

生物毒

特集

毒とは何か
—生物毒と人間

麻痺性貝毒の不思議
—毒はどこからやってくる?

毒にも薬にもなる植物の話
—パン酵母で薬を造る、毒のないジャガイモを創る

ハブ毒を科学する
—どうして毒成分はユニークで多様な機能を獲得したのか

毒をもつ哺乳類
—珍獣キューバソレドンとは?

National Museum of Nature and Science

ハブ毒を科学する

—どうして毒成分はユニークで多様な機能を獲得したのか

ハブの毒は、意外にも、ごくありふれた酵素・タンパク質の宝庫ですが、きわめて高い特異性を持ち、特定の標的分子のみに作用を示します。それらは、まるで周囲の環境の変化に適応するかのように加速進化し、ユニークで固有の機能を獲得してきたようにみえます。本稿では、ハブ毒の不思議に迫ってみましょう。

ハブは、日本の南西諸島（奄美大島、徳之島、沖縄島など）に生息する体長が1～2mにも達する日本最大の毒ヘビです（図1）。その毒は、猛毒の化合物の混合物と思うかもしれませんが、意外にもユビキタな（至るところに存在する）タンパク質、ペプチド^{※1}の集合体です。しかも、個々の成分は、狙いを定めたかのごとく特定の分子だけを標的とします。これはヘビ毒の大きな特徴の一つであり、このことは古くから生体分子の発見や医薬品の創製に貢献してきました。本稿では、ハブ毒タンパク質とその遺伝子の特徴、分子進化、遺伝子発現などについてご紹介したいと思います。

毒ヘビの出現と巧妙な進化

まず毒ヘビについて少し説明しましょう。地球の歴史のなかでヘビがいつ誕生したのかは、化石がまれにしか発見されないこともあり、はっきりしていません。ただ、一般的には白亜紀（約1億4500万～6600万年前）の初めのころ、同じ爬虫類のトカゲから分かれたといわれています。ヘビはまず、ちょろちょろ出す舌で獲物のおいさを感じ、嗅覚を発達させました。その後、脚が退化して胴体だけとなり、締めつけることで獲物をとるようになったようです^{※2}。そして、小型の哺乳類や小鳥が栄えるようになった中新世（約5300万～



文・写真・図版

上田 直子 うえだ なおこ

崇城大学薬学部薬学科教授

1990年九州大学大学院理学研究科化学専攻修了。理学博士。1989年から日本学術振興会特別研究員、1991～1995年アメリカ国立衛生研究所（NIH）客員研究員、1995年より熊本工業大学（現 崇城大学）工学部助手、同大学生物生命学部助教を経て、2006年より現職。

2300万年前）には、それらをより効率的にしとめるために毒液を獲得し、毒ヘビが出現したと考えられています。

毒ヘビは、古くから、その毒成分の生理機能によりコブラ科（ウミヘビも含む）とクサリヘビ科（ハブやマムシ）に大ざっぱに分けられてきました。コブラ科は神経毒を中心とし、クサリヘビ科は出血毒を中心としています（実際は、そんなに単純でないことが明らかとなっています）。ハブは、クサリヘビ科マムシ亜科に属します。これらのグループの特徴は、鼻孔と眼の中間に頬窩とよばれる赤外線を感じ取るくぼみ（ピット）をもっていることです（図2）。ピットはわずかな温度差も感知することができ、そのおかげで地中の動物を発見して食べたり、暗夜でも温血動物（主にネズミ、モグラのなかま）を捕獲したりすることができるのです。このような高度な器官をもつことから、マムシ亜科ヘビは、ヘビの進化の最後の段階にあるともいわれます。

ハブ毒成分の構造・機能と遺伝子の特徴

毒ヘビの毒液は、唾液腺が進化したものとされる毒腺組織で生成されます（図2）。噛まれると毒牙から筋肉や血管などに大量の毒成分が注入されます。注入された成分は単独で、あるいは相乗的に働き、生体組織の恒常性を破壊します。その結果、毒として作用すると考えられます。

