

氏名	山岡万寿夫
学位の種類	博士(薬学)
学位記番号	薬博乙 第33号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当者
学位授与の年月日	平成29年3月24日
学位論文題目	新規 17,20-lyase 阻害薬のホルモン依存性癌治療への有用性に関する研究
論文審査委員	(主査) 奈邊 健 (副査) 前田 定秋 (副査) 倉本 展行 (副査) 吉岡 靖啓

論文内容の要旨

前立腺癌とホルモン受容体陽性乳癌の増殖と生存は、性ステロイドホルモンに依存している。血中アンドロゲンの多くは精巣由来で、前立腺癌は治療初期には去勢療法によく反応するが、短時間に抵抗性が出現する。この前立腺癌は去勢抵抗性前立腺癌と呼ばれ、その予後は不良であり、新たな治療薬の開発が望まれている。去勢抵抗性メカニズムの一つとして、副腎アンドロゲンから変換された testosterone、あるいは腫瘍内で新たに生合成されたアンドロゲンによるアンドロゲン受容体 (AR) の活性化がある。これらをターゲットとした新たな治療法を目指し、アンドロゲン合成の必須酵素である 17,20-lyase 阻害薬を探索した。一方、乳癌はその約半数がエストロゲン受容体 (ER) を発現している。閉経後患者ではその増殖と生存が副腎アンドロゲンから変換されたエストロゲンに依存しているので、現在、aromatase 阻害薬が臨床で使用されている。エストロゲンはアンドロゲンから合成されるので17,20-lyase 阻害薬もまた乳癌治療薬となる可能性がある。副腎アンドロゲンが直接エストロゲン受容体を活性化するという報告があり、17,20-lyase 阻害薬は aromatase 阻害薬抵抗性乳癌の治療薬となる可能性もある。17,20-lyase 活性は、副腎皮質に存在する薬物代謝酵素のCYP17A1が担っているが、CYP17A1は17,20-lyase 活性と17-hydroxylase 活性の両活性を有し、また、多くの類縁酵素が存在する。申請者らは、17,20-lyase 活性を特異的に阻害する

化合物の探索を行い、TAK-700を見出した。本論文では、新規 17, 20-lyase 阻害剤 TAK-700 のステロイド合成に対する作用を酵素レベル、細胞レベル、個体レベルで検討し、去勢抵抗性前立腺癌及び乳癌の治療薬としての有用性を明らかにした。

(1) TAK-700によるアンドロゲン合成の阻害

① カニクイザル副腎から調製したミクロゾーム画分の 17,20-lyase 活性及び 17-hydroxylase 活性に対して、TAK-700 は、それぞれ 27 nM、38 nM の IC₅₀ 値で阻害した。一方、corticosterone 及び cortisol の生合成に必須である 11-hydroxylase 活性に対しては、10,000 nM の濃度を用いても、その阻害は 50%に達しなかった。また、TAK-700 は、ヒト組換え CYP17A1 の 17, 20-lyase 活性及び 17-hydroxylase 活性をそれぞれ 140 nM、760 nM の IC₅₀ 値 で阻害した。以上の結果より、TAK-700 はヒト 17, 20-lyase を高い選択性を持って阻害することが示された。

② カニクイザルの副腎浮遊細胞を用いて、ステロイド産生に対するTAK-700 の阻害について検討した。TAK-700 の前処置は、ACTH 刺激によるdehydroepiandrosterone (DHEA) 及び cortisol の産生をそれぞれ110 nM、310 nMのIC₅₀値で阻害した。また、cortisol 及び aldosterone の産生についても、それぞれ310 nM、4,400 nMのIC₅₀値で阻害した。一方、TAK-700 は progesterone の産生を濃度依存的に増加させが、これら以外のステロイド産生にほとんど影響を与えなかった。これらの結果から、TAK-700は、サルの17,20-lyase 活性を11-hydroxylase 活性及び aldosterone synthase 活性より強く抑制することが示された。

③ ヒト副腎腫瘍細胞NCI-H295R細胞を用いて、ステロイド産生に対するTAK-700 の阻害について検討した。NCI-H295R細胞はグルココルチコイド及び副腎アンドロゲンを産生するが、TAK-700は、DHEA及び cortisol 産生をそれぞれ37 nM、990 nMの IC₅₀ 値で抑制し、DHEAの産生阻害に対して高い選択性を示した。また、このTAK-700による DHEAの産生阻害は、培地からTAK-700除去3時間後には消失したことから、可逆的であることが示された。TAK-700を経口で投与した場合、血中濃度は一過性に最高濃度(C_{max})に達するが、C_{max} が 17-hydroxylase 活性の阻害濃度を上回っている場合、定常濃度では 17, 20-lyase活性阻害と 17-hydroxylase 活性阻害濃度の間に選択性があったとしても、非可逆的に結合すると in vivoでDHEA濃度の低下作用と cortisol 濃度

低下作用の間に選択性を期待することができなくなる。本実験においてTAK-700 によるDHEA産生阻害の可逆性が示されたことにより、17, 20-lyase 活性阻害の選択性がin vivoにおいてもみられることが十分に期待できる。

