

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K22479

研究課題名（和文）賦形剤の薬効？

研究課題名（英文）Potency of ingredients?

研究代表者

照屋 健太（TERUYA, Kenta）

東北大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：30372288

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：私たちは医薬品のカプセルや増粘剤として日常摂取しているセルロースエーテルがマウスにおいて顕著な抗プリオン活性をもつことを見出してきた。本研究は、この意外な作用に、どのような生体の機能が関与しているかについて調査したものである。脳内タンパク質に関する調査からは、グリア成熟因子bという蛋白質が、細胞の種類に関する調査からはT細胞上のいくつかの受容体が、関連する候補として見出された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

プリオン病をはじめとする神経変性疾患の実効的な治療手段が求められている。セルロースエーテルは、本来、生体不活性な化合物として日常生活に広く用いられているうえ、幾つかの特性は、プリオン病のような特殊な疾患に適している。抗プリオン活性に関与する応答などが見つければ、プリオン病をはじめとする神経変性疾患に対抗する手段を提供できることとなる。

研究成果の概要（英文）：We have found that cellulose ether, which is routinely ingested as a capsule and thickener for pharmaceuticals, has significant anti-prion activity in mice. In this study, we investigated what biological functions are involved in this unexpected effect. Investigations of brain proteins have identified a protein called glial maturation factor b, and investigations of cell types have identified several receptors on T cells as relevant candidates for the anti-prion activity.

研究分野：プリオン病

キーワード：anti-prion cellulose ether drug gmbf preventive treatment prion T-cell

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

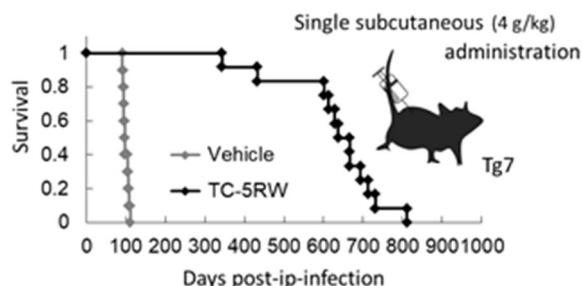
1. 研究開始当初の背景

ヒドロキシプロピルメチルセルロース(HPMC)は、安価な水溶性高分子であり、生体に対して不活性であるとされている。これらの性質から、HPMCは、医薬品製造の賦形剤、カプセル、また、増粘剤として食品から工業に渡り広く・大量に用いられている。報告者らは抗プリオン病薬の探索を行う過程において、プラシーボ薬に強力な抗プリオン活性を見出し、糖衣の主成分にその活性本体を同定した。

この生体不活性で、安全性が高く、入手が容易な HPMC の予想だにできなかった薬効の作用機序の一端を明らかにし、他の蛋白質沈着を伴う難治性疾患に応用可能な「種」となるべく、治療・予防薬としての利用の根拠を深めることである。

これまでの研究から、HPMC に

- 長い予防効果があり、
- 脾臓・脳脈絡叢への蓄積が顕著で、
- 効果には至適な分子量分布があり、
- 治療効果はマウスの系統依存的で、
- 効果はプリオンの投与経路、と、体内動態に関連した。
- 腹腔マクロファージへの取り込み量とマウスの延命効果の間には負の相関がみられた。



プリオン感染マウスの生存曲線。代表的な HPMC の一つである TC-5RW 投与マウスは、一度の投与でほぼその平均的な寿命まで生存した

本申請研究において対象とする化合物 HPMC は、医薬品の賦形剤、食品添加物として広く利用されているものである。このような生体不活性とみられている化合物を予防・治療薬として利用を計画することは、その試み自体、非常に挑戦的な試みであると報告者は考える。現在のところ、プリオン病の病原因子である異常型プリオン蛋白質との直接の相互作用は見られていないため、現在の治療薬開発の主流である分子標的薬になり得るとは想定していない。HPMC は高分子化合物であり、分子形が規定されないという性質は医薬品としての利用としての壁となりうる。それでもなお、事実としてプリオン感染に対して顕著な抵抗性を示すことは明らかである。賦形剤、食品添加物として多量に使用可能であることがすでに実証されている優れた安全性は、発症時期とリスクを明確に予想することが困難なプリオン病に対して理想的である。作用機序が明らかとなれば、他の蛋白質沈着を伴う難治性神経変性疾患に対する新たな治療介入方法の芽ばえとなる。

