

腸菌内に増幅することによりメチオニンを完全に除去する試みがなされている。

天然型と異なるプロセッシングのうち全く予想外だったものは、分子間ジスルフィド結合によるオリゴマーの生成と、N末端アミノ基のアセチル化やホルミル化であろう。IFN- $\alpha$ A は2組のジスルフィド結合をもつが、大腸菌由来の組み換え型 IFN- $\alpha$ A(rIFN- $\alpha$ A) では精製途上で分子間ジスルフィド結合によるオリゴマーが生じた。<sup>2)</sup> 大腸菌の産生する多くの組み換え型タンパク質が菌体内に還元型として蓄積されることが知られてきたが、rIFN- $\alpha$ A も同様に菌体内では還元型であるためと思われる。このオリゴマーの生成は、イムノアフィニティーカラムの溶出液を pH 3.3, 37°C で数日間保温して、還元型分子種を2組のジスルフィド結合をもつ安定な分子種に変換することにより防止できた。<sup>2)</sup>

このようにして得られた rIFN- $\alpha$ A は逆相 HPLC で主ピークと2つの副ピークに分離し、<sup>2,3)</sup> 主ピークは非修飾体であり、副ピークのうち一方は Cys<sup>1</sup> のアミノ基が一部アセチル化されており、他方は Cys<sup>1</sup> および Cys<sup>98</sup> がシステイン酸に酸化されているかグルタチオンと結合していることが判明した。<sup>4)</sup> これらの修飾体は CM-トヨパールイオン交換カラムで分離除去

できた。<sup>2)</sup> 大腸菌由来の Cys-Tyr-Cys をN末端にもつ rIFN- $\gamma$  においても、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動や逆相 HPLC で2つの分子種が観察され、一方はN末端システインのアミノ基がアセチル化あるいはホルミル化を受けていることが明らかとなった。<sup>5)</sup> rIFN- $\alpha$ A や rIFN- $\gamma$  でのこれらの修飾は活性には影響を与えていない。<sup>3,5)</sup> 大腸菌由来の組み換え型タンパク質のN末端アセチル化に関しては、これらの他にも eglin c という蛋白性のプロテアーゼ阻害剤での報告がある。

以上のような種々のプロセッシングは、均質で高純度の組み換え型タンパク質を得ようとするときには大きな問題となる。それぞれのタンパク質において、これらのプロセッシングの防止あるいは適切な分離操作の工夫が必要とされよう。

- 1) Honda, S. *et al.*: *J. Interferon Res.*, 7, 145 (1987).
- 2) Honda, S. *et al.*: *J. Biotechnol.*, 5, 39 (1987).
- 3) Nakagawa, S. *et al.*: *J. Interferon Res.*, 7, 285 (1987).
- 4) Takao, T. *et al.*: *J. Biol. Chem.*, 262, 3541 (1987).
- 5) Honda, S. *et al.*: *Arch. Biochem. Biophys.* in press

### 納豆中の血栓溶解酵素ナットウキナーゼ (宮崎医科大学生理学 須見洋行)

欧米型の食生活が家庭に浸透するにつれ、血栓症による死亡率が増えつつある。また、このところ社会的な大きな問題になっている老人性痴呆(ボケ)もその半数以上は微小循環における血栓形成が原因と考えられるようになっている。こうした血栓症とは簡単に云えば生体の血液凝固系とその作用によって生じた線維素(血栓の主成分フィブリンのこと)を溶かす酵素系(普通、略して線溶系と呼ぶ)のバランスが崩れ、血管に栓をしてしまう病気である。そこで我が国ではこれまでその治療に大量のヒト尿から採られた UK(ウロキナーゼ)とか最近では遺伝子操作によって大腸菌等で作られた TPA(組織プラスミノゲン・アクチベーター)等の線溶酵素あるいはその前駆体(pro-UK)が静脈内投与されてきた。<sup>1)</sup> しかし、血中での半減期はいずれも20分以内と非常に短く、大過剰量

を長時間にわたって持続点滴することが必須であった(すると今度は出血傾向を招くことになる)。そこで、もしヒト自らが持つ線溶酵素の合成を盛んにしたり血中にたたき出すといった療法が開発できれば、そうした問題は解決でき、またこれまで不可能であった血栓症予防への応用も期待できる訳である。1940年代に von Kaulla ら<sup>2)</sup> によって行なわれた flufenamic acid, niflumic acid 等の投与、あるいは最近の UK カプセルを用いた“経口線溶療法”<sup>3)</sup> もそれを目的とした研究である。しかし、経口化で効果を現わすには酵素の安定性の問題、さらに実際面でいずれの酵素も非常に高価であることに難点があった(UK, TPA 等は1mg 当り5万円以上かかる)。そこで、より効果的で安価な経口酵素剤の検索が並行して行われてきた。

納豆中の“ナットウキナーゼ”(NK)もそのように

して、最近約170種類の食品（主に発酵食品）の中から見出された酵素である。<sup>4)</sup> NK は納豆の“ネバネバ物質”の中に含まれ、驚異的な血栓溶解能を示す。例えばシャーレの中に人工的に作った血栓に対する溶解能で比較した場合、市販納豆の1g（3～4粒）は約4/1のヒト尿からとったUKに匹敵する効力を発揮する。このような活性は一般の枯草菌の酵素にはないので、ヒト血中の唯一のフィブリン分解酵素であるプラスミンと似ている。NKは分子量約2万、等電点8.6のセリン酵素であり、納豆菌がそうであるように、腸管内でも高い安定性を示す。TPAとかUK等が血中のプラスミノゲンをプラスミンに活性化して間接的に線溶亢進に働くのとは異なり直接フィブリンに働くほか、従来、プラスミンの特異的基質とされたH-D-Val-Leu-Lys-pNA等を強く分解する。

さて、では日常我々が納豆を食べた場合どうなるのかということであるが、NKを腸溶カプセルで投与した場合に比べるとその程度は低いが明らかな血中線溶亢進を示すことがわかってきた。<sup>45)</sup> たとえば、市販の1～2パック（100g入り）で線溶パラメーターである血漿ELTの短縮、EFAの増加が摂取後2～8時間にわたって続き、また生体内の血栓（健常でも常に作られている）の溶解したことを示すFDP量の増加も認

められる。また、特に興味深いのはその際血中のTPA抗原量も長時間にわたって増加することである。もともとNKにそのような抗原性はないので、NKそのものの直接的な作用の他に、NKが恐らく血管内皮とか肝から由来する生体自らが持つ線溶因子（TPA）の産生とか放出を引き起こし間接的に線溶亢進に働いていることを物語っている。

NKの分子構造、あるいは線溶発現の機序等のより詳細な研究、それによりNKが血栓症の治療のみならず予防剤として開発される日もそれほど遠くないものと思われるが、それまでは納豆を薬餌としてもっと大いに利用して良いように思う。なによりも我が国で1000年以上食べられてきた食品で、副作用とか習慣性の心配もないからである。正に安心して使える天然の経口線溶療法剤と云ってよいかもしれない。

- 1) Sherry, S.: *Rat. Drug. Ther.*, 21, 1 (1987).
- 2) von Kaulla, K. N.: In "*Fibrinolytics and Anti-fibrinolytics*" ed. by F. Markwardt, p. 239, Springer-Verlag, New York (1978).
- 3) Toki N. *et al.*: *J. Clin. Invest.*, 75, 1212 (1985).
- 4) Sumi H. *et al.*: *Experientia*, 43, 1110 (1987).
- 5) Sumi H. *et al.*: *Fibrinolysis*, 2 (Sup. 1), 67 (1988).