



Title	二次代謝物で探るホヤのケミカルコミュニケーション [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	宮古, 圭
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(水産科学)
Dissertation Number	甲第14760号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/86105
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Kei_Miyako_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（水産科学）

氏名：宮古 圭

学位論文題目

二次代謝物で探るホヤのケミカルコミュニケーション

ホヤは脊索動物から脊椎動物への進化の分岐点に位置する、系統学的に重要な生物である。また、ゲノムサイズがコンパクトであり、カタユレイボヤ (*Ciona intestinalis*) においては全ゲノムが解読されていること、さらにホヤの幼生は体のつくりが単純であり、発生が非常に早いことから進化学や発生学をはじめとしたさまざまな分野でモデル生物として研究材料に用いられている。研究対象として魅力的な生物であるホヤだが、水産業においては有害生物としての一面も持つ。近年、北海道噴火湾では外来種ヨーロッパザラボヤ (*Asciidiella aspersa*) が養殖ホタテガイに大量に付着・増殖して多大な漁業被害を与えており、早急な対策が望まれているが有効な駆除法は見出されていない。ヨーロッパザラボヤの生理・生態の理解が進むことで、本種の生態をコントロールする技術の開発につながることが期待される。

一方で天然物化学分野においてはホヤから多くの二次代謝物が見出されてきた。代表的な化合物としては抗がん剤として上市された ecteinascidin 743 や、海洋天然物として初めて臨床試験が行われた didemnin B などが挙げられる。これらの化合物のようにホヤ由来の二次代謝物は創薬の発展に大きく貢献してきたが、多くの研究は化合物の構造と生理活性の報告に終わっているため、ホヤの生理・生態における二次代謝物の機能に関する知見は極めて少ない。

しかしながら、水産生物ではホヤやヒトデの受精において二次代謝物が重要な機能を果たすことが報告されている。多様な動植物や微生物で構成される生物圏において二次代謝物の役割は想像する以上の重要性を持つ可能性が高い。したがって、ホヤにおける二次代謝物の機能解明はホヤの生理・生態の理解につながることが期待される。

そこで本研究では網羅的手法を導入し、ホヤに含まれる二次代謝物の構造・生理活性、およびホヤにおける局在性などの生物学的側面について調べることで二次代謝物の機能についての知見を得ることを目的とした。

第1章では蛍光血液を持つシロボヤモドキより得られた芳香族化合物についてその構造と生理活性を詳細に調べた。

先行研究においてマボヤ目、シロボヤ科に属するシロボヤモドキ (*Cnemidocarpa irene*) の血液（体腔液）が蛍光を示すこと、蛍光成分として β -カルボリン化合物が多く含まれていることが見出された。同時に血液の蛍光物質のみならず、本種には多様な芳香族化合物が含まれていることが示唆された。本研究ではそれらの化合物のホヤにおける機能に関する知見を得ることを目的とした。

初めにホヤの抽出物を LC-MS, HPLC で分析したところ、一次代謝物はほとんど検出されず、未知の芳香族化合物が多く含まれることが分かった。未知物質の分離・精製、構造解析を行い、11 種の新規化合物を含む 15 種の芳香族化合物を同定した。

これらの化合物の生理活性を検討したところ、4 種の化合物がマウスに対し神経活性を示すことが示唆された。すなわちこれらの化合物をマウス脳室内に投与すると、マウスの行動変化が引き起こされた。さらに 6-biopterin-1'-2'-disulfate がイオンチャネル型グルタミン酸受容体に作用することを見出した。脳の原型が備わっていると言われるホヤからこのような神経活性物質が見出されたことは興味深い。

また、蛍光血液のうち、血しょうの蛍光成分として β -カルボリン類、血球細胞の蛍光成分として 1-methyl-7-oxobiopterin を同定した。このような局在性はこれらの化合物がホヤの生理に重要な役割を持つことを示唆するものであると考えられる。

第 2 章では、冒頭で述べた有害外来種であるヨーロッパザラボヤに含まれる代謝物を網羅的に解析することで本種の腸管に局在する代謝物を見出し、その構造、生理活性およびホヤにおける分布や挙動を調べた。

臓器別にホヤの抽出物を調製し、それぞれ LC-MS 分析に供したところ、複数の長鎖アルキル硫酸エステル化合物が内臓、およびフンに特異的に含まれることを見出した。これらについて分離・精製、構造解析を行い、3 種の長鎖アルキル硫酸ジエステル化合物 (Long Chain Alkyl Disulfate: LCADS) に加え、4 種の長鎖アルキル硫酸モノエステル化合物 (Long Chain Alkyl Monosulfate: LCAMS) を同定した。近年、本種に LCADS が多量に含まれることが報告されたが、ホヤにおける LCADS および LCAMS の生物学的知見はない。そこで本研究では、これらの化合物のホヤの生理における機能についての知見を得ることを目的とした。

得られた化合物のホヤにおけるより詳細な分布を調べるため、ホヤのマスイメージング解析を行った。その結果、LCADS は腸管表面に、LCAMS はフンに多く含まれることを見出した。さらにホヤ飼育水の成分分析を行ったところ、LCAMS がフンとともに海水中へ放出されていることが分かった。また、各ライフステージのホヤにこれらの化合物が含まれるか調べた結果、卵には含まれておらず、幼生および幼若体には LCADS が含まれていた。ホヤの幼生は口や消化器官に相当する器官を持たないため餌をとらない。したがって、LCADS はホヤによって生合成されていると考えられる。これらの結果から、LCADS はホヤにおいて重要な生理作用を持つことが推察される。

次にヨーロッパザラボヤ以外のホヤに LCADS が含まれるかどうかを調べたところ、マメボヤ目に属するユウレイボヤ (*Ciona Savignyi*)、カタユウレイボヤ (*C. intestinalis*) に含まれていた一方で、マボヤ目に属するアカボヤ (*Halocynthia aurantum*)、エボヤ (*Styela clava*)、シロボヤモドキ (*C. irene*) には含まれていなかった。これまでに LCADS は他種のホヤからも報告されているが、いずれもマメボヤ目もしくはマンジュウボヤ目に属するホヤからの報告である。

ホヤは高濃度のバナジウム (V) を含む、極めて稀な動物であることが知られているが、バナジウムの高濃度濃縮が確認されているのはマメボヤ目およびマンジュウボヤ目に属するホヤである。ホヤは腸管から海水中のバナジウムを 2 価の陽イオンであるバナジリイオン (VO^{2+}) として取り込んでいると考えられているが、そのメカニズムは不明である。

LCADS がマメボヤ目、マンジュウボヤ目のホヤに含まれていること、ホヤの腸管に局在していることから、分子内に負電荷を持つ硫酸基 ($-OSO_3^-$) を 2 つ有する LCADS が 2 価陽イオンであるバナジリイオン (VO^{2+}) と結合し、ホヤ体内へバナジウムを取り込んでいるのではないかと考え、現在その仮説を検証中である。

以上、本研究ではホヤに含まれる未知の二次代謝物を同定し、局在性をはじめとした生物学的側面を調べることで、二次代謝物とホヤの生理との関与を示唆する結果を得た。これらの結果は「なぜ生物は二次代謝物を作り、蓄積するのか？」という「問い」に迫るための手掛かりになりうると考えられる。この手掛かりをもとに化合物とホヤの関連性をより詳細に調べることでホヤにおける二次代謝物の機能およびホヤの生理・生態の理解へとつながると考えられる。ホヤは構造物に大量に付着し、水産業に多大な被害を与えている。ホヤの生理・生態のさらなる解明はホヤの適切なケミカルコントロール技術の開発に寄与するであろう。