用性を確認できた。高齢化社会に向けて地域包括ケアシステムなどこれまでにない施策が次々と打ち出され、薬剤師のフィジカルアセスメントに関する関心も高くなり、今年もベーシックコース参加希望者は多くこの研修会に対する要望は高かった。現職の薬剤師でも患者の訴えを副作用情報と結びつける能力は十分ではなく、フィジカルアセスメント研修を行うことで、コミュニケーション能力の向上とともにその距離が縮まることが確認できた。

今後は法律的、社会的、教育的な薬剤師のフィジカルアセスメントにおけるあるべき姿を模索研究し、教育の中に生かすとともに、副作用の発見に貢献できる薬剤師の育成に努め、生きた患者情報を得るためのコミュニケーションツールの確立を進めたい。

外部誌上発表 (2010年~2015年3月)

[原著論文]

2012

1. 飯原なおみ, 西尾貴之, 横田ひとみ, 吉岡貴代, 岩本明彦, 小比賀信茂, 小坂信二, 十河八重子, 安西英明(2012) 保険薬局において副作用を疑う症例に対応する際の課題. 医薬品情報学, 13(4):194-198.

2011

1. 香川好美, 福田泰代, 多田譲治, 稲葉和己, 横田ひとみ
インフルエンザワクチン接種後のマッサージの検討. 日病薬誌 47(2), 191-194

2010

1. Yukari Deguchi, Tomoki Inaba, Yasuyo Fukuda, Hitomi Yokota, Yoko Kawaguchi (2010). Strategy for the effective management of adverse drug reactions. Jpn. J. Drug Inform., 12(1):30-35

口頭発表・学会発表 (2014年~2015年3月)

1. 三宮昌樹, 高橋知子, 樫野真, 横田ひとみ, 飯原なおみ, 中妻章, 岡田岳人 チーム医療に学ぶ徳島文理大学医療系学部の専門職連携授業 第53回日本薬学会・日本薬剤師会・日本薬剤師会中国四国支部学術大会 (広島) 11月8, 9日

その他、新聞報道等



研究分野

シナプス伝達の調節機構の解明

Molecular Mechanisms in the regulation of Synaptic Transmission

教員

- 教授 得丸博史 着任年月日：2004年4月1日
 最終学歴：九州大学大学院薬学研究科博士課程修了。博士(薬学)
 前職：東京大学助手、米国デューク大学メディカルセンター-Research Assistant Professor、徳島文理大学香川薬学部准教授(薬理学)
- 講師 定本久世 着任年月日：2005年4月1日
 最終学歴：北海道大学大学院生物科学専攻博士課程修了。博士(理学)
 前職：徳島文理大学助教
- 助教 小林卓 着任年月日：2005年6月1日
 最終学歴：北海道大学大学院生物科学専攻博士課程単位取得退学。博士(理学・医学)
 前職：札幌医科大学助手

研究の概要

1) 神経伝達物質放出を制御するコンプレキシンの機能(得丸、定本)

研究背景

神経終末からの神経伝達物質放出はニューロンにとって重要な情報出力の手段であり、その分子機構の解明は神経科学分野における重要課題の一つである。ニューロンの興奮が神経終末に到達すると、開口した電位感受性 Ca^{2+} チャネルを通じて Ca^{2+} が神経終末内に流入する。流入した Ca^{2+} はシナプス小胞とシナプス前膜の迅速な融合を誘導し、小胞内の神経伝達物質を細胞外に開口放出(エキソサイトーシス)させる。このように、シナプス小胞の開口放出は、① Ca^{2+} による厳密な制御と② 驚異的な速さ(～1 ミリ秒)を特徴とする(Tokumaru, Kasai et al., *Physiol. Rev.* 2012)。シナプス小胞膜上の VAMP2(シナプトブレヴィン)、シナプス前膜のシンタキシン(Syx)、及び SNAP25 は互いに結合して4本の α -ヘリックスからなるコイルドコイルを形成する。その形成は各蛋白質の N 末端から C 末端(膜貫通領域)側に向けてファスナーが閉まるように起こり、その結果、小胞膜とシナプス前膜は融合可能な距離まで接近する。この SNAP 受容体蛋白質(SNARE 蛋白質)複合体は膜融合の分子装置であると考えられている。コンプレキシン/シナフィン(以下 Cpx)は、形成途中の SNARE 蛋白質複合体に結合して Ca^{2+} が流入するまで融合を阻止するクランプとして働く。流入した Ca^{2+} はシナプトタグミン 1(Syt1)の C2 ドメインによって受容され、Cpx によるクランプを競合的に取

り除いて開口放出を誘導する。しかし最近、Cpx をクランプとする考えは以下の知見から疑問視されている。①クランプとされる Cpx の遺伝子をノックアウトしても、伝達物質放出の亢進はみられず、逆に強く抑制される(Reim et al., *Cell* 2001)。②海馬ニューロンに Cpx を過剰発現させても伝達物質放出の阻害はみられない(Xue et al., *Nat Str Mol Biol* 2007)。③Cpx は SNARE 依存性の人工脂質膜(リポソーム)の融合を促進するという報告がある(Malsam et al., *PNAS* 2009)。④Cpx が SNARE 蛋白質複合体から解離するには3秒もかかり、 Ca^{2+} 流入後～1 ミリ秒という短い時間では Syt1 と Cpx の置き換わりは起こり得ない(Pabst et al., *J Biol Chem* 2002)。⑤抗 Syt1 抗体あるいは抗 Cpx 抗体を用いたラット脳の免疫沈降では Syt1/Cpx/SNARE 蛋白質複合体が共沈する(Tokumaru et al., *Brain Cell Biol.* 2008)。我々は、 Ca^{2+} 非存在下では結合親和性の弱い Syt1 と SNARE 蛋白質複合体の結合を、Cpx が促進すること、さらに Cpx がシナプス伝達を速める役割があることを突き止めました。Cpx は膜融合を抑制するクランプではなく、膜融合装置の一部である可能性が高い。

