

代表者	所属	薬学部・教授	氏名	高橋 達雄
-----	----	--------	----	-------

研究課題名	フレイルの予防と改善を目指したフラバノン誘導体を基盤とする創薬研究
-------	-----------------------------------

交付額(2020)	2,500,000 円
-----------	-------------

研究実績の概要	1年目
---------	-----

本研究は、身体的フレイルと密接に関係する「ロコモティブシンドローム（骨粗鬆症、変形性関節症等）」及び「感染症」、精神・心理的フレイルと関係する「認知機能障害」に焦点を当て、それぞれの病態に対するフラバノン誘導体の予防・改善効果を検証して健康長寿社会の実現を目指すものである。

1. フラバノン誘導体の合成

フレイルを構成する病態の予防・改善効果の検証に資するため、下図に示すフラバノン誘導体を合成した。さらに、薬理活性を増強する目的でA環部とB環部にフッ素基を導入したフラバノン誘導体（フッ素基導入）を合成した。また、開環体であるカルコン誘導体と水溶性の向上を目指したリン酸誘導体も合成した。

2. 骨粗鬆症の予防・改善効果

骨粗鬆症モデル動物を用いた研究によりbutinが骨粗鬆症に対して予防・改善効果を有することは、すでに明らかにしている。骨芽前駆細胞である骨髄間質細胞を用いた検証により、butinは骨髄間質細胞に直接作用し、細胞内のβ-cateninタンパク質の増加を介して骨芽細胞への分化を促進させることを明らかにした。butinによる骨芽細胞分化促進作用を他のフラバノン誘導体と比較した結果、R0-038F及びR0-039Fがbutinとほぼ同程度の活性を有していたことから、作用発現にはB環部の3'位と4'位の水酸基が重要であることが明らかとなった。

3. 変形性関節症の予防・改善効果

リクイリチゲニン（ATDC5細胞）に作用して軟骨基質の構成成分であるグリコサミノグリカンとアグリカンの産生を増加させた。リクイリチゲニンはATDC5細胞から軟骨細胞への分化には影響を与えず、細胞増殖を促進することによって軟骨基質の産生を増加させた。また、リクイリチゲニンのこの作用はエストロゲン受容体を介していることも明らかにした。リクイリチゲニンとエストラジオールとの構造の類似性を検討した結果、リクイリチゲニンのA環7位水酸基とB環4'位水酸基間の距離は、エストラジオールの3位水酸基と17位水酸基間の距離とほぼ一致した。各々の構造を重ねたモデルから2つの水素結合領域と芳香環がエストロゲン活性の発現に重要であることが示唆され、これはリクイリチゲニンのエストロゲン活性の結果を裏付けるものである。

4. 感染症の予防・改善効果

フッ素基を導入したフラバノン誘導体とカルコン誘導体について、抗コロナウイルス作用を検討した。季節性コロナウイルスHCoV-229E株をヒト胎児肺線維芽細胞HELおよびヒト肝臓がん由来細胞株HuH-7に感染させ、ウイルス増殖に伴う細胞死の有無を指標として、抗ウイルス作用を判定した。Butinとbuteinには抗コロナウイルス作用は認められなかったが、フッ素基を導入したフラバノン誘導体6種類とカルコン誘導体5種類に抗ウイルス作用が認められた。その中でも特にカルコン誘導体のR0-020Cが強い抗コロナウイルス作用を示した。

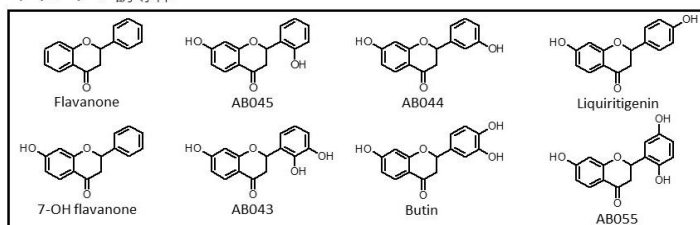
5. 認知機能障害の予防・改善効果

マウス神経芽細胞腫由来のNeuro2a細胞を用いて神経分化誘導作用を検証した結果、butinを含む5種類のフラバノン誘導体に有意な活性を認め、特にAB055が最も強い活性を示した。Butin/buteinによる神経分化誘導作用の発現にはNO-cGMP-PKG経路及びMAPキナーゼカスケードが関与していることを明らかにした。また、認知機能の低下をもたらすアルツハイマー病やパーキンソン病には小胞体ストレスが関与しているが、butin/buteinはツニカマイシン誘導性の小胞体ストレス傷害を抑制した。これらの結果からbutin/buteinは神経分化誘導作用だけでなく、細胞保護作用も有することを新たに見出した。

