

ANM176[®]はアルツハイマー病の改善と 予防に役立つ可能性がある

柳町明敏*

* Akitoshi Yanagimachi (株)エイワイシー 代表取締役

『脳機能改善食品素材の開発と応用』
2016年8月 シーエムシー出版刊 抜刷

8 ANM176[®] はアルツハイマー病の改善と予防に役立つ可能性がある

柳町明敏*

8.1 概要

アルツハイマー病 (Alzheimer's disease : AD) の原因タンパク質と言われている β アミロイドタンパク質 (β amyloid protein : $A\beta$) は高齢者の脳内に存在する程度の濃度でマウスの行動試験における記憶や学習力を著しく阻害する神経毒性 (以下では、 $A\beta$ 神経毒性と言う) がある^{1,2)}。翰林大学生薬研究所 (韓国) の Song (dong-Keun Sing) 教授らは、マウスの行動試験を応用して $A\beta$ 神経毒性を定量化する方法を編み出し、この方法を用いて漢方生薬トウキの根中から $A\beta$ 神経毒性を抑制する 13 成分を同定し、その $A\beta$ 神経毒性抑制の程度を評価した^{2,3)}。この 13 成分はフェルラ酸 (Ferulic Acid : FA)²⁾ とクマリン類の 12 種³⁾ で、これらの成分には $A\beta$ 神経毒性抑制の相乗効果があることも分かった³⁾。

この Song 教授らの研究成果を基にして、トウキ根を原料に $A\beta$ 神経毒性抑制の相乗効果が発揮できるように 13 成分が規定量含まれる AD 用医薬製剤 INM[®]176 が開発された。INM[®]176 はサムソン・ソウル病院で行った二重盲検法による臨床試験で AD の進行を抑制できる可能性がプラセボ対比で示された (図 1)⁴⁾。

一方、この Song 教授らの研究成果をベースに食品用製剤の開発が検討された。トウキは食品に使用できないため、トウキと同じせり科シシウド属の植物でヨーロッパでは古くから食品として利用されているガーデンアンゼリカ (Garden Angelica : GA) の根に着目した。しかし、GA 根には $A\beta$ 神経毒性を抑制する 13 成分の中でヒトの消化器官から吸収できる形態の FA がほとんど含まれていなかったため、食品用の FA と $A\beta$ 神経毒性を抑制する FA 以外の 12 成分が規定量含まれる GA 根の抽出物を配合した食品製剤 ANM176[®] が開発された。マウスの行動試験で ANM176[®] は INM[®]176 と同等以上の $A\beta$ 神経毒性抑制効果が確認され (図 2)、臨床試験でも AD の改善に有用である可能性が示された (図 3)⁵⁾。

次項以降で述べるように、ANM176[®] は、高齢になると低下するストレス耐性を強化できる FA と抗炎症作用がある GA 根に含まれる $A\beta$ 神経毒性抑制 12 成分によって、AD の改善や予防に役立つ可能性がある。

* Akitoshi Yanagimachi (株)エイワイシー 代表取締役

Administration of INM[®]176 and Changes in ADAS-Cognition

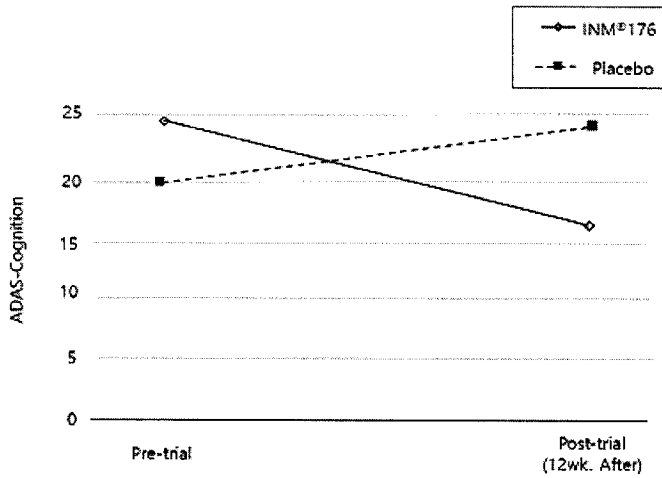


図1 軽度から中等度AD患者に投与したINM[®]176群とplaceb群の3ヵ月後におけるADAS-cog (Alzheimer's Disease Assessment Scale-cognitive subscale) 得点の対比

