

京都大学	博士（薬科学）	氏名	松岡 巧朗
論文題目	MAIT細胞の機能制御リガンド創出のための有機化学的基礎研究		

（論文内容の要旨）

近年、自然免疫と獲得免疫の中間の性質を有する「自然免疫様 T 細胞」が免疫系を構成する重要な細胞集団として認識されるようになった。その中でも、Mucosal-associated invariant T (MAIT) 細胞は、ヒトに豊富に存在するとともに、免疫系賦活化作用を持つことから、魅力的な創薬ターゲットとなる可能性を秘めている。一方で、そのリガンド応答や機能に関しては、多くのことが未解明である。そこで著者は、MAIT 細胞の創薬利用を見据えた機能制御リガンドの探索・構造活性相関研究（第一章）、及び創薬利用・機能解明に資する基盤的研究（第二章）を実施した。

### 第一章：MAIT 細胞の機能を制御するリガンドの創製研究

#### 【第一節：微生物代謝物由来 5-OP-RU の構造活性相関研究】

MAIT 細胞は、抗原提示細胞上の MHC class-I related protein 1 (MR1) に提示された抗原 (MR1 リガンド) を認識し、活性化する細胞である。これまでにいくつかの低分子化合物が MR1 リガンドとして報告されているが、その中でも微生物代謝物に由来する 5-(2-oxopropylideneamino)-6-D-ribitylaminouracil (5-OP-RU) は強力な MAIT 細胞活性化作用を有することが知られている。一方で、本研究の開始当初において、5-OP-RU に関して構造活性相関研究が実施された例はほとんどなく、MAIT 細胞の活性化に重要な相互作用は明らかにされていなかった。そこで、著者は、5-OP-RU の構造をベースとした創薬展開を見据え、5-OP-RU の構造活性相関研究を実施した。4つのヒドロキシ基から成るリビチル基の全立体異性体、及び求電子部位であるイミノカルボニル構造の誘導体の活性評価を行った結果、MAIT 細胞を活性化する上で重要な相互作用を明らかにした (Figure 1)。

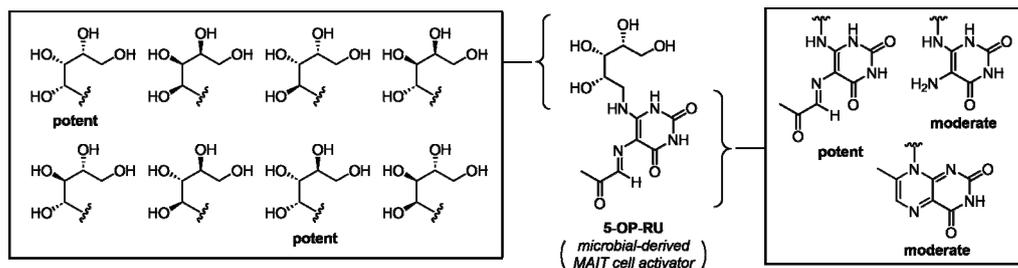


Figure 1. Structure-activity relationship study of 5-OP-RU.

#### 【第二節：MR1 の細胞表面発現量を指標とするリガンドスクリーニング法の開発と MAIT 細胞制御分子の同定】

MR1 リガンドは、その構造多様性から、未同定のものが多数存在すると考えられているが、それらを効率的に探索する方法論は確立されていなかった。著者は、MR1 がリガンドと複合体を形成すると小胞体から細胞表面に移動する性質に着目し、MR1 の細胞表面発現量を指標とするリガンドスクリーニング法を構築した。構築した評価系を用いて、所

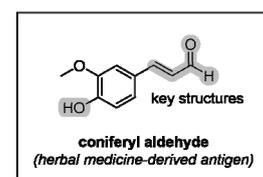


Figure 2. Identification of coniferyl aldehyde as an MR1 ligand.

属研究室の化合物ライブラリーをスクリーニングした結果、生薬や食用植物に含まれる coniferyl aldehyde を MR1 リガンドとして見出した。さらに、coniferyl aldehyde の構造活性相関研究、及び結合モードの解析により、MR1 から抗原提示を受ける上で重要な相互作用を同定した (Figure 2)。

## 第二章：MAIT 細胞の創薬利用・機能解明を見据えた基盤的研究

### 【第一節：可視光レドックス触媒を利用した糖誘導体からの alditol 構造の構築】

5-OP-RU に代表される生物活性天然物には、極性官能基が連続的に配置された直鎖構造がしばしば観測される。これらの構造は、受容体との相互作用において重要な役割を担っていることが多いが、立体異性体を含む構造類縁体を網羅的に構築するのは困難である。著者は、グルコース由来の保護 hexose 誘導体を用いて、簡便に alditol 構造を構築する可視光レドックス触媒反応を開発した。さらに、合成した alditol から、天然のアミノ酸である (+)-polyoxamic acid に誘導できることを示した (Figure 3)。

