

論文内容要旨

細胞性粘菌は、広く土壌中に生育している微生物の一種である。現在最も広く受け入れられている五界説による生物分類の中で、細胞性粘菌は原生生物界に属し、独立した門を形成している。すなわち、天然物化学において、これまで精力的な研究がなされてきた放線菌、子囊菌、担子菌などは分類学的に大きく異なっており、独特の二次代謝産物を産生している可能性は十分に考えられる。しかし、そのような天然物化学的アプローチはほとんどなされていない。

細胞性粘菌の最大の特徴としては、その生活環が挙げられる (Fig. 1)。まず孢子から発芽すると、周囲の微生物を捕食しながら増殖を繰り返す単細胞の粘菌アメーバとなる。しかし、周囲に餌がなくなり飢餓状態に陥ると、約 10 万個もの粘菌アメーバが集合を開始する。このようにしてできた多細胞の集合体は、さらに予定柄細胞・予定孢子細胞という 2 種類の細胞へと分化し、最終的に飢餓から約 24 時間で、多細胞の柄と孢子塊からなる子実体を形成する。

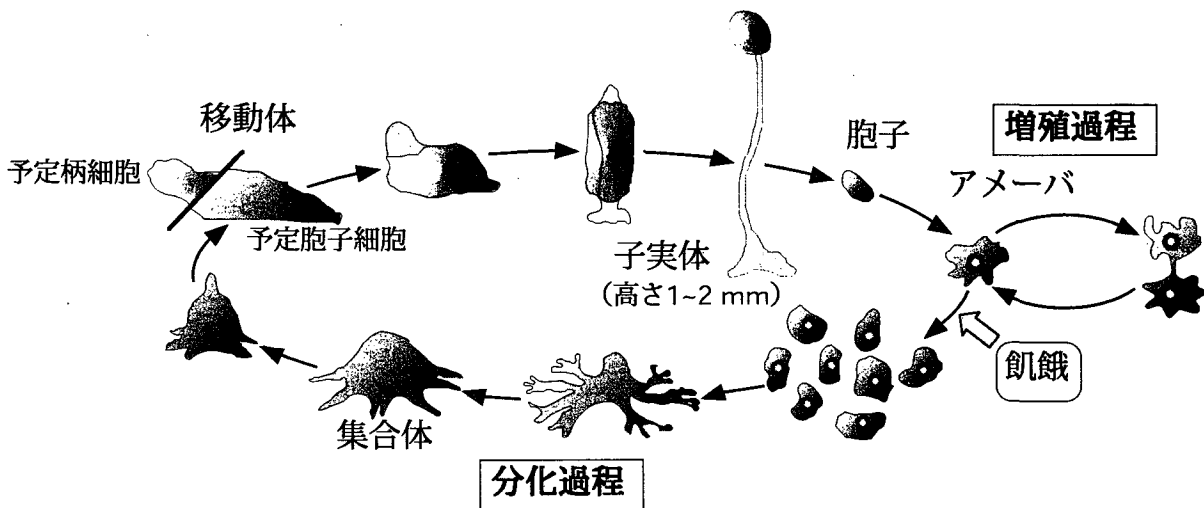


Fig. 1 Life cycle of cellular slime mold, *Dictyostelium discoideum*.

細胞性粘菌は、短いサイクルで回る比較的単純な生活環の中に大きく異なる状態を併せ持つとともに、多細胞生物の発生系を構築する主要過程である細胞質分裂、細胞運動、分化といった多彩な細胞機能を発揮している。このことから、細胞性粘菌は発生や細胞運動の研究のためのモデル生物として広く用いられている。

また、以前に細胞性粘菌から DIF-1 という化合物が単離されている (Fig. 2)。DIF-1 は、六置換ベンゼンという構造上の大きな特徴を有するとともに、粘菌アメーバから柄細胞への分化を誘導する生理活性物質であるが、マウス赤芽球性白血病 B8 細胞やヒト白血病 HL-60 細胞といった哺乳類細胞に対しても再分化を誘導あるいは促進することが近年明らかとなった。したがって、細胞性粘菌は哺乳類に対する有用な化合物を産生していることが期待できる。

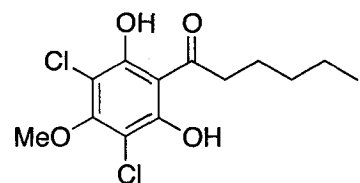


Fig. 2 Structure of DIF-1.

