

第 I 章

序

1. はじめに

多細胞生物は、相互に影響しあい、その結果、形態的にも機能的にも安定した細胞集団を作ると考えられている。例えば、イモリ胚から外胚葉、中胚葉、内胚葉をそれぞれ分けて取り出し、それぞれの胚葉を解離させる。そして、解離した細胞を混合してやると、細胞は集合し、いい加減に混ざりあった塊になる。しかし、時間が経つと同じ胚葉の細胞どうしが接着し、各胚葉ごとの集まりになる。その塊をよく調べてみると、中胚葉が内胚葉を、さらに外胚葉が中胚葉を包むように再構成されている。これは、各胚葉細胞が胚葉ごとに形態的および機能的に安定するよう、特異的に接着した結果と解釈される[1]。

細胞の接着は大きく分けて2つのメカニズムにより担われていることが知られている。一つは、細胞どうしが自らの手を握り合うような細胞間の直接の接着である。細胞間接着を担う代表格のタンパク質としては、カドヘリンファミリーやCAM(cell adhesion molecule)などの膜結合型のタンパク質があげられる[2]。もう一つの接着は、細胞外に存在する細胞外マトリックス物質を介するメカニズムによるものである。

細胞集団において、細胞の外側は細胞外マトリックスで埋められている。細胞外マトリックスは、以前は間質とも呼ばれ、細胞を接着させる足場を与え、構造を維持するという静的機能しか担っていない分子群と考えられていた。しかし、近年、様々な細胞外マトリックス分子が発見され、それらの分子が細胞にいろいろな情報を与えていることが明らかになってきた。コラーゲン、ラミニン、テネイシン、フィブロネクチン、ビトロネクチン、種々のプロテオグリカンなどがそれらの分子である[3、4]。これらの分子どれもが、細胞膜上のレセプター、他の接着分子、それ以外の様々な生体高分子と結合することにより、細胞の接着・伸展、分化、形態、増殖、移動、極性などの機能に関わる情報を与える。どんな細胞も、どこかしらで、細胞外マトリックスからの情報を受信しているのである。

では、なぜ生物はこのように類似の機能を持つ多種類の細胞外マトリックス

分子を持ち合わせているのだろうか。また、細胞外マトリックス分子は、どのようなしくみで細胞の機能を調節しているのでしょうか。それらの問題を解くためには、個々の細胞外マトリックス分子についての知見がまだまだ不十分である。

そこで、細胞外マトリックス分子の一つ、ビトロネクチンを取り上げその構造と機能を調べることにした。ビトロネクチンは、細胞接着・伸展活性[5]という細胞外マトリックス共通の機能はもちろん、血液凝固系・線溶系[6-10]や免疫補体系[11、12]といった液相での機能も知られている。液相での働きは、他の細胞外マトリックス分子とは異なるビトロネクチン特有の性質である。ビトロネクチンはどんな分子なのか、他の細胞外マトリックス分子とはどの様に違うのかに焦点をあてて研究を行うことにした。

2. これまでのビトロネクチン研究

2-1. ビトロネクチンの発見

1967年、アメリカのHolmes[13]がヒト血清を材料に、ガラスビーズカラムを用いて細胞伸展活性を持つ α_1 タンパク質を部分精製したのが、ビトロネクチン研究の初まりである。しかし、その後15年間、同様の活性を持つフィブロネクチンの研究が盛んとなり、ビトロネクチンはそのなりを潜めていた。

1983年、Haymanら[14]がビトロネクチンに対するモノクローナル抗体を作製し、この抗体の抗体セファロースカラムとヘパリンセファロースカラムを組み合わせ、ビトロネクチンを精製し、初めてビトロネクチンと命名した。名前の由来は、このタンパク質が「ガラス(vitro)に細胞を結合させる(nectin)」という特性に基づいている。Barnesら[15]も同年に4つのカラムを組み合わせ、ビトロネクチンを精製し、serum spreading factorと呼んだ。1985年になって、Suzukiら[16]によって一次構造が決定されたが、同年にJenneら[17]によって報告された免疫補体系の調節タンパク質S-プロテインの一次構造と一致し、両タンパク質が同一分子であることが明らかとなった。

