

令和元年9月11日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05276

研究課題名(和文) 漢方薬成分のインシリコ標的タンパク質探索による漢方薬リポジショニング

研究課題名(英文) Mode-of-action analysis of Kampo formulae and prediction of their new indications for a wide range of diseases

研究代表者

門脇 真 (Kadowaki, Makoto)

富山大学・和漢医薬学総合研究所・教授

研究者番号：20305709

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,000,000円

研究成果の概要(和文)：伝統的に積み上げられてきた漢方薬のように経験則での効果、つまりセレンディピティーを期待するだけでなく、病因、病態の解明とともに、漢方薬の多様な作用を正確に解明出来れば、疾患とその治療に最適な漢方薬をマッチングできる可能性が生まれてくる。つまり、脱セレンディピティー、「偶然を必然にする」方法論を私たちは確立し、それを利活用していかなければならない。そこで、漢方薬の複雑系の解明、漢方薬のドラッグ・リポジショニングの方法論の提示を目指して漢方医薬ビッグデータを解析し、漢方薬が生体に薬理学的効果を及ぼす仕組み・メカニズム(作用機序)の考察を可能にするアルゴリズム/データベースKampoDBを開発した

研究成果の学術的意義や社会的意義

漢方薬治療は17世紀頃に体系化され現在へと継承されているが、現代特有の疾患に対して、漢方薬を科学的・論理的・合理的に活用するための科学的取り組みは、体系的にはほとんど行われていない。なぜ漢方薬が効くのかを解明するためには、これまででない研究方法論を確立することが必要である。

本研究では、漢方医薬ビッグデータを有効活用できるアルゴリズム/データベースKampoDBを開発することによって、複雑系薬剤である漢方薬が複雑系である生体でどのように作用するかを解明するための新たな複雑系解析方法を提示すると共に、漢方薬を用いた新しい疾病治療戦略の創生という新たな可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：Natural medicines are useful for treatment of multifactorial and chronic diseases. Here, we present KampoDB, a novel platform for the analysis of natural medicines, which provides various useful scientific resources on Japanese traditional formulas Kampo medicines, constituent herbal drugs, constituent compounds, and target proteins of these constituent compounds. Potential target proteins of these constituent compounds were predicted by docking simulations and machine learning methods based on large-scale omics data (e.g., genome, proteome, metabolome, interactome). The current version of KampoDB contains 42 Kampo medicines, 54 crude drugs, 1230 constituent compounds, 460 known target proteins, and 1369 potential target proteins, and has functional annotations for biological pathways and molecular functions. KampoDB is useful for mode-of-action analysis of natural medicines and prediction of new indications for a wide range of diseases.

研究分野：漢方薬理学

キーワード：漢方薬 ドラッグ・リポジショニング 複雑系 医薬ビッグデータ 機械学習 in silico結合シミュレーション

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

漢方薬治療は日本の独創的で有用な治療体系であり、西洋薬と併用する事により、其々の特長を活かした補完的な融合型の世界に誇るべき良質な医療が行われている。漢方薬の化学的学術情報や臨床知見は蓄積されてきたが、多成分系複合薬物である漢方薬の薬理作用の全貌を解明する基盤技術は未だ開発されていないため、漢方薬の薬理作用の科学的根拠は未だ乏しい。そのため、漢方薬を臨床で科学的に論理的にそして合理的に利活用するための薬理作用の網羅的な検討も未だなされていない。すなわち、生体という複雑系に、多成分系の複雑な構成要素からなる漢方薬を投与する場合、個々の成分がどのようなメカニズムで作用し、全体としてどう作用するかの機序を科学的に解明するのは、既存のテクノロジーと方法論のみをフルに活用しても非常に困難であると言わざるを得ない。これはすでに多くの和漢医薬学研究者が理解しているところであるが、それではどうしたらよいか、その有効なテクノロジーと方法論がなかなか見出せなかった。従って、これまでにない革新的コンセプトに基づく複雑系解析技術や研究方法を開発しなければ、複合薬物である漢方薬が複雑系である生体でどのように作用するかを解明する事は出来ない。

