

## 海藻類の抗ウイルス活性の検索(2)

誌名	海と台地 : 佐賀大学海浜台地生物生産研究センター報告書 : Marine & Highland Bioscience Center report
ISSN	13415344
著者名	青木, 資子 山口, 佳子 野呂, 忠秀
発行元	佐賀大学海浜台地生物生産研究センター
巻/号	5巻
掲載ページ	p. 63-73
発行年月	1997年6月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## 海藻類の抗ウイルス活性の検索—II

青木 資子<sup>1</sup>・山口 佳子<sup>1</sup>・野呂 忠秀<sup>2</sup>・亀井 勇統<sup>1</sup><sup>1</sup>佐賀県唐津市和多田大土井 1-1 佐賀大学海浜台地生物生産研究センター<sup>2</sup>鹿児島市下荒田 4-50-20 鹿児島大学水産学部

## Screening of Antiviral Activity from Marine Algae—II

Motoko AOKI<sup>1</sup>, Yoshiko YAMAGUCHI<sup>1</sup>, Tadahide NORO<sup>2</sup> and Yuto KAMEI<sup>1</sup><sup>1</sup>Marine and Highland Bioscience Center, Saga University, 1-1 Watada-Ohdoi, Karatsu, Saga 847, Japan<sup>2</sup>Faculty of Fisheries, Kagoshima University, 4-50-20 Shimoarata, Kagoshima 890, Japan

## 要 約

本研究では、前報告に加え、新たに202種の海藻類からPBS抽出液及びMeOH抽出液を調製して、サケ科魚類の主要病原ウイルスである伝染性造血器壊死症ウイルス(IHNV)に対する抗ウイルス活性をプラークリダクションによってスクリーニングした。

その結果、それらのPBS抽出液において、新たに13種の海藻すなわち、褐藻類ではコナウミウチワ、チガイソ、トゲモク、ハバノリ、フタエオオギ、マコンブ、ヤハズグサ、およびヨレモク、紅藻類ではハブタエノリ、ハリガネ、およびフシツナギ、さらに緑藻類ではイトミルおよびタノモグサに、またMeOH抽出液では、褐藻、紅藻、緑藻類を問わず、供試した海藻類の半分以上の135種の海藻に90%以上のプラークリダクションを示す強い抗ウイルス活性が見出された。これら抗ウイルス活性を示した海藻類の特にMeOH抽出液においては、106種もの海藻が100%のプラークリダクションを示す強い抗ウイルス活性を示した。

## Summary

We continued screening of antiviral activity to salmonid pathogenic virus, infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) from additional 202 species of marine algae by plaque reduction assay.

The PBS-extracts from 13 species of marine algae were found to have antiviral activity to IHNV. These active marine algae were brown algae such as *Padina crassa* (Konaumiuchiwa), *Alaria crassifolia* (Chigaiso), and *Sargassum micracanthum* (Togemoku), *Endarachne binghamiae* (Habanori), *Dilophus okamurae* (Fukurinamiji), *Laminaria japonica* (Makonbu), *Dictyopteris latiuscula* (Yahazugusa), *Sargassumsiliqua astrum* (Yoremoku), three red algae, *Marionella Schmitziana* (Habutaenori), *Ahnfeltia paradox* (Harigane), and *Lomentaria cataenata* (Fushitsunagi), and also two green algae, *codium tenue* (Itomiru) and *Microdictyn okamurae* (Tanomogusa).

While, the MeOH-extracts from 135 species of marine algae showed antiviral activity more than 90% plaque reduction of IHNV regardless of their taxonomic criteria. Particularly, the MeOH-extracts from 106 species of these positive algae exhibited potent antiviral activity to IHNV with 100% plaque reduction.

## 緒 言

古くから魚介類を多く摂取してきたアジア諸国をはじめ、近年では欧米においても健康食品の発想から魚介類が嗜好されていることに加え、海洋資源の枯渇化あるいは漁場の制約などにより、世

界中で魚介類の養殖業が盛んになっている。しかし、養殖現場においては、自然の生態系よりもはるかに高い固体密度を強いられるために、養殖魚にとっては常にストレスがつきまとい、しかも、多量の餌料投与等により生育環境的にも決して好

ましい状態にない現状にある。このような養殖環境下では、往々にしてウイルス、細菌、真菌等の病原微生物による感染症が問題となっている。特に、ウイルス病は細菌や真菌等の病原微生物とは異なり、化学療法剤等による効果的な予防ならびに治療法がないため、一度ウイルス病が発生した場合、多大な被害を及ぼすことが多い。

しかし、これまで魚類のウイルス病に関する研究は、産業的に比較的被害の大きいものを中心に行われてきたことや、ヒトを含む哺乳類に対して病原性を示すものがないこともあって、ヒトや他の動物に感染するようなウイルス病に関する研究に比較して極めて少なく、しかも魚類のウイルス病においては主要なサケ科魚類のウイルス病に関する報告が多く見られている。このような状況の中で、日本において、海面養殖の中でもマダイやシマアジ等の従来にはなかった新しいタイプのウイルス病も数多く報告されるようになってきており、今後ますます、新しいウイルス病の発生、被害が予測されている。現在では、これらの魚類ウイルス病の予防法として、ワクチンや、有機ヨード剤による卵の消毒等が行われているが、決定的な予防・治療法には至っていないため、ヒトや畜産動物に見られるような効果的なウイルス病対策の検討が強く望まれている。

そこで、今後の効果的な抗魚類ウイルス剤を開発するにあたり、それらのソースとして海洋生物資源、とりわけ、本研究では海洋における生態系の中で魚介類の餌ともなっている海藻類に着目し、これらの海藻類の中に魚類ウイルスに対する有効な抗ウイルス物質を求めた。海藻類においては、これまでに様々な有用な生理活性物質が報告されており(Lincoln et al., 1991)、我々の研究においてもすでに抗菌、抗真菌、抗腫瘍などの有用な生理活性を見い出してきた(亀井ら, 1995; 堀川ら, 1995; 原田ら, 1995a, 1995b)。

そこで、本研究では、前報告(亀井ら, 1995)に引き続き、IHNV に対して効果的な海藻由来抗ウイルス物質を検索することを目的に、日本沿岸由来の追加海藻類202種における抗ウイルス活性についてプラークリダクション法によりスクリーニングを行った。

