

令和元年6月7日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H02636

研究課題名(和文)クロノケミカルバイオロジーによる炎症基盤病態の機序解明

研究課題名(英文)Clarification of the mechanism underlying inflammation-based pathology from viewpoints of chrono-chemical biology

研究代表者

大戸 茂弘(OHDO, Shigehiro)

九州大学・薬学研究院・教授

研究者番号：00223884

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 33,800,000円

研究成果の概要(和文)：炎症基盤病態の機序をクロノケミカルバイオロジーの視点から解析した。その結果、肝疾患では細胞分化に関わりリズムカルに振動する細胞周期制御因子が関与していること、腎疾患では、慢性腎臓病の合併症を発症させる機構として、肝代謝異常で上昇したレチノールと時計遺伝子が関与していること、がん細胞を対象として、幹細胞と非幹細胞のリズムカルなコミュニケーションにWnt/ β -CATENIN経路が関与していることを明らかにした。それらを標的とした投薬設計の構築および化合物の探索に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

炎症を伴う病気の原因を化合物により検討したところ、生体リズムにより日周変動している因子が病気の原因であることを明らかにした。すなわち肝疾患では、細胞分化に関わりリズムカルに振動する細胞周期制御因子が関与していること、腎疾患では、代謝異常で上昇したレチノールと時計遺伝子が関与していること、がん細胞を対象として、がん幹細胞のリズムは非幹細胞のリズムカルな刺激により制御されていることを明らかにした。それらを指標にした効果的な投薬設計の構築および化合物の探索に成功した。

研究成果の概要(英文)：In hepatitis induced by Diethylnitrosamine, the cell cycle regulatory factor plays an important role for p65-induced transactivation of Ccl2. A novel small-molecule inhibitor against CCRF expression is identified by high-throughput chemical screening, and the inhibitor suppresses liver inflammation in mice. Chronic kidney disease is often exacerbated with an increase in serum retinol. The liver is the major organ responsible for retinol metabolism and the key enzymes of retinol metabolism are reduced in 5/6 nephrectomy(5/6Nx) mice. The accumulation of serum retinol induces the apoptosis of renal cells of 5/6Nx mice fed with a normal diet. The cancer stem cells are often characterized by high aldehyde dehydrogenase(ALDH) activity. Circadian expression of Aldh3a1 in ALDH-positive cells is dependent on that of WNT10a from ALDH-negative cells. The antitumor effects of ALDH inhibitor are enhanced by administration at the time of day when ALDH activity is increased in 4T1 tumor cells.

研究分野：時間薬剤学

キーワード：薬学 時間生物 ケミカルバイオロジー 炎症 分子時計

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

慢性肝炎は、肝臓での炎症およびウイルス感染が半年以上持続する病態のことである。慢性肝炎自体は重篤な症状を呈さないが、肝硬変を経て肝臓へと進行すると、治療困難で予後不良な病態へと変化する。したがって、現在の慢性肝炎患者の治療方針は、肝硬変および肝臓への進行予防が中心であるが、課題も多く、画期的な方策および新薬の開発が求められている。一方、ヒトをはじめとする多くの生物の生体機能には約 24 時間を一周期とする概日リズムが認められ、それらリズムは時計遺伝子により制御されている。我々は、肝臓の発癌過程でリズムカルに変動する細胞周期制御因子 *CCRF* が関与することを見出している。*CCRF* は細胞周期制御や、脂質代謝、アポトーシス、細胞分化などに関与することが過去に報告されている因子であるが、詳細な機能については未だ不明である。そこで *CCRF* の機能を詳細に解析した結果、*CCRF* が肝臓の脱分化に関与し、炎症性シグナル NF- κ B に影響を及ぼすことを見出した。これらの所見は、*CCRF* と炎症との関連性を示唆しており、*CCRF* を標的とした新しい機構の抗炎症薬、発癌・再発抑制薬の開発につながる可能性を示している。

