

# 学位論文要旨

新規認知症治療薬候補ベンゾジアゼピン受容体パーシャルインバースアゴニスト AC-3933 の薬理学的特性

大日本住友製薬（株）創薬開発研究所  
橋本 孝志

アルツハイマー型認知症は、認知機能障害を主症状とする進行性の神経変性疾患である。その病理学的特徴として、 $\beta$ -アミロイド蛋白で構成される老人斑の沈着と異常にリン酸化されたタウ蛋白で構成される神経原線維変化の出現が知られている。また、神経細胞の萎縮・脱落が認められ、特にアセチルコリン（ACh）神経系の変性・脱落は中核症状（健忘、見当識障害、実行機能障害）を引き起こす原因の一つとして考えられている。現在、中核症状の改善薬として ACh 神経系を賦活する ACh 分解酵素（アセチルコリンエステラーゼ）阻害薬（donepezil、rivastigmine、galantamine）が広く処方されているが、これらの薬剤は一時的な認知機能の改善をもたらすもののその効果の満足度は低く、今なお新たな治療薬の登場が強く望まれている。

AC-3933（5-(3-methoxyphenyl)-3-(5-methyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)-1,6-naphthyridin-2(1H)-one）は大日本住友製薬株式会社で合成された新規ベンゾジアゼピン受容体（BZR）パーシャルインバースアゴニストである（Fig. 1）。脳内において、BZR は抑制性神経伝達物質  $\gamma$ -アミノ酪酸（GABA）の受容体のひとつ、GABA<sub>A</sub> 受容体の  $\alpha$  サブユニットと  $\gamma$  サブユニットの間に存在し（Fig. 2）、BZR リガンドは GABA 神経の活動性をアロステリックに調節する。BZR インバースアゴニストは GABA 神経系の活動性を抑制し、GABA による抑制を受けている神経系（ACh 神経など）の興奮性を高める。中でも固有活性の低い BZR パーシャルインバースアゴニストは、GABA 神経系の活動性を部分的に抑制することから、痙攣や不安を惹起することなく ACh 神経系の興奮を高め認知機能障害の改善が期待できる（Fig. 3）。

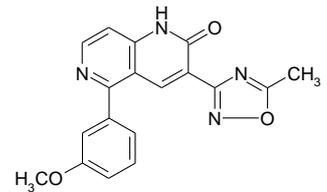


Fig. 1 AC-3933

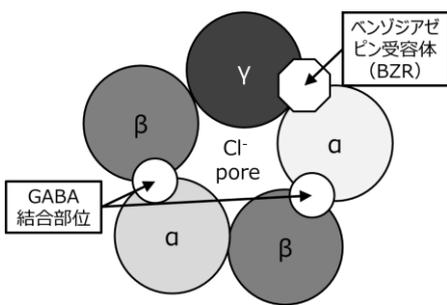


Fig. 2 GABA<sub>A</sub> 受容体

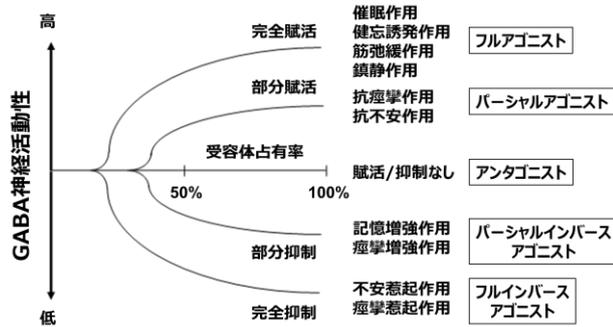


Fig. 3 BZR リガンドによる GABA 神経系のアロステリックな調節

本研究では、受容体結合試験および機能アッセイにより AC-3933 の BZR パーシャルインバースアゴニストとしての特長を明らかにし、電気生理学的手法および *in vivo* マイクロダイアリス法、ならびに種々の行動薬理学的手法を用いて認知症治療薬としての可能性について検証した。

