

氏名（本籍）	葛西 洋 芳（神奈川県）
学位の種類	博士（薬学）
学位記番号	甲 第154号
学位授与年月日	平成26年3月17日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項該当者
学位論文の題名	緑内障治療薬の探索ならびに防腐剤フリー点眼薬の薬理学的研究
論文審査委員	主査 古川 昭栄 副査 竹内 洋文 副査 稲垣 直樹

論文内容の要旨

眼圧を制御する因子の一つが房水であるが、房水の産生量と流出量のバランスが破綻すれば、眼圧上昇に至る可能性が高い。そのため、緑内障の治療としては、薬物療法、レーザー療法、手術療法などが行われているが、第一目標としては眼圧を下げることであり、緑内障の悪化、進行を防がなければならない。

多数の緑内障治療薬が既に臨床使用されており、房水産生抑制薬、ぶどう膜強膜経路からの房水流出薬が主である。しかし主経路からの房水流出を促進させる薬剤は現在のところピロカルピンとウノプロストンしかない。そのため、新しい作用機序を有する治療薬の開発、販売が望まれている。

その一方、長期間の緑内障治療薬の点眼により、眼局所における副作用が問題となる場合がある。その要因として考えられる防腐剤は点眼液の製剤設計にあたっては必要な添加物であるが、前述の通り副作用発症の要因であり、防腐剤の減量や不含等の製剤設計の改良に製薬企業は日々取り組んでいる。

本研究では、新しい作用機序を有する緑内障治療薬、とくに主経路からの房水流出経路と線維柱帯の収縮弛緩に着目して、細胞を用いた3次元コラーゲングル培養方法を確立し、*in vitro*で簡便に評価可能として、多種多様の薬剤を探索的に検討した。つぎに探索検討より見出したroscovtineに着目して、動物を用いて眼圧下降作用を検討した。一方、防腐剤を含まない製剤設計を可能にすべく、フィルター付の点眼容器を開発したので、ベンザルコニウム塩化物 (BAK) を含む緑内障治療薬との比較を薬理学的に検討した。

第1章では、ブタ由来線維柱帯細胞を用いた3次元コラーゲングル培養方法を確立し、緑内障治療薬の探索研究を行った。

- 1) ブタ由来線維柱帯から線維柱帯細胞の初代培養と3次元コラーゲングル培養方法を確立した。
- 2) 同方法により、CDK阻害薬 (roscovtine)、ROCK阻害薬 (Y-27632) 等の各種kinase阻害薬、アデノシン受容体作動薬 (metrifudil)、カンナビノイド受容体作動薬 (CP-5594) 等の各種受容体作動薬や拮抗薬がコラーゲングルの収縮を抑制した。

第2章では、第1章で見出したroscovitineに着目し、動物を用いた眼圧下降作用を検討した。

- 1) Roscovitineには異性体が存在することが判明したため、両異性体を用いた家兎の眼圧下降作用を検討したところ、いずれも眼圧下降作用を示した。
- 2) 培養神経節細胞を用いたストレス負荷試験で抗ストレス作用を検討したところ、異性体のうちS体のみに保護作用が認められた。

第3章では、BAKを含むものとBAKを含まない緑内障治療薬との比較をヒト由来角膜上皮株細胞、サルおよびヒトを用いて薬理的に検討した。

- 1) BAKを含まないラタノプロスト点眼液の細胞障害性は殆ど認められず、酸化ストレスに対して、BAKを含まないラタノプロスト点眼液は保護作用を示した。
- 2) BAKを含まないラタノプロスト点眼液をサルへ2か月間反復点眼しても眼圧下降作用の減弱は認められず、かつ健常者へ単回点眼した場合でも、両剤間で生物学同等性を示した。

本研究の結果より、ブタ由来線維柱帯細胞を用いた3次元コラーゲンゲル培養方法で簡便に緑内障治療薬のスクリーニング系を確立した。その結果、本法を用いて、現在臨床使用されている薬剤に代わる新しい薬剤を見出す創薬研究を可能にすることが示唆された。

本法で見出されたroscovitineは正常なウサギで眼圧下降作用を示し、*in vitro*で神経保護作用を示したことから、roscovitineが両作用を併せ持つ次世代の緑内障治療薬になり得ることが示唆された。

BAKを含むラタノプロスト点眼液と比べて、BAKを含まないラタノプロスト点眼液はヒトおよびサルの正常眼圧に対する有効性に差がなく、安全性は勝るため、優れた製剤設計がなされたラタノプロスト点眼液であることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本論文は、眼圧下降作用の *in vitro* 評価法を確立しこれを用いて見出した roscovitine について緑内障治療薬としての可能性を検討するとともに、緑内障の点眼薬に配合されている防腐剤の影響について検討したものである。

緑内障治療薬の新しい創薬視点として房水流出経路と線維柱帯の収縮弛緩に着目し、ブタ由来線維柱帯細胞の3次元コラーゲンゲル培養法を確立した。これを用いて各種受容体作動薬や拮抗薬などにコラーゲンゲル収縮の抑制作用を見出し、その一つである roscovitine がウサギに対して眼圧下降作用を示すことを証明した。一般に緑内障治療薬は長期使用されるため副作用が重要な問題となる。そこで点眼薬に添加されている防腐剤 benzalkonium chloride に着目してその影響を検討したところ、主剤による眼圧下降作用には影響を与えないが、培養細胞に対して細胞障害性を示すことを明らかにした。

以上、本論文は、新しい視点に立脚した簡便な緑内障治療薬のスクリーニング系を確立し、新規な治療薬開発への道を開くとともに、緑内障点眼薬から防腐剤を除くことにより安全性が高まることを示唆するなど、緑内障治療の進展に寄与するものであり、博士(薬学)論文として価値あるものと認める。