解説

亀井勇統

海藻のもつ多彩な生理機能成分

日本沿岸には約1,500種もの海藻類が生育しているにもかかわらず、これまで日本沿岸から広範に海藻類を採取して、同一研究者らによってそれぞれの海藻検体から種々の生理活性を総合的に検索した例はみられない。筆者らは、近年問題となっている種々の疾病に対する新規治療薬の開発を目的に、当研究室で保存している約4,000検体、350種を超える日本沿岸海藻類を対象にして、有用な生理活性物質のスクリーニングと解明を行なっている。

A Variety of Biologically Active Compounds in Marine Algae
Yuto KAMEI, 佐賀大学海浜台地生物生産研究センター

近年、農業は飛躍的に発展し、現在市場に出回っている農作物は人類の長い歴史の中で、人工交配、育種選抜を繰り返して作出された傑作ばかりである。これに比べ、水産業の場合、依然として天然から魚介類などを漁により獲得し、海の再生産による天然資源に依存しきっているきらいがある。このことが乱獲による資源の枯渇化をひき起こし、漁獲高減少の原因となっている。筆者らは、低迷気運にある天然依存型の日本の水産業を脱皮させるべく、日本沿岸に約1,500種もあり、これまでほとんどが食用にしか利用されていなかった海藻類から、来る21世紀に求められる医薬、農薬、化粧品、土壤改良剤、食品添加剤、肥料、餌料、飼料、機能性物質など(図1)に応用しうる種々の活性物質を広範囲に探索し、最終的にはこれら有用海藻類を積極養殖(図2)することによって、新規的な水産業の構築と活性化(図3)を目指している。

本稿では、これまで筆者らが採取した350種を超える日本沿岸海藻類から、一連のスクリーニングによって得られた種々の生理活性物質を紹介する。中でも、特に院内感染菌で問題となっているメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)に有効な抗菌物質、副作用の少ない低毒性の抗腫瘍物質として有望なテロメラーゼ阻害物質、来るべき高齢化社会に向けて避けては通れないアルツハイマー症の治療薬として有望な神経細胞活性化物質のほか、近年女性の間で人気の高い美白化粧品として開発が有望視されているメラニン合成阻害物質について述べる。

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌に対する抗菌物質

ペニシリン、ストレプトマイシン、クロラムフェニコール……、これら臨床の世界で用いられている有名な抗生物質のほとんどは、陸上の微生物から発見された。特に、ペニシリンは発見から60年以上経った今でも立派に医療に貢献している。ところが近年、抗生物質のまったく効かない細菌が出現し、やっかいなことに病院内に住み着き、これらが院内感染を起こすようになった。そもそも病気を治すために入院したはずの病院内で、感染症という別の病気が発生しているのである。各国でその問題に取り組んでいるが、院内感染はますます拡大するばかりで、感染菌を抑えようとしていろいろな抗生物質を使えば使うほど、それらの抗生物質に抵抗力をもつ細菌が出てくる。特に現在、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)による院内感染が問題となっており、MRSA治療に使用されるバンコマイシンに代わる、新規骨格を

図 1 ■ 海藻由来の生理機能成分の応用例

図 2 ■ 有用な生理機能成分を有する海藻類の養殖

有する有効な抗 MRSA 剤の開発が早急に望まれている。

このような中、海洋の未利用資源の一つである海藻に注目が集まっている。海藻からは、これまでに多くの

抗菌物質が見いだされているが^(1,2)、これらは MRSA が世界的に深刻な問題となった 1980 年以前に見いだされたものばかりで、MRSA などの薬剤耐性菌をターゲットとした抗菌物質に関する報告は皆無であった。そこ

図 3 ■養殖によって生産された有用海藻類の出荷

図 4 ■紅藻ソゾノハナから見いだされた抗 MRSA 物質

で、筆者らは MRSA に対して有効な抗菌物質を見い出すことを目的として、日本沿岸海藻類 308 種、計 857 検体についてスクリーニングを試みた。その結果、38 種もの海藻に抗 MRSA 活性を見いだした。中でも強い抗 MRSA 活性を示した紅藻類ソゾノハナの MeOH 抽出液から 4 種の抗 MRSA 物質を単離したところ、4 種とも活性的に新規なブロムインドール系の化合物であった⁽³⁾。これら 4 種の抗 MRSA 物質 MC-5, MC-6, MC-7 および MC-8(図 4)の MRSA 10 株に対する最小発育阻止濃度(MIC)は、バンコマイシンと同程度と強力なものであった。すなわち、マウスを用いた *in vivo* における抗菌活性を評価したところ、ペニシリン系の代表的な経口投与型抗生物質であるアモキシシリン投与区において

