

中枢作用薬の成功確率向上への取り組み —PDE10A 阻害薬の開発について—

木村 温英

要約：中枢作用薬の成功確率は残念ながら非常に低く、これを高めうるありとあらゆる手段を講じる必要がある。そのためには遺伝子変異や臨床知見に着目した創薬ターゲットの選択が鍵といえるが、残念ながら統合失調症治療においては未だにドパミン D₂ 受容体拮抗作用以外に確立された創薬ターゲットはない。線条体では中型有棘細胞がドパミン D₁ 受容体を発現する直接路とドパミン D₂ 受容体を発現する間接路を構成している。抗精神病薬はそのドパミン D₂ 受容体拮抗作用によって、間接路中型有棘細胞内の cAMP 濃度を高め神経回路を活性化することで薬理作用を発揮すると考えられている。ホスホジエステラーゼ 10A (PDE10A) は、直接路と間接路を構成する両方の中型有棘細胞に発現する酵素で、cAMP と cGMP の分解活性により、これら神経細胞の活性化制御に関わっている。従って PDE10A 阻害薬では、間接路の活性化とこれに基づく抗精神病作用に加え、直接路の活性化による錐体外路症状の軽減や認知機能の向上が期待でき、比較的成功確率の高いターゲットと考えられてきた。しかし期待に反して、これまでに臨床試験で有効性と安全性が立証された PDE10A 阻害薬はない。非常に興味深いことに我々は、PDE10A 阻害薬の解離速度が直接路と間接路の活性化パターンを規定し、これが薬理プロファイルに強く影響することを見出した。本総説では PDE10A 選択的阻害薬 TAK-063 の研究開発を例に、中枢作用薬の成功確率向上における創薬コンセプトの明確化とこれに基づく薬剤探索戦略の重要性について述べる。さらに、positron emission tomography トレーサーや electroencephalogram, pharmacological magnetic resonance imaging など駆使したトランスレーショナルリサーチの取り組みについても簡単に紹介する。

1. はじめに

ヒト脳神経回路の理解が不十分な上に、ヒト剖検脳の解析が困難なことや、適切なモデル動物の欠如、さらに疾患の多様性などから、残念ながら中枢疾患の病態解明は十分には進んでいない。このような現状で、少しでも中枢作用薬の成功確率を高めるためには、遺伝子変異や臨床知見に着目した創薬ターゲットの選択が鍵といえる。また positron emission tomography (PET) トレーサーや electroencephalogram (EEG), pharmacological magnetic resonance imaging (phMRI) など駆使したトランスレーショナルリサーチの重要性は疑う余地がない。

中枢作用薬の成功確率をさらに向上するためには、上記に加えてターゲット分子のメカニズムを念頭に置いた創薬コンセプトの明確化と、これに基づく薬剤探索戦略の重要性を再認識する必要があると考える。ハイスループットスクリーニングや結晶構造解析を駆使した薬剤デザインが創薬研究に導入されて以降、強力かつ選択的な開発化合物をいかに早く見出すかを主眼とした薬剤探索に過剰なエネルギーが注がれてきたように感じる。しかし我々はこれまでの創薬研究において、同一分子をターゲットとする薬剤でも、その結合部位や結合様式の違いにより薬理プロファイルが大きく異なることを見出して報告してきた(1,2)。例えばヒートショックタンパク質 90 (Hsp90) の N 末端 ATP 結合部位に結合するゲルダナマイシンは、Hsp90 とその複数のクライアントタンパク質との結合を非選択的に解離することで様々な反応を同時に引き起こすが、我々が見出した Hsp90 タンパク質の C 末端に結合する ITZ-1 では、転写因子であるヒートショックファク

