

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 新谷 麻理

トロンボポエチン (TPO) は、造血幹細胞から血小板が分化する際に働く造血因子である。血小板が減少するいくつかの疾患に対して TPO 製剤が有効であることが確認されたが、抗体を産生する等の支障があり、患者に負担の少ないこれに替わりうる経口低分子薬が望まれていた。本論文は、低分子血小板増加薬として TPO 受容体作動薬が化合物ライブラリーから探索され、さらに構造の最適化によって得られた化合物 YM477 (1-(3-chloro-5-{{4-(4-chloro-2-thienyl)-5-(4-cyclohexylpiperazin-1-yl)-1,3-thiazol-2-yl}} carbamoyl)-2-pyridyl)piperidine-4-carboxylic acid) について薬理学的作用を検討したものであり、序論およびそれに続く 6 章から構成されている。

序論で背景を述べた後、まず第 1 章では、TPO 受容体への刺激に応じて増殖するヒト TPO 受容体発現 Ba/F3 細胞の増殖を YM477 が促進し、さらに細胞内の STAT3、STAT5 のチロシン残基および ERK のトレオニン残基のリン酸化を誘導したことから、YM477 はヒト TPO 受容体に作用し、TPO 様の作用を示す可能性が示唆された。また、YM477 はヒト臍帯血 CD34⁺細胞からのヒト巨核球形成を促進させたことから、YM477 は TPO と同様に造血幹細胞から巨核球への分化・成熟を促進することが示された。

第 2 章では、YM477 の種特異性についてヒト、チンパンジー、カニクイザル、ブタ、ビーグル犬、ウサギ、モルモット、ラット等の血小板を用いて検討している。その結果、YM477 はヒトおよびチンパンジーの血小板にのみ細胞内情報伝達を誘導したことから、TPO 受容体への YM477 の作用は種特異性が高いことが示された。

第 3 章では、高い種特異性を有する YM477 を *in vivo* で評価するために、免疫不全マウスである NOD/SCID マウスにヒト造血幹細胞を移植し、ヒト血小板を産生するマウスモデルを作製している。モデルマウス末梢血中においてはヒト血小板が 6 ヶ月以上検出され、また、モデルマウス血液中のヒト血小板はアゴニストの刺激により活性化したことから、機能的なヒト血小板を体内で安定的、継続的に産生されるモデルマウスが確立できた。本モデルマウスに YM477 を 14 日間経口投与した結果、投与開始 14 日目に有意なヒト血小板数の増加が認められた。以上の結果から、YM477 は TPO と同様に *in vivo* で血小板増加作用を有することが示された。

第 4 章では、YM477 のヒト血小板の凝集および活性化に及ぼす影響について検討している。YM477 は *in vitro* で血小板凝集および活性化の惹起・亢進が見られなかったことから、血小板凝集および血小板活性化亢進作用に対する YM477 の影響は小さいことが示された。

第 5 章では、YM477 が高い種差を持つことから TPO 受容体に対する YM477 の作用部位についての検討を行った。TPO 受容体の細胞外領域は、膜遠位ドメイン (CRH1) と膜近位ドメイン (CRH2) で構成されており、TPO は CRH1 部位に結合する。YM477 はカ

ニクイザル CRH1/ヒト CRH2 キメラ TPO 受容体発現 Ba/F3 細胞の増殖のみを促進したことから、YM477 の TPO 受容体への結合部位は CRH2 部位であり、TPO の結合部位とは異なることが示された。また、YM477 はヒト血小板への TPO の結合を阻害しなかったことからヒト TPO 受容体への YM477 の結合部位は TPO の結合部位とは異なることが示された。

第 6 章では、第 5 章の結果から、YM477 が TPO 受容体に対して TPO と同時に作用する可能性が考えられたため、YM477 と TPO の併用作用について検討している。その結果、YM477 は末梢血 CD34⁺細胞からの巨核球形成を TPO と同様に刺激した。さらに、YM477 は TPO が巨核球産生の最大効果を示す TPO 濃度下において濃度依存的に巨核球数を増加させたことから、YM477 と TPO は相加的な効果を示すことがわかった。

以上、本論文は、YM477 が TPO 受容体に作用し、*in vitro* および *in vivo* で TPO と同等の作用を示すこと、および YM477 が TPO とは異なる受容体部位に結合し、両者が相加的に働くことを示したものであり、YM477 が優れた血小板増加薬になる可能性を示すものである。これらの結果は学術上応用上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。