

令和元年6月3日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05219

研究課題名(和文) 脂肪酸結合蛋白質による α -シヌクレイン凝集機構の解明と創薬研究研究課題名(英文) Drug development by investigation of α -synuclein aggregation mechanism through FABP

研究代表者

福永 浩司 (Fukunaga, Kohji)

東北大学・薬学研究科・教授

研究者番号：90136721

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,000,000円

研究成果の概要(和文)：シヌクレイン凝集体はレビー小体型認知症における神経変性の引き金となる。私達は中脳ドパミン神経に高発現する脂肪酸結合蛋白質3(FABP3)がシヌクレインと複合体を形成し、オリゴマー形成を促進することを発見した。脂肪組織に存在するFABP4のリガンドから合成展開し、FABP3リガンドを創製した。FABP3リガンドはFABP3とシヌクレインとの結合を阻害し、オリゴマー形成を完全に抑制した。さらに、パーキンソン病のモデル細胞と動物を用いて、FABP3リガンドがシヌクレインの凝集にともなう細胞死を抑制することを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2020年には我が国の認知症の患者数は600万人になり、そのうち300万人がアルツハイマー病、120万人がレビー小体型認知症である。特にレビー小体型認知症は患者のQOLが悪く、予後が悪い。根本的治療法がない中、認知症の超早期段階での診断、認知症進行の抑止(予防)薬開発が重要な課題となっている。本研究ではレビー小体型認知症の原因蛋白質であるシヌクレインのオリゴマー形成に脳内脂肪酸結合蛋白質が関与することを明らかにした。さらに、脂肪酸結合蛋白質リガンドがシヌクレインの凝集と毒性を抑制し、認知症進行を抑制する治療薬を開発した。本リガンドはレビー小体型認知症の疾患修飾治療薬として期待される。

研究成果の概要(英文)：Fatty acid-binding protein 3 (FABP3) is highly expressed in the brain and accelerates α -synuclein (α -Syn) oligomerization when cells are exposed to 1-Methyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). Here, we demonstrate that α -Syn oligomerization was markedly enhanced by FABP3 overexpression in neuro-2A cells when cells were stimulated with arachidonic acid. To inhibit the interaction between FABP3 and α -Syn, we developed FABP3 ligands, which bind to the fatty acid-binding domain of FABP3. We finally succeeded development of FABP3-specific ligands derived from FABP4 ligand, BMS309403. The ligands 1, 7, and 8 significantly reduced arachidonic acid-induced α -Syn oligomerization in neuro-2A cells. We also confirmed that ligand 1 improves motor dysfunction and cognition in MPTP-induced Parkinson's model mice. Taken together, our results indicate that FABP3 ligands targeting FABP3 are useful as potential therapeutics that inhibits α -Syn aggregation in Lewy Body diseases.

研究分野：薬理学

キーワード：パーキンソン病 脂肪酸結合蛋白質 FABPリガンド シヌクレイン アラキドン酸

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

1. 研究開始当初の背景

アラキドン酸 (AA)、ドコサヘキサエン酸 (DHA) などの多価不飽和脂肪酸の細胞内輸送に関わる脂肪酸結合蛋白質 (Fatty acid-binding proteins; FABPs) の神経機能における役割は不明であった。私達は脳に発現する脂肪酸結合蛋白質 (FABP3、FABP5、FABP7) のうち、FABP3 が黒質緻密部のドパミン神経に高発現すること、ドパミン D2 受容体の細胞内に結合し、D2 受容体機能を正に制御すること (J Biol Chem 2010)、さらに、FABP3 が シヌクレインと結合し、シヌクレインオリゴマー形成を促進すること、MPTP で誘発したパーキンソン様症状は FABP3 欠損マウスでは見られないことを明らかにした (J Biol Chem 2014)。

2. 研究の目的

シヌクレイン凝集体・原線維形成はパーキンソン病、レビー小体型認知症における神経変性の引き金となる。凝集抑制薬は疾患修飾治療薬になる。しかし、これまでに低分子疾患修飾治療薬は開発されていない。本研究では(1) FABP3 の シヌクレイン凝集促進機構を明らかにし、シヌクレイン凝集を抑制する FABP3 選択的リガンドを開発する。(2) パーキンソン病およびレビー小体型認知症のモデルマウスを用いて、薬効と薬物動態に関する非臨床 POC を取得する。

