

氏名	TUVAANJAV SUVDMAA
授与学位	博士(工学)
学位記番号	博乙第31号
学位授与年月日	平成27年9月4日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項
学位論文題目	Structure and antiviral activity of water-soluble polysaccharides in Ulaan Goyo ( <i>Cynomorium songaricum</i> Rupr.) plant (鎖陽植物中の糖鎖構造と抗ウイルス性)
論文審査委員	主査 教授 吉田 孝 准教授 菅野 亨 准教授 服部 和幸 准教授 佐藤 利次 教授 阿部 良夫

### 学位論文内容の要旨

鎖陽(*Cynomorium songaricum* Rupr.)はオンシヤグジタケ科(Cynomoriaceae)の植物で中国北西部やモンゴルなどの乾燥した砂地、岩場、海岸、塩沼など土壌塩分が多い場所に広く分布している。滋養強壮や種々の疾患に効果があり中国やモンゴルなどで伝統医薬として使用されている。本研究では、この植物の水抽出液から水溶性糖鎖を単離しその構造をNMRとメチル化分析によって調べ、糖分析を行った。さらに硫酸化して抗ウイルス活性を調べた。

セファデックス G100とG75 カラムを用いて、水抽出物から水溶性糖鎖を精製(CSP-M)し、三分画(CSP-1, CSP-2とCSP-3)を単離した。分子量は水系 GPC により測定し標準デキストランと比較したところ、CSP-1、CSP-2、CSP-3 はそれぞれ $\overline{M}_n=3.6 \times 10^4$ 、 $\overline{M}_n=0.9 \times 10^4$ 、 $\overline{M}_n=2.9 \times 10^4$ であることが分かった。高分解能 NMR (600MHz, 40°C, D<sub>2</sub>O) および IR 測定により CSP-1 はグルクロン酸メチル残基を持つ酸性糖鎖であることを明らかにした。

IR および NMR 測定により CSP-1 糖鎖はカルボン酸メチルを持つのでグルクロン酸が含まれていると考えた。CSP-1 と CSP-2 糖鎖はカルボン酸メチルの吸収はなく、それ以外の吸収は同じであった。

そこで糖分析を行うためにCSP-1糖鎖のカルボン酸メチルをNaBD<sub>4</sub>によって還元し、2N TFAによって加水分解を行い得られた単糖を標準単糖と比較し、D-ガラクトース(2.4%)、D-マンノース(2.9%)、D-グルコース(83.6%)、L-アラビノース(4.6%)、D-リボース(2%)を持ち、CSP-2はD-ガラクトース(1.7%)、D-マンノース(3.6%)、D-グルコース(84.4%)、L-アラビノース(3.5%)、D-リボース(2%)を持ちグルコースが主成分であることを見出した。CSP-2糖鎖ではD-ガラクトース(35.3%)、D-グルコース(5.8%)、L-アラビノース(43.6%)、L-ラムノース(8.5%)となり、ガラクトースとアラビノースが主成分であった。

分画したCSP-1とCSP-2中のグルカンのNMR, IR, はデンブレンよ同じスペクトルを示したが、ヨウ素-デンブレン反応は陰性であり、2次元 NMR とメチル化分析の結果から、単離した糖鎖は(1→3)- $\alpha$ -D-グルコピラナンを主成分とすることを見出した。さらにガラクトースとアラビノースが主成分の糖鎖について解析を進めている。

硫酸化はCSP-1とCSP-2糖鎖をそれぞれDMSOに溶かしピペリジンN-スルホン酸を用いて行った。透析により精製し凍結乾燥させて硫酸化糖鎖とした。抗 HIV 作用は MTT 法によって行

った。硫酸化CSP-1,2 とCSP-M糖鎖のHIV 感染を50% 抑制する濃度は、それぞれ $EC_{50} = 0.4$   $\mu\text{g/ml}$ ;  $0.3 \mu\text{g/ml}$ と $0.3 \mu\text{g/ml}$ となり高い抗HIV作用を示すことが分かった。細胞毒性は低かった ( $CC_{50} = 1000 \mu\text{g/ml}$ )。硫酸化前のCSP-MとCSP-1糖鎖の抗HIV活性は示さなかった。さらにCSP-M,1,2と硫酸化CSP-M,1,2糖鎖をSPR共鳴装置によりペプチドやタンパク質のモデル化合物としてポリリジンとの相互作用を測定した。アミンカップリングキットによりポリ-L-リジンを固定化した CM5 センサーチップを使用した。SPR測定では硫酸化した糖鎖はポリリジンと強く相互作用したが、硫酸化していない糖鎖の相互作用は弱かった。抗ウイルス性は硫酸基が重要な役割を果していることが明らかになった。

## 論文審査結果の要旨

鎖陽 (*Cynomorium songaricum* Rupr.) はオシヤグジタケ科 (Cynomoriaceae) の植物で中国北西部やモンゴルなどの乾燥した砂地、岩場、海岸、塩沼などに広く分布し伝統医薬として使用されている。本研究ではこの植物の水抽出液から水溶性糖鎖を単離しその構造をNMR とメチル化分析等によって調べた。硫酸化すると高い抗ウイルス性を持つことを見出した。

種々のセファデックスカラムにより水溶性糖鎖を精製(CSP-M)し、三つの分画(CSP-1,CSP-2 と CSP-3)を単離した。分子量を水系GPCにより測定し、高分解能NMR (600MHz, 40°C, D<sub>2</sub>O) およびIR測定によりCSP-1はグルクロン酸メチル残基を持つ酸性糖鎖であることを明らかにした。

CSP-2糖鎖はカルボン酸メチルの吸収はなくそれ以外はCSP-1と同じであった。糖分析によりCSP-3はガラクトースとアラビノースが主成分であった。CSP-1とCSP-2中のグルカンのNMR, IRはデンプンと同じスペクトルを示したが、ヨウ素-デンプン反応は陰性であり、2次元 NMR とメチル化分析の結果から、(1→3)- $\alpha$ -D-グルコピラナンを主成分とすることを見出した。CSP-3 はメチル化分析に(1→4)- $\alpha$ -D-ガラクトースと(1→3)- $\alpha$ -L-アラビノースの主鎖にガラクトースの3位に (1→3)- $\alpha$ -D-グルコースとラムノースの枝が存在すると推定した。さらに硫酸化した糖鎖は高い抗HIV性を示し、作用メカニズムをSPR、DSL、ゼータ ( $\zeta$ ) 電位測定等により明らかにした。

これらの成果は国際専門学術誌に総合論文として掲載され、学会でも発表している。本研究の成果は博士論文として必要な事項をすべて満たし、かつ研究の発展性も期待できる。よって、申請者は北見工業大学博士 (工学) の学位を授与される資格があると審査委員会は認めた。