J.H. Kim *et al.*, 2003⁴⁾, ADAS-cog の得点は値が低いほど正常に近い。

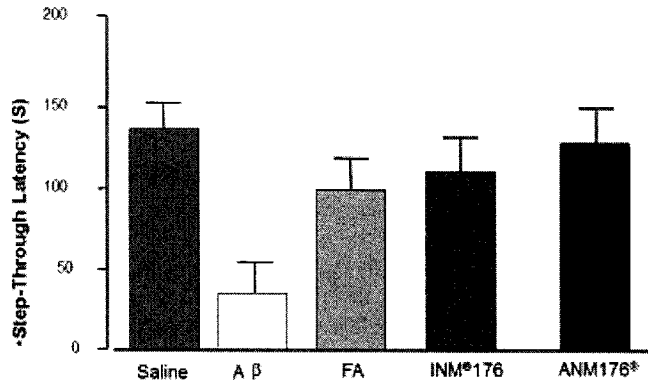


図2 Aβ 神経毒性抑制力の比較

マウスは暗所を好む習性があり暗室床に流した電流ショックを記憶させると暗室に入るまでの時間の遅延 (step through latency : STL) が起こる。試験物質を1日に1回、4週間にわたりマウスの胃に直接投入し、対照群 Saline (生理食塩水) を除いた各群の第三脳室に 410 pmol/L の Aβ を注入した後の STL の秒 (Seconds : S)。

8. 2 ANM176[®] の作用機構

2002年に228万人であった⁹⁾認知症患者は2012年には462万人であった¹⁰⁾と報告されており、この10年間で倍増している。この急増の要因は、高齢になってから発症する老年性アルツ

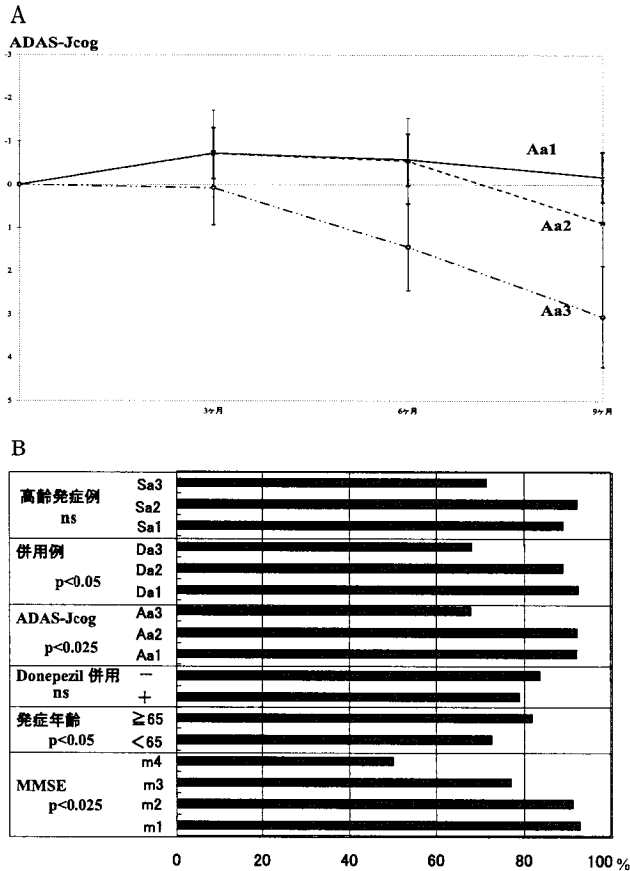


図3 ANM176[®]がAD患者の認知機能に及ぼす影響

A) ANM176[®]投与開始時のADAS-Jcog (ADAS-cog Japanese edition)により分類した3群のADAS-Jcog得点の経時的変化

開始時ADAS-Jcog得点によりAa1群 (< 20点; 実線) 47例, Aa2群 (20~29.9点; 破線) 24例, Aa3群 (≥ 30点; 2点鎖線) 27例に分類し, ADAS-Jcog得点の平均値を経時的に比較した。縦軸はADAS-Jcog得点変化を, 横軸は経過月数を示す。図中の縦線は標準誤差を示す。

