

研究終了報告書

「高等菌類におけるホルモンの解明」

研究期間： 2021 年 10 月～ 2024 年 3 月

研究者： 呉 静

1. 研究のねらい

研究提案者らは、「キノコ生活環の各段階はキノコ特有のホルモンによって制御されている」という仮説を抱き続けてきた。本研究では以下の 3 つのアプローチによって、「キノコホルモン(キノコに共通に内生し共通のメカニズムによって生活環を制御する分子)」特に「子実体発生(発芽)ホルモン」の発見を目指す。ホルモンとして証明するために、候補分子がキノコ共通に内生していることと、微量で成長・分化などに対する生理活性を明らかにすることを目的とする。

1)「Fruiting liquid (FL)」からのホルモン候補分子の探索:

菌類が子実体を発生させる直前に液体を分泌する。この現象はキノコに共通であるが、この液体が分泌される意味や役割を誰も注目していなかった。研究提案者らは、この液体が子実体形成に深く関与していると考え、fruiting liquid (FL) と命名した。そして、キノコ栽培業者の協力でヤマブシタケなどの FL を大量(栽培ポット数千個分)に入手し、子実体形成に対するバイオアッセイを行った。その結果、ヤマブシタケの FL はエノキタケの子実体形成を誘導した。

2)フェアリー化合物のキノコにおけるホルモンとしての証明:

研究提案者の所属するグループは、フェアリーリングを引き起こすキノコであるコムラサキシメジから植物生長制御物質、2-azahypoxanthine (AHX) と imidazole-4-carboxamide (ICA) を発見した。その後、植物体内での AHX の代謝産物 2-aza-8-oxohypoxanthine (AOH) を得た(図 1、以降、AHX、ICA、AOH をフェアリー化合物、fairy chemicals、FCs と表記)。そして、FCs が普遍的に植物に内生していることを証明し、生合成経路も明らかにした。これらのことは FCs が新しい植物ホルモンであることを示唆している。一方、これら FCs は、マツタケやヤマブシタケなどの菌糸成長を促進し、エノキタケとブナシメジの子実体形成を誘導した。また、LC-MS/MS 分析によって、エノキタケ、マイタケ、マツタケ、トリュフなど分類学的に遠縁の 45 種のキノコに FCs の内生を見出した。このことは、元々キノコから発見された FCs が、キノコにおいても共通のホルモンとして重要な役割を担っている可能性を示唆している。

3)「キノコホルモンのひとつはステロイド」仮説の証明:

植物や動物にはステロイドホルモンが存在する。キノコは一般にステロイドを多種多様に産生している。このことから、研究提案者らは、キノコにもステロイドホルモンが存在するという仮説を持っている。その候補として研究提案者自身がサケツバタケから単離した前例の無いステロイド骨格化合物 strophasterol A-D と所属する研究室で発見されたチャジュタケからの chaxine A-E を考えた(図 1)。何故なら「これらの化合物はエルゴステロールからエネルギーを要する経路で生合成されており、キノコは目的をもって化合物を創っている」と考えたからである。そして実際に strophasterol A はヤマブシタケなどの複数のキノコに対して菌糸成長阻害活性と子実体形成誘導活性を示した。さらに、106 種のキノコ抽出物の LC-MS/MS と NMR 分析の結果、分類学的には異なった 62 種に strophasterol 類が、85 種に chaxine 類が内生することが明らかになった。このことは、キノコが普遍的にこれらの化合物を内生している可能性を示唆している。

