

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：10107

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08268

研究課題名(和文) 既承認薬ライブラリーを用いたグルコーストランスポーター1欠損症治療薬の探索

研究課題名(英文) Screening of potent GLUT1 activators from FDA-approved drug library

研究代表者

高橋 悟 (Takahashi, Satoru)

旭川医科大学・医学部・准教授

研究者番号：10431404

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：中枢神経系のエネルギー源であるブドウ糖は、血液脳関門ではグルコーストランスポーター1 (GLUT1) を介して受動的に輸送される。GLUT1欠損症は、GLUT1遺伝子のハプロ不全により発症し、ブドウ糖が脳内に取り込まれないことにより生じる代謝性脳症であり、てんかん、知的障害、運動障害など多彩な神経症状を呈する。本症に対する有効な治療薬はない。我々は、安全性と体内薬物動態についての知見が蓄積している既承認薬の中からGLUT1発現増加を示す薬物を探索し、候補薬として3薬剤(プロテアソーム阻害薬、HDAC阻害薬)を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

GLUT1遺伝子を過剰発現させた遺伝子改変動物では、糖尿病性腎障害に類似した病理所見を呈したことから、GLUT1遺伝子の発現量は厳密に制御される必要があると考えられている。遺伝子発現量を制御できない遺伝子補充治療では、糖尿病様血管障害を引き起こすリスクが懸念される。また、治療標的である脳血管内皮細胞は分裂能を有しており、反復投与のできない治療法では、治療効果の持続性に疑問が残る。本研究で同定された薬剤は、長期にわたり臨床で使用されている実績のある薬で、薬物動態や注意すべき副作用についての知見は蓄積している。有効性が確認されれば、GLUT1欠損症への適応拡大を目指す臨床試験が可能と考える。

研究成果の概要(英文)：The type-1 glucose transporter (GLUT1), which is expressed on the membranes of brain capillary endothelial cells, is required for the transport of glucose to the brain. A defect in this transporter results in impaired glucose supply to the brain, consequently affecting the brain development and function. GLUT1 haploinsufficiency causes GLUT1 deficiency syndrome (GLUT1DS) which is characterized by clinically diverse symptoms such as seizures, intellectual disabilities, and movement disorders. There is no cure for this disorder. Given the well-studied properties of FDA-approved drugs, we screened a library consisting of 2055 FDA-approved drugs for potent GLUT1 activators using a luciferase reporter assay, and found that three drugs including proteasome inhibitors and HDAC inhibitor are a potent activator of GLUT1.

研究分野：小児神経学

キーワード：グルコーストランスポーター1 てんかん 知的障害 運動障害 治療 既承認薬 ドラッグリポジショニング

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

中枢神経系のエネルギー源であるブドウ糖は、血液脳関門ではGLUT1を介して受動的に輸送される。GLUT1欠損症は、GLUT1遺伝子 $SLC2A1$ (1p34.2)のハプロ不全により発症し、ブドウ糖が脳内に取り込まれないことにより生じる代謝性脳症である。中枢神経系でのエネルギー不足が慢性的に持続することにより、髄液中糖濃度は低値を示し、てんかん、知的障害、運動障害など多彩な神経症状が出現する。本症は、これらの3主徴を合併する重篤で稀な代謝性脳症と考えられてきたが(1)、近年では知的障害を伴わない軽症例も多数報告され、GLUT1欠損症の臨床像はより多彩で広いスペクトラムを形成していると考えられるようになった。本症の唯一の治療法は、ブドウ糖に代わるエネルギー源を供給するケトン食療法である。この食事療法は、てんかん発作を軽減する効果は認められたが、知的障害や運動障害への有効性は確認されなかった(2)。また、食事療法には多くの困難が伴い、長期間にわたり継続することは容易ではなく、小児の成長へ及ぼす長期的な影響についても不明な点が多い。新たな治療選択として、遺伝子治療の可能性も検討されている(3)。しかし、GLUT1遺伝子を過剰発現させた遺伝子改変動物では、糖尿病性腎障害に類似した病理所見を呈したことから(4)、GLUT1遺伝子の発現量は厳密に制御される必要があると考えられている。遺伝子発現量を制御できない遺伝子補充治療では、糖尿病様血管障害を引き起こすリスクが懸念される。また、治療標的である脳血管内皮細胞は細胞分裂能を有しており、反復投与のできない治療法では、治療効果の持続性に疑問が残る。

