

秋季藻類シンポジウム「海藻と健康の展望—大学研究室からの報告」講演 (2006. 11. 18)

堀 貫治：海藻資源からの糖鎖標的医薬素材・生化学素材・健康食品素材の開発

はじめに

生体膜や体液に存在する複合糖質（糖タンパク質や糖脂質）の糖鎖は、タンパク質や脂質の生合成下流で付加され、それら生体分子の機能発現に必須である（図1）。例えば、真核生物においては生合成されるタンパク質の50%以上は糖が付加され糖タンパク質として存在する。また、血清中のほとんどのタンパク質は糖タンパク質として存在することはよく知られている。言い換えれば、多くのタンパク質については、それらの遺伝子情報やタンパク質情報のみでは翻訳後修飾された成熟分子（糖タンパク質）の機能を推しはかることはできない。このように、糖鎖は糖複合体として存在するタンパク質や脂質に最終的な機能を付与し、医療などの応用分野と密接に関わっている。事実、細胞表面に存在する糖鎖は“細胞の顔”として種々の細胞間、細胞—マトリックス間の相互作用において一種の情報素子として機能することが知られている。糖鎖の構造には、生物種、組織・細胞種、病変などに依存して多様性があり、情報素子と言われる由縁でもある（図2）。これら糖鎖の機能の重要性が明らかにされるに伴い、糖鎖は核酸、タンパク質に次ぐ第3の生命の鎖として位置づけられるようになった。現在、糖鎖の機能や応用技術に関する新しい研究分野として糖鎖生物学や糖鎖工学に関するグライコミックス研究が活発に展開されている<sup>(1, 2)</sup>。

一方、糖鎖が情報素子として機能するためには多種類の糖鎖素子を認識、識別する分子が必要であり、その主たるものとして生体内にはレクチンと総称される糖結合性タンパク質が存在する。したがって、レクチンも多種類存在し、糖鎖と相補的に細胞内、細胞間、および細胞—マトリックス間で重要な役割を果たしており、糖鎖生物学や糖鎖工学に関する研究分野で欠かせないターゲット分子となっている。レクチン

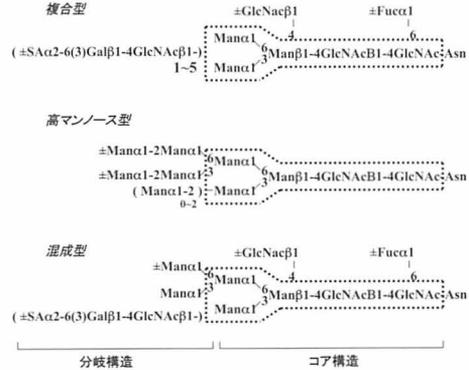


図2 糖タンパク質のN-グリコシド型糖鎖構造

はウィスルからヒトに至る広範囲の生物種に存在し、糖鎖の識別、細胞の識別、生体膜との結合によるシグナルトランスダクションなどを通して多様な生物機能（生物活性）を示すことが明らかにされてきている<sup>(3)</sup>（図1）。これらの機能はレクチンの応用特性でもあり、生物学、免疫学、医学などの分野において便利な試薬としてすでに市販されているレクチンも多い。一般に、レクチンの分子構造や認識する糖構造は由来する生物種により異なり、この多様性がレクチンの応用性を高めており、新規の糖鎖認識能や生物活性を示すレクチンの開発研究が活発に行われている。

視点を海藻資源に転じると、海藻は、直接あるいは加工処理されて食料や肥料、飼料として利用されているだけでなく、バイオケミカル源としても多様に利用されている（図3）。なかでも海藻多糖は含有量も多いことから応用研究の格好の対象となっている。一方、海藻のタンパク質については、粘

