

氏 名 (本国籍)	中 島 慎 也 (愛知県)
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博甲第576号
学 位 授 与 年 月 日	平成24年3月13日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第3条第1項該当
研 究 科 及 び 専 攻	連合農学研究科 生物資源科学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学 位 論 文 題 目	特異な分岐構造を特徴とする新奇生理活性ガングリオシドの合成
審 査 委 員 会	主査 岐阜大学 教授 石 田 秀 治 副査 岐阜大学 教授 木 曾 真 副査 静岡大学 教授 河 合 真 吾 副査 岐阜大学 准教授 安 藤 弘 宗

論 文 の 内 容 の 要 旨

【研究背景】

ガングリオシドは、分子内にカルボキシル基とアミノ基を有する特殊な9単糖のシアル酸を含むスフィンゴ糖脂質で、細胞の増殖・分化・癌化、細胞間認識や神経突起伸展等の生命現象に関わっている。天然型ガングリオシドやその類縁体は、生物学的機能の解明や、医薬品としての応用が期待されていることから、有機化学的手法を用いた合成研究も精力的に進められている。本研究ではガングリオシドの中でも過去に合成報告がなく、糖鎖骨格中に珍しい分岐構造を有する複雑なガングリオシドに着目し、その化学合成に取り組んだ。

1. ウシ脳由来ハイブリッド型ガングリオシド X1、X2 の全合成

ガングリオシド X1、X2 はラクト系とガングリオ系の二つの系列の糖鎖構造を同一分子中に有するハイブリッド型ガングリオシドとしてウシの脳から発見、単離された(図1)。これらはALS(筋萎縮性側索硬化症)と類似した症状の患者血清中IgM抗体と反応することが報告されている。有効な治療法の存在しないALSと診断された後、治療可能な疾患(ALS様疾患)だと判明した例もあることから、類似疾患の可能性を除外することは医学的に重要な課題であり、それを見分ける一つ的手法としてこれらガングリオシドが有効である可能性が示されたことは興味深い。そこで本研究では、化学的にも興味深い構造を持つハイブリッド型ガングリオシド X1、X2 の全合成を試みた。

まず X1 の合成について、当初計画していたジオールアクセプターを用いる位置選択的グリコシル化では望む選択性が得られなかった。そこで、選択的に片方の水酸基を保

護することでモノオール体へと導き、連続的に単糖を導入することで目的の四糖へと効率良く変換した。続く糖鎖伸長により、分岐構造を有する複雑な七糖構造を構築することに成功した。最後にセラミドの導入、脱保護を経て、ガングリオシド X1 の全合成を達成した。しかしセラミド導入収率が低く、それを改善することができなかった。

そこで次に、グルコシルセラミドアクセプターを利用し、ガングリオシド X1、X2 両方を効率的に合成できる新規合成経路を立案して合成に取り組んだ。二種類の糖鎖骨格を効率的に合成するため、共通ユニットを活用し、合成の後半で X1、X2 それぞれへ分岐する経路を設計して検討した。しかし、分岐構造を構築する段階で五糖アクセプターと二糖ドナーのグリコシル化が困難であり、目的の糖鎖骨格を得ることができなかった。そこで、予め内部のハイブリッドコア構造を構築した後、GM2 三糖と結合させる経路に変更し、目的の糖鎖骨格を高収率で合成することに成功した。続くガングリオシド骨格の合成では、グルコシルセラミドアクセプターを用いることで、セラミドを直接糖鎖に導入した先程の結果と比べて収率は飛躍的に向上した。その後脱保護を行い、ガングリオシド X2 の効率的な全合成を達成した。

合成したガングリオシド X1、X2 は、発見当時論文で用いた ALS 様患者血清と反応することが確認された。

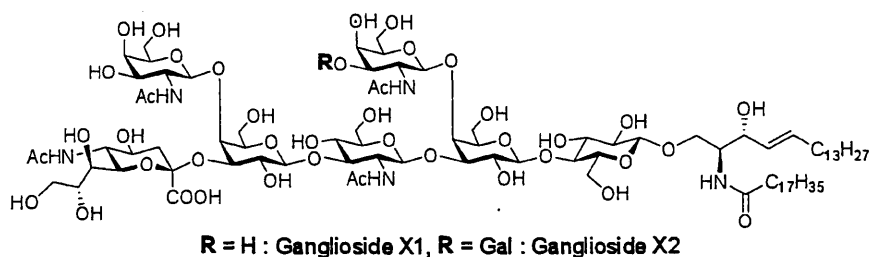


図 1. ハイブリッド型ガングリオシド X1、X2 の構造

2. マナマコ由来ガングリオシド SJG-2 の合成研究

ガングリオシドは、無脊椎動物においてはウニやヒトデ、ナマコなどの棘皮動物に局在している。そしてそれらは哺乳類由来のガングリオシドで見られる構造とは異なる特徴的な構造を有しているものが多い。また、ラット副腎髄質由来褐色細胞 PC-12 に対し、棘皮動物由来ガングリオシドは高い神経突起伸展活性を持つことが知られている。中でもマナマコ (*Stichopus japonicus*) が持つガングリオシド SJG-2 (図 2) はその活性が非常に強い。

ガングリオシド SJG-2 は、非還元末端側ガラクトースの 3、4 位両方にシアル酸が結合した特異な分岐構造を有する三糖が内部シアル酸の 8 位に結合し、その四糖がさらにガラクトサミンを含む三糖 {GalNAc(1→3)Gal(1→4)Glc} に結合している。これは哺乳類をはじめ、棘皮動物ガングリオシドの中でも他に類を見ない、極めて複雑な糖鎖構造である。この合成を目指すにあたり、まずは最も合成が困難と考えられる非還元末端三糖の合成に取り組んだ。

