

＜シンポジウム (1)—1—3＞脳卒中：脳保護研究の現状と展望 (Neuroprotection-Update)

HIF 活性化・Akt 活性化を標的とした新規脳保護薬の開発

瀧澤 俊也¹⁾ 永田栄一郎¹⁾ Hongbo R. Luo²⁾

(臨床神経 2012;52:911-912)

Key words : HIF, Akt, 脳虚血, 脳保護薬

はじめに

超急性期脳梗塞に対して、発症3時間以内の rt-PA 静注療法、発症8時間までの MERCI や PENUMBRA などの血管内治療が臨床でおこなわれている。しかし、脳虚血という複雑な神経細胞死のメカニズムに根ざした脳保護療法は、本邦で市販されているエダラボンに限られている。基礎的研究においては脳虚血の病態解明が徐々に進み、臨床応用に結びつくいくつかの新規脳保護薬が開発されつつある。われわれはこれまで Advanced Glycation End Products (AGE) 産生阻害薬¹⁾、Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) 阻害薬^{2,3)}、アンギオテンシン II 受容体拮抗薬構造類似薬⁴⁾などの新規脳保護・抗血栓薬の開発を手がけてきた。今回われわれは臨床応用を視野に入れ、新たに Hypoxia inducible factor (HIF) 活性化ないしは Akt 活性化を標的とした新規脳保護薬の開発を進めたので報告する。

1) Prolylhydroxylase (PHD) 阻害薬⁵⁾

生体には虚血に対する自己保護機構があり、転写調節因子である Hypoxia inducible factor (HIF) が活性化することにより、その下流に位置する遺伝子群 (erythropoietin, glut-1, VEGF, HO-1 など) が臓器保護作用をもたらす。当時東海大学所属で現東北大学分子病態治療学分野宮田敏男教授、東海大学医学部分子生命科学平山令明教授とともに、われわれは脳虚血に対する抵抗性を高める目的で、HIF 分解に関与する PHD の活性を抑制する薬剤の探索に取り組み、structure based drug design と vitro biological assay を組み合わせて探索した結果新規化合物をみいだした。低酸素環境負荷後の培養細胞系において、新規 PHD 阻害薬 TM6008 の添加は HIF や VEGF 発現の増加、TUNEL 陽性細胞の抑制効果をきたした。Gerbil 前脳虚血負荷モデルで検討した結果、TM6008 は血管新生をとまわず海馬の遅延型神経細胞死を抑制し、TUNEL 陽性細胞数を有意に減少させ、同部位での Glut3 の発現をもたらした⁵⁾。また、マウス中大脳動脈閉塞モデルにおいて、梗塞巣縮小効果をきたした。梗塞巣縮小の機序との直接

的関連は明らかでないが、TM6008 は脳室周辺部および梗塞巣周辺部で内在性神経幹細胞を増加させ、神経再生にもかわる可能性がみられた。更に構造最適化を加えた TM6551 は、TM6008 の約3倍強い PHD 阻害作用を示した。こうした PHD 阻害薬は、脳のみならず、心、大血管、腎臓など全身臓器の虚血障害にも適応を拡げて臨床応用される可能性を秘めている。

2) 新規 Akt 活性化薬 (SC79)⁶⁾

Akt は PH (Plekstrin Homology) ドメインを N 末に有するセリン/スレオニンキナーゼである。Akt の活性化には Thr308 と Ser473 の2カ所のリン酸化が必要であり、このリン酸化はともに phosphoinositide 3-kinase (PI3K) の下流で制御されている⁷⁾。つまり、PI3K によって産生された PI(3,4,5)P3 が PDK1 (Thr308 をリン酸化するキナーゼ) と Akt の PH ドメインに結合し、これらの分子を細胞質から細胞膜近傍に集めて、Akt のリン酸化をひきおこす。PI3K-Akt 経路は神経栄養因子など神経細胞の生存促進シグナル伝達において重要な役割を演じ、Akt の活性化は BAD, GSK3, FoxOs, CREB, NOS, NF- κ B などのリン酸化を介して神経細胞死を抑制する⁸⁾。共同発表者の Luo らは、細胞質から細胞膜への Akt の移動を阻害し、かつ細胞質で Akt-PH ドメインと選択的に結合して Akt を活性化する新規化合物 SC79 を開発した⁶⁾。SC79 は海馬神経細胞培養系でグルタミン酸毒性による細胞死を抑制した。さらにマウス中大脳動脈永久閉塞モデル作成24時間後の梗塞周辺部の脳組織において、sham 投与群と比較して、総 Akt に対するリン酸化 Akt 比は SC79 投与で有意に増加した。マウス中大脳動脈永久閉塞モデルにおいて、動脈閉塞前のみならず閉塞後に SC79 を腹腔内に投与して、24時間後ないし7日後の梗塞巣の有意な縮小をみとめた。

