

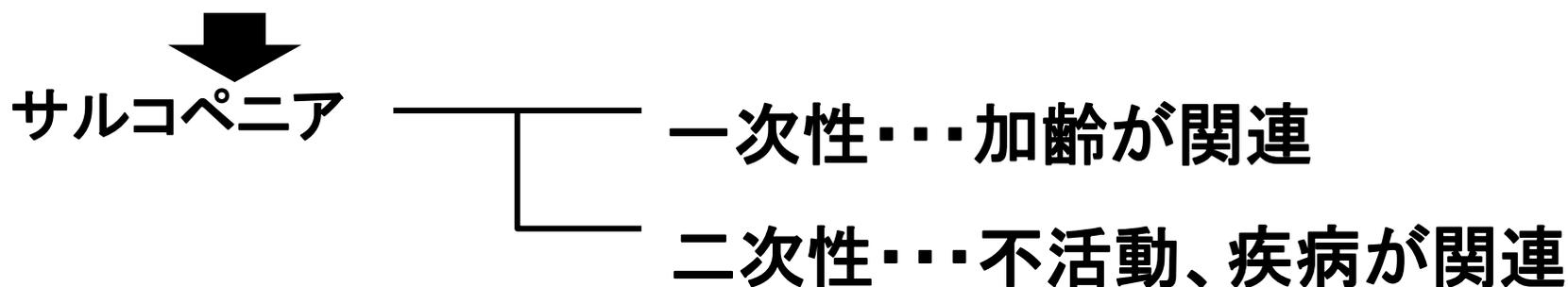
まさかBCR-AbI阻害剤が 筋萎縮を抑制するなんて！

静岡県立大学 食品栄養科学部
教授 三浦 進司

2023年10月24日

骨格筋の萎縮

高齢化に伴う
骨格筋の萎縮(筋萎縮)が重大な社会問題となっている



廃用性筋萎縮

寝たきり
不活発な生活習慣
無重力状態



疾病、薬物の副作用など

1型糖尿病
悪性腫瘍
ステロイド
脂質異常症改善など



有効な予防・治療方法がない

骨格筋の萎縮

高齢化に伴う
骨格筋の萎縮(筋萎縮)が重大な社会問題となっている

↓
サルコペニア

一次性・・・加齢が関連

二次性・・・不活動、疾病が関連

廃用性筋萎縮

寝たきり
不活発な生活習慣
無重力状態



FOXO1

疾病、薬物の
副作用など

1型糖尿病
悪性腫瘍
ステロイド
脂質異常症改善など



筋萎縮を引き起こす転写因子FOXO1

FOXO1発現が増加すると筋萎縮が生じる



Y. Kamei, S. Miura, M. Suzuki et al. JBC(2004)

- ・FOXO-KOマウスを後肢懸垂すると筋重量低下が抑制される
L. Brocca et al. J. Physiol. (2017)
- ・FOXOの活性低下が悪液質時の筋萎縮を抑制する
S.A. Seed et al. FASEB. J. (2012)

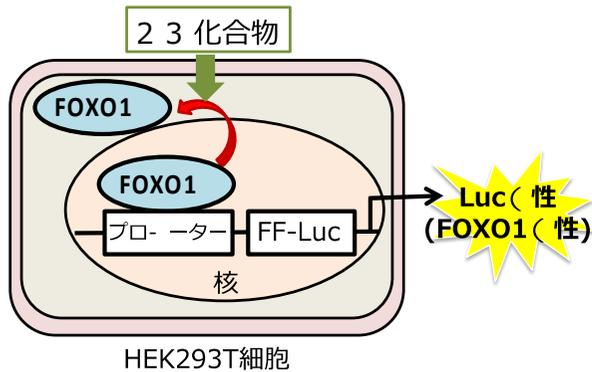
FOXO1の抑制が筋萎縮抑制につながる

FOXO1阻害物質の探索

第一段階

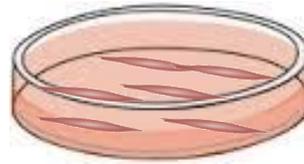


化合物ライブラリー

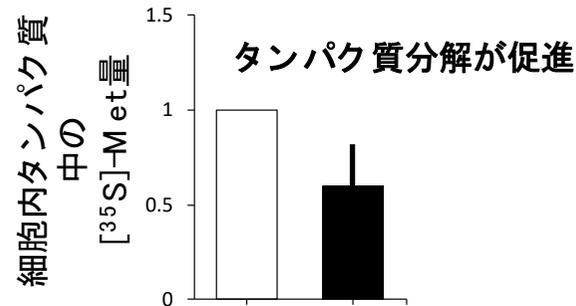


レポーター遺伝子アッセイによる簡易スクリーニング

第二段階



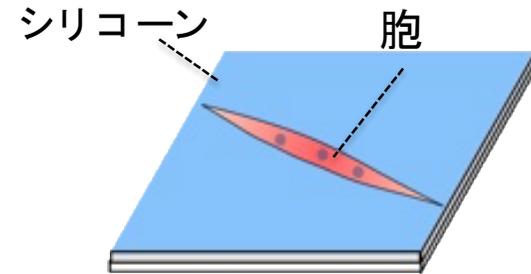
筋萎縮モデル筋管細胞



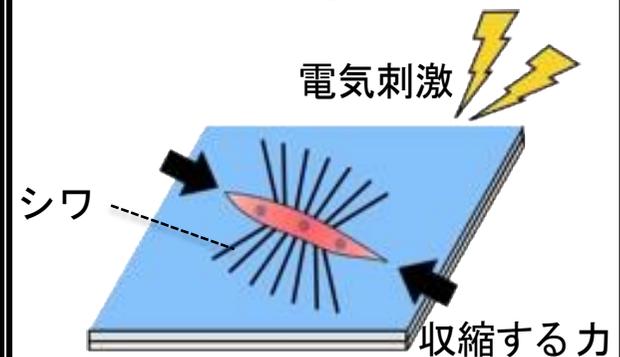
C2C12 培養骨格筋細胞による筋萎縮抑制評価

第三段階

筋サテライト細胞由来骨格筋細胞



収縮 ↓ ↑ 弛緩



筋サテライト細胞由来骨格筋細胞を用いた筋収縮力改善評価

第一段階スクリーニング

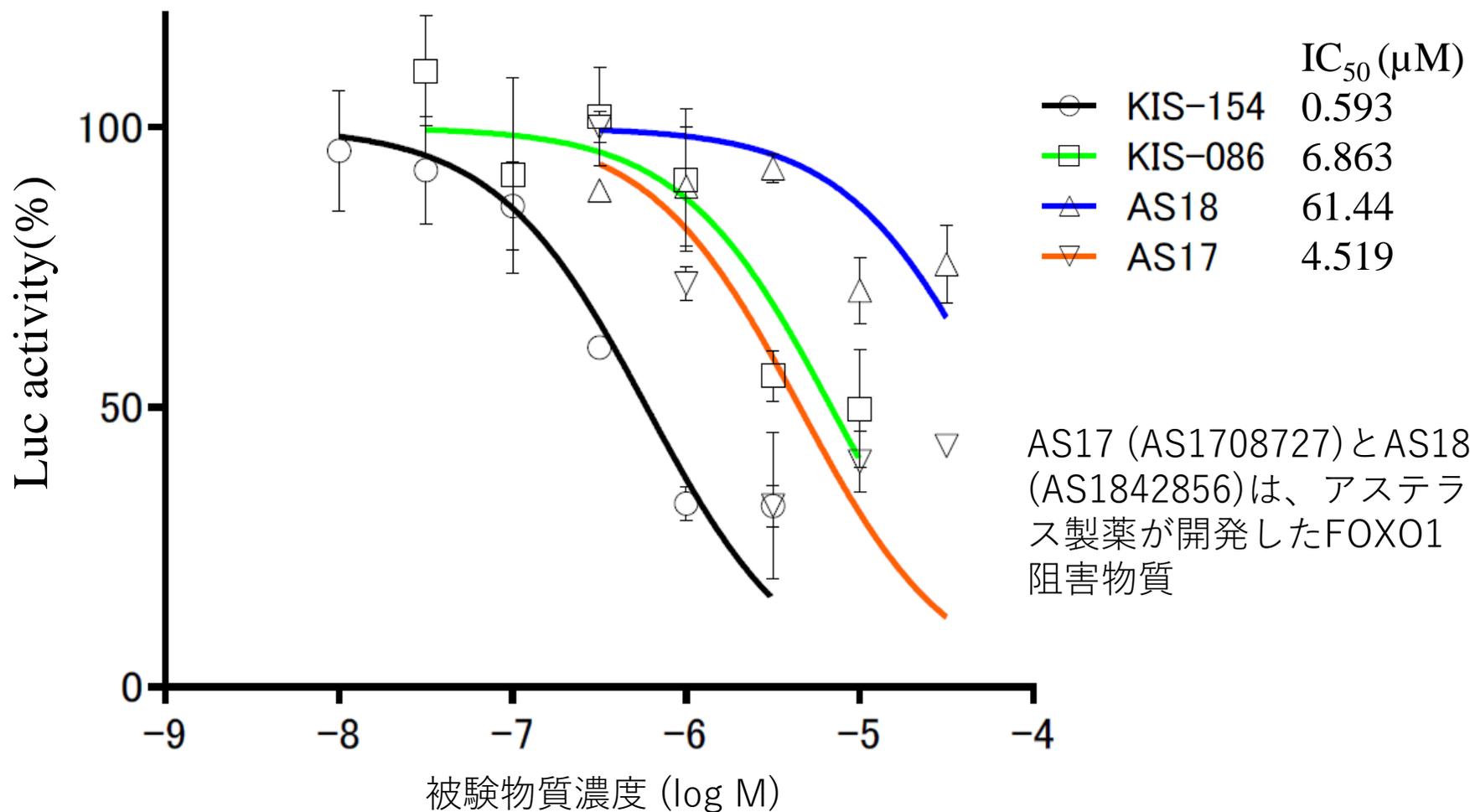
Protein Kinase Inhibitor
Screening (KIS) library



