

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月 4日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21406002

研究課題名（和文）医薬シーズ探索のためのインドネシア底生海洋生物の調査

研究課題名（英文）Investigation of benthonic marine organisms in Indonesia searching for new medicinal seeds.

研究代表者

小林 資正（KOBAYASHI MOTOMASA）

大阪大学・大学院薬学研究科・教授

研究者番号：40116033

研究成果の概要（和文）：新しい医薬資源を開発するため、インドネシア・ティモール島西端（クパン）、ビアック島周辺およびフローレス島マウメレ地域のサンゴ礁域において、底生海洋生物279サンプルの採集を行い、生物標本として保存すると共に抽出エキスを調製した。さらに、水中写真を基にした、生息分布状況、生育環境、形態的特徴に加え、生物活性試験の結果と産生成分の情報をまとめ、これをリスト化した。また、海砂や海洋生物から分離した真菌140種についても、同様なリストを作成した。

研究成果の概要（英文）：To develop the new medicinal resources, we collected 279 samples of benthonic marine organisms in the coral reef of the west side of Timor Island (Kupang area), the around of Biak Island and the Flores Island (Maumere area) at Indonesia, and prepared the specimen and the extracts from the collected samples. In addition, we prepared the list of samples, which contained information of the distribution, environments and morphological characteristics based on the pictures of marine organisms under the water, results of the bioassay and the active constituents in the samples. We also have prepared the list of 140 kinds of fungi isolated from sea sands and marine organisms.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	4,700,000	1,410,000	6,110,000
2010年度	4,200,000	1,260,000	5,460,000
2011年度	4,200,000	1,260,000	5,460,000
年度			
年度			
総計	13,100,000	3,930,000	17,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：生物分子科学

キーワード：海洋生物、海綿、海洋微生物、インドネシア、医薬シーズ、活性物質

1. 研究開始当初の背景

海綿やホヤなど底生海洋生物や海洋微生物が産生する生物活性物質には、特異な化学構造を有し強力な活性を示す化合物が多いことから、新しい医薬創製のためのシーズと

して、またそれら活性物質の標的タンパク質や遺伝子が明らかになることで、新たな創薬の標的分子が見出されることが期待されている。インドネシアサンゴ礁域には豊富な生物種が生息しているが、それらの生物種の分

布状況や産生される生物活性物質に関する情報はほとんどなかった。また、自然破壊も年々進行しているのが現状であり、新たな医薬資源が確実に失われつつある。

2. 研究の目的

本研究では、これまで情報がなかったインドネシアサンゴ礁域における、生物種の分布、生育状況に関する情報を収集するとともに、底生海洋生物や海洋微生物由来の新しい医薬資源を開発するため、その生物資料の採集を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 日本 (大阪大学、琉球大学)・インドネシア (ランブン大学、ディポネゴロ大学海洋研究所) 両国間の天然物化学者を中心とする共同研究チームを形成し、スキューバダイビングによる底生海洋生物の調査・採集を行い、調査地域での生物種の分布・生息状況に関する情報を収集する。採取した底生海洋生物は、その生物標本を保存するだけでなく、水中写真をもとにして、生息分布状況、生息環境、形状・色等の形態的特徴を整理する。また、採集した各底生海洋生物の抽出エキスを調製し、これを抽出エキスライブラリーとして、構築した生物活性スクリーニング試験を実施し、得られた評価結果と化学分析した産生成分等の情報もあわせて整理する。さらに、海底土壌サンプルや採取した生物サンプルから種々の培地を用いて海洋微生物を分離し、それらの培養物の抽出エキスのライブラリーを構築する。

(2) 平成21年度は、ティモール島西端のクパン地域を、平成22年度は、ビアック島周辺を、平成23年度は、フローレス島マウメレ地域を調査地域とした。

(3) 生物活性スクリーニング試験については、以下の特徴を持つ5つの試験を実施する。
①血管新生阻害物質：ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) に対して、選択的に増殖阻害活性を示す化合物をスクリーニングする。
②低酸素環境選択的がん細胞増殖阻害物質：がん細胞の増殖、転移に関与し、化学療法や放射線療法に抵抗性を示す低酸素適応

がん細胞選択的な増殖阻害物質をスクリーニングする。

③細胞周期阻害物質：CKI プロモーターにルシフェラーゼ遺伝子を融合したプラスミドを導入・安定発現させた形質転換細胞を用いて、CKI プロモーターを直接活性化できる化合物をスクリーニングする。

④細胞接着阻害物質：がん細胞が接着する足場となる fibronectin でコーティングした 96-well プレートを利用して、細胞毒性を示さず、fibronectin プレートへのがん細胞の接着を阻害する化合物をスクリーニングする。