は、10 匹中平均 4.75 匹のマウスが生存したのに対して、ソゾノハナ由来抗 MRSA 物質を投与した試験区では 6~9 匹のマウスが生存し、いずれもアモキシシリンよりも強力な抗菌活性を示した。

選択的な抗腫瘍剤の開発に有望なテロメラーゼ阻害物質

海藻由来の抗腫瘍性物質として、多糖類、糖タンパク質ならびにテルペン類などが知られている⁽⁴⁾。しかし、それらのほとんどは腫瘍細胞のみならず正常細胞に対しても毒性を示し、現在臨床において問題となっている抗腫瘍剤の副作用を克服するためには、腫瘍細胞のみに選択的毒性を有するような抗腫瘍剤の開発が強く望まれている。そこで、腫瘍細胞に特異的に存在し、ほとんどの正常細胞にはみられないテロメラーゼを阻害する物質を見いだせば、腫瘍細胞に対して選択的に作用する新規抗腫瘍剤として開発できることが期待される。染色体の安定化・複製に重要な役割を果たすテロメアは、正常細胞においては細胞分裂毎に短縮していき、やがて細胞は死に至るが、腫瘍細胞の場合にはテロメアを伸長させるテロメラーゼが活性化されているため、無限増殖を行なっている。

そこで、このようなテロメラーゼを阻害する物質をスクリーニングするために、TRAP (telomeric repeat amplification protocol)法⁽⁵⁾を用いて日本沿岸海藻類

304 種を材料に、テロメラーゼ阻害活性のスクリーニングを試みた⁽⁶⁾。その結果、緑藻類 3 種、紅藻類 6 種、褐藻類 1 種の MeOH 抽出液、および紅藻類 1 種、海産種子植物 1 種の PBS 抽出液にテロメラーゼ阻害活性がみられた。特に、緑藻類タカノハヅタは強い阻害活性を示した。この抽出液を MOLT-4 細胞培養液中に終濃度で 2.4% 添加した場合には細胞毒性がみられたが、1.2% 添加した場合には細胞毒性はみられず、そのテロメラーゼ阻害活性を調べたところ、対照と比較して顕著なテロメアのラダーバンドの消失がみられた。これまでのところ、テロメラーゼがどのような経路を介して阻害されるのか、そのメカニズムは明らかではないが、タカノハヅタの MeOH 抽出液に含まれるテロメラーゼ阻害物質は、副作用のない新規抗癌剤の開発に有望と考えられる。

脳神経系の治療薬開発に有望な神経細胞活性化物質

21 世紀には高齢化社会が深刻な問題になることが予想されており、まずその代表的な例として、老人性痴呆症の一つアルツハイマー型痴呆症患者の増大が懸念されている。アルツハイマー型痴呆症に関しては、病因の解明や治療法は未だ確立されていないが、その起因を病理学的に探ると、アルツハイマー型痴呆症患者においては、大脳皮質部分の萎縮がみられる。すなわち、前脳基底部中の神経核の一つであるマイネルト基底核に存在し、神経伝達物質アセチルコリンによって作動するコリン作動性ニューロンの分化促進および生存維持に、NGF (nerve growth factor) が重要な役割を果たしていることから、NGF の欠損がアルツハイマー型痴呆症と密接な関係をもっていることが示唆されている。そのため、脳内において NGF が欠乏した状態でも、神経の突起を伸長させるような物質を見いだすことができれば、ニューロンの変性脱落を阻止でき、ひいてはアルツハイマー型痴呆症の治療薬として開発しようと考えられている。

そこで、299 種の海藻から、まず交感神経様の特徴を有するラット副腎髄質褐色細胞腫由来 PC12D 細胞において、NGF の欠乏した状態で分化を促進させ、神経突起を伸長させる活性について、ランダムスクリーニングを試みた。その結果、紅藻類ヒメモサズキの PBS (phosphate-buffered saline) 抽出液ならびに褐藻類ノコギリモクの MeOH 抽出液に、NGF 欠乏下における PC12D 細胞に対する神経突起伸長活性を見いだした。次いで褐藻類ノコギリモクから、各種クロマトグラフィー、溶媒分配および HPLC により神経突起伸長活性物質 MC-14

図 5 ■褐藻ノコギリモクから見いだされた神経突起伸長活性物質

(図 5) を単離して、その PC12D 細胞に対する神経突起伸長活性を検討したところ、きわめて低濃度の NGF 存在下で濃度依存的な活性がみられた。しかしこのような活性は、陽性対照として使用している高濃度の NGF の存在下では観察されなかった。MC-14 単独では神経突起伸長活性が観察されなかったことから、その作用機序として、MC-14 は NGF とそのレセプターである TrkA の親和性を高め、NGF-TrkA シグナルカスケードを刺激することによって、PC12D 細胞の分化を促進するものと推察される。

現在までのところ、NGF の神経突起伸長活性を助長する物質として、免疫抑制剤の FK 506 やラパマイシン、また FK 506 の異性体である L-685, 818 が知られているが、海藻由来の活性物質は報告されておらず、神経突起伸長活性を有する MC-14 は構造的には既知であったものの、活性的には新規の物質である。

美白化粧品の開発に有望なメラニン合成阻害物質

左山半伝七著『都風俗化粧伝』に、「人生まれながらにして 32 相揃いたる美人というは至って少なきもの也。化粧の仕様、顔の作りようにて、よく美人となさしむべし。その中にも色白きを第一とす。色の白きは七難隠すと諺にいへ……」と書かれているように、「白い肌」は、古くから洋の東西を問わず美人の要素の一つであり、女性の願望である。『現代用語の基礎知識』1997 年度版の「美白戦争」の特記事項からも、女性の肌に対する悩みの中で、しみ・そばかすが最大の関心事であることがわかる。近年特に、太陽から照射される紫外線量がオゾン層の破壊に伴って増加していることから、紫外線吸収体として微粒子酸化チタンなどの高度な粒子設計に基づいた機能性粉体の開発が進められている。しかし、消費者の関心は「生成されたメラニンをどれだけ取り除くことができるか」のほうに強く向いており、化粧品に対してイメージだけでなく高い有効性を求めるようになってきている。

現在、メラニンの合成を抑制する目的で、全身的にはグルタチオンおよびアスコルビン酸の投与がなされているが、局部的にはハイドロキノン、コウジ酸、アルブチ

ンおよびエラグ酸などが「日やけによるしみ・そばかすを防ぐ」目的で医薬部外品として上市され、優れた美白作用を有することが報告されている。しかし、アルブチン(hydroquinone- β -D-glucopyranoside)の母核となっているヒドロキノン、アメリカでしみの治療薬として登録され、薬局で容易に入手することができるものの、皮膚一次刺激性および感作性などの安全性に問題がある。このような現況の中で安心して使用できる美白剤がまだ少ないため、より有効な美白素材の開発が精力的に行なわれている。

色素沈着は外部からの紫外線、炎症などの様々な刺激によって誘引され、表皮基底層に存在するメラノサイトを反応場としてメラニンが合成されることによって起こる。この際、メラノサイト内のメラノソームで、酪氨酸酵素としてのチロシナーゼおよびその関連タンパク質である TRP-1 (tyrosinase related protein-1, DHICA oxidase)、および TRP-2 (tyrosinase related protein-2, DOPAchrome tautomerase) によりメラニンは合成される⁽⁷⁾。メラノソーム内のメラニン合成に最も重要な役割を果たすのはチロシナーゼであり、チロシナーゼの発現に際して顕著な作用をもつものは、太陽光中の紫外線である。紫外線は様々なサイトカインの分泌を促進させ、ケラチノサイトおよびメラノサイト自身から分泌されたサイトカインが傍分泌あるいは自己分泌的に作用し、色素沈着を誘導する。このような背景の中で、色素沈着予防剤の開発が近年ますます盛んに行なわれているが、中でも色素沈着メカニズムの根本的な原因である、メラニン合成の亢進に直接関与するチロシナーゼに対する阻害剤の探索が主になされている。現在、海藻抽出物を配合した化粧品や入浴剤が市販されるようになってきているが、その効果については科学的な実証に乏しいと言える。

