

第8回徳島新聞生命科学分野研究支援金活動報告書

徳島大学大学院 薬科学教育部創薬科学専攻

博士後期課程3年 仲村 明人

【研究活動成果】

私は、歯周病の早期発見のための検査法の確立という夢を叶えるため、「硫黄およびリン求核剤を用いる安定型イソインドール誘導体の合成研究」を研究課題として、挑戦を続けています。

博士後期課程2年次までには、硫黄求核剤を用いてのトリス（ヒドロキシメチル）アミノメタンを基盤とする種々のアミンを用いたオルトフタルアルデヒド法(OPA法)によって、国内外に前例のない単離精製の可能な安定型イソインドール誘導体の合成に成功しました。

またこの一年間においては、リン求核剤である9,10-ジヒドロ-9-オキサ-10-ホスファフェナントレン-10-オキサイド(DOPO)を用いての、安定型イソインドール誘導体の合成研究に着手しました。研究に日々精進した結果、*t*-ブチルアミン等の嵩高いアミンだけでなく *n*-プロピルアミン等の直鎖状アミンに関しても安定型イソインドール誘導体の合成に成功しています。

硫黄求核剤を用いての安定型イソインドール誘導体の合成研究は、オルトフタルアルデヒド法の分析対象をアミン類からチオールに変更したチオール分析法の開発への展開につながるし、リン求核剤を用いての安定型イソインドール誘導体の合成研究は、もちろん新規化合物であり新たな蛍光標識剤としての可能性が期待できるので、引き続きそれらの研究における応用と実用化を目指したいと考えています。

またこの一年、研究に精進できたのも、自身の研究成果を発表するための学会参加費や、専門書の購入費等を工面することができた貴研究支援金のおかげです。よって、徳島新聞社会文化事業団の米田豊彦代表理事、ならびに周りの先生・スタッフの皆さまに心から御礼申し上げます。

【支援金支出明細】

- ・学会参加旅費 (40,000 円)
- ・参考書 (大学院講義 I 第 2 版、ウォーレン上・下、etc. 30,000 円)
- ・PC (130,000 円)

徳島新聞生命科学分野研究支援
活動報告書

公益財団法人
徳島新聞社会文化事業団
代表理事 植田 和俊殿

所属 徳島大学大学院 先端技術科学教育部
物質生命システム工学専攻 博士後期課程 1年

氏名 安部 庄剛



【研究活動成果】

徳島県特産物の柑橘類スタチは、加工食品の製造工程において果皮等の加工残渣が大量に生じ、その処理が問題となっている。スタチ果皮には、抗酸化活性や抗炎症作用などの生理活性を有するヘスペリジン、ナリンギン、そしてスタチに特異的なポリメトキシフラボンであるスタチチンなどが含まれており、その有効利用が期待されている。これまでに私は、スタチチンがヒト表皮角化細胞株HaCaT細胞においてアポトーシス誘導能を発揮することを見出しているが、皮膚細胞に対する作用は未だ完全に明らかにされていない。そこで本研究では、スタチチンによるアポトーシス誘導機構の解明およびその他の生理活性の探索を目的とした。

