

アルツハイマー病根本治療薬開発の新指標を構築する

田上真次

大阪大学大学院医学系研究科 精神医学教室

【研究の背景】

アルツハイマー病病理過程の上流にあるアミロイド β 蛋白 ($A\beta$) が毒性を発揮する時期に、薬剤を投与すべく抗 $A\beta$ 薬剤の予防的投与が検討されている。重要なことは、病原性変異群の gain of function から $A\beta$ 42 の増加がいずれにせよ病理過程の引き金を引くと考えられることだ。我々は γ セクレターゼによる最終分泌産物であると考えられていた $A\beta$ 42 が、実は γ セクレターゼの基質となり、さらに凝集性が乏しい $A\beta$ 38 に切断されることを発見した。そして $A\beta$ 産生の際に産生される副産物、3-4 アミノ酸ペプチド (γ バイプロダクト) を細胞内で検出することに成功した。

【目 的】

本研究では γ セクレターゼが $A\beta$ を産生する際に細胞内で切り出される γ バイプロダクトを指標として、 γ セクレターゼの機能を評価する。そして AD 根本治療候補薬剤の効果を iPS 由来ヒト神経細胞を用いて検討し、真に有効な薬剤開発に繋げることを目的とする。

【方 法】

本研究では我々が確立したシステムを用いて $A\beta$ が産生される際に細胞内に放出される γ バイプロダクトを網羅的に解析し、それらの定量と characterization を行った。iPS 細胞由来の脳神経細胞、および β APP 発現培養 HEK 細胞や β APP 発現 SH-SY5Y 細胞を用いた。また対照実験として β APP を過剰に発現していない HEK および SH-SY5Y 細胞などを用いた。細胞を回収した後、lysates を抽出し、定法により熱変性させた。その後、TCA 沈殿を行い HPLC で γ セクレターゼによる切断によって産生された γ ペプチド分画を精製した。最後に精製したペプチド分画を LC/MS/MS 装置を用いて定量した。さらに培養細胞に γ セクレターゼ阻害剤や γ セクレターゼ修飾薬など抗 AD 根本治療薬の候補薬剤をかけ、細胞内 $A\beta$ 量や γ バイプロダクトの量が、薬剤で処理しない場合と比較して変化しているかどうかを調べた。

【結 果】

$A\beta$ の量を下げることがアルツハイマー病の根本治療となると想定され、現在もこの戦略に基づいた多くの治験が世界中で行われている。その先駆けの一つとなったのは γ セクレターゼの酵素活性を阻害する薬剤、 γ セクレターゼ阻害剤である (γ -secretase inhibitors (GSI))。GSI は、活性中心と直接相互作用する遷移状態アナログ阻害剤と、活性中心近くに作用する非遷移状態アナログ阻害剤に分けられる。驚くべきことに、非遷移状態アナログ GSI 数種類を細胞に添加すると、 γ バイプロダクト量は減るどころか増大した。さらに、それらの薬剤により細胞内に $A\beta$ 46 や $A\beta$ 43 などの C 末延長型 $A\beta$ 量が増大していることもわかった。これらの現象は β APP を過剰発現していない培養細胞やヒト iPS 由来の神経細胞でも同様に認められた。一方で、遷移状態アナログ阻害剤をこれらの細胞に添加すると、 γ バイプロダクト量も C 末延長型 $A\beta$ 量も激減した。以上の結果より、検討した全ての非遷移状態アナログ GSI は、分泌 $A\beta$ 量は減少させるが、細胞内の γ バイプロダクトや C 末延長型 $A\beta$ 量は逆に増大させてしまうことがわかった。

【考 察】

今まで分泌 A β 量を測定し、それをもって A β 産生と見なしてきた。それは A β を切り出す酵素活性の変化が分泌 A β 量の変化として反映されると我々が考えていたからである。加えて、細胞内の γ セクレターゼ活性を推定する別の方法がなかったからであった。しかし今回の結果は、薬剤の作用で A β を切り出す酵素活性が保持されていても、A β 分泌量が低下する場合があります。つまり分泌 A β 量で γ セクレターゼ活性を推測できないことがあることが示された。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

A β が産生される際に細胞内に放出される γ バイプロダクトを定量することで、 γ セクレターゼ機能を評価する新しい方法を提示した。この方法を使うことで、今までの常識 (γ セクレターゼ阻害剤は酵素活性を遮断する) と考えられていた事が誤っていることを明らかにした。今後、この新しい評価法を使うことで真に有効な抗 A β 薬剤の開発や γ セクレターゼの新たな機能の解明が可能となるかもしれない。

【参考・引用文献】

Semagacestat Is a Pseudo-Inhibitor of γ -Secretase.

Tagami S, Yanagida K, Kodama TS, Takami M, Mizuta N, Oyama H, Nishitomi K, Chiu YW, Okamoto T, Ikeuchi T, Sakaguchi G, Kudo T, Matsuura Y, Fukumori A, Takeda M, Ihara Y, Okochi M.

Cell Rep. 2017 Oct 3;21(1):259-273.

Making the final cut: pathogenic amyloid- β peptide generation by γ -secretase.

Steiner H, Fukumori A, Tagami S, Okochi M.

Cell Stress. 2018 In press.