④ 正常雄性カニクイザルの血清中ステロイドホルモン濃度に対するに TAK-700 経口投与の影響について検討した。TAK-700 を7.5 mg/kg、1日2回、1週間経口投与すると、投与期間中の平均血清中DHEA濃度は投与前の平均濃度の8.1%であり、平均血清中cortisol 濃度は投与開始前の平均濃度の28.1%であり、cortisol の低下はDHEAの低下よりも軽度であった。TAK-700は投与初日には血清中 testosterone 濃度を強く低下させたが、その低下作用は投与期間中徐々に減弱していった。これは視床下部-下垂体-性腺によるフィードバック機構が活性化されたことが考えられる。

⑤ 去勢抵抗性前立腺癌患者にTAK-700を投与した場合の血清中のステロイドホルモン濃度への影響を予測する目的で、去勢雄性カニクイザルにTAK-700を経口投与し、血清中ステロイドホルモン濃度を測定した。その結果、血清中DHEA濃度はTAK-700の7.5 mg/kg, 1日2回1週間投与により、投与前の濃度から91.0%抑制され、この濃度の低下は投与期間中維持された。血清 cortisol濃度も同じ条件で投与開始前の平均血清中cortisol濃度から74.0%低下し、この低値は投与期間中維持された。また、去勢により低下した血清 testosterone 濃度はTAK-700の投与によりさらに低下し、この低い testosterone 濃度は非去勢カニクイザルの場合と異なり投与期間中維持された。

カニクイザル副腎浮遊細胞における DHEA及びcortisolの産生に対するTAK-700のIC₅₀値がそれぞれ110 nMと310nMであったのに対し、ヒト副腎皮質腫瘍細胞においては37 nMと990nMであった。したがってヒトにおいてはサルより cortisol に対する影響が小さいことが考えられる。非去勢カニクイザルに対する反復投与試験において血清DHEA濃度は持続的に抑制されたが、血清中 testosterone 濃度の抑制は次第に減弱した。去勢カニクイザルにおける反復投与試験では testosterone 濃度は投与期間中持続的に抑制された。これらの結果から TAK-700の効果を最大限に発揮させるためには去勢との組み合わせが望ましいと考えられる。

(2) TAK-700によるエストロゲン合成の阻害

① ヒト絨毛膜癌細胞株JEG-3細胞を用いて aromatase 活性に対する TAK-700 の阻

害作用について検討した。JEG-3細胞は aromatase を有しており、testosterone から estradiolを産生することができる。Estradiol 産生に対する TAK-700による阻害のIC₅₀値は、10,000 nM以上であった。一方 aromatase 阻害薬である anastrozole は estradiol 産生を 5.3 nMの IC₅₀値で強力に抑制した。このことからTAK-700は非常に高濃度においてのみ aromatase 活性を阻害することが示された。

② 下垂体摘出雌性ラットの血清ステロイドホルモン濃度に対するTAK-700の作用を検討した。TAK-700は、用量依存的に血清 estradiol 濃度および testosterone 濃度を低下させ、progesterone 濃度を増加させた。300 mg/kgの用量で anastrozole と同程度まで estradiol 濃度を抑制した。Anastrozole は血清 estradiol 濃度のみを低下させ、testosterone 濃度には影響を示さなかった。

③ 雌性カニクイザルの血清エストラジオール濃度に対する TAK-700 の影響について検討した。正常な性周期を持つ雌ザルに、15 mg/kg/day の TAK-700 を投与すると、投与期間中 estradiol surge は消失し、血清 progesterone 濃度は黄体期のレベルに等しいレベルで維持された。TAK-700 投与を中止するとただちに血清 estradiol 濃度が上昇したので estradiol 濃度の抑制効果は可逆的であると考えられる。

アンドロゲンや progesterone の抗癌作用は乳癌により異なるので、17,20-lyase 阻害薬が効果を持つ患者を選択するバイオマーカーの同定が必要であると思われる。最近、ER 陰性かつ AR 陽性の乳癌の腫瘍増殖がアンドロゲンシグナルに依存していることが報告され、17,20-lyase 阻害薬はこのような乳癌に対して効果を示す可能性がある。

本研究により、新規 17,20-lyase 阻害薬の TAK-700 が in vitro 及び in vivo の系で 17,20-lyase を選択的に阻害すること、in vivo モデルにおいて TAK-700 は血中アンドロゲン及び estradiol 濃度を低下させることを明らかにした。霊長類のみが副腎アンドロゲンを産生するが、前臨床で特異的 17,20-lyase 阻害薬が副腎アンドロゲン濃度低下や estradiol 産生阻害を示すという報告はない。本研究で見出された知見は、新規 17,20-lyase 阻害薬である TAK-700 が去勢抵抗性前立腺癌の新規治療薬として非常に有用であることを示すものであり、また、乳癌に対しても適切なバイオマーカーを見出すことができれば、有効な治療薬となる可能性を示すものである。