まず初めに、スタチチンによるアポトーシス誘導の作用機序を明らかにするために、細胞の生存・死と密接に関連しているMAPKファミリー(ERK1/2, p38)に注目し、それぞれの活性(リン酸化)に及ぼす影響をウエスタンブロットイングにより調べた。スタチチンはERK1/2のリン酸化を有意に抑制したのに対して、p38のリン酸化はスタチチンによって上昇した。p38はアポトーシス誘導において重要な役割を担っていることから、p38阻害剤であるSB203580を用いて、スタチチン誘導アポトーシスにおけるp38経路の役割を検証した。その結果、SB203580はスタチチン誘導p38活性化を抑制するとともにアポトーシスもまた阻害した。表皮角化細胞では、増殖因子であるEGFファミリーがその受容体に結合し、細胞内においてRaf-MEK-ERKシグナルを活性化することにより細胞増殖や細胞遊走が誘導される。そこで、血清飢餓後のEGF処理によるERK経路活性化におけるスタチチンの効果を調べた。スタチチンはEGF処理によって活性化されたRaf-1, ERK1/2, Elk-1のいずれも抑制したことから、スタチチンはEGF受容体あるいはRasなどのRaf上流のシグナル分子に作用し、細胞増殖抑制効果を発揮する可能性が考えられた。さらに、BrdU増殖アッセイおよびin vitro創傷治癒アッセイにより、EGFによって誘導された細胞増殖および細胞遊走に対するスタチチンの効果を検証した。その結果、スタチチンはEGFによって惹起された細胞増殖・細胞遊走をいずれも抑制することが明らかとなった。以上の結果より、スタチチンはp38経路活性化を介したアポトーシスおよびERK経路阻害を介した細胞増殖・細胞移動抑制を行うことが明らかとなった。これらの研究は、異常な細胞増殖によって引き起こされる皮膚癌や乾癬などの皮膚疾患の治療薬の開発に繋がることが期待できる。今後、標的タンパク質を特定するために作用機序解明を行いつつ、スタチチンを多く含むスタチ果皮から抽出したエキスについても研究していく予定である。

【支援金支出明細】

・国際学会参加費	30,000円
・国内学会参加費	3,000円
・国内学会交通費キャンセル料	13,000円
・英文校正費	34,042円
・学会発表補助機器購入費	87,458円
・研究文献資料経費	32,230円

徳島新聞生命科学分野研究支援活動報告書

公益財団法人徳島新聞社会文化事業団

代表理事 米田 豊彦 殿

所属 徳島大学大学院 保健科学教育部 保健学専攻（医用検査学領域） 第1年次

氏名 村田 梨菜

【研究活動成果】

私はこれまでに、細菌が抗菌薬存在下では増殖しないものの、死滅しない現象である、抗菌薬抵抗性に注目してきました。緑膿菌においてバイオフィーム形成に関与する *psl* 遺伝子が、バイオフィーム形成だけでなく抗菌薬抵抗性にも重要な働きをしていることがこれまでに報告されています。現在、抗菌薬抵抗性メカニズムの解明を目的として、抗菌薬抵抗性と酸化ストレスとの関連に着目し、検討しました。

その結果、緑膿菌の *psl* 遺伝子欠損株は、緑膿菌の野生株である PAO1 株と比較し、抗菌薬に対する抵抗性が低下しており、さらに活性酸素のひとつである H_2O_2 に対しても抵抗性が低下していることがわかりました。次に、抗菌薬添加後における菌体内の H_2O_2 発生量を測定したところ、PAO1 株と *psl* 遺伝子欠損株の H_2O_2 発生量には差がないことが確認されました。また、PAO1 株において、抗菌薬添加後の活性酸素発生について電子常磁性共鳴法にて解析を行ったところ、酸化ストレスの重要な指標であるスーパーオキシドの発生が確認されました。そこで H_2O_2 の除去に重要であるカタラーゼの産生をコードする *katA* 遺伝子について、抗菌薬添加後の遺伝子発現量を検討したところ、PAO1 株ではその発現量は大きく上昇したものの、*psl* 欠損株ではその半分程度しか上昇しませんでした。これらの結果から、抗菌薬抵抗性は、抗菌薬添加により菌体内で発生する H_2O_2 に対する抵抗性、つまり抗酸化能が重要な役割を果たしている可能性が示唆されました。

以上の内容について第72回日本細菌学会中国・四国支部総会および第93回日本細菌学会総会、第1回徳島歯科医学大会にて発表しました。


【支援金支出明細】

- 第72回日本細菌学会中国・四国支部総会（2019年11/23~11/24）
学会参加費 4000円
宿泊費 1万8000円、交通費 2万円
- 第93回日本細菌学会総会（2020年2/19~2/21）
学会参加費 3000円、日本細菌学会会員費 5000円
宿泊費 2万円、交通費 3万円
- 実験消耗品、参考書 10万円

(様式3)

