

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 18 日現在

機関番号：13301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2016

課題番号：25560366

研究課題名（和文）ヘム代謝調節による分子レベルでの疲労制御法の開発と疲労抑制メカニズムの解明

研究課題名（英文）Regulation of fatigue and stress by modulating of heme metabolism

研究代表者

小川 和宏（OGAWA, Kazuhiro）

金沢大学・医学系・准教授

研究者番号：30344659

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：研究代表者・小川は、化学物質による、個体レベルでの疲労軽減や酸化ストレスに対する防御を検討した結果、ポリアミンの経口投与によって簡便に、トレッドミルでの運動による疲労を軽減したり、抗がん剤による細胞障害を抑制する条件を見出し、「抗疲労薬および抗疲労食品」および「心臓保護薬」の特許2件を出願した。また、ヘム代謝を調節する物質による新たな作用メカニズムの、「原虫感染症治療又は予防薬」の特許権を、研究代表者・小川が単独の特許権者として取得した。これらは、抗疲労作用や感染症予防を含む生体防御の新たな研究基盤となる成果である。

研究成果の概要（英文）：Our invention “Anti-protozoa agents” was approved as a patent in 2014. The principal investigator also invented “Anti-fatigue agents” and “Heart protecting agents” and applied for patents.

研究分野：薬理学、創薬科学、食品科学、医療安全学

キーワード：ヘム ヘムオキシゲナーゼ 生体防御 疲労 ストレス 訴訟 特許 副作用

## 1. 研究開始当初の背景

国民の約4割が慢性的な疲労を感じている疲労大国日本（文部科学省研究班の調査結果）において、疲労軽減法や回復促進法の開発は社会的に重要な課題である。スポーツ医学とその応用によるトップアスリートの運動能力向上や、体力が低下したり治療による負担で疲弊している患者においても、これらは重要である。

こうした身体的な疲労に対しては、これまで疲労軽減法や回復促進法として、栄養補給やマッサージなどが用いられてきたが、分子レベルでの作用機序に基づいた疲労軽減法は殆ど見られない。

スポーツなど肉体の酷使による筋肉や循環器系などの疲労と、現代社会に多いパソコンの長時間使用や対人関係での緊張などのストレスに起因する疲労は、質的に異なると考えられるものの、それらの疲労の分子レベルでの差異も、十分には明らかにされていない。

生体内における分子レベルでのストレスとしては、酸化ストレスによる生体分子の損傷などの研究が一定程度進んでおり、疲労や疾患との関連もある程度明らかにされつつある。しかし、それらを予防や軽減する方法は、十分に開発されているとは言えない段階である。

そのため、酸化ストレスを軽減することにより、分子レベルで疲労を軽減したり回復を促進したりする方法を開発することや、そうした過程で、分子レベルでの疲労と回復、生体防御のメカニズムを明らかにすることは、学術的にも実用面でも意義深いと考えられる。

## 2. 研究の目的

ヘムは、ヘモグロビンやチトクローム P450 などヘムタンパク質の補欠分子族として、酸素運搬や種々の代謝などに必要で、生命維持に必須の分子であり、生体内で合成および分解され、分解系は2段階の酵素反応である。まずヘムオキシゲナーゼによってビリベルジン、鉄、一酸化炭素に分解され、ビリベルジンは更にビリルビンへ変換される。

第1段階は、誘導型のヘムオキシゲナーゼ (HO)-1 や構成型の HO-2 で触媒されるが、HO-1 は酸化ストレス、重金属、紫外線な種々の侵害刺激で発現が強く誘導される、ストレス応答タンパク質である。

遊離ヘムはラジカルを発生するため過剰では毒性が強く、分解で生じるビリルビンは抗酸化作用を持つため、HO-1 の発現誘導は生体防御作用を発揮する。動物モデルなどを用いた幾つかの病態において、HO-1 の誘導や高発現が、疾患の治療や予防に有用であることが示されている。

本研究代表者は、ヘムが転写抑制因子 Bach1 に直接結合してその DNA 結合を阻害することで HO-1 の転写を誘導するというメカニズムを解明したが (Ogawa et al., EMBO J, 20(11), 2835-2843 (2001))、これは高等生物におけるヘム結合性・ヘム調節性転写因子の世界初の同定であり、世界の主要科学誌だけで 266 回引用されている (2017 年 5 月時点)。

本研究は、本研究代表者がこのように実績を挙げてきたヘム代謝調節を軸として、HO-1 誘導による酸化ストレス防御などによって、疲労を軽減したり回復を促進したりする疲労制御法や生体防御法を見出すとともに、疲労や侵害刺激による生体ダメージの軽減とその回復の分子メカニズムを探るものである。

