

構造が複雑なシアル酸含有糖鎖および糖脂質の合成化学的研究

岐阜大学応用生物科学部および京都大学物質-細胞統合システム拠点 准教授 安藤 弘 宗

はじめに

自然は、精緻な技により多様で膨大な分子を産み、それらを絶妙に配剤し、生命の綾を永々と織り続けている。生命現象を分子単位に還元し、分子の構造および化学的、物理的な性質と分子間の関連性から個々の現象を読み解くうえで、生体分子の精密な再構築（精密合成）と機能性プローブの創製は極めて重要な役割を担っている。われわれが研究対象としている「糖鎖」およびそのタンパク質、脂質複合体である「複合糖質」は、主に糖鎖-タンパク質相互作用を介して細胞表面での分子認識、細胞認識に深く関わっており、細胞と外界の境界線で起こるさまざまな現象の理解に不可欠な生体分子である。糖鎖はポリオール化合物である単糖を構造単位とするため、単糖の各水酸基が結合の起点となり、核酸やタンパク質には見られない多様な分岐構造を形成する。この糖鎖特有の構造多様性こそが分子レベルでの糖鎖研究を困難にしている主因であり、糖鎖合成化学が重要なゆえんと言える。糖鎖合成の本質はよく「グリコシル化と保護基の化学」と単純明快にまとめられるが、これらの化学は密接かつ複雑に関連しており、合成ユニットの保護基の兼ね合い（orthogonality）を考慮するだけでは、複雑な糖鎖を合成することはほぼ不可能に近い。われわれは、シアル酸を含む糖脂質の一群であるガングリオシドの生物学的意義の解明に向けて、多様かつ複雑な構造を有するシアル酸含有糖鎖およびガングリオシドの強力な合成法の攻究に傾倒してきた。本稿では、その成果を紹介させていただく。

1. 複雑なシアル酸含有糖鎖を構築するための有用な合成反応の開発

生体で機能発揮する糖鎖に含まれるシアル酸は、部分的な構造修飾を受けた50以上の類縁体をもつ分子多様性に富む酸性九炭糖である。シアル酸の類縁体は動物種、組織臓器間で厳密に使い分けられており、このシアル酸の多様性に対応した合成法の開発は、糖鎖機能の分子レベルの理解のために欠くことができない。しかし、これまでの手法は一種類のシアル酸（N-アセチルシアル酸）を対象としたものであり、シアル酸多様性

への対応が困難であるうえ、グリコシド化反応の効率において改善の余地があった。われわれは、C5位アミノ基に2,2,2-trichloroethoxycarbonyl (Troc) 基を導入したシアル酸供与体が優れた反応性を示すことを発見した。これにより、従来法でのグリコシド化反応の効率改善に成功した。さらに、Troc基の選択的脱保護とその後に伴随する位置選択的O→Nアセチル転位反応を利用した6種のシアル酸主要分子種への変換経路を確立した。

シアル酸の類縁体は他のシアル酸とグリコシド結合して多量体を形成し、さらに構造が多様化することが知られている。しかし、C5位アミド基との水素結合の影響により、シアル酸の水酸基の反応性は低下しているため、グリコシド化反応による二量体の合成は困難を伴っていた。われわれは、ラクタム化でシアル酸を舟形配座に固定し、水酸基とアミド基との水素結合を解消することにより、水酸基の反応性を向上させることに成功し、合成が困難であったシアル酸二量体の効率的合成法を確立した（図1）。また、シアル酸ラクタム化が天然型の α グリコシドに対して特異的に進行することを利用して、クロマトグラフィーでは分離困難な立体異性体混合物から α グリコシドのみを簡便に分離する手法も開発した。この手法を応用して、シアル酸四量体の構築にも成功した。

2. 神経突起伸展活性を有する棘皮動物由来シアル糖鎖合成およびガングリオシドの全合成

棘皮動物（ヒトデ、ナマコなど）より発見されたガングリオシドには、強力な神経突起伸展活性があることが知られており、近年、神経機能回復薬のリードとして注目されている。それらの糖脂質は哺乳類には見られない複雑なシアル酸二量体、三量体を含む糖鎖を有していることが特徴であるが、合成標品を用いた構造活性相関研究は未着手の状態である。そこで、われわれは、上述のシアル酸含有糖鎖合成法を基盤として、3種の新規糖鎖（Hp-s6, HPG-1, HPG-7）の合成、2種のガングリオシド（HLG-2, LLG-3）の全合成を世界で初めて達成した（図2）。さらに、合成した糖鎖を用いて、PC12細胞に対する神経

