生理活性をもつ海洋生物由来の天然高分子

神谷 久男

Hisao Kamiya, 北里大学水産学部

最近、海洋生物から医薬品などを開発しようとする“海洋生化学資源の開発”が注目を集めている。これまで研究、開発の対象になっているものは主に医薬品として開発しやすいと考えられる脂溶性の低分子物質で、高分子物質にはあまり関心が払われていなかった。もちろん、海洋生物のもつ高分子成分が役に立たないというのではなく、すでに寒天、アルギン酸、キトサンなど海藻や甲殻類の多糖類のようにそのままの形で、あるいは一部化学修飾した形で広く活用されているものも多い。このほかにも抗腫瘍性、抗菌性、凝集性などさまざまな活性を示すものが見つけられているが、精製がやかいかで、また、活性が失活しやすいなどの理由から検索のみに留まって、放置されているものも少なくない。最近、高速液体クロマトグラフィーやアフィニティークロマトグラフィーなどを用いる高分子成分の迅速な分離、精製が可能となり、また遺伝子操作による微量の活性タンパクの大量生産技術が確立したこともあって、海洋生物のもつ高分子生理活性物質に対する関心も急速に高まっている。そこで、有用活性物質の開発という観点から海洋生物のもつ高分子生理活性成分について簡単に紹介することとした。

1. 高分子抗腫瘍物質

海洋生物から有効な制癌剤を得ることは海洋生理活性物質の研究に携わる者の長年の夢であるが、現在に至るまで、そのまま医薬品として使えるものはでない。低分子物質には制癌性を示すものが多数見つけられているが、強力な制癌性をもつものは毒性も強すぎて医薬品にはできない。また、化学構造も極めて複雑で、合成も難しく、今のところ新奇制癌剤開発のためのモデル化合物として取り上げられているものもないようである。一方、高分子の制癌成分についても幾

つかの報告があるが、その性状や作用機序など明らかにされたものはない。例えば、北米産のハマグリに近い縁種には mercenine とよばれる Sarcoma 180 などマウスの腫瘍細胞に顕著な制癌性を示す成分が報告されたが¹⁾、その後の報告はなく、いつの間にか忘れられてしまった。

細胞毒制癌剤のように腫瘍細胞に直接障害作用を示すものは正常細胞にも影響を及ぼし、ときに重篤な副作用をもたらすことがある。一方、宿主が腫瘍に対して抵抗していることはまれにみられる癌の自然治癒や進行の抑制などの事実によって示唆されるところである。このような生体固有の抵抗機構を増強する新しい物質または方法を開拓することは将来の制癌剤開発の重要な研究方向の一つである。このような成分群の一つに溶連菌、抗酸菌あるいは真菌のうちのキノコ類などに認められている免疫賦活物質がある。海洋生物ではホタテガイからタンパクとペプチドグリカンが分離されている²⁾。加熱ホタテガイを抽出し、さらに超音波処理することにより制癌活性が現われてくる。腫瘍細胞に対しては直接毒性は示さず、癌を移植されたことにより低下したマウスの免疫機構を高める作用があり、制癌実験ではマウスの癌が完全に消失してしまうほどの効果がある。また、癌が消失したマウスは同一種の癌の再移植に強い抵抗性を示すようになる。最近、佐々木ら³⁾は25種の海洋生物の水抽出物の高分

神谷久男 北里大学水産学部 (022-01 岩手県気仙郡三陸町越喜来) 教授・農博
昭和40年東京水産大卒、42年東大大学院農学研究科修了、44年東大農学部助手、54年北里大水産学部助教授、56年教授。専門は水産化学、生理活性をもつ高分子物質に関する研究。
〈趣味〉テニス

子画分について抗腫瘍活性を調べ、軟体動物、棘皮動物、原索動物など多くの生物に活性を認めている。このうち、乾アワビ製造時にでる煮汁中の活性成分については精製を進めているが、最も活性の強い画分の主成分は糖タンパクである⁹⁾。マウス腫瘍内に投与すると、ほぼ完全に腫瘍の増殖を抑えるほか、移植した腫瘍の完全退縮も6匹中5匹に認められるなど著しい効果を示す。同じような活性はホタテガイの煮汁にも認められている⁵⁾。両者の性質は若干異なり、ホタテガイの活性成分はオートクレーブ処理しても変化ないが、エゾアワビでは抗癌効果が著しく減少する。いずれもSarcoma 180およびMeth-A繊維肉腫の腹水型腫瘍細胞に対して腫瘍内投与で著効を示すが、エゾアワビの活性成分は静脈投与でもかなりの治癒効果を示し、完全治癒するものも認められている。詳細に調べてみると、いずれもT-細胞の欠落したヌードマウスでは抗腫瘍性が低下することや、肺胞や腹腔内マクロファージの細胞障害活性を活性化することがわかった。これらの結果はホタテガイ、エゾアワビいずれの活性物質も、その活性の発現は宿主の免疫系を介し、T-細胞およびマクロファージが関連しているものと思われる^{4),5)}。