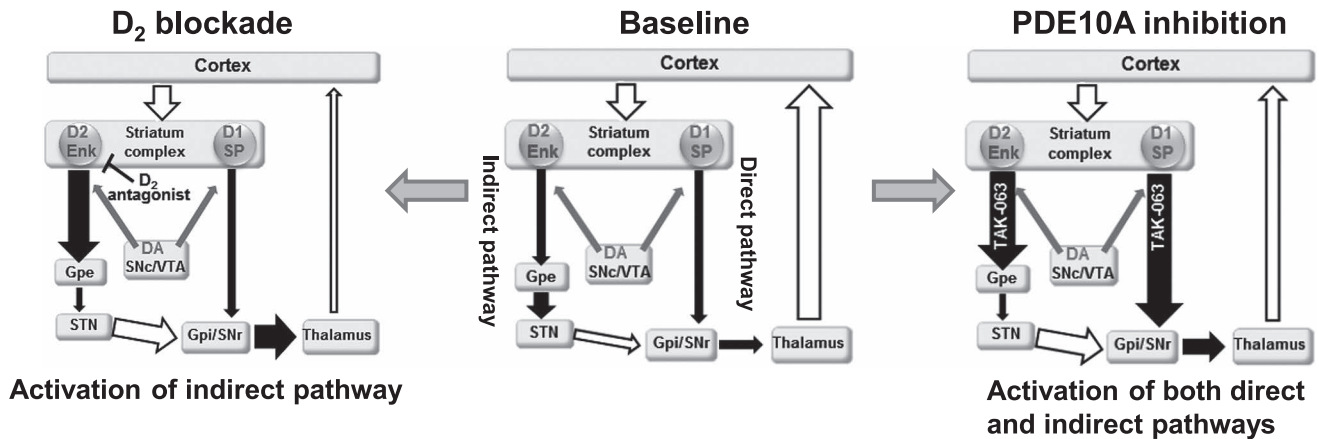


図1 抗精神病薬と PDE10A 阻害薬による大脳基底核神経回路の活性化

線条体では中型有棘細胞がドパミン D₁ 受容体を発現する直接路とドパミン D₂ 受容体を発現する間接路を構成している。抗精神病薬はそのドパミン D₂ 受容体拮抗作用によって、間接路神経細胞内の cAMP 濃度を高め、神経回路を活性化することで薬理作用を発揮する。PDE10A 阻害薬では、神経細胞内の cAMP と cGMP の濃度増加による間接路の活性化と、これに基づく抗精神病作用に加えて、直接路の活性化による錐体外路症状の軽減や認知機能の向上が期待できる。D₁: ドパミン D₁ 受容体, D₂: ドパミン D₂ 受容体, Enk: エンケファリン, SP: サブスタンス P, DA: ドパミン, SNc: 黒質緻密部, GPe: 淡蒼球外節, Gpi: 淡蒼球内節, STN: 視床下核, SNr: 黒質網様部, VTA: 腹側被蓋野。

ター 1 の活性化とこれに伴うヒートショックタンパク質の発現誘導反応に対する選択性が高い(1)。中枢神経疾患の多くが、複雑な神経回路の異常に基づくことを考えると、このような違いが結果として治療効果や副作用発現に強く影響する可能性がある。

ホスホジエステラーゼ 10A (PDE10A) は、ドパミン D₁ 受容体を発現する直接路とドパミン D₂ 受容体を発現する間接路を構成している両方の線条体中型有棘細胞に発現している酵素で、新しい統合失調症治療薬の創薬ターゲットとして注目されてきた(3)。しかし期待に反して、これまでに臨床試験で有効性と安全性が立証された PDE10A 阻害薬はない。非常に興味深いことに PDE10A 阻害薬では、その結合様式によって直接路と間接路の活性化パターンが異なり、これが非臨床薬理プロファイルにも強く影響することを我々は見出した(4)。この違いが臨床試験における有効性につながるのかについては今後の検証を待たなければならないが、情報共有によって疾患の理解と今後の成功確率向上に貢献できると考える。本総説では PDE10A 選択的阻害薬 TAK-063 の研究開発を例に、薬剤探索戦略の重要性について述べる。さらに、PET トレーサーや EEG, phMRI など駆使したトランスレーショナルリサーチの取り組みについても簡単に紹介する。

2. PDE10A 阻害薬

線条体では中型有棘細胞がドパミン D₁ 受容体を発現する直接路とドパミン D₂ 受容体を発現する間接路を構成している(5-7)。抗精神病薬はそのドパミン D₂ 受容体拮抗作用によって、間接路神経細胞内の cAMP

濃度を高め神経回路を活性化することで薬理作用を発揮すると考えられている。PDE10A は、直接路と間接路を構成する両方の中型有棘細胞に発現している酵素で、cAMP と cGMP の分解活性により、これらの神経細胞の活性化制御に関わっている(8-10)。従って PDE10A 阻害薬では間接路の活性化と、これに基づく抗精神病作用に加えて、直接路の活性化による錐体外路症状の軽減や認知機能の向上が期待できる(図 1)。D₂ 受容体拮抗薬と PDE10A 阻害薬のシグナル伝達の類似性からも、PDE10A は比較的成功確率の高いターゲットと予想され、これまでに多数の製薬企業がその特異的阻害薬の探索に取り組んできた(11)。しかし残念ながら、ファイザーの PDE10A 特異的阻害薬 MP-10 が、第 II 相試験において期待した効果を示さないことが報告された(12)。従って、D₂ 受容体拮抗薬と PDE10A 阻害薬との違いを明らかにすることは、統合失調症の病態の理解においても、今後の創薬を考える上でも非常に重要といえる。

