

講座 食品生命科学

2.7.3 研究分野：生命有機化学

構成員：教授	入江一浩
助教	村上 明、村上一馬
関係教員	平井伸博（比較農業論講座）
大学院博士後期課程	3名
大学院修士課程	7名
専攻4回生	3名
博士研究員（PD）	1名
研究員	1名

A. 研究活動（2010.4～2011.3）

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シードの開発

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るとともに化学的安定性を付与した単純化アナログであるAplog類数種を合成した。39種のヒトがん細胞パネルを用いた細胞増殖抑制試験の結果、スピロケタール部分の疎水性が活性発現に重要であることが明らかになった。一方、側鎖部分の水酸基は活性にほとんど影響を与えなかった。

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残基のアミロイドβタンパク (Aβ42) は、神経細胞毒性とともに高い凝集性を示す。当研究室におけるこれまでの研究により、Aβ42は、22及び23番目の残基においてターン構造をとることによってオリゴマーを形成し、毒性を示すことが明らかになっている。最近、AβのGlu-22が欠失した遺伝性のアルツハイマー病 (Osaka mutation) が報告された。そこで本変異Aβ42ならびにAβ40を合成し、それらの各種物理化学的性質ならびに細胞毒性を詳細に検討した。その結果、Glu-22の欠失は、Aβの凝集、ラジカル産生ならびにシナプス毒性を増大させることが明らかになった。

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

Zerumbone (ZER) は、抗発がん性セスキテルペンであり、その作用機構として、解毒酵素誘導及び抗炎症作用が挙げられる。ZERの活性発現に重要なα, β-不飽和カルボニル基が、Keap1と共有結合を形成する可能性を想定し、本物質の生理活性発現メカニズムの解明を試みた。ZERのbiotin標識体 (BioZER) を処理した細胞から結合タンパク質を回収した。Western blotにより、解毒及び炎症反応に関与する総計28種のシグナル伝達分子との結合を評価したところ、23種との有意な結合を認めた。また、各タンパク質のバンド強度から結合選択性を評価した結果、Keap1に対して最も高い選択性を示すことが示唆された。次に、Nrf2標的遺伝子に対するZERの作用を幅広く評価するため、網羅的解析を行ったところ、抗酸化・解毒酵素に加え、分子シャペロンであるHSPsの誘導作用も確認された。ZERは、Keap1と選択的に共有結合を形成することでNrf2標的遺伝子の発現を誘導するだけでなく、HSPsを介し、他の生体防御機構も活性化させる可能性が示唆された。

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。しかしながら、外部から投与したABAは代謝によって急速に不活性化され、作用が持続しない。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昨年に引き続き、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と改良を静岡大学ならびに千葉大学の研究者と共同で実施した。一方、ABA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、マメ科植物よりファゼイン酸還元酵素精製し、活性画分をMS分析した結果、相同性の高い遺伝子配列をもつ既知酵素を見出した。

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40年以上前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ジテルペンを同定してきた。しかるに今回初めてマツタケ菌根を入手し、ジテルペンとは異なる水溶性抗菌物質を有することを明らかにするとともに、その抗菌物質が既知の抗生物質とは異なること、熱に安定な低分子であることを明らかにした。現在、その同定のため精製を進めている。

A-2. 研究業績（国内・国外含む）

a) 成果刊行

著 書

・Murakami, A.: Cancer Preventive Phytochemicals from Southeast Asian Countries: In Vivo Activities and Underlying Molecular Mechanisms. In Bioactive Foods and Extracts, Watson, R.R, Preedy, VR (Eds), pp. 211-221, CRC Press, 2010

・Hirai, N. Absciscic acid. In Comprehensive Natural Products Chemistry II. Vol. 4: Chemical Ecology, ed. by Mori, K., pp. 53-67, Elsevier, 2010

原著論文（書評論文を含む）

・Nakagawa, Y., Kikumori, M., Yanagita, R. C., Murakami, A., Tokuda, H., Nagai, H. and Irie, K.: Synthesis and biological evaluation of the 12,12-dimethyl derivative of aplog-1, an anti-proliferative analogue of tumor-promoting aplysiatoxin. Biosci. Biotechnol. Biochem., in press, 2011 査読有

