

氏 名	き 城 うち まさ とし 内 正 壽
学位(専攻分野)	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	論 薬 博 第 645 号
学位授与の日付	平 成 13 年 5 月 23 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	冬虫夏草類縁菌の産生する免疫抑制物質の構造ならびに創薬への応用に関する研究

論文調査委員 (主 査) 教授 富 岡 清 教授 富 士 薫 教授 川 寄 敏 祐

論 文 内 容 の 要 旨

第1章 緒言および第2章 従来の研究概要

免疫抑制薬は、臓器移植における拒絶反応の抑制および自己免疫疾患の治療に重要な医薬品である。*Mycelia sterilia* 菌が産生する myriocin (1) およびその類縁体 mycestericin は、臨床で汎用されているシクロスポリンやタクロリムスとは異なる作用機序を有する免疫抑制化合物である。Mycestericin 類はこれまで A ~ E の5種が単離されていたが、D (2) および E (3) の絶対配置は未決定であった。著者は新たに2種の類縁体 mycesteicin F (4) および G (5) を単離し、これらと2および3の絶対配置を含めた構造を決定し、免疫抑制活性に関する構造活性相関を明らかにした。Myriocin (1) の構造を簡略化して得られた 2-alkyl-2-aminopropane-1, 3-diol 類にも強い免疫抑制活性があることが報告され、その中から現在臨床治験中の FTY720 (6) が得られている。しかしその極性部分である 2-aminopropane-1, 3-diol の妥当性についてはほとんど検討されていなかった。著者は6が有する2つのプロキラルなヒドロキシメチル基のうち1つを他の置換基へと変換した化合物を合成し、その免疫抑制活性を評価することによって、その妥当性を検討した。

第3章 *Mycelia sterilia* 菌由来の免疫抑制成分 mycesteicin 類

菌糸型不完全菌類の一種である *Mycelia sterilia* 菌 (ATCC20349) の培養液分離画分から、リサイクル HPLC により新規物質 mycesteicinF (4) および G (5) を単離し、その平面構造を決定した。その結果4と5はそれぞれ2と3の6,7-ジヒドロ体であり、同一の平面構造を有するジアステレオマーであった。

Mycestericin D ~ G (2 ~ 5) はそれぞれ2つの不斉炭素を有することから4つの立体配置が考えられる。そこで2 ~ 5の絶対配置を決定するため、2 ~ 5の疎水性側鎖を単純なアルキル基に置き換えた4つの立体異性体を合成した。出発原料には光学活性なセリンを用いた。2位の立体配置は立体選択的なアシル化を行うことによって、また3位の立体配置は改良 Mosher 法によって決定した。合成した4つの立体異性体と2 ~ 5の tribenzoylmethylester の CD スペクトルを比較することによって、2 ~ 5の絶対配置を決定した。さらに改良 Mosher 法を用いることにより、mycestericinE (3) の3位立体配置を確認した。Myriocin (1) および2 ~ 5の免疫抑制活性をマウス同種リンパ球混合培養反応 (MLR) により評価した。その結果、1の4位水酸基は活性発現に不要であること、3位の立体配置は活性に影響を与えないこと、および6位の二重結合は活性を一桁上昇させることが明らかとなった。

