

# 再生障害シグナルの制御による 中枢神経再生誘導薬の創製

研究期間 平成17年度～平成21年度(予定)

研究体制

総括 山下 俊英[大阪大学]

※平成21年度における研究体制

## 中枢神経再生誘導薬の創製

Project Keyword

### 中枢神経障害

脳血管障害、脳外傷、脊髄損傷などにより、いったん傷害を受けた中枢神経系機能は回復せず、有効な治療法は存在しません。これは神経機能を司る神経回路が修復されないためと考えられています。

### 軸索再生阻害タンパク質

中枢神経系には損傷した軸索(神経細胞から伸びる突起)の再生を阻害する機構が存在しており、これまでに複数のタンパク質が同定されています。これらは神経細胞を取り巻くグリア系細胞に発現しています。

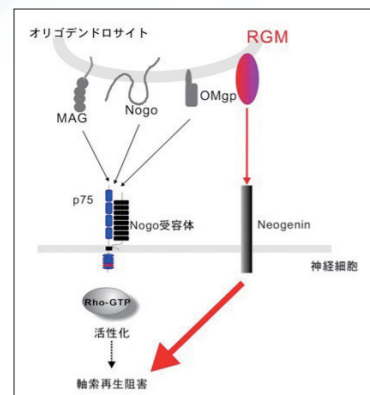
### 中枢神経回路の再生

軸索再生阻害タンパク質の機能を抑制することにより、損傷した中枢神経回路が再生し、神経機能の回復がもたらされることが動物実験で示されています。中枢神経回路の再生を誘導する薬剤の開発が期待されています。

## 1 研究の背景・意義

### 中枢神経疾患後遺症の克服に向けて

難治神経疾患により四肢麻痺あるいは半側麻痺などの神経症状が出現すれば、回復は期待できません。中枢神経の再生を部分的にでも可能にする有効な治療法はなく、新たな治療法の開発は緊急の課題であります。脊髄損傷の際に損傷軸索の再生が可能となれば機能回復への道が開けます。また細胞死を伴う神経疾患において、たとえ神経細胞死の部分的な防御が可能となったとしても、神経回路網は大きな打撃を受けます。この重篤な状況を脱するには神経回路の再建、すなわち細胞死を免れた神経細胞の軸索から標的ニューロンへの軸索再生が不可欠です。一方神経幹細胞の移植が中枢神経の損傷あるいは神経難病の治療に想定されています。移植された細胞が機能を発揮するには、神経回路網の一部として機能しなければならぬことを考慮すれば、中枢神経の機能再建には中枢神経軸索の再生させることが必須条件となります。しかしながら、中枢神経系には軸索の再生を阻害する機構が存在しているために、軸索の再生は不能となります。これまで研究代表者らは中枢神経軸索の再生を阻害する機序の解明に取り組み、オリゴデンドロサイトのミエリンに発現する複数の軸索再生阻害タンパク質とそれらにより惹起される細胞内シグナルを同定し(図)、「中枢神経軸索再生阻害機序」の解明に成功しました。

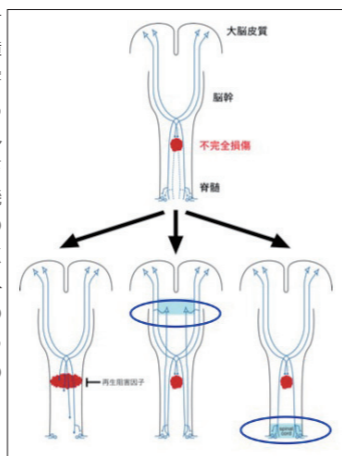


▲オリゴデンドロサイトに発現する複数のタンパク質が損傷された神経細胞に働き、軸索(突起)の再生を抑制します。

## 2 研究プロジェクトの目標

### 中枢神経回路の修復治療法の開発

本研究の目標は、中枢神経系に備わっている代償回路形成能力を効果的に賦活化させる新たな生体機能分子を開発し臨床応用を実現することです。研究代表者らはこれまで損傷した神経回路の再生を正と負に制御する因子を同定し、その細胞内シグナル伝達を明らかにしてきました。その結果、中枢神経回路の再生を制御する方法の開発に着手することができました(図)。本研究プロジェクトでは、「中枢神経疾患による神経症状を改善させる治療薬」としてヒト型抗RGMモノクローナル抗体を開発しています。本研究により、ヒトの中枢神経疾患治療に有効な治療薬の開発を果たし、積極的な代償回路形成のための手法の評価に取り組み、終了時には中枢神経障害の治療法を確立し、世界に先駆けて実用化の道を開くことを目標とします。これは当初、脊髄損傷による神経障害の治療薬として評価を受けることとなりますが、長期的には脳血管障害など広く中枢神経障害の治療薬として使われるようになることが期待されます。本研究により開発された薬剤は、中枢神経機能障害をもたらす多くの疾患をターゲットとする点で医学的に貢献するのみならず、「寝たきり」からの回復が可能になるという観点で、医学経済面での大きな貢献も望めます。

