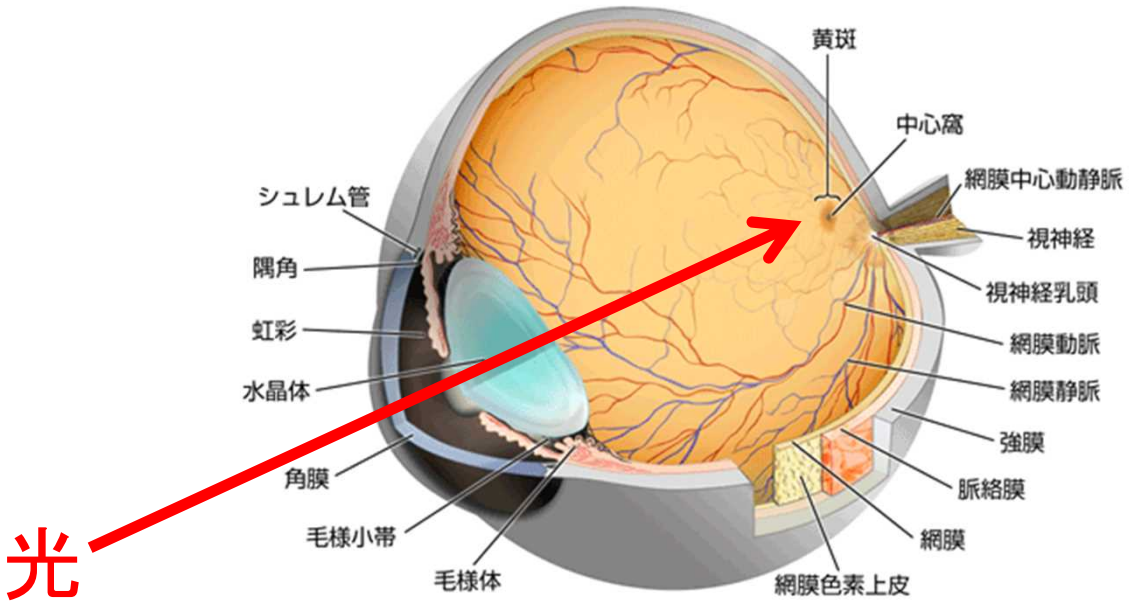
クリスタリン網膜症に対する新規治療薬の開発

京都大学　医学部附属病院
臨床研究総合センター
准教授　池田　華子

2019年5月16日

背景

眼球、網膜構造（ヒト）



- 光信号は、角膜→水晶体→硝子体を通り、網膜に到達し、像を結ぶ。
- 網膜は10層からなり、最も外側の層に網膜色素上皮（RPE）細胞がある。メラニン色素を含み、網膜内に入る余分な光を吸収し、散乱を防ぐなどの機能をもつ。視覚の電気信号は、視細胞から網膜神経節細胞へと伝達する。
- 網膜変性疾患では、網膜の視細胞、RPE細胞が選択的に障害されている。