2000年代初めにヒトゲノムが解読され、情報技術やコンピュータ技術などが飛躍的に進展し、いわゆるビッグデータを解析できる手法が生み出されて来た。特に2010年頃から生命科学においても数学の重要性が注目され始め、情報科学や数理科学などの生命科学への応用が発展して来た。網羅的に生体情報を取得する技術、それを解析する技術に加え、それらをモデリングする数理科学的技術が飛躍的に進展した結果、私たちは複雑系を解明できる可能性が期待されるテクノロジーと方法論を手にし始めることができるような時代になった。これから私たちはこの最新のテクノロジーと方法論を用いて、和漢医薬学の学理に迫る研究に取り組まなければならない。わが国では超高齢化社会が進み、がんや生活習慣病、アレルギー・免疫疾患、認知症、フレイル・サルコペニアなどが急激に増加し、これらの多因子により発症する複雑な疾患に向き合っていくがざるを得ない。それらの疾病の病因、病態などが解明されるにつれ、複数の治療標的を効果的効率的に同時に狙う医療介入も試みられており、当然、複合薬物である漢方薬の有用性も注目されている。

現代日本漢方処方直接の原典となっている浅田宗伯の常用処方集『勿誤薬室方函』は、既に100年以上前の著書である。しかし、ここ30~40年での疾病構造の劇的な変化と超高齢化によりかつて遭遇する事の少なかった、生活習慣病、慢性疾患、加齢性疾患などの急激に増加に伴い、これらの疾患への対応が社会的にも強く求められ、漢方薬の適応拡大、すなわち漢方薬のドラッグ・リポジショニングが試みられているが、効果的、効率的、そして有用性の高い薬剤介入、ガイドライン等は確立されていない。しかも、その根拠となる科学的エビデンスは乏しく、試行錯誤の状態である。

伝統的に積み上げられてきた漢方薬のように経験則での効果、つまりセレンディピティーを期待するだけでなく、病因、病態の解明とともに、漢方薬の多様な作用を正確に解明出来れば、それらをマッチングできる可能性が生まれてくる。つまり、脱セレンディピティー、「偶然を必然にする」方法論を私たちは確立し、それを利活用していかなければならない。

### 2. 研究の目的

漢方薬の複雑系の解明、「漢方薬のドラッグ・リポジショニング」の方法論の提示を目指して、医薬ビッグデータを解析し、漢方薬が生体に薬理学的効果を及ぼす仕組み・メカニズム(作用機序)の考察を可能にし、漢方薬の新しい適応可能疾患を予測するアルゴリズム/データベース KampoDB を開発する事を目的とした。

### 3. 研究の方法

#### 1) ドラッグ・リポジショニングを目指した漢方薬の複雑系の解明の方法論

下記の様な方法論を考案し、これに沿った研究を進めた(図1)。

#### 2) 漢方薬の作用機序の解析

通常の医薬品と異なり、漢方薬の作用機序は複雑で多くの成分化合物の組み合わせが重要になり、「1成分化合物 vs 多標的タンパク質」や「多成分化合物 vs 多標的タンパク質」の視点から漢方薬の作用機序を解明するため、まず、漢方薬、漢方薬を構成する生薬及びその成分化合物と標的タンパク質の情報を収集しこれらの階層関係の情報を整備した(図2)。

そして、漢方薬の成分化合物が標的とするタンパク質群の分子機能や、タンパク質群が連動して働くパスウェイを検証した。具体的には、漢方薬の各成分化合物が相互作用すると推定される全てのタンパク質を分子機能オントロジー(Gene Ontology など)やパスウェイ(KEGG Pathway など)にマッピングし、エンリッチメント解析を行うことによって、漢方薬が影響を及ぼす分子機能やパスウェイを推測し、これによって、漢方薬の作用機序の考察を可能とした。

#### 3) 漢方薬の標的タンパク質や新規効能の予測を可能とする「KampoDB」の開発

次に、漢方薬の100個の主要成分化合物に関して、ヒトの全タンパク質立体構造に対する in silico 結合シミュレーションを実施し、その結果(結合エネルギー、結合状態の分子イメージなどの物性値情報)を分かりやすく表示する機能をデータベース上に構築した。

