

平成 30 年 6 月 22 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07409

研究課題名(和文) 神経機能改善用医薬資源としての棘皮動物由来糖脂質の研究

研究課題名(英文) Synthesis and biological activities of gangliosides isolated echinoderms

研究代表者

石田 秀治 (Ishida, Hideharuu)

岐阜大学・応用生物科学部・教授

研究者番号：20203002

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：近年、シアル酸を含むスフィンゴ糖脂質が神経突起伸展など、神経の分化制御に重要な役割を担っていることが明らかにされた。従来、脊椎動物のガングリオシドの生物機能が精力的に進められてきたが、近年、棘皮動物にも多くのガングリオシドが存在し、それらが培養大脳皮質細胞の生存維持作用、神経突起伸展作用を有することが明らかにされた。本研究では、これら棘皮動物由来ガングリオシドを化学的に再構築することにより、これらの活性物質的基盤を与えるとともに、広範な類縁体の合成と評価により、活性発現に必要な構造の抽出、それに基づいたより活性の強い物質の開発を進めた。

研究成果の概要(英文)：Sialic acids are a family of carbohydrates derived from 3-deoxy-2-ulosonic acid, and more than 50 natural sialic acids have been identified. The most common sialic acid in the human body is N-acetyl neuraminic acid (Neu5Ac), and so research has focused on gangliosides containing Neu5Ac. However, diverse modified sialic acid-containing gangliosides have recently been isolated from echinoderms. Furthermore, the gangliosides showed strong neuritegenic activity toward neuron-like rat adrenal pheochromocytoma (PC12) cells. These findings have stimulated interest in the biological significance of modified sialic acids. Therefore, we aimed to develop methods for synthesizing modified sialic acids to elucidate the molecular basis underlying neurite outgrowth. In this research, the syntheses of gangliosides of echinoderms, which contain modified sialic acids, have been accomplished.

研究分野：生理活性物質学

キーワード：糖脂質 化学合成 神経機能

### 1. 研究開始当初の背景

シアル酸を含むスフィンゴ糖脂質であるガングリオシドは、細胞分化に関与し、神経機能の調整や可塑性を賦活する新しい因子であることが明らかにされ、神経障害の治療への応用が注目を集めてきた。このような状況を背景に申請者らのグループを始めとして、ガングリオシド類の化学合成研究が進められ、数多くの全合成が達成されるとともに、それらの神経機能を中心とする生物機能の解明が進められてきた。

一方で、最近、ウニやナマコ、ヒトデなどの棘皮動物からもユニークな構造を有するガングリオシド類が単離され、受精などの基本的な生命現象への関与、あるいは神経突起伸展作用など、医薬資源としての応用が期待される興味深い生物機能を有することが知られている。

しかし、棘皮動物由来ガングリオシド類の生物と構造の関わりについては、哺乳動物のガングリオシド以上に不明な点が多く、化学合成標品を用いた分子レベルでの明確な解明が望まれてきた。

### 2. 研究の目的

上述した学術的背景の下に、申請者は従来の哺乳動物ガングリオシド合成法に新たな改良を加え、ユニークな構造を持つ棘皮動物由来ガングリオシドの化学的再構築に取り組んできた。それらの構造の特長は、0-4位の修飾、N-5位の修飾、0-8位の修飾、0-8位及びN-5位の修飾、0-9位及びN-5位の修飾であり、それぞれ5-N-Troc体から導かれる誘導体を鍵中心体にして、全合成を達成している。

本研究では、まずこれら全合成した棘皮動物由来ガングリオシド類の神経突起伸展作用を評価することで天然より単離した標品で得られた結果を明確に再現する。また、全合成が達成されていないより複雑な構造のガングリオシド類の全合成を行い、詳細な構造-活性相関を検討する。

### 3. 研究の方法

活性は、天然由来の棘皮動物由来ガングリオシドを用いて評価法が確立しているラット副腎髄質由来褐色細胞腫 PC12 に対する神経突起伸展作用を検討する (Yamada ら, 1998)。細胞を無血清培地で培養し、(Nerve Growth Factor) と共に添加し、96時間後の神経突起の伸長を測定する。

また、化学合成が達成されていない、以下のガングリオシドの合成を進める。

- (1) コブヒトデ由来 PNG-2A
- (2) イトマキヒトデ由来 GP-3
- (3) マナマコ由来 SJG-2
- (4) ニッポンウミシダ由来 CJP

### 4. 研究成果

#### (1) ガングリオシドの生物機能評価

細胞を無血清培地で培養し、(Nerve Growth Factor) と共に添加し、96時間後の神経突起の伸長を測定した。さらに、その技術を用いてヒトデ由来ガングリオシド LLG-3 の構造と神経突起進展活性の構造活性相関を行った。

