

CETP をターゲットにした創薬研究

日本たばこ産業（株）医薬総合研究所 生物研究所
岡本 浩史

コレステリルエステル転送蛋白（CETP）は主として肝臓及び小腸で産生される分子量 68,000 ~ 74,000 の疎水性の強い糖蛋白であり、高比重リポ蛋白（HDL）中のコレステリルエステルを超低比重リポ蛋白（VLDL）や低比重リポ蛋白（LDL）に転送する働きを有している。LDL は肝臓から末梢組織へコレステロールを運搬する重要なリポ蛋白であるが、血中や血管壁で酸化等の変性を受けると血管壁のマクロファージに取り込まれてこれを泡沫化し、最終的にアテローム性動脈硬化の発症を促すと考えられている。一方、HDL は逆に末梢組織に蓄積したコレステロールを引き抜いて肝臓へ戻す作用（コレステロールの逆転送作用）や、LDL の酸化変性を抑制する作用を有することから、抗動脈硬化的に働くりポ蛋白と言われている。事実、HDL コレステロールが動脈硬化の独立した負の危険因子になりうる事が、Framingham study を初めとした多くの大規模臨床調査の結果によって示されている。HDL コレステロールは飲酒、運動といった環境因子によって増加するが、これらは CETP 活性の低下を伴うこと、CETP の遺伝子異常による完全欠損は著しい高 HDL コレステロール血症を引き起こすことなどから、HDL 増加薬のターゲット蛋白として CETP は有望であると考えられる。しかし、CETP の欠損に起因する高 HDL コレステロール血症が逆に冠動脈疾患の発症を増加させたとする疫学調査の報告もあり、ヒトの動脈硬化の発症における CETP の役割に関しては未だ明確な結論が得られていない。

以上の controversial な背景の中、我々は創薬テーマとして CETP 阻害剤を選択し、CETP をターゲットとした高脂血症治療薬、抗動脈硬化薬の開発を目指すこととなった。

1. JTT-705 の創出とその作用機序

テーマを開始した当時（1992 ~ 3 年）、リードとなりうる化合物の報告は皆無であったことから、我々はまず CETP の基質であるコレステロールを基本骨格とした化合物を合成し、スクリーニングを行った。しかし、これらの中に *in vivo* での効果が期待できるものは見出せなかった。次に、社内の化合物ライブラリーを用いてランダムスクリーニングを実施したところ、ジスルフィド構造を有するものの中にこれまでにない高活性を示すものを見出した。これに部分構造変換を施して最適構造化し、高活性で特異性の高い JTT-705 を創出することに成功した。

JTT-705 のチオエステル基（容易に加水分解を受けてチオール基となる）は CETP 活性の阻害に必須であることから、JTT-705 は CETP のシステイン残基とジスルフィド結合を形成して活性を阻害することが予想された。そこで、CETP のシステイン残基をセリン残基に変換した変異型 CETP を用いて作用部位を検討したところ、CETP の N 末端から 13

番目のシステイン残基の存在が JTT-705 による活性阻害に必須であることが判明した。また、ヒト、ウサギ、ハムスター、マーモセット、カニクイザルの各血漿中 CETP 活性に対する IC₅₀ 値に大きな差はなく、JTT-705 の CETP 活性阻害作用に動物種差はほとんどないと考えられた。

2 . JTT-705 の HDL コレステロール増加作用、抗動脈硬化作用

JTT-705 は普通飼料で飼育したウサギ、ハムスター、マーモセットのいずれの動物種においても、経口投与で有意な CETP 活性阻害作用及び HDL コレステロール増加作用を示した。

次に動脈硬化に対する作用を検討するため、0.2%コレステロール含有飼料で飼育したウサギに JTT-705 あるいはシンバスタチン（コレステロール合成の律速酵素 HMG-CoA 還元酵素の阻害剤）を 28 週間混餌投与した。JTT-705 は投与期間中有意かつ持続的な HDL コレステロール増加作用（主に粒子サイズの大きな HDL の増加）と血中脂質組成改善作用を示し、28 週後の大動脈弓部における脂肪沈着を有意に抑制した。JTT-705 はコレステロール引き抜き能を有する HDL₃ や ApoA-I を有意に増加させ、さらに血漿中の過酸化脂質を有意に低下させていた。これらは脂肪沈着面積と有意な負の相関を示したことから、これらの作用が JTT-705 による動脈硬化抑制の主要因であると考えられた。一方、シンバスタチンも有意な脂肪沈着抑制作用を示したが、その機序は JTT-705 と異なり、強い non HDL コレステロール低下作用に基づくものと考えられた。