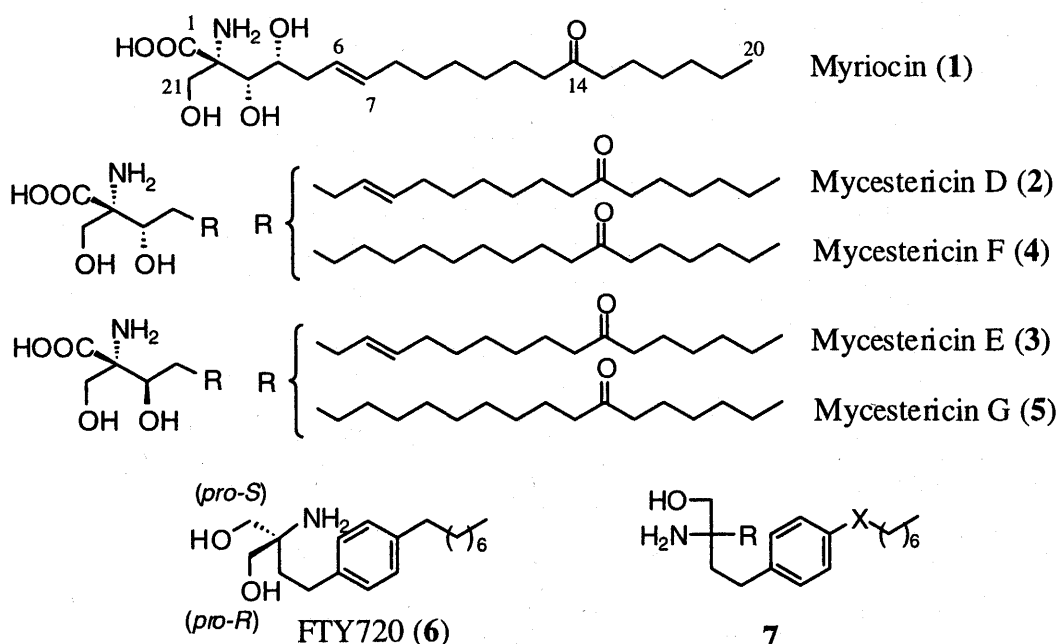
第4章 2,2-二置換 2-aminoethanol 類の合成, 第5章 2,2-二置換 2-aminoethanol 類の免疫抑制活性および第6章 光学活性2,2-二置換 2-aminoethanol 類の調製と免疫抑制活性

Myriocin (1) と2-置換 2-aminopropan-1, 3-diol 化合物である FTY720 (6) は MLR において同程度の活性を示すが、*in vivo* 皮膚移植試験においては6の方が著しく強力な皮膚の生着延長作用を示すことが報告されていた。著者はこの現象が作用機序の変化によって起こったのではないかと推測し、1と2-amino-propane-1, 3-diol 化合物の MLR 抑制活性、serine-palmitoyltransferase 阻害活性、末梢血 T 細胞減少作用および皮膚移植における免疫抑制活性を比較した。その結果、myriocin (1) の免疫抑制活性が serine-palmitoyltransferase 阻害に由来しているのに対し、2-aminopropane-1, 3-diol 化

化合物の作用機序は末梢血の T 細胞減少であることが明らかとなった。Myriocin (1) と異なり FTY720 (6) に代表される 2-置換 2-aminopropan-1, 3-diol 化合物には不斉点がない。しかし著者はキラルな生体分子との相互作用において、2つのプロキラルなヒドロキシメチル基が異なる役割を持つのではないかと考えた。この仮説の検証と 6 よりも優れた化合物の探索を行うため、6 のプロキラルなヒドロキシメチル基のうち 1 つを種々の置換基へと変換した化合物 (2, 2-二置換 2-aminoethanol 化合物, 7) を合成し、その免疫抑制活性を評価した。さらに光学異性と活性との関係を調べるため、光学活性体の調製も行った。その結果、FTY720(6) の (*pro-S*)-ヒドロキシメチル基は活性発現に必須であることが明らかとなった。一方 (*pro-R*)-ヒドロキシメチル基は低級アルキル基 (メチル基, エチル基) およびヒドロキシアルキル基 (ヒドロキシエチル基, ヒドロキシプロピル基) による置換が可能であった。

第 7 章 作用機序に関する考察および第 8 章 要約

本研究において myriocin (1) および FTY720 (6) 周辺化合物の構造活性相関を明らかにした。また 2-置換 2-aminopropan-1, 3-diol 化合物は 1 を簡略化することによって得られたものであるが、両者の作用機序が異なることを見出した。本研究で合成した 2, 2-二置換 2-aminoethanol 化合物は、今後臨床での応用が期待されるとともに、免疫機構解明の効果的な試薬になり得ると考えられる。



