

要約

氏名 石橋 純平

論文題目

ドラッグリポジショニングを指向した気道粘液産生抑制薬の創製に関する基礎薬理学的研究

論文要約

炎症性呼吸器疾患は気道や肺における炎症を基礎とする疾患の総称である。代表的な疾患には気管支喘息や慢性閉塞性肺疾患 (COPD) が挙げられ、両疾患とも慢性的な気道炎症を基礎とする呼吸器疾患である。近年、治療の進歩やガイドラインの策定により病態のコントロールが可能となりつつあるが、依然として国内における有病率は高く、潜在的なものも含めると両疾患の患者数は 1000 万人にもものぼる。気管支喘息と COPD では炎症の原因や病態などさまざまな違いがあるが、どちらの疾患にも共通してみられる症状に気道粘液の過剰産生、すなわち痰がある。痰の喀出には咳嗽が伴い、これが患者 QOL の低下につながる事が知られている。さらに、慢性的な気道粘液の過剰産生を呈する患者は、症状の増悪や予後不良を招きやすいことが報告されている。特に気管支喘息では、急性増悪時に気道内腔に粘液が貯留することで換気障害が引き起こされ、これが重度の場合には喘息死の原因となる。以上のことから呼吸器疾患の治療において、気道粘液産生制御の重要性が認識されつつある。しかしながら、現在の呼吸器疾患では、疾患の基礎となる炎症の抑制と呼吸機能の改善を中心とした治療が行われており、積極的な気道粘液産生の制御は行われていない。例えば、気管支喘息の治療には、抗炎症を目的として吸入ステロイド薬が、気管支拡張を目的として β_2 刺激薬や抗コリン薬が用いられるが、喀痰治療薬は用いられていない。これは喀痰治療薬に関する臨床研究が少数であることに加えて、既存の薬で著明な作用を示すものが無いことが原因である。既存の喀痰治療薬は分泌物のクリアランスを促進するものと気道分泌物の産生・分泌を抑制するものに大別される。特に気道分泌の抑制作用を持つものとして、ステロイド薬、抗コリン薬、マクロライド系抗菌薬などが知られているが、気道分泌を抑制する薬物に関する報告はまだ少なく、基礎研究のさらなる発展が求められている。

気道では、気道液と気道上皮の線毛細胞によって、侵入した病原微生物や微粒子などの異物を捕捉・排出する粘液線毛クリアランスが形成されている。気道液は水分量の多いゾル層と、高分子糖タンパクであるムチンを主成分とした粘弾性の高いゲル層に分かれている。ムチンの中でも気道では主に MUC5AC と MUC5B が発現しており、特に MUC5AC は気管支喘息において気道上皮の杯細胞の増加とともに分泌が増加することが知られている。MUC5AC は重合することで粘液の粘性を増加させる性質をもち、病態時にみられる粘稠な気道粘液の一因だと考えられている。さらに近年の報告では、MUC5AC が気道粘液の性質に寄与するだ

けでなく、気道過敏性の亢進や気道炎症といった病態への寄与が示唆されている。以上のように、MUC5AC は気道粘液の粘性に寄与する主要成分であり、病態への関与が示唆されていることから、その産生の制御が呼吸器疾患の治療につながるとして注目されている。

ドラッグリポジショニングは既存薬に新たな作用を見出し、これまでの適応とは異なる疾患へと利用する創薬手法である。既存薬を利用した開発は、開発中止のリスクが低い、一部試験のスキップにより開発期間を短縮・コストを抑制できるといった利点がある。ドラッグリポジショニングの成功例は数多く報告されており、近年では、偶発的な発見に基づくリポジショニングだけでなく、既存薬の作用を詳細に解析し、それを基にして戦略的にリポジショニングを狙う手法が試みられている。

