

Title	Pharmacological studies on a novel muscarinic agonist, YM796.
Author(s)	鰐淵, 文一
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/38625">http://hdl.handle.net/11094/38625</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	わに 鱒 ぶみ 文 かず 一
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 9 5 9 号
学位授与年月日	平成 5 年 10 月 20 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Pharmacological studies on a novel muscarinic agonist, YM796. (新奇ムスカリンアゴニスト, YM796の薬理学的研究)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 村上富士夫 (副査) 教 授 葛西 道生 教 授 柳田 敏雄 助教授 小田 洋一

### 論 文 内 容 の 要 旨

近年、高齢人口の著しい増加にともない、老年期の痴呆症が重大な社会問題になってきていることから、アルツハイマー型痴呆などの治療薬が切望されている。

アルツハイマー型痴呆患者の脳における特徴的变化のひとつとして、アセチルコリン合成酵素の低下、すなわちアセチルコリン神経の脱落・変性がある。このアセチルコリン合成酵素の減少と痴呆症状の重篤度とは高い相関性を示すことが知られている。また、ムスカリン型アセチルコリン受容体アンタゴニストであるスコポラミンやアトロピンはヒトに健忘を引き起こすことが知られている。これらの事実は中枢アセチルコリン神経系は記憶などの機能と関連性が高い神経系であり、その活動性の低下が痴呆症発現に重要な役割を果たしていることを示唆している。したがって、ムスカリンアゴニストやコリンエステラーゼ阻害薬による中枢アセチルコリン神経系の賦活はアルツハイマー型痴呆の痴呆症状を改善することが期待できる。しかしながら、これらの薬物は末梢副交感神経系をも刺激し、種々の副作用を誘発する可能性が高い。

最近、ムスカリン受容体には複数のサブタイプが存在することが明らかにされ、薬理的には少なくとも3種類 ( $M_1$ ,  $M_2$ ,  $M_3$ 受容体) が同定されている。その中で、 $M_1$ ムスカリン受容体サブタイプは主として、シナプス後膜に存在する受容体であり、末梢より中枢神経系、特に、記憶・学習などと関連が高い海馬や新皮質に高い分布を示す。さらに、アルツハイマー型痴呆患者の脳で、 $M_1$ 受容体は減少せずに良く保存されていることが数多く報告されている。以上のことから、選択的  $M_1$ アゴニストは安全性の高い優れた痴呆症状改善薬となる可能性が考えられる。

YM796はスピロ構造を有する約400個の化合物から、その構造活性相関を調べることによって、発見された。本化合物は不斉炭素を1個持つことから、はじめラセミ体 ((±)-YM796) として見いだされた。ラット脳膜標本を用いた受容体結合実験において (±)-YM796は  $M_2$ 受容体より  $M_1$ 受容体に選択的な親和性を示した。その選択性は典型的なムスカリンアゴニストであるカルバコールやアレコリンに比較して10倍以上高いものであった。 $M_1$ 受容体はホスホリパーゼCと共役しており、ムスカリンアゴニストはホスファチジルイノシトール (PI) 水解を促進することが知られている。そこで、ラット海馬切片における PI 水解促進作用を指標として、(±)-YM796のアゴニスト作用

を検討した。(±)-YM796は有意なPI水解促進作用を示した。これらの結果から、(±)-YM796はin vitroにおいて、比較的选择的なM<sub>1</sub>受容体アゴニスト作用を有することが示唆された。脳内アセチルコリン神経の起始核であるマイネルト核(nucleus basalis magnocellularis)を破壊すると、ラットは受動回避学習の著しい障害を呈する(±)-YM796はこの学習障害を有意に改善した。さらに、ムスカリン受容体アンタゴニストであるスコポラミン投与による学習障害においても優れた改善作用を示した。学習障害改善作用とは対照的に、(±)-YM796の振戦発現や体温低下作用は非常に弱いものであり、(±)-YM796のM<sub>2</sub>/M<sub>3</sub>アゴニスト活性は弱いものと考えられた。以上、主として、(±)-YM796のin vitroおよびin vivoにおける薬理学的作用を第I章にまとめた。

次に、(±)-YM796の光学異性体のうち活性体を同定するために、m<sub>1</sub>およびm<sub>2</sub>受容体(M<sub>1</sub>およびM<sub>2</sub>受容体に相当)を特異的に発現させたtransfected cellを用いて、(±)-YM796の光学異性体の受容体親和性およびアゴニスト活性を検討した。受容体結合実験において、(±)-YM796はその(-)体(YM796)や(+ )体((+)-YM796)と共に、3倍以上、m<sub>1</sub>受容体に対して選択性を示した。この選択性はカルバコールより約14倍以上高いものであった。さらに、m<sub>1</sub>およびm<sub>2</sub>受容体の2次情報伝達系であるPI水解促進作用とアデニル酸シクラーゼ抑制作用を指標として、YM796および(+)-YM796のアゴニスト活性を検討した。(+) -YM796はm<sub>1</sub>およびm<sub>2</sub>受容体に対して、まったくアゴニスト活性を示さなかった。これに対して、YM796はカルバコールよりやや弱いながら、明らかなm<sub>1</sub>アゴニスト活性を示し、そのintrinsic activityはカルバコールの約30%であった。YM796のm<sub>2</sub>受容体に対するアゴニスト活性は10mMでのみ有意な変化が認められるのみで、非常に弱いものであった。すなわち、YM796が活性体であり、m<sub>1</sub>受容体を選択的なパーシャルアゴニストであることが明かとなった(以上、第II章)。

