

## 新規神経保護剤により網膜色素変性の進行を抑制することに成功

### -難治性眼疾患の進行抑制に期待-

#### 概要

垣塚彰 京都大学大学院生命科学研究科教授、池田華子 同医学部付属病院准教授らの研究グループは、VCP という蛋白質の ATPase 活性に対する阻害剤 (KUS 化合物) が神経保護効果をもち、網膜色素変性の進行を抑制する効果を持つことを、網膜色素変性モデルマウス(rd10)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 吉村長久教授、Daito Chemix (福井市) らとの共同で行ったもので、本研究成果は、英国 open access 科学誌「Scientific Reports」に掲載されます (英国時間 2014 年 8 月 6 日午前 10 時まで embargo)。

#### 1. 背景

網膜色素変性は、日本において中途失明の第 3 位の原因疾患であり、特に、60 歳以下では、視覚障害原因の 1 位となっています。日本における患者数は 16,000-32,000 人と概算されています。網膜の視細胞 (光を受容する細胞) の中で働く遺伝子の異常が原因となり、現在までに 40 種類以上の遺伝子異常が報告されています。原因遺伝子はさまざまですが、視細胞が変性・脱落することにより、徐々に進行する視野障害・視力障害をきたします。神経成長因子・遺伝子治療・幹細胞移植・人工網膜などによる治療が精力的に試みられていますが、現状では、進行を抑制する根本的な治療法は確立されておらず、厚生労働省から難病に指定されています。

本研究では、視細胞の変性・死滅を予防・抑制することにより病気の進行を食い止める、つまり、**神経保護による網膜色素変性の進行抑制**という視点から研究を行いました。具体的には、体中の細胞に大量に存在し、細胞内のエネルギー源である ATP を消費する蛋白質 (ATPase) の一つである、VCP という蛋白質に着目し、その ATP 消費を抑制するような物質(低分子化合物)を新規合成し、その中から、細胞・神経保護活性のあるものを同定、網膜色素変性モデルマウスに投与することで、網膜色素変性の進行抑制効果を確認しました。

#### 2. 研究手法・成果

まず、本研究では、VCP<sup>1</sup>蛋白質の ATP 消費(ATPase<sup>2</sup>活性)を抑制する化合物の探索を行いました。その結果、ナフタレン誘導体の 1 つに VCP 蛋白質の ATPase 阻害活性があることがわかりましたので、それをもとに、約 200 種類の化合物を新規に合成しました。その結果、そのうちのいくつかの化合物で、ストレス下にある細胞を細胞死から守る、つまり細胞保護効果を持つことが明らかになり、これら化合物を、京都大学にちなみ、KUS (Kyoto University Substance) と名付けました (図 1)。

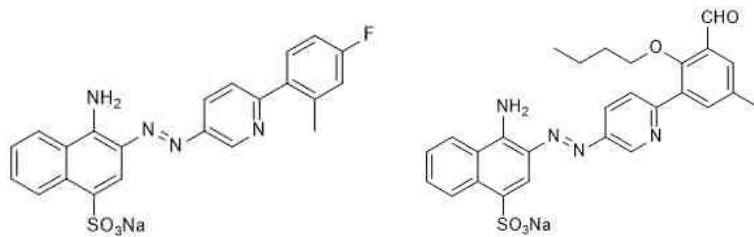


図1 細胞保護効果の明らかになった KUS 化合物、KUS121(左)と KUS187(右)の構造

図2は、HeLa 細胞という培養細胞を、細胞の栄養源の1つであるグルコース濃度を低くして培養したものです。通常、細胞は2-3日で死滅しますが(左)、培養液中に KUS 化合物を加えておくと、細胞が死なず、元気な状態であることがわかります(右)。同様の細胞保護効果は、他のストレス下での実験や、他の培養細胞でも認められました。

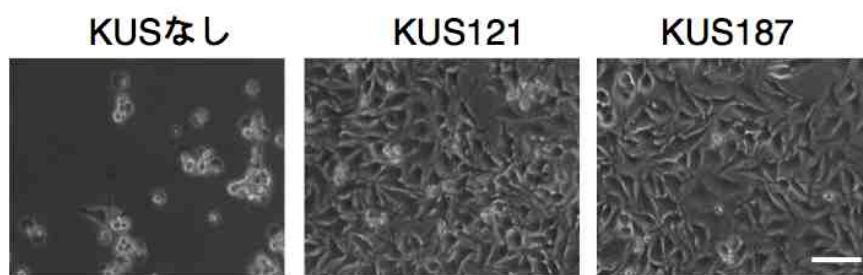


図2 KUS 化合物の細胞保護効果。

培養細胞である HeLa 細胞を、低グルコース下(0.2 g/l)で培養すると数日で細胞死が生じた(左)。一方、培養液中に KUS 化合物(KUS121 及び KUS187 をそれぞれ 50 $\mu$ M)を加えておくと、細胞死が顕著に抑制された(中央、右)。

続いて、現在治療法がなく失明に至る疾患である網膜色素変性に対し、この KUS 化合物が新たな神経保護治療薬となりうるか、網膜色素変性モデルである rd10 マウス<sup>3</sup>に投与し、その効果を検討しました。投与していない rd10 マウスでは、生後 25 日齢で網膜の変性が起こり、網膜(視細胞層)が薄くなりますが、KUS 化合物を投与したマウスでは、視細胞層の菲薄化が抑制されることが明らかになりました(図3)。

