



2011年4月7日
株式会社サイクレックス

LDL レセプターと PCSK9

LDL レセプター発見とノーベル賞、それにスタチン

Joseph L. Goldstein 博士は 1940 年、South Carolina の人口 5000 人あまりの小さな町 Kingstree で洋服屋の倅として生まれました。ちなみに一人っ子でした。大学では化学を専攻し、卒業後、お医者さんになるため、荒野の果ての Texas 州は Dallas にある University of Texas Southwestern Medical School に入学しました。めでたくお医者さんの資格を取った後、26 歳から 2 年間、今度は Dallas よりかなり寒いところにある Massachusetts General Hospital でインターン修行を行い、その後レジデントとしてこき使われました。この時に、後に彼の人生に大きな影響を与えることになる Michael S. Brown との運命的な出会いがありました。一歳年下で同じ 4 月生まれの Brown も大学で化学を専攻し、卒業後 University of Pennsylvania School of Medicine でお医者さんの資格を取り、Massachusetts General Hospital にインターンとして来ていたわけですから。偶然なのか、ここまでの二人の経歴は良く似ています。この 2 人はホモ達ではないかと疑われるほど仲が良く、とは言っても Brown は Goldstein に会う 2 年前に幼なじみと結婚しているので、そんなことないとは思いますが、2 人はお医者さんの研修終了後、1968 年に手に手を取って NIH に移って行きました。ちょうどその年、NIH では Marshall W. Nirenberg 博士が Robert W. Holley 博士、Har Gobind Khorana 博士と共に「mRNA の発見」でノーベル生理学・医学賞をもらっています。Goldstein は Nirenberg 博士の研究室で働くことになり、Brown は、free radicals や ROS (reactive oxygen species) の研究で有名な Earl R. Stadtman 博士の研究室でポスドクをすることになりました。Stadtman は試験管内で acetyl-CoA の合成に初めて成功したことも良く知られているとおり、脂肪酸代謝関連の研究を行っていた生粋の酵素学者でした(残念ながら、2008 年 1 月に 88 歳で狭心症のため亡くなりました)。3 年後、この先生のもとを離れ、Goldstein の強い勧めもあり、彼の出身校である University of Texas Southwestern Medical School の第 1 内科に赴任しました。そこで Brown は 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase という酵素の可溶化と部分精製に成功しました。何やら長たらしい名前の酵素ですが、略すると HMG-CoA reductase (HMG-CoA 還元酵素) となり、いくぶん覚えやすくなります。実はこの酵素、とても凄い奴なのです。と言うのは、HMG-CoA 還元酵素はメバロン酸の合成に必要な酵素であり、コレステロール生合成の律速酵素なのです。賢明な方はもうなぜ凄いのかおわかりだと思います、1973 年に三共製薬の遠藤章博士等により世界に先駆けて見出された仮名 ML-236B (メバスタチン/コンパクチン) はこの HMG-CoA 還元酵素の阻害剤として発見されたものです。その後、この発見をヒントにメルクがロバスタチン (商品名メバコール) を開発し、次いで、三共製薬がプラバスタチン (商品名メバロチン) を上市したのをはじめ、世界の大手製薬企業がこぞって、これらのスタチン系のコレステロール低下剤を発売するに至っています。現在では、ジェネリック医薬品を入れずに、8 種類のスタチンが医薬品として販売されています。

何が凄いのかって、その売上が全世界で 2006 年は 216.8 億ドル(為替の変動でかなり差が出てしましますが、2008 年時点での換算率で 2 兆 3 千億円くらい? 普通の人々の想像力をはるかに超えた金額です)にも達しているからです。売上世界一のクスリだそうです。このスタチンの発見は、高コレステロール血症と関連疾患の治療と予防に大きな進歩をもたらしたばかりでなく、この薬を開発して売ってきた製薬企業に、巨大製薬企業へと羽ばたくための財力を与えてきました。しかし、さすがのスタチンも特許切れで、低価格のジェネリック医薬品が台頭してきたため、売上は 2006 年から対前年度比で減少しはじめています。

