

氏名(生年月日) やま だ ひろ ゆき  
山 田 裕 之 (1976年3月27日)

学位の種類 博士(薬学)

学位記番号 論博薬 第218号

学位授与の日付 2019年9月30日

学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当

学位論文題目 カテプシンK阻害剤のサル骨粗鬆症及び関節リウマチモデルにおける薬効薬理研究

論文審査委員 (主査) 教授 加藤 伸一

(副査) 教授 秋葉 聡

(副査) 教授 田中 智之

## 論文内容の要旨

### 序章(はじめに)

骨粗鬆症は、骨量が低下することで骨折し易くなる疾患である。骨粗鬆症による骨折は、生活の質(QOL)を低下させるだけでなく、寝たきりや死亡率の増加にもつながり、要支援・要介護の主原因にもなっている。ゆえに、骨量を増加させて骨折を予防することが、薬物治療の目的となる。骨粗鬆症治療の第一選択薬であるビスホスホネート製剤は、椎体(背骨)骨折の予防効果は強いものの、非椎体(手足の骨)骨折への効果は十分ではなく、より効果的な薬剤の開発が望まれている。カテプシンKは破骨細胞に発現するプロテアーゼであり、I型コラーゲンを分解することで、骨吸収において重要な役割を果たしている。カテプシンK阻害剤であるONO-5334は、臨床第II相試験において、閉経後骨粗鬆症患者の骨密度を増加させたが、骨折予防効果までは検証されていない。そのため、ヒトに近いサルを用いて、ONO-5334の骨粗鬆症に対する長期投与の効果、特に臨床では評価が困難な骨強度や骨組織への影響と、臨床でも評価可能な骨密度や骨代謝マーカーとの関連性を調べた。

関節リウマチ(RA)は、関節炎及び関節破壊を主症状とする自己免疫疾患である。関節破壊が進行すると、関節機能が失われ、QOLが著しく低下する。RAの標準治療薬であるメトトレキサート(MTX)は、高い効果が期待できるものの、肝障害や骨髄抑制などが問題となっている。近年、生物製剤や分子標的薬の登場により、RAの治療は大きく進歩したが、感染症などの副作用や薬剤費の高騰などの課題があり、安全かつ効率的に関節破壊を抑制できる新たな薬剤の開発が求められている。

カテプシンKはRA患者の滑膜線維芽細胞にも発現が確認されており、II型コラーゲンを分解することで軟骨破壊にも関与することが報告されている。げっ歯類のコラーゲン誘発関節炎(CIA)モデルで、カテプシンK阻害剤が有効性を示すことが報告されているが、霊長類での関節炎に対する効果は不明であった。さらに、ヒトとげっ歯類の間には免疫システムに大きな種差が存在することから、ONO-5334のRAに対する効果について、ヒトに近いサルを用いて検討した。

### 第1章 サル卵巣摘出骨粗鬆症モデルにおけるカテプシンK阻害剤ONO-5334の効果

本章では、サル卵巢摘出 (OVX) 骨粗鬆症モデルにおける骨代謝マーカー、骨密度、骨強度及び骨形態計測に対する ONO-5334 の作用について、ビスホスホネート製剤の 1 つであるアレンドロネートと比較検討した。120 頭の雌性カニクイザルを偽手術群、対照群、ONO-5334 の 1.2、6 及び 30 mg/kg/day, p.o. 投与群、アレンドロネート 0.05 mg/kg/2 weeks, i.v. 投与群の 6 群に分けた (n=20/群)。ONO-5334 あるいはアレンドロネートは 16 カ月間投与した。OVX により骨吸収マーカー及び骨形成マーカーは増加し、腰椎、大腿骨、脛骨及び橈骨の骨密度は減少した。ONO-5334 は OVX により増加した骨吸収マーカーを偽手術群の半分程度まで減少させたが、骨形成マーカーは偽手術群と同等以上に維持していた。一方、アレンドロネートは骨吸収及び骨形成マーカーのいずれも同程度減少させた。骨形態計測の結果、アレンドロネートは破骨細胞数を減少させたが、ONO-5334 は破骨細胞数を増加させた。

