The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Synthesis of Helicobacter pylori Lipopolysaccharide Partial Structures for Elucidation of the Immunoregulating Function
Author(s)	下山, 敦史
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/57995
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【40】

氏　　名	下　山　敦　史（しも　やま　あつ　し）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学　位　記　番　号	第　２３５７０　号
学 位 授 与 年 月 日	平成22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 Helicobacter pylori Lipopolysaccharide Partial Structures for Elucidation of the Immunoregulating Function （Helicobacter pyloriリポ多糖部分構造の合成と免疫調節作用の解析）
論 文 審 査 委 員	（主査） 教　授　深瀬　浩一 （副査） 教　授　梶原　康宏　　教　授　加藤　修雄　　准教授　藤本ゆかり

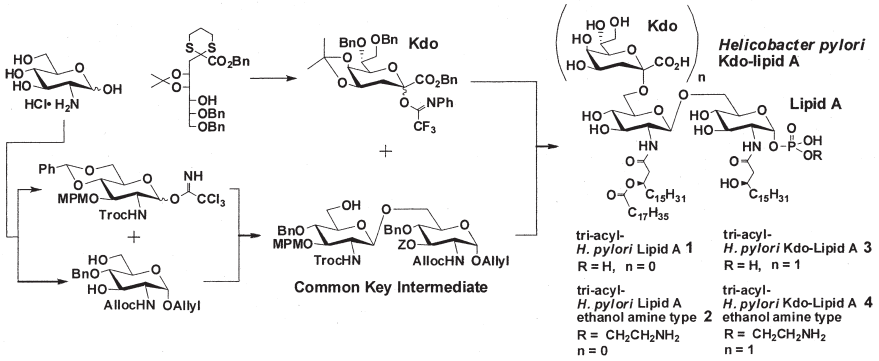
論 文 内 容 の 要 旨

自然免疫の代表的な活性化因子の一つであるリポ多糖(LPS)は、グラム陰性菌の細胞外膜に存在し、リピドＡ と呼ばれる糖脂質部分と多糖部分とが酸性糖 3-deoxy-D-manno-octulosonic acid (Kdo)を介して結合した構造をとっており、その活性本体はリピドＡである。胃、十二指腸潰瘍の起炎菌として知られるヘリコバクター・ピロリの LPS は特徴的な数種のリピドＡ構造を有する。このピロリ菌由来の LPS は大腸菌等の LPS に比べると、免疫刺激活性は弱いが、寄生性、慢性炎症、癌化、あるいはアテローム性動脈硬化との関連が示唆されており、その活性本体であるリピドＡの生物活性に大変興味が持たれている。これらの寄生性細菌のリピドＡはこれまで我々も含め合成例はあるものの、それぞれ異なった構造の合成であり、生物活性を包括的に解析した例はない上、主たる部分構造である Kdo-リピドＡ **4** は未だ合成が達成されていなかった。

そこで本研究においては、下図に示される 4 種のピロリ菌 LPS 部分構造の効率的な合成を行った。具体的には二糖共通鍵中間体の構築後にアシル基、リン酸基の導入を行うことにより、数種の構造パターンを網羅的に合成可能な経路（下図）を確立した。また、リピドＡ骨格と Kdo 残基とのα-選択的グリコシル化についても化学量論量以上のルイス酸を必要としたこれまでの方法に対し、脱離基として *N*-フェニルトリフルオロイミデートを用いることで、触媒量のルイス酸で活性化が可能な反応へと改良を行い、保護基の選択肢を広げるとともに、同反応をマイクロリアクターを用いたフロー系反応へと展開させることで、高選択的かつ効率的に目的の三糖体を得る方法を見出した。

