

## 糖鎖の複雑化を調節する仕組みを発見 バイセクト糖鎖がブレーキ役

岐阜大学研究推進・社会連携機構 生命の鎖統合研究センター（G-CHAIN）の木塚康彦准教授のグループは、広島大学大学院統合生命科学研究所の中ノ三弥子准教授らとの共同研究で、細胞内で複雑な形を持つ糖鎖が作られる仕組みの一端を明らかにしました。

本研究成果は、日本時間 2019 年 8 月 2 日に米国の国際誌 Molecular and Cellular Proteomics 誌のオンライン版で発表されました。

### 【発表のポイント】

- ・タンパク質に付いている糖鎖の形は複雑で、細胞内で糖鎖が作り上げられる仕組みはよくわかっていない。
- ・糖鎖がいったんバイセクト型という形になると、それ以上複雑な形になりにくくなる。
- ・バイセクト型の糖鎖は、複雑な糖鎖を作りにくくするブレーキ役として働いている。
- ・バイセクト型の糖鎖は、アルツハイマー病やがんの進行に関わることから、これらの疾患の発症や進行の仕組みの解明につながることで期待される。

### 【概要】

糖鎖<sup>1)</sup>とは、ブドウ糖などの糖（動物では約 10 種類の糖が存在）が鎖状につながったもので、タンパク質や脂質などに結合して存在しています。動物では、半数以上のタンパク質に糖鎖が付いています。タンパク質に付いた糖鎖の形は複雑で、タンパク質ごとに糖鎖の形が異なることが知られています。さらに、同じタンパク質でも細胞の種類や疾患などに応じて糖鎖の形が変化することから、がんなどの疾患のバイオマーカー<sup>2)</sup>として糖鎖が臨床で用いられています。

糖鎖は、糖鎖を作る酵素（糖転移酵素<sup>3)</sup>）の働きによって細胞の中で作られます。糖転移酵素は約 180 種類が知られていますが、細胞の中でこれらの酵素の働きがどのように調節されて、複雑な糖鎖がどのように作られるのかはあまりよくわかっていません。今回、タンパク質に付いた糖鎖がいったんバイセクト型<sup>4)</sup>という特定の形になると、それ以降の糖鎖の伸長や修飾があまり起きなくなることがわかりました。バイセクト型の糖鎖を欠損したマウスでは、通常のマウスよりも複雑な形やよく伸びた形の糖鎖が増えていたことから、バイセクト糖鎖は、糖鎖全体の生合成を抑える作用があることが明らかになりました。バイセクト糖鎖はアルツハイマー病やがんの進展と深い関係があることから、今回の発見はこれらの疾患の発症機構を知る上でも重要な知見になると考えられます。

### 【研究内容】

タンパク質に付いている糖鎖には様々な形のものがあり、タンパク質ごとに形が異なります。また疾患や刺激に応じて糖鎖の形は変化します。こうした糖鎖の変化は、CA19-9 などのバイオマーカーとして実際に医療の現場でがんの診断などに使われています。また、マウスにおいて特定の形の糖鎖をなくしたり増やしたりすると、アルツハイマー病、がん、糖尿病、COPD(慢性閉塞性肺疾患)<sup>5)</sup>といった疾患に似た症状を引き起こしたり、これらの病態を改善させることが知られています。このように、様々な形の糖鎖が体で働いており、その量や形が変化することが疾患に深く関わるということがわかっています。

一方で、複雑な形の糖鎖が、タンパク質の種類や疾患に応じてどのようにして作られるのか、その詳細な仕組みはまだあまりよくわかっていません。タンパク質に付いている糖鎖の形のバリエーションは、特に枝分かれの本数や、末端にできる様々な構造の有無によって生じます（図 1A）。これらの糖鎖は、細胞の中で

糖転移酵素と呼ばれる酵素の働きによって作られます。糖転移酵素は 180 種類ほどが存在しており、それらの酵素のうちいくつかの働きによって個々の糖鎖が作られていきます(図 1B)。しかし、ほぼ全ての酵素の存在自体は明らかになりましたが、個々の酵素の活性が細胞の中でどのように調節され、特定の形の糖鎖がどのように作り上げられているのか、詳細は全くわかっていません。

木塚准教授らは、枝分かれした糖鎖の構造の一つであるバイセクト糖鎖に着目しました。バイセクト糖鎖は脳に豊富に存在しており、GnT-III<sup>9)</sup>と呼ばれる糖転移酵素によって作られます(図 2)。木塚准教授らの以前の研究から、バイセクト糖鎖を欠損したマウスでは、アルツハイマー病の原因となる老人斑<sup>7)</sup>が減少し、短期記憶能力が改善することがわかっています。また人間においても、アルツハイマー病患者の脳では GnT-III の量が増えていることから、バイセクト糖鎖はアルツハイマー病の進行に深く関わると考えられています。また最近では、肝臓がんや卵巣がんなどいくつかのがんで GnT-III の量が異常に増え、悪性度や予後の悪さと相関することも報告されており、バイセクト糖鎖ががんとも関係があることがわかってきています。また逆にメラノーマではバイセクト糖鎖が転移を抑える働きがあることも報告されています。

