

(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2021-38147

(P2021-38147A)

(43) 公開日 令和3年3月11日(2021.3.11)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/7004 (2006.01)	A 6 1 K 31/7004	4 B 0 1 8
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 0 5	4 C 0 8 6
A 6 1 P 27/12 (2006.01)	A 6 1 P 27/12	
A 6 1 P 27/02 (2006.01)	A 6 1 P 27/02	
A 6 1 P 27/16 (2006.01)	A 6 1 P 27/16	

審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 7 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2019-158394 (P2019-158394)	(71) 出願人	504258527 国立大学法人 鹿児島大学
(22) 出願日	令和1年8月30日 (2019.8.30)		鹿児島県鹿児島市郡元一丁目21番24号
		(71) 出願人	503420833 学校法人常翔学園
			大阪府大阪市旭区大宮五丁目16番1号
		(71) 出願人	599045903 学校法人 久留米大学
			福岡県久留米市旭町67番地
		(74) 代理人	110002572 特許業務法人平木国際特許事務所
		(72) 発明者	丸山 征郎 鹿児島県鹿児島市郡元一丁目21番24号 国立大学法人鹿児島大学内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ミトコンドリア生合成促進剤

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 1, 5 - アンヒドロフルクトースの新たな用途の提供。

【解決手段】 1, 5 - アンヒドロフルクトースを有効成分として含有し、PGC1- α を介してミトコンドリア数を増加させるためのミトコンドリア生合成促進剤であり、ミトコンドリアの数的減少又は質的機能障害に起因する病態又は疾患の治療又は予防剤として使用。ミトコンドリアの数的減少又は質的機能障害に起因する病態又は疾患は、白内障、網膜色素変性症、聴力低下、心筋症、不整脈、肝機能低下、ザルコペニア、筋力低下、骨粗しょう症及び敗血症性ショックから選ばれる。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

1, 5 - アンヒドロフルクトースを有効成分として含有するミトコンドリア生合成促進剤。

【請求項 2】

P G C 1 - を介してミトコンドリア数を増加させるための請求項 1 記載のミトコンドリア生合成促進剤。

【請求項 3】

ミトコンドリアの数的減少又は質的機能障害に起因する病態又は疾患の治療又は予防剤である請求項 1 又は 2 記載のミトコンドリア生合成促進剤。

10

【請求項 4】

ミトコンドリアの数的減少又は質的機能障害に起因する病態又は疾患が白内障、網膜色素変性症、聴力低下、心筋症、不整脈、肝機能低下、ザルコペニア、筋力低下、骨粗しょう症及び敗血症性ショックから選ばれる請求項 3 記載のミトコンドリア生合成促進剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明はミトコンドリア生合成促進剤に関する。

【背景技術】

【0002】

A T P 産生の主たる場であるミトコンドリアは、加齢や細胞酸素ラジカル、ある種の薬物、糖尿病や肥満など代謝疾患などで減少し、原病態の進行、重症化に働くことが判明し、治療の最大標的となっている。

20

【0003】

特許文献 1 には、ヒドロキシチロソールとカフェイン等を含む組成物がミトコンドリア生合成を促進させることが記載されているが、現在のところ、ミトコンドリアの増殖ないし活性化の有効な方法としては、エクササイズ、カロリー摂取制限などが中心であり、治療や簡便で現実的な方法・手段を欠いているのが現況である。

【0004】

一方、1, 5 - D - アンヒドロフルクトース（以下、場合により「1, 5 - A F」と称する）は、ある種の子囊菌や紅藻由来の酵素である 1, 4 - グルカンリアーゼを澱粉又は澱粉分解物に作用させることで生産することができる。1, 5 - A F は、その分子内に二重結合を有しており、他の単糖類と比較して反応性に富む糖である。

