

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月14日現在

機関番号：13701

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2011～2012

課題番号：23880011

研究課題名（和文）  $\alpha$ -ガラクトシルセラミドを基盤とした強力な新規免疫賦活分子の探索と創製研究課題名（英文） Design and Synthesis of Novel Immunostimulatory Molecules Based on  $\alpha$ -Galactosyl Ceramides

研究代表者

今村 彰宏 (IMAMURA AKIHIRO)

岐阜大学・応用生物科学部・助教

研究者番号：30610951

研究成果の概要（和文）：強力な免疫賦活能を有する $\alpha$ -ガラクトシルセラミドの類縁体を設計し、その分子骨格を独自の合成手法を用いて構築した。目的とした化合物に存在する特徴的な構造である $\alpha$ -ガラクトシドおよびガラクトサミニドの構築は、筆者らが開発した $\alpha$ 選択的ガラクトシル化反応により効率的に達成した。また、目的とする糖脂質一種の分子骨格合成も達成した。しかしながら、最終産物の各種溶媒に対する溶解性が極めて乏しく、分子の再設計を余儀なくされた。脂質部位の脂肪酸の鎖長を短くした分子を再設計し、現在全合成を試みている。

研究成果の概要（英文）：Novel immunostimulators based on  $\alpha$ -galactosyl ceramides were designed and synthesized by using a unique synthetic method developed by our group. Synthesis of  $\alpha$ -galactoside/galactosaminide as a key structure was efficiently accomplished by DTBS-directed  $\alpha$ -galactosylation developed by us. Fully protected framework of a target molecule was synthesized successfully. Unfortunately, however, poor soluble property of the target molecule produced after deprotection obliged us to redesign the structure of target molecules. We are currently trying to synthesize the redesigned molecule that is shortened the length of fatty acid in the ceramide moiety.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：生物生産化学・生物有機化学

キーワード：糖脂質

## 1. 研究開始当初の背景

(1)  $\alpha$ -ガラクトシルセラミド( $\alpha$ -GalCer)は、海綿から抽出された糖脂質であり、免疫系を構成するリンパ球の内、NKT細胞を特異的に活性化することが知られていた。NKT細胞の活性化は、ガンや感染症に対する免疫制御および自己免疫疾患の改善に寄与することが

予想され、実際に肺がん患者への臨床応用も行われてきた。

(2) NKT細胞による糖鎖リガンドの認識機構解明が求められていた為、有機化学的アプローチによる構造活性相関研究が世界中で進められていた。

(3)  $\alpha$ -GalCer は単純な構造ながら、構築が比較的困難な  $\alpha$ -ガラクトシル結合を持つことから類縁体の合成例が限られ、結果として研究分野の発展を停滞させていた。加えて、糖鎖リガンドの構造によって CD1d / NKT 細胞への結合親和性あるいは活性化ルートに差異が生じることが明らかとなり、分子機構解明への展開は困難な状況にあった。

## 2. 研究の目的

$\alpha$ -ガラクトシルセラミド(以下、 $\alpha$ -GalCer) は、沖縄に棲息する海綿から抽出された糖脂質であり、免疫系を構成するリンパ球の内、NKT 細胞を特異的に活性化することが知られている。 $\alpha$ -GalCer は、抗原提示細胞上の CD1d 分子と複合体を形成することにより NKT 細胞に認識され、活性化を促す。活性化された NKT 細胞は Th1 サイトカインである IFN- $\gamma$  を産出することで抗腫瘍活性や感染症に対する防御反応を担う。一方で NKT 細胞は、Th2 サイトカインである IL-10 も産出し、免疫応答を抑制する機能も果たしている。これらの知見から、NKT 細胞の活性化は、ガンや感染症に対する免疫制御および自己免疫疾患の改善に寄与することが予想され、実際に肺癌患者への臨床応用も行われている。NKT 細胞において重要且つ非常に興味深いのは、免疫応答を正にも負にも制御する点である。すなわち、その免疫応答を自在に制御することができれば、疾患治療における副作用を軽減し、より安全且つ機能的な治療薬の開発に繋がると考えられる。従って、本研究は NKT 細胞の活性化において重要且つ特異的な糖鎖リガンドである  $\alpha$ -GalCer を基盤骨格として、新規となるリガンド分子を設計・合成し、より強力な免疫賦活能を有する分子種を探索することを目的とする。また、一連の合成の達成は、CD1d および NKT 細胞によるリガンド認識機構解明に繋がるだけでなく、NKT 細胞が担う正負の細胞機能を人為的に制御可能になることも期待される。

