

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 7 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08008

研究課題名(和文)炎症性腸疾患の克服をめざした新規治療薬シーズの探索

研究課題名(英文) Search for new therapeutic candidates for aimed to overcoming of inflammatory bowel diseases

研究代表者

森川 敏生 (MORIKAWA, Toshio)

近畿大学・薬学総合研究所・教授

研究者番号：10340449

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：世界各地の伝承・伝統薬物資源から潰瘍性大腸炎やクローン病などの炎症性腸疾患の治療に有用な医薬シーズを探索することを目的とする。すなわち、炎症性腸疾患の活動期において観察されるTNF- α の過剰産生により惹起される各種臓器障害や炎症反応などの種々の生体内イベントを軽減あるいは調節できる天然由来低分子化合物を探索するとともに、その活性発現の必須構造や構造活性相関を明らかにする。加えて、その病変部に顕著な増加が認められているマクロファージや好中球などのiNOS陽性細胞の活性化抑制作用およびその作用機序解明研究を実施し、もって新たな難治性炎症性疾患治療薬シーズを発見、提案することを目的とする。

研究成果の概要(英文)：To explore new therapeutic candidates for aimed to overcoming of inflammatory bowel diseases from traditional natural resources worldwide, we searched for active constituents that regulate several inflammation reactions caused by over productions of NO and TNF- α etc in iNOS-positive cells. As the results, several constituents from the natural resources were investigated as the promising candidates and their structural requirements and the mode of action were suggested.

研究分野：生薬・天然物化学

 キーワード：難治性炎症性疾患治療薬シーズ 伝承・伝統薬物資源探索 一酸化窒素 TNF- α iNOS Carapa guianensis Myristica fragrans Shorea roxburghii

1. 研究開始当初の背景

潰瘍性大腸炎 (UC, ulcerative colitis) は、おもに大腸粘膜に潰瘍やびらんができる原因不明の非特異性炎症性疾患で、クローン病とともに炎症性腸疾患 (IBD, inflammatory bowel disease) に分類されている。1973年に旧厚生省より特定疾患に指定されるなど難治性疾患のひとつとされているが、その患者数は増加の一途をたどっており平成20年には10万人を超え、またその発症年齢も30歳代をピークに働き盛りの20-50歳代に多く分布している。最近、UCの活動部位の潰瘍部においてマクロファージや好中球などの誘導型一酸化窒素合成酵素 (iNOS) 陽性細胞が非活動部位の腸管と比較して顕著に増加していることから、潰瘍性大腸炎の活動性とiNOS発現との相関が示唆されている。

生体防御機構において重要な働きを担っているTNF- α は、その持続的かつ過剰な産生や、不適切な場所や時間での産生により、IBDをはじめとした各種臓器・組織障害を誘発するとともに、慢性関節リウマチ、アレルギー疾患や糖尿病におけるインスリン抵抗性などの原因や増悪をもたらすことが知られている。従来、これらの炎症性疾患の治療薬シーズとしてTNF- α の過剰な産生や遊離を抑制する機能分子の探索が広く実施されてきたが、近年、TNF- α に対する抗ヒトTNF- α モノクローナル抗体製剤がこれらの治療を目的に臨床で使用されている。しかしながら、本剤の投与は抗体医薬品であるがための副作用であるアナフィラキシー様症状や遅発性過敏症などが観察される場合があり、その使用には注意を要する。そこで、TNF- α の感受性を低減し、その応答を軽減する低分子化合物は、過剰に産生されるTNF- α により惹起される種々の疾患の改善あるいは治療薬のシーズとしてできることが期待できると考えた(図1)。本研究は、その簡便なスクリーニング手法としてマウス由来線維芽細胞であるL929細胞を用いたTNF- α 誘発細胞障害抑制活性試験を実施し、iNOS陽性細胞の活性化抑制作用を有する化合物をピックアップするとともにその作用機序を解明し、もって新たな難治性炎症性疾患治療薬シーズを見いだすべく、本研究の着想に至った。

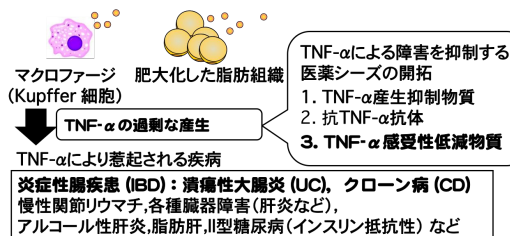


図1. TNF- α により惹起される各種障害および疾病

2. 研究の目的

世界各地の伝承・伝統薬物資源からIBDなどの治療に有用な医薬シーズを探索することを目的とする。すなわち、炎症性腸疾患の活動期において観察されるTNF- α の過剰

