

氏名	伴 慎太郎
授与した学位	博士
専攻分野の名称	薬学
学位記授与番号	博甲第 4946 号
学位授与の日付	平成 26 年 3 月 25 日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科 創薬生命科学専攻 (学位規則第 5 条第 1 項該当)
学位論文の題目	リガンド結合評価系確立を指向した蛍光性 PPAR リガンドに関する研究
論文審査委員	教授 竹内 靖雄 (主査) 教授 榎本 秀一 教授 澤田 大介

学位論文内容の要旨

ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体(PPAR)はリガンド依存性の転写因子であり α , δ (β), γ の 3 サブタイプが同定されている。PPAR リガンドの評価には転写活性化試験が広く用いられているがこの評価法では PPAR とリガンドの結合性を直接評価することはできない。また近年, PPAR の転写を介さない機能も報告されていることから PPAR のリガンド結合評価系は PPAR の機能全容解明のためのリガンド探索ツールとして重要である。そこで簡便なりガンド結合評価法である蛍光強度法に基づく PPAR リガンド結合評価系確立を目的として研究に着手した。

蛍光強度法は蛍光プローブがタンパク質のリガンド結合ポケット結合時に蛍光が増強することを利用した評価法である。ピレン環を有する蛍光性 PPAR α / δ アゴニストを蛍光プローブとして PPAR α LBD, PPAR δ LBD 添加時の蛍光強度変化を調べたところ, PPAR α LBD では濃度依存的に蛍光強度が増強したのに対し, PPAR δ LBD では逆に濃度依存的に蛍光強度が減弱するという珍しい挙動が観察された。その理由を X 線結晶構造及びドッキング解析を用いて考察した結果, PPAR δ LBD では蛍光プローブのピレン環の近傍にトリプトファンのインドール環が存在し, ピレン環と相互作用していることが示唆された。そこで各種点変異 PPAR LBD を作成し検証した結果, PPAR δ LBD Trp264 のピレンの消光に対する関与を明らかにした。次に PPAR α LBD, PPAR δ LBD についてリガンドを用いた結合評価を検討した。まず PPAR LBD 濃度変化による蛍光強度変化から蛍光プローブの解離定数 K_d を求め, 次にリガンドを競合させた。PPAR α LBD ではリガンド濃度依存的に蛍光強度が減弱し, PPAR δ

LBD ではリガンド濃度依存的に蛍光強度が増強し PPAR α LBD, δ LBD 共に蛍光プローブがリガンドと競合していることを確認した。また蛍光強度変化から IC₅₀, K_iを求めることができた。この結果から従来の蛍光強度法である PPAR α だけでなく、トリプトファンとの相互作用による消光を利用した PPAR δ においても結合評価系の構築に成功した。またリガンド結合評価系確立の一環として合成した PPAR δ アンタゴニストに HCV RNA 複製抑制活性が認められた。これまで PPAR α アンタゴニストが HCV RNA の複製を抑制し、PPAR γ アンタゴニストは HCV RNA 複製抑制に関与しないという報告があったが PPAR δ に関しては明らかではなかった。そこで PPAR δ の HCV RNA への関与を明らかにするために PPAR δ 選択的アンタゴニストを合成しその HCV RNA 複製抑制活性を評価した。その結果、PPAR δ アンタゴニストが HCV RNA 複製を抑制することを明らかにした。また代表的な化合物を臨床で使用されている IFN- α , リバビリンと併用した結果、PPAR δ アンタゴニストがそれらの薬剤と相加的に HCV RNA 複製を抑制することを確認した。

本研究で確立した簡便なりガンド結合評価法と転写活性化試験を組み合わせることで PPAR アンタゴニスト、転写を介さない機能に優れた PPAR リガンド等の探索が進展することを期待する。

論文審査結果の要旨

提出された論文の内容に関して、主査・副査から申請者への質疑応答を経て、大幅なもの2点（新内容の章の追加作成、化合物物性に関するデータの追加）を含む改訂箇所が指摘され、改訂論文の提出をもって再審査することとなった。

改訂論文および改訂内容をまとめたリストが提出された。これらは、先の審査会での指摘事項に添ったものであり、評価基準を満足することから、本研究科の博士学位論文としてふさわしいものと判断した。