## In vitro 試験による AC-3933 の BZR パーシャルインバースアゴニストとしての特性の解明

BZR への結合親和性を明らかにする目的で、ラット全脳より調製した受容体膜標品を用いて [<sup>3</sup>H]flumazenil 受容体結合試験を行い、BZR に対する結合阻害定数 (Ki) を求めた。加えて BZR リガンドとしての固有活性を探るため、GABA 存在/非存在下で

Table 1

Compound	Ki (nM)		GABA比 GABA(-)/GABA(+)	TBPS結合 %
	GABA(-)	GABA(+)		
AC-3933	5.15 ± 0.39	6.11 ± 0.26	0.84 ± 0.03	117.4 ± 1.2
β-CCM	5.97 ± 0.48	11.5 ± 1.10	0.52 ± 0.04	130.4 ± 0.8
Flumazenil	5.10 ± 0.11	4.30 ± 0.08	1.19 ± 0.05	93.3 ± 1.6
Diazepam	94.5 ± 6.90	26.3 ± 0.50	3.59 ± 0.19	46.2 ± 2.0

[<sup>3</sup>H]flumazenil 受容体結合試験を行い、GABA 比を算出した。これらの結果、AC-3933 は高い BZR 結合親和性を有する固有活性の低いインバースアゴニスト (GABA 比が < 1 かつ 1 に近い) であることが明らかになった (Table 1)。さらに AC-3933 の GABA<sub>A</sub> 受容体アロステリックモジュレーターとしての特性を明らかにするため、[<sup>35</sup>S]tert-butylbicyclophosphorothionate (TBPS) 結合試験を行った。AC-3933 は、フルインバースアゴニストである β-CCM とは異なり、TBPS 結合を濃度依存的ではあるが緩やかにかつ部分的に増加させたことから、パーシャルインバースアゴニストであることが示唆された (Table 1)。

AC-3933 の記憶形成促進作用について評価するため、シナプスレベルでの記憶形成モデルとして知られる長期増強現象 (long-term potentiation; LTP) に対する影響を検討した。ラット海馬切片において高頻度刺激によって誘発される LTP を AC-3933 は用量依存的に増強したことから、AC-3933 が記憶形成を促進することが示唆された。

## In vivo 試験による AC-3933 の認知機能障害改善薬としての特性の解明

学習記憶に重要な役割を果たす ACh 神経系に対する AC-3933 の賦活化作用を検証するために、in vivo マイクロダイアリス試験を行った。AC-3933 は、無拘束ラット海馬からの ACh 遊離を用量依存的に増強することが明らかになり、生体において認知機能増強効果が期待された。そこで ACh 受容体アンタゴニスト scopolamine による記憶障害モデルを用いて Y 字型迷路試験を行ったところ、用量依存的に scopolamine 誘発記憶障害を改善し、ACh 神経系の機能不全に伴う記憶障害を改善する可能性が示された。AC-3933 の scopolamine 誘発記憶障害改善作用は、BZR アンタゴニスト flumazenil によって拮抗されたことから、本作用メカニズムには BZR が関与している可能性が考えられる。

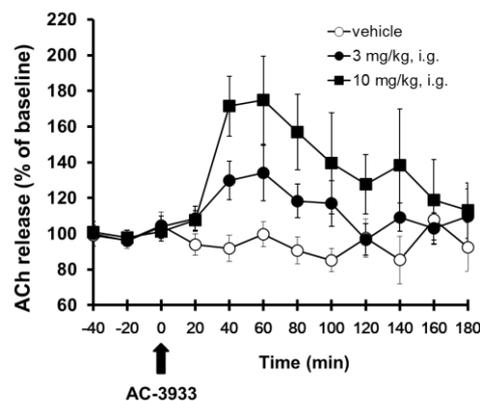


Fig. 4 マイクロダイアリス試験

一方、既存薬 donepezil や他の BZR インバースアゴニストとの差別化を目的として、グルタミン酸 (Glu) 神経系の受容体のひとつである N-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体のアンタゴニスト MK-801 による空間記憶障害の改善作用について物体位置記憶試験を用いて検討したところ、AC-3933 のみが MK-801 誘発記憶障害を改善した。本作用は flumazenil によって拮抗されなかったことから、BZR 以外のターゲットが作用機序に関与していることが示唆されている。

