

(様式2)

学位論文の概要及び要旨

氏 名 武田 尚子 印

題 目 位置選択的硫酸化グリコサミノグリカンオリゴ糖の合成研究

学位論文の概要及び要旨

**【はじめに】**

プロテオグリカン(PG)は、結合組織、細胞外マトリックス、細胞表面にみられる巨大分子の一つであり、コアタンパク質に一つ以上のグリコサミノグリカン(GAG)が共有結合した構造を持っている。GAG は、アミノ糖とウロン酸またはガラクトース(Gal)が結合した二糖単位が繰返し結合した直鎖多糖であり、二糖単位の構造の違いによってヘパラン硫酸(HS)、コンドロイチン硫酸(CS)、デルマタン硫酸(DS)、ケラタン硫酸(KS)に分類される。また、これらの糖鎖の水酸基とHSのアミノ基はしばしば硫酸化されており、硫酸基の位置により、二糖単位はさらに細かい型に分けられる。発現される生理活性は糖鎖の微細構造を正確に読み取っているらしい。

現在生理活性を調べる際に使用されている GAG 多くは天然由来の市販品を用いているため、分子の微細構造と生理活性との関係を議論しにくい。そこで、GAG の糖鎖構造と生理活性の相関を明らかにするためには、構造が明確な GAG を得ることが重要となる。GAG の生理活性を分子レベルで明らかにするため、精密化学合成によって構造が明確なオリゴ糖を得ることとした。本研究では、HS と KS オリゴ糖の合成を行った。

**【ヘパラン硫酸オリゴ糖の合成】** [N. Takeda et al., *Carbohydr. Res.*, **353**, 13-21 (2012)]

ヘパラン硫酸プロテオグリカン(HSPG)は基底膜を構成している主要な成分の一つである。がん細胞は転移をする際、基底膜にある HSPG を分解するためにヘパラーゼを多量に放出するため、がん患者の血中のヘパラーゼ濃度は健常者より高くなる。がん細胞によって分泌されるヘパラーゼを鋭敏に検知出来ればがんの新しい診断法となる。2002年に Okada らは、クローニングされたヘパラーゼを用いて、ヘパラーゼに特異的なヘパラン硫酸の構造を明らかにしている。そこで、ヘパラーゼに特異的な硫酸化パターンを持つ  $\text{Glc}\beta\text{-GlcNS}(6\text{S})\alpha\text{-Glc}\beta\text{-GlcNS}(6\text{S})\alpha$  をオクチルグリコシドとして合成を行った(GlcA, グルクロン酸; GlcNS, N-スルホグルコサミン)。

まず、Glc-GlcN 二糖を四糖合成に使用する二糖 Donor と二糖 Acceptor へ誘導した(Glc, グル

コース; GlcN, グルコサミン)。これらの縮合では、詳細に条件検討を行った。その結果、Donorの脱離基に Cl を用いると $\alpha$ -四糖と $\beta$ -四糖の収率がそれぞれ 65%と 11%( $\alpha/\beta=5.9$ )となり、高収率で望む立体をもつ四糖保護体を得ることができた。続いて四糖保護体のオクチルグリコシル化を行った後、6位水酸基の選択的硫酸化と保護基の除去を行った。最後に行った *N*-硫酸化では、塩基として NaOH を使用した場合、標的化合物が 75%の収率で得られたが、非還元末端側のカルボニル基と GlcN3 位水酸基が Na<sup>+</sup>と錯体を形成し、活性化された結果と考えられる GlcN3 位水酸基が硫酸化された副生成物も得られた。この問題は反応に使用する塩基を Et<sub>3</sub>N に変えることにより解決し、GlcN3 位水酸基の活性化を抑制して、標的化合物のみ高収率で得ることに成功した。

### 【ケラタン硫酸オリゴ糖の合成】

[N. Takeda and J. Tamura, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, accepted.]

近年、KS が CS と同様に軸索神経障害作用に影響を及ぼしていることが報告されている。しかし、KS 繰返し二糖(Gal $\beta$ 1-4GlcNAc)の 6 位硫酸基と生理活性との関係については情報が乏しい(GlcNAc, N-アセチルグルコサミン)。実際に KS は非硫酸化体を含めると最小単位の二糖でも四種類の硫酸化パターンが存在する。これまで、軸索再生障害作用の研究は天然物由来の KS 多糖・オリゴ糖を使用してきたため、硫酸化パターンや糖鎖長などの KS の微細構造が及ぼす影響は明らかになっていない。そのため、構造が明確で系統的な硫酸化パターンをもつ KS 繰返しオリゴ糖が必要となる。本研究では四種類の硫酸化パターンを持つ KS 二糖を効率的に合成することを目的とした。四種類の硫酸化パターンを持つ KS 二糖を効率的に得るため、共通の二糖の 6 位保護基を位置選択的に脱保護した後、硫酸化を行うことを計画した。

初めに、D-グルコサミンから 1 位にドデシルチオ基をもつ単糖 Acceptor に誘導し、脱離基にイミドイル基をもつ単糖 Donor との縮合を行ったが、目的物である二糖の収率はわずか 2%で、ドデシルチオ基が分子間転移した Donor が収率 98%で得られた。縮合条件を検討した結果、ドデシルチオ基の分子内転移を抑制し、二糖を高収率で得ることに成功した。続いて、得られた二糖を共通二糖へと誘導した。そして共通二糖の 6 位保護基を選択的に除去した後 *O*-硫酸化を行い、四種類の硫酸化パターンを持つ KS 二糖保護体を得た。最後にすべての保護基を除去し、ビオチンリンカーを結合させることにより目的物である四種類の硫酸化パターンを持つ KS 二糖を得ることに成功した。

### 【まとめ】

本研究では、糖鎖の微細構造と生理活性の関係を分子レベルで明らかにするため、構造が明確な HS 四糖オクチルグリコシドと四種類の硫酸化パターンを持つビオチン化 KS 二糖の合成に成功した。