

## 論文の内容の要旨

論文題目 ドラッグ・リポジショニングによる筋萎縮性側索硬化症に対する新規治療薬の探索

氏名 藤野 悟央

### 1 序論

神経変性疾患とは慢性進行性の経過で特有の領域に選択的な神経変性・脱落をきたす疾患であり、遺伝的要因と環境要因が発症に関与すると考えられている。神経変性疾患において、これまで、家族歴を有する遺伝性疾患を中心に遺伝的要因（疾患遺伝子）が明らかにされてきたが、ゲノム解析技術の進歩により、近年、家族歴のない孤発性疾患においても遺伝的要因（リスク遺伝子）が明らかになりつつある。しかし、これらのリスク遺伝子がどのように病態に関与するか詳細な分子機構は不明な点が多く、創薬へつなげるのが困難という課題が残されている。

ドラッグ・リポジショニングとは、すでに承認されている既存薬や開発中止となった薬物から、本来対象としていた疾患以外の疾患に対して新たに薬効を見出し、研究開発を進める創薬手法である。本手法は、治験失敗の確率が低い、時間を節約できる、費用を節約できる、などの利点があり、有用であると考えられている。

近年、多因子疾患である関節リウマチにおいて、ゲノムワイド関連解析（genome-wide association study, GWAS）で明らかになった遺伝的要因（疾患感受性遺伝子）の情報に、タンパク質間相互作用（protein-protein interaction, PPI）データベースやドラッグデータベースなどの情報を組み合わせ、ドラッグ・リポジショニングを行った、ゲノム創薬の新手法が報告された（Okada Y, *et al. Nature*, 2014）。この手法は *in silico drug screening* と呼ばれ、多因子疾患において詳細な病態機序が不明でも創薬につながる可能性があることを示したものである。そこで本研究は、孤発例が大部分を占める神経変性疾患である多系統萎縮症（multiple system atrophy, MSA）、筋萎縮性側索硬化症（amyotrophic lateral sclerosis, ALS）、アルツハイマー病（Alzheimer's disease, AD）を対象に *in silico drug screening* を実施し、効果が期待できる治療薬候補を探索することを目的とした。さらに、既存の治療薬の作用機序から、標的とすれば患者での有効性が期待できる病態（グルタミン酸および活性酸素種による神経毒性）が明らかになっている ALS を対象に、*in silico drug screening* で見出した治療薬候補を用いて *in vitro drug screening* を行い、細胞レベルで有効性を示す既存の医薬品を探索することを目的とした。

### 2 *in silico drug screening* の方法

MSA, ALS, AD において、データの信頼性が高いと判断した主要な文献を検索し、ゲノム解析で明らかとなったリスク遺伝子を解析に使用した。

PPI データベース（InWeb, PINA）を使用し、各リスク遺伝子が発現するタンパク質に結合するタンパク質をコードする遺伝子（PPI 遺伝子）を同定した。そして、ドラッグデータベース

(DrugBank) に登録されている PPI 遺伝子を抽出し、PPI 遺伝子が発現するタンパク質 (PPI 遺伝子産物) を標的とする既存の承認医薬品を同定した。これらの既存薬の中から、各疾患に対する治療薬として効果が期待できるものを、文献検索により見出した。

### 3 *in silico* drug screening の解析結果

MSA における *in silico* drug screening の解析から、脊髄小脳変性症治療薬 (Protirelin) やパーキンソン病治療薬、起立性低血圧治療薬など、MSA 患者の診療で実際に使用されている治療薬を複数見出した。ALS においては、Perampanel や Bosutinib など、非臨床試験で有効性が示され、ALS 患者に投与されている複数の治験薬を見出した。AD では、AD に対する承認医薬品である Donepezil および Memantine や、AD の病態モデルの実験系で有効性が確認されている既存薬を複数見出した。これらの結果から、MSA、ALS、AD において、本スクリーニング手法が妥当であることが確認された。一方、各疾患において、異なる疾患の病態モデルで神経保護効果や細胞保護効果を有することが報告されている既存薬も複数見出した。これらの既存薬は、目的とする疾患の病態モデルの実験系や患者で有効性が認められれば、新規治療薬につながる可能性がある。

### 4 ALS における *in vitro* drug screening の方法と結果

神経芽細胞腫のセルラインにおいてグルタミン酸および活性酸素種刺激で誘導される細胞死に対し、ALS の *in silico* drug screening で見出した医薬品が保護的に作用するか否かを、MTS アッセイによる細胞の生存率で評価した。その結果、いずれの刺激においても生存率を改善する、神経保護効果を有する医薬品を発見した。

## 5 考察

### 5.1. *in silico* drug screening の長所と限界

*in silico* drug screening は、これまで創薬のアプローチが困難であった多因子疾患に対し、治療薬候補を見出すことが可能である。本手法は、PPI データベースを用いた解析のプロセスを経ることで、臨床に基づいたリスク遺伝子の情報を標的タンパク質 (PPI 遺伝子産物) に付加することができ、治療薬探索を目的として標的タンパク質を選択する際に、科学的な妥当性が増すと考えられる。さらに、本手法は、ドラッグデータベースに登録されている膨大な承認医薬品の中から、治療薬候補を効率的に絞ることが可能である。一方、見出した治療薬候補の中には、既に対象疾患の実験系で解析・報告されているものも存在し、その場合は新規性に欠けるという問題がある。また、本手法で見出された治療薬候補が、実際に対象疾患の病態モデルの実験系や患者において有効性を認めるかは、不確実である。さらに、データベースの信頼性にも注意を払う必要がある。

### 5.2 *in vitro* での実験系の限界

本研究で実施した *in vitro* での実験系が ALS 病態を模倣したモデルとして妥当であったか、

既存の ALS 治療薬である Riluzole および Edaravone を **positive control** として使用し、確認する必要がある。さらに、*in silico drug screening* で見出した神経保護効果を有する医薬品が、他の ALS 病態モデルを模倣した実験系でも有効性を示すか、検討する必要がある。

## 6. 結語

本研究において、有効な疾患修飾薬がない神経変性疾患である MSA, ALS, AD を対象に *in silico drug screening* を実施し、本手法の妥当性を確認するとともに、新規治療薬の候補として期待が可能な既存薬を複数見出した。さらに、既存の治療薬の作用機序から、標的とすれば患者で有効性が期待できる病態が明らかになっている ALS を対象に、*in vitro drug screening* を行い、ALS 病態を模倣した実験系で神経保護効果を有する医薬品を発見した。