

令和 2 年 6 月 12 日現在

機関番号：32684

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08351

研究課題名(和文) アルツハイマー病の予防・治療の両方に効果を示す化合物の探索

研究課題名(英文) Search for compounds that are effective in both prevention and treatment of Alzheimer's disease

研究代表者

小山 清隆 (KOYAMA, KIYOTAKA)

明治薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：20225593

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：抗アルツハイマー病活性化合物を海洋由来真菌培養物から単離することを目的として、Th-T法(アミロイド凝集試験)を生物試験として用いて研究を行った。その結果、Galactomyces pseudocandidus (MPUC 398) の酢酸エチル抽出エキスから1種の新規化合物と2種の既知化合物を単離した。このうち、既知化合物のSC2051は強いアミロイド凝集抑制活性を示した($IC_{50} = 2.5 \mu M$)。さらに、MPUC 239からは5種の既知化合物と構造未決定化合物(1種)を単離した。このうち、構造未決定化合物は $IC_{50} = 3.9 \mu M$ と強い凝集抑制活性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我が国の大きな社会問題となっているアルツハイマー病は脳にアミロイドと呼ばれる異常なタンパク質が蓄積・凝集し、神経細胞死が進行する原因不明の難病である。しかし、根本的治療薬は未だ上市されておらず、抗アルツハイマー病薬の開発が社会的に強く求められている。今回の研究で、アミロイドの凝集を強く抑制する化合物2種が得られた。これらの化合物の構造をヒントとして、抗アルツハイマー病薬の開発が進む可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：A study was conducted using the Th-T method (amyloid aggregation test) as a biological test for the purpose of isolating anti-Alzheimer's disease-active compounds from marine-derived fungal cultures. As a result, one novel compound and two known compounds were isolated from the ethyl acetate extract of Galactomyces pseudocandidus (MPUC 398). Among them, the known compound SC2051 showed a strong amyloid aggregation inhibitory activity ($IC_{50} = 2.5 \mu M$). Furthermore, five known compounds and one undetermined structure compound were isolated from MPUC239. Among them, the compounds with undetermined structure showed a strong amyloid aggregation inhibitory activity ($IC_{50} = 3.9 \mu M$).

研究分野：天然物化学

キーワード：アルツハイマー アミロイドベータ 凝集抑制 Galactomyces SC2051 MPUC 239 naphtho-gamma-pyrone dinaphthalenone誘導体

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。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本邦では、高齢化の加速に伴い痴呆症の数が増大し、約 500 万人を超えると推計されている。このことは、介護負担の爆発的増加など、大きな社会的問題を引き起こしており、早急な対策が社会的に強く求められている。認知症患者の原因として、その約 6~7 割と最も頻度が高いのがアルツハイマー病 (Alzheimer's disease; AD) と言われている。AD は、脳にアミロイドベータ (amyloid-beta; A β) と呼ばれる異常なタンパク質が産生され、それが凝集・蓄積して神経細胞死が進行する原因不明の難病で、特効薬はいまだ上市されていない。そこで治療薬のリード化合物の候補の探索を海洋由来真菌に求めた。

2. 研究の目的

AD 発症の中心的役割を担っているのが A β であり、この A β はアミロイドペプチド前駆体タンパク質 (APP) が β -secretase (BACE1) および γ -secretase によるプロセッシングを受けて産生される。APP は β -secretase (BACE1) ではなく α -secretase で切断されると A β は産生されない。つまり α -secretase が β -secretase (BACE1) より優位であれば A β は産生されないが、逆に β -secretase (BACE1) が α -secretase より優勢であれば A β が産生される。次にこの A β が凝集・蓄積を経て神経原繊維変化が引き起こされることで、不可逆的な認知機能障害に至るというアミロイドカスケード仮説が広く支持されている。本研究はこの仮説に着目し、BACE1 の産生阻害と A β の凝集阻害の両方の特性を有する化合物を海洋由来真菌代謝産物から見出すことを目的とした。

3. 研究の方法

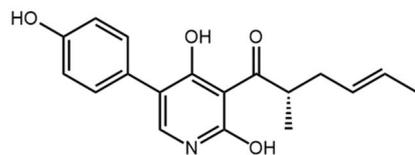
試料として明治薬科大学生薬学研究室に保存されている海洋由来真菌の抽出物ライブラリーを用いる。活性試験としては、A β の凝集抑制活性を調べるために Th-T 法を用いる。また、A β 産生の阻害活性を調べるために BACE1 阻害活性試験として BACE1 FRET assay を用いる。分離操作はシリカゲルカラムクロマトグラフィーなどの各種クロマトグラフィーを用いて、活性試験の結果を指標として行う。単離した化合物は核磁気共鳴 (NMR)、質量分析などの各種スペクトルデータを用いて構造解析を行う。

4. 研究成果

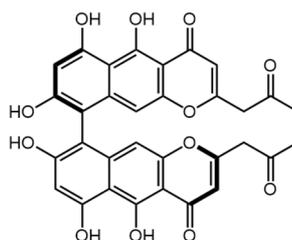
海洋由来真菌の抽出物ライブラリーに関して A β の凝集抑制活性を調べたところ、MPUC 398 の酢酸エチル抽出エキスおよび MPUC 239 の酢酸エチル抽出エキスに抑制活性が認められた。

