

チオレドキシンによる 急性呼吸器疾患新規治療法の開発

研究期間 平成18年度～平成22年度(予定)

研究体制

総括 淀井 淳司[京大] 京都大学

※平成21年度における研究体制

抗炎症蛋白チオレドキシンの医薬品化

Project KeyWord
キーワード

MIF

マクロファージ遊走阻害因子 (macrophage migration inhibitory factor: MIF) は、あらゆる細胞や組織に発現して炎症性サイトカインとして作用するのみならず多彩な機能をもつことが知られている。

ARDS

急性呼吸促進症候群 (ARDS) は重症感染、外傷、手術等様々な原因により急性呼吸不全を呈する疾患である。人口10万人当たり年間6人例程度と稀少な疾患であるが、有効な治療薬がなく、救命率は50%前後である。

COPD急性増悪

慢性閉塞性肺疾患 (COPD) は慢性進行性の呼吸困難を呈する疾患で、喫煙が主たる原因である。喫煙者の15-20%が発症するといわれ、我が国の推定症例数は530万人。、そのうち感冒などを契機に急性の呼吸困難を呈するものを急性増悪と称する。

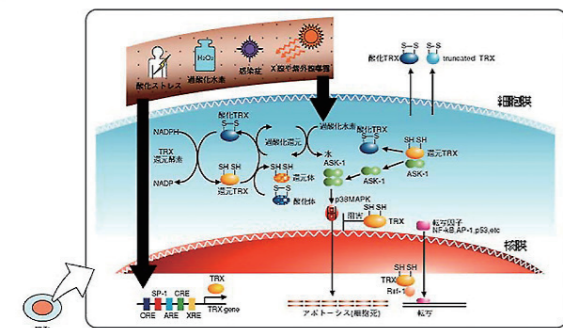
1 研究の背景・意義

急性呼吸器疾患の新規抗炎症治療薬の開発

チオレドキシンは105個のアミノ酸からなる分子量12kDaの蛋白で、細胞内外の酸化還元(レドックス)環境を調節するレドックス制御分子である。総括研究代表者の淀井淳司らは1989年にヒトチオレドキシンを遺伝子クローニングし、その物質特許を保有している。これまでの研究により、チオレドキシンは種々の酸化ストレスにより誘導・放出され、抗酸化作用・抗アポトーシス作用を示すほか、好中球の炎症部位への遊走を阻止する抗炎症作用を示すことが明らかにされている。

一方、様々なストレスにより体液中のチオレドキシンレベルが上昇すること、チオレドキシ過剰発現マウスが種々の疾患モデルにおいて抵抗性であることから、チオレドキシ蛋白の投与が炎症性疾患の治療法として有望であると考えられる。

以上のような背景に基づき、我々は様々な炎症性疾患モデルでチオレドキシ蛋白の有効性を示してきたが、とりわけ重篤で確立した治療法のないARDSのような疾患に対して、チオレドキシを医薬品化することの意義は大きいと考える。



▲チオレドキシンの生体内での主な作用

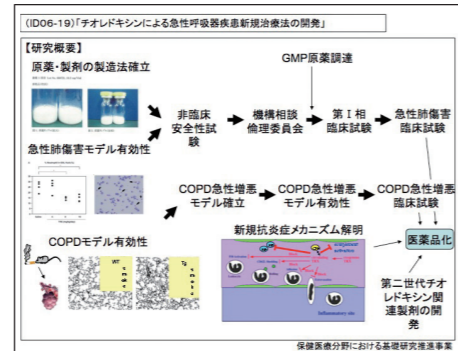
2 研究プロジェクトの目標

ARDS・COPD急性増悪等の新規治療法の開発

薬剤開発の進歩により、多くの呼吸器疾患は、抗菌薬・抗炎症薬で治療可能となった。しかしながら、ARDS、新型インフルエンザを含むウイルス性肺炎などの重症疾患は未だに有効な治療薬がなく、またCOPDの気道炎症に有効な抗炎症薬は確立されていない。

そこで、このような疾患をターゲットに、チオレドキシを「ステロイド等既存の抗炎症薬に抵抗性、若しくはその副作用を克服する新規抗炎症薬」として医薬品化するための基礎研究を行うことが本研究の目的である。