#### (2) コブヒトデ由来、PNG-2A の全合成

天然由来ガングリオシドを用いた研究で、8-OMe シアル酸の活性発現への効果が報告されている。構造的には、 $\alpha$ -ラクトース構造を有しており、申請者らのグループで開発した  $\alpha$ -選択的ガラクトシル化法 (DTBS 法、Imamura ら) を用いて達成した。

(3) イトマキヒトデ由来ガングリオシド GP-3 の全合成: 棘皮動物由来ガングリオシドのなかでも最も複雑な構造を有している本ガングリオシドの全合成に取り組み、達成した。全9糖を非還元側8等と還元側担当に分け、8糖は、さらに4糖ずつに分割する合成計画を立案した。また還元側単糖は、予め脂質と結合させておき、合成の最終段階にグリコシルセラミドとして縮合させるカセットアプローチを用いることとした。各中間体の合成とそれらの縮合、さらに最終段階での包括的な脱保護を何れも高収率で達成し、目的とするイトマキヒトデ由来ガングリオシド GP-3 の全合成に成功した。

(4) マナマコ由来ガングリオシド SJG-2 の全合成: 天然由来ガングリオシドを用いた研究で、糖鎖部分におけるシアル酸残基数の活性発現への効果が示されており、1分子中にシアル酸を3残基する当該分子は、生理活性の面から非常に興味深い。また、構造的には、ガラクトースの0-3,4位という隣接した水酸基にシモ難易度の高い分子である。申請者は、最初に導入したシアル酸の立体配座を変換することにより、2残基のシアル酸の導入が容易になることを見出し、その知見に基づいて全合成に挑戦した。7糖骨格を非還元末端3糖、還元末端側3糖、グルコシルセラミドのユニットに分けて合成を進めた。非還元末端3糖は、上述の方法を用いることにより、高収率で合成することができ、得られた3糖と還元末端側3糖を92パーセントの高収率で縮合して6糖に導いた。当研究室で確立されている方法でグルコシルセラミドを合成し、6糖と縮合することにより目的とするガングリオシドの保護体に導いた。脱保護にも成功して、目的化合物の全合成を達成した。

(5) ニッポンウミシダ由来 CJP-シリーズの全合成: 本分子は、天然物を用いた実験により、NGF 非存在下でも神経突起伸展作用を有することが知られており、構造的にもセラミドにリン酸を介してイノシトールが結合したイノシトールホスホセラミド構造を基本としており、合成化学的に興味深い。

また、これまでに合成をこれまでに合成を達

成した分子の神経突起進展作用を測定し、当該活性発現に必要な構造要素を明らかにした。

## 5. 主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計3件)

Goto, K., Sawa, M., Tamai, H., Imamura, A., Ando, H., Ishida, H. and Kiso, M. The total synthesis of starfish ganglioside GP3 bearing a unique sialyl glycan architecture, *Chem. Eur. J.* 22, 8323-8331, 2016. (査読あり)

Yamagishi, M., Hosoda-Yabe, R., Tamai, H., Konishi, M., Imamura, A., Ishida, H., Yabe, T., Ando, H. and Kiso, M. Structure-Activity Relationship Study of the Neuritogenic Potential of the Glycan of Starfish Ganglioside LLG-3. *Mar. Drugs*, 13, 7250-7274, 2015. (査読あり)

Goto, K., Suzuki, T., Tamai, H., Ogawa, J., Imamura, A., Ando, H., Ishida, H. and Kiso, M. Total synthesis and neuritogenic activity evaluation of ganglioside PNG-2A from the starfish protoreaster nodosus. *Asian J. Org. Chem.* 4, 1160-1171, 2015. (査読あり)

### 〔学会発表〕(計3件)

Mano, H., Ohya, R., Sakamoto, K., Ando, H., Imamura, A., Ishida, H., Kiso, M.: Synthetic Study on Novel Bioactive Ganglioside SJG-2. 63, *Sialoglyco* 2016, Santa Barbara, California (USA), November 14-17, 2016 (Poster).

玉井秀樹, 後藤健太, 武田陽, 水野孝星, 安藤弘宗, 今村彰宏, 石田秀治, 木曾真: 神経突起伸展活性を有するウミシダ由来シアル酸含有糖脂質 CJP 系列の全合成. 2B-02, 第35回日本糖質学会年会、高知市文化プラザ かるぽーと(高知)、平成28年8月31日~9月3日 (Oral).

真野寛之, 大山龍太郎, 坂本統一, 安藤弘宗, 今村彰宏, 石田秀治, 木曾真: マナマコ由来ガングリオシド SJG-2 の全合成研究, 4I011, 日本農芸化学会2016年度大会, 札幌コンベンションセンター及び札幌市産業振

興センター(北海道), 平成28年3月27日-30日 (Poster).