ハブ毒の主成分としては、金属プロテアーゼやセリンプロテアーゼが挙げられます。これらはごくありふれた酵素で、たとえ

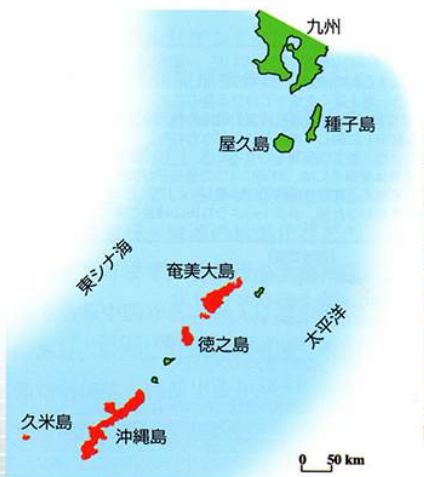


図1 日本の南西諸島とハブの写真

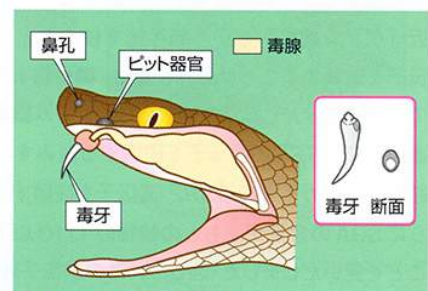


図2 ハブの頭部のつくり

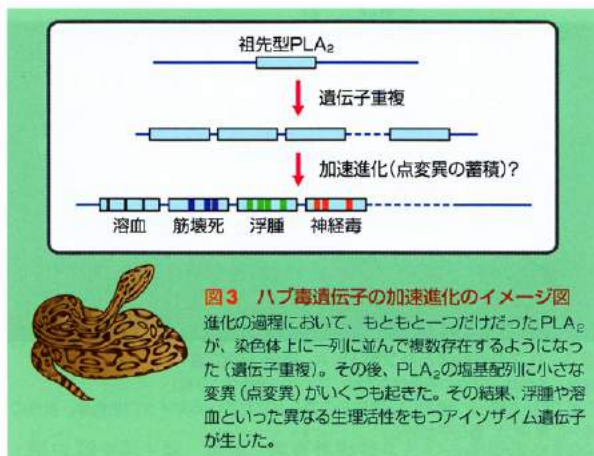


図3 ハブ毒遺伝子の加速進化のイメージ図
進化の過程において、もともと一つだけだったPLA₂が、染色体上に一列に並んで複数存在するようになった(遺伝子重複)。その後、PLA₂の塩基配列に小さな変異(点変異)がいくつも起きた。その結果、浮腫や溶血といった異なる生理活性をもつアイソザイム遺伝子が生じた。

ばハブ毒の金属プロテアーゼは、線虫からヒトまで広く分布しているADAM (a disintegrin and metalloprotease) ファミリーというタンパク質分解酵素とそっくりの構造をもっていますし、セリンプロテアーゼは、血液凝固に関与するごく一般的な酵素とよく似ています。また、毒のなかには、神経成長因子や血管新生因子といった、生物の発生や生命維持に必要な物質と同様な構造をもつ成分すら存在します。代表的な成分を表1に示しますが、いまだ機能不明の成分も数多くあります。

どうしてヘビは「ありふれたタンパク質とそっくりな構造をした毒成分」をもっているのでしょうか。構造が似ているにもかかわらず、生理機能が異なるのは、毒成分が何らかの理由で固有の機能を獲得して進化してきたからです。その謎に迫るべく、筆者らは、長年にわたり、主にホスホリパーゼA₂ (PLA₂^{*3}) というタンパク質を対象に研究を行ってきました。その成果の一部を紹介します。

