

緑内障の進行を抑制、マウスで成功

—新規の化合物を用いた難治性眼疾患の進行抑制に期待—

概要

池田華子 京都大学大学院医学研究科准教授、垣塚彰 同生命科学研究科教授らの研究グループは、神経保護効果をもつ化合物 KUS 剤が、緑内障の進行を抑制することを、3 種類のモデルマウスを用いて明らかにしました。本研究は、同医学研究科眼科学教室 吉村長久特命教授、ダイトーケミックス (株) (大阪市鶴見区) らとの共同で行ったもので、成果は 19 日に英国 open access 科学誌 *Heliyon* 誌へ掲載されます。

1. 背景

緑内障は、日本において視覚障害原因の第 1 位の原因疾患であり、40 歳以上の日本人の 5% に緑内障の兆候があるとされています。実際にははっきりとした症状がある患者数は 300-400 万人(日本)と推定されています。この病気では、網膜の神経節細胞 (光信号を頭に伝える働きをする細胞) と神経線維 (網膜の情報を頭に送る神経の線維) が変性・脱落することにより、視野障害・視力障害が徐々に進行します。現状では、薬剤や手術治療によって、眼圧 (目の中の圧力) を下げることが唯一の治療法ですが、眼圧を十分に下げるのが難しい例や、眼圧を十分に下げてもなお視野障害が進行する場合が少なくありません。

本研究では、網膜神経節細胞・神経線維の変性・死滅を予防・抑制することにより緑内障の進行を食い止めるというこれまでに無い視点から研究を行いました。具体的には、私たちが近年開発した、KUS 剤 (体中の細胞に大量に存在し、細胞内のエネルギー源 ATP を消費する蛋白質 (ATPase¹) の一つである VCP² の ATP 消費を抑制する低分子化合物) に緑内障の進行抑制効果があることを、3 つの異なる緑内障モデルマウスで確認しました。

2. 研究手法・成果

私たちはこれまでの研究で、VCP 蛋白質の ATP 消費(ATPase 活性)を抑制する化合物の探索を行い、KUS (Kyoto University Substance) 剤³を新規合成してきました。同時に、KUS 剤がストレス下にある細胞を細胞死から守る効果を持つことを示してきましたが、今回はこれらの化合物に緑内障の進行抑制効果があるかどうかを、3 種のモデルマウスで検証しました。

●緑内障の発症要因の 1 つは、体内で産生される(内在性)興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸による神経の過剰興奮が網膜神経の細胞死を招くためだと考えられています。そこで今回の実験では、マウスの眼内にグルタミン酸と同じ神経興奮をもたらす NMDA⁴ という物質を注射し、緑内障で観察される網膜神経節細胞障害を起こしたうえで、KUS 剤を投与しました。その結果、KUS 剤を投与したマウスでは投与しなかった個体に比べ、網膜神経節細胞の減少が抑制されることが分かりました (図 1)。

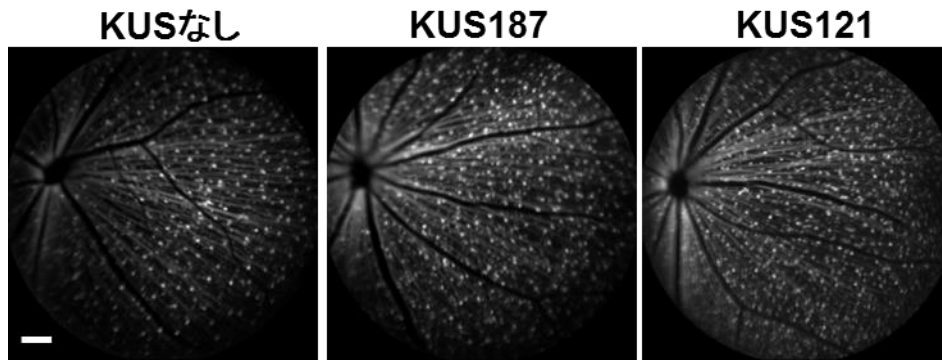


図1 KUS 剤の網膜神経節細胞保護効果。

NMDA を注射し網膜神経節細胞障害を起こしたマウスに KUS 剤 (KUS121 及び KUS187 をそれぞれ 50 mg/kg) 経口投与した。障害を起こして 4 日目に眼底の蛍光撮影を行ったところ、投与なしのマウスでは、神経節細胞 (写真の各白点) が減少していた (左) が、KUS 剤投与マウスでは、細胞減少が抑制されていた (中央、右)。

