

論文の内容の要旨

論文題目 新規スクアレン合成酵素阻害剤 ER-27856 の薬理作用に関する研究
—脂質代謝に及ぼす新規メカニズムの発見—

氏名 日吉 裕展

高脂血症は動脈硬化の最も重要な危険因子の一つであり、血中のコレステロール、中でも低比重リポ蛋白 (LDL) コレステロールの増加は虚血性心疾患のリスクを著しく増大させる。

コレステロールは主に外因性 (食事) 及び内因性 (肝臓での生合成) の両経路から供給されている。ヒトにおいては体内のコレステロールの約 70% が肝臓で合成されており、その生合成経路における律速酵素は 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) 還元酵素である (図 1)。HMG-CoA 還元酵素を阻害する薬剤は効果的に LDL コレステロールを低下させることが明らかとなっており、その脂質低下作用は、肝臓におけるコレステロール生合成阻害の結果 2 次的に引き起こされる LDL レセプターの誘導と、肝臓からの超低比重リポ蛋白 (VLDL) 分泌の抑制によるとされている (図 2 左図)。

血中のトリグリセライド (TG) も冠動脈疾患の危険因子として注目されており、血中 TG の基準値を現在の 150 mg/dl から 100 mg/dl まで切り下げる必要があるとの報告もある。従って、LDL コレステロールと血中 TG の両方を強力に低下させる薬剤は、動脈硬化の予防、及び進展抑制に大きく寄与する可能性が高い。コレステロールと血中 TG の両方を強力に低下させるには、HMG-CoA 還元酵素阻害剤とフィブレート系薬剤の併用が効果的であると考えられるが、これらの薬剤の併用は HMG-CoA 還元酵素阻害剤の最も重大な副作用である横紋筋融解症の頻度を上昇させることが報告されており、原則併用禁忌となっている。横紋筋融解症はコレステロール低下そのものではなく、HMG-CoA 還元酵素を阻害することによるメバロン酸代謝物の減少に基づく

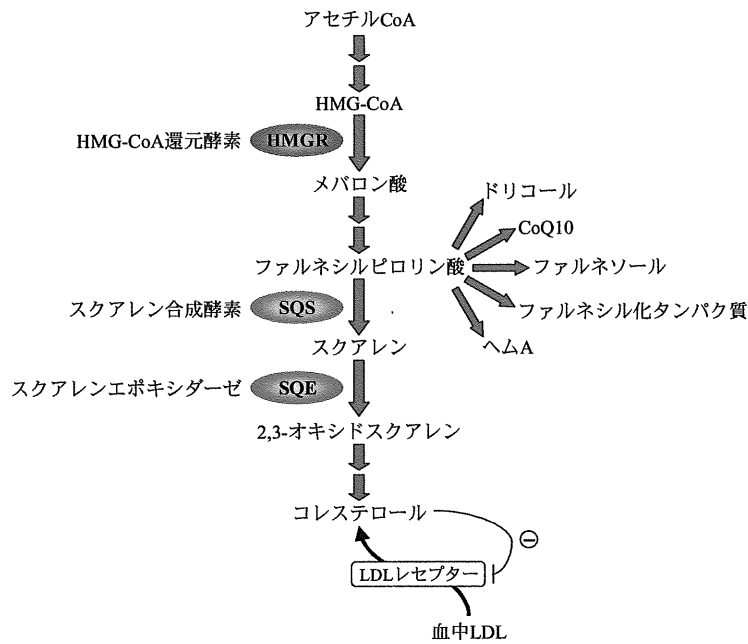


図1 コレステロール生合成経路

とされていることから、よりコレステロール特異的に生合成を阻害することで回避できると考えられる。スクアレン合成酵素はステロール合成に特異的となる最初の反応を触媒し、2分子のファルネシルピロリン酸 (FPP) からスクアレンを生成することから、本研究では HMG-CoA 還元酵素阻害剤に優る創薬ターゲットとしてスクアレン合成酵素阻害剤に注目し、ER-28448 とその trispivaloyloxymethyl ester 体 ER-27856 を見出した。