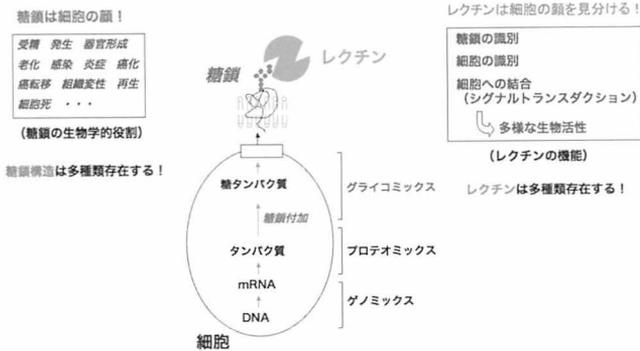


図1 糖タンパク質糖鎖とレクチンの機能

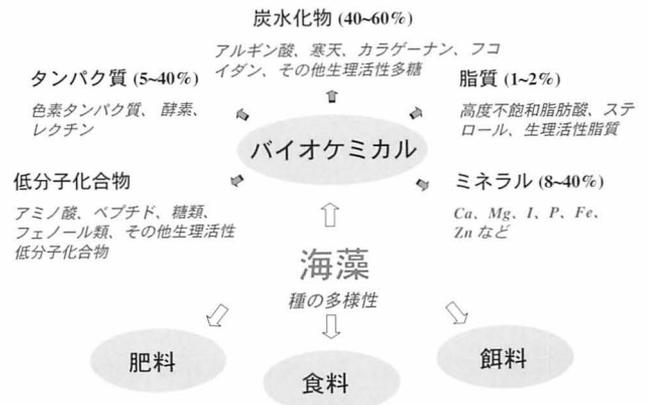


図3 海藻資源の利用の多様性

表1 海藻におけるレクチン（赤血球凝集素）の検索結果

| 海藻種             | 活性種の数 (活性種数/検索種数) |           |         |           |
|-----------------|-------------------|-----------|---------|-----------|
|                 | 赤血球               |           |         | 計         |
|                 | 動物                | ヒト        | 魚類      |           |
| 緑藻 <sup>a</sup> | 24 / 51           | 27 / 44   | 3 / 3   | 34 / 54   |
| 紅藻 <sup>b</sup> | 74 / 110          | 53 / 157  | 37 / 37 | 120 / 196 |
| 褐藻 <sup>c</sup> | 13 / 19           | 38 / 76   | 24 / 24 | 51 / 76   |
| 計               | 111 / 160         | 118 / 277 | 64 / 64 | 205 / 326 |
| 活性種の検出率         | 69 %              | 42%       | 100%    | 63%       |

<sup>a</sup> 緑藻検索種：5目10科15属に属する54種

<sup>b</sup> 紅藻検索種：8目31科93属に属する196種

<sup>c</sup> 褐藻検索種：10目26科50属に属する76種

質多糖やポリフェノールなどの存在もあって抽出・精製が比較的困難であり、研究の進展が妨げられている。筆者らはレクチンのソースとして海藻に着目し、これまでに海藻レクチンの性状把握に努めてきた。また最近では、他研究グループによる興味深い海藻レクチンの研究報告も増加しつつある。その結果、海藻由来のものは他生物グループのものとは異なる性質をもつものが多く、新しいレクチン群として基礎と応用の両面から興味深いことがわかってきた。特に、その糖結合特異性はユニークで、特定の糖鎖構造を選択的に認識する海藻レクチンは、糖鎖を標的とする種々の応用分野での活用が期待できる。ここでは、糖鎖を標的とした選択性の高い医薬素材、生化学素材および健康食品素材としての海藻レクチンの性状を概観し、利用の可能性を考えてみたい。

## 1. 海藻レクチン（赤血球凝集素）の分布

1966年のBoyd（“レクチン”の名付け親）らによるプエルトリコ産海藻を対象とした最初の検索<sup>(4)</sup>以来、1994年までに報告された海藻レクチン（赤血球凝集素）の検索結果をまとめたものが表1である。検索種326種中205種に赤血球凝集素が存在することが認められており、海藻もレクチン（赤血球凝集素）資源として有望であることを示している。なお、褐藻の結果については、レクチン様の疑似赤血球凝集作用を示すポリフェノールを多く含むことから、再検討が必要とされている<sup>(5)</sup>。海藻レクチンはヒト赤血球よりも動物赤血球、とくにウサギやヒツジの蛋白分解酵素処理した赤血球を強く凝集する傾向があることが示されている<sup>(6)</sup>。その後の検索研究結果でも同様の傾向が認められている。これらの検索結果では、緑藻ミル目のミル科、ハネモ科、イワツタ科、紅藻スギノリ目のミリン科、オゴノリ科、およびダルス目のイギス科に属する海藻種に強い凝集活性が検出されている。この他、微細藻類に属する渦鞭毛藻、ラフィド藻および珪藻<sup>(7)</sup>（表2）ならびに藍藻数種の緩衝液抽出液<sup>(8, 19, 23, 24)</sup>にも

