

γ セクレターゼ活性新指標を用いたアルツハイマー病根本治療薬の開発

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】

アミロイド PET や脳脊髄液中のアミロイド β 42 (A β 42) などを用いた研究により、アルツハイマー病 (AD) を発症する 10 年以上前から脳内に A β 42 が蓄積し始めることがわかってきた。現在進行中の治験ではアミロイド PET 陽性で、かつ認知機能の低下が顕在化していない個体を対象に、抗 A β 抗体の静注や BACE 阻害剤など A β をターゲットとした介入がなされている。これらが臨床応用されれば、比較的高齢者を対象として長期間の投与となるため、その安全性を担保する必要性がある。抗 A β 抗体の主たる副作用は脳浮腫や脳微小血管出血であり、これを防ぐべく投与中に定期的に頭部 MRI 検査がなされている。一方で A β 産生の抑止を目的とした γ セクレターゼ阻害剤の全てと BACE 阻害剤の多くが治験途中で中止となっている。十分な効果が得られなかっただけでなく、一部の薬剤は認知機能を逆に低下させる結果となった。その原因は全くわかっていない。

【目 的】

アルツハイマー病病理に関与する A β は、 γ セクレターゼが CTF β の細胞膜・細胞質境界付近から切断を開始し、数アミノ酸ずつ膜の中央部に切断が進むことにより産生される^{1,2)}。我々はこの切断により産生される γ バイプロダクトを細胞内で定量することに成功した³⁾。驚くべきことに治験薬として用いられた γ セクレターゼ阻害剤はこれらのペプチド量を逆説的に増加させることを発見し報告した³⁾。本研究ではこの γ バイプロダクトを新指標として、アルツハイマー病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した。

【方 法】

本研究では我々が確立したシステムを用いて A β が産生される際に細胞内に放出される γ バイプロダクトを網羅的に解析し、それらの定量と characterization を行った。ヒト iPS 細胞由来の大脳神経細胞、および β APP 発現培養 HEK 細胞や β APP 発現 SH-SY5Y 細胞に γ セクレターゼ阻害剤や γ セクレターゼ修飾薬、BACE 阻害剤など抗 AD 根本治療薬の候補薬剤を添加した。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。そして細胞内 A β 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】

γ セクレターゼ阻害剤 (γ -secretase inhibitors (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 (semagacestat, avagacestat など) 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 β 46 や A β 43 などの C 末延長型 A β 量が増大していることもわかった。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 β 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 β 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 β 量は逆に増大させてしまうことがわかった。重要なことに、 γ セクレターゼ修飾薬には γ バイプロダクト量や C 末延長型 A β 量を増大させる効果がないことを明らかにした。これらの結果の一部が参考文献 1 に掲載された。

【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を示した。つまり γ セクレターゼ活性をより正確に推測するには γ バイプロダクトを定量する必要があることがわかった。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

かつて AD 治験に用いられた非遷移状態アナログ GSI に、予想もされなかった細胞内 A β 蓄積作用があることは製薬会社や研究者に大きなインパクトを与え、ALZFORUM の news に取り上げられた⁴⁾。我々の開発した新手法は、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に役立つと期待する。

【参考・引用文献】

1. Successive cleavage of β -amyloid precursor protein by γ -secretase. Funamoto S, Tagami S, Okochi M, Morishima-Kawashima M. *Semin Cell Dev Biol.* 2020 Sep;105:64-74.
2. Making the final cut: pathogenic amyloid- β peptide generation by γ -secretase. Steiner H, Fukumori A, Tagami S, Okochi M. *Cell Stress.* 2018 Oct 28;2(11):292-310.
3. 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.
4. Semagacestat, a Pseudo γ -Secretase Inhibitor? Marina Chicurel <https://www.alzforum.org/news/research-news/semagacestat-pseudo-g-secretase-inhibitor>