## 材料および方法

### 【海藻サンプル】

佐賀県の呼子、玄海、長崎県の壱岐、五島列島、島原半島、大分県の国東半島、鹿児島県の鹿児島湾、奄美大島、沖縄県の石垣島などの九州沿岸や、ミクロネシア、神奈川県横須賀、さらには、北海道の網走、岩手県の九戸、新潟県の直江津などの北日本沿岸からスキューダイビングによって海藻類を採取し(図1)、本研究室において $-25^{\circ}\text{C}$ にて凍結保存している300種以上に及ぶ海藻類の中から、前報告の段階では未検索状態にあった202種(褐藻類60種、紅藻類104種、緑藻類30種、その他の海産種子植物8種)を本実験に供試した。これら供試した海藻類を表1にまとめた。

### 【供試ウイルスおよび細胞】

本研究の抗ウイルス試験には、前回同様サケ科魚類の伝染性造血器壊死症ウイルス(IHNV, ChAb株; Kamei et al., 1987)を供試した。ウイルスの宿主としての培養細胞は、マスノスケ胚由来のCHSE-214細胞(Fryer et al., 1965)を用いて、通常の培養には10%牛胎児血清(FBS)を添加したE-RDF培地(Kyokuto, pH 6.8)によって $18^{\circ}\text{C}$ で行った。

### 【海藻抽出液】

海藻サンプルは滅菌人工海水(ASW, Jamarin Laboratories社)で3回、滅菌リン酸緩衝液(PBS)で1回ずつ洗浄した。洗浄した海藻サンプル

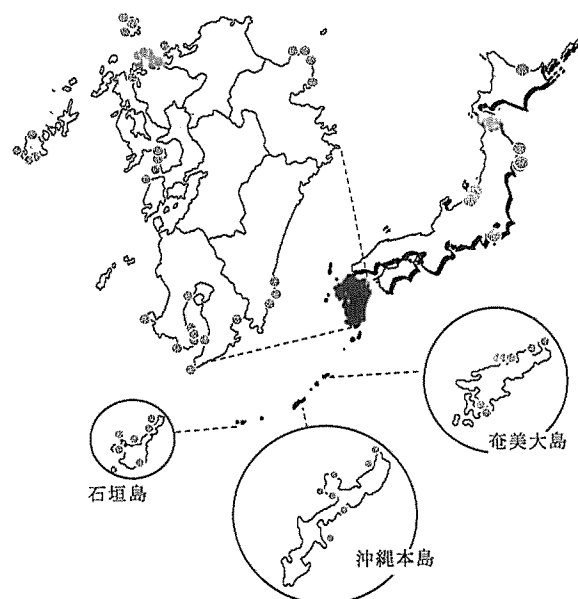


図1 供試海藻のサンプリング地点

●はサンプリング地点を表す

表1 抗ウイルス試験に供した202種の海藻類

褐藻類 (60種)		サンプリング	
和名	学名	年月	場所
—	<i>Sargassum ilioifolium</i>	'95. 7	鹿児島県志布志市
—	<i>Sargassum oligocystum</i>	'95. 4	沖縄県石垣島
—	<i>Sargassum polypollum</i>	'95. 4	沖縄県石垣島
—	<i>Sargassum sp.</i>	'95. 1	大分県長崎鼻
アツバモク	<i>Sargassum crassifolium</i>	'95. 4	沖縄県石垣島
アミジグサ S.P.	<i>Dictyota sp.</i>	'94. 11	ミクロネシア
アントクメ	<i>Eckloniopsis radicata</i>	'95. 8	鹿児島県葛輪
イトアミジ	<i>Dictyota linearis</i>	'95. 4	沖縄県塩屋
イロロ	<i>Isige sinicola</i>	'95. 6	福岡県志賀島
イワヒゲ	<i>Myelo phycus</i>	'95. 2	長崎県壱岐
ウガノモク	<i>Cystoseria hakodatensis</i>	'95. 2	長崎県壱岐
ウミゾウメン	<i>Nemalion vermiculare</i>	'95. 8	北海道
ウラボシヤハズ	<i>Dictyopteris membranacea</i>	'95. 4	沖縄県石垣島
ウルシグサ	<i>Desmarestia ligulata</i>	'95. 8	長崎県五島
エゾヤハズ	<i>Dictyopteris divaricata</i>	'95. 4	岩手県九戸郡
エツキイワノカワ	<i>Peyssonnelia caulifera</i>	'94. 7	鹿児島県奄美大島
オオバモク	<i>Sargassum ringgoldianum</i>	'94. 8	神奈川県横須賀市
オキナウチワ	<i>Padina japonica</i>	'95. 4	沖縄県石垣島
オキナワモズク	<i>Cladosiphon okamuranus</i>	'95. 4	沖縄県石垣島
カゴメノリ	<i>Hydroclathrus clathratus</i>	'95. 2	長崎県壱岐
カリメリア S.P.	—	'95. 7	鹿児島県志布志市
クロメ	<i>Eisenia kurome</i>	'95. 2	長崎県深江町
ケウルシグサ	<i>Desmarestia viridis</i>	'94. 8	岩手県
コナウミウチワ	<i>Padina crassa</i>	'94. 7	鹿児島県奄美大島
コバモク	<i>Sargassum sp.</i>	'94. 11	ミクロネシア
コブクロモク	<i>Sargassum crispifolium</i>	'94. 5	鹿児島県鹿児島湾
シオミドロ	<i>Ectocarpum siliculosus</i>	'95. 1	長崎県壱岐
ジガミグサ	<i>Styopodium zonale</i>	'94. 8	長崎県五島
シダモク	<i>Sargassum filicinum</i>	'95. 2	長崎県深江町
スギモク	<i>Coccophora langsdorfii</i>	'94. 7	佐賀県波戸岬
スジメ	<i>Costaria costata</i>	'95. 5	岩手県陸前高田市
セイヨウハバナリ	<i>Petalonia fascia</i>	'95. 3	佐賀県伊万里
タバコグサ	<i>Desmarestia tabacoides</i>	'95. 8	鹿児島県葛輪
チガイソ	<i>Alaria crassifolia</i>	'95. 8	北海道
ツルモ	<i>Corda filum</i>	'95. 1	長崎県壱岐
トゲモク	<i>Sargassum micracanthum</i>	'94. 12	佐賀県神集島
トサカモク	<i>Sargassum cristaefolium</i>	'95. 4	沖縄県石垣島
ナガマツモ	<i>Chordaria flagelliformis</i>	'94. 8	岩手県
ネバリモ	<i>Leasthesia difformis</i>	'95. 4	新潟県直江津市
ハイオウギ	<i>Lobophora variegata</i>	'95. 7	鹿児島県
ハハキモク	<i>Sargassum kjellmanianum</i>	'95. 3	佐賀県伊万里
ハバナリ	<i>Endarachne binghamiae</i>	'95. 3	新潟県
ハバモドキ	<i>Punctaria latifolia</i>	'95. 3	新潟県
ハリアミジ	<i>Dictyota spinulosa</i>	'95. 4	沖縄県塩屋
ヒバマタ	<i>Fucus disticus</i>	'95. 8	北海道
フクリンアミジ	<i>Dilophus okamurae</i>	'95. 2	長崎県壱岐
フタエオオギ	<i>Distromium decumbens</i>	'95. 8	鹿児島県奄美大島
フタエモク	<i>Sargassum duplicatum</i>	'95. 7	鹿児島県根占町
ホソバセイヨウハバナリ	<i>Petalonia zosterifolia</i>	'95. 4	新潟県
ホソメコンブ	<i>Laminaria religiosa</i>	'95. 5	岩手県陸前高田市
ホンダワラ亜属	<i>Sargassum fulvellum</i>	'94. 7	佐賀県波戸岬

