

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：36102

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2023

課題番号：18K06741

研究課題名（和文）ノンターゲット化学分析と多変量解析による漢方処方システム基礎理論の包括的モデル化

研究課題名（英文）Comprehensive modeling of fundamental theory explaining the Kampo prescription system by non-targeted chemical analysis and multivariate statistical analysis

研究代表者

岡田 岳人（Okada, Taketo）

徳島文理大学・薬学部・特別研究員

研究者番号：60412392

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,600,000円

研究成果の概要（和文）：数百種類にわたって使用されている漢方方剤（漢方薬）は、漢方医学独特の診断基準「証」に基づいて患者に処方される。その処方システムは、多様な治療経験・エビデンスに基づいたものであり、全体像は複雑である。こうした視点から、方剤の質量分析（MS; Mass Spectrometry）などによるノンターゲット化学分析から得られたフィンガープリント、構成生薬量・比、および「証」データを基にコンピュータを用いた多変量解析を行った。そして、得られた結果からデータ間の関係性を導出し、本研究対象とした方剤群の処方システム基礎理論をモデル化した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

研究対象とした漢方方剤について処方システムの基礎理論を包括的にモデル化したことによって、漢方薬の使用をより分かりやすく一般化するための知見や方向性が得られた。こうしたモデル化は、既存の漢方方剤を基に新たな処方を理論的に提案・設計するための参考にもなりうる。また、漢方医学と薬物治療に共通点をもつその他の伝統医学研究にも応用されうる研究結果と考えられる。

研究成果の概要（英文）： Hundreds of diverse Kampo formulas are widely used in modern drug therapy, and they are prescribed to patients based on Sho, a diagnostic criterion unique to Kampo medicine. The prescribing system is based on diverse therapeutic experiences and evidence, and the overall picture is complex. From this perspective, computer-based multivariate analysis was conducted based on the fingerprints obtained from non-targeted chemical analysis by, for example, mass spectrometry (MS), the amounts and ratios of the crude drugs that make up the Kampo medicines, and the Sho data. From the analysis, the relationships among those data were theoretically derived and the basic theory of prescribing systems is successfully modeled with respect to the formulas included in this study.

研究分野：和漢医薬学

キーワード：漢方処方 漢方方剤 漢方薬 生薬 証 データベース ノンターゲット化学分析 多変量解析

1. 研究開始当初の背景

漢方医学における薬物治療は、主として漢方方剤(漢方薬、漢方製剤)を処方することにより実践されている。そして、個々の方剤は様々な種類の生薬を組み合わせることにより製され、その種類は多数に及ぶ。これら方剤は、基本的に、漢方医学に独特の診断基準「証」に沿って患者・服用者に処方される。「証」とは、患者の状態を全身的に診たものである。例えば、虚弱な体質は「虚」、強壯であれば「実」、それらの中間は「間」と捉え、多種類の方剤の中から診断状態に合った個別化処方が検討される。こうした個人の「証」への方剤適用は、長年にわたって蓄積されてきた多様な治療経験・エビデンスに基づいたものであり、全体像は極めて複雑である。

本研究代表者らは、この複雑な処方システム基礎理論の包括的解明を目的としたケモメトリクス解析を進めてきた。具体的には、方剤の構成生薬量・比、方剤のノンターゲット化学分析データ、そして「証」との関係(相関・因果)を解析してきた。そして、それらの関係理論の一部が、コンピュータを用いた多変量解析により説明されうることを示す結果を得た[1]。しかしながら、より包括的な方剤と「証」との関係性については解析すべき点が多く残されたままであった。

2. 研究の目的

前項1の背景を踏まえ、未解析であった方剤「証」関係を明らかにするための研究を計画した。その入り口として、今日使用されている漢方方剤の中から、これまで研究対象としては詳細な解析に着手していなかった方剤群に焦点を当てた。そして、方剤「証」関係の解析に適した方法を検討しつつ研究を進めることとした。