以上のことをふまえ、著者は細胞性粘菌を天然物化学における新たな天然資源として活用することを目的とした研究を行った。

まず、数種の *Dictyostelium* 属細胞性粘菌を大量培養し、得られた粘菌子実体の抽出物に含まれる新規二次代謝産物の探索を行った。その結果、新規アミノ糖由来化合物 furanodictine A, B および dictyoglucosamine A, B を、新規芳香族化合物 brefelamide をそれぞれ単離し、各種分光学的手法を用いて化学構造を決定した (Fig. 3)。

Furanodictine A および B は、それぞれ *N*-acetyl-D-glucosamine および *N*-acetyl-D-mannosamine のフラノース型への異性化と、それに続く 3 位 - 6 位間での脱水により導かれる化合物であると考えられる。しかし、このようなエーテル結合を形成している化合物が天然より得られたのは初めてである。Dictyoglucosamine A および B は、いずれも *N*-acetyl-D-glucosamine に対して複数の脂肪酸が直接結合した構造を有する化合物であり、このような置換様式のものはいまだ知られていない。Brefelamide は、3 つのベンゼン環がエーテル結合、アミド結合、およびカルボニル基といった官能基を介して直鎖状に連結した特徴的な化合物である。さらに、天然において比較的珍しい 1,2,3- 三置換ベンゼン構造を有しており、その置換基として 4-hydroxyphenoxy 基を持つ化合物は前例がない。

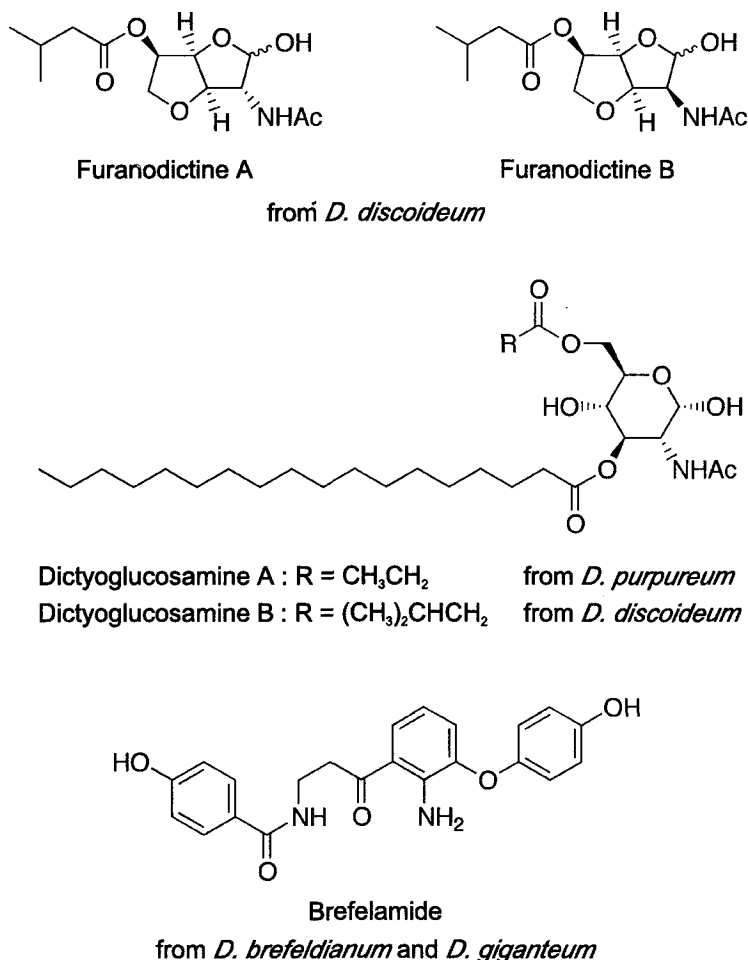
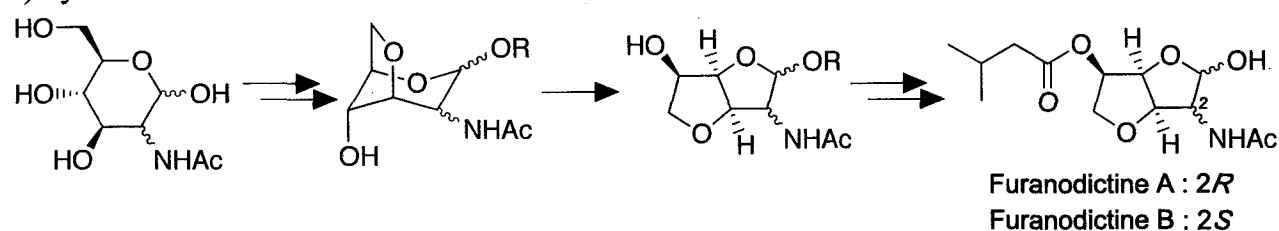


