

氏名	鈴木 香織
博士の専攻分野の名称	博士（工学）
学位記号番号	博理工甲第 864 号
学位授与年月日	平成 24 年 3 月 22 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	Study of modification and application of sialic acid (シアル酸の化学修飾と機能化に関する研究)
論文審査委員	委員長 教授 松岡 浩司 委員 教授 西垣 功一 委員 准教授 石丸 雄大 委員 准教授 根本 直人

論文の内容の要旨

生体細胞表層は無数の糖鎖に覆われており、糖鎖の末端に位置するシアル酸は様々な生物学的事象に深く関わっている。本研究では、シアル酸の化学修飾と生物学的評価を行うことにより、シアル酸誘導体の新規応用法の検討を行った。本論文は 4 章構成となっており、1 章においてはシアル酸に関する概要、2 章においてはシアル酸を用いたインフルエンザウイルス阻害剤の合成と活性評価、3 章においては FITC ラベルされたシアル酸誘導体の合成、そして 4 章においては結論について述べている。

まず 1 章においては、複合糖質の末端に位置しているシアル酸が、細胞の分化・成長、細胞間接着、免疫応答、ウイルスや病原体の受容体といった生物学的事象において、重要な役割を担っていることについて記述している。シアル酸は生化学の分野において非常に興味深い活性を持つ化合物として注目されており、シアル酸を原料として様々な誘導体を合成することにより、シアル酸の新規応用法を模索し、今後の利用基盤にすることを本論文の研究目的とした。

2 章においては、シアル酸を用いたインフルエンザウイルス阻害剤の合成と活性評価について報告している。インフルエンザウイルスの感染には、ウイルスが持つヘマグルチニン (HA) およびノイラミニダーゼ (NA)、これら 2 種類の糖タンパク質と、宿主細胞上の糖鎖末端のシアル酸との特異的相互作用が重要である。感染は、HA とシアル酸との結合により始まる。その後、増殖したウイルスは、NA がシアル酸と HA との結合を加水分解により切断することにより、宿主細胞から遊離可能となり、新たな細胞へと感染を拡大していく。そこで、シアル酸のアノマー位に NA によって加水分解されないチオラウリルグリコシドを導入し、5 位をアセトアミド基からアクリルアミド基へと変換することにより重合性モノマーを調製した。さらに、アクリルアミドとのラジカル共重合反応によりポリマーの合成を達成した。一般に、糖鎖はクラスター化することによりタンパク質との相互作用が強くなる（糖鎖クラスター効果）ことが知られているが、これらの化合物を用いたインフルエンザウイルスに対する阻害活性評価では、アノマー位に長鎖疎水性基を有するモノマーがポリマーと同程度の阻害能を有することが示された。そこで、動的光散乱による臨界ミセル濃度を測定したところ、モノマーがミセルを形成することにより糖鎖クラスター効果を発現していることが示唆された。そこで、アノマー位に長さの異なるチオグリコシドを導入し、インフルエンザウイルスに対する

阻害活性評価を行った。シアル酸の5位にアクリルアミド基を導入した誘導体では、予想に反し、アノマー位に有する疎水性基の長さで阻害能の間に相関関係は得られなかったが、5位にアセトアミド基を有する化合物では、疎水性基が長くなるほど強い阻害がかかることが示された。さらに、5位にアセトアミド基を有するシアル酸誘導体とアクリルアミド基を有する誘導体の阻害能を比較すると、アクリルアミド基を有する誘導体の方が若干強く阻害がかかった。

3章においては、FITCラベルされたシアル酸誘導体の合成について述べている。2章においてはインフルエンザウイルス由来ノイラミニダーゼ阻害剤について触れたが、ヒトの体内にも4種類のノイラミニダーゼ (NEU1、NEU2、NEU3、NEU4) が存在する。しかしながら、X線結晶構造解析が行われたのはNEU2のみであり、ヒト由来ノイラミニダーゼはまだ未解明の部分が多い。2004年、Linらは β -グルコシダーゼ阻害剤が、低濃度では変異した β -グルコシダーゼを安定化するケミカルシャペロンとして働くという報告をしている。そこで、本研究では、2章で述べたインフルエンザウイルス由来ノイラミニダーゼを阻害した化合物がヒト由来ノイラミニダーゼを阻害するという仮説を立てた。すなわち、2章で合成したウイルス阻害剤の構造を基に、FITCラベル化したシアル酸誘導体を設計・合成し、ヒト由来ノイラミニダーゼに対する阻害活性評価と安定化効果について評価することを研究目的とした。シアル酸誘導体をFITCラベル化することにより、合成した誘導体の挙動が蛍光により容易に観測できる。NEU1は特定難病疾患に指定されているライソゾーム病に関与しており、ヒト由来ノイラミニダーゼの研究はライソゾーム病の研究発展に貢献するものである。本研究ではFITCラベルされたシアル酸誘導体の合成とモル吸光係数の算出が完了しており、現在、合成されたFITCラベル化されたシアル酸誘導体群の生物学的評価が行われている。

4章においては、2章と3章において詳述した重要な知見および結果を、結論として簡潔にまとめている。

以上のように、本論文では、シアル酸を原料とした新規誘導体の応用例を示した。今後、本研究において見出された知見が、糖質科学および糖鎖工学の新たな展開へと応用されることを期待している。