3. 研究の方法

概要を以下の3項目に分けて説明する。

(1) 漢方処方データベースの構築

論文、書籍、医薬品添付文書などの資料を元に、方剤の適用「証」と構成生薬量・比を解析用にデータベース化した。また、以下(2)に述べる方剤のノンターゲット化学分析データを併せ研究に使用できるよう整理した。

(2) 漢方方剤の化学フィンガープリント分析

方剤のノンターゲット化学分析によって含有成分の総体を表すデータを得た。この分析は、サンプル内の成分を限定せず包括的に分析する手法である。そして、得られたデータを方剤の化学フィンガープリントと位置付けた。なお、本研究では、漢方薬剤形の中で最も製剤頻度の高い「湯液」に焦点を当てた。また、分析は直接導入MS分析を主に行い、NMR分析についても検討した。

(3) 多変量解析による漢方処方システム基礎理論の包括的モデル化

以上で作成した解析用データベースを元に、コンピュータを用いた多変量解析を行った。初めに、多変量解析に用いるデータを x と y に区分した。

x : 化学フィンガープリント; 構成生薬量・比

y : 「証」

そして、 x を元にした方剤クラスタリングのために主成分分析(PCA, Principal Component Analysis)を主に行った。また、 x を説明変数、 y を目的変数とした分類および回帰のため、主に部分最小二乗(PLS, Partial Least Squares)法による解析を行った。

4. 研究成果

主な成果の概要を記す。

研究代表者らの桂枝湯類に関する過去の研究において、漢方処方煎じ液の化学フィンガープリントを得るための直接導入MS分析の有用性が示唆されていた[1]。なお、この分析は方剤サンプルの成分分離をせずに質量分析を行う手法である。この方法によって他の方剤群も分析できるかどうか検討するために、生薬サイコとオウゴンを主薬とする柴胡剤を対象とした研究を行

った。

まず初めに、直接導入 MS 分析から得られた化学フィンガープリントのバリエーションを明らかにする目的で、PCA によるクラスタリングを行った(図 1)。その結果、実証寄りの 3 方剤は原点付近にクラスターを形成、実証寄りであるがオウゴンを含まない四逆散は遠い位置にプロット、虚証寄りの方剤は実証寄り方剤のクラスターから離散、といったスコアを示した。これらの結果が表したように、化学フィンガープリントのみを元にクラスタリングした場合でも、方剤構成生薬の特徴や適用「証」の違いに基づいたスコアプロットが得られることを確かめた。

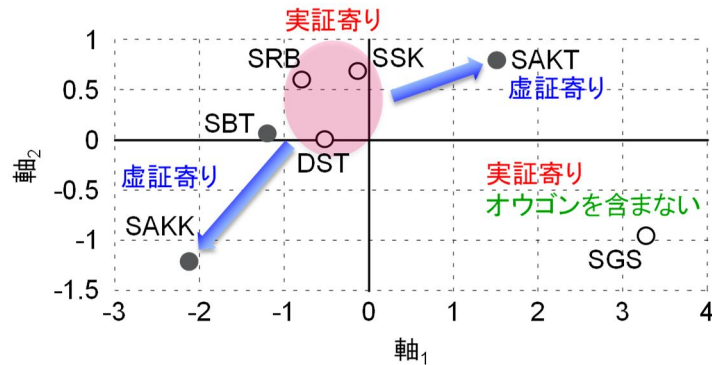


図 1. 柴胡剤の化学フィンガープリントに基づいた PCA クラスタリング

DST, 大柴胡湯; SRB, 柴胡加竜骨牡蛎湯; SGS, 四逆散; SSK, 小柴胡湯; SBT, 柴朴湯; SAKT, 柴胡桂枝湯; SAKK, 柴胡桂枝乾姜湯

