





学位論文審査報告書

報告番号	北里大 甲 第 1438 号	氏 名	Elyza Aiman Azizah Nur
論文審査担当者	(主査) 北里大学教授 長光 亨  (副査) 北里大学教授 今井 浩孝  (副査) 北里大学准教授 白畑 辰弥  (副査) 北里大学教授 大城 太一 		
<p>[論文題目]</p> <p>「Searching for neutral lipid regulators in mammalian cells from natural resources.」</p> <p>[論文審査結果の要旨]</p> <p>Elyza Aiman Azizah Nur 氏は、日本やインドネシアを含めた世界で問題となっている中性脂質が原因となる生活習慣病 (脂質異常症や動脈硬化症など) に焦点をあて、天然資源から細胞内の中性脂質の蓄積を阻害する生物活性物質の探索を行なった。その過程で、新規化合物 3 成分を含む 15 成分の天然化合物を発見し、その単離精製、構造決定、作用機序解析および構造活性相関研究を行なった。さらに、細胞内に蓄積した中性脂質を除去する化合物を探索するために、新たに細胞評価系を構築し、微生物資源から目的の活性を有する 8 成分の天然化合物を発見した。</p> <p>まず始めに、チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO-K1 細胞) を用いて、細胞内の中性脂質 (コレステリルエステル (CE) とトリグリセリド (TG)) の蓄積を阻害する化合物を探索した。その探索過程で、生薬であるビャクジュツ <i>Atractylodes rhizome</i> の抽出液から CE 蓄積を特異的に阻害する化合物を単離した。MS、¹H-NMR 及び ¹³C-NMR の各種機器分析の結果、セスキテルペン化合物 <i>atractylenolide</i> III (1)、ポリアセチレン化合物 14-acetoxy-12-seneciolyloxytetradeca-2<i>E</i>,8<i>E</i>,10<i>E</i>-trien-4,6-diyn-1-ol (2)、14-acetoxy-12-α-methylbutyl-2<i>E</i>,8<i>E</i>,10<i>E</i>-trien-4,6-diyn-1-ol (3) および 14-acetoxy-12-β-methylbutyl-2<i>E</i>,8<i>E</i>,10<i>E</i>-trien-4,6-diyn-1-ol (4) と同定した。ポリアセチレン化合物 3 と 4 は構造異性体の関係であり、HPLC による分離が難しく、混合物として精製した。これら化合物の中性脂質蓄積阻害活性を評価した結果、毒性を示すことなく CE 蓄積を特異的に阻害し、その IC₅₀ 値はそれぞれ 73、35 および 10 μM であった。さらに、これら化合物の作用機序解析を行なった結果、CE 生成の最終生成酵素である SOAT1 と SOAT2 (ステロール <i>O</i>-アシル転移酵素 1 と 2) を同程度阻害することを明らかにした。これらの知見は新規生物活性として報告し、日本や中国などで伝統生薬として使用されているビャクジュツが、脂質異常症や動脈硬化症に予防治療効果を示す可能性を示した。</p>			

つぎに、脂質異常症の標的分子として期待される SOAT1 と SOAT2 を選択発現させた CHO 細胞を用いて、SOAT 阻害剤の探索を行なった。その過程で、真菌 *Volutella citrinella* BF-0440 株の培養液に、目的の SOAT 阻害活性を見出した。この真菌 *V. citrinella* BF-0440 株を 14 日間静置培養し、SOAT2 発現 CHO 細胞における CE 生成阻害活性を指標に、溶媒抽出、ODS カラムクロマトグラフィー、最終的に高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて、目的の活性化化合物 (11 成分) を単離した。いずれの化合物も白色粉末として得られ、そのうち 3 成分 (terpendole N、O 及び P と命名) は新規化合物であった。これら構造については、各種 1 次元/2 次元 NMR 解析により、terpendole O は indole 環に cyclopentane 環、2 つの cyclohexane 環、tetrahydropyran 環、1,3-dioxane 環が連結した骨格を有し、20 位に epoxy 基を有する isopentenyl 基、31 位に 2-methyl-2-butene 基及び 11 位と 12 位に epoxy 基を有するインドールジテルペン化合物と平面構造を決定した。さらに、NOESY 解析により 38 位の炭素以外の不斉炭素の相対立体配置を決定した。Terpendole N と P についても、同様に解析を行い、平面構造と相対立体配置 (38 位の炭素以外) を決定した。次に、terpendole N、O 及び P の SOAT アイソザイムに対する阻害活性を評価した結果、terpendole N は阻害活性を示さなかったのに対して、O と P は SOAT1 と SOAT2 の両アイソザイムを同程度阻害することを明らかにした。さらに、本真菌の培養液より単離した全活性化化合物 (11 成分) の阻害活性評価から、1) SOAT 阻害活性発現に cyclopentane 環や 2-methyl-2-butene 基が必須、2) indole 環と hydroxy indoline 環ではいずれも阻害活性を保持、3) ヘミアミナル構造の水酸基がメチル化されている voluhemin B が SOAT2 に対して高い選択性を示すことを明らかにし、インドールジテルペン化合物群の SOAT 阻害に対する構造活性相関を明らかにした。これらの知見は、脂質異常症の予防治療薬としてのリードとしてだけでなく、SOAT アイソザイムの立体構造解析のツールになることを示唆した。

第 3 に、生活習慣病の病態を予防するのではなく、より病態を治療するという目的を設定し、細胞内に蓄積した中性脂質を除去する (分解する) 化合物の探索を行なった。これまで中性脂質の蓄積 (合成) を阻害する化合物は数多く報告されてきたが、蓄積した中性脂質を分解するという化合物はほとんど報告がなく、挑戦的な研究テーマであった。まず、用いる細胞の種類や培養時間などを検討し、新しく細胞評価系を構築し、微生物培養液 (約 5000 サンプル) を用いて、細胞内に蓄積した中性脂質の分解を促進する化合物の探索を行なった。本探索では、ヒット率 0.35% と非常に低いにもかかわらず、真菌の培養液から brefeldin A と beauveriolide 類、放線菌の培養液より oxohygroolidin 類を同定した。いずれの化合物も蓄積した中性脂質の分解を促進するという生物活性は初めての知見であり、未解明な部分の多い脂質分解経路を解明するためのツールとなることが期待された。

以上のように、Nur 氏は、天然資源から細胞内の中性脂質代謝を制御する化合物を探索し、新規化合物を含めた多くの天然化合物を発見し、単離精製、構造決定、作用機序解析や構造活性相関研究を行なった。これらは、脂質異常症や動脈硬化症などの生活習慣病の予防薬や治療薬のリードとしての可能性だけでなく、細胞内の脂質代謝を解明するツールとしても提案できるものであった。この一連の研究成果は、天然物創薬研究及びケミカルバイオロジー研究分野に大きく貢献するものであり、博士 (薬科学) の学位に値するものと判断し、学位審査を合格と判定した。