慢性腎臓病 (Chronic kidney disease; CKD) とは、腎臓の障害あるいは腎機能の指標である糸球体濾過量の低下が 3 ヶ月以上続く病態を指し、重篤化すると腎移植や人工透析が必要となる。腎臓は様々な臓器と関連しながら生体内の恒常性維持に努めているため、CKD の病態進行に伴い心機能不全、肝機能不全、中枢神経障害など多種多様な二次症状を併発する。CKD の治療にはレニン-アンジオテンシン-アルドステロン系を標的とした治療薬の投与や尿毒症毒素を体外に排出する治療が行われているが、これらの治療は腎臓および他臓器の病態進行をわずかに遅延させるに留まっており、CKD は未だにアンメットメディカルニーズの高い疾患に位置付けられている。近年、時計遺伝子の発現リズムの変容が種々の疾患の病態とも関連することが指摘され、概日リズム制御機構の医療応用を目指した研究が注目されている。CKD 患者においても、睡眠障害などの症状が観察され、CKD の病態と体内時計との関連性が示唆されている。

乳がんは、女性における罹患率が最も高いがん種であり、現在も患者数は増加の一途を辿っている。乳がんに対する主な薬物療法はエストロゲン受容体 (Estrogen Receptor ; ER)、プロゲステロン受容体 (Progesterone Receptor ; PgR) を標的としたホルモン療法や上皮細胞増殖因子受容体 (Human Epidermal Growth Factor Receptor ; HER2) に対する阻害剤を用いた抗 HER2 療法であるが、悪性度の高い乳がん細胞ではこれら受容体の発現が低く、治療奏効率が低いことが問題となっている。このような悪性度の高い乳がんへの罹患率は若年層で多く、その予後も悪いことから新たな治療法が開発が望まれている。近年、腫瘍の組織学的な解析が進み、腫瘍組織が遺伝的な不均一性を示す細胞群で構成され、浸潤・転移・抗がん剤感受性・再発などに関与していることが明らかになってきた。その腫瘍組織中には Aldehyde dehydrogenase (ALDH) の活性が高値を示す「がん幹細胞」の存在が認められる。がん幹細胞はこれらの組織中に数%程度しか存在しないことが示されているが、多分化能を有し、体性幹細胞と同じような性質を備えており、腫瘍形成能、転移性能のみならず、薬剤抵抗性や放射線耐性とも深く関連している。そのため、がん幹細胞はがん化学療法の治療標的の一つとして注目されている。しかし、腫瘍組織中におけるがん幹細胞数の変動機構は未だ不明である。時計遺伝子は、がんにおいても細胞増殖因子や細胞周期制御因子の発現にリズムを生じさせ、発症、病態および化学療法剤に対する感受性などに影響を及ぼしている。以上の所見より、概日時計機構が、腫瘍組織中のがん幹細胞数に影響を及ぼしている可能性が考えられる。

2. 研究の目的

- (1) 慢性肝炎から肝臓癌への進行に及ぼす *CCRF* の影響を明らかにし、新規治療標的としての有用性を検証するとともに、低分子化合物ライブラリーを用いた High Throughput Screening (HTS) にて *Ccrf* 遺伝子転写抑制薬の探索を行った。
- (2) これまでに CKD モデル動物である 5/6 腎臓摘出 (5/6 nephrectomy; 5/6Nx) マウスの腎臓において時計遺伝子の発現レベルが上昇し、腎臓の線維化を促進することを明らかにしていることから、5/6Nx マウスの腎臓における時計遺伝子の発現レベルの上昇メカニズムについて解析を行った。
- (3) 悪性度の高い乳がんモデルとしてマウス乳がん細胞 4T1 を対象に、概日時計機構と腫瘍組織中のがん幹細胞数との関連性について検討した。また腫瘍組織中の高い ALDH 活性を示す細胞数に概日リズムが認められ、これらのリズムの制御機構について検討した。さらに腫瘍組織中の高い ALDH 活性を示す細胞数の概日リズムを指標に、抗腫瘍効果に及ぼす ALDH 阻害剤の投薬タイミングの影響について検討した。

