



|              |                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | Synthesis of Immunostimulatory Glycoconjugate Lipid A Analogues for Elucidation of the Receptor Recognition and Regulation of Its Signaling                                                                                                                       |
| Author(s)    | 赤松, 雅夫                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Citation     | 大阪大学, 2007, 博士論文                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Version Type |                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/47657">https://hdl.handle.net/11094/47657</a>                                                                                                                                                                               |
| 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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">ご参照ください</a> 。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名 **あか まつ まさ お夫**

博士の専攻分野の名称 博 士 (理 学)

学 位 記 番 号 第 20856 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 19 年 3 月 23 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 Synthesis of Immunostimulatory Glycoconjugate Lipid A Analogues for Elucidation of the Receptor Recognition and Regulation of Its Signaling  
(自然免疫受容体 Toll-like receptor-4 による認識の解明と信号伝達の制御を目指した複合糖質リピド A 類縁体の合成研究)

論 文 審 査 委 員 (主査)  
教 授 深瀬 浩一

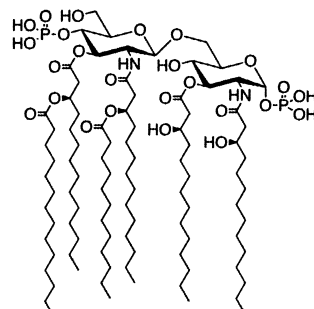
(副査)  
教 授 長谷 純宏 教 授 中谷 和彦 講 師 藤本ゆかり

### 論 文 内 容 の 要 旨

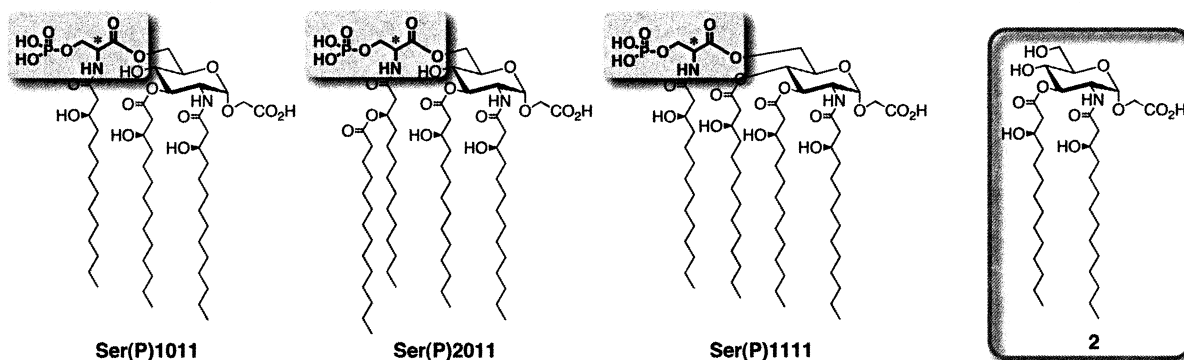
自然免疫は、微生物に特有の分子構造を認識し免疫系を活性化するシステムであり、微生物由来の免疫増強物質として代表的なものに、グラム陰性菌の細胞表層に存在する複合糖質であるリポ多糖 (Lipopolysaccharide ; LPS) が知られている。

本研究は、リポ多糖の活性本体であるリピド A について、糖骨格部位の置換やアシル鎖の架橋等によって配座をより固定した類縁体の合成を行い、これらの類縁体が生ずる生物活性と計算により予測される安定配座を比較することによって、免疫増強活性発現のための構造的要因を明らかにした。また、受容体タンパク質 Toll-like receptor-4 (TLR4) における認識機構の解明を目指した。

まず、リピド A の酸性基の種類と配置の重要性を明らかにするため、酸性アミノ酸置換類縁体について、サイトカイン誘導活性を測定するとともに予測配座との比較を行った。その結果、一つの酸性基をもつ単糖部分(2)のみではほとんど活性を示さなかったのに対して、アスパラギン酸あるいはリン酸化セリンを導入した類縁体はいずれ

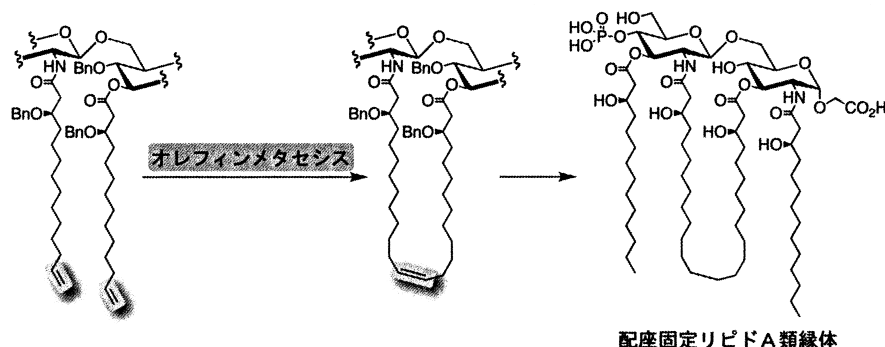


大腸菌型リピド A (1)