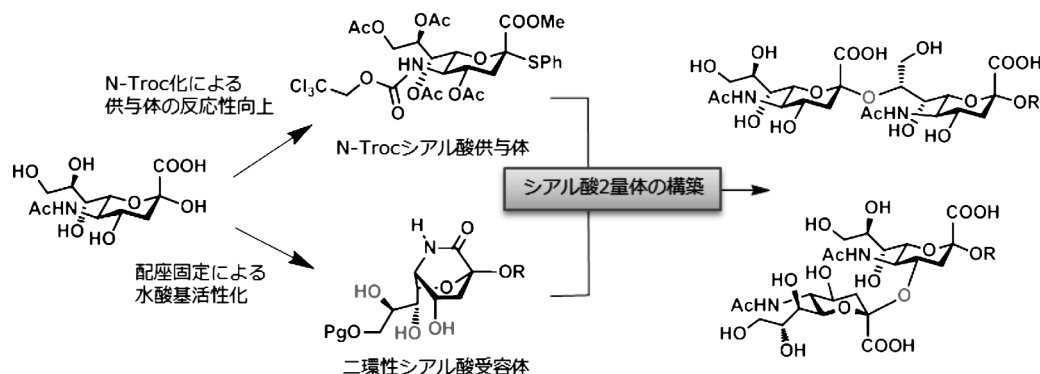


図1 高反応性シアル酸ユニットによるシアル酸二量体合成の概要

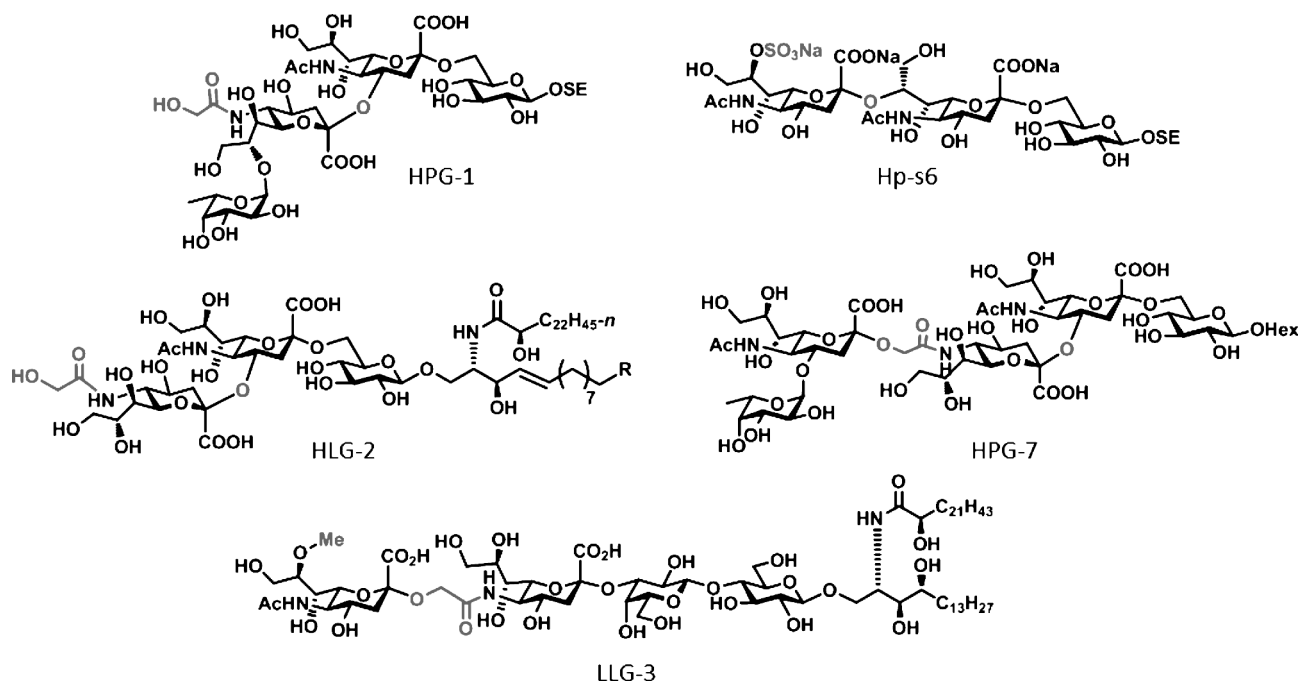


図2 本研究で合成した棘皮動物由来ガングリオシド

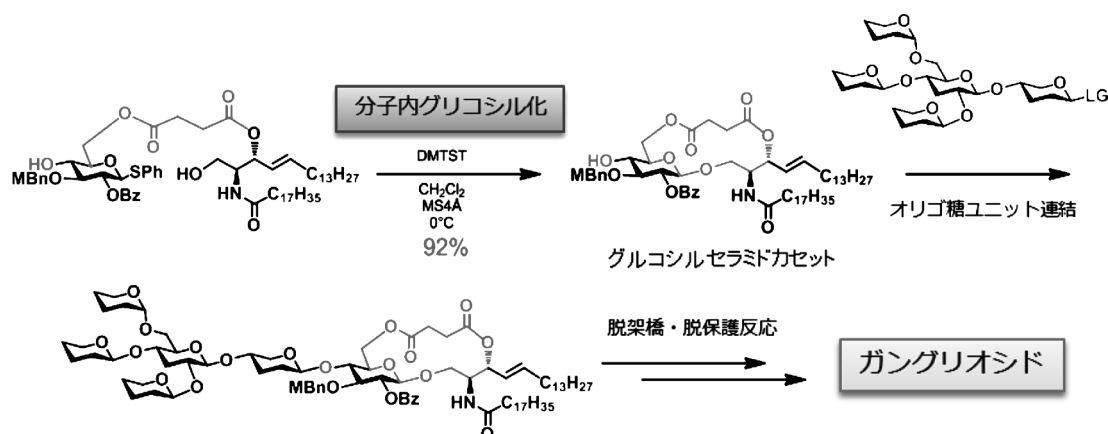


図3 Glc-Cer カセット法によるガングリオシド合成の概要

突起伸展活性を初めて確認した。

3. 哺乳動物の神経系に発現するガングリオシドの合成法の確立

哺乳動物の神経系に特異的に発現しているガングリオシドは微量成分でありながら、神経回路網形成、記憶形成保持、中枢神経疾患、自己免疫神経疾患に関わる糖脂質成分として注目されている。また、細胞膜マイクロドメインである脂質ラフトの構成分子として、シグナル伝達の制御に関与しており、脂質ラフトの機能解明のためにもガングリオシドの合成は重要な課題である。これらの神経系ガングリオシドの糖鎖は複雑な分岐構造を有しているため、化学合成の難度が高く、神経ガングリオシドと神経機能、神経疾患の研究の遅滞を招いているのが現状である。また、従来法では多段階を経て合成した糖鎖に長鎖脂質を効率的に導入することも容易ではなく、ガングリオシドという最終構造の目前に脂質導入という難路が待ち受けていた。