産生により惹起される各種臓器障害や炎症反応などの種々の生体内イベントを軽減あるいは調節できる天然由来低分子化合物を探索するとともに、その活性発現の必須構造や構造活性相関を明らかにする。加えて、その病変部に顕著な増加が認められているマクロファージや好中球などのiNOS陽性細胞の活性化抑制作用およびその作用機序解明研究についてもあわせて実施し、もって新たな難治性炎症性疾患治療薬シーズを発見、提案することを目的とする。

3. 研究の方法

これまでに蓄積した知見およびノウハウを生かし、かつ、文献調査および予備的検討などにより、TNF- α 感受性低減作用を示す新たな天然素材をピックアップする。我々は既に約180種の世界各地の伝承・伝統薬用資源についての抽出エキスイブラリーを有しているとともに、海外の共同研究機関を通じて採取した素材を収集しエキスイブラリーの充実をはかっている。すなわち、これらのエキスイブラリーを用いて、i. L929細胞を用いたTNF- α 誘発細胞障害抑制活性試験を経て候補素材を絞り込む、ii.ピックアップされた素材について、生物活性を指標に成分探索を実施し、活性寄与成分を見いだす、iii. 活性寄与成分について、iNOS陽性細胞の活性化抑制作用の指標として、マクロファージを用いたリポ多糖 (LPS) 誘発一酸化窒素 (NO) 産生抑制活性試験などを実施する、iv. 活性成分に化学修飾を加えるなどして合成した各種類縁体や関連化合物の活性を比較し、活性発現の必須構造や構造活性相関を解明する、v. 顕著な活性が認められた化合物について、発現タンパクレベルおよび遺伝子レベルでの作用機序解析研究を実施する。

これまでの予備的検討により、すでに数種の有用素材をピックアップしており、本研究においては、まず、これらの有用素材の抽出エキスから生物活性を指標に分離・精製し、NMRやMSをはじめとする各種スペクトルの解析から活性寄与成分および新規化合物の構造解析を実施する。加えて、見いだされた活性寄与成分について、各種類縁体合成を実施し、活性発現の必須構造や構造活性相関研究へと繋げ、新たな医薬候補物質の発見、提案へ繋げたい。

4. 研究成果

独自に収集した抽出エキスイブラリーについて、各種スクリーニング試験を実施し有望素材をピックアップするとともに、それらの活性寄与成分を探索した。その結果、テリハボク科植物 *Mammea siamensis* からプレニル基やゲラニル基を有するクマリン類にTNF- α 感受性低減作用を見いだした。また、マウス腹腔マクロファージを用いたLPS刺激によるNO産生抑制活性を示す化合物として、香辛料のメース (*Myristica fragrans*, 仮

種皮) からネオリグナン類, 局方生薬であるセンキュウ (*Cnidium officinale*, 根茎) からフタリド類, 蓮花 (*Nelumbo nucifera*, 花部) からアポルフィンおよびベンジルイソキノリンアルカロイド類, および薫香生薬の乳香や没薬からテルペノイド類を見いだした。とりわけ, メース由来のネオリグナン類は, アレルギー性炎症に關与するケモカインレセプター CCR3 に対するアンタゴニスト活性や肥満細胞のモデルとして広く用いられる RBL-2H3 細胞からの抗原刺激による脱顆粒抑制活性および TNF- α 遊離抑制活性が認められた。加えて, ブラジル天然薬物のアンディローバ (*Carapa guianensis*) 由来のリモノイド成分およびタイ天然薬物の *Shorea roxburghii* 由来のオリゴステルペノイド成分に, 臓器障害モデルのひとつである D-ガラクトサミン/LPS 誘発肝障害マウスモデルに対する肝保護作用を見いだした。

以上, 本研究により新たな難治性炎症性疾患治療薬シーズを, 種々の天然資源より見いだすことに成功した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計30件)

Morikawa T., Manse Y., Koda M., Chaipech S., Pongpiriyadacha Y., Muraoka O., Ninomiya K. Two new aromatic glycosides, elengiosides A and B, from the flowers of *Mimusops elengi*. *J. Nat. Med.*, **72**, 542-550 (2018). doi.org/10.1007/s11418-017-1160-z 査読有り

