

八放サンゴレクチンの生体機能 - 共生藻との関わり -

神谷 久男
北里大学水産学部

Properties of marine invertebrate lectins

H. Kamiya

レクチンとは何か？

レクチンとは糖鎖を認識して結合するタンパク質および糖タンパク質の総称で、ウィルスから哺乳動物まで広く生物界に分布するが、その生体機能については異物認識や器官形成など様々に推測され、系統的な理解はまだ得られていない。

レクチンの検索には一般に血球凝集反応が用いられる。赤血球浮遊液にレクチン溶液を加えると、レクチン分子内にある2カ所以上の糖鎖結合部位が赤血球表面糖鎖を認識、結合することにより血球凝集が起こる。このようにレクチンの存在は血球凝集反応という簡単な方法で調べることができる。ただし、この方法には凝集反応の血球特異性という弱点がある。例えば、ヒト赤血球は凝集しないが、ウサギやウマなど動物赤血球を凝集する、あるいは、その逆の反応を示すレクチンは普通に見られる。また、海藻レクチンのように血球を消化酵素で短時間処理すると初めて凝集活性が発現するものもある。したがって血球凝集反応はレクチン検索のオールマイティという訳にはいかない。色々な欠点をもつ検索法であるけれども、これに代わる簡単な検索法はまだない。

さて、レクチンは産業上きわめて重要な物質である。レクチンの特定の糖鎖と結合する機能を利用して、糖鎖工学や糖鎖生物学を始め産業的にも広く利用されている。また、免疫学やガンの生化学など医

学をはじめ広い生物科学分野の研究で貴重な試薬として用いられている。試薬カタログでもレクチン関連の項は二、三十頁を超える。現在でも新奇な糖鎖認識と生理機能を持つレクチンの幅広い需要があり、レクチン探索の努力が続けられているのはこうした理由からである。

現在、利用されているレクチンはもっぱら植物由来のもので、動物レクチンはまだ数少ない。動物レクチンは不安定であったり、大量精製が難しいこと、生理活性が明らかではないなどの理由からである。しかし、近年、遺伝子クローニング技術などの進歩によって動物レクチンのアミノ酸配列が次々に解析され、カルシウムイオンに対する依存性や糖鎖認識ドメインのアミノ酸配列相同性などから、C-タイプレクチンやガラクトタンなど数種のタイプに分類されるまでになった。また、その生理機能の多様さに研究者の注目が集まっている。

ここで海洋生物レクチンの研究について紹介したい。この分野は今世紀初頭の野口英世博士による一連の無脊椎動物における研究が始まりとなった。以来、海藻、海綿動物、腔腸動物、軟体動物、節足動物、棘皮動物、原索動物、魚類など、300種を超える海洋生物のリンパ液、体表粘液、卵巣など多様な組織にレクチンの存在が報告されている。しかし、アミノ酸配列や糖結合特異性など化学的性質あるいは生理作用が明らかにされたものは少なく、生物種の

豊富な海洋生物は有用レクチンの探索と生体機能研究の格好な対象生物である。

動物レクチンは生体内でどんな機能を果たしているか？

動物レクチンの生理機能については無脊椎動物リンパ液レクチンを中心に研究が進められてきた。免疫系をもたない無脊椎動物ではレクチンは抗体に代わって異物認識にあたる生体防御因子、いわば抗体のプロトタイプ的分子とする説がもっとも有力である。リンパ液レクチンで処理した異物に対する無脊椎動物の食細胞の貪食能は顕著に高められることがイガイやアメリカガキなど多くの海洋生物で認められている。この作用はオプソニン作用と呼ばれるが、この反応はレクチンが侵入してきた異物の排除に積極的に関与していることを強く示唆している。一方、異物認識だけでは説明の付かないレクチンをもつ生物種もある。例えば、カブトガニリンパ液のシアル酸結合性レクチンは哺乳類において炎症の際に認められる防御因子、C-reactive protein (CRP) との配列類似性が指摘されている。しかし、カブトガニリンパ液にはこのレクチンが大量に存在しており、哺乳類の CRP と同じような働きをしているとは考えにくい。また、シャコガイ類リンパ液にも大量のレクチンが認められるが、その機能についてもわかっていない。シャコガイの共生藻の外殻と同じガラクトンに対して結合特異性を示すので、生体防御とともに共生微細藻類の糖質の利用への関与が推測されているが、まだ実証されていない。なお、共生微細藻類は早い時期にシャコガイの水管から入って外套膜に定着することが観察されているが、シャコガイにとって異物である共生藻が生体防御の機構をどうやってすり抜けるかわかっていない。

