

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 20 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22790509

研究課題名（和文）シナプス伝達の修飾を指標とした新規アルツハイマー病治療法の開発

研究課題名（英文）Development of Alzheimer's disease therapeutics mediate for enhancement of synaptic transmission

研究代表者

森口 茂樹（MORIGUCHI SHIGEKI）

東北大学・大学院薬学研究科・講師

研究者番号：70374949

研究成果の概要（和文）：申請者は新規ピロリドン誘導体に注目し、誘導体の1つである sunifiram について検討した。Sunifiram は OBX マウスに認められる認知機能障害を有意に改善すること、電気生理学的検討より、OBX マウスの海馬において低下が認められる LTP を有意に改善することを見出した。本研究結果より、sunifiram には CaM キナーゼ II および PKC の賦活化を介した認知機能改善効果を有することが明らかになり、今後、より詳細な検討を行い、sunifiram の認知症へ適応できる様、研究を実施する予定である。

研究成果の概要（英文）：Sunifiram is a new pyrrolidone nootropic drug structurally related to piracetam, being development for neurodegenerative disorder like Alzheimer's disease. Sunifiram modulates glycine binding site of NMDAR concomitant increased PKC activity through Src family kinase. Enhancement of PKC activity triggered to potentiates hippocampal LTP through activation of CaMKII.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2011 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：応用薬理学

科研費の分科・細目：境界医学・応用薬理学

キーワード：sunifiram、LTP、CaM キナーゼ II、NMDA 受容体グリシン結合部位、OBX マウス、電気生理学、PKC、認知機能

## 1. 研究開始当初の背景

高齢化社会に伴いアルツハイマー病患者の増加は深刻な社会問題である。最近の研究によりアルツハイマー病患者の脳内では  $\beta$ -amyloid の凝集、沈着が認められ、神経変性疾患を惹起し、認知機能の低下を誘発することが明らかとなった。現在、創薬研究としてアルツハイマー病患者の脳内における

$\beta$ -amyloid の凝集阻害薬、ワクチンの開発が進められているが臨床応用には至っていない。一方、進行性の神経変性疾患に注目した研究として、アセチルコリン神経系の機能低下に着目したアセチルコリン賦活作用をもつ抗コリンエステラーゼ阻害薬が開発され、tacrine、donepezil、rivastigmine、galantamine が認可された。現在、日本では

donepezil のみが認可を受けており、欧米に比べ遅れを取っている。しかしながら、これらの治療薬の効能は十分ではなく、悪心、嘔吐、下痢等の副作用も認められ、アルツハイマー病患者の quality of life (QOL) と症状を長期に改善する治療薬は存在していない。

## 2. 研究の目的

本研究は、新規ピロリドン誘導体および新規アダマンタン誘導体によるシナプス伝達の修飾を指標とした新規アルツハイマー病治療法の確立を目指す。申請者の研究により、ピロリドン誘導体である nefiracetam が NMDA 受容体グリシン結合部位を活性化し、認知機能を亢進することを報告した。この結果は、ピロリドン誘導体によるシナプス伝達の修飾がアルツハイマー病治療に有効である可能性を示唆する。そこで本研究は、新規ピロリドン誘導体および NMDA 受容体の活性化が基礎検討により認められた新規アダマンタン誘導体の中から NMDA 受容体グリシン結合部位の活性化および CaM キナーゼ II の活性化を有するシード化合物を探索し、nefiracetam より有効な新規アルツハイマー病治療薬を、電気生理学的手法、生化学的手法、免疫組織化学的手法および行動解析により検討する。

## 3. 研究の方法

初年度（平成22年）は、新規ピロリドン誘導体および新規アダマンタン誘導体より NMDA 受容体グリシン結合部位および CaM キナーゼ II を活性化する化合物を電気生理学的手法および生化学的手法により検討し、アルツハイマー病治療薬のシード化合物を探索する。これまでの基礎検討により、新規ピロリドン誘導体である DM235 において NMDA 受容体賦活作用が認められた。さらに、次年度（平成23年）は、アルツハイマー病患者の病態の特徴と考えられる  $\beta$ -amyloid の凝集および沈着および神経変性疾患に着目し、それぞれの特徴を踏まえた Tg2576 マウス