Brown は、臨床医として働くとともに脂質・脂肪酸代謝関連の研究に精をだして研究していました。一方の Goldstein は Nirenberg 博士のもとで、タンパク質合成の停止に関与するタンパク質の解析という、いたって基礎的な研究を続けながら、National Heart Institute の脂質代謝異常の専門化である Donald S. Fredrickson 博士のもとで、臨床医としても働いていました。そこには、様々な脂質代謝異常の患者が集まってきていました。その中でも、約 100 万人に 1 人しかいないという、ホモ接合型家族性高コレステロール血症 (homozygous familial hypercholesterolemia: homozygous FH) の強烈な臨床症状に驚きを覚えました。黄色腫と言われる、皮膚や関節、アキレス腱などに黄色い塊ができ、LDL コレステロールが非常に高くなることによって、心筋梗塞、狭心症など冠動脈硬化症の症状が若年期に出現し、高い確率で死に至ります(現在では LDL アフェレーシスという対処療法がありますが、肝移植、遺伝子治療などの根治療法は施行されている例数はまだ少ないそうです)。またヘテロ接合型家族性高コレステロール血症 (heterozygous FH) はそこまで症状は重篤ではないものの、その有病率は日本人、欧米白人に共通して非常に高く、500 人に 1 人の割合で存在するといわれているほど、ありふれた遺伝病と言う事ができます。この病気に興味を持った Goldstein は、遺伝学を学ぶべく、1970 年にヒト疾患遺伝学の創始者とよばれる Arno G. Motulsky 博士 (University of Washington in Seattle)のもとにポスドクとして移ってゆきました。そこでは、様々な遺伝的脂質代謝異常の遺伝学的な研究を行い、2 年後、Brown のいる University of Texas Health Science Center のある Texas は Dallas にとうとう舞い戻ってきました。懐かしの Dallas で再会した Goldstein と Brown は早速共同研究を開始しました、FH の研究です。彼らはコレステロールの合成に関与する酵素 (HMG-CoA 還元酵素) そのものが異常になって過剰のコレステロールを産生しているという仮説を立てました。思ったとおり、健常者に比較して FH 患者さんの繊維芽細胞では 40-60 倍も高い HMG-CoA 還元酵素活性が観察されました。小躍りして、二人はこのことを PNAS に発表しました。しかしながら、良く調べてみると FH 患者さんの細胞中のこの酵素自体には異常はなかったもので、この仮説は残念ながら間違いであることがわかりました。でも、これはあくまでも最終的な結論であり、当初、主にコレステロールを合成している肝細胞を調べようと考えていたのですが、あいにく FH の患者さんから肝細胞の入手が困難なため、計画していた実験ができませんでした。しかし唯一利用可能な FH の患者さんの皮膚由来繊維芽細胞使って何か実験ができないだろうかと思案しました。苦悩の末考え出したのが、当時世の中の研究者が誰も考えていなかった、LDL-コレステロールの細胞内への取り込みの観察です。するとどうでしょう、健常者の繊維芽細胞では、みごとに細胞内に LDL-コレステロールが取り込まれたのに対して、homozygous FH の患者

さんの繊維芽細胞では全く LDL-コレステロールが細胞内へ取り込まれませんでした。LDL レセプターの発見の契機になった実験でした。三共製薬の遠藤章博士によりコンパクチンが発見された年と同じ 1973 年でした。奇しくも、神戸大学の獣医師、渡辺嘉雄博士により、高コレステロール血症を呈するウサギが発見された年でもあります。このウサギはその後7年かけて系統化され、1980年に WHHL (Watanabe heritable hyperlipidemic) rabbit と命名されました。WHHL は欧米人には発音しにくいことから通称”Watanabe rabbit”、日本では「ワタナベ・ウサギ」と呼ばれています。このワタナベ・ウサギは Goldstein と Brown のグループ、三共製薬の遠藤章博士の研究グループを含む多くの研究機関において、生体内のコレステロール代謝や脂質低下療法に関する研究に使用され、多くの研究成果を挙げていることは有名です。なんとこのワタナベ・ウサギは LDL レセプターが欠損しているウサギだったのです。