B) 投与したAD患者の各サブグループにおける悪化率の比較

横軸は, 公表された文献による予想値と比較して, 投与9ヵ月後に抑制された症例の割合を示す。

・SaとDaはAaと同じ分類で, Saは試験開始時の年齢が65歳以上の症例, Daは試験開始時に1年以上前からDonepezilを使い続けて効果が感じられなくなった症例者がDonepezilとANM176[®]を併用した症例。

・開始時MMSEによる4群 (m4: ≤ 10, m3: 11-19, m2: 20-23, m1: ≥ 24), 発症年齢による2群, donepezil併用例と非併用例についてはADの自然進行のADAS-cogの得点上昇速度^{6,7)}を下回るものを悪化抑制例とした。それ以外の群についてはAD進行程度によるADAS-cog得点の変化⁸⁾と比較し, 開始時のADAS-cog得点別の変化率を計算して, 計算値より低値のものを悪化抑制例とした。 χ^2 検定により有意差を求めた。横軸は投与後9ヵ月後にADAS-Jcog得点の予想値より抑制された症例の割合を示す。ns: 有意差なし。

(中村重信ほか, 2008)⁵⁾

ハイマー型認知症 (senile dementia of Alzheimer type : SDAT) が増えていることによると言われているが^{10, 11)}, 高齢化だけでは, この急増を説明できない。AD のほとんどを占める SDAT の病理は遺伝とは直接的な関係はなく^{12, 13)}, 食べ物^{14, 15)}やライフスタイルなどの変化が発症に関係していると言われている^{15, 16)}。遺伝性の家族性 AD (familial AD : FAD) には共通して A β の分泌に関連する遺伝子に変異が見られるが¹⁷⁾, この変異がない SDAT においても FAD と同じような病理を示す¹⁸⁾。そのため A β が引き起こす病理プロセスに AD 発症の鍵があると考えられるが, その機序は今のところ明らかとなっていない^{18, 19)}。最近では, 一定濃度の A β は正常な神経作用に必須であると報告されている²⁰⁾。一方, 高齢になって脳内で増加した A β は^{21, 22)}, 生体内内外からの影響を受けて毒性がある構造に変化し, AD 発症に関係すると考えられている¹⁶⁾。

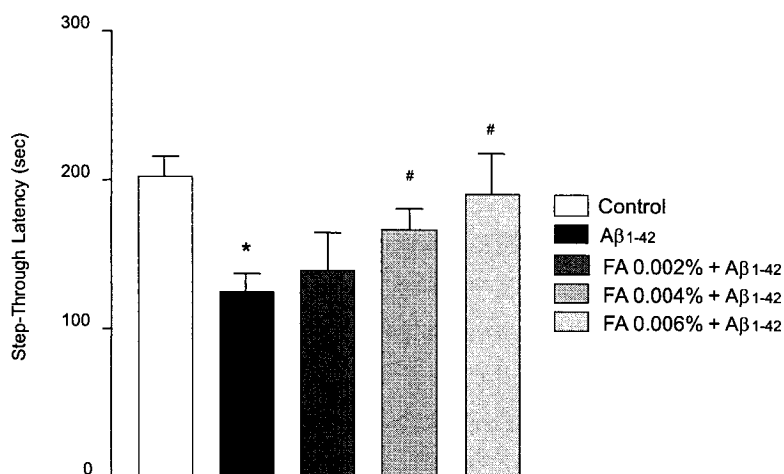
高齢者の脳内にあり得るレベル濃度の A β をマウスの第三脳室にマイクロ注入することによって起こる A β 神経毒性を, 事前に経口投与した FA は効果的に抑制し (図 4)²⁾, また, AD 型トランスジェニックマウスに長期投与した FA は A β 神経毒性だけでなく A β の脳内沈着も抑制することが示されている^{23, 24)}。しかし, マウスの脳室内に 1 回だけ注入した A β は神経毒性を示したが AD 特有の細胞アポトーシスは観察されず²⁾, この A β 神経毒性は次第に回復する^{2, 25)}。このため, 少なくとも脳内で増加した A β が健忘や AD における記憶障害の原因になっていると考えられるが^{2, 18)}, A β 神経毒性だけでは神経細胞脱落を伴う AD 病理を説明できない^{2, 26)}。

