

新規緑内障治療薬の開発に向けた

Rho キナーゼ阻害薬リパスジルの応用薬理

Applied Pharmacology of a Rho-kinase Inhibitor Ripasudil
for Development of a Novel Therapeutic Agent for Glaucoma

平成 29 年度 論文博士申請者 金児 佳生 (Kaneko, Yoshio)

指導教員 菱沼 滋

緑内障は、世界的に失明原因の上位を占める進行性眼疾患であり、「視神経と視野に特徴的変化を有し、通常、眼圧を十分に下降させることにより視神経障害を改善もしくは抑制しうる眼の機能的構造的異常を特徴とする疾患」¹⁾と定義される。エビデンスに基づいた唯一確実な緑内障治療は「眼圧下降」であり、薬物治療が第一選択である。¹⁾ 現在、緑内障治療薬として、多種類の薬剤及びそれらの配合剤が使用されているが、複数の薬剤併用においても目標眼圧までコントロールできないことが多く、新たな機序を有する眼圧下降薬の開発が期待されている。本研究では、Rho キナーゼ (ROCK: Rho-associated coiled-coil containing protein kinase) 阻害作用を有するリパスジル (開発名 K-115)^{2, 3)} の眼圧下降作用とその機序および緑内障治療における有用性について解析した。

(1) リパスジルの眼圧下降作用とその機序

リパスジルは、強力かつ選択的 ROCK 阻害作用を示し、ヒト ROCK-1 及び ROCK-2 に対する IC₅₀ 値は、それぞれ 0.051 μM 及び 0.019 μM であった。⁴⁾ ウサギ及びサルにおいて、リパスジルの

点眼により濃度依存的な眼圧下降作用が現れる⁴⁾とともに、このリパスジルの眼圧下降作用は、他の緑内障治療薬と比較して強力であった (Fig. 1A・1B)。⁵⁾ また、代表的な ROCK 阻害薬である Y-27632 やファスジルも、リパスジルと同様に強力な眼圧下降作用を示したことから、リパスジルの眼圧下降作用は、ROCK 阻害作用によることが示唆された (Fig. 1C)。⁵⁾

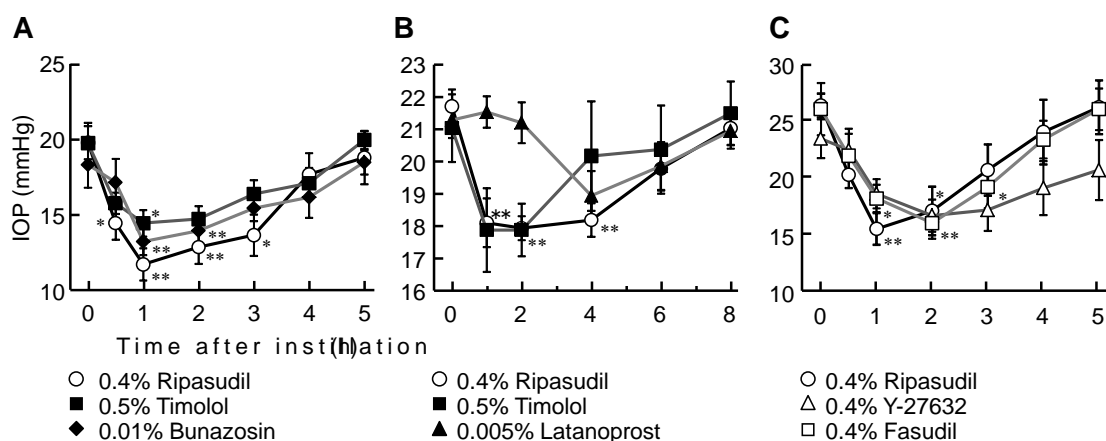


Fig. 1 リパスジルの白色ウサギ及びサルに対する眼圧下降作用

正常眼圧ウサギまたは正常眼圧サルの片眼に薬剤を単回点眼した際の眼圧 (Intraocular Pressure: IOP) の変化を示す。A. ウサギを用いた緑内障治療薬との比較。B. サルを用いた緑内障治療薬との比較。

C. ウサギを用いた他のROCK阻害薬との比較。

値はMean ± SE (n=5-9)。*P<0.05, **P<0.01 vs. 点眼前 (0時間) (Dunnett's test)。

そこで次に、房水動態に対するリパスジルの作用を解析した結果、リパスジルは、房水流出率の有意な増加作用を示したが、ぶどう膜

Table 1 リパスジルの房水動態に対する作用

	Outflow facility (C: $\mu\text{L}/\text{min}/\text{mmHg}$)	Uveoscleral Outflow (Fu: $\mu\text{L}/\text{min}$)	Aqueous Flow Rate (f(t): $\mu\text{L}/\text{min}$)
Vehicle	0.086 ± 0.021	0.134 ± 0.026	1.54 ± 0.23
Ripasudil	$0.193 \pm 0.038^*$	0.155 ± 0.023	1.88 ± 0.35

