



Investigation Regarding the Properties of Protein Kinase C Selective Inhibitor as a Novel T cell Immunosuppressant

著者	FUKAHORI Hidehiko
発行年	2017
その他のタイトル	新規 T 細胞活性化抑制剤としてのプロテインキナーゼ C 選択的阻害剤の特性に関する研究
学位授与大学	筑波大学 (University of Tsukuba)
学位授与年度	2016
報告番号	12102甲第8172号
URL	http://hdl.handle.net/2241/00147577

氏名	深堀 英彦		
学位の種類	博 士 (生物工学)		
学位記番号	博 甲 第 8172 号		
学位授与年月日	平成 29年 3月 24日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Investigation Regarding the Properties of Protein Kinase C θ Selective Inhibitor as a Novel T cell Immunosuppressant (新規T細胞活性化抑制剤としてのプロテインキナーゼ C θ 選択的阻害剤の特性に関する研究)		
主査	筑波大学教授	理学博士	繁森 英幸
副査	筑波大学教授	工学博士	王 碧昭
副査	筑波大学准教授	博士 (農学)	臼井 健郎
副査	筑波大学准教授	博士 (理学)	山田 小須弥

論 文 の 要 旨

免疫系は、様々な感染種から生命を保護するために必要なシステムである。一方で、正常では反応しないはずの自己組織に対して免疫系が反応すると、関節リウマチに代表される自己免疫疾患の発症に繋がる場合がある。また、失われた臓器機能を補填するために行われる臓器移植治療においては、無処置であれば移植臓器が免疫系に拒絶され機能が失われてしまうため、適切な免疫抑制療法を行う必要がある。免疫系においてT細胞は特に重要な細胞であり、複数のT細胞機能抑制剤が既に臨床で使用されている。これらの薬剤の中には強い薬効を示すものがある一方、全身的な毒性が強いものもあり、安全性と高い薬効を兼ね備えた新規のT細胞活性化抑制剤が必要であると考えられている。著者の研究グループでは、先行情報を基にセリン/スレオニンキナーゼの一種であるプロテインキナーゼC θ (PKC θ)の選択的な抑制が、上述した“安全性と高い薬効を兼ね備えた新規のT細胞活性化抑制剤”の創出に繋がる可能性を考え、PKC θ 阻害剤の最適化研究を通じてAS2521780を創出している。そこで著者は、AS2521780のT細胞活性化に対する阻害プロファイルを調べることにより、T細胞免疫抑制剤としてのPKC θ 選択的阻害剤の可能性を検討することを目的として研究を行った。8種のPKCファミリー内におけるキナーゼ阻害作用を評価した結果、AS2521780はPKC θ に対してのみIC₅₀値で1 nMを下回る強い阻害作用を示し、次に強い阻害作用を示すPKC ϵ に対して30倍以上の選択性を示すことを見出した。PKC以外の27種のセリン/スレオニンおよびチロシンキナーゼの中でCDK2に対してのみ明らかな抑制作用が認められたが、そのIC₅₀値はPKC θ に対するものより100倍以上弱いことを見出した。これらのことから、AS2521780がPKC θ 選択的阻害剤であり、T細胞免疫抑制剤としてのPKC θ 選択的阻害剤の可能性を検討する上で適切な化合物であることを確認している。また、*in vitro*においてヒトT細胞の活性化に伴う増殖反応お

よびIL-2産生反応を検討した結果、AS2521780は濃度依存的な抑制作用を示すことを見出した。ラットおよびカニクイザル由来T細胞の活性化に伴うIL-2産生に対しても、AS2521780は抑制作用を示し、各IC₅₀値はほぼ同様の値（約10 nM）であった。ラット細胞における検討において、AS2521780はIL-2以外のサイトカイン（IFN- γ 、TNF- α 、IL-17A）に対しても顕著な産生抑制効果を示した。これらの結果から、PKC θ が複数動物種のT細胞活性化シグナルにおいて非常に重要な役割を果たしていることを明らかにした。さらに、ラットを用いた *in vivo* IL-2産生系におけるAS2521780の作用を検討した結果、AS2521780は投与用量依存的にIL-2産生を抑制し、特に30 mg/kgの投与では、投与5時間までの間IL-2産生をほぼ完全に抑制する強力な効果を示すことを見出した。関節リウマチの代表的な動物モデルであるラットアジュバント関節炎モデルを用いて、AS2521780の作用を検討した結果、感作後10日以降にcontrol群で認められる足腫脹を、AS2521780は投与用量依存的かつ有意差をもって抑制することを明らかにした。一方で、30 mg/kgの投与群では、足腫脹、血漿中IL-6産生および病理上の傷害のいずれもほぼ完全に抑制されていた。この最大用量においても体重増加等の重篤な副作用は認められなかったことから、PKC θ 阻害剤が有望な関節リウマチ治療薬となり得ることを示した。臓器移植後の拒絶反応に対する抑制効果を確認するために、ラット心移植モデルで評価した結果、単剤での評価においてAS2521780および汎PKC阻害剤ソトラスタウリンは、いずれもvehicle投与に対して有意な生着延長効果を示した。しかし、最大忍容用量での生着延長作用を比較するとAS2521780の方が有意に強かったことから、PKC θ 選択的阻害剤の安全性面での優位性が確認された。また、既存薬であるタクロリムスおよびミコフェノレートモフェチルとの併用効果を評価した結果、高い併用効果が確認された。さらに、サルを用いた腎移植モデル評価を実施した結果、AS2521780とタクロリムスとの併用により有意な生着延長効果が認められた。以上より、PKC θ 選択的阻害剤が移植後の拒絶反応抑制剤となりうることを見出した。

審 査 の 要 旨

本研究では、新規T細胞活性化抑制剤としてのプロテインキナーゼ C θ 選択的阻害剤の特性に関する研究を目的として、自社で創出した化合物AS2521780を用いた各種生物活性試験評価から、PKC θ がT細胞活性化シグナルにおいて非常に重要な役割を担っていることを明らかにしている。また、関節リウマチモデルおよび臓器移植モデルにおいてAS2521780が高い効果を示したことから、免疫抑制剤としての臨床的有用性も示した。本研究は、PKC θ という新しい薬剤標的を見出し、今後の新規免疫抑制剤創出の足掛かりを作った点で、創薬の進展に寄与するものであると考える。今後、本研究成果を活用し、実際の臨床で使用される薬剤が創出されることが強く期待されることから、博士論文研究として高く評価できる。

平成 29年 1月 26日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。