

平成 21 年度助成研究実施報告書

研究 題 目	三陸沿岸に生息する海藻由来の疾病の予防や治療に有効な物質の探索
研究 者 (所属・職)	研究代表者 氏 名 (所属・職名) 木村 賢一 (岩手大学農学部・准教授) 共同研究者 氏 名 (所属・職名) 難波 信由 (北里大学海洋生命科学部・准教授) 宮川 都吉 (広島大学・名誉教授) 越野 広雪 (理化学研究所・チームヘッド)
研究代表者 連絡先	電 話 : 019-621-6124 F A X : 019-621-6124 メール : kimurak@iwate-u.ac.jp URL :
研究目的 三陸沿岸に生息する、特に未利用の海藻類から、人間の各種疾病に対して予防や治療効果を有する、構造や活性において新しい低分子機能性物質 (バイオプローブ) を探索し、その単離精製、構造決定、並びに作用メカニズムの解析を行ない、特許申請の後企業と共に開発の可能性を探る。	
研究結果の概要 1 背景及び課題・ニーズ等 世界中の製薬企業は、多くの医薬品の特許が切れる 2010 年問題を抱え、医薬品の基となるユニークなシーズを欲している状況にある。また、漁業関係者において、ウニによる海藻の大量摂食なども問題となっている。一方、大船渡市を含む三陸沿岸は海藻類の宝庫であるが、多くの食せない海藻類は名前も知られずに未利用のままである。 2006 年～2008 年度の 3 年間に渡る大船渡市と岩手大学との共同研究 (「循環型沿岸地域社会の構築に向けた大学・地域連携促進事業」) において、本研究代表者は、ミツデソゾという海藻にユニークな Ca^{2+} シグナル伝達阻害活性 (資料①・②) を見出し、平成 21 年度の本基金に採択され研究を行っている。	
2 研究計画の実施状況 本研究申請時の研究計画の以下の 1-6 の項目について、昨年 10 月に採択が決定されて研究を開始した割には、全ての項目の研究が実施できた。	
<ol style="list-style-type: none"> 1. ミツデソゾの大量採取とそれ以外の海藻を収集する項目では、ミツデソゾ約 500g の採取と、3 種類の海藻 (紅藻類 : G、褐藻類 : N、緑藻類 : O) を採取した。 2. 収集した海藻の凍結乾燥を行ない、重量を測定の後メタノール抽出を行なう項目では、ミツデソゾは活性物質の精製のためのサンプルとし、3 種類の海藻はスクリーニング用のサンプルとして調整した。 3. 調整した 10 mg/ml のサンプル溶液を、Ca^{2+} シグナル伝達系の遺伝子変異酵母を用いたアッセイ系を中心に評価する項目では、大量に採取したミツデソゾと 3 種の海藻の活性を測定した。 4. ミツデソゾから活性物質を単離精製するという項目では、HPLC で 4 成分が単離精製できた。 5. 得られた活性物質の機器分析を行なう項目では、4 成分のうち、量が多かった一成分の NMR と MS 分析を行なった。 6. ミツデソゾの養殖の可能性を検討するでは、3 回検討し、3 回目に増殖が認められた。 	

事業展開の見通し

実質半年余りの期間の研究において、Ca²⁺シグナル伝達に関わる遺伝子変異酵母（様々な疾病に関わる病気の酵母）に対して活性を示す活性成分が少なくとも4成分単離でき、その機器分析において大まかな推定構造が明らかとなったことは大きな進展である。これにより、具体的な目に見える物質において、Ca²⁺シグナル伝達阻害活性という新たな活性を有することが示唆された。また、他に調べた海藻（GとN）からも同様の活性が見出されたことから、その成分がミツデソゾの活性物質と比較することで、さらに別の成分の発見へと繋がっていくことが予想される。また、ミツデソゾの養殖実験を3回行ない、最初の2回はうまくいかなかったが、3回目で成長が認められたことから、次年度が楽しみである。このように今年度の研究は、信じられないくらいの順調な滑り出しであったので、あと1年間も同様に推進していきたい。

期待される効果

食せる海藻由来の機能性物質の場合は、それを生かした機能性を有する食品加工やサプリメントとして、食せない未利用の海藻由来の機能性物質の場合は、医薬品やその母核として利用できる。ミツデソゾの場合は後者であるが、玄界灘の方でも現在問題になっている、キタムラサキウニの摂食阻害物質としての可能性もあるので、その両面からの事業化を考えていきたい。