研究の目的

シナプス前終末に Ca^{2+} が流入してからシナプス後膜の応答までの時間は極めて短い(0.06～0.2 ミリ秒)ので、高速な伝達物質放出を可能にするには Syt1 と SNARE 蛋白質複合体の結合は Ca^{2+} 流入の前である可能性が高い。我々はこれまで得られた以下の結果①～⑤から、仮説「Cpx の役割は、SNARE 蛋白質複合体と結合し、 Ca^{2+} 受容に必要な Syt1 を膜融合装置に動員することである」を提唱する。本研究の目的はこの仮説を検証することである。

本研究の意義

本研究は開口放出の新しいモデルを提唱している。Cpx は Syt1 を SNARE 蛋白質複合体に動員する重要な分子であり、融合の最終段階まではたらく膜融合装置の一部である可能性が高い。我々は、Syt1/Cpx/SNARE 蛋白質複合体の形成が Ca^{2+} に依存していないことを発見した。このことは、Syt1/Cpx/SNARE 蛋白質複合体が Ca^{2+} 流入前に形成される可能性を示している。Cpx クランプ説は、*in vitro* 実験に基づいて提唱されたものである。この際に使われたリコンビナント Syt1 は N 末端膜貫通領域を欠失したものである。申請者は N 末端部を欠失した Syt1 が Cpx と結合しないことも確認している。SNARE 蛋白質を再構成した人工脂質膜(リポソーム)の融合に対する Syt1 の効果は、膜貫通領域の有無で全く異なることが示唆されている(Bhalla et al. *Nat Struct Mol Biol.* 2006, Mahal et al. *J Cell Biol.* 2002)。本研究では、全長 Syt1 を実験に用いる

シナプス伝達の調節機構の解明

ので、これまでとは全く異なる結果が得られる可能性がある。

成果の概要と自己評価

本研究室による、これまでの研究成果を以下に示す。

- ① Cpx と SNARE 蛋白複合体の結合は開口放出に必須である。ヤリイカ巨大神経終末に注入した結合部位ペプチド(SBD ペプチド; アミノ酸 46-74)はシナプス伝達を完全に阻害した(Tokumaru, et al., Cell 2001)。
- ② Cpx と SNARE 蛋白複合体の結合は開口放出直前(0.18 ミリ秒以内)である。ケージド SBD ペプチド(光感受性ケージドアミノ酸を組み込んだ SBD ペプチド)を開発し、光照射によって瞬時に活性化されたペプチドによってシナプス伝達が阻害される時間から Cpx と SNARE 蛋白複合体の結合時期を見積もった。
- ③ Cpx は開口放出を速める。ケージド SBD ペプチドの活性化によって Cpx 結合を瞬時に阻害すると、シナプス電流の立ち上がりが遅くなった。
- ④ Syt1 が Cpx の C 末端部と直接結合する(Tokumaru et al., 2008)。
- ⑤ Syt1/Cpx/SNARE 蛋白複合体が存在する(Tokumaru et al., 2008)。Syt1 と Cpx の結合は SNARE 蛋白複合体によって促進される。
- ⑥ Syt1 の Cpx 結合部位は、N 末端膜貫通領域である。

今後の課題

今後、SNAREs/Syt1 を再構成した人工脂質リボソームの融合実験により、Cpx の機能の詳細を明らかにしていく必要がある。

2) 海馬抑制性シナプス形成にともなう VAMP2 および VAMP4 の細胞内分布と機能解析 (定本久世)

研究背景・目的

神経活動に対応したシナプス前部からの神経伝達物質の放出には、SNARE と呼ばれるタンパク質群が関与する。SNARE タンパク質の一つである vesicle associated membrane protein 2 (VAMP2, synaptobrevin-2) はシナプス小胞の膜上に存在し、シナプス後膜への小胞融合に関与している。最近になって、VAMP ファミリータンパク質である VAMP4 が抑制性ニューロンに存在し、VAMP2 と異なる機構で GABA 放出に関わっていることが報告された (Raingo et al., 2012)。

成果の概要と自己評価

本研究では、海馬抑制性ニューロンのシナプス形成時における VAMP2 および VAMP4 の細胞内動態を解析した。抑制性シナプス前部の形態は vesicular GABA transporter (VGAT)-Venus トランスジェニック・マウスの海馬神経細胞培養系を用いることで可視化した。これに異なる蛍光タンパク質で標識した各分子を発現させ、それぞれの細胞内局在をコンフォーカル顕微鏡により観察した。その結果、抑制性シナプス形成過程

の初期には VAMP2 がシナプス前部 (varicosity) に集積し、VAMP2 の前シナプス内での分布はシナプス後部の足場タンパク質 (gephyrin) の近傍にあった。これに対し、VAMP4 はシナプス形成過程の後期にシナプス前部に局在し、前シナプス内分布も VAMP2 と異なっていた。

さらに、抑制性シナプス伝達における VAMP2 と VAMP4 の機能を、電気生理学的手法を用いて解析した。各分子を培養海馬神経細胞に過剰発現させ、単一錐体細胞における抑制性シナプス後電流を記録した。その結果、抑制性入力繊維を繰り返し電気刺激すると抑制性シナプス後電流の振幅が小さくなり、培養日数が進むにつれて繰り返し刺激後の振幅が保たれる傾向が見られた。また、シナプス形成後期にあたる時期に VAMP4 を過剰発現させて同様の実験を行った場合、VAMP2 過剰発現系に比べて有意にこの振幅は大きかった。

今後の課題

今後は発生段階に伴う VAMP4 の遺伝子発現解析を進める。VAMP4 が関わる GABA 放出機構と、シナプス形成にともなう生理機能の変化との関連について解析を進める。

外部資金導入実績：日本学術振興会・科学研究費補助金。

3) ナメクジ嗅覚中枢における振動ネットワークのシナプス調節機構 (小林卓)

研究背景・目的

優れた嗅覚学習能力と高い再生能力をもつナメクジ脳を用いて、さまざまなシナプス伝達様式とその再生機構について調べる。そして『においの情報処理過程においてどのような巧みな仕組みがあるのか?』『脳波とは?』などについて明らかにしたい。

