



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	自己免疫疾患におけるBTK阻害剤チラブルチニブの薬理学的作用の研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	有座, タ子
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(薬科学)
Dissertation Number	乙第7082号
Issue Date	2019-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/75828
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Yuko_ARIZA_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士(薬科学) 氏 名 有座 タ子

学 位 論 文 題 名

自己免疫疾患における BTK 阻害剤チラブルチニブの薬理学的作用の研究

自己免疫疾患の病態には免疫異常が関与し、ステロイドや免疫抑制剤により病態のコントロールが可能なものの、依然として効果は十分でなく、しばしば重篤化して生命予後に影響する。また、ステロイドの副作用は深刻な問題であり、高いアンメットメディカルニーズが存在する。自己免疫疾患は自己抗体の産生が特徴であり、B 細胞を標的とする治療法である B 細胞除去療法や B 細胞活性化制御薬が注目されている。B 細胞除去療法の一つであり、B 細胞の表面抗原 CD20 分子を標的とする抗 CD20 モノクローナル抗体のリツキシマブは、関節リウマチ (RA) や天疱瘡等の自己免疫疾患の治療薬として承認されている。一方、リツキシマブ治療は入院を要するため利便性が悪く、かつ長期間に渡り B 細胞数を低下させるため液性免疫の低下に伴った感染症が報告されており、新たな治療選択肢が望まれる。

BTK は、非受容体型タンパク質チロシンキナーゼの Tec ファミリーに属し、主として造血細胞、特に B 細胞に発現し、T 細胞や形質細胞には発現しない。B 細胞では B 細胞受容体 (BCR) の下流に位置し、B 細胞の増殖と活性化を制御し、生存、分化を促進することが知られている。また、BTK 遺伝子に変異のある X 連鎖無ガンマグロブリン血症の患者では、プロ B 細胞からプレ B 細胞への分化がほぼ完全に停止している。B 細胞活性化制御の観点から、BTK 阻害剤は、自己免疫疾患の新たな治療選択肢となる可能性があると考え、本研究では、免疫細胞並びに自己免疫疾患モデルにおける BTK 阻害剤の薬理学的作用を検討した。

本研究で用いたチラブルチニブは、BTK のキナーゼ活性を不可逆的に強力に阻害する共有結合型の経口剤である。チラブルチニブの BTK キナーゼ活性に対する阻害の IC₅₀ 値は 2.1 nmol/L であり、BTK と同じファミリーの TEC キナーゼに対して同程度の阻害活性を示すものの、その他、BTK 上流に位置する細胞質型チロシンキナーゼ (FYN, LCK 及び LYN) に対する IC₅₀ 値は 375 から 1660 倍超と乖離しており、高いキナーゼ選択性を有する。

1. B 細胞制御を介したチラブルチニブによる薬理学的作用

自己免疫疾患の病態には抗核抗体、抗 DNA 抗体などの自己抗体の関与が多数報告されている。また BTK ノックアウトマウスは B 細胞活性化抗原 (TNP-フィコール) に対する特異的抗体産生能が欠損しているとの知見がある。そこでチラブルチニブの *in vivo* 作用を初めに検討するため、TNP-フィコール誘導モデルにおける検討を行ったところ、チラブルチニブは B 細胞からの TNP 特異的 IgM 産生を有意に抑制した。次に、自己反応性 B 細胞が病態形成過程に関与すると考えられている全身性エリテマトーデスについて、ループス腎炎様症状を自然発症する NZB/W F1 マウス及び MRL/lpr マウスを用い、チラブルチニブの作用を

検討した。両マウスでは加齢に伴って抗 dsDNA 抗体の上昇、腎臓への抗体沈着による腎障害が認められるのに対し、チラブルチニブを混餌投与したところ、いずれのマウスにおいても血清中の抗 dsDNA 抗体濃度及び尿中蛋白濃度の低下が認められた。また、チラブルチニブを投与したマウスの脾細胞では、抗 dsDNA 抗体産生細胞数、胚中心 B 細胞数、形質細胞数の減少が認められた。以上より、本モデルにおいて、チラブルチニブが B 細胞を制御することによりループス腎炎様の病態進行を抑制したと考えられた。

2. B 細胞以外の細胞の制御を介したチラブルチニブによる薬理学的作用

BTK は BCR シグナルの他にも、肥満細胞や好塩基球の Fc イプシロン受容体 (FcεR) 及び単球やマクロファージの Fc ガンマ受容体 (FcγR) の下流シグナルのメディエーターとして機能を果たしている。自己免疫疾患の発症過程には、B 細胞以外に様々な免疫細胞が関与することから、これらの細胞に対するチラブルチニブの作用を検討した。チラブルチニブは、肥満細胞では FcεRI 誘発の脱顆粒及びサイトカイン産生を、単球では FcγR 並びに TLR 誘発によるサイトカイン産生を抑制した。さらに、破骨前駆細胞からの RANKL 刺激による破骨細胞への分化、サイトカイン産生、骨吸収も抑制することがわかった。以上より、BTK が B 細胞以外の細胞のシグナル伝達においても重要な役割を果たしており、チラブルチニブが多面的な抗炎症作用をもたらすと考えられた。

そこで、II 型コラーゲン惹起によって誘導した関節炎モデル (CIA) において、関節炎発症後よりチラブルチニブを投与し、治療的效果を検討した。本条件では、チラブルチニブを投与しても既に上昇した血清中の抗 II 型コラーゲン抗体濃度に変化は無い一方で、肢浮腫及び関節炎スコアは、媒体群と比べて有意に低値を示した。また、チラブルチニブを投与した CIA マウスの関節組織では、IL-6 などの各種炎症性サイトカイン及びマトリックスメタロプロテアーゼの mRNA の低下や、破骨細胞数の低下が認められたことから、チラブルチニブが B 細胞からの自己抗体産生抑制以外の作用により、関節破壊を抑えたと考えられた。

関節破壊の抑制には、炎症を抑制した結果によるものと直接的な骨破壊の抑制の両者が考えられる。そこで、*in vivo* で直接的にチラブルチニブが骨破壊を抑制するかを明らかにするため、破骨細胞分化の主要因子である RANKL 惹起による骨破壊モデルにおいてチラブルチニブの作用を検討した結果、チラブルチニブは RANKL 惹起による骨密度の低下及び血清中 TRAP5b 濃度の上昇を有意に抑制した。以上より、チラブルチニブは、*in vivo* にて炎症を抑制するのみでなく、直接的に骨破壊を抑制することが示唆された。また、本評価系では、RA 治療薬として承認されている JAK 阻害剤のトファシチニブや、BTK 上流に位置するキナーゼ SYK の阻害剤であるフォスタマチニブは、骨破壊を抑制しなかったことから、BTK 阻害剤は、JAK 並びに SYK の阻害剤とは異なる作用機序により RANKL 惹起による骨破壊を抑制することが示唆された。

以上の研究より、チラブルチニブは B 細胞並びに種々の炎症細胞、破骨細胞の機能を制御し、これらの細胞が関与する自己免疫疾患モデルにおいて有効性を示すこと、また、チラブルチニブが他のシグナル阻害剤とは異なる作用機序を有し、強い骨破壊抑制作用を示すことを明らかにした。本研究にて見いだされた知見より、チラブルチニブが、自己免疫疾患における新たな治療選択肢となることが期待される。