Epicoccum purpurascens 等数種の食品由来糸状菌の 毒性検索について

齊藤 守*¹・大坪浩一郎*¹・石河 利隆*²・梅田 誠*³・坂部 フミ*⁴・宇田川 俊一*⁴
倉田 浩*⁴・関田 節子*⁴・義平 邦利*⁴・名取 信策*⁴

M. SAITO*¹, K. OHTSUBO*¹, T. ISHIKO*², M. UMEDA*³, F. SAKABE*⁴, S. UDAGAWA*⁴,
H. KURATA*⁴, S. SEKITA*⁴, K. YOSHIHIRA*⁴, and S. NATORI*⁴:

Chemical and toxicological survey on the cultures of *Epicoccum*
purpurascens and several food borne fungi

我々は食品由来のカビの毒性について検索を行って来たが^{1,2)}、その検索方法としては、一次、二次、三次スクリーニングと段階的に研究を行い、毒性を示すカビの二次代謝産物を化学的に追及し、また単離された代謝産物の毒性を生物学的に評価する方向で実験を進めてきた。

今回は、この一連の研究において、一次では明らかに毒性を示したが、二次スクリーニングの段階で毒性が消失したため、三次スクリーニングに進めず、元来毒性を有していると思われるが再検討を必要とする5種のカビについて、再び、新たに2分離株を追加し、固体培養(米)、液体培養を行い、それぞれの培養物、および抽出エキスについて、動物試験、細胞試験、化学的検索を行った。

実験方法および結果

I. 供試菌株

Alternaria sp. (69-SA-164, 75-GO-61)

*¹ 東京大学医学研究所 (〒108 東京都港区白金台4-6-1)

Institute of Medical Science, University of Tokyo
(4-6-1 Shirokanedai, Minato-ku, Tokyo 108)

*² 関東通信病院 (〒141 東京都品川区東五反田5-9-22)

Department of Pathology, Kanto-Teishin Hospital
(Higashigotanda, Shinagawa-ku, Tokyo 141)

*³ 横浜国立大学医学部 (〒232 横浜市中区浦舟町)
Tissue Culture Laboratory, Yokohama City University School of Medicine (Urafune-cho, Minami-ku, Yokohama 232)

*⁴ 国立衛生試験所 (〒158 東京都世田谷区上用賀1-18-1)

National Institute of Hygienic Sciences, Kamiyoga-1-chome, Setagaya-ku, Tokyo 158)

Epicoccum purpurascens (71-SA-12, 73-GO-117)

Penicillium martensii (69-GO-38, 71-SA-33)

P. puberulum (71-NA-52, 74-GO-49)

Syncephalastrum racemosum (67-SA-103, 74-GO-138)

の5種10株。

II. 培養

1) 固体培養

水洗後、水に浸した白米 200 g をそれぞれルーフラスコに入れ、滅菌後、供試菌株を接種、25°, 14日間培養した。

2) 液体培養

Penicillium martensii, *P. puberulum* には modified Czapek-Dox, その他は Potato-dextrose 液体培地を使用、それぞれ培地をルーフラスコに 200 ml 入れ、滅菌後、供試菌株を接種、液体培養は各培養物について Fig. 1 のように分離抽出した。各抽出エキスは薄層クロマトグラフィー(シリカゲル・HF₂₅₄)により更に細分画し、それぞれについて細胞試験を行った。

III. 動物試験

実験動物は5-7週令 ddYS 系雄マウスを用い、1群5匹、12群で実験を行った。

1) 固体培養の毒性試験について

供試菌株の培養を乾燥粉末とし、この3gとCE-II粉末を混じた飼料を1日、6g/匹、2週間、経口毒性試験を行った。いずれも致死例はなく、体重も著明な変化はなかった。また、剖検による、肉眼的所見も著変は示さなかった。組織では *P. martensii* の肝小葉中

Fig. 1. Procedure of chemical extraction from solid and liquid cultures

心帯に肝細胞の脂肪変性像をみとめた。その他は著変を認めなかった。

2) 液体培養の毒性試験について

(1) *Epicoccum purpurascens*

a) 培養濾液 1ml/25g 体重, i.p. 1~3 回投与により胸腺, 脾, 睪丸など増殖細胞に対する強いM型障害^{1,2)}を認めた。

b) 培養濾液を 1ml/30g 体重, p.o., 5 日間の連続投与により毒性を認めなかった。

c) 培養濾液の沈澱物 (crude toxin) について, 2mg/10g 量, i.p. では24時間以内に死亡, 1mg/10g 量 i.p. ではM型障害が著明であった。

d) 菌体の CH_2Cl_2 抽出物については, 10mg/10g 量, i.p. 一回投与後3日目に屠殺し, 著変を認めなかった。

e) 菌体の MeOH 抽出物については, 71-SA-12 株の場合, 0.05ml/10g 量, i.p. 1 回投与により, M型障害を認めた。一方, 73-GO-117 株については 0.2ml/10g 量, i.p. 1 回投与により, 軽度の胸

は, 同様に 10mg/10g 量, i.p., 1 回投与により, M型障害を認めた。

(3) *Penicillium martensii*, *P. puberulum*, *Syncephalastrum racemosum* の濾液, 各抽出物はいずれも著変が認められなかった。

V. 細胞試験および化学的検索

供試菌株の各抽出物およびそれらのシリカゲルクロマトグラフィーによる細分画区分を用い HeLa 細胞に対する毒性試験を行ったところ, 特に *Alternaria* sp. の CH_2Cl_2 抽出の分画部に強い毒性が認められた。これらの分画部をさらに精製を繰り返し, 同菌の既知代謝産物 alternariol^{3,5)} (1) と alternariol monomethyl ether^{4,5)} (2) を単離した。また, この両者はいずれも細胞毒性を示した。また, *Epicoccum purpurascens* の CH_2Cl_2 抽出物の分画部にも毒性が認められた。この抽出物には同菌の既知代謝産物である epicorazin⁶⁾ は認められず, epicorazin 以外に毒性物質が存在することを明らかにした。

R=H alternariol (1)
=Me alternariol monomethyl ether (2)

Fig. 2.

腺萎縮を認めた。

(2) *Alternaria* sp.

培養濾液, 1ml/25g 量, i.p., 5 回投与, また, メタノールエキス 30mg/10g 量, i.p. 1 回投与の結果著変を認めなかった。これに対し CH_2Cl_2 抽出物について

引用文献

- 1) Saito, M., Ohtsubo, K., Umeda, M., Enomoto, M., Kurata, H., Udagawa, S., Sakabe, F., Ichinoe, M.: Japan. J. Exp. Med., **41**, 1 (1971).

- 2) Saito, M., Ishiko, T., Enomoto, M., Ohtsubo, K., Umeda, M., Kurata, H., Udagawa, S., Taniguchi, S., Sekita, S.: Japan. J. Exp. Med., **44**, 63 (1974).
- 3) Harvan, D.J., Pero, R.W.: Advances in chemistry Series No. 149, p. 844 (1976), Am. Chem. Soc., Washington, D.C.
- 4) Pero, R.W., Owens, R.G., Harvan, D.: Anal. Biochem., **43**, 80 (1971).
- 5) Rosett, T., Sankhala, R. H., Stickings, C. E., Taylor, M. E. V., Thomas, R.: Biochem. J., **67**, 390 (1957).
- 6) Baute, R., Dettieux, G., Baute, M. A., Filleau, M. J., Neveu, A.: Tetrahedron Letters, **1976**, 3943 (1976).