↑ 視覚の電気信号

網膜神経節細胞 （三次ニューロン） **緑内障**

↑ 視覚の電気信号

双極細胞（二次ニューロン）

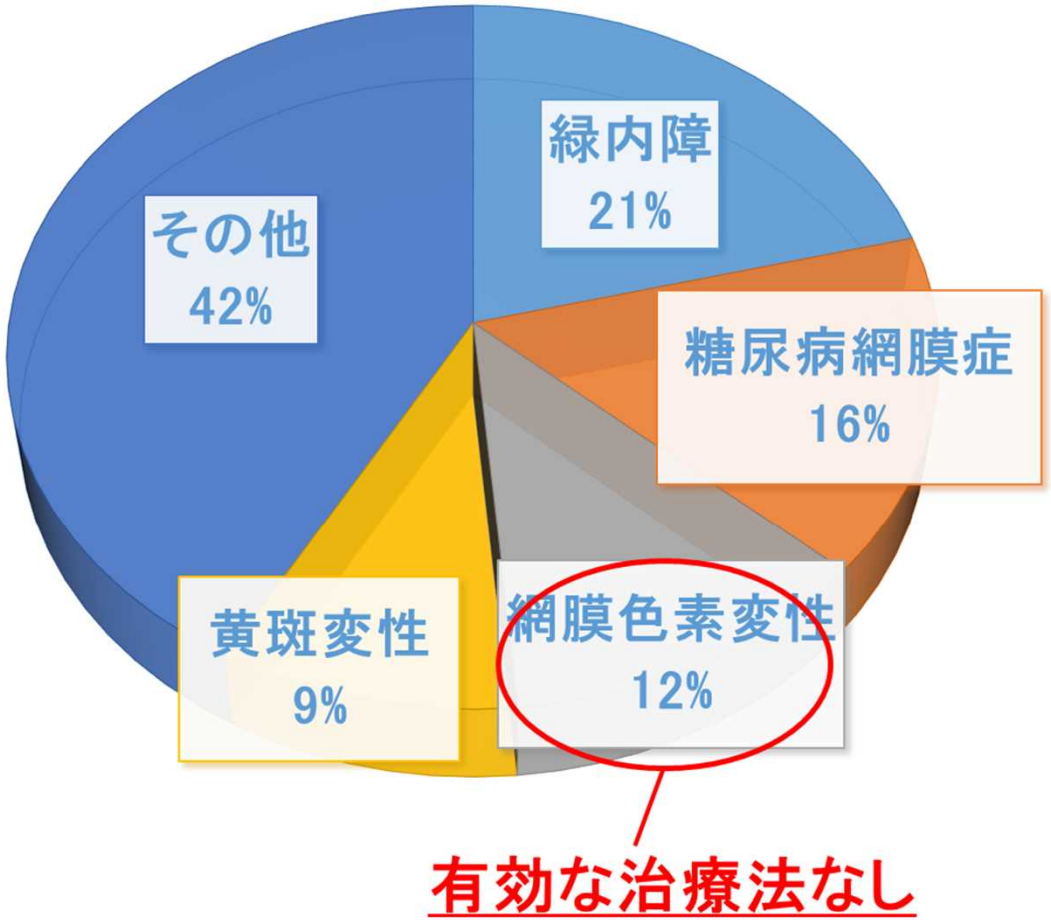
↑ 視覚の電気信号

視細胞 （一次ニューロン）

網膜色素上皮(RPE)

網膜変性
加齢黄斑変性

背景　視覚障害の原疾患（2013年）



厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業
『網膜脈絡膜・視神経萎縮症に関する調査研究』

- 網膜色素変性及びその類縁疾患は、日本の成人失明原因の3位である。
- 網膜色素変性には有効な治療法がなく、大きなアンメットニーズが存在する。
- クリスタリン網膜症は、網膜色素変性の類縁疾患である。

背景

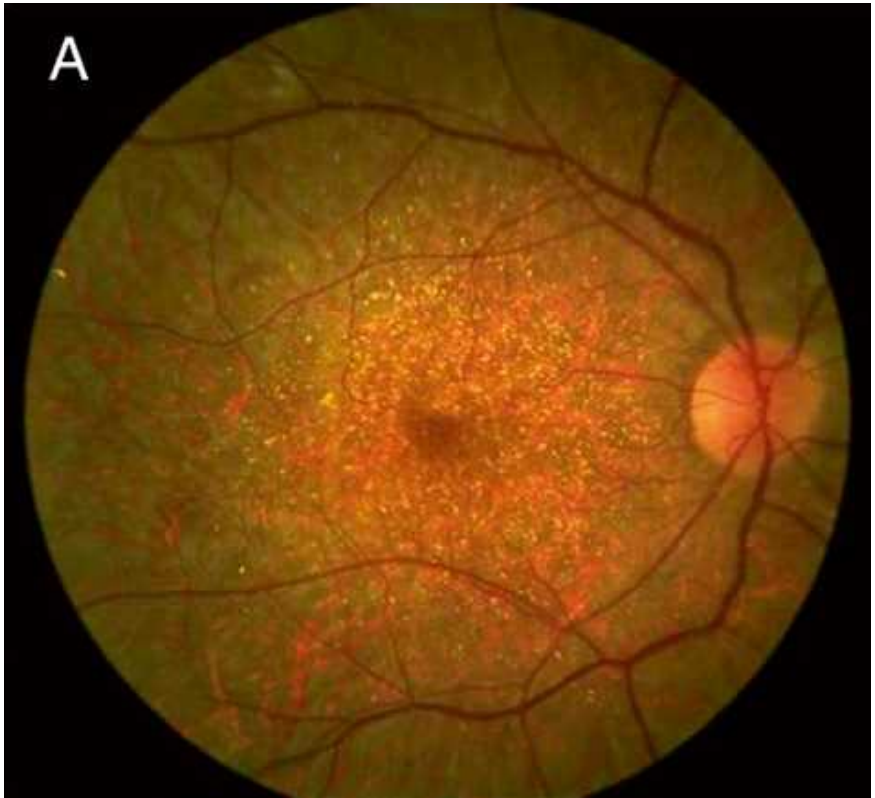
クリスタリン網膜症
（Bietti Crystalline Retinopathy：BCD）

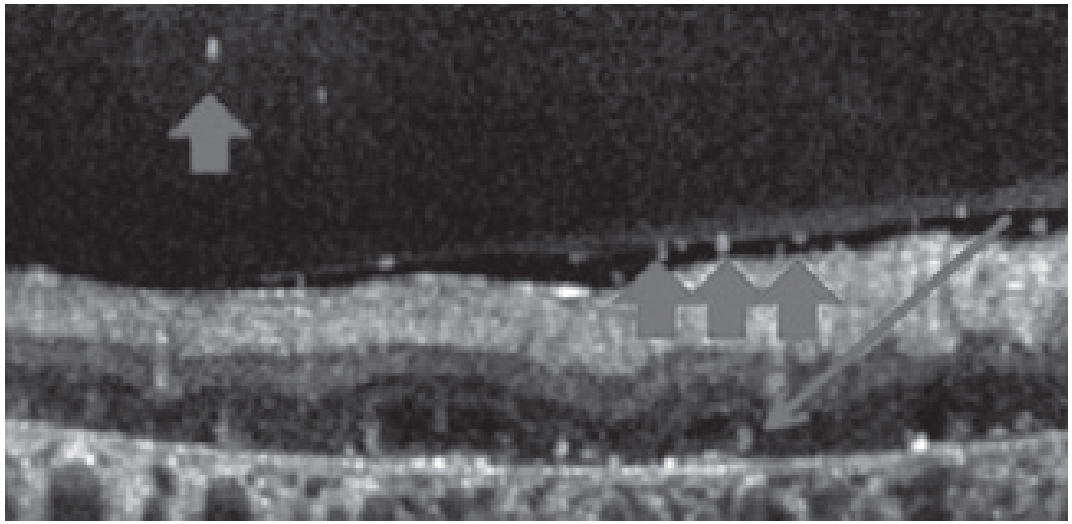
- 常染色体劣性遺伝形式の網膜変性疾患。
- 20歳代以降に進行性の視機能障害⇒60歳代以降で失明。

