

ナルコレプシー治療薬の特異体質性毒性と HLA-DQB1*06:02 との結合性の相関

*The relationships between idiosyncratic drug toxicities of antinarcotic drugs and their binding affinities to HLA-DQB1*06:02*

宮寺 浩子¹⁾、平山 令明²⁾

¹⁾筑波大学・医学医療系・遺伝医学、²⁾東海大学先進生命科学研究所・医薬総合研究部門

Hiroko Miyadera¹⁾ and Noriaki Hirayama²⁾

¹⁾ Department of Medical Genetics, Faculty of Medicine, University of Tsukuba

²⁾ Division of Pharmaceutical Sciences, Institute of Advanced Biosciences, Tokai University

[要旨]

過眠症の一つであるナルコレプシーの発症の重要な要因の一つは遺伝的形質であり、*HLA-DQB1*06:02* が陽性である患者での発症は有意に高い。ナルコレプシーの治療には現在 modafinil、pemoline および methylphenidate hydrochloride の 3 種が国内では処方されているが、modafinil 及び methylphenidate hydrochloride については各々スティーブンス・ジョンソン症候群 (SJS)/中毒性表皮壊死症 (TEN) および剥脱性皮膚炎という重篤な特異体質性薬物毒性が報告されている。*HLA-DQB1*06:02* とこれらの医薬分子とのドッキング・シミュレーションの結果は、これらの医薬分子の *HLA-DQB1*06:02* に対する結合性が副作用発現につながることを示唆した。

[Abstract]

Narcolepsy is a chronic, debilitating sleep disorder. Prevalence studies have shown that genetic factors play a role on narcolepsy. The *HLA-DQB1*06:02* allele has been shown to be one of the most important predisposing genetic factors with 85 to 95% of cataplexy narcolepsy patients carrying this haplotype. In Japan, modafinil, pemoline and methylphenidate hydrochloride are indicated to improve wakefulness in adults with excessive sleepiness associated with narcolepsy. It has been reported that modafinil and methylphenidate hydrochloride cause severe adverse reactions. In this study, the interaction modes and affinities between these antinarcotic drugs and *HLA-DQB1*06:02* were simulated by docking simulations. The results have indicated that the simulated binding affinities of these drugs to *HLA-DQB1*06:02* are almost proportional to the frequency and severity of the adverse effects observed in Japan.

[Key Words]

idiosyncratic drug toxicity, narcolepsy, *HLA-DQB1*06:02*, docking simulation

1. はじめに

患者の特異体質によって発症する副作用 (idiosyncratic drug toxicity: IDT) の予測は非常に困難である。その発生頻度が少ないことから、医薬品が市販され、多くの患者に投与されてから副作用が初めて明らかにされる事が少なくない。

近年の遺伝子解析の精密化および迅速化により、多くの IDT が特定の型の主要組織適合遺伝子複合体 (major histocompatibility complex : MHC、ヒトの

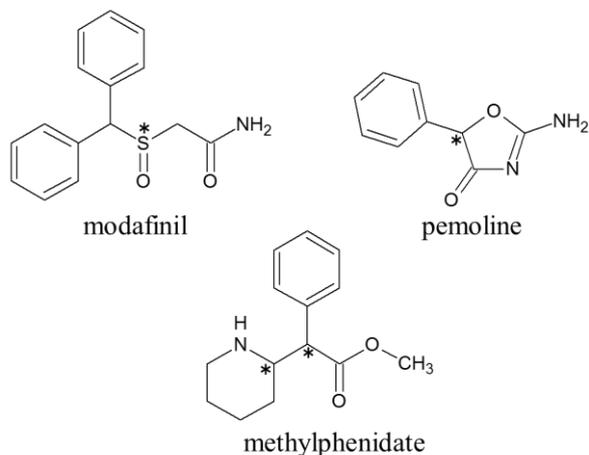
場合はヒト白血球抗原 (human leukocyte antigen: HLA)) と相関することが明らかになって来た。最近になり、IDT を引き起こす医薬分子は特定の型の HLA の抗原ペプチド結合溝に直接結合することが、X 線結晶解析で明らかにされ[1]、これが IDT 発症の重要な分子メカニズムの一つであると考えられるようになった。しかし、特定の HLA 分子と医薬分子の相互作用を実験的に求めることは簡単ではない。

一方、コンピュータ科学の進歩により、*in silico* シミュレーション技術を用いることにより、タンパク質と

低分子化合物の相互作用を実験に匹敵する正確さで知ることが可能になった。即ち、相互作用を予測すべき医薬分子と HLA 分子の構造が特定されれば、実験的に求めることが困難な相互作用でも *in silico* で予測することが可能である。特に IDT のように、医薬分子が上市され、多くの患者に適用されてから初めて明らかになるような副作用を事前にシミュレーションで予測することは極めて意義深い。

