

【目的】 パーキンソン病を含む神経変性疾患は、罹患者の生活の質を著しく低下させるが有効な治療法が開発されていない。パーキンソン病は、環境中の毒物への暴露がその原因の一部として疑われており、薬物常用者における薬物中の副成分である MPTP の摂取や農薬のロテノンやパラコートに対する暴露が急性パーキンソン病を誘導する。これらの毒物を用いたパーキンソン病モデルに対する神経細胞保護作用を指標として、パーキンソン病治療薬探索のための試験系を作製できる。また、カイメン等の海産無脊椎動物に含まれる天然物の医薬資源としての重要性が再認識されている。このような背景に基づき、パーキンソン病を標的として、海産無脊椎動物を対象に探索研究を行うことを目的とする。

【方法】 採取が困難であることから未開拓な化合物資源といえる、深海底に生息するカイメンを探索素材とした。ヒト神経芽細胞腫由来 SH-SY5Y 細胞に対してロテノンが示す毒性から培養細胞を保護する作用を指標として、活性物質の探索を行った。カイメンの抽出物の水溶性画分と脂溶性画分を試験に供した。細胞毒性のため細胞保護活性が検出できなかった場合は、予備分画物を行った。スクリーニングにおいて細胞保護作用を示した試料を大量に抽出し、分画の各段階で SH-SY5Y 細胞に対する細胞保護作用を調べつつ活性成分の精製を行った。

【結果】 SH-SY5Y 細胞を用いて、MPTP とロテノンが示す毒性を比較したところ、ロテノンの方が再現性よく顕著な毒性を示したため、本研究ではロテノンを用いることとした。ドキシソルピシン処理によりロテノンが示す毒性から細胞が保護されることを確認後、スクリーニングを実施した。284 種のカイメンについて調べた結果、41 種のカイメンの水溶性あるいは脂溶性画分が細胞保護作用を示した。これらの活性の再現性を調べるため、再試験に供すると、活性を示したものは 6 種にとどまった。そこで、これら 6 種の試料から活性成分の探索を進めた。屋久新曾根産カイメン 16-008 と大島新曾根産カイメン 17-017 の抽出物は、溶媒分画後の ODS フラッシュクロマトグラフィーで、いずれの画分にも生物活性が検出されなかった。大島新曾根産カイメン 18-021 は、溶媒分画後のシリカゲルカラムクロマトグラフィーの後に生物活性が消失した。大島新曾根産カイメン 18-333 は抽出物の溶媒分画後に生物活性が消失した。大島新曾根産カイメン 17-114 では、溶媒分画後の ODS フラッシュクロマトグラフィーで活性画分が得られ、これをさらに HPLC で分画して活性画分を得た。その画分の LCMS データに基づき、類縁化合物を探索するとともに活性物質の精製を進めた。生物活性を示す画分は得られたが、構造決定を行うために十分な量の化合物を得ることができなかった。サンゴ曾根産カイメン 08-679 では溶媒分画後の、水面分、1-ブタノール画分、および n-ヘキサン画分に生物活性が認められた。水面分を ODS フラッシュクロマトグラフィーにより分画したところ、水および 75% メタノール溶出画分に活性が認められ、この 75%メタノール画分を用いて活性成分の精製を行った。

SH-SY5Y 神経芽細胞腫細胞を用いたパーキンソン病モデル

