



## 高等菌類由来の生物活性物質に関する化学的研究

静岡大学農学部 呉 静

### はじめに

筆者は、キノコの生物活性2次代謝産物の天然物化学的研究を行っている。各種キノコから小胞体ストレス誘導神経細胞死抑制、子実体形成誘導、低酸素誘導因子阻害、免疫チェックポイント阻害、植物成長調節、破骨細胞形成阻害、抗植物病原菌などの生物活性物質の精製、構造決定、作用機構の解明を行ってきた。これまでに28種のキノコから約150化合物の単離に成功している。

### 1. 新規ステロイド骨格化合物の発見

サケツバタケ (*Stropharia rugosoannulata*) 子実体から全く前例の無いステロイド骨格を持つ strophasterol A から D (1-4) を発見し、strophasterol A は小胞体ストレス誘導神経細胞死抑制活性を有していた (図1)。この成果は *Angew. Chem. Int. Ed.* に掲載された。審査員のコメントは「The exciting skeleton of the strophasterols has not been observed in nature before」<sup>1)</sup> とあり、この業績は多くの論文や総説に引用されている<sup>1)</sup>。

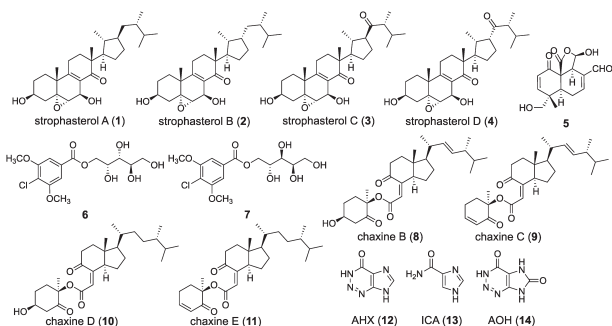


図1. Strophasterol類, FLs, chaxine類とFCsの構造

### 2. 高等菌類におけるホルモンの解明

多くの生物種は、特有のホルモンを有している。しかし、キノコにおけるホルモンは明らかにされていない。キノコを形成する高等菌類は、胞子から菌糸、菌糸から子実体、そして子実体から胞子という生活環を持っている。筆者らはキノコの生物活性物質の研究を続ける中で、2次代謝産物のキノコ自身に対する役割を解明したいと考え、以下の3つの全く異なるアプローチによって、「キノコは何故、生活環をもっているのか、それぞれの生育段階でどのような分子を創り、何故、それらを創っているのか」を解明し、歴史上初めて「キノコホルモン」の発見を目指している。

#### 2-1. Fruiting liquid (FL) からのホルモン候補分子の探索

菌類は子実体を発生させる直前に液体を分泌する。この現象はキノコに共通であるが、液体が分泌される意味や役割を誰も注目していなかった。筆者らは、この液体が子実体形成に深く関与していると考え、fruiting liquid (FL) と命名した。そして、キノコ栽培業者の協力で各種FLを大量 (栽培ポット数千個分) に入手し、クリタケ (*Hypholoma sublateritium*) FLお

よびヤマブシタケ (*Hericium erinaceus*) FL から子実体形成誘導物質 (5-7) を発見した<sup>2)</sup> (図1, 「ACS Editors'Choice」に選抜され、*Chemical & Engineering News* にも紹介された)。

#### 2-2. 「キノコホルモンのひとつはステロイド」仮説の証明

植物や動物にはステロイドホルモンが存在する。キノコは一般にステロイドを多種多様に産生している。筆者らは、キノコにもステロイドホルモンが存在するという仮説を持ち、サケツバタケからの前例の無いステロイド骨格化合物 strophasterol 類と所属する研究室で発見されたチャジユタケ (*Agrocybe chaxingu*) からの chaxine 類をホルモン候補として考えた (図1)。何故なら「これらの化合物はエルゴステロールからエネルギーを要する経路で生合成されており、キノコは目的をもって化合物を創っている」と考えたからである。そして、strophasterol A (1) に子実体形成誘導活性を見出し、chaxine B (8) は菌糸体成長促進活性を示した。さらに分類学的には異なった多くのキノコに strophasterol 類 (1-4) と chaxine 類 (8-11) が内生することが明らかになった<sup>1,3,4)</sup>。

#### 2-3. フェアリー化合物のキノコホルモンとしての証明

当研究室は、コムラサキシメジ (*Lepista sordida*) から植物成長制御物質 AHX (12) と ICA (13) を発見し、植物体内での AHX の代謝産物 AOH (14) を得、FCs が新しい植物ホルモンであることを提唱している (図1, この3化合物をフェアリー化合物, fairy chemicals と総称, FCs と略称)。一方、FCs はマツタケやトリュフ菌糸成長を促進し、ブナシメジ、ヤマブシタケ、エノキタケの子実体形成を誘導した。さらに分類学的に遠縁の多くのキノコに FCs の内生を見出した<sup>5)</sup>。元々キノコから発見された FCs が、キノコにも共通のホルモンとして重要な役割を担っている可能性を示唆している。

