

文 献

- 1) Minamino T, Miyauchi H, Yoshida T, Ishida Y, Yoshida H, Komuro I. Endothelial cell senescence in human atherosclerosis. Role of telomere in endothelial dysfunction. *Circulation* 2002; 105: 1541-4.
- 2) Minamino T, Yoshida T, Tateno K, Miyauchi H, Zou Y, Toko H, Komuro I. Ras-induced vascular smooth muscle cell senescence in human atherosclerosis. *Circulation* 2003; 108: 2264-9.
- 3) Minamino T, Miyauchi H, Tateno K, Kunieda T, Toko H, Komuro I. Akt negatively regulates the in vitro lifespan of human endothelial cells via a p53/p21-dependent pathway. *EMBO J* 2004; 23: 212-20.

2. 免疫記憶T細胞分化過程におけるBcl6の関与機構の解析

千葉大学大学院医学研究院分化制御学
坂本明美

はじめに

感染免疫、腫瘍免疫において、免疫記憶リンパ球の存在と機能維持は根幹をなすものである。現在、記憶CD8T細胞の維持には、IL-7、IL-15が直接的な増殖因子として働き、IL-2が間接的な調節性因子として機能していることが明らかにされている[1]。ところが、免疫記憶T細胞の分化機構は未だ明確でない。

本研究ではウイルス感染モデルにおいて誘導される免疫記憶CD8T細胞の量的質的变化を解析した。さらに、効果的記憶B細胞の分化誘導に必須の分子として知られる転写抑制因子Bcl6の遺伝子改変マウスを用いて、Bcl6の記憶T細胞分化への関与の有無を検討した。

方 法

- 1) 免疫記憶T細胞の分化過程を解析する目的でC57BL/6 (B6) マウスバックの卵白抗原特異的T細胞レセプター遺伝子強発現マウス (OT1 マウス: Ly5.2) をモデルとして使用した。OT1 マウスよりナイーブCD8T細胞 (CD44-Ly6C-) を採取し、B6: Ly5.1マウスに移入後、卵白遺伝子を挿入したワクシニアウイルス (VV-OVA) で免疫して、活性化されたCD8T細胞の表現型を経時的に解析した。またそれぞれの細胞の増殖能、サイトカイン産生能を比較した。
- 2) Bcl6 ノックアウトマウス (Bcl6-KO), lck プロモータを用いBcl6をT細胞に強発現させたBcl6 トランスジェニックマウス (lck-Bcl6-Tg) を作製し、それぞれのマウスのCD8T細胞の数と表現型とを解析した。

- 3) Bcl6-KO, lck-Bcl6-TgをVV-OVAで免疫し、抗原特異的記憶CD8T細胞分化過程におけるBcl6の関与の有無を検討した。

結 果

- 1) VV-OVAの免疫により、ナイーブCD8T細胞はCD44+Ly6C+のエフェクター細胞へと3-7日間に変化した。14日よりCD44+Ly6C-とCD44+Ly6C+細胞とを認めた。CD44+Ly6C-細胞は再刺激後の増殖能がすぐれていたが、IFN- γ 、IL-2の産生能は低かった。一方、CD44+Ly6C+細胞はIFN- γ 、IL-2の産生能は高いが、増殖能は高い細胞と、低い細胞とが混在していた。生体内での抗原再刺激によってCD44+Ly6C+細胞の一部はCD44+Ly6C-細胞に変化して再増殖することから、この機能細胞と増殖細胞との可変性が生体内における記憶T細胞の維持に働いている可能性が示唆された。
- 2) 脾臓CD8T細胞の数と表現型を比較した。Bcl6-KOマウスではCD44+のメモリー表現型CD8T細胞が割合においても、実数においても著減し、逆に、lck-Bcl6-Tgマウスでは増加していた[2]。
- 3) マウスを免疫後、抗原特異的CD8T細胞の実数と再刺激後の細胞の機能を解析した。Bcl6-KOマウスでは野生型マウスにくらべ有意に記憶CD8T細胞が減少しており、lck-Bcl6-Tgマウスにおいては逆に約2倍に増加していた[2]。抗原ペプチド投与による再刺激後、Bcl6-KOマウス記憶CD8T細胞は増殖応答をほとんど示さなかったが、lck-Bcl6-Tgでは野生型の10-20倍の増殖応答を示した。このことからlck-Bcl6-TgマウスCD8T細胞はより増殖維持されやすい細胞として生体内に存続されることが示された。

考 察

CD8T細胞は免疫後にその表現型と性質を変化させながら、記憶T細胞へと分化する。Bcl6は増殖能の高い記憶CD8T細胞の分化維持に重要な転写抑制因子として機能することが明らかになった。今後この分化に関わる標的遺伝子を明らかにし、分子機構を明確にすることで、より効果的なワクチン療法の開発、免疫応答の調節法の開発など、臨床応用に繋がるものと期待する。

文 献

- 1) Ku CC, Murakami M, Sakamoto A, Kappler J, Marrack P. Control of homeostasis of CD8+ memory T cells by opposing cytokines. *Science* 2000; 288: 675-8.
- 2) Ichii H, Sakamoto A, Hatano M, Okada S, Toyama H, Taki S, Arima M, Kuroda Y, Tokuhisa T. Role of Bcl-6 in the generation and maintenance

of memory CD8+ T cells. Nat Immunol 2002; 3: 558-63.

