Osaka University Knowledge Archive

Title	自然免疫活性化の分子基盤解明を目指したジアミノピメリン酸含有ペプチドグリカンの合成研究
Author(s)	川崎, 彰子
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/48779
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

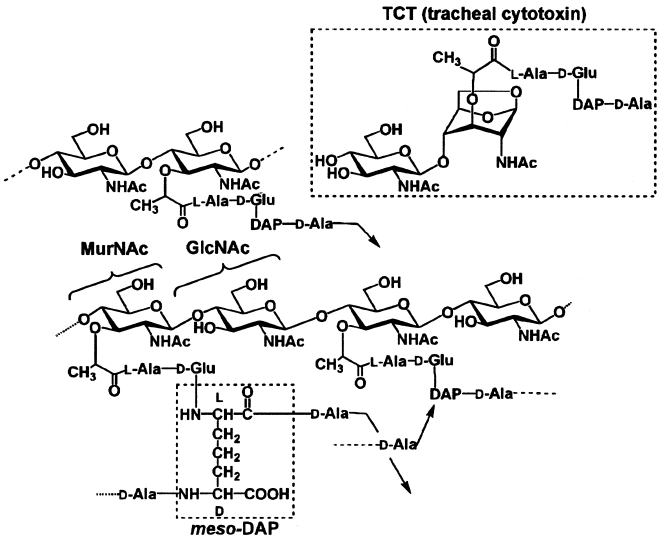
【39】

氏　　名	川　崎　彰　子（かわさき　あきこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学　位　記　番　号	第　２１７５４　号
学 位 授 与 年 月 日	平成 20 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	**自然免疫活性化の分子基盤解明を目指したジアミノピメリン酸含有ペプチドグリカンの合成研究**
論 文 審 査 委 員	（主査） 教　授　深瀬　浩一 （副査） 教　授　加藤　修雄　　教　授　村田　道雄　　講　師　藤本ゆかり

論 文 内 容 の 要 旨

細菌に特有な分子が免疫増強作用を示すことは古くから知られており、細菌細胞壁ペプチドグリカンやグラム陰性菌のリポ多糖はその中でも代表的なものである。ペプチドグリカンは、*N*-アセチルグルコサミン（GlcNAc）と *N*-アセチルムラミン酸（MuNAc）が交互にβ（1-4）結合して直鎖状のグリカン鎖を形成し、その糖鎖間をムラミン酸の乳酸残基を介してペプチド鎖が架橋している３次元構造をとっている。ペプチドグリカンは、多くのグラム陽性菌においてはペプチド分岐部位にリジン残基をもつのに対し、グラム陰性菌及び一部のグラム陽性菌ではリジンではなくジアミノピメリン酸（DAP）を持っている。生体には、細菌に特有な分子の認識に関与する多様なタンパク質が存在するが、ペプチドグリカンを認識するタンパク質として Nod（Nucleotide binding oligomerization domain）1 あるいは Nod2 や、PGRP（peptidoglycan recognition protein）があり、それらは動物の自然免疫において重要な役割を果たしている。

これまで我々は、Nod1 によるペプチドグリカンの認識には、*meso*-ジアミノピメリン酸が必要であることを明らかにしている。一方、一部の PGRP は、グラム陰性菌ペプチドグリカンの部分構造であり百日咳の細菌性毒性因子として知られる TCT（tracheal cytotoxin）を認識することが報告されている。TCT は、ムラミン酸の１位と６位が縮合したアンヒドロ糖を含む二糖体（GlcNAc-MurNAc（anh））にテトラペプチドが縮合した化合物である。しかし、TCT の化学合成は今までに例がなく、その受容体による認識の詳細や免疫系における機能などについては不明な点が多い。



