

オニヒトデ刺棘のタンパク毒

塩 見 一 雄

東京水産大学食品生産学科

Proteinaceous Toxins in Spines of the Crown-of-thorns Starfish *Acanthaster planci*

KAZUO SHIOMI

Department of Food Science and Technology, Tokyo University of Fisheries, Tokyo 108-8477, Japan

オニヒトデはサンゴを食害するだけでなく、体表に無数の鋭い毒棘を持つ代表的な海産刺毒動物としても有名である。刺傷事故はオニヒトデの駆除作業中に多く発生し、棘に刺されると激しい痛み、腫れ、発赤、壊死などが引き起こされる。棘抽出物（粗毒）には、マウス致死活性、溶血活性、浮腫形成活性、出血活性、毛細血管透過性亢進活性、壊死形成活性、ホスホリパーゼ A₂ (PLA₂) 活性,¹⁾ マスト細胞からのヒスタミン遊離活性,²⁾ 抗血液凝固活性³⁾ など多様な生物活性が検出されている。これまでにマウス致死因子、PLA₂ および抗血液凝固因子が精製されているが、本稿では、われわれが精製し性状を明らかにしてきたマウス致死因子と PLA₂ について概説する。

1) 致死因子

われわれは以前にマウス致死因子を精製したが、⁴⁾ 最近、性状の類似した 2 成分 (plancitoxin I および II) の混合物であることが判明した。以下には、最近の知見に限って述べることにする。2 成分の plancitoxin は CM-cellulose, 陽イオン交換 FPLC という簡単な方法で精製できる。主成分の plancitoxin I は刺棘 100 g から 3 mg 程度得られるが、plancitoxin II の収量は約 0.04 mg とごくわずかである。いずれも 37 kDa の塩基性糖タンパク質で、10 kDa の α -サブユニットと 27 kDa の β -サブユニットが S-S 結合で架橋されている。マウスに対する LD₅₀ (静脈投与) は 140 μ g/kg で、LD₅₀ 付近の投与量での致死時間は 96 時間程度と非常に長く、致死因子は遅効性の毒である。致死因子はタンパク毒としては珍しい肝臓毒であることを以前に報告したが、^{5,6)} plancitoxin I, II の場合も、マウスに投与すると血清 GOT および GPT を著しく上昇させる (図 1)。

主成分の plancitoxin I については 2 種類のサブユニットを分離し、その N 末端アミノ酸配列に基づいた RT-PCR, さらに 3'-RACE, 5'-RACE により cDNA をクローニングした。両サブユニットは同じ cDNA にコードされており、前駆体タンパク質はシグナルペプチ

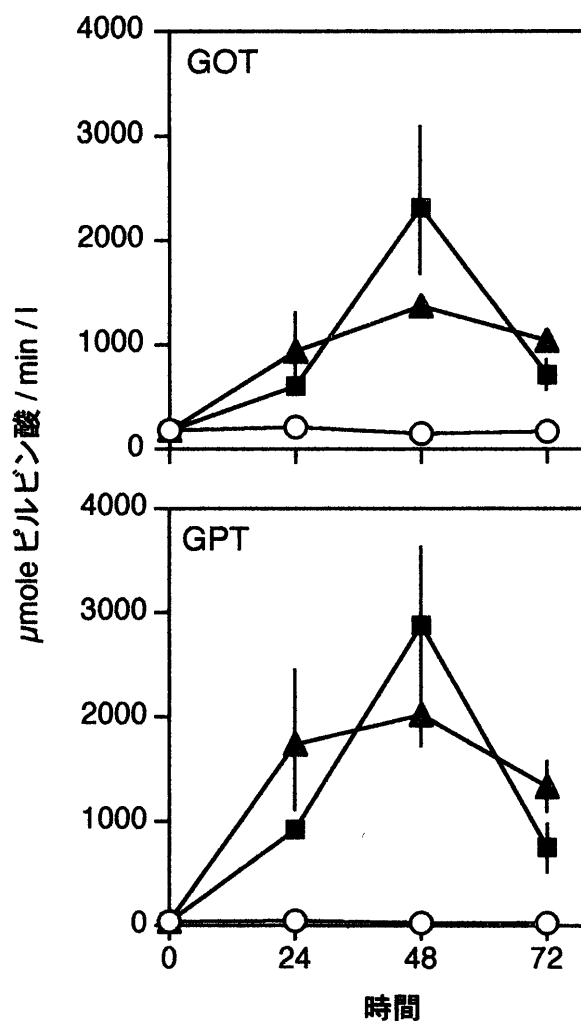


図 1 オニヒトデ致死因子を静脈投与したマウスにおける血清 GOT および GPT の経時変化
■, plancitoxin I (100 μ g/kg); ▲, plancitoxin II (100 μ g/kg); ○, コントロール (生理食塩水)

ド (26 残基), α -サブユニット (92 残基), β -サブユニット (240 残基) で構成されていた (図 2)。データベ

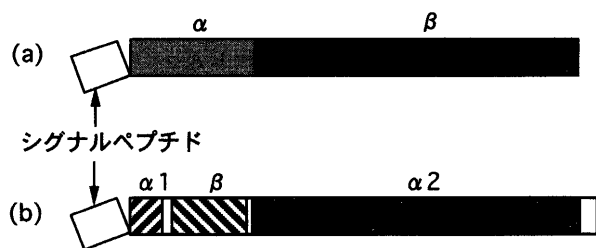


図2 Plancitoxin I (a)およびブタ脾臓 DNase II (b)の前駆体タンパク質の構造
ブタ脾臓 DNase II の場合、シグナルペプチドを含む部分は翻訳後除去される。

