

2 糖鎖を知る－病気の診断から治療まで－

(独) 理化学研究所基幹研究所 システム糖鎖生物学研究グループディレクター

大阪大学名誉教授 谷口 直之

【日時・場所】平成23年11月19日(土) 14:00~15:30 松本大学5号館515教室

【講師 略歴】昭和42年北海道大学卒業後博士課程入学

昭和48年北海道大学医学部衛生学講座入局、

昭和51年コーネル大学生化学教室客員助教授

昭和54年北海道大学医学部付属癌研究施設生化学部門助教授

昭和61年大阪大学医学部生化学講座教授

平成18年大阪大学微生物病研究所疾患糖鎖学寄付研究部門教授

平成19年理化学研究所基幹研究所フロンティアシステム糖鎖生物学研究グループディレクター

平成21・23年大阪大学産業科学研究所疾患糖鎖学寄付研究部門教授

平成23年4月大阪大学産業科学研究所招へい教授

【受賞歴】安田記念医学賞、JB論文賞、IGO award、日本医師会医学賞、武田医学賞、紫綬褒章、IUBMBメダル、HUPO賞、平成23年日本学士員賞受賞など

谷口／私は札幌に育ち、野球が趣味でいまだソフトボールはピッチャーをやっていますが、札幌には、北海高校という、松商学園と並ぶ野球の強い高校があり、その当時から松商学園はどういう高校か見てみたいとずっと思っていました。110年の歴史と伝統のあるその大学に招いていただいて本当にありがとうございます。住吉先生をはじめ、村松先生、本当にありがとうございます。今日は特に、信州大学の福島先生、まだ私とは、10歳くらい若いのですが、北大の小児科でご活躍されているところをよく拝見していましたので、今日は、おいでいただきました。中山先生は、コメントをいただくことになっておりまして、おなじ領域で、本当に若手の世界的なホープです。今日はもう1人、信州大学の繊維学部でクラスターの仕事をしている野田君という、僕の大学時代の悪友ですが、来ていただいています。こういう機会をいただいたことに改めてお礼を申します。時間がありませんので、早速、糖鎖というものはどういうものかというお話しをして、病気とどう関わるかという話をさせていただこうと思います。

<糖鎖の研究はかつてシンデレラの世界だった>

糖鎖の研究というのは、実はシンデレラの世界とずっと言われていました(1)。なぜかということにありますようにゲノムの研究とか、タンパク質の研究は研究費もたくさん入って、世界的にも莫大なお金が投入されました。ところが糖鎖の研究は難しいということもあって、ほとんど顧みられなかったということがあります。いつもシンデレラのような「継子」扱いになっていて、やっと2001年にアメリカの有名な雑誌「サイエンス」に掲載され初めて、糖鎖研究にも、シンデレラにカボチャの馬車が迎えに来たということで、日本

1 糖鎖研究はシンデレラの世界?



とアメリカとほぼ同時に、この辺から国がお金を出し始めました。その理由はあとでお話ししますが、生命の鎖というのは、大きく分けてDNA、RNAの核酸とタンパク質の鎖とあります。その3つ目の鎖が糖の鎖です。これがヒトの遺伝子の構造が（ドラフトと言います）わかってきたことでもあります。ポストゲノム、ゲノムのあとの研究にこれが大事だと、やっと気づかれました。この絵は僕の孫の絵本から取ったので、サイエンスにこれが出ていたわけではありません。

<糖鎖の役割>

糖鎖、糖質の役割というのはどういうことかをお話します。皆さん栄養学で学んでいるように、当然エネルギー源として、例えば植物ではもちろんデンプンですね。我々はグリコーゲンを使っているわけです。その他、糖鎖はどこに関係があるのかというと、植物、動物にもあるいは甲殻類の生体構成物質です。3つ目は核酸。核酸もリボースとか、皆さん習ったと思いますが、そういう成分です。

