

様 式 C - 19、F - 19、Z - 19 (共通)

科学研究費助成事業

研究成果報告書



平成 27 年 6 月 17 日現在

機関番号：15201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860863

研究課題名(和文) 脂肪酸代謝異常症に対する新しい治療薬の研究と比較

研究課題名(英文) Research and comparison of new therapeutic agents for fatty acid metabolism disorders

研究代表者

高橋 知男(Takahashi, Tomoo)

島根大学・医学部・客員研究員

研究者番号：10624934

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：脂肪酸代謝異常症であるCPT2欠損症とVLCAD欠損症に対する新しい治療法として、ベザフィブレート(BEZ)やレスベラトロール(RVL)により酸化障害が改善されることが明らかになってきた。これらの薬剤を同一の細胞に投与し、in vitro probe assayで酸化能を比較した。

CPT2欠損症、VLCAD欠損症はC16の上昇、すなわち長鎖脂肪酸代謝障害があり、RVLの投与によって、C16が減少することを期待していた。しかし、過去の文献の血中濃度を参考に様々な濃度でRVLを投与したが、いずれにおいてもC16の更なる上昇、すなわち酸化の悪化と考えられる結果になった。

研究成果の概要(英文)：As a new treatment for a fatty acid metabolism disorders CPT2 deficiency and VLCAD deficiency, that the -oxidation damage can be improved it has been revealed by bezafibrate (BEZ) and resveratrol (RVL). These drugs are administered to the same cell, to compare the -oxidation ability with in vitro probe assay.

CPT2 deficiency, VLCAD deficiency rise of C16, ie there is a long-chain fatty acid metabolism disorder, by the administration of RVL, was hoping that the C16 is reduced. However, it has been administered RVL at various concentrations in the blood concentration of historical literature reference even further increase in C16 in either, it resulted to be considered worsening That want -oxidation.

研究分野：先天代謝異常症

キーワード：脂肪酸代謝異常症 酸化 in vitro probe assay レスベラトロール ベザフィブレート CPT2欠損症 VLCAD欠損症

1. 研究開始当初の背景

脂肪酸代謝異常症であるカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ 2 (CPT2) 欠損症と、極長鎖アシル CoA 脱水素酵素 (VLCAD) 欠損症では、炭水化物からのエネルギー供給が低下した時、 β 酸化ができないためエネルギー産生不全に陥る。すなわち、軽症例では筋力の低下を、重症例では急性脳症様発作や突然死をきたすことがある。

これまで治療には食事療法やカルニチンなど対症的な治療法しかなかったが、最近、レスベラトロール (RVL) やベザフィブレート (BEZ) に効果があるとがわかってきた。

2. 研究の目的

CPT2 欠損症と、VLCAD 欠損症に対する RVL と BEZ の β 酸化能改善効果を検討する。また、RVL とベザフィブレート (BEZ) の β 酸化に対する効果を比較する。タンデムマスを導入した新生児マススクリーニングの普及とともに、両疾患の患者数の増加が予想される。両疾患の治療薬への臨床応用に展開するための基礎研究を行う。

3. 研究の方法

CPT2 欠損症、VLCAD 欠損症の線維芽細胞 (各 3 検体) に対し、in vitro probe (IVP) assay を用いて、RVL と BEZ の効果を比較する。

IVP assay は線維芽細胞の培地に、長鎖脂肪酸であるパルミチン酸を、グルコースも遊離脂肪酸も含まず、かつ遊離カルニチン過剰量を含む特殊な培養液に添加し、 β 酸化の機能を評価する方法である。長鎖脂肪酸の代謝酵素である CPT2 や VLCAD などに異常を認めれば C12 ~ C16 の長鎖脂肪酸

が上昇する。薬剤の効果があれば、C16 が低下することが予想される。

4. 研究成果

BEZ に関しては山口らの報告の通り、濃度依存性に C16 の低下が見られ、酸化の改善が見られた (Yamaguchi et al. Mol Genet Metab. 2012)。一方で RVL は J,Bastin らの報告に基づき (J.Bastin et al. Human Molecular Genetics. 2011) 75 μ M 前後の濃度で投与したが、CPT2 欠損症、VLCAD 欠損症、いずれの線が細胞においても濃度依存性に C16 の上昇、すなわち酸化の悪化が確認された (図 1、図 2)。他にも nmol 単位、mmol 単位でも実験をしたが、IVP assay では濃度依存性に酸化が悪化することが確認された。