3. 研究の方法

(1) 肝臓癌と化合物スクリーニング

DEN 誘発性肝臓癌モデルマウスの作製では、自由摂食摂水、明暗周期 (明期 7:00 ~ 19:00) 条件下で 1 週間飼育した ICR 雄性マウス 5 週齢に対し、Diethylnitrosamine (DEN) 80 mg/L を最長 14 週間飲水投与した。mRNA およびタンパク質発現量の測定において、培養細胞およびマウス肝臓から total RNA を抽出し、qRT-PCR 法を用いて mRNA 発現量を測定した。マウス肝臓を採取し、各種タンパク質分画を抽出後、Western blot 法によりタンパク質の定量を行った。*Ccrf* promoter::luciferase 安定発現株の作製では、*Ccrf* 遺伝子の転写調節領域を含むルシフェラー

ゼレポーターベクター (*Ccrf promoter::luc*) を作製し、NIH3T3 細胞および Hepa1-6 細胞に Electroporation 法により導入し、 $4184000 \mu\text{g/mL}$ を約 2 週間暴露して細胞のセレクションを行った。化合物スクリーニングでは東京大学創薬オープンイノベーションセンター所有の Core Library 9600 化合物を使用した。化合物の薬効評価には、試薬として ONE-Glo Luciferase Assay System を、EnSpire Multimode Plate Reader により Luciferase activity を測定した。正常マウスにおける薬物投与実験では、ICR 雄性マウス(7 週齢)に対し、化合物溶解液 (15 mg/kg) を 19:00 に背部皮下 (s.c.) に投与した。コントロール群には 0.5% DMSO/Saline 投与群を用いた。

(2)腎疾患と臓器連関

実験動物として、明暗周期 (明期: 7:00 ~ 19:00) 条件下で飼育した 7 週齢 ICR 雄性マウスの左腎を 2/3 摘出し、8 週齢時に右腎を全摘出した。その後、8 週間飼育した 16 週齢マウスを CKD モデルマウス (5/6Nx マウス) として使用した。また、レチノール欠乏食の給餌は右腎全摘出後、4 週目から 4 週間行った。細胞培養では、マウス線維芽細胞 NIH3T3 を各実験に用いた。いずれの細胞も 5% FBS・0.5% Penicillin-Streptomycin 含有の Dulbecco's modified Eagle's medium 培地 (DMEM) 中で 37 °C、5% CO₂ 条件下で培養した。培養細胞を 6 well プレートに播種し 12 時間培養した後、無血清培地に交換した。12 時間培養後、Sham または 5/6Nx マウスから採取した血清を最終濃度が 10% となるように添加し、添加後 12 時間目に細胞を回収してタンパク質の発現量を測定した。

(3)癌と細胞連関

実験動物として、4 週齢 Balb/c 雌性マウスを自由摂食水、明暗周期(7:00 ~ 19:00)、室温(24 ± 1 °C)条件下で 2-4 週間飼育し各実験に用いた。細胞培養として、マウス乳癌細胞株 4T1 は、10% FBS、1% penicillin-streptomycin を含む RPMI 培地で 37 °C、5% CO₂ 条件下で培養し各実験に用いた。4T1 細胞を移植したマウスから 6 時点において腫瘍を採取し、0.25% Trypsin-EDTA 溶液中で裁断後、細胞を分散した。これらの細胞に対し ALDEFLUOR™ fluorescent kit を用いて、ALDH 活性を指標にセルソーティングおよびポピュレーション解析を行った。マウス *Aldh3a1* 遺伝子のプロモーター上の 5' 上流約 -538bp ~ -532bp に存在する TCF7L2 結合配列 (CTTTGA) に着目し、5' 上流域 -660 bp ~ +15 bp の配列を含む DNA 断片および -438 bp ~ +15 bp の配列を含む DNA 断片を増幅後、マウス *Aldh3a1* 遺伝子ルシフェラーゼレポーターベクター (*Aldh3a1::Luc* (-660) および *Aldh3a1::Luc* (-438)) を作製した。4T1 細胞に各種 Plasmid vector トランスフェクトし、ルミノメーターを用いてレポーターベクターのルシフェラーゼ活性を測定した。*Wnt10a* 遺伝子ノックダウン 4T1 細胞株の作製として、4T1 細胞株に *Wnt10a* shRNA 発現ベクターをリポフェクション法により細胞にトランスフェクションし作製した。薬液の調製方法および投与方法は、ALDH 活性阻害剤は N,N-diethylaminobenzaldehyde (DEAB) を用い、50 mg/kg を腹腔内に投与した。