Fig. 3 Novel compounds isolated from *Dictyostelium* cellular slime molds.

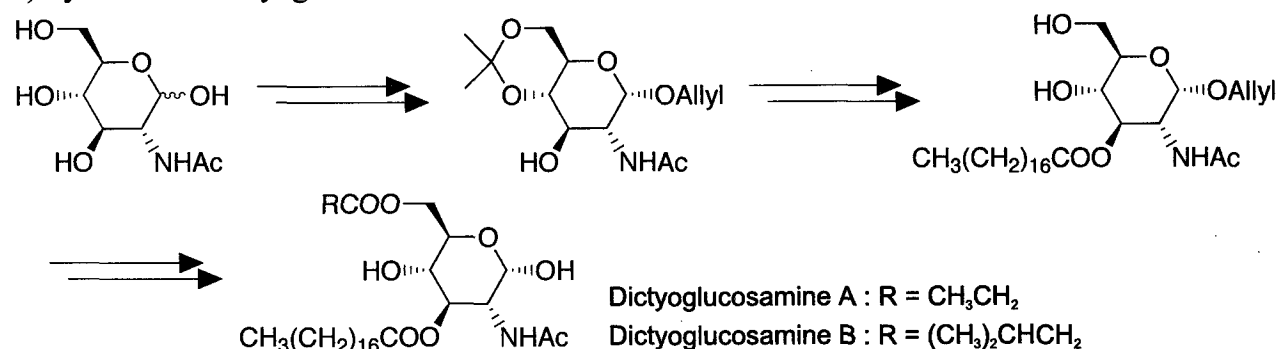
これらの化合物は、いずれも細胞性粘菌の培養子実体からは微量しか得られなかった。そこで、推定構造の確認、絶対構造の決定、および生物活性試験を行う上で十分な量を確保することを目的として、これらの化合物の合成に着手した。

Furanodictine A および B の合成は、それぞれ *N*-acetyl-D-glucosamine, *N*-acetyl-D-mannosamine を出発物質とし、3位-6位間でのエーテル結合形成と、それに続くフラノース型への異性化を鍵段階とする 11 段階の反応で達成された。Dictyoglucoamine A および B の合成は、ともに *N*-acetyl-D-glucosamine の 3 位、6 位の水酸基に対し、対応する脂肪酸を順次縮合させる 9 工程の反応により行った。また、brefelamide の合成は、2-fluoronitrobenzene からインドール化合物へと誘導し、さらにそれを酸化開裂することで 9 段階で合成することができた (Scheme 1)。

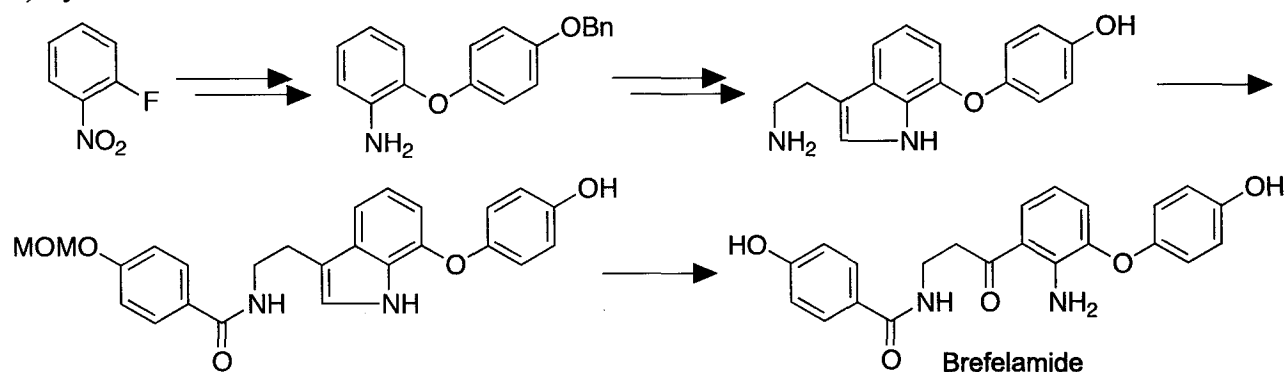
a) Synthesis of furanodictine A and B.