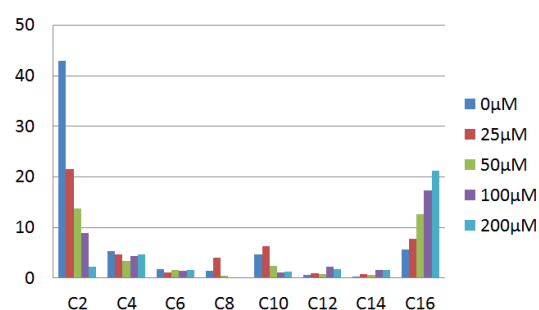


図 1. CPT2 欠損症線維芽細胞に対する RVL の効果

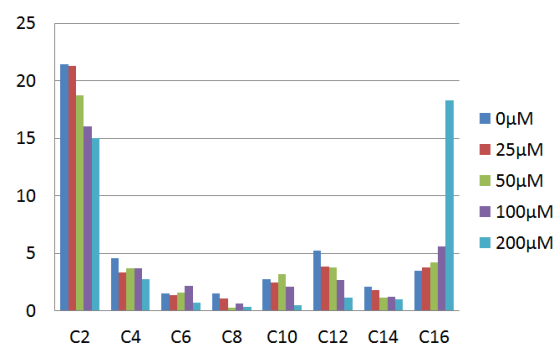


図 2. VLCAD 欠損症線維芽細胞に対する RVL の効果

レスベラトロールは自然界に存在するポリフェノールで、様々な疾患に対して効果があると考えられており、研究が多分野にわたって行われている。

Bastin らは RVL を投与すると sirtuin1 遺伝子を活性化することで濃度・時間依存性に酸化が活発になると報告し、また酸化が障害される CPT2 欠損症、VLCAD 欠損症の繊維芽細胞でもその酸化を改善させ、エネルギー不足の状態を改善させると報告している。

我々の研究では、BEZ に関して CPT2 欠損症、VLCAD 欠損症のいずれの繊維芽細胞にも効果があることを既に証明できている。

しかし今回の IVP assay での RVL の実験では濃度、温度などを変えてみたが、むしろ

酸化が悪化した。同じ培養液に BEZ を投与しているが、やはり酸化は改善していた。その原因は明らかではないが、正常繊維芽細胞でも同様の実験を行ったが、酸化が悪化しており RVL は少なくとも IVP assay 下においては有効ではない。CPT2 欠損症、VLCAD 欠損症に対する RVL 投与は、他の酸化の実験などさらなる研究が必要であり、臨床応用へは慎重な検討を踏む必要があると考える。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文]

1. Tomoo Takahashi, Clinical evaluation of 10 patients with metabolic disease presenting with SUDI and ALTE. *Pediatrics international* 査読有り (承認済み 発売前) 2015 年
2. 高橋知男 日本臨牀社 先天代謝異常症候群(第2版)上 pp.405-408 2013

年

3. 高橋知男, 山田健治, 虫本雄一 他., 新生児マススクリーニングで発見された軽症型プロピオン酸血症: 有機酸とアシルカルニチンの推移. *日本マス・スクリーニング学会誌* 23(1): 49-53, 2013 (6 月)

[学会発表]

1. 高橋知男, SIDS, ALTE 様症状で発症し先天代謝異常症と判明した 10 例の検討 第 65 回中国四国小児科学会 米子コンベンションセンター (鳥取) 2013 年 11 月 2-3 日
2. Tomoo Takahashi, Yamada K, Purevsuren J et al. Association between aspirin and β -oxidation function 第 56 回日本先天代謝異常学会総会/第 12 回アジア先天代謝異常学会 江陽グランドホテル(宮城) 2014 年 11 月 13-15 日
3. 高橋知男 SIDS, ALTE 様症状で発症し先天代謝異常症と判明した 9 例の検討 第 40 回マススクリーニング学会 大阪市中央公会堂 (大阪) 2013 年 8 月 23-24 日

[報告書]

高橋知男 「乳幼児突然死症候群 (SIDS) および乳幼児突発性危急事態 (ALTE) 様症状で発症した先天代謝異常症の検討. 厚生労働科学研究費補助金 (成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業) 「タンデムマス導入による新生児マススクリーニング体制の整備と質的向上に関する研究」 (研究代表者 山口清 次) 平成

24 年度総括・分担研究報告書 全:125

頁 29-32 頁 厚生労働省 2013 年

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋知男 (TAKAHASHI, Tomoo)

島根大学 医学部 客員研究員

研究者番号：10624934