

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 藤根 清考

本論文は、微生物が生産する新規免疫抑制物質に関するものであり、6章より構成されている。これまでに免疫抑制剤が相次いで発見、開発され、移植治療が臓器疾患の解決策として定着するに至った。しかしながら、既存の免疫抑制剤をもってしても、薬効と安全面の問題は十分解決されているわけではない。より有効性と安全性に優れた治療法を確立するためには、既存の免疫抑制剤と異なる作用機序を有し、既存の免疫抑制剤と併用効果を示す新たな薬剤がさらに必要である。現在もっとも広く利用されているカルシニューリン (CN) 阻害剤は活性化 T 細胞の遺伝子発現を阻害することにより、免疫抑制活性を発揮する。一方、T 細胞に対して活性化の引き金を引く働きをもつ抗原提示細胞 (APC) の機能を選択的に阻害する移植治療剤はない。そこで、申請者は APC の活性化阻害剤を見いだすことを目的として、以下の研究を実施した。

第1章では APC の活性化を検出する簡便な細胞アッセイ系を用いたスクリーニング法について概説している。約 50,000 検体の微生物代謝産物から探索した結果、長野県で採取された土壌から分離されたバクテリア No. 408813 株の培養液中に LPS 刺激マウス脾細胞増殖に対する阻害活性が認められた。

第2章ではバクテリア No. 408813 株の分類学的同定について述べている。形態学的性質と生理学的性質を定法に従い解析した結果、*Pseudomonas fluorescens* と同定した。

第3章では、活性物質の単離・精製について述べている。はじめに少量の醗酵ブロスサンプルを用いて検討したところ、HPLC のピークから LPS 刺激脾細胞増殖阻害活性を有する2つのピークを見だし、それぞれ FR252921 (1) および FR252922 (2) と命名した。続いて 30L ジャーフアーメンターを用いて培養して得られた培養液より溶媒抽出およびカラムクロマトグラフィーを行うことにより、1 を 175 mg、2 を 79 mg 取得した。

第4章では、1 および 2 の物理化学的性質の解析と構造決定について述べている。分子量スペクトルおよび元素分析により 1 および 2 の分子式を決定し、 ^1H 、 ^{13}C NMR による1次元および2次元 NMR により構造を決定した。その結果、二つのアミド結合を含む19員環から構成される新規マクロライドであることが判明した。構成アミノ酸およびカルボン酸もすべて報告がないことから、本物質は他に類を見ない極めて特異な構造を持つことが明らかとなった。

第5章では *in vitro* の生物活性の検討について述べている。マウス脾臓より精製した T 細胞と APC を使って細胞増殖、サイトカイン産生、細胞表面分子発現に対する阻害効果について検討したところ、APC に選択的に作用する薬剤であることが判明した。また、免疫細胞の遺伝子発現を調節する AP-1 に至る細胞内シグナルを阻害することが分かった。このような性質をもつ免疫抑制剤は報告されていないことから、構造だけでなく、その薬理作用もユニークであることが判明した。

第6章では免疫抑制活性における FK506 との相乗効果について検討している。*in vitro* 脾細胞増殖系において、薬効を示す濃度よりも低い濃度の FK506 との相乗効果を示した。これは、CN 阻害剤の投与量を低減しても、1 あるいは 2 を併用することにより薬効を保持できる可能性を示すものであった。また、マウス皮膚移植モデルにおいては、至適投与量の FK506 と相乗効果を示した。この効果は、現在 CN 阻害剤と併用して使用されているミコフェノール酸モフェチル (MMF) と同等であった。この結果から、FK506 を増量することなく薬効を改善することができる可能性が示された。このように、1 および 2 は現行の免疫抑制療法において有効性と安全性を改善する可能性を秘めている。

以上本論文では、構造と活性の両面でユニークな新規免疫抑制剤の発見と現行治療法の改善の可能性について論じられており、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって、審査員一同は、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。