

ヒトデ類, ウミシダ類由来のスフィンゴ糖脂質の化学的研究

稲垣 昌宣

**Structure and Biological Activity of Glycosphingolipids
from Starfish and Feather Stars**

Masanori INAGAKI

*Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University, 3-1-1 Maidashi,
Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan*

(Received April 8, 2008)

Glycosphingolipids (GSLs) are contained in a various cell membranes and have recently been implicated in many physiologic functions. They are classified based on their sugar moieties into ceramides, cerebrosides, sulfatides, ceramide-oligohexosides, globosides, and gangliosides. A number of GSLs have been obtained from marine invertebrates such as echinoderms, poriferans, and mollusks and have unique biological activities. During the course of our search for biologically active GSLs from echinoderms, we conducted the isolation and structural elucidation of GSLs from starfish and feather stars and found numerous GSLs, some of which have unique structures. In particular, gangliosides from feather stars were unique in that the sialic acids bind to inositol-phosphoceramide. We also found that the GSLs from starfish and feather stars possess neuritogenic activity toward the rat pheochromocytoma cell line PC12, antihyperglycemic effects against type 2 diabetic BKS. Cg-m^{+/+}Lepr^{db/J} (*db/db*) mice, and antiosteoporosis effects toward the osteoporosis model mice (OVX mice). These biological activities are thought to be related to dementia, osteoporosis, and diabetes, which are becoming social problems, and are expected to become the seeds of preventive or therapeutic drugs for these illness.

Key words—glycosphingolipid; starfish; feather star; neuritogenic activity; antihyperglycemic effect; antiosteoporosis effect

1. はじめに

スフィンゴ糖脂質とは、スフィンゴシン、フィトスフィンゴシンといった長鎖塩基に高級脂肪酸が酸アミド結合した疎水性のセラミド部を基本とし、極性基として糖鎖が結合した複合脂質で、すべての脊椎動物の細胞に存在し、細胞の分化や増殖あるいは接着の調節、制御といった生体内において重要な機能に係わっている。また糖鎖中にシアル酸を有するガングリオシドはインフルエンザウイルス及び細菌毒素（コレラ毒素、ボツリヌス毒素等）の受容体をともなっている化合物である。^{1,2)}

棘皮動物は無脊椎動物の中でガングリオシドを含

有する珍しい動物種であり、特にヒトデ類、ウミシダ類は強い再生能を有し、自切・再生を頻繁に繰り返す種も見受けられる。筆者らはこの再生能に着目し、海洋医薬資源探索の一環として棘皮動物のスフィンゴ糖脂質についての化学的研究を遂行しており、これまでに多くの生物活性スフィンゴ糖脂質を分離し、その構造を明らかにするとともに生物活性についても検討を行ってきた。

本総説では筆者らがヒトデ類、ウミシダ類より得たスフィンゴ糖脂質の構造とその生物活性について紹介する。

2. ヒトデ類のスフィンゴ糖脂質の構造

棘皮動物門は動物分類学上5種の綱に分類され、そのうちヒトデ類は海星綱に属しており、海星綱はさらに頭帯目、有棘目、叉棘目の3目に分類されている (Fig. 1)。筆者らは頭帯目スナヒトデ科ヤツデスナヒトデ (*Luidia maculata*)、ホウキボシ科アオヒトデ (*Linckia laevigata*)、コブヒトデ科マン

九州大学大学院薬学研究院 (〒812-8582 福岡市東区馬出 3-1-1)

現所属：安田女子大学薬学部 (〒731-0153 広島市安佐南区安東 6-13-1)

