

論文の内容の要旨

論文題目 新規ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬CS-3150の
薬理作用の研究

氏 名 新井 清志

アルドステロンは副腎で産生・分泌されるステロイドホルモンで、腎尿細管上皮のミネラルコルチコイド受容体 (mineralocorticoid receptor; MR) に作用して Na^+ 再吸収及び K^+ 排泄を引き起こし、生体内の電解質バランス・体液量調節を介して血圧上昇を引き起こす古典的な作用が知られていた。しかし近年、腎臓の非上皮系組織や心臓、血管などにもMRが発現し、このMRの活性化が炎症や線維化、酸化ストレスを直接惹起することで、心血管及び腎疾患の病態形成に重要な役割を担っていることがわかってきている。実際、既存MR拮抗薬 (スピロラクトン及びエプレレノン) を用いた大規模臨床試験や多数の臨床研究により、MR活性化を抑制することが、高血圧症のみならず心不全や腎疾患の治療に有効であることが明らかとなっている。

しかし、MR阻害の有用性が明確となっている一方で、既存MR拮抗薬は複数の問題点を抱えている。最初に開発されたスピロラクトンは、ステロイド骨格を有し、そのMRへの選択性の低さから他ステロイドホルモン受容体 (アンドロゲンやプロゲステロン) に作用して、性ホルモン関連の副作用が頻発することが問題となっている。続いて開発されたエプレレノンもステロイド骨格を有しており、MR選択性の問題点は改善されたものの、MR拮抗活性の弱さやPKプロファイルに起因して、スピロラクトンよりも薬効が弱いことが報告されている。また、両者に共通の副作用として、高カリウム血症 (MRが阻害されることで尿中へのカリウム排泄が抑制されるために生じる) が挙げられる。エプレレノンは、微量アルブミン尿を呈する糖尿病患者や中等度以上の腎機能低下患者を対象とした米国での開発試験において、この高カリウム血症が高頻度に認められたことから、これらの患者に対して投与禁忌となっている。このように既存MR拮抗薬は、有効性・安全性の両面で改善の余地が残された薬剤といえる。

こうした現状を踏まえ、我々は、有効性に優れ且つ安全性の懸念の少ない新しいMR拮抗薬を開発できれば、より幅広い患者層のアンメットニーズに応えることができるのではないかと考えた。そして①～③の仮説に基づくプロファイルを有する化合物の取得を目指し

て探索研究に着手し、その後Exelixis社との共同研究により、非ステロイド骨格のピロール誘導体であるCS-3150を獲得するに至った。

- ①MR拮抗活性の向上→より強力な降圧・臓器保護効果の発揮
- ②従来のステロイド骨格からの脱却、MR選択性の向上→副作用リスクの軽減
- ③用量反応性に優れた、良好なPKプロファイル→高カリウム血症を頻発せずに降圧・臓器保護効果を発揮する用量設定のしやすさ

本研究ではまず、CS-3150のMR拮抗薬としての基本的な薬理プロファイルを明らかにした後、病態モデル動物を用いて、①既存MR拮抗薬との比較という観点からの検討、及び②CS-3150自体の薬理作用特に腎保護作用に着目した検討を実施した。

1. 新規MR拮抗薬CS-3150の基本薬理プロファイルの検証

まず、in vitroにてCS-3150のMRに対する作用を評価すると共に、尿中 Na^+/K^+ 比の変動を指標としてin vivoでのMR拮抗作用を評価した。CS-3150は、

- バインディングアッセイにて、MRに対し、スピロノラクトン及びエプレレノンの約4及び76倍高い結合親和性を示した。
- レポーターアッセイにて、MRに対し、スピロノラクトン及びエプレレノンの約18及び260倍強力なアンタゴニスト活性を示した。
- 上記両アッセイにて、MR以外のステロイドホルモン受容体（グルココルチコイド、アンドロゲン、プロゲステロン）と比較して1000倍以上の極めて高いMR選択性を示した。
- 両副腎摘出ラットにて、単回経口投与により、アルドステロンによる尿中 Na^+/K^+ 比の低下を抑制し、その作用はスピロノラクトン及びエプレレノンよりも約10倍低用量から認められ、且つ長時間持続していた。またPKプロファイルの解析から、スピロノラクトン及びエプレレノンと比べて血中半減期が長いことが明らかとなり、CS-3150の強力且つ持続的なMR拮抗作用は、in vitroでの強力なMR拮抗活性に加え、投与後の安定した血中曝露に起因するものと推察された。

以上の結果から、CS-3150は既存MR拮抗薬に比べ、強力且つ持続性のあるMR拮抗活性と極めて高いMR選択性を特徴とする、新規MR拮抗薬であることが示された。

2. Dahl食塩感受性高血圧ラットの病態進展に対するCS-3150の作用

次に、MR関連高血圧症のモデル動物の1つDahl食塩感受性高血圧ラット（以下Dahlラット）にCS-3150を7週間反復投与して、病態進展（高血圧及び心・腎障害）に対する作用を評価した。CS-3150は、

