

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2020-172459

(P2020-172459A)

(43) 公開日 令和2年10月22日(2020.10.22)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/198 (2006.01)	A 6 1 K 31/198	4 C 2 0 6
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	

審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 8 頁)

(21) 出願番号	特願2019-74178 (P2019-74178)	(71) 出願人	304027279 国立大学法人 新潟大学 新潟県新潟市西区五十嵐2の町8050番地
(22) 出願日	平成31年4月9日(2019.4.9)	(74) 代理人	100106909 弁理士 棚井 澄雄
		(74) 代理人	100149548 弁理士 松沼 泰史
		(74) 代理人	100141139 弁理士 及川 周
		(72) 発明者	五十嵐 博中 新潟県新潟市中央区旭町通1番町757番地 国立大学法人新潟大学 脳研究所内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アミロイドβタンパク質の凝集抑制剤及びアルツハイマー病の予防又は治療用医薬組成物

(57) 【要約】

【課題】安価で安全なアミロイド タンパク質の凝集抑制剤及び該凝集抑制剤を含むアルツハイマー病の予防又は治療用医薬組成物の提供。

【解決手段】アミロイド タンパク質の凝集抑制剤は、グリシン又はその薬学的に許容できる塩を含有する。アルツハイマー病の予防又は治療用医薬組成物は、前記アミロイドタンパク質の凝集抑制剤、及び薬学的に許容できる担体を含む。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

グリシン又はその薬学的に許容できる塩を含有する、アミロイド タンパク質の凝集抑制剤。

【請求項 2】

前記アミロイド タンパク質がアミロイド 1 - 40 タンパク質及びアミロイド 1 - 42 タンパク質からなる群より選択される少なくとも 1 種である、請求項 1 に記載のアミロイド タンパク質の凝集抑制剤。

【請求項 3】

請求項 1 又は 2 に記載のアミロイド タンパク質の凝集抑制剤、及び薬学的に許容できる担体を含む、アルツハイマー病の予防又は治療用医薬組成物。

10

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、アミロイド タンパク質の凝集抑制剤及びアルツハイマー病の予防又は治療用医薬組成物に関する。

【背景技術】**【0002】**

アルツハイマー病の根本的な原因の一つは、アミロイド (A β) により産出される老人斑の増加である。従来、この老人斑の増加に対して、A β ワクチン療法やA β 産生阻害剤が臨床で試みられている。しかしながら、いずれも血液脳関門の通過性が悪く、老人斑の増加に対する一定の効果が得られていない。また、これら薬剤は開発費用が大きく、薬価が非常に高価となる。そのため、これら薬剤は、本邦において2025年には300万人前後に達する(厚生労働省推計)と考えられるアルツハイマー病症例の予防又は治療には適さない。

20

【0003】

一方、グリシンは、タンパク質を構成するアミノ酸の一つであり、アミノ酸中で最も単純な構造を有し、安価に大量生産が可能である。グリシンは神経系において主に脳幹と脊髄の抑制性シナプス伝達を担うアミノ酸として機能することが知られている。また、最近では、インビトロ及びインビボの虚血モデル試験系において、高濃度のグリシンの投与により、グリシン受容体の活性化、シナプス外NMDA受容体の活性化、抗酸化作用を有するグルタミン酸濃度の増加が誘導されることで、神経保護効果を発揮することから、グリシン受容体が脳卒中の治療の標的となり得ることが報告されている(例えば、非特許文献1参照)。

30

【先行技術文献】**【非特許文献】****【0004】**

【非特許文献1】 Yao W, et al., "Glycine exerts dual roles in ischemic injury through distinct mechanisms.", Stroke, Vol. 43, No. 8, p2212-2220, 2012.

