

氏 名 (本 国 籍)	玉 井 秀 樹 (長野県)
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博甲第 5 9 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 2 5 年 3 月 1 3 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	修飾シアル酸を有する棘皮動物由来ガングリオシド の全合成研究
審 査 委 員 会	主査 岐阜大学 准教授 安 藤 弘 宗 副査 岐阜大学 教 授 石 田 秀 治 副査 静岡大学 教 授 河 合 真 吾 副査 岐阜大学 教 授 木 曾 真

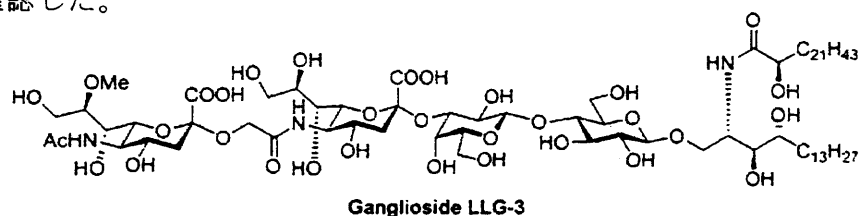
論 文 の 内 容 の 要 旨

糖質は、核酸、タンパク質、脂質に並ぶ重要な生体物質である。糖質は、デンプンやグリコーゲンのように生物が活動するためのエネルギー源、セルロースやキチンなどの生体を構成する材料として利用されている。さらに細胞表層上においてタンパク質や脂質などと結合した複合糖質として広く分布し、細胞内外の情報を制御する情報担体として機能している。複合糖質の中でもシアル酸と呼ばれる特殊な酸性糖を持つもの糖脂質はガングリオシドと呼ばれ、生体の恒常性維持や様々な疾患や病態との関わりを持つ事から、盛んに研究が行われてきた。とりわけ、ヒトの組織には *N*-アセチル体 (Neu5Ac) が主に存在することから、Neu5Ac を有するガングリオシドが有機化学的研究ならびに生物機能研究の対象とされてきた。しかしながら、シアル酸には 50 種を超える類縁体 (修飾シアル酸) の存在が知られている。更に、近年、棘皮動物から多様なシアル酸類縁体を糖鎖構造内に持つ新奇なガングリオシドが数多く発見され、これら棘皮動物ガングリオシドが持つ強力な神経突起伸展活性に注目が集まっている。これらの事実より、シアル酸類縁体の生物学的意義に興味を持たれる。そこで、これら修飾構造を有するシアル酸の合成法を確立し、棘皮動物ガングリオシドの合成を通して、その機能解明を目指す事とした。本研究では、棘皮動物ガングリオシド群の中でも特に強力な活性を持つ、部分的にメチル化修飾を受けたシアル酸を持つヒトデ由来のガングリオシド LLG-3 及び GAA-7 の全合成に挑戦した。

【アオヒトデ由来ガングリオシド LLG-3 の合成】

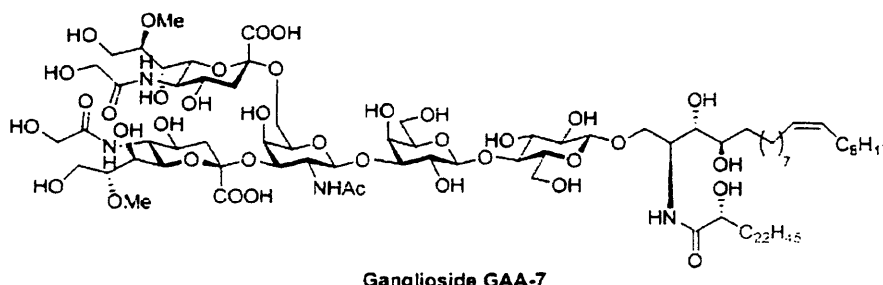
アオヒトデより単離されたガングリオシド LLG-3 は非還元末端に 8 位水酸基がメチル化された修飾シアル酸残基(8-*O*-Me シアル酸)、内部に *N*-グリコシルシアル酸残基の二種類の修飾シアル酸を持つ事が報告されている。本合成では、この LLG-3 を大きく

3つのユニット、1) 非還元末端 8-*O*-Me シアル酸ユニット、2) 内部シアリルガラクトースユニット、3) グルコシルセラミドユニットに分け、非還元末端側から糖鎖を伸長する収束的合成経路をとることとした。特徴構造である 8-*O*-Me シアル酸構造および、*N*-グリコシルシアル酸残基を、共通の *N*-Troc シアル酸を鍵化合物として、シアル酸の 8 位水酸基上のアセチル基の 5 位アミノ基への分子内転位反応の制御により、効率よく合成することに成功した。続いて、グルコシルセラミドユニットの合成を行った。この際、分子間でのグルコース供与体とセラミド受容体との縮合収率の低さが課題として挙げられていた。今回、その改善を目指し、グルコース受容体 C-4 位水酸基の保護基を各種検討し、保護基の電子的環境の違いにより反応収率が劇的に変化する事を見出した。これにより、高収率でのグルコシルセラミドユニットの合成が可能となった。続いて、グルコシルセラミドカセットアプローチによる効率的な脂質導入を実現し、ガングリオシド骨格を構築し、脱保護によりガングリオシド LLG-3 の全合成を達成した。更に、合成ガングリオシドによる生理活性の評価を行い、ガングリオシド LLG-3 が NGF 存在下で、ラット副腎髄質褐色細胞腫 (PC12) において神経突起伸展活性を示すことを確認した。



