

北方海洋微生物由来の生物活性物質の探索と開発

津田 正史 [北海道大学大学院薬学研究科／助教授]

背景・目的

日本は海洋資源に恵まれ、食用とされる魚介類や海藻などの種類が豊富である。魚介類や海藻類の体内あるいは表面には、種々の海洋微生物が共生または付着して生活している。これらの海洋微生物の代謝産物には、興味深い生物活性を示すものが見い出されている。本研究では、とくに北海道近海で容易に手に入る種々の海藻を材料とし、これらに共生または付着する海洋微生物（とくにカビ）を分離し、実験室で培養してそれらの抽出物より種々の薬理活性物質を単離することを目的とする。これらの中から、新たな生物活性物質が発見できれば医薬品開発のためのリード化合物として応用されることが期待できる。

内容・方法

北海道近海で採取した海藻類より、それらの体内あるいは表面に付着または共生している海洋微生物（バクテリア、カビ、微細藻）を分離し、予備培養を試験管スケールで行う。各培養株の抽出物に対して生物活性試験（殺細胞、抗菌、抗ウイルスなど）を行い、良好な活性を示す株を選別する。得られた菌株について、実験室で20L培養を行う。培養した菌体ならびに上清について、有機溶媒で抽出し、これらの抽出物について生物活性を指標にして、各種クロマトグラフィーを行い、活性物質の分離・精製を行う。単離した活性物質について、NMR、MSなどの各種機器分析を駆使するとともに化学変換などを行うことにより、化学構造を解明する。

結果・成果

紅藻ソデガラミより分離した*Cladosporium*属真菌（L037）をSC（スターチ-カゼイン）海水培地にて28℃で14日間培養し、10Lの培養液上清を分配し、上清の酢酸エチル可溶画分についてシリカゲルカラム（ヘキサン/酢酸エチル）を行い、さらに、逆相HPLC（メタノール/水）で精製することにより、新規マクロリドであるSporiolide A (2.7mg)とB (11.5 mg)を、既知化合物Cladospolide Dとともに単離した。一方、菌体からは既知化合物のCladospolide AとB、iso-Cladospolide B、*seco*-Paturolide Cを単離した。Sporiolide Aの構造は、2次元NMRデータを含む詳細なスペクトルデータの解析に基づいて、3位のベンゾイル基、4位にケトン、5位に水酸基を有する新規12員環マクロリドであると帰属した。一方、Sporiolide Bは、Sporiolide Aの3位のベンゾイル基がメトキシ基にかわった構造であることがわかった。

Sporiolide AとBは、マウス白血病細胞L1210に対して殺細胞活性 (IC_{50} 値:0.13、0.81 μ g/mL) を示した。Sporiolide Aは、*Candida albicans*、*Cryptococcus neoformans*、*Aspergillus niger*、*Neurospora crassa*に対して抗真菌活性を、グラム陽性細菌*Micrococcus luteus*に対して抗菌作用を示した。一方、Sporiolide Bは、*M. luteus*に対する抗菌活性を示すが、抗真菌作用は認められなかった。

流木より分離した*Aspergillus*属真菌（M143）を3%ペプトンを含むCzapek-Dox海水培地にて28℃で14日間培養し、2Lの培養液上清を分配し、上清の酢酸エチル可溶画分についてシリカゲルカラム（クロロホルム/メタノールおよびクロロホルム/エタノール）を行い、さらに、逆相HPLC（アセトニトリル/水/トリフルオロ酢酸）で精製することにより、新規アルカロイドSperadine A (12mg)を、既知化合物cyclopiazonic acid (17mg)とともに単離した。Speradine Aの構造は、2次元NMRデータを含む詳細なスペクトルデータおよびX線結晶解析の解析に基づいて帰属した。Speradine Aは、*M. luteus*に対して抗菌活性が認められた。

イガイより分離した未同定の真菌（N119）をペプトン-モルタルコース海水培地にて25℃で14日間培養し、1Lの培養液を菌体と上清に分離し、菌体の酢酸エチル抽出物について、シリカゲルカラム（クロロホルム/メタノール）を行い、さらに、逆相HPLC（メタノール/水）で精製することにより、2種の新規10員環マクロリドを単離した。これらはいずれも*M. luteus*に対して抗菌活性が認められた。

今後の展望

海洋性真菌類が医薬素材探索の生物材料として、重要な資源であるということを示すことができたと考えれる。今後は分離した他の真菌類からの生物活性物質の探索を検討し、新たな医薬シーズを開発したいと考えている。また、海洋性渦鞭毛藻*Amphidinium* sp.の培養藻体より、培養腫瘍細胞に対して顕著な殺細胞活性を示す7種の新規マクロリドを単離し、それらの化学構造を明らかにした。これらについても標的分子の探索や構造活性相関により抗がん剤のリード化合物として展開したいと考えている。