

論文の内容の要旨

論文題目 新規エンドセリン ET_A/ET_B 受容体拮抗薬 TAK-044 の
薬効薬理に関する研究

氏 名 池 田 正 太

エンドセリンは強力な血管収縮作用を筆頭に、血管弛緩作用、心筋収縮力増強作用、細胞増殖作用など、多種多様な生理活性を有する内因性のペプチドであり、心筋梗塞、心不全、高血圧、急性腎不全、肺高血圧、くも膜下出血後の血管れん縮などの多くの疾患において、病態悪化因子としての役割が注目されている。内因性エンドセリンの作用を阻害する低分子化合物は、エンドセリンの生理学的作用を明らかにするツールとしてのみならず、これらの疾患に対する新しい治療薬となることが期待されている。本研究では、6つのアミノ酸からなる環状ペプチド誘導体であり、 ET_A および ET_B 受容体に対して高い親

和性を持つ新規エンドセリン ET_A/ET_B 受容体拮抗薬、TAK-044 (cyclo[D- α -aspartyl-3[(4-phenylpiperazin-1-yl)carbonyl]-L-alanyl-L- α -aspartyl-D-2-(2-thienyl)glycyl-L-leucyl-D-tryptophyl] disodium、図1)の薬理学的プロファイルを明らかにし、病態モデルにおける有効性を検証する目的で、以下の検討をおこなった。

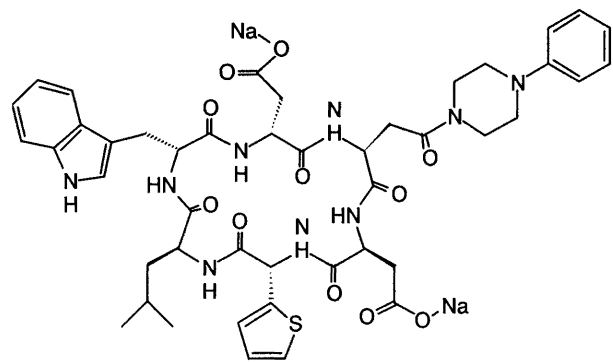


図1 TAK-044 の構造

ウサギ心室筋膜標本（主に ET_A 受容体を含む）および小脳膜標本（主に ET_B 受容体を含む）への標識エンドセリン-1 (ET-1)の結合を TAK-044は IC_{50} 値 3.8 nM および 130 nM で濃度依存的に完全に阻害した。また、ブタ冠動脈摘出血管標本の ET_A および ET_B 両受容体を介した ET-1 収縮を TAK-044 は pA_2 値 8.4 で抑制し、100 nM の TAK-044 によって ET-1 収縮反応はほぼ完全に抑制された。更に、低濃度の ET-3 刺激によって生じる、 ET_B 受容体を介した血管収縮反応に対しても TAK-044 (10 nM)は抑制作用を示した。これらにより *in vitro* の標本において TAK-044 は ET_A および ET_B 受容体に対して強い拮抗作用を示すことが明らかとなった。

TAK-044 の *in vivo* におけるエンドセリン拮抗作用の薬理学的プロファイルを明らかにする目的で、麻酔ラットを用いて以下の検討をおこなった。麻酔ラットに ET-1 (0.3 nmol/kg)を静脈内投与することにより、 ET_B 受容体を介する一過性の降圧反応に引き続き、主に ET_A 受容体を介する持続的な昇圧反応が生じた。TAK-044 (0.1-10 mg/kg, i.v.)の前処置によって ET-1 昇圧反応は用量依存的に有意に抑制され、10 mg/kg でほぼ完全に抑制された (図 2 左)。一方、 ET_A 受容体選択的拮抗薬の BQ-123 (10 mg/kg, i.v.)では昇圧反応は部分的にしか抑制されず(図 2 右)、

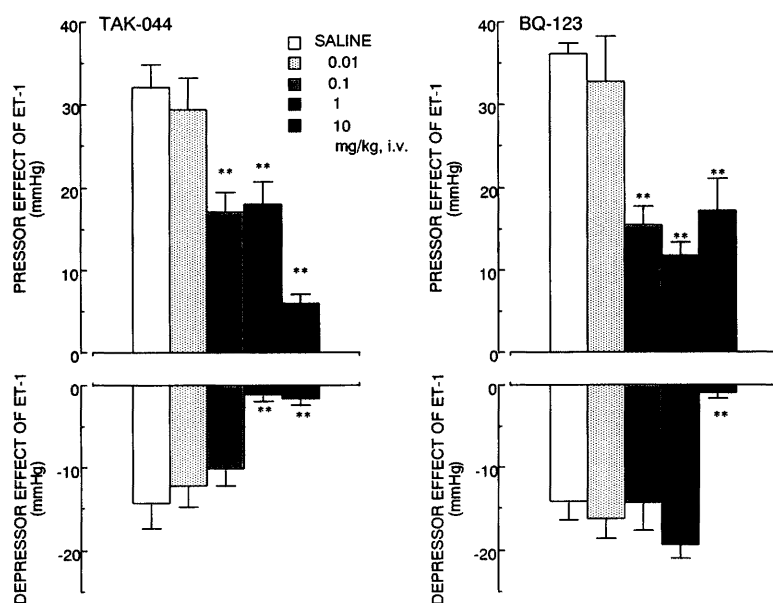


図 2 ET-1 の昇圧および降圧反応に対する TAK-044 (左)と BQ-123 (右)の作用

生理食塩水もしくはエンドセリン拮抗薬の投与 10 分後に ET-1 (0.3 nmol/kg)を静脈内投与し、生じた昇圧および降圧反応の最大値を平均値と標準誤差で示した (n = 4-12)。図中 **は生理食塩水投与群に対する有意差を示す (** P < .01)。

ET-1 昇圧反応における ET_A 受容体以外の受容体サブタイプの関与が示唆された。また、ET-1 による降圧反応に対しても TAK-044 (1-10 mg/kg) は有意な抑制作用を示した。TAK-044 10 mg/kg, i.v.による ET-1 昇圧抑制作用は 3 時間以上持続した。

ET_B 選択的作動薬であるサラフトキシシン (SRTX) S6c (0.3 nmol/kg)の静脈内投与によっても一過性の降圧反応に引き続き持続的な昇圧反応が生じた。

この昇圧反応の大きさは BQ-123 非感受性の ET-1 昇圧反応の程度と一致し、麻酔ラットにおける ET_B 受容体を介した昇圧反応の存在が確認された。SRTX S6c による降圧反応に対して TAK-044 (0.1-10 mg/kg, i.v.)は低用量から有意な抑制作用を示し、高用量の 10 mg/kg では SRTX S6c による昇圧反応をも有意に抑制した。一方、高用量 (10 mg/kg)の BQ-123 を用いても SRTX S6c 昇圧反応は抑制されなかった。この ET_B受容体を介した昇圧反応と降圧反応における、TAK-044 と BQ-123 に対する感受性の差異は、SRTX S6c (1 nmol/kg, i.v.)投与による腎血管収縮反応においても同様に認められた。すなわち TAK-044 は、STRX S6c の降圧反応を抑制する低用量の 0.3 mg/kg, i.v.では ET_B 受容体を介した腎血管収縮反応には無影響であったが、高用量の 3 mg/kg では降圧および収縮反応の両者を有意に抑制した。一方、BQ-123 (3-30 mg/kg, i.v.)に ET_B 受容体を介した収縮反応に対する抑制作用は認められなかった。

以上より、麻酔ラットにおける ET_B受容体を介した昇圧および血管収縮反応の存在が確認され、昇圧 (血管収縮)に関与する ET_B 受容体 (ET_{B2})と降圧 (血管弛緩)に関与する ET_B 受容体 (ET_{B1})は TAK-044 と BQ-123 に対する感受性の差によって薬理的に区別された。TAK-044 は *in vivo*においても持続性のあるエンドセリン拮抗薬として働き、低用量では ET_A 受容体による昇圧反応と ET_{B1} 受容体による降圧反応を、高用量では更に ET_{B2} 受容体を介する昇圧反応と腎血管収縮反応を抑制した。

エンドセリン拮抗薬の臨床適応疾患の一つと考えられる急性心筋梗塞に対する有効性を検証する目的で、ラット冠動脈虚血-再灌流心筋梗塞モデルにおける TAK-044 の作用について検討した (図3)。ラットの冠動脈を 1 時間閉塞し、その後 24 時間再灌流する事で、