30

【0005】

従来、1, 5 - A F の様々な用途が知られている。例えば、特許文献 2 は、1, 5 - A F 及び / 又はその脱水産物であるアスコピロンを含有する抗腫瘍剤を、特許文献 3 は、1, 5 - A F を有効成分として含有する、アポトーシス関連スベック様カード蛋白質（A S C）の機能阻害薬及び A S C が関与する疾患又は症状の治療薬、並びに 1, 5 - A F を有効成分として含有するインフラマソーム経路阻害薬及びインフラマソーム経路が関与する疾患又は症状の治療薬を、特許文献 4 は、1, 5 - A F を有効成分として含有する細胞老化抑制剤を開示する。

40

【0006】

しかしながら、1, 5 - A F とミトコンドリア生合成促進活性との関係についてはこれまで報告されていない。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0007】

【特許文献 1】特表 2012 - 524033 号公報（例えば、請求項 5）

【特許文献 2】国際公開第 2005 / 040147 号

【特許文献 3】国際公開第 2015 / 016178 号

50

【特許文献4】特開2017-128550号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

本発明は、1, 5 - A Fの新たな用途を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明者らは、前記課題を解決すべく鋭意研究を行った結果、1, 5 - A Fがミトコンドリア生合成促進 (mitochondria biogenesis) 活性を有することを見出し、本発明を完成するに至った。

10

【0010】

すなわち、本発明の要旨は以下のとおりである。

(1) 1, 5 - アンヒドロフルクトースを有効成分として含有するミトコンドリア生合成促進剤。

(2) PGC1 - を介してミトコンドリア数を増加させるための前記(1)に記載のミトコンドリア生合成促進剤。

(3) ミトコンドリアの数的減少又は質的機能障害に起因する病態又は疾患の治療又は予防剤である前記(1)又は(2)に記載のミトコンドリア生合成促進剤。

(4) ミトコンドリアの数的減少又は質的機能障害に起因する病態又は疾患が白内障、網膜色素変性症、聴力低下、心筋症、不整脈、肝機能低下、ザルコペニア、筋力低下、骨粗しょう症及び敗血症性ショックから選ばれる前記(3)に記載のミトコンドリア生合成促進剤。

20

【発明の効果】

【0011】

本発明によれば、ミトコンドリアの生合成を促進させることにより、ミトコンドリアの数的減少又は質的機能障害に起因する病態又は疾患を治療又は予防することができる。

【図面の簡単な説明】

【0012】

【図1】図1は1, 5 - A Fがロテノンによるミトコンドリア障害を軽減することを示す蛍光顕微鏡写真である。

30

【図2】図2は1, 5 - A Fがロテノンによるミトコンドリア障害を軽減することを示す、図1に対応する定量図である。

【図3】図3は蛍光染色色素であるカルセイン - A Mを用いた蛍光顕微鏡写真である。

【図4】図4は図3に対応する定量図である。

【図5】図5は1, 5 - A Fがメトホルミンと同じく、PGC1 を介して、ロテノンによるミトコンドリア障害・減少と細胞減少をブロックしていることを示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0013】

以下、本発明を詳細に説明する。

本発明のミトコンドリア生合成促進剤は1, 5 - A Fを有効成分として含有するものである。

40

【0014】

ミトコンドリアは体内の赤血球以外の諸細胞のエネルギー (ATP) 産生に関わる重要な細胞内小器官である。従って、ミトコンドリアの量的減少、質的障害、機能不全は、全身各細胞臓器に広いスペクトラムの病態、機能不全を惹起する。

【0015】

本発明のミトコンドリア生合成促進剤は、ミトコンドリアの生合成を促進させることにより、ミトコンドリアの数的減少又は質的機能障害に起因する病態又は疾患を治療又は予防することができる。

【0016】

50

前記のミトコンドリアの数的減少又は質的機能障害に起因する病態又は疾患としては、例えば白内障、網膜色素変性症、聴力低下、心筋症、不整脈、肝機能低下、ザルコペニア（筋萎縮症）、筋力低下、骨粗しょう症、敗血症性ショックが挙げられる。

