

審査の結果の要旨

氏名 大野 宏明

本研究のタイトルは、「マクロファージコロニー刺激因子受容体チロシンキナーゼ阻害剤を用いた骨破壊抑制、抗炎症作用に関する研究」である。マクロファージコロニー刺激因子(M-CSF)は骨芽細胞などの間葉系細胞や血管内皮細胞、繊維芽細胞等、多くの細胞で産生され、そのレセプターである c-Fms を介したシグナル伝達により単球系細胞の分化、増殖に作用する。マクロファージに対しては、分化、炎症性サイトカイン産生の促進などの生理活性を有する。同じ単球系細胞に由来する破骨細胞の分化、生存維持に重要であることも知られている。M-CSF/c-Fms シグナルに制御されるマクロファージや破骨細胞については、炎症や骨破壊を伴う種々の疾患への関与がモデル動物を用いた検討より明らかにされているが、病態モデルを用いて、*in vivo* で c-Fms チロシンキナーゼの選択的低分子抑制物質の効果を判定した報告はなかった。本論文に述べられている研究の目的はそこにある。

本論文の主要な部分は第二章と第三章であり、第二章では、破骨細胞の骨破壊が病態進展に重要な骨転移モデルにおける c-Fms 阻害物質の有効性を検証し、その薬剤としての可能性と、M-CSF/c-Fms シグナルの疾患における重要性を明確にした結果が述べられている。第三章では、破骨細胞の骨破壊とマクロファージの炎症反応とが同時に病態進展に重要な役割を持つとされる関節炎モデルにおいて c-Fms 阻害物質の効果を検証した結果が述べられている。

第二章では c-Fms 阻害による骨転移の抑制効果を検証した結果が以下に要約するように述べられている。骨転移の病変部においては、骨転移性の高い腫瘍細胞が産生する副甲状腺ホルモン関連ペプチド(PTHrP)により骨芽細胞においては RANKL (receptor-activator of nuclear factor κ B ligand) の発現が促進され、この RANKL と可溶性の M-CSF の両方の刺激により破骨細胞の分化と骨吸収が亢進する。更に破骨細胞によって骨が破壊され、骨基質中の TGF- β が漏出すると、これが骨転移性の腫瘍細胞による PTHrP 産生を亢進するという悪循環を形成している可能性があった。学位申請者は、c-Fms に対する阻害物質は、破骨細胞の分化を阻害し、結果として骨破壊を始めとする病態進展を抑制できると考えた。経口投与可能な低分子の c-Fms チロシンキナーゼ特異的な阻害物質の候補である Ki20227 が、骨転移腫瘍によって誘導される骨破壊を抑制するかどうかを、ヒトメラノーマ細胞株である A375 を用いたヌードラット骨転移モデルにおいて検討した。X線写真を用いた評価と組織学的解析の結果、骨転移に伴う骨破壊の抑制、腫瘍細胞の浸潤、増殖の減少、病変部の骨表面における破骨

細胞数の顕著な減少が確認された。血清中の骨代謝マーカーである TRAP (tartarate resistant acid phosphatase)-5b レベルも、投与群において有意に低下していた。メラノーマ細胞による c-Fms 発現にはこの物質は直接影響しないこと、ラット卵巣摘出骨粗鬆症モデルにおいても破骨細胞分化誘導を抑制する作用を持つこと確認されたことから、この物質の骨破壊抑制作用は、腫瘍細胞に対する直接抑制作用ではなく、c-Fms 阻害を介した破骨細胞の分化に対する作用であると結論された。以上より c-Fms 阻害物質が骨転移に伴う骨破壊を抑制すること、骨転移の病態進行時における破骨細胞分化、骨破壊に対して M-CSF/c-Fms シグナルが重要な役割を果たすことが明らかになった。

第三章では、マウス II 型コラーゲン誘導関節炎 (CIA) モデルにおける薬効解析と題して、c-Fms 阻害物質の関節リウマチに対する効果を検証した結果が述べられている。関節リウマチにおいては炎症反応とそれに伴う骨破壊が病態進行に関与することがよく知られているが、M-CSF がマクロファージの関与する炎症反応を促進すること、関節炎病変部においてはマクロファージが産生する炎症性サイトカインが M-CSF 産生を誘導して炎症反応や炎症性骨破壊進展を誘導していることも事実である。従って、骨破壊抑制、抗炎症の観点からこの阻害物質の効果が期待された。学位申請者は先ず、in vitro において骨髄マクロファージを誘導し M-CSF 依存的な c-Fms リン酸化や細胞増殖、加えて M-CSF による TNF- α 産生誘導がこの物質によって用量依存的に抑制されることを確認した。次にマウス CIA モデルを用いて、この物質を経口投与し病態進行抑制効果を検討した。その結果、予防的検討では、病態の進行は顕著に抑制され、治療的検討においても投与直後から病態進行が遅延することが明らかとなった。関節炎病変部の組織学的解析から、炎症細胞 (F4/80 陽性マクロファージ) の浸潤の抑制、破骨細胞数の減少と骨破壊抑制が確認され、骨破壊の血清マーカーも低下していた。この物質を経口投与することにより骨破壊が抑制されるだけでなく、炎症が抑制され、関節炎の病態進行を遅らせることが可能であることが分った。

以上のように学申請者の研究によって、経口投与可能な c-Fms 阻害物質候補分子が、M-CSF のシグナルを抑制することにより破骨細胞の分化、骨吸収活性を抑制し、骨転移に伴う骨破壊などの病変を抑制することが明らかにされた。また同時に、骨転移の病態進行に M-CSF/c-Fms シグナル系が重要な役割を果たすことが証明された。関節炎モデルを用いた検討からは、この物質が破骨細胞の分化と炎症細胞の増殖や浸潤、サイトカイン産生等を複合的に抑制し、病態の進行を遅らせることが明らかとなった。本研究はこれらの疾患モデルにおいて、低分子 c-Fms 阻害物質候補分子による病態進展抑制作用を詳細かつ系統的に検討した初めての報告である。従って、本研究は実験病理学に基づく創薬学に資するところが大きく、本研究を行なった大野宏明は博士 (薬学) の学位を受けるにふさわしいと判断した。