この3つのアプローチは候補者らの研究成果、発想、仮説に基づいている。上記の化合物はキノコ界初のホルモンである可能性が示唆されている。特に、FLの2次代謝産物の研究は今回が世界で初めてである<sup>2)</sup>。

### 3. 低酸素誘導因子阻害物質の探索

低酸素誘導因子 (hypoxia-inducible factor, HIF) は細胞に対する酸素供給が不足状態に陥った際に誘導される転写因子であり、低酸素適応応答、幹細胞の維持、炎症の制御等の恒常性維持を含む多彩な生理活性を有している。一方で、HIF が過剰発現することが、癌の発症・進展に大きく関わっていると考えられている。候補者は各種キノコ抽出物から活性物質の探索を行

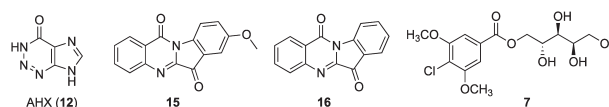


図2. 低酸素誘導因子阻害物質

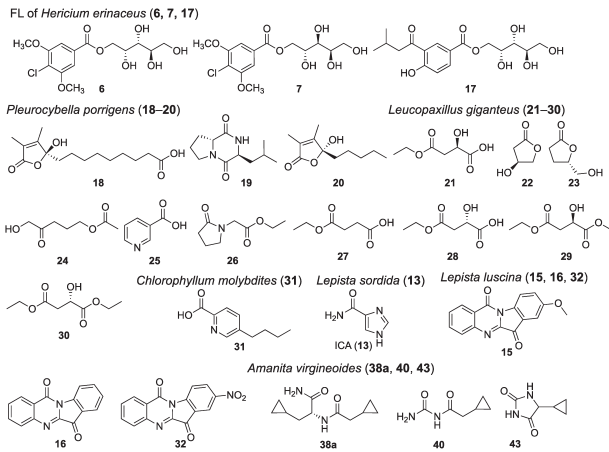


図3. Axlおよび免疫チェックポイント阻害物質

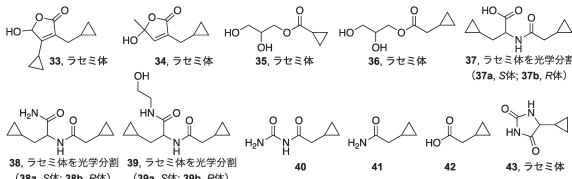


図4. シロタニタケ由来の化合物

い、*Lepista luscina* から化合物 **15** と **16** の単離に成功し、AHX (**12**) とヤマブシタケ FL 由来の化合物 **7** に活性を見出した<sup>2,6,7)</sup>。

#### 4. Axl および免疫チェックポイント阻害物質の探索

Axl は癌細胞に過剰に発現され、増殖や転移などに関与する。また、免疫チェックポイント阻害剤は、免疫抑制機構を解除し、癌に対する免疫反応を活性化する新たな治療法である。筆者らはヤマブシタケ FL (**6, 7, 17**)、スギヒラタケ (*Pleurocybella porrigens*, **18-20**)、オオイチョウタケ (*Leucopaxillus giganteus*, **21-30**)、オオシロカラカサ (*Chlorophyllum molybdites*, **31**)、コムラサキシメジ (**13**)、*Lepista luscina* (**15, 16, 32**) およびシロオニタケ (*Amanita virgineoides*, **38a, 40, 43**) から Axl や免疫チェックポイント阻害活性物質の単離に成功した (図3)<sup>2,8-13)</sup>。特に、シロオニタケの子実体から様々なシクロプロパンを持つ化合物 (**33-43**) を発見し、不斉炭素をもつ全ての化合物がラセミ体であることを明らかにした<sup>13)</sup> (図4)。

#### 5. 植物成長調節物質の探索

植物の成長を制御する物質の探索を行い、コムラサキシメジ、キシメジ、サケツバタケ、ヤマブシタケ、アカヤマドリ、シヨウゲンジ (*Cortinarius caperatus*)、*Russula vinosa*、チャナメツムタケ (*Pholiota lubrica*)、オオイチョウタケおよびオオシロカラカサから活性物質を単離し、構造決定した<sup>3,4,9,12,14)</sup>。

おわりに

本研究において、筆者はキノコからの生物活性物質の探索研究を行った。キノコは未開拓・未解明な生物資源である。生物活性物質の天然物化学的・食品科学的・生化学的研究は、キノコ研究の新しい一面を切り拓いたと言えるかもしれない。また、キノコホルモン発見の糸口になる研究成果は国内外を通じて一切無い。キノコに関する生活環境制御分子 (ホルモン候補) を明らかにできれば、天然物化学・基礎生物学等における学術的成果は極めて大きく、加えて、これまで不可能であったトリュフやマツタケの人工栽培への道を開き、産業、社会に与えるインパクトも極めて大きい。