【0017】

本発明のミトコンドリア生合成促進剤における有効成分である1, 5-AFは、例えば特表平9-505988号公報（「1, 5-D-アンヒドロフルクトース調製のための1, 4-グルカンリアーゼの使用」）に記載の方法等の公知の方法に準じて調製することができる。

【0018】

本発明のミトコンドリア生合成促進剤は、安定でそれ以上の変化を受けないため、有効成分である1, 5-AF以外に、例えば製剤担体、賦形剤、水溶化剤、安定剤等、その他の製剤や製品を添加することも可能である。

10

【0019】

また、本発明のミトコンドリア生合成促進剤は、医薬品、医薬部外品、健康食品、特定保健用食品として使用することができ、あるいは飲食品等に配合することもできる。

【0020】

本発明のミトコンドリア生合成促進剤は、その剤形に応じてそれ自体公知の種々の方法で投与することが可能であり、その投与量、投与部位、投与する間隔、期間等は、患者の年齢や体重、病状あるいは他の薬剤や治療法と併用した場合等を考慮して適宜決定することができる。投与方法としては、特に制限されないが、例えば、経口投与、注射や点滴静注、あるいは噴霧、軟膏等の形での局所投与等が挙げられる。

20

【0021】

本発明のミトコンドリア生合成促進剤の投与量は、その剤形、投与方法、又は治療しようとする症状により異なるが、例えば、患者の体重1kg当たりの投与量として有効成分（1, 5-AF）換算で1~500mg、好ましくは10~100mgとすることができ、1日1回又は数回、あるいは持続点滴等、更には数日毎に1回というような、適当な投与頻度によって投与することが可能である。

【0022】

本発明のミトコンドリア生合成促進剤の剤形としては、例えば散剤、顆粒剤、細粒剤、カプセル剤（例えば、粉末入りカプセル剤）、錠剤、液剤、注射剤、点滴剤、噴霧剤、軟膏剤等が挙げられるが、特に制限されない。

30

【実施例】

【0023】

以下、実施例を用いて本発明をより詳細に説明するが、本発明の技術的範囲はこれら実施例に限定されるものではない。

【0024】

（実施例1）

神経細胞株PC12を、培養皿培養面の約80%に占めるまで培養し、ミトコンドリア障害剤ロテノン（Rotenone）を無機化合物溶解剤DMSO（ジメチルスルホキシド）で溶解し、ロテノン（終濃度1 μ M）を添加して24時間培養した。

40

【0025】

蛍光顕微鏡用の蛍光標識色素で細胞中のミトコンドリアを選択的に標識できるミトトラッカー（Mito Tracker）を用いた蛍光顕微鏡写真を図1に示す。実際に細胞数をMTT法で測定し、定量化したものが図2の棒グラフ図である。

【0026】

図1のa. はDMSOのみ、b. はそれに1, 5-AFを50 μ g/ml添加したコントロールを示す。図1のブルーは核、赤紫色はミトコンドリアを示す。

【0027】

図1の下段は培養神経細胞株PC12にミトコンドリア障害剤であるロテノンを添加して、細胞への影響を観察したものであるが、c. のロテノン添加によりミトコンドリア染

50

色（ミトトラッカーの赤紫色）が減少している。しかしながら、d. に示すように1, 5-AF添加群では赤紫色染色が強くなって、1, 5-AFのミトコンドリア保護とそれを介した細胞毒性の軽減がみられた。

【0028】

すなわち、ロテノンは神経細胞株PC12のミトコンドリアを障害して減少させたが（図1c）、1, 5-AF添加はそれをブロックした（図1d）。図1の上段のa. 及びb. はロテノンを溶解していないDMSOコントロールを示す。ロテノンによるミトコンドリアの減少は、1, 5-AFで有意にブロックされている（図2、右図の右バー）。

