

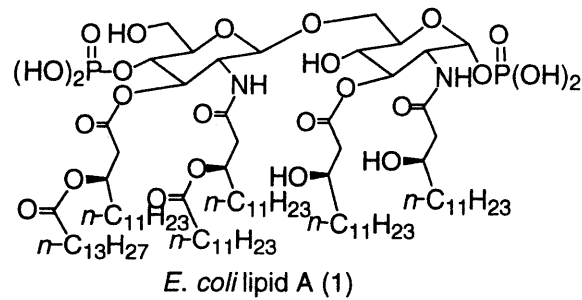
論文の内容の要旨

論文題目 エンドトキシンアンタゴニストの探索を指向したピランカル
 ボン酸誘導体の合成と生物活性

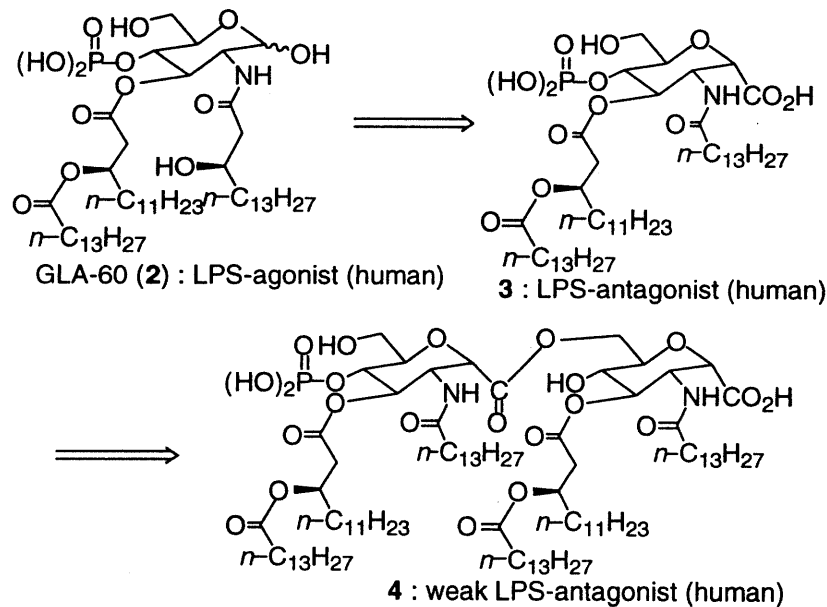
氏名 望月 隆

敗血症は、重度の細菌感染に対する全身の反応であり、異常体温、頻呼吸、臓器の血流低下、機能不全等を呈する疾患である。毎年欧米にて80～90万人の症例があり、その死亡率は40～50%、米国での死者は約10万人に上っている。敗血症の大半は、グラム陰性菌によるエンドトキシンショックに起因している。

一方LPS (リポポリサッカリド) は、グラム陰性菌の細胞表層の構成成分の一つであり、宿主細胞の免疫系を活性化することが知られている。グラム陰性菌の大量感染や感染時における抗生物質の投与などによりLPSが体内に放出されると、マクロファージの活性化により種々のサイトカインの誘導が行われ、発熱、炎症などを伴いエンドトキシンショックに至る。LPSのマクロファージ活性化の本体は、LPS末端に存在するリポドA(1)と呼ばれるリン酸化糖脂質が担っていることが知られている。そこで、LPSアンタゴニスト(エンドトキシンアンタゴニスト)活性を示すリポドA誘導体を見い出すことができれば、抗敗血症薬としての開発が期待できる。

