

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 「統合医療」に係る医療の質向上・科学的根拠収集研究事業
(英語) Research Project for Improving Quality in Healthcare and Collecting Scientific Evidence on Integrative Medicine
- 研究開発課題名： (日本語) 薬物動態 - メタボローム統合解析による麻黄湯の有用性・安全性についての研究
(英語) Research Project for Improving Quality in Healthcare and Collecting Scientific Evidence on Integrative Medicine
- 研究開発担当者 (日本語) 教育研究部医療学系臨床医学部門 教授 花崎 和弘
所属 役職 氏名： (英語) Research and Education Faculty, Medical Sciences Cluster, Clinical Medicine Unit Professor, Hanazaki Kazuhiro
- 実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) 臨床検体の採取
開発課題名： (英語) collection of clinical samples
研究開発分担者 (日本語) 高知大学医学部附属病院 特任教授 杉浦哲郎
所属 役職 氏名： (英語) Kochi Medical School Hospital, Specially Appointed Professor, Sugiura Tetsuro
- 分担研究 (日本語) 臨床検体の採取
開発課題名： (英語) collection of clinical samples
研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人高知大学 教育研究部医療学系臨床医学部門 教授 宮村充彦
所属 役職 氏名： (英語) Kochi University, Research and Education Faculty, Medical Sciences Cluster, Clinical Medicine Unit Professor, Miyamura Mitsuhiro
- 分担研究 (日本語) 臨床検体の採取
開発課題名： (英語) collection of clinical samples
研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人高知大学 教育研究部医療学系臨床医学部門 助教 北川博之
所属 役職 氏名： (英語) Kochi University, Research and Education Faculty, Medical Sciences

Cluster, Clinical Medicine Unit Assistant Professor, Kitagawa
Hiroyuki

分担研究 (日本語) 臨床検体の採取
開発課題名: (英語) collection of clinical samples
研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人高知大学 教育研究部医療学系臨床医学部門 助教 宗景匡哉
所属 役職 氏名: (英語) Kochi University, Research and Education Faculty, Medical Sciences
Cluster, Clinical Medicine Unit Assistant Professor, Munekage
Masaya

分担研究 (日本語) 薬剤提供、薬物動態測定、メタボローム測定、統合的解析
開発課題名: (英語) provision of the drug, execution of pharmacokinetics and metabolomics,
integrated data analysis
研究開発分担者 (日本語) 株式会社ツムラ ツムラ研究所 部長 山本雅浩
所属 役職 氏名: (英語) Masahiro Yamamoto, Manager, Tsumura Laboratory, TSUMURA & Co.

II. 成果の概要 (総括研究報告)

本プロジェクト(3年度計画)は、麻黄湯のインフルエンザ感染に対する有用性・安全性を、薬物動態-メタボローム統合解析とシステムバイオロジーを駆使した新しい方法論を用いて、基礎・臨床の双方から、信頼性の高いエビデンス、詳細かつ的確な作用機序解明、レスポンドの識別を解明しようというものである。その初年度での研究として、麻黄湯を健常人に投与し、血漿中の麻黄湯由来成分、麻黄湯投与によって誘導される宿主由来生理活性物質を、薬物動態解析、ターゲット/ノンターゲット・メタボローム測定によって網羅的に解析し、真の活性成分を明らかにすることを目的とした。まずここから始めたのは、漢方薬に含まれている成分のほとんどはそのままでは吸収されず、さまざまな代謝や変換を経て血中や標的臓器に到達し、それらの代謝物や変換体こそが、漢方薬の作用を真に担っているからである。

臨床試験は、医師主導GCP試験として、実施計画書、同意説明文書等を作成の上、当院IRBにおける審査(UMIN:000023609, IRB承認日:2017/08/01)を得て、9月に実施された。選択・除外基準を含め目標症例が確保され、本研究に必要とされる臨床検体を取得し、分析に供試した。外部監査会社よりGCP監査を実施した。

薬物動態学的解析の結果、これまで吸収されると考えられてきた主要活性成分16種類についての血漿中濃度-時間濃度推移が得られ、服用後の麻黄湯の各種の薬理作用の発現時間を理解するための基礎が得られた。また、構成生薬甘草の薬効を担うグリチルレチン酸は、甘草に含まれる成分が腸内細菌によって変換されて生成されるものであるが、血中から検出され始める速度には、大きな個人差が認められ、これは、腸内細菌の相違によると思われた。しかし、これまで高知大及び共同研究者(株)ツムラで実施されてきた他の漢方薬の薬物動態の結果も併せて解析した結果、その相違もおおよそ3つのパターンに分かれることがわかり、麻黄湯に対する作用の個人差の理解のための基礎が与えられた。