その後 Goldstein と Brown 等の精力的な研究により、この FH の病因は LDL レセプター遺伝子の様々な欠損であることが明らかになりました。現在では LDL レセプターの 50 種以上の遺伝子異常が知られています。1983 年には、京大の沼正作研究室からポスドクで来ていた山本徳男博士は分子量 16 万とその当時ではかなり大ききな LDL レセプターの cDNA のクローニングに楽々と成功しました。Goldstein と Brown は当初、別々に研究室を主宰している PI (Principal Investigator) でしたが、1974 年には、正式に 2 つの研究室は合体し 1 つの研究室として動きだしました。世界的にも稀有な事です。本当に彼等はいろんな意味で愛し合っていたのかもしれませんが。時に、Goldstein 34 歳と Brown 33 歳という若さでした。2 人とも病気の原因解明から新たな治療法の確立をめざす (disease orientated research, DOR) という気概が溢れる気鋭の臨床医兼研究者として、この後、次々にコレステロールによる遺伝子発現制御の機構を明らかにして行くこととなります。そしてついに、1985 年、Goldstein と Brown はコレステロール代謝とその関与する疾患の研究によりノーベル生理学・医学賞が授与されました。コレステロールは 1784 年に発見されて以来、今日まで多くの科学者を捉えてきました。ノーベル賞の歴史を振り返っても、Goldstein と Brown を含む 13 人がコレステロールの研究によって化学賞もしくは生理学・医学賞を受賞しています。これは、遺伝子分野に次いで多い数だそうです。

細胞内のコレステロール恒常性維持の機構

スタチンが血中コレステロール量を低下させる分子機構は、細胞中のコレステロール生合成律速酵素である HMG-CoA reductase をただ単に阻害することが直接血中コレステロール量の低下に結びつくという単純なものではなかったのです。このことに Goldstein と Brown はいち早く気づいていました。すなわち、スタチンがコレステロール合成を阻害することによって細胞内のコレステロール濃度のわずかな低下をひき起こし、そのコレステロール濃度の低下を細胞内のある種のセンサーが感知し、LDL レセプターの発現を誘導することによって細胞表面に増加させる。その結果、血中からコレステロールの細胞内への取り込みが増えて、血中コレステロール量を減少させる、という仕組みがあるのではないかと仮説を立てていました。現在では、正常細胞の LDL レセプターを介して取り込まれた LDL が、endosome-lysosome の中で変換され、ここで生じたコレステロー

ルは細胞膜などの合成に利用されるとともに、HMG-CoA reductase の発現と活性を阻害し、余分なコレステロールは細胞下に蓄えられることがわかっています。Goldstein と Brown はこの一連の経路を”LDL Pathway”と呼びました。LDL レセプターが機能していない homozygous FH 患者では、当然 LDL Pathway が機能しないので、細胞がコレステロールを利用できなくなります。そのため、必要なコレステロールを細胞内で合成する必要がでてきます。つまり HMG-CoA 還元酵素の量と活性が上昇するわけです(このことは、LDL レセプターという概念が無い時、彼等が初期の仮説を立証しようと考えて行った実験で観察した、FH 繊維芽細胞中の HMG-CoA 還元酵素活性の上昇という事実と結びつきます)。一方 LDL レセプターが機能しないため血中の LDL を取り込めなくなり、その結果、血中のコレステロール濃度がどんどん高くなっていくわけです。

ここで謎なのは、細胞内のコレステロールセンサーとそれに共役しているコレステロール濃度の低下依存的な遺伝子発現誘導の分子機構です。この複雑かつ巧妙な仕組みも Goldstein と Brown の Dallas 一派が中心となり解明してきました。簡単に説明します。ER 上に存在する 2 回膜貫通型転写因子である Sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs) がコレステロール濃度低下依存的な遺伝子発現の中心的な役割を担います。SREBP はゴルジ体に存在する 1 回膜貫通型のセリンプロテアーゼである Site-1 protease (S1P) と、4 回膜貫通型の Zn-メタロプロテアーゼである Site-2 protease (S2P) により順次切断されます。その結果生じた SREBP の bHLH を含む部位が核に移行し、SRE (sterol regulatory element) と結合して転写因子として作用し、LDL レセプターや HMG-CoA reductase を含む幾つかの遺伝子を発現させます。SREBP は Sterol sensing domain (SSD) を持つ 8 回膜貫通型のタンパク質 SREBP cleavage-activating protein (SCAP) と複合体を形成して、実はこのタンパク質がコレステロールセンサーとして働きます。コレステロールレベルが低い状態でのみ SCAP は、2 つの酵素 S1P と S2P を活性化します。言い換えますと、コレステロールレベルが高い場合は、S1P と S2P が働かないのです。また、コレステロールレベルが高い場合は、SREBP-SCAP 複合体は Insulin induced gene 1 (Insig-1) が結合した状態で ER 上に存在していますが、コレステロールレベルが減少すると、SCAP の SSD に結合していた Insig-1 が遊離することにより、SREBP-SCAP 複合体は S1P、S2P が待ち受けているゴルジ体へと移動するようになります。HMG-CoA reductase も SCAP と同じく SSD を持つ 8 回膜貫通型のタンパク質です。コレステロールレベルが高い場合は SSD を介してその活性が阻害されます。このように、コレステロールによるいくつかの異なる巧妙な制御のカラクリが細胞内でのコレステロールの恒常性の維持に働いているのです。

