



Title	含リン脱離基法を機軸とする単純ヘルペスウイルス感染阻害活性を示す糖ペプチドおよび類縁体の合成研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	柿田, 浩輔
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(薬科学)
Dissertation Number	甲第12274号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/62152
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Kosuke_Kakita_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士 (薬科学) 氏 名 柿 田 浩 輔

審査担当者	主 査	教 授	松 永 茂 樹
	副 査	教 授	前 仲 勝 実
	副 査	教 授	市 川 聡
	副 査	准教授	穴 田 仁 洋

学 位 論 文 題 名

含リン脱離基法を機軸とする単純ヘルペスウイルス感染阻害活性を示す
糖ペプチドおよび類縁体の合成研究

博士学位論文審査等の結果について (報告)

近年、生命現象の様々な場面における複合糖質の重要性が明らかにされてきた。しかしながらタンパク質の糖鎖付加は翻訳後修飾によるため複雑で不均一な糖鎖構造であり、複合糖質の機能研究を行うためには均一かつ明確な糖鎖部分構造をもつ複合糖質の力量ある化学合成が求められている。

本論文は含リン脱離基法を利用することで、高立体選択的なオリゴ糖鎖構築を行い、ヘルペスウイルス感染阻害活性を示す糖ペプチド類の効率的かつ量的な供給を目的としたものである。最近になって単純ヘルペスウイルス 1 型 (HSV-1) のウイルス粒子の表面に存在する糖タンパク質 glycoprotein B (gB) とヒトの細胞表面分子である paired immunoglobulin-like type 2 receptor α (PILR α) が会合することによりウイルスの感染が成立する分子メカニズムが明らかにされた。さらに、gB の特定のペプチド領域 (GPATPAP) を含むシアリ酸含有 O-結合型糖鎖 (α Neu5Ac-2,6- α GalNAc-1, O-Thr : シアリル T_N 糖鎖抗原) が PILR α によって認識されることと、この gB 糖ペプチドが HSV-1 の細胞感染を阻害することがわかっている。これら背景を踏まえ、著者は HSV-1 の細胞侵入における PILR α と gB との会合様式の詳細な解析に寄与することを目指し、シアリル T_N 糖ペプチドの合成に関する研究を行った。

シアリル T_N 糖鎖抗原に含まれる 1,2-シス- α -グリコシド結合の構築には隣接基関与をしない保護基を用いる必要があり、完璧な立体制御は困難である。著者は 4,6 位水酸基をベンジリデンアセタール保護したガラクトシルジフェニルホスファートとセリン誘導体とのグリコシル化反応が、THF/エーテル混合溶媒中で TMSOTf を反応剤として用いると高収率かつ極めて高い α -選択性でグリコシドを与えることを新たに見出した (93%, α : β = 95:5)。また、スレオニン誘導体のグリコシル化も高い立体選択性で α -グリコシドを与えた (84%, α : β = 94:6)。本反応の高い立体選択性は、糖供与体と THF からなる β -テトラヒドロフランニウムイオンの α 面から糖受容体が背面攻撃するためと考えられる。

次に本反応で得られた α -グリコシドを利用して、HSV-1 感染阻害作用を示す糖ペプチドの合成を実施した。グリコシドのベンジリデンアセタールを除去し

て得られるジオールを糖受容体とするシアリル化は、プロピオニトリル中 -78°C においてトリフルオロメタンスルホン酸を反応剤とすると良好な収率と α -選択性で進行した。その後、2工程の変換を行いペプチド合成に適用可能な保護様式をもつシアリル T_{N} 糖鎖抗原を合成した。固相法による糖ペプチドの合成は、COMU を縮合剤として Fmoc 保護アミノ酸およびシアリル T_{N} 糖鎖抗原の縮合を順次行った。最後に樹脂から切り出した後に糖鎖部保護基を除去することにより合成を達成した。

糖ペプチドと PILR α との共結晶の X 線結晶構造解析により、両者はシアル酸部における多数の水素結合およびペプチド鎖の C 末端におけるファンデルワールス相互作用に基づく複合体を形成していることがわかった。ペプチド鎖とシアル酸をつなぐガラクトサミン部分は PILR α とはほとんど相互作用していないことも示唆された。そこで、糖鎖が活性発現に及ぼす影響を明らかにすることを目指しガラクトサミンをグルコサミン、4-デオキシグルコサミン、ガラクトース、エーテル鎖およびガラクトサミン 3 位水酸基にシアリルガラクトース、6 位水酸基にシアル酸が結合したジシアリル T 糖鎖抗原に置き換えた糖ペプチドをアナログに設定し、合成を試みた。

特に、ジシアリル T 糖鎖抗原型糖ペプチドの合成においては、ホスホロジアミダート法を活用することで化学選択的な活性化を経る収束的な分岐型四糖の合成を達成し、鍵反応となるシアリルガラクトシルホスホロジアミダートとシアリル T_{N} 糖鎖抗原とのカップリング反応は、糖供与体の 2 位水酸基をアセチル基で保護することにより良好な収率で反応が進行することを見出した。

合成した糖ペプチド類縁体の解離定数を等温滴定カロリメトリーにより測定したところ、天然型であるシアリル T_{N} 糖ペプチドでは $6.2\ \mu\text{M}$ を示した。一方、グルコサミン型類縁体、4-デオキシグルコサミン型類縁体、エーテル型類縁体ではそれぞれ $109\ \mu\text{M}$ 、 $121\ \mu\text{M}$ 、 $346\ \mu\text{M}$ と結合活性の低下が見られた。ガラクトース型類縁体とジシアリル T 糖鎖抗原型類縁体はそれぞれ $31\ \mu\text{M}$ 、 $11\ \mu\text{M}$ と比較的高い結合活性であった。以上の結果より糖ペプチドと PILR α との結合には、シアル酸とペプチド鎖を繋ぐピラノース 4 位のアキシアル位を占める水酸基の重要性が示唆された。

以上の研究を通じて、著者は含リン脱離基法を機軸とする立体選択的なグリコシル化反応を活用することで HSV-1 感染阻害活性を示す糖ペプチド類縁体の効率的な構築を達成した。さらに、類縁体合成によって糖鎖官能基がリガンド-レセプター複合体形成に及ぼす役割の知見を得た。これら研究成果は HSV-1 感染阻害活性を示す化合物群の創成に寄与すると共に糖質科学の発展に資するものである。

よって著者は、北海道大学博士（薬科学）の学位を授与される資格あるものと認める。