

神経細胞死抑制因子を応用したアルツハイマー病治療法の開発

研究期間 平成18年度～平成22年度(予定)

研究体制

総括 松岡 正明[東京医科大学]

相磯 貞和[慶應義塾大学]

※平成21年度における研究体制

アルツハイマー病の第三世代治療法

Project
KeyWord
キーワード

アルツハイマー病

全世界で少なくとも1400万人の罹患していると推定されている最も頻度の高い認知症疾患である。神経変性疾患の一つであり、高齢化を迎えた先進国では社会問題化しつつある。

神経細胞死

神経細胞が文字通り死滅すること。アルツハイマー病では海馬や大脳皮質のコリン作動性神経細胞が未解明の原因で死滅することが認知症発症の原因とされている。

ヒューマン・コリベリン

アルツハイマー病神経細胞死を抑制する内在因子とその高活性誘導体。コリベリンは神経栄養因子ADNFとヒューマン誘導体のハイブリッドペプチド。

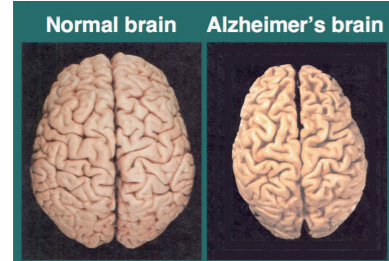
1 研究の背景・意義

アルツハイマー病克服に向けて

65歳以上の人口の約5%が罹患するとされる代表的認知症疾患アルツハイマー病(AD)の克服は健全で活力のある高齢化社会実現のための必須の要請事項である。しかしながら、現在に至るまで予後を変えうる治療法の開発は世界中の研究者や製薬企業の多大なる努力にもかかわらず成功していない。

ADの中心症状である進行性の認知症状は、海馬や大脳皮質の神経細胞が神経細胞死を起すことによって惹起される。現在まで、特徴的病理所見である老人班の主成分であるアミロイドベータ(以下Aβと略す)レベルの上昇が神経細胞死の原因であると考えられるAβ説がその病態仮説として広く信じられていて、さらにその説の展開として可溶性Aβオリゴマーによる神経伝達異常がADにおける認知症状出現に寄与するという考え方が提唱されている。その結果、現在まで専らAβの産生低下や脳内AβレベルをさげることにAD治療法開発の主眼が置かれてきた。一方、Aβに依存しないメカニズムが存在することを支持する研究結果も数多く出されており、Aβをターゲットとする治療法のみでは十分ではない可能性が指摘されている。

我々のグループはAD神経細胞死に着目し、Aβに依存するしないにかかわらずADに関連する神経細胞死を直接抑制するヒューマン(HN)の基礎研究ならびに展開研究を行ってきた。



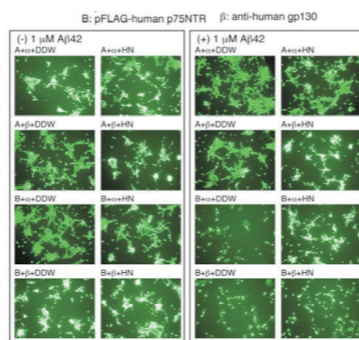
Normal brain Alzheimer's brain
▲ 著明な脳萎縮をきたしたアルツハイマー病と健康者の大脳。脳萎縮の主原因は神経細胞死である。

2 研究プロジェクトの目標

ヒューマン由来アルツハイマー病治療薬

既に我々のグループは内在性AD関連細胞死抑制因子HNがin vitroで強力なAD関連細胞死抑制効果をもつこと、かつin vivoで一部のADの動物モデルの認知症状に著効することを証明した。本研究プロジェクトは、HNを臨床応用するための前臨床試験を行うこと、および、その臨床応用を促進する条件を整えることを目的とする。

具体的な研究計画の第一として、HN誘導体ペプチド、コリベリン(CLN)の前臨床試験を行う。AD動物モデルである家族性AD関連遺伝子を高発現したマウス(TG2576など)を用いてHN誘導体の認知症状に対する有効性を確認し、種々のペプチド投与方法の有効性の比較検証、安全性試験及び脳内でのペプチドの代謝過程を検討する。第二に、経口投与可能なHN受容体を刺激する神経細胞死抑制小分子のスクリーニングおよび同定作業を行う。第三に、内因性HNペプチドの精製あるいはその他のHN様分子の同定すること、ならびにHN受容体と下流シグナル経路の基本性格を解明する研究を行い、HNが生理的なAD関連神経細胞死抑制因子であることを確認する作業を行う。以上の研究はHNの臨床応用に新たな手段と根拠を与えるのみならず、治療薬としてのHNの効果及び副作用の予測に重要な情報を与える。