DXA 法で経時的に骨密度を測定した結果、ONO-5334 は椎体骨 (腰椎) だけでなく、非椎体骨 (大腿骨、脛骨及び橈骨) においても、骨密度を偽手術群以上に増加させた。アレンドロネートは、腰椎の骨密度は増加させたが、橈骨では無効であった。ONO-5334 は海綿骨及び皮質骨の両方に分布するのに対し、アレンドロネートは海綿骨に集積し易く、皮質骨に分布し難い可能性が示唆された。

腰椎の骨量及び骨強度の相関を解析したところ、正の相関が認められた。ONO-5334 群の回帰直線は、アレンドロネート群よりも骨強度が高い方向へシフトする傾向があった。全骨量 (海綿骨と皮質骨の和) が同じでも、海綿骨と皮質骨の比率により骨強度が変わり得る可能性が考えられたことから、全骨量が同程度になるよう両群から抽出し、サブ解析を行った。全骨量が同等でも、骨強度及び皮質骨量は ONO-5334 群で高い傾向があり、逆に、海綿骨量はアレンドロネート群で高い傾向があった。ゆえに、ONO-5334 は骨強度への寄与が高い皮質骨を増加させることで、骨強度をより増加させた可能性が考えられた。

以上、サル OVX モデルにおいて、ONO-5334 は骨吸収を強く抑制し、海綿骨だけでなく皮質骨の骨量及び骨強度を増加させた。骨量と骨強度に相関が認められたことから、ONO-5334 は骨量の増加に伴い骨強度を増加させることが確認された。ONO-5334 は、特に皮質骨で優れた作用を発揮したことから、非椎体骨への効果に優れた骨粗鬆症治療薬になる可能性が示唆された。

## 第 2 章 サルコラーゲン誘発関節炎モデルにおけるカテプシン K 阻害剤 ONO-5334 の予防及びメトトレキサートとの併用効果

本章では、雌性カニクイザルを用いたコラーゲン誘発関節炎 (CIA) モデルにおいて、ONO-5334 の関節破壊に対する予防及び MTX との併用効果について検討した。ウシ II 型コラーゲンを免疫することにより関節炎を惹起した。ONO-5334 は 30 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回、MTX は 10 mg/body/day の用量で週 2 回、9 週間反復経口投与した。遠位指節間、近位指節間及び中手指節間について、関節破壊の指標として X 線スコアを、関節炎の指標として関節腫脹スコアを評価した。対照群では骨及び軟骨破壊を伴う関節炎が惹起された。ONO-5334 は関節腫脹に対して作用を示さなかったが、MTX 及び併用群では、対照群の 50%以下に関節腫脹が抑制された。X 線スコアは ONO-5334 群で 64%、MTX 群で 46%、併用群で 74%抑制された。指関節の関節破壊の程度を比較したところ、ONO-5334 群及び併用群では、関節裂隙狭小化、骨萎縮、骨びらん、関節破壊の程度が対照群に比べて軽減された。CIA により、骨代謝マーカーである CTX-I 及び軟骨代謝マーカーである CTX-II は、ベースラインのそれぞれ 10 倍及び 7 倍まで増加した。ONO-5334 群及び併用群では、いずれのマーカーもベースライン付近を維持していた。ONO-5334 は関節腫脹を抑制しなかったことから、抗炎症作用は有さず、骨及び軟骨破壊を直接的に抑制することで、関節破壊の進行を予防した可能性が考えられる。

以上、ONO-5334 はサル CIA モデルにおいて、関節炎を抑制しなかったが、骨、軟骨マーカー及び関節破壊の悪化を抑制した。ONO-5334 を MTX に併用することで、関節腫脹への上乗せ効果はなかったが、関節破壊は、MTX 単独群に比べて軽減された。

## 総括（結論）

本研究では、カテプシン K 阻害剤である ONO-5334 の骨粗鬆症及び関節リウマチにおける有効性を、ヒトに近いサルを用いて検証した。ONO-5334 は、骨粗鬆症において、ビスホスホネート製剤の効果が十分ではない非椎体骨に対して、優れた作用を有する薬剤となる可能性が示された。臨床では評価できない骨強度についても、ONO-5334 は骨量の増加に伴い骨強度を増加させることが明らかとなった。また、関節リウマチでは、ONO-5334 は関節炎を抑制しなかったものの、関節破壊は抑制した。ONO-5334 は MTX と併用することで、MTX の関節破壊抑制作用を高める可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

