

審査の結果の要旨

氏名 豊田 洋介

脂質調節に関わるタンパク質である HMGR と PPAR γ において、アゴニスト作用とは異なる作用で機能を調節する化合物が報告されている。豊田はこれらの化合物に着目した研究を行った。

第 1 部では、コレステロールの生合成経路における律速酵素である HMGR について記述されている。生体内のコレステロール量は精緻に調節される必要があり、コレステロール合成酵素はコレステロールや合成中間体、代謝物によって様々なネガティブフィードバック制御を受ける。HMGR については転写抑制とタンパク質分解という 2 つのネガティブフィードバック制御機構が存在するが、特に後者については未解明な部分が多く残っている。HMGR 分解活性を有する化合物として SR12813 が知られているが、SR12813 の直接的なターゲットタンパク質や作用機序は解明されていない。そこで豊田は、SR12813 を光親和性標識プローブ化することで、SR12813 の結合タンパク質を同定することを試みた。

第 1 章では、HMGR の構造や機能、2 つのネガティブフィードバック制御機構、またそれらを基にした研究目的などについて概説している。

第 2 章では、プローブ創製に向けた HMGR 分解活性を指標とした SR12813 誘導体の構造活性相関について述べている。誘導体の合成およびルシフェラーゼを用いた活性評価の結果、芳香環 3 位と 5 位のターシャリーブチル基や、ホスホン酸部位におけるエステル構造が HMGR 分解活性の維持において重要であることを明らかにした。また、活性の低下は見られるものの、それらをプローブ化に必要な光親和性標識基や検出基に置換することができることを見出した。さらに、SR12813 よりも 8 倍程度強く、現状最も強い HMGR 分解活性を有する化合物 **1** の創製にも成功した。

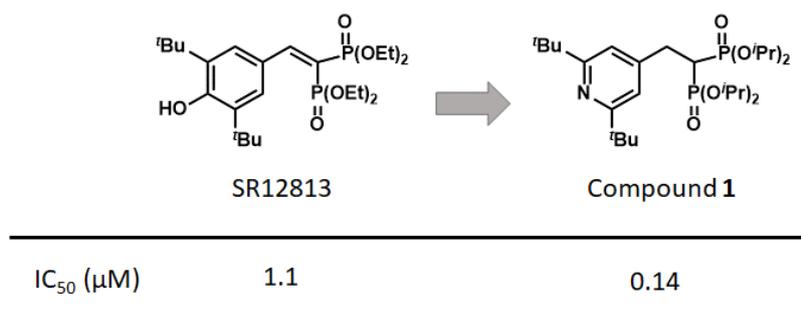


Figure 1 SR12813、化合物1の構造と HMGR 分解活性

第3章では、得られた構造活性相関を基にした光親和性標識プローブの創製と HMGR に対するラベリング試験について述べている。構造活性相関を基にデザインした srpDHY と srbAZY を合成し、HMGR 分解活性を評価したところ、srpDHY は SR12813 よりも 2.6 倍程度強い HMGR 分解活性を有していることが明らかとなった。一方で、srbAZY では HMGR 分解活性が大きく低下していた。このことから、srpDHY を用いて HMGR への結合試験を行った。その結果、srpDHY が HMGR に結合することが示唆された。この結果は SR12813 が HMGR への結合を介して HMGR 分解を誘導しているという新たな作用機序を示唆するものであると考えられる。このプローブを用いれば、SR12813 と同様に HMGR 分解活性を有するが、直接的なターゲットタンパク質が同定されていないコレステロール合成中間体 24、25-ジヒドロラノステロールなどの HMGR への結合を間接的に評価することができ、HMGR のタンパク質分解を介したネガティブフィードバック制御機構について更なる知見を深めることができると期待される。

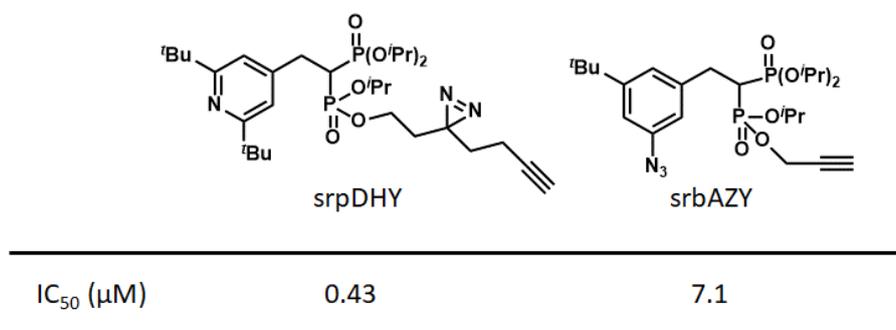


Figure 2 srpDHY、srbAZY の構造と HMGR 分解活性

第II部では、脂肪細胞の分化やグルコースの恒常性維持に関与する核内受容体 PPAR γ について記述されている。PPAR γ をはじめとする核内受容体は transactivation 作用、即ちアゴニスト作用・アンタゴニスト作用に関する研究を中心に行われてきており、多くの医薬品の創製に繋がっている。しかしながら近年、PPAR γ や LXR、GR など一部の核内受容体が、transrepression 作用という別の作用を介して炎症性遺伝子の発現抑制に関与することが報告されている。LXR や GR では transrepression 作用を有するアンタゴニストが報告されているが、PPAR γ においてはアゴニストにおいてのみであることから、PPAR γ ではこの 2 つの作用が相関しているのではないかと考え、両作用における相関関係について検証を行った。

第1章では transactivation 作用と transrepression 作用のメカニズムや医薬への応用、研究目的について概説している。

第2章では、transactivation 作用と transrepression 作用の比較について述べている。アゴニスト活性がフルアゴニストまたはそれに準ずる強さ、パシアルアゴニスト、アンタゴニストと変化していく際に、transrepression 作用はどのように変化していくかということを調べた。その結果、アゴニスト作用の低下と共に transrepression 作用も低下する傾向があることが確認された。すなわち、PPAR γ においては両作用がある程度相関して変化することが明らかとなった。この結果から PPAR γ においては transrepression 作用を示すアンタゴニストを創製する為には、従来の LBD との相互作用を変化さ

せるといった手法によらない方策が必要であることが示唆された。

以上の通り, 豊田の本博士論文の研究成果は、コレステロール生合成における **HMGR** の機能制御に関する研究および **PPAR γ** における **transrepression** 作用研究の発展に有意に貢献するものである。

よって本論文は博士(薬科学)の学位請求論文として合格と認められる。