

# アルツハイマー病の根本治療を目指した 新規治療法の研究開発

Research Aiming the Development of New Rational Therapies for Alzheimer's Disease

星 美奈子(京都大学 大学院医学研究科／特定准教授)  
Minako Hoshi (Graduate School of Medicine, Kyoto University／Associate Professor)

## Abstract

Alzheimer's disease (AD) causes about 60 % of dementia, yet there exists no effective treatment so far. Although AD brains contain various assemblies derived from amyloid  $\beta$ -protein (A $\beta$ ), conventional treatments to remove A $\beta$  have been developed without clarifying which type of A $\beta$  assemblies indeed serves as a neurotoxin. Unfortunately, results of most clinical trials of these therapies showed safety issues. We therefore consider new treatments need to be developed based on a better understanding of the causative agent and indeed isolated the toxic agents from AD brains, which we termed amylospheroids (ASPDs) (Noguchi et al. JBC 2009). We then developed antibodies that recognize the ASPD-specific tertiary structures and can neutralize the ASPD neurotoxicity. Here, we aim to develop an immunotherapy using an anti-ASPD antibody as well as to develop an active immunotherapy using ASPDs themselves. To that end, we performed the following three projects: I. Validation of the concept targeting ASPDs using anti-ASPD antibodies, II. Developing ASPD vaccine therapy, III. Verification of safety and effectiveness of these therapies in exploratory clinical studies. As for the project I, we manufactured the drug substance and the test items were examined in non-clinical studies. No adverse effects were observed by a single injection of the test items against monkeys. As for the project II, we treated aged monkeys with ASPDs without adjuvant, which appeared to protect neural activities to some extent. As for the project III, we determined the overall protocols of the exploratory clinical study and the future time schedule towards the Ethics Committee review. Our project proceeded as planned.

## 1 事業概要

アルツハイマー病 (AD) は認知症の約 6 割を占める疾患であり、2050 年には有病率が世界の 85 人に 1 人に達すると見込まれている。しかしながら、現在、治療薬としては症状緩和剤しか存在せず、有効な治療薬の上市が待望されている。発症は、内因性ペプチドであるアミロイド $\beta$  (A $\beta$ ) が脳内で作る凝集物によるとされている。しかし、患者脳内にある多様な A $\beta$  凝集体の何が原因物質かを特定せずに A $\beta$  全般を除去するこれまでの療法は、安全面で大きな問題があることが治験で次々と明らかになり、これを解決するには原因物質を特定した新たな治療法の開発が必要と考えられていた。我々は、世界で初めて、AD 患者脳より神経細胞死の原因物質と考えられる amylospheroid (ASPD) を単離し、この原因物質に対する選択的治療を可能にする抗体を得ることに成功した (Noguchi et al, JBC2009)。そこで、本プロジェクトでは、原因物質を治療ターゲットとした新たな治療コンセプトに基づく治療法開発を行うこととする。

ASPD は特異的な立体構造をとることで強い神経毒性を獲得し、抗体はこの ASPD 特異的立体構造を認識し神経毒性を中和する。そこで、まず ASPD 立体構造認識抗体による抗体医療の開発を目指す。これにより、副作用を回避しより少量で有効な療法が可能になると考えられる。次に、この ASPD 立体構造認識抗体による療法の有効性を生かしつつ、従来の抗体医療を越える戦略として、ASPD そのものを用いた能動ワクチン療法の開発にステップアップする。

この二段階の戦略により、原因物質を治療ターゲットとした、より安全で有効な、適切な医療経済バランスを持つ新規免疫療法の開発に繋げることを目指した。

## 2 主要な研究成果

本プロジェクトは、ADの原因物質として同定されたASPDを治療ターゲットとした全く新しいコンセプトに基づき、新規のアルツハイマー病治療法を開発する研究である。2年2ヶ月の主要な研究成果として、以下を達成した。

### (1) ヒト化抗ASPD抗体の製造法の確立と安全性の検証

ASPDが治療ターゲットとして妥当であるかどうかを検証するために、ヒト化抗ASPD抗体を用いた抗体療法の開発に取り組んだ。ヒトに初めて投与する物質についての安全性の要求が高くなり、当初計画していた院内製剤では対応出来なくなったため、ヒト化抗体の製造法を確立した後、外部委託によってGMPに準拠した方法により製造を行い、サルを用いた安全性試験を実施し、血中動態を明らかにした上で、安全性に問題がないことを示した。