このようにレクチンの生体内での機能にはホルモンや酵素のように共通した理解は今の所ない。最近の糖鎖生物学では情報素子としての糖鎖の役割が注目されている。したがって細胞表面にある糖鎖を認識して特異的に結合することにより、細胞内に命令を伝えることができるレクチンの機能が生物によって多様なのはむしろ当然といえる。

我々は海洋生物レクチンの化学的性状とともにその生体内機能に興味を持ち、研究を進めている。ここで、その成果の一端を紹介したい。

海産無脊椎動物レクチンの多機能性

我々はアカフジツボのリンパ液中にガラクトースと結合特異性を示す3種のレクチンを見つけ、それらのアミノ酸配列、遺伝子構造などを明らかにした。このレクチンはリンパ液タンパク質の主成分であるが、レクチン量は季節によって変動するなど予期しない結果が観察された。アカフジツボレクチンの生体内機能は一体何であろうか。オプソニン作用が認められるので、生体防御に関係があると思われるが、量の多さや季節変動などを考えると、その生理機能を生体防御だけで説明することは難しく、ほかにもっと基本的な生命現象に係る機能を担っているのではないかと考えた。その後、カルシウム結合定数が大きいことや石灰質中に微量存在すること、溶液の状態ではリン酸カルシウムや炭酸カルシウムの結晶化を阻害すること（この阻害活性試験は骨形成に係るタンパク成分の検索に用いられている）などから、レクチンが石灰化に関連する成分でもある可能性が高いと考えている。アカフジツボレクチンに認められた生体防御と石灰化という一見かけ離れた生体における機能（レクチンがカルシウムイオンと結合できるカルボキシル基を沢山もつという構

造的特性から考えれば不思議ではないが)の多様性を実験的に例証した初めての例であろう。このようなレクチンの生体内での多機能性は無脊椎動物ではごく普遍的な性質であろうと考えている。

現在、我々は八放サンゴ類のレクチンを取り上げ、その性状の解明を試みている。数年前に行った八放サンゴ類のレクチンの検索で意外な結果を得たからである。例えば、よく似た種類でも血球凝集反応を示すものと示さないものがあること、種類によって凍結貯蔵によりレクチン活性が消失することなどである。こうした結果は他の生物種ではあまり経験したことがない。こうした現象には八放サンゴ類レクチンの特異な性状が隠されているに違いない。そこで1997年、阿嘉島臨海研究所の全面的な協力を得て、八放サンゴ類レクチンを再検討することとした。先ず同島周辺で採集した *Sinularia lochmodes* (タスマニア博物館 P. Alderslade 博士の同定による)レクチンの性状を精査することから始めた。同種は採集した試料の内でも血球凝集活性が強く、凍結貯蔵でも安定である。さらに *S. lochmodes* は水中で刺激すると簡単に共生藻を放出する。我々は種々の精製法を試みてアガロースゲルを用いるアフィニティ

ークロマトグラフィーで効率よくレクチンを精製することができたが、*S. lochmodes* ばかりでなく、放出された共生藻を主とする画分からも性質のよく似たレクチンを得ることができた。現在、レクチン抗体を作成して八放サンゴ組織および共生藻画分の免疫染色を行っているところであるが、共生藻周囲が強く染色されるようである。今後詰めなければならないことが多々あるが、レクチンが微細藻との共生に関わっていることを証明できるかも知れない。

すでにイシサンゴ類では共生藻のグリセロールなど光合成産物がサンゴ類に移動することがアイソトープなどを用いた実験で証明されているが、その仲介にあっている成分があるのかどうか明らかではない。八放サンゴや六放サンゴなどサンゴ類は沢山の共生微細藻類をもっているが、その共生関係の成り立ち、とくに分子レベルでの仕組みについてはよくわかっていない。我々は共生藻を体内に引き止め、また死んだ共生藻由来の糖質の再利用にレクチンがかなりの役割を果たしているのではないかと考えている。今後、八放サンゴレクチンの化学的特性の解明と生体内機能についてフィールド実験を含めながら一つずつ明らかにしていきたいと考えている。