本研究では、ER-28448、及び ER-27856 のコレステロール代謝、及び TG 代謝に対する薬理作用を明らかにし、新たに見出したスクアレン合成酵素阻害剤の TG 低下作用について、その発現機序を明らかにした。

1. ER-28448 及び ER-27856 のコレステロール代謝に対する作用

本研究で見出した ER-28448 は、ラット肝ミクロソーム中のスクアレン合成酵素活性を 3.6 nM の IC₅₀ 値で阻害し、ER-28448 の trispivaloyloxymethyl ester 体である ER-27856 の IC₅₀ 値は 39 μM であった。一方ラット初代培養肝細胞におけるコレステロール生合成阻害作用の IC₅₀ 値は、ER-28448 が 11 μM、ER-27856 は 23 nM であった。ラットへの単回経口投与においては、ER-27856 が 1.6 mg/kg の ED₅₀ 値でコレステロール生合成を阻害したのに対し、ER-28448 は 50 mg/kg で部分的な阻害を示すにとどまった。従って ER-27856 は、ラット肝細胞ならびに *in vivo* において ER-28448 のプロドラッグ体として機能することが示唆された。

アカゲザルへの 4 日間連続経口投与試験において、ER-27856 のコレステロール低下作用を HMG-CoA 還元酵素阻害剤と比較した。その結果 ER-27856 は、HMG-CoA 還元酵素阻害剤に優る、

強力な血中総コレステロール (TCHO) 低下作用を示した。一方、肝毒性の指標である血中 ALT 上昇作用は HMG-CoA 還元酵素阻害剤と比較して軽微であった。さらに ER-27856 は、28 日間連続投与試験において TCHO、並びに主に LDL コレステロールからなる非高比重リポ蛋白コレステロールをそれぞれ 72 %、並びに 95 % 低下させた。以上の結果より、ER-27856 は HMG-CoA 還元酵素阻害剤に優る血中コレステロール低下薬であることが明らかとなった。

2. ER-28448 及び ER-27856 の TG 代謝に対する作用

ER-27856 はアカゲザルにおいて、コレステロールだけでなく血中 TG も低下させた。血中 TG 低下作用における LDL レセプターの関与を明らかにするため、LDL レセプター欠損モデルとして知られる Watanabe heritable hyperlipidemic (WHHL) ウサギを用いて TCHO 及び血中 TG への影響を検討した結果、ER-28448 (静脈内投与) はヘテロウサギにおいて TCHO と血中 TG の両方を低下させたが、ホモウサギにおいては TCHO を低下させず血中 TG のみを低下させた。従って ER-28448 は LDL レセプターを介して TCHO を、LDL レセプターを介さない経路で血中 TG を低下させることが示唆された。WHHL ホモウサギにおける血中 TG 低下作用は ER-27856 の経口投与においても再現し、同じ投与期間でアトルバスタチンは脂質低下作用を示さなかった。従って ER-28448、及び ER-27856 は HMG-CoA 還元酵素阻害剤が有していない新規なメカニズムで血中 TG 低下作用を示したといえる。

WHHL ホモウサギから単離した肝細胞における ER-27856 と RPR-107393 の脂質生合成阻害活性を検討したところ、スクアレン合成酵素阻害剤はコレステロールだけでなく TG 生合成を阻害した。さらにコレステロール生合成活性を誘導させたコレステラミン負荷ラットにおいては、2 種類のスクアレン合成酵素阻害剤、ER-27856 と RPR-107393 が肝臓からの VLDL 分泌を抑制し、血中 TG を低下させた。以上の結果より、スクアレン合成酵素阻害剤が LDL レセプター活性に依存しない新規なメカニズムで血中 TG を低下させ、その作用に肝臓における TG 生合成阻害作用と TG 分泌抑制作用が関与していることが明らかとなった。

3. スクアレン合成酵素阻害剤の TG 生合成阻害作用

WHHL ウサギの肝細胞で観察されたスクアレン合成酵素阻害剤の TG 生合成阻害の作用機序を明らかにするため、SD ラットより単離した初代培養肝細胞を用いて精査した。

