

2021年度 北陸大学特別研究助成金【 連携研究 】報告書 -2年目-

代表者	所属	薬学部	職位	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(2021)	3,000,000	円
-----------	-----------	---

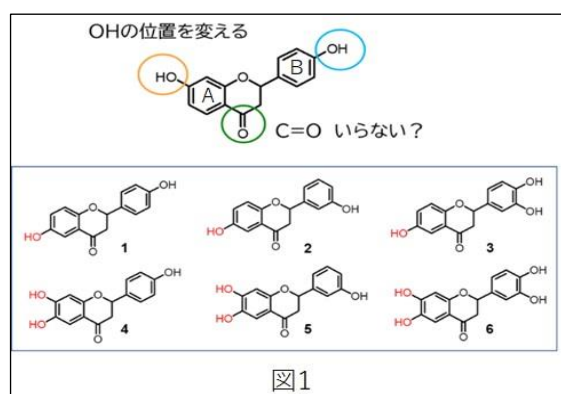
研究実績の概要

2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、サルコペニア等）」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. 変形性関節症の予防・改善効果

フラバノン誘導体の1つであるリクイリチゲニン¹は、エストロゲン受容体（ER）を介して軟骨前駆細胞（ATDC5細胞）の細胞増殖を促進し、軟骨基質の産生を増加させることを明らかにした。リクイリチゲニンとエストロゲン受容体とのDocking解析を行った結果、リクイリチゲニンのA環とB環の水酸基は、Gly521、His524、Arg394、Glu353と水素結合、Arg394、Glu353付近のH₂Oと水素結合ネットワークおよびPhe404とπ-π相互作用を形成することが確認された。すなわち、フラバノンのA環およびB環の水酸基がER（Gly521、His524、Arg394、Glu353）との相互作用に重要で、4位カルボニル基は相互作用にあまり関与していないことがわかった。以上の結果をもとに、フラバノンのA環6位に水酸基を導入したほうが、ERとの相互作用に有利であると予測し、図1に示すフラバノン誘導体を合成した。



2. サルコペニアの予防・改善効果

サルコペニアに治療効果を有する化合物の探索を目的とし、複数のフラバノン誘導体のマウス筋芽細胞から骨格筋への分化に対する作用を検証した。その結果、AB044がミオシン重鎖陽性かつ多核の筋管の太さを有意に増加させた。さらに、尾懸垂マウスではヒラメ筋重量の有意な減少を認めたが、AB044を経口投与することによって、尾懸垂マウスにおけるヒラメ筋重量の減少は有意に抑制された。AB044を作用させたマウス筋芽細胞およびAB044を投与した尾懸垂マウスのヒラメ筋では、カテニンのタンパク発現が増加したことから、AB044の骨格筋分化促進作用にはカテニンの増加が関与している可能性が示唆された。

3. 感染症の予防・改善効果

健康状態からフレイルへの移行に、炎症が強く関与していることが明らかとなってきている。サイトメガロウイルス（HCMV）は多くのヒトの体内に潜伏感染しているが、再活性化により様々な臓器で炎症を引き起こすことから、フレイルの誘因性が強く疑われている。ただし、HCMVはゲノム多様性に富むため、ウイルス株次第で炎症誘導の強弱が変わる。そこで我々は、複数のHCMV株を様々な細胞種に感染させ、炎症性サイトカイン・ケモカインを強く発現誘導するウイルス株（91-7S）を特定した。次に、91-7S株の増殖を抑制する化合物を、フラバノン誘導体16種類とカルコン誘導体11種類の中から探索した。91-7S株をヒト胎児肺線維芽細胞HELに感染させ、プラーク減少法を行った結果、AB-043が最も強い抗ウイルス作用を示した。他にAB-045、RO-036、RO-038もスクリーニングの下限濃度（12.5 μM）で抗ウイルス作用を示したが、細胞毒性を示す濃度との差が小さく、実用には向かないことが予想された。

