

菌類が産生する機能性物質に関する研究



静岡大学大学院農学領域 崔 宰 熏

はじめに

菌類とは、一般にキノコ・カビ・酵母と呼ばれる生物の総称であり、菌界に属する生物を指す。外部の有機物を利用する従属栄養生物である。その中のキノコを対象とした小分子である機能性物質や薬理活性物質の天然物化学的研究は他の生物種のそれに比較して多いとは言えない。筆者らは菌類(主にキノコ)が産生する植物成長調節物、小胞体ストレス誘導神経細胞死抑制物質、破骨細胞形成阻害物質について現在至るまで研究してきた。以下に研究成果の概要を紹介する。

1. 植物成長調節物質

1-1. フェアリー化合物

本研究に関する最新の成果はNature誌(505巻298頁2014年)やアメリカ化学会Chemical & Engineering News(92(4)2014年1月27日発行)などに紹介されている。それらの内容と現在研究している内容を紹介する。

芝が大きな曲線を描いて周りに比較して色濃く繁茂し、時には成長が抑制され、後にキノコが発生するフェアリーリングという現象が知られている。「妖精が輪を作ってその中で踊る」と伝えられてきたこの現象について、最初の科学論文が報告されたのは1675年のことである。この論文がNature誌(29巻384頁1884年)に紹介されて以降330年間、妖精の正体(芝を繁茂させる原因)は謎のままであったが、筆者らが微生物と植物が織りなすこの神秘的謎に初めて化学のメスを入れ、遂にその妖精の正体を明らかにした。実際に静岡大学キャンパスでコムラサキシメジ(*Lepista sordida*)によるフェアリーリングが現れたことから、その菌類を用い研究開始のきっかけになった。筆者らは、フェアリーリングを惹起するコムラサキシメジ培養液から、シバ生長促進物質2-アザヒポキサンチン(2-azahypoxanthine, AHX)とシバ成長抑制物質イミダゾール-4-カルボキシアミド(imidazole-4-carboxamide, ICA)の単離、同定に成功した(図1)。両化合物が天然から見出されたのは初めてである。さらにAHXは植物体内で2-アザ-8-オキシヒポキサンチン(2-aza-8-oxohypoxanthine, AOH)に代謝されることを見出した。これら3つ化合物を、Nature誌がこの研究を紹介した記事の見出し“fairy chemicals”から“フェアリー化合物(FCs)”と命名した。イネやコムギなど調べた全ての植物の成長をその属する科に関わらず調節し、植物に普遍的に内生していることを明らかにした。さらに、イネのcDNAマイクロアレイやRT-PCRの検討によって、FCsは既知の植物ホルモンとは全く異なる挙動を示すこと、GST、BBI、OsTIP2;1の発現量が大きく増大された。GSTは、植物を解毒、ストレス(低温、塩など)から保護する働きをし、BBIは病原菌への抵抗性を付与及び塩ストレスからの保護に関わっている。GST遺伝子を導入したイネは低温や塩ストレスに耐性ができたという報告もある。この遺伝子導入イネに関する文献同様の方法でイネの成長

