



## 化学生態学と免疫学に関連する生体機能分子の合成

(独)理化学研究所 免疫・アレルギー科学総合研究センター 研究員 田代卓哉

### はじめに

本研究では、1) 酵素分割や不斉合成、立体選択的反応などを利用した、有用な生物活性を有する天然有機化合物の光学活性体の合成研究、2) 合成化学的手法を用いた、天然物の立体化学を含めた構造決定、3) 免疫学におけるスフィンゴ糖脂質の化学構造と生物活性との相関の解明研究を行った。

分子生物学など生命現象を解明する研究を行うにあたっては、関与する生物活性分子の構造が明らかであることが重要である。しかしながら、現代の高度に進歩した分析技術を用いても、標的分子の構造を確定させることが困難な場合がある。また、応用研究を行うためには純粋な生物活性分子の安定供給が必要不可欠であるが、供給を天然からの単離・精製のみ依存することは、存在量が少ないために天然から多量に入手することができない、あるいは単離源の枯渇などの理由により困難である場合が少なくない。

以下のような可能性を持つ化学合成は、これらの問題を解決するための強力な手段となりうる。

a) 構造が明らかな形で推定構造の分子を合成し、天然物と物性および生物活性を比較することで、天然物の構造を立体化学まで含めて確定させることができる。

b) 純粋な物質を大量かつ安定的に供給することができる。

c) 天然には存在しない化合物や、より高活性な類縁体を合成することができ、それらを用いて新たな視点から生命現象の解明研究を行うことができる。

そのような有機合成化学の技術を用いて行った代表的研究成果を以下に要約する。

### 1. フェロモンの合成

フェロモンは種特異的であるうえにごく微量で強い活性を示す。そのため、昆虫フェロモンに関しては環境調和型農薬として期待されており、一部はすでに実用化されている。また近年では、さまざまなフェロモン結合タンパク質の同定が行われており、作用機構の解明に向けた研究が飛躍的に進展している。さらなる応用研究を行うためには、フェロモン分子の構造を正しく決定し、生物試験のための十分な量のサンプルが供給される必要がある。主な成果について述べる。

#### 1.1 イエネズミ *Mus musculus* のフェロモン

ネズミの雄尿中には、攻撃性を誘発するフェロモン成分 **1**, **2** (図1) が含まれている。これら2成分は尿中タンパク質と結合し、共力的に活性を発現する。これらのうち **1** は、非常にラセミ化しやすいために、天然物の絶対立体配置は不明であった。両鏡像体を高い鏡像体純度で合成し、かつラセミ化を起こさない保存条件を見いだすことによって、正確な生物試験を行

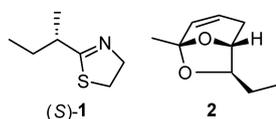


図1 ネズミの尿中フェロモン

うことを可能にした。イタリアの Cavaggioni らによる、合成品を用いた比較実験によって、天然の **1** は (S)-体であることが明らかになった。

近年、北海道医療大の長田らによる、合成品を用いた活性試験により、高齢である程雄のフェロモン成分 **1** と **2** の尿中濃度が高く、雌をより強く誘引する活性があることが見いだされた。雌ネズミは尿中フェロモンを指標として高齢まで生きられる生命力の強い雄を選別している可能性が示唆された。

#### 1.2 オオトゲシラホシカメムシ *Eysarcoris lewisi* のフェロモン

カメムシによる稲の食害は、斑点米を発生させて米の市場価値を下げるため、その駆除に大量の農薬散布が行われている。フェロモントラップを用いた発生数予測などへの応用を視野に入れ、オオトゲシラホシカメムシの雄が放出する集合フェロモンの合成を行った。酵素分割を用いて両鏡像体を合成し、天然物の絶対立体配置を確定した。さらに、立体選択的環化反応を鍵反応とする大量供給可能な合成経路を確立した。山形農総研の吉村らによる合成品を用いた活性試験により、天然物の絶対立体配置が **3** (図2) に示すものであること、他の立体異性体には活性がないこと、さらに、それら異性体は **3** の活性を阻害しないことが明らかとなった。