●続いて、内在性のグルタミン酸によって緑内障を発症する GLAST (glutamate aspartate transporter) 遺伝子のノックアウトマウス⁵で KUS 剤の効果を検証しました。GLAST というのは、シナプス間隙のグルタミン酸を神経細胞に取り込む輸送体のことで、GLAST が減りシナプスでのグルタミン酸濃度が上がったままのノックアウトマウスでは神経興奮が過剰に起こります。KUS 剤の投与がないマウスでは、網膜の神経節細胞の数や網膜の神経線維の数が減少し緑内障兆候が見られますが、KUS121 を 10 カ月間投与したマウスでは、その減少が抑制されていました (図 2)。

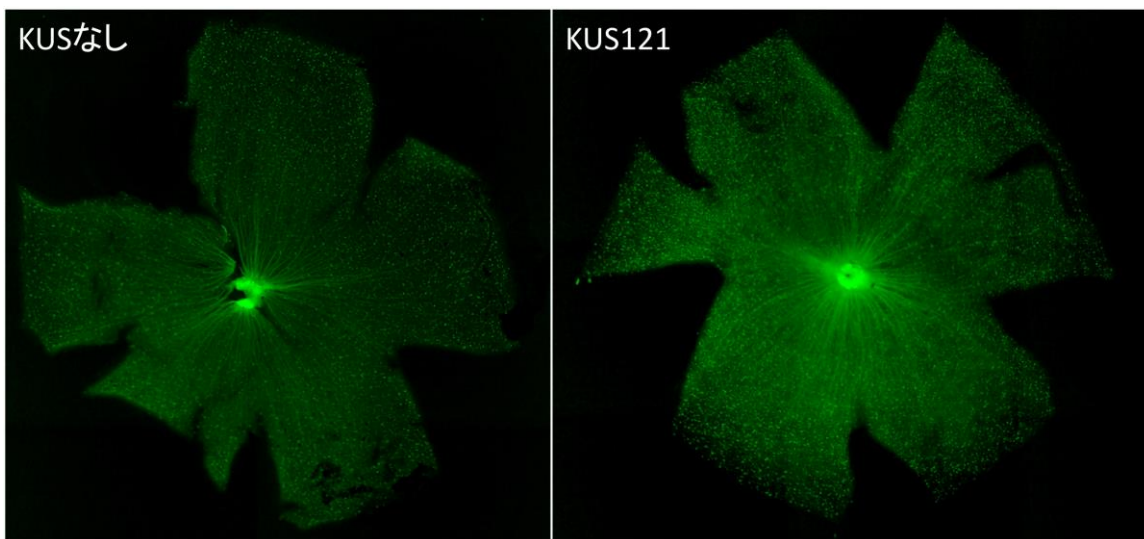


図2 KUS 剤の神経線維保護効果。

GLAST 遺伝子のノックアウトマウスに 2 か月齢から KUS 剤(KUS121 及び KUS187 をそれぞれ 50 mg/kg)を毎日投与した。12 か月齢で作成した網膜の標本では、KUS 剤を投与していないマウスの網膜神経節細胞 (各小点) がまばらになり神経線維が少なくなっている (左)。一方で、KUS 剤投与マウスにおいては、神経線維・神経節細胞の減少が抑制されている (右)。

さらに、視機能を確認するため網膜電図検査を実施したところ、KUS121 投与群では投与していないマウスと比べて網膜神経節細胞の機能を表す波の振幅が大きく、視機能の低下も抑制されていることが明らかになりました。

●典型的なヒトの緑内障では、眼圧が高くなることで神経節細胞が障害を受けます。この状況での KUS 剤の有効性を確かめるため、眼圧が高くなるタイプの緑内障モデルマウス(DBA/2J マウス⁹⁾)でも検証を行いました。KUS 剤を投与していないマウスでは、眼圧が上昇後しばらくすると、緑内障患者に見られる特徴的な所見である、視神経乳頭の陥凹の拡大が見られますが、KUS 剤を投与したマウスにおいては、陥凹拡大が抑制されていることが確認できました (図 3)。

