

研究要旨

ライソゾーム病脳病態に有効性を示す新規治療法ケミカルシャペロン療法について、我々は、GM1-ガングリオシドーシスに対する開発研究を行ってきた。この療法の臨床応用のため、患者会の情報、GLB1 遺伝子変異情報および診断マーカー開発や遺伝子治療法などの新規療法に関する動向について、調査研究を行った。

A．研究目的

ケミカルシャペロン（または薬理学シャペロン）療法とは、酵素安定化活性を持つ低分子シャペロン化合物を用い、患者細胞内で変異酵素蛋白質を安定化することで酵素活性を復元し、効果を発揮する方法である。また、低分子物質であるシャペロン化合物は、経口投与が可能で、脳への効果も期待される。我々はこれまで、-ガラクトシダーゼをコードする *GLB1* 遺伝子変異により引き起こされる GM1-ガングリオシドーシスを対象とし、脳病態に有効性を示すシャペロン化合物の開発を行ってきた。本課題では、シャペロン療法を臨床応用のために必要な、家族会の情報、ヒト *GLB1* 遺伝子変異と疾患バイオマーカーについて、情報収集を行った。さらには、遺伝子治療法など他の治療法の開発に関する動態を調査し、情報収集を行った。

B．研究方法

1) 家族会の調査

「日本ムコ多糖症患者家族の会」との連携を行った。

2) *GLB1* 遺伝子変異情報

GM1-ガングリオシドーシス患者で同定された *GLB1* 遺伝子変異型について、論文ベースで報告のある新規変異について、情報収集を行った。

3) GM1-ガングリオシドーシス疾患バイオマーカーの情報収集

GM1-ガングリオシドーシスに対する新規治療法開発のため、論文ベースで報告のある4つの疾患バイオマーカーについて、情報収集を行った。

4) 新規治療法に関する情報収集

GM1-ガングリオシドーシスに対するシャペロン薬の開発は、我々の他、スイス Dorphan社、スペイン Minoryx社などが開発を進めている。そこで、それらの開発研究の現状に関する情報収集を行った。また、遺伝子治療法など、他の治療法に関する情報についても、情報の収集を行った。

（倫理面への配慮）

本年度は、患者情報や解析は行わなかったため、倫理面での問題はないと判断した。

C．研究結果

GM1-ガングリオシドーシスとGM2-ガングリオシドーシスの患者会は、2016年度からムコ多糖症の会に合流し活動を行っている。交流会等で患者家族同士のつながりが深まり、さらに多くの患者家族も参加して活動できる基盤が構築されている。また、治療法に関する情報が提供され、我々のシャペロン療法とともに、遺伝子治療開発に関する情報も提供されていた。ケミカルシャペロン療法は、遺伝子変異型特異的な効果を示すので、ヒト *GLB1* 遺伝子変異について調査した。結果、新たに31の新規変異型が報告されていることが分かり、過去の報告を含め、191種類の変異型が同定されていることが分かった。

GM1-ガングリオシドーシスの脳神経細胞内では基質GM1-ガングリオシドの蓄積が引き金となり、様々な細胞病態を引き起こしている。GM1-ガングリオシドーシスのバイオ

マーカーに関して、Frontらは、ヒト患者皮膚由来線維芽細胞において、オリゴ糖の一つHex3HexNAc2が増加していることを見いだした (Front, Bioorg Med Chem, 2018)。また、このオリゴ糖はシャペロン化合物投与後、有意な減少を示した。Kilicらは、aspartate transaminase活性がGM1とGM2患者血清中で上昇していることを報告している (Kilic, Metab Brain Dis, 2019)。Lawrenceらは、O-linked glycanの一つA2G2がGlb1遺伝子欠損マウス脳とヒトGM1脳において蓄積していることを見いだしている (Lawrence, Mol Genet Metab Rep, 2019)。Gray-Edwardsらは、GM1患者脳の7T MRIによる画像診断が疾患の進行の判断に有効で、モデル動物のAAV遺伝子治療による効果について報告している (Gray-Edwards, Mol Ther Methods Clin Dev, 2020)。

GM1-ガングリオシドーシスに対するシャペロン治療薬の開発は、我々の他に、スイスDorphan社、スペインMinoryx社などの開発を進めている。この両社と我々は、共同研究を進めている。特に、Minoryx社が進めて居る化合物は、従来の基質競合阻害剤と異なり、アロステリックに作用する新規化合物の開発を目指しており、新しいコンセプトである。一方、フランスLYSPGENE社と米国Axovant社により、アデノ随伴ベクターを用いた遺伝子治療開発が進められており、随時情報が公開されている。

