

氏 名	青木 聡樹
本籍（国籍）	岐阜県
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	連研 789 号
学位授与年月日	令和 3 年 3 月 2 3 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当課程博士
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物資源科学
学位論文題目	未利用キノコの新規化合物探索源としての活用を目的としたツキヨタケ (<i>Omphalotus japonicus</i>) 子実体と菌糸培養物に含まれる二次代謝産物に関する化学的研究 (Chemical study of secondary metabolites from the fruiting body and mycelial culture of <i>Omphalotus japonicus</i> for utilization as a search resources of new compounds of unutilized mushrooms.)
学位審査委員	主査 山形大学教授 村山 哲也 副査 木村 賢一(岩手 教授), 網干 貴子(山形 准教授), 橋本 勝(弘前 教授)

論文の内容の要旨

キノコとは菌類のうち肉眼で観察できる程度の大きさの子実体を形成する、主に担子菌類や子囊菌類から成る大型菌類の総称である。我が国には名前のついていない種も含めるとおよそ 4000 から 5000 種程度のキノコが生息していると推定されている。そのうちこれまで食用や薬用として利用されてきたキノコは僅か 100 種類程度に過ぎず、その他のキノコに関しては少なくとも 200 種程度が毒を有していることを除いて成分に関する知見は僅かである。一方、キノコからは pleuromutilin や strobilurin、myriocin などこれまでに多くの有用成分が報告されていることから上述のような未利用キノコからの成分探索は新規な有用成分発見に繋がることが期待される。加えてキノコは菌類であり、子実体や菌糸、胞子など様々な形態で生活を営んでおり、それぞれの生活段階によって生産する代謝産物に違いがあることが知られている。また菌糸は培養条件によって異なる二次代謝産物を産生することが知られていることから、未利用キノコについて子実体と様々な条件に付した菌糸培養物から成分探索を行えば簡易的な手法で多様な成分を得られることが期待される。そこで本研究では子実体の入手と菌糸の分離・培養が容易な未利用キノコとしてツキヨタケに着目し、成分の探索を試みた。

本研究ではツキヨタケ子実体及び菌糸の玄米培地培養物、MPG 培地培養濾液からの 3 通りアプローチによる成分探索を行った。化合物の単離精製にはシリカゲルカラムクロマトグラフィー並びに固相抽出、ODS-HPLC を用い、TLC アッセイにおける発色に基づいて単離の確認を行った。構造解析は核磁気共鳴分光

(NMR) 並びに質量分析 (MS)、赤外線分光 (IR)、円二色性スペクトル (ECD) により行った。

ツキヨタケ子実体からは 6 種の新規な illudoid sesquiterpene (tsukiyols A-C, neoilludin C, 4-*O*-methylneoilludin A,B) を含む 12 種の化合物を単離した。既知化合物はそれぞれ illudin S, neoilludin A,B, 5-hydroxidichomitol, 3 β , 5 α , 9 α -trihydroxyergosta-7, 22-diene-6-one, ergosterolperoxide であった。各化合物について生理活性を調べたところ、ヒト急性前骨髄性白血病細胞 HL60 に対して illudin S 及び 3 β , 5 α , 9 α -trihydroxyergosta-7, 22-diene-6-one がそれぞれ IC₅₀ = 3.3 nM, 4.1 μ M で細胞毒性を示した。特に illudin S は他の類縁体とも比較して強い活性を有していた。また、変異酵母 YNS17 株を用いた成長回復活性系において、tsukiyol C, 4-*O*-methylneoilludin A, B, illudin S がそれぞれ 1.25, 2.5, 0.625, 1.25 μ g/spot で弱い活性を示した。

ツキヨタケ菌糸培養濾液からは 1 種の新規な illudalane 型 sesquiterpene を含む 7 種の化合物を単離した。既知化合物はそれぞれ既知化合物 illudin B, H, M, S, illudalic acid, gastrodigenin であった。得られた化合物のうち illudin S 以外は本研究において子実体では見られなかった化合物であったため、ツキヨタケは子実体と菌糸とは異なる成分を生産していることが示唆された。