2-2. ビトロネクチンの構造

ビトロネクチンは、ヒト血漿中に0.2 mg / mlとかなり高濃度で存在しているほか、細胞外マトリックス[14]、血小板[18]などにも存在している。ヒトビトロネクチンの分子量は75 kDaであるが、血中では75 kDaの分子のカルボキシル末端10 kDaが切断された65 kDaの分子も存在しており、両者が混在している状態にある(図1-1、本章、2-4参照)。

Jenneら[16]によって報告されたヒトビトロネクチンの一次構造を図1-2に示した。ビトロネクチンは、アミノ酸458個からなる糖タンパク質で、ヘパリン[19、20]、コラーゲン[21]、補体複合体C5b-7[11]、トロンビン抗トロンビンⅢ(ATⅢ)複合体[22]、 β -エンドルフィン[23]、細胞膜上のビトロネクチンレセプター[24]、プラスミノゲン活性化因子阻害因子-1(PAI-1)[9]、プラスミノゲン[25]などと結合する。

今までの研究から、わかっている結合分子の結合部位を図1-1中に示した。PAI-1は、アミノ末端から6 kDaの部分に結合する[26]。ビトロネクチンレセプターは、アミノ末端近くにあるArg-Gly-Asp(アミノ酸一文字表記でRGD)配列と結合する。RGD配列は、ビトロネクチン以外の細胞接着タンパク質中にも見いだされており、細胞接着の共通配列と考えられている。カルボキシル末端近くには、塩基性アミノ酸に富んだ部位があり、ここにヘパリンや補体複合体C5b-7が結合する。しかし、血漿中のほとんどのビトロネクチンは、このヘパリン結合部位を持つにも関わらず、ヘパリンに結合することができない。これは、ヘパリン結合部位が分子中に隠されているためである[19、20]。尿素やグアニジン塩酸でビトロネクチンを処理するとこの結合部位が露出し、ヘパリンと相互作用するようになる。最近になって、このヘパリン結合部位には、PAI-1やプラスミノゲンも結合することがわかった[27、28]。コラーゲン結合部位は、RGD配列とヘパリン結合部位の間に位置している[29]。このコラーゲン結合部位もヘパリン結合部位と同様、潜在性である[30]。65 kDaのポリペプチド切断点(379-380の間)の2残基アミノ末端より、378番のセリン残基(図1-2)がプロテインカイネースAによってリン酸化される[31、32]。ただし、そのリン酸化は、溶媒条件に依存して75 kDaのビトロネクチンにのみ生じるので、ポリペプチド鎖の切断とリン酸化の関係が予想される。

2-3. ビトロネクチン精製法

ビトロネクチンの精製は、ビトロネクチン研究の進歩の大きなカギを握っていた。Ruoslahtiら[14]、Barnesら[15]、Podackら[33]のグループがそれぞれ独立に精製法を確立したが、それらの方法は、操作段階が多い、煩雑、回収率が低い、ヒト以外の動物種に適用できないなどの問題を抱えていた。

八藤後ら[34]はこのような欠点を解決すべく、新しい精製法を開発した。その精製法は、前節で述べた「尿素処理していないビトロネクチンはヘパリンへの結合性を示さないが、尿素処理すると結合性を獲得するようになる」というビトロネクチンの性質に着目して考えだされた。この性質を利用すれば、わずか2回のカラム操作でビトロネクチンを多量に精製することができる。血清中のビトロネクチンを8 M 尿素処理し、ヘパリンへの結合性を活性化した後、ヘパリンアフィニティークロマトグラフィーによって精製する方法である。この精製法の確立によって、ビトロネクチンはヒト以外の動物種からも多量に精製されるようになった[35、36]。