正常眼圧白色ウサギを用い、房水流出率 (C) はtwo-level constant pressure法、ぶどう膜強膜流量 (Fu) はFITC-dextran灌流法、房水産生量 (f(t)) はフルオロフォトメリー法で得られた結果を示す。

値はMean ± SE (n=6)。*P<0.05 vs. vehicle (Student's t-test)。

強膜流量並びに

房水産生量に対

して有意な変化

は示さなかった

(Table 1)。^{4, 5)}

以上の結果から、リパスジルの眼圧下降作用には、主流出路からの房水流出促進作用が関与していることが強く示唆された。

リパスジルによる主流出路からの房水流出増加の機序をさらに明らかにするため、主流出路を構成する線維柱帯細胞およびシユレ

ム管内皮細胞をサルより単離して解析した。その結果、まず、リパスジルは、単離サル線維柱帯細胞に対して **retraction** や **rounding** といった細胞骨格の変化を誘発すること、この細胞形態の変化には **F-actin** の脱重合が強く関与することが明らかとなった。⁵⁾ 同様の変化は他の **ROCK** 阻害薬においても認められたことから、この細胞形態の変化には、**ROCK** 阻害作用が関与すると考えられた。⁵⁾ 次に、サル・シュレム管内皮細胞単層培養系を用い、内皮細胞透過性に対するリパスジルの作用を解析した。その結果、リパスジルは、シュレム管内皮細胞の膜電気抵抗値を低下させ、**FITC-dextran** の内皮細胞透過性を亢進させることが明らかとなった (Fig. 2)。⁵⁾

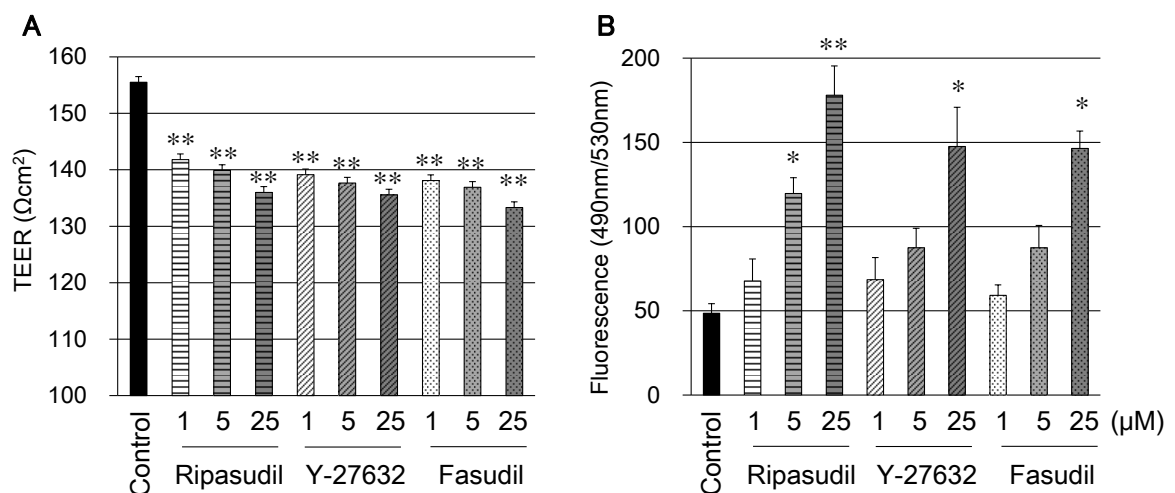


Fig. 2 リパスジルのシュレム管内皮細胞透過性に対する影響

サル・シュレム管内皮細胞にリパスジルを60分間作用させた際の(A)膜電気抵抗値(Transendothelial Electron Resistance: TEER)および(B)FITC-dextranの透過性(Fluorescence)の変化を示す。

値はMean ± SE(n=6)。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs. control (Dunnett's test)。

さらに、サル・シュレム管内皮細胞間接着に対するリパスジルの作用を解析した結果、**adherence junction** に関与する β -catenin や **pan-cadherin** の分布には変化が認められなかったが、**tight junction** に関与する **ZO-1** の消失が認められた。⁵⁾ 以上の結果から、リパスジルは、**ROCK** 阻害作用を介して、線維柱帯細胞における細胞骨格の変化ならびにシュレム管内皮細胞における **tight junction**

