

Title	Structural insight into PPAR γ activating process through covalent modification with endogenous fatty-acid ligands.
Author(s)	和久, 剛
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49704
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

[48]

氏名	わく久 剛
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 22682 号
学位授与年月日	平成 21 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科化学専攻
学位論文名	Structural insight into PPAR γ activating process through covalent modification with endogenous fatty-acid ligands. (内在性脂肪酸リガンドとの共有結合を介した核内受容体 PPAR γ 活性化機構)
論文審査委員	(主査) 教授 高尾 敏文 (副査) 教授 深瀬 浩一 教授 村田 道雄 教授 相本 三郎

論文内容の要旨

核内受容体の一つである PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ) は糖代謝、及び脂質代謝に関わっており、生体の恒常性維持において重要な役割を担っている。事実、PPAR γ は II 型糖尿病、動脈硬化や肥満といった生活習慣病の代表的な標的タンパク質として積極的な創薬が行われている。この受容体の内在性リガンドとして、これまでに COX (cyclooxygenase) 及び LOX (lipoxygenase) 依存的につくられる脂肪酸代謝産物が報告されている。私の所属する研究室では、内在性リガンドの一つである 15d-PGJ₂ (15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J₂) による PPAR γ 活性化には、受容体リガンド結合領域 (LBD) 内に一つだけ存在するシステイン (C285) の SH 基とリガンドの α, β 不飽和ケトンとのマイケル付加による共有結合形成が必須であることを生化学的、及び細胞生物学的に明

らかした。更に、その活性化機構として、非共有結合中間状態を経て転写が活性化される“dock and lock”モデルを提唱していた。しかしながら、内在性脂肪酸代謝産物との共有結合形成がどのように PPAR γ 転写活性を誘導するかについては不明であった。

本論文では、PPAR γ の野生型リガンド結合領域を用いて Apo 体と共有結合状態を、共有結合能と活性化能の両方を欠いた C285S 変異型リガンド結合領域を用いて非共有結合中間状態のリガンド/受容体複合結晶構造を決定し、それらの構造比較を行った。この結果、非共有結合過程において、H2' と H3 間の loop (H2'-H3 loop) に構造変化が生じ、それに続く共有結合形成過程においては、C285 付近のいくつかのアミノ酸側鎖のネットワークが再編成されることが明らかとなった。さらに、これら構造変化の見られたアミノ酸側鎖のうち I267 と F287 を各々アラニンに置換した変異体を作成し動物細胞を用いた転写活性試験を行ったところ、15d-PGJ₂ による転写が誘導できなくなることを示した。また、共有結合能を有する新たな内在性脂肪酸代謝産物として LOX 依存性代謝産物である複数の oxoETEs (oxo-eicosatetraenoic acids) を同定した。これら一連の脂肪酸代謝産物は非常に類似した化学的、構造的特徴を持つにもかかわらず、異なる活性強度の PPAR γ 転写活性が誘導された。そこで、リガンドにより異なる活性強度の構造基盤について検討するために各 oxoETEs/受容体複合結晶構造解析を行い前述の 15d-PGJ₂ 共有結合複合と構造比較したところ、H2'-H3 loop がリガンド毎に異なる構造をとっていることが明らかとなった。さらに創薬の観点から、共有結合能を有する新規合成リガンドを *in silico* スクリーニングにより同定した。これら新規合成リガンドの一つである nitro-233 との複合体の結晶構造解析を行ったところ、上記で示した内在性脂肪酸代謝産物複合体と同様の構造変化が観察された。

この PPAR γ の構造生物学的研究において、共有結合型内在性脂肪酸は、まずリガンド非共有結合過程で、H2'-H3 loop をリガンド特異的な構造に変化させることで異なる転写活性強度を産み出し、次の共有結合形成過程において、リガンド共通に F287 付近のアミノ酸側鎖ネットワークを再編することにより PPAR γ 転写活性を誘導することを明らかにした。即ち、この生理学的に重要な核内受容体の活性化機構である“dock and lock”モデルの構造基盤を提示することができた (Fig. 1)。

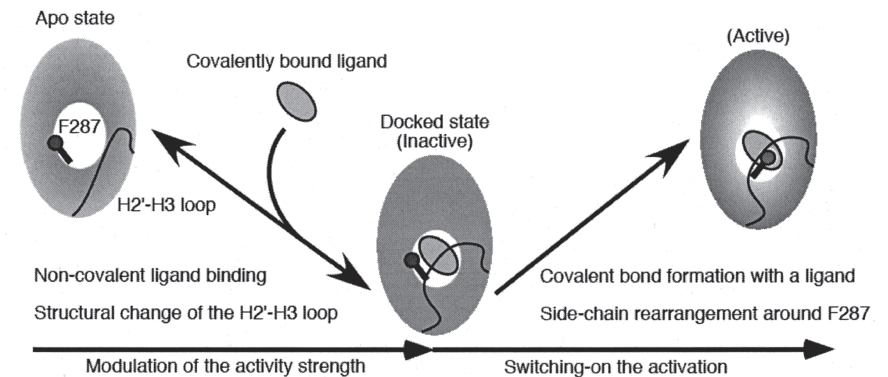


Fig. 1. Structural basis of “dock and lock” model for PPAR γ activating process.

論文審査の結果の要旨

核内受容体の一つであるPPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ) は糖代謝、及び脂質代謝に関わっており、生体の恒常性維持において重要な役割を担っている。本論文では、共有結合型内在性リガンド (脂肪酸代謝産物) によるPPAR γ の転写活性の誘導機構について、それらの複合体のX線結晶構造解析により立体構造を詳細に調べ、幾つかの重要な知見を得ている。特に、リガンドとの共有結合形成過程において、リガンド共通にPhe-287付近のアミノ酸側鎖ネットワークを再編することによりPPAR γ 転写活性を誘導することを初めて明らかにした点は高く評価される。さらに、複合体の構造をもとに、共有結合能を有する新規合成リガンドを *in silico*スクリーニングにより同定することにも成功しており、上記結果を検証するのみならず創薬の観点からも有用な知見を与える結果であると考えられる。

以上により、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分価値あるものと認める。