e-mail: inagaki@yasuda-u.ac.jp

本総説は、平成19年度日本薬学会九州支部学術奨励賞の受賞を記念して記述したものである。

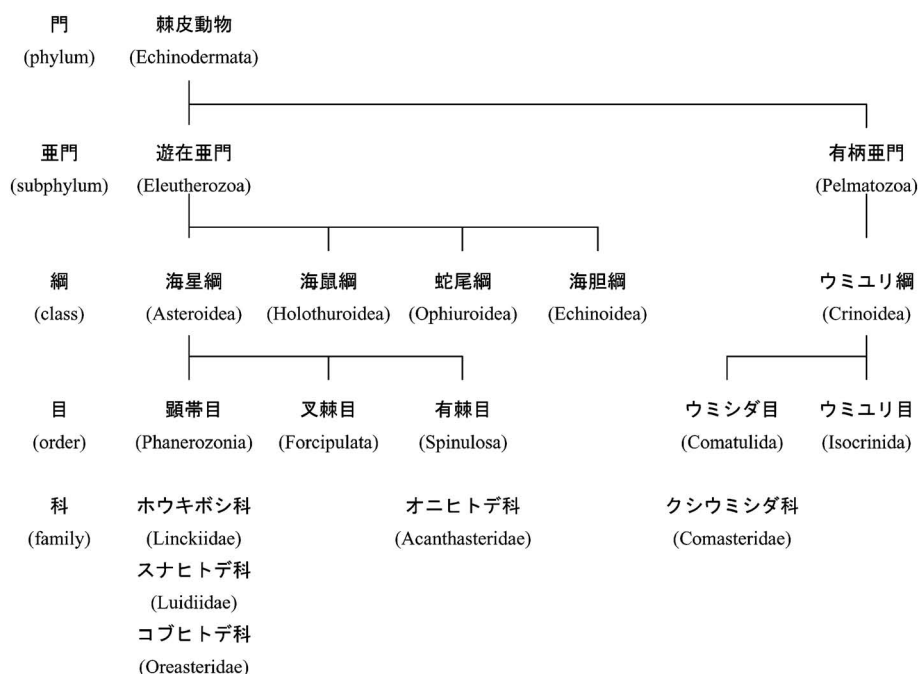


Fig. 1. Classification of Echinoderms

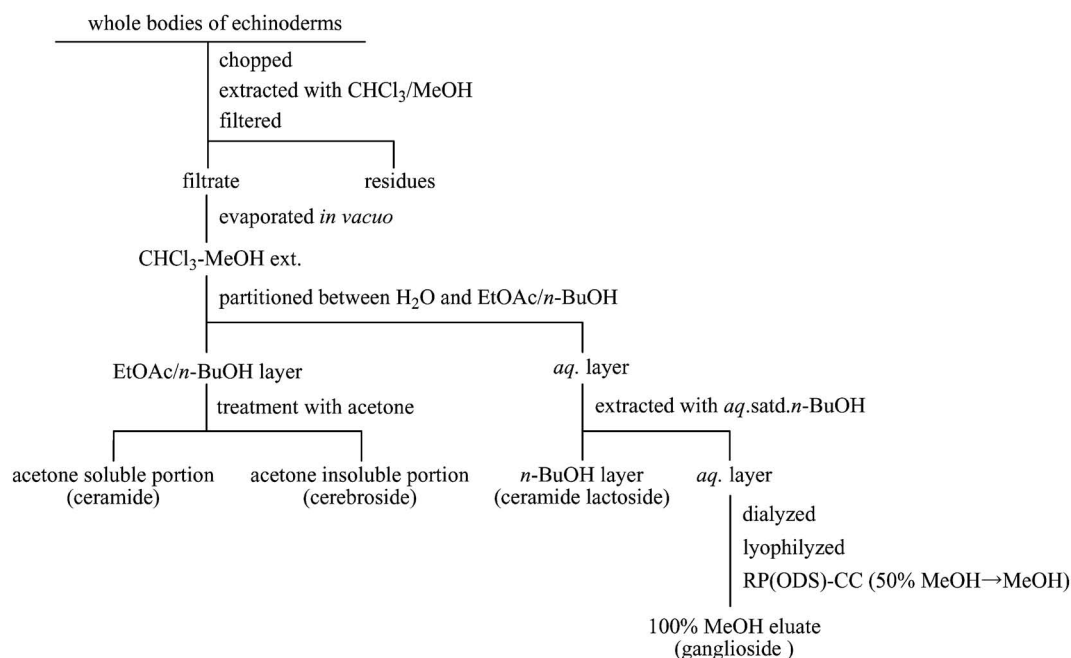


Fig. 2. Extraction and Separation of GSLs from Echinoderms

ジュウヒトデ (*Culcita novaeguineae*), 有棘目オニヒトデ科オニヒトデ (*Acanthaster planci*) について Fig. 2 に示す操作に従ってスフィンゴ糖脂質の成分検索を行った。

2-1. ヤツデスナヒトデ (*Luidia maculata*) のスフィンゴ糖脂質 スナヒトデ科のヤツデスナヒト

デは本州中部以南の砂底に生息する腕長 30 cm に達する 8 腕の大型種で、腕は脆く根元から取れ易いが再性能も強いヒトデである。福岡県博多湾にて採集されたヤツデスナヒトデより、2 種のセラミド分子種 (LMCer-1, LMCer-2),³⁾ 2 種のセレブロシド分子種 (LMC-1, LMC-2),⁴⁾ 2 種のセラミドラクト

シド分子種 (LMCDH-1, LMCDH-2),⁵⁾ 1 種のスルファチド分子種 (LMG-1),⁶⁾ 3 種のガングリオシド分子種 (LMG-2-LMG-4)⁷⁻⁹⁾ が得られた (Fig. 3). LMG-1 は棘皮動物からは初めての化合物であった. LMG-2-LMG-4 は新規ガングリオシドであり, また LMG-4 はヒトデ類からは初めての GD₃ タイプのガングリオシドであった.

2-2. アオヒトデ (*Linckia laevigata*) のスフィンゴ糖脂質 ホウキボシ科のアオヒトデはサンゴ礁域に生息する腕長 15 cm の大型のヒトデであり, その名の通り全体が青色の石灰質に覆われている. 沖縄県本部町近海にて採集したアオヒトデより 1 種のセレブロシド分子種 (LLC-2),¹⁰⁾ 3 種のガングリオシド分子種 (LLG-1, LLG-3, LLG-5)^{11,12)} が得られた (Fig. 4). LLG-1 と同様の糖鎖を有するガングリオシドは報告されているが, いずれもシアル酸が部分メチル化されており, メチル基をシアル酸部に有しない LLG-1 は新規ガングリオシドであった. LLG-3 は 2→11 タンデム結合のシアル酸部を有する 2 例目のガングリオシドであり,¹³⁾ LLG-5 はヒトデ類より初めてのトリシアロタイプのガングリオシドであった.