FOXO1評価系

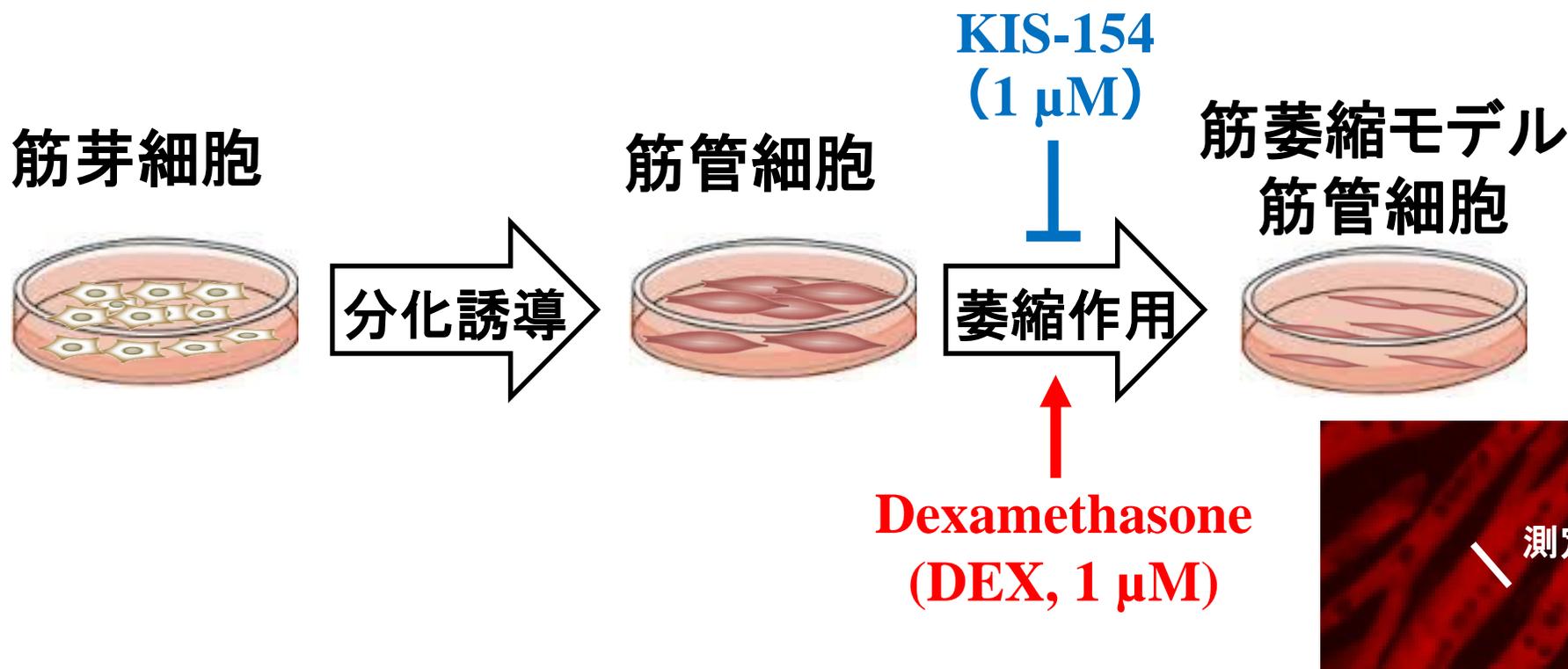
KIS-154

既存のFOXO1阻害化合物との比較

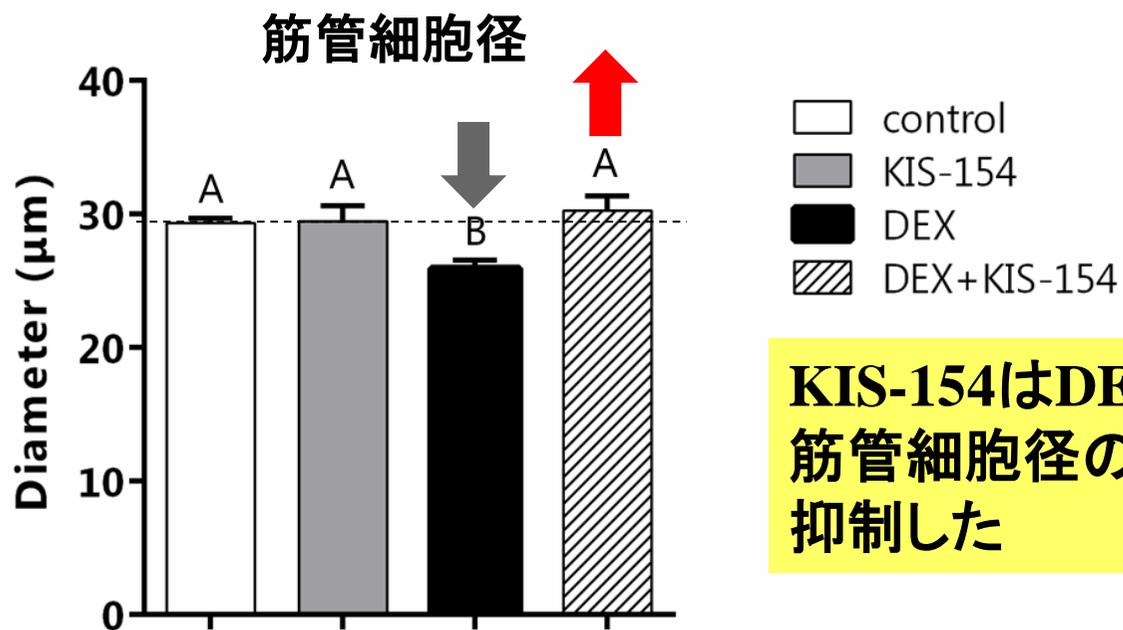
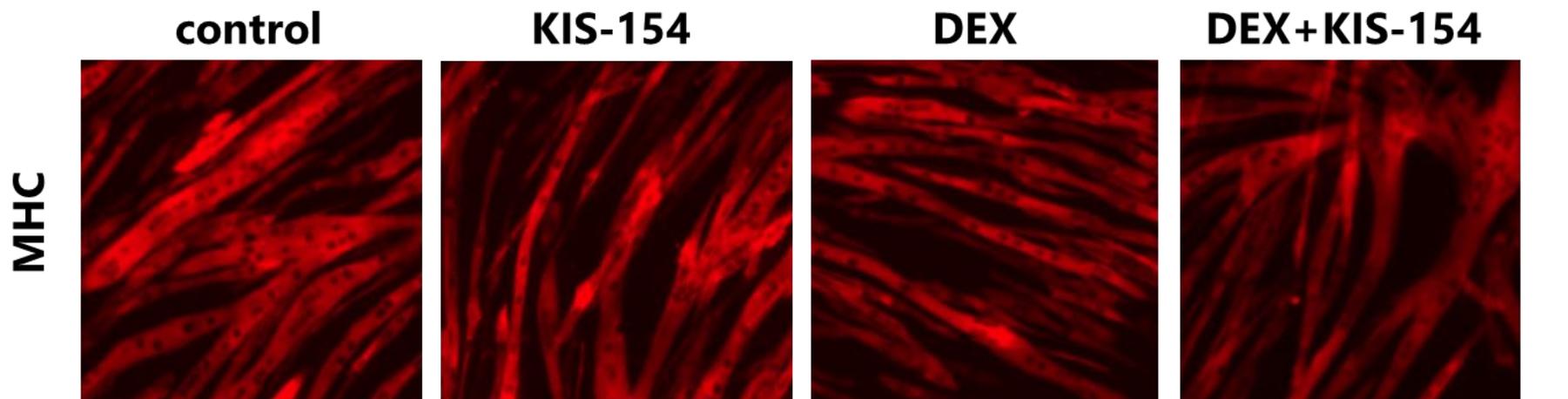