## 3. 研究の方法

(1) NKT 細胞を活性化する為にはその糖鎖リガンドとの強い結合が必要であると考えられる為、これまでの研究で得られた認識機構の知見を基にして新規糖リガンド(化合物 **1**, **2**, **3**) を設計する。(Fig. 1)

(2) 各糖鎖骨格を独自の合成技術で合成し、最後に脂質部位を導入して新規糖リガンドの合成を達成する。脂質部位の導入には、代表研究者が独自に開発した「 $\alpha$ -選択的ガラクトシル化反応」を用いる。(Fig. 2)

(3) 合成した糖リガンドを生理活性試験に供し、CD1d / NKT 細胞との結合能および免

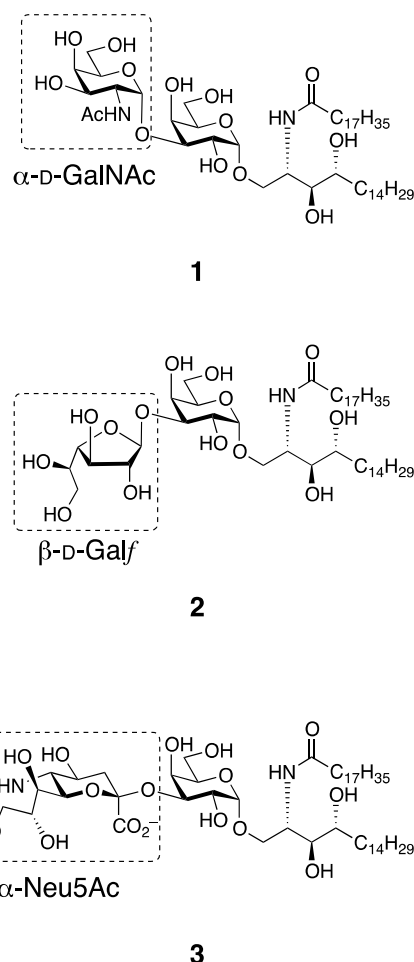


Fig.1. Structures of designed target compounds

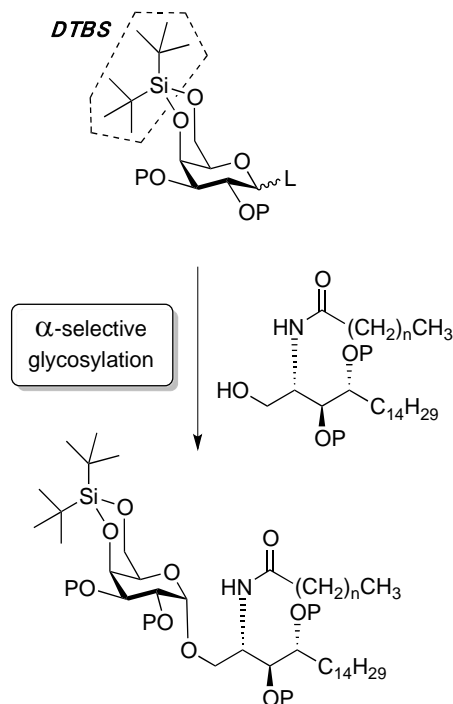
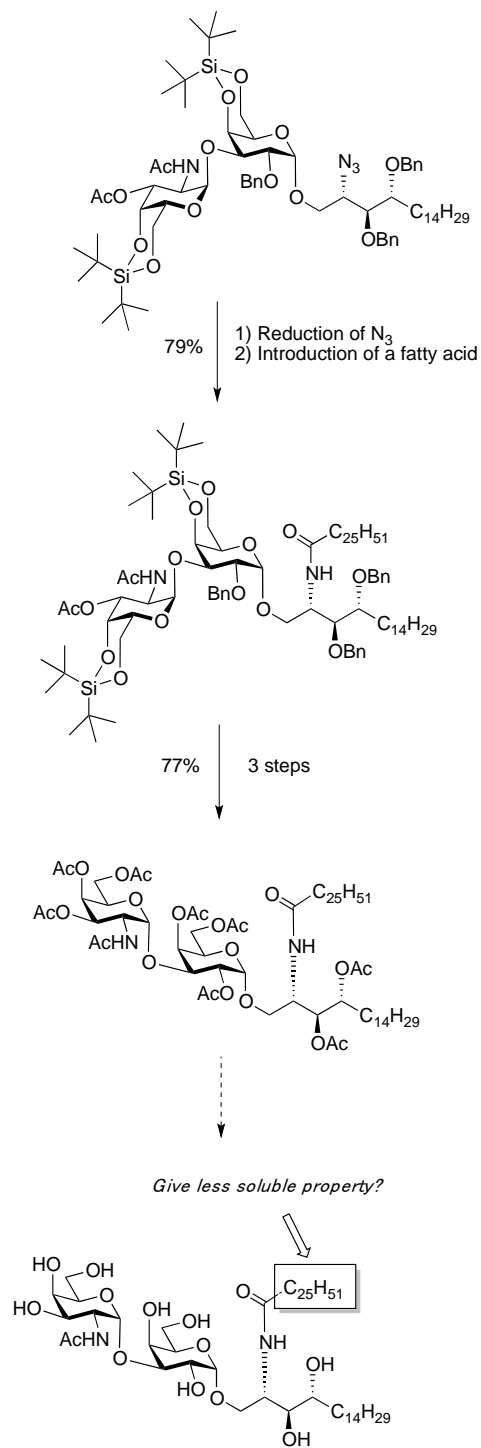
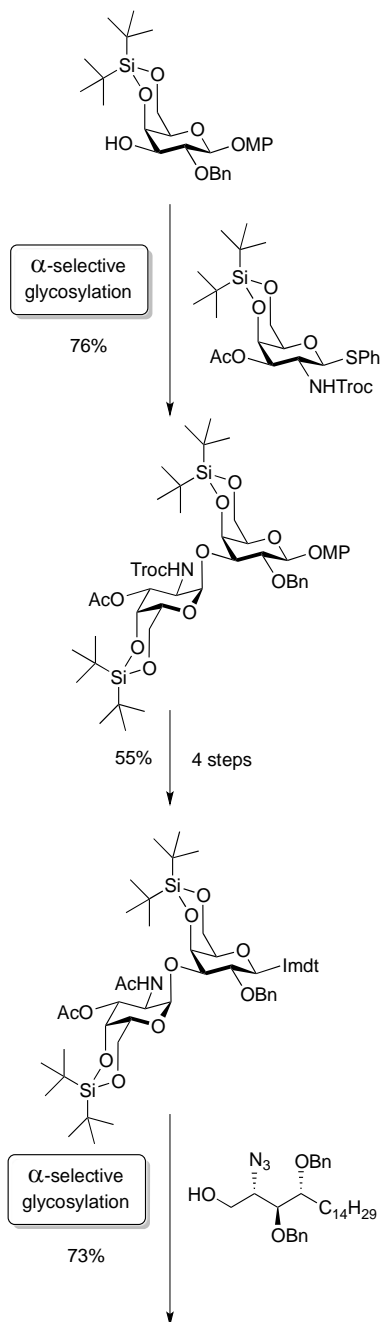