表2 渦鞭毛藻、ラフィド藻および珪藻におけるレクチン（赤血球凝集素）および溶血素の検索<sup>(12)</sup>

| 種名                             | 細胞抽出液                |                   | 培養液                  |                   |
|--------------------------------|----------------------|-------------------|----------------------|-------------------|
|                                | 赤血球凝集活性 <sup>a</sup> | 溶血活性 <sup>a</sup> | 赤血球凝集活性 <sup>a</sup> | 溶血活性 <sup>b</sup> |
| 渦鞭毛藻                           |                      |                   |                      |                   |
| <i>Alexandrium cohorticula</i> | 8                    | — <sup>c</sup>    | 2                    | + <sup>d</sup>    |
| <i>A. tamarense</i>            | 64                   | 32                | —                    | +                 |
| <i>A. catenella</i>            | nd <sup>e</sup>      | nd                | —                    | +                 |
| <i>Amphidinium carterae</i>    | 16                   | 2                 | —                    | +                 |
| <i>Coolia monotis</i>          | nd                   | nd                | —                    | +                 |
| <i>Gymnodinium mikimotoi</i>   | 4                    | 2                 | —                    | —                 |
| <i>G. catenatum</i>            | —                    | —                 | —                    | +                 |
| <i>Gymnodinium</i> sp.         | 32                   | 4                 | —                    | +                 |
| <i>Heterocapsa</i> sp.         | nd                   | nd                | —                    | —                 |
| <i>Prorocentrum lima</i>       | 8                    | 4                 | —                    | +                 |
| <i>P. balticum</i>             | 32                   | —                 | —                    | +                 |
| <i>P. mcans</i>                | 16                   | 4                 | —                    | —                 |
| ラフィド藻                          |                      |                   |                      |                   |
| <i>Chattonella antiqua</i>     | 256                  | 8                 | 4                    | —                 |
| 珪藻                             |                      |                   |                      |                   |
| <i>Nitzschia</i> sp.           | 32                   | 16                | —                    | —                 |

<sup>a</sup> 検液（藻体湿重量の2倍容の緩衝液で抽出）の連続2倍希釈液の活性を測定し、活性を示した希釈液の希釈倍の逆数（力価）で表示

<sup>b</sup> 活性の有無を定性的に表示

<sup>c</sup> 活性なし

<sup>d</sup> 活性あり

<sup>e</sup> 未測定

レクチン（赤血球凝集）活性が検出されている。これらの結果から、筆者は大型藻類と微細藻類のレクチンを総称して藻類レクチン（phycolectins）と呼ぶことを提唱している。

## 2. 海藻レクチンの性状

これまでに緑藻20種、紅藻27種および藍藻5種のレクチンが単離されている。従来、海藻レクチンは分子量が小さいこと、単量体からなるタンパク質もしくは糖タンパク質であること、単糖結合性を示さないこと、活性発現に金属イオン要求性を示さないこと、耐熱性であることを特徴とすることが示されてきた<sup>(9-12)</sup>。一方、緑藻から最近精製されたレクチンの多くは、多量体構造からなり単糖結合性を示すことで、陸上植物由来のレクチンと類似した性質を示している。海藻レクチンのアミノ酸配列に関する情報は十分には蓄積されていないが、N末端配列に関しては少なくとも属レベルで保存されている<sup>(11, 12, 17, 19)</sup>。海藻レクチンの中で、陸上植物レクチンと類似したアミノ酸配列をもつものはこれまでに見いだされておらず、海藻レクチンは新規のレクチン群を形成すると考えられる。

### 2-1) 生物活性と糖鎖認識

精製された海藻レクチンの生物活性として、赤血球以外に、細菌、藍藻、渦鞭毛藻、酵母、リンパ球、血小板、腫瘍細胞など各種細胞の凝集作用、リンパ球分裂促進作用、腫瘍細胞の増殖抑制作用、血小板凝集阻害作用、魚類病原菌に対する

表3 海藻レクチンの糖鎖結合特異性

高マンノース型糖鎖特異的なもの

*Eucheuma serra* (ESA-1~3)  
*E. amakusaensis* (EAA-1~3)  
*E. cottonii* (ECA-1~2)  
*Solieria robusta* (Solnin A~C)  
*Oscillatoria agardhii* (OAA)  
*Boodlea coacta* (BCA)

複合型糖鎖特異的なもの

*Gracilaria verrucosa* (GVL)

高マンノース型と複合型の両糖鎖に結合するもの

*Carpopeltis flabellata* (Carnin)

シアリルルイス X 型糖鎖特異的なもの

*Bryopsis* sp. (Bry-1)

フォルスマン抗原糖鎖特異的なもの

*Codium fragile* (CFA)

抗菌作用, 好中球遊走促進作用, 海産無脊椎動物の胚発生の阻害作用, 赤潮生物を含む微細胞に対する殺藻作用などが見いだされている<sup>(11-12)</sup>。レクチンは主に生体膜糖鎖との結合を介して種々の生物活性を示すことから, それらが認識する糖構造に関する情報は重要である。また, この情報は糖鎖センサーとしてのレクチンの利用の面からも大切である。

レクチンの糖結合特異性は, 細胞(赤血球)凝集や複合糖質との結合を阻止する糖化合物を検索する間接的方法, 固定化レクチンに対する糖化合物の結合性を検索する直接的方法(表面プラズモン共鳴法やアフニティクロマトグラフィー)などを用いて解析されている。海藻レクチンの場合は, これまで赤血球凝集阻止試験が多用されており, 詳細な糖結合性に関する情報は十分とは言えない。赤血球凝集阻止試験の結果から, 海藻レクチンは単糖結合性の有無により2大別され, 緑藻レクチンの多くは単糖結合性を示し, 紅藻レクチンの多くは単糖結合性を示さない。単糖結合性レクチンは高分子量もしくは多量体構造をもつものに対し, 非単糖結合性レクチンは低分子量の単量体構造を有する傾向がみられる。一方, 単糖結合性をもたない海藻レクチンは, その凝集活性が糖タンパク質や糖ペプチドで阻害されること, それら糖タンパク質をコーティングしたポリスチレンビーズを凝集することから, 糖タンパク質に直接結合することが認められた<sup>(13)</sup>。なお, 糖タンパク質をコーティングしたポリスチレンビーズに対する凝集活性も単糖類では阻止されない。レクチンの生