【発明の概要】

40

【発明が解決しようとする課題】**【0005】**

アルツハイマー病の予防又は治療に用いることができる安価で安全な化合物が求められている。

【0006】

本発明は、上記事情に鑑みてなされたものであって、安価で安全なアミロイド タンパク質の凝集抑制剤及び該凝集抑制剤を含むアルツハイマー病の予防又は治療用医薬組成物を提供する。

【課題を解決するための手段】**【0007】**

50

本発明者らは、上記目的を達成すべく鋭意研究を重ねた結果、アルツハイマー病モデル遺伝子改変マウスにグリシンを投与することで、アミロイドタンパク質により産生される老人斑の出現を有意に抑制できることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0008】

すなわち、本発明は、以下の態様を含む。

本発明の第1態様に係るアミロイドタンパク質の凝集抑制剤は、グリシン又はその薬学的に許容できる塩を含有する。

前記アミロイドタンパク質がアミロイド1-40タンパク質及びアミロイド1-42タンパク質からなる群より選択される少なくとも1種であってもよい。

【0009】

本発明の第2態様に係るアルツハイマー病の予防又は治療用医薬組成物は、上記第1態様に係るアミロイドタンパク質の凝集抑制剤、及び薬学的に許容できる担体を含む。

【発明の効果】

【0010】

上記態様のアミロイドタンパク質の凝集抑制剤によれば、安価で安全なアミロイドタンパク質の凝集抑制剤を提供することができる。上記態様のアルツハイマー病の予防又は治療用医薬組成物によれば、安価で安全、且つ効果的にアルツハイマー病を予防又は治療することができる。

【図面の簡単な説明】

【0011】

【図1】実施例1における5×FADアルツハイマー病モデル遺伝子改変マウスの無投薬群、並びにグリシン投与群（1日当たり240mg/kg及び1200mg/kg）の脳切片の抗アミロイド1-40（A₄₀）抗体及び抗アミロイド1-42（A₄₂）抗体による免疫染色像である。

【図2】図1の各免疫染色像での老人斑数を定量したグラフである。

【発明を実施するための形態】

【0012】

アミロイドタンパク質

一般に、「アミロイドベータタンパク質（A_β）」とは、40～42アミノ酸からなるペプチドであり、ベータ（ β ）及びガンマ（ γ ）-セクレターゼの働きにより、前駆体タンパク質（amyloid beta protein precursor：APP）から切り出されて生成されるペプチドである。 β -セクレターゼはA_βのN末端近く（メチオニンとアスパラギン酸の間）で切断を行なう。 γ -セクレターゼはAPPを膜貫通部位内においてN末端から40番目又は42番目のアミノ酸で切断し、アミロイドベータ1-40タンパク質（A₁₋₄₀）又はアミロイドベータ1-42タンパク質（A₁₋₄₂）を産生する。

【0013】

アルツハイマー病

一般に、「アルツハイマー病」とは、不可逆的な進行性の脳疾患で、記憶や思考能力がゆっくりと障害され、最終的には日常生活の最も単純な作業を行う能力さえも失われる病気である。アルツハイマー病の主要な病理変化には老人斑と神経原線維変化があり、このうち老人斑は発症の早期から認められる。この老人斑の主要構成成分がA_βであり、A_βが凝集して不溶性の線維形成がなされてアミロイドとなり老人斑が産生される。

【0014】

アミロイドタンパク質の凝集抑制剤

本実施形態のA_βの凝集抑制剤は、グリシン又はその薬学的に許容できる塩を含有する。

なお、本明細書において、「薬学的に許容できる」とは、被検動物に適切に投与された場合に、概して、不作用を起こさない程度であることを意味する。

【0015】

発明者らは、7T（テスラ）超高磁場実験動物用磁気共鳴断層撮影（MRI）装置を用いて

10

20

30

40

50

、マウス成体に各種薬剤を投与し、脳における薬剤濃度の増加を可視化する方法を開発し、当該方法により血液脳関門を通過し得る薬剤候補を選択した。老人斑の減少効果を判定するためには、生体を用いる方法のみが唯一確実な研究方法であることから、アルツハイマー病モデル遺伝子改変マウスにそれら薬剤候補を投与し、スクリーニングを行なった結果、グリシンの投与による老人斑の抑制効果を見出し、本発明を完成するに至った。