2-4. ビトロネクチン血液型

ヒトビトロネクチン分子の一部は、図Ⅱ-1に示したようにカルボキシル末端側10 kDaの位置で切断されている。つまり、血漿中には切断の起こっていない75 kDaと切断の起こっている65 kDaの2つの分子種が存在する。この2つの分子種の量比はヒトによって様々であり、その量比によって統計的に3つのグループに分けることができる。75 kDaの多いⅠ型、75 kDaと65 kDaがほぼ等量のⅡ型、65 kDaの多いⅢ型というビトロネクチン血液型である(図Ⅱ-3)。ビトロネクチン血液型はヒトによって決まっており、経時的に変化することはない、性別、ABO式血液型、疾患との関連はない[37、38]。

さらに研究が進められた結果、このビトロネクチン血液型の生ずる原因が、遺伝子の多型にあることが明らかとなった[39、40]。ビトロネクチン遺伝子には2種類ある。この2種の遺伝子は配列のほとんどが同じであるが、切断点(379-380番)の近く、381番目のアミノ酸をメチオニンとコードするもの(Vin Met-381)とスレオニンとコードするもの(Vin Thr-381)とに分けられる。図Ⅰ-2に示した配列は、Vin Met-381のものである。381番のアミノ酸の違いは、ビ

トロネクチン切断酵素に対しての感受性を変える。すなわち、Vin Met-381は酵素に対して耐性のビトロネクチン(75 kDa)を、Vin Thr-381は感受性のビトロネクチン(65 kDa)をつくる。2つの遺伝子はともに優性の対立遺伝子であるため、Vin Met-381をホモに持つヒトは75 kDaのみ、Vin Met-381とVin Thr-381をヘテロに持つヒトは75 kDaと65 kDaの両方を、Vin Thr-381をホモに持つヒトは65 kDaのみを産生し、それぞれⅠ型、Ⅱ型、Ⅲ型のビトロネクチン血液型を示すようになる。

まだ、75 kDaと65 kDaの分子種による機能の違いの報告はないが、今までに、ヘパリンへの結合性[41]、リン酸化[31、32]、セロトニンの結合性[42]などの違いが見られており、今後ビトロネクチン血液型の持つ意味も明らかになってくると思われる。

2-5. ビトロネクチンの機能(1)-細胞接着・伸展活性-

一般に、動物細胞培養では培地にウシ胎児血清などの動物血清を添加する必要がある。動物血清は、種々の増殖因子や細胞接着因子を含む。血清中の細胞接着因子とは、ビトロネクチンやフィブロネクチンのことである。しかし両者の活性を比較すると、ビトロネクチンはフィブロネクチンよりも8-16倍細胞接着活性が高い[43]。また、フィブロネクチンを含まない血清では、細胞は接着し増殖することができるが、ビトロネクチンを含まない血清では、細胞は接着できずに死んでしまう[44]。そのため、血清中の主要な細胞接着因子はビトロネクチンと考えられるようになった。

細胞膜上にはビトロネクチンのRGD配列を認識するビトロネクチンレセプターがあり、このレセプターと結合することでビトロネクチン上での細胞接着・伸展が起こる。このビトロネクチンとビトロネクチンレセプターとの相互作用は、細胞接着・伸展だけでなく、細胞の移動や接触走性も引き起こす[45、46]。

ビトロネクチンレセプターは、インテグリンと総称されるレセプター群に属する[47]。インテグリンは細胞外マトリックスのレセプターで、 α サブユニットと β サブユニットのヘテロダイマーからなる。今までに α サブユニットが14種類、 β サブユニットが8種類知られている。その α サブユニットと β サブユニットが様々に組み合わせられて、20種以上のインテグリンを構成し、ビトロネクチンをはじめ、フィブロネクチン、コラーゲン、ラミニンなどに結合する[48]。