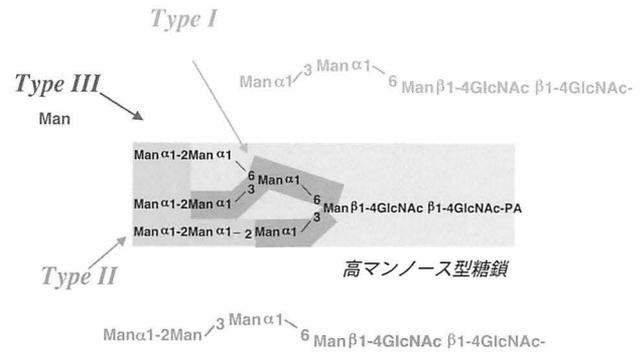


図4 高マンノース型糖鎖特異的海藻レクチンの認識部位と結合する最小糖鎖構造

体内レセプターは単糖よりも複合糖質の糖鎖である可能性が高いことから, 複合糖質もしくは糖鎖に対する結合性の情報は有益である。糖タンパク質の糖鎖構造はN-グリコシド型(アスパラギン結合型)糖鎖とO-グリコシド型(セリン/スレオニン結合型)糖鎖に2大別される。N-グリコシド型糖鎖は共通のコア構造(Man(α1-6)[Man(α1-3)]Man(β1-4)GlcNAc(β1-4)GlcNAc)を有するが, コア構造からの分岐糖鎖構造の違いにより, 複合型, 高マンノース型, 混成型の3グループに細分類される(図2)。さらに, 複合型糖鎖にはN-アセチルラクトサミンからなる分岐鎖の本数などにより, 高マンノース型糖鎖には分岐糖鎖部分のオリゴマンノースの構造の違いにより, それぞれ種々の構造が見いだされている。海藻レクチンは, 糖タンパク質との結合性に基いて, 高マンノース型糖鎖特異的なもの, 複合型糖鎖特異的なもの, 両型糖鎖に結合するものの3つにグループ分けされる。最近, 厳選した45種類の糖鎖を対象として, 遠心限外ろ過-HPLC法を用いて海藻レクチンの糖鎖結合性を精査した結果, 高マンノース型糖鎖特異的なもの, 複合型糖鎖特異的なもの, 両糖鎖に結合するもの, シアリルルイスX型糖鎖特異的なもの, フォルスマン抗原糖鎖特異的, コアα1-6Fuc特異的なものなど, 既知レクチンとは異なって, きわめて選択性の高い糖鎖結合特異性をもつレクチンが数多く存在することが認められた<sup>(14)</sup>(表3)。また, 同解析から, 高マンノース型糖鎖特異的なものは非還元末端にα1-2Man残基が付加すると結合活性が著しく低下するもの(タイプI), 同残基が付加したものとは結合しないもの(タイプII), 遊離のManやオリゴマンノースにも結合し, 分岐部分の構造の違いを特に識別しないもの(タイプIII)にさらに区別されること(図4), 複合型糖鎖特異的なものにはN-アセチルラクトサミンからなる分岐糖鎖の本数の違いにより結合活性が異なるものが存在することなど, それら糖鎖構造中の認識部位に関してもユニークな性質をもつことが認められた。海藻は系統分類上では下等な生物グループに属すると考えられるが, 海藻レクチンの糖鎖認識能は他生物由来のものにはみられない厳密性を有しており, 特異性が高い。したがって, これら海藻レ

|   |                             |    |
|---|-----------------------------|----|
| 紅藻 (真核生物)                               | 1                           | 25 |
| <i>Eucheuma serra</i> (ESAs)            | GRYTVQNQWGGSSAPWNDAGLWILG   |    |
| <i>E. amakusaensis</i> (EAAs)           | GRYTVKNQWGGSSAPWNDAGLWILG   |    |
| <i>E. cottonii</i> (ECAs)               | GRYTVQNQWGGSSAPWNDAG-----   |    |
| <i>Solieria robusta</i> (Solnins)       | GRYTVQNQWGGSSAAWNDAAGLWVLG  |    |
| <i>Gracilaria bursa-pastoris</i> (GBA)* | GRYTVQNQWGGSSAPWNAAGL-VL--  |    |
| 淡水産藍藻 (原核生物)                            |                             |    |
| <i>Oscillatoria agardhii</i> (OAA)      | ALYNVENQWGGSSAPWNEGGQWEIG   |    |
| 粘性細菌 (原核生物)                             |                             |    |
| <i>Myxococcus xanthus</i> (MBHA)*       | AAAYLVQNQWGGSSQATWNPGLLWILG |    |