ス検索により、plancitoxin I はアポトーシスとの関連で注目されている哺乳類由来の deoxyribonuclease II (DNase II) と高い配列相同性があるという興味深い事実が判明した。plancitoxin I と DNase II との配列相同性 (約 40%) は DNase II の間での相同性 (70–75%) と比べると明らかに低い、DNase II の活性中心近傍と推定されているアミノ酸配列 Ser (または Als)–Thr–Glu–Asp–His–Ser–Lys–Trp は plancitoxin I でもほぼ保存されていた。それに対応して、plancitoxin I は仔牛胸腺 DNA を基質として用いたアッセイにより DNA 分解活性を有することが確認された。

一方、plancitoxin I と DNase II とではいくつかの違いもみられた。まず第1に、サブユニット構造の点で両者は大きく異なっている。上述したように plancitoxin I は2種類のサブユニットより成るが、サブユニット構造が報告されているブタ脾臓およびヒト肝臓由来の DNase II の場合はいずれも $\alpha 1$, $\alpha 2$ および β の3種類のサブユニットで構成されている。 $\alpha 1 + \beta$ が plancitoxin I の α サブユニットに、 $\alpha 2$ が plancitoxin I の β サブユニットに相当する (図2)。もう一つの大きな違いは酵素学的性質である。DNase II の至適 pH は酸性側にあることが知られているが、plancitoxin I の至適 pH は 7.2 と測定された。さらに、DNase II は2価イオンを要求しないという特徴は plancitoxin I でもみられたが、DNase II の活性は EDTA に影響を受けなかったのに対して plancitoxin I は EDTA により活性を阻害された。

plancitoxin II についてはデータは得られていないが、plancitoxin I と同様にアミノ酸配列および酵素活性の点で DNase II と類似していることは間違いないであろう。それでは DNase II と類似した plancitoxin がどのようにして肝臓毒性を発揮するのであろうか？ 今のところ、

plancitoxin は肝細胞表面の特異的なレセプターと結合して細胞内に侵入し、DNA 分解により細胞死を招くと推定している。肝臓毒性の詳細なメカニズム解明は今後の重要課題である。

2. PLA₂⁷⁾

各種カラムクロマトグラフィーにより、AP-PLA₂-I, II の2成分の PLA₂ を精製した。前者は 15 kDa のポリペプチド鎖2本の2量体、後者は 15 kDa の単量体として存在する。N 末端アミノ酸配列分析により、2成分ともクラス I の PLA₂ (哺乳類の脾臓 PLA₂ やコブラ毒の PLA₂ など) に属することを明らかにした。両成分とも浮腫形成活性は陰性であるが毛細血管透過性亢進活性を示すので、PLA₂ はオニヒトデによる刺傷時の局所症状に深く関わっていると判断される。粗毒はマスト細胞からのヒスタミン遊離活性を示すこと、粗毒の毛細血管透過性亢進活性は抗ヒスタミン剤で抑制されることを以前に認めているので、²⁾ PLA₂ はマスト細胞からのヒスタミン遊離因子で、遊離したヒスタミンが毛細血管透過性亢進活性を引き起こすと推定している。なお、PLA₂ はヘビ毒、トカゲ毒、ミツバチ毒の主要な構成毒成分であるが、海産動物由来の PLA₂ のうち毒成分として証明されたのはオニヒトデ PLA₂ が最初の例である。

文 献

- 1) Shiomi K, Itoh K, Yamanaka H, Kikuchi T. Biological activity of crude venom from the crown-of-thorns starfish *Acanthaster planci*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1985; **51**: 1151–1154.
- 2) Shiomi K, Nagai K, Yamanaka H, Kikuchi T. Inhibitory effect of anti-inflammatory agents on the cutaneous capillary leakage induced by six marine venoms. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1989; **55**: 131–134.
- 3) Karasudani I, Koyama T, Nakandakari S, Aniya Y. Purification of anticoagulant factor from the spine venom of the crown-of-thorns starfish, *Acanthaster planci*. *Toxicon* 1996; **34**: 871–879.
- 4) Shiomi K, Yamamoto S, Yamanaka H, Kikuchi T. Purification and characterization of a lethal factor in venom from the crown-of-thorns starfish (*Acanthaster planci*). *Toxicon* 1988; **26**: 1077–1083.
- 5) Shiomi K, Yamamoto S, Yamanaka H, Kikuchi T, Konno K. Liver damage by the crown-of-thorns starfish (*Acanthaster planci*) lethal factor. *Toxicon* 1990; **28**: 469–475.
- 6) 塩見一雄, 才津憲章, 菊池武昭. オニヒトデ致死因子のラットに対する肝臓毒性. 日水誌 1991; **57**: 341–344.
- 7) Shiomi K, Kazama A, Shimakura K, Nagashima Y. Purification and properties of phospholipases A₂ from the crown-of-thorns starfish (*Acanthaster planci*) venom. *Toxicon* 1998; **36**: 589–599.