The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Development of selective ligands for histamine H3- and H4-receptors
Author(s)	橋本, 剛
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45361
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

【8】

氏　　名	橋（はし）　本（もと）　剛（たけし）
博士の専攻分野の名称	博　士（保健学）
学　位　記　番　号	第　18564　号
学位授与年月日	平成16年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科保健学専攻
学　位　論　文　名	Development of selective ligands for histamine H_3- and H_4-receptors **（選択的ヒスタミンH_3-およびH_4-受容体リガンドの創製）**
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　大和谷　厚 （副査） 教　授　井上　修　　教　授　藤原　英明

論　文　内　容　の　要　旨

神経内分泌・循環調節・睡眠覚醒等に関与している脳内ヒスタミン神経系においてシナプス前に存在する自己受容体として1983年にヒスタミンH_3-受容体が同定された。その後、H_3-受容体は中枢神経系に限らず、末梢神経系をも含めた多くの神経系においてヘテロ受容体として存在し、他の神経伝達物質の遊離を抑制性に調節していることも明らかにされた。また、1999年クローニングが成功しGi/o蛋白を介する受容体であること、さらに常時活動性、つまりリガンドが結合しない状態においても自発的な活性を示す受容体であることが報告され、既存の遮断薬は逆作動薬または中立的遮断薬のどちらかに再分類されつつある。

続いて、ヒスタミンH_4-受容体は国際的プロジェクトであるヒトゲノム解析の研究成果の一部として同定され、既知G蛋白共役型受容体（GPCR）の中ではH_3-受容体に37%という最も高い相同性を示している。また、H_4-受容体の細胞内シグナル伝達系はG_i結合型であり、H_1-受容体がG_q結合型、H_2-受容体がG_s結合型、H_3-受容体がG_i結合型であることから、H_4-受容体は分子構造のみならずシグナル伝達系においてもH_3-受容体と類似している。さらに、H_3-受容体に対する既存のリガンドはH_4-受容体に対しても高い親和性を有している。しかしながら、H_4-受容体のメッセージは末梢白血球、胸腺、脾臓、骨髄、肺という免疫や造血機能に関わる臓器に発現しており、H_3-受容体のメッセージが脳にのみ限局しているのに対してその発現部位が大きく異なるため、新たな治療法のターゲットとして期待されている。

H_3-受容体およびH_4-受容体の生理機能や病体機能については未だ不明な点が多い。また、既存のリガンドを用いた受容体の機能を解析することは難しいため、それぞれの受容体に対して選択的なリガンドを探索することは不可欠である。そこで、中間鎖であるテトラハイドロフラン環（THF環）の5位（R^3）に結合している側鎖と受容体との相互作用について着目した一連のイミフラミン誘導体を合成し、*in vivo*およびin vitroアッセイ系を用いて検討した。

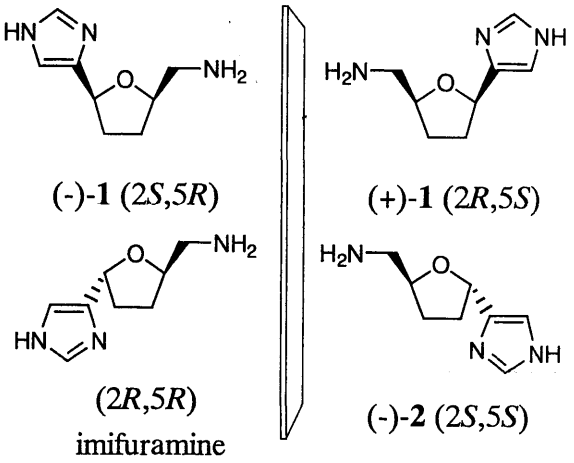
【方法ならびに成績】

リガンドの幾何異性および光学異性を選択的に固定することができるイミダゾールC-ヌクレオシド骨格（ICN）に着目し、モルモット腸管を用いた*in vitro*マグヌス法およびラット*in vivo*マイクロダイアリシス法によるスクリーニング系を用いてH_3-受容体に対する薬理活性を検討した。その結果、(+)-4(5)-[(2*R*, 5*R*)-5-aminomethyltetrahydro