- 高食塩負荷による血圧上昇を用量依存的に抑制し、0.5 mg/kgの用量で、スピロノラクトン及びエプレレノンの100 mg/kgと同程度の昇圧抑制作用を示した。
- 高食塩負荷による尿タンパク排泄量の増加及び腎肥大を用量依存的に抑制し、糸球体硬化・尿細管障害・尿管間質線維化の抑制作用も認められた。
- 心肥大及び血中BNP上昇を抑制し、心保護効果も確認された。

- 同程度の昇圧抑制作用を示した用量において、臓器保護効果をスピロラクトンと比較したところ、複数のパラメータに対してCS-3150の方がより強い効果を示し、昇圧抑制作用に依存しない直接的な臓器保護作用の観点で優れている可能性が示唆された。また、エプレレノンの効果は用量依存性に乏しく、用量反応性の観点でCS-3150の方が優れている点も明らかとなった。
- 高カリウム血症は「血清カリウム値が5.5 mEq/L以上」と定義されているが、本検討では投与群全てで血清カリウム値は5.5 mEq/L未満であった。一方で今回認められた、用量反応性に優れるというCS-3150の特徴は、臨床において高カリウム血症を頻発させない適切な用量設定を可能とするために有用であろうと考えられた。

3. DOCA/食塩負荷高血圧ラットに対するCS-3150の作用

MR関連高血圧症には、血中アルドステロン濃度が高値のタイプと、正常あるいは低値のタイプがあり、前項2で用いたDahlラットは後者を反映した病態モデルに該当する。一方、MRのリガンドとして知られるDOCAの投与及び高食塩食の負荷によって高血圧を惹起させたラット (DOCA/食塩負荷高血圧ラット、以下DOCAラット) は、前者を反映した病態モデルとされている。本項ではDOCAラットを用いて、以下2つの検討を実施した。

まず、DOCA/食塩負荷の開始と同時にCS-3150を4週間反復投与したところ、CS-3150は、

- DOCA/食塩負荷により誘発される血圧上昇及び腎障害 (尿タンパク排泄量の増加、腎肥大、糸球体硬化、尿細管障害) を用量依存的に抑制した。0.3 mg/kgの用量においては、昇圧抑制作用がほとんど認められなかった一方で、腎障害に対して有意な抑制効果が認められた。
- また、腎臓における遺伝子発現解析の結果、線維化・炎症・酸化ストレス関連マーカーのmRNA発現増加、及びポドサイトが形成するスリット膜の構成分子のmRNA発現低下が、CS-3150の投与により抑制されていた。

これらの結果から、DOCAラットの腎障害進展に対するCS-3150の抑制効果は、昇圧抑制による間接的な作用だけでなく、腎臓における抗線維化、抗炎症、抗酸化ストレス及びポドサイト保護を介した直接的な作用も関与していることが示唆された。

次に、DOCA/食塩負荷を4週間実施して高血圧及び腎障害を惹起させた後にCS-3150を4週間反復投与して、一度発症した病態に対するCS-3150の治療効果を評価した。CS-3150は、

- DOCA/食塩負荷を継続した条件下において、血圧にほとんど影響を与えることなく、尿タンパク排泄量及び腎臓重量を著明に低下させ、糸球体硬化及び尿細管障害を劇的に改善した。この結果は、DOCA/食塩負荷により誘発された腎障害を、CS-3150が血圧非依存的に回復させたことを示しており、DOCAラットにおいて薬剤投与により腎障害が改善することを明らかにした最初の知見である。詳細なメカニズムの解明は今後の課題だが、腎臓の組織修復の過程で、硬化部位における細胞外マトリックス蛋白の分解促進や幹/前駆細胞の関与が報告されており、病態の主要因である腎臓でのMR活性化をCS-3150が抑制することで、これらの反応が促されたのかもしれない。

- また、DOCA投与を中断した条件下においては、CS-3150は著明な血圧低下を伴って、腎障害のさらなる改善作用を示しており、DOCAラットの腎臓及び腎臓以外の組織のMR活性化が、CS-3150の投与とDOCA投与中断の組合せによって完全に抑制されたためと推察された。

以上の結果より、DOCAラットにおいて、CS-3150はその高血圧及び腎障害の進展を抑えるだけでなく、一度形成された病態を改善することが明らかとなった。特に、CS-3150の著明なタンパク尿低下作用は、糸球体硬化及び尿細管障害の明確な組織学的改善を伴っており、CS-3150による腎障害の寛解を示唆する初めての知見が得られた。