図5 紅藻および藍藻の高マンノース型糖鎖特異的レクチンと細菌凝集素のN末端アミノ酸配列。網掛部分は各レクチン間での同一アミノ酸を示す。米印のものの糖鎖結合性は未測定。

クチンは特定の糖鎖構造のみを認識する選択性の高い糖鎖センサーとして応用価値が高いだけでなく、その生物活性にも期待がもたれる。また、タンパク質-糖鎖間相互作用の分子基盤を解析するためのモデル物質としても有用と思われる。以下に、新規のレクチンファミリーを形成することが明らかとなった2つの海藻レクチングループの生物活性と分子構造を概要する。

## 2-2) 高マンノース型糖鎖特異的の海藻レクチンファミリーの生物活性と分子構造

紅藻ミリン科数種 (*Solieria robusta* <sup>(15)</sup>, *Eucheuma serra* <sup>(16)</sup>, *E. amakusaensis* <sup>(17)</sup>, *E. cottonii* <sup>(17)</sup> = *Kappaphycus alvazerii*, *Gracilaria bursa-pastoris* <sup>(18)</sup>) および淡水産藍藻 *Oscillatoria agardhii* <sup>(19)</sup> のものがタイプIの高マンノース型糖鎖特異的レクチンに属する。このうち、食用海藻 *E. serra* から高収量で得られるレクチン (ESA-2) については、リンパ球分裂促進作用の他に、ヒト癌細胞37系列の *in vitro* 増

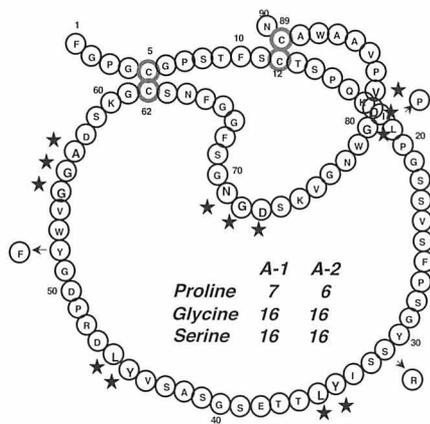


図6 紅藻カギバラノリレクチン (hypnin A-1 および A-2) の一次構造。イソレクチン間の置換アミノ酸は矢印 (hypnin A-1) で示した。既知の血小板凝集阻害ペプチドおよび抗凝固ペプチドと類似配列を示す部分はスターを付した。C5-C62 および C12-C89 は鎖内 SS 結合を示す。

|               |   |    |
|---------------|---|----|
|               | 1   | 50 |
| Hypnin A-1    | FGPGCGPSTFSCSTSPQKIPPGSSVSFSPSGYRSIYLTTESGSASVYLDLRPD |    |
| Hypnin A-2    | FGPGCGPSTFSCSTSPQKILPGSSVSFSPSGYSSIYLTTESGSASVYLDLRPD |    |
| B. triquetrum | ADPICGSSGYSCSTTPALLTPKSPGSEFSPSGYSKVIIVTGVGGSSVYIHRPD |    |
|               | 51  | 90 |
| Hypnin A-1    | GFVWGGADSKGCSNFGGFSNGDSKVGWGDVDP-VAAWACN              |    |
| Hypnin A-2    | GYWVGGADSKGCSNFGGFSNGDSKVGWGDVDP-VAAWACN              |    |
| B. triquetrum | GFKVYKASEGGCASFGSYSGGGNSEVGVKSGGTVVAVACK              |    |

図7 紅藻イバラノリ科の *Hypnea japonica* レクチンと *Bryothamnion triquetrum* レクチンのアミノ酸配列の比較。網掛内は3種レクチンタンパク質間での同一アミノ酸を示す。

殖を 5-10  $\mu$ M (IC50) レベルで抑制すること、化学発癌剤を予め投与したマウスに 0.1% 濃度で飲料として経口投与すると、毒性は示さず大腸癌の発現を著しく抑制することを認めている <sup>(20)</sup>。また、本レクチンを固定化した人工リポゾームは腫瘍細胞に結合した後、アポトーシスにより腫瘍細胞を死にいたらしめるが、正常細胞には結合性ならびに毒性を示さないことも認められている <sup>(21)</sup>。本レクチンは魚類病原菌 *Vibrio vulnificus* に対して抗菌活性を示すことも認められた <sup>(22)</sup>。ごく最近、*O. agardhii* レクチン (OAA) が強力な抗 HIV 活性を示すことも認めている。これらの結果は、本ファミリーに属するレクチンが糖鎖センサーとしての生化学素材だけでなく、健康食品素材や医薬素材としても有望であることを示唆している。なお、抗 HIV 活性に関しては、アメリカ国立がん研究所 (NCI) のグループは抗エイズ薬開発研究の過程で藍藻 (*Nostoc ellipsosporum* <sup>(23)</sup>, *Scytonema varinum* <sup>(24)</sup>) と紅藻 (*Griffithsia* sp. <sup>(25)</sup>) から強力な抗 HIV 活性タンパク質を見出し、それらが高マンノース型糖鎖に結合特異性をもつレクチンであることを明らかにし、医薬として開発中である。

