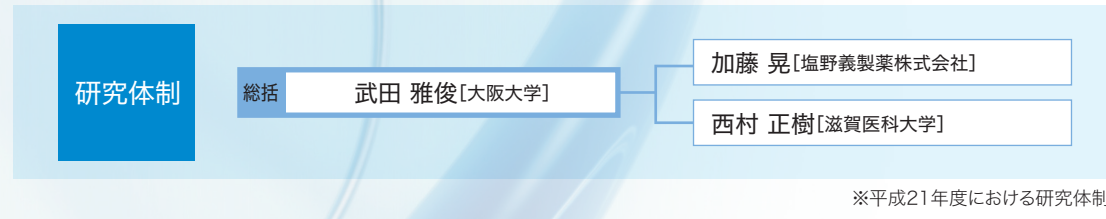


アルツハイマー病関連遺伝子解析研究に基づく 診断治療法開発

研究期間 平成17年度～平成21年度(予定)



※平成21年度における研究体制

アルツハイマー病を早期に診断し治療する

Project KeyWord

アルツハイマー病
早期診断薬開発

アルツハイマー病は症状が出た時には既に相当進行してしまっています。よって発症前に「健康診断レベル」で診断することが効果的な治療のために必要です。私達はそのような性質の画期的な診断薬の開発を進めています。

アルツハイマー病
根本治療薬開発

現在の抗アルツハイマー病薬は「症状の進行を一時的に遅らせる」もので「病気の仕組みを根本的に止める薬」の開発が必須です。私達はアルツハイマー脳に蓄積している原因物質の産生を止める安全な薬の開発を進めています。

アミロイドβ様
ペプチド

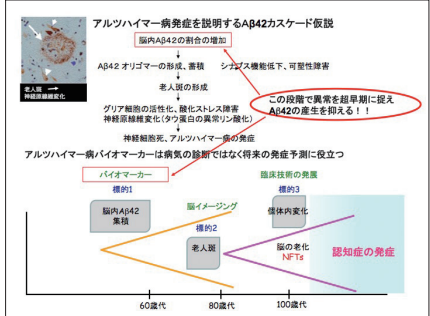
「アミロイドβ様ペプチド」とはアミロイドβと同じ仕組みで作られる物質のことで、われわれが世界に先駆け発見記述したものです。私達は新規「APL1β28」を発見し、これをバイオマーカーとして用いることを提唱しています。

1 研究の背景・意義

アルツハイマー病診断治療薬開発コンセプト

アルツハイマー病(AD)は認知症の中で最もありふれたもので、高齢に伴い発症する人の割合が急増します。このため高齢化が進む現在、早期診断・根本治療の開発が急務となっています。AD患者脳には老人斑とよばれる蓄積物が細胞外に多数認められます。老人斑の主な構成成分は42アミノ酸からなるアミロイドβ(Aβ)42で、非常に凝集しやすい性質を持っています。この老人斑形成に引き続き、神経細胞の中に神経原線維変化とよばれる蓄積が生じ、神経細胞死が引き起こされます。

重要なことは認知症状がでた時にはすでにこれらの変化が不可逆に進んだ状態にあり効果的な治療するには遅すぎることです。AD脳病変の中で早期に出現する老人斑は認知症症状を呈する数年から十数年以上前より出現するとされています。ADでは「まず何らかの原因でAβ42の量が脳内で増大し、それが凝集し始める過程を起点となり、神経原線維変化が進行して最終的には神経細胞の脱落に至る」という改編型「Aβカスケード」を我々は提唱しています。このような病気の進行を反映した変化をいち早く捉える方法の開発と、原因物質であるAβ42の産生を効率よく抑えかつ副作用の少ない薬の開発がアルツハイマー病の克服を考えたとき、最も合理的で近道であると考えています。



▲アルツハイマー病の起こる仕組みとなぜ発症前診断が開発可能でそれが根本治療薬開発とセットが必要なのかどうか？

2 研究プロジェクトの目標

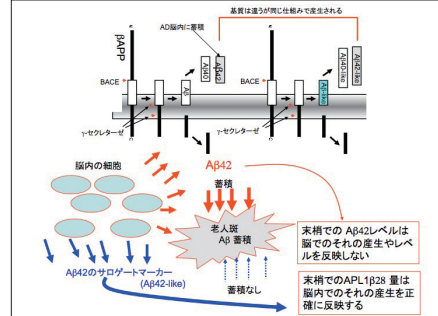
発症メカニズムに基づくAD診断・治療薬開発

我々は孤発性アルツハイマー病においてもAβ42の産生比率の増大の重要性を主張しており、そのため「Aβ42の産生をより特異的に抑える薬剤の開発」を進めることが重要だと考えています。そこで大阪大学は「Aβ42産生を止める薬剤(γセクレターゼ修飾薬)」と早期診断マーカーの開発を塩野義製薬と協力して進めています。

