

第VI章

まとめ

1. 系統学的ビトロネクチンの分布

今まで、細胞外マトリックス分子は高等動物を中心に研究が進められ、その生理的重要性が明らかにされてきた。細胞外マトリックスの担う重要な活性の一つである細胞接着・伸展活性は、多細胞生物を構成する細胞にとって無くてはならない特性である。細胞同士は協調して生活を営むために、お互いが接着して相互作用している。では様々な生物の中で細胞接着を担う分子はどの様な分子であろうか。高等動物で細胞接着を担うタンパク質には、フィブロネクチン、コラーゲン、ビトロネクチンなどが知られている。それらの分子に相同な分子が他の生物に存在し、接着活性を担うかも知れない。そこで、細胞接着タンパク質の一つ、ビトロネクチンを取り上げ、その系統学的分布を調べた。

様々な生物のビトロネクチンを探るために、2つの方法をとった。まず1つは動物血漿よりビトロネクチンを精製することであった。ビトロネクチンのヘパリンへの親和性が、尿素処理によって獲得されるという性質を利用したビトロネクチンの精製法[34]に従い、ヒト、ウサギ、マウス、ラット、ハムスター、モルモット、イヌ、ウマ、ブタ、ウシ、ヤギ、ヒツジ、ニワトリ、ガチョウのビトロネクチンを精製した。もう1つの方法は、抗ビトロネクチン抗体を用いたイムノプロットであった。そして、ウズラ、ジュウシマツ、イシガメ、イモリ、アフリカツメガエル、キンギョ、タイ、ドジョウ、メクラウナギ、ワタリガニ、クルマエビ、ショウジョウバエ、線虫、真性粘菌にビトロネクチン様タンパク質を検出し、ビトロネクチン様タンパク質が脊椎動物、無脊椎動物、菌類にわたって広く分布することを確認することができた。ここまで広く分布していることは、ビトロネクチン様タンパク質が生理的に重要であることを示唆している。また、他のグループによって、さらに高等植物、ソウ類にもビトロネクチン様タンパク質が検出された[63-65]。これらのことを考え合わせると、ビトロネクチン様タンパク質は動物、植物、菌類に広く分布するようである。このように生物界に広く分布が確認された細胞外マトリックスタンパク質は、ビトロネクチンが初めてであり、他の細胞外マトリックス分子よりもビトロネクチ

ンが進化的により保存されている分子であることを示唆する。今後、ビトロネクチンが進化的に細胞接着タンパク質を調べてゆく貴重なモデルタンパク質となる。

2. 機能と構造からみたビトロネクチンの分子進化

精製動物ビトロネクチンは、すべてRGD配列依存性の細胞伸展活性を持っていた[35、36]。また、真性粘菌のビトロネクチン様タンパク質もRGD配列依存性の細胞伸展活性を持っていた。このことから、進化上で真性粘菌と高等動物との間に位置する生物のビトロネクチン様タンパク質は、RGD配列依存性の細胞伸展活性を示すと考えられる。進化的にどの段階の生物でも、ビトロネクチンおよびビトロネクチン様タンパク質のRGD配列の細胞伸展活性が重要な働きをしていることが予想される。

また、高等動物ビトロネクチンも粘菌ビトロネクチン様タンパク質もともにヘパリン結合活性をもっていた。この活性も進化的に保存されているのだろう。ただしその活性は、高等動物ビトロネクチンでは尿素処理によって活性化される潜在的なものであったが、粘菌ビトロネクチン様タンパク質では潜在性ではなかった。高等動物においてヘパリン結合部位は、血液凝固・線溶系や免疫補体系での働きが注目されている領域である。これら2つの生理機構は、高等動物以外の生物では存在しない。ヘパリン結合部位には、もっと普遍的な性質があるのではないか。細胞表層には、ヘパリン様物質が存在する。例えば、細胞表層のヘパリン様物質に結合して細胞を認識したり、増殖の制御を行ったりするのではないだろうか。そして、進化が進んで血液を持つようになった生物中では血液凝固・線溶系や免疫補体系での機能ももつようになり、その結果、複雑な機能調節機構が必要となって、ヘパリン結合性が潜在性になったと想像される。

分子全体の構造はどうだろうか。第Ⅲ章では14種の動物ビトロネクチンの分子構造を分子量の問題から検討した。その結果、分子的にはよく似た構造をしており、特に生理機能を担う領域では相同性が高く、機能のわかっていない領域や糖鎖では相同性が非常に低いと考えられた。それはヒト、ウサギ、マウスの全一次構造の比較をしても同様のことが言えた。進化的に離れるにしたがっ