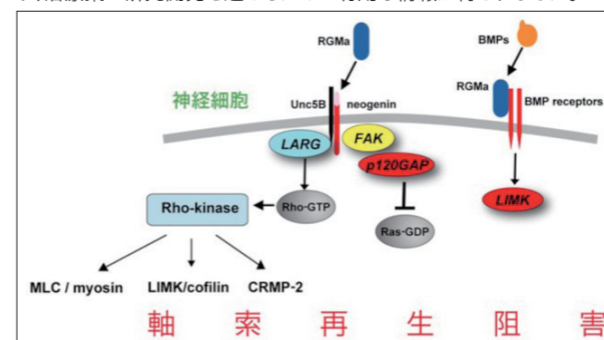


▲損傷した中枢神経軸索は通常再生しませんが、再生阻害因子を抑制する薬剤によって、再生が可能となり、機能回復が望めます。

## 3 研究プロジェクトの成果

### 軸索再生阻害機構の解明

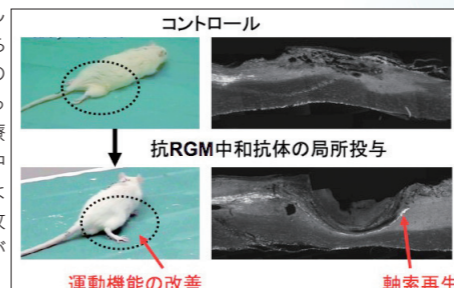
研究代表者らはこれまで損傷した神経回路の再生を正と負に制御する因子を同定し、その細胞内シグナル伝達機構を明らかにしてきました。本研究プロジェクトにおいては、RGMが神経細胞に作用することによって惹起される再生阻害シグナル伝達の解明を行いました。その結果、RGMファミリータンパク質であるRGMbもRGMaと同様に再生阻害タンパク質として働いていることを見いだしました。さらにRGMがneogenin受容体を介して再生阻害効果をもたらすに至るシグナル伝達機構の詳細を明らかにしました(図)。RhoAの活性化(J Cell Biol., 2009)およびRasの不活性化(J Neurosci, 2009)が鍵となるシグナルであることを見だし、そのシグナル伝達機構を明らかにしました。さらにRhoA/Rho-kinaseの下流のシグナルを同定し、細胞骨格制御機構についても明らかにしました。またBMPがRGM依存性の新規再生阻害因子であること、そしてその再生阻害機構を明らかにしました。以上の基礎研究の成果からRGMの再生阻害作用の分子基盤が明らかになり、治療薬の研究開発を進めるための有用な情報が得られました。



▲RGMは受容体複合体を介して、Rhoの活性化およびRasの不活性化を惹起し、軸索の再生を抑制します。

### 抗体治療薬の開発

軸索再生阻害機構の解明によって、RGMを分子標的とした治療薬が有望であることが示唆されました。したがって本研究プロジェクトでは、脊髄損傷動物モデルで効果を示す抗体治療薬の創製を行っています。RGMおよびその受容体であるneogeninに対する中和抗体の創製を行い、in vitroでRGMの効果完全に抑制するモノクローナル抗RGM抗体を得ました。これらの抗体を脊髄(胸髄)損傷させたラットに局所投与したところ、コントロール群と比較して有意な運動機能の改善が認められました(図)。特に臨床の病態により近いと考えられる脊髄圧挫モデルにおいて、当該抗体は大きな機能回復促進効果を有していました。さらに軸索再生について検討したところ、運動機能を制御する皮質脊髄路が再生し(図)、代償性神経回路を形成することで、新たな神経回路が形成されていることを明らかにしました。また開発した抗体のエピトープ解析を行い、in vivoで効果を有する抗体に共通の結合部位が存在することを明らかにしています。これらの動物実験での効果検証によって、本抗体治療薬は、ヒトの中枢神経障害による神経症状を改善させる効果が期待されます。