PLA₂は、生体膜の主要な構成成分であるグリセロリン脂質を分解する酵素群の総称で、哺乳類のいろいろな組織にも存在する酵素です。ここで大切なのは、ハブ毒のPLA₂が、アイソザイムを形成するという事です(タンパク質として5~6種類見つかっています)。アイソザイムとは、酵素としては、同じ触媒作用(化学反応)を示しますが(たとえば、PLA₂の場合、グリセロリン脂質の構造の特定部位を切断するという反応は共通しているけれども)、アミノ酸配列が一部異なっているものを指します。この一部異なっていることにより、それぞれのアイソザイムが固有の生理機能(浮腫、溶血、筋壊死)を示します(図3)。

では、PLA₂(ハブ毒中の高活性型を特に指す。表1参照)とBPIIとに着目してみましょう。BPIIはPLA₂のアイソザイムです。PLA₂は酵素活性が強く、BPIIはきわめて弱いという性質があります。この2つの酵素を、がん細胞に作用させてみました。元来、PLA₂の基質(酵素によって反応を受ける分

子)となるリン脂質は、細胞膜上に多く存在します。そのため、酵素活性の強いPLA₂が細胞膜を損傷し、がん細胞を死滅させることが予想されました。ところが驚いたことに結果はその逆で、BPIIが、がん細胞に強い細胞死を誘導したのに対し、PLA₂はまったく影響を与えませんでした。その後の研究の結果、BPIIは、酵素活性とは無関係に、何らかのメカニズムで細胞膜を直ちに破壊し(ネクロシス^{*4}様)、がん細胞全体を縮小させるような(アポトーシス^{*5}様)一風変わった細胞死を誘導することがわかりました。一方、PLA₂はがん細胞にダメージを与えなかったものの、正常細胞には細胞死を誘導するなど、それぞれの分子は、ほかの組織の類似酵素が示さないユニークな性質をもつことがわかりました。

さて、PLA₂アイソザイムの遺伝子の構造はどうでしょう。遺伝子には、タンパク質としての情報をもつ(コードするといいますが)塩基配列部分と、その他の部分があります。アイソザイム遺伝子を相互に比較すると、タンパク質をコードする部分は本来の酵素としての機能に重要なので、そうでない部分より変異が少ないことが普通ですが、ハブ毒タンパク質遺伝子の場合は、なんとその逆でした。つまり、タンパク質をコードする部分の方に変異が多かったのです。詳細な数理解析の結果、ハブ毒タンパク質遺伝子は、「加速進化」していることが判明しました。これは、簡単にいうと、一般の機能タンパク質や構造タンパク質^{*6}をコードする遺伝子にみられる遺伝子の変化(個体にとって有利でも不利でもない「中立的」進化様式)とは異なり、タンパク質をコードしている部分を積極的に変えているようにみえる進化様式を指します。

どうして、ハブは、毒中にこのように多様化したアイソザイムをもつのでしょうか。その答えはまだまだ謎ですが、おそらくは、生息環境の変化、たとえば、獲物の捕獲、外敵からの保護などに対応するため、既存の酵素の一部のアミノ酸を積極的に変えることにより、機能の異なるタンパク質をつくったのではないかと考えています。一から新たなタンパク質をつ

酵素および生理活性成分	分子名	性質
ホスホリパーゼA ₂ (PLA ₂)	PLA2	溶血、高酵素活性
	PLA-B	浮腫活性
	PLA-N	神経毒活性
	BPI	筋壊死活性、筋収縮活性
	BPII	筋壊死活性、筋収縮
金属プロテアーゼ	HR1a, HR1b	出血活性
	HR2a, HR2b	出血活性
	H2-protease	非出血活性
	HV1	ホモ2量体、アポトーシス誘導
セリンプロテアーゼ	ハプトビン	血液凝固、血小板凝集阻害
	フラボキソピン	血液凝固、補体活性化
その他	NGF	神経成長因子
	Tf-sv VEGF	血管内皮細胞増殖因子
	BPP-CNP	ブラジキニン増強ペプチド/ C型ナトリウムイオン利尿ペプチド