ノンターゲットメタボローム解析によって、麻黄湯によって血中に出現した約173成分のうち、麻黄湯にそのままの形で含まれていたのは2.3%程度で、残りは麻黄湯成分が代謝や変換を受けたもの、ある

いは麻黄湯投与によって新たに血中に出現したホストの生体内成分であった。その大半は、組成式はわかっても構造式の決定にまでは至らなかったが、これらが明らかにならなければ、麻黄湯の作用の全体像と真の活性成分を解明することはできない。この研究を立案した1年前の時点ではこの問題を解決する手法は存在しなかったが、バイオインフォマティクス技術の驚異的な進展によって、現在、これらのデータから麻黄湯成分の抱合物、およびこれまで未知であったものも含めたフラボノイドの、網羅的解明の見込みが立ち、現在、それらの解析を精力的に推し進めている。

臨床検体のターゲットメタボローム解析の結果と、インフルエンザ感染による病態面（とりわけ、発熱、消耗、食欲低下）をシミュレートできる疑似ウイルス感染モデル(in vitro、ラット in vivo)を用いた、マルチオミックスを含む多面的検討の結果、麻黄湯は、発熱や痛みを引き起こすプロスタグランジンの産生を、既成の鎮痛解熱剤のように、プロスタグランジン産生酵素などの少数の主標的分子を特異的に抑制することによってではなく、プロスタグランジン産生に至る生体成分の産生・代謝経路に対して、広範囲に多彩な作用様式で干渉することで、抑制していることが明らかになった。すなわち、各種脂質→ ω 6 脂肪酸合成→アラキドン酸→（シクロオキシゲナーゼ）→プロスタグランジという炎症経路に対して、麻黄湯は、脂肪酸合成経路を ω 3 脂肪酸合成の方向にリバランスさせることで ω 6 脂肪酸産生を減らしたり、 ω 6 脂肪酸からアラキドン酸合成される経路、アラキドン酸からプロスタグランジンが合成される経路をバイパスさせたりすることによって、アラキドン酸、プロスタグランジンの産生を減少させていた。これらは、炎症因子の代謝経路全般に作用するという、全く新しい抗炎症作用のあり方を示している。

今後の計画としては、1)麻黄湯投与によって血中に出現した未同定成分をさらに解明し、2)これらの成分の生物活性を明らかとし、3)主活性成分の薬物動態の個人差の解析を進め、4)これらの成分が異なる標的分子に異なるタイミングで作用することをさらに詳細に明らかにし、5)それらをシステムバイオロジーのプラットフォーム上で統合的に解析することで、麻黄湯の真の活性成分と作用様式解明し、安全性に対する示唆を得、レスポンスの理解と識別を可能にしていきたいと考えている。

[英文]

This 3-year project aims to elucidate the benefit and safety of a Japanese traditional medicine (Kampo), maoto, for the treatment of influenza infection through an integrated analysis of pharmacokinetics and non-targeted/targeted analyses on the systems biology platform. The research will provide the high-level clinical evidence, detailed elucidation of mechanism of action and the diagnosis of maoto responders. The first-year plan consists of clinical pharmacokinetics study using healthy volunteers mixed with non-targeted and targeted metabolomics and in vitro/in vivo pharmacological analyses using relevant animal and cell disease models. Many ingredients contained in the maoto drug substance are subjected to extensive metabolism executed by host xenobiotic system and enteric microbiota, therefore it is indispensable to elucidate the compounds and metabolites appeared in the blood after maoto administration. Not the original compounds contained in the maoto drug substance, but the compounds and metabolites appeared after/by maoto administration, are supposed to be the candidates for the “true” active principles for maoto’s beneficial effects.

All study procedures were conducted in accordance with the ethical principles of the Declaration of Helsinki, consistent with Good Clinical Practice guidelines (UMIN:000023609), and approved by the institutional review board at Kochi Medical School Hospital. (Institutional Review Board approval :

2017/08/01)

Results of Pharmacokinetic study. Among the absorbable major 22 ingredients, 16 ingredients were detected and the plasma concentration–time profiles have been obtained, which provides the basis for understanding time-dependent expression of pharmacological activity by these compounds which have different pharmacokinetics profiles. Glycyrrhetic acid, which is a metabolite of a maoto's major ingredient produced by enteric microbiota, showed prominent individual difference in the time to start to appear in the plasma, presumably due to the difference in microbiota among individuals. However, integrated with the previous pharmacokinetics data of various Kampo conducted in Kochi university and Tsumura & Co., the present results suggest that the individual difference may be clustered into 3 classifications, which might be open the way tailor-made medical use of maoto.

