

《若手研究者紹介》



体内時計を基盤にした薬剤学研究

小 柳 悟* Satoru Koyanagi

九州大学大学院薬学研究院 グローカルヘルスケア分野

1. はじめに

本稿への執筆依頼を受けたのは平成 27 年の夏頃であった。すでに四十代半ばにさしかかった筆者にとって「若手研究者紹介」という本欄のタイトルには正直気が引けたが、思い返せば私が本格的に薬剤学領域の研究をはじめてからまだ 10 年である。伝統ある薬剤学の研究室で研鑽を積んできた研究者と比べると自身の経験年数は浅く、彼らには言葉では表すことが難しい奥深さのようなものを感じることもある。そこで、この機会に自らの研究生活を振り返ってこれまでの変遷を整理し、今後の抱負などについても述べてみたいと思う。

2. 生体リズムと時間薬理学

1990 年代に CYP の多型や新しいトランスポーターの発見などで薬物動態学研究が興奮で湧いていた頃、残念なことに私はその重要性をよく認識できていなかった。その頃、私は九州大学薬物動態学研究室(樋口駿教授(当時))の修士課程の学生であったが、日々を薬理学的な研究手法の習得とその実験に明け暮れ、CYP やトランスポーターに関する分子生物学的な研究とは無縁の状態であった。当時の研究テーマは「インターフェロンの時間薬理」であり、本サイトカイン製剤の効果や副作用が投薬時刻の違

いによってどのように変化するか? また、その原因は何か? ということを探求していた。当時においても、多くの薬物の効果や副作用が投薬時刻によって変化することは知られていた。しかしながら、そのメカニズムは受容体数や血中濃度の概日リズムといった現象に求められ、そもそもなぜ生体機能に概日リズムが生じるのかという本質的な問題は未解明な状況であった。

1998 年になって、私はようやく分子生物学的な研究に接することになる。後に概日リズムの研究分野でブレイクスルーを引き起こした「時計遺伝子」の発見報告がきっかけだった。当時、朝刊 1 面に「体内時計の遺伝子発見」という見出しが載ったことを今でも鮮明に覚えている。現在の職に就いてから、大学の講義や一般向けのセミナーなどで時計遺伝子について紹介すると「体内時計は本当にあるのですね」といった感想をよく聞く。その体内時計の実態を成すものが時計遺伝子である。博士課程に進学し、インターフェロンの研究を続けているなかで、本サイトカイン製剤を連投していくと、睡眠覚醒のサイクルや副腎皮質ホルモンの分泌における概日リズム(24 周期の日周リズム)などが変調をきたすことを見出していた。しかし、その原因究明として行き着く先には「なぜ生体機能に概日リズムが生じるのか?」という根本的な問題が横たわり、インターフェロンによる生体リズム異常のメカニズム解明は暗礁に乗り上げていた。そのような最中における海外からの時計遺伝子の発見報告であった。私は当時助手であった大戸茂弘先生(現:九州大学薬剤学分野教授)からのアドバイスのもと、インターフェロンが時計遺伝子の発現に影響を及ぼし、生体リズム異

*2000 年九州大学大学院薬学研究科博士課程修了, 同年福岡大学薬学部生化学研究室助手, 2005 年九州大学大学院薬学研究院薬剤学分野准教授, 2016 年同大薬学研究院グローバルヘルスケア分野教授, 2008 年日本時間生物学会学術奨励賞受賞, 2013 年日本薬物動態学会学術奨励賞受賞, 趣味: ランニング, 連絡先: 〒812-8582 福岡市東区馬出 3-1-1
E-mail: koyanagi@phar.kyushu-u.ac.jp

常を引き起こすこと。また、その影響は投薬時刻を変えることで回避できることを見出した。これらの研究成果は幸いにもインパクトのあるジャーナルに掲載され¹⁾、私は「生体リズム」「時間薬理」の研究に益々傾倒していった。