大量合成が可能な Neuα(2→3)Gal から導ける新しい形のアクセプターを設計・合成し、シアル酸の導入を試みた。しかし目的化合物はほとんど得ることができなかった。これはガラクトース単糖を用いても同様であり、さらに分子内反応も検討したが、目的化合物を確認することはできなかった。1,6-アンヒドロ型ガラクトースをアクセプターとして用いた際には、困難であった Neu(2→4)Gal の構築に成功した。しかし、主生

成物は望む α 体ではなく β 体であり、シアリル化における立体制御の課題が生じた。

本研究で行った検討では目的の三糖構造を合成することはできなかった。このようなシスジオール両方へのシアリル化は糖鎖合成において最も困難な課題である。立体選択的にシアル酸を導入できる条件の確立、そして高反応性アクセプターの開発がこの複雑な構造を構築するためには必須である。

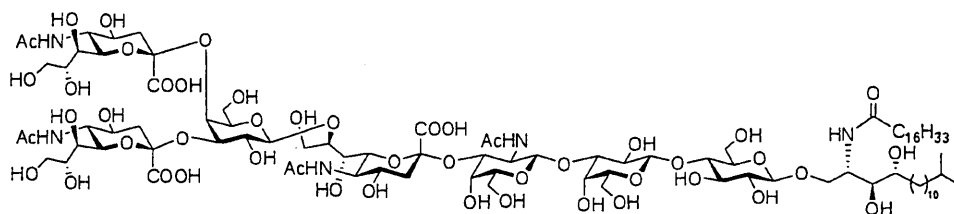


図 2. マナマコ由来ガングリオシド SJG-2 の構造

審査結果の要旨

中島慎也はガングリオシドの中でも糖鎖構造中に特異な分岐構造を有する複雑な分子の合成研究を行い、以下に示す成果を収めた。

ガングリオシド X1、X2 はラクト系とガングリオ系の二つの系列の糖鎖構造を同一分子中に有するハイブリッド型ガングリオシドとしてウシの脳から発見、単離された。これらは ALS (筋萎縮性側索硬化症) と類似した症状の患者血清中 IgM 抗体と反応することが報告されている。有効な治療法の存在しない ALS と診断された後、治療可能な疾患 (ALS 様疾患) だと判明した例もあることから、類似疾患の可能性を除外することは医学的に重要な課題であり、それを見分ける一つの手法としてこれらガングリオシドが有効である可能性が示されたことは興味深い。しかし、発見から 20 年近く経過した現在でも全合成が達成されたとの報告はない。彼はこの珍しい構造を持ち、医学への応用も期待されるハイブリッド型ガングリオシド X1、X2 に着目し、全合成に取り組んだ。

まず X1 の合成について、当初計画していたジオールアクセプターを用いる位置選択的グリコシル化では望む選択性が得られなかった。そこで、選択的に一方の水酸基を着脱が容易な MPM 基で保護することでモノオール体へと導き、連続的に単糖を導入することで目的の四糖へと効率良く変換した。続く糖鎖伸長により、分岐構造を有する複雑な七糖構造を構築することに成功した。最後にセラミドの導入、脱保護を経て、ガングリオシド X1 の世界初となる全合成を達成した。しかしセラミド導入収率が低いという課題が生じた。種々の条件検討、新奇高反応性セラミドアクセプターの開発も試みたが、改善には至らなかった。

そこで次に、反応性の低いセラミドを合成初期に予めグルコースに導入したグルコシルセラミドアクセプターを利用し、ガングリオシド X1、X2 両方を効率的に合成できる新規合成経路を立案して合成に取り組んだ。二種類の糖鎖骨格を効率的に合成するため、共通ユニットを活用し、合成の後半で X1、X2 それぞれへ分岐する経路を設計して検討した。しかし、分岐構造を構築する段階で共通五糖アクセプターと二糖ドナーのグリコシル化が困難であり、目的の糖鎖骨格を得ることができなかった。そこ

で、予め内部のハイブリッドコア構造を構築した後、GM2 三糖と結合させる経路に変更し、目的の糖鎖骨格を高収率で合成することに成功した。続くガングリオシド骨格の合成では、グルコシルセラミドアクセプターを用いることで、セラミドを直接糖鎖に導入した先程の結果と比べて収率は飛躍的に向上した。その後脱保護を行い、ガングリオシド X2 の効率的全合成を達成した。

合成したガングリオシド X1、X2 は、発見当時論文で用いた ALS 様患者血清と反応することが確認され、合成分子を用いた医学への応用研究についても一定の成果が得られている。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文として十分価値あるものと認めた。

基礎となる学術論文

題目：A First Total Synthesis of a Hybrid-Type Ganglioside Associated with Amyotrophic Lateral Sclerosis-Like Disorder

雑誌名：Chemistry – A European Journal 2011, 17, 588-597.

著者名：NAKASHIMA, Shinya; ANDO, Hiromune; IMAMURA, Akihiro; YUKI, Nobuhiro; ISHIDA, Hideharu; KISO, Makoto

題目：Efficiently Synthesizing Lacto-Ganglio Series Gangliosides by Glucosyl Ceramide Cassette Approach: The First Total Synthesis of Ganglioside X2

雑誌名：Chemistry – An Asian Journal (in press).

著者名：NAKASHIMA, Shinya; ANDO, Hiromune; SAITO, Risa; TAMAI, Hideki; ISHIDA, Hideharu; KISO, Makoto