Galactomyces pseudocandidus (MPUC 398) の酢酸エチル抽出エキス

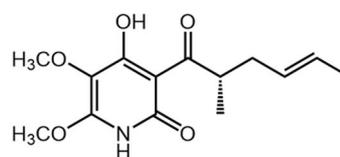
活性試験を行いながら分離操作を進め、Fr. E4 から化合物 1 を、Fr. E3 から化合物 2 をさらに Fr. C2 から化合物 3 を単離した。次に各化合物の各種スペクトルデータから構造解析を行い、化合物 1 は pyridone alkaloid 類の新規化合物であったので、galactopyridone と命名した。化合物 2 は bis (naphtho- γ -pyrone) 類の既知化合物 SC2051、化合物 3 は pyridone alkaloid 類の既知化合物 harzianopyridone であった。次に得られた 3 種の化合物についてアミロイド β 凝集試験を行った結果、化合物 2 (SC2051) のみが IC₅₀ の値が 2.5 μ M と強い活性を示した。



化合物 1



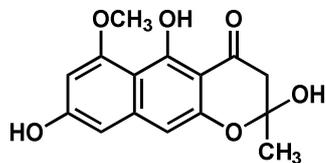
化合物 2



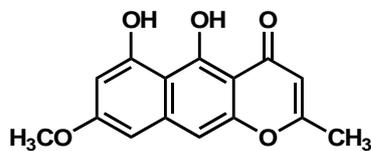
化合物 3

海洋由来真菌 MPUC 239 の酢酸エチル抽出エキス

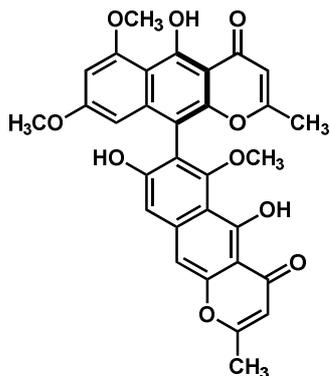
活性試験を行いながら分離操作を行った。Fr. 3-2 から化合物 A、Fr. 3-4 から化合物 B、Fr. b2e2c#4 から化合物 C、Fr. b2e2c#6 から化合物 D、Fr. b2e2c#8 から化合物 E、および Fr. b2e7b から化合物 F を単離した。次に各化合物の各種スペクトルデータから構造解析を行い、化合物 A は naphtho- γ -pyrone 類の既知化合物 fonsecin、化合物 B も naphtho- γ -pyrone 類の既知化合物 rubrofusarin、化合物 C は dianhydro-aurasperone C、化合物 D は asperpyrone C、化合物 E は fonsecinone A、化合物 F は dinaphthalenone 誘導体であるが、完全な構造解析に至らなかった。次に得られた 6 種の化合物について A β 凝集試験を行った結果、化合物 A~E は中程度のアミロイド凝集抑制活性を示した (IC₅₀ = 10.0 ~ 15.0 μ M)。一方化合物 F は IC₅₀ = 3.9 μ M と強い活性を示した。



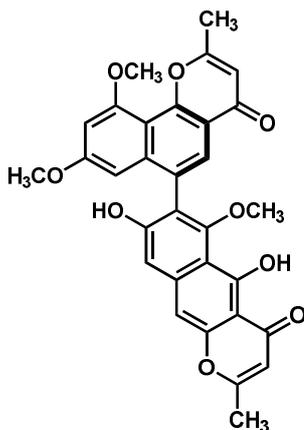
化合物 A



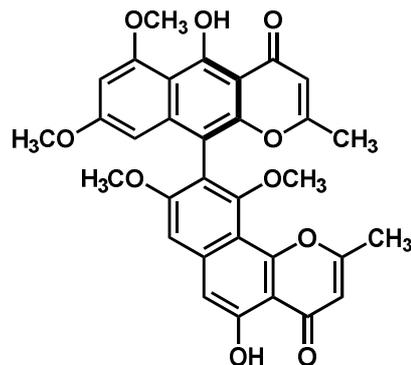
化合物 B



化合物 C



化合物 D



化合物 E

今回の研究において、化合物 2 及び構造決定には至っていないが化合物 F の 2 種の化合物が強い A β 凝集抑制活性を示し、また化合物 A ~ E が中程度のアミロイド凝集抑制活性を示した。この知見は naphtho- γ -pyrone 骨格を有する化合物が目的とする治療薬のリード化合物の候補になりえることを示しているが、残念ながらこれら化合物に関して BACE1 阻害活性の試験を行うに至らなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 増田優紀、鎌内 等、木下 薫、杉田 隆、小山清隆
2. 発表標題 海洋由来真菌Galactomyces pseidocandidusからのA 凝集抑制活性化合物の探索
3. 学会等名 日本生薬学会第65年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 橋本 拓実, 杉田 隆, 紀 嘉浩, 佐藤 準一, 木下 薫, 小山 清隆
2. 発表標題 海洋由来真菌MPUC239からのアミロイド 凝集抑制活性成分の探索
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----