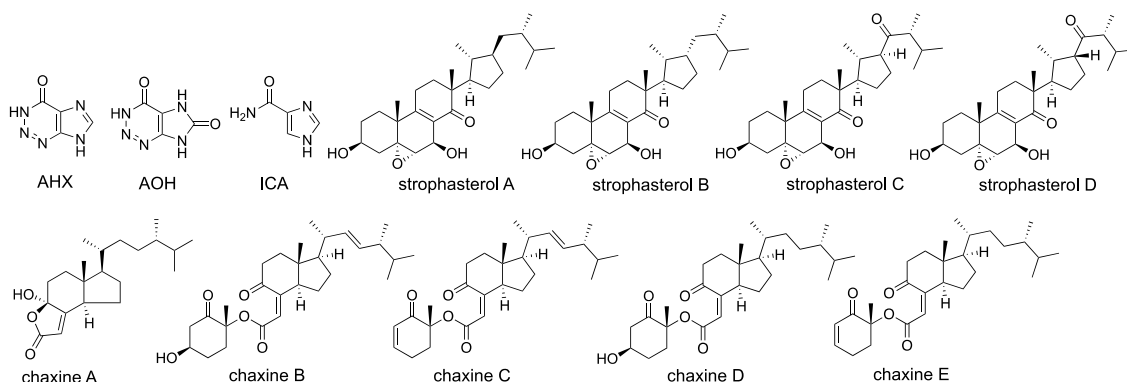


図1. FCs, strophasterol類とchaxine類の構造

2. 研究成果

(1) 概要

一方、生物には、それぞれに特有なホルモンが存在する。しかし、キノコにおけるホルモンは一切明らかにされていない。キノコを発生させる菌類は、孢子から菌糸、菌糸から子実体(キノコ)、子実体から孢子という生活環を持っている。研究提案者らは、「キノコ生活環の各段階はキノコ特有のホルモンによって制御されている」という仮説を抱き続けてきた。キノコ研究者にはキノコホルモンの存在そのものに懐疑的な人が多く、キノコホルモン発見の糸口になる研究成果は国内外を通じて一切無い。本研究では以下の 3 つの全く異なるアプローチによって、「キノコホルモン(キノコに共通に内生し共通のメカニズムによって生活環を制御する分子)」特に「子実体発生ホルモン」の発見を目指す。

(2) 詳細

1)「Fruiting liquid (FL)」からのホルモン候補分子の探索(アプローチ1): 菌類は子実体を発生させる直前に液体を分泌する。この現象はキノコに共通であるが、液体が分泌される意味や役割を誰も注目していなかった。研究提案者らは、この液体が子実体形成に深く関与していると考え、fruiting liquid (FL)と命名した。そして、キノコ栽培業者の協力で各種 FL を大量(栽培ポット数千個分)に入手し、クリタケFL およびヤマブシタケFL から子実体形成誘導物質(1、3、4)を発見した(図 2、成果論文 1)。その研究成果がアメリカ化学会発行の Journal of Agricultural and Food Chemistry に掲載され、「ACS Editors' Choice」に選ばれ、Chemical & Engineering News にも紹介

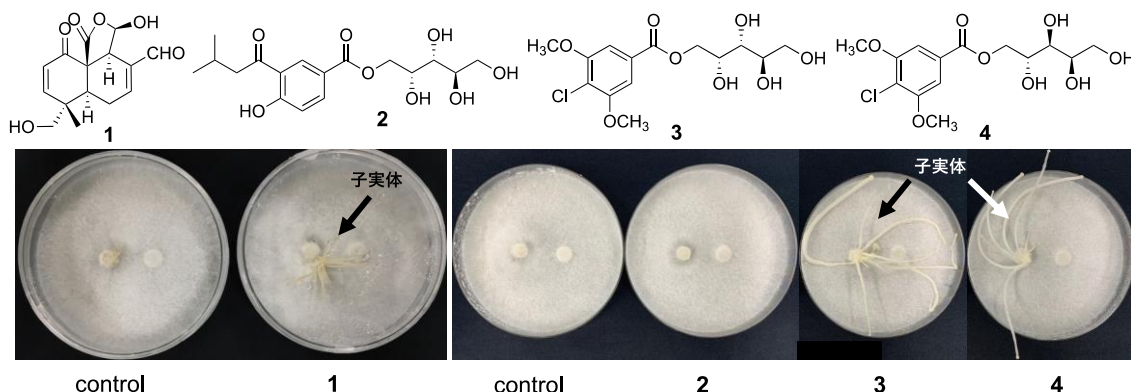


図2.エノキタケ子実体形成に対するFL化合物の効果

された。

2) FCs のキノコにおけるホルモン候補分子としての証明(アプローチ2):