【0016】

本実施形態のAの凝集抑制剤は、後述する実施例に示すように、A₁₋₄₀及びA₁₋₄₂を含むAの凝集による老人斑の産生を抑制することができる。

【0017】

また、グリシンは最も基本的なアミノ酸であり、安価に製造することができる。さらに、すでに栄養補助食品や健康食品として広くヒトに摂取されていることから、可及的速やかにヒトに応用することができる。

10

【0018】

グリシンの薬学的に許容できる塩としては、例えば、ナトリウム塩、カリウム塩、リチウム塩、塩酸塩、臭素酸塩、硫酸塩、硫酸水素塩、リン酸二水素塩、メタンスルホン酸塩、メチル硫酸塩、酢酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、2-ナフタレンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、グリコール酸塩、グルコン酸塩、クエン酸塩、イセチオン酸塩、パラ-トルエンスルホン酸塩等が挙げられる。

【0019】

グリシンは、ストレッカー法、ヒダントイン法等の合成法や、微生物を用いた発酵法等の公知の方法で製造することができる。具体的には、ストレッカー法では、ホルムアルデヒドとシアン化水素とアンモニアとからアミノアセトニトリル（グリシノニトリル）を合成し、これを水酸化ナトリウム等で加水分解してグリシンの金属塩を製造した後、硫酸等の酸で中和することで、グリシンを製造する。ヒダントイン法では、ホルムアルデヒドとシアン化水素とからグリコロニトリルを合成し、これとアンモニアと二酸化炭素とを水の存在下にて反応させることによりヒダントインを製造した後、加水分解によりグリシンを製造する。

20

【0020】

本実施形態のAの凝集抑制剤は、飲食品に通常使用される添加剤と組み合わせて、アルツハイマー病の予防又は治療を目的とした、飲食品、医薬品等の形態で使用することができる。飲食品としては、例えば、特別用途食品、栄養機能食品、栄養補助食品（サプリメント）、健康食品、医薬品添加物、特定保健用食品、機能性表示食品等が挙げられる。

30

【0021】

アルツハイマー病の予防又は治療用医薬組成物

本実施形態のアルツハイマー病の予防又は治療用医薬組成物（以下、単に「医薬組成物」と略記する場合がある）は、上記Aの凝集抑制剤、及び薬学的に許容できる担体を含む。

【0022】

本実施形態の医薬組成物は、経口的に使用される剤型であってもよく、非経口的に使用される剤型であってもよい。経口的に使用される剤型としては、例えば粉末剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤等が挙げられる。非経口的に使用される剤型としては、例えば注射剤、吸入剤、坐剤、貼付剤等が挙げられる。

40

【0023】

薬学的に許容される担体としては、例えば、滅菌水、生理食塩水等の溶媒；ゼラチン、コーンスターチ、トラガントガム、アラビアゴム等の結合剤、結晶性セルロース等の賦形剤；アルギン酸等の膨化剤等が挙げられる。

【0024】

医薬組成物は添加剤を更に含んでもよい。添加剤としては、ステアリン酸マグネシウム等の潤滑剤；ショ糖、乳糖、サッカリン等の甘味剤；ペパーミント、アカモノ油等の香味剤；ベンジルアルコール、フェノールの安定剤；リン酸塩、酢酸ナトリウム等の緩衝

50

剤；安息香酸ベンジル、ベンジルアルコール等の溶解補助剤；酸化防止剤；防腐剤等が挙げられる。

【0025】

医薬組成物は、上記の担体及び添加剤を適宜組み合わせ、一般に認められた製薬実施に要求される単位用量形態で混和することによって製剤化することができる。

【0026】

患者への投与は、例えば、髄腔内注射、動脈内注射、静脈内注射、皮下注射、鼻腔内の、経気管支的、筋内的、経皮的、又は経口的に当業者に公知の方法により行うことができる。投与量は、患者の体重や年齢、患者の症状、投与方法等により変動するが、当業者であれば適当な投与量を適宜選択することが可能である。

10

【0027】

医薬組成物の投与量は、グリシン又はその薬学的に許容できる塩の量として、経口投与の場合、一般的に成人（体重60kgとして）においては、1日あたり約5g以上80g以下、好ましくは約10g以上60g以下、より好ましくは約30g以上40g以下程度を、1日1回、又は数回に分けて投与することが適切であると考えられる。

