

Title	N-acetylmuramyl dipeptides及びその”mycoloyl”誘導体のアジュバント活性と抗腫瘍活性
Author(s)	上宮, 正直
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32657
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について ご参照 ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【 4 】

氏名・(本籍)	上 ^{うえ} 宮 ^{みや} 正 ^{まさ} 直 ^{なお}
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 4887 号
学位授与の日付	昭和 55 年 3 月 25 日
学位授与の要件	医学研究科 内科系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	N-acetylmuramyl dipeptides 及びその “mycoloyl” 誘導体の アジュバント活性と抗腫瘍活性
論文審査委員	(主査) 教授 山村 雄一 (副査) 教授 岸本 忠三 教授 浜岡 利之

論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕

本研究において、BCG cell-wall skeleton (BCG-CWS) のアジュバント活性及び抗腫瘍活性に関する知見をもとに、化学合成によりアジュバント活性及び抗腫瘍活性を有する免疫アジュバントを開発することを目的として、N-acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamine (MurNAc-L-Ala-D-isoGln) の 6-O- “mycoloyl” 誘導体 (6-O-mycoloyl-, 6-O-nocardomycoloyl-, 6-O-corynomycoloyl-MurNAc-L-Ala-D-isoGln) 及び関連化合物 (MurNAc-L-Ser-D-isoGln, MurNAc-Gly-D-isoGln, 及びこれらの 6-O-mycoloyl 誘導体) を合成し、種々の免疫応答に対する効果及び癌免疫療法法剤としての可能性について検討した。

〔方法ならびに成績〕

① In vitro での plaque forming cell (PFC) 産生に対するアジュバント活性;

Marbrook の方法に準じ、正常マウスの脾細胞浮遊液に、抗原 (羊赤血球) と合成ペプチドの phosphate buffered saline (PBS) 溶液あるいは懸濁液を加え、Marbrook の培養ビンにより 4 日間培養した。培養後、脾細胞を回収し、Jerne らの方法に準じ、PFC assay を行った。

MurNAc-L-Ala-D-isoGln 及びその L-Ser 同族体 (MurNAc-L-Ser-D-isoGln) 及び Gly 同族体 (MurNAc-Gly-D-isoGln), 6-O-corynomycoloyl-MurNAc-L-Ala-D-isoGln は、PFC 産生に対しアジュバント活性を示したが、MurNAc-L-Ala-D-isoGln とその L-Ser 同族体、Gly 同族体の 6-O-mycoloyl 誘導体 (6-O-mycoloyl-MurNAc-L-Ala-D-isoGln, 6-O-mycoloyl-MurNAc-L-Ser-D-isoGln, 6-O-mycoloyl-MurNAc-Gly-D-isoGln) 及び 6-O-

nocardomy-coloyl-MurNAc-L-Ala-D-isoGlnは、アジュバンド活性を示さなかった。

② 遅延型過敏症の誘導に対するアジュバンド活性；

ハートレイ系モルモットに、抗原 (azobenzenearsonate-N-acetyl-L-tyrosine) と合成ペプチドを Freund incomplete adjuvant (FIA) と混合し、油中水エマルジョンとして足蹠に免疫した。2週間後に azobenzenearsonate-bacterial- α -amylase で皮内テストを行い、24hr, 48hr後の皮膚反応を測定した。

MurNAc-L-Ala-D-isoGlnとその6-O-“mycoloyl”誘導体及び MurNAc-L-Ser-D-isoGlnとその6-O-mycoloyl誘導体は、アジュバンド活性を示したが、MurNAc-Gly-D-isoGln及びその6-O-mycoloyl誘導体は、殆どアジュバンド活性を示さなかった。

③ 同種細胞障害活性の誘導に対するアジュバンド活性；

C57BL/6Jマウスの腹腔内に、mastocytoma細胞と、合成ペプチドのPBS懸濁液を混合して免疫し、11日後に免疫マウスの脾細胞を用いて、Brunnerらの方法により同種細胞障害活性を測定した。

