

審査の結果の要旨

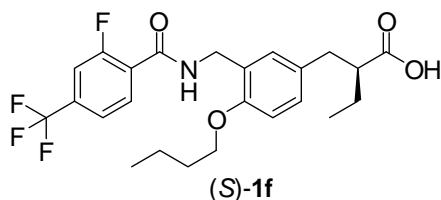
氏名 春日 淳一

ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体(PPAR)は、核内受容体スーパーファミリーに属するリガンド応答性の転写因子であり、 α 、 δ 、 γ の3種類のサブタイプが同定されている。PPAR は生体内において脂肪酸やその代謝物を内因性リガンドとし、脂質や糖のホメオスタシスに関わる遺伝子の発現を制御している。PPAR を標的とした医薬創製研究は PPAR α と PPAR γ がそれぞれ高脂血症治療薬フィブラート類および抗糖尿病薬グリタゾン類の分子標的であることが判明したため急速に進展した。一方で PPAR δ はその全身に広がる分布からは機能を推測することが難しく、生理的機能に関しては未解明であった。しかし近年遺伝子改変マウスを用いた研究により PPAR δ も血糖・中性脂肪の制御やコレステロール逆転送過程に深く関与していることが解明されつつある。しかし未だ不明な点の多いサブタイプであり、PPAR δ の機能解明とその創薬研究はメタボリックシンドロームの克服のための重要な課題である。

春日淳一の研究は PPAR δ 活性を軸としたリガンド創製研究、と PPAR サブタイプ選択性に関する生化学的研究、そして PPAR δ リガンド結合実験系の構築である。

