

2023 年 9 月 5 日

各 位

会 社 名 株式会社 坪田ラボ
代表者名 代表取締役社長 坪田 一男
(コード番号：4890 東証グロース市場)
問合せ先 執行役員管理本部長 清水 貴也
(TEL 03-6384-2866)

ビスフェノール A 暴露が眼軸長伸長に及ぼす影響

および小胞体(ER)ストレスの観点から見た強膜に及ぼすメカニズムに関する論文発表について

このたび当社代表 (CEO)、坪田一男 (慶應義塾大学名誉教授) が慶應義塾大学医学部と実施する共同研究において、モデルマウスを用い、ビスフェノール A 暴露が眼軸長伸長に及ぼす影響および小胞体(ER)ストレス^(※1) (以下「ER ストレス」) の観点から見た強膜^(※2) に及ぼすメカニズムに関する研究の結果及び考察が学術誌『Frontiers in Medicine』に掲載されましたので、お知らせ致します。

タイトル : Bisphenol A exposure triggers ER stress pathway leading to ocular axial elongation in mice

著 者 名 : 陳 俊翰、池田真一、康 龍丹、根岸一乃、坪田一男、栗原俊英

掲 載 誌 : Frontiers in Medicine

U R L : <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2023.1255121/abstract>

【本研究の背景】

- ・ 近視の罹患率は世界的に、特に東アジアで急速に増加しており、近視の主な決定要因の一つである眼軸長は関連研究で広く注目されています。
- ・ 眼軸長の伸長は近視進行の特徴であり、ER ストレスに関連する強膜リモデリングはこのプロセスにおいて重要な役割を果たしています。
- ・ 様々なプラスチックや樹脂の製造に広く使用されている一般的な有機化合物で、最も一般的な環境汚染物質の1つであるビスフェノール A (BPA) は、ER ストレスを介してヒトの様々な臓器に影響を及ぼすことが示されています。
- ・ 前述の通り、近視の罹患率は特に東アジアで急増し、主要な健康問題となっていますが、興味深いことに、一部の東アジア諸国、特に韓国、中国、日本は BPA の主要生産国となっています。
- ・ この BPA が眼組織、特に強膜の ER ストレスに影響を及ぼすか否かに関する実質的な研究はまだ不足してお

り、本研究では、BPA が眼軸長の伸長に及ぼす影響をマウスを用いて調べるとともに、BPA 暴露が強膜に及ぼすメカニズムを ER ストレスの観点から検討することを目的としました。

【本研究手法】

この研究では、マウス（3 週齢）を無作為に 2 群に分け、BPA が強膜に ER ストレスを誘導するかどうかを検出しました。BPA 群では、100 mg/kg の BPA を毎日 14 日間、腹腔内（IP）注射で投与し、対照群のマウスには同量の BPA の溶媒（コーンオイル）を注射しました。

4-PBA（4-フェニル酪酸、4-phenylbutyric acid）^(※4) による ER ストレス抑制実験では、マウスを無作為に、コントロール、BPA、BPA+4-PBA の 3 群に分けました。BPA 群のマウスには、1 日 1 回、14 日間にわたり、100mg/kg の BPA を腹腔内（IP）注射で投与するとともに PBS ^(※3) を点眼し、BPA+4-PBA 群には、同じく 1 日 1 回、14 日間にわたり、100mg/kg の BPA を腹腔内（IP）注射で投与するとともに 4-PBA（2%溶液）を点眼しました。一方対照群には同量の BPA の溶媒（コーンオイル）の投与と PBS の点眼を行いました。

【本研究結果】

①BPA による眼軸長伸長の誘導

BPA 投与群のマウスは、BPA の溶媒（コーンオイル）投与群と比較して眼軸長の伸長が認められました。

②BPA による強膜の ER ストレス誘導

強膜サンプルを採取し、小胞体ストレス関連タンパク質 IRE1 ^(※5)、eIF2 ^(※5)、ATF6 ^(※5) の発現を評価しました。BPA 投与群では、強膜において PERK 経路の下流因子である eIF2 のリン酸化レベルが高く、また切断された活性化 ATF6（ATF6-N）と全長 ATF6（ATF6-P）の比率も BPA 投与群で高いことが認められました。これは、PERK ^(※5) 経路と ATF6 経路が強膜のリモデリングと眼軸長伸長に関与するという、以前実施した研究の結論と一致しました。

