

<シンポジウム 4-3>アルツハイマー病の診断と治療開発

γセクレターゼ活性制御によるアルツハイマー病治療

富田 泰輔

要旨：アルツハイマー病患者脳に蓄積する老人斑，神経原線維変化の主要構成成分はアミロイドβ蛋白 (Aβ) およびタウ蛋白である。遺伝学・生化学的解析から，Aβ産生および蓄積過程がAD発症機序に深く関与していることが示唆されており，アルツハイマー病発症機序におけるアミロイド仮説として広く受け入れられている。そのため，γセクレターゼ活性制御による脳内Aβの存在量および蓄積過程の制御は，発症機序に基づいた disease-modifying therapy となることが期待されている。

(臨床神経, 49 : 845-847, 2009)

Key words : アルツハイマー病, アミロイドβ蛋白, γセクレターゼ阻害剤, γセクレターゼモジュレーター

はじめに

アルツハイマー病 (AD) の病理学的特徴としては，大脳皮質における神経細胞やシナプスの脱落に加えて，老人斑，神経原線維変化の出現が知られている¹⁾。生化学的・分子生物学的検討から，老人斑の主要構成成分がアミロイドβ蛋白 (Aβ) であること，Aβはその前駆体蛋白 Amyloid β precursor protein (APP) よりβおよびγの二つのセクレターゼにより神経細胞より常に産生・細胞外に分泌されることが明らかとなっ

た (Fig. 1)。そして常染色体優性遺伝形式を示す家族性AD (Familial AD : FAD) の解析から，APPそのもの，もしくはγセクレターゼの活性中心サブユニットであるプレセニリン遺伝子上の点突然変異がFADに連鎖することが発見された。Aβには大きく分けてC末端長の2アミノ酸ことなるAβ40とAβ42の二つの分子種が知られ，とくにAβ42の凝集性がいちじるしく高いことが知られていたが，これらFADに連鎖する遺伝子変異の多くはAβ42産生を特異的に上昇させるものであった。さらにAβ42が脳内に早期より優位に蓄積を開始することが明らかとなり，「Aβの凝集性」と「AD発症

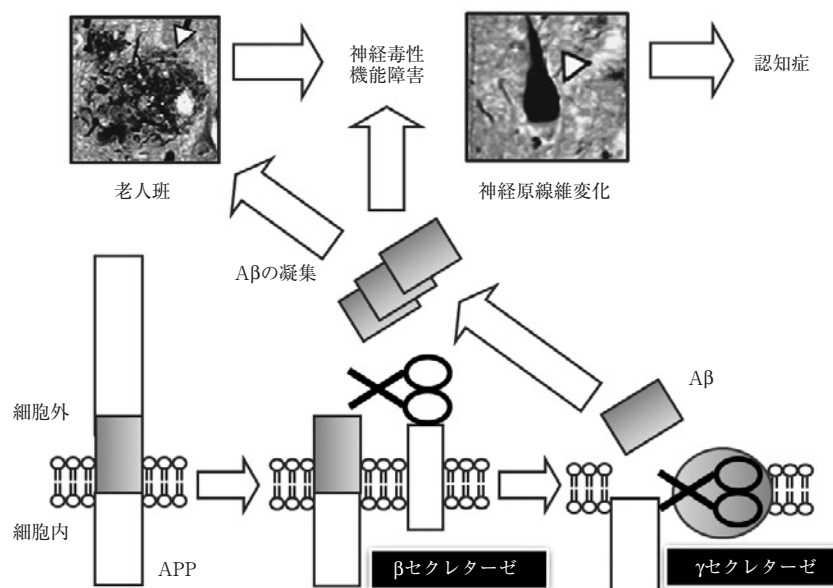


Fig. 1 APPの代謝とアルツハイマー病

Aβ (黒四角) はAPPの細胞外部分から膜貫通領域の一部に相当する。まずβセクレターゼによって内腔側・細胞外側で切断を受けたのち，APPのC末端断片がγセクレターゼによって切断を受け，Aβが分泌される。細胞外に蓄積したAβがシナプス・神経細胞障害を惹起し，アルツハイマー病発症にいたる。