Morikawa T., Hachiman I., Ninomiya K., Hata H., Sugawara K., Muraoka O., Matsuda H. Degranulation inhibitors from the arils of *Myristica fragrans* in antigen-stimulated rat basophilic leukemia cells. *J. Nat. Med.*, **72**, 464-473 (2018). doi.org/10.1007/s11418-017-1170-x 査読有り

Morikawa T., Imura K., Akagi Y., Muraoka O., Ninomiya K. Ellagic acid glycosides with hepatoprotective activity from traditional Tibetan medicine *Potentilla anserina*. *J. Nat. Med.*, **72**, 317-325 (2018). doi.org/10.1007/s11418-017-1137-y 査読有り

Morikawa T., Matsuda H., Yoshikawa M. A review of anti-inflammatory terpenoids from the incense gum resins Frankincense and Myrrh. *J. Oleo Sci.*, **66**, 805-814 (2017). doi.org/10.5650/jos.ess16149 査読有り

Ninomiya K., Chaipech S., Kunikata Y., Yagi R., Pongpiriyadacha Y., Muraoka O., Morikawa T. Quantitative determination of stilbenoids and dihydroisocoumarins in *Shorea roxburghii* and evaluation of their

hepatoprotective activity. *Int. J. Mol. Sci.*, **18**, 451 (2017). doi.org/10.3390/ijms18020451 査読有り

Morikawa T., Hachiman I., Matsuo K., Nishida E., Ninomiya K., Hayakawa T., Yoshie O., Muraoka O., Nakayama T. Neolignans from the arils of *Myristica fragrans* as potent antagonists of CC chemokine receptor 3. *J. Nat. Prod.*, **79**, 2005 (2016).

doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b00262 査読有り

Matsuo K., Koizumi K., Fujita M., Morikawa T., Jo M., Shibahara N., Saiki I., Yoshie O., Nakayama T. Efficient use of a crude drug/herb library reveals Ephedra Herb as a specific antagonist for T_H-2-specific chemokine receptors CCR3, CCR4, and CCR8. *Front. Cell Dev. Biol.*, **4**, 54 (2016). doi.org/10.3389/fcell.2016.00054 査読有り

Ninomiya K., Miyazawa S., Ozeki K., Matsuo N., Muraoka O., Kikuchi T., Yamada T., Tanaka R., Morikawa T. Hepatoprotective limonoids from andiroba (*Carapa guianensis*). *Int. J. Mol. Sci.*, **17**, 591 (2016). doi.org/10.3390/ijms17040591 査読有り

Inoue T., Matsui Y., Kikuchi T., Yamada T., In Y., Muraoka O., Sakai C., Ninomiya K., Morikawa T., Tanaka R. Carapanolides M-S from seeds of andiroba (*Carapa guianensis*, Meliaceae) and triglyceride metabolism-promoting activity in high glucose-pretreated HepG2 cells. *Tetrahedron*, **71**, 2753-2760 (2015). doi.org/10.1016/j.tet.2015.03.017 査読有り

Sakamoto A., Tanaka Y., Yamada T., Kikuchi T., Muraoka O., Ninomiya K., Morikawa T., Tanaka R. Andriolides W-Y from the flower oil of andiroba. *Fitoterapia*, **100**, 81-87 (2015). doi.org/10.1016/j.fitote.2014.09.003 査読有り

ほか20件

[学会発表](計105件)

二宮清文, 赤木 駿, 今野拓哉, 森川敏生. サイコ (*Bupleurum falcatum* L.) 含有サポニン成分の抗 TNF- α 作用. 日本薬学会第138年会, 2018年3月25-28日(金沢). 二宮清文, 酒井千恵, 丸本真輔, 長友暁史, 村岡 修, 菊池 崇, 山田剛司, 田中麗子, 森川敏生. アンディローバ (*Carapa guianensis*) 含有リモノイド成分の脂肪性肝炎抑制作用. 第7回食品薬学シンポジウム, 2017年10月28-29日(京都). 森川敏生, 八幡郁子, 松尾一彦, 西田枝里子, 二宮清文, 義江 修, 村岡 修, 中山隆志. メース (*Myristica fragrans*, 仮種皮) のケモカイン受容体 CCR3 アンタゴニスト様作用を指標とした抗アレルギー

一作用成分の探索. 第 7 回食品薬学シンポジウム, 2017年10月28-29日(京都).

