

(論文内容の要旨)

ミネラルコルチコイド受容体 (mineralocorticoid receptor; MR) は腎尿細管上皮に発現し、 $\text{Na}^+$ 再吸収及び $\text{K}^+$ 排泄作用により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ほか、腎臓の非上皮系組織や心臓、血管などにも発現し、炎症や線維化、酸化ストレスを直接惹起して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。実際、既存 MR 拮抗薬 (スピロノ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。一方で既存 MR 拮抗薬は、その MR への選択性の低さや MR 拮抗活性の弱さ、PK プロファイルに起因した複数の問題点を抱えており、有効性・安全性の両面で改善の余地が残された薬剤である。こうした現状を踏まえ、申請者らは、有効性に優れ且つ安全性の懸念の少ない新しい MR 拮抗薬の探索研究に着手し、その後 Exelixis 社との共同研究により CS-3150 を獲得するに至った。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検証後、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が行われた。

## 1. 新規 MR 拮抗薬 CS-3150 の基本薬理プロファイルの検証

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

- ・ バインディングアッセイ及びレポーターアッセイにて、CS-3150 は MR に対し、スピロノラクトンとエプレレノンのそれぞれ約 4 及び 76 倍高い結合親和性、約 18 及び 260 倍強力なアンタゴニスト活性を示した。また両アッセイにて、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、CS-3150 は単回経口投与により、アルドステロンによる尿中  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  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。

以上の結果、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 の作用の検証

MR 関連高血圧症モデルの 1 つである Dahl 食塩感受性高血圧ラットに、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。
- ・ CS-3150 は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・尿細管間質線維化の抑制作用も認められた。また、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ノラクトン

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。

以上の結果、CS-3150は食塩感受性高血圧とそれに伴う心・腎障害の進展を抑える有望な治療薬になりうることを示唆された。

### 3. DOCA/食塩負荷高血圧ラットに対する CS-3150 の作用の検証

もう 1 つの MR 関連高血圧症モデルである DOCA/食塩負荷高血圧ラット (以下 DOCA ラット) を用いて、2 つの検討を行った。

#### 3.1. DOCA/食塩負荷高血圧ラットの病態進展に対する作用

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、

- ・ 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) が用量依存的に抑制された。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。
- ・ 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。

以上の結果、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。

#### 3.2. DOCA/食塩負荷高血圧ラットの病態に対する治療効果

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 週間反復投与したところ、

- ・ DOCA/食塩負荷を継続した条件下において、血圧に影響を与えることなく、尿タンパク排泄量及び腎臓重量が著明に低下し、糸球体硬化及び尿細管障害が劇的に改善した。
- ・ DOCA 投与を中断した条件下においては、CS-3150 は著明な血圧低下も伴って、腎障害のさらなる改善作用を示していた。

以上の結果、DOCA ラットにおいて、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。腎臓の組織修復の過程において、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いるが、今回見出された腎障害の寛解の詳細なメカニズム解明が今後の課題である。

以上を要するに、本論文では、CS-3150 が既存 MR 拮抗薬に比して優れたプロファイル (強力かつ持続性のある MR 拮抗活性、高い MR 選択性、PK に起因した良好な用量反応性) を有し、病態動物において強力な昇圧抑制・臓器保護効果を発揮する新規 MR 拮抗薬であることを明らかにしている。特に、上記 3.2 項の DOCA ラットにおける腎障害改善作用は初めての知見であり、MR 拮抗薬により、これまで報告されていた腎症の「進展抑制」だけではなく「治療」が可能となることを示唆した点は、臓器保護薬としての MR 拮抗薬の新たな可能性を見出したといえる。CS-3150 の腎障害改善作用の機序解明や他疾患への作用、既存 MR 拮抗薬との分子レベルでの差異化点の抽出など、今後の研究成果に期待したい。

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。