も活性を示したことから、2つの酸性基が受容体により認識されていることを明らかにした。また各類縁体の活性の強さとそのアシル基組成との間に相関がみられたが、分子力場計算による安定配座予測の結果から、アシル基の配置の違いが疎水性部分の立体構造の違いを生じることにより、活性に影響することを示した。

一方、リポド A 分子の配座を固定化するとともに、アシル基部位の活性に与える影響を明らかにするため、2本のアシル基を架橋した環化類縁体の合成を行った。また、それらの生物活性と配座について比較を行った。架橋部分の構築にあたり、末端に二重結合を有する光



学活性脂肪酸の合成を行った。光学活性の  $\beta$ -ヒドロキシカルボン酸の合成においては分子内においてリパーゼによる二種類の反応を競争的に用いることにより、光学純度の高い化合物を得た。これらの脂肪酸を糖骨格に導入後、大環状オレフィンメタセシスによる環化反応を行い、アシル基部位が環化された構造を持つリポド A を得た。環員数の異なる数種類の類縁体を合成しサイトカイン (IL-6) 誘導に関する活性を測定したところ、それ自体がサイトカインを誘導するものと、LPS に拮抗的に作用するものが得られた。予測配座との比較により、リポド A の疎水性部位のかさ高さが受容体による認識や生物活性に関わっていることを示す結果を得た。

本研究により、複雑な構造をもつ複合糖質の新たな合成法を開発するとともに、リポド A の免疫増強活性の根拠となる構造的基盤を明らかにした。特に、二つの酸性基の種類と配置およびアシル基部位のかさ高さの違いにより、免疫の増強あるいは阻害といった異なる活性を示すことを明らかにした。この結果より、受容体 TLR4 によって認識される構造要因を明らかにするとともに、本研究で合成された化合物を用いることによる受容体の信号伝達制御への可能性を拓いた。

## 論文審査の結果の要旨

自然免疫は、微生物に特有の分子構造を認識し免疫系を活性化するシステムである。細菌由来の複合糖質が免疫増強活性を示すことは古くから知られていたが、現在ではこの現象は自然免疫のあらわれと理解されている。グラム陰性菌の細胞表層に存在する複合糖質であるリポ多糖 (Lipopolysaccharide ; LPS) は免疫増強活性物質の代表的なものであり、本研究は、リポ多糖の活性本体であるリポド A について、糖骨格部位の置換やアシル鎖の架橋等によって配座をより固定した類縁体の合成を行い、これらの類縁体が示す生物活性と計算により予測される安定配座を比較することによって、免疫増強活性発現のための構造的要因を明らかにした。

まず、リポド A の酸性基の種類と配置の重要性を明らかにするため、力場計算を用いて新たな類縁体として酸性アミノ酸置換類縁体をデザインし、合成を行った。その結果、リポド A の非還元末端単糖に、アスパラギン酸あるいはリン酸化セリンを導入した類縁体は、免疫増強活性あるいはリポ多糖による免疫増強作用の阻害活性を示した。以上の研究から、リポド A の活性発現には2つの酸性基と脂質部の空間配置が重要であることを示した。一方、リポド A 分子の配座を固定化するとともに、アシル基部位の活性に与える影響を明らかにするため、2本のアシル基を架橋した環化類縁体の合成を行った。架橋部分の構築にあたり、末端に二重結合を有する光学活性脂肪酸の合成を行った。光学活性の  $\beta$ -ヒドロキシカルボン酸の合成においては分子内においてリパーゼによる二種類の反応を競争的に用いることにより、光学純度の高い化合物を得た。これらの脂肪酸を糖骨格に導入後、大環状オレフィンメタセシスによる環化反応を行い、アシル基部位が環化された構造を持つリポド A を得た。合成化合物の生物活性と計算によって予測した構造の比較により、リポド A の疎水性部位のかさ高さが受容体による認識や生物活性に関わっていることを示す結果を得た。

本研究により、複雑な構造をもつ複合糖質の新たな合成法を開発するとともに、リポド A の免疫増強活性の根拠となる構造的基盤を明らかにした。特に、二つの酸性基の種類と配置およびアシル基部位のかさ高さの違いにより、免疫の増強あるいは阻害といった異なる活性を示すことを明らかにした。この結果より、受容体 TLR4 によって認識される構造要因を明らかにするとともに、本研究で合成された化合物を用いることによる受容体の信号伝達制御への可能性を拓いた。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。