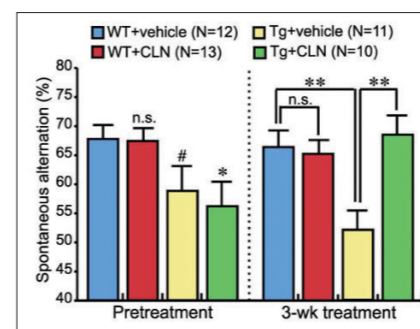


▲ HNによるAβ42誘導性のSH-SY5Y細胞(神経芽細胞腫/p75NTR発現)の細胞死抑制とgp130依存性。カルセイン陽性生存細胞。

3 研究プロジェクトの成果

コリベリンはADマウスモデルに著効する

最強HN誘導体CLNが transgenic mouse(Tg2576)モデルを含む全ての形式のADマウスモデルに有効であることを複数の記憶検証行動試験により示した。また、投与方法としてCLNの腹腔内投与や静脈投与に加えて経鼻投与の有効性を確立した。マウスを用いたCLNの

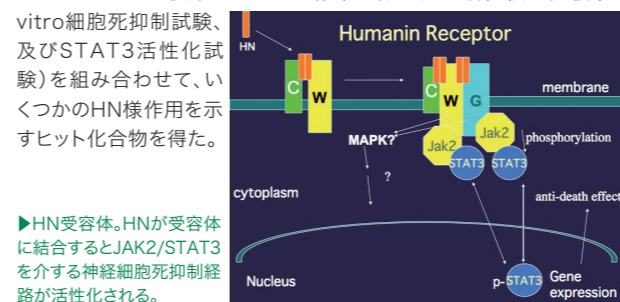


安全性試験のうち反復投与試験ならびに一部の遺伝毒性試験を行い、CLNは極めて毒性が少ないことを示した。

◀ CLN 経鼻投与(1nmol/day, 21 days)によるTg2576(Tg)マウス(15ヶ月齢)の認知症状を改善効果。Y迷路テスト。

ヒューマン経口薬の開発

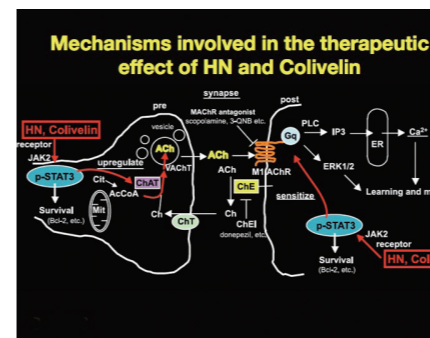
HN受容体がgp130/CNTFR/WSX-1の3サブユニットからなるIL-6受容体 familyに属することを発見した。この知見を基礎として、HNによるサブユニット再構成実験を確立した。さらにこの技術をもとにしてin silico検索による選定作業を行い、HN活性検定試験(in vitro細胞死抑制試験、及びSTAT3活性化試験)を組み合わせて、いくつかのHN様作用を示すヒット化合物を得た。



▶ HN受容体。HNが受容体に結合するとJAK2/STAT3を介する神経細胞死抑制経路が活性化される。

ヒューマン作用発現メカニズムの発見

HN受容体ならびに受容体の亜型を発見した。さらに、ADモデルにおいて、神経機能異常による記憶障害をコリベリンがHN受容体を介して改善するメカニズムを明らかにした。この発見はHN/CLNがAD関連神経細胞死のみならず、ADに関連神経機能異常に対しても効果を示すことを確立し、本治療法に新たな付加価値を加えた。またAD神経細胞死にTGFβ2が関与することのin vivoにおける証拠の一端を得た。最後に、HN抗体とクロスするHN類似ペプチドの精製分離同定を行い、HN以外のHN様作用を示す内在性蛋白質を同定した。



▲ HN/CLNはpresynapseではアセチルコリン放出レベルを増加させ、postsynapseではM1受容体のシグナルを増強する。

参考文献

Hashimoto Y, Kurita M, Aiso S, Nishimoto I, Matsuoka M. Humanin inhibits neuronal cell death by interacting with a cytokine receptor complex or complexes involving CNTF receptor alpha/WSX-1/gp130. *Mol. Biol. Cell* 2009; 20:2864-73

