

学位論文要旨 Dissertation Abstract

氏名： 砂古口 博文
Name

学位論文題目： 線虫を用いた新規な生物活性希少糖の探索
Title of Dissertation

学位論文要旨：
Dissertation Abstract

本学位論文は以下の二つの内容からなる。

(1) 希少糖の線虫成長阻害活性

希少糖は「自然界に存在量が少ない単糖とその誘導体」と定義され、D-glucoseやD-fructoseなどを除いた単糖の大部分を占める。希少糖は、自然界における存在量の少なさや化学合成の困難さから、その生物活性はほとんど調べられていなかった。香川大学の何森らが微生物由来の糖異性化酵素を用いて様々な希少糖を網羅的に合成する戦略(Izumoring)を開発し、比較的容易に希少糖の合成が可能となった。そして、現在、様々な希少糖の生物活性が明らかになりつつある。例えば、抗糖尿病、抗肥満、がん細胞増殖抑制、植物成長抑制、植物抵抗性誘導作用などが報告されている。また、希少糖 D-psicoseは、モデル生物である自活性線虫 *Caenorhabditis elegans* の成長を阻害することが明らかになっている。

近年、糖は生体を構成する材料やエネルギー源としてだけでなく、細胞同士や病原体を認識するプロセスに関与し、炎症、癌、および感染症などの多様な疾患に関与していることが明らかになっている。糖のミミックや誘導体は、ウイルス感染、癌や糖尿病など多くの疾患の治療薬として可能性を秘めていることから、糖模倣薬 (glycomimetic drug) が注目を集めている。生物活性を持つ希少糖は糖模倣薬 (あるいはそのリード化合物) になりうると考え、簡便な一次スクリーニング法である線虫成長阻害試験を用いて新規な生物活性希少糖の探索を行った。

アルドヘキソース全16異性体、ケトヘキソース全8異性体、アルドペントース全8異性体、ケトペントース2異性体、アルドテトロース全4異性体、デオキシ糖21物質、ポリオール(糖アルコール)9物質、アミノ糖6物質、その他の化合物7物質、D-allose脂肪酸エステル及び遊離脂肪酸について *C. elegans* 成長阻害試験を行った。そのうち比較的強い活性が認められたものに対して、50%成長阻害濃度 (IC₅₀) を算定した。

すでに成長阻害活性が明らかとなっているD-psicoseのIC₅₀値は53 mMと算定された。D-psicose以外にも、いくつかの希少糖に成長阻害活性があることが明らかとなり、特に、D-arabinose, 1-deoxy-D-psicose, 2-deoxy-D-glucoseは、IC₅₀値がそれぞれ4.2 mM, 5.4 mM, 19 mMと、D-psicoseを上回る強い成長阻害活性をもつことが明らかとなった。

栄養代謝系に変異のある線虫株を用いて、成長阻害活性の作用メカニズムを調査した。試験した変異体のうち、AMP activated protein kinase (AMPK) が欠損したRB754株では、D-psicoseの活性が野生型N2株の約5倍上昇した。AMPKは細胞内AMP濃度の上昇（すなわちATP濃度の低下）を検出し、ATP合成を促進する栄養センサーである。上記の結果は、D-psicose処理により細胞内ATP濃度が低下し、結果として成長阻害活性が発現していることを示した。

強い成長阻害活性を持つ希少糖について、その阻害活性がD-mannoheptulose等のヘキソキナーゼ(HXK)阻害剤や他の糖(D-glucose, D-fructose, D-ribose)の共存下で緩和できるかどうかを調べた。その結果、D-psicoseや1-deoxy-D-psicoseの成長阻害活性が、HXK阻害剤によって緩和された。この結果は、HXKによって6位水酸基がリン酸化することをトリガーに阻害活性が発現していることを示した。また、D-arabinoseと1-deoxy-D-psicose処理線虫において、D-fructoseとD-riboseの添加により、成長阻害活性が減弱したことから、これらの希少糖の阻害はD-fructose代謝とD-ribose代謝の両方で起こっていることが示唆された。

(2) 希少糖脂肪酸エステルの殺線虫活性

現在、世界各地で植物寄生性線虫や動物寄生性線虫の被害が発生している。寄生性線虫への有効な薬剤は限られており、新たな作用メカニズムを持つ薬剤の開発が求められている。第1章において、D-allose脂肪酸エステルおよび遊離脂肪酸は殺線虫活性をもつことが明らかとなったため、それらの活性を詳細に調べた。

活性の評価は半数致死濃度(LC₅₀)で行った。D-alloseのブタン酸エステル(D-A11-C4)、ヘキサン酸エステル(D-A11-C6)、オクタン酸エステル(D-A11-C8)、デカン酸エステル(D-A11-C10)、ドデカン酸エステル(D-A11-C12)、対照としてD-グルコースオクタン酸エステル(D-Glc-C8)、加水分解されないアルコキシ誘導体(A11-O-C8, D-A11-O-C10)、遊離脂肪酸(C4~C12)について殺線虫活性を調べた。D-allose脂肪酸エステルについては、D-A11-C8とD-A11-C12にのみ活性を認めた。遊離脂肪酸については、炭素鎖が長くなるにつれ活性が強まるという結果を得た。D-A11-C8の活性はC8のそれよりも明らかに強いこと、D-Glc-C8で活性が見られないこと、D-A11-O-C8はD-A11-C8と同等の活性が見られることから、D-A11-C8は線虫の体内で加水分解されず、エステル体のまま活性を発現していると考えられた。