

論文審査の結果の要旨

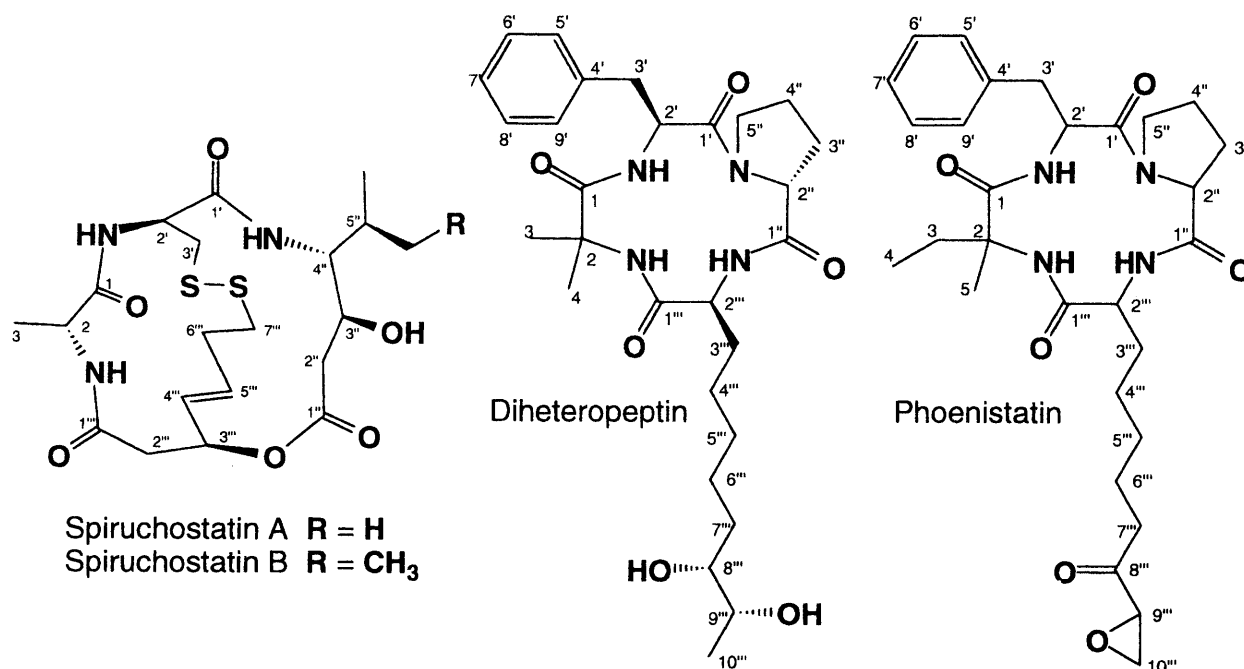
申請者氏名 升 岡 優 太

TGF- β やヒストンデアセチラーゼ (HDAC) 阻害剤は *p21^{WAF1}* などの癌抑制性遺伝子の転写を活性化することが知られており、その抗腫瘍作用が注目されている。本研究は、TGF- β や HDAC 阻害剤によって効率よく誘導される *PAI-1* 遺伝子プロモーターを利用し、リポーターアッセイを用いた探索により得られた新規転写活性化物質の構造と作用を明らかにしたものであり、3章からなる。

第1章では、*Pseudomonas* sp. Q71576 株の培養液から単離した spiruchostatin について述べている。Spiruchostatin A および B の平面構造は、NMR における COSY および HMBC 解析により決定した。次に、spiruchostatin B の分解により得られるアラニンとシステイン酸がともに D 体であることを明らかにした。また、spiruchostatin B をオゾン酸化し、カルボン酸誘導体に変換した後、加水分解して得られたリンゴ酸が L 体であることから 3'' 位の立体配置を S と決定した。Spiruchostatin B の 3'' 位の立体配置は、改良 Mosher 法により S と決定し、アルキル側鎖の立体配置は、NOE および ¹H-¹H、¹³C-¹H スピン結合を解析することにより 4'' R、5'' S であることが明らかになった。

Spiruchostatin A および B は MvILu 細胞における *PAI-1* プロモーターを強く活性化し、その作用濃度範囲はそれぞれ 7 nM~100 μ M および 3 nM~65 μ M であった。また、両化合物ともに強い HDAC 阻害活性を有していることが明らかとなった。さらに、spiruchostatin は、HeLa 細胞においてサイクリン依存性キナーゼ阻害タンパク質である p16^{INK4A} および p21^{WAF1} の発現上昇を誘導し、細胞周期が G1、G2 期で停止することが示された。

第2章では、*Diheterospora chlamydosporia* Q58044 株より単離した diheteropeptin、および *Acremonium fusigerum* QN5320 株より単離した phoenistatin について述べている。Diheteropeptin は、NMR 解析により 4 残基のアミノ酸を有する環状テトラペプチドであることが明らかになった。加水分解により得られたプロリンとフェニルアラニンは、それぞれ D 体、L 体であることが判明し、2-amino-8,9-dihydroxydecanoic acid (Add) 残基中の 1,2-ジオールの立体配置は、NOE 解析と dibenzoate 誘導体の CD スペクトル解析により R, R と決定した。Add の α -メチンの立体配置は、ルテニウム酸化後、加水分解して得られた α -アミノスベリン酸の比旋光度から S と決定した。



Phoenistatinは、COSYおよびHMBCスペクトル解析により diheteropeptinと同様に4残基のアミノ酸を有する環状テトラペプチドであることが判明した。

Diheteropeptinおよび phoenistatinは MvILu細胞において *PAI-1*プロモーターを強く活性化し、その作用濃度範囲はそれぞれ $0.98 \mu M \sim 1000 \mu M$ 、 $3 \text{ nM} \sim 1000 \mu M$ であった。また、両化合物とも HDAC 阻害活性を示し、HDAC 阻害を介した転写調節物質であることが判明した。

第3章は、それぞれの実験法の詳細について述べたものである。

以上、本論文は *PAI-1*プロモーターの活性化を指標とした探索により得られた spiruchostatin AおよびB、diheteropeptin、phoenistatinの化学構造を決定し、これらのHDAC阻害を介した転写活性化作用を明らかにしたものであり、学術上、応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。