furan-2-yl] imidazole [imifuramine]は強力な H_3-作動活性を有することを明らかにした。さらに、ヒトヒスタミン H_3-受容体または H_4-受容体をヒト神経芽細胞腫由来の SK-N-MC 細胞に強制発現させた実験系を用いて Imifuramine および Imifuramine 誘導体の生物活性および結合親和性についてスクリーニングを行ったところ、Imifuramine のアミノ基をシアノグアニジン基に置換した新規化合物［OUP-(-)-16］が生物活性および結合親和性のいずれにおいても H_3-受容体よりも H_4-受容体に対し選択性を有することを明らかにした。さらに、Imifuramine は H_3-受容体および H_4-受容体に対して同程度の作動活性を示すが、Imifuramine の鏡像異性体である OUP-(-)-2 は H_4-受容体よりも H_3-受容体に対し約 300 倍の選択性を有することを明らかにした。

【総括】

Imifuramine 以外の３つの立体異性体は、ラット *in vivo* マイクロダイアリシス法を用いた実験ではヒスタミン神経系に作用を及ぼさなかった。しかしながら、モルモット腸管を用いた *in vitro* マグヌス法では、H_3-受容体に対して強い遮断活性を示すことを明らかにした。さらに、強制発現細胞を用いた実験系で H_4-受容体よりも H_3-受容体に対して選択性を示した OUP-(-)-2 はマイクロダイアリシス法においてヒスタミン神経系に作用を及ぼさないが腸管に対して強い H_3-受容体遮断活性を有していた。これらの結果から、受容体の一次構造において種差間に大きな相違は認められないが、リガンドと H_3-受容体との相互作用に影響する何らかの因子が存在する可能性が示唆された。



本研究は無作為に合成した化合物のスクリーニングを行い、結合親和性が高いもしくは薬理活性が強いものを単にリード化合物として選択するこれまでの創薬とは異なり、ICN を母核とする誘導体は、立体特異的に系統的に合成した化合物をスクリーニングするため、目的の薬理活性をもつリガンドの光学異性の情報を取得することができる。これらの化合物をリード化合物としてさらに選択性を高めたリガンドを創製し、H_4-受容体の生理的メカニズムを解明していくことができると確信している。

論文審査の結果の要旨

1983 年に同定されていたヒスタミン H_3 受容体は 1999 年にクローニングされ、その翌年、2000 年には H_3 受容体の塩基配列をもとにしたホモロジー検索により H_4 受容体が同定、クローニングされた。両受容体のアミノ酸配列の相同性はおよそ 40%であり、さらに膜貫通領域においては 60%と極めて高く、遺伝子構造も３個のイントロンをもつなど類似点が多い。さらに、両受容体はともに Gi 結合型受容体であり細胞内シグナル伝達系も酷似していることがすでに報告されている。しかしながら、H_3 受容体の存在部位が脳に限局しているのに対し、H_4 受容体は脾臓・肺・骨髄といった免疫系、造血系組織に主に限局していることから新たな薬物治療のターゲットとして期待されており、H_4 受容体に選択的なリガンドの開発が望まれている。

申請者は大阪薬科大学との共同研究により、幾何異性および立体異性を選択的に固定することができるテトラヒドロフラニルイミダゾール誘導体を新たに合成し、*in vitro* マグヌス法および *in vivo* マイクロダイアリシス法によるスクリーニングを用いて H_3 受容体に対する薬理活性を検討した。その結果、(+)-4(5)-[(2*R*, 5*R*)-5-aminomethyl tetrahydrofuran-2-yl] imidazole [imifuramine]は強力な H_3-作動活性を有することを明らかにした。

さらに申請者は、ヒトヒスタミン H_3 受容体または H_4 受容体をヒト神経芽細胞腫（SK-N-MC 細胞）に強制発現させた実験系を用いて imifuramine および imifuramine 誘導体の生物活性についてスクリーニングを行ったところ、imifuramine のアミノ基をシアノグアニジン基に置換した新規化合物［OUP-13 および OUP-16］が生物活性および

結合親和性のいずれにおいても H_3 受容体よりも H_4 受容体に対し選択性を有していることを見出し、初めての H_4 選択的リガンドとして世界に先駆けて報告した。これらの知見はテトラヒドロフラニルイミダゾール誘導体をリード化合物にして、さらに H_4 受容体に選択的で生物活性の強い化合物を合成していくとともに、いまだ詳細が不明のままである H_4 受容体の生理機能の解明に大きく寄与するものと考えられ、学位の授与に値するものと認める。