

氏名	BAI MINGXUE		
授与学位	博士(工学)		
学位記番号	博甲第183号		
学位授与年月日	令和2年3月19日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項		
学位論文題目	Anti-HIV mechanism of sulfated oligosaccharides (硫酸化オリゴ糖鎖の抗HIV性メカニズム)		
論文審査委員	主査	教授	新井博文
		教授	星野洋平
		准教授	菅野亨
		准教授	服部和幸
		准教授	佐藤利次

## 学位論文内容の要旨

これまでの研究で、硫酸化糖鎖の抗ウイルス性は HIV やインフルエンザウイルスの表皮タンパク質と硫酸化糖鎖との静電的相互作用、すなわち、硫酸基に由来する(-)電荷とウイルス表皮タンパク質中の(+)電荷との静電的相互作用によると考えられている。本論文の第1章は序論、第2章では抗ウイルス性バイオ材料の合成を目的にβ-シクロデキストリン(β-CD)の6位に Click 反応を利用してオリゴ糖鎖を結合させた新しい硫酸化β-CD糖鎖誘導体を合成し抗 HIV 性について検討した。第3章では硫酸化アルキルオリゴ糖鎖の高い抗 HIV 性を解明する目的でリポソームとの相互作用を SPR を用いて検討した。第4章はまとめである。

第2章で、β-CDの6位水酸基をヨウ素化し NaN<sub>3</sub>を用いた求核置換反応によりアジド基を導入し、続いてグルコースの1位をプロパギル化しアジド化β-CDとの Click 反応を行った。脱アセチル化、硫酸化して MTT 法により抗 HIV 性を測定した。マルトースからも同様に合成した。FT-IR、高分解能 NMR などを用いて構造解析を行った。<sup>1</sup>H NMR 測定から 4.5 ppm の6位水酸基プロトン(6-CH<sub>2</sub>OH)シグナルが完全に消失し、また FT-IR 分析で新たに 2108 cm<sup>-1</sup> にアジド基に由来するシグナルが現れたことにより7コの水酸基はすべてアジド基に置換されたことが分かった。Click 反応も効率的に進行しβ-CDの6位にトリアゾール環を介してグルコースまたはマルトースが導入された。抗 HIV 性は硫酸化β-CDではほとんど示さなかった(EC<sub>50</sub>>200μg/mL)が、グルコース分枝では 27.9μg/mL、マルトース分枝では 1.3μg/mL、50%細胞障害濃度(細胞毒性)は CC<sub>50</sub>>200μg/mL(デキストラン硫酸では EC<sub>50</sub>=0.3μg/mL、CC<sub>50</sub>>1000μg/mL)となり、分枝糖鎖が大きくなると高い抗 HIV 性を示した。抗ウイルス性は分子量に依存するが、β-CD にグルコースなどを分枝させるとクラスター効果により高い抗 HIV 性を示したと考えた。

第3章で、続いて硫酸化アルキルオリゴ糖鎖の高い抗 HIV 性を解明するために硫酸化アルキルマルト7糖を合成しリポソームとの相互作用を測定した。その結果、リポソームの脂質二重膜にアルキル鎖が相互作用することを見出した。この結果は長鎖アルキル鎖を導入した硫酸化糖鎖とリポソームとの相互作用と同じ結果であったことから、硫酸化アルキルオリゴ糖鎖の長鎖アルキル鎖が HIV の脂質二重膜と相互作用して抗 HIV 性は発現するものと考えた。

## 論文審査結果の要旨

長鎖アルキル鎖を導入した硫酸化アルキルオリゴ糖鎖は高い抗 HIV 性を示すが、作用メカニズムは未解明である。本研究では、オリゴ糖鎖の抗 HIV 性を調べるために、始めに  $\beta$ -CD にオリゴ糖鎖を導入したものを合成して抗 HIV 性を調べた。次に長鎖アルキル鎖の問題を解明するために長鎖アルキル鎖を導入したオリゴ糖鎖の抗 HIV 作用メカニズムを調べた。 $\beta$ -CD の 6 位水酸基にアジド基を導入し、1 位をプロパギル化したグルコースとの Click 反応を行い硫酸化した。抗 HIV 性は硫酸化  $\beta$ -CD ではほとんど示さなかった。グルコース分枝では 27.9  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、マルトース分枝では 1.3  $\mu\text{g}/\text{mL}$  となり、分枝糖鎖が長くなると高い抗 HIV 性を示した。抗ウイルス性は分子量に依存するが、 $\mu$ -CD にグルコースなどを分枝させるとクラスター効果により抗 HIV 性を示したと考えられた。次に硫酸化アルキルオリゴ糖の高い抗 HIV 性メカニズムを解明するために、マルト 7 糖の還元末端に Click 反応を利用して炭素数 12 のドデカンを導入した。抗 HIV 性は標準のデキストラン硫酸と同じ 0.03  $\mu\text{g}/\text{mL}$  という高い値を示した。リポソームとの相互作用を SPR、DLS で調べたところ、アルキル鎖を持つオリゴ糖鎖は相互作用することが分かったが、アルキル鎖の無いものは相互作用を示さなかった。この結果、アルキル鎖が HIV の脂質二重膜にペネトレーションした後に硫酸化オリゴ糖鎖が HIV 表皮タンパク質 gp120 の (+) 電荷集中部位と静電的に相互作用して抗 HIV 性を発現すると考えられた。

以上の研究成果は、国際学術誌に総合論文として掲載されるとともに、国内学会全国大会において一定の評価が得られている。本研究は、博士論文としての必要事項を全て満たしており、今後の研究の発展も期待できる。よって審査委員会は、BAI MINGXUE 氏に本学の博士（工学）の学位が授与される資格があることを認めた。