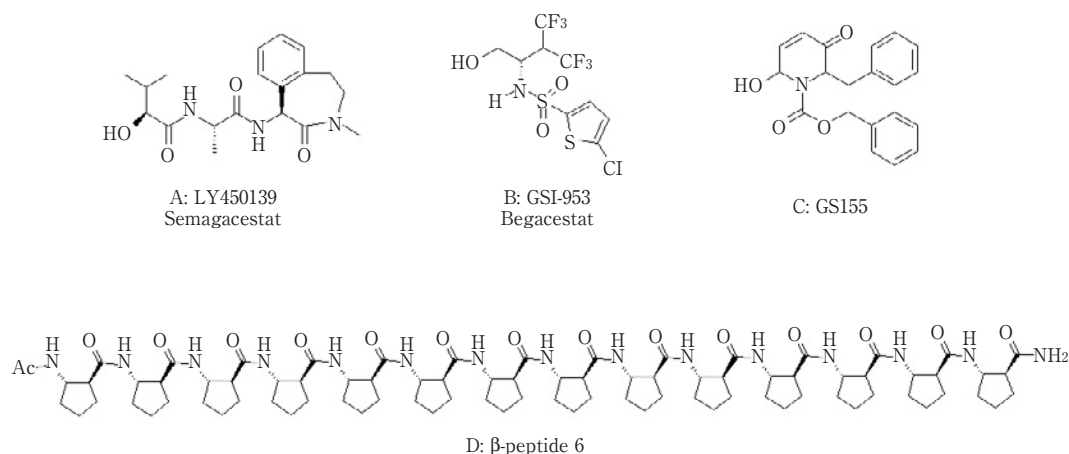


Fig. 2 代表的な GSI の構造式
A: LY450139, B: GSI-953, C: GS155, D: β -peptide 6

機序」に相関があることが明確となった。最終的には、FAD 変異を持つ APP 過剰発現トランスジェニックマウスにおいて、アミロイド斑の蓄積・学習記憶障害が観察され、AD の発症機序として、 $A\beta$ 産生・分解バランスの異常による脳内濃度上昇と、それに続く $A\beta$ 凝集・蓄積などのプロセスが神経毒性を發揮し、最終的に神経細胞の変容をもたらす AD 発症を惹起する、「アミロイド仮説」が成立するにいたった (Fig. 1)。

γ セクレターゼ活性制御

γ セクレターゼに関する創薬研究が展開した理由の一つとして、数多くの γ セクレターゼ阻害剤 (γ -secretase inhibitor ; GSI) が比較的容易に同定されたことに起因する²³⁾。Eli Lilly 社により開発された GSI である LY450139 (Fig. 2A) は血漿および脳脊髄液中でのアミロイド量低下が報告され、現在第 III 相治験が進められている。しかし多くの低分子量 GSI は APP のみならず Notch シグナリングを抑制する。Notch は細胞分化や運命決定に重要な役割を果たす受容体であるため、単純な γ セクレターゼ阻害は Notch シグナルの阻害により副作用を惹起する。この Notch シグナル阻害による副作用を回避するため、 $A\beta$ 産生を優位に阻害する GSI が第二世代化合物「Notch-sparing GSI」として期待されている。ごく最近、Wyeth が第 I 相治験の結果を報告した GSI-953 (Begacestat) (Fig. 2B)、Pfizer の PF-3084014、Bristol Myers Squibb の BMS-708163 についても Notch-sparing 効果をもちながら $A\beta$ 産生を抑制することが報告されており、それぞれ治験が進められている。

これら GSI が持つ特異性を支える分子機構の理解は、今後の AD 創薬を考える上でも重要である。われわれはとくにジペプチド型 GSI および Notch-sparing GSI の標的分子の同定を主たる目的として、これらの化合物を基にした光親和性標識プローブを作出した。光親和性標識実験は UV に反応シラジカルを形成するベンゾフェノンなどの光官能基を利用し化

合物と標的分子を架橋し、さらにビオチンなどの精製可能な官能基により化合物・標的分子複合体を単離同定する方法である。本手法により、これら GSI の標的分子が PS であることをみだしている⁴⁾⁵⁾。今後さらに結合様式と PS の構造活性相関を解析することにより、高活性な Notch-sparing GSI の開発につながることを期待される。

AD 発症リスクを低下させることが疫学的に示されてきた非ステロイド性抗炎症剤 (NSAIDs) の一部が、 $A\beta_{42}$ 産生のみを特異的に阻害する一方で、 $A\beta_{40}$ 産生や Notch シグナルを遮断しないことが報告された⁶⁾。このような化合物は γ 切断部位特異的に γ セクレターゼ活性を「調節」することから、 γ セクレターゼモジュレーター (γ -secretase modulator ; GSM) と呼ばれ、Notch 阻害による副作用を完全に回避できる治療薬として開発が進められている。残念なことに NSAIDs 型 GSM の一つ R-Flurbiprofen (Tarenflurbil) については、第 III 相治験において有意な治療効果がみられず開発が中止となった。その原因としては弱い阻害能と低い脳移行性が考えられている。最近 NSAIDs とまったくことなる骨格を持つ強力な非 NSAID 型 GSM の開発が進められている。NSAIDs 型 GSM についてはやはり光親和性標識実験により、基質である APP に直接作用する、「Substrate targeting GSM」である可能性が明らかとされている⁷⁾。

