

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 中川秀紀

微細藻類は水圏の基礎生産、すなわち光合成による有機物生産の主な担い手であるばかりでなく、生物活性物質の宝庫として注目され、近年化学的研究も活発になってきている。藍藻をはじめとする微細藻類は、単細胞でありながら多量の高度不飽和脂肪酸を含有する種が多くラジカルスカベンジャー活性物質の探索において好適な対象生物と考えられる。そこで本研究では、各種微細藻類の藻体抽出物を用いてラジカルスカベンジャー活性物質の探索を行い、得られた化合物の膜における抗酸化能発現機構の検討を行った。

第1章では、微細藻類 42 株を対象に、ラット肝ミクロソーム膜を用いた脂質過酸化阻害活性、DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ラジカル消去活性、SOD (superoxide dismutase) 活性、リポキシゲナーゼ阻害活性を指標としてスクリーニングを行った。その結果、*Closterium acerosum* (C-435)、*Cylindrospermum muscicola* (M-32)、*Microcystis aeruginosa* (M-228) および未同定株 MB-1 の 4 種藻体に顕著なラジカルスカベンジャー活性が見い出された。

第2章では、それら 4 種を大量培養し、単離・精製の結果、強いラジカル消去能を示した 5 つの化合物、すなわち、*C. acerosum* から neochrome ($IC_{50} = 0.51 \mu\text{g/mL}$)、*M. aeruginosa* から echinenone ($IC_{50} = 0.42 \mu\text{g/mL}$) および zeaxanthin ($IC_{50} = 0.39 \mu\text{g/mL}$)、*C. muscicola* から canthaxanthin ($IC_{50} = 0.34 \mu\text{g/mL}$)、MB-1 から lutein ($IC_{50} = 3.3 \mu\text{g/mL}$) を得ることができた。そこで、従来から抗酸化活性を有することが知られている化合物を入手し、構造と活性との間の相関について検討したところ、膜におけるカロテノイドの抗酸化能発現にはケト基またはヒドロキシル基が必須であることが明らかとなった。また、膜におけるキサントフィル分子の活性発現には酸素含有基の数ではなく、生体膜内での分子配置が重要であることが示された。

第3章では、生体膜におけるキサントフィルの抗酸化作用機序解明の一手段として、 β -carotene 酸化体を検出・同定することを試みた。その結果、ラジカル反応で生成した β -carotene 酸化体は dihydroactinidiolide と同定された。この dihydroactinidiolide の構造を考慮した結果よりラジカルとの反応部位がイオン核の近傍の共役部位であることを明らかにしている。

第4章では、キサントフィルの膜での存在様式解明に焦点を絞り、膜物性に対するキサントフィルおよびカロテノイドの効果を ^{31}P -NMR、 ^{13}C -NMR を用いて検討した。カロテノイドまたは関連化合物を封入したりポソーム膜に Pr^{3+} を添加し、 Pr^{3+} の膜漏洩速度を ^{31}P -NMR スペクトルにてモニタリングしたところ、 β -carotene を封入したりポソーム (半減期：30 分) は、レシチンのみから調製したりポソーム (半減期：6.25 日) に比べて約 300 倍も膜透過性が增大 (膜が不安定化) したが、astaxanthin 含有りポソーム (半減期：25 日) では膜漏洩速度が非常に遅く、レシチンのみから調製したりポソーム

の 4 倍も膜安定度が高いことが判明した。

一方、ミクロソーム膜において極めて強い活性を有した canthaxanthin を封入したりポソーム（半減期：30 時間）では、レシチンのみから調製したりポソームに比べ、膜透過性が 5 倍増大（膜が不安定化）した。すなわち、膜における astaxanthin の弱い抗酸化活性 ($IC_{50} = 24.1 \mu\text{g/mL}$) は物理化学的な膜安定化を介したものであることが示され、canthaxanthin の強力なラジカルスカベンジャー活性 ($IC_{50} = 0.34 \mu\text{g/mL}$) においては、膜の流動化が関与することが明らかとなった。

さらに、キサントフィル類を封入したりポソーム膜のレシチン分子各部の動きを、 ^{13}C -NMR による IRFT 法を用いて解析したところ、astaxanthin を封入したりポソームでは脂肪酸鎖の部分運動（緩和時間： T_1 ）は低下したが、canthaxanthin を封入したりポソームでは、脂肪酸鎖の T_1 に殆ど変化が見られないことが分かった。したがって、 ^{31}P -NMR での結果と合わせ、膜に封入されたキサントフィル類のラジカルスカベンジャー活性発現には、キサントフィルの膜への導入位置による、膜流動化が関与することが明らかとなった。

以上本研究では、微細藻類がキサントフィルを主な生体膜抗酸化物質として利用することが判明し、また、そのラジカル消去メカニズムを NMR を用いた膜流動の解析により初めて明らかにしたことで、キサントフィルを生体膜における最も有効なラジカルスカベンジャーとして利用できることが明らかとなった。これらの成果は学術上、応用上貢献するところが少なくない。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。