特徴：①眼底、特に網膜色素上皮（RPE）にクリスタル様沈着物

②RPE萎縮が視細胞萎縮に先行する

⇒ RPEが一次病巣で、網膜変性は二次的な変化と考えられる





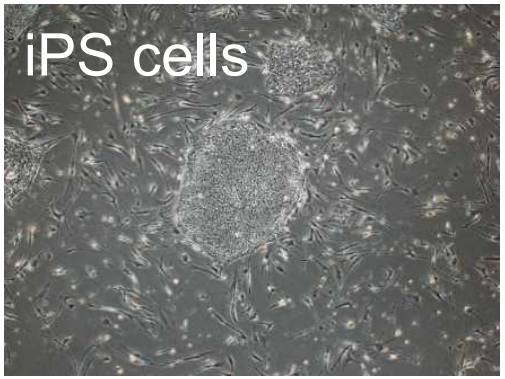
有効な治療法なし

背景　クリスタリン網膜症(BCD)の原因遺伝子

- 2004年に**CYP4V2遺伝子**(4q35)の変異の報告。
- CYP4V2は**RPE細胞**で強い発現がみられ脂質代謝に関わると想定される。
- しかし、BCD発症のメカニズムは全く不明。

BCD研究の問題点

1. **病変細胞を得ることができない(患者RPE細胞).**
2. **適切な疾患モデルがない**
   (ヒトCYP4V2 のマウスホモログであるCYP4V3の
   KOマウスはBCDと表現型が異なる)



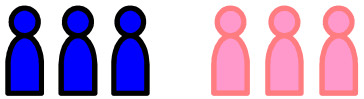
BCD患者由来iPS細胞を用いることで、
CYP4V2変異を持つRPE細胞を高効率・高純度に獲得できる。

研究結果

クリスタリン網膜症(BCD)患者由来RPE細胞では細胞変性・細胞死を認める

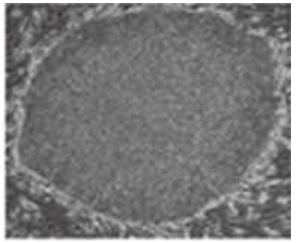
皮膚採取

健常人(NOR) BCD患者



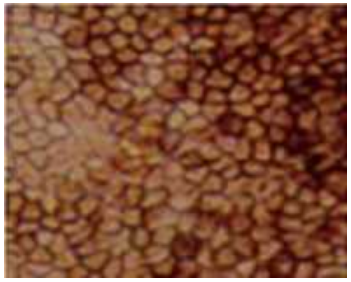
- CYP4V2変異をホモにもつBCD患者3名（BCD−1,2,3）
- CYP4V2変異のない健常人（NOR）3名（NOR−1,2,3）

↓ 初期化遺伝子導入



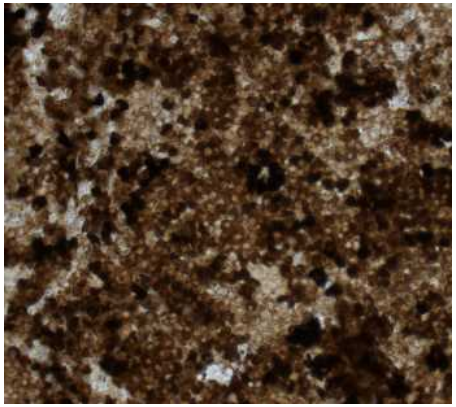
iPS細胞樹立

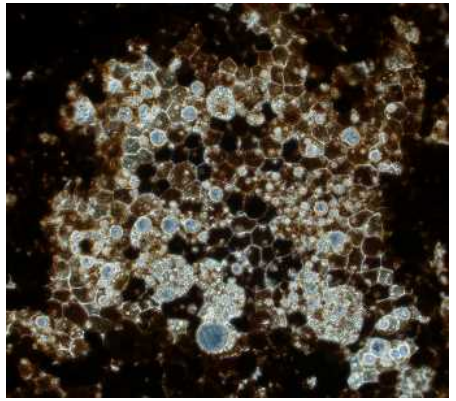
↓ RPE細胞へ分化誘導

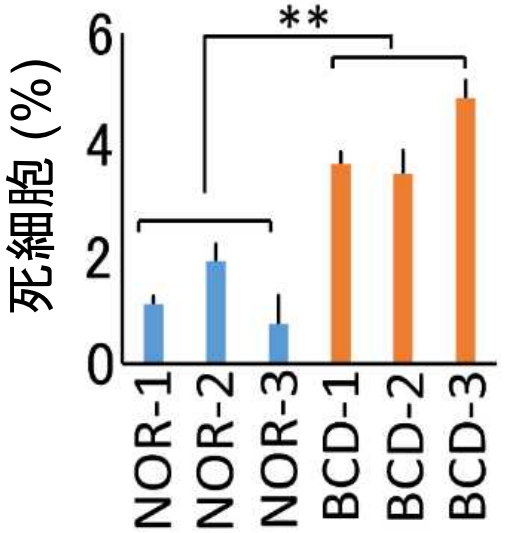


RPE細胞
（BCD又はNOR）

NOR由来RPE細胞　BCD由来RPE細胞



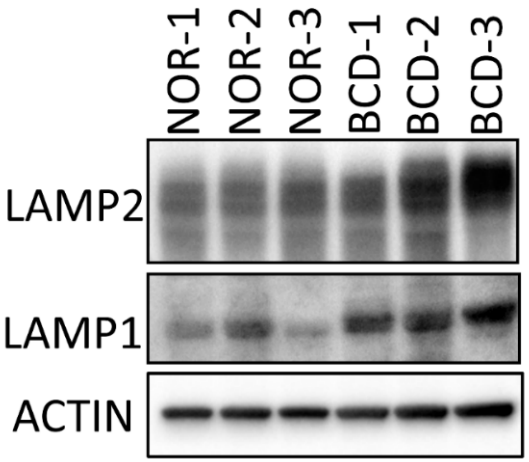




BCD由来RPE細胞では、細胞の空胞様変性、大型化が見られ、死細胞が増加。

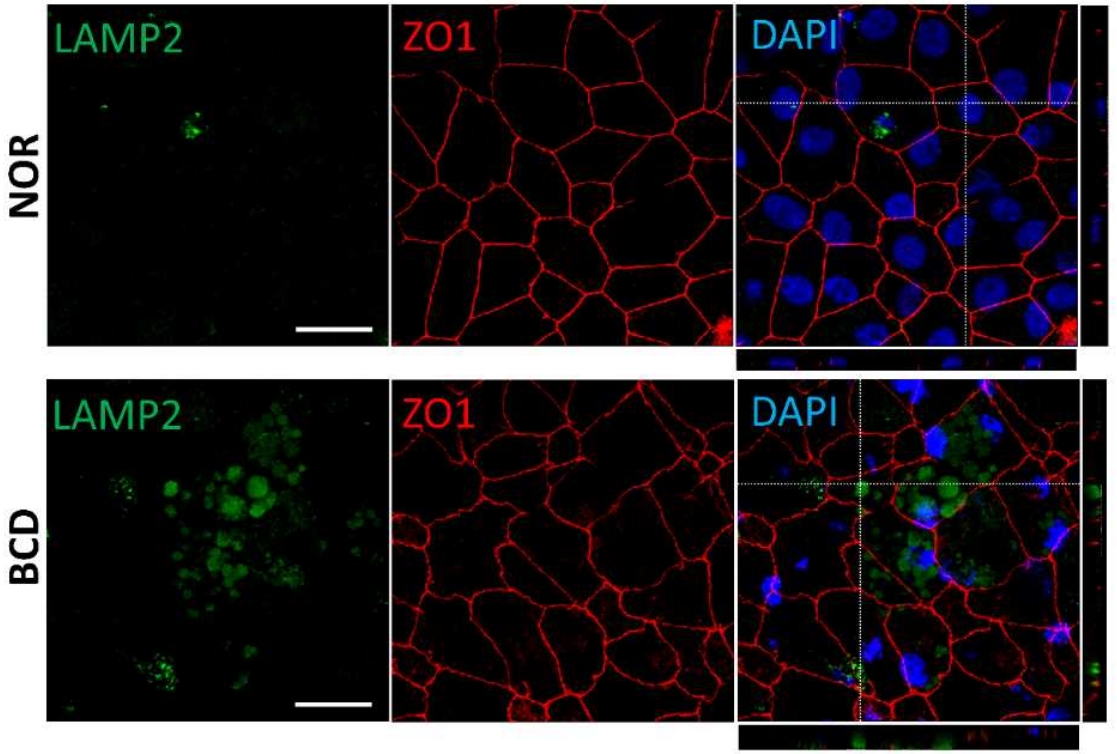
研究結果

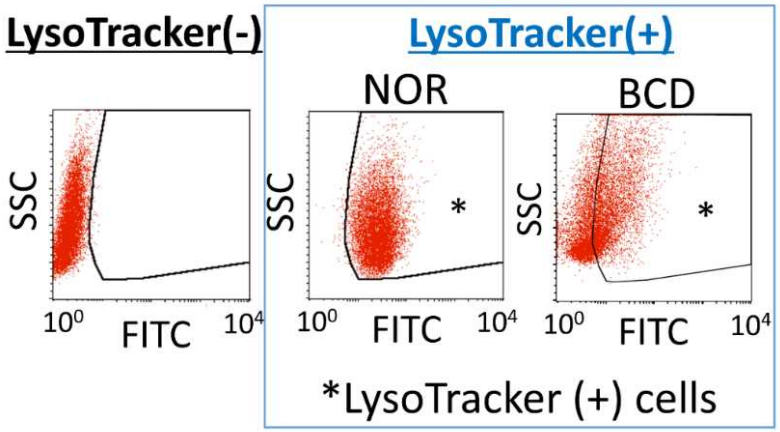
クリスタリン網膜症(BCD)患者由来RPE細胞ではリソソーム機能障害を認める

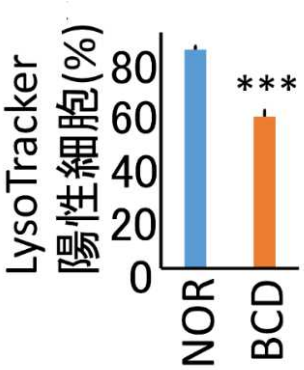


LAMP: リソソームのマーカー蛋白。

BCD由来RPE細胞ではリソソームが蓄積。







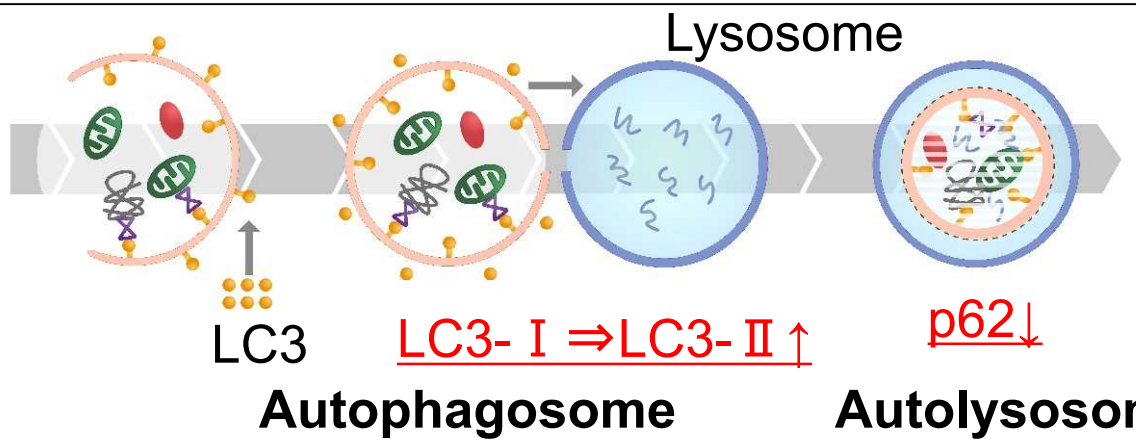
BCD由来RPE細胞ではリソソームの機能障害あり。

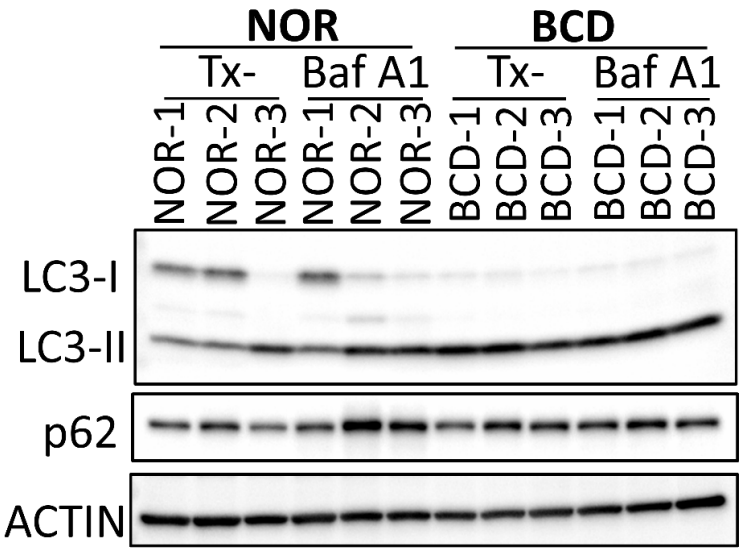
LysoTracker: 正常機能(酸性)のリソソームを染色。

研究結果

患者由来RPE細胞ではオートファジ分解系の障害を認める

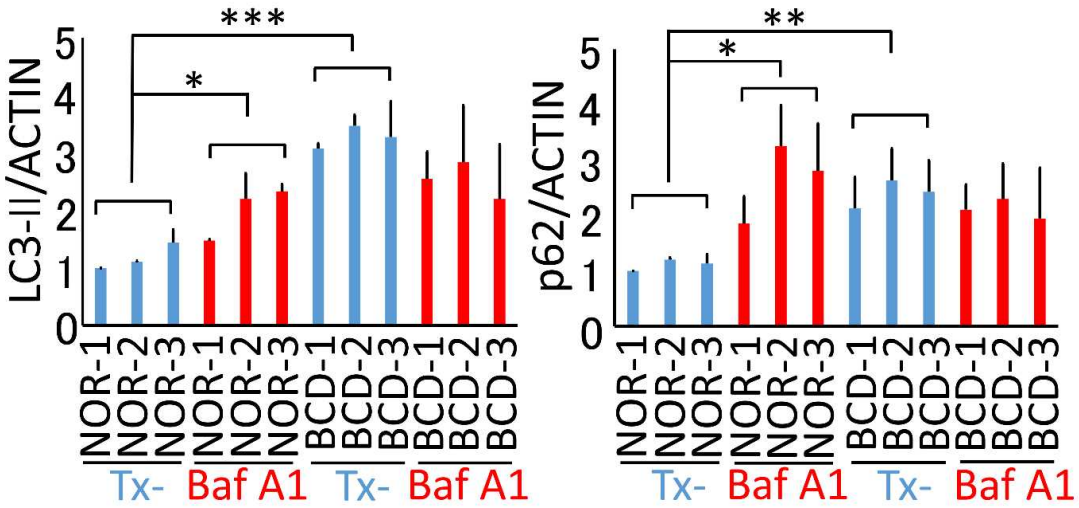
Autophagy flux





bafilomycin-A1 (Baf A1) :オートファジー経路を阻害。

オートファジー関連タンパク質の発現



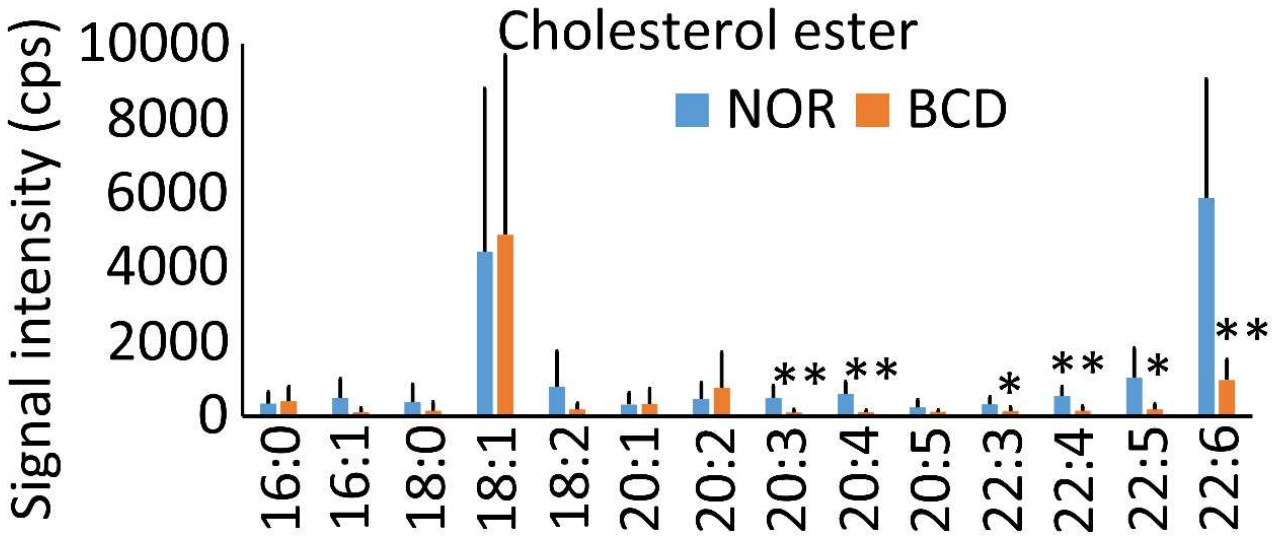
NOR由来RPE細胞：Baf A1によるLC3-Ⅱおよびp62増加。