⑤抗結核物質：検定菌を低酸素条件下で培養することにより、抗結核薬 isoniazid に抵抗性を示す潜在状態を誘導し、潜在状態でも抗菌活性を示す化合物をスクリーニングする。

4. 研究成果

平成21年度は、ティモール島西端のクパン地域を調査地域として、周辺沿岸10箇所を調査を行い、合計82サンプルの底生海洋生物の試料を得た。また、同時に採取した海砂から18種類の真菌の分離に成功し、海綿サンプルから20種類の真菌の分離に成功した。平成22年度はビアック島周辺を調査地域として、周辺サンゴ礁域8箇所から合計104サンプルの生物試料を採集した。また、同時に採取した海砂からは、25種類の真菌を、海綿サンプルから28種類の真菌を分離した。平成23年度については、フローレス島マウメレ地域について調査を行い、8箇所のサンゴ礁域から、合計93サンプルの試料を採集した。また同時に採取した海砂からは、10種類の真菌を、海綿サンプルからは39種類の真菌を分離した。

採取した底生海洋生物は、70%エタノールでの固定を行い、標本として保管した。さらに、すべての生物標本には、年度ごとに番号を付与し、水中写真と共に、生息分布状況、生息環境、形状・色等の形態的特徴を整理したリストの作成を行った。また、採取した各底生海洋生物の抽出エキスを調製し、これを抽出エキスライブラリーとして保存した。

分離に成功した真菌についても同様に、年度ごとに番号を付与し、分離源の情報と共にリスト化した。また、これら菌株をグリセロールストックとして保管すると共に、数種類

の培地で培養・抽出したエキスをライブラリー化した。

現在、継続して生物活性スクリーニングを進めており、いくつかの活性が見られたサンプルから、活性試験の結果を指標にした活性物質の分画・精製と化学構造の解析を進めている。今後、得られた活性評価結果と産生成分の情報をリストに加え、さらなるリストの充実を図る予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計10件)

- ① Pruksakorn P., Arai M., Liu L., Moodley P., Jacobs Jr. W.R., Kobayashi M. Action-mechanism of trichoderin A, an anti-dormant mycobacterial aminolipopeptide from marine sponge-derived *Trichoderma* sp. *Biol. Pharm. Bull.* (2011) 34(8), 1287-1290. 査読有り
- ② Arai M., Liu L., Fujimoto T., Setiawan A., Kobayashi M. DedA protein relates to action-mechanism of halicyclamine A, a marine spongean macrocyclic alkaloid, as an anti-dormant mycobacterial substance. *Marine Drugs* (2011) 9(6), 984-993. 査読有り
- ③ Ishida S., Arai M., Nikawa H., Kobayashi M. Inhibitory effect of cyclic trihydroxamate siderophore, desferrioxamine E, on the biofilm formation of *Mycobacterium* species. *Biol. Pharm. Bull.* (2011) 34(6), 917-920. 査読有り
- ④ Arai M., Kawachi T., Setiawan A., Kobayashi M. Hypoxia-selective growth inhibition of cancer cells by furospinosulin-1, a furanosesterterpene isolated from an Indonesian marine sponge. *ChemMedChem*, (2010) 5(11), 1919-1926. 査読有り
- ⑤ Pruksakorn P., Arai M., Kotoku N., Vilchèze C., Baughn A.D., Moodley P., Jacobs Jr. W.R., Kobayashi M. Trichoderins, novel aminolipopeptides from a marine sponge-derived *Trichoderma* sp., are active against dormant mycobacteria. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (2010) 20(12), 3658-3663. 査読有り
- ⑥ 荒井雅吉, 小林資正 海洋生物からの医薬シーズ探索 有機合成化学協会誌 68巻 470-479 2010年 査読有り

⑦ Hayashi A., Arai M., Fujita M., Kobayashi M. Pyripropenes, fungal sesquiterpenes conjugated with -pyrone and pyridine moieties, exhibits anti-angiogenic activity against human umbilical vein endothelial cells. *Biol. Pharm. Bull.* (2009) 32(7), 1261-1265. 査読有り

⑧ Suna H., Arai M., Tsubotani Y., Hayashi A., Setiawan A., Kobayashi M. Dysideamine, a new sesquiterpene aminoquinone, protects hippocampal neuronal cells against iodoacetic acid-induced cell death. *Bioorg. Med. Chem.* (2009) 17(11), 3968-3972. 査読有り

⑨ Arai M., Ishida S., Setiawan A., Kobayashi M. Haliclonacyclamines, tetracyclic alkylpiperidine alkaloids, as anti-dormant mycobacterial substances from a marine sponge of *Haliclona* sp. *Chem. Pharm. Bull.* (2009) 57(10), 1136-1138. 査読有り