成果の概要と自己評価

前脳葉振動ネットワークに対する GABA および神経ペプチドのアゴニストおよびアンタゴニストの薬理作用について調べ、GABA や神経ペプチド FMRF アミドが振動活動の周波数を調節し得ることを示した。特に、FMRF アミドが前脳葉ニューロン間のシナプス接続を抑制することで振動数を低下させること (Eur J Neurosci 誌)、GABA が前脳葉ニューロンの興奮性を高める神経調節因子として働くことを明らかにした (J Neurophysiol 誌)。また、最近の研究から、アセチルコリンが前脳葉の振動ネットワークに対して興奮性に働き、振動活動とニューロン間の同期的活動にも寄与していることが示唆された (J Comp Neurol ほか)。さらに、前脳葉の分散培養系において振動ネットワークが自発的に再形成されることを見つけたので、新たな研究課題として、脳波を発生する様な同期的振動ネットワークが一から作られる様子を調べていきたいと考えている。



今後の課題

においの嗅ぎ分けや学習・記憶を司るナメクジ前脳葉振動ネットワークにおいて、さまざまなシナプス伝達様式が再構成される様子を生理・薬理・組織学的手法（できれば行動学的な手法も）を用いて明らかにして行く。最終的には、種に共通した脳波のしくみとはたらきを解明したい。

外部資金導入実績：日本学術振興会・科学研究費補助金。
共同研究：国内他大学との共同研究（福岡女子大、東北大）。

 外部誌上発表 (2010年~2015年3月)

[原著論文]

2014

1. Matsuo R., Kobayashi S., Wakiya K., Yamagishi M., Fukuoka M., Ito E. (2014) The cholinergic system in the olfactory center of the terrestrial slug *Limax*. J Comp Neurol 522, 2951-2966.

2013

2. Watanabe T., Sadamoto H., and Aonuma H. (2013) Molecular basis of the dopaminergic system in the cricket *Gryllus bimaculatus*. Invert Neurosci 13, 107-23.
3. Sadamoto H. and Muto H. (2013) Fluorescence Cross-correlation Spectroscopy (FCCS) to Observe Dimerization of Transcription Factors in Living Cells. Methods Mol Biol. 977, 229-41.
4. Murakami J., Okada R., Sadamoto H., Kobayashi S., Mita K., Sakamoto Y., Yamagishi M., Hatakeyama D., Otsuka E., Okuta A., Sunada H., Takigami S., Sakakibara M., Fujito Y., Awaji M., Moriyama S., Lukowiak K. and Ito E. (2013) Involvement of insulin-like peptide in long-term synaptic plasticity and long-term memory of the pond snail *Lymnaea stagnalis*. J Neurosci. 33, 371-83.

2012

5. Kobayashi S., Ito E. (2012) GABAergic effects on the slow oscillatory neural activities in the procerebrum of *Limax valentianus*. Acta Biologica Hungarica 63 (Suppl. 2), pp. 217-221.
6. Elekes K., Battonyai I., Kobayashi S., Ito E. (2012) Organization of the procerebrum in terrestrial pulmonates (*Helix*, *Limax*) reconsidered: cell mass layer synaptology and its serotonergic input system. Brain Structure and Function 218, 477-490.
7. Kobayashi S., Matsuo R., Sadamoto H., Watanabe S., and Ito E. (2012) Excitatory effects of GABA on procerebrum neurons in a slug. J Neurophysiol 108, 989-998.
8. Sadamoto H., Takahashi, H., Okada, T., Kenmoku, H., Toyota, M., Asakawa, Y. (2012) De novo sequencing and transcriptome analysis of the central nervous system of mollusc *Lymnaea stagnalis* by deep RNA sequencing. PLoS One 7, e42546.
9. Ito E., Otsuka E., Hama N., Aonuma H., Okada R., Hatakeyama D., Fujito Y., Kobayashi S. (2012) Memory

trace in feeding neural circuitry underlying conditioned taste aversion in *Lymnaea*. PLoS One 7, e43151.

2011

10. Sadamoto, H., Saito, K., Muto, H., Kinjo, M. and Ito, E. (2011) Direct observation of dimerization between different CREB1 isoforms in a living cell. PLoS ONE 6, e20285.
11. Watanabe, T., Sadamoto, H., and Aonuma, H. (2011) Identification and expression analysis of the genes involved in serotonin biosynthesis and transduction in the field cricket *Gryllus bimaculatus*. Insect Mol Biol 20, 619-35.
12. Kawai R., Kobayashi S., Fujito Y., Ito E. (2011) Multiple subtypes of serotonin receptors in the feeding circuit of a pond snail. Zool Sci 28, 517-525.
13. Matsuo R., Kobayashi S., Yamagishi M., Ito E. (2011) Two pairs of tentacles and a pair of procerebra: optimized functions and redundant structures in the sensory and central organs involved in olfactory learning of terrestrial pulmonates. J Exp Biol 214, 879-886.
14. Matsuo R., Kobayashi S., Morishita F., Ito, E. (2011) Expression of Asn-d-Trp-Phe-NH₂ in the brain of the terrestrial slug *Limax valentianus*. Comp Biochem Physiol B 160, 89-93.

