

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：36102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25860085

研究課題名(和文)メタボローム分析とインフォマティクスによる漢方システム理論の包括的解析

研究課題名(英文)Comprehensive theoretical analysis of Kampo medication system by informatics and metabolome analysis

研究代表者

岡田 岳人 (Okada, Taketo)

徳島文理大学・薬学部・助教

研究者番号：60412392

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：漢方は、中国医学に由来する日本の経験的伝統医学である。また、漢方薬は生薬を組合わせて製され、患者を全身的に捉えた診断基準「証」に基づいて処方される。このように漢方薬は、近現代医学とは異なったアプローチによって処方される。本研究では、こうした漢方処方システムの複雑な全体像を、情報科学の手法を応用して解析した。そして、漢方方剤の構成生薬、およびメタボローム(含有化学成分の総体)と、虚/実(患者の体質)の「証」との相関理論を、PCA(主成分分析)とPLS(部分最小二乗)モデリングによって明らかにした。このように本研究は、「証」に基づいて個別化された漢方薬物治療システム理論の解明を目指したものである。

研究成果の概要(英文)：Kampo is a traditional and empirical medicine of Japan derived from traditional Chinese medicine. Kampo medicines are formulated as combinations of crude drugs, and are prescribed based on a Kampo-specific diagnosis 'Sho', which is defined as the holistic condition of each patient. The medication system, however, is complex and not well understood from a modern scientific perspective. We elucidated the informatics framework of Kampo medication by multivariate factor analysis of the elements constituting Kampo, namely, Sho of Deficiency/Excess (patient constitutions), combination patterns of crude drugs, and metabolomes of prescriptions. As a result, principal component analysis (PCA) and partial least squares projection to latent structures (PLS) modeling enabled interpretation of the complex system of Kampo medication. This study will form the basis for establishing a theoretical traditional system of medication leading to the ultimate personalized medicine.

研究分野：(1)漢方, 伝統医学, 和漢薬・生薬, 薬用植物を対象とした実験情報科学 (2)システム医薬学

キーワード：漢方薬 生薬 メタボローム 情報科学 多変量解析

1. 研究開始当初の背景

数百種類の生薬を組み合わせる様々な種類の漢方方剤は、現代医療を支える基盤の一つとなっている。漢方においては、患者の病状を診断基準「証」に基づいて全身的に捉え、個人の「証」に適した方剤を処方する。「証」への方剤の適用は、長年にわたって蓄積されてきた様々な治療経験に基づくものであり、症状・体質に合わせて個別化されている。このように、漢方方剤の処方システムは多様かつ膨大なエビデンスによって形成されている。

かつて、こうした複雑なシステムに潜在している漢方処方理論の全体像を包括的に解析することは、研究対象範囲の限られた手法では困難な面が多かった。しかしながら、コンピュータ計算科学の著しい発展により、複雑な相関をもつ膨大な数の要素・概念を、数理モデルに当てはめることによって、より少数の群に集約して考察することが当時可能になりつつあった。更に、化学分析技術も大きく進展し、精密かつ大量の実験データを、従来の方法と比較して短期間で得られるようになってきた。そこで研究代表者(私)は、上述の包括的な手法によって、漢方処方システム理論の複雑な全体像を解析対象とする新たな研究に着手した。

2. 研究の目的

本研究は、漢方処方システム理論の包括的解明を目的としたものである。特に、システムの基盤となる下記の相関関係に着目した。

(1) 漢方方剤の構成生薬量・比と、「証」

(2) 漢方方剤の含有化学成分と、「証」

これらの相関を解析することにより、治療経験の蓄積によって確立されてきた方剤と「証」の対応関係(方証相対)を、構成生薬や含有化学成分からも理論的に捉えることができるのではないかと考えた。

このようにして漢方処方システムを理論的に解き明かすことは、漢方を専門としない医師・薬剤師やOTCによるセルフメディケーションを志向する市民への、より一般化された分かりやすい漢方薬物治療の説明につながるものと考えられる。