2-3. マンジュウヒトデ (*Culcita novaeguineae*) のスフィンゴ糖脂質 コブヒトデ科のマンジュウヒトデはサンゴ礁域に生息する直径 30 cm に達する大型のヒトデである. アオヒトデ同様に硬い石灰質に覆われているが一般的なヒトデと異なり腕足がないため, その名の通り饅頭のような外見である. 沖縄県本部町近海にて採集したマンジュウヒトデより, 1 種のガラクトセレブロシド分子種 (CNC-2) が得られた (Fig. 4).¹⁴⁾ ヒトデ由来のガラクトセレブロシドはホシヒトデ (*Stellaster equestris*)¹⁵⁾ に次いで 2 例目である. このヒトデはガングリオシドの存在は確認されるものの, 構造解析の必要量は得られなかった. 筆者らは棘皮動物のガングリオシドは再生機能に関与すると考えているが, 切断される腕足の無い種にはガングリオシドの含量が少ないのかも知れない.

2-4. オニヒトデ (*Acanthaster planci*) のスフィンゴ糖脂質 オニヒトデ科のオニヒトデはサンゴ礁域に生息する腕長 30 cm に達する大型のヒトデであり, サンゴを食害し多大な被害を与えることで悪名高い. 当研究室では以前よりオニヒトデの成分探索を行っており, 多くのサポニン^{16,17)} やセレブロ

