

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：36102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05062

研究課題名(和文)(+)-SpirotenuipesineAの全合成と二重活性化による神経機能修復

研究課題名(英文) Total synthesis of (+)-spirotenuipesine A and repair of nerve function by dual activation

研究代表者

今川 洋 (Imagawa, Hiroshi)

徳島文理大学・薬学部・教授

研究者番号：80279116

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：抗NGF抗体存在下に、Spiroteuipesine Aの活性を測定したところ、その活性は影響を受けなかった。その結果から、Spiroteuipesine Aによって、グリア細胞から分泌が促進されるNGF様活性物質は、NGFそのものではないと考えられた。また、Neovibsanin類は、NGFの働きを増強するため、Neovibsanin類存在下に、Spiroteuipesine Aの活性を測定したところ、その活性の増強効果は観測されなかった。これらの結果から、Spiroteuipesine Aは、NGFとは異なる神経栄養因子様の活性物質を産生促進していることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回得られた研究成果は、スピロテヌイペシンAが、グリア細胞から分泌を促進する、神経栄養因子様物質を特定するために、重要な知見を与えたと考えられる。これまで未知であった、神経栄養因子様化合物が同定されれば、その機序解明に大きく貢献できる。また構造活性相関研究の成果は、損傷を受けた神経の再生を基盤とした、アルツハイマー病を始めとする神経変性疾患の治療シーズ開発に重要な知見を与えるものと考えられ、活性を持つが構造が単純で、化学合成による供給が容易な、新規な治療薬候補分子のデザインに繋がると考えられる。

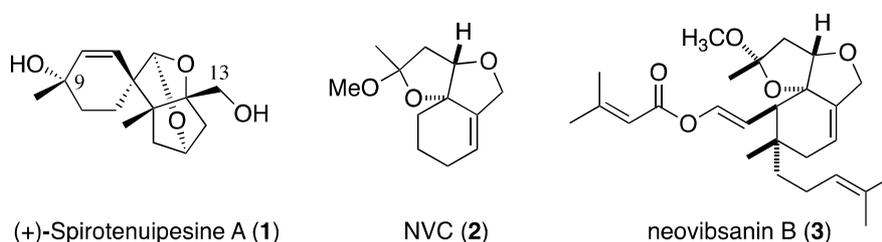
研究成果の概要(英文)：When the activity of spirotenuipesine A was measured in the presence of anti-NGF antibody, the activity was unaffected. These results suggest that the NGF-like active substance secreted from glial cells by spirotenuipesine A is not NGF itself. Moreover, since neovibsanins enhance the function of NGF, the activity of spirotenuipesine A was measured in the presence of neovibsanins, and no enhancement effect of spirotenuipesine A on the activity was observed. These results suggest that spirotenuipesine A promotes the production of neurotrophic factor-like active substances that are distinct from NGF.