3. 研究の方法

大腸菌より精製した GST-FABP3 及び -FABP4 を用いた 8-anilino-naphthalene-1-sulfonic acid (ANS) アッセイにより、各種リガンドの FABPs に対する親和性を検討した。培養 Neuro2A 細胞に FABP3 と シヌクレイン遺伝子を導入して過剰に発現させ、アラキドン酸で シヌクレインのオリゴマー形成を促進した。FABP3 リガンドのオリゴマー形成に対する効果を細胞系で評価した。次にミトコンドリアを障害してパーキンソン病を発症する MPTP をマウスに投与して、パーキンソン病モデルマウスを作成した。創製した FABP3 リガンドのなかで最もオリゴマー形成を抑制する MF1 化合物の抗パーキンソン病作用を評価するために、MPTP 投与後に 2 週間 MF1 を経口投与して、運動機能と認知機能を測定した。

4. 研究成果

最初に中脳ドパミン神経に高発現する脂肪酸結合蛋白質 3 (FABP3) が シヌクレインと複合体を形成し、オリゴマー形成を促進することを見出した。2017 年度には FABP3 リガンドのなかからオリゴマー形成を抑制する低分子化合物を探索し、FABP3 選択的リガンドの構造最適化を行った。FABP3 の 3 次元構造解析から選択性・結合性の高い化合物 MF1 選択し、LC-MS/MS で良好な脳移行性を確認した。2018 年度は シヌクレインと FABP3 の過剰発現細胞 (Neuro2A 細胞) で MF1 の シヌクレイン凝集抑制作用を確認した。特に、Neuro2A 細胞ではアラキドン酸誘導の シヌクレイン凝集を MF1 処置は完全に抑制した。次に MPTP 誘発のパーキンソン病モデルマウスを用いて、MF1 の in vivo での薬効を確認した。MF1 (0.3, 1.0 mg/kg) の慢性経口投与は MPTP 誘発の運動機能障害を改善し、黒質における シヌクレインのオリゴマー形成を抑制した。その結果、黒質におけるドパミン神経細胞の脱落を阻害した。さらに、MPTP 誘発パーキンソン病マウスの認知機能障害も改善した。一方、L-DOPA 慢性投与では運動機能改善作用は見られたが、ドパミン神経脱落と認知機能障害改善作用は見られなかった。以上の結果から、アラキドン酸が シヌクレイン凝集に関わることを細胞系で確認した。さらに FABP3 選択的リガンド MF1 がパーキンソン病モデルマウスで シヌクレインのオリゴマー形成を抑制し、運動機能のみならず認知機能も改善することを証明した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 29 件)

1. Moriguchi S, Kita S, Inagaki R, Yabuki Y, Sasaki Y, Ishikawa S, Sakagami H, Iwamoto T, Fukunaga K. Aberrant Amygdala-Dependent Cued Fear Memory in Na⁺/Ca²⁺

