



Title	Interaction of the mineralocorticoid receptor with nonsteroidal ligands
Author(s)	小坂, 宏道
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59464
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	こ 小 坂 宏 道
博士の専攻分野の名称	博 士（理学）
学 位 記 番 号	第 2 4 9 8 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 23 年 12 月 20 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	Interaction of the mineralocorticoid receptor with nonsteroidal ligands (ミネラルコルチコイド受容体と非ステロイド型リガンドの相互作用)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 篠 原 彰 (副査) 教 授 滝澤 温彦 教 授 金澤 浩 准教授 篠 原 美紀 准教授 増井 良治

論 文 内 容 の 要 旨

ミネラルコルチコイド受容体 (MR) は、リガンドであるアルドステロンと結合することで活性化し、核へ移行し遺伝子発現を活性化する。活性化された遺伝子によってナトリウムと水の再吸収が促進され、血圧が上昇する。MR の異常な活性化は高血圧の原因となると考えられるため、若年性高血圧患者の MR 遺伝子変異をスクリーニングした結果、セリン 810 がロイシンに置換した変異 (S810L) が同定された。既存の MR 阻害薬であるスピロノラクトンやエプレレノン[®]は、アルドステロンと類似のステロイド構造をしているため S810L 変異型 MR を活性化してしまうことが報告されており、S810L 変異を有する高血圧患者には使用できない。また、S810L 変異はリガンド非存在下でも転写を活性化してしまう作用、“構成的活性”を有する。この構成的活性が、S810L 変異を有する患者の高血圧の原因となっている可能性が考えられている。このため、S810L 変異型 MR を低分子化合物によって阻害可能であることを示すことは重要である。また、S810L 変異型 MR の有する特徴的な構成的活性のメカニズムを明らかにすることは、若年性高血圧患者の病態を理解するために非常に重要である。しかしながら、構成的活性を阻害できる阻害薬が報告されていないため、そのメカニズムは明らかでない。最近になって、非ステロイド構造のカルシウムチャネル阻害薬が MR 阻害活性を有することが報告されたが、構成的活性への影響など阻害メカニズムの詳細については解析されてない。

本研究では、非ステロイド型カルシウムチャネル阻害薬ベニジピンを用いて、S810L MR の有する構成的活性のメカニズムを解析した。腎臓由来の細胞株 HEK293 を用いて、MR の転写活性をルシフェラーゼ遺伝子の発現として検出できるレポーターアッセイ系を構築した。また、蛍光

タンパクを融合した MR を用いて細胞内局在を解析した。既存 MR 阻害薬エブレノン、スピロノラクトンは MR の核内移行を促進するが転写は活性化しないのに対し、ベニジピンは MR の核移行も転写も誘導しないなど、ステロイド型阻害薬とは異なる作用が示された。さらに、ベニジピンはアルドステロンによる S810L MR の活性化だけでなく、リガンド非存在下での構成的活性も阻害できることが明らかとなった。これまでに構成的活性を阻害する化合物の報告は無く、構成的活性を低分子で阻害可能なことが示された。また、MR を活性化可能なホルモンであるコルチゾールは、成体内では 11β -hydroxysteroid dehydrogenase type2(11β HSD2)によって不活性型のコルチゾンへ変換されている。S810L MR のレポーターアッセイ系に 11β HSD2 を共発現させると、S810L MR の有する構成的活性はほぼ完全に消失し、ベニジピンの影響もなくなった。また、コルチゾールは S810L MR に対し野生型 MR よりも低濃度から作用することも明らかとなった。さらに、血液癌由来の細胞株を用いたレポーターアッセイ系では S810L MR の構成的活性は検出されなかった。以上のことから、S810L MR の有する構成的転写活性は、変異によりアッセイ細胞に微量に存在するコルチゾールに応答するようになった結果であることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

小坂 宏道氏は Interaction of the mineralocorticoid receptor with nonsteroidal ligands (ミネラルコルチコイド受容体と非ステロイド型リガンドの相互作用) というテーマで研究を行った。副腎から分泌され、血液のナトリウム、カリウム、水のホメオスタシスを制御するホルモンであるアンドロゲンの受容体であるミネラルコルチコイド受容体の作動機構を分子レベルで解析を行った。特に、遺伝性的高血圧を引き起こすミネラルコルチコイド受容体の変異 S810L と、阻害剤に焦点を充てた研究を遂行した。を見出した。ミネラルコルチコイド受容体の変異 S810L は非ステロイド型リガンドである Benedipine により阻害を受けることを見出し、その阻害は核移行や転写の活性化を抑えることによることを明らかにした。さらに、ミネラルコルチコイド受容体の変異 S810L は基質特異性が緩くなることで、通常はリガンドとして働かない内在性ホルモン、コルチコイドによって活性化されている可能性を示唆した。高血圧症の原因を分子レベルで明らかにした点が新しいと言える。

よって、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。