・Murakami, K., Murata, N., Ozawa, Y., Kinoshita, N., Irie, K., Shirasawa, T. and Shimizu, T.: Vitamin C restores behavioral deficits and A β oligomerization without affecting plaque formation in a mouse model of Alzheimer's disease. J. Alzheimers Dis., in press, 2011 査読有

・Yanagita, R. C., Kamachi, H., Tanaka, K., Murakami, A., Nakagawa, Y., Tokuda, H., Nagai, H. and Irie, K.: Role of the phenolic hydroxyl group in the biological activities of simplified analogue of aplysiatoxin with antiproliferative activity. Bioorg. Med. Chem. Lett., 20(20); 6064-6066, 2010 査読有

・Murakami, K., Horikoshi-Sakuraba, Y., Murata, N., Noda, Y., Masuda, Y., Kinoshita, N., Hatsuta, H., Murayama, S., Shirasawa, T., Shimizu, T. and Irie, K.: Monoclonal antibody against the turn of the 42-residue amyloid β -protein at positions 22 and 23. ACS Chem. Neurosci., 1(11); 747-756, 2010 査読有

・Murata, N., Murakami, K., Ozawa, Y., Kinoshita, N., Irie, K., Shirasawa, T. and Shimizu, T.: Silymarin attenuated the amyloid β plaque burden and improved behavioral abnormalities in an Alzheimer's disease mouse model. Biosci. Biotechnol. Biochem., 74(11); 2299-2306, 2010 査読有

• Suzuki, T., Murakami, K., Izuo, N., Kume, T., Akaike, A., Nagata, T., Nishizaki, T., Tomiyama, T., Mori, H. and Irie, K.: E22D Mutation in amyloid β -protein promotes β -sheet transformation, radical production and synaptotoxicity, but not neurotoxicity. *Int. J. Alzheimers Dis.*, ID 431320 (8 pages), 2010 査読有

• Onuma, K., Suenaga, Y., Sakaki, R., Yoshitome, S., Sato, Y., Ogawara, S., Suzuki, S., Kuramitsu, M., Yokoyama, H., Murakami, A., Hamada, J., Nicolson, G.L., Kobayashi, M., Fujii, J. and Okada, F.: Development of a quantitative bioassay to assess preventive compounds against inflammation-based carcinogenesis. *Nitric Oxide*, in press, 2011 査読有

• Yamamoto, N., Kawabata, K., Sawada, K., Ueda, M., Fukuda, I., Kawasaki, K., Murakami, A. and Ashida, H.: Cardamonin stimulates glucose uptake through translocation of glucose transporter 4 in L6 myotubes. *Phytother. Res.*, in press, 2011 査読有

• Sciullo, E.M., Vogel, C.F., Wu, D., Murakami, A., Ohigashi, H. and Matsumura, F.: Effects of selected food phytochemicals in reducing the toxic actions of TCDD and p,p'-DDT in U937 macrophages. *Arch. Toxicol.* 84(12); 957-966, 2010 査読有

• Yasuda, M.*, Schmid, T.*, Rubsamen, D., Colburn, N.H., Irie, K. and Murakami, A.: Down-regulation of programmed cell death 4 by inflammatory conditions contributes to the generation of the tumor promoting microenvironment. (*equally contributed). *Mol. Carcinog.* 49(9); 837-848, 2010 査読有

• Yasuda, M., Irie K. and Murakami, A.: Genistein inhibits lipopolysaccharide-induced down-regulation of programmed cell death 4 in RAW 264.7 mouse macrophages. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 74(5); 1095-1097, 2010 査読有

• Sekiguchi, H., Irie, K. and Murakami, A.: Auraptene suppresses *Helicobacter pylori* adhesion and IL-8 production via targeting ERK 1/2-dependent CD74 expression in NCI-N87 gastric carcinoma cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 74(5); 1018-1024, 2010 査読有

• Todoroki, Y., Naiki, K., Aoyama, H., Shirakura, M., Ueno, K., Mizutani, M. and Hirai, N. Selectivity improvement of an azole inhibitor of CYP707A by replacing the monosubstituted azole with a disubstituted azole. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 20; 5506-5509, 2010 査読有

• Irie, K., Yanagita, R. C. and Nakagawa, Y.: Challenges to the development of bryostatin-type anticancer drugs based on the activation mechanism of protein kinase C δ . *Med. Res. Rev.*, in press. 査読有