( $\beta$ -amyloid の凝集および沈着) および嗅球摘出マウス (神経変性疾患) を用いて、初年度に見出したシード化合物の薬効を評価し、Tg2576 マウスおよび嗅球摘出マウスにおいて確認された認知機能低下の回復が認められるかについて行動解析 (in vivo 条件下) ならびに電気生理学の解析、生化学的解析および免疫組織化学的解析 (in vitro 条件下) を用いた多角的な解析により、統合的に検討する。以上の解析により、NMDA 受容体グリシン結合部位に作用する新しい概念の新規アルツハイマー病の治療法の確立を目指す。

## 4. 研究成果

申請者は新規ピロリドン誘導体に注目し、誘導体の1つである sunifiram について検討

した。電気生理学的検討の結果、sunifiram は記憶学習の指標である海馬の長期増強現象 (LTP) を有意に増強し、その増強には sunifiram の NMDA 受容体グリシン結合部位への作用が重要であることを見出した。一方、NMDA 受容体ポリアミン結合部位の関与は認められなかった。さらに、sunifiram は NMDA 受容体グリシン結合部位を介して、細胞内の Protein kinase C (PKC) を賦活化すること、PKC の賦活化には Src kinase を活性化することも同様に見出した。一方、申請者はこれまで記憶学習に必須の分子であるカルシウム/カルモデュリン依存性プロテインキナーゼ II (CaM キナーゼ II) が LTP および記憶形成に重要であることを報告しており、本研究においても sunifiram により CaM キナーゼ II が有意に賦活化することを見出した。CaM キナーゼ II の賦活化には少なくとも NMDA 受容体グリシン結合部位の活性化および PKC による NMDA 受容体 NR1 サブユニットの活性化が重要であることも見出した。以上より、sunifiram は CaM キナーゼ II および PKC の賦活化を介して認知機能調節を行うことが示唆された。そこで、申請者は実際に認知機能異常を誘発するモデルマウスを用いて、sunifiram の効果について検討した。嗅球摘出マウス (OBX マウス) は神経変性疾患を惹起し、認知機能障害を発現するモデルマウスである。Sunifiram は OBX マウスに認められる認知機能障害を有意に改善すること、電気生理学的検討より、OBX マウスの海馬において低下が認められる LTP を有意に改善することを見出した。本研究結果より、sunifiram には CaM キナーゼ II および PKC の賦活化を介した認知機能改善効果を有することが明らかになり、今後、より詳細な検討を行い、sunifiram の認知症へ適応できる様、研究を実施する予定である。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計6件)

1. Atsushi Oyagi, Shigeki Moriguchi, Atsumi Nitta, Kenta Murata, Yasuhisa Oida, Kazuhiro Tsuruma, Masamitsu Shimazawa, Kohji Fukunaga and Hideaki Hara: Heparin-binding EGF-like growth factor is required for synaptic plasticity and memory formation. Brain Res. 1419, 97-104 (2011) 査読あり

2. Shigeki Moriguchi: Pharmacological study on Alzheimer's drugs targeting for calcium/calmodulin-dependent protein kinase II. J. Pharmacol. Sci. 117, 6-11 (2011) 査読あり

3. Shigeki Moriguchi, Yui Yamamoto, Tatsuya Ikuno and Kohji Fukunaga: Sigma-1 receptor stimulation by dehydroepiandrosterone ameliorates cognitive impairment through activation of CaM kinase II, protein kinase C and extracellular signal-regulated kinase in olfactory bulbectomized mice. J. Neurochem. 117, 879-891 (2011) 査読あり