このように、バイセクト糖鎖と疾患との関わりが明らかになってきた一方で、正常な組織で GnT-III やバイセクト糖鎖がどのような役割を持つのかはよくわかっていません。

以前の生化学的な研究から、GnT-III によってバイセクト糖鎖が作られると、糖鎖に枝分かれを作る他の酵素が働きにくくなることわかっていました。このことから、バイセクト糖鎖は糖鎖全体の枝分かれの数を少なくする働きがあると示唆されていました。そこで木塚准教授らは、バイセクト糖鎖がより広く糖鎖全体の形の複雑さを決めるのに関わるのではないかと仮説を立てました。それを検証するため、GnT-III を欠損したマウスの脳の糖鎖の形を、質量分析<sup>8)</sup>という手法で網羅的に解析するグライコムクス<sup>9)</sup>を行いました。

その結果、GnT-III を欠損したマウスの脳では、バイセクト糖鎖が完全になくなり、糖鎖の末端に存在するシアル酸<sup>10)</sup>、フコース<sup>11)</sup>、HNK-1 (human natural killer-1)<sup>12)</sup>といった特徴的な構造の量が大きく増えていることがわかりました(図 3)。このことから、バイセクト糖鎖が存在すると、こうした糖鎖の末端の構造があまり作られなくなると考えられます。シアル酸、フコース、HNK-1 とい