Fig. 2. DTBS-directed  $\alpha$ -galactosylation

疫賦活能の有無を調査し、新規生理活性についても調べる。

#### 4. 研究成果

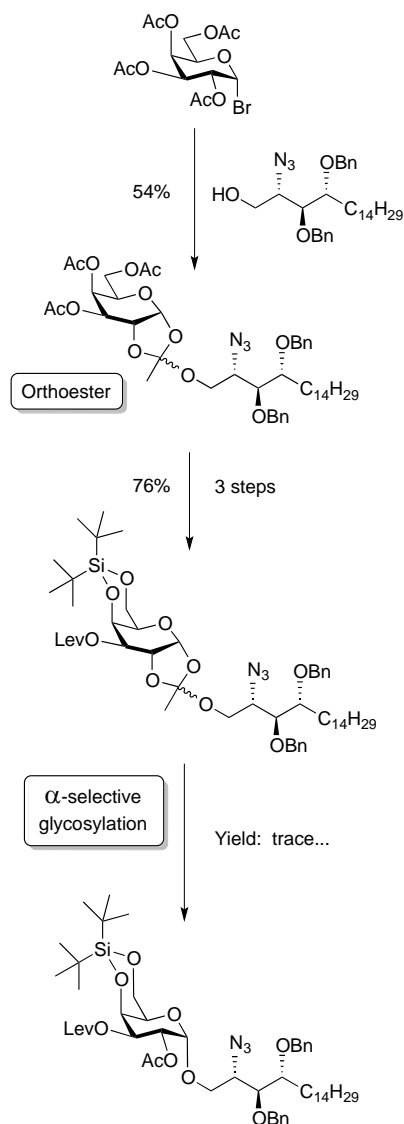
(1) 糖修飾型新規  $\alpha$ -GalCer を設計し、有機化学的手法を用いて全合成を試みた。目的化合物の一つであるガラクトサミン修飾型  $\alpha$ -GalCer (化合物 **1**, Fig. 1) を、糖鎖部分、脂質部分に分けた合成戦略により合成を達成した。ただ、脱保護後のサンプルが各種溶媒に対して極めて溶解性に乏しく純粋な標品として単離する事が出来なかった。しかしながら、脂質部位に存在する脂肪酸鎖長が溶解性に多大な影響を与えるという重要な知見を得ることができた。(Scheme 1)



**Scheme 1.** Synthesis of the target compound **1**

(2) 糖脂質合成全般に利用可能な手法の開発を目指し、オルソエステルを介したグリコシル化反応を検討した。(Scheme 2) 結果として、ガラクトースとスフィンゴシン (セラミドの合成前駆体) を用いた検討では、高収率にて糖脂質の合成に成功した。しかしながら、 $\alpha$  選択的ガラクトシル化への適用では芳しい結果を得られなかった。ここで問題とな

ったのは、オルソエステルの酸性条件下での不安定さであり、この点を改善することが出来れば糖脂質合成の汎用的手法の開発に繋がると考えられる。オルソエステル法では糖と脂質の反応点が近接するため反応効率の向上が期待でき、今後は2位アシル基の置換基の種類を検討する事で収率の改善を目指す。



**Scheme 2.** α-Selective glycosylation with cleavage of the orthoester

(3) 糖脂質合成において最も重要且つ困難な反応は、糖鎖に脂質を導入する反応であり、これまでに様々な研究がなされてきた。しかしながら、全ての糖脂質に適用が可能な信頼性の高い方法論は未だに開発されておらず、本研究課題では汎用性の高い糖脂質合成法の開発も視野に入れ研究を行った。結果として、オルソエステルを経由した脂質導入法の学術的知見を得る事に成功した。現段階ではオルソエステル存在下での保護基の変換工

程において問題を残すが、クリアすべき課題は明白であり、今後の研究発展は十分に見込めると考えられる。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

今村 彰宏 (IMAMURA AKIHIRO)

岐阜大学・応用生物科学部・助教

研究者番号：30610951

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：