3. D₂ 受容体拮抗薬と PDE10A 阻害薬の違い

D₂ 受容体拮抗薬と PDE10A 阻害薬の顕著な違いとして直接路の活性化が挙げられる。実際、サブスタンス P (SP) mRNA とエンケファリン (Enk) mRNA をそれぞれ直接路と間接路の活性化バイオマーカーとして評価したところ、D₂ 受容体拮抗薬ハロペリドールでは Enk mRNA が、D₁ アゴニスト SKF82958 では SP mRNA が特異的に発現誘導された。一方で、PDE10A 阻害薬 TAK-063 では、SP と Enk 両方の mRNA の発現誘導が認められた。

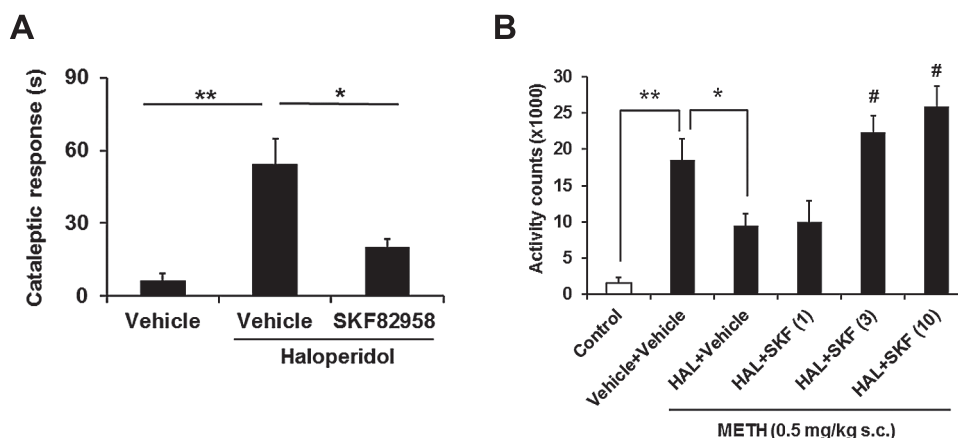


図2 運動機能の制御や抗精神病様作用における直接路と間接路の拮抗作用

D₂ 受容体拮抗薬ハロペリドール (1 mg/kg i.p.) で誘発したカタレプシーは、D₁ 受容体作動薬 SKF82958 (2 mg/kg i.p.) で抑制された (A)。また、メタンフェタミン (METH) 誘発自発運動亢進におけるハロペリドール (0.3 mg/kg p.o.) の抗精神病様作用も、SKF82958 で抑制された (B)。データは全て平均値±標準誤差で表している (n=4~7)。**P*≤0.05, ***P*≤0.01, Aspin-Welch test により2群を比較。#*P*≤0.05, two-tailed Williams' test により溶媒投与対照群と比較。(文献4, 14から引用または一部改変)

運動機能の制御において、直接路と間接路は互いに拮抗作用を持つ(13)。実際、ラットにおいてハロペリドールで誘発したカタレプシーは、SKF82958で抑制された。さらに我々は、メタンフェタミン誘発自発運動試験におけるハロペリドールの抗精神病様作用も、SKF82958で抑制されることを見出した(図2)。つまりPDE10A阻害薬で、強い抗精神病作用と錐体外路症状の軽減を両立するためには、直接路と間接路の活性化バランスを慎重に考える必要がある。興味深いことに、これまでの報告によるとPDE10A阻害薬は、抗精神病薬が用量依存的な薬効を示すアンフェタミン誘発自発運動亢進やプレパルス抑制 (prepulse inhibition: PPI) 障害において明確な薬効を示さない。つまり期待に反して、D₂ 受容体拮抗薬とは異なるプロファイルを有することになる。我々はこれらのPDE10A阻害薬では、直接路の活性化が強すぎるのではないかと予想した。

4. 直接路と間接路の適切な活性化を引き起こすPDE10A阻害薬の探索戦略

PDEには複数のファミリーがあり、それぞれが生体内で非常に重要な生理機能を担っているため、PDE10A選択性が低いと副作用が懸念される。そこで創薬研究者の心理として、強力かつ選択的なPDE10A阻害薬の探索を主眼とする化合物探索を実施したくなる。しかしこれでは、直接路と間接路の活性化バランスを十分に考慮できていないとはいえない。

そこでPDE10A選択的な阻害薬による直接路と間接路の活性化パターンの制御についてその可能性を考えた。直接路に発現しているD₁ 受容体はGs共役型受容

体で、ドパミン刺激によってcAMP産生が亢進する。一方で、間接路に発現しているD₂ 受容体はGi共役型受容体で、ドパミン刺激でcAMP産生が低下する。従って、直接路中型有棘細胞の細胞内cAMP濃度は間接路中型有棘細胞のそれよりも高いと予想した。実際、ラット線条体神経細胞を抗cAMP抗体で免疫染色すると、その陽性細胞の90%以上が直接路中型有棘細胞であった(4)。この細胞内cAMP濃度の違いが、PDE10A阻害薬による両経路の活性化パターンに影響しうると考えられる。

