

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：10107

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07186

研究課題名(和文)新規パーキンソン病神経保護薬meloxicam誘導体の開発

研究課題名(英文)Development of novel neuroprotective oxicam derivatives for the treatment of Parkinson's disease

研究代表者

田崎 嘉一 (Tasaki, Yoshikazu)

旭川医科大学・医学部・教授

研究者番号：60374807

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、神経保護作用を有する抗パーキンソン病治療薬の臨床開発候補化合物となる新規メロキシカム誘導体を見出すことであった。これまでパーキンソン病モデルマウスにおいて2つの有望な化合物を見出しているが、神経保護効果と脳内移行性の改善が必要であった。そこで新規に合成された40以上の化合物を調べたが、元々の2化合物以上に改善した臨床開発に相応しい化合物は得られなかった。一方、元の化合物を投与したパーキンソン病モデルの脳切片を検討したところ、パーキンソン病で傷害される脳部位の神経細胞死が著明に保護されていた。本結果は、メロキシカム誘導体のパーキンソン病進行抑制治療薬の有力な候補であることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在のパーキンソン病治療薬は、症状を改善する対症療法薬のみであり病気の進行を抑制できない。そのため長期に使用すると有効性の低減や変動が起こり問題となっており、本病気の進行抑制薬開発が強く望まれている。本研究は、すでに市販されている解熱鎮痛薬のメロキシカムとその誘導体がマウスパーキンソン病モデルでパーキンソン病の原因である脳ドパミン神経細胞死を抑制することを見出し、パーキンソン病進行抑制薬の開発へと進めていく研究である。今回の結果からマウスモデルでパーキンソン病で傷害される脳部位が誘導体により保護されていることが明らかとなり、進行抑制薬としての可能性が高まったと考えられる。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to obtain novel derivatives of oxicams as candidate compounds for clinical trial of neuroprotective antiparkinsonian drugs. We have found two potential compounds which protect brain dopaminergic neuronal death in the mouse parkinsonian model, but these compounds were needed to improve potency of neuronal protection and brain permeability for clinical trials. We examined potency of neuroprotection and brain permeability for more than 40 newly synthesized compounds, but we didn't obtain improved potential compounds for clinical trial, compared to original two compounds. On the other hand immunohistological study of mouse brain slices of parkinsonian model treated by one of the original drugs clearly showed protection against dopaminergic neuronal death in the affected brain region of Parkinson's disease. This results showed the oxicam derivatives were the probable target of disease-modifying drugs for Parkinson's disease.

研究分野：神経科学、医療薬学

キーワード：パーキンソン病進行抑制薬 meloxicam誘導体の開発 新規治療薬候補

1. 研究開始当初の背景

これまでの私達の独自の研究により、非ステロイド性抗炎症薬(NSAIDs)の meloxicam が in vitro および腹腔内投与による in vivo パーキンソン病(PD)モデルにおいて神経細胞死を新規メカニズムで抑制することを見出した。しかし meloxicam を経口投与した場合、COX 阻害の消化器毒性と脳内移行性が低いため、薬効を確認できなかった。すでに meloxicam 誘導体を合成し特許出願予定であるが、meloxicam と同等以上の薬効を経口投与で示す化合物は得られていない。上記の問題点を克服した誘導体で臨床開発候補化合物を得られるかを検討する。

<背景>

現在のパーキンソン病治療において、ドパミン神経細胞死を止める進行抑制薬の開発が強く望まれている。パーキンソン病(PD)は、原因不明の神経変性疾患であり、進行性の脳黒質ドパミン神経細胞死により運動障害が起こる。その治療薬は対症療法薬しか存在せず、ドパミン神経細胞死の進行を抑制できる薬剤はない。治療薬の中心である L-dopa 製剤は、長期使用により薬効が減弱し、症状のコントロールが難しくなることが、臨床上的の問題となっている。この問題点を解決するために、これまでも多くの PD 進行抑制薬が研究されてきているが、現在までに上市されたものはなく、PD 進行抑制薬の登場は強く望まれている。(Olanow, CW et al., *Exp Neurol* 298, 246-251 (2017)、Kalia L.V. et al., *Mov Disord.* 30, 1442-50 (2015))

meloxicam およびその誘導体が細胞死抑制作用を發揮する Phosphatidyl inositol-3 kinase (PI3K) / Akt 活性保持作用は、パーキンソン病治療においてドパミン神経細胞死を抑制する最も可能性のある機序の1つであることが報告されており、本研究はその報告に合致したものである。(Malagelada et al., *J. Neuroscience* 28, 14363-14371 2008, Timmons et al., *Neurosci. Lett.* 467, 30-35, 2009)