A β には 39~43 個のアミノ酸から成る分子種があり, また, これら分子種が集積した生体内の構造体には, 数分子から成るオリゴマー, 十数~数十分子から成る凝集体, 数十 KDa 以上の巨大な繊維がある¹⁸⁾。A β の分子種と構造は, それぞれ独立して異なった影響をニューロンに及ぼすと言われている²⁷⁾。最近では, A β オリゴマーが直接的に神経作用に影響する報告が増えている^{28~30)}。

一般に, 生体膜に埋め込まれた足場タンパク質に多くみられる分子モジュールの PDZ ドメインを介して機能性タンパク質が 1 ヶ所に集積され, 巨大なシグナル伝達複合体が形成されることが知られている³¹⁾。PDZ ドメインはニューロン膜のイオンチャンネルにも寄与している³²⁾。神経シナプスのスパインに特異的に発現する PSD95 は興奮性シナプスの後シナプス肥厚部 (postsynaptic density : PSD) に広く分布する PDZ タンパク質で, AMPA 受容体や NMDA 受容体などイオンチャンネル型グルタミン酸受容体の足場となり, AMPA 受容体の PSD への挿入に関係し, ニューロンの長期増強 (long-term potentiation : LTP) のベースとなっていると考えられている³³⁾。PDZ タンパク質のターゲットタンパク質には外部に突き出た C 末端に β シート構造が多数あり, この β シート構造が PDZ ドメインに結合することが示されている³⁴⁾。A β は PDZ ドメインと結合でき³⁵⁾, A β 構造体の中で極めて神経毒性が強い A β オリゴマーは^{28, 30)}, その中にある β シート構造を介して³⁶⁾, PSD95 に直接的に影響し^{29, 32)}, PSD95 を足場としている NMDA 受容体と AMPA 受容体の相互作用に影響し, イオンチャンネルを変化させて LTP を障害し^{37, 38)}, さらにシナプス数を減少させると考えられている³⁹⁾。

一方, AD 発症には脳内炎症も関係していると考えられている^{40, 41)}。中枢神経系 (central

A) 濃度が異なる FA をマウスに与えた後の受動的回避テスト



B) 異なる期間 FA をマウスに与えた後の受動的回避テスト

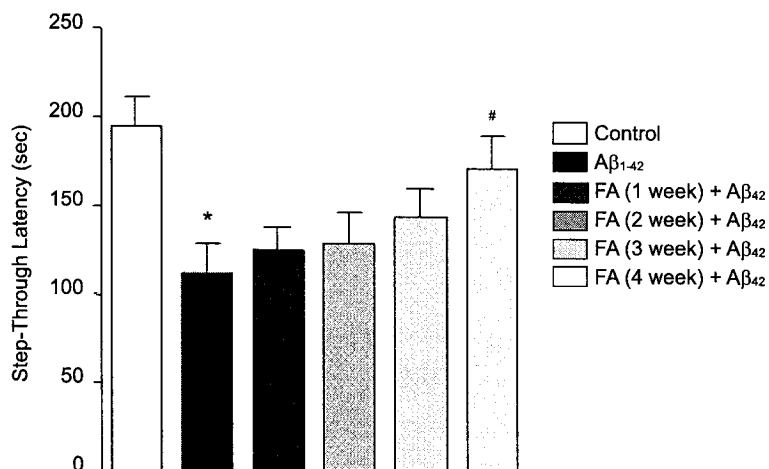


図4 FAのAβによる入室遅延(STL)時間短縮に対する効果²⁾

A) 給水に0.002から0.006%のFAを溶かし、マウスに4週間与えた。

B) 給水に0.006%のFAを溶かし、1~4週間与えた。

A) B) とも、410 pmolの42個のアミノ酸からなる合成Aβ₁₋₄₂を第三脳室にマイクロ注入した翌日に、暗室床に微弱電流(1 mA, 5 Sec)のショックを与えた。その翌日に、明室から暗室に入るまでのSTLでショック記憶の定着度を判定した。Controlは逆配列のAβ₄₂₋₁。FAの0.006%は14-19 mg/kg/dayに相当する。

nervous system : CNS) は、その本来の役割からストレスに敏感で生体の緊急対処プログラムである炎症を引き起こし、炎症が長引いていつまでも平常に復帰しないと場合によっては慢性化し、ニューロンのアポトーシスを引き起こし、ADに特徴的な脳の萎縮が進行すると言われていた^{42,43)}。Aβ凝集体は、しばしば炎症も伴う様々なストレスを引き起こす⁴⁴⁾。Aβ凝集体は、脳