統計解析として、独立多群間の解析には分散分析 (ANOVA) および Fisher's PLSD, Bonferroni/Dunn test, Scheffe's test, Tukey-Kramer post-hoc test を用い、独立二群間の解析には Student's t-test を行い、有意水準 5% 以下を有意な差とした。

4. 研究成果

(1)肝疾患と化合物スクリーニング

DEN 誘発性の肝炎および発癌に対する CCRF の寄与を評価するため *Ccrf* siRNA を尾静脈投与し、*Ccrf* ノックダウンマウスに DEN 飲水投与実験を行った。その結果、*Ccrf* CCRF siRNA 投与群において肝細胞癌の発症が有意に抑制された。また、DEN 飲水投与開始 2 日目の肝臓では、*Ccrf* ノックダウンにより NF- κ B の DNA 応答配列への結合量が低下し、さらに NF- κ B の応答遺伝子である *Ccl2* mRNA 発現の低下が認められた。これらの検討より、CCRF が NF- κ B の転写調節を介して肝炎の進行および発癌に影響している可能性が示唆され、CCRF の抗炎症・発癌抑制薬の新規治療標的としての有用性が見出された。

High Throughput Screening (HTS) による *Ccrf* 転写抑制薬の探索のため *Ccrf promoter::luc* の安定発現株を作製し、384 well plate を用いた Luciferase reporter gene assay の実験系を構築した。この実験系を用い、Core Library 9600 化合物を対象にスクリーニングを行った結果、細胞生存率に影響がなく、且つ *Ccrf* プロモーター活性を抑制する 50 個の化合物が抽出された。これらの抽出された化合物を対象に、*Ccrf* 遺伝子の発現制御に関与すると考えられている時計遺伝子 *Bmal1* および *Per2* のプロモーター活性に影響のない化合物を抽出した結果、3 つの化合物が候補として残った。

ヒット化合物 3 つを Hepa1-6 細胞へ暴露し、各種 mRNA 発現への影響を評価したところ、いずれも *Ccrf*、*Ccl2*、*Il-6* mRNA 発現を低下させる作用が認められた。しかし、一つの化合物は *Ccrf* の転写制御を担う核内受容体の発現を低下させ、作用が広範になると予測されたことから候補から除外した。残ったヒット化合物のうち、より低濃度で薬効を示した化合物について正常マウスでの薬効を評価したところ、本化合物によって CCRF 発現量の低下が認められた。さらに、培養細胞において LPS および TNF の作用による *Ccl2* mRNA 発現の上昇を抑制する作用も認められた。以上の検討より、本化合物は *Ccrf* の転写を阻害し、炎症性シグナルに拮抗して *Ccl2* の発現を抑制する作用を持つことが示された。リード化合物の最適化を実施し、*Ccrf* プロモーター活性に

対する IC₅₀ が 10 分の 1 となる化合物誘導体を同定した。

(2)腎疾患と臓器連関

まず、5/6Nx マウスの腎臓および腎臓以外の臓器を対象に時計遺伝子時計遺伝子発現レベルを測定した。その結果、5/6Nx マウスの腎臓においてのみ時計遺伝子 mRNA の有意な発現上昇が認められた。そこで腎臓における時計遺伝子の発現変動に関与する因子を同定するために、マイクロアレイおよび形態学的解析を行ったところ、腎臓において炎症性サイトカインやケモカイン量の増加およびマクロファージの浸潤数の増加が認められた。そこでマクロファージの浸潤数と時計遺伝子発現レベルが関連しているのではないかと仮説を立て、フローサイトメーターを用いて解析した。その結果、5/6Nx マウス腎臓においては、時計遺伝子が増加していたことから、CKD モデルマウスの腎臓における時計遺伝子の発現上昇は、炎症に起因することが示唆された。