表1 つづき

マコンブ	<i>Laminaria japonica</i>	'95. 8	北海道
マツモ	<i>Anatipus japonicus</i>	'95. 5	岩手県大船渡市
マメタワラ	<i>Sargassum piluliferum</i>	'94. 5	佐賀県神集島
ミツイシコンブ	<i>Laminaria angustata</i>	'95. 8	北海道
ミヤベモク	<i>Sargassum miyabei</i>	'95. 9	北海道
ムチモ	<i>Cutleria cylindria</i>	'94. 12	佐賀県呼子町
ムラチドリ	<i>Chnoospora implex</i>	'95. 8	鹿児島県奄美大島
ヤナギモク	<i>Sargassum ringgoldianum</i>	'94. 5	佐賀県神集島
ヤハズグサ	<i>Dictyopteris latiuscula</i>	'95. 7	鹿児島県阿久根市
ヤバナモク	<i>Hormophysa triquetra</i>	'95. 4	沖縄県石垣島
ヨレモク	<i>Sargassum siliquastrum</i>	'95. 6	福岡県志賀島
紅藻類 (104種)		サンプリング	
和名	学名	年月	場所
—	<i>Gracilaria edulis</i>	'95. 4	沖縄県石垣島
—	<i>Gracilaria sailcomia</i>	'94. 11	ミクロネシア
アカバギンナンソウ	<i>Rhodoglossum japonicum</i>	'95. 5	岩手県陸前高田市
アサクサノリ	<i>Porphyra tenera</i>	'95. 2	長崎県深江町
アマノリ sp.	<i>Porphyra</i> sp.	'95. 5	岩手県大船渡市
アヤニシキ	<i>Martensia denticulata</i>	'95. 5	福岡県福吉
イギス	<i>Ceramium kondoi</i>	'95. 4	沖縄県石垣島
イギス sp.	<i>Ceramium</i> sp.	'94. 7	鹿児島県奄美大島
イシノハナ	<i>Mastophora rosea</i>	'95. 4	沖縄県石垣島
イソウメモドキ	<i>Hyalosiphonia caespitosa</i>	'95. 3	佐賀県伊万里
イソキリ	<i>Bossiella cretacea</i>	'95. 6	福岡県志賀島
イソダグツウ	<i>Caulacanthus okamuræ</i>	'95. 9	北海道
イソムラサキ	<i>Symphyocladia latiuscula</i>	'95. 1	大分県黒津崎
イトグサ sp.	<i>Polysiphonia</i> sp.	'95. 5	岩手県大船渡市
イトグサ sp.	<i>Polysiphonia</i> sp.	'95. 4	岩手県九戸郡
イトシノブ	<i>Plumariella yoshikawai</i>	'95. 7	宮崎県青島
イトフジマツ	<i>Neorhodomela munita</i>	'95. 3	新潟県
イワノカワ sp.	<i>Prissonelia</i> sp.	'94. 7	鹿児島県奄美大島
ウスバワツナギソウ	<i>Champia expansa</i>	'95. 1	大分県権蔵崎
ウップルイノリ	<i>Porphyra pseudolinearis</i>	'94. 12	新潟県
ウラソゾ	<i>Laurencia nipponica</i>	'95. 7	鹿児島県野間池
エゴノリ	<i>Campylaephora hypnaeoides</i>	'95. 9	北海道
エゾツノマタ	<i>Chondrus yendoi</i>	'95. 4	岩手県九戸郡
オオムカデノリ	<i>Halymenia acuminata</i>	'95. 6	福岡県志賀島
オキツノリ	<i>Gymnogongrus flabelliformis</i>	'95. 4	福岡県福吉
オゴノリ sp.	<i>Gracilaria</i> sp.	'95. 4	沖縄県石垣島
カイノリ	<i>Gigartina intermedia</i>	'95. 5	岩手県陸前高田市
カタソゾ	<i>Laurencia cartilaginea</i>	'95. 7	鹿児島県佐多岬
カタノリ	<i>Grateloupia divaricata</i>	'94. 12	佐賀県呼子町
カタメンキリンサイ	<i>Eucheuma gelatinae</i>	'95. 4	沖縄県石垣島
カレキグサ	<i>Tichocarpus crinitus</i>	'95. 8	北海道
キヌイトカザシグサ	<i>Griffithsia subcylindrica</i>	'95. 1	大分県黒津崎
ギブリイトグサ	<i>Polysiphonia japonica</i>	'95. 10	新潟県
クシヘニヒバ	<i>Ptilosa filicina</i>	'95. 8	北海道
クロソゾ	<i>Laurencia intermedia</i>	'95. 4	新潟県直江津
クロノリ	<i>Porphyra okamuræ</i>	'95. 3	新潟県
コスジフシツナギ	<i>Lomentaria hakodatensis</i>	'95. 5	岩手県陸前高田市
シマダジア	<i>Heterosiphonia pulchra</i>	'95. 1	大分県権蔵崎
ジュズフサノリ	<i>Scinaia moniliformis</i>	'95. 4	沖縄県石垣島
ジュズフサノリ	<i>Scinaia moniliformis</i>	'95. 4	沖縄県今帰仁