### (2) 京都大学発ベンチャーの創設と低分子治療薬の開発

本プロジェクトにおいて、ASPDが結合し毒性を発揮する神経細胞上のターゲット分子を明らかにするとともに、ASPDの表面構造についても解析が進んだ。これにより、低分子治療薬開発が可能となった。また能動ワクチン療法についても、解析結果待ちではあるが、当初の目的を達成することが出来た。そのため、今後これらの事業化を促進するために、京都大学発ベンチャーを11月11日に設立し、京都大学より関連する知財の譲渡を受けた。

### (3) ASPD診断キットの開発

本プロジェクトにおいて、ASPDを選択的に定量出来るキットの確立に成功した。本結果を基に、ASPD診断キットを製造し販売する計画が進行している。

上記以外に、血液脳関門を超えて脳内に遺伝子あるいはタンパク質をデリバリー出来る技術の開発に成功した。これらは、今後、診断及び治療法の開発の基盤技術として、何れも現在のアルツハイマー病を初めとする神経変性疾患の診断法開発や治療薬開発の問題を解決する革新的手法となりえることが期待される。上記の成果について、5件の特許を出願し（内、国際出願が3件）、さらに出願済みの特許の3件が登録された。

## 3 現在の取り組みと今後の展望

上記の成果について、現在以下のように取り組んでいる。

### (1) ヒト化抗ASPD抗体の製造法の確立と安全性の検証

ヒト化抗ASPD抗体については、中和活性を持つ抗体の製造方法を確立し、実際に安全性をサルで確認することに成功した。ここから先、ヒトで検証を行うためには、経費の問題もあり企業への導出を検討している。しかしながら、抗A $\beta$ 抗体について副作用の報告が相次ぎ、開発が中止になったことから、いずれの製薬企業も抗体療法の開発については非常に消極的になっていることがわかった。そこで、抗体療法については、引き続きデータを取りつつ導出の機会を待つこととした。

### (2) 京都大学発ベンチャーの創設と低分子治療薬の開発

こちらについては、実際に国内の製薬企業が開発パートナーとして名乗りを上げ、実際に提携することとなり、現在、低分子治療薬の開発に向けて動いている。また、京都大学発ベンチャーの方も、関西において民間としては初めて医療特区の認定を受けるに至った。

### (3) ASPD診断キットの開発

こちらについても開発パートナーの企業が見付かり、三菱化学メディエンスでの開発結果を基に、ASPD診断キットを製造し販売する計画が進行している。まず試薬として販売を行い、上記治療薬開発のスケジュールと合わせて診断薬への移行も検討していく。実現した場合、アルツハイマー病の確定診断は死後でしか出来ない現在、診断薬自体もその市場性は高い。

上記のとおり、本プロジェクトから実際に企業へ成果が橋渡しをされ、実用化に向けて動き出しており、本来目指すところの橋渡し研究の意義は充分あったと考えられる。

## 4 参考資料

2012.10.11 NEDO「基礎研究から臨床研究への橋渡し促進技術開発」成果報告会

### アルツハイマー病の根本治療を目指した新規治療法の開発

京都大学 大学院医学研究科  
特定准教授 星 美奈子

1

### Anti-Aβ Drugによる治療戦略の問題点

患者脳にあるアミロイドβ(Aβ)凝集体(2~数千100量体)の何が原因かを特定せずAβを除去する治療法を開発してきた

```

    graph LR
      A[前駆体] -- 切り出し --> B[Aβモノマー]
      B -- 凝集 --> C[原因物質]
      C --> D[神経細胞死]
      E[シクレーターゼ阻害剤] --> B
      F[ブロードな反応性の抗体による療法] --> C
  
```

- シクレーターゼ阻害剤
  - ・重篤な副作用(肝障害)(腸上皮障害)(免疫異常)
- ブロードな反応性の抗体による療法
  - ・重篤な副作用(脳炎)
  - ・大量反復投与による危険性(自己抗体・アナフィラキシーショック)

Anti-Aβ Drugには重大な安全性の懸念があることがわかってきた  
(FDA・EMAによる審査要件が厳しくなる)  
↓  
原因物質を特定し、抗体療法を超える新たな治療法を開発する必要がある

2

### 神経細胞死の原因となるAβ凝集体(ASP)の発見

試験管内における凝集体調製法の確立  
ASP立体内構造認識抗体の確立  
免疫沈降による精製法確立

合成ASP  
Hoshi et al (PNAS 2003)