研究分野：有機合成化学

キーワード：ネオビブサニン スピロテヌイペシンA 神経突起伸長作用 神経機能修復

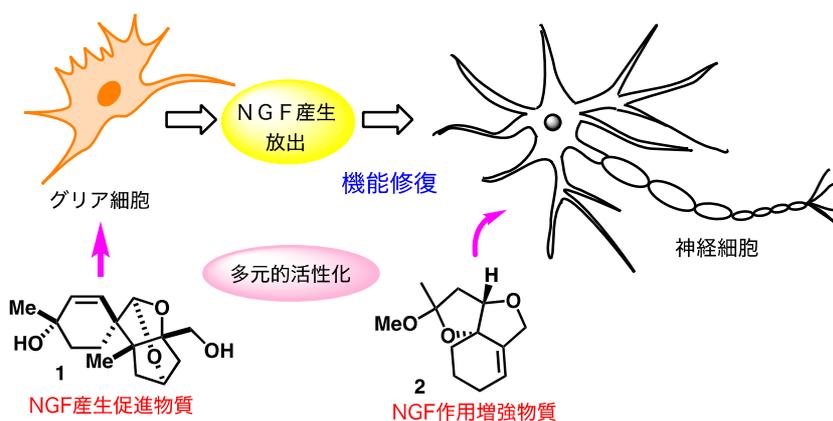
## 1. 研究開始当初の背景

近年我が国では、高齢化が急速に進んでおり、2020年には3人に1人が65才以上の高齢者となっていると推定されている。そして現在、高齢者の7人に1人が認知症を患っている。しかしその根本治療薬は未だ存在せず、根治に繋がる新しい認知症治療薬の開発は、解決が望まれる火急の課題である。スピロテヌイペシンA (1) は、東北大学菊地・大島らによって冬虫夏草の一種から見出され、グリア細胞でのNGF様活性物質の合成を促進し、神経の突起伸長作用を示すことが明らかにされており、認知症の主要な原因の一つである、アルツハイマー病を始めとする神経変性疾患の新しい治療薬シーズとして期待が待たれている。一方、徳島文理大学薬学部の福山、久保らによって、ガマズミ科植物のサンゴジュより単離構造決定されたネオビブサニン B(3)は、NGFの働きを増強し、神経突起を伸長する活性を有する。すなわち、スピロテヌイペシンA (1)とネオビブサニン類 (2, 3)を同時に神経細胞に作用されると、それぞれ異なる経路で神経を活性化し、効果的な神経機能修復が実現できる可能性がある。しかしながら、スピロテヌイペシンA (1)が産生促進するNGF様活性物質が何であるかは明らかにされておらず、NGFの働きを増強する活性を持つ2のような化合物との相互作用も不明であった。さらには、創薬シーズ開発を目指した、新規な高活性分子の創製に必要な、スピロテヌイペシンA (1)の構造活性相関に関する情報や、ネオビブサニン類(2, 3)の分子レベルの作用機序に関する知見も十分ではなかった。



## 2. 研究の目的

申請者らは、まずグリア細胞でのNGF様分子の産生を促進するスピロテヌイペシンA(1)と、NGF作用を増強し、神経突起伸長を促進する活性をもつネオビブサニン類(2)をターゲットに定め、その量的供給と高活



性な誘導体創製を見据えた構造活性相関研究を行うと共に、それらの分子レベルでの機序解明を目指した。さらにそれらを組み合わせ、多角的な神経活性化システムを構築し、アルツハイマー病を始めとする神経変性疾患治療に対する新しい根本治療戦略としての可能性を見極めることを目的とした。すなわち上記の図に示すように、1にてグリア細胞からのNGF産生を促進、2にて、NGFの作用を増強、神経突起伸長を促進させることで、多角的に神経系を活性化して機能修復する、これまで例が無い根治を目指した治療戦略の可能性について検討することを目的とした。

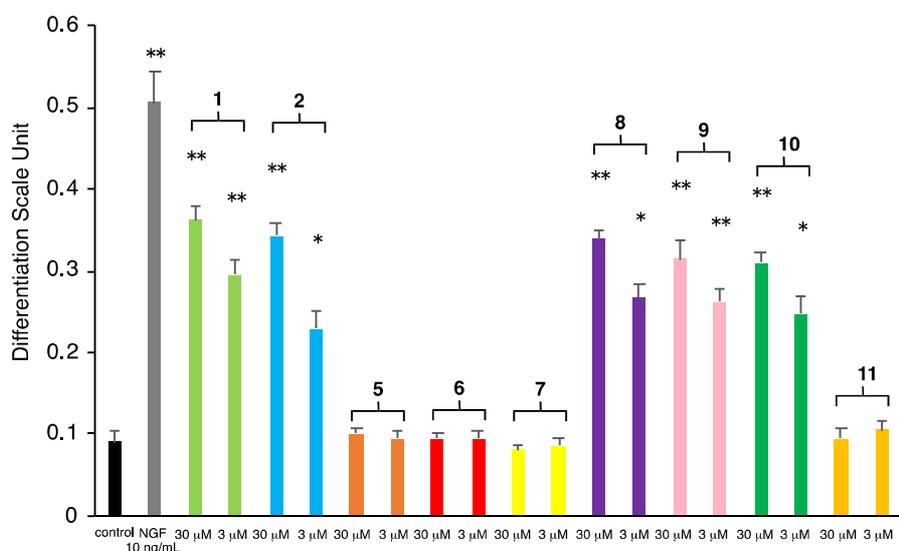
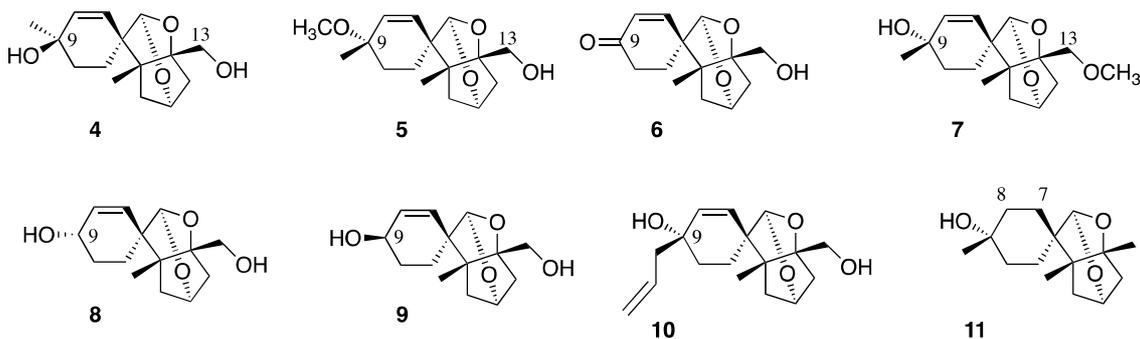
### 3. 研究の方法

