氏名 田中 晃

学位の種類 博士(生物科学)

学位記番号 博 甲 第 9457 号

学位授与年月日 令和2年3月25日

学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当

審查研究科 生命環境科学研究科

学位論文題目 Studies on the Mechanism Regulating Reproductive Function in

Puberty and the Application of Kisspeptin Analogs for the Treatment

of Prostate Cancer

(性)境期の生殖機能)御機構とキスペプチン誘導体の前立腺癌治療への

応用に関する研究

主查 筑波大学教授 博士 (理学) 中田 和人

副查 筑波大学准教授 博士 (理学) 徳永 幸彦

## 論 文 の 要 旨

前立腺がんは世界的に高い罹患率を示す男性に特有のがんである。前立腺がんは男性ホルモンの1種であるアンドロゲンに依存的な細胞増殖をすることが知られている。このため、前立腺がんの治療にはアンドロゲン除去療法が有効である。しかしながら、先行研究においてアンドロゲン除去療法は一定期間後に高い確率で抵抗性を獲得し、前立腺がんが再燃してしまうことが報告されている。そのため、前立腺がんの再燃を遅延、または、予防しうる薬剤の開発が望まれている。本研究において著者は、性成熟期のアンドロゲン産生を含む生殖機能制御機構の理解に基づいて、奏功期間のより長い新規のアンドロゲン除去療法薬を開発することを目的とした。

まず著者は、性成熟期の生殖機能制御機構を詳細理解するためにエストロゲンが雌ラットの性成熟期の性腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)と黄体形成ホルモン(LH)分泌を制御する機序に着目した。精巣におけるアンドロゲン合成を含む生殖機能は、視床下部-下垂体-性腺(HPG)軸を介して、GnRHによって中枢性に制御されている。性成熟は、哺乳類の生殖機能の成熟過程における重要なプロセスであり、GnRH/LH分泌の昂進と定義することができる。当該領域の先行研究によって、エストロゲンが性成熟前の雌ラットのGnRH/LH分泌を強力に抑制し、その抑制効果が性成熟を境に低下することが示されているが、その詳細なメカニズムについては未だ十分には解明されていない。キスペプチンはヒトGタンパク質共役型受容体GPR54の内因性のリガンドである。2003年に2つの独立した研究グループがGPR54の機能喪失変異が性性腺機能低下症患者の性成熟障害の原因であると報告して以来、その機能に関する研究は行われ、キスペプチン-GPR54シグナル伝達が性成熟期のGnRH/LH分泌の昂進に重要な役割を担っている可能性が示唆されている。著者は、卵巣切除(OVX)ラットにおける視床下部内エストロゲン微量インプラントの実験によって少なくとも2つの異なる視床下部領域、内側視索前野(mPOA)および弓状

核(ARC)が、性成熟前の雌ラットにおけるGnRH/LH分泌抑制のためのエストロゲンの作用部位であることを特定した。また、興味深いことに、免疫組織化学および遺伝子発現解析によって、性成熟期に観察されるエストロゲン応答性の減弱はmPOAおよびARCにおけるエストロゲン受容体発現の減少によるものではないことを明らかにした。さらに、エストロゲンを代償的に補完した性成熟前のOVXラットにおいて、ラットキスペプチンアナログrKp-10またはGnRHの皮下注射が、その刺激に呼応する形で繰り返し有意なLH分泌を誘導することを見出した。これらの結果から著者は、mPOAおよびARCに存在するエストロゲン応答性ニューロンを含む神経複合体がキスペプチンシグナルの制御を通じて性成熟期のGnRH/LH分泌を制御すると結論した。

次に著者は、キスペプチン誘導体の前立腺癌治療への応用について検討を行った。キスペプチンシグナルを薬理学的に遮断する手段として、2つの異なるアプローチが考えられる。1つは受容体へのリガンド結合の阻害で、もう一方は慢性的なリガンドの曝露による受容体の脱感作である。本研究の前段階として著者はGPR54に対する強力なアゴニスト活性を維持しながら、薬理学的安定性を向上させたキスペプチン誘導体であるKiss-001とKiss-002を合成することに成功している。そこで著者は合成したKiss-001およびKiss-002の慢性的な暴露を容易にするために、1ヵ月持続放出型製剤Kiss-001-SR(1M)およびKiss-002-SR(1M)を開発し、それらの体内動態、薬力学的特性および効力に関する生物学的な評価を行った。その結果、Kiss-001-SR(1M)および

Kiss-002-SR(1M)は少なくとも4週間、血中薬物濃度を一定に維持した。このような安定した薬物動態特性に対応して、Kiss-001-SR(1M)およびKiss-002-SR(1M)は、1ヵ月製剤として有効な薬力学的反応を示し、既存化合物であるTAP-144-SR(1M)よりも優れた血中テストステロン濃度のコントロールを示した。すなわち、両製剤共に、正常雄ラットにおいて血漿中テストステロン濃度を急速かつ強力に抑制し、その抑制作用は用量依存的に維持された後に、正常レベルへと回復することが示された。さらに、アンドロゲン感受性前立腺がんの細胞株であるJDCaPを移植したラットモデルを用いた抗腫瘍試験では、長期観察において最終的には前立腺がんの再燃は観察されたものの、Kiss-001-SR(1M)およびKiss-002-SR(1M)は、既存化合物であるTAP-144-SR(1M)よりも、優れた前立腺特異抗原PSAコントロール、すなわち抗腫瘍効果を示した。

## 審 査 の 要 旨

本論文において著者は、視床下部領域に存在する内側視索前野、および、弓状核に内在されるエストロゲン応答性ニューロンが雌ラットの性成熟期における性腺刺激ホルモン放出ホルモンと黄体形成ホルモン分泌の亢進に重要であることを細胞生物学的な実験によって明らかにした。さらに著者は、このラットモデルの性成熟における生殖機能制御機構を考慮して合成したキスペプチン誘導体が前立腺がんの再燃を抑制するための有力な候補化合物となりうることを分子細胞生物学的、ならびに、実験動物学的な実験系を活用して立証した。本研究の成果は性成熟における神経-ホルモン連関に立脚した独創的な前立腺がんの治療戦略を提案しており、学術的な価値が高いと評価された。

令和2年1月29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。