

2.7.3 研究分野:生命有機化学

構成員：	教授	入江 一浩 (比較農業論講座担当：平井 伸博 (関係教員))
	助教	村上 明
	助教	村上 一馬
	大学院博士後期課程	3名
	大学院修士課程	9名
	専攻4回生	4名
	博士研究員 (PD)	2名

A. 研究活動 (2009.4~2010.3)

A-1. 研究概要

a) アプリシアトキシンをリードとした新しい抗がん剤の開発

海洋天然物ブライオスタチン (bryo) は、副作用の少ない抗がん剤であり、近年アルツハイマー病やうつ病などの難治性疾患治療薬候補としても注目されている。しかしながら、bryo の天然からの単離収率は極めて低く、全合成も困難であるため、供給問題が研究の効率的な進展を妨げている。Bryo のターゲットの一つは、細胞内情報伝達の鍵酵素であるプロテインキナーゼ C (PKC) であるが、強力な PKC 活性化剤として知られる発がんプロモーターとは異なる活性化機構を示す。そこで、発がんプロモーターの一つであるアプリシアトキシンが bryo と類似の骨格を有することに着目し、その分子疎水性を低下させた単純化アナログ・Aplog 類 4 種を合成した。これらの中で、スピロケタールならびに側鎖にジメチル基を有する誘導体が、39 種のヒトがん細胞パネルを用いた抗がん試験において、bryo と同等の増殖抑制活性と抗発がんプロモーション活性を示した。

b) アルツハイマー病因ペプチドの化学

アルツハイマー病 (AD) の原因物質である 42 残基の β アミロイドタンパク質 ($A\beta$ 42) は、神経細胞毒性とともに高い凝集性を示す。 $A\beta$ 42 の毒性コンホマーに特徴的な 22 及び 23 番目におけるターン構造をとりやすくしたペプチド (E22P- $A\beta$ 10-35) を、BSA に結合したものを免疫原としてモノクローナル抗体を作成した。クローンの選別を、ターン形成能が異なる各種 $A\beta$ 42 変異体を用いて行なったところ、 $A\beta$ 42 の神経細胞毒性を阻害するモノクローナル抗体 (11A1) を得ることに成功した。11A1

でAD患者脳を免疫染色したところ、上記ターン領域と同じ一次配列をエピトープとする市販抗体によって染色されない神経細胞内のアミロイド蓄積物が染色された。さらに、11A1は本市販抗体に比べてAD脳抽出物中のオリゴマーに強く反応した。以上より、11A1は有用なAD診断薬になる可能性がある。

c) 食品因子の生理機能の解明と作用分子メカニズム解析

(±)-13-hydroxy-10-oxo-trans-11-octadecenoic acid (HOA)は、コーンにおけるリノール酸代謝産物である。本研究では、マウス皮膚におけるTPAによる炎症及び発がんプロモーションに対するHOAの抑制作用を評価し、その分子メカニズムの解明を試みた。HOA (1600 nmol)はマウス皮膚炎症を95%抑制し、同用量で腫瘍発生率を24%、腫瘍数を64%減少させた。また、HOAを処理したマウスでは、皮膚の厚さ、浸潤白血球数及び増殖細胞率が用量依存的に低下した。さらに軟寒天中でのコロニー形成に対して8 μ Mでは70%、40 μ Mでは完全に抑制する一方で、40 μ MではmRNAとタンパク質レベルでpdc4の発現を増加させ、その効果はCOX-2阻害剤NS-398よりも高かった。HOAは、発がん抑制タンパク質Pdc4の発現を増加させたが、これは食品因子としては初めての例である。

d) 植物ホルモン・アブシシン酸の生物工学的研究

アブシシン酸 (ABA) は気孔の閉鎖を通じて植物を乾燥から保護する作用を有しているホルモンである。その作用を農業生産に有効に利用することを目的として、ABAを不活性化する最も重要な最初の代謝酵素・ABA 8'位水酸化酵素に対する阻害剤の開発を静岡大学ならびに千葉大学の研究者と共同で実施し、有望な活性を示す誘導体を得た。一方、ABAの代謝物質・ファゼイン酸を完全に不活性化するファゼイン酸還元酵素の同定を目的として、ファゼイン酸還元活性を示す植物をスクリーニングし、マメ科植物が高い活性を示すことを見出した。その抽出液からファゼイン酸還元酵素を500倍以上の比活性にまで精製した。

e) 菌根の化学生態学

菌根菌を形成する担子菌はしばしばフェアリーリングと呼ばれる環状の子実体形成を示す。興味深いことにフェアリーリング内側はその外側に比べて細菌類や糸状菌類が圧倒的に少なく、アカマツの場合これが菌根由来の抗菌物質によるものであることが1967年に本学の研究者によって示されている。数年前からこの抗菌物質の解明に取り組み、これまでアカマツ根に含まれる抗菌物質としてトタロールなどのジテルペンを単離同定してきた。しかるに本年、これらとは異なる挙動を示す別の抗菌成分の存在を見出し、この成分が水溶性であり、ジテルペンとは異なる物質であることを明らかにした。