本研究により機能性物質の構造と活性が決まれば、ほぼ100%特許になるため、知的財産としてそのものの自体の売却も可能であるし、製品販売後のロイヤリティー契約も可能となる。しかし、医薬品の開発には時間とお金がかかり、リスクが大きいことから、Ca²⁺シグナル伝達阻害活性と摂食阻害活性とが結びつければ、そちらの利用が早期に可能であると思われる。さらに、特許となる事実や学会発表による全国、並びに海外への発信により、間接的に三陸沿岸の注目度が高まり、従来の製品の販売量や観光客の増加につながり地域の活性化へ結びつくことが期待できる。

研究成果の達成状況

研究計画の実施状況で記載したように、平成21年度の研究計画の1-6項目は、半年という研究機関と100万円という研究資金を鑑みると、予想以上の達成状況であると客観的に判断できる。具体的には以下の通りである。

1. ミツデソゾ約500gと、3種類の海藻（紅藻類：G、褐藻類：N、緑藻類：O）を採取した。
2. ミツデソゾは活性物質精製のためのサンプルとするため、生のミツデソゾ（568.3g）⇒凍結乾燥（55.55g）⇒メタノール抽出（20.08g）を行った。また3種類の海藻は、少量を上記と同じ処理に付し、100mg/mlの濃度に調整してスクリーニング用のサンプルとした。
3. 大量に採取したミツデソゾと3種の海藻の活性を測定したところ、ミツデソゾには活性の再現性が認められ（資料③）、新たにGとNにも活性を見出した（資料④）。
4. ミツデソゾからの活性物質を、2.のサンプルを用い、さらにヘキサン抽出（2.30g）⇒一部（0.4g）を用いて条件検討⇒TLC分離（ヘキサン：酢酸エチル=3：1、Rf=0.62）（85.4mg）⇒HPLCでの分離⇒活性を有する4成分を得た（資料⑤）。
5. 得られた活性物質のうち、量が多かった一成分のNMRとMS分析を行なった。
6. ミツデソゾの養殖の可能性を検討するため3回実験を行ない、3回目に増殖が認められたため現在も継続して観察中である（資料⑥）。

三陸地域への波及効果

民間企業でこのような探索研究に携わっていた者として、実用化が達成できれば、必ず利益率が高い産業となる。しかし、何が見出されるかわからないリスクと同時に夢のある研究であるため、収支や将来性において、現時点では完全な計画や計算が立たない領域の研究と言わざるを得ない。しかし、そのような研究から、現実的には日本人が生み出した医薬品のプラバスタチン（コレステロール合成阻害剤：脂質異常症の薬）やFK506（カルシニューリン阻害：臓器移植時の免疫抑制剤、アトピー性皮膚炎の薬）が、1000億円以上を売り上げるノーベル賞級の世界的な製品（ブロックバスター）となった。また、食品ではカルピスのアミールSやサントリーのセサミンなどが100億円規模の食品となり、それらの成功例が本申請研究の理想的な結果である。

本研究が成功した結果、三陸地域には、

1. これまで捨てられていた海藻から医薬品の種などを単離する技術を、三陸沿岸の会社に技術移転することにより、大手製薬会社の委託養殖や委託製造が行え、会社の収益向上につながる。
2. これまで採取していた海藻を、今回見出された新たな利用法に応じて計画栽培することで、三陸沿岸の漁業関係者の収益向上につながる。
3. 特許申請、学会発表、英語論文発表、マスコミなどにより三陸地域が有名になり、間接的に三陸地域の他の商品の売り上げ増加や観光客の増加へと結びつき、住民も元気になってくれると思われる。

(3から1へと難易度が高くなる)

考 察

1. 遺伝子変異酵母のCa²⁺シグナル伝達阻害活性で得られた活性物質の構造が、新規か既知か？
2. Ca²⁺シグナル伝達阻害活性のどこが作用点で、その結果どんな病気に有効な可能性があるか？
3. Ca²⁺シグナル伝達阻害活性とウニの摂食阻害活性との関係があるか？
4. 単離された物質に、実際にウニの摂食阻害活性があるか？
5. Ca²⁺シグナル伝達阻害活性が認められた他の海藻と、ミツデソゾの活性物質は同一か否か？
6. 養殖により増殖したミツデソゾの活性や活性物質は、天然のものと同じか否か？