第二段階スクリーニング

マウス骨格筋由来C2C12細胞



第二段階スクリーニング



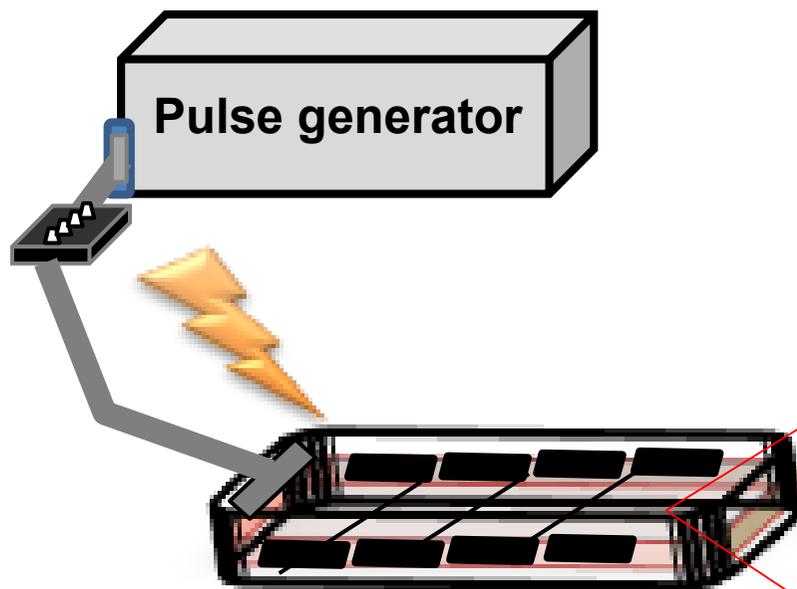
KIS-154はDEXによる
筋管細胞径の減少を
抑制した

Mean ± SE. 異符号間で有意差あり

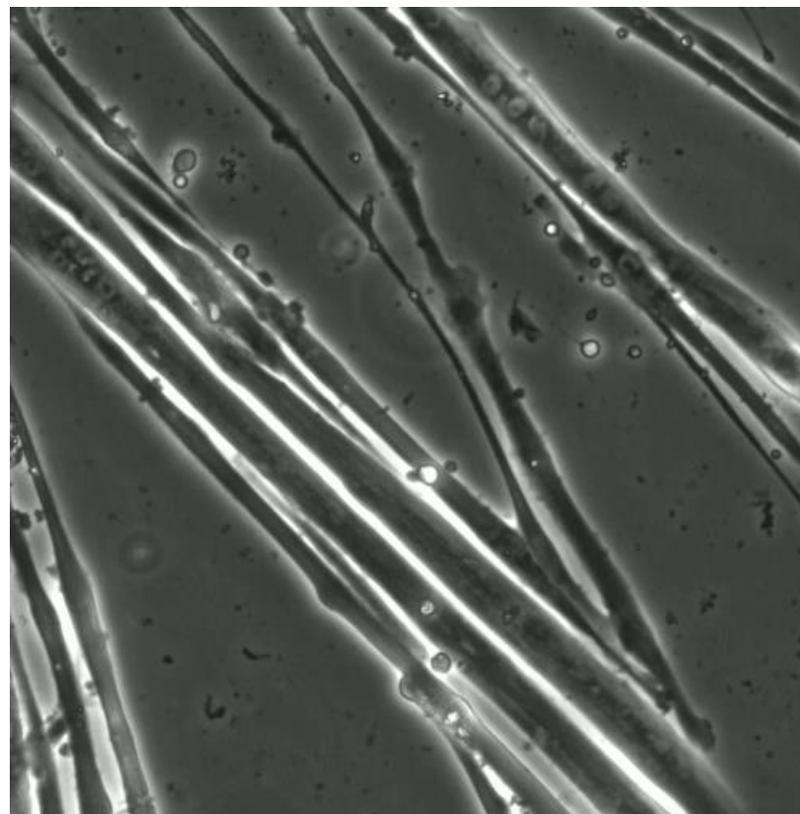
第三段階スクリーニング

マウス初代培養骨格筋細胞

電気刺激を与えると・・・



Manabe. Y, et al., PLoS One. 2012

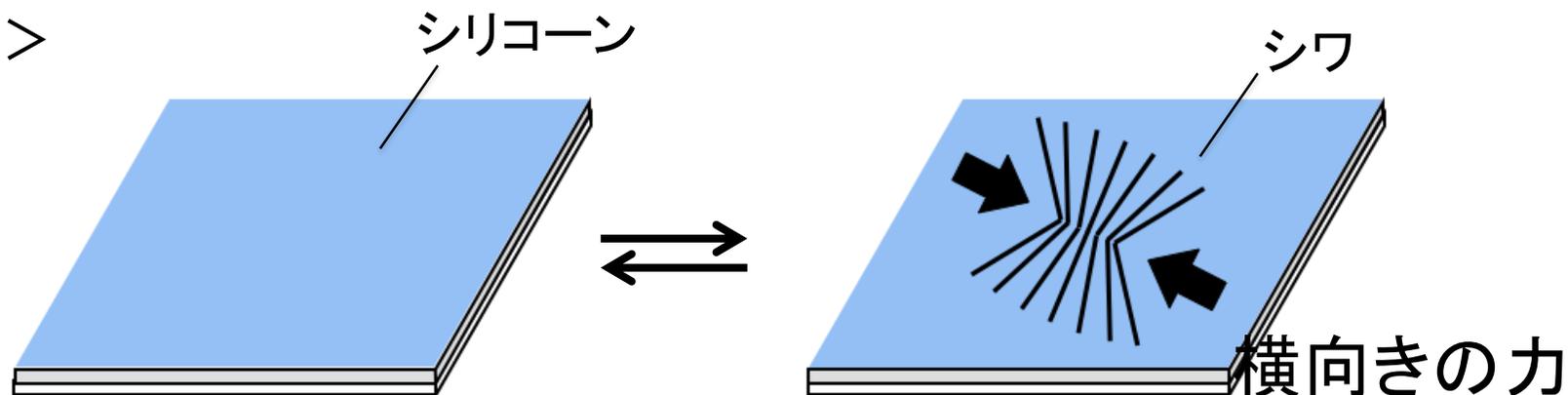


電氣的に収縮する力を発揮させることができる