2. 研究の目的

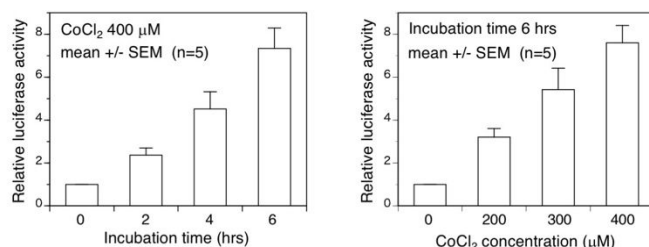
脳血管内皮細胞のGLUT1のみを特異的に発現低下させた脳血管内皮細胞特異的ノックアウトマウスは、GLUT1^{+/+}マウスと同様の表現型を呈したことから、本症の治療標的は脳血管内皮細胞であると考えられる(5)。さらに、本症の臨床的重症度とGLUT1発現量との間には関連が示されていることから(6)、安全性と体内動態が十分に証明されている既承認薬ライブラリーから、GLUT1発現を増やす治療薬を探索することにした。これまでに既承認薬の中からGLUT1発現増加薬が選別されたことはなく、本研究は世界で初めてのGLUT1発現増加薬の臨床治験を目指すものである。

3. 研究の方法

レポーター遺伝子安定発現細胞株(ヒトGLUT1遺伝子の発現調節領域 ~4kbの下流にルシフェラーゼ遺伝子を連結させたレポーター遺伝子を安定発現するHEK293細胞)を樹立し、FDA承認済み薬物ライブラリー 2055品目(Medchemexpress社, NJ, USA)からスクリーニングを行った。

4. 研究成果

(1) レポーター遺伝子発現細胞の機能評価



樹立したレポーター遺伝子(hGLUT1 promoter-NanoLuc)安定発現細胞株は、CoCl₂の濃度・反応時間に依存したGLUT1プロモーター活性を示す。

(2) 既承認薬ライブラリーから選別結果

既承認薬ライブラリーにある各薬剤について 10 μ M 濃度で 1 次スクリーニングを行い、2055 品目の中から 2 倍以上の発現増加を示した 22 品目を同定した。次に、1 次スクリーニングで同定した各薬剤について、臨床で使用されている濃度で 2 次スクリーニングを行い、2 倍以上の発現増加を示した 3 薬剤が選別された。プロテソーム阻害剤 (Bortezomib, Ixazomib citrate) と HDAC 阻害剤 (Panobinostat) が候補薬として同定された。今後、臨床治験の実施を目指して、有効性の確認を進める。

< 引用文献 >

1. De Vivo DC, Trifiletti RR, Jacobson RI, et al. Defective glucose transport across the blood-brain barrier as a cause of persistent hypoglycorrhachia, seizures, and developmental delay. *N Engl J Med.* 1991; 325: 703-709.
2. Fujii T, Ito Y, Takahashi S, et al. Outcome of ketogenic diets in GLUT1 deficiency syndrome in Japan: A nationwide survey. *Brain Dev* 2016; 38: 628-637.
3. Nakamura S, Osaka H, Muramatsu SI, et al. Intra-cisterna magna delivery of an AAV vector with the GLUT1 promoter in a pig recapitulates the physiological expression of SLC2A1. *Gene Ther* 2021; 28: 329-338.
4. Wang Y, Heilig K, Saunders T, et al. Transgenic overexpression of GLUT1 in mouse glomeruli produces renal disease resembling diabetic glomerulosclerosis. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010; 299: F99-F111.
5. Tang M, Park SH, Petri S, et al. An early endothelial cell-specific requirement for Glut1 is revealed in Glut1 deficiency syndrome model mice. *JCI Insight* 2021; 6: e145789.
6. Yang H, Wang D, Engelstad K, et al. Glut1 deficiency syndrome and erythrocyte glucose uptake assay. *Ann Neurol* 2011; 70: 996-1005.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takahashi S, Tanaka R, Takeguchi R, Kuroda M, Akaba Y, Ito Y	4. 巻 416
2. 論文標題 The role of molecular analysis of SLC2A1 in the diagnostic workup of glucose transporter 1 deficiency syndrome.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Neurol Sci	6. 最初と最後の頁 117041
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jns.2020.117041	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ustyol A, Takahashi S, Hatipoglu HU, Duman MA, Eleveli M, Duru HNS	4. 巻 61
2. 論文標題 A novel mutation in SLC2A1 gene causing GLUT-1 deficiency syndrome in a young adult patient.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Turk J Pediatr	6. 最初と最後の頁 946-948
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.24953/turkyped.2019.06.018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 高橋 悟、竹口 諒、黒田真実、田中亮介
2. 発表標題 グルコーストランスポーター1欠損症と鑑別を要する病態について
3. 学会等名 第35回日本小児神経学会北海道地方会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------