3. モチベーションとオリジナリティ

大学院修了後は福岡大学薬学部の生化学研究室(古野廣司教授(当時))の助手に採用していただいた。当時の生化学研究室の研究テーマは「セラミド合成酵素の同定」や「硫酸多糖体の生理活性の解析」などであり、暫くは生体リズムや時間薬理学、薬剤学とも関連のない研究を行っていた。しかし、基礎系の研究室であったため、様々な分子生物学や生化学的な実験手法を習得することができたのは幸いであった。また一方で、研究者を職業にしてしまうと、純粋に研究を楽しむことが難しくなることがわかった。大学院生から教員に立場が変わると成果を論文にまとめることが大きな目的となり、インパクトの高いジャーナルを意識しながら、科学の本質とは必ずしも関係性のない「レビューとのやり取り」が常について回る。ポストクでも将来のキャリアアップを考えて業績主義に偏らざるを得ないし、研究室を主宰する立場になれば研究費獲得を常に意識しなければならない。後先考えずに伸び伸びと研究に打ち込めるのは大学院生までかもしれない。

そんなことを考えていた時、「コンブのヌメリ成分であるフコイダンという物質に抗がん作用がある原因を調べて欲しい」との課題が持ち込まれてきた。いろいろな健康食品が「がん」の予防や治癒を謳うなか、私は懐疑的な気持ちで実験に着手した。正直に言うところ「きっとネガティブな結果しか出ないだろう。だが、それはそれで効果がないということを丁寧に示せばいい」という思いだった。しかしながら、私の予想に反して担がんマウスにフコイダンを投与すると確かに腫瘍の増殖は抑えられた。一方で、培養した腫瘍細胞にフコイダンを添加しても明らかな殺細胞効果は認められなかった。これには様々な原因が考えられたが、その当時、腫瘍血管新生阻害という概念が広がり始めていた。腫瘍はその増殖に際し、自らの成長に必要な酸素や栄養素を獲得するために周辺組織に様々な因子を放出して、その組織内に新たな血管を新生しようとする。この腫瘍による血

管新生を阻害すれば、がん細胞を「兵糧攻め」にすることで腫瘍の増殖を抑制できるという発想で、現在では抗血管新生療法は広く行われている。腫瘍による血管新生ではVascular Endothelial Growth Factor (VEGF) という因子が重要な役割を担っている。VEGFは血流が不十分で低酸素状態に曝された腫瘍細胞から分泌され、周辺にある血管内皮細胞膜上の受容体に結合して、その増殖や組織内への浸潤を促す。VEGFはヘパラン硫酸などの多糖体と親和性を示すことが知られていたが、腫瘍周辺に辿りついたフコイダンは、VEGFを絡めとり、中和抗体のような作用を示すことがわかった。すなわち、コンブのヌメリ成分は、VEGFとその受容体の結合を阻害し、血管新生を抑制することで抗腫瘍効果を発揮していたのである²⁾。

その後、腫瘍細胞からのVEGFの分泌には概日リズムがあること。また、そのリズムに合わせて、現在市販されている抗VEGF抗体やVEGF受容体阻害剤などを投与すれば、より高い抗腫瘍効果が得られることも見出した³⁾。この「効果が高まる時間帯に薬を投与して“がん”を治す」というシンプルなメッセージは領域の異なる研究者にも伝わりやすかったようで、発表した論文は数多く引用していただき、研究に着手した当初のモチベーションから考えると予想外の反響であった。しかし、この成果を発表した後の研究はVEGF研究の二番煎じのような発想のものになってしまい、しばらくのあいだ自分自身でオリジナリティがあると思える成果を出せない日々が続いた。