・Murakami, K., Masuda, Y., Shirasawa, T., Shimizu, T. and Irie, K.: The turn formation at positions 22 and 23 in the 42-mer amyloid β peptide: the emerging role in the pathogenesis of Alzheimer's disease. Geriat. Geront. Int., 10; S169-S179, 2010 査読有

・Murakami, K., Shimizu, T. and Irie, K.: Formation of the 42-mer amyloid β radical and the therapeutic role of superoxide dismutase in Alzheimer's disease. J. Amino Acids, ID 654207 (10 pages), 2011 査読有

・Nishiumi, S.*, Miyamoto, S.*, Kawabata, K.*, Ohnishi, K., Mukai, R., Murakami, A., Ashida, H., Terao J.: Dietary flavonoids as cancer-preventive biofactors. Front Biosci, in press. *These authors equally contributed. 査読有

・村上 明: ショウガ類の機能性成分. Medical Herb, 14; 22-25, 2010 査読有

報告書・その他

・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22年度研究実績報告書

・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22年度研究実績報告書

・村上 一馬: 科学研究費補助金 基盤研究 (C): アミロイド β の毒性オリゴマー特異的なRNAアプタマーの開発 平成22年度研究実績報告書

b) 学会発表

- ・2011年度日本農芸化学会大会 (13件、招待1件)
- ・第4回国際消化器学会 (招待1件)
- ・第33回日本分子生物学会年会 (1件)
- ・第6回国際NO学会 (1件)
- ・第15回日本フードファクター学会 (1件)
- ・第10回AOB研究会 (1件)

- ・ 2010環太平洋国際化学会議（5件、招待1件）
- ・ ケミカルバイオロジー学会第5回年会：1件
- ・ 植物化学調節学会第45回大会：5件
- ・ 2010 International Conference on Plant Growth Substances：1件
- ・ 第49回NMR討論会（1件）
- ・ 第3回タンパク質の異常凝集とその防御・修復機構に関する研究会（招待1件）
- ・ 第29回日本認知症学会学術集会（1件）
- ・ 2010 アジアパシフィック EPR/ESR シンポジウム（招待1件）
- ・ 2010年度日本農芸化学会関西支部大会（2件）
- ・ 第52回天然有機化合物討論会（1件）
- ・ 第45回天然物化学談話会（1件）
- ・ The 51st Experimental Nuclear Magnetic Resonance Conference（1件）

A-3. 国内における学会活動など①

所属学会等（役割）

- ・ 入江 一浩：日本農芸化学会（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）、日本農芸化学会関西支部（評議員）
- ・ 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）

A-3. 国内における学会活動など②

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

・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

・基盤研究 (C)：村上 一馬：アミロイド β の毒性オリゴマー特異的なRNAアプタマーの開発

②その他の競争的資金

・生物系特定産業技術研究支援センターイノベーション創出基礎的研究推進事業：山本（前田）万里（村上 明 分担）：抗疲労作用のある新規高アントシアニン茶品種育成と利用食品開発

A-4. 国際交流・海外活動①

所属学会等（役割）

・入江 一浩：アメリカ化学会（会員）、北米神経科学会（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51回核磁気共鳴国際会議（米国、研究発表1件）、2010 環太平洋国際化学会議（米国、研究発表4件）

・ 村上 明：第4回国際消化器学会（日本、招待講演1件）、2010 環太平洋国際化学会議（米国、招待講演1件、研究発表1件）、第5回国際NO学会（日本、研究発表1件）

・ 村上 一馬：2010 アジアパシフィック EPR/ESR シンポジウム（韓国、招待講演1件）、2010 環太平洋国際化学会議（米国、研究発表1件）

B. 教育活動（2010.4～2011.3）

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・村上一馬・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・村上一馬）、食品生物学入門及び実習（入江・村上 明・村上一馬・平井、分担）
- ・ 大学院： 生体反応有機化学（入江・村上 明・村上一馬・平井）、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

- ・ 村上 明：城西大学薬学部薬科学科「食品機能科学」

公開講座等

- ・ 入江一浩：香川大学農学部第2回公開シンポジウム「生命を化学の視点から探究する」（香川大学農学部）、講演題目「アミロイドβタンパクの毒性コンホメーションの同定と薬剤開発」

B-3. 国際的教育活動②

海外での講義・講演

- ・村上 一馬

アルツハイマー病と機能性食品因子(講師):光州大学(韓国)

C.その他

- ・村上 明: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)