

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 宗 岡 聡

宗岡聡は、「抗炎症薬としての GPR39 アゴニストの薬理学的研究」というタイトルで研究を行った。以下に詳細を述べる。

グレリン受容体ファミリーに属する GPR39 は亜鉛受容体として知られているが、生理学的役割の研究は途上である。亜鉛は生体内に 2 番目に多い微量金属元素であり、免疫機能に関与していることが知られているが、その作用の分子機序は明確には解明されていない。宗岡は、GPR39 が抗炎症機能を有するという仮説を立て検証を行った。GPR39 アゴニストとして TC-G 1008 を用いて、敗血症モデルと自己免疫性肝炎モデルの 2 つの炎症性マウスモデルにおける GPR39 アゴニストの抗炎症作用を初めて報告し、その治療効果を示唆するとともに、炎症性マクロファージに発現する GPR39 の抗炎症作用への関与を指摘した。

まず、宗岡はマウス腹腔浸潤細胞を用いて GPR39 の発現および GPR39 アゴニストによるサイトカイン産生調整作用を調べた。チオグリコレート接種により腹膜炎を惹起したマウスから回収した腹腔細胞において、炎症を惹起しない正常マウスから回収した腹腔常在細胞と比較し、GPR39 の発現が上昇していることが定量 PCR により見出された。また、抗炎症性サイトカイン IL-10 を指標として、腹腔浸潤細胞における LPS 刺激によるサイトカイン産生を GPR39 アゴニストが抗炎症に調整することが明らかにされた。なお、GPR39 ノックアウトマウス由来腹腔浸潤細胞では GPR39 アゴニストは IL-10 産生に影響しなかったことから、GPR39 アゴニストによる抗炎症性サイトカイン産生促進作用は GPR39 依存的であることを確認している。腹腔浸潤細胞の大部分はマクロファージであることから、マクロファージに発現する GPR39 による抗炎症作用が実験的に検証された。

続いて宗岡は、LPS を腹腔内に投与して惹起したマウス敗血症モデルを用いて、経口投与した GPR39 アゴニストの抗炎症作用を調べた。このモデルは、敗血症の病態を理解するため、また敗血症治療の薬剤候補化合物を評価するために広く使われている。抗炎症性サイトカイン IL-10 および炎症促進性サイトカイン TNF- $\alpha$  の血中濃度を指標として、LPS 誘発敗血症モデルにおけるサイトカイン産生を GPR39 アゴニストが抗炎症に調整することが明らかにされた。なお、GPR39 ノックアウトマウスを用いて構築した LPS 誘発敗血症モデルでは GPR39 アゴニストはサイトカインを変動させなかったことから、GPR39 アゴニストによるサイトカイン調整作用は GPR39 依存的であることを確認している。また、LPS 投与によるサイトカイン産生は野生型マウスでも GPR39 ノックアウトマウスでも同等に見られたこと、GPR39 アゴニストは LPS 投与を行わない非刺激マウスにおいては血中サイトカインを変動させなかったことから、GPR39 は正常状態でのサイトカイン産生および LPS シグナル伝達自体にも関与

しないものの、炎症状態において LPS シグナルを調整し抗炎症作用を示すことが示唆された。さらに、GPR39 アゴニストは致死性の LPS 誘発敗血症モデルにおける生存率を有意に改善し、マウスを炎症から保護したことから、敗血症モデルにおける GPR39 アゴニストの抗炎症作用が実験的に検証された。

GPR39 アゴニストの標的臓器の探索として、LPS 敗血症モデルにおける脾臓、肝臓、肺、十二指腸、空腸、回腸、および結腸の発現解析を行い、GPR39 アゴニストによる有意な IL-10 発現亢進を肝臓および空腸において見出した。本結果に基づき、宗岡は次に肝炎における GPR39 の抗炎症作用を仮説とし、検証を行った。すなわち、コンカナバリン A を尾静脈内投与して惹起したマウス自己免疫性肝炎モデルを用いて、経口投与した GPR39 アゴニストの抗炎症作用を調べた。このモデルは、自己免疫性肝炎の病態を理解するため、また肝炎治療の薬剤候補化合物を評価するために広く使われている。肝障害マーカーである GPT の血中濃度は、GPR39 アゴニストにより用量依存的に抑制された。さらに、肝組織の組織病理学的解析を実施し、肝細胞壊死および炎症性細胞浸潤などの組織病理学的所見により示される重篤な肝損傷が GPR39 アゴニストにより用量依存的に抑制されることが明らかとされている。また、炎症促進性サイトカイン IL-6 および TNF- $\alpha$  の血中濃度を指標として、コンカナバリン A 誘発自己免疫性肝炎モデルにおけるサイトカイン産生を GPR39 アゴニストが抗炎症に調整することが明らかにされた。したがって、自己免疫性肝炎モデルにおける GPR39 アゴニストの抗炎症作用が実験的に検証された。

以上のマウスモデルにおける検討に加え、宗岡はヒトにおける GPR39 の抗炎症作用を示唆するデータも示している。ヒト単球細胞株 U937 を分化させた単球由来マクロファージにおいて、炎症促進性サイトカイン IL-6 を指標として、LPS 刺激によるサイトカイン産生を GPR39 アゴニストが抗炎症に調整することが明らかにされた。さらに、公共マイクロアレイデータ解析により、ヒト病態における GPR39 の発現変動を指摘している。C 型肝炎ウイルス感染肝臓において、正常肝臓と比較して GPR39 の発現が有意に上昇していることを見出し、ヒトにおいても GPR39 アゴニストが抗炎症作用を示す可能性の一端を明らかとした。

上記のように、本研究では 2 つの炎症マウスモデルを用いた解析により、GPR39 アゴニストが生存延長効果を含む優れた抗炎症作用を示すことを初めて明らかとし、サイトカインを指標としてその標的細胞として炎症性マクロファージの関与を示唆した上で、さらに、ヒト細胞株およびヒト患者サンプルを用いた解析によりマウスモデルで確認された抗炎症作用がヒトでも有効である可能性を示唆するという独創的な創薬研究が展開された。これらの知見は、GPR39 の創薬標的としての有用性を実証し、GPR39 アゴニストの薬理研究に貢献するとともに、炎症疾患に対する治療法の確立につながるものであると考えられ、薬学研究に大きく寄与するものである。

以上より、本論文は博士（薬科学）の学位請求論文として合格と認められる。