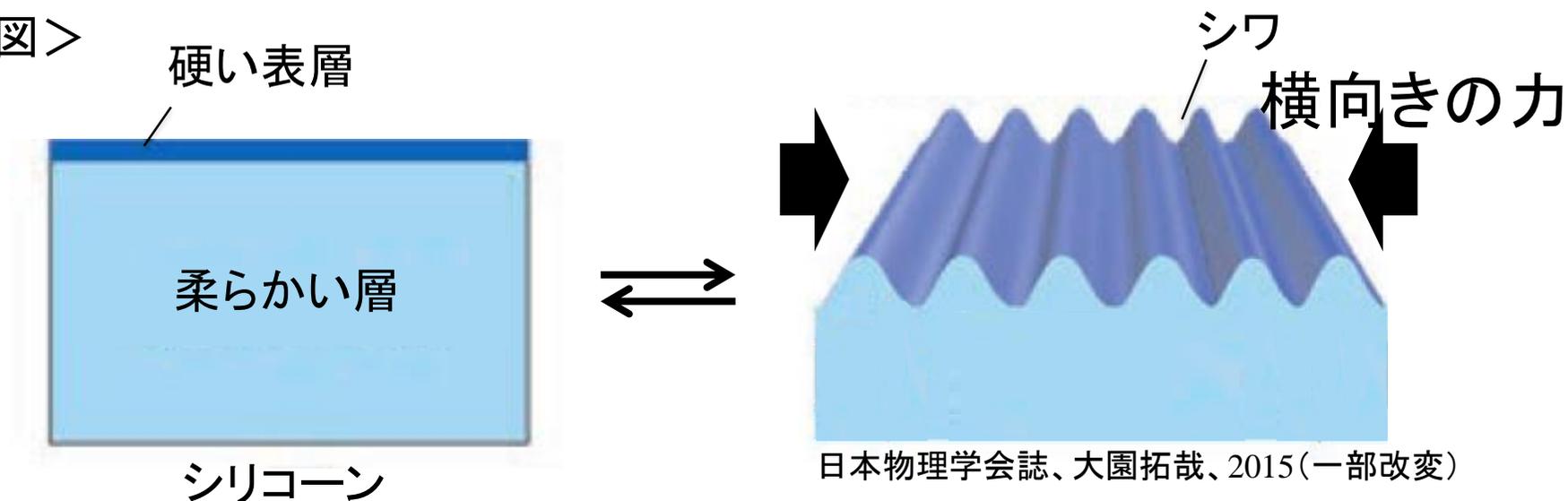
第三段階スクリーニング

骨格筋細胞の収縮力をシワの長さとして評価

<上面図>



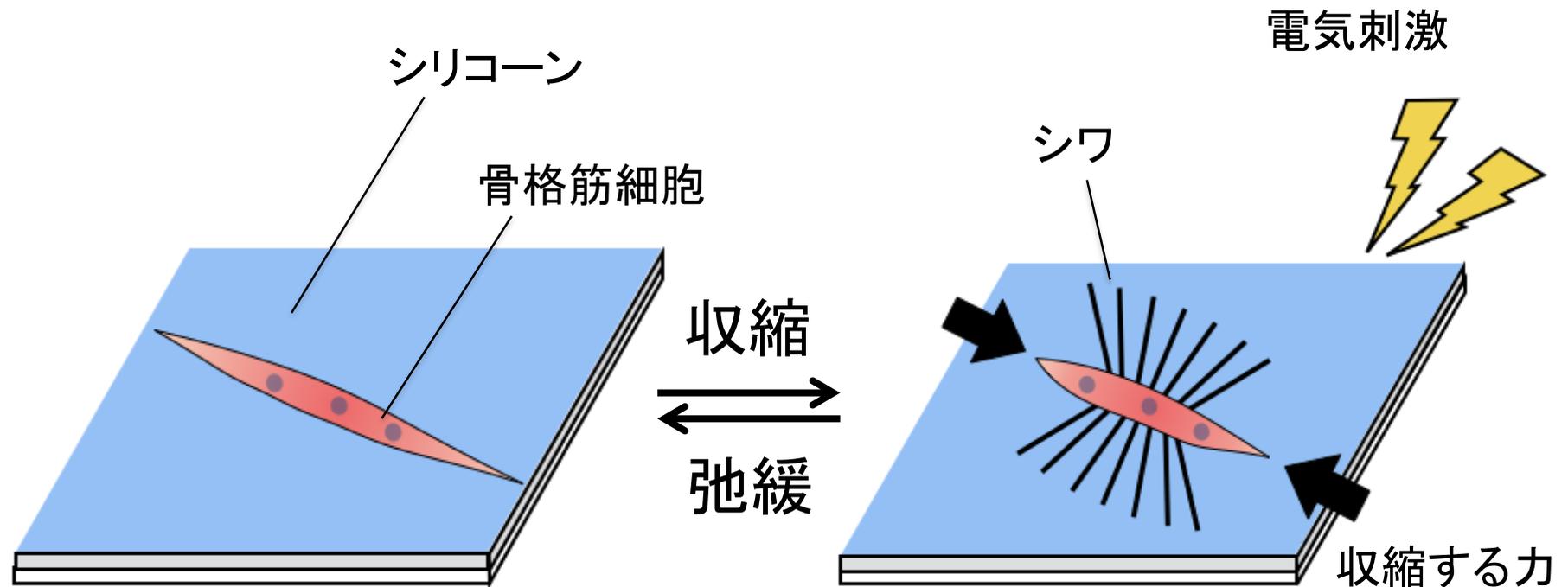
<側面図>



日本物理学会誌、大園拓哉、2015(一部改変)

第三段階スクリーニング

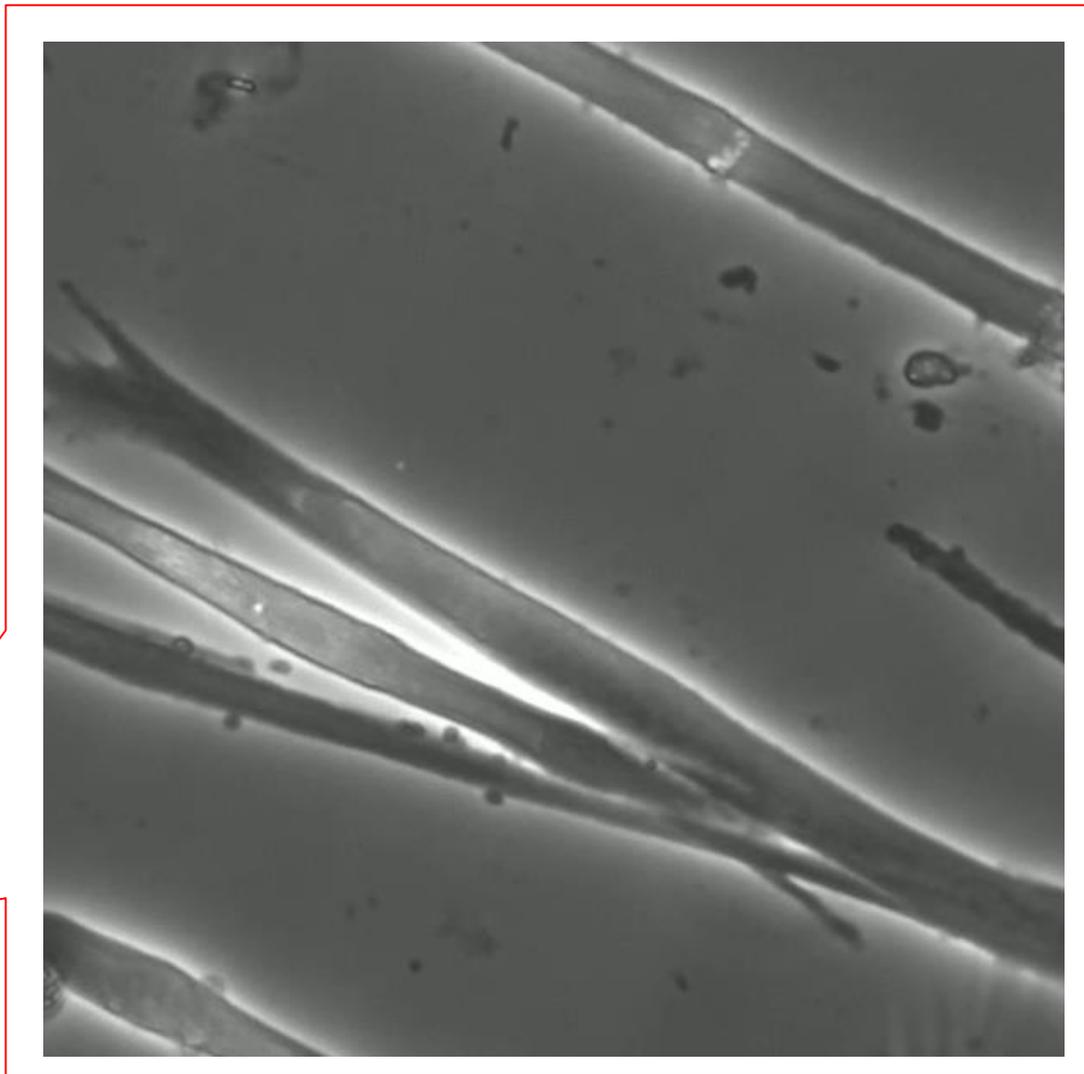
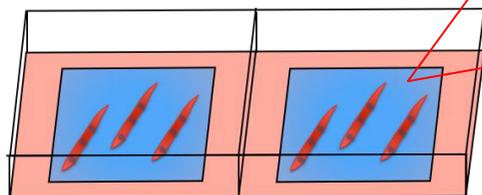
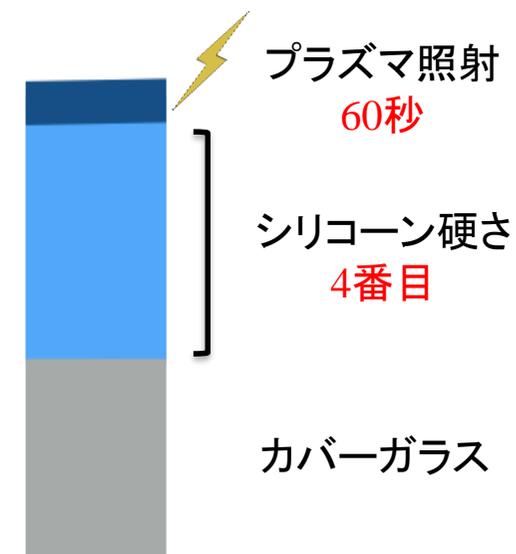
骨格筋細胞の収縮力をシワの長さとして評価