#### (引用文献)

- 1) Wu, J., Kawagishi, H. et al., Strophasterols A to D with the unprecedented steroid skeleton, from the mushroom *Stropharia rugosoannulata*. *Angew. Chem. Int. Ed.*, Vol. 51, p. 10820-10822 (2012)
- 2) Wu, J., Kawagishi, H. et al., "Fruiting Liquid" of Mushroom-Forming Fungi; A Novel Source of Bioactive Compounds-Fruiting-Body Inducer and HIF and Axl Inhibitor. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 71, p. 13338-13345 (2023)
- 3) Wu, J., Kawagishi, H. et al., Isolation of bioactive steroids from the mushroom *Stropharia rugosoannulata* and absolute configuration of strophasterol B. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, Vol. 77, p. 1779-1781 (2013)
- 4) 呉静, 河岸洋和, キノコ由来の生物活性2次代謝産物に関する化学的研究. *化学と生物*, Vol. 58, p. 231-239 (2020)
- 5) Ito, A., Wu, J., Kawagishi, H. et al., Biosynthesis of the fairy chemicals, 2-azahypoxanthine and imidazole-4-carboxamide, in the fairy ring-forming fungus *Lepista sordida*. *J. Nat. Prod.*, Vol. 83, p. 2469-2476 (2020)
- 6) Lee, D., Wu, J., Kawagishi, H., Kurihara, T. et al., A fairy chemical suppresses retinal angiogenesis as a HIF inhibitor. *Biomolecules*, Vol. 10, p. 1405-1418 (2020)
- 7) Kotajima, M., Wu, J., Kawagishi, H. et al., Axl, immune checkpoint molecules and HIF inhibitors from the culture broth of *Lepista luscina*. *Molecules*, Vol. 27, p. 8925-8936 (2022)
- 8) Ridwan, Y. A., Wu, J., Kawagishi, H. et al., Axl and immune checkpoints inhibitors from fruiting bodies of *Pleurocybella porrigens*. *J. Antibiotic.*, Vol. 73, p. 733-736 (2020)
- 9) Malya, I. Y., Wu, J., Kawagishi, H. et al., Plant growth regulators and axl and immune checkpoint inhibitors from the edible mushroom *Leucopaxillus giganteus*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, Vol. 84, p. 1332-1338 (2020)
- 10) Inoue, C., Wu, J., Kawagishi, H., Gabazza, E. C. et al., The fairy chemical imidazole-4-carboxamide inhibits the expression of Axl, PD-L1, and PD-L2 and improves response to cisplatin in Melanoma. *Cells*, Vol. 11, p. 374-390 (2022)
- 11) Kotajima, M., Wu, J., Kawagishi, H. et al., Axl, immune checkpoint molecules and HIF inhibitors from the culture broth of *Lepista luscina*. *Molecules*, Vol. 27, p. 8925-8936 (2022)
- 12) Wu, J., Kawagishi, H. et al., Bioactive Compounds from the Mushroom-Forming Fungus *Chlorophyllum molybdites*. *Antibiotics*, Vol. 12, p. 596-607 (2023)
- 13) Wu, J., Kawagishi, H. et al., Novel Cyclopropyl Compounds, Cyclopropylvirgines A to G, from the Fruiting Bodies of *Amanita virgineoides*. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, Vol. 96, p. 503-509 (2023)
- 14) Wu, J. and Kawagishi, H., Plant growth regulators from mushrooms. *J. Antibiotic.*, Vol. 73, p. 657-665 (2020)

謝辞 本研究は、静岡大学農学部応用生命科学科生物化学研究グループで行われたものです。自由に研究を進める機会を与えて頂き、終始ご指導ご鞭撻を賜りました恩師である静岡大学の特別荣誉教授河岸洋和先生に心より感謝申し上げます。本研究を遂行するにあたり、静岡大学の平井浩文先生、近藤満先生、慶應義塾大学の荒井緑先生、栗原俊英先生、弘前大学の橋本勝先生、宇都宮大学の二瓶賢一先生、三重大学のガバザ エステバン セサル先生ならびに多くの先生方に多大なるご支援をいただき、深く感謝申し上げます。本研究成果は、生物化学研究室の修了生・在学生をはじめとする多くの共同研究者の方々のご助力によって築き上げられたものです。心より御礼を申し上げます。最後になりましたが、様々なご助言やご指導を頂き、また本奨励賞にご推薦くださいました日本農芸化学会中部支部長の西川俊夫先生に厚く御礼を申し上げます。