具体的には、ARDSを対象として、遺伝子組み換えヒトチオレドキシンの有効性を検証する医師主導治験遂行の準備(疾患モデルを用いた処方検討・非臨床安全性試験等)を進めるとともに、COPD急性増悪など、より市場性の高い領域への適応拡大を目指すため、新たなDDSの開発、作用機序の解明等基礎医学的なエビデンスの強化を行う。即ち、静注以外の投与方法、及び次世代製剤として長時間作用型の開発、更に作用メカニズムの解明のため、細胞膜上のチオレドキシ結合物質の同定、炎症性サイトカインMIFとの相互作用に関する検討を行う。

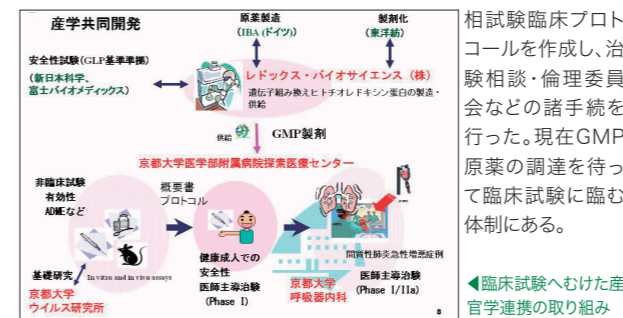


▲急性呼吸器疾患をターゲットとしたチオレドキシンの医薬品化構想

3 研究プロジェクトの成果

ARDS臨床試験に向けた基礎検討

これまでに遺伝子組換えヒトチオレドキシ原薬の製造法を確立し、薬物動態試験、GLP基準を満たす毒性安全性試験などの非臨床試験を行った。また、凍結乾燥品製剤化を検討し、薬剤の安定性試験を行った。様々な急性肺傷害モデルにおいて有効性を検討し、至適投与方法に関してはプレオマイシン気管内投与モデルにて検討を行った。同時に治験薬概要書・1

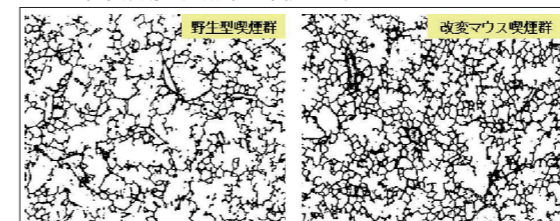


相試験臨床プロトコルを作成し、治験相談・倫理委員会などの諸手続を行った。現在GMP原薬の調達を待つて臨床試験に臨む体制にある。

◀臨床試験へむけた産官学連携の取り組み

COPD急性増悪への適応拡大に向けた検討

ヒトCOPD症例で重症度と喀痰中チオレドキシ値が相関すること、チオレドキシ過剰発現マウスが喫煙肺気腫(COPD)発症抵抗性であることを証明した。また急性増悪の治療薬として臨床で頻繁に用いられるグルココルチコイドの作用メカニズムとその限界に関して疾患モデルを用いて確認した。チオレドキシの血中半減期は短いため、最も効率的な投与方法の一つである経気道投与方法に関して検討を行い、静脈投与を上回る肺への移行及び肺炎症の抑制効果を証明した。また血中半減期延長を目指した次世代型製剤を試作し、静脈投与での血中半減期延長効果を確認した。



▲チオレドキシ過剰発現マウスは肺気腫(COPD)発症抵抗性である。(図は喫煙マウスの肺の二重化イメージ)

作用メカニズム解明に向けた検討

チオレドキシの抗炎症作用の新たなメカニズムとして、炎症性サイトカインMIFとチオレドキシの結合をBiacoreシステム及び結晶解析にて証明した。また、MIFによるステロイド抵抗性炎症において、細胞から放出される炎症性サイトカイン(TNF-α)はチオレドキシの添加により抑制された。これらの結果は、チオレドキシが抗炎症薬としてもステロイドと共存しうる可能性、即ちステロイド耐性の症例への適応を示唆している。