CKD 時には血中に様々な物質が蓄積して、臓器における遺伝子発現に影響を及ぼすことが知られている。そこで、5/6Nx マウス血清に含まれる因子が炎症臓器中の時計遺伝子遺伝子発現を制御していると仮説を立て検討した。培養細胞に Sham または 5/6Nx マウスから採取した血清を曝露したところ、5/6Nx マウス由来の血清を曝露した群において時計遺伝子タンパク質の有意な発現の上昇が認められた。そこで時計遺伝子プロモーター領域に存在する転写因子応答配列を調査し、5/6Nx マウス血清曝露時に核内発現量が上昇する転写因子を探索したところ、転写因子 X が時計遺伝子遺伝子発現を制御することが明らかになった。

これまでに当研究室では、5/6Nx マウスの肝臓においては代謝酵素の活性が変容し、レチノールの血中濃度が上昇することを明らかにしている。レチノールはその受容体を介して転写因子 X の核内移行を促進することから、5/6Nx マウスの腎臓における時計遺伝子の発現に及ぼすレチノール欠乏給餌の影響を検討した。フローサイトメーターを用いた解析の結果、レチノール欠乏給餌を行った 5/6Nx マウスでは腎臓中の時計遺伝子の発現レベルが上昇せず、炎症も抑制されていることが観察された。さらに、サイトカインおよびケモカインの発現レベルもレチノール欠乏給餌により有意に低下していた。これらの結果から、5/6Nx マウスにおける血中レチノールの濃度上昇が腎臓の時計遺伝子の発現レベルを上昇させ、この時計遺伝子の高発現が炎症を腎臓に生じさせると考えられた。

(3)癌と細胞連関

4T1 細胞移植マウスから 6 時点において腫瘍を採取し、ALDEFLUOR Assay 法を用いて高い ALDH 活性を示す細胞数の割合を測定した。その結果、高い ALDH 活性を示す細胞数の割合は暗期前半にピークを示す有意な概日リズムを示した。そこで ALDH 活性が高値を示す細胞を対象にマイクロアレイ解析を行った。その結果、ALDH のサブタイプのひとつである *Aldh3a1* の発現量が高値を示していることが明らかになった。また、*Aldh3a1* の mRNA およびそのタンパク質の発現リズムは、ALDH 活性の概日リズムとほぼ同位相を示していた。以上の結果より、マウスに移植した 4T1 腫瘍中における高い ALDH 活性を示す細胞数の概日リズムは、転写レベルで制御されていることが示唆された。

マウス *Aldh3a1* 遺伝子の 5' 上流約 -538bp ~ -532bp を対象に転写制御機構を解析した結果、Wnt / β -CATENIN 経路によって、*Aldh3a1* 遺伝子の転写活性が制御されていることを明らかにした。また、腫瘍中では、低い ALDH 活性を示す細胞から分泌される Wnt10A の概日リズムが、高い ALDH 活性を示す細胞の ALDH3A1 発現の概日リズムに影響を及ぼすことを明らかにした。以上の結果より、低い ALDH 活性を示す細胞からの Wnt10A による周期的な刺激によって腫瘍中での高い ALDH 活性を示す細胞数の概日リズムが引き起こされていることが示唆された。

高い ALDH 活性を示す細胞数に概日リズムが認められた。しかしながら、これらの概日リズムが、がん細胞の増殖に及ぼす影響は不明である。そこで、腫瘍中の高い ALDH 活性を示す細胞数の概日リズムを指標に、腫瘍増殖に及ぼす ALDH 活性阻害剤である DEAB の投薬時刻の影響を検討した。その結果、高い ALDH 活性を示す細胞数の割合が増大する暗期前半に薬物を投与した群において、腫瘍増殖抑制効果が増強されることが明らかになった。以上の結果より、高い ALDH 活性を示す細胞数が増加する時刻に ALDH 活性阻害剤を投与することで腫瘍増殖が抑制されることが示唆され、ALDH 活性の概日リズムはがん細胞の増殖に影響を及ぼしていることが示唆された。