われわれは神経系ガングリオシドの合成に向けて、まずこの脂質導入の低効率を解決することに着手した。ガングリオシドに共通して含まれる脂質であるセラミドは長鎖アルキル基からなる

疎水性部位とアミド結合および水酸基からなる親水性部位を有するため、分子間で疎水-疎水結合と水素結合が発生し、高い凝集性を示す。そのため、糖鎖とのグリコシル化は低収率にとどまっていた。われわれは、セラミドと還元末端の単糖残基(グルコース)の保護体を連結させたグルコシルセラミド(Glc-Cer)と、グルコースを除いた糖鎖部分をグリコシル化することでガングリオシド骨格を高収率で構築できることを見いだした。また、このとき中程度の収率にとどまっていたグルコースとセラミドのグリコシル化反応を、グルコースとセラミドの架橋体の分子内グリコシル化反応によって効率化することに成功し、Glc-Cerを脂質導入ユニットとして用いるGlc-Cerカセット法を確立した。

神経系ガングリオシドの糖鎖部分の合成では、糖鎖部分に共通するシアル酸分岐三糖の構築が課題であったため、まず、上述したN-Trocシアル酸供与体によるグリコシル化により大量かつ効率的に分岐構築の鍵となるシアリルガラクトース二糖を合成する手法を確立した。次に、この二糖へガラクトサミンを高収率で結合させ分岐三糖中間体とし、さらに三糖受容体、三