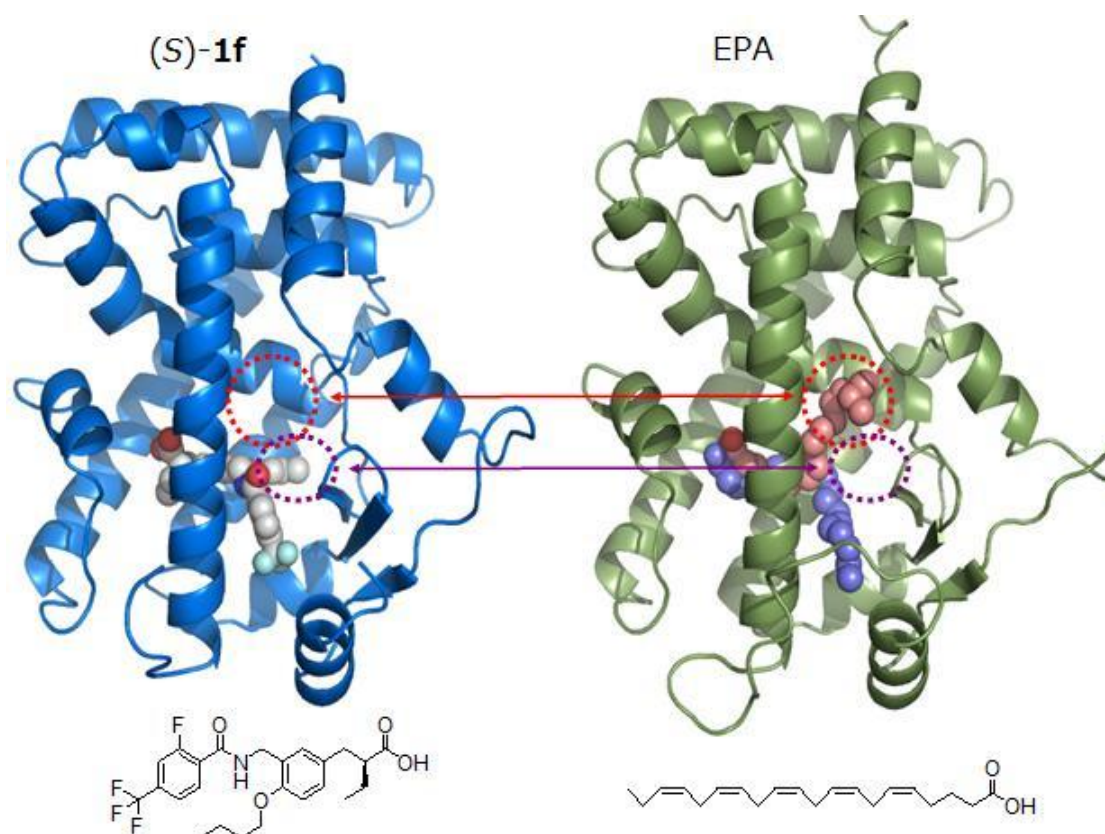
1. PPAR δ 選択的アゴニストの創製研究

春日は修士課程での研究に於いて PPAR α / δ デュアルアゴニストの創製に成功していた。そこから PPAR δ 選択的アゴニストへと展開するに当たり、PPAR δ が天然脂肪酸エイコサペンタエン酸と結合している共結晶の X 線結晶構造解析に注目した。他のサブタイプにはない結合ポケットに結合するリガンドには PPAR δ 選択性が期待できると仮説を立て、Y 字型構造を有するリガンドをデザイン・合成した。結果最終的に、PPAR δ に対する EC₅₀ 値が 0.75nM と高活性かつ他のサブタイプに対して高い選択性を示す PPAR δ 選択的アゴニスト(S)-**1f** を得ることに成功した。



| Compound | EC ₅₀ (nM) | | |
|----------------|-----------------------|---------------|---------------|
| | PPAR α | PPAR δ | PPAR γ |
| (S)- 1f | 250 | 0.75 | 790 |

ここで実際に仮説通りにエイコサペンタエン酸の結合する PPAR δ 内のポケットに結合しているのか、大阪大学の森川耿右教授との共同研究により(S)-**1f** と PPAR δ の共結晶の X 線結晶構造解析を行った。結果、エイコサペンタエン酸が結合する狙ったポケットとは異なる方向へ(S)-**1f** のブトキシ基が向いていることが判明した。



つまり、エイコサペンタエン酸が結合するのとは別の、しかし PPAR δ 活性や PPAR δ 選択性に重要な新たな結合ポケットの存在が示唆された。なぜこのポケットが PPAR δ 選択性に影響するのか、PPAR α との結晶構造の比較によりひとつのアミノ酸の差が示唆された。PPAR α では Met325、PPAR δ では Val298 である。この推測を実験的に確認するため、互いのアミノ酸を入れ替えた点変異 PPAR を作成した。(S)-1f に対する感受性を調べたところ互いのサブタイプが入れ替わったかのような劇的な活性変化を確認した。

2. PPAR δ アンタゴニスト／パーシャルアゴニストの創製

核内受容体の活性化機構には C 末の α ヘリックス(H12)の適切な折りたたみが必要とされており、その折りたたみを阻害することでアンタゴニストやパーシャルアゴニストが創製できることが知られていた。以上の所謂 H12 折りたたみ阻害仮説を基に PPAR δ アンタゴニスト／パーシャルアゴニストの創製を目指した。PPAR δ 選択的アゴニストをベースにその結合活性と選択性を低下させないように化合物をデザインし、検討した結果 PPAR δ パーシャルアゴニスト活性を有する化合物の創製に成功した。また本化合物は共存アゴニストの活性を濃度依存的に抑制しアンタゴニスト活性を示した。

3. PPAR パンアゴニストの創製

PPAR の 3 つのサブタイプを等しく強く活性化できる PPAR パンアゴニストの創製を目指した。まず、末端置換基の変換による PPAR γ との構造活性相関を得ることに成功し、これまでの研究成果と併せ、単一の骨格から PPAR α 、 δ 、 γ それぞれの構造活性相関を得た。以上の構造活性相関を用いて適切に構造展開することにより PPAR パンアゴニストの創製に成功した。

4. 蛍光リガンドを用いた PPAR δ 結合実験系の構築

春日は蛍光性 PPAR リガンドを用いての結合実験系の構築を行った。蛍光性リガンドが PPAR δ と結合すると蛍光強度が低下する現象を利用して、濃度依存の蛍光強度変化から統計処理により PPAR δ と蛍光リガンドの K_d を求めた。さらにこの値を利用し、競合リガンドの K_i 値を求める方法を確立した。

以上春日は PPAR δ 活性を有する化合物として、PPAR δ 選択的アゴニスト、PPAR δ アンタゴニスト/パーシャルアゴニスト、PPAR パンアゴニストの創製に成功した。その過程で PPAR δ 選択性に重要であると考えられる PPAR δ リガンド結合領域内の新たなポケットを明らかにした。また、蛍光リガンドを用いた PPAR δ 結合実験系の構築に成功した。これらの業績は代謝性疾患と強く関係するとされる PPAR δ 研究に限らず、その手法として医薬化学に対し大きく貢献するものである。以上より博士 (薬学) の学位を授与するに値すると判断した。