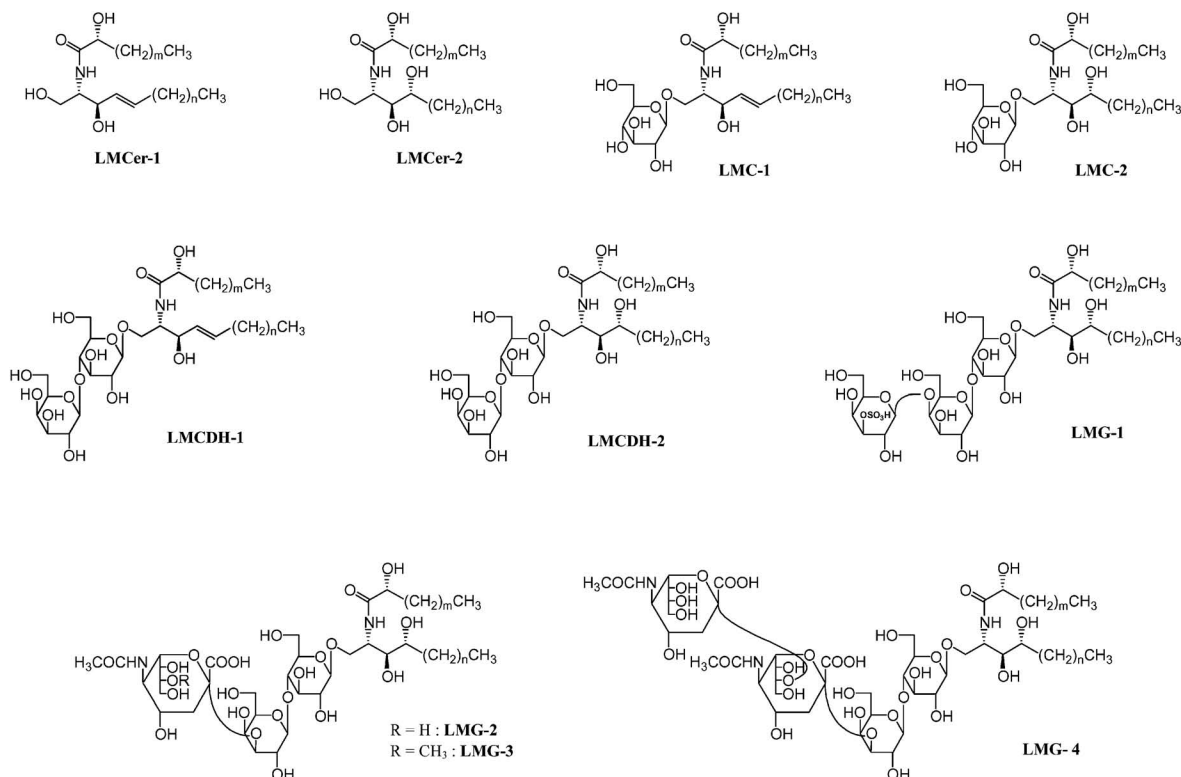


Fig. 3. GSLs from *Luidia maculata*

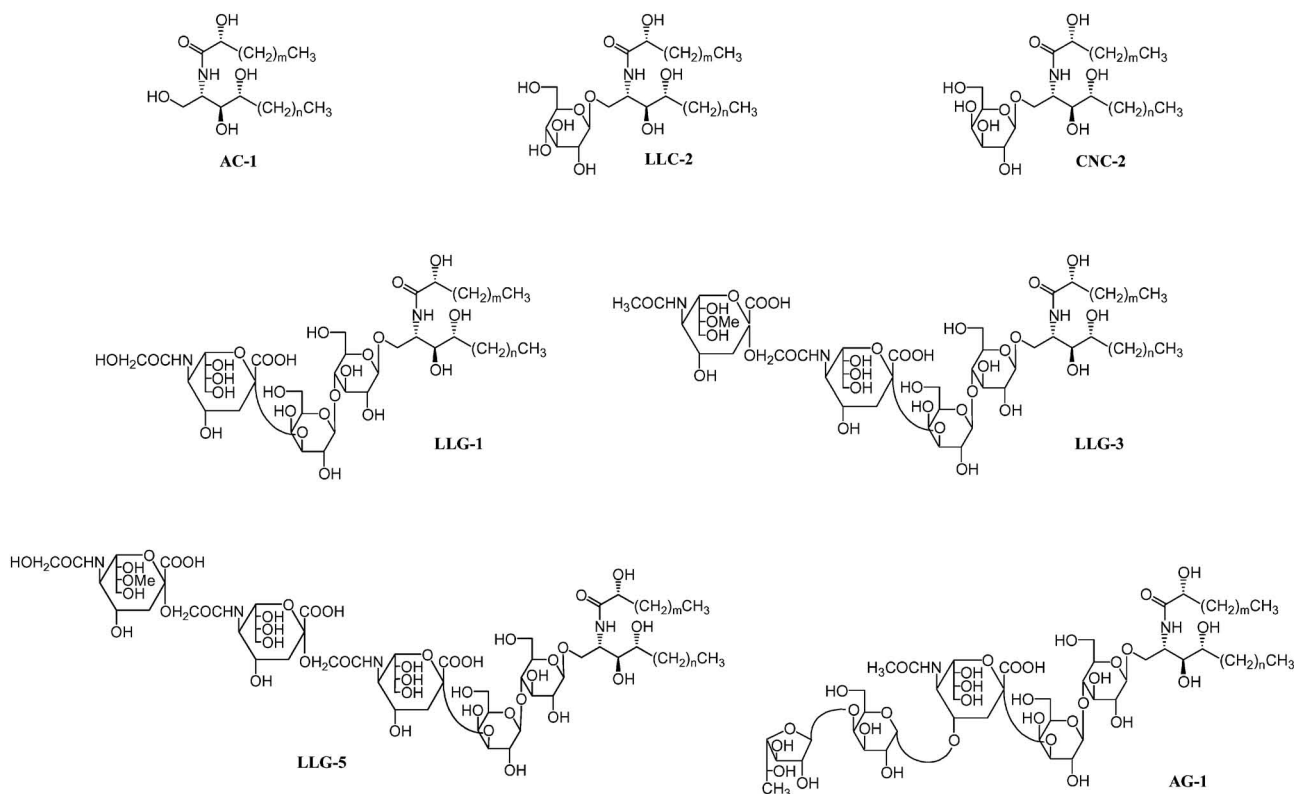


Fig. 4. GSLs from *Linckia laevigata*, *Culcita novaeguineae*, and *Acanthaster planci*

シド,¹⁸⁾ セラミドラクトシド,¹⁹⁾ ガングリオシド²⁰⁾などを報告している。今回、さらなる成分検索を企図したところ、1種のセラミド分子種 (AC-1),²¹⁾ 及び1種のガングリオシド分子種 (AG-1)²²⁾を新たに得ることができた (Fig. 4)。AG-1はセラミド部の1級水酸基にモノシアロ5糖の糖鎖を有する新規化合物であり、シアル酸が末端ではなく糖鎖中に位置している点で哺乳類ガングリオシドとは異なる珍しい例である。

3. ウミシダ類のスフィンゴ糖脂質の構造

棘皮動物門の中でもウミシダ類は亜門の段階で分岐しており、生きた化石とも言われる原始的な動物群である。ウミユリ綱は13目より構成されているが、そのうち11目は既に絶滅した化石種でありウミシダ目、ウミユリ目の2目のみが現生種とされている (Fig. 1)。筆者はこれまでにウミシダ目クシウミシダ科のニッポンウミシダ (*Comanthus japonica*)、ハナウミシダ (*Comanthina schlegeli*) についてスフィンゴ糖脂質の成分検索を行った。

3-1. ニッポンウミシダ (*Comanthus japonica*)

のスフィンゴ糖脂質 ニッポンウミシダは日本近海の岩礁に生息する一般的なウミシダで、自切し易

い約40本の羽のような腕足を有している。福岡県津屋崎町にて採集したニッポンウミシダより、1種のセラミド分子種 (JC-1),²³⁾ 1種のセレプロシド分子種 (JCer-1),²³⁾ 1種のイノシトールホスホセラミド分子種 (CSP-1),²⁴⁾ 3種のガングリオシド分子種 (CSP-2–CSP-4)^{25,26)}が得られた (Fig. 5)。これまで脊椎動物や棘皮動物より得られているガングリオシドがセラミドに結合した中性糖、アミノ糖からシアル酸が伸長するのに対し、ニッポンウミシダのガングリオシドはセラミドにリン酸を介してイノシトールが結合したイノシトールホスホセラミドを基本とし、そのイノシトールからシアル酸が伸長するという全く新しい構造であった。またシアル酸も天然からは初の報告となる9位がメチル化されたものであり、かなり特異な構造である。