PCSK9 の発見と新たな高コレステロール血症治療薬創薬の契機

Goldstein と Brown により病因が明らかにされた FH 以外にも常染色体優性高コレステロール血症 (autosomal dominant hypercholesterolemia: ADH) があることが示唆されていました。彼等がノーベル賞をもらった 2 年後の 1987 年に、LDL レセプターと結合する LDL の主要タンパク質である apolipoprotein B-100 (ApoB) の LDL レセプターと結合部位に変異がある家系が報告されました。やはりこの場合も、LDL レセプターを介した血中からの LDL の取り込みの異常が原因でした。

Goldstein と Brown が FH の原因が LDL レセプターであると気づく契機になった実験を行った時から満 30 年の月日を経た 2003 年、3 番目となる、新たな ADH の原因遺伝子が Abifadel 等により報告されました。この遺伝子が PCSK9 です。彼等はフランスの ADH の 2 家系において、PCSK9 の変異 S127R と F216L を見出したのです。翌年には、ノルウェーの家系とアメリカのユタの家系において、D374Y という変異が見いだされました。常染色体優勢の遺伝形式をとるわけですから、2 つある染色体の内、片方の染色体にある PCSK9 の遺伝子にこれらの変異があれば、コレステロール値が高くなってしまふわけです。普通は、これらの変異したタンパク質は何か積極的に悪いことをしているに違いありません。ところが FH ではそうではなくて、片方の染色体にある LDL レセプターに変異があると heterozygous FH となり、コレステロール値は、健常人と比較するとかなり高いですが、homozygous FH のような強烈な高値を示すわけではありません。この場合、1 つの染色体由来の LDL レセプターが働かないから、そこそこコレステロール値が高くなり、両方の染色体由来の LDL レセプターが働かないととんでもなくコレステロール値が高くなってしまふという表現形を示します。

では、この PCSK9 の変異はいったいどのようにして、血中コレステロール値を上げているのでしょうか？世界中の脂質代謝異常にかかわる研究者が一斉に研究を開始しました。その結果、2003 年の PCSK9 の変異が発見されてから 3、4 年という短期間で、PCSK9 が血中コレステロールレベルを上昇させる、おおよそのメカニズムが解明されてきました。この話を続ける前にそもそも PCSK9 とはどのようなタンパク質なのか紹介しておく必要があります。PCSK9 は Pro-protein Convertase Subtilisin Kexin 9 の略でありまして、プロフォームのタンパク質のプロドメインを切断して、機能のある成熟タンパク質にするエンドプロテアーゼファミリーの 9 番目のメンバーであります。このファミリーは insulin、glucagon、melanocortin、 β -NGF、BDNF、TGF β 1、PDGF、FGFs、BMPs などのペプチドホルモンや増殖因子、IGF Insulin receptor、HGF receptor (c-met) などのリセプター、Factor IX、Factor X、protein C などの血清タンパク質、MT-MMP1、stromelysin などの matrix metalloproteinase をプロフォームから成熟フォームに変換することが知られています。また、ある種のウイルスの外皮タンパク質やある種の細菌の毒素を限定分解することも報告されています。このファミリーメンバーのノックアウトマウスの多くは胎生致死になることから、それぞれが特異的な基質をもつ、生体の発生に非常に重要な役割を果たしていることが推し量れます。実は前述した SREBP を切断する Site-1 protease もこのファミリーの仲間です。これらの情報、すなわち PCSK9 はシグナルペプチドとプロドメインを持つ分泌タンパク質の格好をしている、エンドプロテアーゼファミリーの一員であることから、「PCSK9 は LDL レセプターに結合して、そのタンパク質分解酵素活性により LDL レセプターを分解し細胞表面上の LDL レセプターの数を減少させ、その結果、血中の LDL の取り込みが減り、血中 LDL レベルが増加する」という誰でも考えそうな仮説が立てられました。事実、PCSK9 を強発現させると、細胞膜上の LDL レセプターは見事に減少しましたし、マウスに PCSK9 を発現する PCSK9-adenovirus を注射しますと、LDL レセプターが減少すると同時に、ものすごい勢いで血中 LDL が増加することが示されました。ちょうど LDL レセプターノックアウトマウスと良く似た表現形でした。反対に、PCSK9 が発現しないノックアウトマウスでは血中の LDL 量がかな