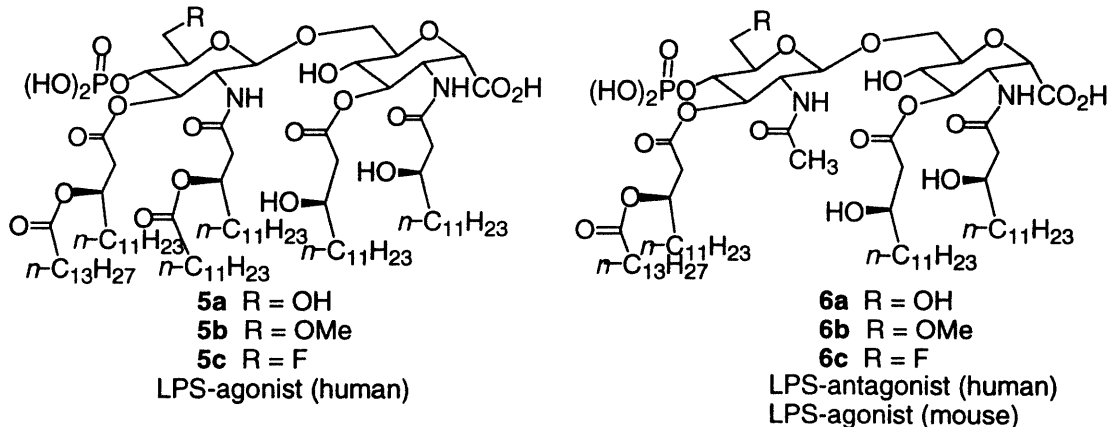


これまで、多くのリポド A 誘導体が合成され生物活性が調べられてきた。その中で筆者は、単糖の誘導体である、長谷川らにより合成された GLA-60 (2)に着目し、これの誘導化を行った。リポド A の還元末端糖の 1 位リン酸基を配慮して、1 位に α 配置でカルボキシ基を有するピランカルボン酸 3 を合成した。化合物 3 の生物活性をヒト U937 細胞を用いて調べたところ、顕著な LPS アンタゴニスト活性が観測された。さらに、化合物 3 の 1 位カルボキシ基を足がかりにして、その二量体型化合物 4 を合成したが、LPS アンタゴニスト活性は低下することがわかった。



次に、さらなる LPS アンタゴニスト活性の向上を期待して、リポド A 型ピランカルボン酸誘導体の合成を行った。その際、化合物中二糖骨格に結合する脂肪酸の数に着目し、長鎖脂肪酸鎖を 6 つ有する化合物 5a-c、4 つ有する化合物 6a-c をそれぞれ合成した。一連の化合物のヒト U937 細胞における生物活性を調べたところ、化合物 5a-c は LPS アゴニスト活性を、化合物 6a-c は強い LPS アンタゴニスト活性を示すことがわかった。また一連の化合物中、6' 位の効果についても水酸基、メトキシ基、フルオロ基について検討したが、有意な差異は見