私達の独自の研究により、meloxicam を中心としたオキシカム系 NSAIDs が、新規のメカニズムである PI3K / Akt 経路の活性低下を抑制(保持)することで in vitro および in vivo PD モデルのドパミン神経細胞死を抑制することを見出した。しかし、その PI3K/Akt 経路の上流のどの分子に作用するかはわかっていない。

これまでの私達の研究により、NSAIDs の中でオキシカム骨格を有する meloxicam 等のみが、PD 関連ドパミン神経毒 MPP⁺誘発の培養神経細胞死に対して抑制作用を持つことを発見しているが、その作用は、NSAIDs の主作用である COX 阻害活性とは無関係であり、PI3K 下流の Akt の活性化保持によるという新規のメカニズムによることがわかっている (Tasaki et al., *Brain Res.* 1344: 25-33 (2010))。さらに meloxicam は、MPTP (MPP⁺の前駆体)を反復投与した PD モデルマウスの行動異常を改善し、ドパミン神経細胞死のマーカーである Tyrosine hydroxylase (TH)量の減少を抑制することを報告した (Tasaki et al., *Neurosci. Lett.* 521: 15-19, 2012)。また、このモデル動物の脳切片を免疫組織学的に評価すると、meloxicam により黒質緻密層のドパミン神経細胞死が抑制されることが確認された (投稿準備中)。この免疫組織学的評価は、前臨床のコンセプト検証試験(Proof of Concept; POC)として位置付けているものである。しかし、meloxicam の作用点、すなわち、PI3K/Akt 経路上流のどの分子に作用しているかは今のところ解明できていない。

meloxicam の薬効は、マウス腹腔内投与では見られるが消化器毒性のため経口投与では薬効を見ることができない。現在、特許出願中の新規 meloxicam 誘導体においても、経口可能なもので meloxicam の薬効と同等以上のものはない。従って、臨床開発候補化合物を得るためには、meloxicam 誘導体のメカニズムを解明し薬効の高い化合物を得る必要がある。

meloxicam の消化器毒性は、NSAIDs の作用機序である COX 阻害によるものであり、その副作用により投与継続が困難となる。また、経口投与では脳内移行性が低いことも要因となっている。一方、すでに私達は meloxicam 誘導体を共同研究者により約 80 種類を合成し、in vitro および in vivo PD モデルにおいて薬効があったオキシカム骨格を持たない新規化合物については、特許出願準備中である。しかしすべての誘導体を評価できたわけではなく、meloxicam と同等以上の薬効を経口投与で示した化合物は今のところ得られていない。したがって、新規の PD 治療薬開発にはこれらを克服した化合物の獲得が必要である。

以上のことから、meloxicam の問題点を改善した臨床開発候補化合物を見出すためには、作用点が PI3K / Akt 経路上流のどのような分子かを明らかにすることが重要である。さらに、誘導体の中から活性が高く、COX 阻害活性を有さず、脳内移行性が良いかを網羅的に検討し、それにより新規のパーキンソン病進行抑制薬開発の基礎知見を得る。

2. 研究の目的

meloxicam およびその誘導体の作用点を解明することにより、meloxicam の問題点が改善された経口投与可能で薬効が強く COX 阻害作用が回避された臨床開発候補化合物を見出すことである。これにより、パーキンソン病進行抑制薬の開発へとつなげ、現在の薬物治療の長期使用による問題点を改善することが可能となる。

3. 研究の方法

- (1) meloxicam 誘導体の中で最も神経細胞死効果の強い薬剤を臨床開発化合物として見出す。具体的には、in vitro で神経細胞死抑制効果の見られているオキシカム系 NSAIDs の薬効を、in vivo 動物モデルで黒質神経細胞死抑制作用、PI3K/Akt シグナル活性保持作用、パーキンソン様症状の改善作用で評価する。
- (2) meloxicam 誘導体を経口投与した際の体内動態を検討するため、マウスに誘導体を投与した後、1, 2, 6 時間後に血液と脳組織を採取し誘導体を抽出する、血中濃度および脳内濃度は LC-MS で測定する。