一般に基質拮抗型の酵素阻害薬では、解離速度が速いほど基質による結合阻害を受けやすい。そこでPDE10A特異的な放射性リガンド [³H]T-773とラット脳切片を用いたオートラジオグラフィーで、基質拮抗型PDE10A阻害薬であるTAK-063とMP-10の解離速度を調べたところ、TAK-063の方がMP-10よりもPDE10Aからの解離速度が速いことがわかった(図3A)。次に基質濃度が、これらPDE10A阻害薬の結合に及ぼす影響を調べた。その結果TAK-063とMP-10では、PDE10Aに対する結合親和性はほぼ同等にも関わらず (K_i value; TAK-063: 3.2 nM, MP-10: 4.3 nM), TAK-063の方がMP-10よりも、基質(サイクリックヌクレオチド)による結合阻害への感受性が高いことがわかった(図3B)。よって細胞内基質濃度が高いと考えられる直接路では、MP-10の方がTAK-063よりもPDE10Aを強く阻害する可能性が考えられた。

そこでTAK-063とMP-10による直接路と間接路の活性化を調べたところ、間接路の活性化ではTAK-063とMP-10はほぼ同等の作用を示したが、直接路の活性化では、TAK-063よりもMP-10の方がより強い作用

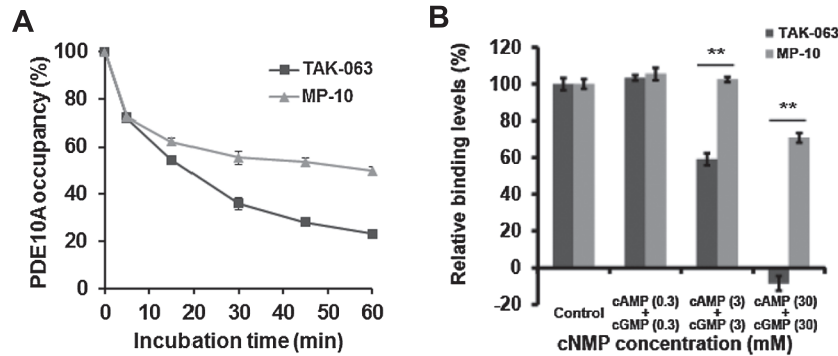


図3 TAK-063とMP-10の解離速度ならびにサイクリックヌクレオチドによる結合阻害への感受性の違い
PDE10A 特異的な放射性リガンド $[^3\text{H}]\text{T-773}$ とラット脳切片を用いたオートラジオグラフィーで、基質拮抗型 PDE10A 阻害薬である TAK-063 と MP-10 の解離速度を比較。TAK-063 の方が MP-10 よりも PDE10A からの解離速度が速いことがわかる (A)。解離速度から予想されたとおり、TAK-063 の方が MP-10 よりも、基質 (サイクリックヌクレオチド) による結合阻害への感受性が高い (B)。データは全て平均値±標準誤差で表している ($n=3\sim4$)。* $P\leq0.01$, 2 元配置分散分析の後, Aspin-Welch test により 2 群を比較。(文献 4 から引用)

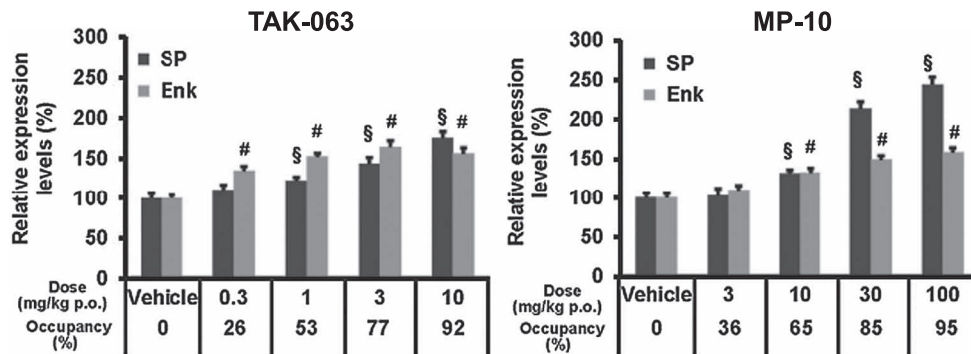


図4 TAK-063とMP-10による直接路と間接路の活性化
ラット線条体における直接路と間接路の活性化を、それぞれサブスタンス P (SP) mRNA とエンケファリン (Enk) mRNA の発現誘導を指標に測定した。間接路の活性化では TAK-063 と MP-10 はほぼ同等の作用を示したが、直接路の活性化では、TAK-063 よりも MP-10 の方がより強い作用を示した。データは全て平均値±標準誤差で表している ($n=6$)。 $^{\$}P\leq0.05$, $^{\#}P\leq0.05$, two-tailed Williams' test により溶媒投与対照群と比較。(文献 4 から引用)