まずスピロテヌイペシン A (1) の誘導体を合成し、その活性を評価することで、構造活性相関を明らかにすることに取り組んだ。さらに、スピロテヌイペシン A (1) が産生促進する、NGF 様分子の同定を目的に、抗 NGF 抗体を共存させて、スピロテヌイペシン A (1) の活性を評価することで、スピロテヌイペシン A (1) が産生促進する神経栄養因子が NGF そのものであることを確認すると共に、ネオピブサニン誘導体 2 を共存させて、相互作用が確認されるかを検討することとした。一方、ネオピブサニン誘導体 2 が作用する受容体を明らかにする目的で、光親和性標識体の用いたラベル化実験を検討した。

### 4. 研究成果

#### スピロテヌイペシン A (1) の構造活性相関

まず、スピロテヌイペシン A (1) の各種誘導体を合成し、それらの活性を評価した (下図)。

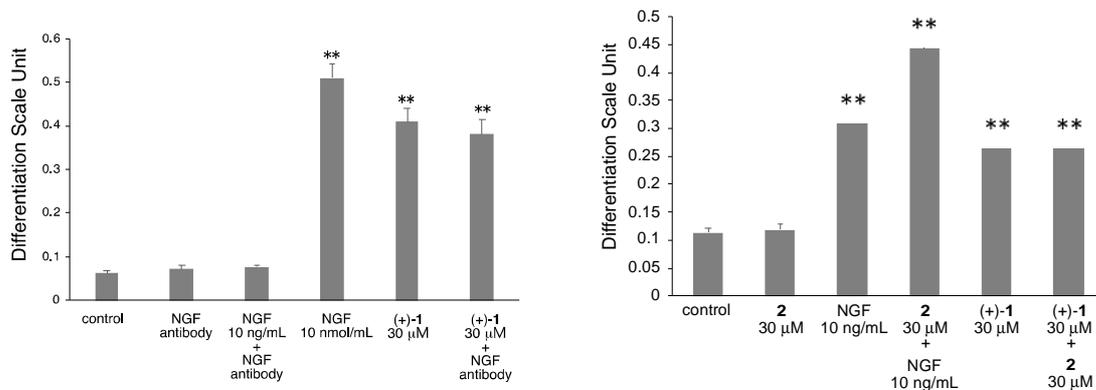


その結果、化合物 5, 6, 7 の活性が消失したことから、9 位水酸基、13 位水酸基が活性発現に必須であると考えられた。また、アルケンを還元した 11 にも活性の消失が確認されことから、8, 7 位間のアルケンもまた活性に必須であると考えられた。

#### スピロテヌイペシン A (1) が産生する NGF 様活性物質

次に未同定の、スピロテヌイペシン A によって産生が促進される NGF 様活性物質の特定を試みた。抗 NGF 抗体存在下に、スピロテヌイペシン A (1) の活性を測定したところ、期待に反し、その活性は影響を受けなかった。この結果から、スピロテヌイペシン A (1) によって、グリア細胞から分泌が促進される NGF 様活性物質は、NGF そのものではないと考えられた。また、ネオピブサニン類は、NGF の働きを増強する。そのため、もし 1 により分泌が促進される NGF 様活性物質が、NGF そのものであったなら、2 の存在下での試験では、活性の増強が観測されるはずである。そこで、ネオピブサニン類 2 の存在下に、1 の活性を測定したところ、活性の増強効果は観