一方で、p-IRE1/IRE1 比には、対照群と BPA 投与群との間に差は見られなかったことから、BPA が PERK および ATF6 経路を活性化したものの、IRE1 経路には影響を与えなかったという結果となりました。

③BPA 誘発近視を抑制する強膜 ER ストレスの減弱

強膜 ER ストレスが BPA による眼軸長伸長と近視発症の主な要因の 1 つであるかどうかを調べるため、4-PBA を用いて強膜 ER ストレスを減弱させました。BPA 投与中、4-PBA（PBS 中 2%溶液）を点眼し、PBS 点眼群とオイルコントロール群で眼軸長と屈折異常の変化を比較したところ、BPA+PBS 投与群に比べ、BPA+4-PBA 投与群は眼軸長の変化が短く、同様に、4-PBA 投与マウスでは屈折の近視性シフトが抑制されていることが確認されました。

また強膜 ER ストレスに対する 4-PBA の効果をさらに検証するために、PERK（eIF2 で評価）および ATF6 経路関連 ER ストレスマーカーの発現レベルを検出したところ、BPA 投与群では、マウス強膜の eIF2 リン酸化と ATF6 経路が活性化された一方で、4-PBA 点眼投与群では、強膜の ER ストレス応答は低いことが観測されました。

これらの結果、BPA 投与は PERK および ATF6 経路を活性化させましたが、4-PBA 点眼は ER ストレスを抑制し、屈折の近視性シフトおよび眼軸長伸長を抑制させることが確認されました。

【本研究の意義および今後の展望】

本研究により、

- ・ BPA 投与が強膜 ER ストレスを誘導し、マウスの眼軸長の伸長をもたらす
- ・ PERK 軸と ATF6 軸は、BPA 誘発 ER ストレスの際に活性化される主要な経路である
- ・ 4-PBA(4-フェニル酪酸、4-phenylbutyric acid)は BPA 誘発近視の進行を抑制する

ことが示されました。

株式会社坪田ラボでは、本論文にて近視進行抑制効果が示唆された低分子化合物 4-PBA をもとに点眼薬 (TLM-003) の開発を進めております。日本および台湾、インドネシア、ベトナムにおいてはロート製薬株式会社と共同開発研究契約・実施許諾契約を結んでおり、欧州、米国ではフランスの Laboratoires Théa と関連特許の独占的実施権許諾契約を結んでおります。

弊社としましては、2022 年 10 月に Nature Communications (オンライン版) に掲載されました研究論文 (2022 年 10 月 11 日弊社開示「近視の進行抑制のメカニズムに関する新たな論文の発表について」 ご参照) に続いて大きな学術的成果を出すことができたと考えております。

今後もこのような優れたサイエンスを、TLM-003 など大きなイノベーションを起こす製品群の開発に着実につなげてまいります。

用語解説

- ※1 小胞体 (ER) ストレス：小胞体は細胞内にある袋状の構造の小器官で、細胞内の物質輸送の働きをする。何らかの理由で小胞体内腔に正しく折り畳まれなかったタンパク質や正常な修飾を受けていないタンパク質が過剰に蓄積する状況を小胞体ストレス (ER ストレス) と呼ぶ。
- ※2 強膜：眼球の最も外側に存在するコラーゲン線維と線維芽細胞からなる結合組織様の組織、いわゆる「しろ目」のこと。眼球内部の保護と眼球形態の維持を担っている。
- ※3 PBS：リン酸緩衝生理食塩水
- ※4 4-PBA(4-フェニル酪酸、4-phenylbutyric acid)：タンパク質の高次構造形成を介助することで ER ストレスを減弱させる低分子化合物
- ※5 IRE1、eIF2、ATF6、PERK：小胞体に正常に折り畳まれなかったタンパク質が蓄積した際に活性化される ER ストレスセンサー機能を有したタンパク質

以上