

審査の結果の要旨

氏名 関根 舞

プリンサルベージ経路の中心的な酵素であるヒポキサンチンホスホリボシル基転移酵素 (HPRT) はプリンヌクレオチドの分解で生じたヒポキサンチン (Hx) を再利用して IMP を生成する。プリンサルベージ経路は、プリン骨格を新規合成して IMP をつくる *de novo* 合成経路よりもはるかにエネルギー効率がよく多量の ATP を節約できる。Hx はキサンチン酸化還元酵素 (XOR) によって尿酸まで分解される。XOR 阻害薬は尿酸生成を抑えるため、高尿酸血症・痛風治療薬として使用されており、プリン骨格をもつ Allopurinol と、もたない Febuxostat がある。近年、神経変性疾患モデルマウスに Febuxostat を投与したところ、神経細胞内における変性タンパク質の蓄積と神経細胞死の抑制が認められたという報告があるが、その詳細な機序は明らかになっていない。神経細胞には XOR がほとんど存在しないが HPRT は高発現していること、および Hx の類似体である Allopurinol にはそのような神経保護効果が認められないことから、プリンサルベージ経路に着目し、次のような仮説が立てられている。XOR 阻害剤により増加した Hx が神経細胞へ取り込まれ、プリンサルベージ経路を介して細胞内 ATP 濃度を維持することによりエネルギー状態が改善するが、Allopurinol の場合は HPRT の基質かつ阻害剤にもなるため有効でない。本研究は、この仮説を検証すべく、上記 2 種類の XOR 阻害薬のプリンサルベージ経路に対する影響と神経細胞におけるエネルギー状態改善の有無をより明確化することを目的として行われた。本論文は、研究背景について記述した序論および四章からなる本論と総合討論により構成される。

本論第一章では、動物種によるプリン代謝を比較解析した結果について述べられている。ヒトはマウスよりも HPRT 活性が高かったことから XOR 阻害薬がヒトでより効果的に働く可能性が示唆された。ヒトと同様に HPRT 高活性であったウサギ網状赤血球を用いて、共通の基質 PRPP を使う *de novo* 合成経路とプリンサルベージ経路の相互調節について解析した。その結果、Hx の増加により *de novo* 合成経路が有意に抑制された。このことから、XOR 阻害薬投与による Hx の増加が *de novo* 経路を抑制する可能性が示唆された。

第二章では、ヒトの iPS 細胞由来神経細胞を用いて、メタボローム解析を行った結果について述べられている。添加したラベル体 Hx はプリンサルベージ経路を介して顕著に ATP へ取り込まれ、神経細胞におけるプリンサルベージ経路の重要性が示された。神経細胞の低酸素ストレスや HepG2 細胞への 2,4-DNP による化学的低酸素ストレス条件下において、Febuxostat は総アデニル酸量の維持に働き、エネルギー状態改善効果を示した。他方、Allopurinol はこのような効果を示さず、むしろプリンサルベージ経路を阻害する可能性が示唆された。

第三章では、Allopurinol とその誘導体の代謝と HPRT 阻害効果について述べられている。Allopurinol は HPRT に対し基質の Hx と競合する競合阻害剤、Allopurinol-ribose は非競合阻害剤としてはたらくが、その阻害効果は弱かった。Allopurinol はヒト赤血球由来 HPRT により Allopurinol-ribose に変換され、さらに血漿中の 5'-ヌクレオチダーゼによって容易に分解されて Allopurinol-ribose となることが示された。一方で、Allopurinol はプリンヌクレオシドフォスホリラーゼ (PNP ; Hx を Inosine に変換するプリンサルベージ酵素) によっては Allopurinol-ribose に変換されなかったことから、Allopurinol-ribose はすべて HPRT を介して合成されることが示された。ゆえに、Allopurinol は PRPP の消費に働き、結果として HPRT や *de novo* 経路を阻害する可能性が示唆された。

第四章では、Allopurinol とその主要な代謝物である Oxypurinol の 2 種類の酵素 (XOR と PNP) に対する阻害効果について述べられている。Allopurinol に比べ Oxypurinol は XOR の阻害に時間を要し、阻害効果も弱かった。生体条件における XOR-Oxypurinol 複合体の半減期が短いことも示された。欠損症が免疫不全を惹起する PNP については、Oxypurinol によって非常に強く阻害される可能性が示唆された。これらの結果から、高尿酸血症・痛風患者に対しては、低用量の Allopurinol を投与することにより尿酸値低下を達成することができ、かつ Oxypurinol による副作用も回避できると期待されるため、酵素学的には少量の Allopurinol を一日数回に分けて摂取することが望ましいと考察している。

本研究は、すでに認可されている医薬の更なる難治疾患への応用研究であり、XOR 阻害薬の神経変性疾患に対する病態遅延効果についてプリンサルベージ経路の意義を明確にするとともに、Allopurinol の代謝的な影響を明らかにした。

これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士 (農学) の学位論文として価値あるものと認めた。