- Exchanger 1 Heterozygous Mice. *Mol Neurobiol* 査読有 in press doi: 10.1007/s12035-018-1384-2.
2. Cheng A, Shinoda Y, Yamamoto T, Miyachi H, [Fukunaga K](#). Development of FABP3 ligands that inhibit arachidonic acid-induced α -synuclein oligomerization. *Brain Res* 査読有 (2019) 1707:190-197. doi: 10.1016/j.brainres.2018.11.036.
 3. Sun M, Shinoda Y, [Fukunaga K](#). KY-226 Protects Blood-brain Barrier Function Through the Akt/FoxO1 Signaling Pathway in Brain Ischemia. *Neuroscience* 査読有 (2019) 399:89-102. doi: 10.1016/j.neuroscience.2018.12.024.
 4. Wang S, [Yabuki Y](#), Matsuo K, Xu J, Izumi H, Sakimura K, Saito T, Saido TC, [Fukunaga K](#). T-type calcium channel enhancer SAK3 promotes dopamine and serotonin releases in the hippocampus in naive and amyloid precursor protein knock-in mice. *PLoS One* 査読有 (2019) 14(1):e0211590. doi: 10.1371/journal.pone.0211590.
 5. Nakazaki E, [Yabuki Y](#), Izumi H, Shinoda Y, Watanabe F, Hishida Y, Kamimura A, [Fukunaga K](#). Combined citicoline and docosahexaenoic acid treatment improves cognitive dysfunction following transient brain ischemia. *J Pharmacol Sci* 査読有 (2019) pii: S1347-8613(19)30023-4. doi: 10.1016/j.jphs.2019.02.003.
 6. Wilar G, Anggadiredja K, Shinoda Y, [Fukunaga K](#). Inhibition of Nicotine Dependence by Curcuminoid Is Associated with Reduced Acetylcholinesterase Activity in the Mouse Brain. *Pharmacology* 査読有 102(3-4):223-232. (2018) doi: 10.1159/000492154.
 7. Inagaki R, Moriguchi S, [Fukunaga K](#). Aberrant Amygdala-dependent Fear Memory in Corticosterone-treated Mice. *Neuroscience* 査読有 388:448-459. (2018) doi: 10.1016/j.neuroscience.2018.08.004.
 8. Yamaguchi K, Shioda N, [Yabuki Y](#), Zhang C, Han F, [Fukunaga K](#). SA4503, A Potent Sigma-1 Receptor Ligand, Ameliorates Synaptic Abnormalities and Cognitive Dysfunction in a Mouse Model of ATR-X Syndrome. *Int J Mol Sci* 査読有 19(9) pii:E2811. (2018) doi: 10.3390/ijms19092811.
 9. Sun M, Izumi H, Shinoda Y, [Fukunaga K](#). Neuroprotective effects of protein tyrosine phosphatase 1B inhibitor on cerebral ischemia/reperfusion in mice. *Brain Res* 査読有 1;1694:1-12. (2018) doi: 10.1016/j.brainres.2018.04.029.
 10. Xu J, [Yabuki Y](#), Yu M, [Fukunaga K](#). T-type calcium channel enhancer SAK3 produces anti-depressant-like effects by promoting adult hippocampal neurogenesis in olfactory bulbectomized mice. *J Pharmacol Sci* 査読有 137(4) 333-341. (2018) doi: 10.1016/j.jphs.2018.07.006.
 11. Shioda N, [Yabuki Y](#), Yamaguchi K, Onozato M, Li Y, Kurosawa K, Tanabe H, Okamoto N, Era T, Sugiyama H, Wada T, [Fukunaga K](#). Targeting G-quadruplex DNA as cognitive function therapy for ATR-X syndrome. *Nat Med* 査読有 24(6):802-813. (2018) doi: 10.1038/s41591-018-0018-6.
 12. Izumi H, Shinoda Y, Saito T, Saido TC, Sato K, [Yabuki Y](#), Matsumoto Y, Kanemitsu Y, Tomioka Y, Abolhassani N, Nakabeppu Y, [Fukunaga K](#). The Disease-modifying Drug Candidate, SAK3 Improves Cognitive Impairment and Inhibits Amyloid beta Deposition in App Knock-in Mice. *Neuroscience* 査読有 377:87-97. (2018) doi: 10.1016/j.neuroscience.2018.02.031.
 13. [Yabuki Y](#), Takahata I, Matsuo K, Owada Y, [Fukunaga K](#). Ramelteon Improves Post-traumatic Stress Disorder-Like Behaviors Exhibited by Fatty Acid-Binding Protein 3 Null Mice. *Mol Neurobiol* 査読有 55(4):3577-3591. (2018) doi: 10.1007/s12035-017-0587-2.
 14. Husain N, [Yabuki Y](#), Shinoda Y, [Fukunaga K](#). Acute Treatment with T-Type Calcium Channel Enhancer SAK3 Reduces Cognitive Impairments Caused by Methimazole-Induced Hypothyroidism Via Activation of Cholinergic Signaling. *Pharmacology* 査読有 101(5-6):309-321. (2018) doi: 10.1159/000488083.
 15. Moriguchi S, Kita S, [Yabuki Y](#), Inagaki R, Izumi H, Sasaki Y, Tagashira H, Horie K, Takeda J, Iwamoto T, [Fukunaga K](#). Reduced CaM kinase II and CaM Kinase IV activities underlie cognitive deficits in NCKX2 heterozygous mice. *Mol Neurobiol* 査読有 55(5):3889-3900. (2018) doi: 10.1007/s12035-017-0596-1.
 16. Moriguchi S, Kita S, Fukaya M, Osanai M, Inagaki R, Sasaki Y, Izumi H, Horie K, Takeda J, Saito T, Sakagami H, Saido TC, Iwamoto T, [Fukunaga K](#). Reduced expression of Na⁺/Ca²⁺ exchangers is associated with cognitive deficits seen in Alzheimer's disease model mice. *Neuropharmacology* 査読有 131:291-303. (2018) doi: 10.1016/j.neuropharm.2017.12.037.
 17. Moriguchi S, Ishizuka T, [Yabuki Y](#), Shioda N, Sasaki Y, Tagashira H, Yawo H, Yeh JZ, Sakagami H, Narahashi T, [Fukunaga K](#). Blockade of the KATP channel Kir6.2 by memantine represents a novel mechanism relevant to Alzheimer's disease therapy.