本研究において、炎症基盤病態の機序をクロノケミカルバイオロジーの視点から解析した。その結果、肝疾患では細胞分化に関わりリズムカルに振動する細胞周期制御因子が関与していること、腎疾患では、慢性腎臓病の合併症を発症させる機構として、肝代謝異常で上昇したレチノールと時計遺伝子が関与していること、がん細胞を対象として、幹細胞と非幹細胞のリズムカルなコミュニケーションに Wnt / β -CATENIN 経路が関与していることを明らかにした。それらを標的とした投薬設計の構築および化合物の探索に成功した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 15 件)

(原著論文) (計 11 件)

Katamune C, Koyanagi S, Hashikawa KI, Kusunose N, Akamine T, Matsunaga N, Ohdo S. Mutation of the gene encoding the circadian clock component PERIOD2 in oncogenic cells confers

chemoresistance by up-regulating the Aldh3a1 gene. *J Biol Chem.* 2019 Jan 11;294(2):547-558. doi: 10.1074/jbc.RA118.004942. Epub 2018 Nov 14.

Kimura H, Matsunaga N, Kakimoto K, Watanabe M, Tsuruta A, Kusunose N, Shiromizu S, Koyanagi S, Ohdo S. Epithelial cell adhesion molecule expression in hepatic stem/progenitor cells is controlled by the molecular clock system. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018 Sep 5;503(2):1063-1069. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.06.117. Epub 2018 Jun 30.

Akamine T, Kusunose N, Matsunaga N, Koyanagi S, Ohdo S. Accumulation of sorbitol in the sciatic nerve modulates circadian properties of diabetes-induced neuropathic pain hypersensitivity in a diabetic mouse model. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018 Sep 3;503(1):181-187. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.05.209. Epub 2018 Jun 8.

Matsunaga N, Ogino T, Hara Y, Tanaka T, Koyanagi S, Ohdo S. Optimized dosing schedule based on circadian dynamics of mouse breast cancer stem cells improves the antitumor effects of aldehyde dehydrogenase inhibitor. *Cancer Res.* 2018 Jul 1;78(13):3698-3708. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-17-4034. Epub 2018 May 7.

Tsurudome Y, Koyanagi S, Kanemitsu T, Katamune C, Oda M, Kanado Y, Kato M, Morita A, Tahara Y, Matsunaga N, Shibata S, Ohdo S. Circadian clock component PERIOD2 regulates diurnal expression of Na⁺/H⁺ exchanger regulatory factor-1 and its scaffolding function. *Sci Rep.* 2018 Jun 13;8(1):9072. doi: 10.1038/s41598-018-27280-w.

Shiromizu S, Kusunose N, Matsunaga N, Koyanagi S, Ohdo S. Optimizing the dosing schedule of l-asparaginase improves its anti-tumor activity in breast tumor-bearing mice. *J Pharmacol Sci.* 2018 Apr;136(4):228-233. doi: 10.1016/j.jphs.2018.01.008. Epub 2018 Mar 12.

Matsunaga T, Matsunaga N, Kusunose N, Ikeda E, Okazaki H, Kakimoto K, Hamamura K, Koyanagi S, Ohdo S. Angiotensin-II regulates dosing time-dependent intratumoral accumulation of macromolecular drug formulations via 24-h blood pressure rhythm in tumor-bearing mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018 Mar 25;498(1):86-91. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.11.162. Epub 2018 Feb 19.

Kanemitsu T, Tsurudome Y, Kusunose N, Oda M, Matsunaga N, Koyanagi S, Ohdo S. Periodic variation in bile acids controls circadian changes in uric acid via regulation of xanthine oxidase by the orphan nuclear receptor PPAR. *J Biol Chem.* 2017 Dec 29;292(52):21397-21406. doi: 10.1074/jbc.M117.791285. Epub 2017 Nov 3.

