

Title	Chemical Synthesis of Peptidoglycan for Elucidation of the Mechanism of Its Immunostimulating Activity
Author(s)	稲村, 誠一
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44090
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

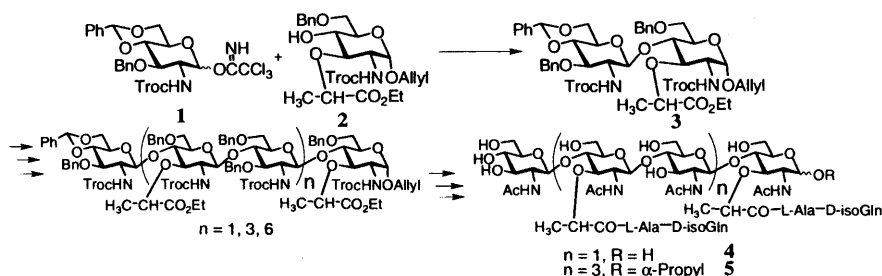
氏名	稲村 誠一
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 17522 号
学位授与年月日	平成15年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科化学専攻
学位論文名	Chemical Synthesis of Peptidoglycan for Elucidation of the Mechanism of Its Immunostimulating Activity. (ペプチドグリカンの化学合成とその免疫増強活性発現機構に関する研究)
論文審査委員	(主査) 教授 楠本 正一 (副査) 教授 長谷 純宏 助教授 深瀬 浩一

論文内容の要旨

細菌の細胞壁構成成分である複合糖質ペプチドグリカン (PGN) は高等動物の免疫反応に深く関与する。PGN は *N*-アセチルグルコサミンと *N*-アセチルムラミン酸が交互に β (1-4)結合した多糖に乳酸基を介してペプチドが結合した複雑な構造を有し、免疫アジュバント活性、抗腫瘍活性などの免疫増強活性を示す。それらの活性に必要な最小構造はムラミルジペプチド (MDP) であることが以前に当研究室で見出されていたが、最近 PGN と MDP の活性が質的に異なることが指摘され、受容体も異なることが示唆されてきた。そこで本研究では PGN の活性発現機構を明らかにすることを目指し、これまでに達成されていない分子量の大きいペプチドグリカン部分構造の合成研究を行った。

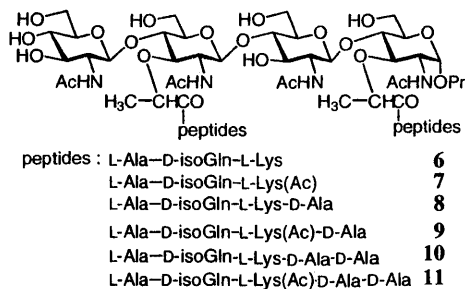
グルコサミンおよびムラミン酸の4位水酸基は反応性が低いので、効率よく β (1-4)グリコシド結合を形成することが困難であった。そこで *N*-トリクロロエトキシカルボニルグルコサミンのトリクロロアセトイミデート誘導体(1)を糖供与体を用いたところ、ムラミン酸誘導体(2)との縮合において二糖体(3)が効率よく得られ、この方法によって大きな分子構造を持つペプチドグリカンフラグメントの効率的な合成が可能になった。

まず糖鎖長が生物活性に及ぼす影響を調べるために長い糖鎖を持つフラグメントの合成を目指した。二糖体(3)を鍵中間体として用いて四糖、八糖を容易に合成することに成功した。さらに十六糖からなる糖鎖構造の



構築にも成功した。四糖、八糖については、それぞれのムラミン酸残基にジペプチドを導入した後、脱保護することによって四糖、八糖ジペプチドコンジュゲート 4、5 の合成を達成した。

細菌から分離した PGN 画分は細胞膜に存在する Toll like receptor 2 (TLR2) を介してサイトカイン誘導等の活性を発現する。合成した 4、5 は強い腫瘍壊死因子 (TNF- α) 誘導活性を示したが、予期に反して糖鎖長の短い四糖



体の方が八糖体よりも強い活性を示した。しかし、4、5も MDP と同様に TLR2 非依存的に活性を示した。そこで TLR2 との相互作用には PGN 中の糖鎖間を架橋しているペプチド鎖が重要であるものと考えた。

四糖体に対してトリ、テトラ、ペンタペプチド鎖を導入した6、8、10を合成し、さらに分子全体の疎水性を高めるために Lys のアミノ基をアセチル化して、7、9、11を得た。化合物6、7は四糖ジペプチド4よりも明らかに強い TNF- α 誘導活性を示した。

これらの TLR2 依存性については現在検討中であるが、以上の研究によってペプチドグリカンの機能を解析する上で必要となるフラグメントを合成するための問題点を解決し、任意の部分構造を合成化学的に得る道を開くことができた。

ペプチドグリカンそのものと違って、明らかに TLR2 非依存性を示した MDP の活性は細胞内に存在する受容体 NOD2 が関与していることが新たに発見された。本研究で合成したフラグメント4、5も NOD2 を介して活性を示すこと明らかとなった。ペプチドグリカンの免疫増強作用における複数の活性発現経路が、本研究で入手可能になった種々のフラグメントによって精密に解析できるものと期待している。

ペプチドグリカンそのものと違って、明らかに TLR2 非依存性を示した MDP の活性は細胞内に存在する受容体 NOD2 が関与していることが新たに発見された。本研究で合成したフラグメント4、5も NOD2 を介して活性を示すこと明らかとなった。ペプチドグリカンの免疫増強作用における複数の活性発現経路が、本研究で入手可能になった種々のフラグメントによって精密に解析できるものと期待している。

論文審査の結果の要旨

本論文は細菌細胞壁を構成する複合糖質ペプチドグリカンの種々の部分構造を化学的に合成することによって、古くから知られているペプチドグリカンの免疫増強活性の発現機構解明に大きく貢献した内容について述べたものである。まず構成糖であるグルコサミンとムラミン酸水酸基の選択的保護、それらの糖の間の β (1-4) 結合を効率よく構築する優れた方法を考案し、それらを巧みに組み合わせるによって、繰り返し二糖からなるグリカン構造の合成を可能にした。さらにこれに種々のペプチド鎖を結合させて、これまでに達成されたことのない四糖、八糖の糖鎖とペプチドからなるペプチドグリカン部分構造の化学合成に成功した。この手法はさらに大分子量、架橋構造などの合成にも展開することが可能な優れたものである。続いて、ヒト末梢血を用いて合成化合物のサイトカイン誘導活性を明らかにすると同時に、免疫学の専門家と協力して、まさにこの時期に見出されたペプチドグリカン部分構造に対する動物の細胞内受容体タンパク質 NOD2 が認識する構造の解明に貢献した。またこれとは別に以前からペプチドグリカン受容体であるとされてきた動物細胞表面の TLR2 が認識する構造要因についても解明の糸口を示した。

以上の内容は、複合糖質の合成化学に新たな可能性をもたらしたと同時に、有機化学を基盤に、代表的な自然免疫の引き金物質であるペプチドグリカンの活性発現機構解明に大きく貢献したものであり、博士（理学）の学位論文として十分価値あると認める。