【0028】

非経口的に全身投与を行う場合は、一般的に成人（体重60kgとして）においては、1日あたり約5g以上80g以下、好ましくは約10g以上60g以下、より好ましくは約30g以上40g以下程度を、1日1回、又は数回に分けて投与することが適切であると考えられる。局所投与を行う場合は、一般的に成人（体重60kgとして）においては、1日あたり約1g以上40g以下、好ましくは約3g以上20g以下、より好ましくは約5g以上10g以下程度を、1日1回、又は数回に分けて投与することが適切であると考えられる。

20

【0029】

その他の実施形態

一実施形態において、本発明は、Aの凝集抑制剤の有効量を、治療を必要とする患者に投与することを含む、アルツハイマー病の予防又は治療方法を提供する。ここで、Aの凝集抑制剤としては、上述したものと同様のものが挙げられる。また、アルツハイマー病としては、上述したものと同様のものが挙げられる。

【0030】

一実施形態において、本発明は、アルツハイマー病の予防又は治療のための、Aの凝集抑制剤を提供する。ここで、Aの凝集抑制剤としては、上述したものと同様のものが挙げられる。また、アルツハイマー病としては、上述したものと同様のものが挙げられる。

30

【0031】

一実施形態において、本発明は、アルツハイマー病の予防又は治療剤を製造するためのAの凝集抑制剤の使用を提供する。ここで、Aの凝集抑制剤としては、上述したものと同様のものが挙げられる。また、アルツハイマー病としては、上述したものと同様のものが挙げられる。

【実施例】

【0032】

以下、実施例により本発明を説明するが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

40

【0033】

[実施例1]

(アルツハイマー病モデル遺伝子改変マウスを用いたグリシンのアミロイドタンパク質の凝集抑制効果確認試験)

1. グリシンのマウスへの投与

5×FAD アルツハイマー病モデル遺伝子改変マウス(参考文献1:「Oakley H, et al., "Intraneuronal beta-amyloid aggregates, neurodegeneration, and neuron loss in transgenic mice with five familial Alzheimer's disease mutations: potential fac

50

tors in amyloid plaque formation.”, J Neurosci., Vol. 26, Issue 40, p10129-10140, 2006.) を生後4か月齢まで飼育した。次いで、当該マウスにグリシン(1日当たり240mg/kg又は1200mg/kg; 以下、それぞれ「グリシン投与群(Low)」及び「グリシン投与群(High)」と称する場合がある)を生後7か月齢まで3か月間経口投与した。また、コントロールとして無投薬群(None)も準備した。

【0034】

2. 脳切片の免疫染色

次いで、各マウスから脳を摘出し、パラフィン包埋切片(4µm厚)を作製し、以下の方法により免疫組織染色を行なった。

【0035】

まず、切片をギ酸処理後、一次抗体として、Rabbit polyclonal Anti-Human Amyloid 1-40(A 40)(18580、IBL、Japan)(希釈倍率:50倍)、又はRabbit polyclonal Anti-Human Amyloid 1-42(A 42)(18582、IBL、Japan)(希釈倍率:200倍)を用いて、4でOvernight incubationを行った。二次抗体適用後に、ヒストファインDAB基質キット(ニチレイバイオサイエンス、Japan)を用いたポリマー法により可視化した。無投薬群、並びにグリシン投与群(Low及びHigh)の脳切片の抗A 40抗体及び抗A 42抗体による免疫染色像を図1に示す。図1において、「None」は無投薬群、「Low」はグリシン投与群(1日当たり240mg/kg)、「High」はグリシン投与群(1日当たり1200mg/kg)を示す。以降の図においても同様である。

【0036】

3. 老人斑の定量

次いで、免疫染色後の標本について、明視野光学顕微鏡(Olympus BX53、DP73)により組織像を撮影し、TIFFフォーマット(2,400×1,800pixels、3.5×2.6mm、2.13µm²/pixel)により画像を保存した。各画像を画像解析処理ソフト(Aquacosmos、浜松ホトニクス、Japan)の粒子解析機能を用いて以下の解析を行った。