ツキヨタケ菌糸玄米培地培養物より 5 種の化合物を単離した。うち 3 種は polyisoprenepolyol 類であり、2 種が既知化合物 hypsiziprenol A₁₀, A₁₁、一種が新規化合物 omphaloprenol A であった。また既知化合物 illudin S 及び ergosterol も得られた。omphaloprenol A はレタス幼植物体地下部に対して成長促進作用が認められた一方、HL60 細胞に対しては細胞毒性を示した。以上の結果よりツキヨタケは形態や菌糸における培養条件の違いにより生産する二次代謝物に大きな変化が生じていることが示唆された。よってキノコからは多様な探索手法を組み合わせることでより多様な成分を得られることが考えられ、特に未利用キノコの成分探索への活用が期待される。

論文審査の結果の要旨

我が国には名前のついていないものも含めると、およそ 4000 から 5000 種程度のキノコが生息していると推定されている。そのうちこれまで食用や薬用として利用されてきたキノコは僅か 100 種類程度に過ぎず、成分に関する知見は僅かである。一方、キノコからは pleuromutilin や strobilurin、myriocin などこれまでに多くの有用成分が報告されていることから、上述のような未利用キノコからの成分探索は新規な有用成分発見に繋がることが期待される。また菌糸は培養条件によって異なる二次代謝産物を産生することが知ら

れていることから、未利用キノコについて子実体と様々な条件に付した菌糸培養物から成分探索を行えば簡易的な手法で多様な成分を得られることが期待される。

そこで本論文では子実体の入手と菌糸の分離・培養が容易な未利用キノコとしてツキヨタケに着目し、ツキヨタケ子実体及び菌糸の玄米培地培養物、MPG培地培養濾液からの3通りのアプローチによる成分探索を行ったものである。

ツキヨタケ子実体からは6種の新規な illudoid sesquiterpene (tsukiyols A-C, neoilludin C, 4-*O*-methylneoilludin A,B) を含む12種の化合物を単離した。既知化合物はそれぞれ illudin S, neoilludin A,B, 5-hydroxidichomitol, 3 β , 5 α , 9 α -trihydroxyergosta-7, 22-diene-6-one, ergosterolperoxide であった。各化合物について生理活性を調べたところ、ヒト急性前骨髄性白血病細胞 HL60 に対して illudin S 及び 3 β , 5 α , 9 α -trihydroxyergosta-7, 22-diene-6-one がそれぞれ IC₅₀ = 3.3 nM, 4.1 μ M で細胞毒性を示した。特に illudin S は他の類縁体とも比較して強い活性を有していた。また、変異酵母 YNS17 株を用いた成長回復活性系において、tsukiyol C, 4-*O*-methylneoilludin A, B, illudin S がそれぞれ 1.25, 2.5, 0.625, 1.25 μ g/spot で弱い活性を示した。

ツキヨタケ菌糸玄米培地培養物より5種の化合物を単離した。うち3種は polyisoprenepolyol 類であり、2種が既知化合物 hypsiziprenol A₁₀, A₁₁、一種が新規化合物 omphaloprenol A であった。また既知化合物 illudin S 及び ergosterol も得られた。omphaloprenol A はレタス幼植物体地下部に対して成長促進作用が認められた一方、HL60 細胞に対しては細胞毒性を示した。

ツキヨタケ菌糸培養濾液からは1種の新規な illudalane 型 sesquiterpene (tsukiyotakein) を含む7種の化合物を単離した。既知化合物はそれぞれ illudin B, H, M, S, illudalic acid, gastrodigenin であった。得られた化合物のうち illudin S 以外は本論文において子実体では見られなかった化合物であったため、ツキヨタケは子実体と菌糸とは異なる成分を生産していることが示唆された。

以上の結果より、本論文ではツキヨタケは形態や菌糸における培養条件の違いにより生産する二次代謝物に大きな変化が生じていることが示され、キノコからは多様な探索手法を組み合わせることでより多様な成分を得られることが考えられ、特に未利用キノコの成分探索への活用が大いに期待された。

よって本審査委員会は、「岩手大学大学院連合農学研究科博士学位論文審査基準」に則り審査した結果、本論文を博士（農学）の学位論文として十分価値のあるものと認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

Aoki S., Aboshi T., Shiono Y., Kimura K., Murata T., Arai D., Iizuka Y., Murayama T. (2020), Constituents of the Fruiting Body of Poisonous Mushroom *Omphalotus japonicus*, Chemical and Pharmaceutical bulletin, 68(5), 436-442(2020), DOI : 10.1248/cpb.c19-01009