学位論文題名

新規スクワレン合成酵素阻害剤 YM-53601 の
薬理学的特性と作用点に関する研究

学位論文内容の要旨

1. はじめに

スクワレン合成酵素はコレステロール生合成酵素の一つであり、ファルネシルピロリン酸二分子を前駆体としてスクワレンに変換させる、コレステロール生合成経路の下流を司る酵素である。コレステロール生合成経路の上流に位置する律速酵素である HMG-CoA 還元酵素とならんで、血漿脂質レベルを調節する重要な分子として知られている。HMG-CoA 還元酵素阻害剤は、高脂血症患者に対して第一選択薬として臨床で汎用されており、スクワレン合成阻害剤も同様に高脂血症治療に有用であると期待されている。

HMG-CoA 還元酵素阻害剤はコレステロール生合成経路の上流に作用するため、生体内必須成分であるユビキノンやドリコールなどの生成も阻害してしまう。さらに、HMG-CoA 還元酵素により生成されるメバロン酸に由来する、ファルネゾールなどのメバロン酸代謝物は HMG-CoA 還元酵素に負の調節をかけることが知られており、HMG-CoA 還元酵素を阻害することで、逆にコレステロール生合成経路を亢進する可能性がある。そこでその経路において、下流に作用する阻害剤が副作用のない薬剤として期待されてきた。

スクワレン合成酵素阻害剤の研究の中で、血漿中のコレステロールのみならず、トリグリセリド(TG)のレベルも低下させることが判明してきた。しかしながら、その機序は不明な点が多く、これまでの研究の中からは予測出来ない結果であった。そこで、本研究はスクワレン合成阻害剤 YM-53601 の薬理学的特性を明らかにすること、そして TG 低下作用の作用点を明かすことを目的とした。さらに、HMG-CoA 還元酵素阻害剤が引き起こす、一旦低下したコレステロール値が投与を続けることにより上昇してしまうエスケープ現象に関して、その動物モデルを作成し、そこでのスクワレン合成酵素阻害剤の効果を検討した。

2. 結果および考察

2-1. スクワレン合成酵素阻害剤 YM-53601 の薬理学的特性

ラット、ハムスター、モルモットおよびアカゲザルの肝臓、またはヒト肝癌由来細胞 HepG2 から調製したマイクロソーム中のスクワレン合成酵素活性に対して、YM-53601 は種差無く阻害作用を示した。さらに、YM-53601 はラットにおいて *de novo* のコレステロール生合成を抑制した。その阻害活性に基づくと思われる血漿 nonHDL-C (= total cholesterol - HDL cholesterol) 低下作用がラット、ハムスター、

モルモットおよびアカゲザルにおいて確認された。特に脂質代謝においてヒトにもっとも近いとされている旧世界ザルのアカゲザルにおいて、HMG-CoA還元酵素阻害剤である pravastatin よりも、大きな血漿コレステロール低下作用を示した。また、高脂食負荷ハムスターモデルにおいては、現在臨床で最も強い血漿 TG 低下作用を示すフィブレート系薬剤の一つである fenofibrate よりも、強力な血漿 TG 低下作用を示した。以上のことより、スクワレン合成酵素阻害剤の薬理的特性に関して YM-53601 を用いて検討した結果、この化合物は *in vitro* において種差無くスクワレン合成酵素を阻害すること、そして *in vivo* においてもこの酵素阻害が血漿コレステロールおよび TG の低下をもたらすことが明らかとなった。それらの効果は、それぞれ pravastatin および fenofibrate よりも勝っていた。