3. 研究の方法

上述の目的に沿って、情報科学的解析と化学分析を主体とした研究を進めた。

(1) 研究用漢方薬データベースの作成

研究対象とした漢方方剤は、これまでに研究代表者らが構築してきたデータベース(引用文献①②)、および複数の漢方文献(〔雑誌論文〕①に引用)から選択した。そして、漢方方剤を構成する生薬の量・比などの情報と、

方剤が処方される「証」について、研究用のデータベースを作成した。「証」については、虚/実(患者の体質)、六病位(病気の進行度)などについてまとめた。

(2) 漢方方剤のメタボローム分析

漢方方剤に含有されている化学成分の総体=メタボロームを分析した。分析サンプルは、湯剤の製法に基づいて調製した。化学分析は、主にMS(質量分析)により行った。分析機器にはQ-TOF(Quadrupole Time-of-Flight, 四重極飛行時間型)-MSを用い、サンプルの分離を行わない直接インフュージョン測定による分析を行った。そして、 m/z (質量電荷比)とスペクトル強度を主たるデータとして以後の解析に用いた。なお、MSを用いたメタボローム分析の手法については、研究期間内に〔図書〕①②で概説した。また、NMR(核磁気共鳴)による分析を一部行った。

(3) 多変量解析による漢方処方システム理論の包括的解析

上述のデータを元に、漢方方剤—「証」の相関理論を多変量解析によって考察した。方剤のバリエーション解析は、PCA(Principal Component Analysis, 主成分分析)により行った。また、PLS(Partial Least Squares Projection to Latent Structures, 部分最小二乗)回帰分析により、方剤の構成生薬量・比、およびメタボロームデータの側から、方剤の適用「証」を予測した。

<引用文献>

① Okada T, Afendi FM, Katoh A, Hirai A, 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, Varma A (eds) Biotechnology for medicinal plants: micropropagation and improvement. Springer, Berlin Heidelberg, pp 413—438.

② Afendi FM, Okada T, Yamazaki M, Hirai-Morita A, Nakamura Y, Nakamura K, Ikeda S, Takahashi H, Altaf-Ul-Amin M, Darusman LK, Saito K, Kanaya S (2012) KNApSack Family databases: integrated metabolite-plant species databases for multifaceted plant research.

Plant Cell Physiol, 53:e1.

4. 研究成果

(1) 漢方方剤の構成生薬量・比に基づいたバリエーション解析

同一の漢方方剤でも構成生薬量・比の異な

る約 800 処方について、その生薬量(グラム)に基づいた PCA を行った(図 1)。そして、方剤のバリエーションと、虚/実の「証」との相関について考察した。その結果、虚/実のそれぞれに適用される方剤は、図 1 の点線を境に、構成生薬の種類と量に基づいて大きく分かれる傾向を示した。また、虚/実の中間証である「間証」に適用される方剤は、虚/実の境界付近を中心にプロットされた。

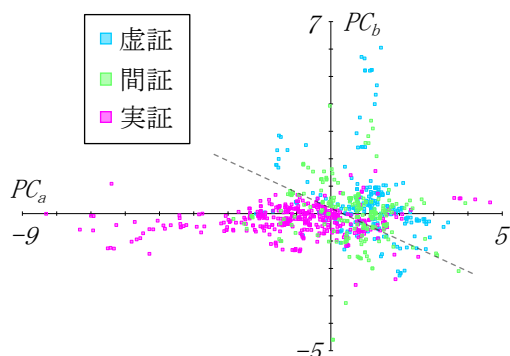


図 1. 漢方方剤を構成する生薬量・比の PCA

この結果は、漢方方剤の構成生薬量・比と、虚/実の「証」との間に、理論的な相関があることを示唆していた。

(2) 漢方方剤の構成生薬量・比側からの適用「証」予測

(1) の結果を受け、漢方方剤の構成生薬量・比に基づいて、各方剤の虚/実への適用を予測できるかどうかを検討した。ここでは、

(1) の処方から間証適用を除いた約 600 処方を対象に、構成生薬量(グラム)を X、虚/実への適用を Y とした PLS 回帰分析を行った。その結果、構成生薬量・比の側から、漢方方剤の虚/実適用を、98.8%の精度で予測することができた。更に、構成生薬が虚/実適用へ及ぼす寄与を、相関係数によって数値化した。その結果、オウゴン、ダイオウ、マオウ、サイコ等の生薬は実証に、また、カンキョウ、トウキ、キジツ、オウレン等の生薬は虚証に寄与していることが示唆された。

