

氏名	高橋 雄大	
学位の種類	博 士 (生物科学)	
学位記番号	博 甲 第 7747 号	
学位授与年月日	平成 28年 3月 25日	
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当	
審査研究科	生命環境科学研究科	
学位論文題目	Studies on Therapeutic Targets for Type 2 Diabetes Using Small-molecule Ligands (低分子化合物を用いた2型糖尿病治療標的に関する研究)	
主査	筑波大学教授	博士 (理学) 中田 和人
副査	筑波大学教授	理学博士 沼田 治
副査	筑波大学准教授	博士 (理学) 桑山 秀一
副査	筑波大学准教授 (連携大学院)	博士 (理学) 栗崎 晃

論 文 の 要 旨

1. mitoNEETに着目した研究

2型糖尿病患者の骨格筋ではミトコンドリアDNA量の低下や呼吸複合体酵素活性の変化といったミトコンドリア機能異常が認められており、ミトコンドリア機能異常がインスリン抵抗性発症のメカニズムに関与することが報告されている。このことから、ミトコンドリア機能に関与するタンパク質は2型糖尿病治療薬の有用な標的になり得る可能性が考えられる。mitoNEETはミトコンドリア外膜に発現し、ピオグリタゾンが結合性を示す新規タンパク質として同定され、mitoNEETを介した新しいインスリン抵抗性改善メカニズムの存在が注目されている。そこで本研究では、2型糖尿病治療標的としてのmitoNEETの有用性を明らかにするため、ピオグリタゾンの構造からmitoNEETに対する結合性に着目して計算科学的手法により見出した新規化合物TT01001を用いた*in vitro*および病態モデル動物における解析を行った。

mitoNEETに対する結合性をSPR法にて検討したところ、TT01001はピオグリタゾンと同様に濃度の増加に伴い結合反応の増加が認められた。PPAR γ 活性化作用を検討したところ、TT01001はPPAR γ 活性化作用を示さなかった。したがって、TT01001はPPAR γ に作用せず、mitoNEETに対して結合性を示す化合物であり、ピオグリタゾンとは異なる特徴を有する化合物であることが判明した。次に、TT01001の糖代謝に対する作用について2型糖尿病モデル動物であるdb/dbマウスを用いて検討した。TT01001をdb/dbマウスに連続経口投与した結果、db/dbマウスの随時および空腹時血糖値の低下、耐糖能異常改善といった糖尿病治療効果を示した。TT01001のこれらの効果はピオグリタゾンと同等であったにも関わらず、ピオグリタゾンの服用で臨床上問題となっている体重増加作用が全く認められなかった。mitoNEET欠損マウス筋肉由来のミトコンドリアではstate 3の呼吸量の低下が報告されていることから、mitoNEETはミトコンドリア機能に関与している可能性が考えられた。解析の結果、TT01001はミトコンドリア呼吸酵素complex II+IIIの活性化

を抑制することでミトコンドリア機能を正常化する可能性が考えられた。本研究の結果から、mitoNEETを標的とすることで、優れた薬効を示しながら、ピオグリタゾンで認められる副作用が回避可能なこと、さらにその作用機序の一部にミトコンドリア機能改善作用が関与することが示唆された。

2. 11 β -HSD1に着目した研究

11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (11 β -HSD1) は、非活性型のコルチゾンを活性型のコルチゾールへ変換する酵素であり、グルココルチコイドシグナルの活性化に関与している。さらに、2型糖尿病患者の11 β -HSD1活性とインスリン抵抗性指数に相関が認められることから、11 β -HSD1は2型糖尿病の治療標的として注目されている。本研究では、2型糖尿病治療標的としての11 β -HSD1の有用性を明らかにするために、*in vitro* 11 β -HSD1阻害作用以外に、病態モデル動物で薬効を示すために重要な要因を明らかにすることを目的として検討を行った。

HIS-388は、11 β -HSD1の構造とのバーチャルドッキングスタディによって見出された新規低分子化合物である。HIS-388の11 β -HSD1に対する阻害作用について、ヒトおよびマウス肝ミクロソームを用いて*in vitro*にて検討を行った結果、HIS-388は既存11 β -HSD1阻害化合物である carbenoxorone (CBX) や compound 544 (Cpd544) と同等の*in vitro*阻害作用を示した。次に、除放型コルチゾンペレットを皮下に埋め込むことで恒常的な高コルチゾン血症を生じさせたマウスを用いて各化合物の11 β -HSD1阻害作用に関して検討を行ったところ、*in vitro*ではHIS-388、CBXおよびCpd544は同等の阻害作用を示したが、*in vivo*においてHIS-388はCBXやCpd544よりも強く且つ持続的な11 β -HSD1阻害作用を示した。本結果から、*in vivo*における11 β -HSD1阻害作用の強さと持続性が薬効予測の新しいパラメーターとなり得ることが考えられた。次に、肥満インスリン抵抗性モデルである高脂肪食誘導肥満 (DIO) マウスを用いてインスリン抵抗性に対するHIS-388の作用を検討した結果、空腹時血糖値、血漿インスリン値およびインスリン抵抗性指数の低下といったインスリン抵抗性改善作用を示した。HIS-388のこれらの薬効は既存薬ピオグリタゾンと同等であった。そこで、HIS-388の副次的薬理作用を検討したところ、摂餌量低下に伴う抗肥満作用および肝糖新生抑制作用が認められた。HIS-388のこれらの作用がピオグリタゾンと同等の強い薬効を示したと考えられた。本研究の結果から、HIS-388の有する生体内における強く且つ持続的な11 β -HSD1阻害作用がピオグリタゾンと同等の優れた薬効につながった可能性が考えられ、本作用機序が2型糖尿病治療の新しいコンセプトになり得ることが示唆された。

審 査 の 要 旨

本研究では、インスリン抵抗性発症のメカニズムに関与すると考えられる新規ミトコンドリア外膜タンパク質 mitoNEET およびグルココルチコイドシグナル活性化酵素 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (11 β -HSD1) に作用する新規低分子化合物を合成し、これらが2型糖尿病モデル動物の糖尿病症状を改善させることを実験的に示した。これらの着想と成果は、糖尿病の発症機構を解明しようとする基礎研究領域において独創性に秀でており、学問的価値が高い。さらに、mitoNEET と 11 β -HSD1 が2型糖尿病や肥満の新規治療標的となる可能性を強く示唆していることから、本研究の成果は糖尿病の治療研究の飛躍におおきく貢献すると判断された。

平成28年2月1日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士(生物科学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。