【0029】

生細胞を染色するのに適した蛍光染色色素であるカルセイン-AMを用いた蛍光顕微鏡写真を図3に、対応する定量図（実際に細胞数をカウントした図（キーエンス顕微鏡下、 $n=3$ ））を図4に示す。なお、カルセイン-AM自体は非蛍光性であり、生細胞の膜を容易に通過し、細胞質で細胞内エステラーゼによって膜不透過性、緑色蛍光のカルセインへと加水分解される。

10

【0030】

図3から、神経細胞株PC12を24時間ロテノン処理すると細胞数が減少している（シャーレ内緑色の面積で示されている。ロテノンのミトコンドリア障害による）ことがわかる（上2つの図はDMSOコントロール）。下段の顕微鏡図（4図）がロテノン添加によるミトコンドリア障害を介した細胞数減少に対する1, 5-AF添加（0、10、50、100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）の効果を示す。図4は、1, 5-AF処理（0、10、50、100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）すると、濃度依存的にロテノンの細胞障害性が軽減されていることを定量化したものである。1, 5-AF添加で濃度依存的に細胞数（カルセイン染色、緑色）が増加した（緑色の範囲拡大）。

20

【0031】

AMPKの下流にはPGC1が位置し、AMPK活性化により、PGC1が活性化され、ミトコンドリア新生が惹起される。5-AF処理により、PGC1からのミトコンドリア形成（mitochondriogenesis）の経路が活性化されて、ロテノン障害は軽減される。この経路が活性化されてミトコンドリア障害が防止されていることは、PGC1のアンチセンスmRNA（siRNA）処理ではロテノン障害がブロックされたのに対し、コントロールのsiRNA処理では、ロテノンによる細胞障害が抑制されず、細胞数が減少したことから示された。

30

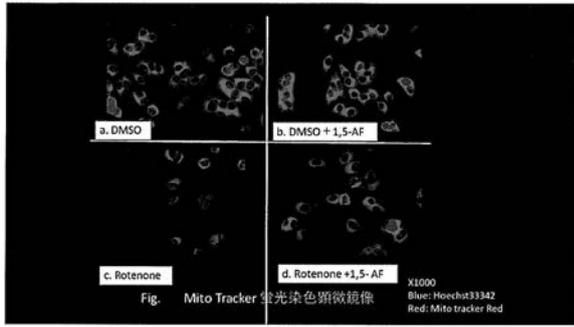
【0032】

（実施例2）

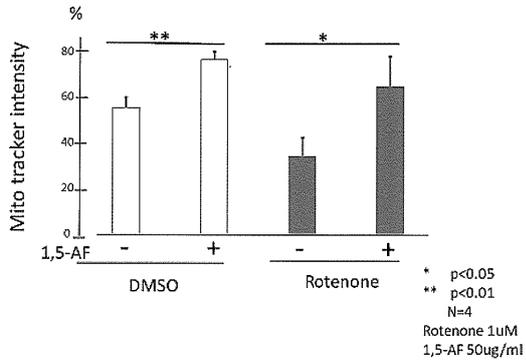
AMPKの下流にはミトコンドリアの新生に関わる転写因子PGC1が存在するので、1, 5-AFはメトホルミンと同じく、PGC1を介して、ロテノンによるミトコンドリア障害・減少と細胞減少をブロックしているものと結論される。このことはPGC1の発現をアンチセンスmRNA（siRNA）で抑制すると、ロテノンの細胞障害活性は回避しえず、細胞数減少が誘導されている（図5左）のに対し、コントロール（PGC1抑制活性のないsiRNA処理）では、ロテノン処理による細胞数の減少が観察され、1, 5-AF、メトホルミン（met）の効果が消失されていることから証明された（図5右）。