グラム陰性菌ペプチドグリカン模式図

そこで本研究で私は、Nod1 や PGRP の機能

解明を目指し、TCT を含めた DAP 含有ペプチドグリカン部分構造の合成を行った。まずは基幹となる *meso*-ジアミノピメリン酸の新規合成ルートの構築を行なった。異なる不斉中心を有する 2 つのアミノ酸誘導体を、Julia-Kocienski olefination を用いてカップリングすることで *meso*-DAP 誘導体を得ることを計画した。D-セリンから誘導したアルデヒド体とスルホン体を用い、低温条件下でカップリングすることで *meso*-DAP 誘導体を収率よく得ることに成功した。さらに選択的に C 末端へアミノ酸を伸長するため、オキサゾリジノンによる環形成を経て、DAP 誘導体の一方のカルボン酸を選択的に遊離にすることに成功した。続いてアミノ酸と縮合を行なうことにより、DAP を含むトリペプチド、テトラペプチドを得た。これらを別途合成した二糖体（GlcNAc-MurNAc、GlcNAc-MurNAc（anh））と縮合を行うことにより、目的の DAP 含有ペプチドグリカン単位構造および TCT の化学合成を初めて達成した。さらに合成化合物による Nod1、Nod2 刺激活性試験を行い、それらの受容体タンパク質の認識構造について新たな知見を得た。本研究により複雑な糖ペプチドの化学合成法を確立するとともに、生体の防御において重要な役割を担う細菌由来分子の認識について一つの鍵となる結果を示した。

論文審査の結果の要旨

細菌に特有な分子が免疫増強作用を示すことは古くから知られており、細菌細胞壁ペプチドグリカンやグラム陰性菌のリポ多糖はその中でも代表的なものである。ペプチドグリカンは、*N*-アセチルグルコサミン（GlcNAc）と *N*-アセチルムラミン酸（MuNAc）が交互にβ（1-4）結合して直鎖状のグリカン鎖を形成し、その糖鎖間をムラミン酸の乳酸残基を介してペプチド鎖が架橋している 3 次元構造をとっている。ペプチドグリカンは、多くのグラム陽性菌においてはペプチド分岐部位にリジン残基をもつのに対し、グラム陰性菌及び一部のグラム陽性菌ではリジンではなくジアミノピメリン酸（DAP）を持っている。生体には、細菌に特有な分子の認識に関与する多様なタンパク質が存在するが、ペプチドグリカンを認識するタンパク質として Nod（Nucleotide binding oligomerization domain）1 あるいは Nod2 や、PGRP（peptidoglycan recognition protein）があり、それらは動物の自然免疫において重要な役割を果たしている。

これまで我々は、Nod1 によるペプチドグリカンの認識には、*meso*-ジアミノピメリン酸が必要であることを明らかにしている。一方、一部の PGRP は、グラム陰性菌ペプチドグリカンの部分構造であり百日咳の細菌性毒性因子として知られる TCT（tracheal cytotoxin）を認識することが報告されている。TCT は、ムラミン酸の 1 位と 6 位が縮合したアンヒドロ糖を含む二糖体（GlcNAc-MurNAc（anh））にテトラペプチドが縮合した化合物である。しかし、TCT の化学合成は今までに例がなく、その受容体による認識の詳細や免疫系における機能などについては不明な点が多い。

そこで本研究では、Nod1 や PGRP の機能解明を目指し、TCT を含めた DAP 含有ペプチドグリカン部分構造の合成を行った。まずは基幹となる *meso*-ジアミノピメリン酸の新規合成ルートの構築を行なった。異なる不斉中心を有する 2 つのアミノ酸誘導体を、Julia-Kocienski olefination を用いてカップリングすることで *meso*-DAP 誘導体を得ることを計画した。D-セリンから誘導したアルデヒド体とスルホン体を用い、低温条件下でカップリングすることで *meso*-DAP 誘導体を収率よく得ることに成功した。さらに選択的に C 末端へアミノ酸を伸長するため、オキサゾリジノンによる環形成を経て、DAP 誘導体の一方のカルボン酸を選択的に遊離にすることに成功した。続いてアミノ酸と縮合を行なうことにより、DAP を含むトリペプチド、テトラペプチドを得た。これらを別途合成した二糖体（GlcNAc-MurNAc、GlcNAc-MurNAc（anh））と縮合を行うことにより、目的の DAP 含有ペプチドグリカン単位構造および TCT の化学合成を初めて達成した。さらに合成化合物による Nod1、Nod2 刺激活性試験を行い、それらの受容体タンパク質の認識構造について新たな知見を得た。本研究により複雑な糖ペプチドの化学合成法を確立するとともに、生体の防御において重要な役割を担う細菌由来分子の認識について一つの鍵となる結果を示した。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。