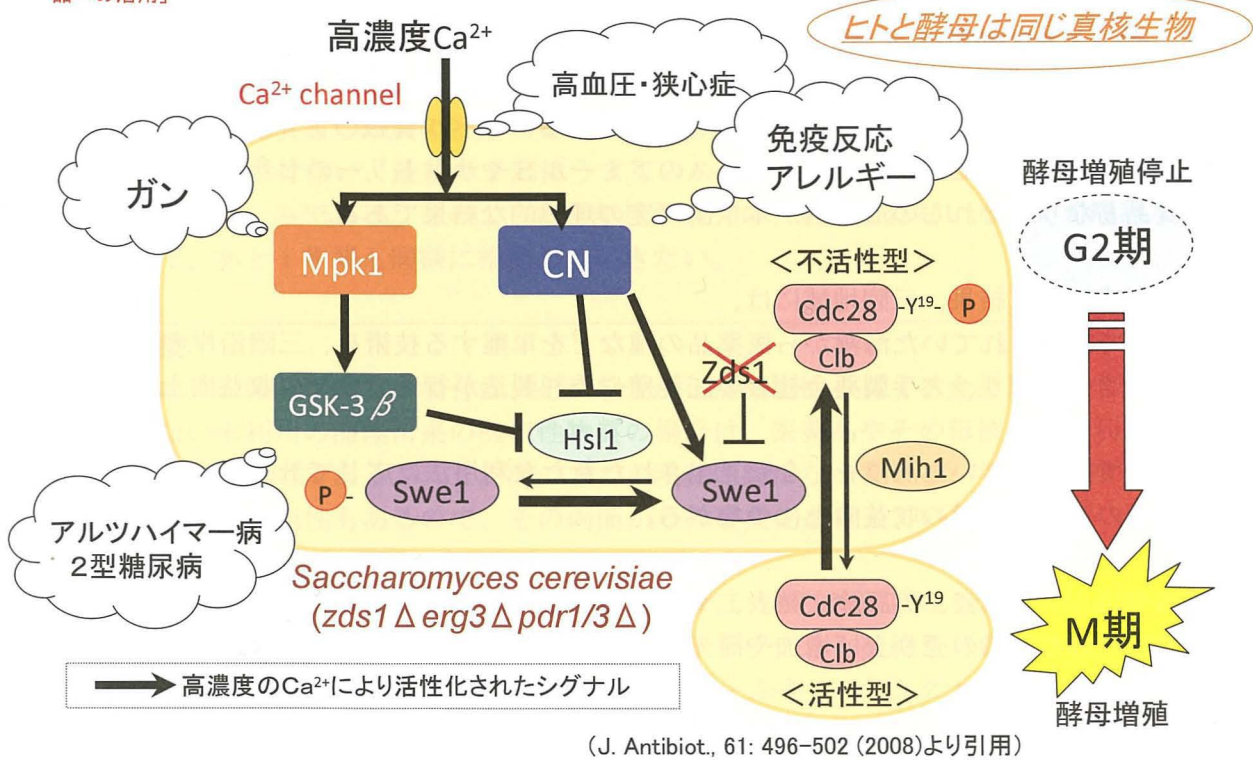
これらの具体的な疑問点を一つ一つ本研究により解決していくことで、三陸地域の海藻類の新たな利用へと結びつくものと考えている。

備 考

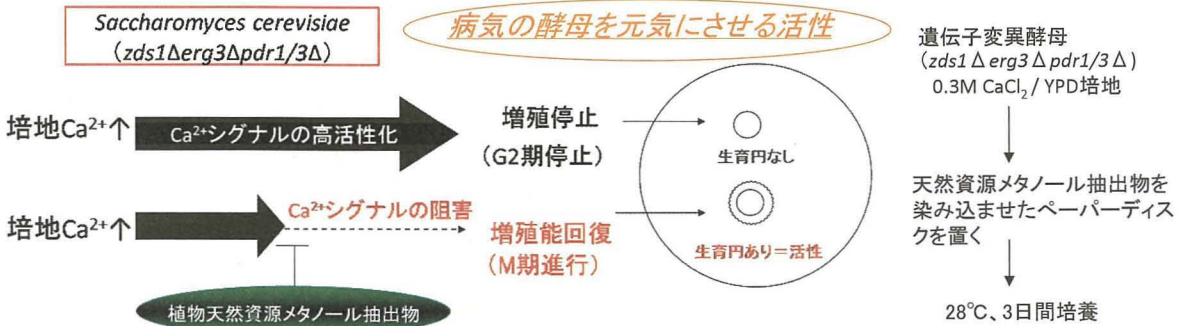
特許の可能性、研究論文、並びに学会発表などは、平成22年度の継続研究期間に答えを出したいと考えています。