また、1,287,007 個の化合物・タンパク質間相互作用ペア情報、518,959 個の化合物情報、3,734 個のタンパク質情報を用いた教師付き学習（人工知能の基盤である機械学習における手法の 1 つ）と化学構造類似性検索を組み合わせることで、漢方薬の成分化合物の標的タンパク質候補を予測する事を可能とした（図 3）。さらに、これらの予測手法を組み合わせ、様々な疾患に対する治療標的の情報を基に、漢方薬の新しい適応可能疾患を予測し、これらの予測結果を視覚化するアルゴリズム/データベース KampODB を開発した（<http://wakanmovie.inm.u-toyama.ac.jp/kampo/>）。

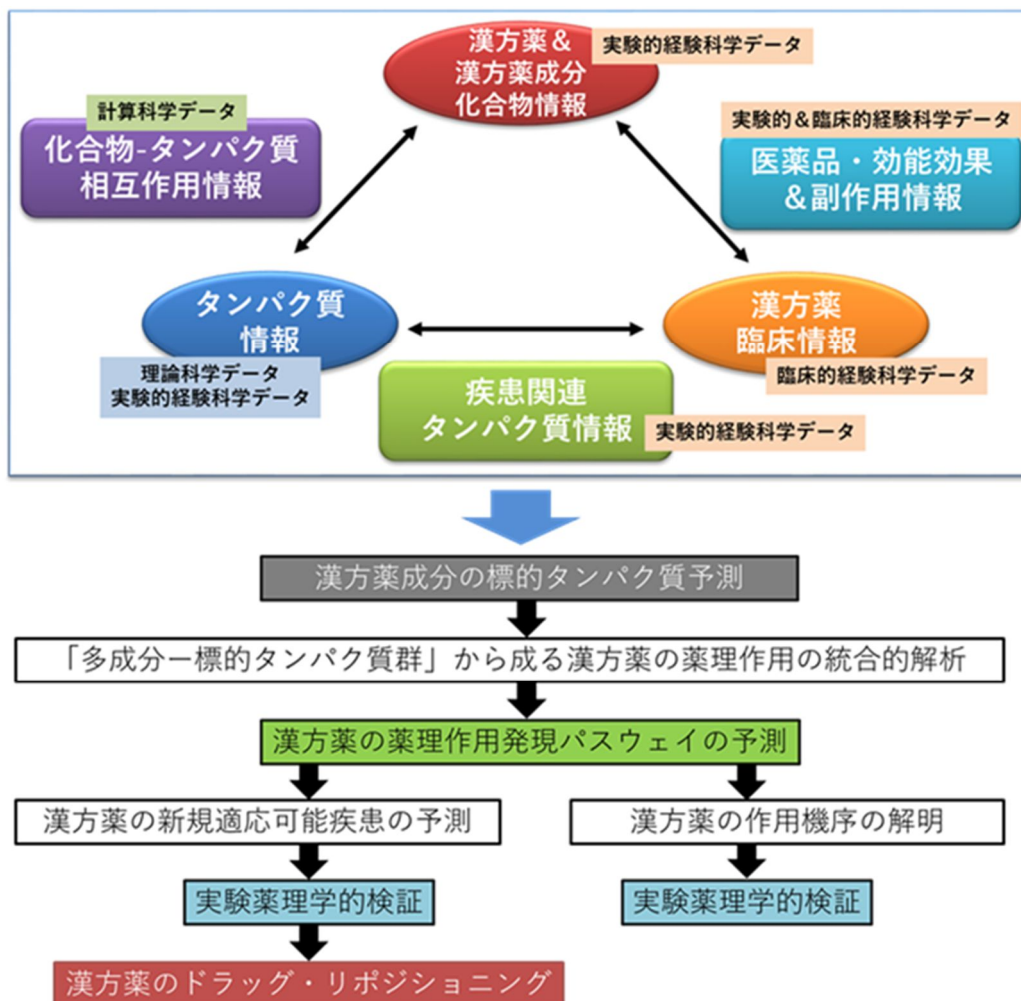


図 1. 漢方薬のドラッグ・リポジショニングへの方法論

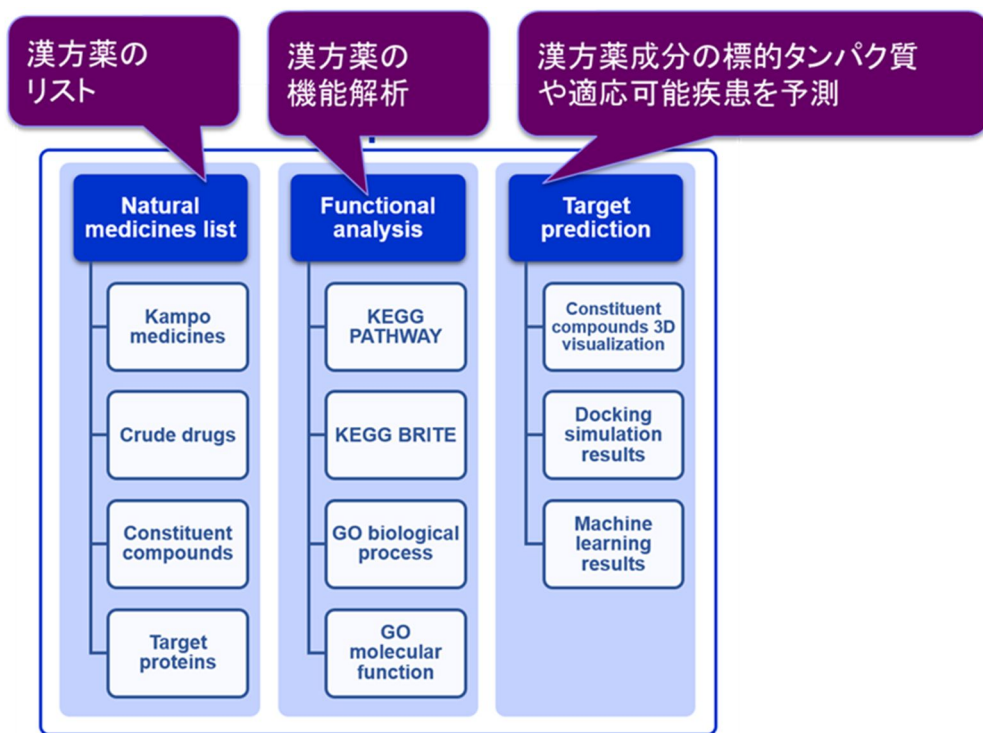


図 2 . KampoDB の構成

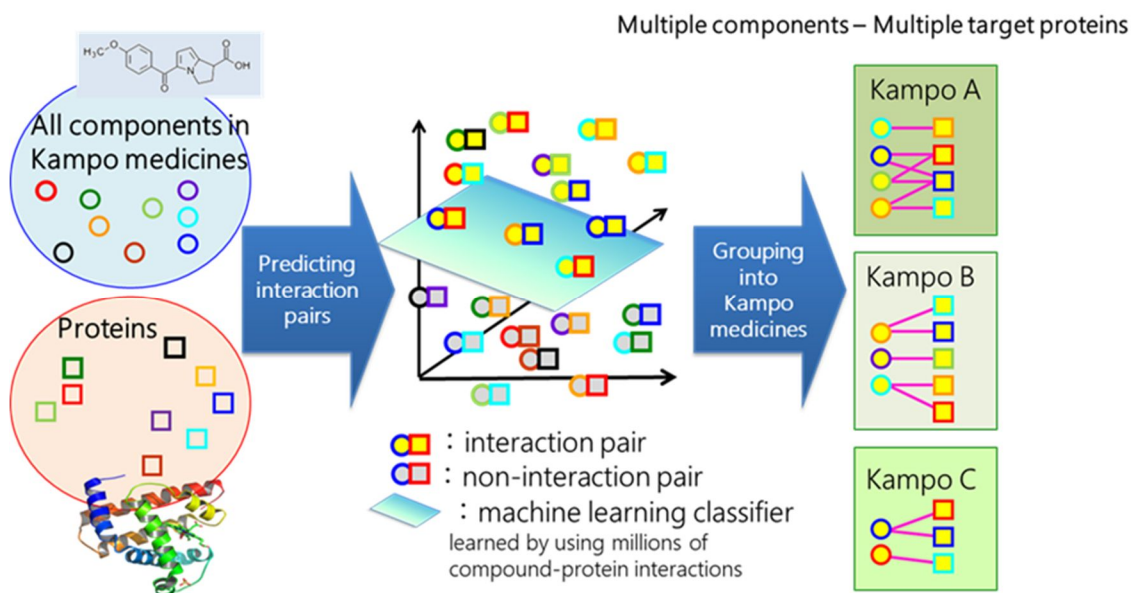


図 3 . 漢方薬の成分化合物とタンパク質の未知の相互作用を機械学習で推定し漢方薬ごとに標的タンパク質をグループ化

#### 4 . 研究成果

アルゴリズム/データベース KampoDB を用いて 42 種類の漢方薬と 54 種類の生薬を解析し、それらの成分化合物の標的タンパク質や標的パスウェイの探索によって、漢方薬の作用機序や新しい効能の予測を網羅的に予測した。例えば、肥満症に効果がある漢方薬 防己黄耆湯の成分化合物シノメニンのグルコシダーゼへの相互作用を推定し、糖尿病に対する効能を予測した。また、他の例として、腹痛や腸管運動機能異常に効果がある漢方薬 大建中湯の抗炎症作用や炎症関連大腸発癌に対する抗発がん作用を予測した。予測に基づきマウス炎症関連大腸発癌モデルを用いて実証実験を行い、大建中湯の抗大腸発癌作用を明らかにした。さらに、その作用機序として、“ T cell signaling pathway ”, “ TNF signaling pathway ”, “ Wnt signaling pathway ” の複合的な制御である可能性を示唆した。