これらの結果は、(1) における漢方方剤構成生薬量・比と虚/実の「証」との相関関係を理論的に裏付けるものであった。

(3) 漢方方剤のメタボロームに基づいたバリエーション解析

漢方方剤の構成生薬量・比と虚/実の「証」との相関関係が、(1) (2) において理論的に表されたことを受けて、次に、構成生薬に由来する化学成分と「証」との相関を検討することにした。ここでは、桂枝湯類および桂枝を含む方剤を主体とする 34 方剤を研究対象とした。

漢方方剤ごとに得られる MS 分析結果の全体は、各方剤を化学的に特徴づけるフィンガープリント、つまりメタボロームデータとして捉えることができる。そして、メタボロ

ームに基づいた漢方方剤のバリエーションを PCA によって解析した(図 2)。その結果、メタボロームに基づいて PCA を行った場合も、(1) の結果と同様に、方剤が虚/実への適用ごとに大きく分類される傾向を示した。

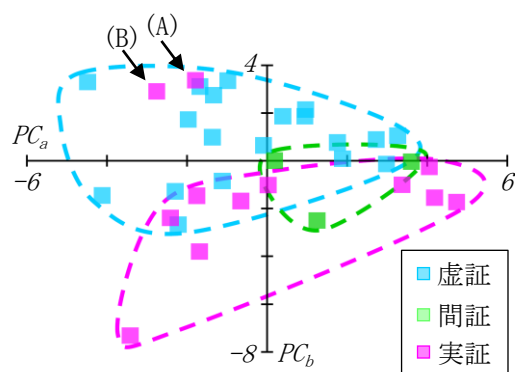


図 2. 漢方方剤メタボロームの PCA

この結果は、方剤に含有されている化学成分の総体と、虚/実の「証」との間に理論的な相関があることを示唆していた。

また、桂枝加芍薬大黄湯 (A) は実証向けの方剤であるが、虚証向け方剤の一群中にプロットされた。(A) は、虚証向けの方剤である桂枝加芍薬湯に、(2) では実証適用への寄与が予測されたダイオウのみを加えたものである。そのため、ダイオウ以外の構成生薬のメタボロームがより強く PCA に反映され、実証向け方剤の群には分類されなかったものと考えられた。逆にこのことは、実臨床におけるダイオウの実証処方への寄与の大きさを示唆していた。また、間証から実証寄りに適用される桂枝茯苓丸 (B) も、虚証向け方剤の一群に分類された。その原因として、本研究におけるメタボローム分析では、全てのサンプルは水溶液の状態であったことが挙げられる。そのため、本来「丸剤」として製される (B) が、他の実証適用方剤と比較して外れ値をとったものと考えられた。

(4) 漢方方剤のメタボローム側からの適用「証」予測

(2) と同様に、メタボロームの側からも漢方方剤の虚/実適用が予測できるかどうかについて、PLS 回帰分析による考察を行った。ここでは、メタボロームデータを X、虚/実への適用を Y とし、(3) から間証適用を除いた 31 方剤について検討した(図 3)。

その結果、メタボローム側からの虚/実への適用は、87.1%の精度で予測された (a)。また、この予測分析において最も大きな外れ値をとったのは、(3) でも外れ値としてプロットされた桂枝加芍薬大黄湯 (矢印) であった。その原因は、(3) で述べたことと同様であるものと考えられた。そして、この桂枝加芍薬大黄湯を除いて PLS 回帰分析を行った場合、予測精度は 93.3%に向上した (b)。