Hashikawa KI, Katamune C, Kusunose N, Matsunaga N, Koyanagi S, Ohdo S. Dysfunction of the circadian transcriptional factor CLOCK in mice resists chemical carcinogen-induced tumorigenesis. *Sci Rep.* 2017 Aug 30;7(1):9995. doi: 10.1038/s41598-017-10599-1.

Matsunaga N, Ikeda E, Kakimoto K, Watanabe M, Shindo N, Tsuruta A, Ikeyama H, Hamamura K, Higashi K, Yamashita T, Kondo H, Yoshida Y, Matsuda M, Ogino T, Tokushige K, Itcho K, Furuichi Y, Nakao T, Yasuda K, Doi A, Amamoto T, Aramaki H, Tsuda M, Inoue K, Ojida A, Koyanagi S, Ohdo S. Inhibition of G0/G1 switch 2 ameliorates renal inflammation in chronic kidney disease. *EBioMedicine.* 2016 Nov;13:262-273. doi: 10.1016/j.ebiom.2016.10.008. Epub 2016 Oct 6.

Koyanagi S, Kusunose N, Taniguchi M, Akamine T, Kanado Y, Ozono Y, Masuda T, Kohro Y, Matsunaga N, Tsuda M, Salter MW, Inoue K, Ohdo S. Glucocorticoid regulation of ATP release from spinal astrocytes underlies diurnal exacerbation of neuropathic mechanical allodynia. *Nat Commun.* 2016 Oct 14;7:13102. doi: 10.1038/ncomms13102.

(総説) (計4件)

大戸茂弘、松永直哉、小柳悟。体内時計とがん幹細胞様細胞。 *医学のあゆみ* 267(6), 451-455, 2018.

大戸茂弘。体内時計と薬の関係を利用した時間治療 現状と今後の展望。 *歯科薬物療法* 37(1)、1-8、2018.

大戸茂弘。体内時計の分子機構を基盤にした時間薬物動態。 *医学のあゆみ* 264(7), 579-583, 2018.

大戸茂弘。体内時計の分子機構を基盤にした創薬・育薬。 *生体の科学* 67(6), 574-578, 2016.

[学会発表] (計7件)

Shigehiro Ohdo、Chronopharmacology and chronopharmaceutics focused on biological rhythm、The Fourth National Academic Conference of Sleep, Chronobiology and Neuropsychopharmacology by the Chinese Sleep Research Society (CSRS)、(Shanghai Medical College of Fudan University, Shanghai, China.)、December 16-17, 2017

大戸茂弘、生体リズムと創薬育薬 一腎臓病と合併症一、第11回日本腎臓病薬物療法学会学術集会・総会2017(教育講演7)(福岡)、2017年10月1日

大戸茂弘、体内時計と薬の関係を利用した時間治療、第37回日本歯科薬物療法学会学術大会

(名古屋)、2017年6月17-18日

大戸茂弘、患者にやさしい生体リズムにマッチした時間治療、第27期京都漢方研究会錬成講座(京都)、(特別講演)、2017年4月16日

大戸茂弘、患者にやさしい生体リズムにマッチした時間治療、第49回日本漢方交流会 全国学術総会 福岡大会(福岡)2016年10月9日

大戸茂弘、生体リズムを基盤にした創薬・育薬、教育講演、第33回日本TDM学会・学術大会(栃木)2016年5月28日

Shigehiro Ohdo, Chronopharmacology of antitumor drugs focused on biological clock, Chronopharmacology in cancer, shift work sleep disorder and beyond (Chair: Francis Lévi) SRBR 2016、May 22, 2016

6. 研究組織

(1) 研究分担者

松永直哉

MATSUNAGA Naoya

九州大学・大学院薬学研究院・准教授

研究者番号：10432915

小柳悟

KOYANAGI Satoru

九州大学・大学院薬学研究院・教授

研究者番号：60330932