

(甲種)

論 文 要 旨

学 位 論 文

表 題 Leigh 脳症の治療薬候補となるアポルフィンアルカロイドの合成

申 請 者 氏 名 小林 瑞

担当指導教員氏名 小坂 仁 教授

所 属 自治医科大学大学院医学研究科
 専攻 地域医療学
 専攻分野 生殖・発達医学 分野
 専攻科 成育医学

使用文字数 2, 1 3 7 字

論文要旨

氏名 小林 瑞

表題

Leigh 脳症の治療薬候補となるアポルフィンアルカロイドの合成

1 研究目的

ミトコンドリア病は核 DNA またはミトコンドリア DNA の変異に起因し、ミトコンドリア呼吸鎖複合体機能不全のため ATP 産生低下や酸化・還元ストレスにより細胞機能障害を呈する疾患である。多様な原因遺伝子と罹患臓器により表現型は様々であり、小児領域では mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes (MELAS)、Leigh 脳症 (LS) が最多である。現在までに低分子治療薬や遺伝子治療の開発が行われているが、LS について承認された治療薬はなくその開発は急務である。2019 年に報告された LS 患者由来皮膚線維芽細胞に対する酸化ストレス条件下における抗細胞死活性を有するアポモルフィン(Apo)について、嘔吐作用をもたらすドパミン D2 受容体活性がなく LS 患者由来皮膚線維芽細胞に対する抗細胞死活性を保持した誘導体を見出す最適化を行うことを目的とした。

2 研究方法

構造類似性計算により 200 万の既知化合物から見出した Apo 類似化合物を、Apo の抗細胞死活性に寄与するアポルフィン骨格炭素 11 位の水酸基を保持した誘導体を含む Apo 誘導体を取得合成した。各化合物のドパミン D2 受容体活性と抗 BSO(L-ブチオニン-(S, R)-スルホキシミン)誘導細胞死活性をスクリーニングし、ドパミン D2 受容体活性を有さずに高い抗 BSO 細胞死活性を示した 3 つの化合物の抗フェロトーシス活性を測定した。さらに、3 つの化合物についてミトコンドリア病のバイオマーカーとして保険収載されている GDF-15(growth and differentiation factor-15)を ELISA 法で測定した。

3 研究成果

構造類似性計算により取得した既存のヌシフェリン、ノルヌシフェリンなどを含む 26 種の Apo 類似化合物と、アポルフィン骨格炭素 11 位に水酸基を有する合成アポルフィンアルカロイドを含む Apo 誘導体 20 種の計 46 種を取得合成した。取得合成の順に D を冠した番号を化合物に附した。合成不能であった化合物も存在したため欠番も生じており、D44 は構造式が得られたものの化合物を得ることは不可能であった。

最終 45 種の Apo 類似化合物および誘導体のドパミン D2 受容体活性と抗 BSO 誘導細胞死活性を評価したところ、D3、D5、D27 は Apo に近いドパミン D2 受容体活性を示した。ドパミン D2 受容体活性を有さずに高い抗 BSO 誘導細胞死活性を示した 3 つの化合物、D31、D55、D40 を候補薬として選択した。いずれもアポルフィン骨格 11 位の炭素に水酸基を有していた。

D31、D40、D55 について、LS 患者由来皮膚線維芽細胞における抗フェロトーシス活性を RSL3 を

負荷して評価し、いずれの化合物も高い活性を示したが、特に D55 の活性が高いことがわかった。いずれの化合物も RSL3 負荷時の LS 患者由来皮膚線維芽細胞において GDF-15 の上昇が抑制された。

4 考察

アポモルフィンとはアポルフィンアルカロイドの一種である。天然および合成アポルフィンアルカロイドは幅広い薬理活性を示し、創薬開発の足場をリードする化合物として注目されている。

アポモルフィンとその誘導体は酸化ストレス下における抗細胞死活性を有し、フェロトーシス阻害はその作用のひとつである。今回我々はアポモルフィン誘導体の LS 患者皮膚線維芽細胞に対する酸化ストレス下細胞死抑制効果を見出した。加えてそれらがアポモルフィンの有するドパミンアゴニスト作用を持たないことを明らかにした。高い抗細胞死活性を有する化合物はアポルフィン骨格の特定の位置に反応基を有していた。

アポモルフィン自身も抗酸化活性を有することは、脂質過酸化による細胞死であるフェロトーシスの発見以前から繰り返し報告されており、アポモルフィンの強い抗酸化活性すなわち抗フェロトーシス活性は、アポルフィンアルカロイド 11 位の水酸基の活性によるものであることが示唆された。アポモルフィンの 10 位と 11 位のカテコール基は *in vivo* でのクリアランスと低いバイオアベイラビリティに関与しており、今回見出した化合物においては薬物動態が異なる可能性がある。

アポモルフィンと同様に 3 つの候補化合物も LS 患者由来皮膚線維芽細胞の培養上清中の GDF-15 上昇抑制効果を認めた。LS 患者の脳病理では白質空胞化、血管増生、グリオシスが主たる所見であり、Apo および Apo 誘導体が有する抗酸化活性と抗フェロトーシス活性は炎症抑制に働くと考えられ、候補化合物の LS 病態に対する効果が示唆される。今後は LS モデルマウスを用いて Apo および Apo 誘導体を神経細胞に到達させた場合の病理所見の評価も行う必要がある。3 つの候補化合物について、今後は *in vivo* で薬物動態や病態改善効果を評価し、最終候補薬を決定していく。

5 結論

LS 患者由来皮膚線維芽細胞に対する抗フェロトーシス活性と酸化ストレス下における細胞保護効果を有する合成アポルフィンアルカロイドを見出した。LS に対する治療薬となる可能性がある化合物であり、今後は生体内における薬物動態を評価する。