3-2. ハナウミシダ (*Comanthina schlegeli*) のスフィンゴ糖脂質

ハナウミシダはサンゴ礁域に生息するウミシダで約100本以上の腕足を有している。沖縄県辺戸岬近海にて採集したハナウミシダより、2種のモノシアロガングリオシド分子種 (CJP-2, CSP-2) が得られた (Fig. 5).²⁷⁾ ニッポンウミシダ同様、イノシトールホスホセラミドを基

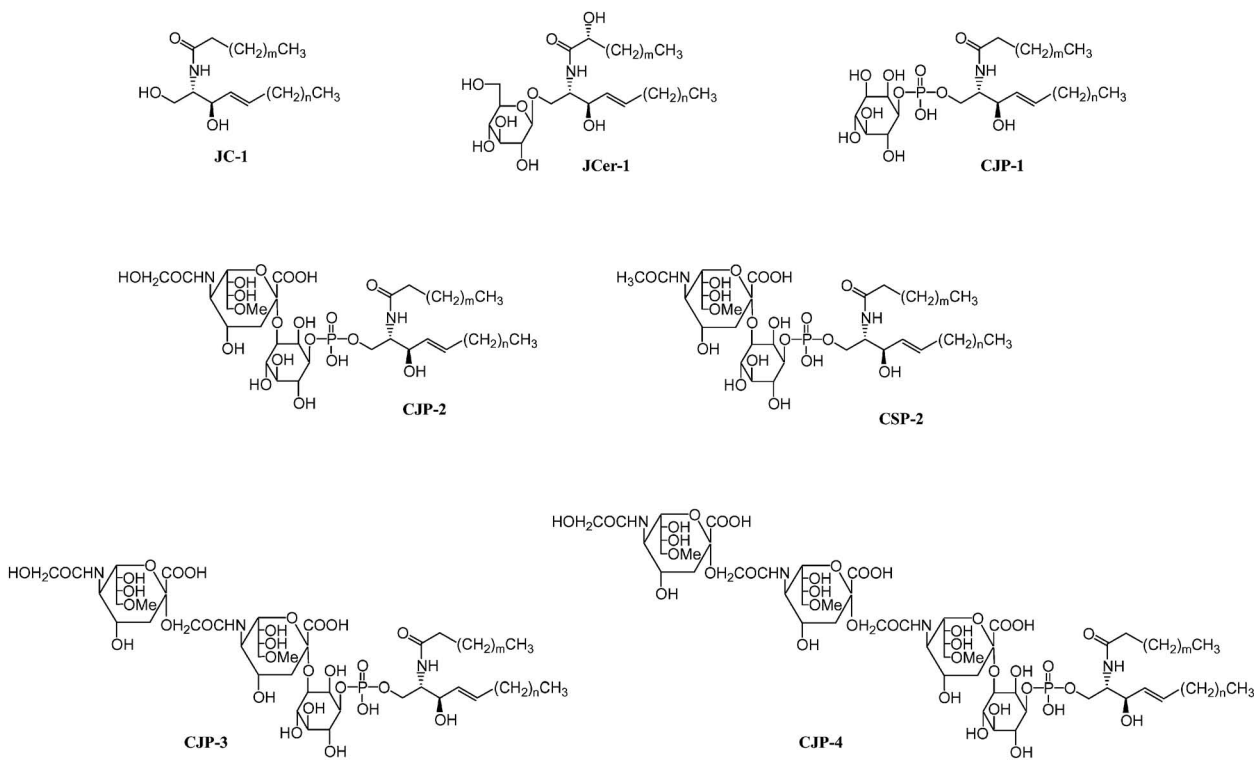


Fig. 5. GSLs from *Comanthus japonica* and *Comanthina schlegeli*

本構造とし、イノシトールに9位がメチル化されたシアル酸が結合していた。ニッポンウミシダでは構成シアル酸はN-グリコシルノイラミン酸のみであったが、ハナウミシダからはN-グリコシルノイラミン酸を有するもの(CJP-2)とN-アセチルノイラミン酸を有するもの(CSP-2)が得られた。まだ2種のウミシダからの分離に過ぎないが、亜門の段階で分岐しているウミシダ類の ganglioside はその他の棘皮動物や脊椎動物とは異なる特異な構造を共通して有することが示唆され、ケモタキソノミー的にも非常に興味深い。

4. 生物活性

4-1. 神経突起伸展作用 哺乳類の神経系に局在する ganglioside は神経突起伸展作用を有することが知られており、哺乳類由来 ganglioside GM₁ は神経疾患の治療薬として用いられている。²⁸⁾ 筆者らの研究室では哺乳類とは異なった糖鎖構造を有する棘皮動物由来 ganglioside の神経突起伸展作用について、ラット副腎髄質褐色細胞腫 PC12 を用いた活性試験を行っている。今回得られたスフィンゴ糖脂質のいくつかについて神経成長因子(NGF)とともに培地に 10 μM の濃度で添加し、細

胞体より長い突起を伸ばしている細胞の割合を求めて活性試験の結果としたところ、ヒト由来 ganglioside において GM₁ と同様又はそれ以上の活性が確認された [Fig. 6(a)].²⁹⁾ LMCDH-2, LMG-1 については活性がみられず、シアル酸が活性に関与していることが示唆された。一方、ウミシダのスフィンゴリン糖脂質については NGF 非存在下でもある程度の活性がみられ、さらにシアル酸のない CJP-1 にも活性があり、シアル酸の結合数増加による活性の変化は確認されなかった [Fig. 6(b)].²⁶⁾