二宮清文, 山本紗也, 塩谷美幸, 森川敏生. センキュウ (*Cnidium officinale*, 根茎) の新規芳香族化合物. 第 67 回日本薬学会近畿支部総会・大会, 2017年10月14日(兵庫).

萬瀬貴昭, 田邊元三, 二宮清文, 今川貴仁, 安藤恵里, 福田梨沙, 福田友紀, 石川文洋, 村岡 修, 森川敏生. タイ天然薬物 *Melodorum fruticosum* 含有 butenolide 類のメラニン産生抑制活性. 日本生薬学会第 64 回年会, 2017年9月9-10日(千葉).

田邊元三, 森川敏生, 福田梨沙, 福田友紀, 萬瀬貴昭, 二宮清文, 松本朋子, 眞野みのり, 松田久司, 村岡 修. タイ天然薬物 *Melodorum fruticosum* 由来 NO 産生抑制活性 butenolide 類の合成およびその活性評価. 日本薬学会第 137 年会, 2017年3月24-27日(仙台).

二宮清文, 宮澤聖也, 尾関快天, 松尾菜都子, 村岡 修, 菊地 崇, 山田剛司, 田中麗子, 森川敏生. ブラジル生薬 *Carapa guianensis* 含有リモノイド成分の肝保護作用. 日本薬学会第 137 年会, 2017年3月24-27日(仙台).

安藤恵里, 萬瀬貴昭, 田邊元三, 福田梨沙, 福田友紀, 筒井 望, 三宅史織, 中屋友紀子, 山添晶子, 松本朋子, 松田久司, 二宮清文, 村岡 修, 森川敏生. タイ天然薬物 *Melodorum fruticosum* 由来成分の NO 産生抑制活性および含有 butenolide 類の全合成. 日本農芸化学会 2017 年度大会, 2017年3月17-20日(京都).

萬瀬貴昭, 田邊元三, 福田梨沙, 福田友紀, 筒井 望, 三宅史織, 中屋友紀子, 山添晶子, 松本朋子, 松田久司, 二宮清文, 村岡 修, 森川敏生. タイ天然薬物 *Melodorum fruticosum* 由来 butenolide 類の全合成および NO 産生抑制活性評価. 第 21 回天然薬物の開発と応用シンポジウム, 2016年10月27-28日(千葉).

森川敏生, 松尾一彦, 奥川修平, 北川仁一朗, 二宮清文, 中西勇介, 村岡 修, 中山隆志. ケモカイン受容体を標的とした天然由来シーズの探索研究 (2): ロウバイカ (*Chimonanthus praecox* 花蕾部) の CCR6 および CCR7 アンタゴニスト活性成分. 日本生薬学会第 63 回年会, 2016年9月24-25日(富山).

森川敏生, 二宮清文, 二宮 与, 丸本真輔, 酒井千恵, 宮澤聖也, 尾関快天, 松尾菜都子, 村岡 修, 菊地 崇, 山田剛司, 田中麗子. アンディローバ (*Carapa guianensis*) 含有リモノイド成分の脂肪性肝炎抑制作用. 第 58 回天然有機化合物討論会, 2016年9月14-16日(仙台).

田邊元三, 藺田直樹, 福田梨沙, 福田友紀, 萬瀬貴昭, 筒井 望, 二宮清文, 森

川敏生, 村岡 修. タイ天然薬物 *Melodorum fruticosum* 由来 NO 産生抑制活性を有する Butenolide 類の全合成. 第 58 回天然有機化合物討論会, 2016年9月14-16日(仙台).

Konno T., Ninomiya K., Yoshikawa M., Matsuda H., Morikawa T. Triterpene saponin constituents from roots of *Bupleurum falcatum*: Hepatoprotective effects on D-galactosamine-induced cell damage. 9th Joint Natural Products Conference 2016 (JNPC2016), 24-27 July 2016 (Copenhagen, Denmark).

田邊元三, 森川敏生, 小川哲平, 藺田直樹, 至田智行, 萬瀬貴昭, 二宮清文, 筒井 望, 村岡 修. タイ天然薬物 *Melodorum fruticosum* 由来 NO 産生抑制活性を有する Butenolide 類の全合成. 日本薬学会第 136 年会, 2016年3月26-29日(横浜).

二宮清文, 大山更紗, 赤木淳二, 松本 拓, 松尾菜都子, 尾関快天, 岡田拓也, 吉田郁代, 森川敏生. ケーブアロエ葉末の抗炎症作用成分. 日本薬学会第 136 年会, 2016年3月26-29日(横浜).