2-2. YM-53601 による TG 低下の作用点に関する解析

YM-53601 はコレステロール生合成阻害を発現する用量域において、同時に脂肪酸生合成および TG 生合成を抑制した。また、肝臓からの TG の分泌を抑制した。さらに、TG を多く含むリポタンパク質である VLDL 粒子の血中での異化を亢進した。同じく TG を多く含むカイロミクロンと同様な挙動を示すイントラファット負荷を行った結果、YM-53601 は血中からの消失を亢進した。血漿 TG 低下とコレステロール低下の相関関係は、高脂食ハムスターにおける血漿脂質低下作用の結果の解析より、正相関を示した。これは負の相関を持つ fenofibrate とは異なっていた。

これまでスクワレン合成酵素阻害剤の TG 低下作用に関しては多くの報告があったが、現象として捉えられていたのみであった。本研究において、その作用点が肝臓での TG 生合成抑制、そして肝臓からの TG 分泌抑制、さらには血中でのリポタンパク質の異化亢進という協同作用の結果であることが明らかとなった。また、コレステロール低下作用との相関関係が正相関を示したことから、フィブレート系薬剤とは異なった機序により引き起こされる作用であることが示唆された。

2-3. エスケープ現象の評価モデル作製と YM-53601 の効果

高脂食負荷ハムスターに pravastatin を投与することにより、血漿コレステロールがコントロール群と比較し有意に低下した。しかしながら、投与を継続することにより、一旦低下していたコレステロールがコントロール群と同程度となった。この際に、肝臓中の HMG-CoA 還元酵素活性は、投与期間全般にわたり有意な上昇を示し、その作用は投与継続により増強された。一方、YM-53601 は投与期間延長によっても血漿コレステロール低下作用を持続し、肝臓中の HMG-CoA 還元酵素活性は亢進させなかった。スクワレン合成酵素に対しては、HMG-CoA 還元酵素の様な大きな亢進作用は確認されなかった。さらに、既に pravastatin によりエスケープ現象を発現しているこのモデルにおいて、薬剤を YM-53601 に切り替えたところ、血漿コレステロール値は有意に低下し、上昇していた肝臓中の HMG-CoA 還元酵素活性も、コントロールと同レベルまで回復した。

以上のことより、臨床においてのみ確認されていたエスケープ現象を、動物モデルにおいて発現させることに成功した。臨床の結果と同様に、投与を継続することにより、HMG-CoA 還元酵素の誘導が起り、それに伴いコレステロール値が上昇することが明らかとなった。

3. まとめ

- 1) YM-53601 は、*in vitro* において種差なく肝マイクロソーム中のスクワレン合成酵素を阻害し、さらに *de novo* のコレステロール生合成抑制を示した。
- 2) YM-53601 によるコレステロール生合成抑制効果は、*in vivo* での血漿コレステロール低下作用を

引き起こし、同時に血漿 TG 低下作用まで発現した。それらの作用は、それぞれ pravastatin および fenofibrate よりも強力であった。

- 3) TG 低下作用は、肝臓中の TG 合成抑制、肝臓からの TG 分泌抑制、そして血中での VLDL の異化亢進によりもたらされることが示唆された。
- 4) 臨床でのみ確認されていたエスケープ現象を、高脂食ハムスターを用いることにより再現させることに成功し、かつそのモデルにおける YM-53601 の有用性も立証できた。
- 5) 以上のことより、YM-53601 を用いてスクワレン合成酵素阻害剤の有用性を検証した結果、臨床においても優れた高脂血症治療薬となる可能性が示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 助 教 授 井ノ口 仁 一
副 査 教 授 五十嵐 靖 之
副 査 教 授 野 村 靖 幸
副 査 助 教 授 大 熊 康 修