第 1 章では、臨床において慢性気道炎症性患者の喀痰および後鼻漏症状に有効であることが示唆されているホスホジエステラーゼ阻害薬、ibudilast の MUC5AC 産生に対する作用を *in vitro*、*in vivo* 実験系により調べた。*In vitro* 実験の標本には粘液産生能をもつヒト肺粘液性類表皮癌細胞株 NCI-H292 を用いた。Ibudilast は transforming growth factor- α (TGF- α) 刺激 (10 ng/ml) により亢進した MUC5AC 産生を濃度依存的 (1–100 μ M) に抑制した。Ibudilast は H₂O₂ (1 mM) または、LPS (10 μ g/ml) + タバコ煙抽出物の混合刺激による MUC5AC 産生も同様に抑制したことから、ibudilast は刺激種に依存しない MUC5AC 産生抑制作用をもつと考えられた。さらに MUC5AC mRNA 発現に対する ibudilast の作用を調べたところ ibudilast (100 μ M) は TGF- α 刺激による MUC5AC mRNA 発現の亢進を抑制した。また、MUC5AC promoter (-3752/+68) を用いた luciferase assay において ibudilast (100 μ M) は TGF- α による MUC5AC 遺伝子の転写亢進を抑制した。これらのことから、ibudilast の MUC5AC 産生抑制作用は MUC5AC 遺伝子の転写抑制によるものだと考えられた。また、TGF- α の受容体である epidermal growth factor receptor (EGFR) 下流の ERK1/2 リン酸化の MUC5AC 発現への関与が報告されていたことから、ibudilast の ERK1/2 リン酸化に対する作用を調べた。その結果、TGF- α によるリン酸化 ERK1/2 の増加を ibudilast は濃度依存的 (1–100 μ M) に抑制した。また、ERK1/2 リン酸化阻害の MUC5AC 産生に対する影響を調べるため、MEK-ERK 阻害薬 U0126 (20 μ M) の作用を調べたところ、U0126 は TGF- α による MUC5AC 産生の亢進を抑制した。これらのことから、ibudilast は ERK1/2 リン酸化の抑制を介して MUC5AC 産生を抑制すると考えられた。さらに、ibudilast の MUC5AC 産生抑制作用および ERK1/2 リン酸化抑制作用に対して、PDE 阻害による PKA の活性化が寄与するかを調べた結果、両作用は PKA 阻害薬 H89 (10 μ M) の存在下においても消失しなかった。このことから、ibudilast の MUC5AC 産生抑制作用に対する PDE 阻害による PKA 活性化の寄与は小さいものと考えられた。加えて、*in vivo* 実験では lipopolysaccharide (LPS) の気管内投与モデルを用いて MUC5AC 産生および MUC5AC mRNA 発現に対する ibudilast の作用を調べた。LPS 投与群では気管支肺胞洗浄液中の MUC5AC 量の増加および肺組織中 MUC5AC mRNA の増加がみられ、これはステロイ

ド薬 dexamethasone (1 mg/kg, i.p.) 投与群で抑制された。一方で ibudilast (20 mg/kg, i.p.) 投与群では、dexamethasone と同様に MUC5AC 産生および MUC5AC mRNA 発現が抑制された。これらの結果から ibudilast は *in vivo* においても MUC5AC 産生抑制作用を持つと考えられた。以上より、従来、気管支喘息治療薬、脳循環改善薬として用いられているホスホジエステラーゼ阻害薬 ibudilast が MUC5AC 産生抑制作用をもつこと、およびその作用が ERK1/2 のリン酸化抑制および MUC5AC 遺伝子の転写抑制を介したものであることを明らかにした。

第 2 章では、既存薬ライブラリー 640 種を対象として新規 MUC5AC 産生抑制薬のスクリーニングを行った。実験標本には NCI-H292 細胞を用い、MUC5AC 産生の誘導には TGF- α (10 ng/ml) を用いた。NCI-H292 細胞に対して TGF- α (10 ng/ml) と被験薬 (2 μ M) を共処理し、24 時間後の培養上清中の MUC5AC 量を ELISA 法により測定し、各被験薬の MUC5AC 産生に対する作用を評価した。スクリーニングの結果、640 種の既存薬の中で、約 4%、25 種の化合物に MUC5AC 産生抑制作用が確認された。これら 25 種の化合物のうち、ステロイド骨格を持つ化合物は 17 種であったが、ステロイド薬が MUC5AC 産生抑制作用を示すことは既知であったことから、ステロイド系化合物を除いた 8 種に着目した。これら 8 種の中で、再現よく MUC5AC 産生を抑制した刺激性下剤の bisacodyl に着目した。Bisacodyl の MUC5AC 産生に対する濃度依存性を調べたところ、bisacodyl は 0.1–1 μ M で濃度依存的に TGF- α 誘導性の MUC5AC 産生を抑制した。さらに MUC5AC mRNA 発現に対する作用を調べたところ、MUC5AC 産生を抑制した濃度において bisacodyl は TGF- α による MUC5AC mRNA 発現を抑制した。以上の結果より、640 種の既存薬の中から新規 MUC5AC 産生抑制薬として、刺激性下剤 bisacodyl を見出した。また、その作用は MUC5AC mRNA 発現の抑制によるものであることを明らかにした。

既存薬に着目し、気道粘液主要成分 MUC5AC 産生に対する作用を解析した結果、気道粘液産生抑制薬へのドラッグリポジショニング候補化合物として、ホスホジエステラーゼ阻害薬 ibudilast と刺激性下剤 bisacodyl を見出した。Ibudilast については、臨床研究において慢性気道炎症患者の喀痰・後鼻漏症状に対して有効性を示すという作用が報告されており、本研究の成績も含めて考えると、気道粘液産生抑制薬としてリポジショニングできる可能性は高いだろう。一方で bisacodyl に関しては、詳細な作用機序の解明や *in vivo* における有効性の確認など、さらなる検討が必要である。また、気道粘液産生抑制薬としての利用を考えると、従来の下剤としての作用は副作用となり回避すべきものとなる。下剤としての bisacodyl が経口薬または坐剤として使用されていることを考えると、投与方法を吸入剤や鼻腔噴霧剤に変更することで、下剤としての作用を回避しつつ、気道粘液産生抑制薬としての作用を期待できるかもしれない。以上、本研究の成果により見出された ibudilast、bisacodyl の気道粘液産生抑制薬としてのリポジショニング、あるいは作用機序の解明を通じて、多くの呼吸器疾患に共通する喀痰症状に対して有効な治療薬の開発に繋がることが期待される。