

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 村上 亮

微生物代謝産物は、古くから抗菌剤や抗癌剤の重要な探索源として盛んに利用されてきた。また、近代医学の進歩に伴い、感染症や癌の原因や発症のメカニズムが分子レベルで解明されつつあり、これらの分子を標的とした医薬の探索が可能となってきている。

本論文では、抗菌剤の標的としてペプチドグリカン生合成経路、抗癌剤の標的として Ras シグナル伝達系に着目し、ハイスループットスクリーニングに適した効率的なアッセイ系の確立と、微生物代謝産物から見出された3つの新規化合物の構造解析と生物活性を中心にまとめたものである。

第1章では、ペプチドグリカン生合成経路上の MurF と translocase I および D-Ala-D-Ala 生合成経路を担う酵素群 Alr と Ddl に着目し、これらの酵素活性を検出するための新規アッセイ系の構築とスクリーニング結果について述べている。translocase I の蛍光アッセイ系の原理を応用し、Alr、Ddl、MurF を translocase I 反応と連動させることで、簡便かつ高感度な新規アッセイ系を構築することに成功した。このアッセイ系を用いて天然物サンプルについてスクリーニングを行った結果、D-Ala-D-Ala 経路の阻害物質として F-11334A1 を、MurF の阻害物質として(-)-epigallocatechin gallate と pleurotin を同定した。これらの物質は、MurF 阻害剤として天然物から初めて報告されたものであり、D-Ala-D-Ala 経路の阻害剤についても、D-cycloserine 類以外としては初めての報告となる。さらに、本スクリーニングより新規 translocase I 阻害剤として、A-102395 と A-94964 を発見している。

第2章では、A-102395 の構造解析と生物活性について述べている。各種 NMR スペクトル解析により、本化合物が capuramycin の類縁化合物であり、capuramycin の持つアミノカプロラクタム環の代わりに、ユニークな置換鎖を持ったベンゼン環を有していることを明らかとした。in vitro での解析の結果、A-102395 は translocase I を IC₅₀ 値 11 nM と非常に強力に阻害することがわかった。A-102395 は種々の菌に対して抗菌活性を示さなかったが、その理由として A-102395 の膜透過性の低さをあげ、過去の類縁化合物の誘導体展開の知見から、膜透過性を向上させるような化学修飾により抗菌活性の改善が可能であると論じている。

第3章では、A-94964 の構造解析と生物活性について述べている。各種 NMR スペクトル解析により、A-94964 はリン酸ジエステル結合を含むユニークかつ新規な骨格を有する化合物であることを明らかにした。また、A-94964 は translocase I を IC₅₀ 値 1.1 μM で阻害し、さらに、ある種のグラム陽性細菌に抗菌活性を示すことを明らかにする一方、同化合物が同じく translocase I を阻害する tunicamycin とは異なり、哺乳類細胞に対して細胞毒性を示さないことを明らかとし、A-94964 が translocase I の特異的な阻害剤

であると結論付けている。

第4章では、Ras 依存性細胞に対して選択的にアポトーシスを誘導する物質のスクリーニングより見出された新規物質 ammocidin 類の構造解析と生物活性について述べている。デキサメタゾン添加により IL-3 非存在下で Ras 依存的に生存する Ba/F3-V12 細胞に対して、IL-3 依存的に増殖する Ba/F3 細胞と比較して、選択的にアポトーシスを誘導する活性を指標としたスクリーニングを行った。その結果、66 ng/ml の低濃度で選択的にアポトーシスを誘導する新規物質 ammocidin A~D(以下 ammocidin)を放線菌 *Saccharothrix* sp. AJ 9571 株の培養液より見出した。各種 NMR スペクトル解析より、ammocidin の構造が糖分子を含む 20 員環マクロライドであると決定した。さらに、ammocidin が Ras 下流の MAPK 経路と PI3K 経路を同時に阻害することを見出し、両経路を阻害することが ammocidin が示す Ras 依存性細胞に対する選択的なアポトーシス誘導の要因である可能性を示した。また、ammocidin はヒトの癌から分離された癌細胞株に対しても強い増殖抑制活性を示すことから、抗腫瘍効果についても期待できる。最後に、ammocidin の 24-O に付加したデオキシ糖が生物活性発現に重要なはたらきを担うことも明らかにしている。

第5章では、本研究の総括として上述の各章についてのまとめが述べられている。今後の展望として、A-102395 と A-94964 の化学修飾による新規抗菌剤のリード化合物としての可能性や生合成研究のツールとしての発展性について述べられているほか、ammocidin に関しては、その作用機序の解明が Ras によるアポトーシス抑制シグナルの全容解明のツールとなり得ると論じている。最後に、本研究の成果を踏まえ、新規スクリーニング系構築の重要性と微生物代謝産物活用に関する将来展望が述べられている。

以上、本研究は、ペプチドグリカン生合成経路を標的とした新規アッセイ系の構築と、このアッセイ系から得られた新規 translocase I 阻害剤 A-102395 と A-94964 の構造と生物活性、また、Ras 依存性細胞に対して選択的にアポトーシスを誘導する新規物質 ammocidin 類の構造と生物活性を明らかにしたものであり、学術上、応用研究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。