

海の化学生態学

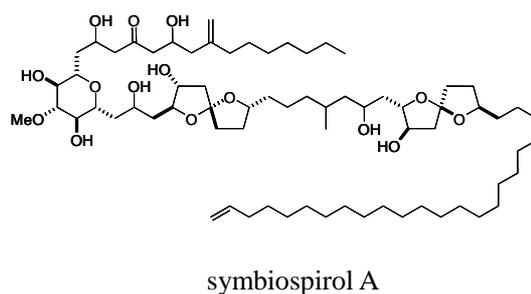
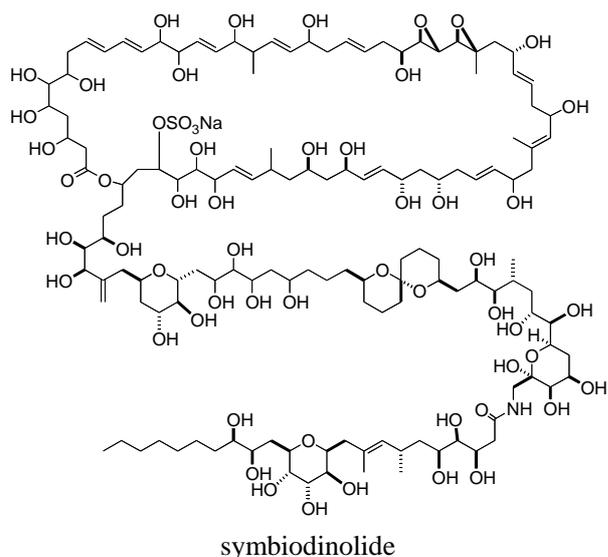
慶應義塾大学 上村大輔

1. はじめに

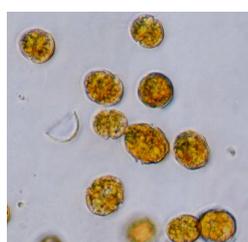
天然有機化合物研究の分野において、生物活性物質探索は長年にわたり我が国がリードして来た。天然由来化合物の構造や機能には、時として想像をはるかに超える目を見張るような斬新さがある。自然界に、まだ多くの有用化合物が眠っていることは確実であるが、従来の方法論で新規骨格を持つ物質を見出すことは年々困難になりつつあり、新たなパラダイムの確立が緊急の課題となっている。天然有機化合物研究の成否をわける最も重要な要因の一つは、フィールド研究から得られる洞察力である。フィールドにおけるダイナミックな生物現象に直接学ぶ過程で「化合物探索」に新機軸を打ち出せる可能性を秘めている。当研究室は、文部科学省科研費学術創製研究(平成 16 年度から平成 20 年度)のサポートを背景に海洋における共生現象を中心とした生態、陸上動物の麻痺性神経毒など多くの挑戦的課題を設定してきた。本講演では、それらの中から主に海洋における生物現象に着目したスクリーニング手法と、実際に探索・単離を試みた天然有機化合物の構造及びそれらの興味深い生理活性についての研究成果を報告する。