## 5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 40 件 : 全て査読あり)

1. Iwata M, Hirose L, Kohara H, Liao J, Sawada R, Akiyoshi S, Tani K, Yamanishi Y. Pathway-Based Drug Repositioning for Cancers: Computational Prediction and Experimental Validation. J Med Chem. 2018 61:9583-9595. doi: 10.1021/acs.jmedchem.8b01044.
2. Sawada R, Iwata M, Umezaki M, Usui Y, Kubono T, Hayashi S, Kadowaki M, Yamanishi Y. KampoDB, database of predicted targets and functional annotations of natural medicines. Sci Rep. 2018 8:11216. doi: 10.1038/s41598-018-29516-1.
3. Sawada R, Iwata M, Tabei Y, Yamato H, Yamanishi Y. Predicting inhibitory and activatory drug targets by chemically and genetically perturbed transcriptome signatures. Sci Rep. 2018 8:156. doi: 10.1038/s41598-017-18315-9.
4. Hayashi S, Hamada T, Oshiro M, Itoi K, Yamamoto T, Kadowaki M. PI3K p85 Subunit-deficient Macrophages Protect Mice from Acute Colitis due to the Enhancement of IL-10 Production. Sci Rep. 2017 7:6187. doi: 10.1038/s41598-017-06464-w.
