

# 学位論文内容の要約

愛知学院大学

甲 第 5号	論文提出者 王 蔚 (薬用資源学研究室)
論文題目  マメ科植物（サンズコン）から単離した RXR アゴニストの生物活性に関する研究： アルツハイマー病治療薬への応用の可能性	

アルツハイマー病(AD)は、認知症の要因の一つとして広く知られている疾患であり、高齢化に伴う罹患者の増加は大きな社会問題となっている。ADは加齢とともに進行し、記銘力障害や記憶障害などを主とする中核症状と、幻覚、妄想、抑うつ、攻撃行動、徘徊などの周辺症状あるいは Behavioral and Psychological Symptoms of Dementia (BPSD) と呼ばれる行動・心理症状を発現する。ADの発症機序としては「アミロイドカスケード仮説」がよく知られており、アミロイドベータ(A $\beta$ )タンパク質の脳内異常蓄積が引き金となり、炎症反応の活性化及び神経伝達障害などが連鎖的に惹起され、最終的に神経細胞内のタウタンパク質の異常なリン酸化による神経細胞死が起これると考えられてきた。また、最近、以前から提唱されていた「脳炎症仮説」並びに「感染症仮説」に新たなエビデンスが加わり、細菌由来物質がミクログリアの活性化を介して慢性的脳炎症を誘引し、認知機能障害を引き起こすことが報告された。しかし、これらの仮説に基づいて開発されたAD治療薬候補は、いずれもその有効性が証明されておらず、これらの仮説の妥当性は疑問視されている。一方、AD患者では、症状が顕在化する数十年前の段階において、低強度慢性炎症によると思われる病理学的変化が観察されており、AD発症前の無症候期からの薬物治療が重要と考えられるようになってきた。

現在、臨床で使用されているAD治療薬として、コリンエステラーゼ阻害薬のドネペジル、ガランタミン、リバスチグミン、及び、NMDA阻害薬メマンチンがある。しかし、これら治療薬は病態そのものの発症や進行を止めるものではなく、効果は対症療法的である。また、これらの薬剤によってもたらされる治療上の価値はきわめて限定的であり臨床的有用性が乏しい。社会の高齢化に伴うAD患者の増加は、医

療・介護費などの社会保障費を急増させ、大きな社会問題となっており、AD 治療薬の開発は喫緊の課題である。

そこで、最近の研究で核内受容体アゴニストが AD の改善に有効である可能性が示唆されていることより、本研究では AD の発症過程の初期(プレクリニカル AD)に起こる病態変化の原因と考えられる、炎症、神経細胞死、活性酸素種 (ROS) 産生に着目して、天然由来 retinoid X receptor (RXR)アゴニストの生物活性を詳細に検討した。

## 【結果・考察】

### 第 1 章 LPS が誘導する炎症メディエーター産生に及ぼすサンズコン由来 RXR アゴニストの抑制作用と機序解析<sup>1)</sup>

当研究室では、これまでに中国の本草書に記載されており、解毒、抗炎症、抗腫瘍を目的として使用されるサンズコン(マメ科植物 *Sophora tonkinensis* の根)から RXR アゴニストとして 2 種類のプレニルフラバノン(SPF1 及び SPF2)を同定している。SPF1 及び SPF2 の RXR に対する EC<sub>50</sub> 値はそれぞれ 0.77 μM と 0.78 μM であり、これまでに報告されている天然由来 RXR アゴニストの中で最も強い活性を持つ化合物であった(Fig. 1)。

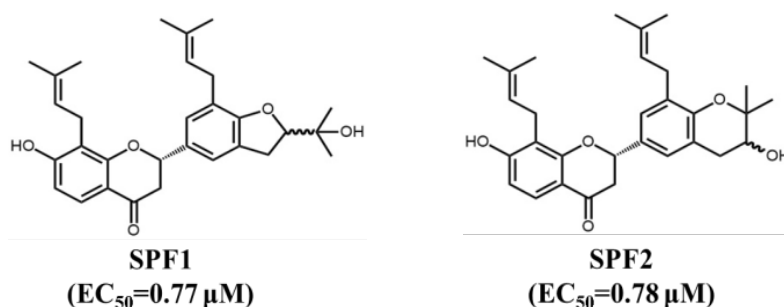


Fig. 1. サンズコンから単離された RXR アゴニスト

そこで、天然由来 RXR アゴニスト SPF1 と合成 RXR アゴニスト bexarotene (BEX) の遺伝子転写活性化能の相違を検討し、SPF1 は BEX とかなり異なる遺伝子発現プロファイルを示すことを明らかにした。この結果は、RXR アゴニストは構造の違いにより、核内受容体が形成する転写複合体の構成因子が異なり、その結果、特異的な遺伝子群を転写活性化すると考えられた。また、SPF1 及び BEX により特異的に誘導される炎症関連遺伝子が存在し、同じ RXR アゴニストでも炎症制御において異なる作用を及ぼす可能性が示唆された。