BZR インバースアゴニストには中枢性副作用として痙攣惹起作用および不安様惹起作用が知られている。一方、固有活性の低いパーシャルインバースアゴニストには、それら副作用の誘発リスクが低いと想定されている。そこで AC-3933 の中枢性副作用発現に関するリスク評価を行った。AC-3933 経口投与後の脳内 BZR 占拠率 90% 以上を示す用量 (100 mg/kg, p.o.) まで投与用量を上げて評価したが、痙攣惹起作用および不安様惹起作用は認められず、AC-3933 のこれら中枢性副作用の発現リスクは低いことが示唆された。

今回の研究より、BZR パーシャルインバーシアゴニスト AC-3933 は、安全性の高い新たな認知症治療薬となる可能性が示された。

【発表論文】

- Hashimoto T., Kiyoshi T., Kohayakawa H., Iwamura Y., Yoshida N. Pharmacological properties of AC-3933, a novel benzodiazepine receptor partial inverse agonist. *Neuroscience*, **256**, 352-359 (2014).
- Hatayama Y., Hashimoto T., Kohayakawa H., Kiyoshi T., Nakamichi K., Kinoshita T., Yoshida N. In vivo pharmacological characterization of AC-3933, a benzodiazepine receptor partial inverse agonist for the treatment of Alzheimer's disease. *Neuroscience*, **265**, 217-225 (2014).
- Hashimoto T., Hatayama Y., Nakamichi K., Yoshida N. Procognitive effect of AC-3933 in aged mice, and synergistic effect of combination with donepezil in scopolamine-treated mice. *Eur. J. Pharmacol.*, **745**, 123-128 (2014).
- Hashimoto T., Iwamura Y. AC-3933, a benzodiazepine partial inverse agonist, improves memory performance in MK-801-induced amnesia mouse model. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **144**, 45-52 (2016).

# 学位審査報告書

学位申請者 橋本孝志

学位論文題目 新規認知症治療薬候補ベンゾジアゼピン受容体パーシャルインバーシアゴニスト AC-3933 の薬理学的特性

## 論文審査委員

主査 森田 哲生

副主査 町支 臣成

副主査 今 重之

## 論文審査及び試験の結果の要旨

橋本孝志氏の博士論文は、認知症治療薬候補物質

5-(3-methoxyphenyl)-3-(5-methyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)-1,6-naphthyridin-2(1*H*)-one

(AC-3933) の薬理学特性を解明する目的で、作用点である受容体への活性特性を調べ、実験動物を用いた行動薬理的試験により抗認知症効果について検討したものである。

ラット脳膜標品を用いた *in vitro* 結合実験により、AC-3933 は高い親和性を有する新規ベンゾジアゼピン受容体(BZR)アゴニストであることを証明した。またγ-アミノ酪酸 GABA<sub>A</sub> 受容体アロステリックモジュレーターとしての活性を検討した結果、固有活性の低いパーシャルインバーシアゴニストであることを発見した。さらに実験動物において、AC-3933 は *in vivo* で脳海馬からアセチルコリン(ACh)遊離を増強することが観察され、ACh 受容体アンタゴニストであるスコポラミンによる記憶障害を改善することを見出した。また BZR 非依存的に、グルタミン酸(Glu)受容体アンタゴニスト MK-801 による空間記憶障害も改善した。一方、AC-3933 には、従来の BZR インバーシアゴニストと異なり、中枢性副作用である痙攣及び不安惹起作用は認められなかった。

認知機能障害は、アルツハイマー型認知症を代表とする進行性神経変性疾患の主症状であり、ACh 神経系、Glu 神経系の変性に着目した症状改善薬が臨床使用されているが、新たなより効果的な治療薬の開発が急務である。本研究の結果から、BZR パーシャルインバーシアゴニストである AC-3933 は、安全性の高い新たな作用機序の認知症治療薬となる可能性が示された。

本学位請求論文は、福山大学薬学研究科指導教員により必要な研究論文指導を受けたうえ提出されたものであり、本研究科学位授与規程に従い、審査委員会による外国語試験、最終試験及び所定の審査に合格したので、博士（薬学）の学位を授与するに値するものと判定する。