

各報道機関文教担当記者 殿

愛情ホルモン「オキシトシン」より効果持続が見込める 有機合成化合物を発見！

～オキシトシンよりも長時間作用・高効果が見込める化合物の合成に成功～

金沢大学子どもこのころの発達研究センターの Stanislav M. Cherepanov (チェレパノフ スタニスラフ) 博士研究員, 東田陽博特任教授, 横山茂教授, 大阪大学大学院小児発達学研究所金沢校博士課程3年の Anna A. Shabalova (シャバロバ アンナ), 金沢大学学際科学実験センターの堀家慎一准教授, 大黒多希子教授, 金沢大学医薬保健研究域医学系の山本靖彦教授, 東北大学大学院薬学研究科の山口浩明准教授, 北海道大学大学院薬学研究院の周東智教授らの共同研究グループは, **社会性行動の調節に重要なホルモンであるオキシトシン (OT) (※1) の類似体を有機合成し, それらの化合物の中から, マウス体内で天然に作られる内在性 OT よりも長期間作用し, 効果も大きい化合物を新しく見いだしました。**

OT は, ヒトが他人のこころを押し量り, 交流していく際に必要なホルモンとされ, 愛情ホルモンとも称されています。最近では, 自閉症などの精神疾患の中心症状である社会性交流障害に有効である可能性が示されるようになりました。しかし, 治療薬としての OT には, 克服すべきさまざまな弱点があることも知られています。

本共同研究グループは, **OT の基本骨格に修飾する低分子を工夫することにより, OT よりも強力で, 効果持続が見込める新規化合物を有機合成することに成功しました。**

これらの化合物は, 将来自閉スペクトラム症等の症状改善を目指す候補化合物として開発されることが見込めます。

本研究成果は, 2019年4月2日(米国東部標準時間)に米国化学会誌『Journal of Medicinal Chemistry』のオンライン版に掲載されました。

【研究の背景】

オキシトシン (OT) は子宮や乳腺のような生殖器官, 心臓および中枢神経系に作用するペプチドホルモンです。子宮平滑筋収縮と乳汁分泌促進に加え, 神経活動調節作用を持ち, 多くの哺乳動物種の社会的なふるまいや認知・記憶といった社会的なコミュニケーションに重要な役割を果たしています。

自閉スペクトラム症 (ASD) は社会的なコミュニケーションの障害によって特徴付けられる神経発達障害の一つですが, その中心症状に有効な薬物はまだありません。したがって, OT は健常者の社会的なふるまいの生物学的基礎であるとともに, 精神神経疾患患者において社会的なふるまいを元に戻すことができる新薬候補化合物 (リード化合物) と考えられます。

これまでに行われた ASD 患者への鼻腔内 OT 投与の臨床試験では, 有効性を確認できたという報告とできなかったという報告のいずれもあります。一方, 家族の行動観察記録を社会交流行動という指標で確認すると, 交流エピソードの頻度が増加することも報告されています。このような相反する報告は, 血中 OT の分解速度や消失速度が速いことおよび脳内移行性が低いことが原因と考えられてきました。

これまでに本研究グループは, 脂質化 OT (LOTs) と名付けた 3 つの OT 類似化合物が CD38 遺伝子が欠損したマウス (CD38 ノックアウトマウス) (※2) あるいは CD157 遺伝子が欠損したマウス (CD157 ノックアウトマウス) において社会的障害改善作用を示すことを報告しています。内在性 OT は 6 時間以内に効果が薄れてしまうのに対し, LOTs の効果はおよそ 24 時間持続しました。脂溶性を高めた LOTs は, 血液脳関門を通過して脳内に移行した後, 脂質が分解されて OT になり, プロドラッグ (※3) として効果を発揮していると考えられました。しかしながら, LOTs では十分な薬理効果を証明できず, 新たな OT 類似化合物が期待されていました。