D . 考察

GM1-ガングリオシドーシスのシャペロン療法は遺伝子変異型に特異的な治療法であるので、新規の遺伝子変異型に関する情報収集は引き続き行う。また、疾患バイオマーカーは、ニーマン・ピック病C型の例では、診断にも用いられ有用性がしめされていることから、今後、報告のある分子・方法についてさらなる検討を行うとともに、脳病態を反映する新規バイオマーカーの開発研究も必要と思われた。また、最近、乳児型GM1患者の自然歴に関して、論文ベースの情報をまとめた論文が報告された (Lang, Mol Genet Metab, 2020)。シャペロン療法

の第一の対象となる可能性の高い、遅発型 (若年型・成人型) GM1患者についても、同様の自然歴に関する情報をまとめる必要があると考えられた。

E . 結論

GM1-ガングリオシドーシスについて、家族会の情報とヒトGLB1遺伝子変異情報を収集し、疾患バイオマーカー、新規治療法に関する最新動向の情報を得た。

F . 研究発表

1. 論文発表

1. Front S, Biela-Banaś A, Burda P, Ballhausen D, Higaki K, Caciotti A, Morrone A, Charollais-Thoenig J, Gallienne E, Demetz S, Martin OR. (5aR)-5a-C-Pentyl-4-epi-isofagomine: A powerful inhibitor of lysosomal β -galactosidase and a remarkable chaperone for mutations associated with GM1-gangliosidosis and Morquio disease type B. Eur J Med Chem. 2017; 126:160-170.
2. García-Moreno MI, de la Mata M, Sánchez-Fernández EM, Benito JM, Díaz-Quintana A, Fustero S, Nanba E, Higaki K, Sánchez-Alcázar JA, García Fernández JM, Ortiz Mellet C. Fluorinated Chaperone- β -Cyclodextrin Formulations for β -Glucocerebrosidase Activity Enhancement in Neuronopathic Gaucher Disease. J Med Chem. 2017; 60(5):1829-1842.
3. Okada Y, Ueda E, Kondo Y, Ishitsuka Y, Irie T, Higashi T, Motoyama K, Arima H, Matuso M, Higaki K, Ohno K, Nishikawa J, Ichikawa A. Role of 6-O- α -maltosyl- β -cyclodextrin in lysosomal cholesterol deprivation in Npc1-deficient Chinese hamster ovary cells. Carbohydr Res. 2018; 455:54-61.
4. Mena-Barragán T, García-Moreno MI, Sevsek A, Okazaki T, Nanba E, Higaki

- K, Martin MI, Pieters RJ, García Fernández JM, Ortiz Mellet C. Probing the inhibitor versus chaperone properties of sp2-iminosugars towards human b-glucocerebrosidase: a picomolar chaperone for Gaucher disease. *Molecules* 2018
5. Riquez-Cuadro R, Matsumoto R, Caballero FO, Nanba E, Higaki K, Garcia-Fernandez JM, Mellet CO, Multipoint enzyme inhibition in a medicinal chemistry context: pharmacological chaperones for the treatment of a-Mannosidosis. **J Med Chem** 62, 5832-5843, 2019
6. Ikuno M, Yamakado H, Akiyama H, Parajuli LK, Taguchi K, Hara J, Uemura N, Hatanaka Y, Higaki K, Ohno K, Tanaka M, Koike M, Hirabayashi Y, Takahashi R, GBA haploinsufficiency accelerates alpha synuclein pathology with altered lipid metabolism in a prodromal model of Parkinson's disease **Hum Mol Genet** 28, 1894-1904, 2019
7. Gonzalez-Cuesta M, Goyard D, Nanba E, Higaki K, Garcia-Fernandez JM, Renaudet O, Mellet CO, Multivalent glycolignads with lectin/enzyme dual specificity: self-deliverable glycosidase regulators. **ChemComm**, 55, 12845-12848, 2019

2. 学会発表

1. 檜垣 克美 シャペロン療法の最新状況. 第22回日本ライソゾーム病研究会. 2017年10月28日, 東京
2. Higaki K. "Development of pharmacological chaperone therapy for lysosomal storage diseases." 2nd Asia-Pacific Lysosomal Conference, Auckland, New Zealand, 2019.2.
3. 難波栄二, 檜垣克美. 「 α -ガラクトシダーゼ欠損症に対する新規シャペロン化合物の開発」

第60回日本小児神経学会, 千葉, 2018.6

4. 檜垣克美. 「ライソゾーム病のシャペロン治療の進歩」第6回市民公開フォーラム, 東京, 2020.1

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし