

令和元年6月24日現在

機関番号：23701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08170

研究課題名(和文)パーオキシ中鎖脂肪酸を基軸とする脳神経疾患改善薬の開発研究

研究課題名(英文) Study and development of drugs for the improvement of cerebral nerve diseases based on peroxy medium chain fatty acid

研究代表者

伊藤 彰近 (ITOH, AKICHIKA)

岐阜薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：10203126

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：申請者は、神経変性疾患に対する候補化合物群として、12AC20に代表されるgem-DHP群を見出すと共に、これらが細胞内の酸化ストレスを軽減する働きを有することを明らかとした。また、そのレドックスモジュレーターとしての評価も行う事が出来た。さらに、細胞内不溶性タンパク凝集体抑制効果を有することも見出した。一方、その作用機序を検討した結果、12AC20等がSOD1の繊維化、オリゴマー化に対して直接的な抑制作用を及ぼすのではなく、細胞内の他のプロセスにおけるいずれかのレドックス反応に影響を与えていることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本におけるアルツハイマー病患者数は約140万人で10年後には300万人以上に増加すると予測されている。一方、鬱病患者も、その患者数は不明であるものの、今後も増加が予想されている。これらの疾患に費やす医療費は莫大であることから、有効な薬剤の開発による社会的・経済的効果も非常に大きいと考える。しかしながら、アルツハイマー病ならびに鬱病に代表される脳神経疾患に対する根本的改善薬は未だ開発されていない。今回得られた知見は、これらの疾患に対する根本的改善薬の開発、さらには脳神経疾患の原因或いは病態形成の詳細なメカニズムの解明等の今後の展開に繋がるものと期待できる。

研究成果の概要(英文)：I have found that gem-DHP, represented by 12AC20, could be a candidate compound for neurodegenerative diseases, and that they have the function of alleviating intracellular oxidative stress. In addition, it could be evaluated as a redox modulator. I also found that they have an inhibitory effect on intracellular insoluble protein aggregates. Furthermore, as a result of examining its mechanism of action, I have found that 12AC20 etc. did not directly suppress the fibrillation and oligomerization of SOD1, but affects any redox reaction in other processes in cells.

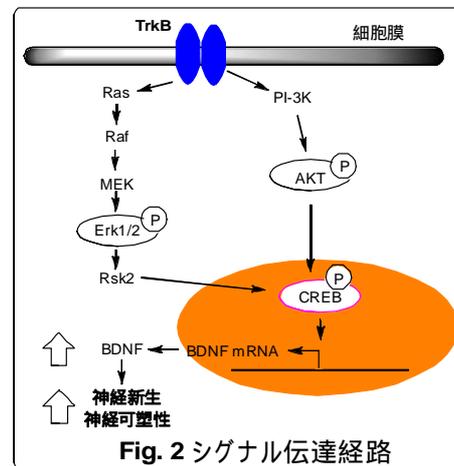
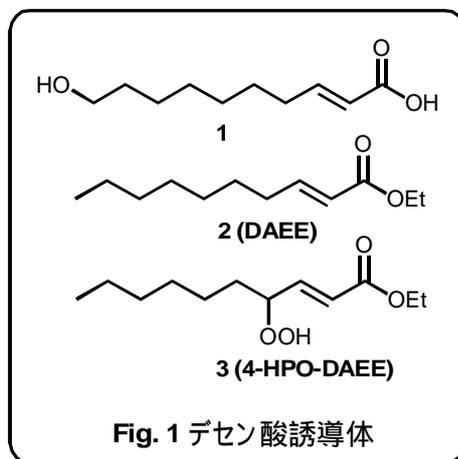
研究分野：有機合成化学

キーワード：レドックスモジュレーター

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

1. 研究開始当初の背景

食品に含まれる炭素数 8~12 程度の中鎖脂肪酸は、近年の健康ブームとあいまって、その体内での働きが注目されている。中鎖脂肪酸の一つであるデセン酸は、ミツバチのローヤルゼリーに含まれる機能性物質の基本分子であることから、ミツバチ社会における本化合物の働きは古くより研究されている。しかしながら、デセン酸を含む中鎖脂肪酸全般についてはまだ研究の緒に就いた所であり、特にヒトに対しての生物活性検討はまだ開拓の余地の多い分野である。中でも蜂産品の代表である 10-ヒドロキシ - トランス - 2 - デセン酸 (1) は、抗腫瘍活性や抗菌作用などが報告され、またインスリン作用物質としても注目されている (Fig. 1)。さらにこれまでの研究により、10 位に水酸基を有しない 2-デセン酸エチルエステル (DAEE, 2) は、代表的な神経栄養因子であるニューロトロフィンファミリーの脳由来神経栄養因子 (brain-derived neurotrophic factor: BDNF) に類似の細胞内シグナルを発生させることが明らかになっており、神経細胞 ERK1/2 のリン酸化のほか、その下流の転写因子である cAMP-response element binding protein (CREB) や、PI3 キナーゼの下流にあるシグナル伝達分子 Akt のリン酸化を促進する作用がある (Fig. 2)。さらに、経口投与で疾患モデル動物に対して鬱病及びアルツハイマー病の予防、治療効果を示すことも既に明らかにされている。このような背景の中、申請者は 4 - ヒドロパーオキシ - トランス - 2 - デセン酸エチルエステル (4-HPO-DAEE, 3) が、抗鬱作用や抗アルツハイマー病作用に対して DAEE より遙かに強力 (20 倍強) な作用を有することを突き止めた。この事実はパーオキシ基を有する中鎖脂肪酸 (以下 POMFA) が各種脳神経疾患に対する予防並びに治療薬の候補物質として大いに期待できることを示唆している。一方で、その作用機序に関しては未知の部分が多く、そのシグナル伝達機構の解明は、単に 4-HPO-DAEE より効果的な薬剤開発のみならず、上記に代表される各種脳神経疾患の病態解明とそれら疾病に対する予防・治療戦略を構築する上で必要不可欠である。



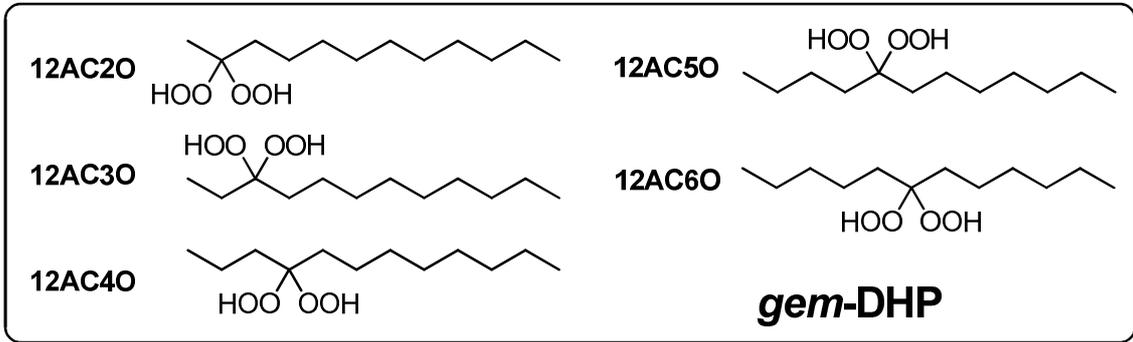
また、パーオキシド類に関しては、その生物活性に関する系統的かつ詳細な研究はほとんどなされていない。実際、パーオキシ基を有する医薬品は抗マラリア薬の artemisinin 及びその誘導体等以外ほとんど見当たらない。その理由として、一般のパーオキシ化合物の化学的不安定性が挙げられるが、申請者がこれまで検討した中では、アリル位にパーオキシ基を有する 4-HPO-DAEE 等はシリカゲルカラム等の通常の精製及び冷暗所での長期保存が可能である。実際、4-HPO-DAEE については *in vivo* での治療効果も検証されていることから、これらは創薬のリード化合物として非常に期待の持てる化合物といえることができる。また、観点を換えれば、POMFA は活性酸素種 (以下 ROS) キャリアと見なすことができる。現在までの精力的な生物学的研究により、ROS が細胞内シグナル伝達経路の担い手であることが明らかになりつつあるが、その作用機序に関してはまだ不明な点が多々残っている。しかしながら、ROS を細胞内に導入する試み、特に、合成が比較的容易で系統的な構造活性相関検討を可能とする低分子化合物を用いた試行は、申請者の知る限りこれまで皆無である。そのような背景の中、ROS を細胞内で自在に発生させ、その結果起こる様々な事象を検証することは、シグナル伝達経路の詳細なメカニズムの解明、より効果的な薬剤開発、各種脳神経疾患の病態解明とそれら疾病に対する予防・治療戦略を構築する上で極めて重要かつ膨大な情報を与えると期待できる。

