

論文の内容の要旨

論文題目 アルツハイマー病モデル動物の認知機能に対する γ -セクレターゼモジュ
レーター薬の改善効果に関する研究

氏 名 三 谷 泰 之

研究背景

アルツハイマー病 (Alzheimer's disease: AD) は高齢者を中心とした進行性の脳変性疾患であり、その中核症状は認知障害である。また周辺症状として、抑うつ、幻覚、妄想、人格変化、行動異常などが現れ、介護者にも大きな負担が強いられる。現在 AD に使用できる薬剤は、一時的に症状を緩和する対症療法薬のみであり、本質的に病態の進行を抑制する治療薬はない。今後、世界規模での高齢化に伴い患者数の急激な上昇が予測されており、根本的な治療薬を開発することは社会的にも急務である。

AD の発症原因として最も有力な分子がアミロイド β ペプチド ($A\beta$) である。 $A\beta$ は AD に特徴的な病理像である老人斑の主要構成成分であり、中でも 42 残基からなる $A\beta_{42}$ は、量的に多い $A\beta_{40}$ よりもオリゴマーや凝集体を形成しやすく、これがシナプス機能障害を引き起こすと考えられている。従って $A\beta_{42}$ の産生を抑制することは、AD の発症および進行を抑制するアプローチの一つとして有望視されている。

γ -セクレターゼは $A\beta$ 生成プロセスの最終段階を担う酵素で、その阻害薬 (γ -secretase inhibitor: GSI) によって $A\beta$ 産生を抑制できることが知られているが、同時に Notch 蛋白の切断阻害により重篤な副作用を引き起こすことが問題とされ、これをできるだけ切り離れた GSI を創出するための研

究が精力的になされきた。一方、 γ -セクレターゼモジュレーター薬 (γ -secretase modulator: GSM) は、基質の切断位置を数残基シフトさせるだけで、酵素の切断活性そのものには影響を与えないため、Notch 切断を阻害することなく、 $A\beta_{42}$ の産生を抑制することができる。しかし、これまで行われてきた GSI、GSM 研究はもっぱら $A\beta$ 産生抑制作用、もしくは Notch 切断阻害作用に着目したものであり、結果として本来期待されるべき認知機能改善作用についてはほとんど検討されてこなかった。さらにこれらの研究は、AD 患者の脳内ではすでに無数のアミロイド斑が沈着しているにも関わらず、アミロイド斑を形成しない正常動物、もしくは形成前の若齢モデル動物を用いた検討がほとんどであった。

本研究では、GSI および GSM の認知機能に対する作用を中心とした検討を行い、その研究成果を記述した。第一章では、認知機能に対する GSI と GSM の作用の違いを明らかにし、その機序について考察した。第二章では、脳内アミロイド斑沈着後のモデル動物に対する GSM の薬理効果について検討し、AD 治療薬としても可能性について考察した。

第一章 AD モデルマウスおよび正常マウスの認知機能に対する GSI、GSM の薬理効果に関する検討

GSI および GSM の $A\beta$ 低下作用についてはこれまで数多くの研究、報告がなされてきたが、その結果として本来期待されるべき認知機能改善作用についてはほとんど検討されてこなかった。そこで本研究では、GSI として LY450139 (semagacestat) および BMS-708163 (avagacestat) を、薬効の強い第二世代 GSM として GSM-2 を用い、AD モデルマウス (Tg2576 マウス) および野生型マウスの空間作業記憶能力に対する薬理効果を Y-maze 行動試験により評価した。その結果、GSI は 5.5 ヶ月齢 Tg2576 マウスへの 8 日間反復投与において、脳内 $A\beta$ 量を顕著に低下させたにも関わらず、その認知機能障害は改善しないことが判明した。さらに、まだ障害の出していない 3 ヶ月齢 Tg2576 マウスや野生型マウスに対しては、GSI がむしろその正常認知機能を障害することを見出した。このとき、 γ -セクレターゼの基質としてシナプス機能との関連が示唆されている Notch、N-cadherin および EphA4 のプロセッシングについては、少なくとも脳内では変化が見られなかったのに対し、 $A\beta$ 生成の基質となる β -CTF については脳内で顕著な上昇が認められ、特に海馬顆粒細胞の苔状繊維神経終末に高い蓄積が認められた。一方、GSM-2 は野生型マウスの正常記憶機能を障害することはなく、むしろ 5.5 ヶ月齢 Tg2576 マウスの認知機能障害を有意に改善した。このとき脳内の可溶性 $A\beta_{42}$ は低下を示し、 $A\beta_{40}$ および β -CTF 量には変化は見られなかった。

