

氏名	水上 和彦		
学位の種類	博 士 (生物科学)		
学位記番号	博 甲 第 9 4 9 0 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		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	EP4 receptor antagonistであるASP7657の薬理学的作用の検証と各種腎疾患モデルにおける薬効評価		
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 (理学)	内海 真生
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、EP4 receptor antagonist である ASP7657 の薬理学的作用を調べ、各種腎疾患モデルを用いて本化合物の薬効評価について論述している。先進国の成人人口の 10%以上が慢性腎臓病 (CKD) を有すると推定され、腎機能の低下は心血管疾患および全原因死亡の両方の独立した危険因子と考えられている。アンジオテンシン変換酵素阻害剤およびアンジオテンシン受容体遮断薬 (ARB) が CKD 進行抑制薬として既に上市されているが、CKD 患者における腎臓および心血管疾患の罹患率および死亡率の絶対リスクは高い。そこで、腎機能低下の進行を効果的に抑制する新規薬剤の開発が求められている。プロスタグランジン E2 (PGE2) は腎臓で最も豊富に存在し、腎機能の恒常性維持に重要な役割を果たしており、その受容体サブタイプは EP1, 2, 3, 4 の 4 つが知られているが、EP4 受容体は腎臓で最も広く発現して様々な腎障害時の病態の発症や進展に対する関連性も報告されている。そこで著者は、PGE2 が EP4 受容体を介して CKD の発症や進行に寄与しているとの仮説を立て、EP4 受容体アンタゴニスト創製を目指した結果、新規 EP4 受容体アンタゴニストとして ASP7657 を見出した。

まず著者は、ASP7657 がラットおよびヒト EP4 受容体に対して高い親和性を示し、ラット EP4 受容体強制発現細胞および EP4 受容体の発現が確認されているヒト T 細胞において、PGE2 誘発 cAMP 増加を強力に抑制していることを見出した。一方で、ラット EP1、EP2 および EP3 受容体強制発現細胞を用いた実験において、ASP7657 が PGE2 誘発の細胞内シグナル (Ca²⁺, cAMP) を阻害しなかったことから、ASP7657 は強力かつ選択的な EP4 受容体アンタゴニストであることを証明した。次に著者は、ASP7657 の pharmacokinetics 試

験の一環として、ASP7657 経口投与時の全身循環血中への移行率を示すバイオアベイラビリティの算出を行った結果、46.2%と算出され ASP7657 は経口投与によって十分に全身循環血中へと移行する可能性が高いことを明らかにした。また、ASP7657 をラットに経口投与し、*ex vivo* 試験として 1 時間後に採取した全血に対して LPS と PGE2 を添加して TNF- α の産生度を評価した結果、ASP7657 投与後の全血においては LPS 誘発 TNF- α 産生量増加に対する PGE2 刺激による抑制作用が ASP7657 投与量依存的に阻害されることを明らかにした。このことから、ASP7657 は経口投与によって十分に PGE2 に対し拮抗作用を示すことができる血中濃度へ到達することができることを示唆した。

さらに筆者は、糖尿病性腎症モデルである db/db マウスを用いた薬効検証試験の結果、ASP7657 の 1 日 1 回経口反復投与が尿中アルブミン排泄を有意に低下させ、非糖尿病性 CKD モデルである 5/6 腎摘ラットにおいても尿中タンパク排泄が有意に低下することを見出した。さらに、5/6 腎摘ラットにおける詳細解析の結果、ASP7657 は全身血圧に影響を与えることなく、血漿クレアチニンおよび血液尿素窒素濃度の上昇を抑制し、またクレアチンクリアランス低下に対しても抑制作用を示したことから、糸球体濾過機能に対して保護的な効果を有することを明らかにした。また、正常ラットを用いて EP4 アゴニストである ONO-4819 投与による血漿レニン活性の上昇に対する ASP7657 の併用により、用量依存的な抑制効果を見出した。これらの結果から、筆者は ASP7657 がレニン放出調節等により腎臓の糸球体周辺の血行力学を改善し慢性腎不全の進行を抑制する可能性を示唆した。

審 査 の 要 旨

著者は、ASP7657 が EP4 に対して高親和性を有すること、強力かつ選択的な拮抗作用を示すこと、さらに経口活性が期待されること、を示した。また、EP4 選択的拮抗薬である ASP7657 は、レニン放出抑制によるレニンアンギオテンシン系の過活性を改善し、かつ血圧低下作用を示すことなく糸球体周辺血行動態を改善することにより糸球体過剰濾過状態を是正し、腎保護作用を示す可能性を見出した。よって、著者は ASP7657 が CKD 病態の進行を抑制する上で有望な次期治療選択薬と成り得ることを示した。したがって、本研究成果は CKD 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。

令和 2 年 1 月 21 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。