表1 つづき

ショウジョウケノリ	<i>Polysiphonia urceolata</i>	'95. 4	新潟県
シラモ	<i>Gracilaria bursa-pastoris</i>	'95. 3	新潟県
スサビノリ	<i>Porphyra yezoensis</i>	'95. 4	佐賀県松浦川
ソゾb sp.	<i>Laurencia sp.</i>	'95. 4	沖縄県石垣島
タオヤギソウ	<i>Chrysymenia wrightii</i>	'95. 4	新潟県
ダルス	<i>Palmaria palmata</i>	'95. 5	岩手県九戸郡
ツノマタ sp.	<i>Chondrus sp.</i>	'95. 5	岩手県陸前高田市
トゲイギス	<i>Centroceras clavulatum</i>	'94. 10	新潟県
トゲカバノリ	<i>Gracilaria denticulata</i>	'95. 4	沖縄県渡那
トゲキリンサイ	<i>Eucheuma serra</i>	'95. 4	沖縄県塩屋
トゲナシマダラ	<i>Faucea leptophylla</i>	'94. 7	佐賀県波戸岬
トサカノリ	<i>Meristotheca papulosa</i>	'94. 7	鹿児島県奄美大島
トサカマツ	<i>Prionitis crispata</i>	'95. 2	佐賀県伊万里
トチャカ	<i>Chondrus crispus</i>	'95. 5	熊本県天草
ナガウブゲグサ	<i>Spyridia elongata</i>	'95. 3	佐賀県伊万里
ナミイワタケ	<i>Tylopus lichenoides</i>	'95. 7	宮崎県青島
ナミノハナ	<i>Chondrococcus japonicus</i>	'95. 8	鹿児島県奄美大島
ニクムカデ	<i>Grateloupia carnososa</i>	'95. 7	鹿児島県佐多岬
ヌメハノリ	<i>Delesseria serrulata</i>	'95. 4	岩手県九戸郡
ヌルハダ	<i>Trichogloeopsis mucosissima</i>	'95. 4	沖縄県今帰仁
ハイウスバノリ	<i>Acrosorium yendoi</i>	'95. 5	岩手県陸前高田市
ハイテングサ	<i>Gelidium pusillum</i>	'94. 7	鹿児島県奄美大島
ハケサキノコギリヒバ	<i>Odonthalia corymbifera</i>	'95. 8	北海道
ハネイギス	<i>Ceramium japonicum</i>	'95. 2	長崎県壱岐
ハネソゾ	<i>Laurencia pinnata</i>	'95. 7	鹿児島県奄美大島
パピラソゾ	<i>Laurencia papillosa</i>	'95. 4	沖縄県石垣島
ハブタエノリ	<i>Marionella schmitziana</i>	'95. 5	熊本県天草
ハリガネ	<i>Ahnfeltia paradox</i>	'95. 5	岩手県大船渡市
ヒジリメン	<i>Grateloupia sparsa</i>	'95. 4	新潟県直江津
ヒトエグサ	<i>Monostroma nitidum</i>	'95. 7	鹿児島県奄美大島
ヒビロウド	<i>Dudresnaya japonica</i>	'95. 4	佐賀県松浦川
ヒラガラガラ	<i>Galaxaura falcata</i>	'95. 4	沖縄県辺戸岬
ヒラキントキ	<i>Prionitis patens</i>	'95. 7	宮崎県青島
ヒラコトジ	<i>Chondrus pinnulatus</i>	'95. 5	熊本県天草
ヒラムカデ	<i>Grateloupia livida</i>	'95. 3	新潟県
ヒロハタマイタダキ	<i>Ptilonia okadae</i>	'95. 8	鹿児島県葛輪
フシツナギ	<i>Lomentaria cataenata</i>	'95. 5	岩手県陸前高田市
フジマツモ	<i>Neorhodomela aculeata</i>	'95. 4	岩手県九戸郡
フダラク	<i>Pachymeniopsis laceolata</i>	'95. 7	鹿児島県佐多岬
フトオゴノリ	<i>Greville</i> —	'95. 7	鹿児島県
フノリ sp.	<i>Gloiopeltis sp.</i>	'95. 5	熊本県天草
フノリウシゲ	<i>Bangia gloiopeltidicola</i>	'95. 4	岩手県九戸郡
ベニスナゴ	<i>Schizymenia dubyi</i>	'94. 4	鹿児島県鹿児島湾
ヘリトリカニノテ	<i>Marginisporium crassissimum</i>	'94. 8	長崎県五島
ホソバフジマツ	<i>Rhodomela teres</i>	'95. 8	北海道
ホソバミリン	<i>Solieria tenuis</i>	'95. 3	新潟県
マオウカニノテ	<i>Amphirosa sp.</i>	'95. 5	熊本県天草
マギレソゾ	<i>Laurencia saitoi</i>	'95. 8	北海道
マツノリ	<i>Carpopeltis affinis</i>	'95. 1	大分県権蔵崎
マフノリ	<i>Gloiopeltis tenax</i>	'95. 2	長崎県深江町
ミゾオゴノリ	<i>Gracilaria incurvata</i>	'95. 3	佐賀県伊万里
ミリン	<i>Solieria robusta</i>	'95. 5	熊本県天草
ムカデノリ	<i>Grateloupia filicina</i>	'95. 4	福岡県福吉

