

青ジソに含まれるアミロイドβ42の凝集阻害物質の作用機構とマウスにおける生体内代謝

Mode of action of an inhibitory compound against amyloid β42 aggregation in green perilla and its in vivo metabolism

○坂口 嘉紀¹、村上 一馬¹、花木 瑞穂¹、泉尾 直孝²、小澤 裕介²、栗野 達也³、高部 圭司³、川瀬 泰司⁴、廣瀬 賢治⁴、三羽 伸明⁵、久米 利明⁵、清水 孝彦²、入江 一浩¹ (¹京大院農食品、²千葉大院医、³京大院農森林、⁴ウォーターズ、⁵京大院薬)

○Yoshiki SAKAGUCHI¹, Kazuma MURAKAMI¹, Mizuho HANAKI¹, Naotaka IZUO², Yusuke OZAWA², Tatsuya AWANO³, Keiji TAKABE³, Taiji KAWASE⁴, Kenji HIROSE⁴, Nobuaki SAMPA⁵, Toshiaki KUME⁵, Takahiko SHIMIZU², Kazuhiro IRIE¹ (¹Food Sci.Agric.Kyoto Univ., ²Chiba Univ., ³Forest Agri.Kyoto Univ., ⁴Waters, ⁵Pharma.Sci..Kyoto Univ.)

【背景・目的】 アルツハイマー病 (AD) の原因物質である 42 残基のアミロイドβ (Aβ42) は、主として分子間βシート構造をとることにより凝集 (オリゴマー化：2~24 量体：dimer or trimer x n) し、神経細胞毒性を示す。これより、Aβ42 の凝集を抑える食品や漢方薬に含まれる機能性成分は、AD 予防に有効と考えられる。これまでに本研究グループは、凝集抑制に不可欠な構造因子として、カテコール構造ならびに平面性を明らかにした。¹⁾ 近年、赤池ら (京大院薬) は 2',3'-dihydroxy-4',6'-dimethoxychalcone (DDC：下図) を青ジソ (*Perilla frutescens var. crispa f. viridis*) の抽出液から初めて単離・同定し、DDC の強い抗酸化作用および抗炎症作用を明らかにした。²⁾ DDC はカテコール構造をもつことから、Aβ42 の凝集能に対する効果についても興味をもたれた。本研究では、DDC の Aβ42 に対する凝集抑制能を明らかにし、その作用機構を LC-MS およびイオンモビリティ質量分析法 (IM-MS) で調べた。さらに、DDC の体内動態に関する知見を得るため、マウス体内における代謝動態について解析した。

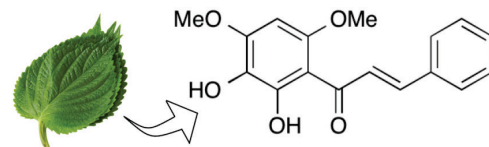


図 青ジソに含まれる DDC

【方法・結果・考察】 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxyacetophenone を出発物質として Dakin 反応を行なった後、cinnamoyl chloride を用いた Friedel-Crafts アシル化反応によって DDC を得た。Aβ42 の凝集抑制能は、チオフラビン T (Th-T) 蛍光試験、HPLC を用いた遠沈試験、透過型電子顕微鏡によって評価した。その結果、DDC は濃度依存的に Aβ42 の凝集を抑えるだけでなく (IC₅₀ = 11 μM)、形成されるフィブリルの量が減少した。その強さは、カテコール構造を有するタキシフォリン等 (IC₅₀ = 15~30 μM) に比べて強かった。¹⁾ また、LC-MS と IM-MS 測定から、DDC の代謝物と Aβ42 がシッフ塩基を形成していること、衝突誘起解離 (CID) による MS/MS 実験からその結合残基は K16 および K28 であること、さらに DDC は Aβ42 の 2 量体以上の形成を抑制していることが判明した。

次に、DDC を野生型マウスに経口投与 (100 mg/kg) し、30 分後の脳、血液、小腸における吸収ならびに代謝を LC-MS で調べたところ、血液と小腸中だけでなく脳内にも、DDC の硫酸およびグルクロン酸抱合体が含まれていることが判明した。タキシフォリンを投与した場合には、脳内でこれらの抱合体および未変化体が検出された。これまでフラボノイドは、痕跡量の未変化体としての脳移行の報告が多かったが、野生型マウスの場合、その多くは抱合化されている可能性がある。

1) 村上, 入江, *Dementia Japan*. **2017**, *31*, 351. 2) Izumi, Y. et al., *Free Radic. Biol. Med.* **2012**, *53*, 669.