A-2. 研究業績 (国内・国外含む)

a) 成果刊行

著 書

• Murakami, A. and Ohigashi, H. : Anti-inflammatory and Anti-carcinogenesis Potentials of Citrus Coumarins and Polymethoxyflavonoids. In *Nutrigenomics and Proteomics in Health and Disease*, Mine, Y., Miyashita, K. and Shahidi, F. (Eds.), pp. 311-324, Wiley-Blackwell, New York, 2009

原著論文 (査読付)

• Nakagawa, Y., Yanagita, R. C., Hamada, N., Murakami, A., Takahashi, H., Saito, N., Nagai, H. and Irie, K. : The simple analogue of tumor-promoting aplysiatoxin is an antineoplastic agent rather than a tumor promoter: Development of a bryostatin-like PKC δ activator having the aplysiatoxin skeleton. *J. Am. Chem. Soc.* 131; 7573-7579, 2009

• Huynh, M. U., Elston, M. C., Hernandez, N. M., Ball, D. B., Kajiyama, S.-i., Irie, K., Gerwick, W. H. and Edwards, D. J. : Enzymatic production of (-)-indolactamV by LtxB, a cytochrome P450 monooxygenase. *J. Nat. Prod.* 73; 71-74, 2010

• Kondo, T., Kajita, R., Miyazaki, A., Hokoyama, M., Nakamura-Miura, T., Mizuno, S., Masuda, Y., Irie, K., Tanaka, Y., Takada, S., Kakimoto, T. and Sakagami, Y. : Stomatal density is controlled by a mesophyll-derived signaling molecule. *Plant Cell Physiol.* 51; 1-8, 2010

• Yasuda, M., Nishizawa, T., Ohigashi, H., Tanaka, T., Hou, D. X., Colburn, N. H. and Murakami, A. : Linoleic acid metabolite suppresses skin inflammation and tumor promotion in mice: Possible roles of programmed cell death 4 induction. *Carcinogenesis* 30; 1209-1216, 2009

• Ohnishi, K., Irie, K. and Murakami, A. : In vitro covalent binding proteins of zerumbone, a chemopreventive food factor. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 73; 1905-1907, 2009

• Kim, M., Miyamoto, S., Ohigashi, H., Tanaka, T. and Murakami A. : The modifying effects of green tea polyphenols on acute colitis and inflammation-associated colon carcinogenesis in male ICR mice. *Biofactors* 36; 43-5, 2010

• Miyamoto, S., Yasui, Y., Ohigashi, H., Tanaka, T. and Murakami, A. : Dietary flavonoids suppress azoxymethane-induced colonic preneoplastic lesions in male C57BL/KsJ-db/db mice. *Chem. Biol. Int.* 183; 276-283, 2010

• Miyamoto, S., Tanaka, T. and Murakami, A. : Increased visceral fat mass and insulin signaling in colitis-related colon carcinogenesis model mice. *Chem. Biol. Int.* 183; 271-275, 2010

- Rahimi, R., Murakami, K., Summers, J. L., Chen, C-H. B. and Bitan, G.: RNA aptamers generated against oligomeric A β 40 recognize common amyloid aptatopes with low specificity but high sensitivity. PLoS ONE 4: e7694, 2009
- Kajikawa, M., Hirai, H. and Hashimoto, T: A PIP-family reductase is required for biosynthesis of tobacco alkaloids. Plant Mol. Biol. 69; 287-298, 2009
- Todoroki, Y., Kobayashi, K., Shirakura, M., Aoyama, H., Takatori, K., Nimitkeatkai, H., Jin, M.-H., Hiramatsu, S., Ueno, H., Kodo, S., Mizutani M. and Hirai, N.: Abscinazole-F-1, a conformationally restricted analogue for the plant growth retardant uniconazole and an inhibitor of ABA 8'-hydroxylase CYP707A with no growth-retardant effect. Bioorg. Med. Chem. 17; 6620-6630, 2009
- Todoroki, Y., Aoyama, H., Hiramatsu, S., Shirakura, M., Nimitkeatkai, H., Kondo, S., Ueno, K., Mizutani, M. and Hirai, N.: Enlarged analogues of uniconazole, new azole containing inhibitors of ABA 8'-hydroxylase CYP707A. Bioorg. Med. Chem. Lett. 19; 5782-5786, 2009

総説

- 増田裕一、入江一浩：ポリフェノールによるアルツハイマー病予防の可能性. FFI ジャーナル, 215; 53-59, 2009
- Murakami, A.: Chemoprevention with phytochemicals targeting inducible nitric oxide synthase. Forum Nutr. 61; 193-203, 2009

