

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 藤 薫

テロメラーゼは、DNA 末端にテロメア配列を付加し、テロメア長を維持する働きをする。ほとんどの正常細胞においてテロメラーゼの発現が抑制されており、その寿命が有限であるのに対し、がん化した体細胞あるいは不死化した体細胞ではテロメラーゼが発現し、テロメア長を一定に保つのでこれらの細胞は無限に細胞分裂することができる。従って、テロメラーゼ阻害剤は選択的抗がん剤となることが期待される。現在、さまざまなテロメラーゼ阻害剤が発見されているが、陸上微生物由来の阻害剤の報告例はあるものの、天然物由来の阻害剤はまだ少ない。そこで、本研究では、日本産海洋無脊椎動物を対象にテロメラーゼ阻害活性を調べるとともに、有望な活性を示した 2 種 of 海綿から活性物質の単離と構造決定を試みた。その概要は以下の通りである。

先ず、太平洋沿岸で採集した海洋無脊椎動物 897 検体から調製した脂溶性および水溶性抽出物についてテロメラーゼ阻害活性を調べたところ、海綿が活性の発現頻度と強度から最も有望なテロメラーゼ阻害物質探索源であることが判明した。次に、有望な活性を示した下記の 2 種海綿からテロメラーゼ阻害物質の単離と構造解析を試みた。

長崎県長島産海綿 *Dyctyodendrilla verongiformis* からの dendrine A-E の単離と構造決定

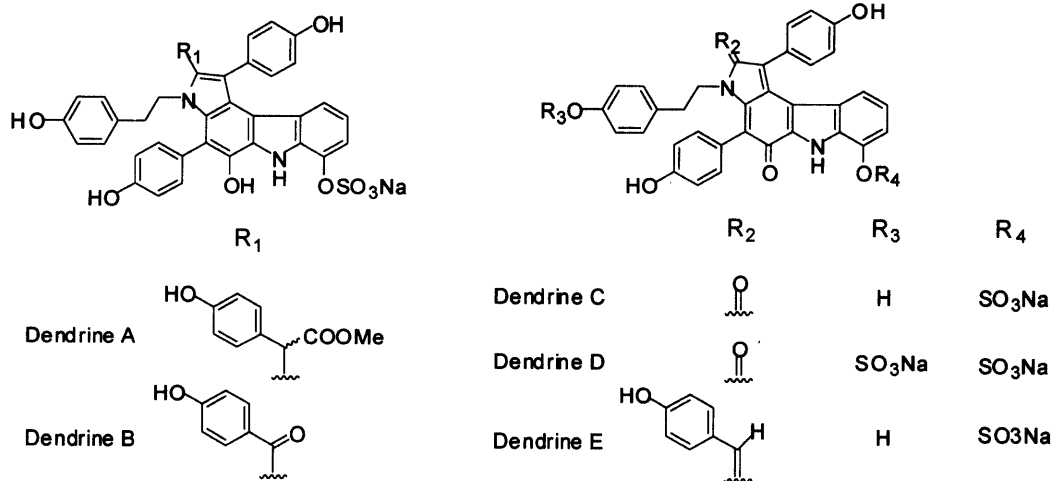
長崎県天草諸島の長島で採集した *D. verongiformis* をメタノールで抽出後、溶媒分画および各種クロマトグラフィーで精製したところ、dendrine A~E と命名した新規活性物質を単離することができた。

Dendrine A の構造を、2次元 NMR を中心とする機器分析により下図に示す多環性アルカロイドと決定した。なお、この化合物はラセミ体であることがキラル HPLC 分析等から判明した。同様に、dendrine B, C, D, および E の構造も決定できた。Dendrine A~E は、いずれも 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ でテロメラーゼ活性を 100 %阻害した。

式根島産海綿 *Axinella infundibula* からの axinelloside A の単離と構造決定

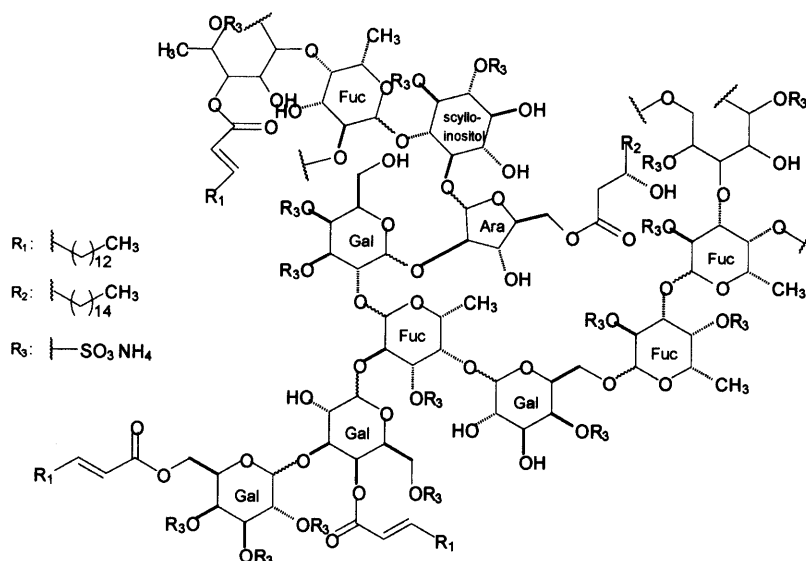
伊豆諸島の式根島で採集した *A. infundibula* を溶媒抽出後、溶媒分画、ODS フラッシュおよびシリカゲルクロマトグラフィー、逆相 HPLC で順次精製して、axinelloside A と命名した活性物質を単離した。

ESI-MS および NMR データとから、axinelloside A は分子量約 4100 の糖脂質であることが示唆され、NMR および GLC 分析から、D-arabinose、L-fucose、D-galactose、および scyllo-inositol が 1:4:4:1 の割合で含まれることがわかった。一方、NMR 解析から α , β -不飽和カルボン酸および β -ヒドロキシカルボン酸が、3:1 の割合で含まれることが推定



されたので、アルカリおよび酸加水分解によりこれらのカルボン酸を単離したところ、**2-hexadecenoic acid** および **3(R)-hydroxyoctadecanoic acid** が得られた。また、NMR を詳細に解析した結果、**galactose**、**fucose**、**arabinose**、**scyllo-inositol**、 α,β -不飽和カルボン酸 および β -ヒドロキシカルボン酸の存在比は、**4:4:1:1:3:1** であると判明した。さらに、HMBC および NOESY データの解析から、下に示すような部分構造を推定することができた。

なお、ESI-TOFMS スペクトルから **axinelloside A** に多数の硫酸基が存在することが示唆され、酸加水分解物の陰イオン交換 HPLC 分析の結果、硫酸基が概ね **22** 残基存在することが推定された。**Axinelloside A** は、**2 $\mu\text{g/mL}$** でテロメララーゼ活性を **100%** 阻害した。



以上、本研究は海洋無脊椎動物を対象にテロメララーゼ阻害活性調べて海綿が最も有望な阻害物質の探索源であることを見出すとともに、有望な活性を示した **2** 種類の海綿 ***Dyctyodendrilla verongiformis*** および ***Axinella infundibula*** から、合計 **6** 種の新規テロメララーゼ阻害物質を単離し、各種分光学的手法および化学的手法を用いてその化学構造を推定しもので、学術上、応用上寄与するところは大きい。よって審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。