上記の PCA 解析を踏まえて、PLS 法による解析へと移った(図 2)。ここでは、柴胡剤の化学フィンガープリントを X 、処方される「虚/実」の「証」(前項 1 参照)を y とした。(それぞれの行列・ベクトルは説明変数 x 、目的変数 y から成っている。)なお、 x は MS 分析の測定値に基づき、 y については、方剤の適用が「虚」証寄りの場合には -1、「実」であれば 1 とした。この PLS 分類の結果、各柴胡剤の適用が境界を隔てて実証あるいは虚証寄りに分類されることが示された。

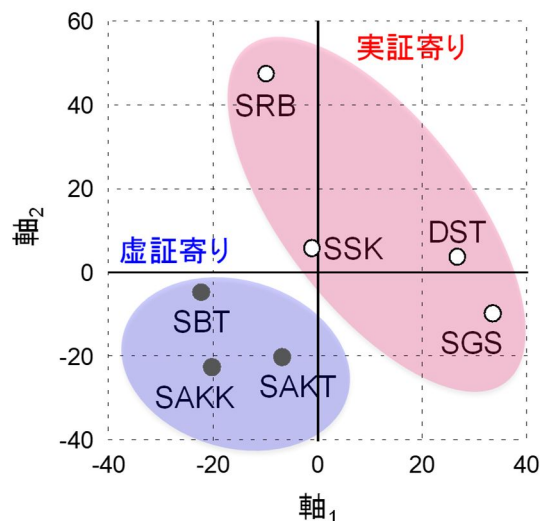


図 2. 柴胡剤の化学フィンガープリントと適用「証」に基づいた PLS 分類

方剤略称は図 1 参照

次に、PLS 法によって生成した X y モデルを用いて、柴胡剤と「虚/実」の関係をより詳細に解析した。この解析は PLS 回帰の手法に基づいて行った。すなわち、各柴胡剤の「虚/実」への適用を、改めて回帰モデルに当てはめることで得られる結果を考察した。例えば、大柴胡湯は $y = 1$ が元の値であるが、 X y モデルに回帰すると y の値が 1 をやや上回る結果となった(1~

1.5)。このことは、大柴胡湯は柴胡剤の中では比較的強めの実証寄り適用方剤であることを示唆していた。同様に、柴胡桂枝湯は $y = -1$ が元の値であるが、回帰モデル上では y 値が -1 をやや上回った ($-0.5 \sim -1$)。つまり、柴胡剤の中では比較的弱めの虚証向け方剤であることが示唆された。なお、これら回帰分析の詳細については引用文献[2]に示している。

そして、柴胡剤の構成生薬量・比を X とした場合の PLS 回帰についても検討したところ、各方剤の「虚/実」適用に沿った結果が得られた。更に、柴胡剤およびその他の方剤も含む約 600 処方方の「虚/実」適用に対する構成生薬寄与度の示唆が研究代表者らの過去の研究[1]から得られており、本研究結果との照合を行った。その結果、柴胡剤の主薬サイコ・オウゴン、そしてダイオウは実証適用への寄与度が比較的高い生薬であり、構成生薬量・比と「証」との関係に沿うものであった。他方、ボレイ、カロコン、カンキョウは虚証適用への寄与度が比較的高い生薬であり、これらは柴胡桂枝乾姜湯に含まれている。そして、本研究から得られた化学フィンガープリントを X とした場合の X y 回帰モデルにおいて、柴胡桂枝乾姜湯が最も虚証適用寄りの方剤であったことと一致していた ($-1 \sim -1.5$)。

また、方剤の NMR 分析結果を化学フィンガープリントとした多変量解析についても検討を進めた。ここでの解析対象は、桂枝湯と葛根湯およびそれらに近い構成生薬から製される方剤群とした。そして、先述の実験と同様に処方を水で煎じ、分析用に調整したサンプルの ^1H NMR 測定を行った。しかしながら、この分析をそのまま行くと、溶媒である H_2O のピークが方剤サンプル由来のシグナルに比べ極めて大きくなってしまいう問題が生じる。これを解決するため、Watergate 法による溶媒ピーク除去を行うことで、方剤由来ピークをデータとして抽出することが可能となった。この方剤データを化学フィンガープリントとし、データベースのその他の情報とも併せた多変量解析によるクラスタリングや分類などを行った。本研究から得られた知見を今後の研究に繋げていく考えである。