そこで筆者らは、ヒト正常メラノサイトおよびマウス B16 メラノーマ細胞を用いて、海藻由来のメラニン合成阻害物質を検索し、日本沿岸より採取した 289 種の海藻類から PBS 抽出液ならびに MeOH 抽出液を調製して、メラニン合成阻害活性のスクリーニングを試みたところ、6 種の海藻の PBS 抽出液および 14 種の海藻の MeOH 抽出液に 30 % 以上ものメラニン合成阻害活性を見いだした。次いで、それら強い活性を示した海藻のうち、紅藻類スサビノリの MeOH 抽出液から各種クロマトグラフィーを用いて、メラニン合成阻害物質 MC-16 を精製した。メラニン合成阻害物質 MC-16 は、低濃度でメラニンの合成を強力に阻害し、60°C の加熱に対しても比較的安定であり、美白化粧品として応用する際に重要

な細胞に対する毒性も低いことがわかった。さらに、代表的なメラニン合成阻害既知物質であるアルブチン、アスコルビン酸およびコウジ酸との活性の比較を行なったところ、MC-16 は既知物質に比べ高い活性を示した。そのメラニン合成を阻害するメカニズムは、チロシナーゼ活性を直接的に阻害するほか、チロシナーゼ mRNA の合成をも阻害したことから、チロシナーゼ合成を転写レベルで阻害するとともに、チロシナーゼを直接阻害する複合的作用の結果、メラニン合成を阻害するきわめてユニークな作用様式をもつ物質であると考えられている。

以上述べたように、筆者らの研究によって、すでに養殖方法も確立されているスサビノリの食用以外としての有用性が見いだされ、さらにスサビノリ MeOH 抽出液由来のメラニン合成阻害物質 MC-16 は、これまでにない低刺激で効果の高い美白剤としての応用が期待された。

*

日本沿岸の海藻類の多くに、新薬の開発に有望な生理活性物質を見いだすことができた。マリンバイオマスの一つである海藻類が、新薬の供給源として、限界に達しつつある陸上の植物や土壌微生物に代わる有望なソースの一つであることが示唆されたわけである。これらの結果を基に、今後はまだ明らかにされていない上記活性物質の化学構造と活性との相関を解明し、活性物質をリード化合物としてより強力な活性物質を創成し、21 世紀に予想される疾病に対する新規医薬品や化粧品素材として応用していきたいと考えている。さらに、本研究の最終目標である、海藻類の多方面に渡る応用化が実現できれば、海藻類を単なる医薬品、農薬、あるいは化粧品の原料としてだけでなく、それが及ぼす食用以外の海藻の養殖産業の活性化、ひいては水産業の発展にも貢献できるのではと期待している。

文献

- 1) 蔵田一哉：“海洋の生化学資源”，水産学シリーズ 27, 恒星社厚生閣, 1979.
- 2) 越智雅光：“海藻の生化学と利用”，水産学シリーズ 45, 恒星社厚生閣, 1983.
- 3) M. Horikawa, H. Noro & Y. Kamei : *J. Antibiot.*, **52**, 186 (1999).
- 4) M. Fujihara, N. Iizima, I. Yamamoto & T. Nagumo : *Carbohydr. Res.*, **125**, 97 (1984).
- 5) N.W. Kim, M.A. Piatyszek, K.R. Prowse, C.B. Harley, M. D. West, P.L.C. Ho, G.M. Coviello, W.E. Wright, S.L. Weinrich & J.W. Shay : *Science*, **266**, 2011 (1994).
- 6) K. Kanegawa, H. Harada, Y. Katakura, S. Shirahata & Y. Kamei : *Cytotechnology*, **33**, 221 (2000).
- 7) C.K. Tsang, A. Sagara & Y. Kamei : *J. Appl. Phycol.*, in press (2001).
- 8) I.J. Jackson, D.M. Chambers, K. Tsukamoto, N.G. Copeland, D.J. Gilbert, N.A. Jenkins & V. Hearing : *EMBO J.*, **11**, 527 (1992).