の減弱をもたらし、その結果、主流出路における房水流出抵抗を減少させて眼圧下降作用を発揮していることが示唆された。

緑内障の線維柱帯-シュレム管組織では、線維柱帯細胞の構造変化や細胞外マトリックスの増加、細胞同士の収縮・凝集により線維柱帯が閉塞した結果、房水の流出抵抗が増加して眼圧上昇が引き起こされると報告されていることから、⁶⁾ リパスジルは、緑内障においてより強い効果を発揮する可能性が推定された。

(2) 緑内障治療におけるリパスジルの有用性

これまで緑内障治療には、房水産生抑制作用やぶどう膜強膜を介した房水流出促進作用をもつ薬物が用いられてきたが、ここに線維柱帯流出促進作用をもつリパスジルが加わることによって、房水動態に関わる全ての作用部位をコントロールできるようになると考えられる (Fig. 3)。⁷⁾ 従って、これらの異なる眼圧下降機序をも

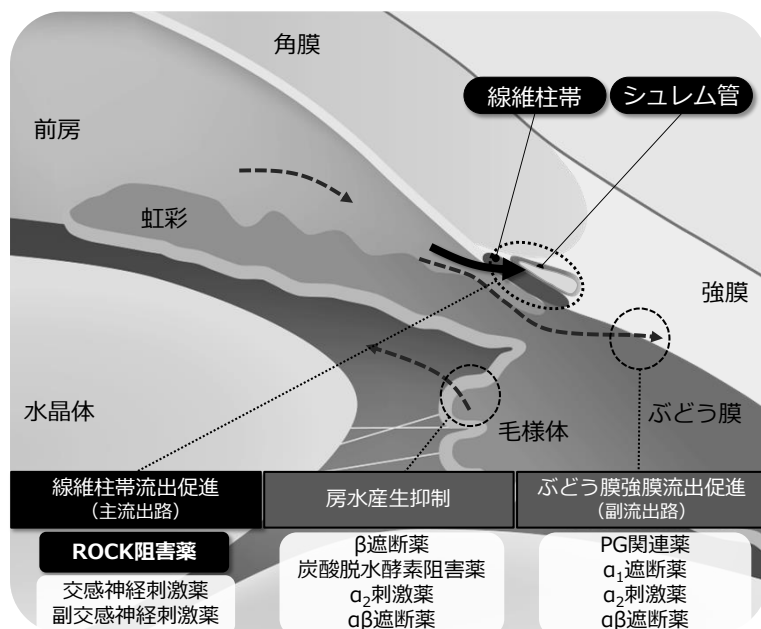


Fig. 3 緑内障治療薬の作用機序

つ薬物を併用することで、より強力な眼圧下降作用が期待できると考えられることから、既存の緑内障治療薬とリパスジルとの併用による眼圧下降作用を解析した。

その結果、正常眼圧白色ウサギにおいて、リパスジルと既存の眼圧下降薬 (β受容体遮断薬チモロール、α₂受容体作動薬ブリモニジン、炭酸脱水酵素阻害薬布林ゾラミド) との2剤併用点眼により、

それぞれの単剤点眼に比べて眼圧下降幅の増加もしくは作用持続時間の延長が認められた (Fig. 4A)。⁸⁾ また、正常眼圧サルにおいて、リパスジルと $\text{PGF}_2\alpha$ 誘導体ラタノプロスト、リパスジルとラタノプロスト・チモロール配合剤、リパスジルとチモロール・炭酸脱水酵素阻害薬ドルゾラミド配合剤の併用点眼により、眼圧下降幅の増加もしくは作用持続時間の延長が認められた (Fig. 4B)。⁸⁾