論文の審査結果の要旨

生体細胞表層は無数の糖鎖に覆われており、糖鎖の末端に位置するシアル酸は様々な生物学的事象に深く関わっている。本研究では、シアル酸の化学修飾と生物学的評価を行うことにより、シアル酸誘導体の新規応用法について詳細に検討を行っている。本論文は4章構成となっており、一章においてはシアル酸に関する概要、二章においてはシアル酸を用いたインフルエンザウイルス阻害剤の合成と活性評価、三章においてはFITCラベルされたシアル酸誘導体の合成、そして四章においては結論について述べている。以下に詳細を述べる。

【第一章】この章では、複合糖質の末端に位置しているシアル酸が、細胞の分化・成長、細胞間接着、免疫応答、ウイルスや病原体の受容体といった生物学的事象において、重要な役割を担っていることについて記述している。生化学の分野において興味深い活性を持つ化合物としてシアル酸は注目されており、シアル酸の新規応用法の模索、今後の利用基盤の確立などについて議論されている。そのため、魅力あるシアル酸を原料として様々な誘導体を合成することにより、シアル酸の有効活用を見出す研究に着手したと動機づけられている。

【第二章】この章では、シアル酸を用いたインフルエンザウイルス阻害剤の合成と活性評価について報告している。インフルエンザウイルスの感染には、ウイルスが持つヘマグルチニン (HA) およびノイラミニダーゼ (NA)、これら2種類の糖タンパク質と、宿主細胞上の糖鎖末端のシアル酸との特異的相互作用が重要である。感染は、HAとシアル酸との結合により始まる。その後、増殖したウイルスは、NAがシアル酸とHAとの結合を加水分解により切断することにより、宿主細胞から遊離可能となり、新たな細胞へと感染を拡大していく。そのため、NAによって加水分解されないチオラウリル基をシアル酸のアノマー位に導入し、5位をアセトアミド基からアクリルアミド基へと変換することにより重合性モノマーの調製を行っている。さらに、アクリルアミドとのラジカル共重合反応によりユニークな糖鎖ポリマーの合成を達成している。一般に、糖鎖はクラスター化することによりタンパク質との相互作用が強くなる(糖鎖クラスター効果)ことが知られているが、これらの化合物を用いたインフルエンザウイルスに対する阻害活性評価では、アノマー位に長鎖疎水性基を有するモノマーがポリマーと同程度の阻害能を有するといった興味深い知見が得られている。

その結果を考察するために、動的光散乱による臨界ミセル濃度を測定し、モノマーがミセルを形成することにより糖鎖クラスター効果を発現していることを見出している。さらに、長さの異なるチオアルカンのアノマー位に導入し、インフルエンザウイルスに対する構造活性相関評価を行っている。シアル酸の5位にアクリルアミド基を導入した誘導体では、予想に反し、アノマー位に有する疎水性基の長さとの阻害能の間に相関関係は得られなかったが、5位にアセトアミド基を有する化合物では、疎水性基が長くなるほど強い阻害がかかることが示されている。加えて、5位にアセトアミド基を有するシアル酸誘導体とアクリルアミド基を有する誘導体の阻害能を比較すると、アクリルアミド基を有する誘導体の方が若干強く阻害がかかることを見出している。

【第三章】この章では、FITCラベルされたシアル酸誘導体の合成について述べている。二章においてはインフルエンザウイルス由来ノイラミニダーゼ阻害剤について触れているが、ヒトの体内にも4種類のノイラミニダーゼ (NEU1、NEU2、NEU3、NEU4) が存在する。しかしながら、X線結晶構造解析が行われたのはNEU2のみであり、ヒト由来ノイラミニダーゼはまだ未解明の部分が多い。2004年、Linらは β -グル

コシダーゼ阻害剤が、低濃度において変異した β グルコシダーゼを安定化するケミカルシャペロンとして働くという報告をしている。そこで、本研究では、二章で述べたインフルエンザウイルス由来ノイラミニダーゼを阻害した化合物がヒト由来ノイラミニダーゼを阻害するという仮説をたてている。すなわち、二章で合成したウイルス阻害剤の構造を基に、FITC ラベル化したシアル酸誘導体を設計・合成し、ヒト由来ノイラミニダーゼに対する阻害活性評価と安定化効果について検討している。シアル酸誘導体を FITC ラベル化することにより、合成した誘導体の挙動が蛍光により容易に観測できる。NEU1 は特定難病疾患に指定されているライソゾーム病に関与しており、ヒト由来ノイラミニダーゼの研究はライソゾーム病の研究発展に貢献するものである。本研究では FITC ラベルされたシアル酸誘導体の合成とモル吸光係数の算出が完了しており、現在、外部機関において、本研究において合成された FITC ラベル化シアル酸誘導体群の生物学的評価が行われている。

【第四章】 この章では、本研究において詳述した重要な知見および結果を、結論として簡潔にまとめている。

以上のように、本論文では、シアル酸を原料とした新規誘導体の応用例を示している。今後、本研究において見出された知見が、糖質科学および糖鎖工学の新たな展開へと応用されることを期待している。