り減少していました。そもそも PCSK9 ノックアウトマウスが正常に生まれてきて、ほぼ問題なく成長できることは、驚きに値します。PCSK9 なんて無くともヘッチャラなのです、少なくともマウスでは。と言うことは、PCSK9 の発現を阻害するか PCSK9 の活性を阻害するようなクスリは副作用の少ない高コレステロール血症の治療薬になる可能性があることを示唆しています。では、ADH 家系で見つかった変異型の PCSK9 ではどうなのでしょう？ 大方の予想どおり、野生型の PCSK9 よりさらに LDL レセプターの数減少させ、血中 LDL 量を増加させました。やはり、これらの変異したタンパク質は積極的に悪いことをしていたのです。

一方、Dallas のグループが、最新のテクノロジーの進歩と潤沢な資金を活用して、Dallas Heart Study の対象の中で、血中 LDL レベルが低い方 (5 percentile 以下) の人および高い方の人 (95 percentile 以上) 合わせて 3,500 人を超える人の PCSK9 遺伝子の大規模シーケンスを行いました。その結果、なんと血中 LDL レベルの低いヒトに新たな PCSK9 の変異 R46L、L253F、A443T が見出されました。これらの人達では冠状動脈疾患の発症率が一般の人よりも有意に低いことが分かりました。このように同じ PCSK9 上に、血中 LDL 量を増加させる ADH の原因となる変異、その逆に血中 LDL 量を減少させる変異があることが判明し、前者を PCSK9 の機能が增強していることから gain of function mutation、後者を PCSK9 の機能が低減していることから loss of function mutation と呼ぶようになりました。その後の研究によって、数多くの loss of function mutation が見つかりましたが、gain of function mutation はそれほど多くは見つかっていませんし、その出現頻度も多くはありません。前述した仮説のとおり、PCSK9 は LDL レセプターと結合して細胞内に取り込まれ、LDL レセプターを分解に導くことによって、細胞表面の LDL レセプター数を減少させることが示されました。しかし、仮説とは異なり、PCSK9 のタンパク質分解酵素活性は、この LDL レセプターの分解に直接関係がなかったのです。PCSK9 が LDL レセプターに結合した後、LDL レセプターが分解される詳細な分子機構はいまだに不明ですが、PCSK9-LDL レセプター複合体は LDL-LDL レセプター複合体が細胞内に取り込まれるのと同様に coated pit に取り囲まれ、coated vesicle を経て endosome 内に取り込まれると考えられています。LDL-LDL レセプター複合体の場合、endosome 内はプロトンポンプの作用により酸性に保たれているため、LDL を放出し、LDL レセプターは recycle vesicle にのってリサイクルされます。一方、PCSK9-LDL レセプター複合体では、中性より、酸性状態の方が(とはいっても pH 5.0 くらいまでですが) PCSK9 と LDL レセプターは強く結合するため、複合体は解離しませんので、最終的に PCSK9-LDL レセプター複合体を含む endosome は lysosome と融合し、LDL レセプターは PCSK9 もろとも加水分解酵素により分解されます。まるで見てきたようなことを書いていますが、おそらく大枠では間違っていないでしょう。結論として、PCSK9 が LDL レセプターを効率よく分解するミソは PCSK9 が酸性状態で LDL レセプターと強く結合することだと考えられています。gain of function mutation で最も強烈な D374Y 変異は、LDL レセプターに対するアフィニティが野生型に比較して、十数倍ほど強く、LDL レセプターが発現している細胞にリコンビナント PCSK9 (D374Y) を添加すると野生型 PCSK9 に比較してより低濃度で LDL レセプターを減少させることができます。ところが、S127R 変異は LDL レセプターを減少させる能力