内に特化したミエロイド系細胞のミクログリアによって異物と認識され、その過程で炎症促進性サイトカイン IL-1 β が発現し、ニューロンの興奮性電位に関係する mACh 受容体・NMDA 受容体複合体に影響し^{45, 46)}、LTP を阻害すると考えられている^{47, 48)}。また、A β オリゴマーは、周囲の条件によってニューロンの死を引き起こすことも示されている⁴⁹⁾。

これらのことから高齢になるとタンパク質の品質管理能力やストレス耐性が低下し、様々な生体ストレスや環境の変化などの外的要因が加わり、さらに遺伝子多型による個体差が A β の分解、A β 毒性構造の解消、ストレス耐性、タンパク質品質管理などに影響し⁵⁰⁾、毒性がある A β オリゴマーが形成され^{51, 52)}、AD に発展すると考えられている^{15, 16)}。

このように A β が複数の経路から発症に関与している可能性がある AD の治療は困難が予想される。また、進行を抑制するなどの対処療法でホメオスタシスを微妙に制御している CNS に直接介入しても、短期間に元に戻す傾向がある⁵³⁾。

8.3 応用

ANM176[®] は AD の改善に有用である可能性が臨床で示されている (図 3)⁵⁾。ANM176[®] を使用してこの臨床試験に参加した 143 名の AD 患者の認知機能を 3 ヶ月ごとに心理テストによるアルツハイマー病用認知機能評価法 ADAS-Jcog を用いて評価し、98 名は 9 ヶ月後まで評価した。この臨床試験では、どのような症状の AD に ANM176[®] が有効かを示すことが目的の 1 つであったこと、食品の試験にプラセボを使用することは医療倫理上から避けた方が良いと考えられたこと、9 ヶ月間の推移を観察すればすでに公表されている AD の平均悪化率との対比で AD 悪化の進行に対する ANM176[®] の効果が推定できること、の理由でオープン試験とした。その結果、軽度から重度まで、どんな進行程度であっても ANM176[®] 使用者の 9 ヶ月間の悪化率の平均値は公表された悪化率^{6, 7)} より抑制されていること、さらに、進行程度が軽度ほど抑制効果が高いこと、また、認知症の医薬品であるドネペジル (Donepezil/ アリセプト[®], エーザイ) を 1 年以上使い続けて抑制効果が感じられなくなったケースでもドネペジルに ANM176[®] を上乘せることによって再び抑制効果が現れること、が確認できた (図 3)。

ANM176[®] は、A β 神経毒性を相乗的に抑制する FA と GA の A β 神経毒性抑制 12 成分³⁾ が一定量に規格化されている。FA は高齢によるストレス耐性の低下を抑制し⁵⁴⁾、GA の A β 神経毒性抑制 12 成分中のフロクマリン類には幅広い抗炎症作用がある^{55, 56)}。これら FA と GA の A β 神経毒性抑制 12 成分それぞれの単独では AD の改善用として不十分と考えられる。その理由は、FA は 100 年以上前から認知症の改善に可能性があると言われていたが、それを示す臨床試験報告は見当たらない。また、GA と同じ植物属のトウキは古くから健忘に有効と伝承されていたが漢方文献は見当たらない。トウキが処方された当帰芍薬散が AD に有効なことを示す文献はあるが⁵⁷⁾、実際には認知症用として利用されていない。これらの背景には、トウキに含まれる A β 神経毒性を抑制する 13 成分の含量が極端にバラつくことにあるのではないかと INM[®]176

と ANM176[®] の開発プロセスにおいて考えられるようになった。つまり、AD の発症には多く因子が関与していると言われており、実際に AD に役立つためには FA だけでなく GA の A β 神経毒性抑制 12 成分も不可欠と考えられる。

これらの ANM176[®] の臨床試験使用量から摂取する A β 神経毒性を抑制する 13 成分とその量は、本来であれば食事から摂取できると考えられる。ヒトでも吸収できる FA は植物中では小麦や米のヌカ部分に偏って存在し、ヌカ部分を完全に除去している現代の食事では、A β 神経毒性を効率よく抑制できる程度量の FA が不足している^{58,59)}。また、トウキや GA 根に含まれる FA 以外の A β 神経毒性抑制 12 成分の一部は、本来、植物中にはなく、収穫後の条件によって新たに生成されるもので⁶⁰⁾、この成分はヨーロッパで市販されている GA 根の約 80% にはほとんど含まれていない。ヌカ部分を除去した小麦粉や米を主食とし、品種改良を加えた野菜を食べている近代の食事では A β 神経毒性を抑制できる成分の量が摂れていないことが考えられる。