このほか、シュモクザメからも抗腫瘍物質が単離されている。サメは一般に病気になりにくいという観察に基づいて抗癌物質の検索が行なわれた。体液や血液、あるいは肝臓などの組織から分子量およそ4,000万、22~26%の糖を含む糖タンパク Sphyrnastation 1と2が分離されている⁶⁾。P388白血病細胞を移植したマウスに投与すると、対照に比べて30~40%の延命効果があるという。また、ホクヨウオオバフンウニからはStrongylostation 1と名づけられた、やはり巨大な分子量をもつ糖タンパクが報告されているが、P388に対して同程度の延命効果をもつほか、マウスに対して毒性を示すので、このウニがもつ毒棘の毒成分ではないかと思われる⁷⁾。

糖タンパク以外で抗腫瘍性を示すものに海綿の毒、Halitoxinがある⁸⁾。本体は3-alkylpyridine単位よりなる高分子のピリジニウム塩で、ムラサキカイメン科に属する2,3の海綿に分布している。Halitoxinは分子量が500~1,000, 1,000~25,000, 25,000以上の3成分よりなる混合物で、マウス腫瘍細胞に対して細胞毒性を示すほか、*in vivo*でEhrlich腫瘍細胞についても効果があるといわれる。魚毒性も認められている。

表1 アメフラシ *aplysianin*-P の抗腫瘍活性¹¹⁾より改変

細胞	ED ₅₀ (ng・ml ⁻¹)*
腫瘍細胞	
マウス MM46	10
MH134	8
L1210	3
P388	5
YAC-1	11
EL-4	4
ヒト K-562	25
正常細胞	
マウス脾臓	>40,000
ヒツジ赤血球	>40,000

* 50%を溶解するに要する濃度。

2. 抗菌物質

免疫系をもたない無脊椎動物、例えば昆虫類などではリゾチームや抗菌物質あるいは補体よう物質など生体防御に関与するさまざまな液性因子が存在することが明らかにされている。海洋無脊椎動物にも同様の物質が広く分布するものと思われるが、あまり報告がみられない。最近、筆者らは海産腹足類—いわゆる巻貝—の後鰓類アメフラシやその近縁種の生殖系器官などに強力な高分子の抗菌物質が分布することを見いだした。

*aplysianin*と名付けたこの糖タンパクには“うみぞうめん”とよばれる黄色ひも状の産出卵にある*aplysianin*-E、アルブミン腺の*aplysianin*-Aおよびアメフラシが外敵に襲われたとき出す紫色の液体、紫汁液中の*aplysianin*-Pの3種類が分離されている^{9)~11)}。*aplysianin*-EとAとは生理活性がよく似ている。どちらもグラム陰性およびグラム陽性の区別なく、各種細菌の増殖を抑制するが、リゾチームのような細胞壁を破壊し、細胞を溶解する作用はないようである。ところが腫瘍細胞に対しては極めて強い溶解作用を示すことがわかった。細胞の溶解に先立ち、まず腫瘍細胞のDNAおよびRNAの合成が阻害されるが、ロイシンの取り込みは逆に一時的に促進されることが観察されている。一方、紫汁液の*aplysianin*-Pは*aplysianin*-EやAの検索に用いた枯草菌による検索法では検出できなかった。ところが、紫汁液の細胞毒性を調べてみると、マウス腫瘍細胞を破壊することがわかった。精製した*aplysianin*-Pの各種腫瘍細胞の溶解に要する濃度(ED₅₀)は3~25 ng・ml⁻¹ (10⁻¹⁰ M)の範囲にあるが、例えばマウスの脾臓細胞やヒツジ血球などの正常細胞に対しては40,000 ng・ml⁻¹の濃度でも毒性を示さない¹⁰⁾。

aplysianin-Eは易熱性の、複数のサブユニットか

らなる分子量 25 万の糖タンパクで、この点も、リゾチームとは全く異なる。A は単一のサブユニットより構成される 32 万の分子量をもつ糖タンパクと、それぞれの化学的性状は異なるが、いずれも Cys を欠くなどアミノ酸組成はよく似ている。また、分子間の類似性は aplysianin-E に対するウサギ抗血清に A も沈降線を形成することからも示唆され、E は A に由来するものと思われる¹¹⁾。一方、紫汁液の aplysianin-P は全く異なる分子種で、単鎖のペプチドからなる分子量 6 万のタンパクである。この物質は紫色の色素タンパクとは関係ない。これらの成分は生体防御に関与するものと思われるが、確証はまだない。なお、アメフラシに分類上近いアカイカやマダゴの墨汁のうから分離されたメラニンが胃液の分泌を抑制する作用があることが確認されている。逃避行動を助ける防衛手段と思われていた墨汁や紫汁液に思わぬ活性が認められたのは興味深い。