筋細胞の収縮力をシワの長さで評価できないか？

第三段階スクリーニング

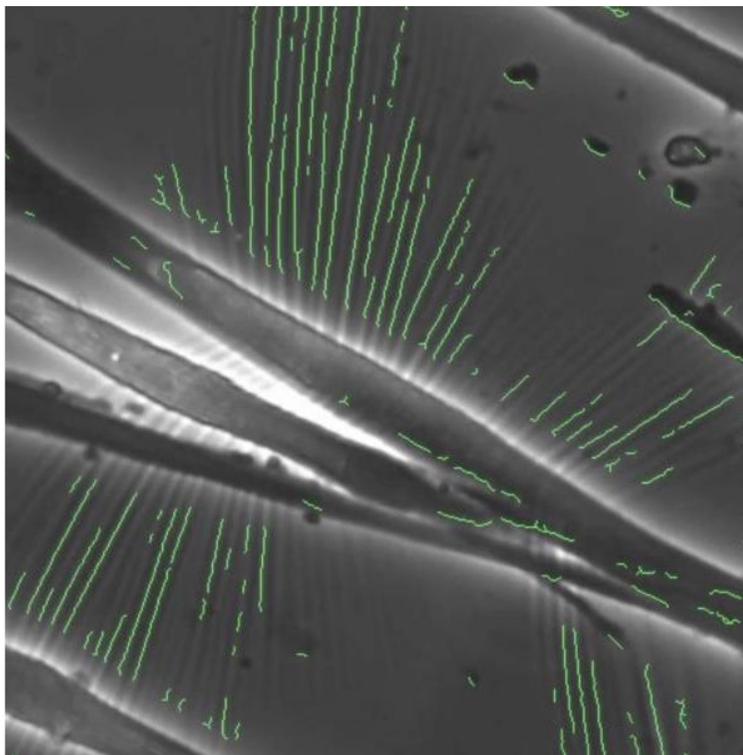
骨格筋細胞の収縮力をシワの長さとして評価



第三段階スクリーニング

骨格筋細胞の収縮力をシワの長さとして評価

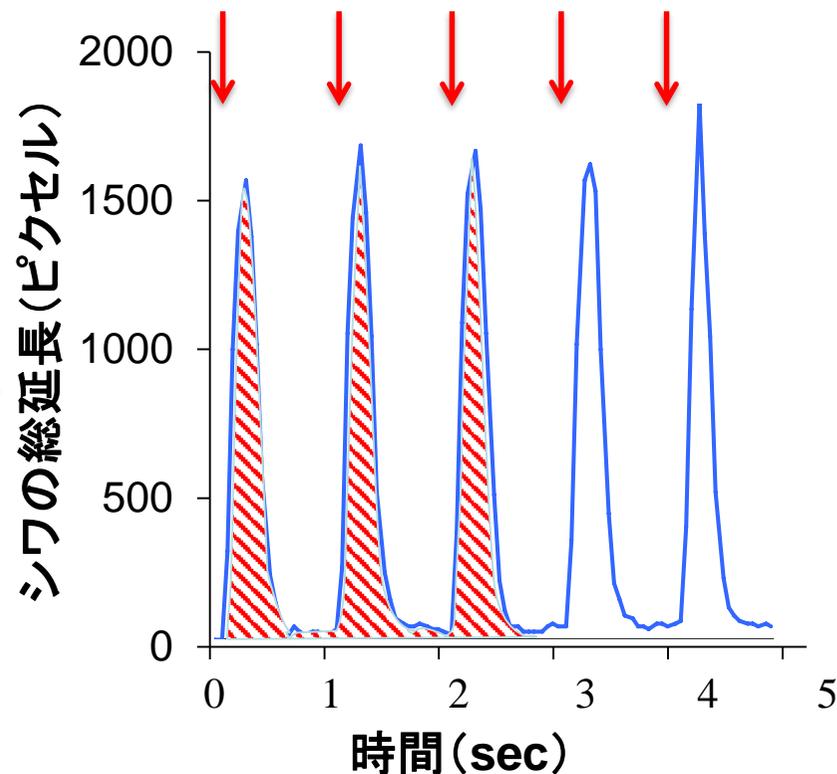
シワ抽出動画



— : 抽出したシワ



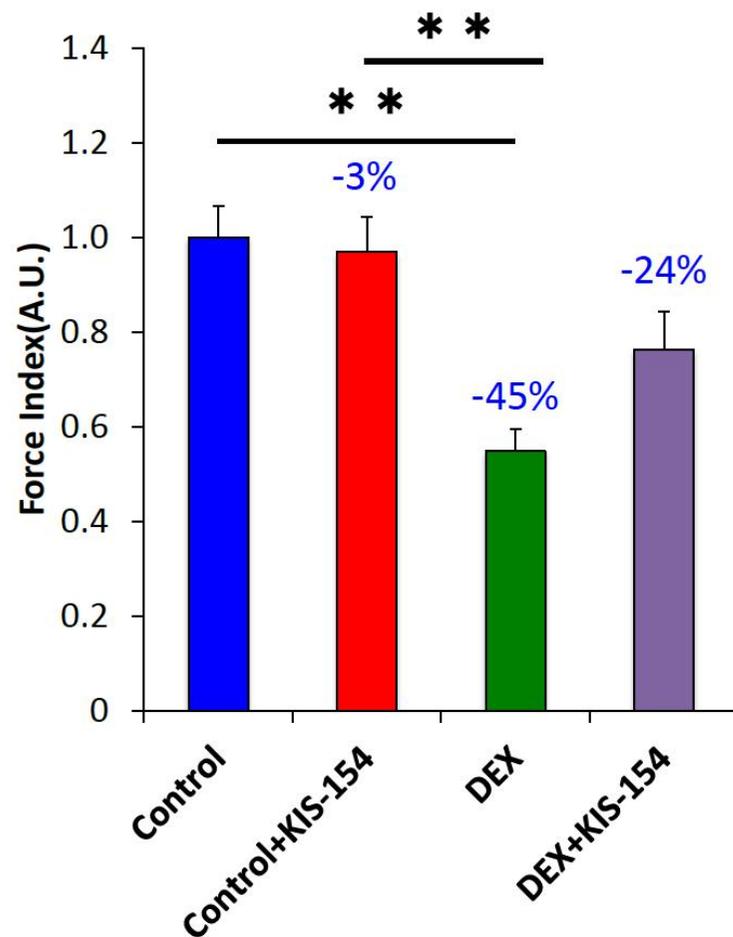
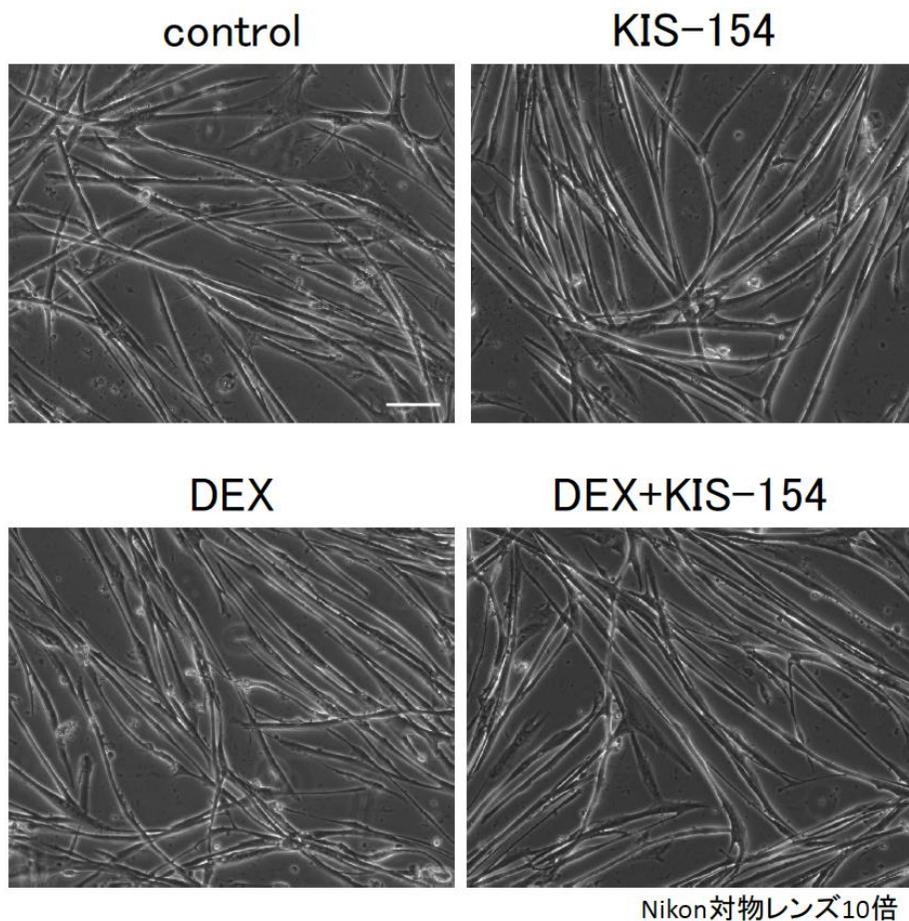
シワの
計測



▨ : Force index