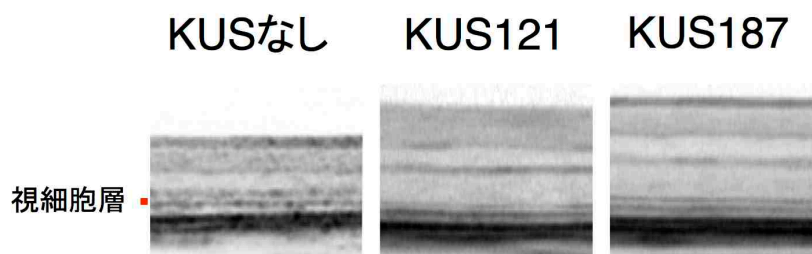


図3 網膜色素変性モデルマウスにおける KUS 化合物の視細胞保護効果。

網膜色素変性モデル rd10 マウスに生後 7 日齢から毎日 50 mg/kg の KUS 化合物を腹腔内投与した。生後 25 日齢での網膜の光干渉断層計<sup>4</sup>での観察で、投与なしのマウスでは、網膜の視細胞層が菲薄化していたが(左)、KUS 化合物投与マウスでは、視細胞層の菲薄化が抑制され、ほぼ正常であった。

また、視力を反映する網膜電図検査<sup>5</sup>を行うと、無治療 rd10 マウスでは、網膜反応が極めて弱く視機能の著しい低下がみられますが、KUS 化合物投与マウスでは、ほぼ正常の網膜電図が測定でき、視機能も保たれていることがわかりました (図4)。

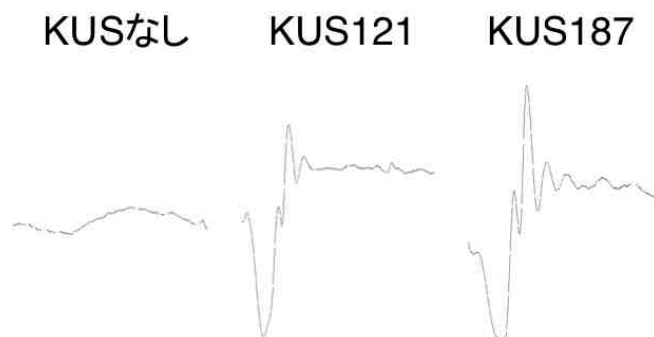


図4 網膜色素変性モデルマウスにおける KUS 化合物の視機能維持効果。

生後 25 日齢での網膜電図検査により、KUS 化合物投与なしの rd10 マウスでは、波形が減弱し、視機能 (視力) が低下していた (左) が、KUS 化合物投与マウスでは、ほぼ正常の波形が計測され、視機能が維持されていた (中央、右)。

### 3. 波及効果

本研究によって、VCP 蛋白質の ATPase 阻害剤として新規に合成された KUS 化合物に網膜色素変性に対する進行抑制効果が認められたことで、現在治療法の無い網膜色素変性に対する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 化合物に網膜色素変性の進行を遅延させる可能性があることが判明しました。今後、KUS 化合物の医薬品としての開発を目指します。医薬品品質での製剤化、GLP レベルでの動物での安全性試験を実施後、短期間で神経保護効果の判定ができる眼難治疾患を対象とした、臨床研究を数年内に開始する計画です。

<用語解説>

1. 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 化合物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認知症を伴う遺伝性封入体筋症 (IBMPFD) や一部の家族性筋萎縮性側索硬化症 (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、神経変性疾患において、発症にかかわることが明らかになっている。
2. 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される。
3. rd10 (retinal degeneration 10)：網膜色素変性のモデルとしてよく使われるマウス。PDE6b (rod cGMP phosphodiesterase beta subunit) という遺伝子に、網膜色素変性患者でも見られる変異をもつ。マウスの寿命は大体 2 年であるが、rd10 マウスでは、生後 20 日目ごろから視細胞の変性がおこり始め、生後 60 日目ごろまでには、杆体という光を感じる視細胞が完全に消失する。
4. 光干渉断層計：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 5、図 6)



図 5 動物専用網膜光干渉断層計。生きた状態でマウス網膜の断層構造が詳細にわかる。

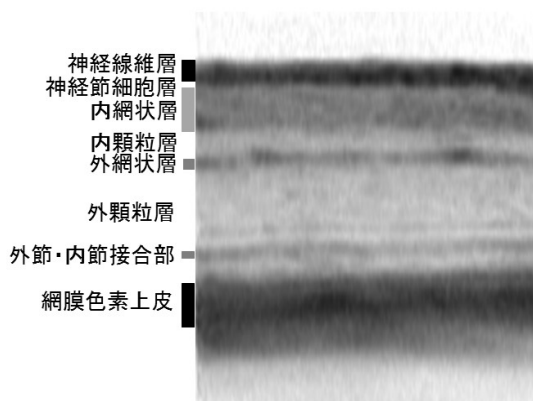


図 6 正常マウス網膜光干渉断層像。網膜各層が明瞭に描出される。

5. 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（図7）。

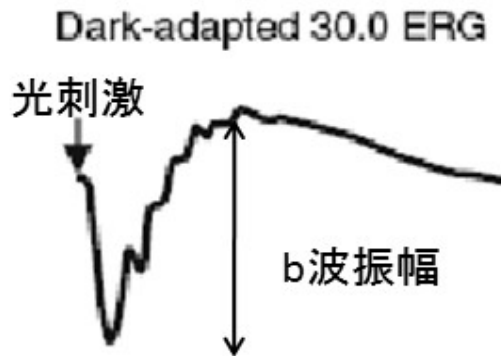


図7 ヒトでの正常網膜電図波形。

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)等の支援によって行われました。

#### <お問い合わせ先>

氏名 垣塚 彰（かきづか あきら）

勤務場所の住所 京都市左京区吉田近衛町 京都大学大学院生命科学研究科

TEL:075-753-7675