そこで SPF の抗炎症作用を検討したところ、SPF1 及び SPF2 はマクロファージ系細胞において lipopolysaccharide (LPS) または tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  刺激により産生された炎症性サイトカインと炎症性メディエーターを減少させた。それらの作用は、RXR アゴニスト活性を持たないソホラノンでは観察されなかったこと、liver X receptor (LXR) アゴニストの共存下で増強されことより、SPF1 と SPF2 の作用は RXR 活性に依存しており、さらに、RXR/LXR ヘテロダイマー受容体の活性化を介している可能性が示唆された。次に SPF1 が示す抗炎症作用の機序を検討したところ、SPF1 は抗炎症作用を有する activating transcription factor (ATF) 3 を誘導し、LPS 刺激による炎症性転写因子 nuclear factor-kappa B (NF- $\kappa$ B) の核内移行を抑制した。SPF1 による ATF3 の誘導は LXR アゴニストの存在下で増強され、本作用も RXR/LXR ヘテロダイマー受容体の活性化を介している可能性が示唆された。ATF3 は NF- $\kappa$ B の核内移行や転写活性を阻害することにより抗炎症作用を示すことが明らかにされており、また、そのプロモーター領域には RXR の結合部位が 2 箇所存在することが報告されている。これらの結果より、SPF が抗炎症作用を示す機序として、SPF は単独

あるいは RXR/LXR 依存的に ATF3 を誘導することにより、NF- $\kappa$ B の核内移行を抑制し、炎症性サイトカイン等の産生を減少させることが考えられた (Fig. 2, 4)。

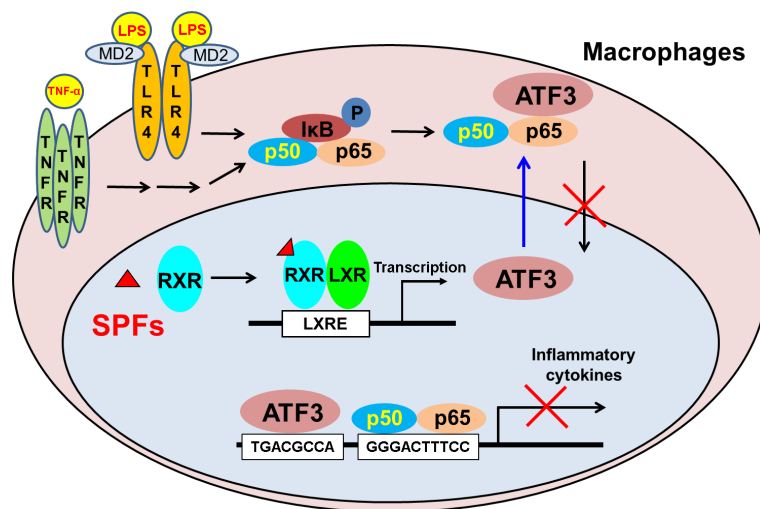


Fig. 2. SPF の抗炎症作用

## 第 2 章 アミロイド $\beta$ 刺激が誘導する細胞死に及ぼすサンズコン由来 RXR アゴニストの抑制作用と機序解析<sup>2)</sup>

A $\beta$  オリゴマーが誘導する神経細胞死を考慮し、A $\beta$  の細胞毒性に対する SPF1 と SPF2 の作用を検討した。SPF1 及び SPF2 は A $\beta$  が惹起した PC12 細胞のアポトーシスを RXR 依存的に抑制し、神経細胞保護作用を有することが明らかになった。その作用は LXR アゴニストにより増強された。また、SPF1 と SPF2 は ABCA1 を誘導し、その ABCA1 の機能を阻害することにより SPF の細胞保護作用は抑制された。ABCA1 は脂質ラフトの脂質組成を変化させることで Toll-like receptor 4 などの細胞膜上の受容体機能に影響を与えることが知られている。すなわち、SPF は RXR/LXR ヘテロダイマーを介し ABCA1 の転写を活性化し、

誘導された ABCA1 が A $\beta$  のアポトーシスシグナルに關与する受容体の機能を修飾することで細胞保護作用を示す可能性が推察された (Fig. 3, 4)。