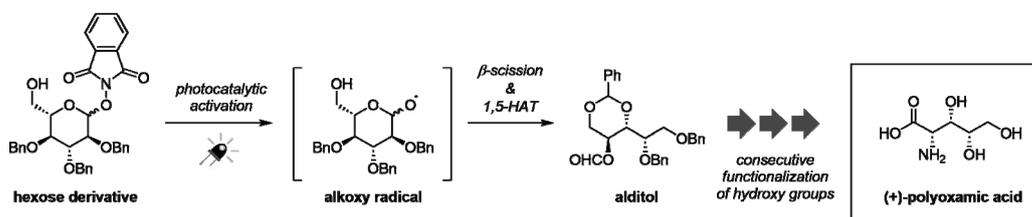


Figure 3. Construction of an alditol structure via photocatalytic activation of hexose derivative.

### 【第二節：細胞環境下での近接依存的カルボン酸ラベル化を指向した可視光応答性光触媒反応の開発】

MAIT 細胞関連細胞 (MR1T 細胞) として、通常の MAIT 細胞と T 細胞受容体の構造が異なるものの、MR1 によって提示された抗原を認識し活性化するものが知られている。これらの細胞集団

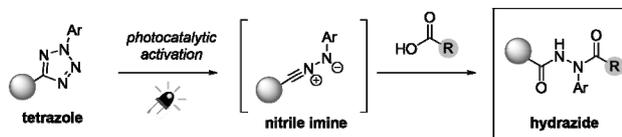


Figure 4. Photocatalytic nitrile imine formation from tetrazoles.

は様々な機能を有するため、その創薬利用に向けた解析に注目が集まっている。しかし、既存の MR1T 細胞検出法は、網羅性・迅速性の点で課題が残っている。本研究では、近接依存的タグ化を利用した細胞表面標識による新たな MR1T 細胞検出ツールを確立することを見据え、可視光応答性光触媒反応の開発に取り組んだ。特に水系溶媒中で生体分子に含まれるカルボン酸を光触媒依存的に修飾する手法を検討した。その結果、ある種の tetrazole が光触媒依存的に nitrile imine へ変換され、種々カルボン酸と反応して hydrazide を形成することを見出した (Figure 4)。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

本博士論文は、MAIT 細胞の機能制御リガンド創出のための有機化学的基礎研究として、既知のリガンドである 5-OP-RU の構造活性相関研究、MR1 の細胞表面発現量を指標とするリガンドスクリーニング法の開発、および MAIT 細胞を制御する分子の同定を指向した可視光レドックス反応の開発について述べている。

第一章では、MAIT 細胞の機能を制御するリガンドの創製研究について記述している。第一節においては、強力な MAIT 細胞活性化能を有する微生物代謝物由来の 5-OP-RU の構造を基盤として、4 つのヒドロキシ基からなるリビチル基の全立体異性体と、共有結合部位を欠損した誘導体等を合成し、MAIT 細胞を活性化する上で重要な相互作用を明らかにした。引き続き第二節においては、MR1 の細胞表面発現量を指標とするリガンドスクリーニング法の開発に着手した。MR1 は、リガンド非結合時は分子シャペロンによって安定化された状態で小胞体に局在している一方で、リガンドと複合体を形成すると、小胞体から細胞表面に移動することが知られている。この性質を利用して、著者はスプリットルシフェラーゼを活用した新たなスクリーニング系をデザインし、細胞表面の MR1 発現レベルを発光強度として検出できる MR1 リガンドのスクリーニング法を開発した。本法を用いて、研究室が所有する化合物ライブラリーのスクリーニングを行った結果、生薬や食用植物に含まれる *coniferyl aldehyde* を MR1 リガンドとして見出した。さらに、本化合物の構造活性相関研究を実施し、MR1 から抗原提示を受ける上で重要な相互作用を同定した。

第二章においては、抗原-MR1 複合体と相互作用する細胞上のカルボン酸をラベル化することを指向して、短寿命活性種であるニトリルイミンを利用する可視光レドックス反応の開発を行った。検討の結果、アリールテトラゾールから生じるニトリルイミンが種々のカルボン酸と反応し、対応するヒドラジドを効率よく生成する反応条件を見出すとともに、本反応がタンパク質の標識にも応用可能であることを示した。

以上の研究成果は、今後の MAIT 細胞制御分子開発におけるリガンドの同定や構造展開を含む創薬研究に大きく貢献するものであるため、本論文を博士(薬科学)の学位論文として価値あるものと認める。また、令和 6 年 2 月 16 日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

要旨公表可能日：2024年6月24日以降