【研究成果の概要】

本共同研究グループは, 9 個のアミノ酸からなる OT の環状構造を作る -S-S- 構造を -S-C- に変えた OT 類似体であるカルベトシン (※4) を基に, 7 番目のアミノ酸「プロリン」に N-(p-fluorobenzyl)glycine (フッ化ベンゼン化グリシン) または N-(3-hydroxypropyl)glycine (ヒドロキシプロピル化グリシン) を付加した OT 類似化合物を合成し, それぞれ「化合物 2」と「化合物 5」としました。まず, オキシトシン受容体 (OTR) を安定的に発現する細胞株を樹立し, トリチウムラベルの OT を使った受容体結合実験を行いました。化合物 2 と化合物 5 は共に, OTR に対し, 内在性 OT と同等の高い結合能を持つことが確認されました。そこで, OT が OTR に結合すると細胞内カルシウム濃度が上昇する反応が, 化合物 2 と化合物 5 についても起こるかどうかが調べる実験を行いました。その結果, OTR 発現培養細胞に化合物 2 を添加した際の細胞内カルシウム濃度上昇は, 内在性 OT の添加時よりも 30% 高いことが分かりました。すなわち, 化合物 2 は内在性 OT と同様に OTR に結合して OTR を作動させるだけでなく, その作用を強めること (スーパーアゴニストであること) が分かりました。この結果は, 親油性鎖が欠如しているにもかかわらず

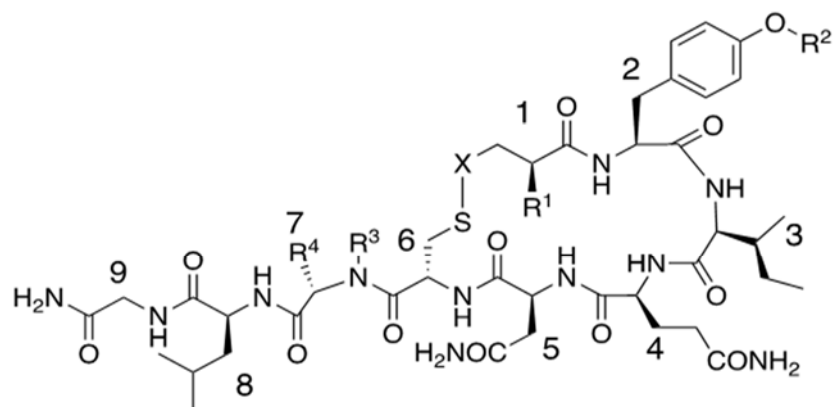
ならず、LOTsのように長い時間にわたって社会的行動障害を改善する効果を有していることを示しています。

次に、これらの作用について、父親が子育て行動を示さないCD38ノックアウトマウスおよび遺伝子編集法の一つであるCRISPER/Cas9法により作出した自閉症マウスモデルを使い、個体レベルの行動実験を行いました。天然型(内在性)OTを腹腔注射した場合、父親は子育て行動を示しますが、その効果は6時間以内に消失しました。一方、化合物2を腹腔注射した場合には16時間、化合物5を腹腔注射した場合には24時間以上、父親の子育て行動が持続しました。

【今後の展開】

これらの結果は、化合物2や化合物5が、自閉症の社会性記憶障害や社会性行動障害改善を目的とした症状改善薬として、OTよりも効果がある可能性を示唆しています。しかし、実際にヒトに応用できるようになるまでには、前臨床試験をはじめとするさまざまな研究が必要となります。本共同研究グループは、化合物の安定性や毒性、体内動態等について研究を進めています。

本研究は、文部科学省革新的イノベーション創出プログラム(COISTREAM)、国立研究開発法人日本医療研究機構(AMED)橋渡し研究戦略的推進プログラムのシーズAにおける橋渡し研究支援拠点(名古屋大学)による支援を受けて実施されました。



化合物	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	X
オキシトシン	NH ₂	H	(-CH ₂) ₃		S
カルベトシン	H	Me			CH ₂
1^a	H	H		H	CH ₂
2	NH ₂	H		H	S
3	NH ₂	H		H	CH ₂
4^a	H	H		H	CH ₂
5	NH ₂	H		H	S
6	NH ₂	H		H	CH ₂
LOT-1			(-CH ₂) ₃		S