以上の研究から、これまで未解析であった方剤を対象に「証」との包括的關係を明らかにすることができた。また、本研究対象としきれなかった方剤群に関する知見については、今後の研究の中で明らかにしていければと考えている。更に、化学分析と多変量解析の方法についても新たな手法と併せて改善していく考えである。なお、全体的には研究課題について一定の成果が得られたものと思う。こうした一連の研究が、医療およびヘルスケアにおける漢方方剤の適正かつ効果的な使用の一助となるよう、処方システム基礎理論の総体をより明らかにしていければと考えている。

引用文献

[1] Okada T^{*}, #, Afendi FM #, Yamazaki M #, Chida KN, Suzuki M, Kawai R, Kim M, Namiki T, Kanaya S, Saito K. Informatics framework of traditional Sino-Japanese medicine (Kampo) unveiled by factor analysis. *J Nat Med.* 2016;70(1):107–114.

[2] Okada T^{*}, Namiki T, Tohge T, Kanaya S. Cheminformatics modeling of the correlation between Bupleurum Root-formula medicines and Excess and Deficiency pattern in the diagnostic criteria of *Sho* in Kampo (traditional Japanese medicine) by non-targeted direct infusion mass spectrometry with machine learning. *J Nat Med.* 2022;76(1):306–313.

(* : Corresponding Author; # : Equal Contribution)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Taketo Okada, Takao Namiki, Takayuki Tohge, Shigehiko Kanaya	4. 巻 76
2. 論文標題 Cheminformatics modeling of the correlation between Bupleurum Root-formula medicines and Excess and Deficiency pattern in the diagnostic criteria of Sho in Kampo (traditional Japanese medicine) by non-targeted direct infusion mass spectrometry with machine learning	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Natural Medicines	6. 最初と最後の頁 306 ~ 313
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11418-021-01577-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岡田 岳人
2. 発表標題 生薬、化学、そして「証」に基づいた漢方処方データサイエンス
3. 学会等名 薬用植物フォーラム2022（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岡田 岳人, 並木 隆雄, 峠 隆之, 金谷 重彦
2. 発表標題 MS分析と教師あり学習による柴胡剤の化学フィンガープリントと「証」の相関解析
3. 学会等名 日本生薬学会 第67回年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡田 岳人
2. 発表標題 MSとNMR分析から得られる漢方方剤ケミカルフィンガープリントを採り入れた漢方処方システム基礎理論の包括的解析
3. 学会等名 質量分析インフォマティクス研究会・第4回ワークショップ（2019年）「データ科学が拡大する質量分析の地平線」（東京）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡田 岳人, 峠 隆之, 及川 彰, 並木 隆雄, 山崎 真巳, 金谷 重彦, 斉藤 和季
2. 発表標題 漢方薬のケモメトリクス解析: 複数のMS分析から得られた方剤煎液水溶成分の統合フィンガープリントと処方適用「証」の相関解析
3. 学会等名 第22回 天然薬物の開発と応用シンポジウム (熊本)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岡田 岳人, 吉田 尋耶, 長町 諭, 飯原 なおみ
2. 発表標題 簡便1H NMRフィンガープリント法による漢方方剤湯液水溶成分のケモメトリクス解析
3. 学会等名 日本生薬学会 第65回年会 (広島)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

岡田 岳人. 植物と共生 すぐそこにある分子: 複雑な漢方処方システムを化学と情報・数理の観点からひも解く. 現代化学 6月号 (株式会社東京化学同人) 2023; 627: 62-64.

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	並木 隆雄 (Namiki Takao)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------