

総括研究報告書

1. 研究開発課題名： Duchenne 型筋ジストロフィーに対するカルパイン 1 阻害治療法の開発

2. 研究開発代表者：松尾 雅文

(当該年度 3 月 31 日時点の所属) 神戸学院大学 総合リハビリテーション学部

3. 研究開発の成果

Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) は、最も頻度の高い遺伝性筋疾患で、致死性の進行性筋萎縮症で、世界の数万の患者が治療法の確立を待望している。研究代表者は、エクソスキッピング誘導によるジストロフィン発現治療法を世界に先駆けて提唱するなど、DMD の病態解析・治療法開発において世界をリードする成果を挙げてきた。こうした多くの研究実績の集積から、「カルシウム依存性を示すカルパイン 1 が筋崩壊に関与するタンパク分解酵素で、その阻害は DMD の新しい治療標的である」との独自の着想に至った。本研究は、カルパイン 1 阻害が DMD 治療に応用できることを明らかにするとともに、治療の有効性の客観的評価法を確立するもので、カルパイン 1 阻害剤による DMD 治療法を世界に先駆けて開発する最先端研究である。

カルパイン 1 が筋肉内に多量に存在するタイチンを分解することに着目し、尿中タイチン分解断片の測定法の確立を図った。タイチンの N 末端側のタイチン分解産物を検出するため、この断片に対する抗体を作成した。そして、尿中のタイチン分解断片の検出をウェスタンブロット法で解析した。その結果、デュシェンヌ型筋ジストロフィー患者あるいは健常者でタイチンのバンドを検出することに成功した。さらに、タイチンの分解断片の検出に用いた抗体を用いて、タイチン分解断片の迅速容易な ELISA 測定法を確立した。現在、微量尿サンプルを用いた多検体の解析を実施している。この結果により、客観的指標を確立し得ると期待される。

DMD マウスでカルパイン 1 遺伝子をも破壊したダブルノックアウトマウスを作成し、カルパイン 1 消失による DMD 症状軽快化のエビデンスを得ることを目指している。ダブルノックアウトマウス作製の為に DMD モデルマウスを実験動物中央研究所より導入し、一方、カルパイン 1 遺伝子ノックアウトマウスをタフツ大学医学部の Chishti 教授より分与してもらい、系統として維持を開始した。既に両系統の維持、保存用の受精卵採取を終え、掛け合わせを開始している。なお、筋肉の組織学的解析、筋力、運動持続能力等の解析を進める為の予備的検討を進めており、ダブルノックアウトマウスが得られ次第、解析を進めることができる状況にある。

DMD のモデルマウスである mdx マウスへカルパイン 1 阻害剤の SNJ-1945 を投与し、その投与によるマウスの筋障害の改善を明らかにすることを目標としている。

SNJ-1945 を mdx マウスへ経口的投与した。その結果、SNJ-1945 の投与群は非投与群と比較して、血清クレアチンキナーゼ活性が低く、筋障害が軽いことが示唆された。また、トレッドミル試験において運動障害が軽いことが示された。さらに、投与群の筋病理解析では筋壊死が軽いことが示された。今後さらに例数を増やすことにより、SNJ-1945 による筋障害抑制効果を明らかにする予定である。