2. 渦鞭毛藻由来超炭素鎖有機分子の単離と機能

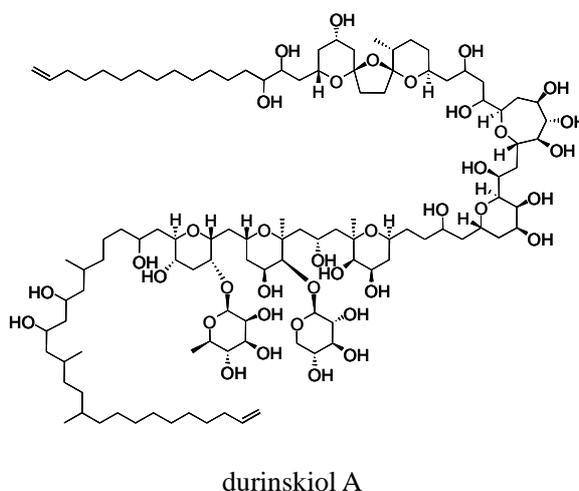
海洋生物の二次代謝産物には、腔腸動物毒パルトキシンや抗腫瘍性物質ハリコンドリリン Bをはじめ、特異な構造、生物活性を示すものが数多く見いだされている。このような二次代謝産物の真の生産者は多くの場合、海洋生物自身ではなく、共生もしくは食物連鎖の関係にある微細藻類であることが知られている。種々の海洋無脊椎動物に共生する渦鞭毛藻を獲得し培養した結果、ヒラムシの共生藻 *Symbiodinium* sp.より、分子量 2,860 を有する新規ポリオールマクロライド *symbiodinolide* を単離した。2D-NMR、MS など各種スペクトルの詳細な解析により、その平面構造と部分的な立体化学を決定した。また本化合物が低濃度 (7 nM) で Ca^{2+} チャンネルの開口作用を示すことを見いだした。現在、分解反応、および化学合成の両面から、全立体化学の決定を目指して精力的に研究を進めている。また、同じく *Symbiodinium* sp.より分子量 1,207 の新規ポリオール化合物 *symbiospirol A* を単離した。各種スペクトル解析を行い、分子内に 2 つの [5,5]-スピロケタール環を有することを特徴とする平面構造及び一部の立体構造を決定した。現在はその生理活性について評価を行っている。また、アカボシツバメガイの共生藻 *Durinskia* sp.の培養藻体から分子量 2,128 を有し、 C_{93} の炭素鎖からなる新規ポリオール化合物 *durinskiol A* を単離した。*durinskiol A* はゼブラフィッシュ幼生に対し、心臓付近の浮腫及び神経節における成長阻害といった形態の異常を引き起こした。さらに、現在は紅藻の共成藻から分子量約 5,150 の世界最大の海洋天然物を単離し、構造解析を進めている。



Symbiodinium sp.

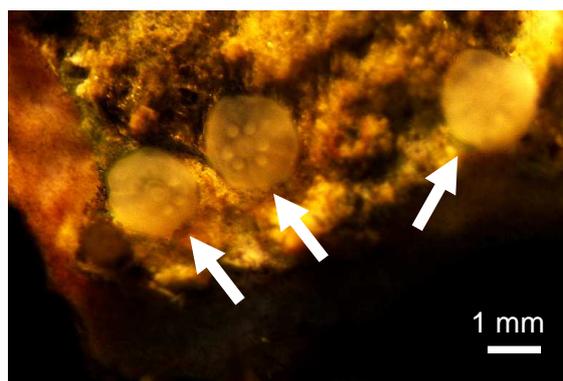


Durinskia sp.

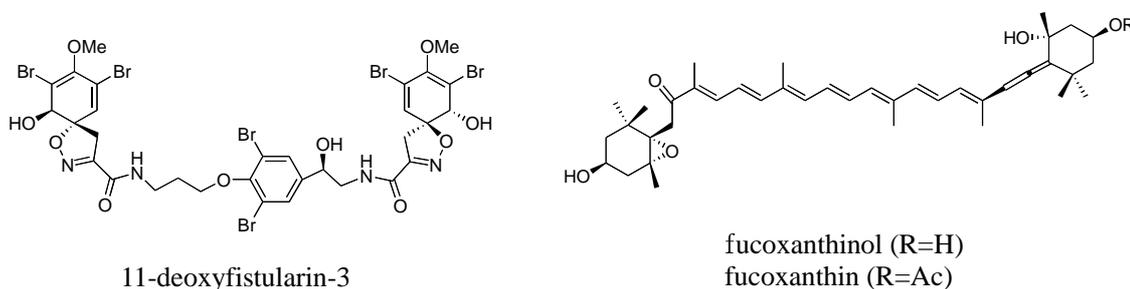


3. サンゴ幼生の着底変態誘引物質の解明

無節サンゴモ抽出物に含まれるサンゴ幼生の変態誘引物質として 11-deoxyfistularin-3 を単離した。これまでプロモチロシン誘導体は、カイメンなど種々の海洋生物から単離されていたが、細胞毒性や抗菌活性が知られるのみであった。本化合物が着底、変態という生態系において極めて重要な事象を制御する活性を示すことは今回初めて明らかになったことである。また、fucoxanthinol や fucoxanthin などのカロテノイドの極微量の添加が本活性を有意に増強するという興味深い知見を得た。このように化学構造が全く異なる複数の分子が関与するシステムの解明は、コンビナトリアルケミストリーや合理的分子設計によるアプローチでは一般に困難であると考えられる。本研究は大型実験水槽を導入し、実験室でサンゴ幼生の生態観察を詳細に行うことで初めて解明できた。海洋生態系の保全につながる画期的な成果であり、また物質探索研究において生態系の十分な観察とフィールド研究が極めて重要であることを示した好例であると言える。現在、活性物質の構造活性相関を調べるとともに、タヤマヤスリサンゴ以外のサンゴ幼生の変態誘引物質の探索を行っている。