を示した (図 4)。さらに、TAK-063 がハロペリドールと同様にメタンフェタミン誘発自発運動亢進を抑制し、C57BL/6J マウスの PPI を増加させたのに対して、MP-10 は両試験で有意な作用を示さなかった (図 5)。

PDE10A 阻害薬の薬効プロファイルが解離速度によって規定される可能性をさらに検証するために、TAK-063 と類似の化学構造をもち、MP-10 に近い解離速度を有する化合物を探索して compound 1 を見出した (4)。非常に面白いことに compound 1 は、直接路の過剰な活性化を引き起こし、メタンフェタミン誘発自発運動や C57BL/6J マウスの PPI 障害には無効で、MP-10 様の薬理プロファイルを示した。

PDE10A 阻害薬の解離速度と薬効プロファイルの関係については、さらなる検証が必要ではあるが、SKF82958 や MP-10 が、マウス線条体でドパミン放出を惹き起こす一方で、TAK-063 ではこの作用が認められないことや、MP-10 によるドパミン放出が PDE10A ノックアウトマウスでは消失すること、さらに

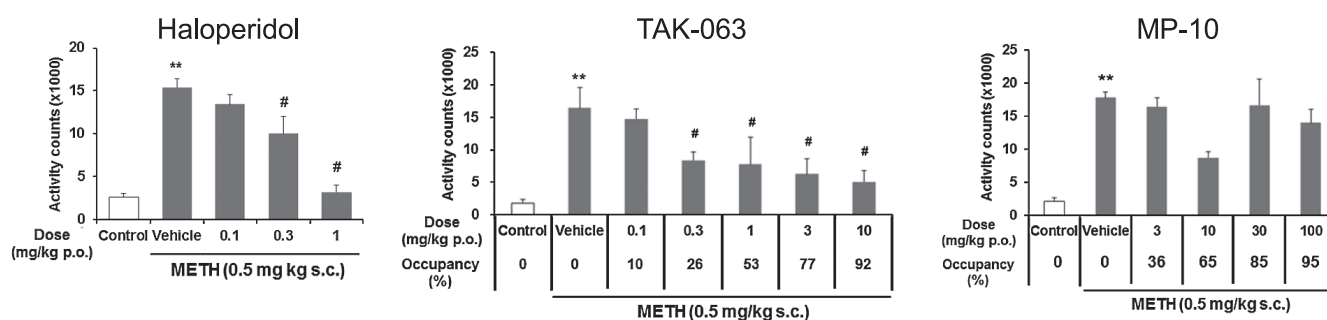
compound 1 もドパミン放出を惹き起こすことなどから、直接路の過剰な活性化によるドパミン放出が関与しているのではないかと考えられる (4)。

表 1 に D_2 受容体拮抗薬と 3 種類の PDE10A 阻害薬の薬効プロファイルをまとめた。我々は PDE10A 阻害薬の創薬コンセプトを、① D_2 拮抗薬と同様の間接路の活性化とこれに基づく抗精神病作用を発揮し、②直接路の活性化によって、錐体外路症状の軽減が期待できる薬剤と定めた。解離速度や神経回路活性化パターンに着目することで、この創薬コンセプトに合致する PDE10A 阻害薬 TAK-063 を発見できたと考える。なお、錐体外路症状については、ラットを用いてカタレプシーの軽減を観察している (14)。