2010

15. Hatakeyama, D., Mita, K., Kobayashi, S., Sadamoto, H., Fujito, Y., Hiripi, L., Elekes, K. and Ito, E. (2010) Glutamate transporters in the central nervous system of a pond snail. J Neurosci Res 88, 1374-1386.
16. Matsuo R., Kobayashi S., Murakami J., Ito E. (2010) Spontaneous Recovery of the Injured Higher Olfactory Center in the Terrestrial Slug *Limax*. PLoS One 5, e9054.
17. Sadamoto, H., Kitahashi, T., Fujito, Y., and Ito, E. (2010) Learning-dependent gene expression of CREB1 isoforms in the molluscan brain. Front Behav Neurosci 4, 25.
18. Matsuo R., Kobayashi S., Tanaka Y., Ito E. (2010) Effects of tentacle amputation and regeneration on the morphology and activity of the olfactory center of the terrestrial slug *Limax valentianus*. J Exp Biol 213:3144-3149.
19. Kobayashi S., Fujito Y., Matsuyama K., Aoki M. (2010) Spontaneous respiratory rhythm generation in *in vitro* upper cervical slice preparations of neonatal mice. J Physiol Sci 60, 303-307.
20. Kobayashi S., Fujito Y., Matsuyama K., Aoki M. (2010) Raphe modulation of the pre-Böttinger complex respiratory bursts in *in vitro* medullary half-slice preparations of neonatal mice. J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol 196, 519-528.
21. Kobayashi S., Hattori M., Elekes K., Ito E., Matsuo R. (2010) FMRFamide regulates oscillatory activity of the olfactory center in the slug. Eur J Neurosci 32, 1180-1192.

シナプス伝達の調節機構の解明

[英文総説]

Kasai H, Takahashi N, Tokumaru H. (2012) “Distinct Initial SNARE Configurations Underlying the Diversity of Exocytosis” *Physiol Rev.* 92(4), 1915-1964

[著書・訳書]

1. 定本久世 (共著) 「身近な動物を使った実験(2)プラナリア・モノアラガイ・ナメクジ・ミミズ」 三共出版
2. 定本久世 (共著) 「研究者が教える動物飼育」 三共出版
3. 得丸博史 (共著) Sumiko Mochida Editor ” Presynaptic Terminals” Springer

[邦文総説・解説等]

1. 得丸博史, 清水-岡部千草, 阿部輝雄 “シナプス小胞の開口放出における Cpx の機能” (2010) *生体の科学* 61, 247-251
2. 阿部輝雄, 得丸博史 “シナプスをめぐるシグナリング” (2010) *生体の科学* 61, 530-531
3. 定本久世, 高橋 宏暢(2012) 技術ノート「次世代シーケンサーを用いた de novo トランスクリプトーム解析」*比較生理生化学*, 29: 131-134
4. 定本久世, 伊藤悦朗(2012). 「mRNA 絶対定量法によって明らかにされた長期記憶時の転写調節因子 CREB の増減」*生物物理*, 51: 18-21
5. 定本久世(2009). 「軟体動物腹足類の長期記憶形成に関わる分子メカニズム」*比較生理生化学*, 26: 163-8

口頭発表・学会発表 (2014年~2015年3月)

1. 定本久世, 栗生俊彦, 柳川右千夫 (2014) 海馬抑制性シナプス形成にともなう VAMP2 および VAMP4 の細胞内分布と機能解析 サンポートホール高松 第18回活性アミンに関するワークショップ 8月30日 (高松)
2. Sadamoto H., Kuriu T., Yanagawa Y. and Konishi S (2014) Synaptic localization and function of VAMP4 in developing inhibitory neurons. The 37th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, September 11-13, Yokohama, Japan.
3. 小林卓, 9th Federation of European Neuroscience Societies (FENS) Forum of Neuroscience, July 5-9, 2014. Milan, Italy.
4. 小林卓, 2014 International Neuroethology Congress (ICN) / Japan Society for Comparative Physiology and Biochemistry (JSCP), July 28 - Aug 1, 2014, Sapporo, Japan.
5. 小林卓, 日本動物学会第85回仙台大会, 2014年9月10日~13日, 仙台市, 東北大学
6. 小林卓, 第120回日本解剖学会総会・全国学術集会・第92回日本生理学会大会合同大会, 2015年3月21日~23日, 神戸市, 神戸国際会議場・展示場



研究分野

ヒト細胞の不死化と組織の再生

Human Cell Immortalization and Tissue Regeneration

教員

教授 高橋 知子 着任年月日：2004年4月1日

最終学歴：東京大学大学院医学系研究科博士課程修了。

医学博士。医師

前職：生理化学講座准教授

助教 松尾 平 着任年月日：2008年4月1日

最終学歴：岡山大学大学院医歯薬学総合研究科博士課程修了。薬学博士。薬剤師

前職：薬剤師

客員研究員 鎌田 瑞菜 着任年月日：2012年5月1日

最終学歴：徳島文理大学香川薬学研究科博士前期課程修了。薬剤師

前職：薬剤師

研究の概要

1. ヒト正常体細胞の寿命制御と癌化の研究

<目的>

ヒト体細胞は分裂寿命をもち、一定の分裂回数後に分裂停止する。それが癌化の予防になる反面、再生能の喪失をまねいて疾病の原因をつくると考えられる。

一方で、ヒト細胞を不死化することは、細胞再生能を獲得させる反面、癌化のリスクも向上すると予測される。しかし、これらは実証されておらず、そのメカニズムも不明で、細胞の不死化技術の確立及び不死化細胞の生物医学的応用が強く期待されている。

本研究では、1) ヒト体内の臓器から分離した有用な正常細胞を効率よく不死化する技術を確立すること、2) 不死化細胞から癌化に関わる遺伝子の同定および実証、3) 生体内への移植による臓器機能再生の実現を目指している。一方、4) iPS細胞の樹立と分化についても研究を行っている。

<主要な成果と今後の研究計画>

1) 不死化技術について

今までにヒト皮膚由来の繊維芽細胞、およびヒト血管由来の内皮細胞に対して、ヒトテロメラーゼ遺伝子 hTERT やウイルス由来 SV40T 抗原遺伝子等の導入によって、不死化細胞の樹立に成功している。そして、不死化にはさらに未知の遺伝子変化も必要であることを想定するにいたっている。実際、不死化が困難であったヒト繊維芽細胞 TIG-1 に hTERT 遺伝子を導入したところ、3株の不死化細胞株を樹立することができた。また、一連の実験で、単なる寿命延長を超えた、長寿命をもつ細胞株を1株樹立することができた。この樹立は今までに例のない細胞株である。