さらに、JTT-705 処置ウサギの血漿は *in vitro* でマクロファージ（J774A.1 細胞）の細胞内コレステロール含量を有意に低下させたことから、JTT-705 は HDL や ApoA-I の増加を介して血漿のコレステロール引き抜き活性を増加させることが確認された。すなわち、JTT-705 によるコレステロール逆転送系の亢進が、その抗動脈硬化作用の機序の一つである可能性が示された。

3 . JTT-705 の臨床成績

オランダで実施された第 2 相臨床試験の結果が報告されている。

軽度高脂血症患者に JTT-705 を 1 日 300、600、900mg の用量で 4 週間投与したところ、CETP 活性の用量依存的な低下（トラフ値でそれぞれ 15、30、37%の低下）と、HDL コレステロールの用量依存的な増加（それぞれ 16、26、35%の増加）が認められた。一方、LDL コレステロールは 900mg で 7%と、弱いながらも有意な低下が見られた。さらに、HDL₂ と HDL₃ コレステロールの両者と ApoA-I の有意な増加も認められており、これらは高脂血症ウサギにおける結果と類似していることから、ヒトの動脈硬化に対する有効性も十分期待できると考えられる。

プラバスタチンとの併用試験においては、JTT-705 はスタチンの薬効（主に LDL コレステロールの低下作用）に影響を与えることなく、単剤の場合と同等な作用を発揮出来るこ

とが明らかになった。CETP 阻害剤はスタチンの優れた併用薬になりうる可能性があり、また第 3 相臨床試験をスタチンとの併用で行うことでよりスピーディーな開発も可能になると考えられる。

4 . JTT-705 の新たな有用性の探索

レムナントリポ蛋白（カイロミクロンレムナント、VLDL レムナント）はトリグリセリド（TG）リッチなリポ蛋白（カイロミクロンや VLDL）の中間代謝物であるが、そのコレステロールレベルが動脈硬化の発症と強い相関を示すことが近年明らかにされてきた。CETP は、その機能面からレムナントリポ蛋白の形成に関与することが想定されているが、我々はレムナントの測定キット（（株）日本抗体研究所、「RLP コレステロール」）を用いてその実証を試みた。まず、ヒト血漿を単に 37 でインキュベートすることによって、レムナント様リポ蛋白（RLP）のコレステロールが増加することを見出した。このコレステロールの増加は血漿中 TG の濃度とよく相関することから、少なくともその一部は TG リッチなリポ蛋白から RLP が生成したことを示すと考えられる。ここに外からリコンビナント CETP を添加するとその増加が促進され、逆に CETP 阻害剤（JTT-705、抗 CETP 抗体）はその増加を阻害したことから、RLP のコレステロールレベルを CETP が直接的に調節していることが明らかとなった。

以上の結果より、JTT-705 は動脈硬化の危険因子である RLP コレステロールの低下に対しても有用であると考えられる。

以上、我々が創出した CETP 阻害剤 JTT-705 を用いた検討により、CETP が動脈硬化の危険因子であることが明らかとなり、さらに CETP 阻害剤が主に HDL を増加させて動脈硬化を抑制するという点でこれまでの薬剤とは異なる新しいタイプの高脂血症治療薬、抗動脈硬化薬になりうる可能性が示された。JTT-705 は現在後期第 2 相臨床試験の段階にあり、ファイザー社の CETP 阻害剤 Torcetrapib はアトルバスタチンとの合剤として現在第 3 相臨床試験の段階にある。CETP 阻害剤がヒトの心疾患リスクを低減させることが出来るか否かは、これらの臨床試験において近く明らかになるものと考えられる。

<略歴>

岡本 浩史

1987年 静岡大学理学部生物学科 卒業

1989年 名古屋大学大学院農学研究科修士課程 修了

同年 日本たばこ産業株式会社（医薬総合研究所） 入社

2003年 農学博士（大阪府立大学）