インテグリンの認識するRGD配列は、ビトロネクチン以外にもフィブロネクチン、コラーゲン、ラミニンにも存在している。しかし同じRGD配列でも、ビトロネクチンのRGD配列はビトロネクチンレセプターによって認識され、フィブロネクチンレセプターとは結合しない。これはRGD配列の前後に位置するアミノ酸配列の違いが、それぞれの分子中のRGD配列の立体構造を微妙に変化させ、レセプターによる認識の特異性を決めているためと言われている[49]。また、フィブロネクチンではRGD配列以外に第2の細胞接着部位が同定されており[50-52]、そこが特異性を生じさせている可能性がある。しかし、ビトロネクチンではフィブロネクチンのような第2の細胞接着部位は同定されていない。

ビトロネクチンがインテグリンと結合した情報が、いかにして細胞に伝わるかはよくわかっていない。インテグリンに細胞外マトリックスが結合すると、細胞内での115-130 kDaのタンパク質のチロシン残基のリン酸化[53、54]と細胞質のpHの上昇がおきる[55]。これらの現象が細胞外マトリックスによる細胞機能発現に影響を及ぼすと思われる。また、インテグリンの細胞質内部分と細胞骨格とをつなぐタンパク質のリン酸化が、情報伝達の調節をしているとも考えられている[56]。

2-6. ビトロネクチンの機能(2)-血液凝固・線溶系-

血液凝固系は、血液中の約10種のプロテアーゼの活性化により煩雑に進行する。最終的には、トロンビンによるフィブリノーゲンの分解で、フィブリンが形成される。ATⅢは、トロンビンの強力な阻害剤で、ATⅢが存在すると、トロンビンの活性がおさえられる。さらに、ATⅢとともにヘパリンを添加すると、ATⅢの阻害効果は一層高まる。これが、ヘパリンを抗血液凝固剤に使う所以である。ところが、ビトロネクチンはこの強力なヘパリンとATⅢによる抗血液凝固活性を中和してしまうのである[6、8]。また、トロンビンと同様のプロテアーゼ活性をもつ血液凝固因子Xaの活性もATⅢとヘパリンにより強く阻害されるが、この活性もビトロネクチンによって中和される[8]。つまり、ビトロネクチンは血液凝固系の進行度を調節する役目を担っているのである。このビトロネクチンの中和活性は、ヘパリン結合部位中の347から359番に相当する13残基の合成ペプチド(図I-2)により阻害される。そのため、ヘパリン結合部位、特にその13残基の部分がこの中和活性を担っていると考えられる。

線溶系は、血液凝固系でできたフィブリン塊を分解して可溶化する機構である。線溶系の中心的タンパク質分解酵素プラスミンは、プラスミノーゲン活性化因子(PA)によってプラスミノーゲンから生ずる。さらにPAの活性化を阻害する生体因子の一つにプラスミノーゲン活性化因子阻害因子-1(PAI-1)があり、線溶系は複雑な活性化と阻害の調節機構を持つことが知られている。ビトロネクチンは、その線溶系のPAI-1やプラスミノーゲンに結合して、線溶系の調節因子として働く。例えば、ビトロネクチンのPAI-1への結合は、PAI-1の活性化および安定化に役だっており[9]、プラスミノーゲンへの結合はプラスミン生成の調節に関わっている[25]。

Pöllänenら[57、58]やHébertら[59]は、細胞の接着部域にも線溶系の因子であるPAやPAI-1が局在していることを報告している。そして、そのPAやPAI-1はビトロネクチンと複合体を形成している。このことは、細胞接着機構も線溶系分子群とビトロネクチンとの相互作用によって調節されている可能性を示唆する。おそらく、細胞外マトリックスの分解や細胞移動などの制御に関与しているであろう。