しかし、不死化細胞株を樹立できたものの、hTERT のみの導入では不死化の効率が非常に低いため、ヒト正常細胞を不死化する効率を飛躍的に高める技術を確立して、ヒト臓器内

の各種の機能細胞を培養系で不死化し、その機能を制御できる系を確立することが目標である。

2) 癌化に関わる遺伝子の研究について

TIG-1 に hTERT 遺伝子を導入した不死化細胞 IMT-1 は、免疫不全マウスへの移植実験、および軟寒天培地でのコロニー形成実験の結果から、造腫瘍性をもたないことが明らかとなった。細胞の不死化は、がん化に必要であるが、十分ではなく、がん化にはさらに多くの遺伝子変異が必要である。そこで、ヒトのがん組織で高率に変異が発見されている活性型 ras および変異型 p53 等の遺伝子を不死化細胞に導入し、試験管内で癌化させることを試みた。が、造腫瘍性は認められなかった。ひきつづき正常体細胞を癌化させるのに必要十分な遺伝子を同定し、各々の遺伝子発現と癌化との関連性を解明する。

3) 細胞移植による臓器再生について

我々はヒト血管内皮細胞を不死化することに成功しており、その機能が分裂加齢初期の正常な内皮細胞と類似していることを明らかにした。即ち、不死化細胞において若い細胞と同様な VEGF に対する感受性、VEGFR の発現、毛細管様構造の形成などが確認された。

動脈硬化が血管内皮細胞の分裂寿命に起因するとの知見から、不死化細胞の移植によって、動脈硬化の進展を予防出来るか否かを詳細に解析した。免疫不全ラット頸動脈の内皮細胞を剥離した動脈硬化モデル動物に対して、頸動脈内へ当細胞の移植を行ったところ、動脈硬化の割合が無処理のものに比べ著しく減少することが明らかとなった。

4) iPS 細胞の樹立と分化について

TIG-1 に Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc を導入することにより、iPS 細胞を作成することに成功した。免疫不全マウスに iPS 細胞を移植すると三胚葉分化能をもつ奇形腫が形成されるが、その腫瘍から分離した細胞の特性解析も行っている。

2. 生殖細胞の分化を制御する遺伝子の研究

<目的>

体細胞と違って生殖細胞は減数分裂をおこない、次世代に遺伝子を伝達する。そのため体細胞と異なるユニークな遺伝子発現と特異的な細胞分化をとげる。テロメラーゼが発現していることも分裂寿命の面で異なる運命を示唆する。しかし、これらの分子的な機序は不明のままである。一方、当研究室では、生殖細胞で特異的に発現する遺伝子、テスミン等を発見し、その機能解明を進めて来た。

本研究では、テスミン分子が生体内で果たす役割の解明を端緒として、その生物医学的な応用を図る事を目的として、

1) テスミン分子の核移行の意義と分子機序の解明、2) テ

ヒト細胞の不死化と組織の再生

スミン類似タンパク LIN54 の機能解析、3) 精原細胞株の樹立と試験管内での精子形成を当面の目標としている。

< 主要な成果と今後の研究計画 >

1) テスミンの核移行と意義について

テスミン分子が、精原細胞から精子形成に至る過程で、その細胞内局在が細胞質から核に移行することを明らかにした。また、その核移行は、ラットに重金属を投与すると、酸化ストレスを与えることによって、分化の早期に誘導できることを見いだした。一方、テスミン分子のアミノ酸配列から核移行シグナルや核排出シグナルも予想された。今後は、テスミンの変異体を作成し、その構造から、細胞内の局在変動に関わるアミノ酸配列を確定する。細胞質での酸化還元バランスの変動と細胞分化との関係を明らかにする。

2) テスミン類似タンパク質 LIN54 の機能解析について

精巣特異的に発現しているテスミンとは対照的に、LIN54 は多くの臓器で発現している。LIN54 の DNA 結合ドメインである CXC ドメインについて、その欠損変異体および一塩基置換変異体などを作製し LIN54 の細胞内局在を調べた。その結果、LIN54 が核内に局在するためには、CXC ドメインが必要であることがわかった。さらに作製した CXC ドメイン変異体を発現させた細胞では、細胞増殖の顕著な低下や異常な形態の核を持つ細胞が観察された。これらの異常は LIN54 が制御している細胞周期関連遺伝子の発現量の低下によって引き起こされていると考えられた。また LIN54 の C 末端側に存在する HCH ドメインを欠損させた変異 LIN54 は細胞増殖を阻害しなかった。HCH ドメインが LIN 複合体成分である LIN9 との相互作用に必要な領域であることもわかり、変異 LIN54 は LIN9 と相互作用することで細胞周期に影響を与えていると考えられた。今後は、LIN54 と LIN9 の細胞内局在と細胞周期制御との関係についてさらに明らかにしていく予定である。

3) 精原細胞株の樹立と試験管内での精子形成について

精原細胞の維持に必須な GDNF を分泌する feeder 細胞を作製し、これを用いてマウス精巣から分離した精原細胞の維持に成功している。この精原細胞株への遺伝子導入方法についてレンチウイルスを用いた系を確立し、テスミンなどの生殖細胞で特異的に発現する遺伝子の精子形成過程での役割を今後明らかにしていく。

外部資金導入実績

【奨学研究】

- 1) 三洋電機
「細胞の生理活性物質と遺伝子」
- 2) 山之内製薬株式会社中央研究所
「器官細胞の機能発現の研究」
- 3) 日本ロシュ株式会社研究所
「血管形成に関わる分子生物学」
- 4) 三共株式会社
「器官細胞の増殖因子に関する研究」
- 5) 東亜合成株式会社つくば研究所

- 「血管新生因子」
- 6) ホスバル株式会社
「内皮細胞の機能の制御」
- 7) エスエス製薬株式会社
「血管と神経の細胞に関する研究」

内部・外部との共同研究

1. 香川大学医学部 耳鼻咽喉科 星川広史准教授
「希少糖 D-allose が正常細胞に与える影響について」

外部誌上発表 (2010 年~2015 年 3 月)

[原著論文]

2014

1. Kamada M., Mitsui Y., Kumazaki T., Kawahara Y, Matsuo T., Takahashi T. Tumorigenic risk of human induced pluripotent stem cell explants cultured on mouse SNL76/7 feeder cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2014 Oct 24;453(3):668-73
2. Matsuo T., Ogawa W, Tsuchiya T, Kuroda T. Overexpression of *vmeTUV* encoding a multidrug efflux transporter of *Vibrio parahaemolyticus* causes bile acid resistance. *Gene.* (2014) 541(1):19-25.