3. 特異な生物活性を有する異常アミノ酸含有環状ペプチド類の合成

千葉大学大学院薬学研究院
牧野 一石

はじめに

アミノ酸は生体の主要な構成成分の一つであり、酵素やレセプター、情報伝達物質として重要な働きをしている。したがって一部の分子構造が改変された異常アミノ酸（非蛋白性アミノ酸）は特異な生物活性を示すことが多く、実際に医薬品として上市されることも少なくない。このような見地から、我々の研究室では多数の異常アミノ酸を含有する環状ペプチド類の化学的な合成に取り組んでいる。今回、パプアミドやポリオキシペプチンと呼ばれる非常に強い抗HIV活性(ED₅₀ 4 ng/mL)やアポトーシス誘起作用をもつ化合物を構成するβ-ヒドロキシ-α-アミノ酸の合成法に関する最新の研究成果を報告する。

方 法

β-ヒドロキシ-α-アミノ酸は2つの不斉中心が存在し、これらを立体的に制御し、かつ短工程で合成することが問題となる。アミノ基と水酸基がシン配置をもつスレオ型のものに関しては、すでにノーベル化学賞受賞者である野依らにより開発された方法論により合成可能であることが知られているが、アンチ配置をもつエリスロ型のものについては実用性の高い合成法は知られていなかった。我々は原料としてα-アミノ-β-ケトエステルを用い、2位アミノ基と3位カルボニル基との間に遷移金属錯体が配位した中間体を経て不斉水素化反応が進行するならば、アンチ選択的に還元が進行すると考えた（5員環遷移状態仮説）。このような仮説にもとづき、反応基質や反応剤、反応条件についてスクリーニングを行った。

結 果

様々なスクリーニングをおこなうことで、アンチ選択的不斉水素化反応に関して一般性の高い次のような知見を得るに至った。

1. アンチ選択的不斉水素化のためには、α位のアミノ基が塩酸塩でなくてはならない。
2. 反応剤としてはルテニウムまたはイリジウムの軸不斉型配位子（BINAP, OMe-BIPHEP）をもつ有機金属錯体が優れたジアステレオならびエナンチオ選択性を示す。

3. 反応条件は水素ガス加圧下（100気圧）で、ルテニウム錯体を用いた場合には溶媒としてジクロロメタンまたは*n*-プロパノールがよく、イリジウム錯体を用いた場合には酢酸を用いることが重要である。
4. C4位がアルキル基の反応基質の場合にはルテニウム錯体を用い、C4位がアリール基の場合にはイリジウム錯体を用いる。
5. イリジウム錯体を用いる場合には、添加物としてNaIおよびAcONaを共存させることで、生成物の光学純度の向上がみられる。
6. 反応剤として用いるルテニウム錯体ならびにイリジウム錯体は、反応基質に対してわずか500分の1の量でも問題なく動的速度論的分割と呼ばれる現象を経て反応が進行する。
7. 本反応は従来の野依らに見出された反応よりも、高い反応性を示すことが知られており、水素圧を30気圧としても6時間で反応が完結する。

なお、原料となるα-アミノ-β-ケトエステルは、1) 4-アルコキシカルボニルオキサゾールを塩酸加溶媒分解する方法、2) 塩基による*N*-Boc-*N*-アシルグリシン誘導体のN-Cアシル転位反応、3) グリシン誘導体のC-アシル化反応の3つの方法により容易に合成可能である[1]ことも同時に見出している。

考 察

前述のとおり、生体アミノ酸は酵素やレセプター、情報伝達物質として機能するタンパク質またはペプチドの構成分子であり、その分子構造の一部が改変された非蛋白性アミノ酸は新たな生物活性をもつことが期待され、今後医薬品の候補物質としてその重要性が注目されるものと予想される。今回我々の提供する方法論は、動的速度論的過程を経る触媒的不斉水素化反応と呼ばれる極めて効率のよいものであり、また近年、医薬品製造過程においてその必要性が求められている環境汚染物質の排出をほとんど伴わない環境に配慮した理想的なものである。このような観点から我々の基礎研究[2]は、現在さらに工業的なレベルでの医薬・農薬の合成法の開発研究に発展している。

我々の化学合成した非蛋白性アミノ酸が薬理学的な研究を行う上での分子ツールとしてや医薬品として近い将来利用されることが来ることを期待し、さらなる研究を活発に展開している。

文 献

- 1) Makino K, Okamoto N, Hara O, Hamada Y. Efficient enantioselective synthesis of (2*R*, 3*R*)- and (2*S*, 3*S*)-3-hydroxyleucines and their diastereomers through dynamic kinetic resolution. Tetrahedron: Asymmetry, 2001; 12: 1757-62.