

〔別紙2〕

## 審査の結果の要旨

氏名 佐久間 健介

Gタンパク質共役型受容体 (GPCR) ファミリーは様々な疾患領域における重要な薬剤標的となっており、2000年以降に世界で上市された医薬品の約30%を占めている。「GPCR標的治療薬に対する評価系の構築と薬効の発現機構に関する研究」と題した本論文では、GPCRを重要な治療標的としてきた疾患の中から、統合失調症薬に対する新規評価系の構築と糖尿病治療薬の薬効発現機構について研究が進められた。統合失調症薬に対する研究では、様々なGPCRに対して薬理学的作用を有する既存薬や新規薬剤候補を包括的に評価しうる新しい指標として最初期遺伝子群 (IEGs) に着目し、症状の発症に至る可塑的な変化の早期マーカー候補となる遺伝子サブセットや治療薬に特徴的な転写調節プロファイルについて解析した。他方、糖尿病治療薬の研究では、中鎖脂肪酸をリガンドとする $G\alpha_q$ 共役型GPCRのGPR40に対するアロステリック様作動薬ファシグリファムが血糖値に依存したインスリン分泌促進作用を示す機構について、GPR40/ $G\alpha_q$ 下流シグナルのグルコース依存性インスリン分泌機構に対するクロストークや役割を調べ、同剤の示すユニークな薬効の発現機構について解析した。

### 1. GPCRを標的とする統合失調症治療薬に対する新しい評価系の構築

前半の研究では、正常マウスに対する既存薬や精神刺激薬の投与を行った際のマウス脳各部位 (前頭前野, 海馬, 側坐核, 線条体) におけるIEGs発現変動を定量リアルタイムPCR法で測定し、それらを時空間的にプロファイリングして薬剤間の比較検討を行った。検討した既存薬4剤のうちハロペリドール, オランザピン, アリピプラゾールの3剤が報酬系や運動機能と密接に関連する側坐核と線条体において、疾患との関連性がある7つのIEGs (*c-fos*, *Arc*, *Egr1*, *Egr2*, *Egr3*, *Sgk1*, *Ccn1*) のうち、*c-fos*, *Arc*, *Egr2*の3つを投与後一過性に発現上昇させることを明らかにした。この転写活性化の共通性は、ドパミンD2受容体 (D2R) に対する選択的な薬剤が示した実験結果との比較から、3剤がもつD2R阻害活性が強く反映されたものと考察した。他方、薬効・副作用ともに特異なクロザピンは、それらと全く異なった転写活性化 (全4部位における*c-fos*, *Sgk1*, *Ccn1*の誘導) を示し、そのユニークな薬理学的特性に違わぬプロファイルを示した。

さらに、ヒトで統合失調症様の症状を引き起こし、げっ歯類を用いた前臨床研究でも

急性薬剤誘発モデルに用いられるNMDA受容体拮抗薬投与が、側坐核・線条体における*Arc*, *Egr2*の発現低下の特徴を示したことから、既存薬の結果と合わせてD2Rシグナル遮断あるいはNMDA電流活性化による*Arc*, *Egr2*の発現上昇が薬効に繋がる遺伝子マーカー候補となる可能性を提示した。

## 2. GPR40作動薬ファシグリファムの血糖値依存的な薬効発現機構の解明

後半の研究では、インスリン分泌機構の研究に広く用いられるマウス膵β細胞株MIN6を用いて、グルコース依存性インスリン分泌の促進作用をもたらすGPR40/G $\alpha$ q下流シグナルの特性を解析した。まず各種阻害剤や活性化剤を用いたインスリン分泌アッセイによって、グルコースの代謝等で生じる細胞膜の脱分極がファシグリファムの作用発揮に必須であること、また、GPR40/G $\alpha$ q下流のIP<sub>3</sub>/Ca<sup>2+</sup>放出経路およびDAG/PKC経路の双方が、ファシグリファムのもつインスリン分泌促進作用に一定の寄与をもつことを明らかにした。さらに、ファシグリファム刺激およびIP<sub>3</sub>, DAG刺激がカルシウムオシレーションに与える影響をカルシウムイメージング実験で検証し、ファシグリファム及び下流IP<sub>3</sub>刺激がパルス状のインスリン分泌に重要な役割を担うカルシウムオシレーションをグルコース濃度依存性に増強することを示した。DAG刺激は、おそらく下流の分泌顆粒や細胞骨格への作用を通じて、カルシウムダイナミクスと相乗的にインスリン分泌促進に寄与すると解釈した。

以上を要するに本論文は、GPCRを標的とする既存治療薬や精神刺激薬のIEGs発現調節様式をもとに、大脳基底核での*Arc*, *Egr2*の発現上昇のような可塑的変化の早期遺伝子マーカー候補となり得るIEGsの存在を明らかにすると共に、GPR40作動薬であるファシグリファムの薬効発現機構に、グルコースに依存したインスリン分泌機構に対して、GPR40/G $\alpha$ q下流の2つの異なるシグナル伝達経路からの増強が介在することを明らかにしている。本研究の成果は、前者は未だ治療効果が十分でない統合失調症の諸症状に対して関連性の高いIEGsマーカーを見出し、それらを指標に*in vivo*スクリーニングから探索するという新薬創出の方法論に新たな手掛かりを与えると共に、後者は本メカニズムをもつ薬剤が安全な血糖コントロールを実現させる理由の一端を明らかにしたものである。GPCR創薬基盤研究という観点から創薬科学における重要な命題に取り組んだ本研究は、博士（薬科学）の学位として十分な価値があるものと認められる。