5. 非臨床と臨床を繋ぐトランスレーショナルリサーチ

中枢疾患の複雑性や脳血液関門の存在を考えた場合、中枢作用薬の開発において非臨床と臨床を繋ぐトラン

Methamphetamine (METH)-induced hyperactivity in rats



Low PPI in C57BL/6J mice

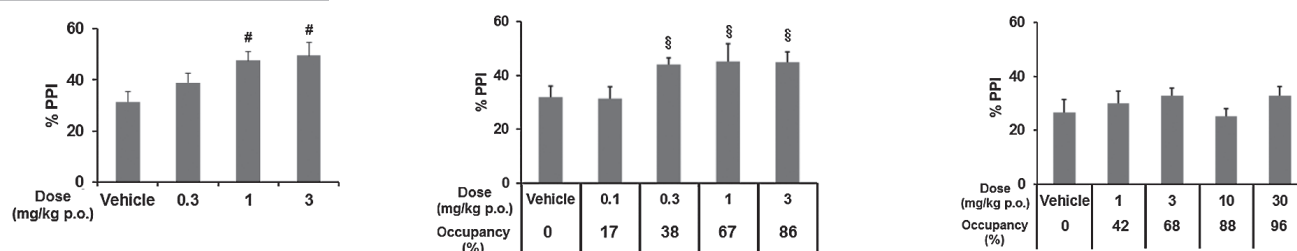


図5 TAK-063 と MP-10 の抗精神病様作用の違い

TAK-063 はハロペリドールと同様にメタンフェタミン (METH) 誘発自発運動亢進を抑制し、C57BL/6J マウスのプレパルス抑制 (PPI) を増加させたのに対して、MP-10 は両試験で有意な作用を示さなかった。データは全て平均値 + 標準誤差で表している (n=4~15). ** $P \leq 0.01$, Aspin-Welch test により control 群と vehicle 群を比較。§ $P \leq 0.05$, # $P \leq 0.05$, two-tailed Williams' test により溶媒投与対照群と比較。(文献 4 から引用)

表1 ハロペリドールおよび解離速度の異なる PDE10A 阻害薬の薬理プロファイル

	Haloperidol (D ₂ antagonist)	TAK-063	Compound 1 (TAK-063 chemotype)	MP-10
Off-rate from PDE10A	N.D.	Fast	Slow	Slow
Activation of direct pathway MSNs	—	+	++	++
Activation of indirect pathway MSNs	+	+	+	+
METH-induced hyperactivity in rats	○	○	×	×
Low PPI in C57BL/6J mice	○	○	×	×
Striatal dopamine release in rats	N.D.	×	○	○

MSNs : medium spiny neurons, METH : methamphetamine, PPI : prepulse inhibition, N.D. : no data.

スレーショナルリサーチは必要不可欠である。我々は TAK-063 の PDE10A 占有率を測定する目的で、カロリンスカ研究所の Christer Halldin 教授らと共同で、PDE10A 選択的 PET トレーサー [¹¹C]T-773 を開発した (図 6A) (15)。[¹¹C]T-773 はサルにおいて、PDE10A の高発現部位である線条体に特異的に集積した (図 6B)。これまでに [¹¹C]T-773 を用いて、ラット、サル、ヒトにおける TAK-063 の PDE10A 占有率を測定した (16-18) (図 6C)。TAK-063 のラットにおける薬効用量 (0.3 mg/kg p.o.) での PDE10A 占有率は約 30% であった。

また、キングスカレッジロンドンの Steven C. Williams 教授と共同でラットを用いた pHMRI を実施

し、TAK-063 が PDE10A 発現部位特異的に blood oxygenation level dependent (BOLD) シグナルを増加させることを確認した (19)。矢状切片でも冠状切片でもラベル化 TAK-063 の集積パターンと BOLD シグナルの増加パターンがよく一致していることがわかる (図 7)。

さらに、TAK-063 が、ラットにおける薬効用量 (占有率約 30%) にて、ケタミン誘発 EEG gamma power の増加を抑制することを見出した (19)。サルにおいても TAK-063 によるケタミン誘発 EEG gamma power の増加に対する有意な抑制作用が約 30% 占有率で認められたことから、この反応における種差の影響は比較的小さいのかもしれない (図 8)。またこの結果から、

