

学 位 論 文 要 旨	
氏 名	園田 健登
題 目	<p>既存プロリン水酸化酵素阻害剤と骨格を異にする PyrZA に関する研究： 低酸素防御機能の統合的解析と高活性誘導体の選抜 (Study on PyrZA with a different scaffold from known prolyl hydroxylase domain protein inhibitors: integrated analysis of hypoxic protective function and selection of higher HIF activity of PyrZA derivatives)</p>
<p>低酸素誘導因子 (HIF-<math>\alpha</math>) は低酸素障害を解消する防御タンパク質の誘導に重要である。常酸素下では、HIF-<math>\alpha</math> はプロリン水酸化酵素 (PHDs) による水酸化を起点にほとんどがプロテアソームで分解される。低酸素下では、PHDs の基質である分子状酸素の減少により、HIF-<math>\alpha</math> の水酸化度が低下し、HIF-<math>\alpha</math> の分解が抑制される。分解を免れた HIF-<math>\alpha</math> は、速やかに核へ移行し、DNA 上の低酸素応答領域に結合することでエリスロポエチン (EPO) などの低酸素防御タンパク質群の発現を誘導する。</p> <p>低酸素状態にせず可逆的に HIF を活性化できる低分子化合物は、低酸素障害から組織を保護し、機能回復ができるため、心筋梗塞や脳卒中などの虚血性疾患の予防に活用できる。最近、腎機能低下に起因する腎性貧血にも適用されつつある。既存の HIF 活性化剤は PHDs の補因子である 2-オキシグルタル酸 (2-OG) 骨格を有し、これらの 2-OG 類似化合物は 60 種類以上存在する 2-OG を補因子とするタンパク質にも作用する恐れがある。そのため 2-OG 骨格を保持せず、高い特異性を持つ新規 HIF 活性化剤の開発を目指し、我々は新奇 HIF 活性化剤 PyrZA (5-(1-acetyl-5-phenylpyrazolidin-3-ylidene)-1,3-dimethylbarbituric acid) を見出し、大量合成を可能とした。</p> <p>PyrZA は SK-N-BE(2)c、HeLa、Hep3B 細胞で HIF-<math>\alpha</math> タンパク質を安定化し、Hep3B 細胞において EPO や CA9 など HIF 標的遺伝子の発現も誘導した。さらにメス 6 週齢 C57BL6 マウスに対し、PyrZA 50 mg/kg を腹腔内投与し 6 時間後の腎臓においても <i>Bnip3</i> や <i>Car9</i> などの HIF 標的遺伝子の発現が誘導された。次に SK-N-BE(2)c および HeLa 細胞において PyrZA が水酸化 HIF-1<math>\alpha</math> タンパク質を減少させたこと、PyrZA と PHD2 のドッキングシミュレーションにおいて PyrZA が 2-OG ではなく HIF-<math>\alpha</math> の酸素依存的分解ドメインを有するアミノ酸領域を模倣するように結合した。以上より、PyrZA が PHDs 機能を直接的に阻害すると示唆された。PyrZA のフェニル基、アセチル基を置換した誘導体 (16 種、A 群)、脂溶性向上させるアセチル基、メチル基を置換した誘導体 (6 種、B 群) の計 22 種の PyrZA 誘導体それぞれの HIF 活性化能および細胞毒性を評価した。結果 B 群から PyrZA と比較し約 30 倍 HIF 活性化能あり、細胞毒性も低い化合物 PyrZA-50 を見出した。PyrZA-50 は PyrZA と比較しても低濃度で HIF-<math>\alpha</math> タンパク質を安定化し、EPO や CA9 の発現を誘導した。現在は、PHDs 組換えタンパク質を作製し、PyrZA による PHD 阻害機序について構造的観点から迫ることを目標としている。</p>	