ASP抗体  
Hoshi et al (JBC2009)

患者ASP  
収率: 約43 pmol/g患者脳

患者ASP投与によるヒト神経細胞の細胞死  
神経細胞死  
10 ± 8% 68 ± 3%

アルツハイマー病脳におけるASPの分布と存在量  
免疫組織染色(嗅内野皮質)  
370 nm  
Hoshi et al (JBC2009)

3

### ASPは初めてヒト患者脳から単離された神経細胞死活性を持つAβ凝集体である

ヒトのアルツハイマー病の病態

既存モデルマウスでの病態  
機能的障害  
正常 → 軽度認知障害 → 神経細胞死 → アルツハイマー病

残された課題!  
神経細胞死 → アルツハイマー病

ASP  
・約30量体  
・強い神経毒性  
・ヒト患者脳から単離  
・患者重症度に応じて増加  
・3量体より形成される

シナプス毒性以降に起こる神経細胞死メカニズム解明と阻止を目指す

4

### 原物質ASPを標的に抗体療法を超える新たなアルツハイマー病治療法の開発を目指す

特異的な立体内構造による強力な神経細胞毒性

患者由来ASP

```

    graph LR
      A[前駆体] --> B[Aβモノマー]
      B -- 凝集 --> C[凝集]
      C --> D[神経細胞死]
      E[抗体] -- 中和 --> C
  
```

抗体は神経毒性を中和!

ASP立体内構造を認識する抗体による分子標的療法(POC確立)

- ・ヒト正常組織に反応しないヒト化抗体を開発済み
- ・少量で有効
- ・副作用を回避

ASP能動ワクチン療法

- ・合成ASP(患者ASPと等価)を接種し免疫を賦活化
- ・数回の免疫で治療が可能

5

### ASP立体内構造認識抗体の有効性

抗ASP抗体によるヒト成熟神経における神経細胞死の阻止  
Noguchi et al (JBC2009)

正常対照 患者ASP 患者ASP + 抗ASP抗体

神経細胞死  
10 ± 8% 68 ± 3% 3 ± 8%

抗ASP抗体による学習行動の改善  
水迷路による長期記憶の改善(モデルマウス)

抗ASP抗体による老人斑の減少  
抗体投与3週間後の免疫組織染色(老齡カニクイサル)

抗体未投与 抗体投与3週間

Muramatsu, Kikuchi, Hoshi et al (2008; unpublished data)

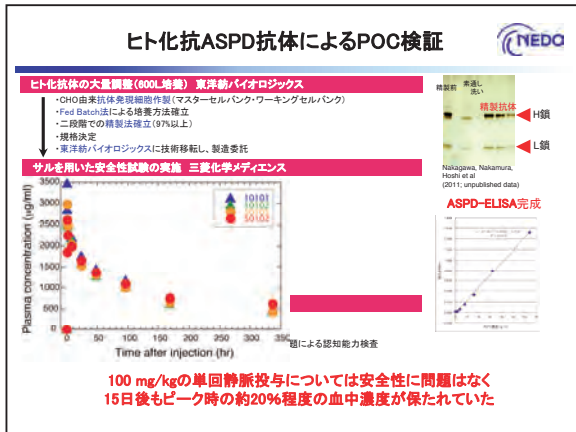
統計的有意性: \*p<0.05 vs 野生型; \*\*p<0.05 vs モデルマウス; #対照抗体