2. 研究の目的

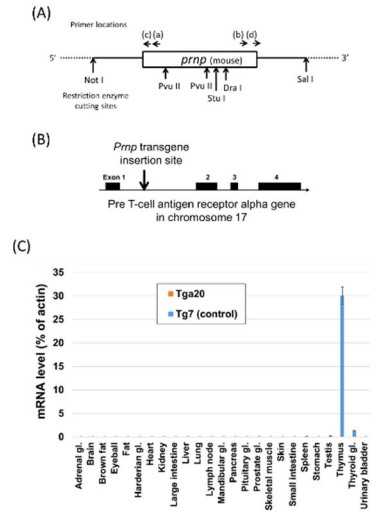
これまでの研究で、HPMC の予防効果には、貪食性の細胞の関与を示唆するデータが得られている。また、比較可能な治療効果の程度が異なるマウスの系統を準備することができている。HPMC について、このような「体質」と、生体内での細胞の穏やかな変化を結びつける応答の差が明らかになれば、これまで、「プラシーボ効果」として片付けられてきた所見を細胞生物学的に見直す端緒になる。単なる「賦形剤」に新規で、応用範囲が広い「薬効」を与えることが挑戦的意義である。どのような「体質」が HPMC の抗プリオン効果に寄与しているかを明らかにし、「体質」を臓器、細胞、遺伝子へと可能な限り還元することを目的とする。

3. 研究の方法

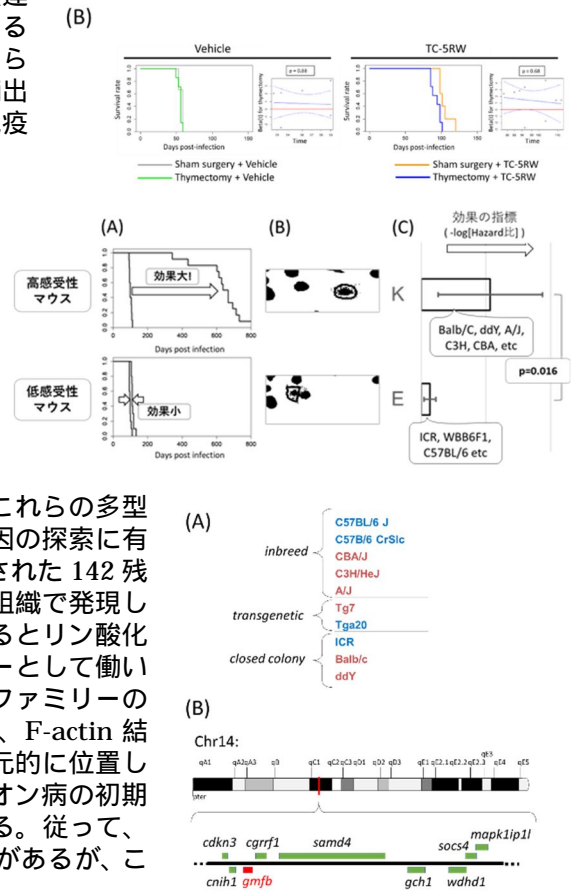
- (1) 上述 (d) 治療効果はマウスの系統依存的であったことから、入手可能な遺伝子欠損マウスに対してその治療効果を検証し、その応答の違いを探る。特に、プリオン感染実験に頻繁に使用されるトランスジェネティックについて、その遺伝的背景に関連した臓器や細胞特性について探る。
- (2) 上述 (d) 治療効果はマウスの系統依存的であったことから、(1)に加え、分子レベルに特徴的な差異が見られるかどうか検証する。近交系マウス系統での治療効果の検証後、HPMC の感受性が高いものとそれほどではないマウス間で脳内の発現蛋白質を比較する。
- (3) 項目(1)、(2)の結果を受けて、HPMC の治療効果の向上を目指した HPMC 投与法の検証をおこなう。
- (4) 項目(2)において見出した蛋白質因子についてシグナル伝達など分子生物学的な検証を行う。

4. 研究成果

(1) Tg7、Tga20 マウスはプリオンの研究で良く用いられるトランスジェネティックマウスである。CE 投与で Tg7 では顕著な抗プリオン効果を示す一方で、Tga20 マウスでは、わずかな効果しか示さない。Tga20 マウスでは初期 T 細胞発生の欠陥が報告されていることから、CE 作用に免疫機能が関与しているかどうかを検討した。Tga20 マウスの pre T-cell antigen receptor 遺伝子にプリオンタンパク質導入遺伝子が挿入され、胸腺などの組織でその発現が低下していることを確認した。次に、免疫抑制剤または新生児胸腺切除術を施した高 CE 応答マウスにおいて、免疫抑制が CE 効果に及ぼす影響を検討した。新生児胸腺摘出術は CE 効果を有意に減少させたので、同様の遺伝的背景を持つマウスにおいて、種々の T 細胞欠損の影響を比較した。その結果、T 細胞系譜に欠陥のあるマウスでは CE 効果は増大するか変化しなかったが、T 細胞受容体 欠損マウスでは CE 効果は消失した。さらに、他の免疫異常を調べたところ、CE 効果はライソゾーム輸送機能不全マウスでは減少したが、B 細胞分化や toll-like receptor 4 シグナル伝達の欠損マウスでは不変であった。これらの知見を総合すると、CE の作用機序には、T 細胞や溶解顆粒機能、さらにはプレ T 細胞抗原受容体 欠損マウスや新生児胸腺摘出マウスに欠如しているナチュラルキラー T 細胞などの免疫因子が関与している可能性が示唆された。



