

(続紙 1)

京都大学	博士 (農 学)	氏名	原 田 俊 幸
論文題目	昆虫脱皮ホルモン受容体リガンドの分子設計		
(論文内容の要旨)			
<p>昆虫の脱皮、変態などの成長過程は、脱皮ホルモンと呼ばれるステロイド型の化合物 20-ヒドロキシエクダイソン (20E) によって調節されている。このような成長過程は哺乳類には存在しないことから、脱皮ホルモンの作用を攪乱する化合物は昆虫に選択的に作用する成育制御剤として利用できるものと期待されている。実際、これまでにジベンゾイルヒドラジン類縁体 (DBH)、テトラヒドロキノリン誘導体 (THQ) などの非ステロイド型化合物が脱皮ホルモン活性化化合物として見出され、一部は殺虫剤として実用化されている。しかしこれら非ステロイド型化合物は昆虫種間で効力に差があるなど、天然ホルモンと性質の異なるところがあり、脱皮ホルモン活性化化合物の活性を支配する化学的な構造要因については不明な点が多い。本論文は、脱皮ホルモン活性化化合物とホルモンの受容体との相互作用を分子レベルで解析し、非ステロイド型化合物の活性および昆虫種間選択性発現メカニズムの解明、さらには新規高性能化合物の創製をめざしたものである。主な内容は以下のように要約される。</p>			
<p>1. タンパク質ホモロジーモデリングの手法を用いてDBH結合型脱皮ホルモン受容体の分子モデルを <i>in silico</i> で構築し、このモデルと一連のDBHの3次元構造活性相関解析の結果を比較した。これによりDBHと受容体との複合体形成には、疎水性相互作用と水素結合が重要な役割を果たしていることを明らかにした。</p> <p>2. 10種のTHQを化学合成し、その活性を3種類の昆虫由来培養細胞を用いた脱皮ホルモン受容体結合試験とアカイエカ幼虫を用いた殺虫試験により評価した。その結果、THQがカのア受容体に対して特異的に結合すること、立体異性体のうち <i>cis</i> 体のみが殺虫活性を示すことを明らかにした。またTHQの立体化学と活性の関係をX線結晶構造解析およびドッキング解析により検討し、従来 of 合成法により得られるTHQはラセミ体であり、活性本体は (2<i>S</i>, 4<i>R</i>)-体であることを示した。</p> <p>3. 19種類のエクジステロイドそれぞれについて、脱皮ホルモン受容体と結合した複合体のモデルをホモロジーモデリングの手法により <i>in silico</i> で構築した。各モデルを検証した結果、受容体に対する結合親和性とリガンド-受容体間で形成される水素結合の数の間に正の相関関係があることを示した。</p> <p>4. 約300万化合物の平面構造を含むデータベースから各々の立体構造を網羅的に構築した上で、エクジステロイドに対する立体構造および化学的性質の類似度を <i>in silico</i> で仮想的に評価し、上位化合物を選抜した。選抜された化合物に対して受容体との水素結合形成能を基準にさらに選抜を進め、類似度が高いと判定された非ステロイド型の24化合物について脱皮ホルモン受容体に対する結合能を評価した結果、有意な活性を示す2つの化合物が見出された。両化合物ともに脱皮ホルモン応答性遺伝子の転写誘導活性は認められず、ホルモンに対して拮抗的に作用する化合物であることが示された。</p> <p>5. 4で選抜された化合物のEcRリガンド結合部位とのドッキング解析を <i>in silico</i> で行い、活性が認められた化合物の受容体結合様式を推定した。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

昆虫の変態制御に関わる脱皮ホルモンは、他の生物に対する影響の少ない選択性殺虫剤開発にとって興味深いリード化合物である。しかし天然のホルモンはステロイド化合物であり、実用のためには大幅な構造改変による合成コストの低減、物性の安定化などが必要となる。そのような構造改変を行う上で、ホルモンあるいはホルモン活性をもつ化合物がどのように受容体と相互作用し、その相互作用がどのような化学的因子によって支配されているのかを解明することはきわめて重要である。本論文は、昆虫の脱皮を攪乱する新規薬剤の設計をめざし、いくつかの系統の異なる脱皮ホルモン活性化化合物の活性発現の分子基盤を明らかにするとともに、得られた知見をもとに新規化合物の探索を試みたものである。評価できる点は次のとおりである。

1. 脱皮ホルモン受容体にジベンゾイルヒドラジン類縁体 (DBH) が結合した複合体のモデルをタンパク質ホモロジーモデリングの手法を用いて構築し、このモデルが一連のDBHの3次元構造活性相関の結果をよく説明することを明らかにして、同手法が新規化合物の分子設計にとって有用であることを示した。
2. 脱皮ホルモン活性が報告されているテトラヒドロキノリン類縁体がラセミ体であり、カに対して有効である特徴的な化合物群であることを示した。またその構造活性相関と脱皮ホルモン受容体に対するドッキング解析から、(2*S*, 4*R*)-体が活性本体であり、特にキノリン環2位のメチル基の立体配置が活性発現において決定的な役割を果たしていることを示した。
3. エクジステロイドの構造と活性の関係を脱皮ホルモン受容体のホモロジーモデルに基づいて解析した結果、ステロイドと受容体の間で形成される水素結合の数が複合体形成において重要であり、1結合あたり受容体に対する親和性を約4倍向上させることを定量的に示した。
4. エクジステロイドとの分子構造および化学的性質の比較、さらに受容体との水素結合形成能の予測に基づいて、化合物データベースから仮想的なスクリーニングを実施し、2種類の脱皮ホルモン受容体結合能をもつ化合物を新しく見出した。また、遺伝子転写誘導試験から、それらが既存の非ステロイド型脱皮ホルモン活性化化合物とは異なる拮抗的な作用をもつことを明らかにした。
5. 新たに見出された化合物について *in silico* で構築した受容体モデルとドッキング解析を行い、それらの受容体結合様式を推定するとともに、今後の活性化化合物の分子設計にとって有用な構造情報を提供した。

以上のように、本論文は系統の異なる昆虫脱皮ホルモン活性化化合物それぞれについて受容体との相互作用に影響を与える重要な化学的要因を明らかにするとともに、その知見に基づいて新規な脱皮ホルモン拮抗化合物を発見することに成功している。この成果は、農薬化学、昆虫生理学、薬物設計学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は、博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成22年2月15日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分にあるものと認めた。

注) Webでの即日公開を希望しない場合は、以下に公開可能とする日付を記入すること。
要旨公開可能日： 年 月 日以降