論文審査の結果の要旨

免疫抑制薬は臓器移植における拒絶反応の抑制および自己免疫疾患の治療に重要な医薬品である。「冬虫夏草類縁菌の産生する免疫抑制物質の構造ならびに創薬への応用に関する研究」と題する本論文は、新たな免疫抑制作用機作を持つアミノアルコール類を開発した経緯がまとめられたものである。

myriocin およびその類縁体 mycestericin は、臨床で汎用されているシクロスポリンやタクロリムスとは異なる作用機序を有する免疫抑制化合物である。mycestericin 類はこれまで 5 種が単離されていたが、2 種の絶対配置は未決定であった。著者は新たに 2 種の類縁体を単離し、これらすべての絶対配置を含めた構造を決定し、免疫抑制活性に関する構造活性相関を明らかにした。myriocin の構造を簡略化して得られた 2-alkyl-2-aminopropan-1, 3-diol 類にも強い免疫抑制活性があることが報告され、その中から現在臨床治験中の FTY720 が得られているものの、そのファーマコフォアである aminodiol 部位の妥当性についてはほとんど検討されていなかった。著者は 2 個のプロキラルなヒドロキシメチル基のうちの 1 個を他の置換基へと変換した化合物を合成し、その免疫抑制活性を評価することによってその妥当性を検討し活性発現に重要な基本構造を明らかにした。

第 3 章では構造決定と構造活性相関が纏められている。即ち、*Mycelia sterilia* 菌 (ATCC20349) の培養液分離画分から

2 種の新規物質を単離し、二重結合部位が還元されており、また同一の平面構造を有するジアステレオマーであることを明らかにした。絶対配置を決定するために、疎水性側鎖を単純なアルキル基に置き換えた 4 個の立体異性体を光学活性なセリンを出発原料に用いて合成した。また、2 位の立体配置は立体選択的なアシル化を行うことによって、また 3 位の立体配置は改良 Mosher 法によって決定した。合成した 4 個の立体異性体と天然物の CD スペクトルを比較してそれらの絶対配置を決定した。さらに改良 Mosher 法を用いることにより 3 位の立体配置を確認した。

myriocin 類の免疫抑制活性をマウス同種リンパ球混合培養反応 (MLR) によって評価し、4 位水酸基は活性発現に不要であること、3 位の立体配置は活性に影響を与えないこと、および 6 位の二重結合の存在は活性を一桁上昇させることを明らかにした。

第 4 章では aminopropandiol 類の合成が纏められている。また第 5 章および第 6 章では新たな作用機序の発見の経緯が記されている。即ち、myriocin と臨床開発中の 2-置換-2-aminopropandiol 化合物である FTY720 が MLR においては同程度の活性を示すのに対し、皮膚移植試験においては FTY720 が著しく強力な生着延長作用を示す。著者は作用機序の変化によるものと推測し、種々のアミノアルコールの合成および MLR 抑制活性、serine-palmitoyltransferase 阻害活性、末梢血 T 細胞減少作用および皮膚移植における免疫抑制活性を比較した。その結果、天然物である myriocin の免疫抑制活性が偏に serine-palmitoyltransferase 阻害に由来しているのに対し、2-aminopropan-1,3-diol 化合物の作用機序は末梢血の T 細胞減少であることを明らかとした。

さらに構造活性相関についてより深く検討を進めた。即ち、myriocin と異なり FTY720 に代表される 2-置換-2-aminopropandiol 化合物には不斉点がない。著者はこの点に着目し、生体分子との相互作用において 2 つのプロキラルなヒドロキシメチル基はそれぞれ異なる役割を果たしているとの作業仮説を立てた。2 つのプロキラルなヒドロキシメチル基のうち的一方を種々の置換基へと変換した光学活性な 2,2-二置換 2-aminoethanol 化合物を合成しその免疫抑制活性を評価した。その結果、*pro-S* のヒドロキシメチル基が活性発現に必須であることが明らかとなった。一方、*pro-R* のヒドロキシメチル基を低級アルキル基およびヒドロキシアルキル基に置換しても活性を維持することが分かった。

以上本研究は、免疫抑制活性を示す天然物の構造の決定から出発し、活性発現に必須の基本構造の位置付け、新たな作用機序の提出、さらに構造活性相関を明確にした。

よって本研究は、創薬科学、免疫科学に重要で新規な知見を提供するものであり、本論文は博士 (薬学) の論文として価値あるものと認める。

さらに、平成13年 4 月16日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。