BCD由来RPE細胞： LC3-Ⅱおよびp62増加、 Baf A1による増加なし。
= 定常状態でオートファジーの分解系が障害されている。

研究結果

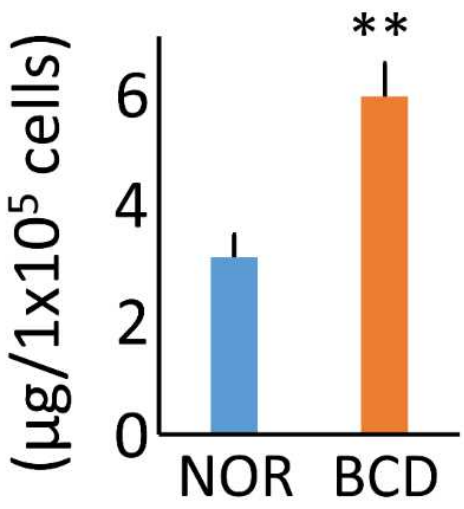
患者RPE細胞では遊離コレステロール蓄積、コレステロールエステル減少がみられる

LC-MS/MSを用いた網羅的な脂質解析

コレステロールエステル



遊離コレステロール



BCD由来RPE細胞では

コレステロールエステルの減少、遊離コレステロールの蓄積

LC-MS/MS: liquid chromatography-tandem mass spectrometry（液体クロマトグラフィータンデム質量分析装置）。クロマトグラフィーで分離した化合物の構造を、質量分析装置を用いて同定する。具体的には、化合物の保持時間、精密質量、同位体比、MS/MSスペクトルの4つの情報から化合物を同定。