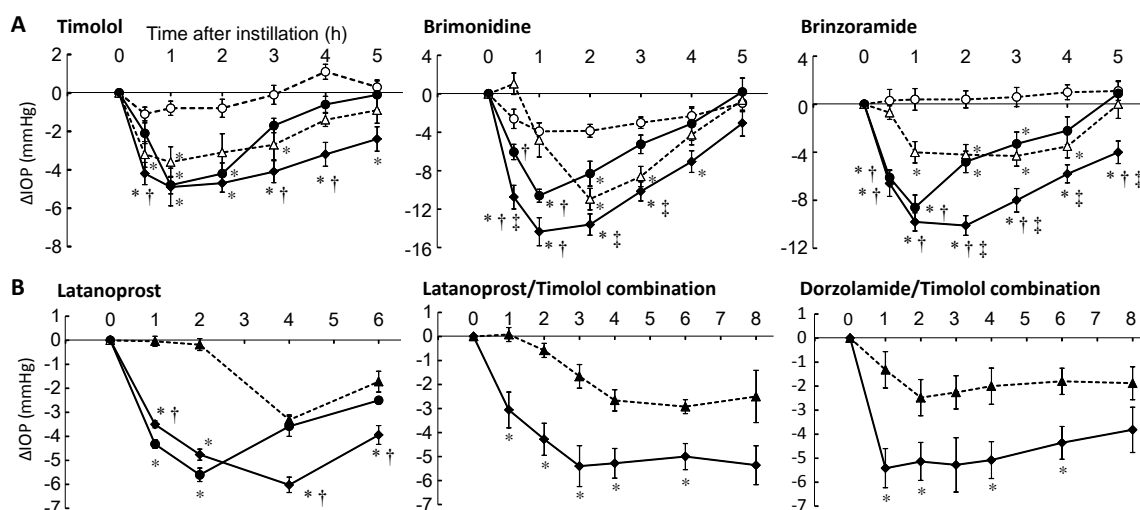


Fig. 4 リパスジルと緑内障治療薬の併用効果

A. 正常眼圧白色ウサギに0.4% リパスジルおよび、0.5% チモロール、0.1% プリモニジン又は0.1% プリンゾラミドを片眼に5分間隔で併用点眼した際の点眼前(0時間)の眼圧からの眼圧変化量(ΔIOP)を示す。○は基剤、●はリパスジル、△はチモロール、プリモニジン又はプリンゾラミド、◆は併用を示す。値はMean ± SE (n=9-10)。*は基剤と比較して、†はチモロール、プリモニジン又はプリンゾラミドと比較して、‡はリパスジルと比較してTukey検定において有意差(P<0.05)が認められたことを示す。

B. 正常眼圧サルに、0.4% リパスジルおよび、0.005% ラタノプロスト、0.005% ラタノプロスト/0.5% チモロール配合剤又は0.1% ドルゾラミド/0.5% チモロール配合剤を片眼に5分間隔で併用点眼した際のΔIOPを示す。●はリパスジル、▲はラタノプロスト、ラタノプロスト/チモロール配合剤又はドルゾラミド/チモロール配合剤、◆は併用を示す。値はMean ± SE (n=4-5)。*はラタノプロスト、ラタノプロスト/チモロール配合剤又はドルゾラミド/チモロール配合剤単独投与と比較して、†はリパスジルと比較してStudent's t検定(2群の比較)又はTukey検定(3群の比較)において有意差(P<0.05)が認められたことを示す。

さらに、リパスジルの第三相臨床試験において、チモロールあるいはラタノプロストとリパスジルとの併用により、高眼圧患者における眼圧下降作用の増強および作用持続時間の延長が認められたことから、⁹⁾ リパスジルは、種々の緑内障治療薬との併用によって、より有効な臨床効果をもたらすものと期待される。

(3) 結語

本研究によって、ROCK 阻害薬リパスジルの眼圧下降作用とその機序および緑内障治療における有用性が明らかとなった。2014 年

9月、リパスジルは、世界初の ROCK 阻害作用による緑内障治療薬（グラナテック®点眼液）として承認され、他の緑内障治療薬が効果不十分または使用できない場合の緑内障・高眼圧症に対する治療薬として使用されている。即ち、新規作用機序を有するリパスジルは、既存の緑内障治療薬では十分な眼圧下降が得られない患者のみならず、副作用や禁忌等の制約によって薬物選択に制限がかかる患者においても、新たな治療選択肢を提供するものである。

参考文献

1. 緑内障診療ガイドライン（第3版），日眼会誌，**116**, 3-46 (2012).
2. Gomi N., Ohgiya T., Shibuya K., Katsuyama J., Masumoto M., Sakai H., *Heterocycles*, **83**, 1171-1181 (2011).
3. Gomi N., Kouketsu A., Ohgiya T., Shibuya K., *Synthesis*, **44**, 3171-3178 (2012).
4. Isobe T., Mizuno K., Kaneko Y., Ohta M., Koide T., Tanabe S., *Curr. Eye Res.*, **39**, 813-822 (2014).
5. Kaneko Y., Ohta M., Inoue T., Mizuno K., Isobe T., Tanabe S., Tanihara H., *Sci. Rep.*, **6**, 19640 (2016).
6. Inoue T., Tanihara H., *Prog. Retin. Eye Res.*, **37**, 1-12 (2013).
7. 金児佳生, *Med. Sci. Digest*, **42**, 272-275 (2016).
8. Kaneko Y., Ohta M., Isobe T., Nakamura Y., Mizuno K., *J. Ophthalmol.*, 7079645 (2017).
9. Tanihara H., Inoue T., Yamamoto T., Kuwayama Y., Abe H., Suganami H., Araie M., *JAMA Ophthalmol.*, **133**, 755-761 (2015).