#### 1.3 サシチョウバエ *Lutzomyia longipalpis* のフェロモン

寄生原生虫 *Leishmania chagasi* によって引き起こされるリーシュマニア症は、熱帯地方において毎年多数の感染者、死者を出している深刻な風土病である。サシチョウバエ (sandfly) の刺咬によって寄生原生虫が媒介され、感染が拡大する。ブラジル Jacobina 地方に生息するサシチョウバエ *Lutzomyia longipalpis* の雄が放出する性フェロモンが Hamilton らにより単離され、推定構造が提出された。この性フェロモンの光学活性体を、不斉合成と分子内 Diels-Alder 反応を用いて合成し、天然物の絶対立体配置が **4** (図3) であることを決定した。

一方で、ブラジル Lapinha 地方の同種のサシチョウバエは **5** (図3) を性フェロモンとして用いていることが知られている。このことは、同種のサシチョウバエが、生息する地方によって同じ前駆体 **6** から異なった分子を生合成して、性フェロモンとして利用している可能性を示唆するものであり、化学生態学的に興味深い。

#### 2. 海産スフィンゴ糖脂質 plakoside A の構造決定

提出構造の合成が達成してもなお、化合物の立体構造を確定

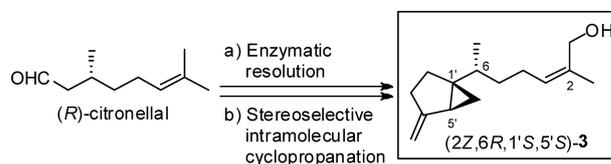


図2 オオトゲシラホシカメムシのフェロモンの合成

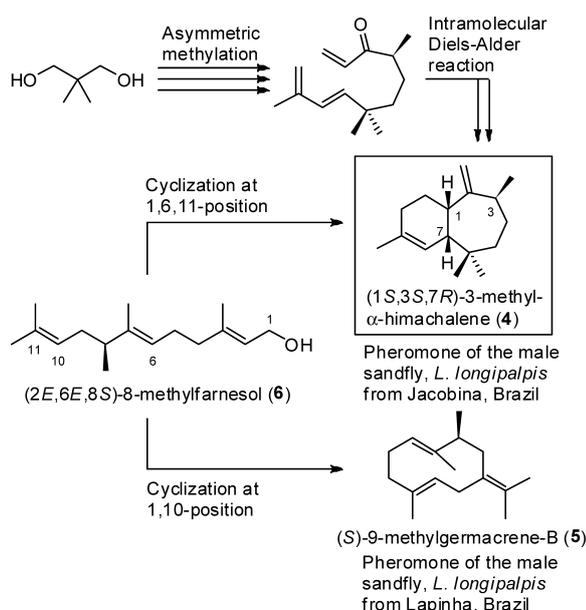


図3 サシチョウバエのフェロモンの合成と生合成機構仮説

できない場合がある。海綿の一種 *Plakortis simplex* から単離された plakoside A (7) は、細胞毒性を示さず、強い免疫抑制活性を誘導するスフィンゴ糖脂質である。そのアルキル鎖上の二つのシクロプロパン環の立体化学は、いずれも極性官能基から遠く離れているため、単離の段階ではもちろん、合成が完成されても、立体異性体間で同一の NMR スペクトルを与えたため、決定が困難であった。

イタリア Fattorusso らにより再単離された plakoside A の分解反応により、カルボン酸 8, 9 を得た。一方で、絶対立体配置が既知な形でカルボン酸 8, 9 それぞれの両鏡像体を化学合成し、これら天然物由来分解物と合成品とを、東北大学の犬類・赤坂らにより開発された、高感度遠隔位不斉識別法を用いて比較することで、天然物由来のカルボン酸 8, 9 の立体化学を決定し、plakoside A の絶対立体配置が 7 であることを明らかにした。

### 3. スフィンゴ糖脂質の免疫学的構造活性相関研究

キリンビール(株)が開発した KRN7000 (8) は、海綿から単離されたスフィンゴ糖脂質 agelasphin の構造活性相関研究を通して見いだされた。免疫細胞の一種であるナチュラルキラー T 細胞を活性化し、抗腫瘍活性を誘導する。KRN7000 は、免疫賦活活性を誘導するヘルパー T (Th) 1 型サイトカインと、免疫抑制活性を誘導する Th2 型サイトカインの両方を産生する能力を有する。医薬としてのさらなる可能性を引き出すことを目的として、Th1/Th2 いずれかに偏ったサイトカイン産生を誘導する、KRN7000 の新規類縁体の開発研究を行った。