このタイプIに属するレクチンは互いに共通したN末端配列を有する (図5)。興味深いことに、これら藻類レクチンは粘性細菌 *Myxococcus xanthus* から単離された凝集素 (MBHA) <sup>(26)</sup> と高いN末端配列共通性を有していることが認められた (図5)。キリンサイ属 *E. serra* (ESA-2) および淡水産藍藻 *O. agardhii* (OAA) の各レクチンについては最近その全一次構造を明らかにし、上記の紅藻 (ESA-2, 268 残基)、藍藻 (OAA, 132 残基)、細菌 (MBHA, 267 残基) の各レクチンは互いにきわめて高い構造共通性をもつことを認めている (投稿中)。いずれもN末端約67残基の相同配列のタンデムリピート構造をもち、配列共通性はリピート構造単位で認められた。藻類由来の両レクチンは共通して厳密な高マンノース型糖鎖結合選択性をもつが、それぞれ単一ペプチド鎖中の糖鎖結合部位数とリピート配列数が一致することから、リピート配列部分が糖鎖認識ドメインと考えられたが、その後 ESA-2 の X 線結晶解析から明らかとなった3次元構造からは異なる糖鎖認識ドメイン構造が推定される (未発表)。このように、本レクチンファミリーは生息環境 (海水、淡水、土壌) だけでなく系統分類上互いに異なる下等生物種

### ・糖鎖認識の新規性

特定の糖鎖構造に対して極めて高選択的で、高親和性 ( $K_a=10^8 \text{ M}^{-1}$ 以上) の結合

### ・分子構造の新規性

低分子量、単量体、強耐熱性の新規レクチンカテゴリー

### ・生物活性の新規性・多様性

種々細胞の凝集、リンパ球分裂促進、抗腫瘍、抗ウイルス (抗HIV)、抗菌、血小板凝集阻害、抗血液凝固、血管新生阻害、ヒアルロン酸合成促進、無脊椎動物の胚発生阻害、赤潮藻殺藻

### ・海藻の健康的イメージ

食用海藻、栽培種

図8 海藻レクチンの応用特性

に広く分布することが予想され、その生物学的意義やレクチンの分子進化の面からも興味もたれる。MBHAの糖結合特異性はよく調べられていないが、構造共通性から推測して、同様の高マンノース型糖鎖特異性をもつものと思われる。この粘性細菌については、貧栄養下で凝集して子実体を形成することから、多細胞化の機構を解明するための原型モデルとして活発な研究がなされているが、同凝集素は子実体形成期に特異的に発現されることが明らかとなっている<sup>(26)</sup>。なお、上述の高マンノース型糖鎖特異的海藻レクチンファミリーの一次構造はNCIグループが明らかにした同糖鎖特異的海藻レクチンのものとは明らかに異なっている。

タイプIIIに属するものは、厳密な高マンノース型糖鎖特異性 (他生物由来のものに比べ選択性が高い) を有することに加え、単糖のMan (溶出剤として使用できる) にも結合することから、高マンノース型糖鎖を含む糖タンパク質のアフィニティー精製用リガンドとして有望である。最近、このタイプに属する緑藻レクチンが、ニワトリモノクローナル抗体の精製に極めて有効であることがわかった。ニワトリモノクローナル抗体は狂牛病の原因タンパク質、プリオンの高感度検出用試薬として期待されているが、通常の抗体精製用リガンド (プロテインAまたはG) に結合しないことから、その簡易精製法が待ち望まれていた。ニワトリ抗体は哺乳類抗体 (複合型糖鎖のみを有する) と異なり、抗体分子中に高マンノース型糖鎖も有しており、この糖鎖を介した本緑藻レクチンリガンドによるニワトリ抗体の簡易精製の商品化が期待されている。なお、本緑藻レクチンの一次構造はcDNAクローニングにより明らかにされたが、新規タンパク質であることを認めている。

### 2-3) 多機能ポリペプチド性レクチンファミリーの生物活性と分子構造

紅藻レクチンは低分子量単量体で耐熱性に富むことを特徴の一つとしているが、紅藻カギイバラノリ *Hypnea japonica* の3種イソレクチン (hypnin A-1 ~ 3) はその代表的なものである<sup>(27, 28)</sup>。また、種々の生物活性 (細胞凝集, リンパ球分裂促進, 腫瘍細胞の増殖抑制, 血小板凝集阻害, 抗血