第三段階スクリーニング

DEX誘発性筋萎縮へのKIS154の効果

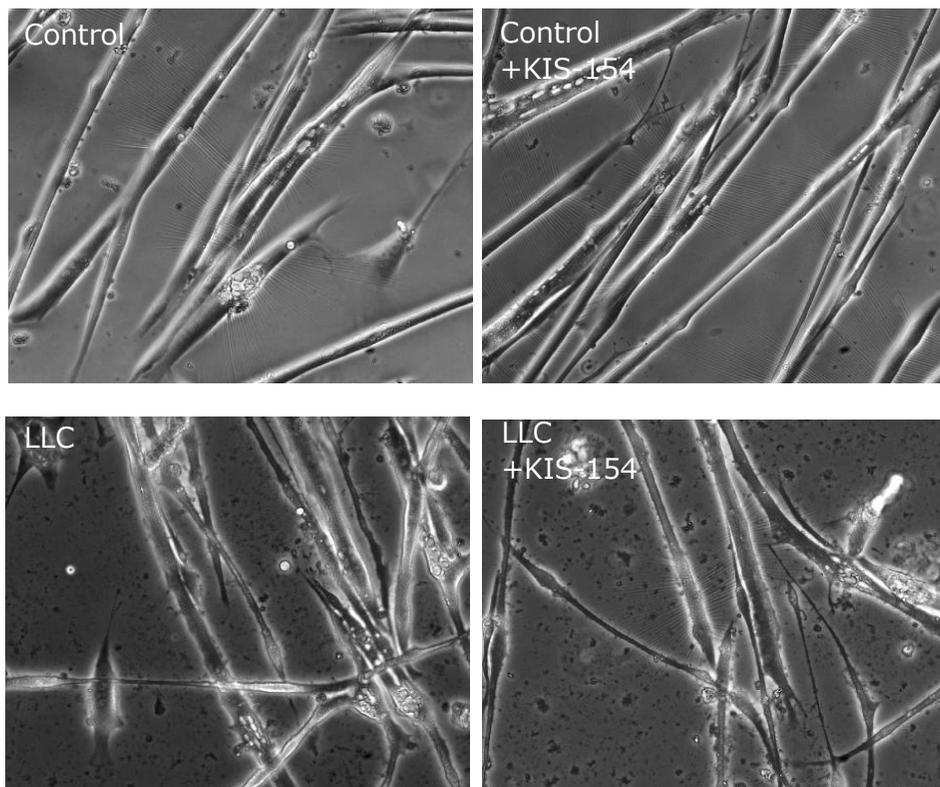


One-way Anova(Bonferroni)
n=5-6(基板)

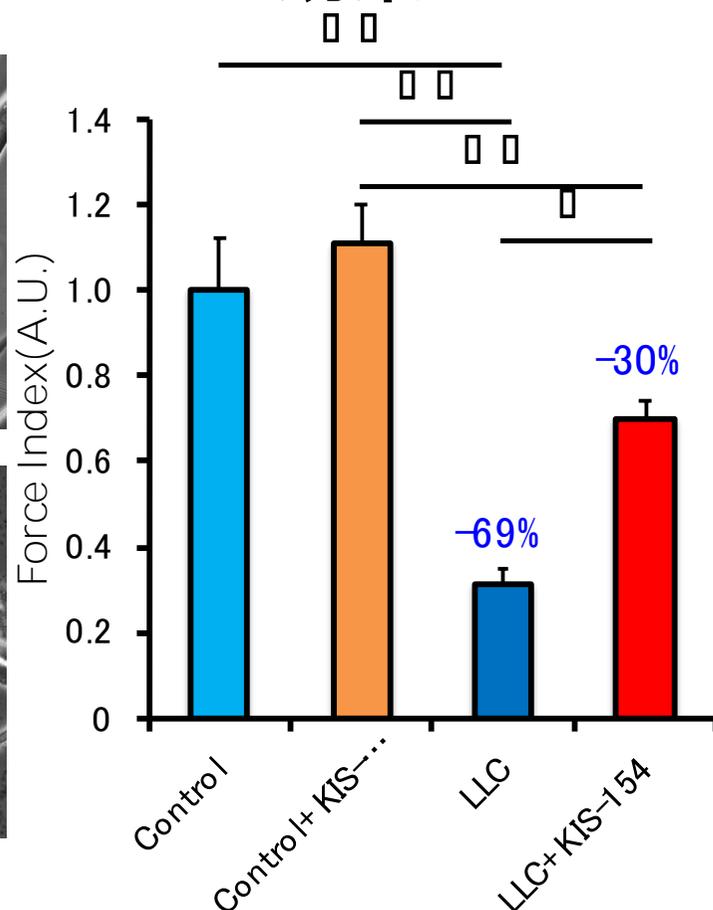
- DexはControl, Control+KIS条件に対して筋萎縮が認められた。
- DEX+KISはControl, Control+KIS条件に対して筋萎縮は認めらず、筋萎縮を予防する傾向がみられた。
- KIS-154は骨格筋細胞の筋萎縮による収縮時の筋張力の低下を予防する効果を持つことが確認された。