4. Yutaka Oomura, Shuji Aou, Kohji Fukunaga, Shigeki Moriguchi and Kazuo Sasaki: Prandial increases of leptin and orexin in the brain modulate spatial learning and memory. Neurosci. Behav. Physiol. 41, 233-242 (2011) 査読あり

5. Tatsuya Nogami, Hideyuki Beppu, Takashi Tokoro, Shigeki Moriguchi, Norifumi Shioda, Kohji Fukunaga, Toshihisa Ohtsuka, Yoko Ishii, Masakiyo Sasahara, Yutaka Shimada, Hisao Nishijo, En Li and Isao Kitajima: Reduced expression of the ATRX gene, a chromatin-remodeling factor, causes hippocampal dysfunction in mice. Hippocampus 21, 678-687 (2011) 査読あり

6. Shigeki Moriguchi, Yutaka Oomura, Norifumi Shioda, Feng Han, Nobuaki Hori, Shuji Aou and Kohji Fukunaga: Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase

II and protein kinase C activities mediate extracellular glucose-regulated hippocampal synaptic efficacy. Mol. Cell. Neurosci. 46, 101-107 (2011) 査読あり

[学会発表] (計 10 件)

1. Stimulation of sigma-1 receptor improves cognitive functions through CaMKII activation  
Kohji Fukunaga, Shigeki Moriguchi, Yui Yamamoto, Norifumi Shioda (40th. Society for Neuroscience ;Annual Meeting 11/12-16/2011 Washington DC, USA)

2. Characterization of novel Alzheimer's therapeutic, ST101 in brain functions  
Yui Yamamoto, Norifumi Shioda, Shigeki Moriguchi, Kohji Fukunaga (40th. Society for Neuroscience ;Annual Meeting 11/12-16/2011 Washington DC, USA)

3. 新生仔期腹側海馬 (NVH) 損傷ラットにおける認知機能障害と CaMKII 活性低下の関連性  
矢吹 悌、森口茂樹、塩田倫史、中川西修、小野木弘志、丹野孝一、只野 武、福永浩司  
(第 50 回日本薬学会東北支部大会 10/30/2011 仙台)

4. 新規認知機能改善薬 sunifiram の作用機序に関する研究  
田中智哉、森口茂樹、福永浩司 (第 50 回日本薬学会東北支部大会 10/30/2011 仙台)

5. MPTP 処置パーキンソン病モデルマウスにおける認知機能障害と CaM キナーゼ II 活性低下の関連性  
森口茂樹、矢吹悌、福永浩司 (第 41 回日本

神経精神薬理学会 10/27-29/2011 東京)

6. 嗅球摘出マウスにおけるシグマ1受容体  
活性化による認知機能障害の改善

森口茂樹、山本由似、福永浩司 (第54回日  
本神経化学学会大会 9/26-28/2011 金沢)

7. DHEAによるsigma1受容体刺激はCaMKII、  
PKCおよびERKの活性化を介して嗅球摘出マ  
ウスにおける認知機能障害を改善する

森口茂樹、山本由似、福永浩司 (第34回日  
本神経科学大会 9/14-17/2011 横浜)

8. Sigma1受容体を介した認知機能調節

森口茂樹、山本由似、福永浩司 (第13回応  
用薬理シンポジウム 9/3-4/2011 船橋)

9. 神経変性疾患モデルマウスを用いたカ  
ルシウム恒常性の制御と認知機能調節

森口茂樹 (平成23年度日本薬学会東北支部  
学術講演会 7/16/2011 仙台)

10. 新生仔期腹側海馬 (NVH) 損傷ラットに  
おけるCaMKII活性低下と認知機能障害

矢吹 悌、森口茂樹、塩田倫史、中川西修、  
小野木弘志、丹野孝一、只野 武、福永浩司  
(第13回ブレインサイエンス研究会  
5/28-29/2011 熊本)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森口茂樹 (MORIGUCHI SHIGEKI)  
東北大学・大学院薬学研究科・講師  
研究者番号: 70374949

(2) 研究分担者

( )

研究者番号:

(3) 連携研究者

( )

研究者番号: