



## DNW-14023 の概要

課題番号 : DNW-14023

課題名 : 緑内障を対象とした神経保護薬の探索

主任研究者 (Principal Investigator) :

林 秀樹 (学校法人東京薬科大学薬学部)

課題番号 DNW-14023 では、網膜神経節細胞に発現している LRP-1 (low density lipoprotein receptor related protein-1) を標的として、新たな緑内障治療薬の創製に取り組んでいる。

- 創薬コンセプト :

LRP-1 のアゴニスト抗体は、LRP-1 と NMDA (N-methyl-D-aspartic acid) 受容体との複合体形成を促進し、網膜神経節細胞におけるカルシウムの過剰流入と網膜神経節細胞のアポトーシスの抑制による網膜保護作用を有することから、新しいメカニズムの緑内障治療薬となりうる。

- ターゲットプロダクトプロファイル :

網膜神経節細胞に対する保護作用により、緑内障における網膜神経節細胞の変性・脱落を抑制し病態の進行を抑制する緑内障治療薬 (抗体、局所投与)

- 創薬コンセプトの妥当性を支持するエビデンス :

以下のことが PI らにより報告されている。

- 1) グリア細胞が産生する LRP-1 のアゴニスト E-LP (apolipoprotein E-containing lipoprotein) は、緑内障モデルマウス (GLAST KO マウス) 由来の初代培養網膜神経節細胞に対し、網膜神経節細胞のマーカー Brn3a の発現量及びアポトーシス抑制シグナル (リン酸化 GSK3 $\beta$ ) の維持効果を示した。
- 2) E-LP の緑内障モデルマウスへの局所投与は、網膜神経節細胞数の低下を抑制した。
- 3) マウス及びラット緑内障モデルの眼球内 (硝子体) では、LRP-1 のリガンドの 1 つ A2M ( $\alpha$ 2-macroglobulin) が増加していた。A2M が E-LP と競合的に拮抗するため、E-LP が LRP-1 を介した神経保護効果を発揮できず、視神経変性が進行すると推察される。

また、以下のことを創薬ブースター支援により明らかにした。

E-LP および LRP-1 アゴニスト抗体は、*in vitro* 評価（初代培養網膜神経節細胞のグルタミン酸添加によるアポトーシス誘導）及び *in vivo* 評価（NMDA 誘発性視神経障害モデル、硝子体内投与）においてアポトーシス抑制作用による網膜神経節細胞の保護効果の可能性を示した。

● 創薬に向けたアプローチ：

- 1) 抗ヒト LRP-1 抗体のスクリーニング系を確立した。
- 2) 完全長 LRP-1 に対する抗 LRP-1 scFv 抗体スクリーニングを実施し、LRP-1 の細胞外領域に結合する scFv 抗体を取得した。これら抗体の中に、*in vitro*（初代培養網膜神経節細胞の保護作用評価）及び *in vivo* 評価（NMDA 誘発性視神経障害モデル、硝子体内投与）によりアポトーシス抑制作用を有する抗体が存在することを確認した。
- 3) scFv アゴニスト抗体の *in vivo* アポトーシス抑制活性（神経節細胞の保護作用）について以下の検証を実施した。
  - ① 網膜のイムノブロット及び組織染色による神経細胞の保護効果の確認（再現性）
  - ② 保護作用の分子機構である GSK-3 $\beta$  のリン酸化の亢進の確認
  - ③ 硝子体内投与又は点眼投与したアゴニスト scFv 抗体の集積部位及び LRP-1 存在部位の確認
- 4) scFv 抗体の IgG 化を実施した。
- 5) LRP-1 細胞外領域蛋白質を抗原としたモノクローナル抗体の取得のために、LRP-1 完全長細胞外ドメイン発現のためのベクター及び安定発現 CHO 細胞を構築した。

● 特許出願：

なし

本資料は、創薬総合支援事業（創薬ブースター）による支援の終了時の情報をもとに作成しています。