図 1. タンパク質に付いた糖鎖のバリエーション

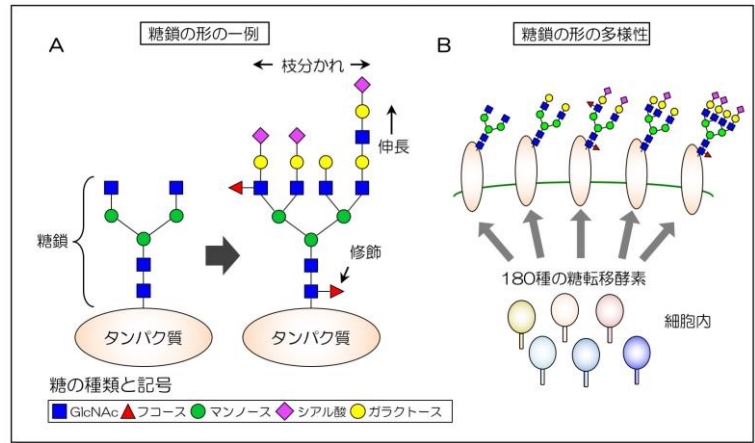


図 2. GnT-IIIが作るバイセクト糖鎖

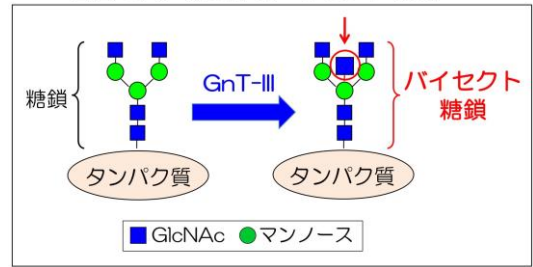


図 3. GnT-III欠損マウスにおける末端の糖鎖構造の増加

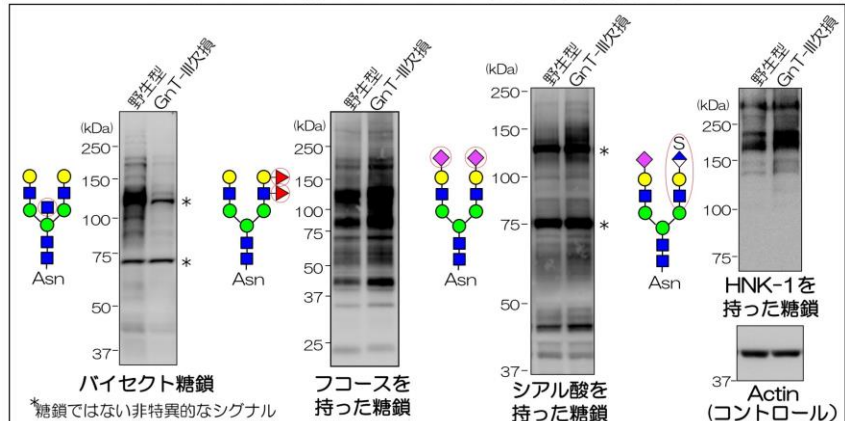
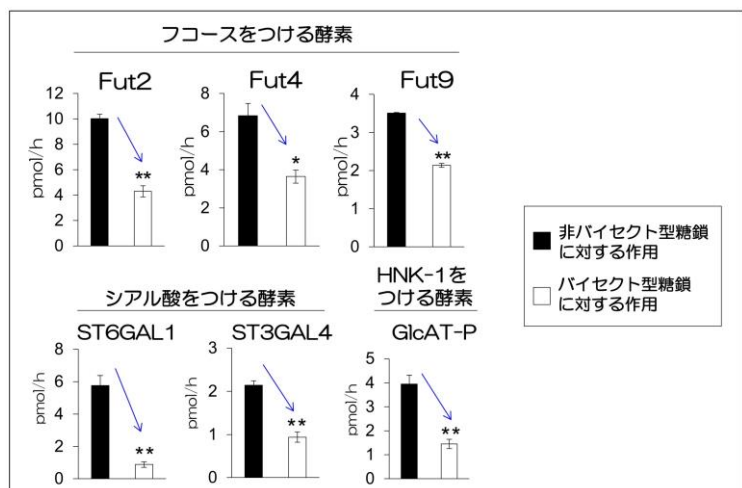


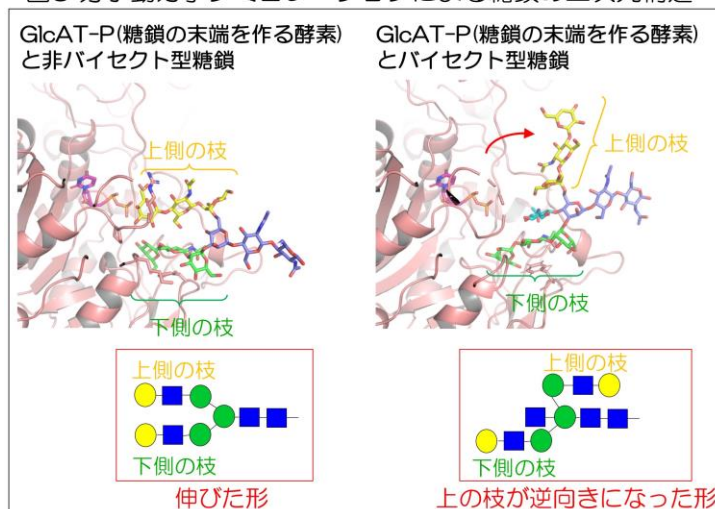
図 4. 糖鎖の末端部分を作る酵素の活性



た糖鎖の末端構造は、脳において記憶・学習能力や統合失調症などの神経疾患に深く関わる事が知られており、バイセクト糖鎖はこれらの末端構造の量を減少させることで記憶学習や神経疾患に関わる可能性を示唆しています。

次に、なぜバイセクト型の糖鎖になると末端構造が減少するのかを調べました。その結果、シアル酸、フコース、HNK-1といった末端の構造を作る糖転移酵素の活性をいくつかの糖鎖に対して測定したところ、どの酵素も共通してバイセクト型の糖鎖に対して働きにくいことがわかりました(図4)。その理由として、バイセクト型の糖鎖は、バイセクト型ではない形の糖鎖と比べると、糖鎖の1本の枝が反対側に向いてしまい、その結果、糖鎖の末端に働く酵素が作用しにくくなる事が分子動力学シミュレーション<sup>13)</sup>という方法で明らかになりました(図5)。

図5 分子動力学シミュレーションによる糖鎖の三次元構造



その理由として、バイセクト型の糖鎖は、バイセクト型ではない形の糖鎖と比べると、糖鎖の1本の枝が反対側に向いてしまい、その結果、糖鎖の末端に働く酵素が作用しにくくなる事が分子動力学シミュレーション<sup>13)</sup>という方法で明らかになりました(図5)。

#### 【今後の展開】

以上の結果から、バイセクト糖鎖は、糖鎖全体の生成、特に糖鎖の末端構造が作られるのを抑えるブレーキ役として働いていることがわかりました。このような、糖鎖全体の合成を調節する働きのある糖鎖の部分構造はこれまで他に知られておらず、バイセクト型の糖鎖に特有の働きであると考えられます。このことは、バイセクト糖鎖の量が増えるアルツハイマー病やがんなどの疾患では、バイセクト糖鎖が増えるだけでなく、糖鎖全体の形が大きく変わることを示唆しています。これらの知見は、複雑な糖鎖が作られる仕組みの一端を解明したことに加え、バイセクト糖鎖が関わるアルツハイマー病やがんなどの発症や進行のメカニズムを理解する上でも重要であると考えられます。