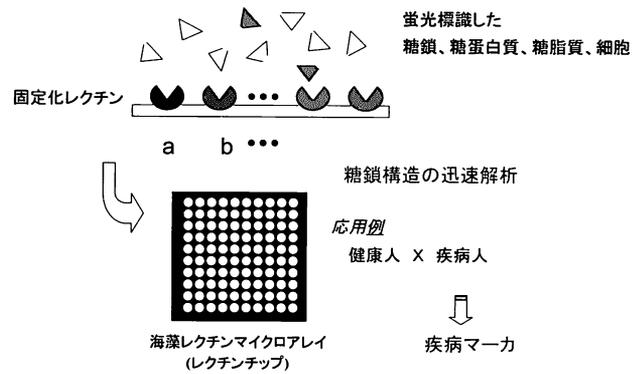


図9 海藻レクチンマイクロアレイを用いた糖鎖プロファイリング (模式図)

液凝固, 血管新生阻害, および殺藻作用) を示すことで多機能である。このうち hypnin A-1 および 2 の一次構造を解析し、両レクチンは活性発現に必須の2つの鎖内SS結合を含む90アミノ酸からなる単一ペプチド鎖で構成され、3箇所のアミノ酸だけが異なるイソレクチンであることがわかった<sup>(28)</sup> (図6)。両レクチンのアミノ酸残基の半数近くがセリン, グリシン, プロリンの3種アミノ酸で構成されているのも特異的である。本レクチンの強耐熱性は、この特異なアミノ酸組成と2つの鎖内SS結合から予想されるコンパクトに折り畳まれた立体構造に由来すると考えられているが、立体構造はまだ解明されていない。このレクチンは血小板凝集阻害作用を示すことから<sup>(29)</sup>、抗血栓剤の開発研究にも有用と思われるが、その配列中には血小板凝集阻害活性をもつ接着性トリペプチド配列 (RGD) やヒルジンの同阻害活性ペプチド (NGDFEIIPEEYL) と類似のNGDおよびYL配列が認められ、この部分が同阻害に関与する可能性が示唆される。その後、本レクチンは抗凝固活性も示すことを認めたが、フィブリノーゲンγ鎖の抗凝固活性ペプチド (HLGGAKNAGDV) と類似のGGAおよびGDV配列を含むことも興味深い。既知のタンパク質中に、本レクチンと全体的な配列共通性をもつものは存在しないが、興味深いことにC-タイプ動物レクチンの糖認識ドメイン (CRD)<sup>(30)</sup> と類似したモチーフを含んでいることが判明している<sup>(28)</sup>。なお、hypninsではC-タイプCRDのCa<sup>2+</sup>および単糖との結合に直接関与する5アミノ酸残基のうち3残基が置換されており、この置換が本海藻レクチンが単糖結合性をもたないことと関連している可能性がある。他方、hypninsの凝集活性は糖ペプチド以外に単純タンパク質であるホスホリパーゼA<sub>2</sub>でも阻害される<sup>(28)</sup>ことから、本レクチン分子はタンパク質結合部位ももつと推定される。したがって、リピート構造をもたない本レクチンは、単一ペプチド鎖に糖鎖結合部位 (C-タイプCRD類似モチーフ) とタンパク質結合部位の2つの異なる結合部位をもつことにより細胞を凝集している可能性もある。これに関連して、生体膜ホスホリパーゼA<sub>2</sub>レ

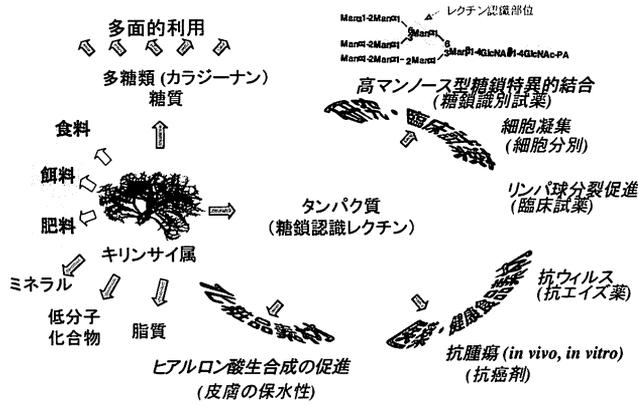


図10 海藻1種の多面的活用例と糖鎖認識レクチンの多機能性

セプターは分子内にC-タイプCRDをもつことが明らかにされているが、同CRD内にはhypninsの場合と同様のアミノ酸置換が認められており、糖結合性はまだ見いだされていない。なお、C-タイプ動物レクチンと植物レクチンの中で類似モチーフが認められたのはこれが最初である。ほぼ同じ頃、hypninsと同様にシステイン4残基を含む91アミノ酸からなる単量体レクチンが、紅藻*B. triquetrum*から単離されており<sup>(31)</sup>、類似構造をもつレクチンがイバラノリ科紅藻に広く存在する可能性も示唆される(図7)。これらポリペプチド性レクチンは多機能性を備えていることもあり、構造活性相関研究の格好のモデルであると同時に応用性に期待がもたれる。