- Mol Psychiatry 査読有 23(2):211-221. (2018) doi: 10.1038/mp.2016.187.
18. Yamamoto Y, Kida H, Kagawa Y, Yasumoto Y, Miyazaki H, Islam A, Ogata M, Yanagawa Y, Mitsushima D, Fukunaga K, Owada Y. FABP3 in the Anterior Cingulate Cortex Modulates the Methylation Status of the Glutamic Acid Decarboxylase67 Promoter Region. J Neurosci 査読有 38(49):10411-10423. (2018) doi: 10.1523/JNEUROSCI.1285-18.2018.
 19. Yamada K, Hamashima T, Ishii Y, Yamamoto S, Okuno N, Yoshida N, Yamada M, Huang TT, Shioda N, Tomihara K, Fujimori T, Mori H, Fukunaga K, Noguchi M, Sasahara M. Different PDGF Receptor Dimers Drive Distinct Migration Modes of the Mouse Skin Fibroblast. Cell Physiol Biochem 査読有 51(3):1461-1479. (2018) doi: 10.1159/000495594.
 20. Moriguchi S, Fukunaga K. Memantine improves cognitive function via KATP channel inhibition. Nihon Yakurigaku Zasshi 査読無 150(5):228-233. (2017) doi: 10.1254/fpj.150.228.
 21. Yabuki Y, Jing X, Fukunaga K. The T-type calcium channel enhancer SAK3 inhibits neuronal death following transient brain ischemia via nicotinic acetylcholine receptor stimulation. Neurochem Int 査読有 108:272-281. (2017) doi: 10.1016/j.neuint.2017.04.015.
 22. Noreen H, Yabuki Y, Fukunaga K. Novel spiroimidazopyridine derivative SAK3 improves methimazole-induced cognitive deficits in mice. Neurochem Int 査読有 108:91-99. (2017) doi: 10.1016/j.neuint.2017.03.001.
 23. Shioda N, Yabuki Y, Wang Y, Uchigashima M, Hikida T, Sasaoka T, Mori H, Watanabe M, Sasahara M, Fukunaga K. Endocytosis following dopamine D2 receptor activation is critical for neuronal activity and dendritic spine formation via Rabex-5/PDGFR β signaling in striatopallidal medium spiny neurons. Mol Psychiatry 査読有 22(8):1205-1222. (2017) doi: 10.1038/mp.2016.200.
 24. Fukunaga K and Moriguchi S. Stimulation of the Sigma-1 Receptor and the Effects on Neurogenesis and Depressive Behaviors in Mice. Adv Exp Med Biol 査読有 964:201-211. (2017) doi: 10.1007/978-3-319-50174-1_14.
 25. Matsuo K, Yabuki Y, Fukunaga K. Combined l-citrulline and glutathione administration prevents neuronal cell death following transient brain ischemia. Brain Res 査読有 1663:123-131. (2017) doi: 10.1016/j.brainres.2017.03.014.
 26. Yabuki Y, Matsuo K, Izumi H, Haga H, Yoshida T, Wakamori M, Kakei A, Sakimura K, Fukuda T, Fukunaga K. Pharmacological properties of SAK3, a novel T-type voltage-gated Ca²⁺ channel enhancer. Neuropharmacology 査読有 117:1-13. (2017) doi: 10.1016/j.neuropharm.2017.01.011.
 27. Yabuki Y, Matsuo K, Hirano K, Shinoda Y, Moriguchi S, Fukunaga K. Combined Memantine and Donepezil Treatment Improves Behavioral and Psychological Symptoms of Dementia-Like Behaviors in Olfactory Bulbectomized Mice. Pharmacology 査読有 99(3-4):160-171. (2017) doi: 10.1159/000452839.
 28. Shinoda Y, Tagashira H, Bhuiyan MS, Hasegawa H, Kanai H, Zhang C, Han F, Fukunaga K. Corticosteroids Mediate Heart Failure-Induced Depression through Reduced σ 1-Receptor Expression. PLoS One 査読有 11(10):e0163992. (2016) doi: 10.1371/journal.pone.0163992.
 29. Shinoda Y, Tagashira H, Bhuiyan MS, Hasegawa H, Kanai H, Fukunaga K. Haloperidol aggravates transverse aortic constriction-induced heart failure via mitochondrial dysfunction. J Pharmacol Sci 査読有 131(3):172-83. (2016) doi: 10.1016/j.jphs.2016.05.012.