表1 ハブ毒の酵素および生理活性成分の一例

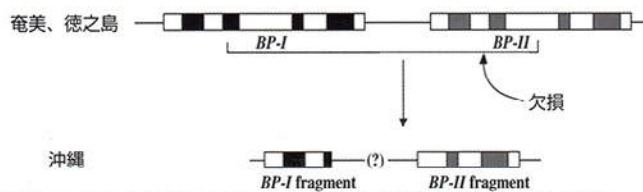


図4 沖縄ハブゲノムのBP-I、BP-II遺伝子の偽遺伝子状態を示す模式図
奄美大島のハブでは、BP-IとBP-IIの2つの遺伝子は並んで存在している。一方、沖縄のハブでは、中央部分が抜け、遺伝子は壊れていてもはや機能していない。だから沖縄ハブの毒にはBP-IもBP-IIも存在しない。

くるよりもより効率的で、素早く対応できるからです。この加速進化は、いまでは、ウイルスから哺乳類まで、種間、個体間で、免疫、生体防御や攻撃（毒）あるいは生殖関連遺伝子など、何らかのかたちで環境変化に対応する必要のある遺伝子に普遍的にみられる現象であることが明らかとなっています。

ハブのえさや成長は、遺伝子（発現^{*7}）に影響する？

BP-IIは、奄美大島と徳之島のハブ毒には、かなり大量に含まれています。ところが、沖縄島のハブ毒には含まれていないことがわかりました。その後の研究により、沖縄ハブでは、BP-IIとBP-I^{*8}の両遺伝子が融合して偽遺伝子化していることが判明しました（図4）。偽遺伝子とは、かつては遺伝子産物（タンパク質）をコードしていたと思われるが、現在ではその機能を失っているものをいい、遺伝子の残骸、化石といわれたりします。

およそ100万年前に奄美大島、徳之島、沖縄島などの島々に分かれたハブは、長期にわたり孤立してきました。ハブの食性は、生息地域ごとにさまざま、奄美大島のハブは、ネズミ、トカゲ、鳥類、両生類など多様な種類を食べますが、沖縄ハブは、主にカエルをえさとしています。そのため、強力な筋壊死因子であるBP-IやBP-IIは不要で、両遺伝子は適応的に偽遺伝子化したと考えています。最近、奄美大島ハブ毒から新たにBP-IIIを見いだしましたが、これは、徳之島ハブ毒中にはありませんでした。そこで、奄美大島、徳之島、沖縄島3島のハブ毒の毒成分を網羅的に解析してみました。全体的には、3島のハブ毒は同様な成分をもっているようでしたが、詳細にみると、島ごとに固有の毒成分があることがわかりました。やはり、生息地の（食餌）環境の微妙な違いが、各島のハブ毒成分の生産に影響を与えているのではないかと考えています。

一方、おとなのハブ（成蛇、3歳以上）は温血動物を、子どもハブ（幼蛇）は冷血動物（爬虫類、両生類など）を食するという報告に基づき、幼蛇と成蛇の毒成分の比較解析も行いました。その結果、幼蛇毒は、成蛇毒にはない毒成分をもつことがわかりました。その毒成分の正体を調べると、驚いたことに、成蛇ではつくられていなかったため、これまで偽遺伝子とみなされてきたPLA₂アイソザイム遺伝子に由来するものでした。しかも、0歳、1歳と年齢があがるにつれてその量は