表1 つづき

ムカデノリ	<i>Grateloupia filicina</i>	'95. 6	福岡県志賀島
モサガラガラ	<i>Galaxaura subfruticulosa</i>	'95. 4	沖縄県石垣島
モロイトグサ	<i>Polysiphonia morrowii</i>	'95. 3	福岡県福吉
ヤツデガタモドキ	<i>Callophyllis palmata</i>	'95. 4	福岡県福吉
ヤナギノリ	<i>Chondria dasyphylla</i>	'95. 1	大分県黒津崎
ヤレウスバノリ	<i>Acrosorium flabellatum</i>	'95. 6	福岡県志賀島
ユミデガタオゴノリ	<i>Gracilaria arcuata</i>	'95. 4	沖縄県石垣島
ヨゴレコナハダ	<i>Liagora japonica</i>	'94. 7	鹿児島県奄美大島
ランゲリア	<i>Wrangelia tayloriana</i>	'95. 4	沖縄県百那
無節サンゴ藻 sp.	—	'95. 4	沖縄県辺戸岬
有節サンゴ藻 sp.	—	'95. 4	沖縄県辺戸岬
緑藻類 (30種)		サンプリング	
和名	学名	年月	場所
アオモグサ	<i>Boodlea coacta</i>	'95. 4	沖縄県石垣島
アサミドリシオグサ	<i>Cladophora sakaii</i>	'95. 8	北海道
イソスギナ	<i>Halicoryne wrightii</i>	'95. 4	沖縄県百那
イトミル	<i>Codium tenue</i>	'95. 4	沖縄県石垣島
ウスバアオノリ	<i>Enteromorpha linza</i>	'95. 2	長崎県深江町
カサノリ	<i>Acetabularia ryukyuensis</i>	'95. 4	沖縄県石垣島
カタシオグサ	<i>Cladophora ohkuoana</i>	'94. 7	佐賀県波戸岬
キッコウグサ	<i>Dictyosphaeria cavernosa</i>	'94. 7	鹿児島県奄美大島
コケイワツタ	<i>Caulerpa webbiana</i>	'95. 7	鹿児島県奄美大島
サボテングサ sp.	<i>Halimeda sp.</i>	'94. 11	ミクロネシア
シオグサ sp.	<i>Cladophora sp.</i>	'95. 5	岩手県陸前高田市
ズズカケツタ	<i>Caulerpa peltata</i>	'95. 4	沖縄県辺戸岬
タカノハツタ	<i>Caulerpa sertularioides</i>	'95. 4	沖縄県石垣島
タノモグサ	<i>Microdictyon okamurae</i>	'95. 4	沖縄県石垣島
タマゴバロニア	<i>Valonia macrophysa</i>	'95. 4	沖縄県石垣島
タマジユズモ	<i>Chaetomorpha monilifera</i>	'95. 8	北海道
タマバロニア	<i>Valonia aegagropila</i>	'95. 4	沖縄県辺戸岬
ナガミル	<i>Codium cylindricum</i>	'95. 6	佐賀県神集島
ハネモ	<i>Beyopsis plumosa</i>	'95. 2	佐賀県伊万里市
ヒトエグサ	<i>Monostroma nitidum</i>	'95. 7	鹿児島県奄美大島
ヒトエグサ	<i>Monostroma nitidum</i>	'95. 4	福岡県福吉
ヒロハサボテングサ	<i>Halimeda macroloba</i>	'95. 4	沖縄県石垣島
ヘライワツタ	<i>Caulerpa brachypus</i>	'94. 8	神奈川県横須賀市
ホソジュズモ	<i>Chaetomorpha crassa</i>	'94. 8	神奈川県横須賀市
ミツデサボテングサ	<i>Halimeda incrassata</i>	'95. 4	沖縄県塩屋
ミドリゲ	<i>Cladophoropsis zollingeri</i>	'95. 7	鹿児島県奄美大島
ムクキッコウグサ	<i>Dictyosphaeria versluisii</i>	'95. 4	沖縄県石垣島
モツキヒトエ	<i>Kornmannia (Monostroma) zostericola</i>	'95. 4	岩手県九戸郡
モツレミル	<i>Codium intricatum</i>	'94. 8	長崎県五島
ワタシオグサ	<i>Cladophora albida</i>	'95. 3	新潟県
その他の海産種子植物 (8種)		サンプリング	
和名	学名	年月	場所
アマモ	<i>Zostera marina</i>	'95. 2	長崎県壱岐
ウミヒルモ	<i>Halophila ovalis</i>	'95. 4	沖縄県塩屋
スガモ	<i>Phyllospadix iwatensis</i>	'94. 8	岩手県
リュウキュウスガモ	<i>Rhodoglossum japonicum</i>	'95. 4	沖縄県石垣島
インクラゲ	<i>Nostoc commune</i>	'94. 7	鹿児島県奄美大島
コアマモ	<i>Zostera japonica</i>	'94. 7	鹿児島県奄美大島
ランソウ	<i>Cyanophyceae</i>	'95. 4	沖縄県石垣島
ランソウ sp.	<i>Cyanophyceae sp.</i>	'94. 7	鹿児島県奄美大島

ルは、湿重量 5 g を計り取り、PBS を 20ml 加え、ポリトロン (Kinematika 社) でホモジナイズ (8000 rpm, 5 min) し、遠心分離 (3000 rpm, 20 min) によって得られた上清を PBS 抽出画分とし、さらにその残渣に MeOH を 20ml 加えてホモジナイズし、同様に遠心して得られた上清を MeOH 抽出画分とした。これらは、濾過除菌後、PBS 抽出画分の場合は、培地で 1/10 に希釈して、また、MeOH 抽出画分の場合は、凍結乾燥後、それら抽出物の濃度が 1/100 になるように培地中 1% の DMSO に溶解させたものを、以下の抗ウイルス活性試験に用いた。

#### 【抗ウイルス活性試験】

抗ウイルス活性試験は、プラークリダクション法 (Kamei et al., 1988) によって行った。IHNV 液 (約 200 PFU) 200 $\mu$ l と各海藻抽出液 200 $\mu$ l を混合し、18°C で 1 時間反応させ、その混合液を 24-well プレートにコンフルエントとなるよう 1 日培養した CHSE-214 細胞にそれぞれ 200 $\mu$ l ずつ 2 well 宛、接種した。ウイルスを 18°C で 1 時間、細胞に吸着させた後に、0.8% メチルセルロース培地 (Kamei et al., 1987) で重層して、18°C で 7 日間培養した。培養後、細胞を 10% ホルマリンで固定した後に、0.1% クリスタルバイオレットで染色した。染色された紫色の細胞シートをバックにして、形成されたプラークを計数し、プラークの減少を観察した。プラーク減少率は各 2 well 毎の平均値で求めた。

