

LC-MS 分析を指標にした真菌由来 21F121-A の発見と p53 野生型および欠失型の細胞を用いた細胞毒性物質の探索

医療薬学専攻 医療薬科学コース 天然薬物学分野
木村 一朗

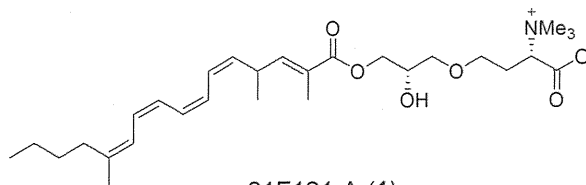
背景

微生物は生体防御物質やシグナル伝達物質として多様な生物活性を示す二次代謝産物を産生しているが、これら化合物は長年創薬シーズとして利用されている。現在上市されている低分子医薬品の半数以上が天然物、または天然物に起源をもつ化合物であり、微生物由来の天然物は創薬研究において重要な役割を果たしている。微生物由来の新規創薬シーズを創出するためには、効率的な新規天然物の発見と特異的な生物活性を示す天然物の発見が求められる。

本学位論文の第 1 章では、九州の自然環境から単離した微生物の培養エキスを LC-MS によって分析し、新規化合物と予測される成分を見出した。そして、化合物を単離し構造決定することで効率的な新規天然物の探索研究を実践した。また、第 2 章では、がん抑制タンパク質である p53 の活性化物質の発見を目指し、p53 野生型の HCT116 p53^{+/+} 細胞と欠失型の HCT116 p53^{-/-} 細胞を用いて、HCT116 p53^{+/+} 細胞に対して、より強い細胞毒性を示す天然物を探索した。

第 1 章 真菌 *Penicillium glaucoroseum* (21F00121) から単離したモノアシルグリセリルトリメチルホモセリン 21F121-A の単離と構造決定

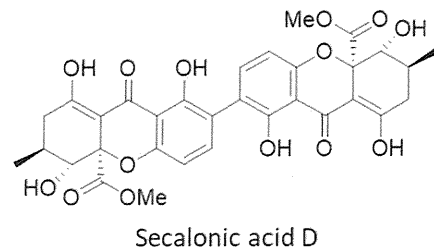
熊本県小国町で採取した土壌から単離した真菌 *P. glaucoroseum* (21F00121) を米培地で培養したエキスを LC-MS で分析した結果、 m/z 506.3474 [M+H]⁺ に、予想分子式が C₂₉H₄₇NO₆ で 310 nm 付近に特徴的な UV 吸収を示す化合物 **1** の産生が確認された。そして、データベース検索で物性情報が一致する化合物がなかったので、**1** は新規化合物であることが示唆された。エキスから **1** を精製する過程において、**1** が光に不安定であることが判明したので、遮光条件で精製した。各種 NMR スペクトルの解析により **1** の平面構造を決定した。**1** は、ペンタエン構造を含む炭素数 19 の分枝アシル基を有するモノアシルグリセリルトリメチルホモセリンで、真菌から発見されたモノアシルグリセリルトリメチルホモセリン構造を有する化合物としては 2 例目となる新規性の高い構造であることがわかり 21F121-A と命名した。ペタイン部分とグリセロール部分の不斉炭素の絶対立体配置は化学反応と ECD スペクトルの解析により決定した。また、**1** は HCT116 細胞に対して IC₅₀ 値 40.3 μM で弱い毒性を示した¹⁾。



21F121-A (1)

第 2 章 p53 野生型および欠失型の HCT116 細胞を用いた真菌由来細胞毒性物質の探索

がん抑制タンパク質である p53 は、一部のがん細胞において不活化されている。そのため不活化状態にある p53 を活性化する化合物は、p53 野生型のがん細胞選択的に増殖抑制作用を示す新規抗がん剤シーズとして期待されている。本研究では p53 野生型の HCT116 p53^{+/+} 細胞と p53 欠損型の HCT116 p53^{-/-} 細胞に対する細胞毒性の差を指標に微生物エキスをスクリーニングすることで、HCT116 p53^{+/+} 細胞に対して強い細胞毒性を示す天然物を探索した。真菌の米培養物 1163 エキスのうち、HCT116 p53^{+/+} 細胞に対して細胞毒性を示した 103 エキスについて HCT116 p53^{+/+} 細胞と HCT116 p53^{-/-} 細胞に対する細胞毒性を比較した結果、11 エキスが HCT116 p53^{+/+} 細胞に対して強い細胞毒性を示した。それらのうち、熊本県宇土市の干潟土壌から単離した真菌 20F2002 株のエキに含まれる活性成分を分析した。エキスを固相抽出法と HPLC を用いて分画し、活性画分の LC-MS と比旋光度を測定した結果、活性成分は secalonic acid D であることが示唆された。単離した化合物の活性を評価したところ、p53 野生型および欠失型の HCT116 細胞のいずれに対しても同程度の強さの細胞毒性を示した。スクリーニングで、本真菌エキスが HCT116 p53^{+/+} 細胞に対してより強い細胞毒性を示したのは、エキス中の secalonic acid D と複数の成分によって示された可能性が考えられた。



まとめ

本研究の第 1 章では、独自に構築した真菌エキ斯拉イブラリを LC-MS 分析することで真菌の米培養物から新規化合物 21F121-A を単離し、構造を決定した。本研究成果は、LC-MS 分析を用いた天然物探索が新規天然物を発見するために有効な方法であることを支持するものである。また、第 2 章では、p53 野生型および欠失型のがん細胞に対する細胞毒性の差を指標に p53 活性化物質を探索した。本研究では目的とする生物活性を示す化合物の特定には至らなかったが、今後生物活性を指標としたスクリーニングと LC-MS 分析を統合させることで、新規天然物創薬シーズの創出が期待される。

参考文献

1. [Kimura, I.; Hitora, Y.; Sadahiro, Y.; Kawahara, T.; Tsukamoto, S. *J. Nat. Med.* **2023**, *77*, 992-997.](#)