2013

1. Tsutomu Kumazaki., Tomoko Takahashi., Taira Matsuo., Mizuna Kamada and Youji Mitsui. Re-emergence of undifferentiated cells from transplants of human induced pluripotent stem cells as a possible risk factor of tumorigenesis. *Cell Biology International Reports.* (2013) doi: 10.1002/cbi3.10012
2. Matsuo T., Nakamura K, Kodama T, Mikami T, Hiyoshi H, Tsuchiya T, Ogawa W, Kuroda T. Characterization of all RND-type multidrug efflux transporters in *Vibrio parahaemolyticus*. *Microbiologyopen.* (2013) 2(5):725-742.

2012

1. Kamada M., Kumazaki T., Matsuo T., Mitsui Y., and Takahashi T. Establishment of ultra long-lived cell lines by transfection of TERT into normal human fibroblast TIG-1 and their characterization. *Cell Biol Int.* 36(6):519-527.
2. Matsuo T., Kuramoto H., Kumazaki T., Mitsui Y. and Takahashi T. LIN54 harboring a mutation in CHC domain is localized to the cytoplasm and inhibits cell cycle progression. *Cell Cycle.* (2012) 11(17): 3227-3236

2011

1. Kumazaki T., Kurata S, Matsuo T., Mitsui Y. and Takahashi T. (2011) Establishment of human induced pluripotent stem cell lines from normal fibroblast TIG-1. *Hum Cell.* 24(2):96-103.
2. Nakamura K, Ikeda S, Matsuo T., Hirata A, Takehara M, Hiyama T, Kawamura F, Kusaka I, Tsuchiya T, Kuroda T, Yabe I. Patch clamp analysis of the respiratory chain in *Bacillus subtilis*. *Biochim Biophys Acta.* (2011) 1808(4): 1103-1107

口頭発表・学会発表 (2014 年~2015 年 3 月)

1. 高橋未彩、松尾平、三井洋司、高橋知子「細胞周期に関連する転写因子 LIN54 の機能解析」第 134 回 日本薬学会 2014/3/28~3/30 熊本
2. 鎌田瑞菜、熊崎努、松尾平、高橋知子、三井洋司「Re-emergence of iPS like cells from differentiated



human cells」 第37回 日本基礎老化学会 2014/6/26~6/27 愛知

3. 松尾平、鎌田瑞菜、熊崎努、高橋知子、三井洋司「ヒト細胞の老化と reprogramming」 第66回 日本皮膚科学会西部支部 2014/11/8~11/9 高松
4. 高橋未彩、松尾平、三井洋司、高橋知子「転写因子 LIN54 のタンパク質相互作用の解析と細胞周期への影響」 第53回 日本薬学会 中国四国支部学術大会 2014/11/8~11/9 広島

特許

[日本特許]

1. 澁谷正史、高橋知子、古谷安希子、設楽研也 (2004)「1175位チロシンがリン酸化したKDR/F1k-1に対する情報伝達分子の結合を阻害する物質およびその利用方法」再公表 02-029090号

[国際特許]

1. Tomoh Masaki, Katsutoshi Goto, Sadao Kimura, Youji Mitsui, Masabumi Shibuya, Tomoko Takahashi, Akiko Furuya. Kenya Shitara. (2005) 'Substance which inhibits binding of information transfer molecule for 1175-tyrosine phosphorylated KDR/F1k-1 and usages of the same' US20050004003A1

その他、新聞報道等

1. 高橋未彩 (香川薬学部6年生) : 平成26年度日本薬学会中国四国支部学生奨励賞



研究分野

数理モデルによる神経細胞の非線形現象の解析

Analysis of Nonlinear Phenomena of Mathematical Models of Neurons

教員

講師 白畑孝明 着任年月日：2013年4月1日

最終学歴：東京大学大学院薬学系研究科博士課程修了。

博士（薬学）。薬剤師。

前職：徳島文理大学助教

研究の概要

神経細胞は、その細胞膜に発現するさまざまな種類のイオンチャンネルの相互作用により、外部刺激に応答して活動電位を発生させることができる（電気的興奮性）。電気生理学実験で得られたデータにより、電気的興奮性を再現する数理モデル（非線形常微分方程式など）が記述される。この方程式を詳細に解析することで神経細胞のダイナミクスを理解することができる。

Robinson (An introduction to dynamical systems continuous and discrete, second edition, 2012年)によると、微分方程式の研究は、歴史的に3段階に分けられる。まず、17世紀ニュートンによる惑星運動の微分方程式による研究である。これに関連する研究は、オイラー、ラグランジュ、ハミルトンらに受け継がれ、18, 19世紀に大きく発展した。しかし、天体力学における三体問題に直面し、19世紀末期ポアンカレが微分方程式の幾何学的解析を提唱した。これを受け、20世紀には力学系の理論が大きく発展した。そして、1970年代以降、非線形微分方程式のコンピュータによる数値研究が発展した。特に、計算天体物理学の解説 (Stone, 2007年, Scholarpedia, 2 (10) : 2419) によると、複雑な方程式の数値解が、近似した方程式の解析解よりも多くの洞察を与えること（例えば、3次元における流体の流れの時間依存的な数値解は、時間非依存的方程式の1次元の解析解では予測されない挙動を示すことができる）が指摘されており、数値研究の有用性が認識され、現在に至っている。このような歴史的な経緯も踏まえると、数理モデルの数値研究による神経細胞のダイナミクスの理解は、現代数学および現代物理学の重要な研究課題の一つとして位置づけられる（米国数学会の Mathematics Subject Classification 2010、米国物理学協会 の Physics and Astronomy Classification Scheme 2010 を参照）。例えば、神経細胞のダイナミクスの研究は、応用数学 (Ermentrout と Terman, Mathematical Foundations of Neuroscience, Interdisciplinary Applied Mathematics 35, 2010年) および理論物理学 (Lim ほか, Progress of Theoretical Physics, 2009年) の領域で注目されている。