#### 結 果

佐賀県の呼子、玄海、長崎県の壱岐、福岡県の福吉、大分県の国東半島、鹿児島県の鹿児島湾、奄美大島、沖縄県の石垣島などの九州沿岸、北海道の網走、岩手県の陸前高田、新潟県の直江津などの北日本沿岸、および、神奈川県横須賀、ミクロネシアから採取した 202 種 (褐藻類 60 種、紅藻類 104 種、緑藻類 30 種、その他の海産種子植物 8 種) の海藻類の各 PBS 抽出液並びに MeOH 抽出液、計 404 サンプルについて、サケ科魚類の主要な病原ウイルスである伝染性造血器壊死症ウイルス (IHNV) に対する抗ウイルス活性を、プラークリダクション法により行った。

その結果、前報告 (亀井ら, 1995) 同様、高頻度で多くの海藻類に抗ウイルス活性が観察された。

PBS 抽出液では、試験した海藻中、褐藻類コナウミウチワおよびトゲモクに強い抗ウイルス活性が見られ、100% のプラークリダクションを示した。また、フタエオオギ、ヤハズグサ、ヨレモク、チガイソ、およびマコンブでは、90% 以上のプラークリダクションが観察された。紅藻類ではハリガネおよびフシツナギ、緑藻類ではイトミルおよびタノモグサが、100% のプラークリダクションを示し、紅藻類ハバノリおよびハブタエノリは 90% のプラークリダクションを示した (表 2)。このように、PBS 抽出による水溶性画分においては、供試した 202 種の海藻中、褐藻類に比較的多くの活性が見出され、海藻の種類によってその抗ウイルス活性に大きな差が見られた。

一方、それら海藻類の MeOH 抽出液では、PBS 抽出液よりも高い頻度で抗ウイルス活性が見出された。100% のプラークリダクションを示した強い抗ウイルス活性が褐藻類では 45 種、紅藻類では 41 種、緑藻類では 18 種、その他の海産種子植物では 2 種において見られ、さらに、100% 以下 90% 以上のプラークリダクションを示した抗ウイルス活性は、褐藻類では 5 種、紅藻類では 17 種、緑藻類では 4 種、その他の海産種子植物では 3 種において見られた。全体的に、試験した海藻類 202 種中、半数以上の 135 種に 90% 以上のプラークリダクションを示す強い抗ウイルス活性が見られ、中でも、100% のプラークリダクションを示したものは、106 種に及び、しかもそれらの抗ウイルス活性は、種類を問わず褐藻類、紅藻類、緑藻類、その他の海産種子植物など試験した全ての海藻種に観察された。これらの結果を総合的に判断すると、MeOH 抽出画分に抗ウイルス活性が高い頻度で見出されたことから、海藻類には脂溶性と考えられる画分に、エンベロープを有するラブドウイルスに属する IHNV に対して強力な抗ウイルス物質を有していることが明らかとなった。

#### 考 察

前報告において、我々はサケ科魚類の重要な病原ウイルスである伝染性造血器壊死症ウイルス (IHNV) を対象に、主に九州沿岸由来の海藻類 100 種の抗ウイルス活性のスクリーニングを行い、55 種類の海藻が 90% 以上のプラークリダクションを示すような抗ウイルス活性を有することを報告し



表2 海藻抽出液によるウイルスプラークの抑制率 (%)

褐藻類		海藻抽出液	
和名	学名	PBS抽出液	MeOH抽出液
—	<i>S. ilicifolium</i>		100
—	<i>S. oligocystum</i>		100
—	<i>S. polyporum</i>		100
—	<i>Sargassum sp.</i>		100
アミジグサ S.P.	<i>Dictyota sp.</i>		100
アントクメ	<i>Eckloniopsis radicata</i>		100
イトアミジ	<i>Dictyota linearis</i>		100
イロロ	<i>Isige sinicola</i>		100
イワヒゲ	<i>Myelo phycus</i>		100
ウガノモク	<i>Cystoseria hakodatensis</i>		100
ウラボシヤハズ	<i>Dictyopteris membranacea</i>		100
エゾヤハズ	<i>Dictyopteris divaricata</i>		100
オオバモク	<i>Sargassum ringgoldianum</i>		95
オキナウチワ	<i>Padina japonica</i>		100
オキナワモズク	<i>Cladosiphon okamuranus</i>		100
カゴメノリ	<i>Hydroclathrus clathratus</i>		100
クロメ	<i>Eisenia kurome</i>		100
コナウミウチワ	<i>Padina crassa</i>	100	100
コバモク	<i>Sargassum sp.</i>		100
コブクロモク	<i>Sargassum crispifolium</i>		100
シオミドロ	<i>Ectocarpum siliculosus</i>		100
ジガミグサ	<i>Styopodium zonale</i>		100
シダモク	<i>Sargassum filicinum</i>		97
スギモク	<i>Coccophora langsdorfii</i>		99
スジメ	<i>Costaria costata</i>		100
セイヨウハバノリ	<i>Petalonia fascia</i>		100
タバコグサ	<i>Desmarestia tabacoides</i>		100
チガイソ	<i>Alaria crassifolia</i>	90	
ツルモ	<i>Corda filum</i>		100
トゲモク	<i>Sargassum micracanthum</i>	100	100
トサカモク	<i>Sargassum cristaeifolium</i>		100
ナガマツモ	<i>Chordaria flagelliformis</i>		100
ネバリモ	<i>Leasthesia difformis</i>		97
ハイオウギ	<i>Lobophora variegata</i>		100
ハハキモク	<i>Sargassum kjellmanianum</i>		100
ハバノリ	<i>Endarachne binghamiae</i>	90	100
ハバモドキ	<i>Punctaria latifolia</i>		100
ハリアミジ	<i>Dictyota spinulosa</i>		100
フクリンアミジ	<i>Dilophus okamurae</i>		100
フタエオオギ	<i>Distromium decumbens</i>	90	100
フタエモク	<i>Sargassum duplicatum</i>		100
ホソバセイヨウハバノリ	<i>Petalonia zosterifolia</i>		100
ホソメコンブ	<i>Laminaria religiosa</i>		100
ホンダワラ亜属	<i>Sargassum fulvellum</i>		100
マコンブ	<i>Laminaria japonica</i>	90	
マメタワラ	<i>Sargassum piluliferum</i>		100
ムチモ	<i>Cutleria cylindria</i>		100

