

海棲無脊椎動物レクチンの創薬デザイン

○大関泰裕 (横浜市大大学院 生命ナノシステム科学研究科/横浜市うみ協議会),
藤井佑樹 (長崎国際大大学院 薬学研究科), ジェレミー・ティム (横浜市大大学院 生命医科学研究科)

生命起源からの進化的な近さのため、海棲の無脊椎動物には、陸上の高等動物と異なる多様な機能を有する翻訳産物の存在とその利活用が期待されている。二枚貝イガイ科のムール貝 (*Mytilus galloprovincialis*) は、世界中の沿岸海域に存在し、地中海の代表的な食材として、または環境指標生物として重要である。この理由から、病原性微生物の感染に対して転写される mRNA に関するトランスクリプトーム解析が完了し、多数の新しい遺伝子が発見された (Gerdol and Venier 2015)。

生物の細胞表面や細胞間基質に存在する複合糖質(糖タンパク質、糖脂質、プロテオグリカン)の持つ糖鎖は、ガラクトースやマンノースなどの単糖がつながる多種多様な構造を持つ。一方、全生物には糖鎖構造を見分けて特異的で可逆的(=弱く)に結合する糖鎖結合性タンパク質、「レクチン」が存在している。生物は、糖鎖とレクチン間の相互作用により、細胞接着、免疫、再生、がんなど重要な生命現象が行なわれる。

マイティレック-1 はムール貝の外套膜や鰓に大量に含まれ、149 個からなるアミノ酸による全く新規な配列(一次構造)のポリペプチド鎖でできた、 α -ガラクトース(Gal)結合性レクチンである。本糖を末端に持つグロトトリオース($\text{Gal}\alpha 1\text{-4Gal}\beta 1\text{-4Glc}$)糖脂質を豊富に持ったヒトのパーキットリンパ腫細胞に結合し、この細胞に対して強力な抗腫細胞瘍活性を示した¹⁾。この理由から、本レクチンをがん治療の創薬開発に利活用することを考えた。

まず、レクチンの遺伝子を、大腸菌を用いて発現させ、その立体を結晶構造解析で決定すると、アミノ酸配列の新規さにも関わらず、立体はタンパク質の代表的な形の一つである β -トレフォイル(三つ葉)構造に収束していることが判明した²⁾。本レクチンは三つ葉型をした立体の各葉に、一分子づつ糖を結合し、ポリペプチド鎖が 2 つ組み合わさった二量体として存在し、腫瘍細胞死を起こした。同時にヒトの赤血球も凝集する副作用も持ち、創薬上の副作用として課題であった。これはレクチンが二量体構造を有すからで、その性質は溶液中のタンパク質の溶解性の安定に必要であった。そこで、マイティレック-1 と同一の立体と糖鎖結合性を持ち、単量体構造で、しかも溶液中でも安定して存在できる人工レクチンを計算機科学と分子生物学を組み合わせることで創製した。その人工レクチン「ミツバ-1」は、 β -トレフォイル構造を持つ既存の 2000 種のタンパク質の構造情報をコンピューターで解析したモデルをもとに作られた。この人工レクチンは、マイティレック-1 のアミノ酸配列を 40%置き換え、三つ葉型をしたサブドメインのそれぞれが完全対称な立体で溶液中に安定して存在し、赤血球凝集活性の副作用がなく、パーキットリンパ腫細胞と結合した³⁾。

一方、単量体になった事で、二量体化により起きた抗腫瘍細胞活性は失われた。しかし、この腫瘍細胞に特異的に結合する活性は保持しており、レクチン部分をプローブに、そこへ微生物毒素ドメインの連結するハイブリッドレクチンの創製に取り組んでいる(図)。

抗体に比べ製造が安価で、細胞表面で不均一な構造を持つ糖鎖をゆるい特異性により結合し高い細胞選択性を示すレクチンは、今後、新たな治療素子としてさらに有用視されていくであろう。近年では、細菌から得たフコース結合性レクチンに毒素ドメインを複合化したハイブリッド分子により、腫

臓がんに対する臨床研究が行なわれ、抗体医薬の 1000 倍の強さの細胞死効果が証明された(Shimomura et al 2017)。

マイティレック-1 やミツバ-1 の結合したガラクトースは、グルコースの C-4 位の水酸基の向きの異なる異性体で、化学進化の遅くに出現し、認識に働く糖と考えられている。海棲動物には、ガラクトースをはじめ多種多様な糖鎖結合特異性を持つレクチンが発見され(Cheung et al 2015)、細胞死に加え、細胞増殖活性や抗バイオフィルム活性など、生命科学研究とその応用に有益な生物活性を持つ分子が多数発見されている。発表者の発見した海棲無脊椎動物由来のガラクトース結合性レクチンの多様性と創薬への可能性に関して紹介する。

- 1)Fujii et al, A lectin from the mussel *Mytilus galloprovincialis* has a highly novel primary structure and induces glycan-mediated cytotoxicity of globotriaosylceramide-expressing lymphoma cells. J Biol Chem 287(53) 44772-44783 2012
- 2)Terada et al, Crystal structure of MytiLec, a galactose-binding lectin from the mussel *Mytilus galloprovincialis* with cytotoxicity against certain cancer cell types Sci Rep 6 28344 2016
- 3)Terada et al, Computational design of a symmetrical β -trefoil lectin with cancer cell binding activity. Sci Rep 7 5943 2017