4. 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、6種類のフラバノン誘導体および5種類のスチルベン誘導体の突起誘導活性を測定した結果、いずれも濃度依存的（フラバノン誘導体は0～0.1 μM、スチルベン誘導体は0～0.2 μM）に有意な活性を認めた。0.1 μMで比較したフラバノン誘導体ではAB-055-6が、0.2 μMで比較したスチルベン誘導体ではMM-027が最も強い活性を示した。また、阻害剤実験から両化合物の突起誘導作用にはNO合成酵素の活性化が関与していることが示唆された。非常に低濃度でより強い活性が得られたことから、これらの化合物は認知機能障害の予防・改善を目指した創薬への期待を高めるものである。

5. フラバノン誘導体の分析法の確立

フラバノンのButinとカルコンのButeinについて、合成から物理化学的性質、特に分光特性の評価と異性体分離（互変異性体及び、光学異性体）について成果を得ることができた。この結果を基にカワラケツメイエキスにおけるbutin含有量のHPLC定量法を確立することができた。

進捗状況

概ね順調に進んでいる。

講演、市民講座、学会発表を行うことができ、研究成果の社会貢献と社会発信という観点からも成果を上げることができた。また、研究成果の社会実装に向けてその土台となる特許出願も行うことができた。

今後の推進方策等

研究成果の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並びに安全性の担保が不可欠である。今後も継続して作用機序の解明を目指して研究を進め、論文発表や学会発表を通じて研究成果を社会へ発信する。さらに、研究成果の社会実装に向けて官公庁および企業と協働して製品の開発を目指す。

1. 青森県野辺地町

野辺地町の特産品でもある「カワラケツメイ」はフラバノン誘導体butinを含有しており、野辺地町からの委託を受け、butinの骨粗鬆症に対する有効性と分析を行った。2021年12月に野辺地町で市民講座を開催し、研究成果および活用アドバイスを発信した。カワラケツメイおよびカワラケツメイを含む商品に付加価値をつけて町内事業者の販売意欲および稼働力の向上を図り、製品の開発に向けた取り組みをスタートさせた。

2. 宏輝株式会社・中沢薬局

基礎研究からリクイリチン（リクイリチゲニンの配糖体）が変形性関節症の予防・改善効果を有することが示唆されており、リクイリチンを含有する甘草抽出物の製品化を目指す。宏輝株式会社は甘草関連化合物の製造と輸入を行っている企業であり、宏輝株式会社の協力のもと甘草に含まれるリクイリチンを入手する。リクイリチンを製品化するにあたり、中沢薬局の協力を受けて原体となるリクイリチンから商品を作り、社会実装（社会への流通）を計画している。

主な発表論文等

特許

1. 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2021-152615）
2. Method for producing hydroxylated chalcones and flavanones (WO2021182594)

講演

1. 高橋達雄「健康寿命の鍵を握るフレイルは予防できるのか？」市民公開講座、2021年9月
2. 高橋達雄「フレイル予防を実現する骨粗しょう症と変形性関節症の予防・治療サプリメント事業について」令和3年度石川県次世代ヘルスケア産業協議会総会、2021年10月
3. 高橋達雄「カワラケツメイは骨粗鬆症を予防できるかも？～効能や摂取の仕方教えます～」市民講座、2021年12月

学会

1. 「マウス筋芽細胞の筋管形成と尾懸垂マウスの不活動性筋萎縮に及ぼすフラバノン誘導体の作用」西田有里佳、鈴木宏一、金澤佑治、三浦雅一、松尾由理、野村政明、高橋達雄（日本薬学会第142年会）
2. 「ヒトサイトメガロウイルス感染による大腸癌細胞株LoVoのケモカイン発現誘導」武本眞清、増田雪花、谷山宗徳、定成秀貴、村山次哉、大黒 徹（第68回日本ウイルス学会）

組織

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