化学合成により得たピロリ菌 LPS 部分構造(**1**~**4**)の生物活性試験を行った結果、炎症性サイトカイン IL-6 については **2**, **4** が誘導活性を示すのに対し、**1**, **3** は阻害活性を示し、リン酸基の違いによる活性のスイッチングが見られた。また、**3** は **1** と比べより強い阻害活性を示し、Kdo の導入が阻害活性を増強することが示された。さらに、IL-6 とは異なる機構により誘導される IL-18 について試験を行った結果、IL-6 誘導活性を示した **2** だけではなく、IL-6 については阻害活性を示した **1** も誘導活性を示し、このように寄生性細菌のリピドＡは、微妙な構造上の差異によって異なる複数のシグナル経路を選択的に阻害、活性化していることが明らかになった。

以上の結果よりピロリ菌は免疫刺激活性を有するリピドＡと阻害活性を有するリピドＡを併せ持つことが明らかになり、それらに由来する免疫調節作用によりピロリ菌が宿主との寄生関係を確立させている可能性が示され、このように菌体の病原性がリポ多糖部分構造の生物活性と深く関わっていることが示唆された。



論文審査の結果の要旨

下山敦史は「Synthesis of Helicobacter pylori Lipopolysaccharide Partial Structures for Elucidation of the Immunoregulating Function (Helicobacter pylori リポ多糖部分構造の合成と免疫調節作用の解析)」という研究題目で以下の研究を実施した。

自然免疫の代表的な活性化因子の一つであるリポ多糖(LPS)は、グラム陰性菌の細胞外膜に存在し、リピドＡ と呼ばれる糖脂質部分と多糖部分とが酸性糖 3-deoxy-D-manno-octulosonic acid (Kdo)を介して結合した構造をとっており、その活性本体はリピドＡ と呼ばれる糖脂質である。胃、十二指腸潰瘍の起炎菌として知られるヘリコバクター・ピロリの LPS は特徴的な数種のリピドＡ構造を有する。ピロリ菌由来の LPS は大腸菌等の LPS に比べると、免疫刺激活性は弱いが、寄生性、慢性炎症、癌化、あるいはアテローム性動脈硬化との関連が示唆されており、その活性本体であるリピドＡの生物活性に大変興味が持たれている。しかしながら天然 LPS から純粋な形でこれらを得ることは不可能であることから、それらの生物活性を包括的に解析することを目的として、ヘリコバクター・ピロリのリピドＡならびに主たる LPS 部分構造である Kdo-リピドＡ の合成研究を実施した。

そこで二糖共通鍵中間体を新たにデザインし、これにアシル基、リン酸基を順次導入することにより、数種の構造パターンを網羅的に合成可能な経路を確立した。また、リピドＡ骨格と Kdo 残基とのα-選択的グリコシル化についても化学量論量以上のルイス酸を必要としたこれまでの方法に対し、脱離基として N-フェニルトリフルオロイミデートを用いることで、触媒量のルイス酸で活性化が可能な反応へと改良を行い、保護基の選択肢を広げるとともに、さらにマイクロリアクターを用いたフロー系反応を用いることで、高選択的かつ効率的な Kdo グリコシル化法を確立した。これらの新規方法により、数種のリピドＡを合成するとともにこれまで合成例のない Kdo-lipid A 三糖体を合成することに成功した。

化学合成により得た 4 種類のピロリ菌リピドＡと LPS 部分構造の生物活性試験を行った結果、炎症性サイトカイン IL-6 については、1 位に通常のリン酸基が結合した化合物においては、大腸菌型 LPS に対する阻害作用を示すのに対して、1 位にエタノールアミンによって修飾されたリン酸が結合した化合物 2 は誘導活性を示し、リン酸基の違いによる活性のスイッチング現象を見出した。また Kdo の導入が阻害活性を増強することを見出した。さらに、IL-6 とは異なる機構により誘導される IL-18 について試験を行った結果、これらは全て IL-18 誘導活性を示し、ピロリ菌のリピドＡは、微妙な構造上の差異によって異なる複数のシグナル経路を選択的に阻害、活性化していることが明らかになった。

以上の研究は高度な複合糖質合成研究を達成しただけでなく、慢性炎症との関与が示唆されている IL-18 産生能をピロリ菌のリピド A が有することを明確に示すなど生物学研究にも貢献するものである。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。