MurNAc-L-Ala-D-isoGlnの6-O-“mycoloyl”誘導体は、すべてアジュバンド活性を示し、特に6-O-nocardomycoloyl誘導体が最も著明な活性を示した。6-O-mycoloyl-MurNAc-L-Ala-D-isoGlnとそのL-Ser同族体及びGly同族体のアジュバンド活性を比較検討した結果、これらはすべてアジュバンド活性を示し、特に6-O-mycoloyl-MurNAc-Gly-D-isoGlnが最も著明な活性を示した。

④ 抗腫瘍活性；

鉍物油処理により水中油エマルジョンとした合成ペプチドを、腫瘍細胞(3-methyl-cholanthrene誘発線維肉腫)と混合し、同系マウス(SWM/Ms, BALB/c)の側腹部皮内に移植し、4週間後の移植局所における腫瘍の生着の有無を調べた。

MurNAc-L-Ala-D-isoGlnの6-O-“mycoloyl”誘導体のうち6-O-mycoloyl-MurNAc-L-Ala-D-isoGlnが著明な腫瘍の生着阻止活性を示した。6-O-mycoloyl-MurNAc-L-Ala-D-isoGlnとそのL-Ser同族体及びGly同族体について比較検討した結果、6-O-mycoloyl-MurNAc-Gly-D-isoGlnが著明な腫瘍の生着阻止活性を示した。

⑤ 発熱原性；

第9改正日本薬局方に基づき、ウサギを用いて検討した。

MurNAc-L-Ala-D-isoGlnは明らかな発熱原性を示したが、そのL-Ser同族体の発熱原性はきわめて弱く、Gly同族体は全く発熱原性を示さなかった。これらの6-O-mycoloyl誘導体は、すべて発熱原性を示さなかった。

[総括]

MurNAc-L-Ala-D-isoGln及びそのL-Ser同族体、Gly同族体は、in vitroにおけるPFC産生に対しアジュバンド活性を示したが、これらの6-O-mycoloyl誘導体はアジュバンド活性を示さなかった。体液性抗体産生に対するアジュバンド活性は、MurNAc-L-Ala-D-isoGlnに結合させた“ミ

コール酸”の炭素数に反比例して減弱した。

細胞性免疫の誘導に対するアジュバント活性及び抗腫瘍活性について、6-O-mycoloyl-MurNAc-L-Ala-D-isoGlnとそのL-Ser同族体及びGly同族体を比較検討した結果、マウスを用いた同種細胞障害活性の誘導に対するアジュバント活性及び抗腫瘍活性は、Gly同族体において最も著明に認められたが、モルモットにおける遅延型過敏症の誘導に対してはGly同族体はアジュバント活性を示さなかった。更に抗腫瘍活性発現のためには、MurNAc-L-Ala-D-isoGlnに結合させたミコール酸様の構造を有する超高級脂肪酸の存在の必要性が示唆された。同種細胞障害活性の誘導に対するアジュバント活性及び抗腫瘍活性を有するこれらのN-acetylmuramyldipeptidesの6-O-mycoloyl誘導体は、すべてウサギにおいて発熱原性を示さなかった。

論文の審査結果の要旨

BCG cell-wall skeleton (BCG-CWS)の生物活性及び構造に関する知見をもとに、N-acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamineに脂溶性基として種々のミコール酸を導入することにより、細胞性免疫及び抗腫瘍活性を誘導しうる免疫アジュバントを合成した。さらに6-O-mycoloyl-N-acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamineのL-alanine残基をL-serine又はglycineで置換することによる細胞性免疫及び抗腫瘍活性の誘導に対する影響についても検討した。本研究は、化学合成アジュバントによる免疫制御の可能性を示唆するとともに、抗腫瘍活性を有する合成アジュバントの開発に役立つものとする。