a 既報; LOT-1, 脂質化オキシトシン

図1. OTと類似体の化学構造

下表は、類似体化合物 (1-6) におけるR¹-R⁴とXの置換基を示す。

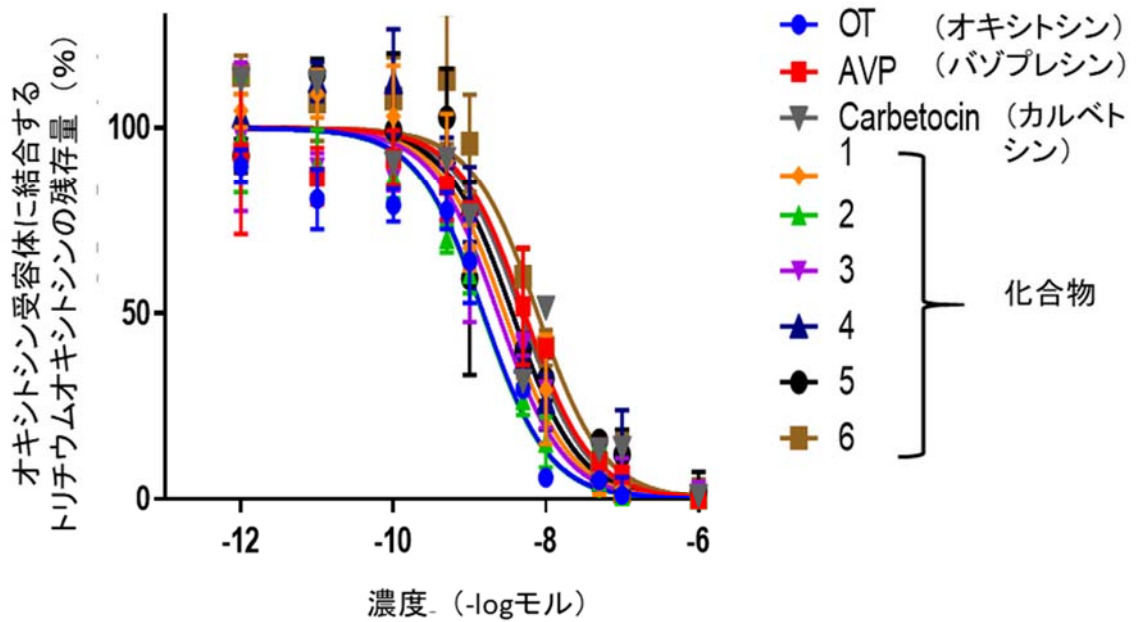


図2. OTRに結合する $[^3\text{H}]\text{OT}$ を置換する能力から見た各化合物の結合親和性

$[^3\text{H}]\text{OT}$ が50%残存する濃度で比較すると、化合物2は内在性OTと同等の親和性、化合物5は内在性OTよりも少し低い親和性を示すが、いずれも高い結合親和性を示す。