FCs はマツタケやトリュフ菌糸成長を促進し、ブナシメジ、ヤマブシタケ、エノキタケの子実体形成を誘導した。また、コムラサキシメジにおける FCs の生合成酵素を明らかにし、FCs の生合成に関わる新規プリン代謝の存在を提案した。

3)「キノコホルモンのひとつはステロイド」仮説の証明(アプローチ3): Chaxine B は菌糸体成長促進活性を示し、strophasterol A に子実体形成誘導活性を見出した。化学合成された strophasterol 類縁体はエノキタケおよびマツタケに対しての菌糸体成長調節活性と子実体形成誘導活性を検討した。

3. 今後の展開

キノコホルモン候補化合物の生合成経路と代謝経路の全貌、それらの受容体、詳細な機能等の解明がなされれば、それが糸口となり、基本的で極めて重要な菌類における 2 次代謝経路の解明が大きく進展する。

キノコに関わるホルモンを明らかにできれば、天然物化学・基礎生物学等における学術的成果は極めて大きい(Nature、Science に掲載可能)。また、キノコの発生を人為的に制御(一日当たりのキノコ発生量を制御)することは現時点では不可能である。キノコの発生を自由に促進あるいは抑制することができれば商業的キノコ栽培に対する貢献は大きい。加えて、これまで不可能であったトリュフやマツタケの人工栽培への道を開き、産業、社会に与えるインパクトも極めて大きい。

4. 自己評価

本研究に関する低分子化合物の研究は進んでいますが、遺伝子・タンパク質関連実験の進捗が遅いです。今後とも、諦めずに、研究を頑張りたいと思います。

5. 主な研究成果リスト

(1) 代表的な論文(原著論文)発表

研究期間累積件数: 2件

1. Wu, J., Uchida, K., Yoshikawa, A., Hashimoto, M., Kondo, M., Nihei, K., Ishii, M., Choi, J-H., Miwa, Y., Shoda, C., Lee, D., Nakai, A., Kurihara, T., D' Alessandro-Gabazza, C. N., Toda, M., Yasuma, T., Gabazza, E. C., Hirai, H., and Kawagishi, H., "Fruiting Liquid" of Mushroom-Forming Fungi, A Novel Source of Bioactive Compounds – Fruiting-Body Inducer and HIF and Axl Inhibitors. J. Agric. Food Chem., 2023, 71(36), 13338–13345.

菌類は子実体を発生させる直前に液体を分泌する。この現象はキノコに共通であるが、液体が分泌される意味や役割を誰も注目していなかった。筆者らは、この液体が子実体形成に深く関与していると考え、fruiting liquid (FL) と命名した。そして、キノコ栽培業者の協力で各種 FL を大量(栽培ポット数千個分)に入手し、クリタケ FL とヤマブシタケ FL から子実体形成誘導物質を発見した。この論文は「ACS Editors' Choice」に選抜された。研究成果は Chemical & Engineering News にも紹介された。

2. Wu, J., Ohura, T., Ogura, R., Wang, J., Choi, J-H., Kobori, H., D' Alessandro-Gabazza, C. N.,

Toda, M., Yasuma, T., Gabazza, E. C., Takikawa, Y., Hirai, H., and Kawagishi, H., Bioactive Compounds from the Mushroom-Forming Fungus *Chlorophyllum molybdites*. *Antibiotics*, 12(3), 596–607 (2023).

フェアリーリングを引き起こすキノコであるオオシロカラカサの子実体および培養濾液から、新規化合物を含む6個の化合物の単離に成功した。

(2)特許出願

研究期間全出願件数:0 件(特許公開前のものは件数にのみ含む)

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

1. 2023.09.07 プレスリリース 静岡大学 キノコの fruiting liquid から新規物質の発見
<https://www.shizuoka.ac.jp/news/detail.html?CN=9444>
2. 日本農芸化学会 2024 年度農芸化学奨励賞 高等菌類由来の生物活性物質に関する化学的研究