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

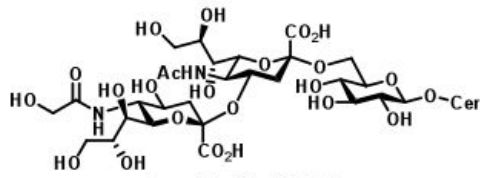
〔その他〕

ホームページ等: 該当なし

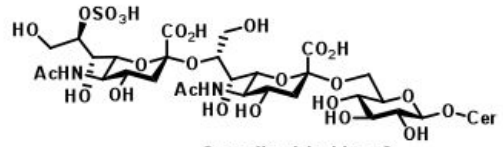
## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

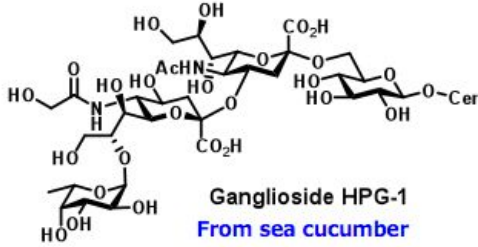
石田 秀治  
岐阜大学・応用生物科学部・教授  
研究者番号: 20203002



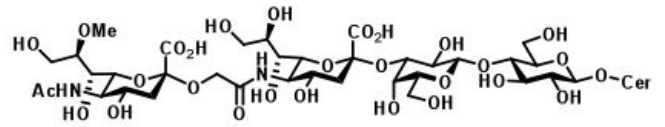
**Ganglioside HLG-2**  
From sea cucumber



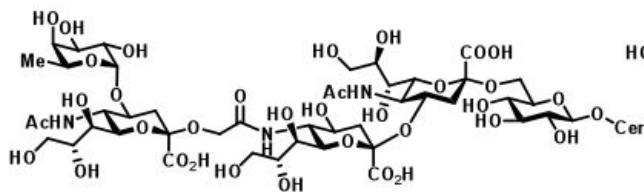
**Ganglioside Hp-s6**  
From sea urchin



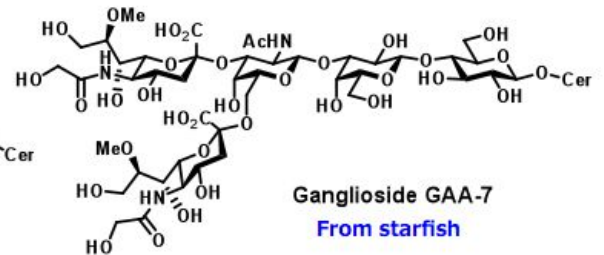
**Ganglioside HPG-1**  
From sea cucumber



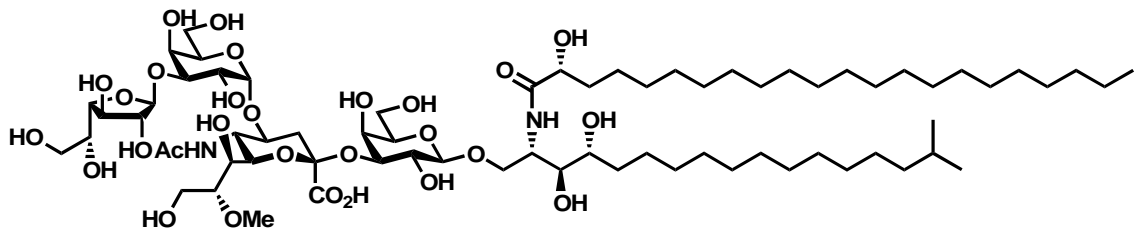
**Ganglioside LLG-3**  
From starfish



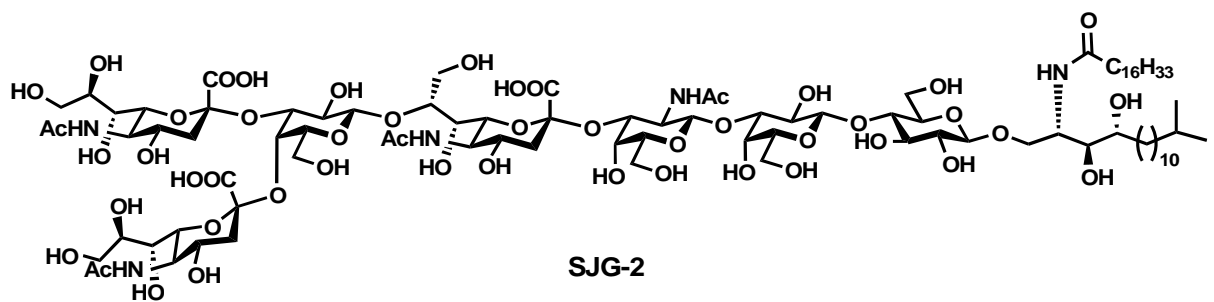
**Ganglioside HPG-7**  
From sea cucumber



**Ganglioside GAA-7**  
From starfish



**PNG-2A**



**SJG-2**