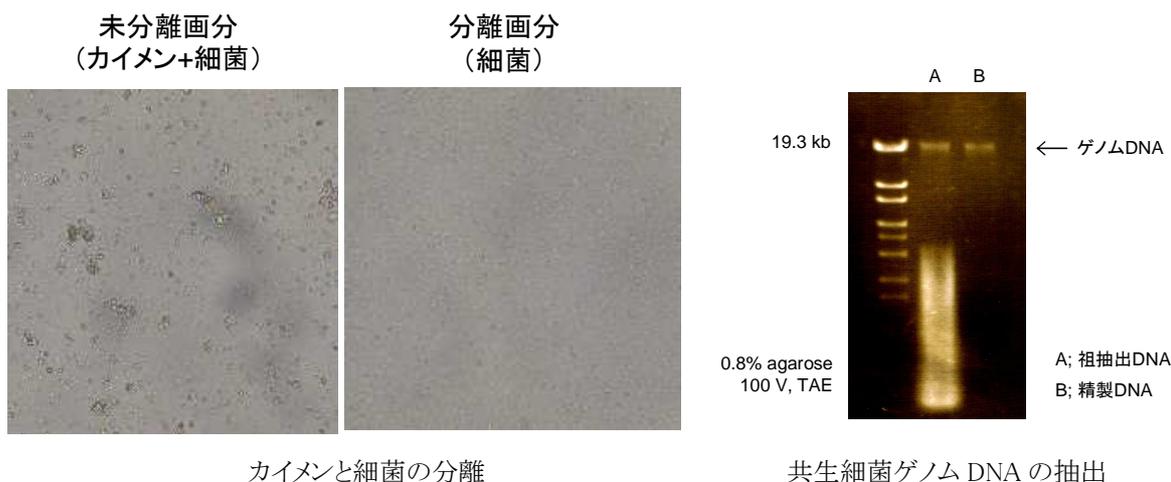


タヤマヤスリサンゴの幼生



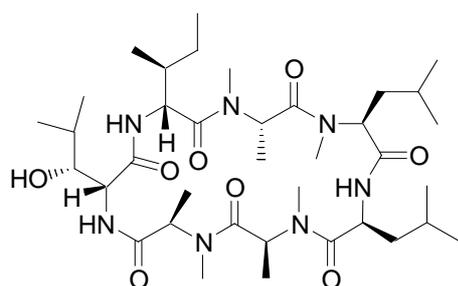
4. カイメン由来難培養性微生物の遺伝子を利用した生理活性物質の創製

カイメンに共生する微生物は様々な二次代謝産物を産生すると考えられているが、共生微生物の多くは人工的に培養することが困難である。そのため、新たな物質探索の手段としてカイメンに共生する難培養性の微生物の遺伝子を用いたメタゲノムライブラリーを構築し、有用物質生産につながる研究を試みている。三重県古里海岸で採集したクロイツカイメンの組織破砕物を低回転数(600 x g)で遠心分離して得た上清を高回転数(5,000 x g)で遠心分離して上清を除去したところ、粒径が小さく均一な細胞のみの存在が確認できた。それらを DAPI 染色し、蛍光顕微鏡を用いた解析を行ったところ細菌である事が確認されたことから、上記方法で海綿の細胞と共生細菌を分離できることが分かった。得られた細菌画分よりゲノム DNA の抽出を行ったところ、分解して低分子領域に現れた DNA が多数存在したため、高分子量の DNA をゲルから切り出しβ-agalase を用いて抽出を行うことで約 40 kbp の高分子量ゲノム DNA を高純度で得ることに成功した。今後は、得られたゲノム DNA を用い大腸菌でメタゲノムライブラリーを構築する予定である。そして、その中より有望株の探索を行い物質生産へと応用できる研究を試みたいと考えている。