おわりに

以上のごとく、① PHD を阻害して HIF 活性化を図る新規化合物 TM6008・TM6551 や、②細胞質から細胞膜への Akt の移動を阻害しかつ細胞質で Akt を活性化する新規化合物

¹⁾東海大学医学部内科学系神経内科〔〒259-1193 神奈川県伊勢原市下糟屋143〕

²⁾Department of Pathology, Harvard Medical School〔Boston〕

(受付日：2012年5月23日)

SC79は、これまでに無い新しいコンセプトに基づく新規脳保護薬である。いずれもマウスの脳虚血モデルで明らかな脳保護作用を示しているが、今後ヒトへの臨床応用を視野に入れたの霊長類の脳虚血モデルをもちいた検討や、臨床試験での神経機能の定量的評価法の確立が必要となろう。脳保護薬はその脳虚血の病態におよぼす機序から脳梗塞超急性期から亜急性期まで比較的長く治療効果を期待することができ、rt-PA静注やMERCYなどの血行再建術と組み合わせることで、therapeutic time windowを拡げる利点が想定される。また、血行再建術で懸念される脳出血などの副作用を抑制できる可能性がある。こうした脳保護薬はその安全性が充分担保できれば、iPSなどの再生医療と両輪をなして、今後の脳梗塞治療戦略の新しい世界を開くに違いないと期待される。

※本論文に関連し、開示すべきCOI状態にある企業、組織、団体はいずれも有りません。

文 献

- 1) Takizawa S, Izuhara Y, Kitao Y, et al. A novel inhibitor of advanced glycation and endoplasmic reticulum stress reduces infarct volume in rat focal cerebral ischemia. *Brain Res* 2007;1183:124-137.
- 2) Izuhara Y, Takahashi S, Nangaku M, et al. Inhibition of plasminogen activator inhibitor-1: its mechanism and effectiveness on anti-coagulation and anti-fibrosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:672-677.
- 3) Izuhara Y, Yamaoka N, Kodama H, et al. A novel inhibitor of plasminogen activator inhibitor-1 provides anti-thrombotic benefits devoid of bleeding effect in non-human primates. *J Cereb Blood Flow Metab* 2010;30:904-912.
- 4) Takizawa S, Dan T, Uesugi T, et al. A sartan derivative with a very low angiotensin II receptor affinity ameliorates ischemic cerebral damage. *J Cereb Blood Flow Metab* 2009;29:1665-1672.
- 5) Nangaku M, Izuhara Y, Takizawa S, et al. A novel class of prolyl hydroxylase inhibitors induces angiogenesis and exerts organ protection against ischemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:2548-2554.
- 6) Jo H, Mondal S, Tan D, et al. Small molecule-induced cytosolic activation of Akt rescues ischemia-elicited neuronal death. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012;109:10581-10586.
- 7) Cantley LC. The phosphoinositide 3-kinase pathway. *Science* 2002;296:1655-1657.
- 8) Zhao H, Shimohata T, Wang JQ, et al. Akt contributes to neuroprotection by hypothermia against cerebral ischemia in rats. *J Neurosci* 2005;25:9794-9806.

Abstract

Novel neuroprotective agents: a HIF activator and an Akt activator

Shunya Takizawa¹⁾, Eiichiro Nagata¹⁾ and Hongbo R. Luo²⁾

¹⁾Department of Neurology, Tokai University

²⁾Department of Pathology, Harvard Medical School

We here presented two new neuroprotective agents; a HIF activator and an Akt activator. Hypoxia inducible factor (HIF) plays a pivotal role in the adaptation to ischemic conditions, and its activity is modulated by an oxygen-dependent hydroxylation of proline residues by prolyl hydroxylases (PHD). We discovered a unique compound TM6008, which inhibited PHD and stabilized HIF activity in vitro. Oral administration of TM6008 protected neurons in forebrain as well as focal ischemia. The protection was associated with amelioration of apoptosis but independent of enhanced angiogenesis. Next, elevating Akt activation is an obvious clinical strategy to prevent progressive neuronal death in neurological diseases. We identified a small molecule SC79 that inhibits Akt membrane translocation, but paradoxically activates Akt in the cytosol. SC79 specifically binds to the PH domain of Akt. SC79-bound Akt adopts a conformation favorable for phosphorylation by upstream protein kinases. In a hippocampal neuronal culture system and a mouse model for ischemic stroke, the cytosolic activation of Akt by SC79 is sufficient to recapitulate the primary cellular function of Akt signaling, resulting in augmented neuronal survival. Thus, HIF and Akt activators may be the new therapeutic strategy against cerebral infarction, and be expanded the therapeutic time window for hemolysis.

(Clin Neurol 2012;52:911-912)

Key words: HIF, Akt, Cerebral ischemia, neuroprotective agents