「糖鎖生物学の進歩と工学的応用」特集

糖鎖生物学の進歩と工学的応用 一総論—

久保田 俊一郎

1. はじめに

最近、糖鎖工学、糖質工学、糖鎖生物学などの名称が盛んに用いられ始めた。科学技術庁や農水省を中心とする国家的糖鎖工学研究プロジェクトもスタートし、糖鎖生物学の研究は、90年代の生命科学研究の中心的役割を果たすことが期待される。この時期に本特集が企画されたことは、まことにタイムリーと言える。筆者の研究対象は、細胞の増殖、癌化、癌の転移、細胞接着、腫瘍マーカーであり、いずれも糖鎖生物学の観点からのアプローチが重要と考えられる研究対象ばかりである。たとえば細胞の癌化に伴って正常とは異なる糖鎖構造が発現する。このような異常な糖鎖の一部は癌患者の血清中に見い出される。この糖鎖に対する特異的なモノクローナル抗体を作製できれば、異常糖鎖は腫瘍マーカーとして、癌の血清診断が可能となる。既にいくつかの糖鎖性腫瘍マーカーが臨床医学で実用化されている。糖鎖の生合成を担うのが糖転移酵素であり、成松により「糖転移酵素遺伝子研究の最近の進歩」で詳述される。糖脂質の1つで、癌抗原であるガングリオシドは、細胞接着、さらに細胞間の情報伝達に重要な役割を果たしていることが明らかとなりつつあり注目されている。このガングリオシドを認識するモノクローナル抗体に関しては、渡来により詳述される。癌の転移は複雑な過程を経て成立するが、そのうち最も重要な過程が血管基底膜を通過する過程である。この基底膜の構成成分の1つであるプロテオグリカン、これまで他の構成成分同様、細胞外あるいは細胞間に存在する単なる構造物質と考えられてきた。しかし、最近、他の構成成分(ラミニン)同様、プロテオグリカンも、細胞の接着、増殖、分化に密接に関与する可能性が指摘されている。このプロテオグリカンの脳にお

ける構造多様性、形態形成への関与については大平により詳述される。新規の糖鎖の発見あるいは機能解析には、新しい分析法の開発あるいはアプローチがぜひとも必要である。オリゴ糖の高感度で簡便な構造解析法であるポリジルアミノ化法が長谷により詳述される。天然の複合糖質の機能解析をタンパク質を合成高分子に置換することにより行おうとするユニークなアプローチについては、小林により詳述される。このようにこの分野の一線の研究による糖鎖生物学の最近の進歩さらに工学的応用が各論で詳述される。従って本総論では糖鎖生物学の現状の概説と各論で採り上げられなかった課題について論じたい。

2. 糖鎖生物学とは何か

本特集の読者が必ずしも「糖」の専門家ではないと考え、まず糖鎖について簡単に紹介する。グルコースやフラクトースのような構成単位が1つの糖が単糖で、数個の構成単位から成る糖が少糖(オリゴ糖)、数個以上の構成単位から成る糖が多糖である。単糖、オリゴ糖、多糖を一括して糖質と呼ぶ。二糖以上の糖質において、糖(糖残基)の種類及び配列が糖鎖である。我々に最も馴染みのあるABO型の血液型を決定しているのは赤血球の細胞膜上の糖タンパク質の糖鎖である。A型、B型、O型の多様性は1つの糖残基の違いにより出現する。O型赤血球上にあるH抗原の糖鎖にN-アセチルグルコサミンが付加されたのがA型抗原で、ガラクトースが付加されるとB型抗原となる。糖鎖は、この血液型にみられる個体特異性を決定するのみならず、細胞特異性決定にも重要な役割を果たしている。言い換えると糖鎖は、細胞間コミュニケーションの鍵となる物質である。細胞間コミュニケーションが基本にある生命現象には、発生、

Recent Advances in Glycobiology

筆者紹介 SHUNICHIRO KUBOTA

Department of Physiological Chemistry and Nutrition, Faculty of Medicine, The University of Tokyo

東京大学医学部栄養学講座 助教授、医学博士

筆者は、細胞の増殖、癌化、癌の転移、細胞接着などの観点から糖鎖生物学に関心をもたれて研究に取り組んでおられる。本特集号の総論を引き受けていただいた。

分化, 細胞の接着, 増殖, 癌化, 癌の転移, 免疫等があり, 糖鎖生物学は, 糖鎖の観点から, これらの基本課題を扱うものである。さらに応用的課題として, 疾患の診断, また医薬品の開発, 人工臓器を含めた疾患の治療および予防が挙げられる。

現代生命科学の研究において, タンパク質, 核酸研究に匹敵する基盤を獲得した糖鎖生物学の問題点を哲学的に論じた, この分野の先導者である永井克孝の優れた特別寄稿文¹⁾を熟読されることをお勧めする。