ヒト化ASP立体内構造認識抗体による抗体療法のPOC確立

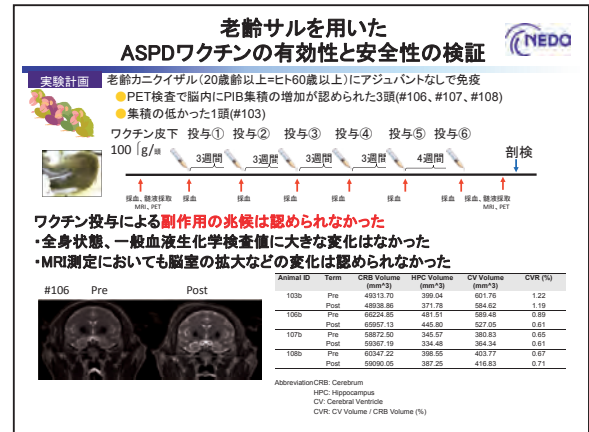
6

## ●事業情報

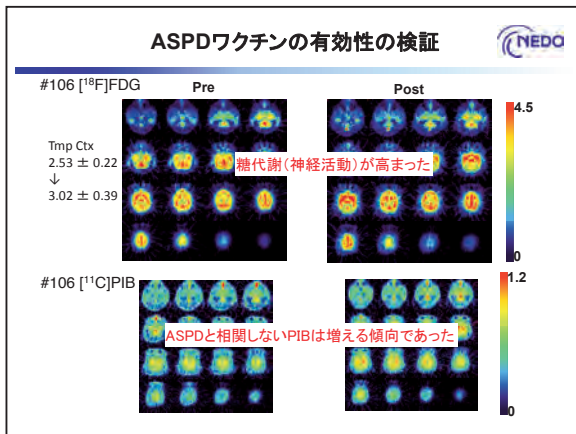
- テーマ名** アルツハイマー病の根本治療を目指した新規治療法の研究開発  
Research Aiming the Development of New Rational Therapies for Alzheimer's Disease
- 実施期間** 平成21年度～平成23年度
- 研究代表者** 鍋島 陽一(公益財団法人先端医療振興財団 先端医療センター/センター長)
- 委託先** 国立大学法人京都大学、三菱化学メディエンス株式会社、公益財団法人先端医療振興財団



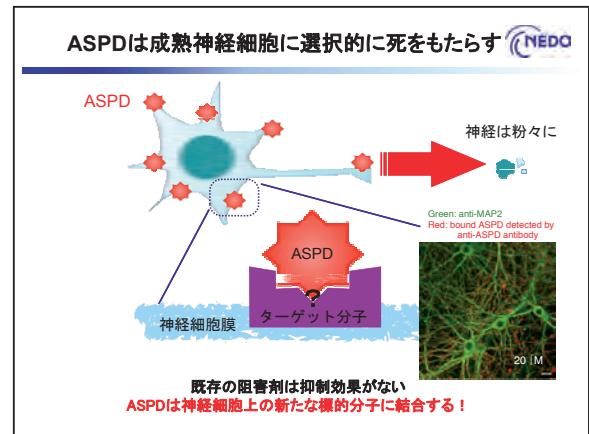
7



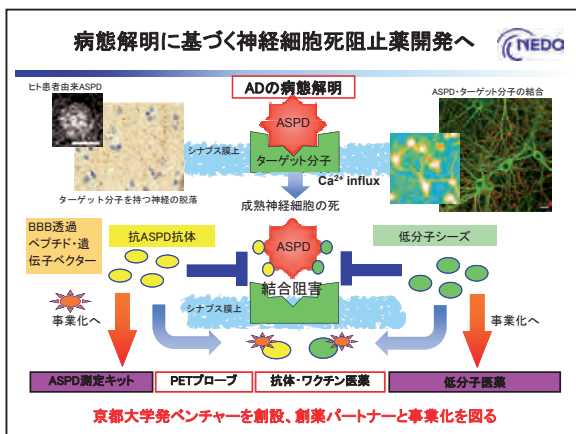
8



9



10



11

- ### Take Home Messages
- ✓ 抗ASPD抗体療法については探索臨床に向けて順調に進行し一定の成果が得られた
  - ✓ 抗体療法については開発費が莫大なることもあり企業への導出を検討しているが、先行する抗アミロイド抗体の治験で重篤な有害事象の報告がありより慎重な対応が求められるため引き続きデータを取る予定
  - ✓ ワクチン療法については、アジュバントなしで実施可能である一老齢サルで有効性がある可能性が出てきた
  - ✓ ASPDのターゲット分子を同定し、ASPDの立体構造を解明し、神経細胞死の分子機構を解明し、低分子医薬開発のシーズを見出した一京都大学発ベンチャーを創設、パートナーと低分子薬開発を進める
  - ✓ ASPDに選択的ELISA系の開発に成功した一パートナーと診断薬開発を進める予定である本プロジェクトからいくつか実際に事業化に向けたプロジェクトが生まれ構築しとしての本来の役割を果たした

12

### 講演者連絡先

京都大学 大学院医学研究科 生体構造医学講座 形態形成機構学分野 アルツハイマー病創薬基盤プロジェクト  
〒606-8501 京都府京都市左京区吉田近衛町  
TEL 075-753-4341