3. レクチン

高等植物種子由来のレクチンは細胞凝集だけでなく、リンパ球の分裂を促したり、癌細胞の増殖を抑制するなどさまざまな生理作用を示すものが多く、免疫機能研究のための試薬などとして広く利用されている。海洋生物にもレクチンは広く分布している。海藻を初め、魚類や無脊椎動物など 200 種を超える生物種に活性が認められている。しかし、試薬として利用されているものはカプトガニの凝集素であるリムリンなど 2, 3 のものに限られている。

さて、レクチンの糖鎖との結合部あるいは高次構造などについては主にタチナタマメのレクチン、コンカナバリン A (Con-A) など植物種子レクチンを対象に研究が進められてきた。動物レクチン、特に海洋生物のレクチンは単一の成分ではなく、等電点の異なるレクチンの混合物であったりするため、その構造については断片的な知見しかなかった。最近、筆者の研究室では甲殻類アカフジツボ体液にある 3 種類の D-ガラクトース結合特異性レクチンのうち、分子量 6.4 万の

成分の 1 次構造を決定した¹²⁾。この凝集素は 138 個のアミノ酸からなる相同なサブユニットよりなり、C-末端近くにある 2 つの S-S 結合で、互いに逆方向に交差するように橋かけした、二量体としてレクチン分子を形成している。そのアミノ酸配列は Con-A とはほとんど相同性が認められなかったが、先頃、cDNA より配列が決められたセンチニクバエ・レクチンの N-末端部分との間にかなり類似した配列が認められた。いずれも D-ガラクトースに結合特異性を示すレクチンであるので、今後の研究によって結合部位に関する情報が得られるものと期待される。

海洋生物におけるレクチンの機能についてはさまざまに推測されている。最も関心が寄せられているのは生体防御との関連である。無脊椎動物では特異性の粗い食細胞がもつばら生体防御にあたっているが、抗体をもたないので、レクチンが抗体に変わって異物の認識をしたり、あるいは食細胞の働きを助けるオプソニンとしての機能を演ずるという考え方である。このほか、生体防御ではなく共生や組織形成などに関与と思われるものもある。しかし、レクチン産生細胞や構造がほとんどわかっていないので、いずれも推測の域を出ない。レクチンの機能については一般化して説明するのは無理なようで、各々の生物あるいは組織に特有な機能を演じていると考えるのが妥当であろう。もちろん、それぞれの機能は糖類との結合を介しているという点では共通している。

海洋生物由来のレクチンで注目すべきものに海藻レクチンがある。これまで血液型特異性がなく、しかもヒトよりも動物血球に対する活性の方が強いこともあってあまり関心をひくこともなかった。海藻レクチンの認識する糖鎖も植物種子レクチンよりも複雑なようで、単糖類では凝集活性の阻害を受けず、フェツインのような糖タンパクの複合糖鎖によってのみ阻害を受けるものが多い。分子量は全般的に小さい。紅藻カギイバラノリのレクチンのようにわずか 4,200 のものもあり¹³⁾、凝集活性と構造の相関に関する研究には格好のものとなろう。

(1) センチニクバエ・レクチン α -サブユニット (2) アカフジツボ・レクチン BRA-3

図 1 アカフジツボ・レクチン BRA-3 とセンチニクバエ・レクチンの 1 次構造

4. その他の高分子活性物質

4-1. 不凍性糖タンパク

南極や北極など極地では、冬期になると海水温はその凍結温度の -1.9°C 近くにまで低下する。極洋に生息する魚類はそのような低温にも十分耐えられるが、それは極地の魚がその血清中に水の凍結温度を下げる成分を含んでいるためである。魚の血清の凍結点は大体 -0.6°C 位であるので、一般の魚では血清が凍結してしまう。南極のタラ科の魚の血清からは分子量の異なる8種類の不凍性糖タンパク antifreeze glycoprotein (AFGP) が分離されているが、これらの成分の間の差異は主に分子量だけで、構造的なものではない^{14),15)}。AFGP 1~5 (分子量 32,000~10,000) は同程度の活性を示し、Ala-Ala-Thr のトリペプチド単位の繰り返しよりなる糖タンパクである。Thr に2種類の β -D-ガラクトピラノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-N-アセチル-D-ガラクトサミンが結合している。AFGP 6~8 (分子量 6,000~2,640) は構造中に Pro を含んでおり、水の凍結温度を下げる活性も弱い。有効成分を透析や加熱などで除去すると、この魚の血清の凍結点は -2.07°C から -0.6°C に上昇してしまう。AFGP の水の氷点を下げる機構については完全にはわかっていないが、分子量から期待される氷点降下の理論値の250倍以上の低下になるという。また、海水温の上昇する夏期には、調節機構が働いて血清中にこの糖タンパクは産生されなくなる。一時、タバコ栽培の霜害を防ぐために散布する試みがあるという報道が聞かれたが、その結果はつまびらかでない。