第三段階スクリーニング

悪液質モデルへのKIS154の効果



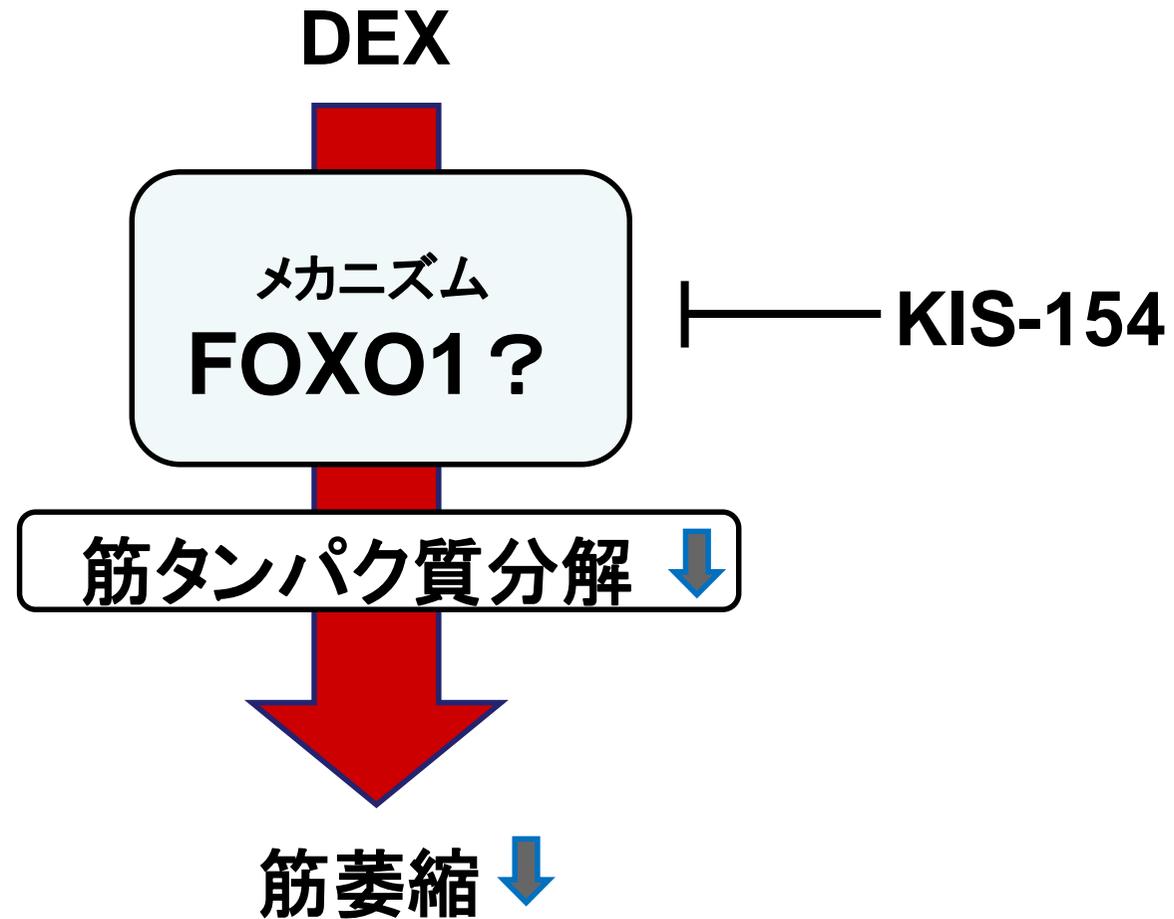
Nikon対物レンズ20倍



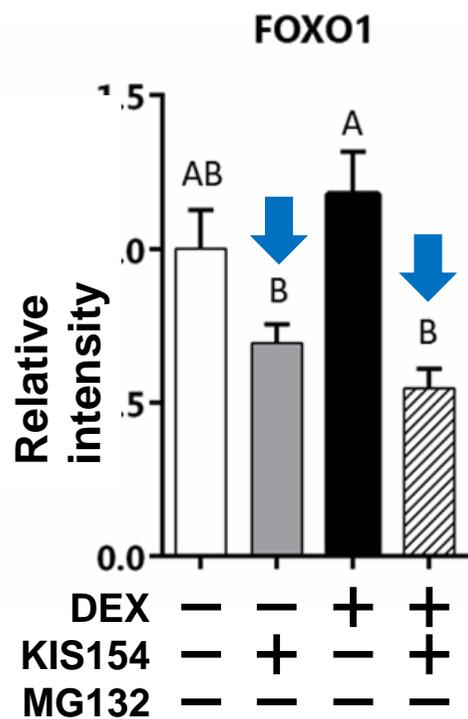
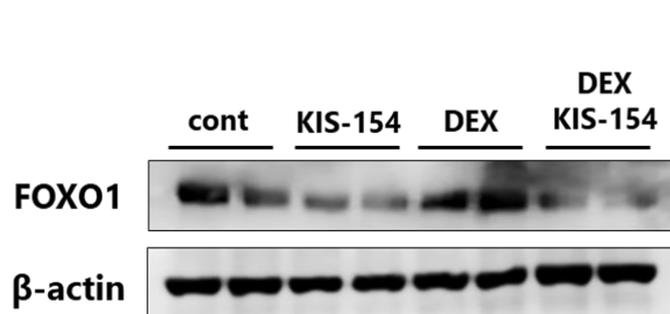
One-way Anova(Bonferroni)
n=8 (基板), * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$

- LLCはControl, Control+KIS条件に対して筋萎縮が認められた。
- LLC+KISはControl+KIS条件に対して筋萎縮が認められたが、LLCと比べて筋萎縮を予防する効果が有意に認められた。
- KISを48時間添加すると、細胞の密度に大きな変化はなかった。また、48時間萎縮の誘導後にKISを添加しても、細胞の形状は萎縮の様相を示したが、LLCに比べてKISを添加すると実験時の収縮の動きが大きくなることを観察した。

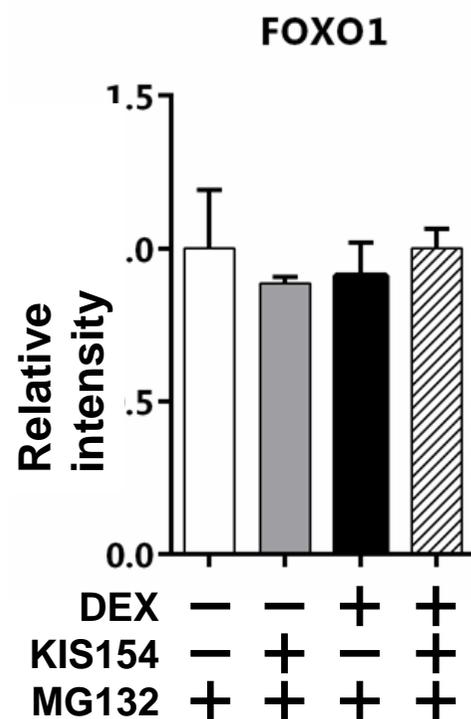
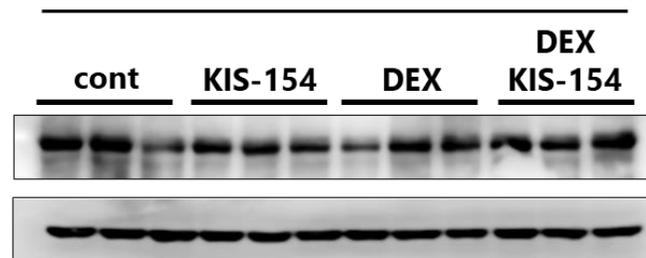
KIS154の作用機序