ADの場合、その効果的な治療のために病前診断は「車の両輪」のように必須のものです。なぜなら現在開発中のADを根本的に治そうという薬剤は全て「病気の起こる仕組みをその途中で止めてしまおう」という考えに基づいているからです。

上記のようにAβ42は病原性物質そのものですから「その量の増加が病気の発症とも直接的に関連する」はずで、最高のバイオマーカー候補です。しかし残念ながらAβ42そのものが凝集しやすいため、病気で上昇するはずのAβ42の量を脳脊髄液や血液で測定しても脳内の量を反映しないのが現実です。

私達は「Aβ42と同じ酵素の組み合わせで産生される物質がほかにも存在する(Aβ42-likeペプチド)」可能性を世界に先駆けて報告しました。この種のペプチドについて探索研究することで、Aβ42のサロゲートマーカーを用いた画期的な病前診断法を開発できるのではないかと考えました(図)。



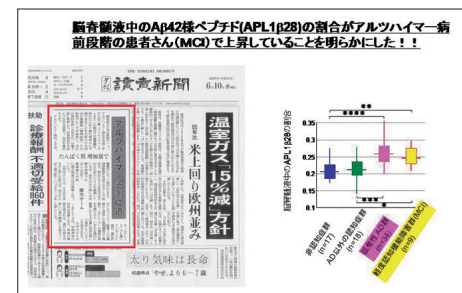
▲脳内で凝集するAβ42の代わりに凝集しないAβ様ペプチドを測定し、ADの早期診断マーカーとなるかどうか検討する。

3 研究プロジェクトの成果

ADの発症前診断マーカー開発に成功

私達は研究開始時よりADの早期診断マーカー候補としてAβ様ペプチドの同定・解析・定量を順次進めてきました。その結果、APL1β28(βAPPの類縁蛋白であるAPL1由来のAβ様ペプチド)がヒト脳内でAβ42のサロゲートマーカーであることを見出しました。予想通りAPL1β28はAβ42とは異なりADの脳内に蓄積していませんでした。

非常に重要なことですが、アルツハイマー病群では対象群に比べて脳脊髄液中のAPL1β28の比(APL1β28量/総APL1β量)が有意に増加していることを見出しました。この事実は「孤発性アルツハイマー病脳内で、Aβ42の比較的産生が上昇していることを示唆した世界初の重要な発見」です。つまり「Aβ42を産生する酵素複合体の中心的役割因子であるプレセニリンやAβ42の前駆体であるβAPPに病原性変異体を有することで生じる家族性アルツハイマー病脳で起こっているのと同じような変化(Aβ42の比較的産生の上昇)が、アルツハイマー病の90%以上を占める孤発性アルツハイマー病脳でも起こっている」ことを示しているのです。

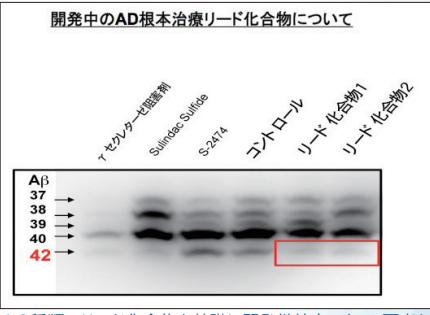


▲脳脊髄液中のAβ42様ペプチド(APL1β28)の割合がAD前段階の患者群(MCI)で既に高いことを発見し、国内外で広く報道された。

この発見は同時にADの治療薬において、我々が行っている「Aβ42産生をターゲットとする治療薬開発が最も合理的である」ことを示唆しています。

ADの根本治療薬開発研究について(1)

アルツハイマー病Aβを産生するβおよびγセクレターゼという酵素による段階的蛋白分解はβAPPの他にも数多くの蛋白質の細胞膜貫通領域の分解を担っています。中でも幹細胞の維持やリンパ球の分化などに重要な役割を果たすNotchシグナルを担う転写因子を産生しています。よってより安全な治療薬開発研究として、「アルツハイマー病Aβの産生は阻害するがNotchシグナル伝達は阻害しない」薬剤の開発に取り組みました。大阪大学で学術研究のために確立していたいくつかのアクセシ系を改良し高感度・ハイスループットアクセシ系へ転用し「塩野義製薬のもつ数十万の薬剤ライブラリー」のスクリーニングを実施しリード化合物を決定しました。さらにその過程でヒトへの経口投与が十分考慮できる上市薬剤のいくつかに抗アルツハイマー病作用があることを発見しました。また、これら膨大なデータを基にどのような生体作用や化学構造にAβ産生を阻害する作用を持ちうるか検討することで今まで学術研究だけではどうしても分からなかった重要な問題を解明しようとしています。現在、Aβ42産生を特異的に阻害する2つのリード化合物を決定し、それらの化学構造展開の結果、現時点の活性はリード化合物と比較して数十倍改善し数百nMのレベルであり今後も大幅な改善が期待でき、生体での投与実験を視野に入れて開発を継続中です。