今野拓哉, 二宮清文, 吉川雅之, 松田久司, 森川敏生. ミシマサイコ (*Bupleurum falcatum* L.) 根部の肝障害抑制活性成分. 第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会, 2015年10月17日(大阪).

至田智之, 田邊元三, 森川敏生, 萬瀬貴昭, 小川哲平, 藺田直樹, 二宮清文, 筒井 望, 村岡 修. タイ天然薬物 *Melodorum fruticosum* 由来 NO 産生抑制活性を有する Butenolide 類の全合成. 第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会, 2015年10月17日(大阪).

大山更紗, 赤木淳二, 松本 拓, 松尾菜都子, 尾関快天, 吉田郁代, 二宮清文, 森川敏生. ケーブアロエの炎症性サイトカイン TNF- α 誘発細胞障害抑制作用成分. 第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会, 2015年10月17日(大阪).

Konno T., Ninomiya K., Yoshikawa M., Matsuda H., Morikawa T. Hepatoprotective triterpene saponins from roots of *Bupleurum falcatum*. 7th Asian Association of Schools of Pharmacy (AASP) Conference, 30 October-2 November, 2015 (Taipei, Taiwan).

二宮清文, 八幡郁子, 田邊元三, 早川堯夫, 村岡 修, 森川敏生. メース (*Myristica fragrans*, 仮種皮) の機能性成分 (6)-新規ネオリグナン成分の化学構造-. 日本生薬学会第 62 回年会, 2015年9月11-12日(岐阜).

21 八幡郁子, 二宮清文, 尾関快天, 西田枝里子, 早川堯夫, 村岡 修, 森川敏生. メース (*Myristica fragrans*, 仮種皮) の新規ネオリグナン成分. 第 59 回香料・テル

- ペンおよび精油化学に関する討論会，
2015年9月5-6日（大阪）。
- 22 田邊元三，森川敏生，小川哲平，園田直樹，至田智行，萬瀬貴昭，二宮清文，筒井 望，村岡 修．タイ天然薬物 *Melodorum fruticosum* の由来 NO 産生抑制活性を有する Butenolide 類の全合成．第 59 回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会 2015年9月5-6日(大阪)。
- 23 森川敏生，二宮清文，佐伯竣介，宮澤聖也，Chaipech Saowanee，Pongpiriyadacha Yutana，早川堯夫，村岡 修．タイ天然薬物 *Mammea siamensis* 花部の抗炎症作用成分．第 59 回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会，2015年9月5-6日（大阪）。
- 24 Morikawa T.，Hachiman I.，Matsuo K.，Ninomiya K.，Muraoka O.，Hayakawa T.，Nakayama T. Chemokine receptor CCR3 antagonist from arils of *Myristica fragrans*. Inaugural Symposium of the Phytochemical Society of Asia 2015 (ISPSA2015), 29 August-2 September 2015, (Tokushima, Japan).
- 25 塩谷美幸，二宮清文，尾関快天，松尾菜都子，森川敏生，川芎 (*Cnidium officinale*，根茎) の機能性成分(3)-含有フタリド成分の一酸化窒素産生抑制活性-第 32 回和漢医薬学会大会，2015 年 8 月 22-23 日（富山）。
- 26 大山更紗，赤木淳二，松本 拓，松尾菜都子，尾関快天，吉田郁代，二宮清文，森川敏生．アロエ属植物による炎症性サイトカイン TNF- α の感受性低減作用．第 32 回和漢医薬学会大会，2015 年 8 月 22-23 日（富山）。
- 27 Hachiman I.，Matsuo K.，Ninomiya K.，Muraoka O.，Hayakawa T.，Nakayama T.，Morikawa T. Search for chemokine receptor CCR3 selective antagonist as anti-allergic principles from Mace, the arils of *Myristica fragrans*. 12th Asian Congress of Nutrition (ACN2015), 14-18 May 2015.5, (Yokohama, Japan).

ほか 78 件

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

- 出願状況(計 0 件)
- 取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.phar.kindai.ac.jp/medfood/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森川 敏生 (MORIKAWA, Toshio)
近畿大学・薬学総合研究所・教授

研究者番号：10340449

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

二宮 清文 (NINOMIYA, Kiyofumi)

近畿大学・薬学総合研究所・准教授

研究者番号：10434862