2. 研究の目的

かかる背景より申請者は、鬱病やアルツハイマー病に代表される脳神経疾患に対し、POFMA を基軸とした従来の化合物より高い治療効果を有する新規候補化合物の探索を行うと共に、細胞内シグナル伝達メカニズムの解明を目指し検討を行った。

3. 研究の方法

まず、POFMA としては、膨大な候補化合物の内、比較的合成が容易で安定な *gem*-ジヒドロパーオキシド類 (以下 *gem*-DHP) を用いた。合成した *gem*-DHP は以下の通りである。

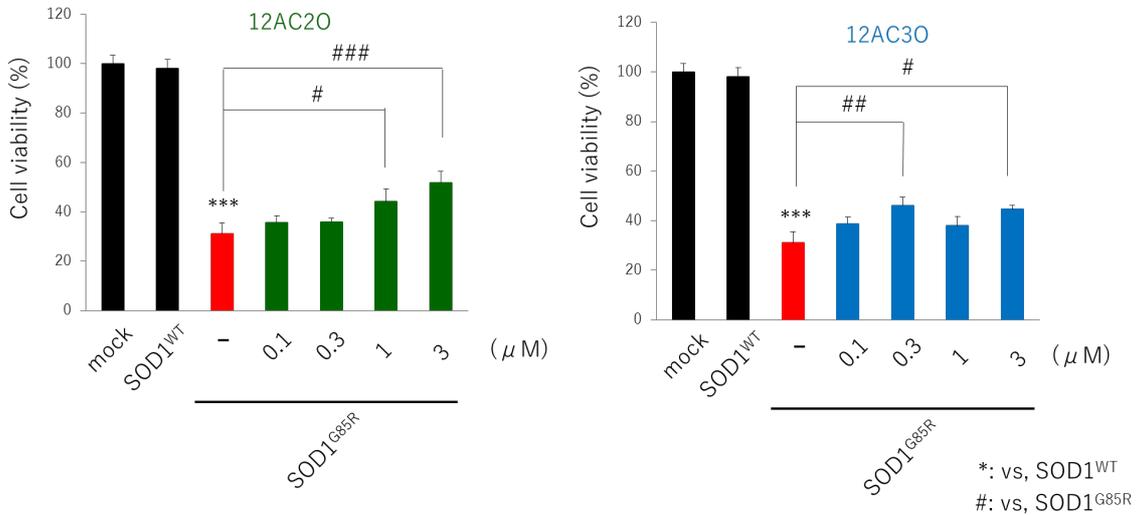


これら合成した *gem-DHP* を用い、神経突起伸長効果についての評価及び神経変性疾患のメカニズムについて検討を行った。

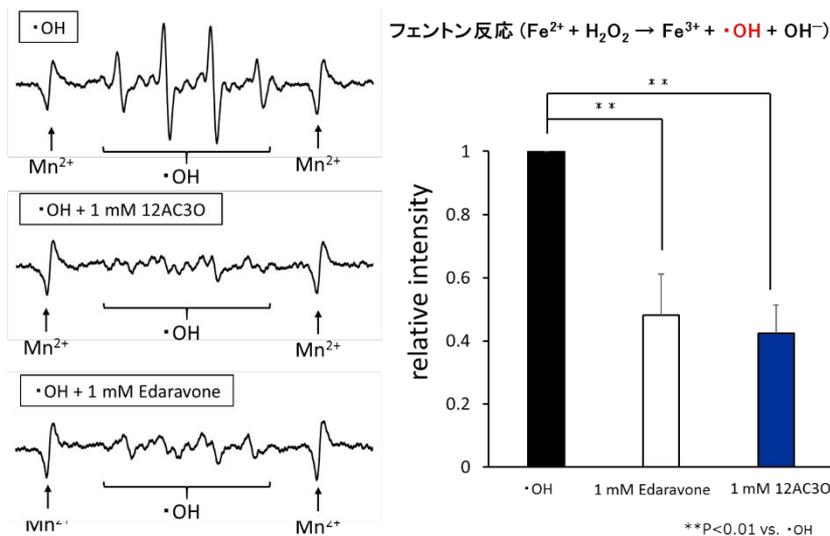
4. 研究成果

まず神経突起伸長効果についての評価を行ったところ、4-HPO-DAEEと同等の効果が観察された。しかしながら、繰り返し検討を行ったものの、結果の再現性に乏しく、申請者の検討の中では残念ながらその効果を再現することは出来なかった。

一方、神経変性疾患のメカニズムとしては、ROSによる酸化ストレスにより異常タンパク質の凝集が起こり、軸索輸送障害が引き起こされると考えられている。従って、酸化ストレスを抑制することの出来る、いわゆるレドックスモジュレーター（生体内酸化還元状態改善薬）の適用が神経保護に有効と考えられる。そこで、*gem-DHP* を用いて調査したところ、*gem-DHP* がレドックスモジュレーターとしての働きを有することを見出した。すなわち、*gem-DHP* の一つである12AC20を作用させると、細胞内の不溶性タンパク凝集体形成が抑制されることを見出した。¹⁾



また、ESRによるスピントラップ法により、*gem-DHP* はラジカル消去医薬品として知られているエダラボンと同等のヒドロキシラジカル消去能を有することも明らかにした。¹⁾



そこで、さらなる詳細な作用機序の解明のために、その可能性の一つであるSOD1(superoxide dismutase 1)の凝集に対する効果を検討した。即ち、SOD1のアミロイド化に対してどのような効果を示すか調査を行ったが、残念ながら予想に反してSOD1のアミロイド化に対してはさほど顕著な抑制効果は無い事が分かった。この結果より、12AC2OはSOD1の線維化・オリゴマー化には直接的な効果はなく、その他の形式の凝集に効果があるか、あるいは細胞内での他のプロセスに作用することで、培養細胞内でのSOD1凝集を抑制するものと推定している。