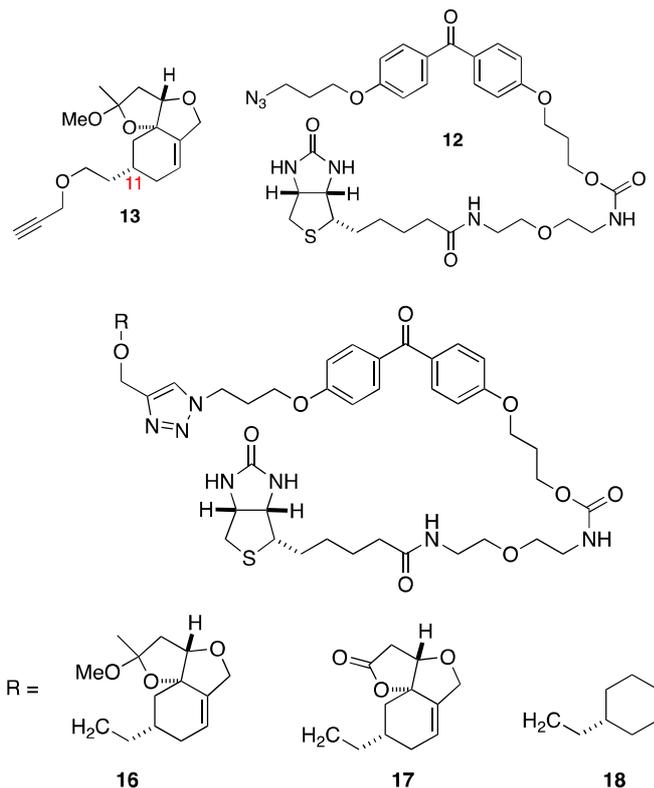
測されなかった。これらの実験結果から、スピロテヌイペシンA (1) は、NGFとは異なる神経栄養因子様の活性物質を産生促進していることが明らかとなった(下図)。この結果から、当初目論んだ、1にてグリア細胞からのNGF産生を促進、2にて、分泌されたNGFの作用を増強、相乗的に神経突起伸長を促進させることは出来ないことが明らかとなった。

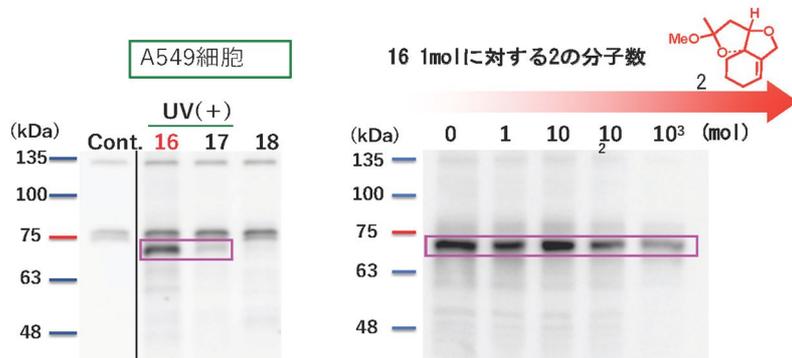


### 光親和性標識体によるネオピブサニン類の標的分子の探索

一般に、光親和性標識体を用いた受容体タンパク質の検出実験では、非特異的な結合に由来するノイズを如何に排除するかが重要な課題となる。本研究では、活性を持たないが、構造が類似している分子(ダミー分子)を用いて参照実験を行うことで、非特異的な結合を見極める方法にて、ネオピブサニン類に特異的に親和性を持つ標的受容体の探索に挑戦した。そのためには、光親和性反応部に簡便に活性分子や、ダミー分子を導入できる工夫が必要である。この目的のために、アジド体12を独自にデザインし、アルキンを導入した活性分子13やダミー分子をクリック反応にて簡便に結合することとした。

このように合成した光親和性標識体(16、17、18)を用いて、神経のモデル細胞であるPC12細胞、及びNGFの受容体であるTrkA受容体を過剰発現しているA549細胞を用いて、標識実験を行った。その結果、16を用いた際のみ検出される、約72 kDa付近のバンドの検出に成功した。また、2の存在下に標識実験を行うと、2の濃度依存的に、当該バンドが薄くなることから、16と2は競合して標的タンパク質と結合していることが確認できた(次図)。現在検出できたタンパク質の同定に向けて、実験を継続中である。





A549細胞を用いた光親和性実験

16を用いた際のみ、75 kDaのマーカ下に特異的なバンド（紫枠）が検出された（左）  
 2を添加すると濃度依存的に特異的なバンド濃度が減少する（右）

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究分担者	松井 敦聡  (Matsui Nobuaki)  (60309698)	岐阜医療科学大学・薬学部・准教授    (33708)	

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