

【目的】 ポリカバノシド (polycavernoside) A および B (PA、PB) は、1991年にグアムで発生した紅藻カタオゴノリ *Gracilaria edulis* による致死性食中毒の原因物質として単離、構造決定した化合物で、共役トリエンまたは共役ジエンを有する配糖体マクロリドである。この事例では13名が発症し3名が死亡した。さらに、2002~2003年にもフィリピンで同様の食中毒が発生し、36名が発症し8名が死亡した。PA、PBのマウス腹腔内投与毒性はLD₅₀ 200~400 μg/kgであった。その作用機序として、これまで、非天然型の合成PA類縁体をヒト神経芽細胞腫 BE(2)M-17細胞に作用させて蛍光色素で検出する系で、細胞外Ca²⁺が細胞内へ流入し、脱分極が誘発されることが報告されたが、作用機序の詳細は解明されていなかった。本研究は、ポリカバノシド類の作用機序の解明を目的とした。

【方法】 上記の食中毒発生時に天然から精製したポリカバノシド類は、微量で作用機序の研究には用いることができなかった。しかし、藤原、村井らによる1998年のPAの初の全合成をはじめ、複数のグループの全合成が報告された。さらに、東北大学大学院生命科学研究科の佐々木誠教授らが2017年にPA、PBの全合成に成功し、PBを合成中間体とともに供与いただいた。これを用いて本研究の作用機序の研究を行った。ポリカバノシド類の作用機序として、その症状から神経毒が疑われたため、電位依存性Naチャンネル(Na_v)および電位依存性Caチャンネル(Ca_v)にターゲットを絞って調査した。まず、マウス神経芽細胞腫 Neuro2A にウアバインとベラトリジンを追加し、細胞毒性を指標にNa_vに対する作用を調べる Neuro2A アッセイを行った。次に、Na_v、Ca_vを対象とした電気生理実験(パッチクランプ法)を実施した。また、合成中間体は一部化学誘導して構造活性相関研究に用い、Neuro2A アッセイで評価した。

【結果】 マウス神経芽細胞腫 Neuro2A 細胞にウアバインとベラトリジン共存下、PBを作用させると5 μM、10 μMで細胞生存率の上昇が示された。この現象からNa_vの阻害作用が疑われたため、共同研究者の此木がNeuro2A細胞を用いたNa_vのパッチクランプ法を行ったが、25 μMで阻害活性はみられなかった。この結果および既報から、Ca_vに対する作用が考えられた。そのため、ヒトCa_v1.2(hCav1.2/β2/α2δ1)をCHO細胞に発現させた系で、電気生理実験を実施(委託)したところ、上図のようにPB 3 μMで弱い活性化作用が観測された。このことから、ポリカバノシド類の作用機序の一つとして、Ca_v1.2の活性化作用が示唆された。しかし、この作用が二次的な作用である可能性は残されている。Neuro2A アッセイによる合成中間体を用いた構造活性相関研究では、側鎖がビニル基の場合は10 μMで活性が示されなかったが、ヨウ化ビニル基の場合はPB(EC₅₀約3 μM)の約1/2の活性が見られた。この結果から、二糖を有する場合、側鎖が短くても電子豊富でかさ高い置換基(ヨウ素)があれば活性を示すことが初めて明らかになった。

ポリカバノシド B (PB) の化学構造と PB (3 μM) のヒト Ca_v1.2 に対する電気生理実験の結果