一方、先行研究によると、数理モデルの研究は、イオンチャンネル病の治療に用いる薬物の研究に有用である可能性が指摘されている（山口麗ほか、京都大学数理解析研究所講究録、

2009年）。また、米国の数学者及び物理学者の説に基づくと、数理モデルの研究が医療機器の開発に有用である可能性が期待される (Malashchenko ほか, Physical Review E, 2011年)。また、数理モデルを用いた医薬品開発が製薬産業で注目されている (Gieschke ほか, Development of innovative drugs via modeling with Matlab, 2014年)。2011年10月、アメリカ国立衛生研究所 (NIH) の白書が、” Quantitative and Systems Pharmacology in the Post-genomic Era: New Approaches to Discovering Drugs and Understanding Therapeutic Mechanisms ” を発表し、定量的システム薬理学という枠組みで、数理モデルの解析により医薬品開発の可能性を指摘した。特に、中枢神経系の疾患に対して定量的システム薬理学を適用するときには、計算神経科学が中核的な位置を占めると考えられている (Geerts ほか, CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology, 2012年)。従って、数理モデルにより応用数学および理論物理学の研究を推進することで、計算神経科学研究を発展させることが、今後の医学および薬学において重要であると考えられる。実際、20 years of computational neuroscience (Bower, 2013年)での序文において、NIHの理論及び計算神経科学プログラムのプログラムチーフである Glanzman らが、” The NIH has long recognized the importance of the field of computational neuroscience ”、と宣言しており、NIHが計算神経科学研究を重視していることがわかる。以上の点を踏まえ、神経細胞の電気的興奮性を記述する非線形常微分方程式の解析を研究課題としている。以下に具体的な研究課題を述べる。

(1) 弱電気魚類の電気感覚神経細胞のゴーストバースティングの解析

弱電気魚類は電気感覚を有し、電気交信、電気定位などの生理機能を発揮する。これらの神経メカニズムの解明は計算神経科学の重要なテーマの一つである。このメカニズムに関与する重要な神経細胞のひとつとして電気感覚側線索に存在する錐体細胞があげられる。Doiron らはこの神経細胞のゴーストバースティングを記述する縮小型の2コンパートメントのイオン電流モデルを開発した (Doiron ほか, Journal of computational neuroscience, 2002年)。このモデルでは、細胞体および樹状突起の各コンパートメントに、ナトリウム、カリウム、リーク、及びカップリングの各コンダクタンスが存在し、神経細胞の電気的興奮性を非線形常微分方程式として記述した。Doiron らは、この方程式の fast/slow decomposition によるサブシステム分岐解析をおこない、その結果、状態点が、位相空間内において、速いサブシステムにおける固定点の鞍点-結節点分岐のゴーストを通過するこ

とに注目して、ゴーストバースティングという概念を提唱した。Doironらの研究では外部入力および樹状突起のカリウムコンダクタンスの二つをコントロールパラメータとしてこの方程式のフルシステムの分岐解析を行い、この方程式の力学的状態および分岐について明らかにした。それによると、2次元パラメータ空間内に余次元 -2 の分岐点が存在し、それは、静止状態から持続的発火状態への転移に相当する固定点の鞍点-結節点分岐曲線と持続的発火状態からバースト発火状態の転移に相当するリミットサイクルの鞍点-結節点分岐曲線の交点であることが明らかにされた。さらに、樹状突起のカリウムコンダクタンスの水準が余次元 -2 の分岐点のそれより高い場合のゴーストバースティングのパターンも明らかにされた。しかし、カリウムコンダクタンスの水準が余次元 -2 の分岐点のそれより低い場合のゴーストバースティングのパターンは詳細には明らかにならなかったため、この点について検討した。

その結果、先行研究で明らかにされていたパターンとは異なるさまざまなバーストパターンが存在し、さらに、それらのパターンは2次元パラメータ空間内で複雑な分布であることが分かった (Shirahata, *Acta Biologica Hungarica*, 2012年)。このパターンと分岐曲線の関係も分かった。さらに、これらのパターンの中で周期性の違いも分かった。

また、ゴーストバースティングには樹状突起のカリウム電流の不活性化時定数が重要な役割を果たすことが Doiron ら (*Journal of computational neuroscience*, 2002年) により指摘されているが、この値が変動したとき、ゴーストバースティングがどのような影響を受けるかは詳細には明らかにされなかったため、この点について検討した。

そこで、ゴーストバースティングにおいては、外部入力および樹状突起のカリウムコンダクタンスが重要なシステムパラメータであることを踏まえ、このパラメータからなる2次元パラメータ空間の力学状態が時定数の変動によりどのような影響を受けるかを検討した。その結果、2次元パラメータ空間内でのゴーストバースティングの領域が非線形的に変動することが明らかとなった (Shirahata, *Applied Mathematics*, 2015年)。

非線形常微分方程式においては、多次元パラメータ空間内の分岐多様体により力学的状態のトポロジーの違いが明らかにされる (Do ほか, *Self-organization in continuous adaptive networks*, 2012年)。今後、この点を考慮しこのモデル中のコントロールパラメータの変動によるダイナミクスの変動を詳細に明らかにすることが重要である。

(2) 軟体動物カタツムリの同定神経細胞 RPa1 の歩調とりの解析

カタツムリの同定神経細胞 RPa1 の電気生理学実験により、この細胞はさまざまな電気活動 (周期的持続的スパイク発火、カオスの持続的スパイク発火、周期的バースト発火など) を示すことが分かっている。Komendantov らは、これらの活動