2-7. ビトロネクチンの機能(3)-免疫補体系-

免疫補体系は、9種の血清タンパク質が担う生体防御反応の1つである。補体は、抗体を表面にもつ異物や老化した細胞に結合して細胞融解をひきおこす。細胞融解は、補体成分のC5b、C6、C7、C8、C9からなる膜侵襲複合体(membrane attack complex; MAC)が細胞膜に穴を開けることによって生ずる。C5b、C6、C7から成る複合体C5b-7は疎水性が強く、細胞膜に強く結合する。C5b-7は、C8を結合し、さらに12-18個のC9を重合させてMACを形成する。ビトロネクチンはC5b-7に結合して、C5b-7の細胞膜への結合を阻害し、更にC9の重合過程も阻害する。ビトロネクチンの補体に対する阻害作用は、血液凝固系への作用と同じく、ヘパリン結合部位がその活性を担っている[60]。

3. 本研究の目的

前節で概説したように、ビトロネクチンの構造や機能の研究の知識は蓄積し

つつある。しかし、ヒトのビトロネクチンを材料としてきた結果、*in vitro*で確かめられた生理機能しかわからず、実際に生物の中でビトロネクチンがどのような機能を果たすタンパク質であるのかは調べられていない。生体中での機能を知るためには、遺伝子操作により改変されたビトロネクチンをもつ生物がどのような異常を示すのか、生理異常の生物に対しビトロネクチンを投与した際にどのような影響を及ぼすのかなどを調べることが想定される。しかし、これらの実験では、ヒトを実験生物として利用することができない。そこで、より実験生物として取り扱いやすいマウスやラットなどの動物におけるビトロネクチンの研究の開発が重要視された。

また、細胞相互作用が生物全体において重要であることが認識されているにも関わらず、無脊椎動物や菌類などの細胞接着性タンパク質の研究は少ない。ビトロネクチンの場合、研究はおろかその存在さえ分かっていない状態であった。下等な生物は構造が単純で、遺伝子的なアプローチも高等生物に比べて容易である。そのため細胞と細胞外マトリックスの相互作用の機構を調べるには興味深い材料にもなる。また様々な生物のビトロネクチンについての知見から、ビトロネクチン分子の進化的な変化や生物普遍的な機能、新しい機能を明らかにしていくことが可能とも考えられる。

さらに、ヒトビトロネクチンの研究の蓄積から、ビトロネクチンが有用な多機能タンパク質であることが明かとなってきた。その結果、ビトロネクチンの応用的利用の必要性も高まってきた。応用的利用のためには、ビトロネクチンが低いコストで大量に精製でき、安全に用いることができることが重要である。

1988年、私の研究室において、前節、2-3でふれたような、ヘパリンセファロースアフィニティークロマトグラフィーによるビトロネクチンの大量簡便精製法が確立して[34]、やっとヒトは勿論のこと、ヒト以外の動物血漿からも精製されたビトロネクチンを入手することができるようになった[35、36]。このことは、ヒトビトロネクチン以外のビトロネクチンの研究とビトロネクチンの応用的利用の基盤を作った。

そこで本論文では、ヒトを含めた様々な生物でのビトロネクチンを検索し、実際に、それを材料にビトロネクチンの構造と機能の研究を行った。ビトロネクチン分子の構造や機能が、生物種間でどの様に保持され、または異なっているのかを知ることを一つの目的とした。また、動物ビトロネクチンを応用的に利用するための基礎的研究として、ビトロネクチンの動物種間の機能の統一性

と細胞伸展活性の性状を研究することをもう一つの目的とした。

4. 本研究の構成

本研究は、本章の序を含めて6つの章から構成される。

本章、第Ⅰ章では、ビトロネクチン研究の今までの流れにふれ、その中における本研究の目的を明らかにした。

第Ⅱ章では、「ビトロネクチンの系統学的分布」と題し、まず様々な生物におけるビトロネクチンの分布について述べた。精製したビトロネクチンとしては、哺乳類、鳥類のビトロネクチンを調べた。ここでは、さらにその他の脊椎動物、無脊椎動物、菌類などでのビトロネクチン様タンパク質の発見についても述べる。そして、これらを材料として、以下の章ではビトロネクチンの構造と機能についての研究を行った。