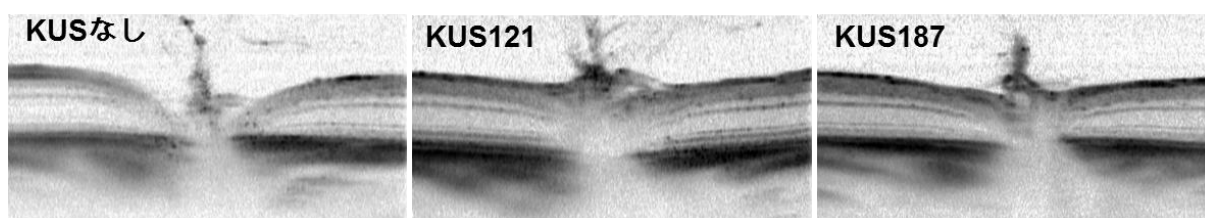


図 3 KUS 剤の視神経乳頭陥凹拡大抑制効果。

DBA/2J マウスに 2 か月齢から KUS 剤 (KUS121 及び KUS187 をそれぞれ 50 mg/kg) を毎日経口投与した。8 か月齢で KUS 剤を投与していないマウスでは、視神経乳頭部位で神経線維が脱落し、視神経乳頭陥凹が認められるが (左)、KUS 剤を投与したマウスにおいては、陥凹拡大が見られない (中央、右)。

3. 波及効果

本研究によって、現在眼圧を下げるのが唯一の治療法である緑内障に対して、神経保護という新たな観点からの治療薬の開発に繋がることが期待できます。さらに、網膜神経の細胞死によって引き起こされる他の眼疾患や神経変性疾患など、他の疾患への応用も期待できます。

4. 今後の予定

本研究により、KUS 剤にヒトの緑内障の進行を遅延させる可能性があることがわかりました。今後は国際的な基準に基づいた長期にわたる安全性試験が必要になりますので、実際に患者さんに投与できるまでに 5 年はかかると思います。また、治療法の存在しない急性の眼疾患に対して、KUS 剤を眼内に注射し、安全性や神経保護効果を検討する医師主導治験を年内に開始できるように準備を進めています。

5. 謝辞

本研究は、厚生労働科学研究費補助金、文部科学省科学研究費補助金、創薬基盤推進研究事業 (創薬総合推進研究事業) および科学技術振興機構(JST)の戦略的創造研究推進事業発展研究(SORST)、文部科学省イノベーションシステム整備事業、先端融合領域イノベーション創出拠点形成プログラム「高次生体イメージング先端テクノハブ」等の支援によって行われました。

<論文タイトルと著者>

Neuroprotective Effects of VCP Modulators in Mouse Models of Glaucoma

Noriko Nakano, Hanako Ohashi Ikeda, Tomoko Hasegawa, Yuki Muraoka, Sachiko Iwai, Tatsuaki Tsuruyama, Masaki Nakano, Tomohiro Fuchigami, Toshiyuki Shudo, Akira Kakizuka, and Nagahisa Yoshimura

<用語解説>

1. ATPase: 細胞内のエネルギー原の一つである ATP (アデノシン三リン酸) の、高エネルギーリン酸結合を加水分解する活性をもつ蛋白質の総称。食事で摂取したエネルギーは、ATP としてこれらの蛋白質で利用・消費される。
2. VCP (valosin-containing protein, バロシン含有蛋白質): 体中のあらゆる細胞の中に豊富に存在する蛋白質。細胞中の ATP を加水分解する ATPase に属する。細胞内での異常蛋白質の分解・細胞周期・細胞死・細胞融合など、多岐にわたる働きを持つことが知られているが、本 KUS 剤はこれらの機能を抑制すること無く、VCP の ATPase 活性を特異的に抑制する。近年、骨パジェット病と前側頭葉型痴呆を伴う遺伝性封入体筋炎 (IBMPFD) や一部の家族性筋委縮性側索硬化症 (ALS) で、ATPase 活性の上昇を伴う変異が、原因遺伝子として同定されている。また、神経変性疾患の神経細胞死・発症にかかわることが明らかになっている。
3. KUS 剤 (Kyoto University Substance): VCP の ATPase 活性を阻害する目的で我々が新規合成した低分子化合物。細胞保護活性を持つことが明らかになり、網膜色素変性モデルマウスにおいても、網膜色素変性の進行遅延効果があることを確認している (2014 年の記者レク)。
4. NMDA (N-methyl-D-aspartate): グルタミン酸とよく似た構造を持つ化合物。過剰な NMDA 投与は、一部のグルタミン産受容体 (NMDA 型) を介して神経を過剰に興奮させ、神経障害を引き起こす。NMDA を眼内 (硝子体内) に注射することで、網膜神経節細胞障害を引き起こす。
5. GLAST ノックアウトマウス: GLAT (glutamate-aspartate transporter) という、グルタミン酸の輸送に関わる遺伝子のノックアウトマウス。本研究では、主にヘテロノックアウトマウスを使用。網膜内で、グルタミン酸の濃度が上昇することにより、慢性の網膜神経節細胞障害を引き起こす。眼圧は正常なため、正常眼圧緑内障のモデルマウスとして使用される。
6. DBA/2J マウス: *Gpnmb* (glycoprotein nonmetastatic melanoma protein b), *Tyrp1* (tyrosinase-related protein 1) という遺伝子に変異を持ち、生後 5 か月齢以降、眼圧が上昇する。8-10 カ月齢ごろには、急速に網膜神経節細胞・神経線維が脱落する。眼圧が上昇する型の緑内障モデルマウスとして使用される。
7. 光干渉断層計 (SD-OCT, Spectral-domain optical coherence tomography): 眼底に弱い赤外線を当て、反射して戻ってきた波を解析して、網膜の断層を描き出す装置。非侵襲的に網膜の構造を詳細に描出できるため、近年眼科の診察に汎用されている。マウスなどの実験動物でも生きた状態で網膜構造の