4-2. 高血糖改善作用 糖尿病は高血糖状態が持続することにより、種々の疾患が併発する代謝疾患群である。これはインスリン分泌の低下、インスリン感受性の低下などが組み合わさって発症するとされており、成因分類上、1型(インスリン依存型)と2型(インスリン非依存型)に分けられる。2型は糖尿病患者の約90%を占めると言われており生活習慣に根ざした現代病ともなっている。今回、2型糖尿病モデルマウス (*db/db*) を用いて、得られたスフィンゴ糖脂質のいくつかについて高血糖改善作用について活性試験を行った。スフィンゴ糖脂質(ヤツデスナヒト由来セラミド、ganglioside

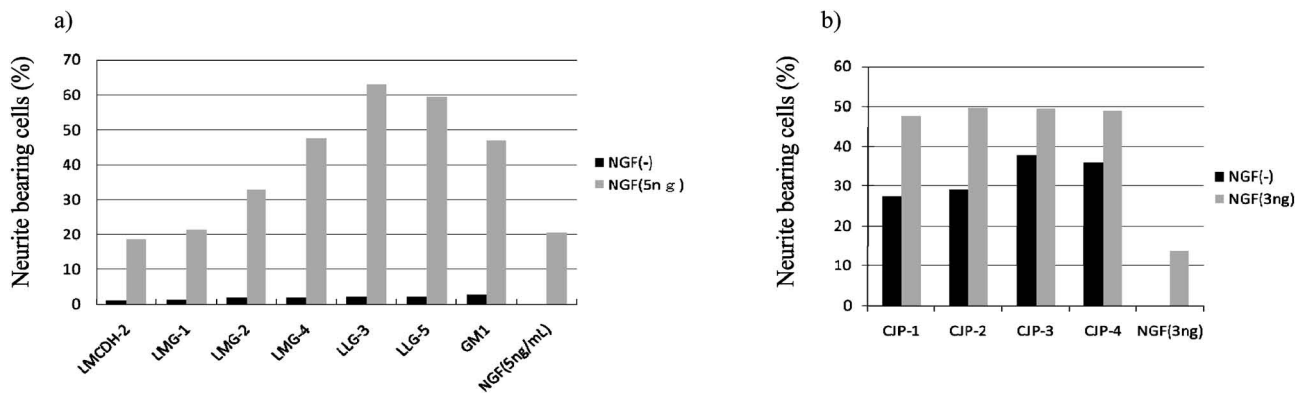


Fig. 6. Neuritogenic Activity of GSLs

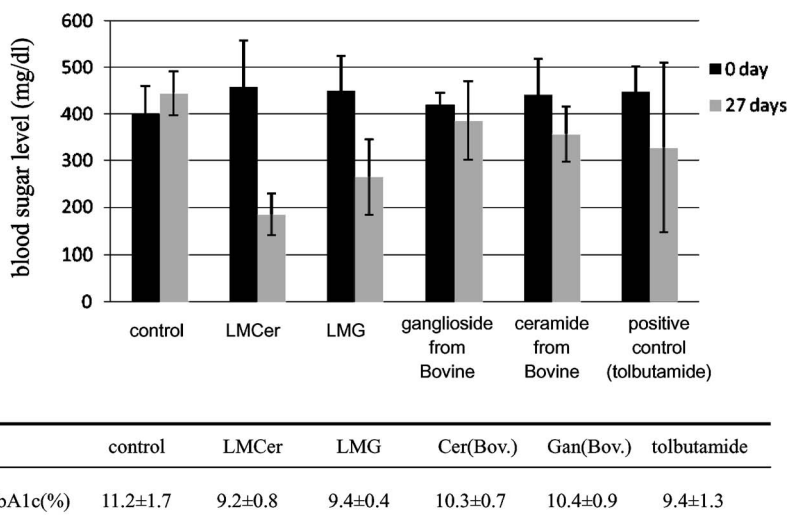


Fig. 7. Anti-hyperglycemic Effect of GSLs

及び牛脳由来セラミド、ガングリオシド)は 250 $\mu\text{g}/\text{day}$, トルブタミドは 500 $\mu\text{g}/\text{day}$ を経口投与し 27 日経過後の血糖値を比較した. その結果, 棘皮動物由来のスフィンゴ糖脂質についてトルブタミドを上回る効果が確認され, それは牛脳由来スフィンゴ糖脂質と比較しても改善していた (Fig. 7). さらに平均的な血糖状態の指標である糖化ヘモグロビン (HbA1c) についても血糖値と同様の結果が得られた (Fig. 7). 神経突起伸展作用とは異なり, シアル酸の有無は結果にそれほど影響がないため, 棘皮動物に特徴的な α -オキシ脂肪酸を構成成分とするセラミド部の違いが活性に関与していると考えられる.