## 3. 研究の方法

### (1) 抗がん剤による臓器障害の軽減の評価

マウスにアドリアマイシンを単回腹腔内投与し、その4日後に末梢血を採取して、乳酸脱水素酵素 (LDH) 活性を測定し、心筋傷害の指標とした。

このアドリアマイシン投与の前日から3日後までの計5日間に、毎日1回 (計5回)、被検物質を経口投与して、同様に末梢血 LDH 活性を測定し、対照群と比較することで、被検物質の心筋障害軽減作用を評価した。

### (2) トレッドミルによる疲労の軽減の評価

マウスに蒸留水 (対照群) と被検物質を、1日1回、6日連続で経口投与し、最終投与の20時間後にトレッドミルで限界走行試験を行い、対照群と比較した平均走行距離の延長で、被検物質の疲労軽減効果を評価した。

## 4. 研究成果

### (1) 心臓保護薬の開発 (特許出願 1 件)

2010 年 3 月 2 日、金沢大学 (本研究代表者の所属大学) 附属病院で、進展していない限局の骨肉腫で手術による除去が成功していた患者が、抗がん剤アドリアマイシンの副作用 (アドリアマイシン心筋症) による心不全で死亡し (死亡時 16 歳)、遺族が主治医の教授ら医師 3 名を刑事告訴し、後に書類送検された (業績欄 [その他] の⑥~⑧の新聞記事や新書、⑩のブログなど)。

アドリアマイシンはこのように致死性の心毒性を持ち、1980 年代頃にはヒトでの毒性データが不十分であったため、多くの患者が心毒性の副作用で死亡した。その心毒性の機

序の1つとして酸化的ストレスが挙げられており、疲労と共通する面があると考えられる。

そこで、3の(1)で述べた、アドリアマイシンによる心毒性軽減の評価系を用いて、候補化合物を評価したところ、ポリアミンがLDH活性の上昇を抑制することを見いだし、「心臓保護薬」として特許出願した(小川、特願2014-31097、業績欄の〔産業財産権〕の出願特許②)。

これは、食品にも含まれる安全性が高いポリアミンを経口投与することで、実際に生体でアドリアマイシンの心毒性を軽減できることを示すものであり、加えて、酸化的ストレスによる疲労や種々の細胞障害・臓器障害を軽減できる可能性も示唆する成果である。

## (2) 疲労軽減薬の開発 (特許出願1件)

スポーツや肉体労働などでの長時間の持久運動における疲労の軽減を主な目的として、3の(2)で述べた、トレッドミルを用いた限界走行試験で候補物質を評価したところ、経口でのポリアミンの6日間連続投与が、走行距離を30%以上延長することを見いだし、「抗疲労薬および抗疲労食品」として特許出願した(小川、特願2015-26922、業績欄の〔産業財産権〕の出願特許①)。

これは、ポリアミンの連続摂取が、スポーツや肉体労働などでの長時間運動時の疲労を軽減することを示した成果である。

加えて、普段の食生活でポリアミン摂取を適度に増やすことで、疲労の予防や軽減ができる可能性があることを示唆するとともに、トップアスリートがこの方法で疲労を軽減することで、より高いレベルの練習をこなせる可能性も示唆しており、日常生活(仕事や通常のスポーツなどを含む)やトップアスリートの練習等にも広く貢献し得る成果である。

## (3) ヒト正常細胞を用いた抗疲労・寿命延長効果の評価

ヒト由来の正常筋肉細胞などを、販売元が指定する高価な特製培地ではなく、安価な汎用培地に血清を種々の濃度で添加することで、安定して長期間培養できる条件を見いだした。

これは、長期の酸化的ストレスをはじめとする種々の刺激に対する防御物質や細胞寿命を延ばす物質をスクリーニングしたり、細胞レベルや分子レベルで疲労や寿命を解析する系として、有用と考えられる。

本研究期間内には、本格的にスクリーニングを実施するまでには至らなかったが、本研究期間終了後の現在もこれらの実験は継続しており、今後も活用・発展させていく予定である。

## (4) 感染症治療薬の開発 (特許権取得1件)

本課題代表者の小川らが発明し特許出願していた「原虫感染症の治療又は予防薬」は、ヘム代謝を調節する物質群によって原虫増殖を抑制する技術であり、広義でのストレス応答研究に包含される。

本研究期間内に、文献調査などを継続して特許庁による審査を進め、2014年に本研究代表者の小川を単独の特許権者とする特許権を取得した(発明者:小川、所、荒井、特許第5505679号、業績欄の〔産業財産権〕の特許権取得①)。

これは、原虫感染症を、新たなメカニズムで安価に抑える技術であり、広い応用が期待される。

## (5) 金沢大学研究教育環境訴訟とストレス (2017年3月に地裁が金沢大学に賠償命令)

ここまでは、主に肉体の酷使や化学物質等に起因する疲労やストレスに関する研究であったが、現在社会は、パソコン・スマホ等の長時間使用や複雑な人間関係などに起因するストレスや疲労も多い。