(2) セルロースエーテル (CE) の抗プリオン作用はげっ歯類で報告されているが、その分子機構は全く不明である。ここでは、CE 効果の遺伝的背景をマウスのプロテオミクス解析と遺伝学的解析により検討した。CE 効果の劇的な違いを示す 2 系統のマウスにおけるプロテオーム解析の結果、グリア成熟因子 b 遺伝子に明瞭な多型があることがわかった。この多型は、様々なプリオン感染マウス系統の CE 効果に有意に関連していた。この遺伝子とその近傍の遺伝子の塩基配列を決定したところ、CE 効果に有意に関連する他の多型もいくつか発見された。これらの多型は、より適したマウス系統の発見や CE 効果の遺伝的要因の探索に有用な遺伝マーカーである。GMFb は、進化的によく保存された 142 残基の長さのタンパク質である。中枢神経系や胸腺などの組織で発現している。GMFb は数種類のキナーゼによって活性化されるとリン酸化され、中枢神経系の炎症におけるシグナルメディエーターとして働いている。また、F-actin に結合して解重合するタンパク質ファミリーの一員である。マウス GMFb の多型 40 番目のアミノ酸は、F-actin 結合部位の反対側にある溶媒に広く露出したループに 3 次元的に位置している。F-actin の脱重合によるスパインの変化は、プリオン病の初期にはプリオンのシナプトトキシシティとして知られている。従って、GMFb とプリオンのシナプス毒性には関連がある可能性があるが、この関連に CE が関与しているかは全く不明である。



(3) CE のバイオアベイラビリティをリポソーム製剤を用いて向上させることを目的とし、CE を負荷したリポソームの培養細胞における特性を明らかにした。リポソーム製剤は、プリオン感染細胞において、CE の EC50 量を 1/200 倍未満に減少させた。空のリポソームと比較して、CE を担持したリポソームはプリオン感染細胞により多く取り込まれ、マクロファージ様細胞にはあまり取り込まれなかった。ホスファチジルセリン修飾は、CE 担持リポソームのプリオン感染細胞への取り込みを減少させ、抗プリオン活性を変化させないが、マクロファージ様細胞への取り込みは増加させることがわかった。ポリエチレングリコール修飾は、CE を担持したリポソームの両タイプの細胞における取り込みを減少させ、プリオン感染細胞における抗プリオン活性を減少させた。これらの結果は、CE のリポソーム製剤が未製剤の CE よりも実用的であることを示唆し、プリオン感染細胞における CE 担持リポソームの取り込みレベルは抗プリオン活性と関連しないことを示していた。食細胞に対するステルス機能の更なる向上が必要であるが、リポソーム製剤は CE 効果の向上と CE 作用機序の解明に有用であると思われる。

(4) (2)において、セルロースエーテル (CE) の抗プリオン効果が GMF (Glial maturation factor) と呼ばれるタンパク質のアミノ酸多型に依存すると分かった。このことから GMF がプリオン病に関連する何らかのカスケードに関わっていることが示唆された。プリオン病の Neurotoxicity には p38 MAPK の活性化が関わり、その結果として細胞骨格の崩壊が起こると

