



Title	STUDY ON THE STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIPS BASED ON THE SOLUTION STRUCTURE OF HUMAN INSULINLIKE GROWTH FACTOR-I(IGF-I)
Author(s)	佐藤, 明啓
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42982
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていない ため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利 用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文につい てをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名 佐 藤 明 啓

博士の専攻分野の名称 博 士 (薬 学)

学 位 記 番 号 第 1 4 9 1 4 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 11 年 9 月 3 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第2項該当

学 位 論 文 名 STUDY ON THE STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIPS
BASED ON THE SOLUTION STRUCTURE OF HUMAN INSULIN-
LIKE GROWTH FACTOR-I (IGF-I)
(インスリン様成長因子-I (IGF-I) の溶液構造と活性発現機構に関
する研究)

論文審査委員 (主査)
教 授 小 株 祐 次
(副査)
教 授 今 西 武 教 授 前 田 正 知 教 授 山 元 弘

論 文 内 容 の 要 旨

ヒトの成長には数多くのホルモンや細胞増殖因子が関与し、それらは巧みに制御されている。ヒト由来インスリン様成長因子-Iである Human Insulin-like Growth Factor-I (以下、IGF-I と略す) もその因子の一つであり、1957年 Salman らにより骨への硫酸塩の取り込みを促進する血清因子として見出され、後に成長ホルモン依存性に骨発育を促進するソマトメジンの一種であることが判明した。ソマトメジン類は(1)軟骨への硫酸塩の取り込みを促進する(2)成長ホルモン (GH) に依存して血中に存在する(3)細胞増殖、分化を促進する(4)インスリン様作用を示す等の特徴を有し、その中で早くからヒト血漿から単離されたソマトメジンCと IGF-I の構造研究がされていた。その後、種々の生理活性とラジオイムノアッセイによりソマトメジンCと IGF-I が同一物質であることが明らかにされた。

IGF-I は成長ホルモンの刺激によって、主として肝臓または腎臓で産生されヒト血清中に存在する骨成長因子として見出され、インスリン抗体により抑制されないインスリン様作用を示す物質として同定された。その後、各種細胞に対して増殖促進作用や DNA 合成促進作用が認められ、最近では種々の組織で生産され、細胞の増殖分化を促進するものと考えられており、これらの興味ある生理活性が注目を集めている。

IGF-I の一次構造は、プロインスリンと49%の相同性を有する70個のアミノ酸からなり、分子量7,649の塩基性ペプチド (pI=8.5) であることが、1978年 Humbel らにより明らかにされた。また、インスリン様成長因子には、その作用の違いにより IGF-I 及び IGF-II の2種が存在し、それらの生理作用の伝達は2つのレセプターのサブタイプ (Type I 及び Type II) あるいはインスリンレセプターによりその作用を発揮することが知られている。また、IGF-I と IGF-II は、アミノ酸配列の高い相同性 (62%) にもかかわらず、それらは Type I 或いは Type II の2つのレセプターと異なる相互作用をする。すなわち、IGF-I はインスリンレセプターに構造的に高い類似性を示す Type I レセプターに強い親和性を示し、IGF-II は構造の全く異なる Type II レセプターに強い親和性を示す。更に、IGF-I の特徴の1つは、それらが特定のキャリアー蛋白質と結合して血中を循環していることである。血中及び種々の組織から、現在までに6種の IGF 結合蛋白質 (IGFBP1-IGFBP6) の存在が報告され、これらは IGF の作用を増強するためのキャリアー蛋白質だけでなく、IGF-I の作用を抑制するものも報告され、IGF-I の活性発現機構は混乱を極めている。

これら IGF-I の興味ある生理活性から、当然、その高次構造にも興味をもたれ、多くのタンパク質結晶学者達が国内外のあちこちにおいて、結晶化の試みを行っているようであるが、未だ成功していない。一方、遺伝子操作や化学合成法の発達により、生理活性ペプチドやタンパク質を大量に生産することが可能になり、これらの手法によりアミノ酸置換やペプチド鎖長の制御が行えるようになり、化学構造と活性の相関を解析することも出来る。更に、NMR とディスタンスジオメトリ法の応用により、これら生体高分子の水溶液中での立体構造を解析することが可能になってきた。