われわれは有機化学研究者との共同研究を積極的に進め、天然物全合成過程中間体ライブラリーを独自に作出、スクリーニングを進め、アカデミア発のオリジナル骨格を持つ GS155 (Fig. 2C)、GS416 を同定している⁸⁾。一方ラショナルデザインという考え方から、 γ セクレターゼ基質認識部位を標的とした GSI の開発を目指し、非天然アミノ酸である β ペプチドをもちいたフォルダマーデザインを行った⁹⁾。フォルダマーとは自ら特定の立体構造に折りたたまれる特性を持つ超分子の呼称である。 α ヘリックス構造をミミックする β ペプチドフォルダマー (Fig. 2D) は非常に強力な GSI として作用し、かつ興味深いことに Notch-sparing 効果を發揮した。今後このフォルダマーを基にした構造展開により基質特異的な

GSIの開発につながるものと期待している。

おわりに

γ セクレターゼ活性を直接制御する化合物による disease-modifying therapy は、根本的治療薬としての可能性が期待されている。今後有機化学・酵素生化学・分子細胞生物学・薬理学・構造生物学といった従来の解析に加え、ケミカルバイオロジーなどの新しい研究を加えた、様々な観点からのアプローチにより、AD治療薬の開発にいたることが期待されている。

文 献

- 1) Haass C, Selkoe DJ: Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid β -peptide. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8: 101—112
- 2) Tomita T: Secretase inhibitors and modulators for Alzheimer's disease treatment. *Expert Rev Neurother* 2009; 9: 661—679
- 3) Krefl AF, Martone R, Porte A: Recent Advances in the Identification of γ -Secretase Inhibitors To Clinically Test the Abeta Oligomer Hypothesis of Alzheimer's Disease. *J Med Chem* 2009 in press
- 4) Morohashi Y, Kan T, Tominari Y, et al: C-terminal fragment of presenilin is the molecular target of a dipeptidic γ -secretase-specific inhibitor DAPT (*N*-[*N*-(3,5-difluorophenacetyl)-*L*-alanyl]-*S*-phenylglycine *t*-butyl ester). *J Biol Chem* 2006; 281: 14670—14676
- 5) Fuwa H, Takahashi Y, Konno Y, et al: Divergent synthesis of multifunctional molecular probes to elucidate the enzyme specificity of dipeptidic γ -secretase inhibitors. *ACS Chem Biol* 2007; 2: 408—418
- 6) Weggen S, Eriksen JL, Das P, et al: A subset of NSAIDs lower amyloidogenic A β 42 independently of cyclooxygenase activity. *Nature* 2001; 414: 212—216
- 7) Kukar TL, Ladd TB, Bann MA, et al: Substrate-targeting γ -secretase modulators. *Nature* 2008; 453: 925—929
- 8) Takahashi Y, Fuwa H, Kaneko A, et al: Novel γ -secretase inhibitors discovered by library screening of in-house synthetic natural product intermediates. *Bioorg Med Chem Lett* 2006; 16: 3813—3816
- 9) Imamura Y, Watanabe N, Umezawa N, et al: Inhibition of γ -secretase activity by helical β -peptide foldamers. *J Am Chem Soc* 2009; 131: 7353—7359

Abstract

Alzheimer's disease treatment by inhibition/modulation of the γ -secretase activity

Taisuke Tomita, M.D.

Department of Neuropathology and Neuroscience, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo

Several lines of evidence indicate that the production and deposition of amyloid- β peptides (A β) contribute to the etiology of Alzheimer's disease. Inhibition or modulation of γ -secretase, that is a responsible enzyme for the A β production, is one of the plausible therapeutics for Alzheimer's disease. However, the γ -secretase is an unusual aspartic protease that cleaves the scissile bond within the transmembrane domain of several membrane protein including APP and Notch receptor. Thus, development of drugs that regulate the production of A β without affecting the Notch signaling is now demanding. Extensive drug screening and development allow that some secretase inhibitors and modulators have advanced into late-phase clinical trials, whereas the molecular mechanisms of Notch-sparing effect by these compounds effect still remain unknown. Identification of the molecular targets and mechanisms of these compounds using chemical biological approaches is currently underway. This review focuses on the recent development of inhibitors/modulators and provides a direction for the effective treatment of AD through inhibition/modulation of the γ -secretase activity.

(*Clin Neurol*, 49: 845—847, 2009)

Key words: Alzheimer's disease, Amyloid β protein, γ -secretase inhibitor, γ -secretase modulator