3. 糖鎖生物学の現状と展望

3.1 糖鎖生物学—分子生物学的アプローチ

糖鎖の構造および機能の解明を糖鎖の生合成にあずかる糖転移酵素の遺伝子解析を出発点とする。詳細は各論に譲るが, 現在以下の酵素がクローニングされている。(a)種々の糖鎖の非還元末端にガラクトースを転移するガラクトース転移酵素²⁾。(b)糖タンパク質糖鎖のうちN-グリコシド型糖鎖あるいはO-グリコシド型糖鎖にシアル酸を転移するシアル酸転移酵素³⁾。シアル酸は種々の生物現象に関与すると考えられており, シアル酸転移酵素のクローニングは, 炎症性疾患, 癌の診断及び治療を含め多くの応用的課題に繋がると期待される。(c)ABO式血液型決定に関与するA転移酵素及びB転移酵素⁴⁾。

3.2 糖鎖がその機能発現に重要な役割を果たす生理活性物質

(a)エリスロポイエチン⁵⁾

赤血球系前駆細胞の分化を促進する糖タンパク質であるエリスロポイエチンは糖鎖含量が高く, 糖鎖機能と生物活性に密接な関係があったため糖鎖研究が精力的になされた。その結果, 先端糖鎖部分はエリスロポイエチンの体内滞留時間を決定することが, また分岐糖鎖部分がエリスロポイエチンの標的細胞へのホーミング活性を担っていることが, さらにコア糖鎖部分がエリスロポイエチンの活性構造の保持に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。こうして得られた情報は, 他の糖タンパク質の作用機構の解明に, さらに糖鎖工学的応用に大いに役立つと期待される。

(b)組織性プラスミノゲンアクチベーター⁶⁾

組織性プラスミノゲンアクチベーター (t-PA) は, プラスミノゲンを活性型のプラスミンに変換する血液凝固・線溶系のプロテアーゼであり, 臨床医学で血栓溶解剤として実用化されている。t-PAには, アスパラギン結合型糖鎖が3ヶ所に結合し⁷⁾, t-PAの体内動態に関与している。

(c)サイトカイン

サイトカインの1つであるIL-5の生物活性 (抗体産

生誘導能) が, アスパラギン結合型糖鎖を除去すると上昇することが示された⁸⁾。この機序としてIL-5とその受容体との親和性上昇が考えられている。

エリスロポイエチン, 組織性プラスミノゲン, サイトカイン等の生物活性と糖鎖の関連についての情報が蓄積されると以下のような応用が可能となろう。臨床応用の用途あるいは症状に応じて, 活性の強弱, 半減期の長短さらには臓器選択性等をデザインし, 夢の医薬品の開発が可能となる。

3.3 細胞接着に関する糖鎖

(a)癌の転移と糖鎖

癌は転移するために治療が困難となるため, 転移を予知するマーカーさらに癌転移予防薬の開発が望まれている。このような癌の進展に伴って増大するマーカーとして, シアリルルイスX抗原が挙げられる⁹⁾。今後, 転移の予知, 治療につながる, 糖鎖が直接あるいは間接的に関与する新たな分子の同定が望まれる。

癌診断の糖鎖性腫瘍マーカーは既に実用化されており, このうち代表的なものが, 癌胎児性抗原 (CEA) と糖鎖抗原19-9 (CA19-9) である。CEAは分子量約18万の糖タンパク質で, 特に大腸癌の診断に有用である。CEAのcDNAのクローニングの結果, 糖鎖の結合しうる部位が28個存在することが示された¹⁰⁾。CA19-9糖鎖抗原は, ルイスA (Le^a) の血液型糖鎖にシアル酸が結合したシアリルルイスAである¹¹⁾。膵臓癌の診断に特に有用である。このように既に実用化されている糖鎖性腫瘍マーカーはあるものの, さらに特異性の高い複数のマーカーの出現が望まれる。糖鎖生物学の応用が最も期待される分野の1つと考えられる。

(b)生殖と糖鎖

哺乳動物の胚が子宮膜に着床する過程に, 糖鎖を介する細胞間コミュニケーションが関与すると考えられている。すなわち胚の栄養外胚葉上の分子 (MECAM) が子宮内膜上のFuc α 1-2 Gal β 1-3 GlcNAc 糖鎖を認識することで着床が始まる¹²⁻¹⁴⁾。この分野の情報は, 人工授精への応用に結びつく。