このような背景から、申請者は IGF-I の、これら複雑な生理活性を分子レベルで合理的に説明するため、IGF-I の水溶液中における立体構造を NMR とディスタンスジオメトリ法により決定した。また、IGF-I の S-S 結合の位置異性体 (IGF-I と異なったジスルフィド結合様式を持つ異性体) についても同様にその立体構造を決定した。インスリンは言うまでもなく非常に良く研究されているペプチドホルモンである。構造解析も古くからなされ結合水の解析も可能なほどの高分解能で X 線結晶構造解析も行われている。一方、IGF-I はその高いアミノ酸配列の相同性にもかかわらず、結晶化が行えずその詳細な構造解析は永く不可能であった。NMR の進歩と計算機の性能向上により 2 次元-NMR 法が発展し、それらを用いて申請者が初めて IGF-I 及びその S-S 異性体の水溶液中での立体構造を決定した。その結果、IGF-I は、Ala8-Cys18、Gly42-Cys48 及び Leu54-Cys61 の 3 ケ所で α -ヘリックス構造をとり、これらのヘリックスは疎水結合により安定化された固いコア構造をしていることが判った。S-S 異性体は、Ala8-Cys18 及び Leu54-Cys61 の 2 ケ所に α -ヘリックス構造を持ち、そのヘリックス間の相対配置は、IGF-I のそれと非常に良く似ていた。また、IGF-I で認められた Gly42-Cys48 の α -ヘリックス構造は崩壊し、分子全体のコンフォメーションが元の IGF-I と比較しコンパクトな構造であることが判明した。また、これら両者の溶液構造及びインスリンとの構造を比較し、立体構造と活性との相関及び IGF-I のレセプター或いは結合蛋白質 (IGFBPs) との相互作用の様式を分子レベルで解析し、IGF-I の活性発現に重要な役割を果たすアミノ酸残基は、Tyr24、Phe25、Phe49~Cys52 及び Phe16であることを明らかにした。更に、ラット腎リゾソームを用いた *in vitro* 実験により、IGF-I の主な代謝 (分解) は、Arg21-Gly22、Gly22-Phe23、Thr41-Gly42 及び Cys61-Ala62 の 4 カ所の部分で開裂し、いずれもインスリン様の 2 本鎖ペプチドが生成することを明らかにした。これら 4 カ所の開裂部位と先に決定した IGF-I の立体構造の解析から、IGF-I の活性発現機構、生理学的役割について興味ある知見を得ることが出来た。

これらの研究の成果は、IGF-I の活性発現機構の解析のみでなく、IGF-I の立体構造からヒントを得た医薬品の設計への合理的指針を与えることになる。更に、この解析法は他の多くの生理活性ペプチドの構造と機能の相関についての解析法を与えると同時に、天然物から出発した医薬品の設計に多大な寄与を与えることが期待される。

論文審査の結果の要旨

ヒト由来インスリン様成長因子 IGF-I はプロインスリンと 49% の相同性を持つ 70 個のアミノ酸からなる生理活性ペプチドで、1970 年頃よりその構造解析が X 線回折法により試みられてきた。本研究では、NMR とディスタンスジオメトリ法により世界に先駆けてその溶液構造を決定した。さらにジスルフィド結合異性体の溶液構造も解析し、それらをインスリンとの比較により検討し、構造の安定化要因および活性との相関を解析した。またラット腎リゾソームを用いた *in vitro* 実験により IGF-I の分解物に見られる開裂部位と立体構造の関係を調べた。本研究は成長因子とといった重要な生理活性を有する情報ペプチドを構造を主体として生物、物理化学的側面を系統だって解析した国際的にも新しい試みで、構造生物学の先駆けを成すものである。この成果は創薬研究に多大の貢献を成すもので、学位授与に十分値するものと判断した。