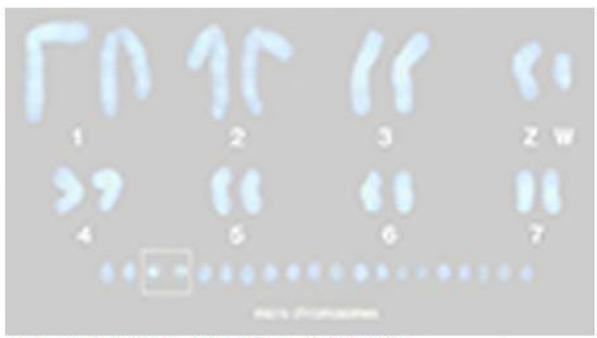


図5 ハブの染色体とハブ毒 PLA₂ 遺伝子の位置
青色：染色体（マクロ染色体*7対；マイクロ染色体10対）
点線で囲んだ部分：毒 PLA₂ 遺伝子のコードされているマイクロ染色体。黄色の部分に毒 PLA₂ 遺伝子がある。
*性染色体ZWは除く。

減少し、3歳以上の成蛇ではもはやつくられていないことも明らかとなりました。どうして体の小さい幼蛇の毒だけに、そのようなPLA₂アイソザイムが特別に含まれているのか、また、どのようにして成長過程に伴ってつくられなくなるのかなど、興味は尽きません。

ベノミクスって何？

“毒動物には、無毒動物にはない何か共通した事象があるのではないか”という壮大な構想のもと、毒（venom）は、毒腺組織（venom gland）で産生されることから、最近、ベノミクス（Venomics）^{*9}という造語が提唱されました。これは毒動物から創薬につながる生理活性成分を網羅的に探索するとともに、ゲノム解読を通して分子進化の謎に迫ろうとするものです。現在、日本の多くの研究グループとの共同研究により、ハブの全ゲノム解読も行っています。最近、主要な毒成分遺伝子の多くは、マイクロ染色体という小さい染色体上（あるいはマクロ染色体上の端）にあることがわかってきました（図5）。このマイクロ染色体は、長い年月の間に、マクロ染色体の端とくっついたり離れたりしてきたのではないかと考えられており、進化的にもおもしろいことが次々とわかってきています。今後、膨大な情報を統合して、毒成分（とその遺伝子）が織りなす不思議な生命現象、分子進化のメカニズムの一部でも垣間見ることができるとは大いに期待しています。

*1 ペプチド…2つ以上のアミノ酸が結合した化合物。たくさん結合したものがタンパク質である。
*2 …ニシキヘビは、英語で「しめつけヘビ」とよばれる大蛇である。このニシキヘビは、網の痕跡をもっていることから、ヘビの初期段階のものといわれている。
*3 PLA₂…細胞質 PLA₂ (cPLA₂)、Ca²⁺非依存性 PLA₂ (iPLA₂)、分泌性 PLA₂ (sPLA₂) の3つに大別される。ヘビ毒中には、このうち、分泌型のsPLA₂が存在する。
*4 ネクロシス…細胞核が破壊されたり、細胞膜が破れて中身が出るなどして細胞が死ぬこと。
*5 アポトーシス…細胞自ら引き起こす細胞死で、細胞の内容物が細胞外に放出されず、細胞が萎縮する。
*6 …酵素やホルモンのような、何らかの化学反応にかかわるタンパク質を機能タンパク質という。また、コラーゲンのような、生物体の構造をつくる働きをするタンパク質を構造タンパク質という。
*7 …発現とは、遺伝子の情報をもとに機能をもつ分子（ここではタンパク質）がつくられることを指す。
*8 …BP-I、BP-II、BP-IIIはいずれもPLA₂のアイソザイムで、122個のアミノ酸が連なってできている。BP-I、BP-IIIは、BP-IIと1つだけアミノ酸が異なっている。
*9 …昨今のオミクス（生体中に存在する分子全体を網羅的に研究する学問）の一分野。その対象が遺伝子（gene）であればゲノミクス（genomics）、タンパク質（protein）であればプロテオミクス（proteomics）などとよぶ。