は野生型より強いものの、LDL レセプターとのアフィニティは野生型とほぼ同じでした。この理由は現在のところ解明されていません。新たなミノがあると思われます。

PCSK9 は ER 上で自己分解して、prodomain を切断します。その切断された prodomain 部分は活性ドメインを含む残りの部分と結合した状態で分泌されます。この切り離された prodomain 部分は PCSK9 が細胞外へ分泌される構造を保つためのある種のシャペロンとして働きます。そのため、prodomain が無いものは発現はしても分泌しません。また、活性ドメインに変異を入れてタンパク質分解酵素活性がないと思われるものも、切断部位に変異を入れて自己分解されないものも、発現はしても分泌しません。PCSK9 のタンパク質分解酵素活性は LDL レセプターの分解に直接には関係していないことは前述しましたが、実は、上に述べたようにタンパク質分解酵素活性は自己分解に必要で、この活性がないと分泌されないために、最終的に細胞や生体では LDL レセプターを分解することができなくなります。このことは数多くの loss of function mutation の分子機構の研究から明らかにされてきました。また、野生型と比べて、たかだか C 末端の 13 アミノ酸が足りないだけのナンセンス変異 679X は、正しい立体構造が保てないために、全く分泌されなくなっていることも明らかにされました。そこで PCSK9 のタンパク質分解酵素活性に対する特異的な阻害剤を作れば、高コレステロール血症の治療薬になる可能性があるのではないかと誰もが考えるでしょう。しかし、他の Pro-protein Convertase Subtilisin Kexin とは異なり、PCSK9 の生理的基質が見つかっていない点が問題となります。唯一、自己分解部位である VFAQ|SIP だけが基質になり得ることが細胞を使った実験で間接的に証明されているにすぎません。prodomain 部分はタンパク質分解酵素活性を抑制していることが他の Pro-protein Convertase Subtilisin Kexin で知られており、これらの酵素では、結合している prodomain 部分がさらに別のタンパク質分解酵素により分解されることにより抑制が解除され、活性化することが明らかになっています。PCSK9 では、切り取られた prodomain が結合した成熟型として分泌されてきますが、有意なタンパク質分解酵素活性はありません。また活性化された状態の PCSK9 は未だ見出されていません。ひょっとして、PCSK9 は他のファミリーとは異なり、内在性の特定の生理的基質は無く、つまり他の pro-protein を切断して成熟型に変換する機能は全く無い代わりに、LDL レセプターに結合し、分解に導くことが唯一の生理的機能である可能性もあります。弱いタンパク質分解酵素活性はただ単に自身の prodomain を切断して成熟型に変換するためだけに機能しているのかも知れません。それでも、やはり PCSK9 の自己分解活性を特異的に阻害する化合物は十分に魅力的な高コレステロール血症の治療薬になる可能性を秘めています。ただし、細胞膜透過性が十分に高い化合物でなければなりません。

PCSK9 と LDL レセプターに結合に関する詳細な研究も進展しています。PCSK9 は LDL レセプターの細胞外ドメイン中にあるたかだか 40 たらずのアミノ酸からなる EGF-like repeat A (EGF-A) domain に特異的に結合することが明らかにされました。この EGF-A domain と PCSK9 の結合は LDL レセプター細胞外ドメイン全体と PCSK9 との結合より約 3 倍弱かったものの、Kd は 10^{-7} M オーダーであり、かなり強い結合であると考えられました。さらに、酸性条件では、そのアフィニティは中性条件の約 3 倍強くなり、生理的な PCSK9 と LDL レセプターとの結合の性質をよく反映していました。EGF-A domain と PCSK9 との複合体の結晶構造解析も行われました。LDL レセプターと結

合する PCSK9 の部位は、LDL レセプターの EGF-A domain ように限局した部分ではなく、D374 を含む、タンパク質分解酵素活性ドメインの表面に存在していました。もしこの PCSK9 と LDL レセプターとの結合を阻害できれば、LDL レセプターの減少を抑えられるので、やはり高コレステロール血症の治療に結びつく可能性があります。しかし、一般的にこのように分子量が比較的大きなタンパク質同士の結合を阻害する低分子化合物を見つけるのはかなり難しいということになっています。例えば、タンパク質分解酵素の活性部位のように狭く、深い穴のような形状をしている場合ですと、その穴にフィットしたり、構造を変化させたりする低分子化合物は比較的簡単に見つけられるそうですが、protein-protein interaction では、多くの場合広い面同士の結合の総和なので、この結合を特異的に強く阻害する低分子化合物はなかなか見つからないと言われていています。しかし、絶対に無いのかというと、そうでもないようなので、まるっきり可能性が無いと諦める必要もないと思います。また、おそらく治療薬にはならないと思いますが、この PCSK9 と LDL レセプターとの結合を阻害する抗体ならば、比較的簡単に作製できるでしょう。このような抗体は、PCSK9 と LDL レセプターとの結合に関する研究に役立つと考えています。