【0037】

大脳皮質にROIを設定し、2値化方式による粒子の抽出と抽出した各粒子の面積(pixel数)を自動計算して出力した。出力された粒子データのうち、10pixels以下の粒子はノイズとして除去し定量化した。無投薬群、並びにグリシン投与群(Low及びHigh)の脳切片の抗A 40抗体及び抗A 42抗体による免疫染色像での老人斑の定量結果を図2に示す。

【0038】

図1及び図2から、グリシンの経口投与により、アルツハイマー病モデル遺伝子改変マウスにおいて、A 40及びA 42からなる老人斑を有意に抑制できることが明らかとなった。また、この老人斑の有意な抑制には、容量依存性が認められた。

【0039】

A はアルツハイマー病の直接的な障害の原因と考えられており、その障害の中心をなすのが疎水性で凝集しやすいA 42である。動物実験では親水性のA 40を低下させた報告は多いが、これまでA 42を有意に低下させる薬剤の報告は少ない。

グリシンは、アルツハイマー病モデル遺伝子改変マウスの神経脱落の原因であるA 42からなる老人斑を有意に抑制できることから、アルツハイマー病の予防又は治療薬への応用可能性が示唆された。

【産業上の利用可能性】

【0040】

本実施形態のアミロイドタンパク質の凝集抑制剤によれば、アミロイドタンパク質の凝集を効果的に抑制することができる。本実施形態のアルツハイマー病の予防又は治療用医薬組成物は、安価で安全、且つ効果的にアルツハイマー病を予防又は治療することができる。

10

20

30

40

【 図 1 】

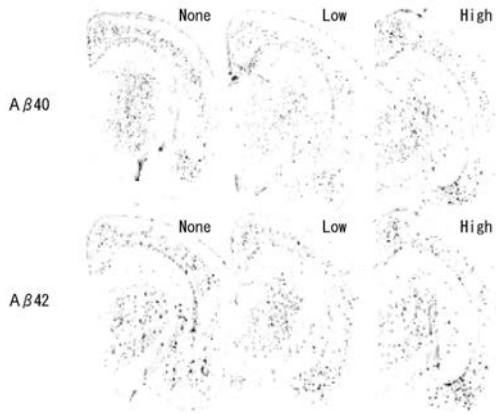


図 1

【 図 2 】

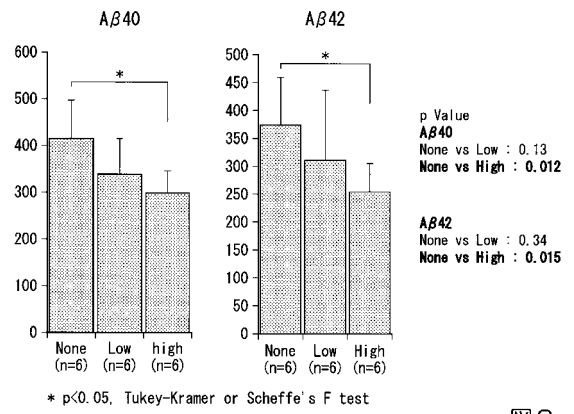


図 2

フロントページの続き

- (72)発明者 植木 智志
新潟県新潟市中央区旭町通1番町757番地 国立大学法人新潟大学 脳研究所内
- (72)発明者 北浦 弘樹
新潟県新潟市中央区旭町通1番町757番地 国立大学法人新潟大学 脳研究所内
- (72)発明者 鈴木 雄治
新潟県新潟市中央区旭町通1番町757番地 国立大学法人新潟大学 脳研究所内
- (72)発明者 村木 美子
新潟県新潟市中央区旭町通1番町757番地 国立大学法人新潟大学 脳研究所内
- (72)発明者 池内 健
新潟県新潟市中央区旭町通1番町757番地 国立大学法人新潟大学 脳研究所内
- Fターム(参考) 4C206 AA01 AA02 FA53 MA01 MA04 NA14 ZA16 ZC41