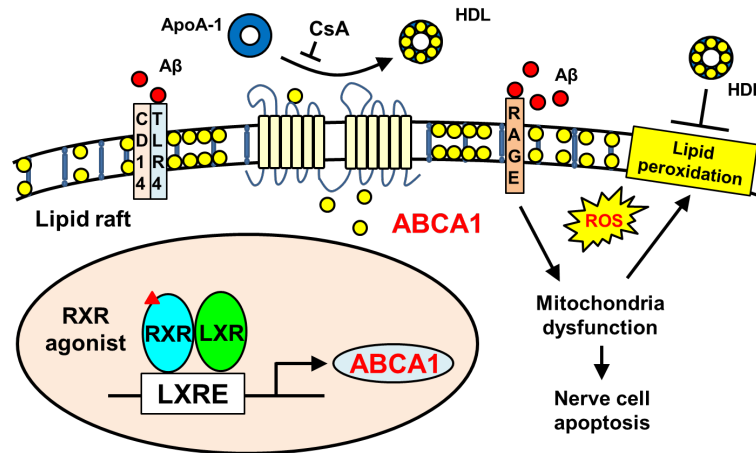


Fig. 3. SPF の抗アポトーシス作用

### 第 3 章 SPF のメタロチオネイン (MT) 誘導作用

AD の脳内炎症の原因の一つと考えられる ROS に焦点を当て、SPF の MT 誘導活性について調べた。SPF は抗酸化作用、抗炎症作用及び金属キレート作用を有する MT の発現を増加させ、その MT 誘導作用は RXR/LXR または RXR/RAR ヘテロダイマー受容体の活性化を介する可能性が示唆された。また、SPF は低濃度の  $Zn^{2+}$  による MT の誘導作用を増強させたことより、 $Zn^{2+}$  による MTF-1 を介した MT 転写活性化機構に影響を及ぼしている可能性が考えられた。これらの結果より、誘導された MT は、加齢などにより脳内で増加した ROS を除去すること、脳内  $Zn^{2+}$  量を減少させ  $Zn^{2+}$  による A $\beta$  の凝集を阻害すること、ROS や A $\beta$  オリゴマーによる炎症を抑制することが考えられた。すなわち、これらの誘導された MT が示す生理作用は、AD 病態の発症や進行の抑

制に有効である可能性が考えられた。

以上、本研究ではサンズコン由来の RXR アゴニスト SPF1 及び SPF2 が、AD の発症過程の初期に起こる病態変化の原因とされる炎症や神経細胞死を、RXR 受容体あるいは RXR ヘテロダイマー受容体を介して軽減することを *in vitro* の実験系で見出した(Fig. 4)。それらの活性はこれまでの RXR アゴニストに関する報告にはない作用機序を介するものであり、BEX とは異なる遺伝子発現プロファイルを示す RXR アゴニスト SPF の有用性を示唆するものであった。本研究で得られた結果は今後の AD 治療薬の開発においていくつかの新知見を提供するものと考えられた。

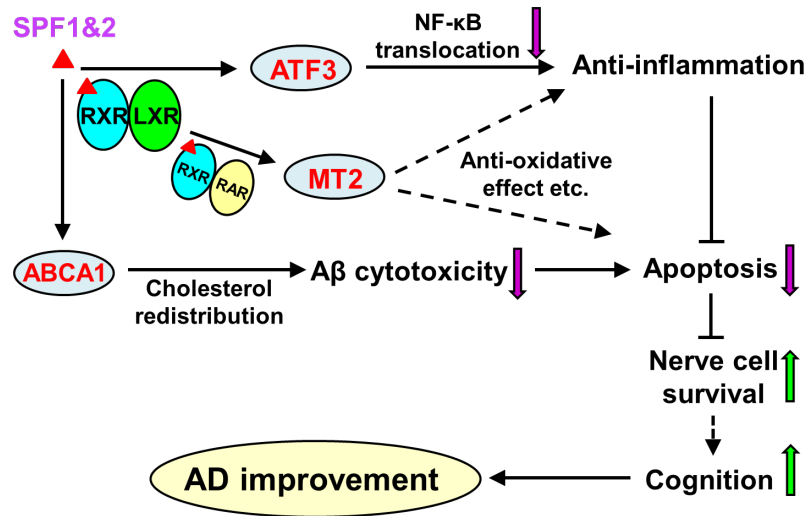


Fig.4. SPF1 及び SPF2 が示した生物活性

【参考文献】

- 1) Wei Wang, Ken-ichi Nakashima, Takao Hirai, Makoto Inoue. Neuroprotective effect of naturally occurring RXR agonists isolated from *Sophora tonkinensis* Gagnep. on amyloid- $\beta$ -induced cytotoxicity in PC12 cells. *J. Nat. Med.*, 73, 154–162 (2019). doi: 10.1007/s11418-018-1257-z
  
- 2) Wei Wang, Ken-ichi Nakashima, Takao Hirai, Makoto Inoue. Anti-inflammatory effect of naturally occurring retinoid X receptor agonists isolated from *Sophora tonkinensis* Gagnep via RXR/LXR heterodimers. *J. Nat. Med.*, in press. doi: 10.1007/s11418-018-01277-1.