

3 ケミカルノックダウンを利用した神経変性疾患治療薬

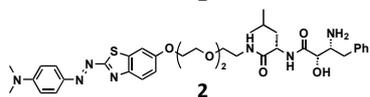
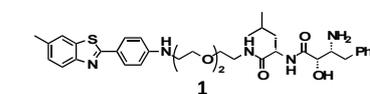
石川 稔

【目的】 神経変性疾患は、異常凝集した疾患原因タンパク質が脳内に蓄積して、神経細胞が障害を受けることにより発症すると考えられている。一方、標的タンパク質分解薬 PROTAC (proteolysis targeting chimera) は、ユビキチンリガーゼリガンドと標的タンパク質リガンドを、リンカーを介して連結した分子である。PROTAC は、ユビキチンリガーゼと標的タンパク質を物理的に近接させることにより、標的タンパク質をユビキチン化し、プロテアソームで分解させる。我々は、PROTAC の低分子化に成功したノウハウを活用し、異常凝集したタンパク質に特異的に結合する神経変性疾患診断薬と IAP リガンドを連結した低分子が、神経変性疾患の一種であるハンチントン病の原因タンパク質およびその可溶性凝集体量を減少させることを見出した。しかしながらこの化合物の、神経細胞に対する保護作用や動物モデルによる有効性評価には至っていない。そこで本研究では、この低分子の活性増強、薬物動態改善を指向した構造展開を実施し、動物モデルで有効性を示す化合物の創製を目指す。

【方法】 異常凝集したタンパク質に特異的に結合する神経変性疾患診断薬と、ユビキチンリガーゼリガンドや疎水性タグをそれぞれ連結した分子を合成した。神経変性タンパク質が発現している細胞に上記合成化合物を処理し、ウェスタンブロット法などにより標的タンパク質の存在量を、蛍光顕微鏡により可溶性凝集体量を評価した。更に、プロテアソーム依存的に標的タンパク質が減少していることを、プロテアソーム阻害薬の併用処理実験により確認した。

【結果】 神経変性疾患診断薬とユビキチンリガーゼリガンドを連結した低分子 PROTAC1、2 が、ハンチントン病原因タンパク質の他に、歯状核赤核淡蒼球レイ体萎縮症の原因タンパク質である変異 atrophin-1 や、脊髄小脳失調症の原因タンパク質である変異 ataxin-7、変異 ataxin-3 も分解誘導できることが明らかになった。経口薬・中枢薬にとって重要な物理化学的性質として、分子量や、水素結合の受容体数・供与体数が知られている。このことから、PROTAC1、2 の分子量を削減、また水素結合の受容体数・供与体数を削減することで、薬物動態改善や、それに伴う分解活性向上を期待した。そして、アダマンチル基などの疎水性タグと標的タンパク質リガンドを連結させた分子が、変性タンパク質の構造的特徴である疎水性部分構造を標的タンパク質表面に担持することにより、標的タンパク質を品質管理機構に認識・分解させる疎水性タグ法に着目した。そして、PROTAC2 の IAP リガンドを、アダマンチル基などの疎水性タグに変換した連結低分子 3、4 などを合成した。疎水性タグ連結低分子 3 が生細胞において、ハンチントン病原因タンパク質の存在量を減少させ、可溶性凝集体量も減少させることが明らかになった。更に、最も強い活性を有する疎水性タグ連結低分子 4 は、血液脳関門を透過する標準化合物よりも、血液脳関門の透過性が高い可能性が、IAM カラムを用いた *in vitro* 予備実験により示唆された。

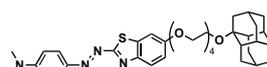
ハンチントン病原因タンパク質分解 PROTAC を起点とした研究成果



神経変性疾患診断薬 IAPリガンド

ハンチントン病原因タンパク質を分解するPROTAC

歯状核赤核淡蒼球レイ体萎縮症原因タンパク質、脊髄小脳失調症の原因タンパク質も分解



4

ハンチントン病原因タンパク質を分解する疎水性タグ連結分子

*in vitro*予備試験で血液脳関門を透過