

審査の結果の要旨

氏名 田城孝雄

ヒスタミン H_2 受容体において、ヒスタミンとヒスタミン H_2 受容体の結合部位を検討し、ヒスタミン H_2 受容体の第3膜貫通領域の98番のアスパラギン酸残基(Asp98)と、第5膜貫通領域の186番のアスパラギン酸残基(Asp186)、190番のスレオニン残基(Thr190)の3つのアミノ酸残基が、ヒスタミンと結合するポケットを形成することが報告されている。しかし、拮抗薬が受容体分子と結合するモデルの検討はなされていなかった。本研究は拮抗薬と受容体の結合様式を分子レベルで解明し、拮抗薬の理論的創薬の可能性を探る目的で行い、下記の結果を得ている。

1. イヌ・ヒスタミン H_2 受容体遺伝子を発現させた培養細胞系 Hepa cell を用いて、ヒスタミン刺激による cAMP 産生を指標に、ヒスタミン H_2 受容体拮抗薬である ranitidine, T-593 および T-593 の構造同族体 (アナログ体) の薬理作用を比較検討した。ranitidine は、ヒスタミン刺激による cAMP 産生の用量反応曲線を右に平行にシフトしたが、最大反応は抑制せず、競合的拮抗作用を示した。一方 T-593 の拮抗作用は時間依存性に強化され、ヒスタミン刺激による cAMP 産生の最大反応を抑制した。さらに、T-593 の拮抗作用は洗浄により、消失せず、T-593 は非競合的拮抗作用を持つことが示された。また T-593 の分子から phenol 基を取り去り、ranitidine に類似した構造式の T-649 は、ranitidine と同様にヒスタミン刺激の最大反応を抑制しなかった。ranitidine と T-593 は同じ複素環 (furan 環) を持つが、前者は競合的拮抗作用を示し、後者は非競合的拮抗作用を示した。T-593 のアナログ体を用いて検討した結果、T-593 の非競合的拮抗作用は、分子に含まれる phenol 環が関与していると考えられた。

2. ウサギとイヌの単離胃粘膜細胞における ^{14}C -aminopyrine uptake を用いて、ヒスタミン刺激に対する酸分泌を指標にして、T-593 の拮抗作用の非洗浄性に対する種差と、クローニングにより得られた、核酸配列から推測されるウサギとイヌのヒスタミン H_2 受容体のアミノ酸配列の違いを比較検討した。T-593 の拮抗作用の非洗浄性に対するウサギとイヌの単離胃粘膜細胞の種差と、クローニングにより得られた核酸配列から推測されるアミノ酸配列の違いより、イヌ・ヒスタミン H_2 受容体の77番のアミノ酸残基のフェニルアラニンが unsurmountable antagonism に関与する

可能性が示唆された。

3. コンピューターを用いて、バクテリオロドプシンの結晶構造をもとに、構築されたヒスタミン_{H₂}受容体の三次元モデルを作製し、さらにヒスタミン、ranitidine, T-593 を結合させた複合体のエネルギー最小化計算により、最適化した結合体三次元モデルを構築した。アゴニストであるヒスタミンとヒスタミン_{H₂}受容体複合体の三次元構造モデルでは、点変異受容体を発現させた細胞を用いた研究で示された Asp98, Asp186, Thr190 の3つのアミノ酸残基と相互作用する位置にヒスタミンが配位され、第一世代 H₂ ブロッカーであるラニチジンとヒスタミン_{H₂}受容体複合体の三次元構造モデルでは、ラニチジンは、ヒスタミンと同じ3つのアミノ酸残基と相互作用する位置に配位された。また、第二世代 H₂ ブロッカーで、非競合的拮抗薬の T-593 とヒスタミン_{H₂}受容体複合体の三次元構造モデルでは、T-593 はヒスタミン結合ポケットを形成する3つのアミノ酸残基の他に、イヌとウサギの種差により指摘された第2膜貫通領域の77番のフェニルアラニン残基 (Phe77) と相互作用出来る位置に、配位された。これによりフェノール環が π - π 相互作用し、ラニチジンより強固な結合をしている可能性が示された。

受容体分子の内側ポケットにある芳香族アミノ酸を探し、その残基と π - π 相互作用可能な位置に配位できる芳香環をもつ拮抗薬をデザインすれば、より強力で持続時間の長い拮抗薬を効率よく分子設計し、創薬することが可能となることを提示した。G蛋白質結合受容体の創薬は、G蛋白質結合受容体のアミノ酸配列や三次元構造に対する考察が進んだ現在でも、経験と試行錯誤によっていると言える。この為、医薬品の開発に膨大な時間と費用を要している。他の多くの膜7回貫通型受容体と、その非競合的拮抗薬との結合に関する分子モデルの情報を集積することにより、アミノ酸の一次配列の判明した受容体の最適な拮抗薬を、理論的に創薬できる可能性が拓かれると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。