4. トランスポーターの概日リズム

2005年12月に九州大学薬学分野の准教授に着任することになった。私は同大学院の薬物動態学研究室の出身だったが、先にも述べたように数年のあいだ基礎の生化学や生体リズムに関する分子解析に従事していたことから、薬剤学・薬物動態学研究のトレンドをほとんど知らない状況だった。また、自身の研究についても新しい視点からのテーマを模索していた。着任して暫くは、論文や総説を読みあさり、刺激を与えてくれるテーマを探した。そのなかで、ジゴキシン、タクロリムス、ミダゾラムなどのヒトでの体内動態が服用時刻の違いによって変化するという論文に出会った。ジゴキシンやタクロリム

スはP糖タンパク質 (P-gp) の基質であること、また、タクロリムス、ミダゾラムはCYP3Aによって代謝されることなどから、腸管や肝臓におけるP-gpやCYP3Aの働きには概日リズムがあるのではないかと。また、リズムがあるとしたら、それらは時計遺伝子によってどのように制御されているのか？という思いで当時の大学院生らとともに実験に取り組んだ。

このとき、それまでに培ってきた体内時計の分子メカニズムに関する解析手法が役に立った。マウス小腸におけるP-gpの発現とジゴキシンの排泄機能には概日リズムが認められたが、遺伝的に生体リズムに変調をきたすClock遺伝子変異マウスでは、これらP-gpの発現リズムは消失していた。また、この変異マウスを用いた解析から、時計遺伝子によるAbcb1aの転写制御機構を明らかにし、P-gpの発現リズム形成のメカニズムを解明することができた⁴⁾。さらに、P-gpの腸管での発現リズムは齧歯類のみではなく、サルなどヒトにより近い動物においても認められ、夜行性動物と昼行性動物における概日リズム制御メカニズムの相違点も見出すことができた⁵⁾。その後も、消化管でのBCRP、腎臓におけるOCT2、肝臓での薬物代謝酵素 (CYPs) の発現なども時計遺伝子の働きによって24時間周期で変動し、薬物の体内動態や効果に影響を及ぼすことを明らかにした。

5. 体内時計と薬物動態

以前に他の雑誌の総説にも記したが、このような薬物動態制御因子の機能に概日リズムが存在することは、生命活動の効率化の観点から意味のあることだと考えている。体内時計は生命が地球の自転に伴う外部環境の周期的な変化に効率良く対応するために獲得した仕組みで、その基本メカニズムはバクテリアからヒトに至るまで種を超えて保存されている。体内時計は昼行性・夜行性といった動物の行動パターンをも決定づけ、それに伴う栄養源の摂取(捕食)と、エネルギー代謝機能の制御にも関与している。動物が生命活動を維持するには、生体外からエネルギー源を摂取しなければならないが、それは同時に有害な物質も体内に取り入れてしまう危険性も孕んでいる。そのため、生命活動に必要な物質を効率的に吸収するとともに、危険な物質を積極的に体外へ

排出する仕組みが必要だったのではないだろうか。実際、消化管での吸収、排泄に関わるトランスポーターの機能はいずれも摂食が盛んな活動期に上昇する。同様に、肝臓における代謝能、腎臓の排泄機能も動物の活動期に上昇する。消化管のトランスポーターや肝臓における代謝酵素が常に高いレベルで発現していれば、栄養源の摂取も、危険物質の排泄も常時効率的に行うことができるはずである。しかし、実際にはそのようなことは起きておらず、主に活動期において栄養源の取り込み機能と生体の防衛機能が亢進する。一方で、休息期には摂取した栄養素をグリコーゲンや脂質などエネルギー源に変換する酵素の活性が上昇する。DNAからRNAへの転写、それに引き続くタンパクの翻訳は、非常に多くのエネルギーを消費するシステムである。そのため、栄養源を摂取しない時間帯(休息期)にまで、トランスポーターや解毒に関わる酵素の発現を高めておくことはエネルギー利用の観点からみれば非効率的である。限られたエネルギーを効率的に使い、必要な時に必要な分子の発現を高める方が生命活動の維持、更には種の存続においても有利だったのかもしれない。結果的にトランスポーターの機能やCYPの酵素活性に概日リズムが生じることで薬物の血中濃度や組織の移行性にも服用時刻の違いによる差異が生じるが、この現象を上手く利用すれば、より効果的・効率的な治療が可能になると考えている。