① 遺伝子変異酵母株におけるCa²⁺シグナル伝達経路と各種疾病との関係

第3回農芸化学研究企画賞受賞(2006年)「Ca²⁺シグナル伝達に関わる遺伝子変異酵母を用いたスクリーニングと活性物質の医薬品への活用」



② 遺伝子変異酵母を利用したCa²⁺シグナル伝達阻害物質のスクリーニング



本スクリーニングにおける各種分子標的薬剤による増殖能の回復(表現型)



①~順番に薬剤濃度1/2希釈 (J. Antibiot., 61: 496-502 (2008)より引用)

③ 遺伝子変異酵母に対する生育円活性が認められたミツデソゾ

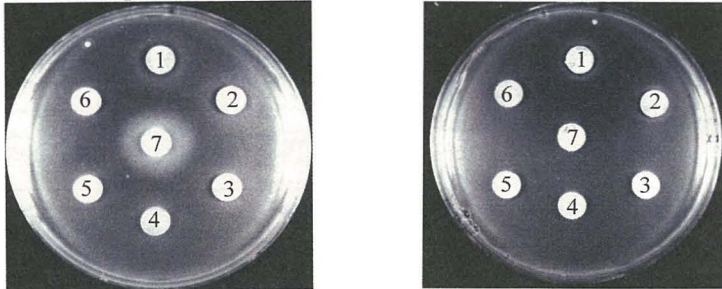
天然資源: 海藻



1. 新たな海藻サンプルの生物アッセイ
2. ミツデソゾからの活性物質の単離精製と同定
3. ミツデソゾの養殖試験

1. ウニの摂食阻害物質
2. 化粧品などの医薬部外品
3. 医薬品の母核

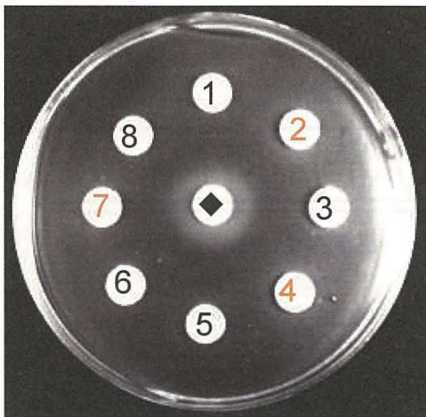
地場産業の創生
地域の活性化



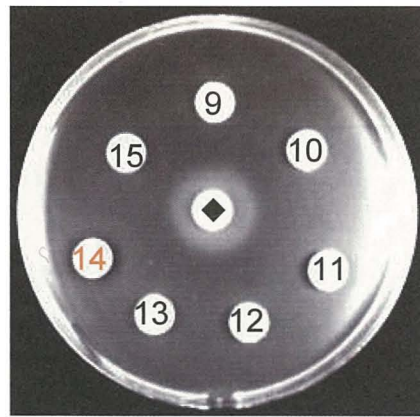
No.	サンプル量 [μg/disc]	300mM CaCl ₂		0mM CaCl ₂	
		生育円[mm]	阻止円[mm]	生育円[mm]	阻止円[mm]
1	800	16.5	11.5	12.5	10.4
2	400	13.2	10.9	11.2	9.9
3	200	12.2	—	—	—
4	100	11.5	—	—	—
5	50	10.3	—	—	—
6	25	9.8	—	—	—
7	FK506 (0.02 μg/disc)	20.7	—	—	—

Ca²⁺依存的な活性が25 μg/discまで確認できた。

④ 様々な海藻類の遺伝子変異酵母に対する生育円活性



No.	サンプル	生育円 [mm]	阻止円 [mm]
1	A	(14.8)	—
2	B	18.3	—
3	C	11.1	—
4	D	14.3	—
5	E	10.8	—
6	F	(10.1)	—
7	G	13.4	—
8	H	—	—
FK506		18.2	—