PCSK9 の発現調節はどうなっているのでしょうか？実は、PCSK9 の転写は SREBP-2 によって正に制御させていることが明らかにされています。良く考えると、少し違和感を覚えませんか？LDL レセプターや HMG-CoA 還元酵素の発現も同じように SREBP-2 によって正に制御させているからです。細胞内でのコレステロールの産生を促しつつ、LDL レセプターを発現させ、それと同時に LDL レセプターを分解する PCSK9 を発現させていることになります。何かスッキリしないものを感じます。ある総説には「自動車のアクセルペダルに付いているスプリングのように緩衝作用を担うものではないだろうか」と訳の分からぬことが書いてありましたが、簡単に頭の中だけで理解するのは難しそうです。もう少しきちっとしたレトリックが必要でしょう。おさらいしますと、例えば、スタチンを投与したとします。すると細胞内のコレステロールレベルが減少することによって SREBP-2 が働きます。その結果 LDL レセプターとそれを分解する PCSK9 が同時に発現します。つまり、血中 LDL レベルを低下させるスタチンの効果は PCSK9 によって低減されている可能性があるのです。と言うことは、スタチンと PCSK9 阻害薬もしくは PCSK9 の発現だけを低下するクスリとの併用は非常に大きな効果が期待できることになります。例えば、使用するスタチンの量を減らすことが可能になり(いわゆるスタチンの 6 %ルールからの脱却)、横紋筋融解症のようなスタチン固有の副作用から開放されることも可能となります。

実際に、アンチセンス治療薬ベンチャー企業のパイオニア、すなわち老舗また唯一の生き残りである Isis Pharmaceuticals 社は 2007 年 5 月、マウス PCSK9 に対する第 2 世代のアンチセンス・オリゴヌクレオチドを、油っぽい餌をたらふく喰わせたマウスに投与したところ、総コレステロール値が 53%減少し、LDL 値は 38%低下したと発表しました。この成果に飛びついたのが、Bristol-Myers Squibb 社で、ヒト PCSK9 を標的とするアンチセンス薬の発見、開発、商品化に関する独占的ライセンスを Isis Pharmaceuticals 社から得ました。更に同年の後半、siRNA 治療薬の有力ベンチャー企業である Alnylam Pharmaceuticals 社は、マウス PCSK9 に対する siRNA を用いることにより、血中 LDL レベルの抑制に成功したと発表しています。



以上まとめますと、血中 LDL レベルが低値を示す PCSK9 の loss of function mutation を持ったヒトは冠状動脈疾患の発症率が有意に低いことから、PCSK9 は、いわば「ヒトにおいて既にバリデーション済み」の高コレステロール血症に対する魅力的な創薬ターゲットとして、大きな期待が持たれています。この治療薬の想定される作用は①PCSK9 の分泌の阻害 (PCSK9 のタンパク質分解酵素活性を阻害することによる)、②PCSK9 と LDL レセプターとの結合の阻害 (低分子化合物、抗体? など)、③PCSK9 の発現の阻害 (アンチセンス・オリゴヌクレオチド、siRNA、アプタマー) ④ PCSK9 mRNA の不安定化などが考えられます。しかし、対象疾患である高コレステロール血症は基本的に慢性疾患であるため、長期間投与することが前提です。そのため、安全性、投与の方法、経済性など多くの厳しい縛りがあるため、実際の創薬は困難を極めることが予想されます。とは言っても、クスリができれば、簡単に何千億円もの売上につながる可能性があるのですから、現在、いくつかの巨大製薬企業 (Merk、BMS その他) や巨大バイオテック企業 (Genentech など) は気合を入れて PCSK9 をターゲットした創薬に力を入れているのも頷けます。

PCSK9, LDL 関連製品

CircuLex マウス/ラット PCSK9 ELISA キット (Cat# CY-8078)

CircuLex ヒト PCSK9 ELISA キット (Cat# CY-8079)

CircuLex PCSK9-LDLR in vitro Binding Assay キット (Cat# CY-8150)