眠気、情動性脱力発作、入眠時幻覚、睡眠麻痺等の特徴とする睡眠障害であるナルコレプシーの発症と *HLA-DQB1*06:02* (以下 *DQB1*06:02* と略) との強い相関が報告されている[2,3]。ナルコレプシーの治療には modafinil、methylphenidate hydrochloride および pemoline (図1) の3種が国内では現在処方されている。modafinil 及び methylphenidate hydrochloride については各々スティーブンス・ジョンソン症候群 (SJS)/中毒性表皮壊死症 (TEN) および剥脱性皮膚炎という重篤な IDT が報告されている[4]。本研究の目的は、現在までに報告されているこれらの医薬分子の IDT が *DQB1*06:02* との相互作用の強さ (結合親和性の高さ) と相関するかどうかを検討することにある。

図1.現在使われているナルコレプシー治療薬



2. 結果の概要

以下の全ての計算は統合化学計算システム MOE[5] を用いて行った。

2-1) 抗ナルコレプシー薬の化学構造

図1に示す3種類の医薬分子はいずれも分子内に不斉中心(*)を含む。サリドマイドによる薬禍により、広く知られるようになったが、医薬分子の特定の光学異

性体が他の異性体より高い毒性を持つ場合がある。本研究で扱う3化合物はラセミ体として臨床的に使われているが、光学異性体による相互作用の相違を知るために、本研究ではすべての光学異性体についてドッキング計算を行い、それらの結合親和性の予測を行った。

2-2) ドッキング・シミュレーション

*DQB1*06:02* の立体構造の初期構造には Protein Data Bank[6]で公開されている *DQB1*06:02* の結晶構造(PDB ID: 1UVQ)を用いた。結晶構造に含まれる構造上の問題点の修正や水素原子付加は MOE に搭載されている Protein Preparation 機能を用いて行った。

ドッキング・シミュレーションには、ソフトウェア ASEDock[7]を用いた。このソフトウェアは、標的分子であるタンパク質表面の窪みの形状を偽原子でモデル化し、それに適合する低分子の立体構造と標的分子上の位置を高速に計算する。このソフトウェアは大きく分けて、4段階で実行される。第1は、低分子分子が結合する部位の表現である。多くの場合、低分子はタンパク質表面の窪みまたはポケットに結合する。これらの部位を、統合計算化学システムである MOE に搭載されている Alpha Site Finder 機能により、アルファ球の集合として表現する。第2は、低分子が取り得る可能な立体配座の発生である。本研究では、分子をフラグメントに分割し、フラグメント毎に配座解析を行い、それらを組合せて分子配座を発生する手法を用いて立体配座を生成した。第3は、低分子分子のドッキングである。その為には、アルファ球で表現された部位を偽原子として考え、低分子の原子と重ね合わせを行う。その際、低分子が侵入できないタンパク質原子が占める空間を、排除体積として扱う ASE モデルを考える。重なり具合を、ASE モデルと低分子の原子間距離のガウス関数で評価して ASE スコアとした。即ち、低分子原子がポケット内の偽原子と重なるとスコアは良くなり、逆にタンパク質原子と重なると悪くなる。低分子の各立体配座との重ね合わせは最初、剛体のままで行う。第4は、先に得られた重ね合わせの良い配座を用い、タンパク質との相互作用をポテンシャル関数で表現し、ポテンシャルを最適化することにより、低分子の最適な構造と位置および HLA 分子の最適な構造を求める。本研究では、タンパク質のバックボーン原子は固定し、タンパク質中の他の原子と低分子の原子はすべて自由に動かす条件で、構造の最適化を行った。溶媒効果は Born 近似で行い、ポテンシャル関

数には Amber 10:EHT[8]を用いた。最適構造の評価を行う関数には GBVI/WSA_dG[9]を用いた。

2-3) 結果

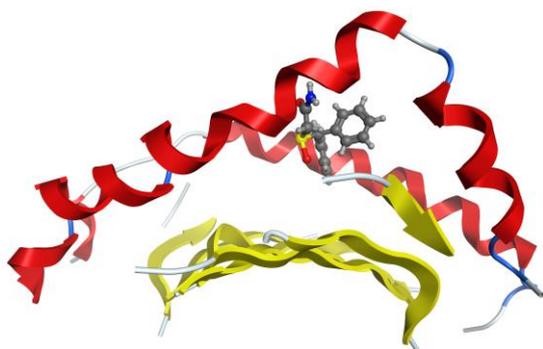
各化合物の最適ドッキング構造の GBVI/WSA_dG 値は次のようである。

表1. ドッキング結果

compound	GBVI/WSA_dG (Kcal/mol)
(<i>R</i>)-modafinil	-5.721
(<i>S</i>)-modafinil	-5.246
(<i>R</i>)-pemoline	-4.522
(<i>S</i>)-pemoline	-4.480
(<i>R,R</i>)-methylphenidate	-5.448
(<i>R,S</i>)-methylphenidate	-5.490
(<i>S,R</i>)-methylphenidate	-5.444
(<i>S,S</i>)-methylphenidate	-4.901

