

## 医療分野研究成果展開事業/産学連携医療イノベーション創出プログラム (ACT-M)

## 平成 27 年度成果報告書 (公開)

|                     |                                    |
|---------------------|------------------------------------|
| 課題リーダー<br>(所属機関・氏名) | 公立大学法人名古屋市立大学 大学院薬学研究科 教授<br>服部 光治 |
| 参加機関                | 田辺三菱製薬株式会社                         |
| 研究開発課題              | アルツハイマー病の改善を目的としたリーリン分解阻害薬の開発      |

## 1. 研究開発の目的

リーリンは正常な脳機能に必須の分泌タンパク質であり、その「機能低下」は様々な精神神経疾患に関与する。よって、脳においてリーリントタンパク質を増加させれば、精神神経疾患の発症や増悪化を防げることが期待される。リーリンを増加させるには、これを特異的に分解する酵素の阻害剤が有効である可能性が高い。我々はリーリン分解酵素としてメタロプロテアーゼ ADAMTS-3 を同定した。本提案は、ADAMTS-3 を阻害する低分子化合物を探索し、精神神経疾患に対する画期的新薬として世に出すことが目標である。

## 2. 研究開発の概要

- (1) ADAMTS-3 阻害による副作用を調べるため、薬物誘導性 ADAMTS-3 欠損マウスを作製し、その全身症状を解明する。
- (2) ADAMTS-3 阻害によるアルツハイマー病改善効果を調べるため、薬物誘導性 ADAMTS-3 欠損・アルツハイマー病モデルマウスを作製する。
- (3) ADAMTS-3 阻害化合物取得のため、ハイスループットスクリーニング (HTS) 系を構築し、田辺三菱製薬社内化合物ライブラリー他を用いて HTS を実施する。HTS の結果より合成展開の端緒となる化合物群を絞り込み最適化研究を開始する。
- (4) in vivo で脳における ADAMTS-3 の阻害効果を検証するため、ex vivo アッセイを構築する。

## 3. 研究開発の成果 (平成 27 年度)

- (1) 薬物誘導性 ADAMTS-3 欠損マウスの作成と全身症状解明【名古屋市立大学】  
2 ヶ月齢の薬物誘導的 ADAMTS-3 ノックアウトマウスにタモキシフェンを投与し、大きな全身症状や臓器異常はないことを確認した。生殖毒性については、ADAMTS-3 ノックアウト (完全欠損) マウスでは生じないことが判明したので、成体特異的 ADAMTS-3 欠損マウスを用いた検討は不要と判断した。目的は達成され、「ADAMTS-3 阻害剤は重篤な副作用を引き起こすのではないか」という懸念はマウスレベルでは払拭された。
- (2) 薬物誘導性 ADAMTS-3 欠損・アルツハイマー病モデルマウスの作製【名古屋市立大学】  
薬物誘導性 ADAMTS-3 欠損マウスと、アルツハイマー病モデルマウスを交配し、将来的解析に十分な数 (対照群含め 40 匹) のマウスを得た。
- (3) ADAMTS-3 特異的化合物 (リード化合物) の取得【田辺三菱製薬株式会社】
  - ・ ADAMTS-3 阻害化合物取得のための HTS 系構築  
アッセイに必要な ADAMTS-3 酵素および基質蛋白を調製した後、HTS アッセイ系を構築した。また、

偽陽性化合物を排除するためのカウンターアッセイ系を構築した。

- ・ HTS パイロットスクリーニング

HTS スクリーニングを実施する前に、ヒット化合物の取得率の予測、選抜方針および HTS アッセイ系の微調整を行うため、HTS パイロットスクリーニングを実施した。

- ・ 社内化合物ライブラリーを用いた HTS の実施

社内化合物ライブラリーを用いて HTS 実施し、ADAMTS-3 阻害活性において初期のクライテリアを満たす化合物を複数個得た。

(4) ADAMTS-3 蛋白の X 線結晶構造解析結果を用いた阻害薬の論理的合成展開方針の策定【田辺三菱製薬株式会社】

ADAMTS-3 の酵素活性部位の蛋白質を取得するため、3 種類の蛋白質発現系（大腸菌、哺乳類細胞および昆虫細胞）を計画した。まず大腸菌を用いた蛋白質調製を行ったが、蛋白質が不溶化してしまい、精製蛋白質を取得できなかった。次に哺乳類細胞を用いて蛋白質調製を検討し、十分な量の可用性蛋白質を得ることができた。現在蛋白質の酵素活性を確認している。酵素活性確認後、精製および結晶化の検討を行う。

(5) 脳における ADAMTS-3 の阻害効果を検証できる ex vivo アッセイ系の構築【田辺三菱製薬株式会社】

マウス脳を用いて、ADAMTS-3 を含む脳ホモジネート調製方法の検討を行った後、脳ホモジネートへ基質を加え反応させることにより基質切断活性を検出した。次に、脳ホモジネートへ非特異的メタロプロテアーゼ阻害剤である EDTA を処理することにより、基質切断活性の阻害作用を確認した。基質切断活性の検出精度に課題があるため、蛍光標識基質を用いて検出精度の改善を行っている。

以上