

氏名	安達 竜太郎		
学位の種類	博士(生物科学)		
学位記番号	博甲 第 8562 号		
学位授与年月日	平成 30年 3月 23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	Bile Acids and Their Derivatives as Vitamin D Receptor Agonists: Molecular Mechanism and Biological Actions (ビタミンD受容体アゴニストとしての胆汁酸およびその誘導体:分子メカニズムと生物学的作用)		
主査	筑波大学教授	博士(医学)	千葉 智樹
副査	筑波大学准教授	博士(理学)	丹羽 隆介
副査	筑波大学教授	理学博士	沼田 治
副査	筑波大学教授	学術博士	橋本 哲男

## 論 文 の 要 旨

本論文で著者は、まず、核内受容体に関する最新の知見を整理し、核内受容体モジュレーターについて薬剤としての有用性を議論している。次にビタミンD受容体(VDR)の構造および機能について整理した。またVDRに対するリガンドであるビタミンD製剤は高カルシウム血症を引き起こすため、臨床での使用が制限されているが、高カルシウム血症を引き起こさないVDRリガンドは、有望な抗がん剤になると述べている。そこで本論文で著者は、VDRがビタミンDだけではなく、胆汁酸によっても活性化されることに注目し、アゴニストとしての胆汁酸およびその誘導体について、分子メカニズムと生物学的作用に関する解析を行った。本論文第1章で著者は、VDRのアミノ酸とリガンドとの相互作用について述べている。そして第2章では、より強力なVDR活性化作用を有する胆汁酸誘導体を探索し、その生物学的作用について述べている。

本論文第1章で著者は、VDRがビタミンDと二次胆汁酸であるリトコール酸(LCA)という骨格の異なる2種類のリガンドに対して応答することに着目し、VDRのリガンドに対する応答性を解析した。まず著者は、VDRと近縁な核内受容体であり、同じくLCAをリガンドとするプレグナンX受容体(PXR)とのアミノ酸配列および立体構造の比較を行い、VDRのリガンド結合部位のアミノ酸変異体を作製した。これらの変異体を用いてビタミンDおよびLCAに対するリガンド応答性を解析した結果、ビタミンDに選択的な変異体(S278V)、LCAに選択的な変異体(S237M)を見出し、VDRのリガンド応答性に重要なアミノ酸を特定した。そして一連の変異体解析の結果から、著者はビタミンDとLCAとではVDRへの結合様式が異なることをドッキングモデルにて示した。以上の結果から、VDRとPXRのリガンド結合ポ

ケットを構成するアミノ酸の違いがリガンド応答性の違いを引き起こしていると考えられている。またLCAを出発材料として新しい作用を有するVDRリガンドの創生が可能であることを述べている

本論文第2章で著者は、VDRの新たなリガンドを開発するため、LCAよりも強力なVDRリガンドを胆汁酸誘導体の中から探索した。著者は、一連のLCA誘導体のVDR活性化作用について検討しVDRに対するLCA誘導体の活性化作用の構造活性相関を明らかにしている。その結果、LCAよりも強力なVDR活性化作用を有する新しいLCA誘導体を複数見出した。調べられたLCA誘導体の中でLCAアセテートが最も強力なアゴニストとしてはたらき、LCAよりも30倍強力な活性をもっていた。LCAアセテートは、VDRとコアクチベーターとの結合、さらにVDRからのコリプレッサーの乖離を促進した。また*in vitro*の実験によりLCAアセテートがVDRに直接結合することも確認された。LCAアセテートはVDRと類縁のFXRおよびPXRを含めて他の核内受容体に対しても選択性を有しており、著者がVDRの各種アミノ酸変異体に対する活性化作用をさらに評価した結果、ビタミンDとLCAアセテートでは結合様式が異なることがドッキングモデルにより示された。本論文で著者は、LCAアセテートはヒト単芽球系白血病細胞の増殖抑制を示すことを見出し、LCAとは異なり同細胞に対して分化誘導作用を示すことを見出している。また小腸細胞における遺伝子発現制御も調べ、LCA誘導体が高カルシウム血症を示さない選択的なVDRモジュレーターとして機能する可能性を示した。

以上、本論文で著者は、多様な核内受容体モジュレーターが副作用の少ない薬剤として有用であることを示し、選択的な薬理作用を有するVDRモジュレーターの分子メカニズムを考察した。

## 審 査 の 要 旨

本論文において著者は、核内受容体VDRのリガンド結合部位の構造予測に基づいて、多数の変異体を作製し、核内受容体のリガンド結合部位がリガンド応答性の違いを引き起こしていることを実験的に証明した。また、その構造予測からLCA誘導体が新たな活性をもつVDRモジュレーターとなることを予想し、実際にLCAアセテートが強力なアゴニストとしてはたらくこと、それはビタミンDとは異なる生物学的作用をもつことを明らかにした。これらの研究成果は、新規のVDRモジュレーターを創製する上で重要な知見を与え、核内受容体モジュレーター研究の重要性を示唆した研究としても高く評価される。

平成30年1月31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。