### 3. 海藻レクチンの応用特性

海藻レクチンの応用特性を図8に要約した。海藻(特に紅藻)レクチンの多くは分子サイズが小さいこと、単量体構造をとること、耐熱性で金属イオン非依存性の活性を示すことで、タンパク質分子の進化の点からも“プリミティブ”と考えられる。この構造特徴が伸展した糖鎖構造のみを認識することと関連するようであるが、糖鎖認識能には高い選択性がみられる。これらの生化学的特性は応用上の利点でもあり、今後の構造生物学的アプローチと生理機能解明によって、その有用性がさらに明らかになると思われる。加えて、海藻の種の多様性から考えると、明らかにされた海藻レクチンの数は少なく、さらにユニークな性状をもつ新規の海藻レクチンが見出される可能性は高い。今後、海藻レクチンライブラリーの構築により、海藻レクチンマイクロアレイ等を用いた糖鎖プロファイリングを通して、疾病等の早期発見にも寄与することが期待される(図9)。

最後に、紅藻キリンサイ属の例で示すように、海藻レクチ

ンの開発研究は、海藻資源の多面的活用の面からも意義があると考えられる(図10)。

### 参考文献

- (1) 小川智也ら編 1992. 糖鎖工学研究協議会監修. 糖鎖工学. 産業調査会 1-680.
- (2) Ajit Varki *et al.* eds. 1999. Essentials of Glycobiology, Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1-653.
- (3) Sharon, N. & Lis, H. 2003. Lectins, Kluwer Academic Publishers.
- (4) Boyd, W. C. *et al.* 1966. Transfusion 6: 82-83.
- (5) Rogers, D. J. & Loveless, R. W. 1991. J. Appl. Phycol. 3: 83-86.
- (6) Hori, K. *et al.* 1988. Bot. Mar. 31: 133-138.
- (7) Hori, K. *et al.* 1996. J. Phycol. 32: 783-790.
- (8) Watanabe, M. F. *et al.* 1987. Nippon Suisan Gakkaishi 53: 1643-1646.
- (9) Hori, K. *et al.* 1990. Hydrobiologia, 204/205: 561-566.
- (10) Rogers, D. & K. Hori 1993. Hydrobiologia, 260/261: 589-593.
- (11) 堀 貫治 1989. 化学と生物 27: 210-212; 1994. 32, 586-594.
- (12) 堀 貫治 2005. 海洋生物成分の利用-マリンバイオのフロンティア-(バイオテクノロジーシリーズ), 伏谷伸宏監修, シーエムシー出版, pp. 260-275, 東京.
- (13) 堀 貫治 1988. 電子情報通信学会誌, 88: 13-18.
- (14) Hori, K. *et al.* 1999. The Abstract of The Eighteenth International Lectin Meeting, p. 62.
- (15) Hori, K. *et al.* 1988. Phytochemistry 27: 2063-2067.
- (16) Kawakubo, A. *et al.* 1997. J. Appl. Phycol., 9: 331-338.
- (17) Kawakubo, A. *et al.* 1999. J. Appl. Phycol. 11: 149-156.
- (18) Okamoto R. *et al.* 1990. Experientia, 46: 975-977.
- (19) Sato, Y. *et al.* 2000. Comp. Biochem. Physiol. 125B: 169-177.
- (20) Takamine, A. *et al.* 2002. The Abstract of The Twentieth International Lectin Meeting, p. 146.
- (21) Sugahara, T. *et al.* 2001. Cytotechnology, 36, 93-99.
- (22) Liao, W.-R. *et al.* 2003. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 30: 433-439.
- (23) Boyd, M. R. *et al.* 1997. Antimicrob. Agents Chemother., 41: 1521-1530.
- (24) Bokesch, H. R. *et al.* 2003. Biochemistry, 42, 2578-2584.
- (25) Mori, T. *et al.* 2005. J. Biol. Chem., 280: 9345-9353.
- (26) Romeo, J. M. *et al.* 1986. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 83: 6332-6336.
- (27) Hori, K. *et al.* 1986. Biochim. Biophys. Acta, 873: 228-236.
- (28) Hori, K. *et al.* 2000. Biochim. Biophys. Acta, 1474: 226-236.
- (29) Matsubara, K. *et al.* 1996. Experientia 52: 540-543 (1996).
- (30) Weis, W. I. & Drickamer, K. 1996. Annu. Rev. Biochem. 65: 441-473.
- (31) Calvete, J. J. *et al.* 2000. CMLS cellular and molecular Life Sciences 57: 343-350.

(広島大学大学院生物圏科学研究科海洋生物資源化学研究室  
〒739-8528 東広島市鏡山 1-4-4)