表2 つづき

ムラチドリ	<i>Chnoospora implex</i>		100
ヤナギモク	<i>Sargassum ringgoldianum</i>		100
ヤハズグサ	<i>Dictyopteris latiuscula</i>	90	100
ヤバネモク	<i>Hormophysa triquetra</i>		99
ヨレモク	<i>Sargassum siliquastrum</i>	90	100
紅 藻 類		海藻抽出液	
和 名	学 名	PBS 抽出液	MeOH 抽出液
—	<i>Gracilaria edulis</i>		100
—	<i>Gracilaria sailcomia</i>		100
アサクサノリ	<i>Porphyra tenera</i>		100
イギス	<i>Ceramium kondoii</i>		100
イギス sp.	<i>Ceramium sp.</i>		100
イシノハナ	<i>Mastophora rosea</i>		95
イソウメモドキ	<i>Hyalosiphonia caespitosa</i>		92
イソキリ	<i>Bossiella cretacea</i>		100
イソムラサキ	<i>Symphyocladia latiuscula</i>		100
イトシノブ	<i>Plumariella yoshikawai</i>		100
イトフジマツ	<i>Neorhodomela munita</i>		100
イワノカワ sp.	<i>Prssonelia sp.</i>		100
ウスバワツナギソウ	<i>Champia expansa</i>		98
ウラソゾ	<i>Laurencia nipponica</i>		100
エゴノリ	<i>Campylaeophora hypnaeoides</i>		100
オオムカデノリ	<i>Halymenia acuminata</i>		100
オキツノリ	<i>Gymnogongrus flabelliformis</i>		94
オゴノリ sp.	<i>Gracilaria sp.</i>		100
キヌイトカザシグサ	<i>Griffithsia subcylindrica</i>		100
ギブリイトグサ	<i>Polysiphonia japonica</i>		100
クシヘニヒバ	<i>Ptilosa filicina</i>		100
クロソゾ	<i>Laurencia intermedia</i>		100
クロノリ	<i>Porphyra okamurae</i>		100
ジュズフサノリ	<i>Scinaia moniliformis</i>		100
ショウジョウケノリ	<i>Polysiphonia urceolata</i>		90
シラモ	<i>Gracilaria bursa-pastoris</i>		98
ダルス	<i>Palmaria palmata</i>		100
ツノマタ sp.	<i>Chondrus sp.</i>		94
トゲイギス	<i>Centroceras clavulatum</i>		100
トゲナシマグラ	<i>Faucheia leptophylla</i>		100
ナミノハナ	<i>Chondrococcus japonicus</i>		100
ニクムカデ	<i>Grateloupia carnosia</i>		100
ヌメハノリ	<i>Delesseria serrulata</i>		100
ヌルハダ	<i>Trichogloeopsis mucosissima</i>		
ハイテングサ	<i>Gelidium pusillum</i>		91
ハケサキノコギリヒバ	<i>Odonthalia corymbifera</i>		100
ハネイギス	<i>Ceramium japonicum</i>		100
ハネソゾ	<i>Laurencia pinnata</i>		100
バビラソゾ	<i>Laurencia papillosa</i>		100
ハブタエノリ	<i>Marionella schmitziana</i>	90	100
ハリガネ	<i>Ahnfeltia paradox</i>	100	
ヒジリメン	<i>Grateloupia sparsa</i>		96

表2 つづき

ヒトエグサ	<i>Monostroma nitidum</i>		100
ヒビロウド	<i>Dudresnaya japonica</i>		93
ヒラガラガラ	<i>Galaxaura falcata</i>		100
ヒラキントキ	<i>Prionitis patens</i>		96
ヒラコトジ	<i>Chondrus pinnulatus</i>		100
ヒロハタマイタダキ	<i>Ptilonia okadae</i>		100
フシツナギ	<i>Lomentaria cataenata</i>	100	
フジマツモ	<i>Neorhodomela aculeata</i>		100
フダラク	<i>Pachymeniopsis laceolata</i>		92
フノリウシゲ	<i>Bangia gloiopeltidicola</i>		100
ベニスナゴ	<i>Schizymenia dubyi</i>		97
ヘリトリカニノテ	<i>Marginisporum crassissimum</i>		100
ホソバフジマツ	<i>Rhodomela teres</i>		100
マツノリ	<i>Carpopeltis affinis</i>		100
マフノリ	<i>Gloiopeltis tenax</i>		97
モサガラガラ	<i>Galaxaura subfruticulosa</i>		100
ヤツデガタモドキ	<i>Callophyllis palmata</i>		99
有節サンゴ藻 sp.	—		92
緑 藻 類		海藻抽出液	
和 名	学 名	PBS 抽出液	MeOH 抽出液
アオモグサ	<i>Boodlea coacta</i>		100
イソスギナ	<i>Halicoryne wrightii</i>		100
イトミル	<i>Codium tenue</i>	100	100
カサノリ	<i>Acetabularia ryukyuensis</i>		100
カタシオグサ	<i>Cladophora ohkuboana</i>		97
キッコウグサ	<i>Dictyosphaeria cavernosa</i>		100
サボテングサ sp.	<i>Halimeda sp.</i>		100
シオグサ sp.	<i>Cladophora sp.</i>		100
タノモグサ	<i>Microdictyon okamurae</i>	100	100
タマゴバロニア	<i>Valonia macrophysa</i>		100
タマバロニア	<i>Valonia aegagropila</i>		92
ナガミル	<i>Codium cylindricum</i>		100
ハネモ	<i>Beyopsis plumosa</i>		92
ヒロハサボテングサ	<i>Halimeda macroloba</i>		100
ヘライワヅタ	<i>Caulerpa brachypus</i>		100
ホソジュスモ	<i>Chaetomorpha crassa</i>		100
ミツデサボテングサ	<i>Halimeda incrassata</i>		100
ミドリゲ	<i>Cladophoropsis zollingeri</i>		90
ムクキッコウグサ	<i>Dictyosphaeria versluisii</i>		100
モツキヒトエ	<i>Kornmannia zostericola</i>		100
モツレミル	<i>Codium intricatum</i>		100
ワタシオグサ	<i>Cladophora albida</i>		100
その他の海産種子植物		海藻抽出液	
和 名	学 名	PBS 抽出液	MeOH 抽出液
アマモ	<i>Zostera marina</i>		100
ウミヒルモ	<i>Halophila ovalis</i>		92
スガモ	<i>Phyllospadix iwatensis</i>		93
リュウキュウスガモ	<i>Rhodoglossum japonicum</i>		100
イシクラゲ	<i>Nostoc commune</i>		93