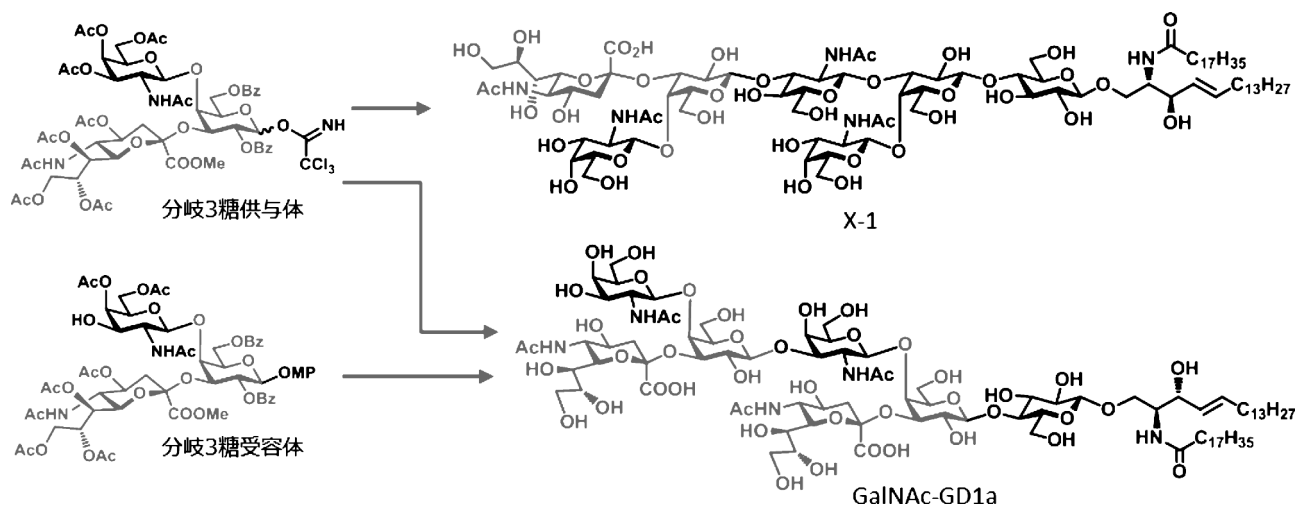


図4 本研究で合成した神経系ガングリオシド

糖供与体へと効率的に誘導する経路を開発した。

このシアル酸分岐糖鎖構築法と前述の Glc-Cer カセット法を基盤として、われわれは、自己免疫神経疾患の発症に関わる脳ガングリオシド X1 (分岐七糖含有) X2 (分岐八糖含有), ギランバレー症候群関連ガングリオシド GalNAc-GD1a (分岐七糖含有) の全合成に初めて成功した。

おわりに

われわれは、「自然界の糖鎖の多様性をどれだけ再構築できるのか」という挑戦を続けてきた。その結果、本稿でご紹介したように複雑な構造をもつシアル酸含有糖鎖ならびにガングリオシドの合成が可能となった。しかし、ガングリオシドだけでも合成不可能な構造が多数存在しており、課題は山積している。「自然は意をもって分子を配する」の前提に立てば、糖鎖の多様性の謎は深まるばかりである。われわれはさらに自然が擁する糖鎖の多様性への合成化学的な挑戦を続けるとともに、実践的な合成法を橋頭堡として糖鎖の意義解明に資する異分野融合研究を展開し、糖鎖の神秘に迫りたいと考えている。

本研究は、岐阜大学応用生物科学部応用生命科学課程生理活性物質学研究室で行われたものです。私を糖鎖の世界に導いていただきました岐阜大学教授 故 長谷川 明先生、そして、この研究の機会と恵まれた研究環境をお与えいただき、学生時代より温かく見守っていただいている岐阜大学教授の木曾 真先生、石田秀治先生に衷心より感謝申し上げます。また、合成ガングリオシドを使った神経突起伸展実験でご協力をいただいた岐阜大学准教授の矢部富雄先生、矢部律子女史に深謝申し上げます。本研究成果は、今村彰宏博士、田中秀則博士、藤川紘樹博士、岩山祐己博士をはじめとする生理活性物質学研究室の卒業生、研究員ならびに玉井秀樹君、中島慎也君をはじめとする在校生の不断の努力が実を結んだものです。共に研究ができた幸せに感謝し、昼夜兼行で研究に専心して下さった諸兄諸姉に心よりの敬意と謝意を表します。最後となりましたが、本奨励賞に推薦していただきました日本農芸化学会中部支部長の牧正敏先生ならびにご支援賜りました諸先生に、この場をお借りして厚く御礼申し上げます。