

氏名	寺嶋 優臣		
学位の種類	博 士 (生物科学)		
学位記番号	博 甲 第 8 5 7 2 号		
学位授与年月日	平成 3 0 年 3 月 2 3 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	Identification and Functional Characterization of Novel p38 MAPK and PIKfyve Inhibitors (新規p38MAPK阻害剤及びPIKfyve阻害剤の同定と機能性解析)		
主査	筑波大学准教授	理学博士	坂本 和一
副査	筑波大学教授	学術博士	橋本 哲男
副査	筑波大学教授	博士 (理学)	稲垣 祐司
副査	筑波大学准教授	博士 (理学)	桑山 秀一

論 文 の 要 旨

本論文は、大規模ライブラリーのスクリーニングにより新規抗炎症剤を探索し、さらにヒットした化合物に対する標的物質の同定と機能解析を行い、その成果について論述している。一般に、炎症は外傷や細菌の侵入などの様々な刺激に対して生体の恒常性を保つための重要な反応であるが、正常状態に戻った後も炎症反応が持続する慢性炎症は、自己免疫疾患や動脈硬化性疾患、癌など多くの疾患の原因になる可能性があることが知られている。慢性炎症は炎症性サイトカインの過剰産生を誘引し、これがさらなる免疫細胞の活性化を誘導するために、炎症性サイトカインは病態形成において中心的役割を果たしている。代表的な炎症性サイトカインである $TNF\alpha$ や $IL-6$ の活性を抑制する抗体薬は、関節リウマチ等で顕著な病態改善効果を示す一方で十分な効果が得られない患者も一定の割合で存在する。本論文において著者は、複数の炎症性サイトカイン産生に関与して慢性炎症の根本治療につながる可能性のある新規作用機序として、p38MAPK 阻害及び $IL-12p40$ 産生阻害のメカニズムに着目している。本論文は、大規模ライブラリーから新規抗炎症剤をスクリーニングし、得られた薬剤に対する標的物質の同定と生理機能の解析を目的にしている。

これまで多くの p38MAPK 阻害剤が臨床試験に進んだものの、いずれも有効性不足や構造由来または低選択性が原因と考えられる副作用発現により、未だ医薬品として承認された化合物はない。

本論文の第一章で著者は、臨床試験の失敗原因として予想される活性及び選択性を改善した新規阻害剤を見出すため、阻害剤の探索を行っている。まず著者は、LPS で刺激したヒト末梢血単核球を用いて、 $TNF\alpha$ 産生阻害作用を指標に 16,000 化合物を超えるライブラリーをスクリーニングした。その結果、著者は、既存薬を上回る抗炎症作用及びキナーゼ選択性を示す新規 p38MAPK 阻害剤 AS1940477 を同定することに成功した。著者は、AS1940477 が、酵素レベルのみならず細胞中やラット急性炎症モデルにおいても

高い選択性と強い炎症性サイトカイン (TNF α 、IL-1 β 、IL-6) 産生阻害作用をもつことを実証している。また、本阻害剤が良好な体内動態を反映し、ラットの経口投与 20 時間後においても有意な TNF α 産生抑制作用が確認されたと述べている。第一章で著者は、AS1940477 は強力な炎症性サイトカイン産生抑制作用と高い選択性にに基づき、慢性炎症疾患に対する新たな治療薬候補となりうる可能性があることを示唆している。

第二章で著者は、炎症性サイトカイン IL-23 の構成分子の一つである IL-12p40 について、その欠損マウスが関節炎や皮膚炎等を発症しない事実に着目し、IL-12p40 産生の抑制が慢性炎症のコントロールに繋がる可能性を考えて阻害剤の探索を行っている。まず著者は、マクロファージ細胞株 (RAW264.7) を IFN γ /LPS で刺激し、IL-12p40 産生阻害活性を指標にスクリーニングした結果、複数の新規阻害剤 (AS2677131, AS2795440) を見出すことに成功した。いずれも IL-12p40 以外に IL-6, IL-1 β 等の炎症性サイトカイン産生を抑制し、さらに B 細胞活性化抑制作用を合わせもつ特徴的なプロファイルを示した。また、著者は、体内動態が良好な AS2795440 は、*in vivo*慢性炎症モデルへの予防投与で有意な抗炎症作用が確認されたと述べている。一方、著者は、標的探索研究では、光反応性プローブを用いて脂質キナーゼ PIKfyve を標的分子として同定し、PIKfyve が IL-12p40 及び IL-1 β プロモーターへの転写因子 c-Rel の結合活性を選択的に制御していることを明らかにした。第二章で著者は、AS2677131 及び AS2795440 が、PIKfyve を介した複数の免疫調節機構を介して慢性炎症の治療に繋がる可能性があることを示唆している。

本論文で著者は、既存薬とは異なる作用機序として p38MAPK と PIKfyve に対する新規阻害剤を複数見出し、慢性炎症動物モデルでの生理・薬理的有効性を明らかにした。また著者は、各種プロファイリングにより、両阻害剤が炎症性サイトカイン産生阻害作用に加え、p38MAPK はサイトカインシグナル阻害作用および PIKfyve は B 細胞活性化阻害作用を合わせ持つことを明らかにした。PIKfyve について、著者は、c-Rel を介したサイトカイン発現調節機構の詳細なメカニズムを明らかにしたが、B 細胞活性化制御に対する c-Rel の寄与や PIKfyve による c-Rel 活性制御機構に関してはさらなる解析が必要であると述べている。本論文で著者は、慢性炎症の病態形成に関する分子機構の一端を明らかにするとともに、慢性炎症の根本的治療に結びつく新たな治療薬剤の開発の道を開くことができたことを論述している。

審 査 の 要 旨

本論文は、新規 MAPK 阻害剤と PIKfyve 阻害剤を同定し、複数の炎症性サイトカインの産生に対する機能解析結果について述べたものである。本論文により、(1) 抗炎症作用及びキナーゼ選択性を示す新規 p38MAPK 阻害剤が見出され、*in vitro*および *in vivo*における高い選択性と炎症性サイトカインの強い産生阻害作用をもつこと、および (2) 脂質キナーゼ PIKfyve の新規阻害剤として見出された複数の新規阻害剤が IL-12p40 を含む複数の炎症性サイトカイン産生と B 細胞活性化を強く抑制することなどが明らかにされた。本論文は、p38MAPK 阻害と IL-12p40 産生阻害に働く新規阻害剤の慢性炎症に対する新規薬理作用を生物科学的視点から明らかにし、新規薬剤の薬理的有用性を実証したものである。本論文により明らかになった新規阻害剤は、慢性炎症疾患に対する新たな治療薬剤の開発を可能にしたもので、その功績は極めて大きい。

平成 30 年 1 月 30 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 (生物科学) 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。