

Discovery and Pharmacological Study of Drug Candidate Agents for the Treatment of Inflammatory Diseases

著者（英）	Hisashi WAKITA
year	2019
その他のタイトル	炎症性疾患治療剤の創出とその薬理学的特性に関する研究
学位授与大学	筑波大学 (University of Tsukuba)
学位授与年度	2018
報告番号	12102甲第9089号
URL	http://hdl.handle.net/2241/00156832

氏名	脇田 久嗣		
学位の種類	博 士 (生物工学)		
学位記番号	博 甲 第 9 0 8 9 号		
学位授与年月日	平成 3 1 年 3 月 2 5 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Discovery and Pharmacological Study of Drug Candidate Agents for the Treatment of Inflammatory Diseases (炎症性疾患治療剤の創出とその薬理学的特性に関する研究)		
主査	筑波大学教授	理学博士	繁森 英幸
副査	筑波大学教授	博士 (農学)	臼井 健郎
副査	筑波大学准教授	博士 (農学)	吉田 滋樹
副査	筑波大学准教授	博士 (理学)	山田 小須弥

論 文 の 要 旨

本論文で著者は、炎症性疾患治療剤 E6005 および E6130 の作用機序を解明し、これら化合物の医薬品候補としての有用性を前臨床モデルで検証することを目的としている。

まず著者は、多様な基本構造をもつ化合物群をスクリーニングし、あらかじめ設定したクライテリアを満たした化合物の中から、医薬品候補化合物の基本的骨格を有するリード化合物を見出した。動物モデルを用いた薬効試験及び薬物動態試験を駆使することで、リード化合物から詳細に化学修飾を行い、高活性で副作用の少ない開発候補化合物を選別し、臨床導入に値する候補化合物として E6005 および E6130 を創出した。

E6005 は、Phosphodiesterase (PDE) 4 選択的低分子阻害剤であり、アトピー性皮膚炎の外用剤として開発が進められている。E6005 は PDE4 阻害を介して細胞内 cAMP を上昇させることで炎症性サイトカインの産生を抑制し、この作用が抗炎症作用に寄与すると考えられており、アトピー性皮膚炎モデルマウスにおいて、既存薬であるステロイドとは異なる優れた抗搔痒作用を有することが明らかとなっている。以上の報告を踏まえて著者は、痒み伝達に寄与する C 線維の興奮抑制が E6005 の抗搔痒作用のメカニズムの 1 つであると仮説を立て、C 線維を用いた電気生理学的検討を行った。ラット後根神経節 (DRG) ニューロンを C 線維として用いて検討した結果、カプサイシン刺激によって誘導される DRG ニューロンの脱分極を E6005 は濃度依存的に抑制したが、ステロイドやカルシニューリン阻害剤は抑制しないことを見出した。E6005 と異なる化学構造を有する PDE4 阻害剤ロフルミラスト及び cAMP 上昇剤 Forskolin は DRG ニューロンの脱分極を抑制することから、脱分極の抑制は PDE4 阻害を介した細胞内 cAMP 濃度上昇に基づくことを示唆した。そこで著者は、アトピー性皮膚炎における cAMP の関与を明らかとするため、マウスを用いて Forskolin の

作用を検討したところ、Forskolin は有意な抗搔痒効果を有することを見出した。一方で、E6005 は Nav1.2 チャンネル阻害作用を示さなかったことから、E6005 の抗搔痒効果に局所麻酔作用が寄与する可能性は否定された。以上の結果から、E6005 は、C線維の興奮抑制が抗搔痒メカニズムの一つとして寄与し、既存薬とは異なる作用機序でアトピー性皮膚炎の治療薬として臨床効果を発揮する可能性があることを示した。

炎症性腸疾患治療剤 E6130 は CX3CR1 受容体のモジュレーターで経口可能な低分子化合物であり、CX3CR1 発現細胞に対して強力な細胞遊走阻害作用を有する。同時に CX3CR1 down regulation 作用を有することから、著者は E6130 による CX3CR1 down regulation によって CX3CR1 と生体内リガンド (Fractalkine) との相互作用が遮断され、細胞遊走阻害作用につながると仮説を立てた。その仮説を検証するため、ヒト末梢血 NK 細胞を用いて E6130 の CX3CR1 down regulation 作用を検討した。E6130 は強力な CX3CR1 down regulation 作用を示し、その強さは E6130 の細胞遊走阻害作用と同等であった。このことから、E6130 の細胞遊走阻害効果は、CX3CR1 down regulation に基づくものであると推定した。CX3CR1 と Fractalkine は炎症性腸疾患患者の大腸組織において高い発現が認められ、炎症性腸疾患の病態において重要な役割を果たしていると想定されている。そこで著者は、炎症性腸疾患における E6130 の有用性を検証するため、クローン病の動物モデルである CD4 陽性 CD45RB^{high} T 細胞移入大腸炎モデルマウスを用いて薬効評価を行った結果、E6130 は体重減少を抑制し下痢症状を改善し、さらに大腸重量の増加および粘膜固有層の CX3CR1+白血球数の増加を抑制することを見出した。一方で、潰瘍性大腸炎の動物モデルであるオキサゾン誘発大腸炎モデルマウスを用いて評価した結果、E6130 は大腸長短縮と体重減少を抑制することを見出した。以上の結果から、E6130 は CX3CR1 down regulation に基づいて細胞遊走阻害作用を発揮するユニークな CX3CR1 モジュレーターであることが判明し、炎症性腸疾患治療薬として有望であることを示した。

審 査 の 要 旨

本論文において、*in vitro* 系を駆使することで E6005 および E6130 の作用機序の一端を解明し、マウスを用いた *in vivo* 系でそれぞれの化合物の作用機序を支持する結果および優れた有効性を示す結果を取得し、新規低分子化合物の臨床導入を達成している。E6005 の作用機序解明により、既存薬とは異なる機序で優れた抗搔痒作用を発揮することが示された。一方で、E6130 が有する CX3CR1 down regulation は、生体内での E6130 の作用を確認するための指標としての応用が期待でき、臨床研究の加速につながると考えられる。さらに、E6005 及び E6130 の臨床有用性が明らかとなることで、アトピー性皮膚炎及び炎症性腸疾患治療の新たな選択肢が提供でき、医療ニーズの充足が期待される。したがって、本研究成果はアトピー性皮膚炎及び炎症性腸疾患に関わる医薬品研究開発の発展に大いに寄与するものと思われる。

平成31年 1月 25日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。