描出ができるため、有用である（図4、図5）



図4 光干渉断層計（OCT: optical coherence tomography）
眼科診療で汎用される光干渉断層計を実験動物用に改良し、イメージングを行っている。

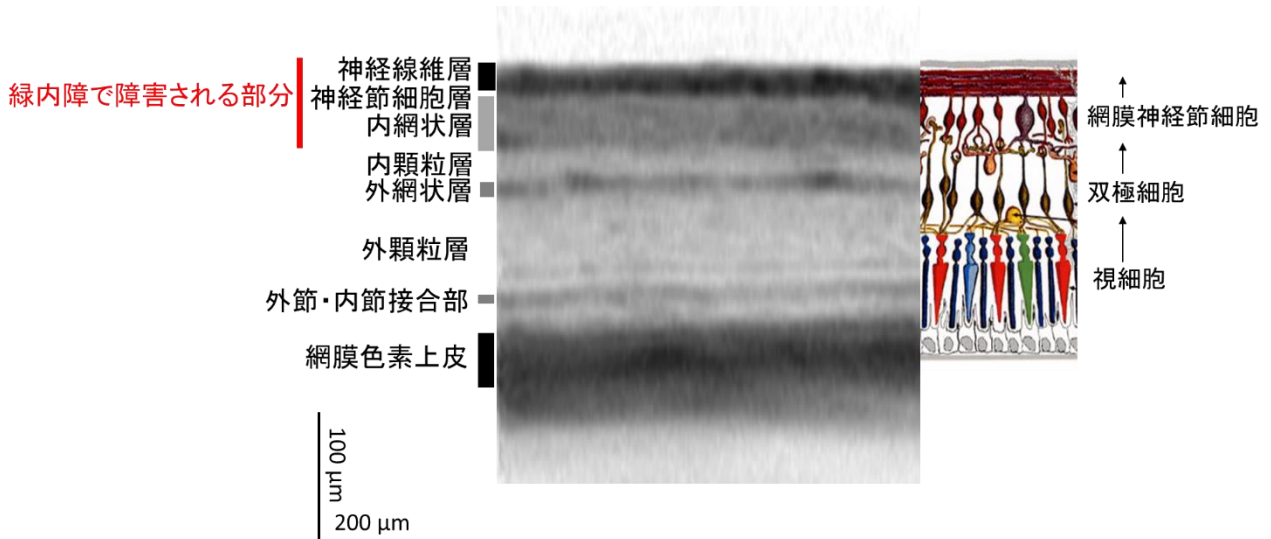


図5 正常マウス網膜光干渉断層像。
網膜各層が明瞭に描出される。神経線維層、網膜神経節細胞層、内網状層が緑内障で障害される場所。

8. 網膜電図：光を当てたときの網膜の反応を調べる方法。目の表面から網膜での電位差を検出する。他覚的視機能検査の一つで、視力検査・視野検査のように、自覚検査ではないため、マウスなどの動物でも施行できる。このなかで、緑内障で障害される網膜神経節細胞の働きは、マウスにおいては、pSTR (positive scotopic threshold response) という、非常に弱い光（人の目では判別できないぐらいの弱い光）を当てた時に記録される、非常に小さな反応で評価できるとされている（図6）。

図6 マウスにおける、pSTRの波形。