4-3. 骨形成促進作用 骨形成の促進は骨組織に存在している骨芽細胞の増殖・分化の促進と, 破骨細胞の増殖・分化の抑制によって達成することが

可能である. 今回, 得られたスフィンゴ糖脂質のいくつかについて骨形成促進作用について活性試験を行った. 卵巣摘出後低カルシウム食を摂取させた骨粗鬆症モデルマウス (OVX マウス) について, サンプル 2 μg を 14 日間尾静脈より静注し, 骨密度 (bone mineral density; BMD) の変化を擬手術 (sham) に対する差として計測したところ, 棘皮動物由来スフィンゴ糖脂質に骨密度減少抑制作用が確認された [Fig. 8 (a)]. 破骨細胞及び骨芽細胞のコロニーアッセイにより, この結果は破骨細胞の抑制 [Fig. 8 (b)] と骨芽細胞の促進 [Fig. 8 (c)] によるものと考えられる. 神経突起伸展作用と同様にシアル酸を有する化合物が高活性である傾向がみられた.

5. おわりに

近年, 測定機器の進歩により微量成分であるスフィンゴ糖脂質の分離・構造決定が比較的容易となっ

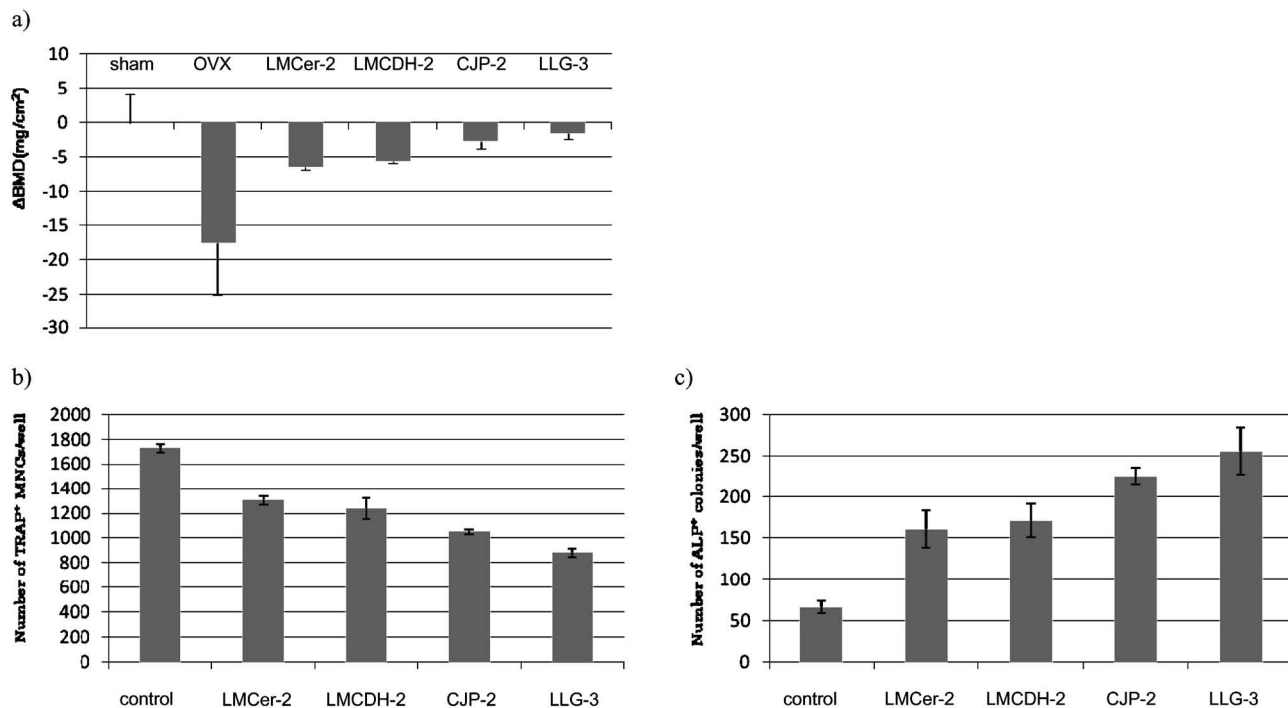


Fig. 8. Anti-osteoporosis Effect of GSLs

b) Inhibition of the osteoclast, c) Promotion of the osteogenic cell.

てきた。一方、棘皮動物の種類は約 6000 種とも言われ、これからさらに新奇な構造を有するスフィンゴ糖脂質の発見が期待される。

今回検討した生物活性は、社会的にも問題となっている痴呆症、骨粗鬆症、糖尿病といった現代病に関連するものであり、棘皮動物由来スフィンゴ糖脂質にこのような疾病に対する改善薬、治療薬のシーズとしての可能性を見い出せたと考えている。今後、作用機序、構造活性相関などのさらなる検討を行いたい。

謝辞 本研究は九州大学大学院薬学研究院医薬資源探索学分野において行われたものであり、終始懇切な御指導、御鞭撻を賜りました九州大学大学院薬学研究院・樋口隆一教授に衷心より感謝いたします。また、本研究の全般に渡り御助言、御協力を頂きました九州大学大学院薬学研究院・宮本智文准教授に心より感謝いたします。また、多くの御協力を頂きました長崎大学医歯薬総合研究科・山田耕史准教授、機器スペクトルの測定に御協力頂きました東和大学医療電子工学科・磯部隆一教授、元九州大学大学院薬学研究院・田中彬嗣助手、元九州大学大学院薬学研究院・添田恭子技官、九州大学大学院薬学