日本におけるアルツハイマー病患者数は約140万人で10年後には300万人以上に増加すると予測されている。一方、鬱病患者も、その患者数は不明であるものの、今後も増加が予想されている。これらの疾患に費やす医療費は莫大であることから、有効な薬剤の開発による社会的・経済的效果は非常に大きい。しかしながら、アルツハイマー病ならびに鬱病に代表される脳神経疾患に対する根本的改善薬は未だ開発されていない。今回申請者は、神経変性疾患に対する候補化合物群として、12AC2Oに代表されるgem-DHP群を見出すことに成功した。すなわち、これらが細胞内の酸化ストレスを軽減する働きを有することを明らかとし、そのレドックスモジュレーターとしての評価を行う事が出来た。さらに、細胞内不溶性タンパク凝集体抑制効果を有することも見出した。また、作用機序に関しては、完全に明らかにすることは出来なかったものの、SOD1凝集に対して直接的な抑制作用ではなく、細胞内の他のプロセスにおけるいずれかのレドックス反応に影響を与えているものと推定するに至った。

このgem-DHPは分子量200前後の低分子化合物であり、比較的安定で市販のケトンから3工程以内で容易に合成する事が可能である。従って、構造活性相関等のスクリーニングにおける多種類の候補化合物の迅速合成や*in vivo*検討における大量合成への対応等も問題無く、アルツハイマー病ならびに鬱病に対する根本的改善薬の開発、さらには脳神経疾患の原因或いは病態形成の詳細なメカニズムの解明等への今後の展開に繋がる事が期待できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Ueda, T.; Inden, M.; Asaka, Y.; Masaki, Y.; Kurita, H.; Tanaka, W.; Yamaguchi, E.; **Itoh, A.**; Hozumi, I., *Molecular and cellular neurosciences*, **2018**, 92,177-184.

〔学会発表〕(計 1 件)

上田 智之、位田 雅俊、浅香 雄太、正木 佑治、栗田 尚佳、田中 稚子、山口 英士、伊藤 彰近、保住 功、第92回日本薬理学会年会(2019)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

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

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(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。