#### 【論文情報】

雑誌名：Molecular and Cellular Proteomics

タイトル：Bisecting GlcNAc is a general suppressor of terminal modification of N-glycan

著者：Miyako Nakano, Sushil K. Mishra, Yuko Tokoro, Keiko Sato, Kazuki Nakajima, Yoshiaki Yamaguchi, Naoyuki Taniguchi, Yasuhiko Kizuka

論文公開URL：https://doi.org/10.1074/mcp.RA119.001534

#### 【用語解説】

- 1) 糖鎖：グルコース(ブドウ糖)などの糖が鎖状につながった物質。遊離の状態が存在するものもあれば、タンパク質や脂質に結合した状態のものもある。デンプン、グリコーゲンなどの多糖は数多くの糖がつながり、糖鎖だけで遊離の状態が存在する。一方タンパク質に結合したものは、数個から20個程度の糖がつながったものが多い。
- 2) バイオマーカー：体液中などにおける存在量が疾患の有無や進行度の指標となるような生体物質。糖鎖も、がんなどのバイオマーカーとして用いられる。
- 3) 糖転移酵素：糖鎖を合成する酵素のことで、ヒトでは180種類程度存在することが知られている。主に、細胞の中のゴルジ体と呼ばれる小器官に存在している。
- 4) バイセクト(型)糖鎖：枝分かれした糖鎖の形の1つ。中央部のマンノース(緑丸)にN-アセチルグルコサミン(GlcNAc)(青四角)の枝分かれがある形のことで、GnT-IIIの働きによって作られる。
- 5) COPD：肺気腫や慢性気管支炎の総称。気道の閉塞による呼吸困難を引き起こす。世界保健機関(WHO)によれば、2030年までに世界の死亡原因の3位を占めるようになると推定されている。COPDはChronic Obstructive Pulmonary Diseaseの略。
- 6) GnT-III：糖鎖を合成する酵素(糖転移酵素)の1つ。N-アセチルグルコサミン(GlcNAc)転移酵素IIIとも呼ばれ、バイセクト糖鎖を細胞内で合成する。体の組織の中では脳にもっとも多く含まれており、ア

ルツハイマー病患者の脳で、GnT-IIIの量が増加していることが報告されている。

- 7) 老人斑：アルツハイマー病発症の原因と考えられているAβペプチドが脳に凝集した構造体のこと。Aβペプチドは、凝集しやすい性質を持ち、APPと呼ばれる前駆体タンパク質が2段階の切断を受けることによって作られる。
- 8) 質量分析(MS)：分子をイオン化し、質量によって分離することで分子の質量を知る分析法。目的とする分子をさらに断片化させた質量も得ることができ、これらの情報から、含まれる分子の構造や種類の同定にも用いられる。糖鎖の形を信頼性を持って決定するのに世界中で用いられる。MSとは Mass Spectrometry の略。
- 9) グライコミクス：試料中に含まれるできる限り多くの種類の糖鎖を検出し、個々の糖鎖が各試料にどれだけ含まれているかを調べる方法。グライコ(英語で糖鎖を意味するGlyco)と網羅的な解析法を意味するオミクス(omics)を合わせた言葉。
- 10) シアル酸：酸性の糖(紫菱形)で、動物の糖鎖の末端に存在する。インフルエンザウイルスが感染するときの目印になっていることがよく知られている。
- 11) フコース：動物の糖鎖の構成成分の糖の一つ(赤三角)。フコースを持つ糖鎖は、血液型として広く用いられるほか、がん、炎症、COPDなどの発症や進展にも深く関わっている。
- 12) HNK-1：糖鎖の末端構造の一つで、神経系に特異的に存在する。記憶や学習能力に不可欠であることが知られている。
- 13) 分子動力学シミュレーション：Molecular Dynamics (MD)計算とも呼ばれ、分子や原子の動きを計算によって予測する方法。

#### 【研究支援】

本研究は、文部科学省の卓越研究員制度の支援を受けて行われました。

#### 【本件に関する問い合わせ先】

<研究に関すること>

岐阜大学研究推進・社会連携機構 生命の鎖統合研究センター 准教授 木塚 康彦

電話：058-293-3356

E-mail：kizuka@gifu-u.ac.jp

広島大学大学院統合生命科学研究科生物工学プログラム 准教授 中ノ 三弥子

電話：082-424-4539

E-mail：minakano@hiroshima-u.ac.jp

<報道担当>

岐阜大学総合企画部総務課広報係

電話：058-293-3377

E-mail：kohositu@gifu-u.ac.jp

広島大学 財務・総務室 広報部

電話：082-424-3749

E-mail：koho@office.hiroshima-u.ac.jp