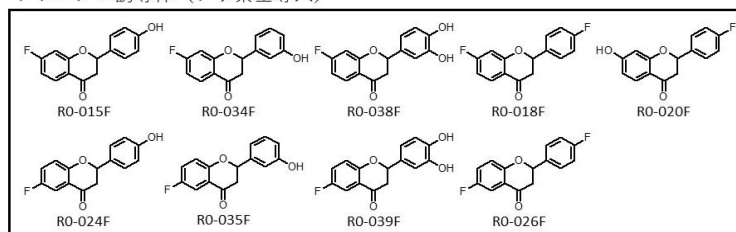
6. フラバノン誘導体の分析法の開発

Butinとbuteinの分光特性の評価と異性体分離について成果を得ることができ、分光特性に基づく定量法を確立することができた。

フラバノン誘導体



フラバノン誘導体（フッ素基導入）



進捗状況

概ね順調に進んでいる。
社会への貢献と研究成果の社会実装に向けてその土台となる特許の出願を行うことができた。
今後はさらなる社会への発信を目指し、基礎的なデータの収集を継続して進める。

今後の推進方策等

今後の方策

研究成果の社会実装に向けて官公庁及び企業と協働して製品の開発を計画している。

1. 青森県野辺地町

「カワラケツメイ」はフラバノン誘導体butinを含有しており、野辺地町の特産品でもある。野辺地町産のカワラケツメイの効能を調査分析してカワラケツメイ含む商品に付加価値をつけ、町内事業者の販売意欲及び稼ぐ力の向上を目指す。そのために野辺地町産カワラケツメイに含まれるbutinの定量分析だけでなく、市民講座を通じてbutinのフレイルに対する効果（骨粗鬆症、認知機能障害）やカワラケツメイの活用アドバイスも発信する。

2. 宏輝株式会社

宏輝株式会社は甘草抽出物（主にグリチルリチン）の製造を行っている。グリチルリチン抽出後の残渣にはリクイリチゲニン配糖体（リクイリチン）が多量に含まれているため、変形性関節症の予防・改善を目的としてリクイリチンを含有する甘草抽出物の製品化を目指す。リクイリチゲニンだけでなくリクイリチンの変形性関節症の予防・改善効果の検証を進めていく。

社会実装のためには科学的なエビデンスが備わった有効性の立証が不可欠である。今後も継続して作用機序の解明を目指し、細胞、疾患モデル動物、ウイルス、Docking解析、定量分析を用いて検証を行う。作用機序の解明は高活性化合物の創製に必要であるだけでなく、学術的側面からもその意義は高く、論文発表や学会発表を視野に入れて検証を進める。

計画の変更

本研究の申請時点では、新型コロナウイルス感染症COVID-19は中国の一都市での流行に過ぎなかったが、2020年に入ると瞬く間に全世界に拡がり、高齢者の活動制限や外出自粛を起因とする深刻な「コロナフレイル」を引き起こすようになった。そこで、当初の研究計画で解析対象としていたフレイルの誘因ウイルス（インフルエンザウイルス、サイトメガロウイルス、水痘帯状疱疹ウイルス）に加えて、コロナウイルスも解析対象とすることとした。

主な発表論文等 論文・学会・HP等の発表があれば、項目ごとに記入して下さい

特許

1. ヒドロキシ化された、カルコン類及びフラバノン類の製造方法（特願2020-043830）
2. ヒドロキシ化された、カルコン類及びフラバノン類の製造方法（国際出願PCT/JP2021/009943）
3. 軟骨細胞への分化促進剤、軟骨細胞の増殖促進剤および軟骨基質産生促進剤（特願2020-79740）

学会発表

1. 「リクイリチゲニンはエストロゲン受容体を介してATDC5細胞の軟骨基質産生を増加させる」石原詩、山本美夢、鈴木宏一、亀井敬、三浦雅一、松尾由理、野村政明、高橋達雄、日本薬学会第141年会
2. 「EphrinB2による破骨細胞の分化抑制作用とNetrin-1を介した骨芽細胞の分化促進作用」西村和也、松尾由理、野村政明、高橋達雄、日本薬学会第141年会

組織 ◎ 研究代表者

	役割	所属
◎ 高橋 達雄	運動器疾患に対する予防・改善効果の検討	北陸大学・薬学部
山崎 眞津美	神経分化誘導作用と神経保護作用の検討	北陸大学・薬学部
鈴木 宏一	化合物合成及びDocking解析等計算化学	北陸大学・薬学部
亀井 敬	分子設計と合成及び物理化学特性の検討	北陸大学・薬学部
武本 眞清	抗ウイルス作用の検討	北陸大学・薬学部