5. Iwata M, Sawada R, Iwata H, Kotera M, Yamanishi Y. Elucidating the modes of action for bioactive compounds in a cell-specific manner by large-scale chemically-induced transcriptomics. Sci Rep. 2017 7:40164. doi: 10.1038/srep40164.

[その他]

ホームページ等

アルゴリズム/データベース「KampoDB」

<http://wakanmoview.inm.u-toyama.ac.jp/kampo>

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：柴原 直利

ローマ字氏名：Naotoshi Shibahara

所属研究機関名：富山大学

部局名：和漢医薬学総合研究所

職名：教授

研究者番号(8桁): 10272907

研究分担者氏名：東田 千尋

ローマ字氏名：Chihiro Tohda

所属研究機関名：富山大学

部局名：和漢医薬学総合研究所

職名：教授

研究者番号(8桁): 10272931

研究分担者氏名：林 周作

ローマ字氏名：Shusaku Hayashi

所属研究機関名：富山大学

部局名：和漢医薬学総合研究所

職名：助教

研究者番号(8桁): 10548217

研究分担者氏名：山西 芳裕

ローマ字氏名：Yoshihiro Yamanishi

所属研究機関名：九州工業大学  
部局名：大学院情報工学研究院  
職名：教授  
研究者番号（8桁）：60437267

研究分担者氏名：山本 武  
ローマ字氏名：Takeshi Yamamoto  
所属研究機関名：富山大学  
部局名：和漢医薬学総合研究所  
職名：助教  
研究者番号（8桁）：70316181

研究分担者氏名：梅崎 雅人  
ローマ字氏名：Masahito Umezaki  
所属研究機関名：富山大学  
部局名：和漢医薬学総合研究所  
職名：准教授  
研究者番号（8桁）：80534370

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。