

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 高田 健太郎

ノイラミニダーゼは細胞膜上の複合糖質末端に存在するシアル酸を分解する酵素であり、この分解は免疫反応、腫瘍形成、腫瘍転移、精子進入現象、ウィルスの感染、菌の病原性に関与していると考えられている。特にインフルエンザウィルスにおいては、宿主細胞の核内で自己複製をしたウィルスが、細胞外へ出芽する際にノイラミニダーゼを用いる。従ってドラッグデザインによって開発されたノイラミニダーゼ阻害剤が抗インフルエンザ薬として臨床に応用されている。しかし、生物由来の阻害剤はほとんど知られていない。

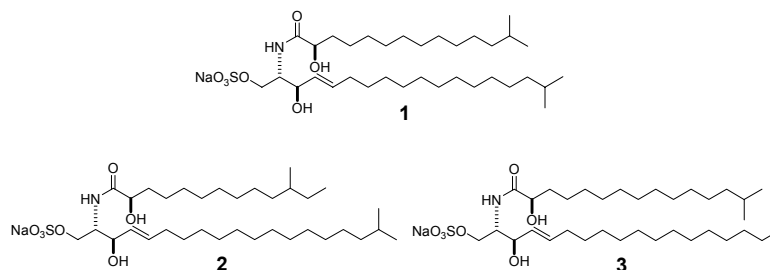
このような背景の下、海綿を主体とする海洋無脊椎動物を対象に新規ノイラミニダーゼ阻害物質の探索をおこなった。スクリーニングの結果、有望な活性が認められた4種の実験動物から活性物質の単離・構造決定を試みたところ、合計8つの新規ノイラミニダーゼ阻害物質を得ることができた。その概要は以下の通りである。

スクリーニング

まず、日本近海および各地沿岸で採集した約1000検体の海洋無脊椎動物の抽出液を対象に、グラム陰性菌 *Clostridium perfringens* およびインフルエンザAウィルス由来のノイラミニダーゼに対する阻害活性を調べた。その結果 *C. perfringens* 由来の酵素に対しては多くの検体に阻害活性が認められたが、インフルエンザウィルス由来のものに対しては非常に限られた検体にしか阻害活性が認められなかった。この中で有望な活性を示した試料について酵素阻害物質の単離および構造決定を試みた。

Calyceramides A-C

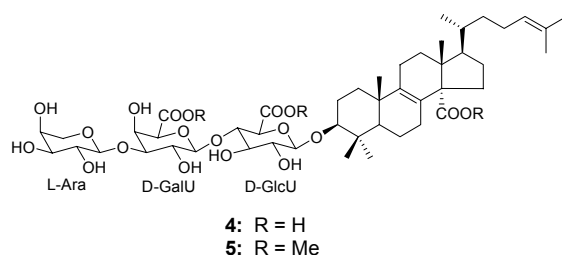
式根島産海綿 *Discodermia calyx* から、ノイラミニダーゼに対して IC_{50} 0.2-0.8 $\mu\text{g/mL}$ で阻害活性を示す calyceramides A-C を単離した。各化合物の構造は NMR 解析と化学的手法を用いた結果 calyceramides A (1)-C (3) は1位が硫酸化されたセラミドであることを明らかにした。



Nobiloside

式根島産海綿 *Erylus nobilis* から、 IC_{50} 0.46 $\mu\text{g/mL}$ の阻害活性を持つ nobiloside (4) を単離した。Nobiloside はラノステロール骨格を有し、その3位にD-グルクロン酸、D-ガラクトロン酸、およびL-アラビノースからなる糖鎖が結合していることを明らかにした。また、カルボン酸をメチルエス

テル**5**とし、その活性を測定したところ活性が消失したことから、分子中に含まれるカルボン酸が活性に重要であることが示唆された。



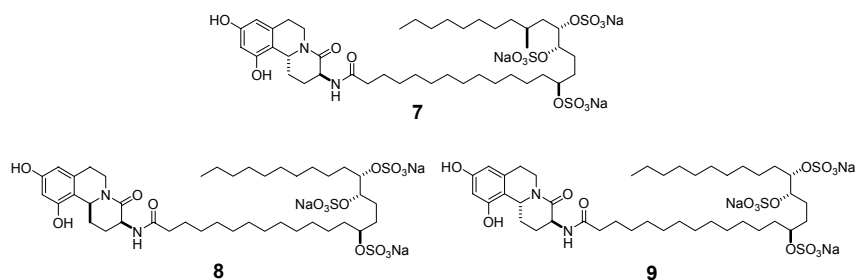
Asteropine

式根島産海綿 *Asteropus simplex* からは、 K_i 値は 37 nM という非常に強い競合阻害を示すペプチド**6**を単離した。アミノ酸配列、3次構造を解析した結果、本化合物は“cystine-knot”と呼ばれる様々な生物から単離されている生理活性ペプチド群に属するものであった。他の微生物由来のノイラミニダーゼに対しても若干弱いながらも阻害作用を示したが、インフルエンザウイルスノイラミニダーゼに対しては活性を示さなかったことから、微生物由来のノイラミニダーゼを選択的にかつ強力に阻害していることが明らかとなった。



Schulzeines A-C

八丈島産海綿 *Penares schulzei* の水溶性画分にインフルエンザウイルス由来のノイラミニダーゼに対して阻害活性が認められたので、活性成分の分離を試みたところ、schulzeines A (**7**)–C (**9**)が得られた。これらはイソキノリンを含む3環性部分と3つの硫酸基を含む脂肪鎖がアミド結合した非常にユニークな新規骨格を有していた。これらの化合物は海洋無脊椎動物から得られた初めてインフルエンザ由来のノイラミニダーゼ阻害物質であった。



以上、本研究では日本各地沿岸で採集された海洋無脊椎動物の水溶性および脂溶性抽出物に対象に、微生物、インフルエンザ由来のノイラミニダーゼに対して阻害活性を調べるとともに、有望な活性を示した4種の実験から活性物質の単離と構造決定を試みたところ、合計8つの新規酵素阻害物質を発見したもので、学術上、応用上寄与するところは大きい。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。