に対するAHXの効果を試してみたところ、AHX処理によってイネは、GST遺伝子導入イネと同様に、低温や塩ストレス下での成長が回復した。また、TIP2;1はアンモニア/アンモニウムイオンの輸送に関与している。それらの遺伝子発現促進により、温度や塩など非生物的ストレスに対する耐性をイネに与えること、そしてアンモニア態窒素と全窒素のイネへの吸収を大幅に高めて成長を促進することを明らかにした。FCsは5-aminoimidazole-4-carboxamide(AICA)から化学的に合成される。AICAはあらゆる生物に存在しているが、その化合物の代謝については全く不明であったため、筆者らは、化学合成経路と同じくAICAがAHXに代謝される生合成経路が植物に存在すると仮定して研究を行い、新規プリン代謝経路を発見した(図1)。さらに筆者ら、図1のようにAICAリボチド(AICAR)からAHXリボチド(AHXR)とAOHリボチド(AOHR)を経てAHXとAOHに代謝される可能性も考えた。APRTに類似した反応を触媒する酵素として、hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase(HGPRT)が知られており、ホスホリボースの付加・脱離反応によってhypoxanthine(HX)とIMPおよびguanineとGMPの可逆的な相互変換反応を触媒している。HGPRTを大腸菌に形質転換し、HXとIMPの可逆的な変換活性を持つタンパク質が得られ、その酵素でAHXとAOHが触媒することが明らかになった。またFCsを処理したイネに新たな代謝産物が産生することが明らかになり、それらの代謝産物の精製と構造決定に成功した。フェアリー化合物の生合成経路は未だ不明な点が多い、AHXとICAが最初に得られ、培養が容易で条件検討等が行いやすいコムラサキシメジを用いて実験を進めている。L. sordidaにおけるAHX及びICAの生合成にL-Argが関与していること、nitric oxide synthase

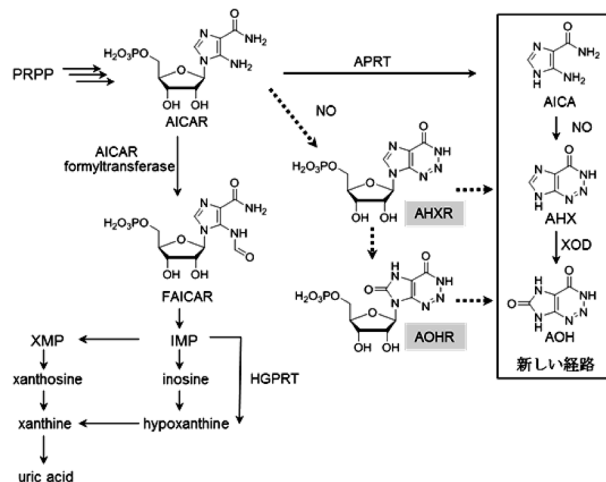


図1 既知プリン代謝経路と新規フェアリー化合物生合成・代謝経路(灰色は推定生合成前駆体、破線は推定経路、枠内はこれまでに同定した新経路)

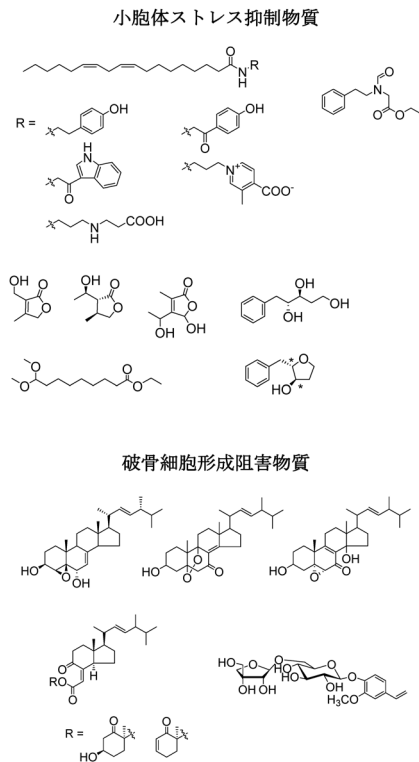


図2 様々な菌類から活性物質を単離し、構造決定した新規化合物

(NOS) によって L-Arg から生成する NO が関与している。また、コムラサキシメジゲノムからタンパク質同定に利用可能な LC-MS/MS 解析用のデータベースの構築も行った。さらに、活性を有するタンパク質同定用の FCs を結合させたプローブ分子の合成と FCs の実験室における簡易大量合成法も成功しそれらを用いた代謝産物と生合成・代謝に関わるタンパク質についても、研究が進行中である。以上の知見から、筆者らは「FCs は新たな植物ホルモンである」可能性が高いと考えている。このように、本研究は FCs を新規植物ホルモンとして位置づけ、植物のストレス生理学あるいは新規植物成長調節物質の開発研究に新たな切り口を提供するとともに、化学物質を介した異種生物間クロストークの意義と共進化の謎を解明するための糸口を与えることができると期待される。