ヒトにおける FA の耐容一日摂取量は 200 mg/kg (12 g/60 kg)、一日摂取許容量は 20 mg/kg (1.2 g/60 kg) と見積もられ⁶¹⁾、FA はすでに抗酸化剤として食品に利用されている。GA 製剤については欧州医薬品庁 (European Medicines Agency : EMEA) がリスク調査し、GA に含まれるフロクマリン類には光変異性と光発癌性の両方があると 2007 年に報告した⁶²⁾。また EMEA は、フロクマリン類はセロリーなどの野菜の中にも含まれ、1 日 1.45 mg~14 mg を摂取しており、この範囲では NOAEL (No Observable Adverse Effect Level) としている。しかし、1 日当たり 1.5 mg 以上のフロクマリン類を含む製剤はリスクと有用性の評価 (risk/benefit assessment : RBA) を表明すべきとしている⁶²⁾。ANM176[®] は GA の A β 神経毒性抑制 12 成分が一定量になるように規格化しているが、その中にはフロクマリン類も含まれる。臨床試験で用いた ANM176[®] の 1 日当たり標準使用に含まれる総フロクマリン類は 0.39~0.78 mg の範囲内で、EMEA 指導の RBA 表明限度以内である。

以上から、FA と GA の A β 神経毒性抑制 12 成分を規定量含む ANM176[®] を用いることによって、AD を持続的に改善できる可能性があり、また、これらの有用成分は、本来であれば食事でも摂れるレベルで安全であり、長期使用にも耐えられる。

注目すべきは、ANM176[®] の臨床試験で試験開始時の MMSE が 24 以上であった 11 例では 7 例が開始時より 9 ヶ月後の方が認知機能評価の結果が良好であった (データ非公開)。本来であれば食品で補給できるこれらの成分を ANM176[®] で補給することで AD の症状進行を抑制し、また、軽度認知障害 (Mild Cognitive Impairment : MCI) 症状から AD への進行頻度を抑制できる可能性がある。

文 献

- 1) K. Yamada *et al.*, *Eur. J. Neurosci.*, **11**, 83 (1999)
- 2) J. J. Yan *et al.*, *Br. J. Pharmacol.*, **33**, 89 (2001)
- 3) J. J. Yan *et al.*, *Prog. Neuro-Psychopharmacology Biol. Psychiatry*, **28**, 25 (2004)
- 4) J. H. Kim *et al.*, *J. Korean Neuropsychiatr. Assoc.*, **42**, 254 (2003)
- 5) 中村重信ほか, *Geriatr. Med.*, **46**, 1511 (2008)
- 6) J. J. Caro *et al.*, *Neurology*, **57**, 964 (2001)
- 7) R. S. Doody *et al.*, *Arch. Neurol.*, **58** (3), 427 (2001)
- 8) R. G. Stern *et al.*, *Am. J. Psychiatry*, **151** (3), 390 (1994)
- 9) 下方浩史, 日本臨床増刊号痴呆症候学, **3** (62), 121 (2004)
- 10) 朝田隆, 厚生労働省科学研究成果データベース, 201218011A (2012)
- 11) 二宮利治, 厚生労働省科学研究成果データベース, 201405037A (2014)
- 12) L. E. Hebert *et al.*, *JAMA*, **273**, 1354 (1995)
- 13) W. A. Kukull *et al.*, *Arch. Neurol.*, **59**, 1737 (2002)
- 14) S. Kalmijn *et al.*, *Ann. Neurol.*, **42**, 776 (1997)
- 15) M. P. Mattson, *Cell Metab.*, **16**, 706 (2012)
- 16) F. G. De Felice & M. V. Lourenco, *Front Aging Neurosci.*, **19** (7), 94 (2015)
- 17) K. Murakami *et al.*, *Geriatr. Gerontol. Int.*, **10**, S169 (2010)
- 18) J. Hardy & J.D. Selkoe, *Science*, **297**, 353 (2002)
- 19) G. A. Morfini *et al.*, *J. Neurosci.*, **29**, 12776 (2009)
- 20) T. J. Revett *et al.*, *J. Psychiatry Neurosci.*, **38** (1), 6 (2013)
- 21) L. F. Lue *et al.*, *Am. J. Pathol.*, **155**, 853 (1999)
- 22) H. Fukumotoo *et al.*, *Arch. Neurol.*, **60**, 958 (2003)
- 23) J. J. Yan *et al.*, *Biol. Pharm. Bull.*, **36**, 140 (2013)
- 24) T. Mori *et al.*, *PLoS ONE*, **8**, e55774 (2013)
- 25) C. Balducci *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107** (5), 2295 (2010)
- 26) M. F. Longo & S. M. Massa, *NeuroRx*, **1**, 117 (2004)
- 27) A. Deshpande *et al.*, *J. Neurosci.*, **26**, 6011 (2006)
- 28) G. M. Shankar *et al.*, *Nat. Med.*, **14**, 837 (2008)
- 29) E. Pham *et al.*, *FASEB J.*, **277**, 3051 (2010)
- 30) D. B. Freirly *et al.*, *Neurobiol. Aging*, **32** (12), 2211 (2011)
- 31) T. Tanaka *et al.*, *Sci. Signal.*, **7**, ra119 (2014)
- 32) F. Ye & M. Zhang, *Biochem. J.*, **455**, 1 (2013)
- 33) C. K. Wang *et al.*, *Protein Cell*, **1**, 737 (2010)
- 34) D. Cowburn, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **7**, 835 (1997)
- 35) V. Fonte *et al.*, *J. Biol. Chem.*, **283**, 784 (2008)
- 36) D. Puzzo *et al.*, *J. Neurosci.*, **28**, 14537 (2008)
- 37) S. Li *et al.*, *J. Neurosci.*, **31**, 6627 (2011)
- 38) I. Klyubin *et al.*, *Neurobiol. Aging*, **32**, 614 (2011)