特異的に受容体を発現させた細胞を用いた実験系は特定の受容体に対する作用のみを検討できるので、薬物の受容体選択性を評価する上で、確かに有効な手段である。しかしながら、それらの受容体が生体に表現されている受容体と生理学的に同一であるとは言いがたい。そこで、第III章にあるように、生体組織を用いて、YM796の受容体結合実験とアゴニスト活性の評価を行った。ラット大脳皮質膜標本において、YM796はM受容体高親和性部位に対し、K<sub>iH</sub>=0.42μMの親和性を示した。心臓膜標本のM<sub>2</sub>受容体に対しては、YM796の親和性はやや弱く、受容体結合におけるM<sub>1</sub>受容体選択性は約2倍であった。この選択性はカルバコールやアレコリンより約5倍から10倍以上高いものであった。さらに、ラット海馬切片のPI水解促進作用(M<sub>1</sub>)とラット心臓膜標本のアデニル酸シクラーゼ抑制作用(M<sub>2</sub>)によって、YM796は明かなM<sub>1</sub>アゴニスト活性を示し、M<sub>2</sub>アゴニスト活性は比較的弱いことが確認された。一方、(+)-YM796はM<sub>1</sub>およびM<sub>2</sub>受容体に対し、まったくアゴニスト作用を示さなかった。

第IV章ではin vivoにおけるYM796の薬理作用を(+)-YM796および種々のコリンエステラーゼ阻害薬と比較した。YM796はマイネルト核破壊によるラット受動回避学習の障害を0.031-0.5mg/kg poで有意に改善した。これと対照的に、(+)-YM796は0.063-2mg/kg poでまったく無効であった。また、YM796は高用量で、唾液分泌作用(M<sub>3</sub>受容体による反応)や体温低下作用(M<sub>2</sub>/M<sub>3</sub>受容体)を示したが、学習障害改善作用に比べて、非常に弱いものであった。これらのムスカリン受容体を介する反応に対しても、(+)-YM796は作用を示さなかった。これらのことから、in vitroの結果に一致して、in vivoにおいて、YM796のみがムスカリン受容体に対して活性を有していることが示唆された。YM796がin vitroにおいてM<sub>1</sub>受容体選択的であったことを考慮すると、YM796の学習障害改善作用の少なくとも一部はM<sub>1</sub>受容体を介していることが推察される。さらに、YM796の学習障害改善作用に対する選択性はムスカリンアゴニストであるRS86やコリンエステラーゼ阻害薬に比べ、非常に高いことが明かとなった。このことはYM796のin vitroにおけるM<sub>1</sub>受容体選択性や各ムスカリン受容体に対する効果(efficacy)の違いを反映しているのかも知れない。

以上のように、YM796が学習障害改善作用に高い選択性を示したことから、YM796は副作用の少ない痴呆症状改善薬となることが期待される。

## 論文審査の結果の要旨

高齢人口の著しい増加に伴い、アルツハイマー型痴呆の治療薬の開始が切望されている。ムスカリンアゴニストやコリンエステラーゼ阻害薬による中枢アセチルコリン神経系の賦活はアルツハイマー型痴呆の痴呆症状を改善することが期待できるいっぽう、これらの薬物は末梢副交感神経系をも刺激するため、種々の副作用を誘発する可能性が高い。

近年ムスカリン受容体には複数のサブタイプが存在することが明らかにされ、薬理的には少なくとも3種類(M1, M2, M3受容体)が同定されているが、M1レセプターは中枢に多く分布することからM1アゴニストは安全性の高い優れた痴呆症状改善薬となる可能性が考えられる。

本研究の対象となったM1アゴニストであるYM796は、スピロ構造を有する約400個の化合物から、その構造活性相関を調べることによって、発見された。ラット脳膜標本を用いた受容体結合実験において、YM796はM1受容体に選択的な親和性を示し、その値はカルバコールやアレコリンに比較して10倍以上高いものであった。M1受容体はホスホリパーゼCと共役しており、ムスカリンアゴニストはホスファチジルイノシトール(PI)水解を促進することが知られているが、YM796は有意なPI水解促進作用を示した。また脳内アセチルコリン神経の起始核であるマネルト核を破壊すると、ラットは著しい受動回避学習の障害を呈するが、YM796はこの学習障害を有意に改善した。

次に、YM796の光学異性体のうち活性体を同定するために、m1およびm2受容体の特異的に発現させた trans-fected cell を用いて、(±)-YM796の光学異性体の受容体親和性およびアゴニスト活性を検討した。その結果、YM796が活性体であり、m1受容体に選択的なパーシャルアゴニストであることが明らかとなった。

さらに、ラット大脳皮質標本を用いた実験の結果、YM796はM1受容体高親和性部位に対し、高い親和性を示すことが明らかになった。また心臓膜標本のM2受容体に対しては、YM796の親和性はやや弱く、受容体結合に於けるM1受容体選択性は約2倍であった。この選択性はカルバコールやアレコリンより約5倍から10倍以上高いものであった。YM796は高用量で、唾液分泌作用(M3受容体による反応)や体温低下作用(M2/M3受容体)を示したが、これらは学習障害改善作用に比べて、非常に弱いものであった。

以上のように、本研究により、YM796が強い学習障害改善作用を有し、副作用の少ない痴呆症状改善薬として有望であることが明らかとなった。よって本論文は博士論文として価値あるものとして認める。