Modafinil はラセミ体として使われているが、(*S*)体の血中での分解は (*R*) 体より速く、(*R*)体への暴露が約3倍高い[10]。従って、(*R*)-modafinil が IDT を引き起こす上で重要であると考えることができる。ドッキング・シミュレーションは (*R*) 体の方が(*S*)体より *DQB1*06:02* と有意に強く相互作用することを示し、仮に(*S*)体が混入しても、*DQB1*06:02* との結合による IDT の発症の確率は低いと予想される。(*R*)-modafinil と *DQB1*06:02* の相互作用様式を図 2 に示す。(*R*)-modafinil は HLA 分子の抗原ペプチド結合溝に比較的浅く結合する。

図2. (*R*)-modafinil と *DQB1*06:02* の相互作用



Methylphenidate には4種の光学異性体があるが、医薬分子と製造され、使用されているのは(*R,R*)と(*S,S*)体のラセミ混合物である。医薬品添付文書[4]

によると、血漿中の methylphenidate のほとんどが (*R,R*)体であり、(*R,R*)体の方がドパミン・トランスポーターに対して、(*S,S*) 体より約12倍強く結合する。また、血漿中に認められる methylphenidate は(*R,R*)体であり、(*S,S*) 体はほとんどが定量下限未満である。従って、(*R,R*)体が活性本体であると考えることができる。(*R,R*)体の GBVI/WSA_dG 値は (*S,S*) 体の値より有意に小さく、(*R,R*)体が *DQB1*06:02* とより強く相互作用することを示す。即ち、(*R,R*)体が IDT の主因であることをこのシミュレーション結果は示唆する。(*R,S*)体の GBVI/WSA_dG 値は僅かに(*R,R*)体の値より低いが、混入による顕著な IDT 発生の上昇にはつながらずと判断される。(*R,R*)-methylphenidate と *DQB1*06:02* の相互作用様式を図 3 に示す。(*R,R*)-methylphenidate は、modafinil に比較すると HLA 分子の抗原ペプチド結合溝にやや深く結合する。

図3. (*R,R*)-methylphenidate と *DQB1*06:02* の相互作用

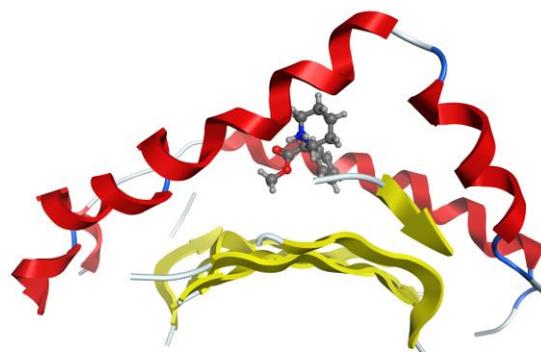
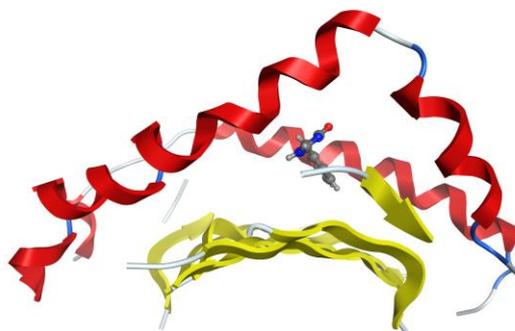


図4. (*R*)-pemoline と *DQB1*06:02* の相互作用



Pemoline は(*R*)体も(*S*)体も *DQB1*06:02* との相互作用は弱い。より強く相互作用する(*R*)-pemoline と *DQB1*06:02* との相互作用様式を図 4 に示す。(*R*)-pemoline は HLA 分子の抗原ペプチド結合溝に、modafinil に比較するとやや深く結合する。

3. 考察

*DQB1*06:02* と相互作用した (*R*)-modafinil、(*R,R*)-methylphenidate および(*R*)-pemoline を重ね合わせた様子を図5に示す。T細胞受容体(T cell receptor:TCR)が接近する方向から見た様子を図5bに示す。抗原ペプチド結合溝における結合位置は3化合物で殆ど一致す