6. これから

本年3月から幸いにも九州大学で新しいラボを構築することになった。グローバルヘルスケア分野という名称だが、その名からは何を行う研究室なのか想像し難いと思う。平成27年5月に本学薬学研究院に「グリーンファルマ研究所」が開所した。同研究所は既存の承認薬の適応拡大(育薬エコファーマ)と、地球環境にやさしい薬の合成(グリーンケミストリー)を融合させた「グリーンファルマ」を推進するため、がん、脳心血管疾患、感染症、慢性疼痛などの克服を目指し、新たな医薬品・診断マーカーの開発と国際共同研究を通じた研究・教育のグローバル化を図ることを目的としている。このなかで私は「体内時計の分子機構を基盤にした難治性疼痛の病態解明と治療標的分子の同定」を当面のテーマに研究を展開していきたいと考えている。体内時計は

薬の体内動態や効果に時刻依存的な変化を引き起こすだけではなく、疾患の症状や病態にも概日性の変動を生じさせる。がんや神経障害による難治性の痛みも一日のなかの特定の時間帯に悪化することが知られているが、このメカニズム解明を通じて、概日的に痛みを悪化させる因子の同定と治療標的としての可能性を追求していくつもりである。この目標を達成するには薬理学、生化学、分子生物学から得た知識や技術、そして薬剤学研究で培ってきた薬効評価に関するノウハウなどを全て盛り込む必要があるだろう。また、化合物ライブラリー等を駆使して有効な鎮痛成分（低分子化合物）の探索も行っていくつもりだが、ひとつの研究室でできることには限界があり、他分野、他機関とも連携して新しい技術の導入などボトムアップを図っていく必要がある。さりとて、あれもこれもと風呂敷を広げすぎたような状態になってはならない。今後も地に足のついた姿勢で研究を続けていきたいと思う。

最後に、大学で行われる実験の多くは学生が担い、一人前の研究者が揃っているわけではない。しかし、彼らの常識に捕らわれない発想や高いモチベーションは、時に思いもよらない新事実の発見に繋がることもある。学生の自由な発想とやる気を育て、研究

者としての基盤を築かせることが大学で研究・教育に携わる者の使命だと感じている。私自身も研究室内だけでは視野が狭くなりがちになることを肝に命じ、常識に捕らわれない視点から「薬剤学」を探究していきたいと思う。

引用文献

- 1) S. Ohdo, S. Koyanagi, H. Suyama, S. Higuchi, H. Aramaki, Changing the dosing schedule minimizes the disruptive effects of interferon on clock function, *Nat. Med.*, **7**, 354–360 (2001).
- 2) S. Koyanagi, N. Tanigawa, H. Nakagawa, S. Soeda, H. Shimeno, Oversulfation of fucoidan enhances its anti-angiogenic and anti-tumor activities, *Biochem. Pharmacol.*, **65**, 173–179 (2003).
- 3) S. Koyanagi, Y. Kuramoto, H. Nakagawa, H. Aramaki, S. Ohdo, S. Soeda, H. Shimeno, A molecular mechanism regulating circadian expression of vascular endothelial growth factor in tumor cells, *Cancer Res.*, **63**, 7277–7283 (2003).
- 4) Y. Murakami, Y. Higashi, N. Matsunaga, S. Koyanagi, S. Ohdo, Circadian clock-controlled intestinal expression of the multidrug-resistance gene *mdr1a* in mice, *Gastroenterology*, **135**, 1636–1644 (2008).
- 5) M. Iwasaki, S. Koyanagi, N. Suzuki, C. Katamune, N. Matsunaga, N. Watanabe, M. Takahashi, T. Izumi, S. Ohdo, Circadian modulation in the intestinal absorption of p-glycoprotein substrates in monkeys, *Mol. Pharmacol.*, **88**, 29–37 (2015).