4. 研究成果

- (1) meloxicam 誘導体を、MPTP 誘発パーキンソン病マウスモデルにて評価を行った。その結果、細胞系でも高い神経細胞死抑制作用を有する新規化合物を 2 化合物得ることができた。これらのうちの 1 つの化合物は、meloxicam よりも低い投与量 (3mg/kg 経口投与, 1 日 2 回, 15 日間) で行動薬理的に Pole test で有意な薬効が見出された。このモデルにおいて、行動異常の改善が、パーキンソン病で変性する中脳ドパミン神経細胞の細胞死抑制によって起こっていることを確認するために、そのマーカー分子である Tyrosine hydroxylase (TH) 量を測定したところ、化合物投与群で MPTP による TH 減少を有意に抑制していた。これらの結果は、人でのパーキンソン病において有効である可能性を示唆し、今後の創薬展開の上で重要な中心的化合物となると考えられた。これら誘導体の神経細胞死抑制作用は、PI3K/Akt の活性保持作用に基づくものだが、市販されているゾニサミドにもその作用があるという報告があったため、ドパミン神経線維芽細胞 SH-SY5Y の MPP+ 誘発細胞死系でその細胞死抑制活性を比較したところ、ゾニサミドの活性より我々の新規化合物の方が、はるかに細胞死抑制活性が高いことが明らかとなった。さらに、これらの化合物は、meloxicam よりも脳内移行性が高く、薬物動態上も有望な化合物と考えられた。
- (2) さらに新規化合物の取得を目ざして実験を行った。これまでに得られた meloxicam 誘導体の中で最もドパミン神経保護作用が強かった IY-93、IY-104 の誘導体展開を行い、上記と同様にドパミン神経毒である MPP+ を用いた SH-SY5Y 神経細胞死抑制効果の評価系で 40 化合物の細胞死抑制活性を評価し、活性の高いものは IC50 を算出した。その中から特に活性が高く脳内移行性の改善が期待できる 9 化合物について単回投与による血中濃度と脳内移行性を検討した。検討した化合物は、IY-93 の誘導体が 4 化合物、IY-104 の誘導体が 5 化合物であったが、IY-93 および IY-104 を上回る脳内移行性を示したものは得られなかった。
- (3) 最も有効であった 2 化合物は、ドパミン神経毒の MPTP 誘発パーキンソン病動物モデルで有効性を示しているが、さらに脳切片を作製し免疫組織学的に検討したところ、パーキンソン病で傷害されるドパミン神経が細胞死から保護されていることを確認した。

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 鶴岡 航太郎、小町 元輝、鈴木 啓太、高橋 恭子、中村 成夫、大江 知之、大久保 知子、眞鍋 貴行、田崎 嘉一、増野 匡彦
2. 発表標題 抗パーキンソン病薬を目指した新規オキシカムA環芳香族複素環アナログの創製
3. 学会等名 日本薬学会第141年会(広島)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鶴岡 航太郎、高橋 恭子、中村 成夫、熊谷 直哉、増野 匡彦、大久保 知子、眞鍋 貴之、田崎 嘉一、大江 知之
2. 発表標題 パーキンソン病治療薬を目指したオキシカムアナログIY104のADME評価および類縁体合成
3. 学会等名 日本薬学会第142年会(名古屋)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 国内特許	発明者 田崎嘉一、増野匡彦、大江知之、高橋恭子	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-014281	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
研究協力者	大久保 知子 (Okubo Tomoko)	旭川医科大学・病院薬剤部・技能補佐員 (10107)	
連携研究者	大江 知之 (Ohe Tomoyuki) (30624283)	慶應義塾大学・薬学部・准教授 (32612)	

6. 研究組織（つづき）

	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
連携研究者	眞鍋 貴行 (Manabe Takayuki) (60460698)	旭川医科大学・臨床研究支援センター・病院薬剤部・助教 (10107)	

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