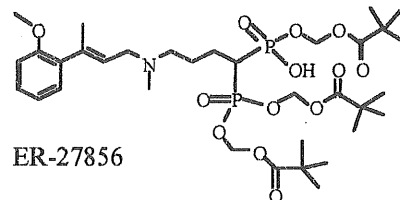
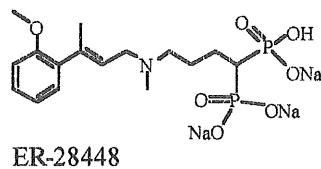


審査の結果の要旨

氏名 日吉 裕 展

高脂血症は血中の脂質、あるいはリポ蛋白の異常高値として定義付けられ、動脈硬化の最も重要な危険因子の一つである。一方、最近になって、血中トリグリセライド (TG) も冠動脈疾患の危険因子として注目されており、Miller らは血中 TG の基準値を現在の 150 mg/dl から 100mg/dl まで切り下げる必要があると報告している。従って、LDL コレステロールと 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。

LDL コレステロール低下薬としては肝臓においてコレステロールの生合成を阻害する 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) 還元酵素阻害剤が第一選択として用いられており、これらの薬剤は LDL コレステロールを強力に低下させる。コレステロールと 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ラ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からスクアレンを生成する。日吉らは 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 tripivaloyloxymethyl 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、及びトリグリセライド代謝に対する薬理作用を明らかにするとともに、新たに見出したスクアレン合成酵素阻害剤のトリグリセライド低下作用について、その発現機序を考察した。

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 値で阻害した。一方、ER-28448 の tripivaloyloxymethyl ester 体である ER-27856 の IC₅₀ 値は 39 μM であった。ER-28448 の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 11 μM、ER-27856 は 23 nM であった。ラットへの単回投与における ER-28448 と ER-27856 のコレステロール生合成阻害作用 (ED₅₀ 値) は静脈内投与でそれぞれ 0.12 mg/kg と 0.022 mg/kg であった。経口投与では、ER-27856 が 1.6 mg/kg の ED₅₀ 値で阻害したのに対し、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していることが示された。

臨床において HMG-CoA 還元酵素阻害剤のコレステロール低下作用は、その作用持続時間の長さに影響されることが知られている。ラットへの経口投与後のコレステロール生合成阻害の持続時間を HMG-CoA 還元酵素阻害剤と比較した結果、ER-27856 の持続時間はプラバスタチンやシンバスタチンより長かった。また ER-27856 は、ヒト肝細胞由来の HepG2 細胞において LDL レセプター活性を用量依存的に増加させた。従って ER-27856 は、HMG-CoA 還元酵素阻害剤と同様、*in vivo* において LDL レセプターを介し血中コレステロールを低下させ、その作用はプラバスタチンやシンバスタチンに優ることが期待された。

ER-27856 はコレステロールを低下させるだけでなく、アカゲザル及びコレステラミン負荷ラットにおいて TG を低下させた。これらの作用は HMG-CoA 還元酵素阻害剤では観察されないことから、スクアレン合成酵素阻害剤がトリグリセライド代謝に対して新規な作用を有することが示唆された。

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 TG への影響を検討した。その結果 ER-28448 は、ホモウサギにおいては TCHO を低下させず 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作用で TG を低下させることが示唆された。

WHHL ホモウサギから単離した肝細胞における ER-27856 の脂質生合成阻害活性を検討したところ、ER-27856 は 24 時間培養においてコレステロールだけでなくトリグリセライド生合成を阻害した。ER-28448、及び ER-27856 の TG 低下作用がトリグリセライド生合成阻害に基づく可能性が示唆された。

ER-27856 とは構造の異なるスクアレン合成酵素阻害剤 RPR-107393 も同様にトリグリセライド生合成を阻害したことから、この作用がスクアレン合成酵素の阻害に基づく薬理作用であることも明らかとなった。スクアレン合成酵素阻害剤 (ER-27856 と 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たトリグリセライド生合成阻害作用を示した。一方、アトルバスタチンとスクアレンエポキシゲナーゼ阻害剤 (NB-598) はコレステロール生合成のみを阻害し、トリグリセライド生合成には影響しなかった。

次に、スクアレン合成酵素阻害剤が肝細胞の脂肪酸代謝にどのような影響を及ぼしているかを検討したところ、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トリグリセライド生合成阻害活性を発揮していることが明らかとなった。さらに、スクアレン合成酵素阻害剤がどのような経路でトリグリセライド生合成を阻害しているかを知るために、様々な化合物の添加実験を実施した。スクアレン合成酵素阻害剤によるトリグリセライド生合成阻害作用は 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、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。従って、スクアレン合成酵素阻害の結果増加したファルネシルピロリン酸代謝物がトリグリセライド生合成を阻害していることが示唆された。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トリグリセライド生合成阻害作用を示した。以上の結果より、スクアレン合成酵素阻害剤は、増加したファルネシルピロリン酸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トリグリセライド生合成阻害作用を発揮することが明らかとなった。

本研究をまとめると、まず、強力な新規スクアレン合成酵素阻害剤 ER-28448 とそのプロドラッグ体である ER-27856 を見出した。ER-27856 は HMG-CoA 還元酵素阻害剤に優る TCHO 低下作用を示し、アカゲザルへの 28 日間連続投与試験においては non-HDL コレステロールをほぼ消失させた。また ER-27856 は強力な TG 低下作用を示し、LDL レセプター活性に依存しない新規なメカニズムで TG 低下作用を示すことを見出した。さらに、スクアレン合成酵素阻害剤がトリグリセライド生合成阻害作用を示し、その作用がスクアレン合成酵素阻害の結果増加したファルネシルピロリン酸がファルネソールを経て代謝される過程で脂肪酸生合成を抑制する代謝物を生成することによることを明らかにした。

以上のごとく、申請者・日吉祐展の博士論文は、コレステロール低下薬の創出に向けて新たな知見を加え、さらに高等動物におけるコレステロール代謝とトリグリセリド代謝との関連を見いだすという基礎的知見も得ており、博士 (薬学) の学位に値する内容を有するものと考えられる。