(c)疾病と糖鎖

慢性関節リウマチ (RA) 患者のIgGにおいて, アスパラギン結合型のガラクトースが減少していると報告され, 大きな関心と呼んだ¹⁵⁾。RAの早期診断, 治療への応用が期待される。エイズの原因ウイルスであるHIVの粒子表面はエンベロープ糖タンパク質 (gp120) でおおわれている。HIVの標的細胞 (CD4陽性T細胞) にgp120が結合すると感染がおこる。この際に高マンノース型糖鎖が役割を果たすことが示唆されている¹⁶⁾。糖鎖に着目し, HIV感染を阻止する薬剤の開発が進行中である。

3.4 医薬品としての糖質・糖鎖

(a)ラクチュロース

乳酸のグルコース残基をフラクトース残基に変えて作られたラクチュロースは、肝性脳症や便秘の治療薬として実用化されている。

(b)ソルビトール・キシリトール・マルトースが点滴注射液としてカロリー補給の目的で実用化されている。

(c)ヘパリン

硫酸化ムコ多糖であるヘパリンは抗凝固薬として広く臨床医学で用いられている。このヘパリンにヒントを得て、抗凝固薬あるいは抗血栓性医学材料の開発が期待される。

(d)薬物運搬システムに利用される糖鎖

抗癌剤による癌の治療は、正常組織への副作用のため治療の継続が不可能になることが多い。そこで癌組織に選択的に抗癌剤を運搬して治療しようという試みがなされている。これが、いわゆる癌のミサイル療法である。抗癌剤を高分子キャリアーに結合させ、さらに糖鎖を標的組織を認識させるために結合する^{17,18)}。キャリアーとしてリポソームを用いるシステムもある。抗癌剤をリポソームに内包し、外側をマンナン、アミロベクチン、プルランなどの多糖を被覆させ、標的組織を認識させるシステムである^{18,19)}。これらのミサイル療法は、癌以外の疾患の治療にも応用できる。

e)人工臓器と糖鎖

新しい生体機能材料の開発にあたり、生体機能をより高めるため、細胞と人工材料をハイブリッド化しようという試みがなされている。ハイブリッド化に糖鎖を利用する。各論(小林)を参照されたい。

4. おわりに

糖鎖生物学という名称が生まれたのは高高10年前であるにも拘らず、定着し、1990年代のファッションナブルな響きを持つ名称となりつつある。この分野の研究は急速な勢いで進行中であり、発生、分化という生命科学の基本課題の解明から癌、感染症、痴呆を含めた疾患の原因究明、治療法の開発、さらに人工臓器の開発に大きく貢

献すると考えられる。本特集の読者が、この分野に関心をもたれ、一人でも多くの方が研究に参加できれば幸甚である。

文 献

- 1) 永井克孝, 蛋白質 核酸 酵素, **38**, 2095(1993)
- 2) 鈴木明身, 谷口直之, 古川 清, 井上圭三 複合糖質 共立出版 p.1683 (1992)
- 3) Weinstein, J. Lee, E. V. McEntee, K., Lai, P.-H., Paulson, J. C. : *J. Biol. Chem.* **263**, 17735 (1987)
- 4) Yamamoto, F., Mariken, J., Tsuji, T., White, T., Clausen, H., Hakomori, S. : *J. Biol. Chem.* **265**, 1146 (1990)
- 5) 鈴木明身, 谷口直之, 古川清, 井上圭三 複合糖質 共立出版 P.1713 (1992)
- 6) 同上 p.1730
- 7) Pohl, G., Källström, M., Bergsdorff, N., Wallén, P., Jörnvall, H. : *Biochemistry*, **23**, 3701 (1984)
- 8) Kodama, S., Endo, T., Tsuruoka, N., Tsujimoto, M., Kobata, A. : *J. Biochem.* **110**, 693 (1991)
- 9) 鈴木明身, 谷口直之, 古川 清 井上圭三 複合糖質 共立出版 p.1747(1992)
- 10) Oikawa, S. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **142**, 511 (1987)
- 11) Magnani, J. : *Science* **212**, 55 (1981)
- 12) Lindenberg, S., Sundberg, K., Kimber, S. J., Lundblad, A. : *J. Reprod. Fert.* **83**, 149 (1988)
- 13) Lindenberg, S., Kimber, S. J., Kallin, E. : *J. Reprod. Fert.* **89**, 431 (1990)
- 14) Yamagata, T., Yamazaki, K. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **181**, 1004 (1991)
- 15) Parekh, R. B. et al, *Nature* **316**, 452 (1985)
- 16) Mizuochi, T. et al, *Biomed. Chromatogr.* **2**, 260 (1988)
- 17) Duncan, R. et al., *Br. J. Cancer* **55**, 165 (1987)
- 18) 小林一清 化学と生物 **28**, (1990)
- 19) 砂本順三 高分子 **37**, 674 (1988)

(平成5年9月10日受理)