

氏 名	こ いずみ ふみ と 小 泉 文 人
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	論 農 博 第 2574 号
学位授与の日付	平 成 17 年 7 月 25 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	Studies on the Novel Inhibitors of Interleukin-1 β Converting Enzyme from Microbial Sources (微生物が生産する新規インターロイキン 1 β 変換酵素阻害剤の研究) (主 査)
論文調査委員	教 授 大 東 肇 教 授 吉 川 正 明 教 授 村 田 幸 作

論 文 内 容 の 要 旨

炎症性サイトカインの一種であるインターロイキン-1 β (IL-1 β) は、慢性関節リウマチや敗血症などの各種炎症性疾患において中心的な役割を果たしていると考えられている。慢性関節リウマチ患者の関節液中において IL-1 β 濃度が有意に上昇していること、および関節炎の動物モデルにおいて IL-1 β の中和抗体が顕著な効果を示すことは本仮説を強く支持している。IL-1 β 変換酵素 [IL-1 β converting enzyme (ICE)] は、前駆体 IL-1 β を生理的に活性化成熟型 IL-1 β に変換するシステインプロテアーゼである。ICE のノックアウトマウスがエンドトキシンショックに耐性を示すこと、およびペプチド性の ICE 阻害剤が関節炎の動物モデルにおいて有効であることから、ICE 阻害剤は抗炎症薬として期待されている。これまでに多数のペプチド性の ICE 阻害剤が報告されてきたが、いずれも経口吸収性と血中安定性が悪いことが問題になっており、非ペプチド性の ICE 阻害剤の開発が望まれている。本論文では、大腸菌で発現させたヒト型リコンビナント ICE に対する阻害活性を指標として、放線菌および糸状菌の二次代謝産物を対象にスクリーニングを行ない、新規 ICE 阻害物質 4 種を単離・構造決定し、またそれらの作用について論じたものである。その主な内容は、以下の通りである。

第 1 章では、前駆体 IL-1 β の ICE によるプロセッシングと成熟型 IL-1 β の分泌機構、およびこれまでに見いだされた ICE 阻害剤について概説し、本研究の目的および意義について述べている。

第 2 章では、ヒト型リコンビナント ICE を用いた阻害活性検定系を確立し、微生物二次代謝産物をスクリーニングした結果について述べている。約 10,000 種類の糸状菌ならびに放線菌の培養液から、糸状菌 *Farrowia* 属 E-1941 株の生産する EI-1941-1 および EI-1941-2、糸状菌 *Penicillium* 属 E-2128 株の生産する EI-2128-1、および放線菌 *Streptomyces* 属 E-2346 株の生産する EI-2346 の 4 種の化合物を新規 ICE 阻害物質として単離・構造決定した。EI-1941-2 については、プロモベンゾイル化を行い、X 線結晶構造解析から絶対立体配置をも決定した。さらに、EI-1941-1 についてもプロモベンゾイル化を行い、酸化反応により EI-1941-2 のプロモベンゾイル体に導くことによりその絶対立体構造を確認した。一方、EI-2128-1 および EI-2346 については、一次元および二次元 NMR 解析から相対立体構造を決定した。

第 3 章では、今回単離した 4 種の化合物の ICE 阻害活性ならびに IL-1 β 分泌抑制活性について述べている。EI-1941-1、EI-1941-2、EI-2128-1、および EI-2346 は、ICE の酵素活性を、それぞれ 50% 阻害濃度、0.086、0.006、0.59、および 3.9 μ M で阻害した。一方、ICE と同じシステインプロテアーゼである cathepsin B あるいはセリンプロテアーゼである elastase に対して、これらの化合物はいずれも阻害活性を示さず、ICE に対して選択性を有することが明らかになった。さらにこれらの化合物は、ヒト単核球系細胞である THP-1 細胞において LPS で誘導される IL-1 β の分泌を、それぞれ 50% 阻害濃度、5.0、10.3、0.28、および 5.2 μ M で抑制した。これらの化合物は細胞毒性を示さない濃度範囲で IL-1 β の分泌を抑制したことから、IL-1 β 分泌抑制活性は ICE 阻害活性に基づくものであると考えられた。

最後に本研究によって解明された点および結果がまとめられている。

論文審査の結果の要旨

Interleukin-1 β converting enzyme (ICE) は, interleukin-1 β (IL-1 β) を成熟型にプロセッシングするシステインプロテアーゼである。IL-1 β 濃度の上昇が慢性関節リウマチなどの各種炎症性疾患の悪性度と相関していることから, ICE 阻害剤は, これら炎症性疾患の治療薬として有望と考えられる。これまで ICE の基質アナログが阻害剤として知られていたが, いずれもペプチドなので経口吸収性と血中安定性に問題があり, 経口治療薬への応用が困難であった。本論文では, 非ペプチド性の低分子阻害剤を広く微生物に求め, 糸状菌および放線菌より新規 ICE 阻害剤 4 種を単離・構造決定し, その作用性について検討した結果をとりまとめたものである。本論文の評価すべき主要な点は, 以下の通りである。

1. 単離した 4 種の化合物 EI-1941-1, EI-1941-2, EI-2128-1, および EI-2346 はいずれも非ペプチド性の新規化合物である。特に, EI-1941-1 および EI-1941-2 は, エポキシシクロヘキセノン骨格を有する極めてユニークな構造を有していることから, 国内外の研究者の興味を惹き, いくつかのグループが全合成に着手している。
2. EI-1941-2 の誘導体を用いた X 線結晶構造解析により, EI-1941-2 の絶対立体構造を決定した。また, EI-1941-1 の誘導体を EI-1941-2 に化学的に誘導することにより, EI-1941-1 の絶対立体構造をも確認している。これらの成果は, 天然物有機化学の見地から高く評価できる。
3. EI-1941-1, EI-1941-2, EI-2128-1, および EI-2346 は, ICE 以外のシステインプロテアーゼである cathepsin B あるいはセリンプロテアーゼである elastase には阻害作用を示さなかった。さらに THP-1 細胞において, 細胞障害活性を示さない濃度域において顕著な IL-1 β 分泌抑制活性を示した。以上の結果は, これらの化合物が培養細胞レベルにおいて有効な ICE 選択的な阻害剤であることを示している。
4. 4 種の新規 ICE 阻害剤の中で最も強い IL-1 β 分泌抑制活性を示した EI-2128-1 は, 関節炎の動物モデルでの効果が期待できる化合物である。本化合物は, 慢性関節リウマチなどの各種炎症性疾患治療薬の新しいタイプのリード化合物になりうるものである。

以上のように本論文は, 非ペプチド性の新規 ICE 阻害剤を単離・構造決定し, それらの ICE 活性に対する阻害特性を各種 *in vitro* のアッセイ系において明らかにしたものであり, 天然物化学, 酵素化学さらには臨床医学分野に貢献するところが大きい。

よって, 本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお, 平成17年5月12日, 論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果, 博士(農学)の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。