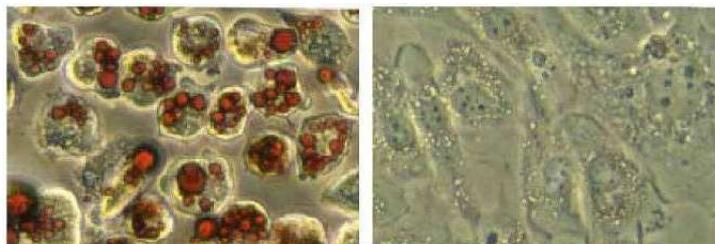


4. 脂肪蓄積阻害物質(-)-ternatin の発見

キノコ的一种カワラタケ *Coriolus versicolor* より単離した環状ヘプタペプチド(-)-ternatin が白色脂肪細胞に対する強力な脂肪蓄積阻害活性を示すことを見出した (EC₅₀ 値 0.14 μg/mL)。本化合物は以前、抗菌活性物質として報告されていたが、脂肪蓄積阻害活性を有することは今回初めて見出された。今後、抗肥満剤の開発に向けたリード化合物として有望視される。また、化学合成により(-)-ternatin の立体化学を確認するとともに、種々の受容体拮抗活性試験に付した結果、5種のサイトカイン (IFN-γ, TNF-α, IL-2, IL-4, IL5) の産生抑制活性が見られた。また、制がん活性で注目されているトポイソメラーゼ I 阻害活性も確認された。本研究で重要視している、広範な生物活性評価により化合物の有用性を示した好例であると言えよう。さらに、万有製薬株式会社との共同研究により、本化合物を白色脂肪細胞 (3T3L1) の前駆細胞に添加すると、極低濃度で分化誘導関連転写因子の発現が mRNA レベルで抑制されることを見出し、脂肪蓄積阻害活性の作用機序解明の糸口を掴んだ。



(-)-ternatin



成熟脂肪細胞 (左) 及び 1 μg/ml (-)-ternatin を添加した脂肪細胞 (右). 赤色の粒は蓄積した脂肪滴を示す.

5. まとめ

以上のように、本研究では主として海洋での生物現象から真摯に学び特異な生態系でくり広げられる生命現象に注目し、「切れ味のよい」有用天然有機分子の探索を試みてきた。顕著な生物活性を有する

新規天然有機化合物の発見は、しばしば関連科学分野の飛躍的發展につながる。そのような重要化合物の発見には先見性の高いテーマ設定と、分離分析科学の粋を集めた構造研究が共に不可欠である。今後も新規化合物の構造決定のみで満足することなく、その展開利用までを視野に入れた姿勢での研究に取り組んでいきたいと考えている。

<参考文献>

1. (-)-Ternatin, a highly *N*-methylated cyclic hepta-peptide that inhibits fat accumulation: structure and synthesis. Shimokawa, K., Mashima, I., Asai, A., Yamada, K., Kita, M., Uemura, D. *Tetrahedron Lett.*, **2006**, *47*, 4445-4448.
2. Bioorganic Studies on Marine Natural Products. - Diverse Chemical Structures and Bioactivities-. Uemura, D. *Chem. Rec.* **2006**, *6*, 235-248.
3. Characterization of a Natural Inducer of Coral Larval Metamorphosis. Kitamura, M., Koyama, T., Nakano, Y., Uemura, D. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **2007**, *340*, 96–102.
4. Symbiodinolide, a novel polyol macrolide that activates N-type Ca²⁺ channel from the symbiotic dinoflagellate *Symbiodinium* sp. Kita, M., Ohishi, N., Konishi, K., Kondo, M., Koyama, T., Kitamura, M., Yamada, K., Uemura, D. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 6241-6251.
5. Durinskiol A: A Long Carbon-Chain Polyol Compound from the Symbiotic Dinoflagellate *Durinskia* sp. Kita, M., Roy, M. C., Siwu, E. R. O., Noma, I., Takiguchi, T., Itoh, M., Yamada, K., Koyama, T., Iwashita, T., Uemura, D. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 3423-3427.
6. Relative Stereochemistries of the Ether Rings and Sugar Moieties in Durinskiol A. Kita, M., Roy, M. C., Siwu, E. R. O., Noma, I., Takiguchi, T., Yamada, K., Koyama, T., Iwashita, T., Wakamiya, A., Uemura, D. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 3429-3432.
7. Convergent Synthesis and in Vivo Inhibitory Effect on Fat Accumulation of (-)-Ternatin, a Highly *N*-Methylated Cyclic Peptide. Shimokawa, K., Yamada, K., Kita, M., Uemura, D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 4447-4449.
8. Biological activity, structural features, and synthetic studies of (-)-ternatin, a potent fat-accumulation inhibitor of 3T3-L1 adipocytes. Shimokawa K, Mashima I, Asai A, Ohno T, Yamada K, Kita M, Uemura D. *Chem Asian J.* **2008**, *3*, 438-446.