た(亀井ら, 1995)。本研究においては, さらに九州沿岸以外でも採取した他の202種の海藻類について, IHNV に対する抗ウイルス活性について追加スクリーニングを行った。

その結果, 前報告同様, 多くの海藻類に抗ウイルス活性が見出され, 試験した海藻の半数以上のもの, 特に PBS 抽出液よりも MeOH 抽出液に, 90%以上のプラークリダクションを示すような強い抗ウイルス活性が新たに確認された。また, 北日本沿岸由来の海藻と, 九州・沖縄沿岸由来海藻の抗ウイルス活性を地域的に比較してみると, 北日本沿岸由来の海藻類は56種中33種(59%), 九州沿岸由来の海藻類は78種中56種(71%), 南西諸島の奄美大島・沖縄沿岸由来の海藻類では61種中43種(70%)に抗ウイルス活性が見られ, 比較的, 北日本沿岸よりも九州・沖縄沿岸由来の海藻に高い頻度で抗ウイルス活性が見られた。このことは, 海藻が生育していた場所や, 季節的な変化によって, その抗ウイルス物質等の生理活性物質の生産性に相違が起こっているものと考えられる (Hornsey et al., 1976)。

現在, 海藻由来の抗ウイルス物質として, 主にヒトのウイルスを対象として多糖類が知られている (Ehresmann et al., 1977; Ruchards et al., 1978)。現在, 世界的に問題となっているヒト免疫不全症候群 (AIDS) の原因ウイルスである HIV に対しては, 紅藻類より得られる  $\lambda$ - $\iota$ - $\kappa$ -カラギナンや, 褐藻類より得られる多糖やポリフェノールに活性があることが報告されている (Nakashima et al., 1987; Yoshida et al., 1987; B'eres et al., 1993)。これらの物質は, 海藻類から熱水抽出により得られているが, 我々は, 熱に不安定なタンパク等を含む他易熱性物質もスクリーニングしたい理由から, 熱水抽出による抽出を今回も検討しなかった。本研究においても, 褐藻類のコナウミウチワ, チガイソ, トゲモク, ハバノリ, フタエオオギ, マコンブ, ヤハズグサ, およびヨレモク, 紅藻類のハブタエノリ, ハリガネおよびフシツナギ, 緑藻類のイトミルおよびタノモグサの PBS 抽出液において抗ウイルス活性が観察されたが, PBS 抽出液中の活性の本体は, おそらく, 上述したような多糖類であろうと考えている。

今後は, これらの抗ウイルス物質の分離・精製

を行い, 得られた抗ウイルス物質の化学構造を明らかにするとともにその抗ウイルス活性のメカニズムも検討しながら, 他の魚病ウイルスや, ヒトを含む他哺乳動物ウイルスに対する抗ウイルス活性を調べていきたいと考えている。

## 謝 辞

本研究を遂行するにあたり, 海藻採取のご協力ならびにご快諾を賜りました, 北海道網走水産試験場, 岩手県水産技術センターおよび大船渡地方振興局, 財団法人・海洋生物環境研究所, 佐賀県の玄海水産振興センター, 鎮西町漁協, 唐津市神集島漁協, 大分県の浅海水産試験場, 長崎県の壱岐支庁水産課, 石田町漁協, 郷ノ浦町漁協, 島原水産業改良普及所ならびに鹿児島県の名瀬漁協の関係各位に厚く御礼申し上げます。

## 引用文献

1. B'eres, A., O. Wasswemann, T. Bruhn, E. N. Kaiselburd, L. V. Gonzalez, G. E. De Motta, P. I. Chavez (1993), *J. Nat. Prod.*, 56, 478
2. Bourgougnon, N., J-C, Chermann., M Lahaye and J-M, Kornprobst (1996) Anti-HIV activity and mode of action, in vitro, of the sulfated polysaccharide from *Schizymenia dubyi*. *Cellular Pharm.*, 3, 104-108
3. Fryer, J., A. Yusha and K. S. Pilcher (1965): The in Vitro Cultivation of Tissue and Cells of Pacific Salmon and Steelhead Trout. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 126, 566-586
4. Harada, H., T. Noro and Y. Kamei (1995a): Selective Cytotoxic Activity to Tumor Cells from Marine Algae, The Eighth Annual Meeting of Japanese Association for Animal Cell Technology (JAACT '98) Program & Abstracts., pp 77.
5. Harada, H., T. Noro and Y. Kamei (1995b): Cytotoxic Activity of Marine Algae Extracts against Several Tumor Cell Lines, The Eighth Annual Meeting of Japanese Association for Animal Cell Technology (JAACT '95) Program & Abstracts., pp. 190.
6. 堀川美穂・野呂忠秀・亀井勇統 (1996) 九州沿岸海藻類の抗菌活性の検索—II. 海と台地, 2, 43-48
7. Kamei, Y., M. Yoshimiau and T. Kimura (1987): Plaque Assay of *Oncorhynchus masou* virus (OMV). *Fish Pathol.*, 22, 147-152
8. 亀井勇統・野呂忠秀・竹山健一 (1995): 九州沿岸海藻類の抗菌活性の検索. 海と台地, 1, 11-19
9. 亀井勇統・野呂忠秀・山口佳子 (1995): 海藻類の抗ウイルス活性の検索—I. 海と台地, 2, 49-56
10. 宮崎由佳・野呂忠秀・亀井勇統 (1995): 九州沿岸海藻類の抗菌活性の検索—I. 海と台地, 2, 57-62
11. Nakashima H. et al., (1987) Antiretroviral activity in a marine red algal: reversetranscriptase inhibition by an aqueous extract of *Schizymenia pacifica*. *J. Cancer. Res. Clin. Onc.*, 113: 413-416