第Ⅲ章では、「動物ビトロネクチンの統一分子像－分子量の問題から－」と題し、精製動物ビトロネクチンから推測される統一分子像について述べた。特に、第Ⅰ章で見られたSDS電気泳動上での分子量多様性が何によるのかを解くため、ビトロネクチンの分子量の問題について調べた。

第Ⅳ章では、動物ビトロネクチンとは進化的に大きく離れた生物に存在するビトロネクチン様タンパク質について述べた。「真性粘菌のビトロネクチン様タンパク質」と題し、ビトロネクチン様タンパク質を検出できた進化的に最も原始的生物の粘菌の分子について調べた。その粘菌ビトロネクチン様タンパク質を精製し、構造や機能を調べ、高等動物ビトロネクチンと比較検討した。そして第Ⅴ章では、「ビトロネクチンの細胞伸展活性の熱およびオートクレーブ耐性」を題に、精製ビトロネクチンを応用的に利用するための基礎的研究について述べた。熱やオートクレーブ処理は、ビトロネクチンを応用的に利用するとき想定される処理の1つである。そこで、その処理によってビトロネクチンの細胞伸展活性がどの様に変化するかを調べた。さらにビトロネクチンのRGD配列による接着機構の特性についても論じた。

最後に第Ⅵ章では、第Ⅱ章から第Ⅴ章までの研究を総括的に考察した。

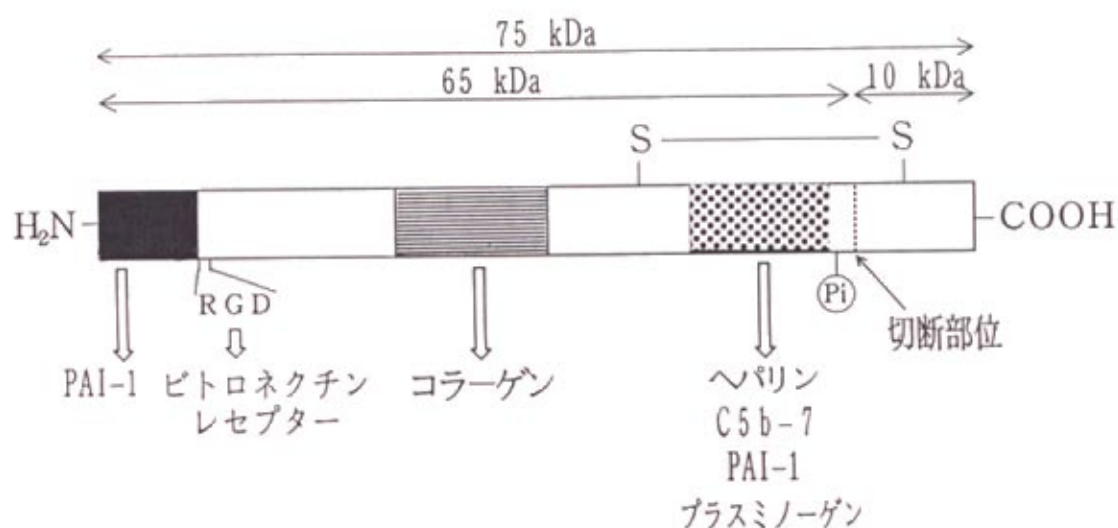


図 I - 1. ヒトピトロネクチンの分子モデル

ヒトピトロネクチンは血漿中で75 kDaと65 kDa+10 kDaの形で存在している。65 kDa分子と10 kDa分子は、ジスルフィド結合でつながっている。分子のアミノ末端から6 kDaの位置にPAI-1が結合する部位があり、その後に細胞接着活性を担うRGD配列がつづく。65 kDaへの切断点のアミノ末端側にヘパリンやC5b-7、PAI-1、プラスミノーゲンが結合するヘパリン結合部位がある。コラーゲンは、RGD配列とヘパリン結合部位の間に結合する。切断点とヘパリン結合部位の間に位置するセリンがリン酸化されることがある。

```

1  CAGAGCGGAGACTTCAGGGAGACCAGAGCCAGTTGCGAGGCACTCAGCTAGAAGCCCTGCCATGGCACCCCTGAGACCCCTTCTCATCTGGCCCTGCTG 100
                                     M A P L R P L L I L A L L
                                     -10
101 GCATGGGTTGCTCTGGCTGACCAAGAGTCAATGCAAGGGCCGCTGCACTGAGGGCTTCAAGCTGGACAACAAGTCCAGTGTGACGAGCTCTGCTTACT 200
    A W V A L A D Q E S C K G R C T E G F N V D K K C Q C D E L C S Y Y
                                     1      10      20
201 ACCAGAGCTGCTGCACAGACTATACGGCTGAGTGCAAGCCCAAGTACTCGCGGGGATGTGTTCACTATGCCGGAGGATGAGTACAGGCTATGACGA 300
    Q S C C T D Y T A E C K P Q V T R G D V F T M F E D E Y T V Y D D
                                     30      40      50      60
301 TGGCGAGGAGAAAAACAATGCCACTGTCCATGAACAGGTGGGGGGCCCTCCCTGACCTCTGACCTCCAGGCCAGTCCAAAGGGAATCTGAGCAGACA 400
    G E E K H N A T V H E Q V G G P S L T S D L Q A Q S K G N P E Q T
                                     70      80      90
401 CCTGTTCTGAACCTGAGGAAGAGGCCCTGCGCTGAGGTGGGGCCCTTAAGCTGAGGGGATAGACTCAAGGCTGAGACCTTATCCAGGAGAGAC 500
    P V L K P E E E A P A P E V G A S K P E G I D S R P E T L H P G R P
                                     100     110     120
501 CTCAGCCCCCAGCAGAGGAGGAGCTGTGCAGTGGGAAGCCCTTCGACGCCCTCACCGACCTCAAGAACGGTTCCTCTTTGCCCTCCGAGGGCAGTACTG 600
    O P P A E E E L C S G K P F D A F T D L K N G S L F A F R G Q Y C
                                     130     140     150     160