研究院・関多恵美技官に厚く御礼申し上げます。また、活性評価にご協力頂きました森永乳業㈱・生物科学研究所の諸氏に深謝いたします。さらに本研究の遂行に当たり多大な御協力を頂きました九州大学大学院薬学研究院医薬資源探索学分野の諸氏をはじめ、多くの共同研究者の方々に深く感謝いたします。なお、本研究の一部は文部科学省科学研究費補助金、日本学術振興会科学研究費補助金の助成により行われたものであり、併せて感謝いたします。

REFERENCES

- 1) Reed R. A., Mattari J., Shiley G. G., *Biochemistry*, **26** (3), 824–832 (1987).
- 2) Kitamura M., Iwamori M., Nagai Y., *Biochim. Biophys. Acta.*, **628** (3), 328–335 (1980).
- 3) Inagaki M., Ikeda Y., Kawatake S., Nakamura K., Tanaka M., Misawa E., Yamada M., Higuchi R., *Chem. Pharm. Bull.*, **54** (12), 1647–1649 (2006).
- 4) Kawatake S., Nakamura K., Inagaki M., Higuchi R., *Chem. Pharm. Bull.*, **50** (8), 1091–1096 (2002).
- 5) Inagaki M., Nakamura K., Kawatake S.,

- Higuchi R., *Eur. J. Org. Chem.*, **2003**, 325–331.
- 6) Kawatake S., Inagaki M., Isobe R., Miyamoto T., Higuchi R., *Liebigs Ann.*, **1997**, 1797–1800.
- 7) Kawatake S., Inagaki M., Isobe R., Miyamoto T., Higuchi R., *Eur. J. Org. Chem.*, **1999**, 765–769.
- 8) Kawatake S., Inagaki M., Isobe R., Miyamoto T., Higuchi R., *Chem. Pharm. Bull.*, **50**(10), 1386–1389 (2002).
- 9) Kawatake S., Inagaki M., Isobe R., Miyamoto T., Higuchi R., *Chem. Pharm. Bull.*, **52**(8), 1002–1004 (2004).
- 10) Maruta T., Saito T., Inagaki M., Shibata O., Higuchi R., *Chem. Pharm. Bull.*, **53**(10), 1255–1258 (2005).
- 11) Inagaki M., Isobe R., Higuchi R., *Eur. J. Org. Chem.*, **1999**, 771–774.
- 12) Inagaki M., Miyamoto T., Isobe R., Higuchi R., *Chem. Pharm. Bull.*, **53**(12), 1551–1554 (2005).
- 13) Smirnova G. P., Kochetokov N. K., Sadovskaya V. L., *Biochim. Biophys. Acta.*, **1987**, 47–55.
- 14) Inagaki M., Nakata T., Higuchi R., *Chem. Pharm. Bull.*, **54**(2), 260–261 (2006).
- 15) Higuchi R., Harano Y., Mitsuyuki M., Isobe R., Yamada K., Miyamoto T., Komori T., *Liebigs Ann. Chem.*, **1996**, 593–599.
- 16) Komori T., Matsuo J., Itakura Y., Sakamoto K., Ito Y., Taguchi S., Kawasaki T., *Liebigs Ann. Chem.*, **1983**, 24–36.
- 17) Komori T., Nanri H., Itakura Y., Sakamoto K., Taguchi S., Higuchi R., Kawasaki T., Higuchi T., *Liebigs Ann. Chem.*, **1983**, 37–55.
- 18) Kawano Y., Higuchi R., Isobe R., Komori T., *Liebigs Ann. Chem.*, **1988**, 19–24.
- 19) Kawano Y., Higuchi R., Isobe R., Komori T., *Liebigs Ann. Chem.*, **1988**, 1181–1183.
- 20) Kawano Y., Higuchi R., Komori T., *Liebigs Ann. Chem.*, **1990**, 43–50.
- 21) Inagaki M., Isobe R., Kawano Y., Miyamoto T., Komori T., Higuchi R., *Eur. J. Org. Chem.*, **1998**, 129–131.
- 22) Miyamoto T., Yamamoto A., Wakabayashi M., Nagaregawa Y., Inagaki M., Higuchi R., Iha M., Teruya K., *Eur. J. Org. Chem.*, **2000**, 2295–2301.
- 23) Inagaki M., Oyama A., Arao K., Higuchi R., *Chem. Pharm. Bull.*, **52**(11), 1307–1311 (2004).
- 24) Arao K., Inagaki M., Higuchi R., *Chem. Pharm. Bull.*, **47**(5), 687–689 (1999).
- 25) Arao K., Inagaki M., Higuchi R., *Chem. Pharm. Bull.*, **49**(6), 695–698 (2001).
- 26) Arao K., Inagaki M., Miyamoto T., Higuchi R., *Chem. Pharm. Bull.*, **52**(9), 1140–1142 (2004).
- 27) Inagaki M., Shiizaki M., Hiwatashi T., Miyamoto T., Higuchi R., *Chem. Pharm. Bull.*, **55**(11), 1649–1651 (2007).
- 28) Geisler F. H., Dorsey F. C., Coleman W. P., *N. Engl. J. Med.*, **324**, 1885–1887 (1991).
- 29) Kaneko M., Yamada K., Miyamoto T., Inagaki M., Higuchi R., *Chem. Pharm. Bull.*, **55**(3), 462–463 (2007).