

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 森 泰亮

カルシニューリン阻害剤(calcineurin inhibitors; CNIs)である cyclosporin A (CsA)及び tacrolimus (FK506)は、移植医療（臓器移植及び骨髄移植）における基礎治療薬としてその発展に多大なる貢献を果たしてきたが、腎毒性、中枢毒性、耐糖能異常などの種々の副作用を有し、しばしばその使用が制限される。更に、CNIs はその強力な急性拒絶抑制作用に比して、慢性拒絶抑制作用や免疫寛容誘導作用は不十分であるか若しくは逆効果である。従って、CNIs よりも安全で、かつ CNIs では十分に満たされない unmet needs を満たし得るような、全く異なる作用機序を有する新規免疫抑制剤を探索することは、非常に意義のあることである。

このような状況を踏まえ、本論文では微生物生産物を対象として、CNIs とは異なる新しい作用機序を有する T 細胞活性化抑制物質を探索した。その結果、ある種のカビの培養液中より T 細胞増殖を選択的に阻害する新規化合物を見出した。

序論において本研究の背景と意義について概説した後、第 1 章においては、卵白オバルブミン応答性のマウス T 細胞ハイブリドーマ EA-74 を、固相化した抗 CD3 抗体で刺激することによって activation-induced cell death (AICD)を誘導する系を確立した。本系を用いて、その AICD に対する抑制活性を指標に、約 2 万種類の微生物培養サンプルを対象として T 細胞レセプターシグナル伝達阻害剤のスクリーニングを実施した。その結果、ある種のカビの培養液中に T 細胞増殖を選択的に阻害する活性を見出した。

第 2 章では、活性物質の生産菌の分類同定を検討している。生産菌は各種寒天培地上で極めて抑制的に生育した。有性生殖器官を形成せず、フィアロ型の分生子構造を生じた。以上の特徴を菌類分類基準に照らし合わせ、不完全糸状菌類の *Acremonium* sp. No.27082 と命名した。

第 3 章では、生産菌の培養及び活性物質の精製を検討している。培養培地検討を含む培養条件の最適化を行い生産力価を向上させた上で、30L ジャー・ファーメンターによる液体培養を実施し、培溶液中より活性物質 230mg を精製単離した (FR235222 と命名)。

第 4 章では、FR235222 の構造解析を行っている。高分解能 ESI-MS、FT-IR、¹H 及び ¹³C NMR、X 線結晶構造解析などの手法により構造決定を行った結果、3 つのユニークな異常アミノ酸残基、即ち、メチルプロリン (4-MePro) 残基、イソバリン (iva) 残基、及び 2-amino-9-hydroxy-8-oxodecanoic acid (aoh) 残基を有する新規テトラ環状ペプチド系化合物であることを確認した。

第5章では、FR235222の *in vitro* における生物活性を検討している。本物質は種々のリンパ球増殖活性化反応及びリンホカイン産生に対して強力な抑制作用を示したが、ラット初代培養肝細胞及びヒト正常線維芽細胞株 HNF に対する細胞毒性や、マウス RAW 264.7 細胞の LPS 誘発 NO 産生に対する抑制作用などといった、非リンパ球系細胞に対する作用は非常に弱く、リンパ球に対する作用の選択性が認められた。更に本物質の作用機作を検討した結果、リンパ球系癌細胞由来の核内酵素ヒストンデアセチラーゼ (histone deacetylases; HDACs) に対して強力な抑制作用を有することが判明した。

第6章においては、種々の *in vivo* 動物モデルにおける FR235222 の免疫抑制効果を検討している。本物質は、マウス *ex vivo* 脾臓 T 細胞増殖アッセイ、マウス遅延型過敏反応モデル、ラットアジュバント関節炎モデル及びラット異所性頸部心移植モデルにおいて、皮下投与及び経口投与にて著明な効果を示したが、毒性の兆候は示さなかった。以上の結果から、本物質が自己免疫疾患領域及び移植領域において、有効性及び安全性共に優れる新しい作用機序を有する治療薬になり得る可能性が示唆された。

以上、本論文において、カビの生産物質として非常にユニークな構造を有する新規 HDAC 阻害剤 FR235222 見出し、それが臨床応用可能な新しい免疫抑制剤として更に評価を進めていくに値するものであることを確認した。また、HDAC 阻害剤の *in vivo* 動物モデルにおける優れた免疫抑制作用を事実上初めて証明することによって、有効な免疫抑制剤を創出する為の新しい標的分子として HDAC(s)が妥当な対象であることを見極めた。以上の研究成果は、学術上、応用上貢献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。