図5a. (*R*)-modafinil、(*R,R*)-methylphenidate および(*R*)-pemoline と *DQB1*06:02* との相互作用。各々のC原子をグリーン、グレーそしてシアンで示す

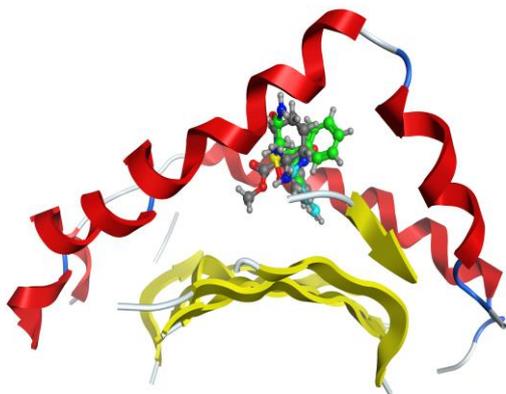
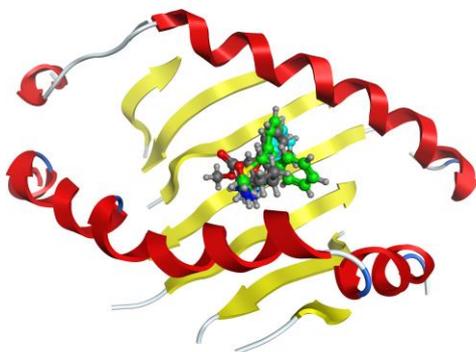


図5b. (*R*)-modafinil、(*R,R*)-methylphenidate および(*R*)-pemoline と *DQB1*06:02* との相互作用。図5bをTCR方向から見た様子。



るが、結合する深さが3化合物でやや異なる。GBVI/WSA_dGの値の順は(*R*)-modafinil<(*R,R*)-methylphenidate<pemolineである。modafinil及びmethylphenidate hydrochlorideについては各々ステイブンス・ジョンソン症候群(SJS)/中毒性表皮壊死症(TEN)および剥脱性皮膚炎が重大副作用として医薬品添付文書[4]に記載されているが、pemolineについては過敏症(発疹)の可能性が指摘されているのみである。従って国内で報告されているIDTの重篤度は定性的にmodafinil>methylphenidate>pemolineであり、

GBVI/WSA_dGの値の傾向と一致する。少なくとも*DQB1*06:02*によるIDTを防ぐためには、pemoline、methylphenidateそしてmodafinilの順でまず処方すべきことをこの本結果は示唆する。

本研究では、各医薬分子と*DQB1*06:02*の親和性の強さだけを推定した。各医薬分子のIDTに関する報告は定性的であり、必ずしも明確ではないが、少なくとも国内で報告されているIDTの重篤度と*DQB1*06:02*への親和性の間には相関が見られるようである。実際のIDTの発現には、さらに抗原ペプチドやTCRとの相互作用も関与しているので、本結果は現在報告されているIDT現象の一部を説明していると考えるべきだろう。

4. 引用文献

- [1] P.T. Illing *et al.*, *Nature*, 486,554(2012)
- [2] M.Kazumasa *et al.*, *The Lancet.*, **339**, 1052 (1992)
- [3] H.M.Ollila *et al.*, *Sleep*, **38**,147(2015)
- [4] 医療用医薬品の添付文書情報(医薬品医療機器総合機構) http://www.info.pmda.go.jp/psearch/html/menu_tenpu_base.html
- [5] MOE(molecular Operating Environment), 2014.09: Chemical Computing Group: Montreal, Canada, (2014)
- [6] F.C.Bernstein *et al.*, *J.Mol.Biol.*, 112, 535(1977)
- [7] J.Goto *et al.*, *J.Chem.Inf.Model*, **48**, 583(2008)
- [8] D.A.Case *et al.*, AMBER 12, University of California, San Francisco (2012)
- [9] C.R.Corbeil *et al.*, *J.Comput.-Aided Mol.Des.*, **26**, 775 (2012)
- [10] J.R.L. Schwartz, *Drug Des. Devel. Ther.*, **2**, 71 (2008)

5. その他の業績

【論文発表】

- (1)T.Yahata *et al.*, *Blood*, **130**, 2283 (2017).
- (2)N. Watanabe *et al.*, *Sci.Rep.*, **7**, 6798(2017).
- (3)M.Hirasawa *et al.*, *Int. J. Mol. Sci.*, **18**, E694 (2017).

【学会等発表】 平山令明：シミュレーションで得た分子構造のデータベース化:薬物とHLAのドッキングシミュレーション:第386回CBI学会講演会 2017.7 東京