601 CTATGAACGGACGAAAAGCAGTGAGGCTGGTACCCCAAGCTCATCCGAGATGTCTGGGGCATCGAGGGCCCATCGATGCGGCTTCACCCGCGATC 700
    Y E L D E K A V R P G Y P K L I R D V W G I E G P I D A A F T R I
                                     170     180     190
701 AACTGTGAGGGGAAGACCTACCTCTTCAAGGGTAATCAGTACTGGCGCTTTGAGGATGGTGCTTGGACCTGATTACCCCGAAATATCTGACGGCT 800
    N C Q G K T Y L F K G N Q Y W R F E D G V L D P D Y P R N I S D G F
                                     200     210     220
801 TCGATGGCATCCCGGACAACTGGATGACGCTTGGCCCTCCCTGCCCATAGCTACAGTGGCCGGGAGCGGGTCTACTTCTTCAAGGGGAACAGTACTG 900
    D G I P D N V D A A L A L P A H S Y S G R E R V Y F F K G K Q Y W
                                     230     240     250     260
901 GGAGTACCACTTCCAGCACCAGCCAGTCAAGGAGGAGTGTGAAGGCAGCTCCCTGTGGCTGTGTTTGAACACTTTGCCATGATGCAGCGGGACAGCTGG 1000
    E Y Q F Q H Q P S Q E E C E G S S L S A V F E H F A M M Q R D S W
                                     270     280     290
1001 GAGGACATCTTCGAGCTTCTCTTCTGGGGCAGAACCCTCTGCTGGTACCAGACAGCCCAAGTTCATTAGCCGGGACTGGCACGGTGTGCCAGGGCAAGTGG 1100
    E D I F E L L F W G R T S A G T R Q P Q P I S R D W H G V P G Q V D
                                     300     310     320
1101 ACGCAGCCATGGCTGCCCGCATCTACATCTCAGGCATGGCACCCCGCCCTCTTGGACCAAGAAACAAAGTTTAGGCATCGCAACCGCAAAGGCTACCG 1200
    A A M A G R I Y I S G M A P R P S L T K K Q R F R H R N R K G Y R
                                     330     340     350     360
1201 TTCACAACGAGGCCACAGCGGTGGCCGCAACCAGAACTCCCGCCGGCCATCCCGCCCATGTGGCTGTCTTGTCTCCAGTGAGGAGAGCAACTTGGGA 1300
    S Q R G H S R G R N Q N S R R P S A A M W L S L F S S E E S N L G
                                     370     380     390
1301 GCCAACAACATATGATGACTACAGCATGGACTGGCTTGTGCCTGCCACCTGTGAACCCATCCAGAGTGTCTTCTTCTCTGGAGACAAGTACTACCGAG 1400
    A N N Y D D Y R M D W L V P A T C E P I Q S V F F F S G D K Y Y R V
                                     400     410     420
1401 TCAATCTTCGCACAGCGGAGTGGACACTGTGGACCTCCCTACCCAGCTCCATCGTCACTAGTGGCTGGGCTGCCAGCTCCTGGCCATCTGTAGGA 1500
    N L R T R R V D T V D P P Y P R S I A Q Y W L G C P A P G H L
                                     430     440     450
1501 GTCAGAGCCACATGGCCGGGCCCTCTGTAGTCCCTCCTCCCATCTCCTTCCCCCAGCCCAATAAAGGTCCTTAGCCCCGAAAAAAAAAAAAAAAAA 1600
1601 AAAA 1604

