

令和 3 年 9 月 29 日
岡 山 大 学

網膜神経変性の悪化を遅らせる治療薬をめざして ～視細胞死抑制薬～

◆発表のポイント

- ・岡山市の株式会社林原（NAGASE グループ）が製造する光電変換色素 NK-5962 は光電変換色素を結合したポリエチレン薄膜の人工網膜（光電変換色素薄膜型人工網膜 OUReP™）の部材です。同社が製造する機能性色素 NK-4 は、生理機能を有するシアニン色素で、一般用医薬品（第 3 類医薬品）「錠剤ルミン®A」の有効成分クリプトシアニン O.A.コンプレックスの主成分として知られています。
- ・網膜色素変性のモデルラット(RCS ラット)でアポトーシスによる網膜視細胞死を抑制する神経保護作用が NK-5962 および NK-4 にはあることを見出しました。
- ・NK-5962 および NK-4 は網膜色素変性などの神経変性の進行を遅らせる医薬品候補になる可能性があります。

網膜色素変性は、視細胞が徐々に死滅してゆく遺伝性疾患です。視野が次第に狭くなり、最終的には視力が低下して失明に至ります。その治療方法は残念ながら現状ではありません。治療として期待されるのは、網膜神経細胞死を遅らせる医薬品ですが、現状ではこのような医薬品はありません。

岡山市の株式会社林原が製造する NK-5962 および NK-4 の視細胞保護作用を調べました。NK-5962 および NK-4 を網膜色素変性のモデルラット(RCS ラット)の眼球の硝子体内に注射すると、本来なら死滅する網膜の視細胞が死なないことを見つけました。NK-4 の作用機序を明らかにするため、NK-4 を眼球に注射した網膜組織と対照液を注射した網膜組織のメッセンジャーRNA (mRNA) の発現を網羅的に調べて分子機構を明らかにしました。

NK-5962 は光電変換色素薄膜型人工網膜の部材として安全性試験で毒性はありません。一方、NK-4 は一般用医薬品「錠剤ルミン®A」の有効成分クリプトシアニン O.A.コンプレックスの主成分で安全が確認されており、長年使用されてきました（1951 年発売）。網膜色素変性など変性疾患には治療薬がなく、NK-5962 および NK-4 は疾患の進行を遅らせて視力を維持する医薬品の候補になると期待されます。



松尾俊彦 教授



劉詩卉 研究員

■発表内容

<導入>

網膜色素変性は、視細胞が徐々に死滅してゆく遺伝性疾患です。視野が次第に狭くなり、最終的には視力が低下して失明に至ります。その治療方法は残念ながら現状ではありません。治療として期待されるのは、網膜神経細胞死を遅らせる医薬品ですが、現状ではこのような医薬品はありません。

<背景>

岡山大学では、アメリカの人工網膜とは全く異なる世界初の新方式である「光電変換色素薄膜型」の人工網膜を2002年から医工連携で研究開発してきました。光を吸収して電位差を出力する光電変換色素分子をポリエチレン薄膜（フィルム）に化学結合した岡山大学方式の人工網膜OUReP™です。この新方式の人工網膜は、電流を出力するのではなく、光を受けて電位差（変位電流）を出力し、近傍の神経細胞を刺激することができます。

これまで、「光電変換色素薄膜型」の人工網膜を半年間、網膜変性ラット(RCS ラット)の眼球網膜下に植込んだ試験で、人工網膜に接する網膜組織では神経細胞死が抑制されていることに気づきました。そこで光電変換色素 NK-5962 自体を網膜変性ラットの眼球硝子体に注射してみると、網膜神経細胞死が抑制されることが明らかになりました。この神経細胞死抑制効果、つまり神経保護効果は、光がない中에서도見られ、NK-5962 の光電変換色素としての作用ではなく、別の作用機序があると考えて、現在、次世代シーケンサによる網羅的発現解析を行って手がかりを探しています（未発表）。

<研究内容、業績>

NK-5962 の薬物体内動態

以前私たちが行った研究のデータを使って、培養網膜細胞を使った試験で NK-5962 の 50%阻害濃度(IC50)を計算すると、NK-5962 をラット眼球の硝子体に注射した場合の 50%効果濃度(ED50)とほぼ一致しました。これらの計算に基づいて、まず試験管内で薬物体内動態を推測する ADME 試験を行いました（用語解説）。その結果に基づいて、ラットに経口投与する量、静脈注射する量を決定し、NK-5962 を実際にラットに投与して血液中および眼球内濃度を測定しました。一方、NK-5962 を点眼した場合の眼球内濃度も測定しました。その結果、経口投与や点眼では眼球内に十分量の NK-5962 は移行しなかったのですが、静脈注射による投与の場合は硝子体内注射した場合と同じくらいの NK-5962 が眼球内に移行していました。

NK-4 の視細胞保護作用

網膜色素変性を遺伝的に発症するモデルラットである RCS ラットは生後3週ぐらいから視細胞が死んでいきます。そこで、生後3週目と4週目に RCS ラットの左眼の硝子体に NK-4 を注射し、右眼の硝子体には対照液を注射し、生後5週目に網膜組織を摘出して観察しました。その結果、対照液を注射した眼の網膜では多くの視細胞がアポトーシス死を来していましたが、NK-4 を注射し

PRESS RELEASE

た眼では視細胞はアポトーシスを生じていませんでした。

次に、NK-4 がどのような分子機序で視細胞のアポトーシスを抑制するのかを明らかにするためメッセンジャーRNA (mRNA) の網羅的発現解析を行いました。NK-4 を注射した眼球から抽出した網膜組織、対照液を注射した眼球から抽出した網膜組織それぞれから mRNA を抽出し、相補的DNA (cDNA) を合成して、次世代シーケンサを使ってその cDNA の塩基配列を網羅的に決めました。そしてどのような遺伝子がどのくらいの数の mRNA を発現しているのかを調べました。対照網膜組織と比べて NK-4 注射網膜組織では、5 つの遺伝子の発現が増えていることが分かり、その結果に基づいてどの代謝経路が動いている（活性化されている）かを明らかにしました。5 つの遺伝子の中には、金属イオンを吸着して酸化を抑えるメタロチオネイン (metallothionein) 遺伝子があり、金属イオンの代謝経路が活性化されて、組織の酸化を抑えることなど抗酸化作用が NK-4 の分子機序に関連することが分かりました。

<展望>

網膜色素変性などの進行性変性疾患では、進行をゆっくりさせて、現在ある視力や視野を少しでも長い間、維持するのが最良の治療です。現在残念ながらこのような薬物はありません。網膜色素変性などの疾患では神経細胞がアポトーシスで死滅していきます。そこで、網膜神経細胞死を抑制する薬物があれば長期間投与することによって変性疾患の進行を緩やかにできるのではないかと考えられます。長期間投与する必要があるので、点眼や内服薬であることが望ましいのですが、今回の試験結果から NK-5962 を静脈投与すると眼球内に十分量が移行することが分かりました。今後、剤型を工夫して内服や点眼でも眼球内に移行しやすい NK-5962 製剤を開発していきたいと考えています。長期間投与する必要があるので、安全性が高いことが重要です。NK-5962 はすべての生物学的安全性試験で毒性はなく、その観点からは有望な薬物と考えています。一方、NK-4 は「錠剤ルミン[®]A」の有効成分クリプトシアニン O.A.コンプレックスの主成分として知られています。また「錠剤ルミン[®]A」は一般用医薬品（経口製剤）として長年市販されています。

<略歴>

1961 年生まれ。岡山大学医学部医学科卒業、同大学院医学研究科（外科系眼科学専攻）修了。医学博士。専門は眼科学。日本学術振興会特別研究員 (PD)、カナダ国ブリティッシュ・コロンビア大学研究員、岡山大学大学院医歯学総合研究科助教授（眼科学分野）、同大学院ヘルスシステム統合科学研究科准教授（生体機能再生再建医学分野）などを経て 2019 年より現職。

■補足・用語説明

NK-5962 のラット硝子体内注射の論文を下記に公開しています。

論文名：Photoelectric dye used for Okayama University-type retinal prosthesis reduces the apoptosis of photoreceptor cells.

掲載誌：Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics 2017;33(3):149-160.

著者： Shihui Liu, Toshihiko Matsuo, Osamu Hosoya, Tetsuya Uchida

PRESS RELEASE

D O I : 0.1089/jop.2016.0093

<https://www.liebertpub.com/doi/pdfplus/10.1089/jop.2016.0093>

人工網膜の総説を下記に公開しています。

論文名 : Photoelectric dye-based retinal prosthesis (OUReP) as a novel type of artificial retina.

掲載誌 : *Internal Medicine Review* 2021;916.

著者 : Toshihiko Matsuo, Tetsuya Uchida

D O I : <http://dx.doi.org/10.18103/imr.v7i1.916>

<https://internalmedicinereview.org/index.php/imr/article/view/916>

NK-5962 の体内動態に関する論文を下記に公開しています。

論文名 : Photoelectric dye, NK-5962, as a potential drug for preventing retinal neurons from apoptosis: pharmacokinetic studies based on review of the evidence.

掲載誌 : *life*

著者 : Toshihiko Matsuo, Shihui Liu, Tetsuya Uchida, Satomi Onoue, Shinsaku Nakagawa, Mayumi Ishii, Kayoko Kanamitsu

D O I : 10.3390/life11060591

<https://www.mdpi.com/2075-1729/11/6/591>

NK-4 のラット硝子体内注射の論文を下記に公開しています。

論文名 : The effect of cyanine dye NK-4 on photoreceptor degeneration in a rat model of early-stage retinitis pigmentosa.

掲載誌 : *Pharmaceuticals*

著者 : Shihui Liu, Toshihiko Matsuo, Mary Miyaji, Osamu Hosoya

D O I : <https://doi.org/10.3390/ph14070694>

<https://www.mdpi.com/1424-8247/14/7/694>

■研究資金

NK-4 に関する研究は、岡山県の特別電源所在県科学技術振興事業の補助金の支援を受けて実施しました。NK-5962 に関する研究は、日本医療研究開発機構 (AMED) 難治性疾患実用化研究事業および創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業 創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム(BINDS)の支援を受けて実施しました。

■用語解説

ADME (アドメ)

生体に投与された薬物が、吸収されて体循環血液中に入り、生体内に分布し、肝臓などで代謝され、尿中などに排泄されて生体内から消失する過程。吸収 (absorption)、分布 (distribution)、代謝

PRESS RELEASE

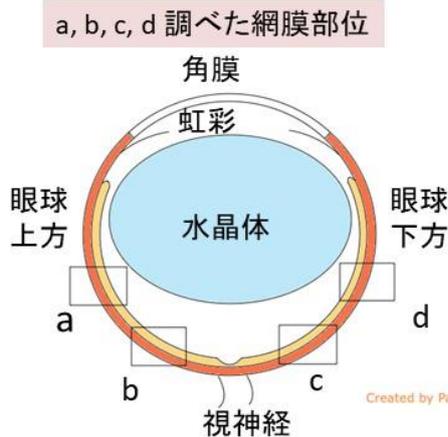
(metabolism)、排泄 (excretion) の頭文字である。これらの速度過程を記述する領域を薬物動態 (PK; Pharmacokinetics あるいは DMPK; Drug Metabolism and Pharmacokinetics) とよぶ。医薬品の開発において ADME 研究は重要な位置を占めている。(公益財団法人日本薬学会 薬学用語解説) <https://www.pharm.or.jp/dictionary/wiki.cgi?ADME>



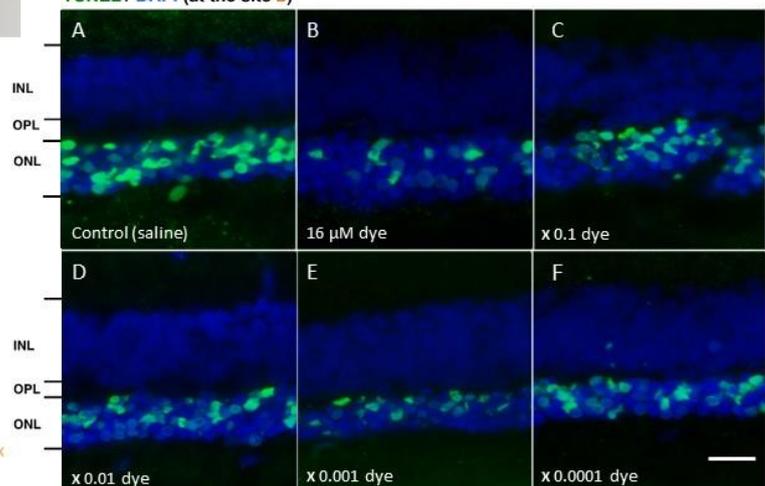
色素原液
8.2 μg/ml (16 μM)



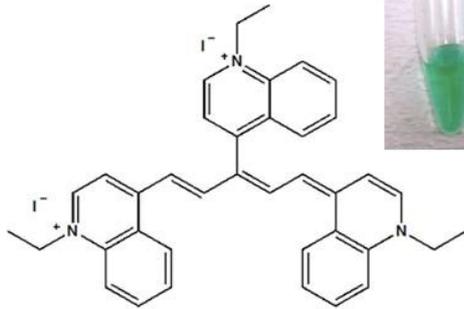
色素液の硝子体内注射でアポトーシス細胞(緑)は減少



TUNEL / DAPI (at the site b) A 対照(生食注射) B-F 色素希釈液注射



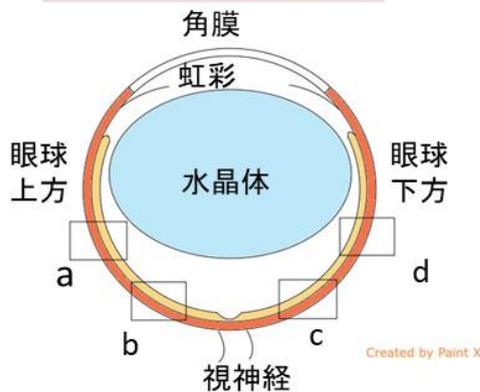
感光色素 NK-4



硝子体内注射



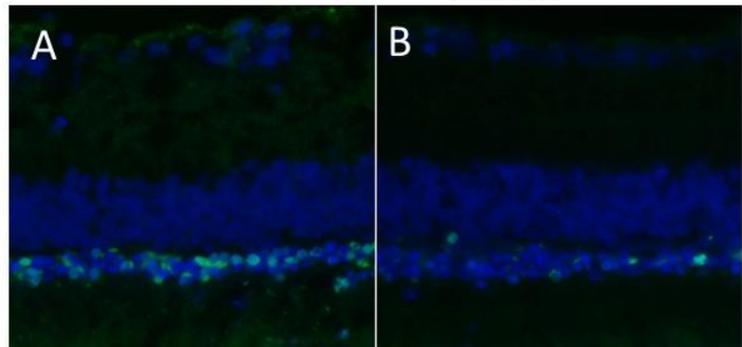
a, b, c, d 調べた網膜部位



色素液の硝子体内注射でアポトーシス細胞(緑)は減少

A 対照(生食注射)

B 感光色素液注射
0.1 mg/ml



<お問い合わせ>

岡山大学学術研究院ヘルスシステム統合科学学域
(岡山大学病院眼科)
教授 松尾俊彦



岡山大学は持続可能な開発目標 (SDGs) を支援しています。