1-2. その他

多くの植物は糸状菌（カビやキノコ）と共存・共生して生きている。植物と菌の共存・共生関係を介して自然現象が現れる。フェアリーリングに関与する FCs のように様々なキノコ抽出物から植物成長調節活性を有する化合物の探索を行い、ベニタケ (*Russula vinosa*)、ヤマブシタケ (*Hericium erinaceus*)、ナラタケ (*Armillaria* sp.)、キシメジ (*Tricholoma flavovirens*)、サケツバタケ (*Stropharia rugosoannulata*) から活性物質を単離し、構造決定した。

2. 小胞体ストレス誘導神経細胞死抑制性物質

認知症の発症のメカニズムは多岐にわたり、未解明な部分も

多い。アルツハイマー病などの一因とされる小胞体ストレス誘導細胞死を抑制する物質の探索研究を行い、ブナハリタケ (*Mycoleptodonoides aitchisonii*)、アカヤマドリ (*Leccinum extremiorientale*)、オオシロアリタケ (*Termitomyces titanicus*) から活性物質を単離に成功した (図2)。

3. 破骨細胞形成阻害物質

骨粗鬆症の予防及び治療には破骨細胞による骨吸収を抑制することが有効と考えられ、菌類抽出物の破骨細胞形成阻害スクリーニングの結果をもとに研究を行い、マコモタケ (*Ustilago esculenta*) が感染した *Zizania latifolia*、アンニンコウ (*Grifola esculenta*)、アカヤマドリ (*Leccinum extremiorientale*)、チャジュタケ (*Agrocybe chaxingu*) から活性物質の単離に成功した (図2)。おわりに

本研究では様々な菌類から生物活性を持つ化合物の探索スクリーニングを行い、菌類が生産する天然物は興味ある化合物を多数報告している。このような新規リード化合物の探索することで、フェアリーリングの研究のように大きな研究につながった。多くの生物の全ゲノム情報が判明しているが、生命現象を直接制御しているのは小分子であり、このことが天然物化学研究の重要性を示している。特にキノコと生物間の共存・共生下の現象に興味があり、挑戦している。

謝 辞

本研究のすべては、静岡大学農学部において行われたものです。本研究を行う機会を与えていただき、特に博士課程時代からこれまで終始一貫してご指導とご激励でフェアリーリングの正体の化学的解明からそれらの正体の生合成経路と作用機構まで興味深い分野に飛び込んでいく機会をいただきました静岡大学グリーン科学技術研究所教授・河岸洋和先生に心より深く感謝を申し上げます。有益なご助言と励ましをいただきました農学部生物化学研究室名誉教授・碓氷泰市先生、同教授・平井浩文先生、同准教授・村田健臣先生に深く感謝申し上げます。興味深い分野で勉強できる機会をいただきました Lee Eun-Woo 博士に深く感謝申し上げます。フェアリー化合物やプローブなどの合成について多くの貴重なご助言をいただき研究にも多大なご協力をいただきました静岡県立大学薬学部教授・菅敏幸先生、同講師・稲井誠先生、東海大学・講師・浅川倫宏先生に深く感謝申し上げます。共同研究でコムラサキシメジゲノム解析をいただきました宇都宮大学准教授・鈴木智大に深く感謝申し上げます。共同研究で生物活性試験をいただきました東京海洋大学教授・矢澤一良先生、同准教授・小山智之先生と甲子園大学教授・長井薫先生に深く感謝申し上げます。また、博士時から研究の基本についてご指導を賜った静岡大学農学部の諸先生方にも深謝申し上げます。本研究の成果は、静岡大学農学部生物化学研究室の修了生、院生、学部生、研究補助員諸氏の努力による賜物であり、改めて感謝の意を表します。最後に、本奨励賞にご推薦下さいました日本農芸化学会中部支部長・堀尾文彦先生 (名古屋大学大学院生命農学研究科教授) に厚く御礼申し上げます。