本研究代表者の職場環境も劣悪な状態が長期間続き、本研究にも悪影響が出た。

本研究代表者は、2007年5月に研究室のY教授(不正経理を理由に2007年に出勤停止2ヶ月の懲戒処分、2015年7月に辞職)を提訴し、2011年5月に金沢大学(勤務先)を追加提訴し、本研究期間の終了前日の2017年3月30日に、金沢地方裁判所が、研究妨害、教育妨害、名誉毀損、職場環境整備義務違反などを理由に、両被告(金沢大学およびY元教授)に賠償を命じて、金沢大学との間ではこの一審判決が確定した(金沢地方裁判所平成23年(ワ)第281号事件。Y元教授とは、同平成19年(ワ)第305号事件)。

業績欄の〔その他〕の①～⑤の新聞記事は、この判決の報道である。

こうした環境での職務遂行や対応は、肉体の酷使とは異なる種類のストレスおよび疲労が大きい。上記(4)までの、主に肉体の酷使や化学物質等によるストレスや疲労とは、かなり異なる種類であるものの、分子レベル、細胞レベル、臓器レベルでは、一部に共通するメカニズムが存在する可能性もある。

これらの疲労やストレスの、分子レベル、細胞レベル、臓器レベル、個体レベルでの異同を明らかにすることは、現代のストレスが多い社会において、学術面でも実用面でも意義が大きいと考えられ、本課題の成果を今後更に発展させる、中長期的な方向性の1つと考えている。

## 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1件)

①小川和宏、「保険外診療」はどこまで拡大するのか～新制度誕生の経緯と課題～(依頼解説)、月刊/保険診療、72(3)、31-34(2017)

【学会発表】(計2件)

①小川和宏、大規模倫理違反と患者死亡～カフェイン併用化学療法より医の倫理と医療安全を考える、第86回日本衛生学会学術総会、2016年5月12日、旭川市

②小川和宏、患者申出療養に潜む危険-金沢大学の医療倫理蹂躪と死亡の事例を踏まえて- (招待講演)、医療問題研究会、2015年12月18日、横浜市

【産業財産権】

○出願状況(計2件)

①名称：抗疲労薬および抗疲労食品  
発明者：小川和宏  
権利者：小川和宏  
種類：特許  
番号：特願2015-26922  
出願年月日：2015年1月26日  
国内外の別：国内

②名称：心臓保護薬  
発明者：小川和宏  
権利者：小川和宏  
種類：特許  
番号：特願2014-31097  
出願年月日：2014年2月3日  
国内外の別：国内

○取得状況(計1件)

①名称：原虫感染症の治療又は予防薬  
発明者：小川和宏、所正治、荒井朋子  
権利者：小川和宏  
種類：特許  
番号：特許第5505679号  
取得年月日：2014年3月28日  
国内外の別：国内

【その他】

①新聞記事  
掲載誌：読売新聞  
タイトル：金大と元教授に賠償命令 准教授の不正告発で研究妨害  
掲載日：2017年3月31日

②新聞記事  
掲載誌：朝日新聞  
タイトル：金沢大と元教授 支払い命令判決

地裁 パワハラ訴訟で  
掲載日：2017年3月31日

③新聞記事  
掲載誌：北陸中日新聞  
タイトル：元教授パワハラ一部認定 地裁金大にも支払い命令  
掲載日：2017年3月31日

④新聞記事  
掲載誌：北國新聞  
タイトル：元教授のパワハラ 金大に賠償命令 金沢地裁  
掲載日：2017年3月31日

⑤新聞Web記事  
掲載誌：産経新聞WEST電子版  
タイトル：金大元教授のパワハラ行為認定 准教授の研究妨害で  
掲載日：2017年3月30日

⑥新聞記事  
掲載誌：神奈川県保険医新聞  
タイトル：先進医療の死亡事案を告発 金沢大・小川准教授を招き講演会  
掲載日：2016年1月25日

⑦新聞記事  
掲載誌：朝日新聞  
タイトル：医療事故告発、厚労省漏らす 対象の医師に  
掲載日：2014年12月19日

⑧書籍掲載  
掲載誌：平凡社新書(平凡社)  
著者：山口義正ら  
タイトル：内部告発の時代(第114～120ページに本課題代表者小川について掲載)  
発行日：2016年5月16日  
内容訂正公告(平凡社ホームページの「お知らせ」欄)：2016年6月15日  
<http://www.heibonsha.co.jp/files/shinsho813.pdf>

⑨ホームページ  
金沢大学分子情報薬理学分野(本研究課題代表者の小川和宏が主宰する研究室)  
<http://www.med.kanazawa-u.ac.jp/lab/cat5-10.html>

⑩ブログ  
小川和宏のブログ(医療事故・医療安全・医学部大学等事件など)  
<https://ameblo.jp/iryouziko/>

6. 研究組織

(1)研究代表者  
小川 和宏(OGAWA, Kazuhiro)  
金沢大学・医学系・准教授  
研究者番号：30344659