クリスタリン網膜症に対する治療戦略

CYP4V2異常⇒？⇒？

⇒ 糖セラミド、遊離コレステロール蓄積　⇒ リソソーム障害 ⇒ 細胞変性

ライソゾーム病と類似
・ニーマンピック病
・ゴーシェ病・・・

BCDに対する治療アプローチ

糖セラミドの合成阻害、遊離コレステロールの排出

候補化合物

糖セラミド蓄積阻害

NBDNJ (N-butyldeoxynojirimycin) 50 μM: 糖脂質合成阻害

コレステロール蓄積阻害剤

①シクロデキストリン誘導体

HPBCD (2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin) 1mM

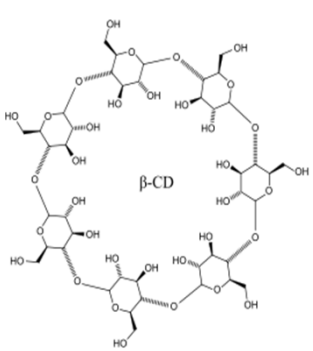
HPGCD (2-hydroxypropyl-γ-cyclodextrin) 1mM

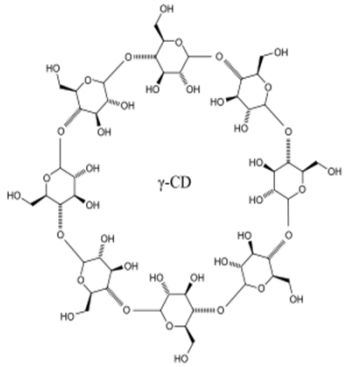
γCD (γ-cyclodextrin) 1mM

HPACD (2-Hydroxypropyl-α-cyclodextrin) 1mM

MBCD (Methyl-beta-cyclodextrin) 300 μM

HEBCD (2-hydroxyethyl- b-cyclodextrin) 1mM





②ビタミンE

δ-Tocopherol(δ-T) 40 μM

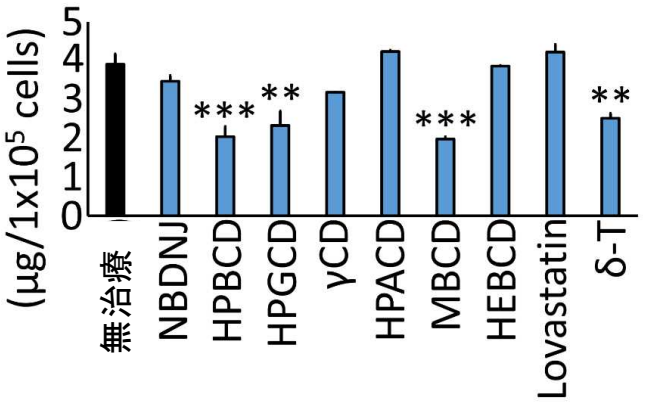
③スタチン系脂質異常症治療薬

Lovastatin 1 μM

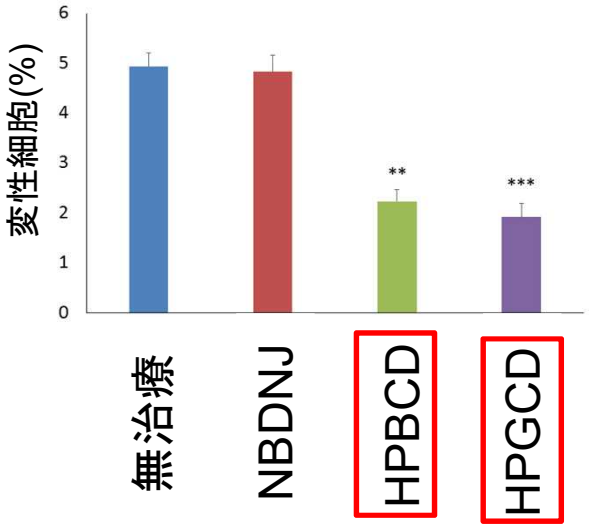
研究結果

遊離コレステロール蓄積阻害剤は、クリスタリン網膜症のリソソーム機能障害を軽減し、細胞障害を抑制する

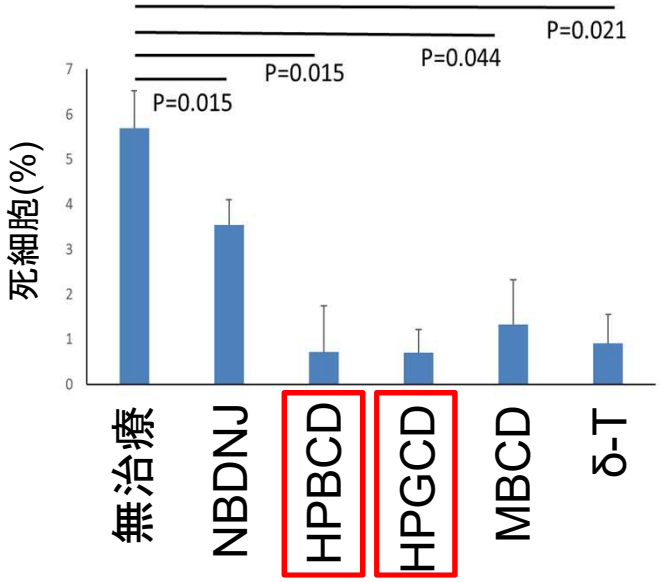
遊離コレステロール減少効果



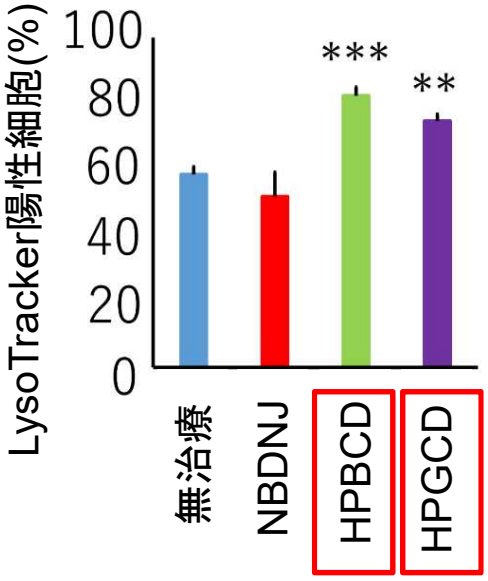
細胞変性に対する抑制効果



細胞死抑制効果



リソソーム機能障害軽減効果



細胞内遊離コレステロール量減少効果を持つ、
HPGCD, **HPBCD**（シクロデキストリン誘導体）は、
リソソーム機能障害を軽減し、細胞障害を抑制した

本技術の特徴

シクロデキストリン誘導体

- BCD患者iPS細胞由来RPE細胞によりスクリーニングされた化合物であるので**臨床予測性を担保**している。
- 食品添加物として以前から使用されており、**安全性は高い**。
- 作用機序が解明できている（mode of actionをクリアしている）。
- 稀少疾患であるので社会貢献性が高い、First Trackになり得る。
- 加齢黄斑変性等の患者数の多い疾患治療薬となるポテンシャルがある。