以上の結果は、(3) において示唆された漢方方剤メタボロームと虚/実の「証」との

相関関係を理論的に裏付けるものであった。

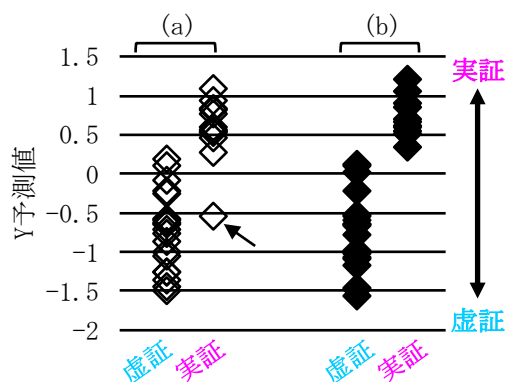


図 3. PLS 回帰分析による漢方方剤メタボローム側からの虚/実適用「証」の予測 (Y 予測値は、正ならば実証、負ならば虚証向けの方剤として予測されたことを示す。)

(5) 研究用漢方薬データベースの作成

一連の研究を通して、漢方方剤と「証」を結び付けたデータベースを作成した。方剤については、構成生薬量・比に加えて、出典や方意などについてもまとめた。なお、一部の方剤については、構成生薬の役割・位置付けを表す概念である君臣佐使についてもまとめた ([学会発表] ②)。「証」については、虚/実への適用に加えて、六病位や気血水 (生理的因子) など、その他の診断基準についてもまとめた。また、データベース内の情報について多変量解析・因子分析を行い、データの集約、可視化、そして未知情報の予測やシミュレーションを行った ([学会発表] ①②)。

(6) 総括と今後の展望

本研究は、情報科学的解析とメタボローム分析によって、漢方処方システム理論の複雑な全体像を明らかにすることを目的に進められた。その結果、漢方方剤の構成生薬量・比、およびメタボロームと、虚/実の「証」との相関関係は、数理モデルを用いて考察されることが示された。このようにして漢方処方システム理論を包括的に研究した成果を、国内外で初めて原著論文として報告した ([雑誌論文] ①)。

そして本研究を基礎モデルとして、漢方処方システム理論の未だ解明されていない部分を今後解析していく予定である。「証」については、気血水や六病位などの虚/実以外の診断基準に着目し、漢方方剤との相関関係を解析していく考えである。また、今回の研究でメタボロームを分析しなかった漢方方剤について、追加分析を進めていく考えである。メタボローム分析については、本研究では MS データを多変量解析に用いたが、その他の化学分析方法についても検討していく予定である。なお本研究期間に、NMR を用いて一部の方剤を分析し、メタボロームデータを得るための条件検討を行った。

また、(2) (4) で述べた漢方方剤の「証」

適用を予測するための解析モデルは、既存の漢方薬を基にした創薬への新たな道を拓く可能性を内包している。例えば、予測モデルに基づいて新規の加減方や合方、究極的には方剤そのものをデザインすることができれば、候補方剤をシードとした医薬品開発や臨床応用へと本研究が展開していくことも想定され得る。

そして、本研究の方法論・成果は、漢方医学の起源である中国医学、自然薬による治療概念に共通点のあるアーユルヴェーダ (インド)、Jamu (インドネシア) 等の伝統医学にも広く応用され得るものであり、研究モデルとしての国際的な波及効果を期待できるものと考えられる。

5. 主な発表論文等 (研究代表者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① Okada T, Afendi FM, Yamazaki M, Chida KN, Suzuki M, Kawai R, Kim M, Namiki T, Kanaya S, Saito K (2016) Informatics framework of traditional Sino-Japanese medicine (Kampo) unveiled by factor analysis. *J Nat Med*, 70:107—114. 査読有.
DOI: 10.1007/s11418-015-0946-0

[学会発表] (計 2 件)

- ① 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.
- ② 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.

[図書] (計 2 件)

- ① 岡田 岳人 (2015) 情報科学を応用した大量データの解析による和漢薬研究. *和漢薬 (ウチダ和漢薬)*, 745:3—5.
- ② 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多変量解析を例として—. (第 3 編, 第 1 章) *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.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡田 岳人 (OKADA, Taketo)
徳島文理大学・薬学部・助教
研究者番号: 60412392