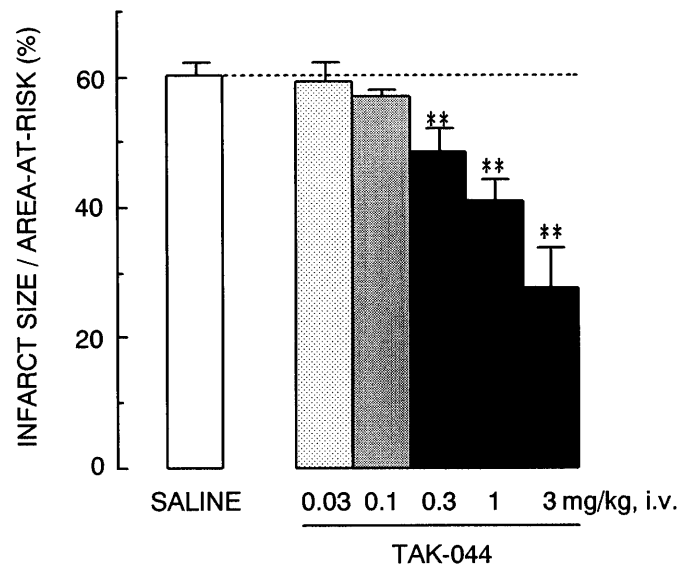


図3 ラット虚血-再灌流心筋梗塞モデルにおける TAK-044 の心筋梗塞巣進展抑制作用
生理食塩水もしくは TAK-044 (0.03-3 mg/kg)を静脈内投与し、その 10分後にラットの冠動脈を 1時間閉塞し、その後再灌流した。再灌流 24 時間後の心筋梗塞巣を危険領域に対する割合で示した。結果は 5-12 例の平均値と標準誤差とで表した。図中 **は生理食塩水投与群に対する有意差を示す (**P < .01)。

生理食塩水投与群において危険領域あたり 60 %の梗塞巣が生じた。TAK-044 (0.3 – 3 mg/kg, i.v.)の虚血 10 分前の投与によって心筋梗塞巣は用量依存的に有意に縮小し、3 mg/kg 投与群における危険領域あたりの梗塞巣は 28%となった。更に、TAK-044 は、虚血 10 分前投与、再灌流 10 分前投与および再灌流 1 時間後投与においても、ほぼ同程度の心筋梗塞巣進展抑制作用を示した。以上の成績から、心筋梗塞巣の進展に内因性のエンドセリンが重要な役割を担っていることが示されたとともに、TAK-044 が臨床において急性心筋梗塞に対する有用な治療薬となる可能性が示唆された。

TAK-044 の虚血心筋保護作用の作用機序を解明する目的で、麻酔犬スタンドマイオカーディウムモデルにおける作用を検討した。短時間 (15 分)の冠動脈結紮とその後の再灌流によって、生理食塩水投与群の虚血領域での心筋局所壁運動は、再灌流時の心筋血流量低下や心筋壊死を伴うことなく、再灌流 5 時間後まで持続的に低下した。TAK-044 (3 mg/kg, i.v.)の虚血 10 分前の投与は、虚血中および再灌流後の心筋局所壁運動の低下を有意に抑制したが、局所心筋血流に対しては有意な作用を示さなかった。更に、TAK-044 の投与は、非虚血領域の局所心筋壁運動や全身循環動態に対しても影響を与えなかった。以上より、スタンドマイオカーディウムの病態における内因性エンドセリンの関与が初めて示されたとともに、TAK-044 が血流量の改善に起因しない、直接的な虚血心筋保護作用 (内因性エンドセリンによる虚血増悪作用の阻害)を有することが示唆された。

以上の成績により、1) TAK-044 は *in vitro* および *in vivo* において、ET_A および ET_B 受容体を介する血管収縮反応、昇圧反応および降圧反応を強力に抑制すること、2) 血管収縮に関与する ET_B 受容体 (ET_{B2})と血管弛緩に関与する ET_B 受容体 (ET_{B1})は TAK-044 と BQ-123 に対する感受性の差によって薬理的に区別され、高用量の TAK-044 はその両者に対して抑制作用を示すこと、3) TAK-044 はラット心筋梗塞モデルおよび麻酔犬スタンドマイオカーディウムモデルにおいて、心筋梗塞進展抑制作用および局所心筋壁運動改善作用を示すこと、4) TAK-044 の虚血心筋保護作用の少なくとも一部に、血流量の改善では説明できない心筋直接的な保護機構が関与していることが示された。TAK-044 を用いて内因性 ET-1 が作用するすべてのエンドセリン受容体サブクラスを阻害することで、心臓の虚血-再灌流障害は改善された。この結果は新規エンドセリン ET_A/ET_B 受容体拮抗薬 TAK-044 が、エンドセリンの生理学的作用を明らかにするツールとしてのみならず、虚血性心疾患に対する有用な治療薬となることを示唆している。