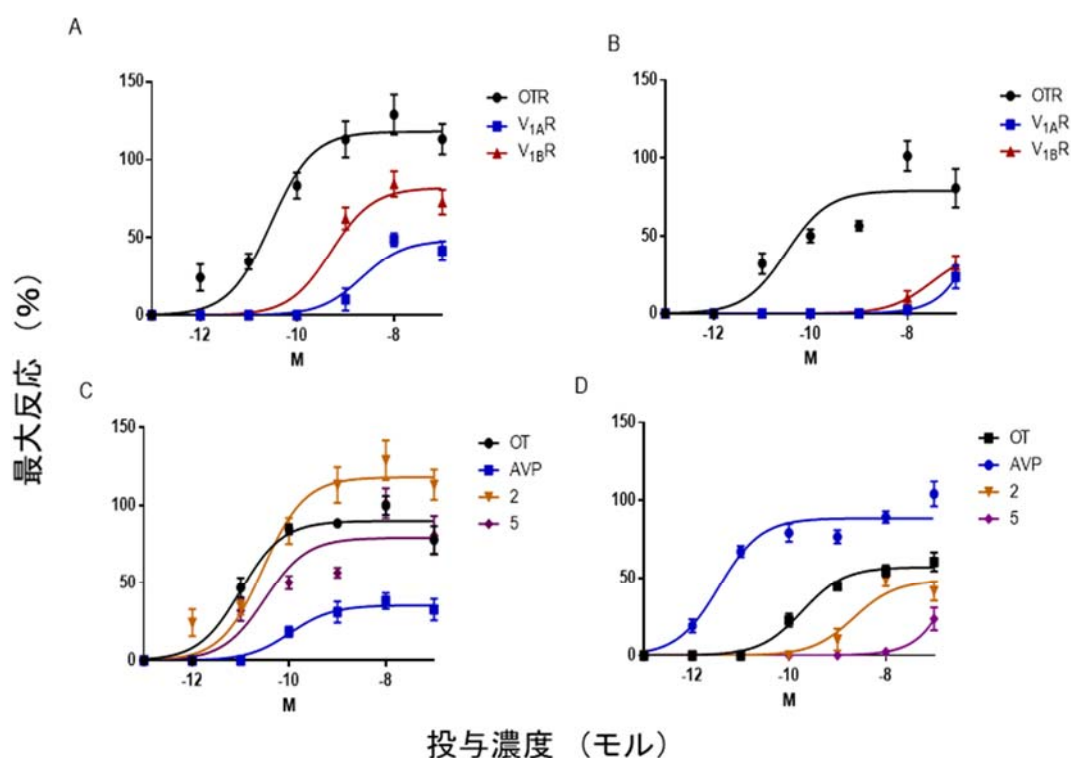


図3. 細胞内カルシウム濃度変化で見た各化合物のOT作動薬としての効果検証

- A. 化合物2のOTR, V1A型バゾプレシン受容体 (V1AR) とV1Bバゾプレシンサブタイプ受容体 (V1BR) への効果。OTR選択性が高いことが分かる。
- B. 化合物5の同様の効果。化合物2の活性化よりも低く, 部分的OTR作動薬であることが分かる。
- C. OTRに対する5つの作動薬の効果の比較。化合物2がOTよりも効果が高いことが分かる。
- D. V1ARに対する各化合物の効果。バゾプレシン作用は弱い。

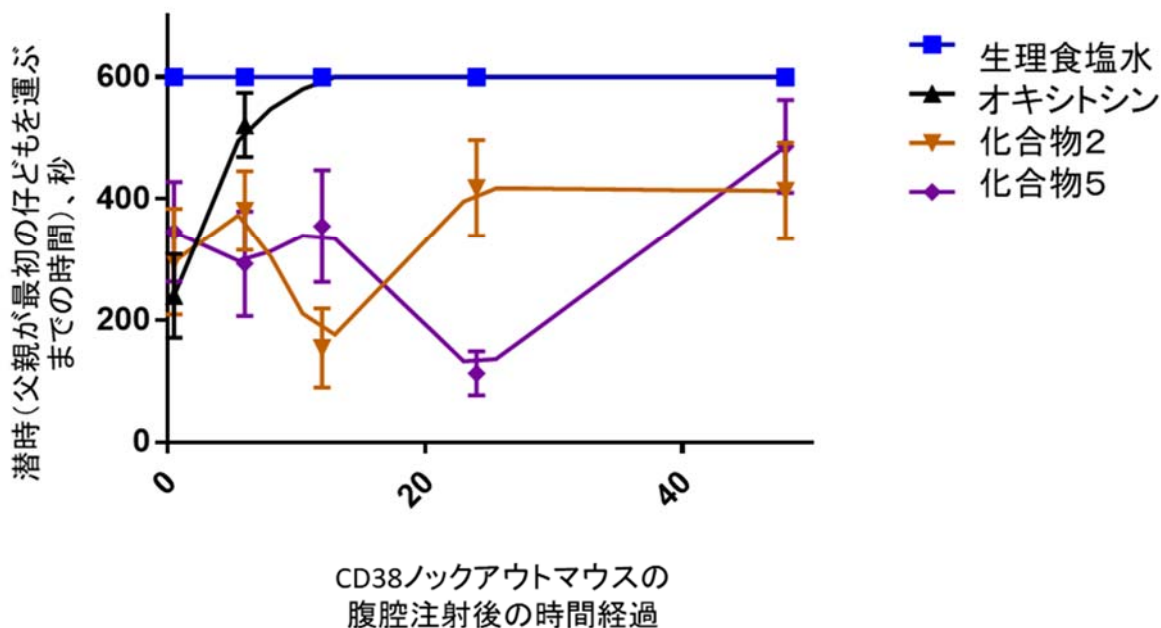


図 4. 父親が子育てをするまでの潜時の投与後の時間経過

潜時は、CD38 ノックアウトマウスが子育て行動を示すまでの待機時間であり、600 秒（10 分）は子育てをしないことを示す。内在性 OT を投与した場合には子育て行動が 6 時間程度持続し、化合物 2 を投与した場合には 16 時間程度持続する。化合物 5 を投与した場合は 24 時間以上持続することが分かる。