以上の結果に加え、GSI による認知機能障害作用が、野生型マウスより β -CTF 蓄積量の多い 3 ヶ月齢 Tg2576 マウスで 10 倍も強かったこと、複数の文献で、 β -CTF が神経細胞毒性やシナプス障害作用を有する可能性が示唆されていることから、GSI は $A\beta$ 産生阻害と引き換えに β -CTF を上昇させたことによって、かえって認知機能障害を引き起こしたという可能性が推察された。このことは本検討後に発表された、LY450139 および BMS-708163 の臨床試験で認知機能の悪化が認められたことと深く関連するものと考えられる。さらに本検討では、GSM による脳内可溶性 $A\beta_{42}$ 低下によって AD モデルマウスの認知機能障害が改善されることを初めて明確にし、可溶性 $A\beta_{42}$ の認知機能に対する障害作用を裏付けるとともに、GSM の AD 治療薬としての可能性を示した。

第二章 脳内アミロイド斑沈着後の AD モデルマウスに対する GSM の薬理効果に関する検討

GSI および GSM の A β 低下作用についてはこれまで数多くの研究、報告がなされてきたが、そのほとんどはアミロイド斑を形成しない野生型、もしくは形成前の若齢モデル動物を用いたものであった。アミロイド斑は可溶性 A β 42 のもう一つの供給源となりうることが示唆されており、GSM の AD 治療薬としての可能性を議論する上では、アミロイド斑沈着後のモデル動物に対する効果を検証することが必要である。そこで、アミロイド斑の沈着量が異なる 10、14 および 18 ヶ月齢の Tg2576 マウスを用いて GSM-2 の薬理効果を検討したところ、ほとんど沈着の見られない 10 ヶ月齢でのみ脳内可溶性 A β 42 の有意な低下が認められた。14 および 18 ヶ月齢ではアミロイド斑の沈着量増大に伴い、ベース（薬剤投与前）の可溶性 A β 42 量も大幅に増大していたため、新規の A β 42 生成抑制を機序とする GSM-2 の効果が検出できなかったものと考えられる。実際、安定同位体標識法を用いて GSM-2 投与後に脳内で新規合成された A β 42 のみを定量したところ、10 と 18 ヶ月齢でほぼ同程度の有意な生成量の低下が認められた。一方、Y-maze 試験では、いずれの月齢においても GSM-2 によってその認知機能障害が有意に改善されたことから、Tg2576 マウスの認知機能障害には、新規に合成された A β 42 が重要な役割を果たしていると推察された。A β 42 産生抑制作用の弱い GSM-2 のエナンチオマーでは改善効果が認められなかったことも、この推察を支持するものといえる。

本検討の結果、Tg2576 マウスに対してアミロイド斑沈着後から GSM の投与を開始しても、その認知機能障害を改善できることが初めて明らかとなった。細胞内で合成された A β 42 は神経活動依存的に神経終末から放出されることが知られており、GSM-2 はこの A β 42 を減少させることにより、シナプス機能障害を抑制したと考えられる。AD 患者の脳においても、可溶性 A β 42 によるシナプス機能障害が生じていると考えられていることから、GSM の臨床効果が期待される。

総括

本研究では、GSI および GSM の認知機能に対する作用を中心とした検討を行い、1) GSI の反復投与によってマウスの認知機能が障害されること、2) GSM では認知機能は障害されず、むしろ AD モデルマウスの認知機能障害を改善させること、3) GSM は脳内アミロイド沈着後の AD モデルマウスに対しても、その認知機能障害を改善させること、を明らかにした。

本研究では GSI による認知機能障害の機序として β -CTF 蓄積の可能性を提唱した。その証明にはさらなる検討が必要であるが、本研究後に、LY450139 および BMS-708163 の臨床試験で認知機能の悪化が認められたことは、本研究の臨床予測性を示唆するものであり、逆に β -CTF 蓄積を起こさない GSM の臨床効果を期待させるものといえる。また本研究では、AD 患者のように既にアミロイド斑が沈着しているモデルマウスにおいても、新たな A β 42 産生を抑制することでその認知機能障害を改善しうることを示した。モデルマウスでは AD で見られる神経細胞死までは模倣できておらず、必ずしも患者での効果を保証するものではないが、シナプス機能改善という観点では一定の効果が得られる可能性はあると考えられる。現在、第二世代 GSM の臨床試験が進行中であり、今後その可能性が検証されることが期待される。