て、相同性の高い部分は減少し、種特異的配列が増えてくる。粘菌ビトロネクチン様タンパク質は、アミノ末端アミノ酸配列が動物ビトロネクチンのものとは全く異なっていた。これは、進化的に非常に離れている結果ではないだろうか。細胞接着活性やヘパリン結合性は残っているので、これらの活性を担う部分は保存されていると推察される。

このように進化的に保存されているビトロネクチンが、それぞれの生物においてどの様な機能を持つのか、またさらに進化的にどの様な変化をとげているのかは、次の重要な課題である。それぞれの生物のビトロネクチン、ビトロネクチン様タンパク質の性状を深く掘り下げて調べていく必要がある。

3. ビトロネクチン研究の新しい展開の可能性

ビトロネクチンは、ヒト血中の細胞伸展因子として発見された糖タンパク質である。それ以来、ヒトビトロネクチンを用い、その細胞接着・伸展因子としての役割や血液凝固・線溶系、免疫補体系での機能も明らかになってきた。しかし、ビトロネクチンの研究は、発生や増殖、遺伝学などの研究に発展しにくかった。それは、今まで発生や遺伝学で実験材料として扱われてきた生物が、ヒトではなく、マウス、ラット、より下等な無脊椎動物群であったからである。また、ヒトのビトロネクチンを臨床的に応用していこうとしても、そのための動物実験は、ヒトではなく、まず、ウサギ、ラット、イヌなどの実験動物を用いることがほとんどである。

本研究で述べた精製ビトロネクチン、ビトロネクチン様タンパク質は、今までに遺伝学的、発生学的、臨床的研究の蓄積が多い生物のものであった。特に精製動物ビトロネクチンは分子構造もかなり推定され、生理機能の比較したデータも得られた。今後、ビトロネクチン研究を遺伝学的、発生学的、臨床的に展開するための基盤を作った。さらに、熱で滅菌したビトロネクチンも強い細胞伸展活性をもつことは、臨床的研究に有用である。動物にビトロネクチンを投与したときも、生きたウィルスや微生物の混在はほとんど考えられない。明確な条件下での動物実験が可能となる。

4. ビトロネクチンの応用的利用

ビトロネクチンがいろいろな動物血漿から、容易にかつ安価に精製されるようになり、ビトロネクチンを応用的に利用することが可能となった。ヒト以外の動物から得られたビトロネクチンは、本研究から構造的にも機能的にもヒトビトロネクチンと非常に似た分子であることも明かとなった。さらに、熱やオートクレーブ処理という消毒・滅菌操作によっても、その細胞伸展活性が減少することはなかった。滅菌が必要な分野でビトロネクチンを効率的に利用できる。以下にいくつかのビトロネクチンの利用の可能性について述べた。

1つは細胞培養である。ビトロネクチンは、培養基質に対して動物細胞を接着・伸展させる機能をもっている。近年、盛んになっている無血清培養下での細胞接着因子としてビトロネクチンの添加ができる。また、今までに他の接着因子では無血清培養が難しかった細胞を無血清培養化できるかもしれない。

また医学的な利用もある。既に角膜の創傷治癒にビトロネクチンを目薬として点眼する試みがなされ、良好な結果が得られている。角膜以外の創傷治癒のための薬品や化粧品への添加も期待される。血液凝固・線溶系や免疫補体系での調節因子として、投与することもできるだろう。

更にビトロネクチンを加工することも計画できる。抗体に毒物や生理活性物質を結合させて、動物に投与するミサイル療法は、特定の場所に薬物を運ぶドラッグデリバリーシステムの中心的存在である。毒物を抗体の代わりにビトロネクチンに結合させるとどうなるだろうか。ガン細胞は、正常細胞よりもインテグリンの発現量が多い。ビトロネクチンは体内でがん細胞に、より選択的に結合するであろう。そうなれば、がん細胞を優先的に死滅させられる。また、生理活性物質をビトロネクチンに結合させて動物に与えるとどうか。ビトロネクチンを足場に、生理活性物質を組織にとどめ、代謝分解からその物質を守り、長時間その活性を発揮させられるのではないだろうか。

今後、このようにビトロネクチンのさまざまな利用が試みられ、その有用性が明らかになってくることを期待する。