を再現するために、カルシウムダイナミクスを含有したイオン電流モデルを提唱した (Komendantov ほか, *Journal of theoretical biology*, 1996年)。このモデルは、ゆっくりとした波動の生成メカニズム、スパイク生成メカニズム、細胞内カルシウムダイナミクスを制御するメカニズム、及び2つのタイプのカルシウムコンダクタンスで構成される非線形常微分方程式である。Komendantov らによると、この方程式が示すスパイクには4つの力学的状態、すなわち、周期1のスパイク、周期2のスパイク、周期4のスパイク、及びカオスのスパイクが存在する。上記の4つのスパイク状態の存在は、この方程式が周期倍分岐を示すことを意味している。さらに、双安定性の解析を行い、周期1のスパイクと周期的バースト発火の共存 (Komendantov ほか, *Neurophysiology*, 1998年)、及び、カオスのスパイクと周期的バースト発火の共存 (Komendantov ほか, *Journal of theoretical biology*, 1996年) が明らかにされたが、周期2のスパイク、周期4のスパイクがそれぞれ周期的バーストと共存するかどうかについては明らかでなかったため、この点について検討した。

その結果、これら二つのスパイク状態はそれぞれ周期的バーストと共存することが分かった (Shirahata, *Acta Biologica Hungarica*, 2013年)。Cymbalyuk らは、無脊椎動物ヒルの central pattern generator の介在神経細胞の方程式も、適切な条件設定のもとで、上記と同様にスパイクの周期倍分岐を示すことを明らかにしている (Cymbalyuk ほか, *Journal of computational neuroscience*, 2005年)。さらに、介在神経細胞の方程式の双安定性も明らかにされたが、本研究結果との違いも分かった。Cymbalyuk らはヒルの方程式を力学系理論に基づいて幾何学的に解析し、1960年の *Sov Math Dokl* に発表された Pontryagin の常微分方程式の周期解に関する論文で示された考え方を利用して位相空間における周期軌道を明らかにし、二つのアトラクターの吸引領域を分割するセパラトリクスが鞍点周期軌道の2次元安定多様体であることを示した。この点を踏まえると、今後、Komendantov のモデルにおいて、双安定性を位相空間内で説明すること、特に共存する二つのアトラクターおよびそれらの吸引領域を分割する閾多様体を明らかにすることが重要である。

(3) ラットの new 皮質第5層錐体神経細胞の興奮性の解析

上記神経細胞は、一過的な興奮刺激に対し、持続的な周期的発火をすることが知られており、これを再現するイオン電流モデルが提唱されている (Delord ほか, *Neuroreport*, 1997年)。このモデルは、通常の速いナトリウム、カリウムコンダクタンス、リークコンダクタンスのほかに持続的ナトリウムコンダクタンスを含む。Delord らの研究は、持続的ナトリウムコンダクタンスとリークコンダクタンスをモデルの力学的状態と関連づけ、特に双安定性と持続的ナトリウム電流の関連を明らかにした点で計算神経科学研究において重要である。彼らは、持続的ナトリウムおよびリークコンダクタンスに注目し、システムパラメータ空間での力学的状態を3種類に分



類した。しかしながら、速いナトリウムコンダクタンスが、システムの力学的状態にどのような影響を与えるか、特に持続的ナトリウムコンダクタンスとどのように関係があるのかは不明だった。そこで、この2つのコンダクタンスをシステムパラメータとして、パラメータ感受性を検討した。

その結果、速いナトリウムコンダクタンスが持続的発火に重要であることが明らかとなった (Shirahata, *Acta Biologica Hungarica*, 2014年)。アマクリン細胞モデルにおけるパラメータ感受性解析の結果 (Shirahata, *Acta Biologica Hungarica*, 2011年) と比較して、パラメータ空間内での力学的状態の分布に違いが見出された。

外部誌上発表 (2010年~2015年3月)

[原著論文]**2015**

1. Shirahata, T. (2015). Evaluation of kinetic properties of dendritic potassium current in ghostbursting model of electrosensory neurons. *Applied Mathematics*, 6(1), 128-135.

2014

2. Shirahata, T. (2014). Effect of sodium conductance variations on electrical behavior of a neocortical neuron model. *Acta Biologica Hungarica*, 65(4), 379-384.

2013

3. Shirahata, T. (2013). Novel types of bistability in a model of a bursting pacemaker neuron RPa1 from the snail, *Helix pomatia*. *Acta Biologica Hungarica*, 64(1), 131-135.

2012

4. Shirahata, T. (2012). Analysis of the electrosensory pyramidal cell bursting model for weakly electric fish: Model prediction under low levels of dendritic potassium conductance. *Acta Biologica Hungarica*, 63(3), 313-320.

2011

5. Shirahata, T. (2011). The effect of variations in sodium conductances on pacemaking in a dopaminergic retinal neuron model. *Acta Biologica Hungarica*, 62(2), 211-214.



研究分野

神経科学研究所

Institute of Neuroscience

設置の趣旨

本研究所は、ヒトの神経・精神疾患の治療の基礎となる、神経科学に関する基礎的研究を行い、その成果を対外的に発表することを通じて、徳島文理大学の社会的貢献の一翼を担うことを目的とする。

部門と構成員

所長 小西史朗

神経生理学部門 (Division of Neurophysiology) :

桐野 豊・岸本泰司・窪田剛志・小林 卓

神経薬理学部門 (Division of Neuropharmacology) :

小西史朗・得丸博史・富永貴志・鴻海俊太郎

神経生物学部門 (Division of Neurobiology) :

栗生俊彦・定本久世

組織病理学部門 (Division of Histopathology) :

伊藤悦朗・宋 時栄・中島健太郎

研究の概要

神経科学研究所に関する研究の概要、外部誌上発表、口頭発表・学会発表、特許およびその他・新聞報道等は、香川薬学部年報における上記の当該構成員が所属する研究グループの個所に記す。これを神経科学研究所の年報とする。