40

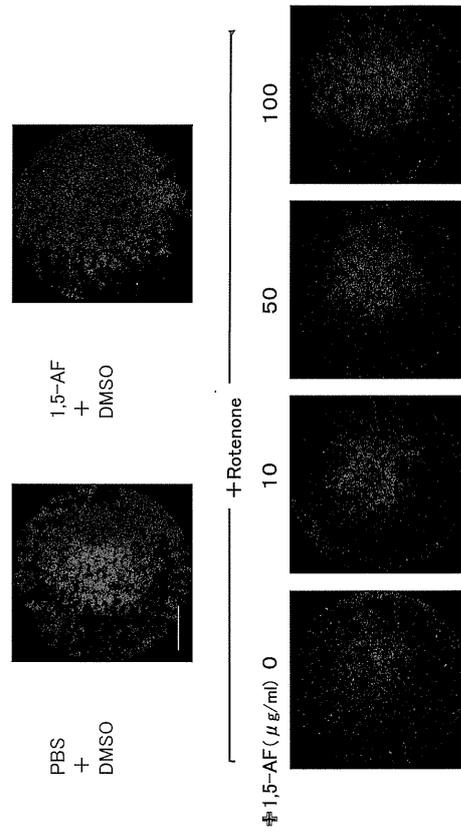
【 図 1 】



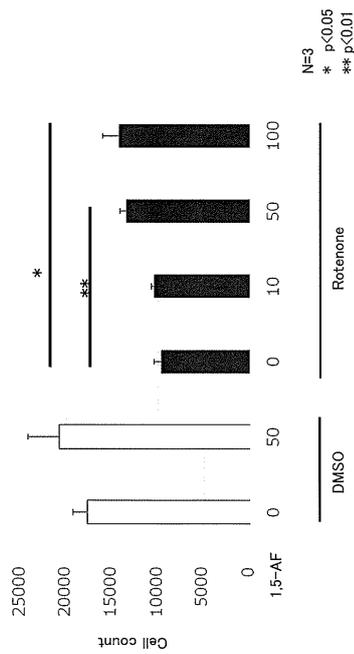
【 図 2 】



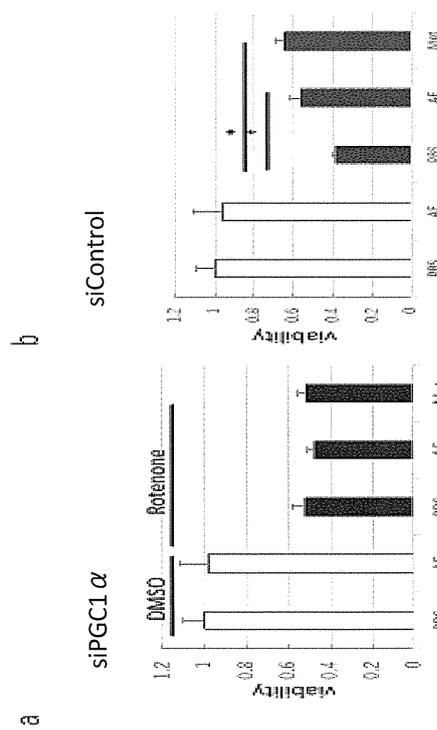
【 図 3 】



【 図 4 】



【 図 5 】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P	9/00 (2006.01)	A 6 1 P 9/00	
A 6 1 P	1/16 (2006.01)	A 6 1 P 1/16	
A 6 1 P	21/00 (2006.01)	A 6 1 P 21/00	
A 6 1 P	19/10 (2006.01)	A 6 1 P 19/10	
A 6 1 P	31/04 (2006.01)	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P	9/06 (2006.01)	A 6 1 P 9/06	
A 2 3 L	33/125 (2016.01)	A 2 3 L 33/125	

(72)発明者 笠毛 友揮
鹿児島県鹿児島市郡元一丁目2番24号 国立大学法人鹿児島大学内

(72)発明者 川原 幸一
大阪府大阪市旭区大宮五丁目1番1号 大阪工業大学内

(72)発明者 菊池 清志
福岡県久留米市旭町6番地 学校法人久留米大学内

Fターム(参考) 4B018 LB08 LB10 MD28 ME14
4C086 AA01 AA02 EA01 MA01 MA04 NA05 NA14 ZA33 ZA34 ZA36
ZA38 ZA75 ZA94 ZA97 ZB21 ZB35