```

図 I - 2. ヒトビトロネクチンのcDNA塩基配列と全一次構造

Jenneら[17]の報告したヒト血漿ビトロネクチンのcDNA塩基配列と全一次構造を示した。二重線を引いた45-47番が細胞接着活性を担うRGD配列である。一重線を引いた342-375番がヘパリン結合部位であり、●をつけた347-359番の合成ペプチドが血液凝固や補体系でのビトロネクチンの作用を阻害する。▲をつけた67、150、223番のアスパラギン酸には糖鎖が結合する。丸で囲んだ378番のセリンがリン酸化され、矢印をした379-380番の間で65 kDaに切断される。

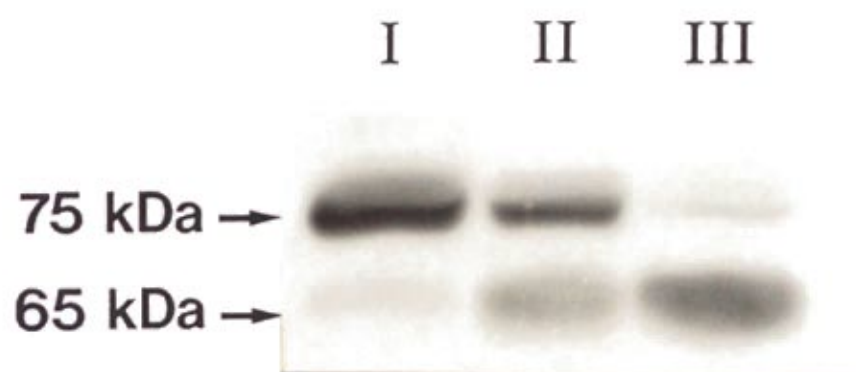


図 I - 3 . ビトロネクチン血液型

ヒト血漿を抗ビトロネクチン抗体でイムノブロットすると、75 kDaと65 kDaの2本のバンドが染色される。この2本のバンドの量比はヒトによって異なっており、75 kDaの多い I 型(レーン I)、75 kDaと65 kDaがほぼ等量の II 型(レーン II)、65 kDaの多い III 型(レーン III)に分類される。