徳島新聞生命科学分野研究支援
活動報告書

公益財団法人徳島新聞社会文化事業団
代表理事 米田 豊彦 殿

所属 四国大学大学院人間生活科学専攻修士課程
氏名 小松広奈 

【研究活動成果】

農産物は栽培中のみならず収穫後流通、貯蔵、販売過程を経て食品として消費されるまでの間、様々な微生物の被害を受ける。そこで農産物の品質を保持し、損失を防止するとともに食の安全性を確保するため、農産物を汚染する微生物の制御法を検討した。制御対象として、徳島県産レンコンから分離した *Fusarium poae*、なると金時から分離した *Rhizopus stolonifer*、および阿波晩茶製造工程から検出した *Trichosporon asahii* と *Candida tropicalis* を用いた。これらの微生物の生育阻害に有効な成分を身近な植物や食品から検索することとした。阻害作用は、サブロー培地を用いた液体培地希釈法で最小生育阻害濃度(MIC)を用いて評価した。その結果、*Fusarium* と *Rhizopus* に対しては、ティートゥリーから得られた精油が高い阻害活性を示すことが明らかとなった。そこで、阿波晩茶から分離した酵母2種に対して7種類の植物由来精油(スダチ、ティートゥリー、ラバンジンスーパー、オレンジスウィートなど)の効果を検討した。本研究では特にスダチ精油に高い阻害作用を期待したが、最も高い活性を示したラバンジンスーパー(MIC:0.10%)やティートゥリー(MIC:0.15%)の2/5~3/5程度の生育阻害活性を示した程度であった。しかし殺酵母活性は同程度であり、使用方法や阻害対象微生物を検討することで有効な活用が見込まれると考えられた。一方、ラバンジンスーパーとティートゥリーに高い活性が見出されたことから、共通する成分とその含有量を検索した結果、テルピネン-4-オールが抗真菌作用を示す主成分と考えられた。MIC値を測定すると *Candida* に対して0.10%であり、ラバンジンスーパーのMIC値と同じ濃度であることがわかった。このためこの成分が阻害作用の本体と考えられたが、さらに精油には第2、第3の阻害成分も含まれている可能性が示唆された。今後、*Fusarium* と *Rhizopus* に対する効果の測定とともに詳細な阻害作用を調べる予定である。

得られた研究成果は、助成金を利用して、日本防菌防黴会第46回年次大会(大阪)および日本家政学会中国・四国支部第66回研究発表会(広島)に参加して発表することができました。貴財団の御支援に心より感謝申し上げます。

(様式3)

徳島新聞生命科学分野研究支援
活動報告書

公益財団法人徳島新聞社会文化事業団
代表理事 米田 豊彦 殿

所 属 徳島文理大学 学部 学科 博士課程第4年次
大学院 薬学 専攻

氏 名 柳本 剛志



【研究活動成果】

私は、アルツハイマー病治療薬の候補となる物質についての研究に取り組んでいます。本支援金は、治療薬の候補物質であるネオビブサニン類、スピロテヌイペシンA、NB Hybridについての研究に必要な試薬等の購入に充てさせていただきました。

主な研究活動成果としては次の3つが挙げられます。

- ① これまでの研究において確認していたネオビブサニン類の数種類の作用標的候補のうちの1つが真の作用標的ではないことを確認することができました。
- ② 複雑な構造を持つスピロテヌイペシンAの新たな合成法を開発することができました。開発した合成法ではスピロテヌイペシンAに類似した構造をもつ物質も合成可能であり、構造が薬理作用に与える影響の調査へと展開する予定です。
- ③ これまでに、当研究室において設計・合成されたNB Hybridが神経細胞に対して強い成長促進作用をもつと同時に低毒性であることを確認することができた。

いずれの研究成果も新たなアルツハイマー病治療薬の開発へとつながる重要な知見であり、これから、さらなる研究の発展を目指して邁進する所存です。

【支援金支出明細】

1321N1(実験用細胞) 129070円, セルバンカー(細胞保存用試薬) 13608円,
有機合成用試薬 57816円