

自然免疫の機構解明を志向した炭素連結型ラクトシルセラミドアナログの開発

森山, 貴博

<https://hdl.handle.net/2324/7182409>

出版情報 : Kyushu University, 2023, 博士 (創薬科学), 課程博士
バージョン :

権利関係 : Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (4)



氏 名 : 森山 貴博

論文題名 : 自然免疫の機構解明を志向した炭素連結型ラクトシルセラミドアナログの開発

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

第 1 章 序論

好中球による自然免疫は、病原体に対して最初に作用する生体防御機構であるが、結核などの病態形成にも関与する。このため、好中球の自然免疫を制御する分子メカニズムを解明することは創薬研究において意義深い。ヒト好中球には C24-ラクトシルセラミド (LacCer) が主要糖脂質として存在し、細胞膜上で脂質ラフトを形成して、自然免疫を制御する重要な役割を担っている。しかし、C24-LacCer は細胞内のグリコシダーゼによって分解され、別の生物機能をもつ代謝物を生じるため、分子レベルでの機能解析は難しい課題となっている。一方、C24-LacCer の優位に代謝される O-グリコシド結合を、安定な C-グリコシド結合に置き換えた炭素連結型 C24-LacCer アナログは細胞内で安定に存在できるため、機能解析へ有用な分子ツールとなると期待した。

また、天然型糖鎖の O-グリコシド結合の酸素原子を炭素原子に置き換えた、炭素連結型糖鎖は代謝耐性の利点に加えて、C-グリコシド結合に置換基を導入でき、それによって配座分布を変化させることが可能である。本研究では、天然型糖鎖とほとんど同じ立体構造でありながら、それぞれがユニークな配座特性を有する 3 種の炭素連結型糖鎖として、CH₂ 連結型、(S)-CHF 連結型、(R)-CHF 連結型を設計した。代謝耐性とユニークな配座特性を有する 3 種の炭素連結型糖鎖は、元の天然型糖鎖の生物活性を向上・変化させた擬糖鎖になると期待し、本研究戦略を“Linkage-Editing Pseudo-Glycan Strategy”と命名して、概念実証を目指した。第 1 章後半では、本戦略の立案するきっかけとなった研究として、著者修士研究である炭素連結型イソマルトース (IM) アナログの構造活性相関研究について記述した。天然型糖鎖/複合糖質の CH₂ 連結型の合成は限られており、また CHF 連結型の合成例はほとんどなかった。この合成手法の課題の解決策として、 α 選択的なフルオロビニル-C-グリコシル化を開発し、化学・立体選択的な水素添加反応と組み合わせることで、3 種の炭素連結型 IM の分岐合成を実現した。さらに、見た目がほとんど同じ 3 種の IM アナログは全く異なる生物活性を示した。この連結編集戦略を広く適用できる合成基盤の確立と、C24-LacCer の応用を本研究の目的とした。

第 2 章 還元的 α -フルオロビニル-C-グリコシル化

還元的 α -フルオロビニル-C-グリコシル化の反応条件を最適化し、糖鎖や複合糖質を含む幅広い C-グリコシドの合成に適用できるように改良した。これにより、生物活性評価を志向した 3 種の炭素連結型糖鎖/複合糖質アナログが効率的に供給可能になった。今後、様々な糖鎖/複合糖質の連結編集戦略を実施することで、有用な生物活性をもつアナログ分子の創製が期待できる。

第3章 炭素連結型 C24-LacCer アナログの開発

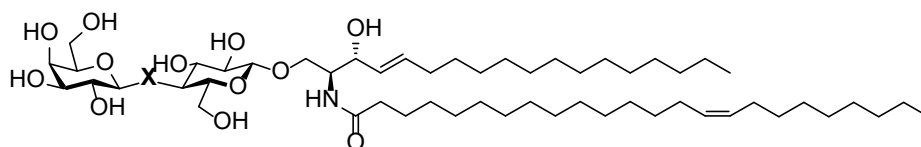
炭素連結型 C24-LacCer アナログの開発について記述した。合成の鍵反応である還元的 β -フルオロビニル-*C*-グリコシル化は、XAT 試薬の反応性を調節するアプローチによって最適化に成功した。また、4 置換フルオロオレフィンの化学・立体選択的水素添加と、ラクトースドナーとセラミドアクセプターの β -*O*-グリコシル化を実現し、3 種の炭素連結型 C24-LacCer アナログの効率的合成を達成した。さらに、好中球系細胞である D-HL-60 を用いたアッセイ系により、3 種の炭素連結型 C24-LacCer から、機能的なアナログと非機能的なアナログを見出すことができた。特に、フッ素の立体化学が異なる (*S*)-CHF-LacCer と (*R*)-CHF-LacCer の生物活性に明確な差が生じたことは興味深く、両者の配座分布の違いが生物活性の差を生み出した一つの要因であると推測される。

第4章 蛍光標識 C24-LacCer プローブの開発

蛍光標識 C24-LacCer プローブの開発について記述した。極長鎖脂肪酸の中間地点に BODIPY を組み込む分子設計を提案し、未報告だった置換様式の BODIPY の合成法を確立した。これを組み込んだ蛍光標識 LacCer の SAR により、C24-LacCer の分子種特有の自然免疫の機能を有する蛍光標識 C24-LacCer プローブの開発に成功した。さらに、3 種の蛍光標識炭素連結型 C24-LacCer プローブを合成した。現在詳細な機能解析に取り組んでいる。

結論

見た目がほとんど同じだが、配座分布が異なる3種の炭素連結型糖鎖/複合糖質の効率的な合成法の開発に成功した。著者が合成した炭素連結型IMとC24-LacCerアナログは、炭素連結部の置換基の違いによって生物機能が大きく異なることが分かり、グリコシド結合が糖鎖の生物活性と密接に関与していることが強く示唆された。なぜ炭素連結部の置換基によって生物活性が大幅に異なるのかという疑問に対しては、現状では明確なデータを基に議論することはできておらず、今後の課題となっている。これを解明していくためには、天然型及び3種の炭素連結型糖鎖/複合糖質の挙動、相互作用しているタンパク質などを一つ一つ検証していく必要がある。その手段の一つとして、機能的な蛍光標識C24LacCerプローブの開発及び、その炭素連結型プローブの合成に取り組んだ。将来的には、C24-LacCerの光親和性標識プローブなどの他のケミカルプローブや、生化学的・遺伝学的手法と組み合わせることで、炭素連結部の置換基の効果及び、好中球の自然免疫の分子メカニズムの解明に繋がることを期待している。



X = CH₂, (S)-CHF, (R)-CHF

C24-