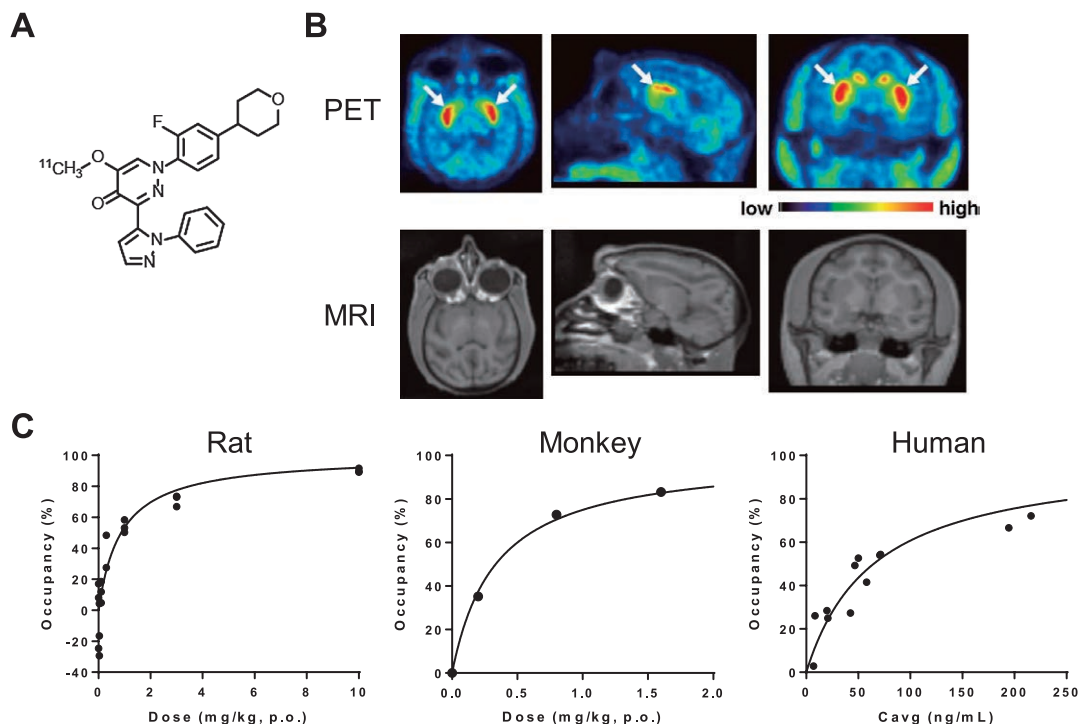


図6 PDE10A 選択的 PET トレーサー $[^{11}\text{C}]\text{T-773}$ を用いた TAK-063 の PDE10A 占有率の測定
PDE10A 選択的 PET トレーサー $[^{11}\text{C}]\text{T-773}$ の化学構造式 (A)。 $[^{11}\text{C}]\text{T-773}$ はサルにおいて、PDE10A の高発現部位である線条体 (白矢印) に特異的に集積した (B)。 $[^{11}\text{C}]\text{T-773}$ を用いて、ラット、サル、ヒトにおける TAK-063 の PDE10A 占有率を測定した (C)。 C_{avg} は、PET 測定中の血漿中濃度曲線下面積を測定時間で割った値を表す。(文献 16~19 から引用または一部改変)

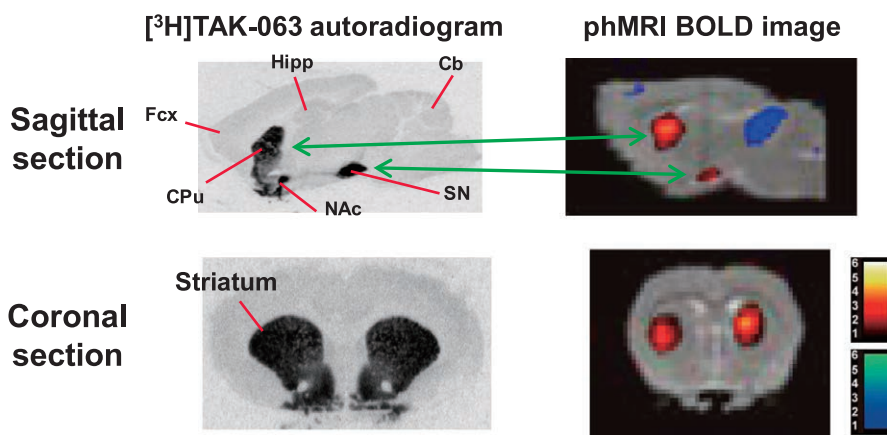


図7 ラット脳切片と $[^3\text{H}]\text{TAK-063}$ を用いたオートラジオグラフィー試験ならびにラットを用いた phMRI 試験
 $[^3\text{H}]\text{TAK-063}$ は PDE10A 高発現部位特異的に集積した。また TAK-063 (3 mg/kg i.p.) はラットにおいて、PDE10A 高発現部位特異的に血中酸素濃度依存型 (BOLD) シグナルを増加させた。矢状 (sagittal) 切片でも冠状 (coronal) 切片でも、 $[^3\text{H}]\text{TAK-063}$ の集積パターンと BOLD シグナルの増加パターンがよく一致していることがわかる。Fcx: 前頭葉, CPu: 尾状核被殻, Acc: 側坐核, SN: 黒質, Hipp: 海馬, Cb: 小脳。赤色から黄色のカラースケールは正相関を、青色から緑色のカラースケールは負相関を示す。(オートラジオグラフィー試験は文献 16 から引用。phMRI 試験は文献 19 から引用)

TAK-063 が前頭葉の機能にも影響することがわかる。そこで phMRI で詳細に調べた結果、TAK-063 が前頭葉におけるケタミン誘発 BOLD シグナルの増加を阻害することを確認した (19)。これらの情報を基に、健常人を対象とした同様の試験を実施した。