されている。GMF は p38 MAPK の上流に位置し、アクチンの debranching を促すと言われていることから、この系に GMF が関わるのではないかと予想し、GMF と p38 MAPK の関係性やその周辺の因子について調査した。まず、p38 MAPK は Cd²⁺ で効率的に刺激することを予備実験で見出し、STAT1 の減少、STAT2 のリン酸化の亢進が見られた。しかしながら、CE 存在下における応答の違いを見出すことはできなかった。原因の一つは、Cd²⁺ での刺激が強すぎたため、カスケード内の因子群の変化を追従できないことであった。程度を制御することが可能な刺激剤を使用した研究とともに、アクチンへの作用も今後検討したいと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Teruya K, Nishizawa K, Oguma A, Sakasegawa Y, Kitamoto T, Doh-ura K.	4. 巻 1863
2. 論文標題 Intermolecular crosslinking of abnormal prion protein is efficiently induced by a primuline-sensitized photoreaction.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects	6. 最初と最後の頁 384-394
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2018.11.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nishizawa K, Teruya K, Oguma A, Sakasegawa Y, Schazl H, Gilch S, Doh-ura K.	4. 巻 108
2. 論文標題 Preparation and Characterization of Cellulose Ether Liposomes for the Inhibition of Prion Formation in Prion-infected Cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical Sciences	6. 最初と最後の頁 2814-2820
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xphs.2019.03.025.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Teruya Kenta, Oguma Ayumi, Arai Keita, Nishizawa Keiko, Iwabuchi Sara, Watanabe-Matsui Miki, Sakasegawa Yuji, Schazl Hermann, Gilch Sabine, Doh-ura Katsumi	4. 巻 560
2. 論文標題 Polymorphisms in glia maturation factor gene are markers of cellulose ether effectiveness in prion-infected mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 105 ~ 111
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.04.116	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ding Mingxuan, Teruya Kenta, Zhang Weiguanliu, Lee Hae Weon, Yuan Jue, Oguma Ayumi, Foutz Aaron, Camacho Manuel V., Mitchell Marcus, Greenlee Justin J., Kong Qingzhong, Doh-ura Katsumi, Cui Li, Zou Wen-Quan	4. 巻 58
2. 論文標題 Decrease in Skin Prion-Seeding Activity of Prion-Infected Mice Treated with a Compound Against Human and Animal Prions: a First Possible Biomarker for Prion Therapeutics	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Neurobiology	6. 最初と最後の頁 4280 ~ 4292
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12035-021-02418-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Teruya Kenta, Iwabuchi Sara, Watanabe Yuki, Tsuchida Rikiya, Watanabe-Matsui Miki, Konno Hiroyuki, Doh-ura Katsumi	4. 巻 1866
2. 論文標題 Activities of curcumin-related compounds in two cell lines persistently infected with different prion strains	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects	6. 最初と最後の頁 130094 ~ 130094
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2022.130094	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Awahara Chiyuki, Oku Daiki, Furuta Saki, Kobayashi Kazuya, Teruya Kenta, Akaji Kenichi, Hattori Yasunao	4. 巻 27
2. 論文標題 The Effects of Side-Chain Configurations of a Retro-Inverso-Type Inhibitor on the Human T-Cell Leukemia Virus (HTLV)-1 Protease	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 1646 ~ 1646
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules27051646	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Teruya Kenta, Oguma Ayumi, Takahashi Satoko, Watanabe-Matsui Miki, Tsuji-Kawahara Sachiyo, Miyazawa Masaaki, Doh-ura Katsumi	4. 巻 107
2. 論文標題 Anti-prion activity of cellulose ether is impaired in mice lacking pre T-cell antigen receptor , T-cell receptor , or lytic granule function	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Immunopharmacology	6. 最初と最後の頁 108672 ~ 108672
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.intimp.2022.108672	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 照屋健太、西澤桂子、小熊歩、堂浦克美
2. 発表標題 Prophylactic Anti-prion Effects of Cellulose Ether Compounds Depend on Host Mouse Strains
3. 学会等名 第57回ペプチド討論会(2020)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岩淵サラ、照屋健太、松井美樹、今野博之、堂浦克美
2. 発表標題 Characterization of The Effects of Curcumin Related Compounds on Two Prion Strains
3. 学会等名 第57回ペプチド討論会(2020)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大沼拓巳、若林雅貴、矢野成和、照屋健太、赤路健一、今野博行
2. 発表標題 Design, Synthesis and Evaluation of SARS 3CL Protease Inhibitors
3. 学会等名 第30回記念 万有仙台シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Keiko Nishizawa, Kenta Teruya, Ayumi Oguma, Yuji Sakasegawa, Hiroshi Kamitakahara, Katsumi Doh-ura
2. 発表標題 Cellulose ether liposomal for the inhibition of prion formation.
3. 学会等名 Asia Pacific Prion Symposium 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kenta Teruya, Keiko Nishizawa, Ayumi Oguma, Yuji Sakasegawa, Hiroshi Kamitakahara, Katsumi Doh-ura
2. 発表標題 Protection to prion infection by cellulose ether compounds depends on host mouse strains.
3. 学会等名 Asia Pacific Prion Symposium 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kenta Teruya, Toshiya Ishikawa, Sara Iwabuchi, Miki Watanabe-Matsui, Katsumi Doh-ura
2. 発表標題 Photoreaction-induced SDS-resistant PrPSc/res oligomer formation
3. 学会等名 第58回ペプチド討論会(2021)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ayaka Okawara, Mariko Kikuchi, Reiko Kurotani, Kenta Teruya, and Hiroyuki Konno
2. 発表標題 Fragment coupling reaction of protected peptides using α -wang and its vinyl handles
3. 学会等名 第58回ペプチド討論会(2021)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 照屋健太
2. 発表標題 プリオン病治療薬開発の現状
3. 学会等名 第62回日本神経学会学術大会(招待講演)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

照屋 健太 https://www.neurochemistry.med.tohoku.ac.jp/NC/NC_teruya.html
--

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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------