4-2. 成長ホルモン

成長ホルモンはその成長促進という重要な生理活性のために古くから研究が進められている。これまで哺乳類については既にヒトやブタなどの成長ホルモン遺伝子のクローン化と大腸菌による大量生産の報告があり、ヒトの小人症治療や家畜増産などへの応用の段階に入ろうとしている。最近、シロサケ、ウナギ、ブリなど魚類の成長ホルモンも単離され、190 残基前後よりなるアミノ酸配列も決められている。また、シロサケとウナギの成長ホルモンについてはクローン化と大腸菌による大量生産にも成功している¹⁶⁾。こうして得られた成長ホルモンはニジマスなどサケ科稚魚に対して腹腔内投与あるいは液浴法で成長促進活性を示した。興味深いことは浸漬法によりエゾアワビ稚貝をシロサケ成長ホルモンで処理すると、その成長が著しく促進されることである。アワビの成長促進は低濃度、短時間の処理で十分で、しかもその効果は長期間持続するといわれる¹⁷⁾。

魚類の成長ホルモンについても水産増養殖への利用が期待されているが、アワビのような無脊椎動物が極めて敏感に反応することがわかり、応用範囲が広がったといわれる。しかし、逆に、成長ホルモンが無脊椎動物など他種生物にどの程度の影響を与えるのか慎重に調べることが必要になったといわざるを得ない。海洋など水圏は最もコントロールしにくい環境であり、沿岸水域に生息する生物あるいは生態系に及ぼす影響について十分な配慮を要するからである。

5. む す び

高分子のみならず、海洋生物の生理活性物質をそのまま医薬品として用いることはなかなか難しい。今後は共生、寄生、群の形成などの生命現象に関与する成分にも目を向けて、海洋生化学資源開発の裾野を拡げることが肝要である。また、これらの現象には高分子の関与が明らかで、今後の研究によっては新たな高分子利用の方途もひらかれよう。

文 献

- 1) A.C. Schmeer: *Science*, **144**, 413 (1964)
- 2) T. Sasaki, N. Takasuka, N. Abiko: *J. Natl. Cancer Inst.*, **60**, 1499 (1978)
- 3) T. Sasaki, N.A. Uchida, N. Takasuka, H. Kamiya, Y. Endo, M. Tanaka, T. Hayashi, Y. Shimizu: *J. Pharmacobio-Dyn.*, **8**, 969 (1985)
- 4) H. Uchida, T. Sasaki, N.A. Uchida, N. Takasuka, Y. Endo, H. Kamiya: *Cancer Immunol. Immunother.*, 印刷中
- 5) T. Sasaki, H. Uchida, N.A. Uchida, N. Takasuka, Y. Tachibana, K. Nakamichi, Y. Endo, H. Kamiya: *Bull. Japan. Soc. Sci.*, 印刷中
- 6) G.R. Pettit, R.H. Ode: *J. Pharm. Sci.*, **66**, 757 (1977)
- 7) G.R. Pettit, C.R. Herald, L.D. Vanell: *J. Natr. Prod.*, **42**, 408 (1979)
- 8) F.J. Schmitz, K.H. Hollenbeak, D.C. Campbell: *J. Org. Chem.*, **43**, 3917 (1978)
- 9) M. Yamazaki, J. Kisugi, K. Kimura, H. Kamiya, D. Mizuno: *FEBS Lett.*, **185**, 295 (1985)
- 10) M. Yamazaki, K. Kimura, J. Kisugi, H. Kamiya: *FEBS Lett.*, **198**, 25 (1986)
- 11) H. Kamiya, K. Muramoto, M. Yamazaki: *Experientia*, **42**, 1065 (1986)
- 12) K. Muramoto, H. Kamiya: *Biochim. Biophys. Acta*, **874**, 285 (1986)
- 13) K. Hori, K. Miyazawa, N. Fusetani, K. Hashimoto, K. Ito: *Biochim. Biophys. Acta*, **873**, 228 (1986)
- 14) A.L. DeVries, S.K. Komatsu, R.E. Feeney: *J. Biol. Chem.*, **215**, 2901 (1970)
- 15) R.E. Feeney, D.T. Osuga, D.S. Reid, Y. Yeh: *Protein, Nucleic Acid and Enzyme*, **27**, 1645 (1982)
- 16) 関根 進, 伊藤菁我: *化学と生物*, **24**, 426 (1986)
- 17) 川内浩司: *水産学シリーズ 65*, 海産有用生理活性物質, 日本水産学会編, 恒星社厚生閣 (1987) p.87