Non-targeted metabolomics revealed that quite limited portions (2.3%) of the original compounds contained in maoto appeared in the blood after maoto administration. Other 97.7% are supposed to be the metabolites produced by host xenobiotic systems and enteric microbiota. Although the chemical composition of these compounds had been obtained, it had been difficult to determine the chemical structure formula. However, unexpectedly, surprising progress in bioinformatics has enabled us to analyze such previously untreatable compounds with the help of overwhelming database of conjugated compounds and flavonoids and artificial intelligence, which provides more comprehensive and more relevant assumption of the “true” active principles of maoto. The analysis is now in progress.

Results of targeted metabolomics, performed on the clinical samples, are co-analyzed with the results of basic studies using in vitro and in vivo (rats) pseudo-infectious disease models. The analysis revealed a unique mechanism of action of maoto on the symptoms, such as fever, fatigue and body-weight loss. Pseudo-infectious agents induced the production of prostaglandins, generators of pain and fever, which was suppressed by maoto, not via inhibition of prostaglandin producing enzymes including cyclooxygenases (which is the general mechanism of existing analgesics), but via multipoint- and multi-modal-interference upon the long track of pathways toward prostaglandin synthesis. This is a completely new mode of analgesics and anti-inflammatory agents. On the inflammatory metabolic pathway streaming omega 6 fatty acids -> arachidonic acid -> (cyclooxygenases) -> prostaglandins, maoto rebalanced the production of fatty acids from omega 6 to omega 3 production, reduced arachidonic acid production via diversion of fatty acid substrates to the paths other than arachidonic acid production, canalized the direction of arachidonic acid metabolism to the channels not leading to prostaglandin production.

Future plans. 1) Further extensive analysis on non-targeted metabolome, 2) elucidation of bioactivity of newly identified and/or assumed compounds appeared in the blood after maoto administration, 3) further extensive study of the individual difference in pharmacokinetics of active principles, 4) elucidation of spacio-temporal map of pharmacological action of maoto's “true” active principles and their target molecules, 5) integrated analysis of these data on the platform of systems biology, “Garuda”, equipped by Systems Biology Incorporated, the leader of systems biology. The research will provide the deeper understanding of the benefit and safety of maoto for the treatment of influenza infection, and the completely novel methodologies of investigation of traditional medicines.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0件、国際誌 0件）

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表（口頭 2件、ポスター 3件）

1. Poster. Akinori Nishi, Katsuya Ohbuchi, Hirotaka Kushida, Takashi Matsumoto, Keiko Lee, Haruo Kuroki, Shigeki Nabeshima, Chika Shimobori, Nagisa Komokata, Hitomi Kanno, Naoko Tsuchiya, Makoto Zushi, Tomohisa Hattori, Masahiro Yamamoto, Yoshio Kase, Yukiko Matsuoka, Hiroaki Kitano. Illuminating the true nature of a complex herbal formulation: global changes in compound and metabolomic profiles induced by Japanese Kampo medicine. International Conference on Systems Biology 2016. Barcelona Spain, 2016/09/16-20, 国外
2. Poster. Katsuya Ohbuchi, Chika Shimobori, Nagisa Komokata, Akinori Nishi, Keiko Lee, Hitomi Kanno, Makoto Zushi, Masahiro Yamamoto, Yoshio Kase. Exploring the modes of action of a 5-compound herbal mixture on macrophage cell line using multi-omics analysis. International Conference on Systems Biology 2016. Barcelona Spain, 2016/09/16-20, 国外
3. 口頭. 大淵 勝也, 下堀 知香, 菰方 渚, 西 明紀, 李 慶湖, 山本 雅浩. 漢方薬由来成分が有する抗炎症効果に対するメタボローム解析. 第 10 回メタボロームシンポジウム, 鶴岡, 2016/10/19-21, 国内
4. 口頭. 大淵 勝也, 下堀 知香, 菰方 渚, 西 明紀, 山本 雅浩. メタボローム解析による漢方薬含有 5 成分のマクロファージに対する表現型解析. 第 90 回日本薬理学会年会, 長崎, 2017/03/15-17, 国内
5. Poster. Akinori Nishi, Katsuya Ohbuchi, Hirotaka Kushida, Takashi Matsumoto, Keiko Lee, Haruo Kuroki, Shigeki Nabeshima, Kazuhiro Hanazaki, Chika Shimobori, Nagisa Komokata, Hitomi Kanno, Naoko Tsuchiya, Makoto Zushi, Ayako Yachie, Yukiko Matsuoka, Hiroaki Kitano, Masahiro Yamamoto. Systems Biology of Herbal Medicine: Pharmacological property of complex herbal formulation. International Conference on Systems Biology 2017, Blacksburg, Virginia, USA, 2017/08/06, 国外

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

なし

(4) 特許出願

なし