⑩ 荒井雅吉, 小林資正 海洋天然物のケミカルバイオロジー 化学と生物 47巻 275-282 2009年 査読なし

[学会発表] (計16件)

- ① 小林資正 海綿由来の新しい医薬シーズの探索 中西シンポジウム 2012 (招待講演) 2012年3月25日 東京
- ② Motomasa Kobayashi Medicinal Seeds for Cancer Chemotherapy from Marine Organisms. 7th U.S.-Japan Seminar on Marine Natural Products (招待講演) 2011年12月12日 沖縄
- ③ 荒井雅吉, 河内崇志, 古徳直之, 小林資正 腫瘍微小環境で作用する新規抗がん剤の探索 第4回食品薬学シンポジウム 2011年10月29日 東京
- ④ 戸田和成, 田村理, 荒井雅吉, 小林資正 がん転移抑制を指向した細胞接着阻害天然物の探索 第61回日本薬学会近畿支部総会・大会 2011年10月22日 兵庫
- ⑤ 山野喜, 荒井雅吉, 小林資正 インドネシア産海綿由来の新規環状デブシペプチド neamphamide B の抗潜在性結核活性 日本生薬学会第58回年会 2011年9月24日 東京
- ⑥ 韓智秀, 荒井雅吉, 石田俊介, 新川大貴, 小林資正 海綿由来セスタテルペン heteronemin の biofilm 形成阻害活性 日本生薬学会第58回年会 2011年9月24日 東京
- ⑦ Motomasa Kobayashi Search for New Medicinal Seeds for Cancer Chemotherapy from Marine Organisms. Tetrahedron Prize for Creativity in Organic Chemistry

Symposium (招待講演) 2011年8月29日
Denver (米国)

⑧ 山野 喜、荒井雅吉、藤田真由美、小林資正 インドネシア産海綿由来の新規環状ペプチドaxinellin Dのがん細胞浸潤阻害作用 日本生薬学会第57回年会 2010年9月25日 徳島

⑨ 石田俊介、荒井雅吉、小林資正 海洋由来放線菌が産生するdesferrioxamine Eのbiofilm形成阻害活性 日本生薬学会第57回年会 2010年9月25日 徳島

⑩ 小林資正 海洋天然物由来の医薬シーズの探索 第27回和漢医薬学会学術大会 (招待講演) 2010年8月28日 京都

⑪ 荒井雅吉、劉柳、石田俊介、惣坊真理、小林資正 海綿由来の大環状アルカロイドhalicyclamine類の潜在性結核菌に対する抗菌活性とその作用メカニズムの解析 第28回メディシナルケミストリーシンポジウム 2009年11月25日 東京

⑫ 荒井雅吉、Patamaporn Pruksakorn、古徳直之、小林資正 海洋由来真菌が産生する新規アミノリポペプチドtrichoderin類の抗結核活性とその作用メカニズム 日本生薬学会第56回年会 2009年10月4日 京都

⑬ 荒井雅吉、劉柳、石田俊介、藤本貴男、惣坊真理、小林資正 海綿由来の大環状アルカロイドhaliclonacyclamine類の潜在性結核菌に対する抗菌活性とその作用メカニズム解析 日本生薬学会第56回年会 2009年10月4日 京都

⑭ 林亜紗実、荒井雅吉、藤田真由美、小林資正 海洋由来真菌が産生するセスキテルペンpyripyropene類のHUVECs選択的増殖抑制効果 日本生薬学会第56回年会 2009年10月3日 京都

⑮ Masayoshi Arai、Takashi Kawachi、Naoyuki Kotoku、Yuji Sumii、Motomasa Kobayashi Hypoxia-selective growth inhibitor, furospinosulin-1, from Indonesian marine sponge. The 25th Naito Conference on Chemical Biology [II] 2009年9月9日 北海道

⑯ 荒井雅吉、河内崇志、小林資正 インドネシア産海綿由来furospinosulin-1の低酸素環境選択的細胞毒性 第13回日本がん分子標的治療学会 2009年6月25日 徳島

[その他]

ホームページ等

<http://www.phs.osaka-u.ac.jp/homepage/b012/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小林 資正 (KOBAYASHI MOTOMASA)
大阪大学・大学院薬学研究科・教授
研究者番号：40116033

(2) 研究分担者
なし

(3) 連携研究者
荒井 雅吉 (ARAI MASAYOSHI)
大阪大学・大学院薬学研究科・准教授
研究者番号：80311231

田中 淳一 (TANAKA JUNICHI)
琉球大学・理学部・教授
研究者番号：20163529