b) Synthesis of dictyoglucoamine A and B.



c) Synthesis of brefelamide.



Scheme 1 Syntheses of novel compounds.

続いて、これらの合成品を用いて生物活性についての検討を行った。その結果、furanodictine 類および dictyoglucoamine 類は、神経細胞のモデル細胞である PC12 細胞に対して神経突起形成促進作用を示

し、アルツハイマー病のような神経変性疾患に対する神経再生薬のリード化合物としての可能性が見いだされた。一方、brefelamide はヒトアストロサイトーマ細胞に対して細胞周期を G2/M 期で阻害することによる細胞増殖抑制作用を示すことが明らかとなり、抗腫瘍薬のリード化合物として期待される。

以上のことから、本研究では、細胞性粘菌が他の生物には見られないユニークな母核構造と哺乳類細胞に対する生物活性を有する興味深い二次代謝産物を産生しており、全く新しいリード化合物を探索する上での新規天然資源として非常に優れていることを明らかにした。

審査結果の要旨

細胞性粘菌は広く土壌中に生息する微生物の一種であり、他の生物にはない独特の生活環を有している。その生活環は、単細胞体で動物的な性質を持つ粘菌アメーバ、多細胞体で植物的な性質を持つ子実体という大きく異なる状態を併せ持っており、その途中の過程である形態形成期も含め、多彩な細胞機能を発揮する。このことから、細胞性粘菌は発生・分化・細胞運動の研究のためのモデル生物として広く用いられている。しかしながら、細胞性粘菌を天然物化学の見地から捉えた研究はこれまでほとんどなされていない。

本研究は、天然物化学あるいは創薬において未開拓な天然資源である細胞性粘菌に着目し、細胞性粘菌が産生する二次代謝産物に新しい生物活性物質を求めたものである。

数種の *Dictyostelium* 属細胞性粘菌の子実体を寒天培地にて大量培養し、そのメタノール抽出物に含まれる成分の網羅的な探索を行った。その結果、新規アミノ糖誘導体として furanodictine A, B および dictyoglucosamine A, B を、また、新規芳香族化合物として brefelamide を単離し、各種分光学的手法を用いて構造を決定した。Furanodictine 類は、フラノース型の *N*-acetyl-D-glucosamine が 3 位－6 位間でエーテル結合を形成した骨格を有する。Dictyoglucosamine 類は、ピラノース型 *N*-acetyl-D-glucosamine の 3 位に長鎖脂肪酸、6 位に短鎖脂肪酸が直接エステル結合した構造である。また、brefelamide は、天然物には珍しい 1,2,3-三置換ベンゼンを中心に、3つのベンゼン環が様々な官能基を介して直鎖状に連結した化合物である。これらはいずれも独特の母核構造や置換様式を有している。すなわち、本研究は、細胞性粘菌が多様な二次代謝産物を産生していることを示したといえる。

続いて、推定構造の確認および生物活性試験にとって十分な量を確保する目的で、それぞれの化合物の合成を行い、これらの化合物の生物活性を検討した。Furanodictine 類および dictyoglucosamine 類は、神経細胞のモデル細胞である PC-12 細胞に対して神経突起の形成を促進し、神経変性疾患における神経再生薬となり得ることを示唆した。一方、brefelamide は、ヒトアストロサイトーマ I321N1 細胞に対して G2/M 期の阻害による細胞増殖抑制作用を示し、抗腫瘍薬のリード化合物としての可能性が見出された。

以上、本研究は、細胞性粘菌が未知なる化学構造と哺乳類細胞に対する生物活性とを併せ持つ有用化合物の探索源として非常に優れていることを明らかにし、天然物化学におけるきわめて有益な知見を提供した。

よって、本論文は博士（薬学）の学位論文として合格と認める。