骨粗鬆症は、骨量が低下することで骨折し易くなる疾患である。骨粗鬆症による骨折は生活の質（QOL）を低下させるだけでなく、寝たきりや死亡率の増加にもつながり、要支援・要介護の主要原因にもなっている。骨粗鬆症の現在の第一選択薬はビスホスホネート製剤であるが、椎体骨折への効果は強いものの、非椎体骨折への有効性は十分ではない。

関節リウマチ（RA）は、関節炎および関節破壊を主症状とする自己免疫疾患である。関節破壊が進行すると、関節機能が失われ、QOL が著しく低下する。RA の標準治療薬であるメトトレキサート（MTX）は、高い効果が期待できるものの、肝障害や骨髄抑制などが問題となっている。また近年開発されてきた生物製剤も高い効果をあげているものの、感染症などの副作用や薬剤費などの課題が指摘されている。

カテプシン K は破骨細胞に発現しているプロテアーゼであり、I 型コラーゲンを分解することで骨吸収において重要な役割を担っている。カテプシン K 阻害剤として開発された ONO-5334 は、臨床試験において閉経後骨粗鬆症患者の骨密度を増加させることが明らかになったが、骨強度に対する効果については不明である。本研究では、ONO-5334 の骨粗鬆症および RA に対する効果についてサルを用いて検証した。

### 第 1 章 サル卵巣摘出骨粗鬆症モデルにおけるカテプシン K 阻害剤 ONO-5334 の効果

サル卵巣摘出（OVX）骨粗鬆症モデルにおける骨代謝マーカー、骨密度、骨強度および骨形態計測に対する ONO-5334 の作用について、ビスホスホネート製剤の 1 つであるアレンドロネートと比較検討した。ONO-5334 は骨吸収を強く抑制し、アレンドロネートとは異なり、海綿骨だけでなく皮質骨の骨量および骨強度を増加させることを見出した。また骨量と骨強度の間に相関がみられたことから、ONO-5334 は骨量の増加に伴い骨強度を増加させることが確認された。ONO-5334 は、特に皮質骨で優れた作用を発揮したことから、非椎体骨への効果に優れた骨粗鬆症治療薬になる可能性が示唆された。

## 第2章 サルコラーゲン誘発関節炎モデルにおけるカテプシン K 阻害剤 ONO-5334 の予防及びメトトレキサートとの併用効果

サルコラーゲン誘発関節炎 (CIA) モデルにおける ONO-5334 の関節破壊に対する予防および MTX との併用効果について検討した。ONO-5334 は関節炎を抑制しなかったが、骨、軟骨マーカーおよび関節破壊の悪化を抑制した。ONO-5334 と MTX の併用は、関節腫脹に対する上乗せ効果は認められなかったが、関節破壊に対しては、MTX 単独群に比べてより軽減されることが判明した。ゆえに、ONO-5334 は抗炎症作用を有していないものの、骨および軟骨破壊を直接的に抑制することで、関節破壊の進行を予防する可能性が推察される。

これらの研究成果は、国際学術雑誌3編に発表されており、カテプシン K 阻害剤である ONO-5334 の骨粗鬆症および関節リウマチにおける有効性を、ヒトに近いサルを用いて実証したものである。特に、ONO-5334 が骨粗鬆症においてビスホスホネート製剤の効果が十分ではない非椎体骨に対しても優れた作用を有し、また骨量と骨強度の間に相関が見られたこと、さらに RA では、関節炎は抑制しなかったものの、関節破壊は抑制し、MTX との併用で関節破壊抑制作用を高める可能性を見出したことは、骨粗鬆症や RA に対する新たな、より効果的な治療理論の提案に繋がる重要な知見であると考えられる。

学位論文とその基礎となる報文の内容を審査した結果、本論文は博士 (薬学) の学位論文としての価値を有するものと判断する。