学 位 論 文 題 名

新規スクワレン合成酵素阻害剤 YM-53601 の 薬理学的特性と作用点に関する研究

高脂血症治療薬市場において、コレステロールまたはトリグリセリド低下作用が最も強力であるとされているのは、それぞれ HMG-CoA 還元酵素阻害剤またはフィブレート系薬剤である。本研究において新規スクワレン合成酵素阻害剤である YM-53601 は霊長類であるアカゲザルにおいて、HMG-CoA 還元酵素阻害剤の一つである pravastatin よりも強力なコレステロール低下作用を示すことを証明できた。この結果に加え、フィブレート系薬剤の一つである fenofibrate との直接比較において、スクワレン合成酵素阻害剤がより強力なトリグリセリド低下作用を示すことを証明したのは本研究が最初の報告である。このような効果を持つ薬剤を高脂血症治療に携わる専門家医師が切望していたことは疑いの余地がない。つまり、これまで費用対効果が不十分、または安全性が問題となっていた領域において、新たな治療形態が誕生し、高脂血症に悩む患者の社会的満足度が向上することが大いに期待された。

スクワレン合成酵素阻害剤がもつトリグリセリド低下の薬理学的作用点は、特に *in vivo* においてこれまで推測の域を越えていなかった。しかしながら本研究によりその作用点が、肝臓中での脂肪酸、トリグリセリドの生合成阻害、肝臓からのリポ蛋白の分泌抑制、さらには血中でのリポ蛋白消失速度の亢進であることが明らかとなった。特にリポ蛋白の分泌抑制は、現在臨床試験が進行中の MTP 阻害剤のトリグリセリド低下機序であることは広く認知されており、これを含めた上記の作用が総合的に認められているスクワレン合成酵素阻害剤の臨床での有用性は疑いの余地がない。また、これらの作用がスクワレン合成酵素阻害剤の直接的な作用というよりも、機序由来で二次的に生じるファルネシルピロリン酸の誘導体により引き起こされている可能性が考えられ、それらをツールとして本研究において明らかとなった作用点をより分子医学的に研究検討することが次のステップである。いずれにせよ近い将来解明されるであろう

う、標的分子同定の足がかりとなったのは明らかである。

HMG-CoA 還元酵素阻害剤は、上述の様にコレステロール低下作用を目的とした場合の第一選択薬であるが、長期投与により薬効の頭打ちまたは減弱を生じるエスケープ現象が確認されている。これまでその現象に対する動物モデルが存在しなかったため、臨床での薬剤による効果を予見することは不可能であった。しかしながら、著者のアイデアによりげっ歯類の中ではヒトにより近いハムスターを選択したこと、さらにはヒトの様に生体内でのコレステロール生合成能を低く保つために高脂肪食を負荷したこと、この二点の寄与により、ハムスターにおいても pravastatin がコレステロールを一旦低下させ、さらに投与を継続することによりコントロールレベルまで上昇してしまうというエスケープ現象と同様の結果を得ることができた。この研究における評価ポイントとしては、単に現象論のみにとどまらず、この原因がヒトでも提唱されている HMG-CoA 還元酵素阻害剤による標的酵素の誘導によるものであることも明らかにすることができたこと、これは本モデルの妥当性を高めた所以であると言えよう。さらに本モデルに関する進歩性として、スクワレン合成酵素阻害剤の有用性も加えることができたことは大きい。長期投与によっても一貫したコレステロール低下作用を維持したことはもとより、その際に HMG-CoA 還元酵素に対する誘導が無いこと、さらに驚くべきことに、すでに大きな誘導がかかってエスケープ現象を発症しているモデルにおいても、スクワレン合成酵素阻害剤に切り替えることでその誘導が消失し、それに伴いコレステロール低下作用が再発現した。HMG-CoA 還元酵素阻害剤に対するスクワレン合成酵素阻害剤の訴求点として今後の開発において立派に主張できるポイントであると思われる。これらのことより、スクワレン合成酵素阻害剤はもとよりその他の機序の今後の研究開発において、前臨床の段階から臨床成績を予見することが可能となったことは、これまでの評価体制を考えると新たな一歩と言える。最終的には、エスケープ現象という副作用に悩む患者および専門家医師にとって、今後の薬剤選択の幅が広がる可能性が見出された点は朗報になるであろう。

以上、三点の理由により、本研究が学位取得に十分値するものと考えている。