

氏名（本籍）	長倉 廷（埼玉県）
学位の種類	博 士（生物工学）
学位記番号	博 甲 第 6943 号
学位授与年月日	平成26年 3月25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 **Finding of Novel Anti-Thrombotic Drug via Selective Inhibition of Extrinsic Coagulation Pathway**
(外因系凝固機構特異的阻害作用に基づく新規血栓症薬の創出)

主査	筑波大学教授	農学博士	深水 昭吉
副査	筑波大学講師	博士（学術）	加香 孝一郎
副査	筑波大学講師	博士（農学）	石田 純治
副査	筑波大学准教授	博士（獣医学）	杉山 文博

論 文 の 要 旨

血栓症とは、血管内で活性化した血小板とフィブリン塊により血栓が形成され、その下流にある組織、臓器が機能的に障害される病態の総称である。現在、血栓症治療に使われる経口抗凝固薬ワーファリンは、作用発現まで数日掛かり、薬物相互作用、食事による効果減弱などから、高頻度にその効果をモニタリングする必要がある。また、最適な治療範囲も狭く、出血性副作用も多い。

そこで著者は、血栓症発症において、主に外因系血液凝固経路が活性化されていると仮定し、外因系経路のみを選択的に延長しうるメカニズムとして、組織因子-血液凝固第7因子複合体（TF/VIIa）の選択的阻害薬を企図し、創薬研究を行った。また、選択的な TF/VIIa 阻害薬であれば、外因系凝固を延長しつつ内因系経路を正常に保てるため、強い抗血栓作用を発揮しながらも、出血性副作用を減弱できるとの仮説をたて、自らが発見した低分子化合物での検証を試みた。

先ず著者は、トリアゾロン骨格を有する新規誘導体として ER-410660 を発見し、その *in vitro* での TF/VIIa 阻害作用と凝固因子間の選択性を検証した。その結果、 K_i 値として約 5 nM の強力な TF/VIIa 阻害作用を有し、他の凝固因子に対して 100 倍以上の選択性を有する事を明らかにした。著者は、ラットを用いた静脈血栓症モデル、動脈血栓症モデルを構築し、ER-410660 の静脈内投与により両モデルでの用量依存的な抗血栓作用を確認し、その有効投与量はそれぞれ 0.18 mg/kg と 0.99 mg/kg であることを明らかにした。次に、著者は抗血栓作用と出血性副作用との乖離を検討するため、ラットに Tail-cut 法を用い、出血時間の延長作用を確認した。その結果、ER-410660 は投与量依存的な出血時間の延長を示し、出血時間倍化用量は 7.1 mg/kg であった。同時に、比較対照薬としてトロンビン阻害薬である

ダビガトラン、凝固第 10 因子阻害薬であるラザキサバンの静脈および動脈血栓モデルでの薬効確認と出血モデル評価を行い、3 つの薬剤の出血マージンを比較した。その結果、TF/VIIa 阻害薬である ER-410660 は、トロンビン阻害薬や凝固第 10 因子阻害薬よりも出血マージンで優れることを明らかにした。この比較検討により、著者は、TF/VIIa 阻害は外因系凝固のみを阻害することで、強い抗血栓作用を示しつつ、出血性副作用を軽減しうることを示した。

著者の発見した ER-410660 は高い極性もつ化学構造を有し、膜透過性が良好ではない。そこで、プロドラッグ化の検討を行い、経口有効性を改善した化合物として E5539 を発見した。E5539 はマウス、ラットおよびサルにおいて、ER-410660 よりも高い経口有効性を示し、ヒトに最も近い前臨床動物であるサルの BA 値は 17%であった。さらに、E5539 の薬効評価をサルで行い、投与量に依存したトロンビン産生抑制作用を明らかにした。また、薬効発現時に、外因系凝固時間を延長しているものの、内因系凝固には無影響であったことを確認している。この結果は、E5539 が ER-410660 のプロドラッグとして機能したことを示したものであり、出血性副作用の少ない新規経口抗凝固薬としての可能性を示唆するものである。

審 査 の 要 旨

本研究で見出した ER-410660 は、新規の強力かつ選択的な組織因子-凝固第 7 因子複合体 (TF/VIIa) 阻害薬であり、またそのプロドラッグ体 E5539 は世界初となる経口投与可能な TF/VIIa 阻害薬である。著者の見出した実験結果は、TF/VIIa 阻害薬の既存抗凝固薬に対する差異化ポイントとして、非常に重要である。著者の見出した ER-410660 および E5539 は、TF/VIIa 複合体の新たな生理作用を見出すツールとしても活用され、基礎分野の研究発展に貢献することが期待される。

以上のように、著者は新規性の高い化合物 ER-410660 と E5539 を発見し、それら化合物を使ったさまざまな薬理モデル研究により、外因系凝固の選択的阻害が出血性副作用を軽減した新たな血栓症治療コンセプトとして有望であることを証明した。

平成 26 年 1 月 23 日、学位論文審査委員会において、加香副査を除く審査委員全員の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、(加香副査から預かった質問も含め) 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。平成 26 年 1 月 27 日、加香副査に論文の審査及び最終試験に関する説明と報告を行い、了承いただいた。

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者として認める。