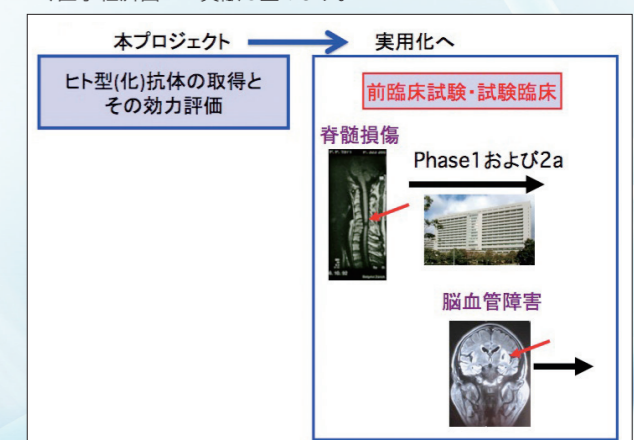
▲脊髄損傷させたラットに抗RGM中和抗体を投与すると、運動機能の改善および損傷した軸索の再生が認められました。

## 4 実用化にあたっての今後の課題及び研究方針

### ヒト型抗体治療薬の実用化

現時点で、RGMの機能をほぼ完全に抑制し、ラット脊髄損傷モデルで軸索再生促進効果および機能改善効果を有するモノクローナル抗体を取得しています。本抗体の作用機序を明らかにし、またRGMの軸索再生抑制メカニズムの分子レベルでの解明も進み、基礎研究段階はほぼ終了することができました。今後、「中枢神経疾患による神経症状を改善させる治療薬」として、ヒト型抗RGMモノクローナル抗体を開発し、実用化に向けて研究を進めます(図)。まず取得しているマウスモノクローナル抗体のヒト型化を行います。そしてヒトに外挿可能なサル脊髄損傷モデルを構築し、当該抗体の効力試験を実施します。サル脊髄損傷モデルでは、運動機能および感覚機能をモニターし、さらに神経回路の修復について検証します。当該抗体による機能改善および再生促進効果が認められれば、前臨床試験に向けて準備を進めます。組換えヒト型(化)抗RGMモノクローナル抗体の製造法及び製剤化の検討を行い、前臨床用サンプル製造を具体化します。さらに薬物動態及び安全性の予備検討を実施し、用法用量に目途を得ます。これらを今後3年半以内に終了させる予定で開発研究を進めます。その後、速やかに前臨床試験へ移行し、非臨床安全性試験(GLP)(単回投与および反復投与、生殖・発生毒性試験、変異原性試験、ガン原性試験)、および薬物動態試験を行います。以上の試験で問題のないことを確認したうえで臨床試験に進みます。すでにげっ歯類脊髄損傷動物モデルで効果の高いモノクローナル抗体を創製しており、作用機序の解明も進んでいるため、薬剤開発に伴う共通の一般的なリスク要因以外に、本研究におけるリスク要因として、特記すべきことはないと考えています。

本研究の最終目標は、ヒトの中枢神経疾患治療に有効な治療薬の開発を果たし、予定期間を通じて積極的な代償回路形成のための手法の評価に取り組み、終了時には中枢神経障害の治療法を確立し、世界に先駆けて実用化の道を開くことです。これは当初、脊髄損傷による神経障害の治療薬として評価を受けることとなりますが、長期的には脳血管障害など広く中枢神経障害の治療薬として使われるようになることが期待されます。本研究プロジェクトで開発した抗体治療薬は動物実験のレベルで再生誘導効果が高いことが、RGMをターゲットとした本治療法の利点です。本研究により開発された薬剤は、中枢神経機能障害をもたらす多くの疾患をターゲットとする点で医学的に貢献するのみならず、「寝たきり」からの回復が可能になるという観点で、医学経済面での貢献も望めます。



▲本プロジェクトで開発する薬剤は、脊髄損傷、脳血管障害などの中枢神経疾患後遺症の克服に寄与することが期待されます。

### 参考文献

Hata, K., Fujitani, M., Yasuda, Y., Doya, H., Saito, T., Yamagishi, S., Mueller, B.K. and Yamashita, T. RGMa inhibition promotes axonal growth and recovery after spinal cord injury. J. Cell Biol. Vol 173 (2006), 47-58.  
Hata, K., Kaibuchi, K., Inagaki, S. and Yamashita, T. Unc5B associates with LARG to mediate the action of repulsive guidance molecule. J. Cell Biol. Vol 184 (2009), 4737-750.  
Yamashita, T. and Tohyama, M. The p75 receptor acts as a displacement factor that releases Rho from Rho GDI. Nature Neurosci. Vol 6 (2003), 461-467.