Chiba T, Yamada M, Sasabe J, Terashita K, Shimoda M, Matsuoka M, Aiso S. Amyloid-beta causes memory impairment by disturbing the JAK2/STAT3 axis in hippocampal neurons. *Mol Psychiatry*. 2009; 14:206-22

Yamada M, Chiba T, Sasabe J, Terashita K, Aiso S, Matsuoka M. Nasal Colivelin Treatment ameliorates Memory Impairment Related to Alzheimer's Disease. *Neuropsychopharmacology* 2008 33; 2020-2033

4 実用化にあたっての今後の課題及び研究方針

ペプチド製剤(コリベリン)の前臨床試験

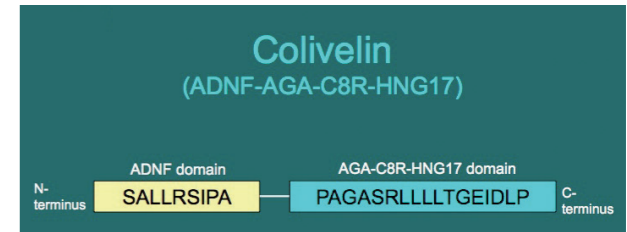
第一にCLNの臨床応用を促進するため、以下のCLN前臨床試験を継続して行う。

まず、ごく最近開発された軽度だが脳神経細胞死を伴うと言われているAD関連動物モデルを用いて、CLNによる脳萎縮抑制効果を検証する。また、我々が発見したAD関連神経細胞死誘導因子のひとつであるTGFβ2を直接マウス脳内に注入して細胞死を起こす系を用いて、CLNのin vivoにおける細胞死抑制作用を検証する。

またCLNの安全性試験に関しては、CLNの安全性を検証する前臨床試験を継続する。

さらに、intactなCLNが脳内移行していることを直接的に示すCLNの薬物動態研究を複数の方法(アイソトープあるいは経口ラベルあるいはELISA)等の方法を駆使して行う。

最後に、CLNの有効性を修飾する内在因子の解析をする。

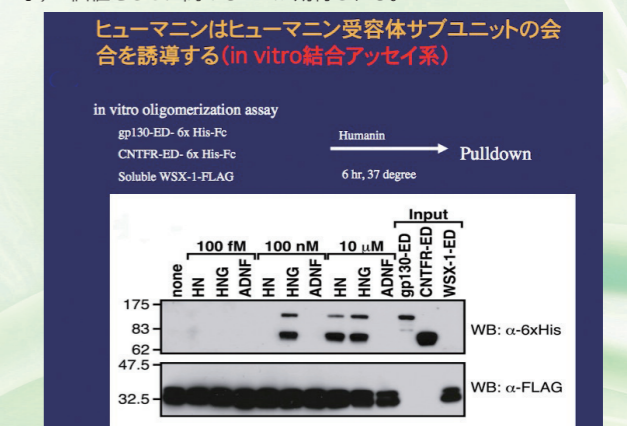


▲ CLNの構造。Aβによる神経毒性を抑制する因子として同定された神経栄養因子ADNFと高活性HNであるAGA-C8R-HNG17のハイブリッドペプチド。

経口薬の開発ならびに基礎研究

第一に、HN作用を示すヒット化合物の構造変換作業をさらに進め、前臨床試験が可能な活性レベルに到達することをめざす。現在までの構造変換実験の結果、これらヒット化合物において論理的な構造活性相関が得られており、今後続けて十分な構造改変作業がなされればこの試みは成功する可能性が高い。

第二にHNの臨床応用を支える基礎研究をさらに進める。まず、懸案のHN以外のHN様作用を持つ内在分子の同定をさらに継続する。この発見はより抗体産生の少ないHN様作用を有するペプチド製剤開発に道を開く可能性を秘めている。さらに、AD神経細胞死のメカニズム仮説としてTGFβ2仮説の妥当性を検証する研究をさらに進める。以上の研究で得られた知見は臨床応用にあたってのヒューマンに大きな付加価値をもたらす、本プロジェクトにおける創薬シーズ(CLN, HN小分子)の価値をさらに高めることが期待される。



▲ HNによるin vitro HN受容体サブユニットの三量体形成誘導。