工業化を見据え、簡便に合成でき、かつ KRN7000 (8) よりも強く Th1 型サイトカインの産生誘導活性を有する類縁体を探索した。Rossjohn らにより報告された受容体-スフィンゴ糖脂質-提示タンパク質の三体複合体の X 線結晶構造に基づく合理的薬物設計により、約 120 種類の類縁体を合成して構造活性相関研究を行った結果、KRN7000 よりも 4~10 倍強い IFN- $\gamma$  産生誘導活性ならびに 3~5 倍強いアジュバント活性を有する、カルバガラクトース類縁体: RCAI-56 (9) や、6'-O-メチルガラクトース類縁体: RCAI-61 (10) の開発に成功した。

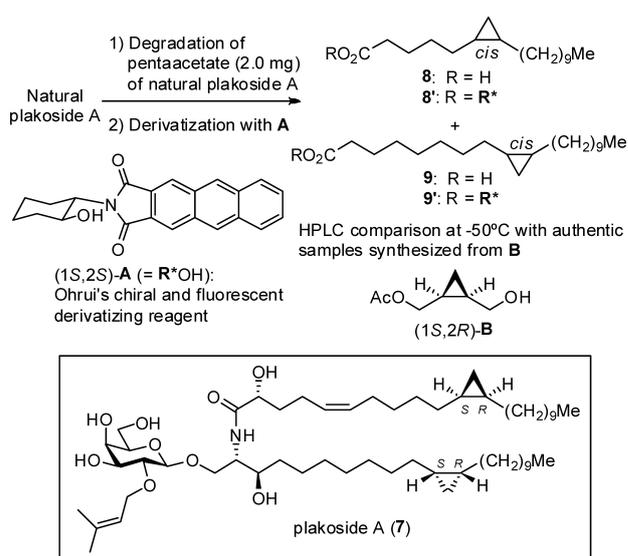


図4 Plakoside A の構造決定

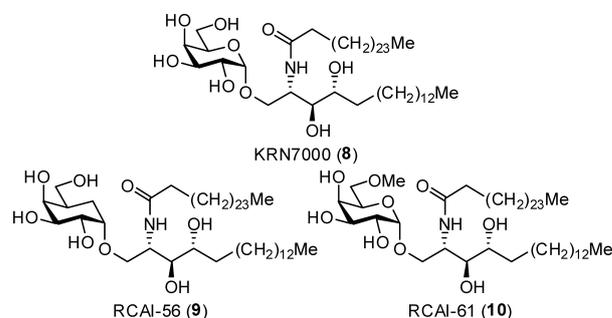


図5 KRN7000 と、その類縁体 RCAI-56 および RCAI-61

おわりに

本研究では、昆虫・動物フェロモンや海産天然物などの生物活性天然物の合成を行い、いくつかの天然有機化合物について、提出構造の確認、訂正や、絶対立体配置の決定を行った。また、合成品を生物学者へと提供することで、化学生態学における新規知見の取得や分子認識機構の解明に貢献するなど、天然物化学における合成化学的手法の有効性および重要性を実証することができた。さらに化学合成の手法を用いて、抗腫瘍活性を指標とした、免疫細胞を活性化させるスフィンゴ糖脂質の構造活性相関の解明研究を行った。本研究の成果が、有機合成化学のみならず、天然物化学、化学生態学、免疫学などの関連諸分野の研究発展に貢献することを願っている。

本研究は、東京理科大学理学部第二部化学科ならびに理化学研究所 免疫・アレルギー科学総合研究センターにおいて行われたものです。本研究の機会を与您とご指導ならびにご鞭撻を賜りました東京大学名誉教授 森 謙治先生(理研 研究嘱託)と、千葉大学名誉教授 谷口 克先生(理研 免疫・アレルギー科学総合研究センター長)、ならびに神戸大学大学院教授 滝川浩郷先生に心より御礼申し上げます。また、本研究を行うにあたり有益なご助言や多くの励ましを賜りました東京大学大学院教授 渡邊秀典先生をはじめとする諸先生方ならびに諸先輩方に深く感謝いたします。本研究を支えてくださった多くの共同研究者の皆様に、厚く御礼申し上げます。