【掲載論文】

雑誌名 : Journal of Medicinal Chemistry

論文名 : Development of a Highly Potent Analogue and a Long-Acting Analogue of Oxytocin for the Treatment of Social Impairment-Like Behaviors

(社会性障害様行動に対する高効果と長期作用を併せ持つオキシトシン類似体の開発)

著者名 : Ichinose W, Cherepanov SM, Shabalova AA, Yokoyama S, Yuhi T, Yamaguchi H, Watanabe A, Yamamoto Y, Okamoto H, Horike S, Terakawa J, Daikoku T, Watanabe M, Mano N, Higashida H, Shuto S.

(一ノ瀬亘, チェレパノフ スタニスラフ, シャバロバ アンナ, 横山茂, 由比光子, 山口浩明, 渡邊亜侑, 山本靖彦, 岡本宏, 堀家慎一, 寺川順平, 大黒多希子, 渡辺瑞希, 間野成康, 東田陽博, 周東智)

金沢大学子どもこころの発達研究センター : Stanislav M. Cherepanov, 横山茂, 由比光子, 東田陽博

大阪大学大学院小児発達学研究科金沢校 : Anna A. Shabalova

金沢大学学際科学実験センター : 堀家慎一, 大黒多希子, 寺川順平

金沢大学医薬保健研究域医学系 : 山本靖彦, 岡本宏

東北大学大学院薬学研究科 : 山口浩明, 渡邊亜侑

北海道大学大学院薬学研究院 : 一ノ瀬亘, 間野成康, 渡辺瑞希, 周東智

掲載日時 : 2019 年 4 月 2 日 (米国東部標準時間) にオンライン版掲載

DOI : 10.1021/acs.jmedchem.8b01691

【用語解説】

※1 オキシトシン

脳下垂体後葉ホルモンの一種。神経内分泌ホルモンであり、母性や人間関係の形成などの社会行動や交流の促進、不安の解消などに関係している。

※2 CD38 遺伝子ノックアウトマウス

CD38 は細胞膜タンパク質であり、サイクリック ADP-リボースを産生する酵素活性を持つ。CD38 により産生されたサイクリック ADP-リボースは細胞内情報伝達物質として働き、細胞内カルシウム濃度上昇を引き起こす。CD38 をコードする遺伝子を欠損させたマウス (CD38KO マウス) では OT の脳内遊離が減少し、自閉症様の社会性記憶喪失や社会性交流障害を示すことが知られている。これらの社会性行動障害は OT の皮下あるいは腹腔内への投与により回復し、自閉症治療法研究のモデル動物とされている。

※3 プロドラッグ

生体内へ吸収された後，代謝されて初めて薬理活性を発揮するようになっている薬物。代謝されてから薬理活性を発揮するため，速効性はないが，作用発現時間が長いという利点がある。

※4 カルベトシン

OT 類似体の一種。OTR 刺激作用は OT より弱い，熱安定性が高く，帝王切開後の止血剤として使われている。

【本件に関するお問い合わせ先】

■研究内容に関すること

金沢大学子どものこころの発達研究センター 教授

横山 茂（よこやま しげる）

TEL：076-234-4213

E-mail：shigeruy@med.kanazawa-u.ac.jp

金沢大学医薬保健研究域医学系血管分子生物学 教授

山本 靖彦（やまもと やすひこ）

TEL：076-265-2182

E-mail：bc2@med.kanazawa-u.ac.jp

■広報担当

金沢大学総務部広報室広報係

嘉信 由紀（かしん ゆき）

TEL：076-264-5024

E-mail：koho@adm.kanazawa-u.ac.jp

金沢大学医薬保健系事務部総務課総務係

上山 聡子（うえやま さとこ）

TEL：076-265-2109

E-mail：t-isomu@adm.kanazawa-u.ac.jp