疾患特異的ヒト由来網膜色素上皮細胞（iPS-RPE）

- 通常組織採取が極めて難しい部位の、患者由来の組織である。
- 眼疾患に関して、薬剤のスクリーニング等に使用可能である。

12

想定される用途

シクロデキストリン誘導体

- クリスタリン網膜症の進行予防治療薬
- 遊離コレステロールなどの脂質蓄積が病態に関与する加齢黄斑変性を含めた網膜疾患に対する予防治療薬

＊眼科疾患では点眼化または徐放化が望まれる

疾患特異的ヒト由来網膜色素上皮細胞（iPS-RPE）

- 加齢黄斑変性、網膜変性症の薬剤スクリーニング

実用化にむけた課題

- *CYP4V2*遺伝子変異による遊離コレステロール蓄積の詳細なメカニズムの解明
- クリスタリン網膜症*in vivo*疾患モデルの構築
- クリスタリン網膜症の疾患レジストリの構築・強化
  （自然経過観察研究によるデータ蓄積）
- 製剤化（点眼化・硝子体注射剤としての徐放化）
- 毒性の少ないシクロデキストリン製剤の開発
- より低濃度で薬効を得る薬剤デリバリーの開発
- 治験実施

企業への期待

- 遊離コレステロール蓄積阻害剤の最適化

（ライブラリースクリーニングによる、より活性の高い化合物の検索）

- 遊離コレステロール蓄積阻害剤の製剤化

（点眼化、内服化、徐放化）

- クリスタリン網膜症*in vivo*疾患モデル(遺伝子改変動物)の作成
- 安全性試験（GLP）の実施

知的財産権・関連論文

1）Patent and its status

クリスタリン網膜症の処置および／または予防方法
出願人：国立大学法人 京都大学
発明者：　畑　匡侑、池田華子
国際出願番号：PCT/JP2018/017183
国際公開番号：WO/2018/199287
国際出願日　：2018/04/27

2）Key paper

Reduction of lipid accumulation rescues Bietti's crystalline dystrophy phenotypes.
Hata M, Ikeda HO, Iwai S, Iida Y, Gotoh N, Asaka I, Ikeda K, Isobe Y, Hori A, Nakagawa S, Yamato S, Arita M, Yoshimura N, Tsujikawa A.
Proc Natl Acad Sci U S A. 2018 ;115(15):3936-3941. PMID: 29581279 doi:10.1073/pnas.1717338115

お問い合わせ先

国立大学法人京都大学内

関西ティー・エル・オー株式会社

京大事業部門　技術移転チーム

田中 悠和（たなか　ゆうか）

TEL　　075-753-9150

FAX　　075-753-9169

e-mail　　yk-tanaka@kansai-tlo.co.jp