スクアレン合成酵素阻害剤 (ER-27856 及び RPR-107393) は、ラット初代培養肝細胞においてそれぞれのコレステロール生合成阻害作用の強さに依存して TG 生合成を阻害した。一方、アトルバスタチンと NB-598 (スクアレンエポキシダーゼ阻害剤) はコレステロール生合成のみを阻害し、TG 生合成には影響しなかった。

スクアレン合成酵素阻害剤の脂肪酸代謝への影響を検討したところ、スクアレン合成酵素阻害剤は主に酢酸から脂肪酸に至る脂肪酸生合成を阻害することで TG 生合成阻害活性を発揮していることが明らかとなった。

スクアレン合成酵素阻害剤と他のコレステロール生合成阻害剤を共存させた場合の TG 生合成阻害作用への影響を検討した結果、スクアレン合成酵素阻害剤による TG 生合成阻害作用は NB-598 共存下では影響を受けなかったが、アトルバスタチン共存下でコントロールレベルまで消失した。さらに、その作用は HMG-CoA 還元酵素の産物であるメバロノラクトンにより用量依存的に増強された。さらに、ファルネソール、及びその代謝物であるジカルボン酸メチルエステルは単独で TG 生合成を阻害することを見出した。従って、スクアレン合成酵素阻害剤は、増加した FPP がファルネソールを経て代謝される過程で脂肪酸合成を抑制する代謝物を生成することにより TG 生合成阻害作用を発揮すると考えられる。

スクアレン合成酵素阻害剤は、コレステロール生合成阻害に基づく LDL レセプター発現誘導と、コレステロール及び TG 生合成阻害作用に基づく強力な VLDL 分泌抑制作用により、HMG-CoA 還元酵素阻害剤に優る脂質低下作用を示した (図 2 右図)。

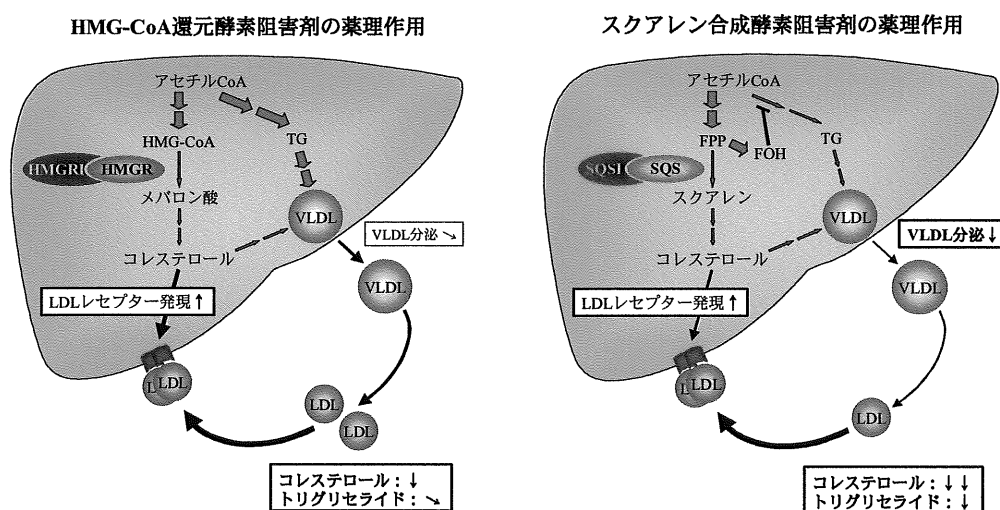


図 2 スクアレン合成酵素阻害剤の薬理作用 (HMG-CoA 還元酵素阻害剤との比較)

HMGR: HMG-CoA 還元酵素、HMGRI: HMG-CoA 還元酵素阻害剤、SQS: スクアレン合成酵素、

SQSI: スクアレン合成酵素阻害剤、FOH: ファルネソール

本研究の成果は、脂質代謝のフィードバック作用の新たなメカニズムを示唆する重要な知見になるものと考えられる。