KIS154の作用機序



MG132 : プロテアソーム阻害剤



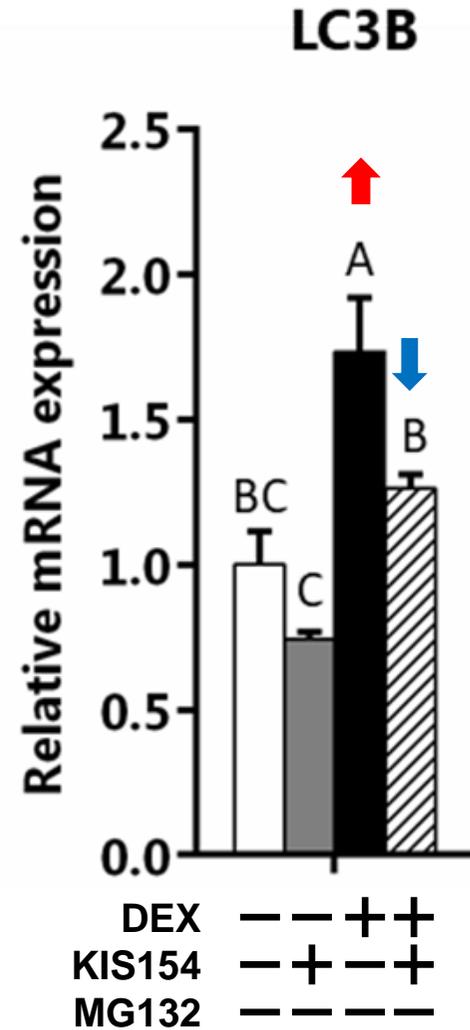
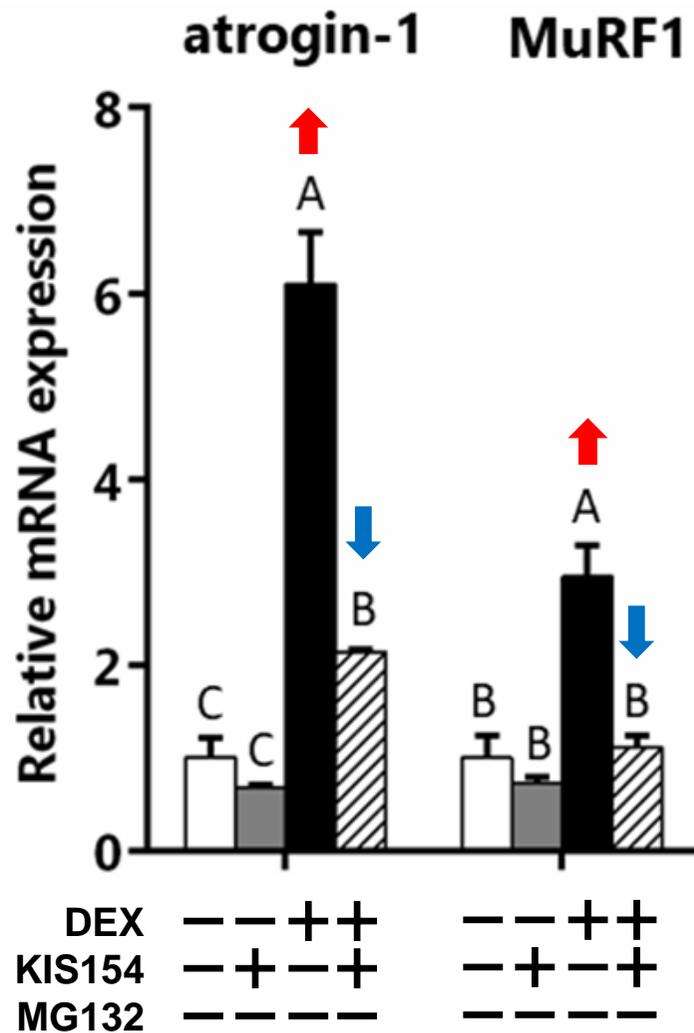
KIS154はプロテアソーム系を介してFOXO1タンパク質の分解を促進した

Mean \pm SE. 異符号間で有意差あり

KIS154の作用機序

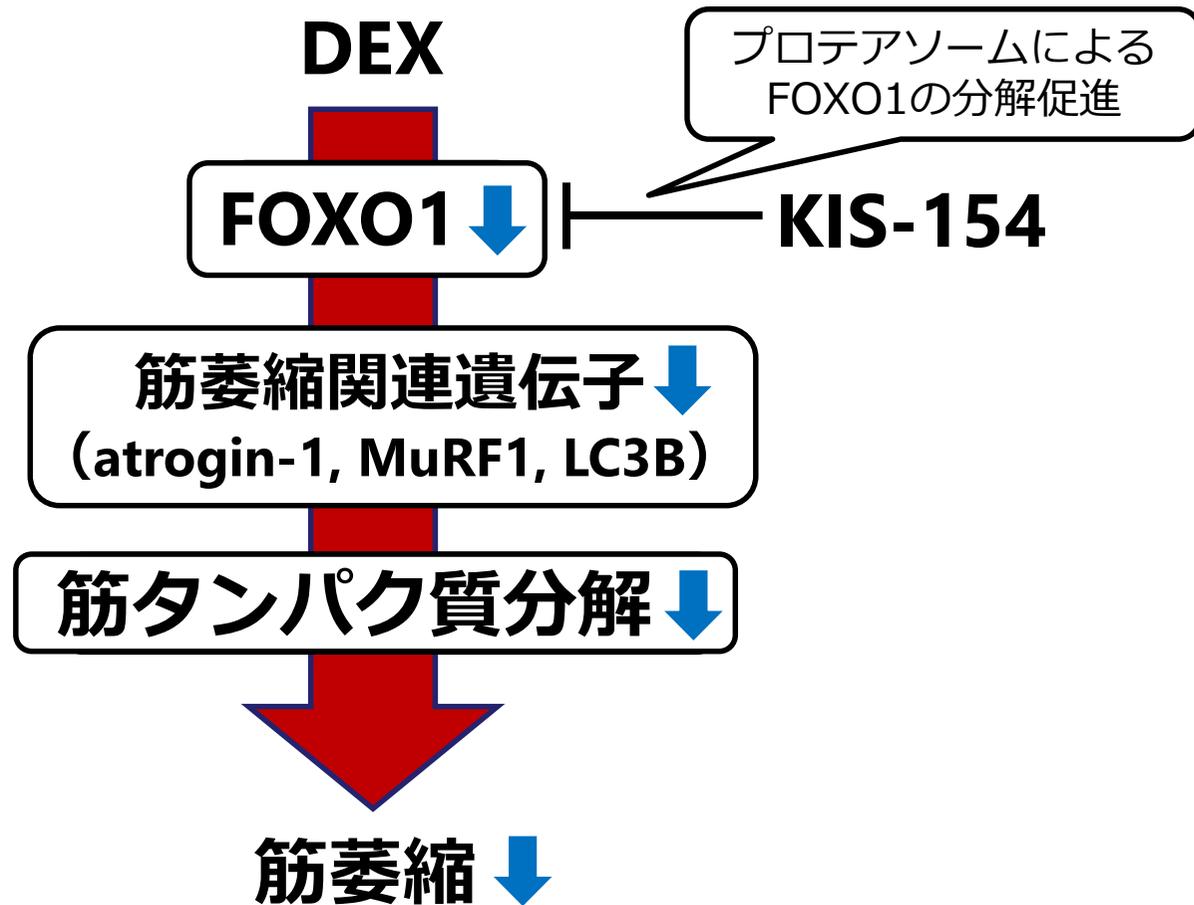
ユビキチン化酵素

オートファジー促進



Mean ± SE. 異符号間で有意差あり

KIS154の作用機序



新技術の特徴・従来技術との比較

- 筋萎縮を引き起こすFOXO1の活性を抑制する低分子化合物KIS-154を発見した。
- KIS-154は培養骨格筋細胞の萎縮や収縮力低下を改善する効果を示した。
- KIS-154はプロテアソーム系を介してFOXO1タンパク質の分解を促進した。
- 低分子化合物の投与が筋萎縮の予防や治療に有効である可能性を示すことができた。

想定される用途

- KIS-154は臨床開発中の抗がん剤（BCR-AbI阻害剤）であることから、筋萎縮の**治療薬**としての用途が考えられる。
- すでに第一相試験を終了しており、ヒトへの投与経験がある。
- がん悪液質に伴う筋萎縮、薬物治療や疾患、長期間のベッドレストなどによる二次性筋萎縮の治療剤としての用途が考えられる。

実用化に向けた課題

- 筋萎縮モデルマウスでの有効性の確認。
- 投与方法・投与量の最適化。
- 物質特許の取り扱い。

企業への期待

- KIS-154を見出したスクリーニング方法を用いて、別の有用物質を見出している。
- 筋萎縮の予防や治療に注力している、企業との共同研究を希望。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称：
FOXO1阻害剤及び筋萎縮の抑制・改善用組成物
- 出願番号：特願2023-023269
- 出願人：静岡県公立大学法人、京都府公立大学法人、
東京都公立大学法人、国立大学法人大阪大学
- 発明者：三浦進司、守田昭仁、浅井章良、亀井康富、
眞鍋康子、出口真次

お問い合わせ先

静岡県立大学

教育研究推進部 地域・産学連携推進室

TEL 054-264-5124

e-mail renkei@u-shizuoka-ken.ac.jp