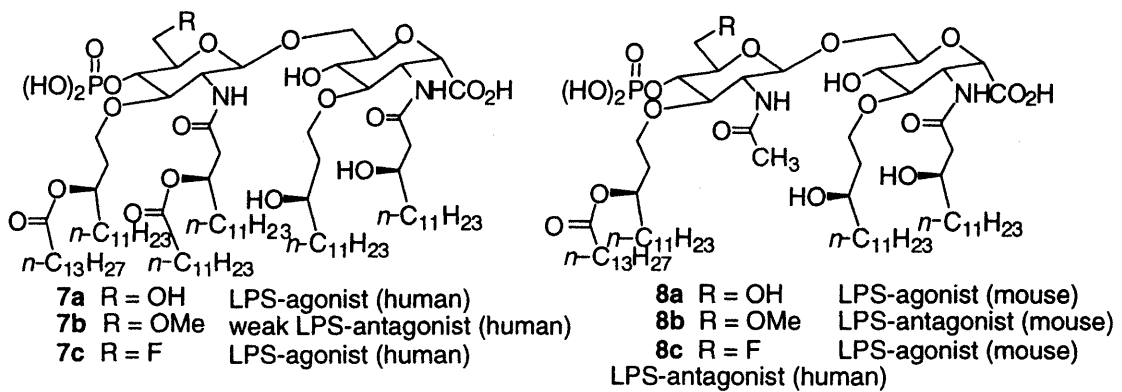
られなかった。



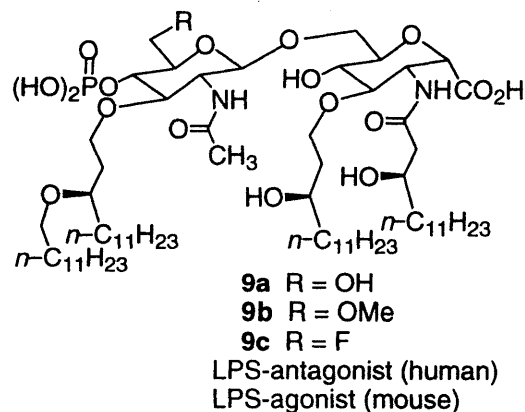
以上の結果より、リピド A 誘導体の LPS アンタゴニストを見出す上で重要な知見を得ることができた。すなわち、リピド A の 1 位リン酸エステル基を α 配置のカルボキシ基に変換しても LPS に関する活性の消失、転換は起こらないこと、リピド A 誘導体中の脂肪酸の数が LPS アゴニスト、LPS アンタゴニストいずれの活性を示すかについて重要な役割を果たしていること、などがわかった。

化合物 6a-c は、ヒト由来の U937 細胞を用いた試験においては強い LPS アンタゴニスト活性を示すものの、マウス由来の細胞を用いた場合には、長時間放置すると LPS アゴニスト活性を示すことがわかった。このことは、一連の化合物が水中において分解して、LPS アゴニスト活性を示す形に変換されていることを示唆するものと考えた。そこで、加水分解が進行しやすいと考えられるエステル結合を、エーテル結合に変換した化合物の合成を行った。

まず、3,3'-O-エーテル結合型誘導体 7a-c, 8a-c を合成した。これらの化合物の生物活性は、7a, c がヒト U937 細胞において LPS アゴニスト活性を示す一方、8a-c は強い LPS アンタゴニスト活性を示した。このことは、先述の化合物 5a-c, 6a-c において長鎖脂肪酸の数が生物活性に及ぼす影響とほぼ一致し、3,3'位をエーテル結合に変換しても U937 細胞についての生物活性には影響がないことがわかった。またマウス由来の細胞について、ヒト細胞において LPS アンタゴニスト活性を示した 8a-c の影響を調べた。その結果、8a, 8c には LPS アゴニスト活性が認められたが、8b には認められないことがわかった。マウス由来の細胞における LPS アンタゴニスト活性については、8b において弱いながらもアンタゴニスト作用を認めた。



次に、**8a-c** の 3'位に結合する長鎖脂肪酸中に存在するエステル結合を、エーテル結合に変換することとした。3,3'-O-[3'-O-(3-O)]-エーテル結合型誘導体 **9a-c** を合成し、それらの生物活性を調べたところ、ヒト U937 細胞においては強い LPS アンタゴニスト活性を認めた。しかしながら、マウス由来の細胞においてはいずれの化合物も LPS アゴニスト活性を示した。



以上の研究から、リポド A 型ピランカルボン酸誘導体について以下の重要な知見を明らかにすることができた。まず、ヒト由来の細胞においてはエステル結合、エーテル結合に関わらず、2糖骨格に結合する長鎖脂肪酸の数が LPS アゴニスト、LPS アンタゴニストいずれの活性を示すかについて決定的な役割を果たしていることを明らかにした。また、マウス由来の細胞に対する作用は、化合物の加水分解過程を防ぐ設計のみではヒト由来の細胞と同様の効果は得られないことを見出した。さらに一連の研究を通して、加水分解過程に抵抗性のあるリポド A 型ピランカルボン酸誘導体の一般的な合成手法を確立した。