抗 ヒト PCSK9 Prodomain Clone KS-2C8 モノクローナル抗体 (Cat# CY-M1032)

抗 ヒト PCSK9 Clone KS-4H12 モノクローナル抗体 (Cat# CY-M1033)

抗 ヒト PCSK9 ポリクローナル抗体 (Cat# CY-P1037)

組み換え ヒト PCSK9 Wild Type in culture medium (Cat# CY-R2310)

組み換え ヒト PCSK9 D374Y in culture medium (Cat# CY-R2311)

組み換え ヒト PCSK9 Wild Type/ Δ 53 in culture medium (Cat# CY-R2320)

組み換え ヒト PCSK9 D374Y/ Δ 53 in culture medium (Cat# CY-R2321)

組み換え ヒト PCSK9 Wild Type (Cat# CY-R2330)

組み換え ヒト PCSK9 D374Y (Cat# CY-R2331)

組み換え ヒト PCSK9 R194A (Cat# CY-R2333)

組み換え ヒト LDLR EGF-AB domain (Cat# CY-R2340)

組み換え ヒト LDLR EGF-AB domain, Myc-tagged (Cat# CY-R2341)

組み換え PA0122 (Pseudomonas aeruginosa) Low Endotoxin (Cat# CY-R2474)

組み換え Asp-hemolysin (Aspergillus fumigatus) Low Endotoxin (Cat# CY-R2475)

その他脂質研究関連製品

CircuLex ラット Adiponectin ELISA キット (Cat# CY-8049)

CircuLex ヒト Adiponectin ELISA キット (Cat# CY-8050)

CircuLex マウス Adiponectin ELISA キット (Cat# CY-8051)



CircuLex イヌ Adiponectin ELISA キット (Cat# CY-8052)
CircuLex ラット NGAL/Lipocalin-2 ELISA キット (Cat# CY-8053)
CircuLex マウス Visfatin/PBEF ELISA キット (Cat# CY-8065)
CircuLex ヒト NGAL/Lipocalin-2 ELISA キット (Cat# CY-8070)
CircuLex ヒト High-Sensitivity CRP ELISA キット (Cat# CY-8071)
CircuLex ヒト RBP4 ELISA キット (Cat# CY-8072)
CircuLex ヒト Chitotriosidase ELISA キット (Cat# CY-8074)
CircuLex ラット FABP4/AFABP ELISA キット (Cat# CY-8076)
CircuLex マウス FABP4/AFABP ELISA キット (Cat# CY-8077)
CircuLex ヒト AIM/CD5L/Sp α ELISA キット (Cat# CY-8080)
CircuLex ヒト soluble LOX-1/OLR1 ELISA キット (Cat# CY-8081)
組み換え ヒト soluble LOX-1/OLR1 (Cat# CY-R2271)
組み換え ヒト AIF-1 (Allograft Inflammatory Factor 1) Low Endotoxin (Cat# CY-R2468)
組み換え ヒト NAMPT/Visfatin Low Endotoxin (Cat# CY-R2471)
抗 ヒト Adiponectin ポリクローナル抗体 (Cat# CY-P1017)
抗 マウス Adiponectin ポリクローナル抗体 (Cat# CY-P1018)
抗 ヒト ANGPTL4 (Angiopoietin-Like 4) ポリクローナル抗体 (Cat# CY-P1021)
抗 マウス ANGPTL4 (Angiopoietin-Like 4) ポリクローナル抗体 (Cat# CY-P1022)
抗 ヒト Paraoxonase-1 ポリクローナル抗体 (Cat# CY-P1034)
抗 ヒト AIM/SP α /CD5L (Lymphocyte antigen CD5-like) ポリクローナル抗体 (Cat# CY-P1036)
抗 ヒト Paraoxonase-1 Clone KS-5F5 モノクローナル抗体 (Cat# CY-M1034)

国内販売代理店

株式会社医学生物学的研究所 営業推進部 基礎試薬グループ
〒460-0008 名古屋市中区栄四丁目 5 番 3 号 KDX 名古屋栄ビル 10 階
TEL:052-238-1904/FAX:052-238-1441
URL: <https://ruo.mbl.co.jp/>
E-mail: support@mbl.co.jp

株式会社サイクレックス

〒396-0002 長野県伊那市手良沢岡 1063-103
URL: <http://www.cyclex.co.jp/>
E-mail: info@cyclex.co.jp