6. おわりに

中枢作用薬の成功確率を向上するには、やはり臨床情報に基づくターゲットの選択や、トランスレーショナルリサーチの取り組みが重要ではないかと考える。また、脳内神経回路の複雑な制御を考えても、「創薬コンセプトの明確化とこれに基づく薬剤探索戦略の確

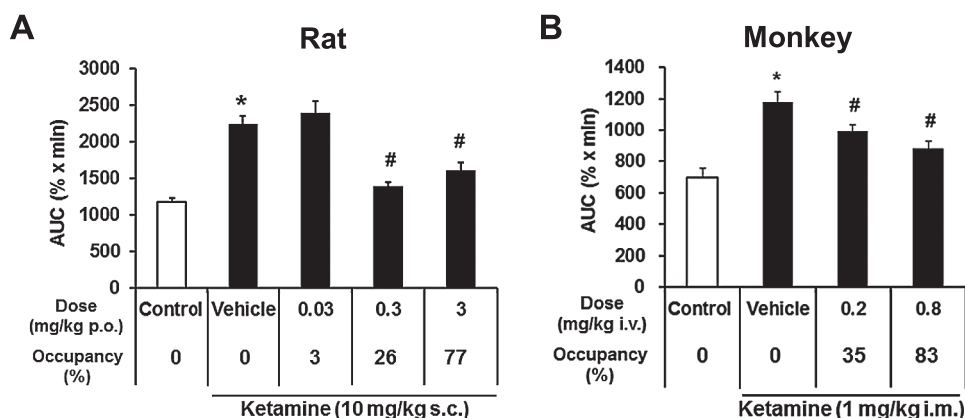


図8 ラットおよびサルにおけるケタミン誘発 EEG gamma power の増加に対する TAK-063 の抑制作用

TAK-063 は、ラットにおける薬効用量（占有率約 30%）にて、ケタミン誘発 EEG gamma power の上昇を抑制した（A）。サルにおいても TAK-063 によるケタミン誘発 EEG gamma power 上昇の抑制が約 30%占有率で認められた（B）。データは全て平均値±標準誤差で表している（n=4~6）。* $P \leq 0.05$, Aspin-Welch test により control 群と vehicle 群を比較。# $P \leq 0.05$, two-tailed Williams' test により溶媒投与対照群と比較。（文献 19 より一部改変）

立」の重要性を改めて提案したいと思う。さらに情報共有の重要性についても指摘しておきたい。病態の理解がまだまだ不十分な現状において、非臨床試験での薬効プロファイルと臨床試験で得られた結果との考察はこれを深めることができる非常に重要な機会といえる。従って、できる限り情報を共有して、病態の理解を深める必要があるのではないかと考える。

ここに示した TAK-063 の非臨床プロファイルが、臨床試験における有効性につながるのかについては今後の検証を待たなければならない。しかしこのような情報共有を通じて、中枢作用薬の成功確率向上に貢献できればと考えて、我々の取り組みを紹介させていただいた。

著者の利益相反：木村温英（武田薬品工業株式会社）。

文 献

- 1) Kimura H, et al. Chem Biol. 2010;17:18-27.
- 2) Kimura H, et al. Chem Biol. 2010;17:1282-1294.
- 3) Kehler J, et al. Curr Pharm Des. 2011;17:137-150.
- 4) Suzuki K, et al. Neuropsychopharmacology. 2016;41:2252-2262.
- 5) Graybiel AM. Trends Neurosci. 1990;13:244-254.
- 6) Graybiel AM. Curr Biol. 2000;10:R509-R511.
- 7) Bertran-Gonzalez J, et al. Front Neuroanat. 2010;4.
- 8) Nishi A, et al. J Neurosci. 2008;28:10460-10471.
- 9) Xie Z, et al. Neuroscience. 2006;139:597-607.
- 10) Sano H, et al. J Neurochem. 2008;105:546-556.
- 11) Bartolome-Nebreda JM, et al. Pharm Pat Anal. 2015;4:161-186.
- 12) DeMartinis N, et al. Schizophr Res. 2012;136 Suppl 1:S262.
- 13) DeLong MR. Trends Neurosci. 1990;13:281-285.
- 14) Suzuki K, et al. J Pharmacol Exp Ther. 2015;352:471-479.
- 15) Harada A, et al. Nucl Med Biol. 2015;42:146-154.
- 16) Harada A, et al. PLoS One. 2015;10:e0122197.
- 17) Takano A, et al. Synapse. 2016;70:253-263.
- 18) Takano A, et al. Neuroimage. 2016;141:10-17.
- 19) Tomimatsu Y, et al. Neuroscience. 2016;339:180-190.