

## 論文内容要旨

報告 番号	甲 創 第 23 号	氏 名	成相 祐希
学位論文題目	抗アレルギー物質 (-)-maackiain の標的分子の探索及びヒスタミン H <sub>1</sub> 受容体遺伝子発現シグナルに対する影響		
<p>内容要旨</p> <p>アレルギー性鼻炎などのアレルギー疾患は遺伝子発現異常を伴う難治性多因子疾患である。Toluene2,4-diisocyanate を用いて作製する鼻過敏症モデルラットにおいて、鼻粘膜のヒスタミン H<sub>1</sub> 受容体(H1R)の遺伝子発現が亢進することが明らかになっており、抗ヒスタミン薬の反復投与により、鼻症状の抑制に伴い H1R の遺伝子発現亢進は抑制される。花粉症患者においても、鼻粘膜の H1R 遺伝子発現と症状の重篤度が相関することが明らかになっている。また、H1R はヒスタミン刺激により protein kinase C(PKC)<math>\delta</math> を介して遺伝子発現が亢進する。外用の炎症抑制剤として用いられる和漢薬である苦参は、鼻過敏症モデルラットにおいて鼻症状及び H1R の遺伝子発現亢進を抑制する。そして、苦参の有効成分として(-)-maackiain が単離・同定された。本研究では、(+)-maackiain を鼻過敏症モデルラットに投与し効果を検討した。さらに、(-)-maackiain の標的分子を探索し、(-)-maackiain の標的分子の H1R 遺伝子発現シグナルに対する関与について検討した。</p> <p>Bis(benzonitrile)palladium(II)dichloride を用いることで、水銀などの有害な重金属を使用する従来の方法と異なる方法により(+)-maackiain を合成した。合成によって得た(+)-maackiain を鼻過敏症モデルラットに投与した結果、鼻症状及び H1R の遺伝子発現亢進を抑制した。(-)-maackiain 及び(+)-maackiain より単離した(+)-maackiain は、HeLa 細胞における PMA 刺激による H1R 遺伝子発現亢進を抑制した。また、(-)-maackiain は PKC<math>\delta</math> のチロシン(Y)311 のリン酸化を抑制した。一方で、PKC<math>\delta</math> のキナーゼ活性に対して(-)-maackiain は抑制効果を示さなかった。</p> <p>HeLa 細胞溶解液を陰イオン交換カラムクロマトグラフィーにより分画し、各フラクションに(-)-maackiain を添加しトリプトファンに由来するタンパク質の蛍光が低分子の結合により消光することを利用し、もっとも変化が大きかったフラクションより heat shock protein(HSP)90 を見出した。(-)-Maackiain を固相に固定化したビーズを用いた検討において、HeLa 細胞溶解液中の HSP90 の結合が認められた。一方で、ゲルダナマイシン competition assay において、(-)-maackiain の ATP 結合部位に対する結合は弱く、HSP90 ATPase assay においても、(-)-maackiain は弱い抑制活性を示した。HSP90 阻害剤である 17-AAG、celastrol 及び novobiocin は、HeLa 細胞における PMA 刺激による H1R 遺伝子発現亢進を抑制した。17-AAG は PKC<math>\delta</math> の Y311 のリン酸化を阻害し、celastrol は鼻過敏症モデルラットにおいて、鼻症状及び H1R 遺伝子発現亢進を抑制した。PKC<math>\delta</math> 抗体を用いた共免疫沈降により、HSP90 は PKC<math>\delta</math> と複合体を形成しており、(-)-maackiain 及び 17-AAG は HSP90-PKC<math>\delta</math> 複合体形成を阻害することが明らかになった。さらに、(-)-maackiain 及び 17-AAG は PKC<math>\delta</math> の Golgi へのトランスロケーションを阻害した。</p> <p>本研究の結果より、(-)-maackiain の H1R 遺伝子発現亢進の抑制のメカニズムは HSP90-PKC<math>\delta</math> 複合体形成を阻害し、PKC<math>\delta</math> 活性を阻害することであることが明らかになった。H1R 遺伝子発現メカニズムの一端を担う分子として見出された HSP90 は、花粉症をはじめとしたアレルギー疾患治療における標的分子になる可能性を持っており、HSP90 阻害剤は H1R 遺伝子発現を制御しアレルギー症状の改善や症状の進行を抑制する新たな治療薬となる可能性が示唆された。</p>			