No.	サンプル	生育円 [mm]	阻止円 [mm]
9	I	11.1	—
10	J	—	—
11	K	—	—
12	L	11.7	—
13	M	(10.6)	—
14	N	18.3	13.1
15	O	—	—
FK506		18.5	—

いずれも400 μg/disc

zds1 Δ erg3 Δ pdr1/3 Δ, YPD Agar + 0.3 M CaCl₂、28°C、3日間培養

⑤ミツデソゾからの活性物質の性質とその単離精製

ミツデソゾ(2009.07.15、泊沖) 583.30 g

↓ 凍結乾燥
55.55 g
↓ メタノール抽出
ろ過、エバポレーション

20.80 g
↓ 酢酸エチル抽出

2.30 g (100mg/mlに調製)

↓ 0.4 gのみ予備精製
TLC (溶媒条件 ヘキサン:酢酸エチル=3:1)
Rf = 0.62

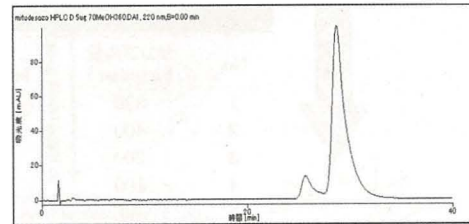
85.4mg

↓ HPLCで分析と分取 (70% MeOH)

ミツデソゾメタノール抽出物の3次スクリーニング

	Control	熱安定性 (100℃、 10min)	酢酸エチル抽出		ブタノール抽出	
			酢酸 エチル層	水層	ブタノール 層	水層
生育円 [mm]	13.5	13.5	11.3	—	11.3	—
阻止円 [mm]	—	—	—	—	—	—

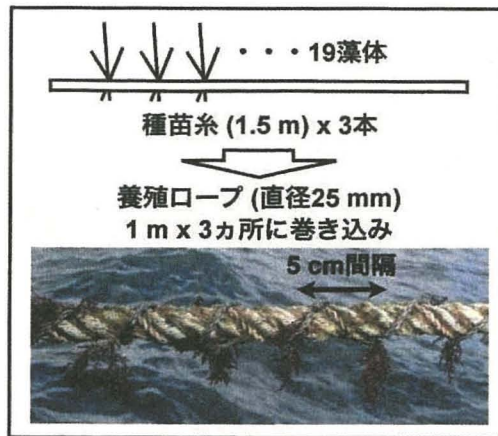
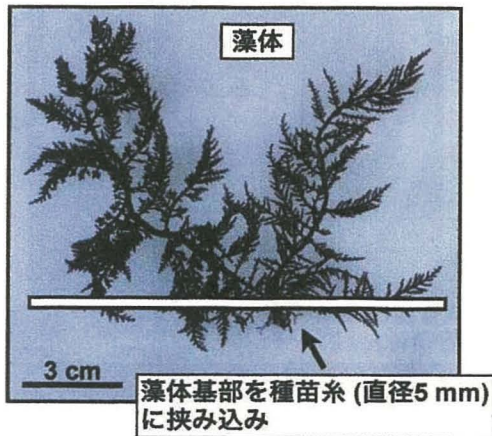
サンプル量:400 μg/disc



単離した一成分のHPLC分析
カラム:SHISEIDO CAPSELLPAK C18
4.6mmI.D.× 150mm、溶媒:70%MeOH、
流速:1.0ml/min、5 μg injection

⑥ミツデソゾの養殖試験

養殖実験3 材料および方法



*藻体は越喜来湾鬼沢沖の養殖ロープから採取

期間 : 2009年12月4日~継続中
場所 : 越喜来湾鬼沢沖 (表層)
測定項目 : 藻体 (生残率, 藻長, 湿重量, 比生長率)
測定間隔 : 約1ヵ月毎

養殖実験3 結果 (継続中)

藻 体

期間 (日)	生存率 (%)	藻長 (cm)	藻長の比生長率 (% 日 ⁻¹)	藻体湿重量 (g)
0	-	6.1 ± 2.0 (57)	-	0.94 ± 0.52 (57)
60	77.2 ± 13.2 (3)	7.8 ± 4.9 (44)	0.4 ± 0.3 (3)	-

平均値 ± 標準偏差 (個数) で示す



生存：高
生長：わずかであるが生長
*藻体は付着動物に覆われていない