













# 学位論文審査結果報告書

報告番号	北里大 乙 第 <b>1697</b> 号	氏 名	佐藤 大史																
論文審査担当者	<table> <tr> <td>(主査)</td> <td>北里大学教授</td> <td>中原 努</td> <td></td> </tr> <tr> <td>(副査)</td> <td>北里大学教授</td> <td>田中 信忠</td> <td></td> </tr> <tr> <td>(副査)</td> <td>北里大学教授</td> <td>前田 和哉</td> <td></td> </tr> <tr> <td>(副査)</td> <td>北里大学教授</td> <td>大城 太一</td> <td></td> </tr> </table>			(主査)	北里大学教授	中原 努		(副査)	北里大学教授	田中 信忠		(副査)	北里大学教授	前田 和哉		(副査)	北里大学教授	大城 太一	
(主査)	北里大学教授	中原 努																	
(副査)	北里大学教授	田中 信忠																	
(副査)	北里大学教授	前田 和哉																	
(副査)	北里大学教授	大城 太一																	
<p>〔論文題目〕</p> <p>カルシウム感知受容体 (CaSR) 作動薬ウパシカルセトの結合様式解析と薬理学的研究</p> <p>〔論文審査結果の要旨〕</p> <p>二次性副甲状腺機能亢進症 (SHPT) は血液透析患者における主要な合併症であり、慢性腎臓病 (CKD) の進行に伴い生じる。慢性腎臓病では、腎臓におけるビタミン D の活性化が低下しており、カルシウムの吸収不良と、その結果として血液中カルシウム濃度の低下が生じる。血中カルシウム濃度の低下は、カルシウムとリンのホメオスタシスを担う副甲状腺ホルモン (PTH) の過剰分泌を引き起こし、PTH の過剰分泌は骨代謝異常、骨折、異所性石灰化、心機能障害などのリスクにつながる。副甲状腺からの PTH 分泌は、副甲状腺細胞表面に存在するクラス C の G タンパク質共役型受容体 (GPCR) の 1 つであるカルシウム感知受容体 (CaSR) によって調節されており、SHPT の重要な治療ターゲットとなっている。SHPT 治療のために臨床で使用されているシナカルセト、エボカルセト及びエテルカルセチドは、CaSR 作動薬であるが、CaSR には SNPs が存在し、既存薬では治療困難な場合もある。従って、既存の CaSR 作動薬とは異なった結合様式で CaSR に作用する薬物の開発は今後の CKD 治療に大きく貢献するものと期待される。</p> <p>ウパシカルセトは、グルタチオンなどの <math>\gamma</math>-グルタミルペプチドの「コク味」研究で見出された新規 CaSR 作動薬である。これまでにウパシカルセトは、細胞外低 <math>\text{Ca}^{2+}</math> 濃度域では CaSR を活性化せず、細胞外 <math>\text{Ca}^{2+}</math> 濃度依存的に CaSR 活性を増強する強力な正のアロステリック効果を有することが示されていた。しかし、ウパシカルセトの CaSR に対する結合部位や、<i>in vivo</i> における SHPT 病態に対する効果については明らかではなかった。そこで佐藤氏は、ウパシカルセトの CaSR 結合部位、並びに CKD モデルラットに生じる副甲状腺過形成、異所性石灰化及び骨構造異常への影響について検討し、SHPT 治療における有用性を明らかにすることを目的として本研究に取り組んだ。</p> <p>まず初めに、佐藤氏は、ウパシカルセトが、アミノ酸と同様に CaSR のポジティブアロス</p>																			

テリックモジュレーターであり、化学構造が芳香族アミノ酸と類似していることから、ウパシカルセトの CaSR 結合部位はアミノ酸と同じであると仮説を立て、L-トリプトファンがウパシカルセトの CaSR への結合に及ぼす影響について検討した。その結果、ウパシカルセトと CaSR の特異的結合は、L-トリプトファンによって濃度依存的に減少すること、一方、シナカルセトは、ウパカルセトの CaSR への結合に影響を与えないことを見出し、ウパシカルセトは CaSR のアミノ酸結合部位に作用することを強く示唆した。

続いて、ウパシカルセトと既報の CaSR の ECD 領域の結晶構造との *In silico* ドッキングモデルに基づき、CaSR のアミノ酸結合部位を構成する各アミノ酸残基のうち 8 つのアミノ酸 (Arg66、Trp70、Ser147、Ser170、Ser272、Glu297、Ser302、Ile416) をそれぞれアラニン置換することとし、各アラニン変異型 CaSR に対するウパシカルセトの相対的結合能を評価した。その結果、S272A 以外の 7 つの変異型でウパシカルセトの結合能が低下することを見出した。エテルカルセチドの結合部位である Cys482 及びシナカルセトの結合部位である Glu837 に対する変異型 CaSR (C482Y 及び E837A) も作製し検討したところ、両者ではウパシカルセトの結合能の低下は認められなかった。佐藤氏は、さらに詳細な結合様式の解析を行い、Arg66 と Ile416 がウパシカルセトとの結合に特徴的な CaSR 残基であることを見出した。

最後に、佐藤氏は、ウパシカルセトの SHPT 治療における有用性について CKD モデルラットを用いて検討した。ラットに 0.75% のアデニンを含む固形飼料を 3~4 週間自由摂取させると、尿細管腔に 2,8-ジヒドロキシアデニンの不溶性結晶が沈着し、CKD を発症する。本 CKD モデルラットでは、血清 intact PTH 値の上昇、副甲状腺重量の増加、各組織におけるカルシウム沈着量の増加、血管の石灰化、骨の多孔化と線維化が生じる。佐藤氏は、これらの異常が、ウパシカルセト (0.2 mg/kg 又は 1 mg/kg) を 1~4 週間投与した CKD 群において、生理食塩水を投与した CKD 対照群と比較して、全て有意に抑制されることを明らかにした。

これらの研究成果は、ウパシカルセトの CaSR への結合様式がシナカルセトやエテルカルセチドなどの従来の CaSR 作動薬とは大きく異なること、さらに、ウパシカルセトの CKD における SHPT 病態への有効性を示すものであり、今後の CKD 治療に大きく貢献することを期待させるものである。

以上のように、佐藤氏による本研究は、新規性及び独創性が高く、博士 (薬科学) の学位に十分値するものと判断し、学位審査を合格と判定した。