- 39) G. M. Shankar *et al.*, *J. Neurosci.*, **27**, 2866 (2007)
- 40) L.F. Lue *et al.*, *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, **55**, 1083 (1996)
- 41) L. Mucke & D. J. Selkoe, *Cold Spring Harb Perspect Med.*, **2**, a006338 (2012)
- 42) P. L. McGeer & E. G. McGeer, *J. Leukoc. Biol.*, **65**, 409 (1999)
- 43) B. Cameron & G. E. Landreth, *Neurobiol. Dis.*, **37**, 503 (2010)
- 44) D. Zhang *et al.*, *J. Neuroinflammation*, **8**, 3 (2011)
- 45) S. Doralp & L. S. Leung, *Neurobiol. Learn Mem.*, **90**, 382 (2008)
- 46) S. K. Falsafi *et al.*, *PLoS ONE*, **7**, e32082 (2012)
- 47) L. Liu *et al.*, *J. Neurosci.*, **26**, 11588 (2006)
- 48) M. A. Lynch, *Brain Res.*, **1621**, 197 (2015)
- 49) S. Tu *et al.*, *Mol. Neurodegener.*, **9**, 48 (2014)
- 50) N. Mizushima & M. Komatsu, *Cell*, **147**, 728 (2011)
- 51) C.G. Evans *et al.*, *J. Biol. Chem.*, **281**, 33182 (2006)
- 52) M. M. Wilhelmus *et al.*, *Brain Res.*, **1089**, 67 (2006)
- 53) M. Citron, *Nat. Rev. Neurosci.*, **5**, 677 (2004)
- 54) V. Calabrese *et al.*, *Clin. Dermatol.*, **26**, 358 (2008)
- 55) T. Hirabayashi *et al.*, *Planta Med.*, **61**, 221 (1995)
- 56) K. N. Venugopala, *Biomed. Res. Int.*, **2013**, 963248 (2013)
- 57) 稲永和豊ほか, *Prog. Med.*, **16**, 293 (1996)
- 58) S. Tian *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 4808 (2004)
- 59) M. D'Archivio *et al.*, *Ann. Ist. Super. Sanita.*, **43** (4), 348 (2007)
- 60) 姉帯正樹ほか, *道衛研所報*, **52**, 12 (2002)
- 61) Y. Tada *et al.*, *Ann. Rep. Tokyo Metr.*, **50**, 311 (1999)
- 62) European Medicines Agency, Handbook of medicinal herbs (2007)