報告書等

- 入江一浩：科学研究費補助金 基盤研究 (A)：アミロイド β の毒性オリゴマーの構造解析に基づいた抗アルツハイマー病薬の開発 平成 21 年度研究実績報告書
- 入江一浩：科学研究費補助金 挑戦的萌芽研究：インドール環 4 位への窒素原子導入酵素の触媒機構の解析と応用 平成 21 年度研究実績報告書
- 村上 明：厚生労働省がん研究助成金：生体における炎症発がんの分子機構の解明とその予防に関する研究 平成 21 年度研究成果報告書
- 村上 明：科学研究費補助金 基盤研究 (C)：大腸発がんにおけるアディポサイトカインの役割と予防食品因子の解明 平成 21 年度研究実績報告書
- 村上一馬：科学研究費補助金 特別研究員奨励費： β アミロイドの病的コンホメーションを標的としたアルツハイマー病治療薬の設計 平成 21 年度研究実績報告書
- 平井伸博：科学研究費補助金 基盤研究(B)：半乾燥地帯における植物の環境ストレス保護剤の開発 研究成果報告書

特許

・特願 2009-239542 「アミロイドβのターン構造を認識する抗体」、発明者：入江一浩、村上一馬、増田裕一、清水孝彦、白澤卓二、清藤 勉、出願人：国立大学法人京都大学、財団法人東京都高齢者研究・福祉振興財団 東京都老人総合研究所、株式会社免疫生物研究所、出願日：2009年10月16日

b) 学会発表

- ・2010年度日本農芸化学会大会（11件）
- ・第32回日本分子生物学会年会（1件）
- ・第11回国際有機化学京都会議（1件）
- ・第39回北米神経科学会議（2件）
- ・第44回天然物化学談話会（1件）
- ・第57回有機合成化学協会関東支部シンポジウム（1件）
- ・第25回内藤コンファレンス（招待1件）
- ・第16回日本がん予防学会（招待1件）
- ・第14回日本フードファクター学会（2件）
- ・第24回日本香辛料研究会（1件）
- ・第38回環境変異原学会（招待1件）
- ・日本ケミカルバイオロジー研究会第4回年会（1件）
- ・植物化学調節学会第44回大会（3件）

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等（役割）

- ・入江 一浩：日本農芸化学会（関西支部評議員）、天然有機化合物討論会（世話人会メンバー）、新規素材探索研究会（幹事）、日本認知症学会（評議員）、天然物化学談話会（アドバイザー）
- ・村上 明：日本がん予防学会（評議員）、日本フードファクター学会（理事）、日本酸化ストレス学会（評議員）
- ・村上 一馬：天然物化学談話会（世話人会メンバー）

競争的資金等獲得状況

①科学研究費補助金

- ・基盤研究（A）：入江 一浩：アミロイドβの毒性オリゴマーの構造解析に基づい

た抗アルツハイマー病薬の開発

- ・挑戦的萌芽研究：入江 一浩：インドール環4位への窒素原子導入酵素の触媒機構の解析と応用
- ・基盤研究(C)：村上 明：大腸発がんにおけるアディポサイトカインの役割と予防食品因子の解明
- ・特別研究員奨励費：村上 一馬： β アミロイドの病的コンホメーションを標的としたアルツハイマー病治療薬の設計
- ・基盤研究(B)：近藤 悟（平井 伸博 分担）：アブシシン酸水酸化酵素の制御による果樹の水分ストレス耐性付与技術の開発

②その他の競争的資金

- ・厚生労働省がん研究助成金：村上 明：生体における炎症発がんの分子機構の解明とその予防に関する研究

A-4. 国際交流・海外活動

所属学会等（役割）

- ・入江 一浩：アメリカ化学会（会員）、北米神経化学会（会員）
- ・村上 明：米国癌学会（会員）
- ・村上 一馬：アメリカ化学会（会員）、北米神経化学会（会員）

国際会議・研究集会等（国、役割）

- ・入江 一浩：第25回内藤コンファレンス（日本、招待講演）、第39回北米神経科学会議（米国、研究発表）、第11回国際有機化学京都会議（日本、研究発表）
- ・村上 明：第2回天然物と機能性食品に関する日伊合同シンポジウム（日本、招待講演）、第3回国際がんトランスレーショナルリサーチ学会（インド、招待講演）
- ・村上 一馬：第39回北米神経科学会議（米国、研究発表）

B. 教育活動（2009.4～2010.3）

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目（担当教員）

- ・学部： 生命有機化学（入江）、有機化学実験及び実験法（入江・村上 明・平井）、食品有機化学 I（入江）、食品有機化学 II（入江）、食品有機化学 III（入江）、食品生物学入門及び実習（入江・村上 明・平井分担）

- ・大学院： 生命有機化学専攻演習（入江・村上 明・村上一馬・平井）、生命有機化学専攻実験（入江・村上 明・村上一馬・平井）

B-2. 学外における教育活動

学外非常勤講師

- ・入江 一浩：名古屋大学生命農学研究科応用分子生命科学専攻（生体反応有機化学）

B-3. 国際的教育活動

留学生・外国人研修員の受入

- ・留学生： 修士課程 1名（タイ）

C. その他

- ・入江 一浩：京都市医・工・ライフサイエンス連携プロジェクト検討委員会（委員）
- ・村上 明：京都市ベンチャー企業目利き委員会（委員）、イノベーション創出基礎的研究推進事業審査委員会（委員）