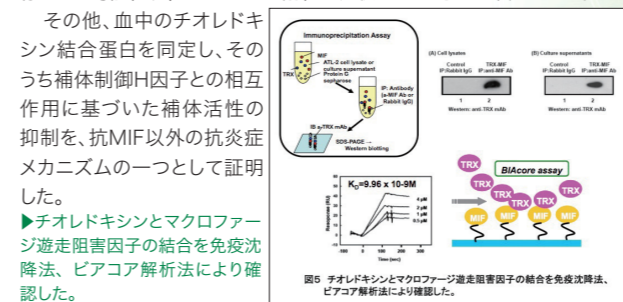


図0 チオレドキシとマクロファージ遊走阻害因子の結合を免疫沈降法、ピアコア解析法により確認した。

参考文献

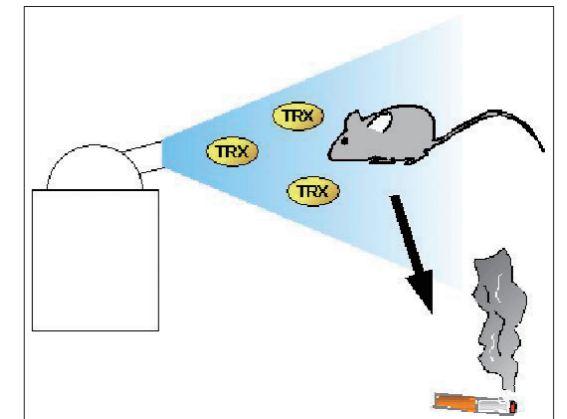
Nakamura T, Hoshino Y, Yamada A, Teratani A, Furukawa S, Okuyama H, Ueda S, Wada H, Yodoi J, Nakamura H. Recombinant human thioredoxin-1 becomes oxidized in circulation and suppresses bleomycin-induced neutrophil recruitment in the rat airway. Free Radic Res. 2007;41(10):1089-98.
Sato A, Hoshino Y, Hara T, Muro S, Nakamura H, Mishima M, Yodoi J. Thioredoxin-1 ameliorates cigarette smoke-induced lung inflammation and emphysema in mice. J Pharmacol Exp Ther. 2008;325(2):380-8.
Son A, Kato N, Horibe T, Matsuo Y, Mochizuki M, Mitsui A, Kawakami K, Nakamura H, Yodoi J. Direct association of thioredoxin-1 (TRX) with macrophage migration inhibitory factor (MIF); Regulatory role of TRX on MIF internalization and signaling. Antioxid Redox Signal. 2009 Oct;11(10):2595-605.

4 実用化にあたっての今後の課題及び研究方針

医薬品化に向けた今後の取り組み

従来の第一世代製剤静注投与というフォーマットに加え、新たに吸入投与方法、及び長時間作用型の第二世代製剤を開発中である。これまでに、これらの投与方法によりチオレドキシが肺局所に効率的に沈着すること、及び第一世代製剤に比べ長い半減期を持つことを検証し得たが、今後は、従来の投与方法と同等若しくはそれを上回る有効性が得られるかどうか、疾患モデルにて検証する必要がある。

一方医薬品化へ最も近い状態にあるのは第一世代製剤であり、企業へのGMP蛋白製造委託が可能となれば、これまでのGLPタンパク製造元からの技術移転の後、速やかに臨床試験へと向かう予定である。

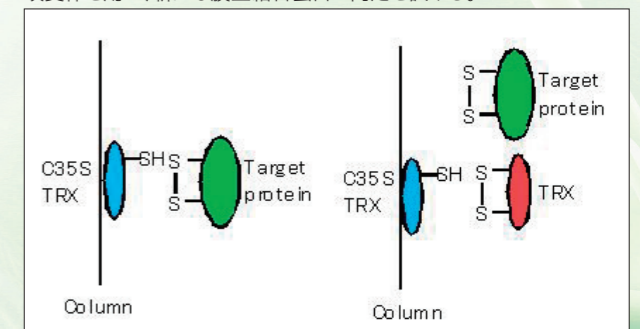


▲非侵襲的なネブライザー吸入などの投与形態での有効性を検証する。

抗炎症メカニズムの更なる検討

チオレドキシの抗炎症作用として、特にMIF抑制のメカニズムに関して基礎検討を行ってきた。今後はこれまで有効性を確立してきた様々な疾患モデルにおいて、in vivoでのMIF抑制効果の有無を検証する。in vivoにおいてもMIF抑制効果を認めるようであれば、MIFを臨床試験のエンドポイントの一つにすることも可能である。

また新たな抗炎症メカニズムの探究のため、これまで同定してきた細胞膜上のチオレドキシ結合物質との相互作用に関して更なる検討を進める。また、これまでの改変体に比べより安定した蛋白結合性を示す改変体を用い、新たな膜上結合蛋白の同定を試みる。



▲ジスルフィド基を介した血漿タンパクとの結合は一過性であり、より強固な結合をする改変体を用いて結合タンパクを検出する。