【ムラサキヒトデ由来ガングリオシド GAA-7】

ガングリオシド GAA-7 は、より複雑な修飾シアル酸残基を有し、LLG-3 と同様、強力な神経突起伸展活性を示す事が知られている。その特徴構造として、1) 非還元末端シアル酸の 8 位水酸基および 5 位アミノ基の二箇所修飾構造、2) 修飾シアル酸二残基ガラクトサミン 3 及び 6 位に結合した特異な分岐構造、3) フィット型スフィンゴシンのアルキル鎖内部にシスオレフィンを持つ特異なセラミド構造の 3 点が挙げられる。本合成では、GAA-7 をコア 4 糖部分とグルコシルセラミドに分割し、前述と同様にグルコシルセラミドカセットアプローチにより合成する収束的な合成経路を採用した。修飾シアル酸合成においては、シアル酸 9 位水酸基にクロロアセチル基、5 位に Troc 基を持つシアル酸誘導体を修飾シアル酸合成のための鍵化合物として新たに設計し、9 位クロロアセチル基の選択的除去と、その後のアセチル基の分子内転位の制御によって、シアル酸のグリセロール側鎖を修飾し、5 位 Troc 基の選択的除去と種々の官能基への変換により二箇所修飾型シアル酸の合成に対応した。続いて、コア 4 糖構築においては、内部二糖受容体へのシアル酸二残基を同時に導入するダブルシアリル化を行い、コア 4 糖骨格を収率良く合成した。その後、グルコース受容体との縮合により、GAA-7 糖鎖部分の合成を達成した。更に、グルコシルセラミド受容体とのカセットアプローチにより、ガングリオシド GAA-7 骨格の合成に成功した。



審 査 結 果 の 要 旨

本論文は、糖化学の研究分野の中でも困難とされる修飾シアル酸含有糖脂質の効率的合成法の確立に向けて行った研究をまとめたものである。

これまで、数多くのシアル酸含有糖脂質の化学合成が達成されてきた。とりわけ、ヒトの組織に多いことから、*N*-アセチルノイラミン酸を持つ糖鎖が合成の対象とされてきた。しかし、シアル酸には 50 種を超える類縁体（修飾シアル酸）の存在が知られている。更に、近年、棘皮動物から修飾シアル酸を糖鎖構造内に含むガングリオシドが多数見出され、それらが強力な神経突起伸展活性を持つ事が報告されている。この興味深い事象の解明には、修飾シアル酸を持つ糖鎖の供給が不可欠であり、多様な分子種に対応可能な修飾シアル酸合成法の確立が求められる。

本研究では、*N*-Troc シアル酸を鍵化合物として、修飾シアル酸の網羅的合成法の確立し、これを応用して、天然に存在する修飾シアル酸含有糖脂質の全合成を達成した。

1. 研究目的の評価

本研究は、医薬シーズとして注目を集めている棘皮動物ガングリオシドの全合成を目指すものであり、目的は十分に妥当である。また本研究における、修飾シアル酸の系統的合成法の開発は、修飾シアル酸含有糖鎖の機能解明において重要であるだけでなく、様々なシアル酸分子プローブ創製への応用の可能性を秘めており、研究目的として十分に妥当である。

2. 研究手法の評価

申請者は、本研究の鍵となる修飾シアル酸の網羅的合成法として、*N*-Troc シアル酸を鍵とする修飾シアル酸の効率的合成法を開発し、その応用により天然物の全合成に成功した。また、従来の糖脂質の合成法において、問題とされていた脂質部分の導入効率の改善法を考案し、効率的な脂質導入法の開発に成功している。以上の点から、研究手法も妥当である。

3. 解析・考察の評価

上記手法で合成を行った結果、効率的な修飾シアル酸合成法の開発に成功し、その手法を応用して棘皮動物由来ガングリオシド LLG-3 の全合成及びガングリオシド GAA-7 の糖鎖部分の合成に世界で初めて成功している。本成果は、糖質科学の発展に大きく貢献している。

更に、合成ガングリオシドによる神経突起伸展活性の評価を行い、神経突起の伸長を確認し、今後の棘皮動物ガングリオシドに基づく医薬開発研究の進展が大いに期待される。

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

- 1) Title: The Total Synthesis of the Neurogenic Ganglioside LLG-3 Isolated from the Starfish
Linckia Laevigata

雑誌名: *Angewandte Chemie International Edition*, **2011**, 50, 2330-2333.

著者: HIDEKI Tamai, HIROMUNE Ando, HIDENORI Tanaka, RITSUKO Hosoda-Yabe,
TOMIO Yabe, HIDEHARU Ishida, MAKOTO Kiso.

- 2) Title: First Synthesis of a Pentasaccharide Moiety of Ganglioside GAA-7 Containing
Unusually Modified Sialic Acids through the Use of *N*-Troc-Sialic Acid Derivative
as a Key Unit

雑誌名: *Organic Letters*, **2012**, 14, 6342-6345.

著者: HIDEKI Tamai, HIROMUNE Ando, HIDEHARU Ishida, MAKOTO Kiso.