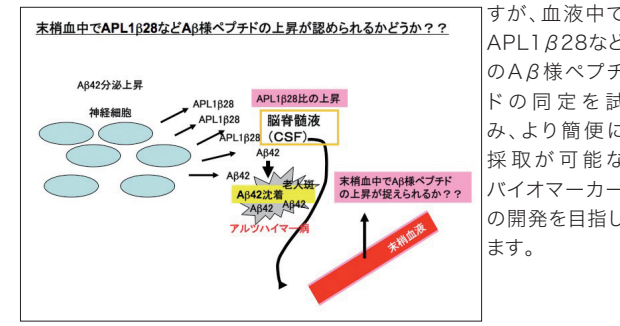
▲2種類のリード化合物を基礎に開発継続中である。両者とも培養細胞から分泌されるAβ42産生を特異的に阻害する

参考文献
Yanagida K, Okochi M, Tagami S, et al. The 28-amino acid form of an APL1-derived Aβ-like peptide is a surrogate marker for Aβ42 production in the central nervous system. *EMBO molecular medicine*, 1; 223-235, 2009
Okochi M, Fukumori A, Jiang J, Itoh N, Kimura R, Steiner H, Haass C, Tagami S, Takeda M. Secretion of the Notch-1 Aβ-like peptide during Notch signaling. *J Biol Chem*. 281:7890-7898, 2006
Tagami S, Okochi M, Yanagida K, et al. Regulation of Notch signaling by dynamic changes in the precision of S3 cleavage of Notch-1. *Molecular and Cellular Biology*, 28(1), 165-76, 2008

4 実用化にあたっての今後の課題及び研究方針

AD発症前診断マーカーの臨床応用に向けて

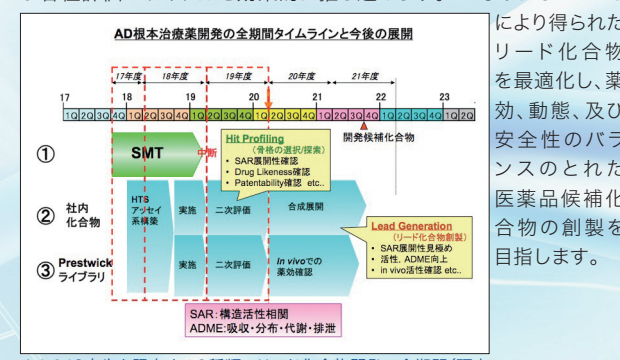
脳脊髄液中のAPL1β28がAβ42のサロゲートマーカーであり、アルツハイマー病患者では発症のずっと以前にその値が上昇していることを明らかにしました。理論上はこの診断マーカーは「アルツハイマー病の10年以上かけて徐々に進行する病理過程を直接反映する」から、「Aβ42レベルの低下」や、「タウ値の上昇」などの既存の診断マーカーよりも優れていることとなります。実際にAPL1β28の割合値が最も鋭敏なバイオマーカーであることを示すことのために、早期あるいはMCIやSCIレベルのアルツハイマー病患者髄液を研究協力施設から集め、APL1β28の割合値が最も鋭敏なバイオマーカーであることを示すことが重要です。また、前向き臨床研究を開始しただアルツハイマー病でもSCIでもMCIでもない研究協力者を募って私達自身が診察・経過観察しAPL1β28の割合値がいつ頃からどのように変化するか検討を開始します。さらに、バイオマーカーとして最も重要なこと



▲CSF中のAPL1β28を用いた臨床応用、ならびに末梢血中でAPL1β28などのAβ様ペプチドの探索を試みバイオマーカーの臨床応用に着手する。

ADの根本治療薬開発研究について(2)

平成21年度は「γセクレターゼ修飾薬」から医薬品候補化合物を見出し、これらを対象に非臨床安全試験(非GLP)を実施します。まず選抜されている2骨格に対し、溶解度と脳移行性の両立を目指した後、体内動態をより改善できるような合成展開を目指します。次にCADDを用いた3次元モデルでの重ね合わせ、ファーマコフォア情報収集を並行して行い、効率的な合成展開を実施します。また先行開発品を用いて、結合様式の解明を行い修飾作用プロファイルの特徴づけを行います。これら情報を踏まえ、骨格の優先順位付けを行い、更に合成展開を加速させます。さらに高優先順位の骨格に対して、活性、体内動態、物性に加え、安全性試験評価も行い、医薬品候補化合物としての適正を判断します。有望化合物に関しては、動物モデルを用いて脳内Aβ42産生抑制作用とともに認知機能障害の評価も行います。そして上記、合成展開により得られた情報を踏襲し、合成展開、及び各種評価のサイクルを効果的に推し進めます。このようにしてHTS



▲Aβ42産生を阻害する2種類のリード化合物開発の全期間(研究開始H17年-H21年)タイムラインとH21年以降の展開について

により得られたリード化合物を最適化し、薬効、動態、及び安全性のバランスのとれた医薬品候補化合物の創製を目指します。