[学会発表](計 10 件)

1,2. WCP2018 KYOTO (2018 年 7 月 1 ~ 6 日、京都)

Kohji Fukunaga, Yasushi Yabuki, Kazuya Matsuo, Hisanao Izumi, Yasuharu Shinoda: Discovery of disease-modifying drug inhibiting alpha-synuclein aggregation in Parkinson's disease model mice

Yasuharu Shinoda, An Cheng, Shuto Hachinohe, Kohji Fukunaga: Alpha-synuclein aggregations are promoted by fatty acid-binding protein 3 and arachidonic acid

3,4. AD/PD 2018 (2018 年 3 月 15 ~ 18 日、トリノ)

Kohji Fukunaga, Yasushi Yabuki, Kazuya Matsuo, Yasuharu Shinoda: Disease-modifying drugs inhibiting alpha-synuclein aggregation in Parkinson ' s disease model mice

Yasuharu Shinoda, An Cheng, Tetsunori Yamamoto, Yasushi Kawata, Kohji Fukunaga: Arachidonic acid treatment aggravates alpha-Synuclein aggregation in vitro and in situ

5. 3rd International Conference on PARKINSON ' S DISEASE AND MOVEMENT DISORDERS (2017 年 9 月 25 ~ 26 日、シカゴ)

Kohji Fukunaga: Novel disease-modifying drug inhibiting alpha-synuclein aggregation in Parkinson ' s disease model mice

6. XXIII World Congress of Neurology (2017 年 9 月 16 ~ 21 日、京都)

Kohji Fukunaga: FABP3 promotes A-synuclein oligomerization in Parkinson ' s disease
7-9. Protein Misfolding Diseases and Therapy 2017 (2017 年 9 月 6 日、仙台)

Kohji Fukunaga: Disease-modifying drugs inhibiting alpha-synuclein aggregation in Parkinson ' s Disease model mice

Yasushi Yabuki, Kazuya Matsuo, Syuji Chiba, Norifumi Shioda, Kohji Fukunaga: Fatty acid binding protein 3 is involved in -synuclein aggregation in Parkinson Disease model mice

Yasuharu Shinoda, Cheng An, Shuto Hachinohe, Kohji Fukunaga: Aggregation of -synuclein is promoted by fatty acid-binding protein 3 (FABP3)

10. The 13th International Conference on Alzheimer's & Parkinson's Diseases (2017 年 3 月 29 日 ~ 4 月 2 日、Vienna, Austria)

Kohji Fukunaga, Yasushi Yabuki Yasuharu Shinoda, Hisanao Izumi: Arachidonic acid promotes alpha-synuclein oligomerization through fatty acid-binding proteins.

〔 図書 〕 (計 0 件)

〔 産業財産権 〕

出願状況 (計 1 件)

名称 : シヌクレイノパチー治療薬 (Synucleinopathy therapeutic medication)

発明者 : 福永浩司、宮地弘幸、石田寛明、伴慎太郎

権利者 : 同上

種類 : 特許

番号 : PCT/JP2017/013742, WO2017171053A1

出願年 : 2017

国内外の別 : 国外

取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年 :

国内外の別 :

〔 その他 〕

ホームページ等 : http://www.pharm.tohoku.ac.jp/~yakuri/yakuri_top.html

6 . 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名 : 矢吹 悌

ローマ字氏名 : (YABUKI, yasushi)

所属研究機関名 : 東北大学

部局名 : 大学院薬学研究科

職名 : 助教

研究者番号 (8 桁) : 70756121

(2) 研究協力者

研究協力者氏名 :

ローマ字氏名 :

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。