ただ、私たちの研究しているのは、実は中山先生からお話があると思いますが、複合糖質にある糖鎖の研究をしています。糖鎖というのも皆さん習っていると思います。これは単糖ですね。例えばグルコースとか、ガラクトースとか、マンノースとか、そういうものがつながったものを、糖鎖、糖の鎖と言っています。例えばグリコーゲンは、 α -1,4の結合と α -1,6の結合で、枝分かれをしています。こういうのが糖鎖です。もちろんグリコーゲンとか、これも大事ですが、私どもが研究しているのは、もうちょっと変わった研究をしています。

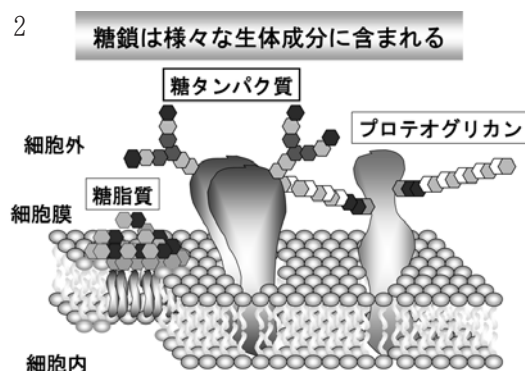
マラソンの選手というのは、このグリコーゲンを、最初は血液中のグルコースを使いますが、枯渇してくると、肝臓からグリコーゲンを一生懸命分解して使うわけです。

アフリカなどで食べるものがない人は、このようにやせ衰えるということがあります。昔から、メタボリックシンドロームとも関係があって、これは大変有名なアレッサンドロデルボローという人が17世紀に描いた肥満体のトスカーナ将軍、これはもう、当時からメタボリックシンドロームというのはあったのです。

これが動物、植物、甲殻類の生体構成物質ですが、キチンとか、そういうのがほとんどエビ、カニの甲羅にあります。植物ですと、ペクチン。樹脂の中に入っている、そういうものがあります。我々が研究しているのは、特にこういう細胞の中に膜があります。細胞は60兆個ありますが、細胞膜は脂質の二重層からなることは、皆さん習っていると思いますが、主として細胞の外側にこういう鎖を外に向けているのが糖鎖です(2)。最近細胞の中にもたくさんあることがわかっていますがこれが糖鎖で、代表的なものは糖タンパク質、糖質、プロテオグリカンという、大きくこの3つに分かれていまして、これを複合糖質といいます。お話しするのは、糖タンパク質。タンパク質に糖がついているものの、お話しになります。

<糖鎖研究の広がり>

なぜ糖鎖が注目されてきたかと言いますと、DNAにいろいろな皆さんの遺伝子の情報が載っていて、これは先ほどご挨拶いただいた信州大学の福島先生は世界的な権威でいらっしゃいますが、それからゲノムから情報から転写されて、メッセンジャーRNAになって、メッセンジャーRNAからタンパク質に翻訳されます。ゲノムの研究というのは、主としてここなのです。タンパク質の研究はここまでです。ところが最近、皆さんの身体の中に約10万種類くらいのタンパク質がわかっているのですが、そのタンパク質のうちの5割、血液の中などはほとんど9割以上が全部この糖が



付いているのです。ひげのように糖が付いています。ここまではゲノムの情報で決まって、タンパク質ができるのですが、このあとはタンパク質に翻訳されたあとに修飾されるというので、翻訳後修飾という言葉が使われます。50%以上のタンパク質にほとんどこの糸が付いていて、糖鎖は糖転移酵素という酵素で触媒されます。これからはいくつかその酵素の例が出てきますが、糖ヌクレオチドというものと、受け取り側の受容体とが反応して、こういう産物、例えば α -1,3ガラクトースという不思議な糖の構造を作ります。

このようにして、糖が1個ずつ付くのですね。これがタンパク質ですと、アミノ酸に付いたり、脂質に付いたりしますが、このような糖鎖の研究というのをやっているのですが、実はゲノムとか、タンパクの総合的な研究をプロテオーム (Proteome) と言っています。(3) それに比較して我々の場合はグライコーム (Glycome) と言いますが、こういうものの広がり、遙かに多いのです。逆に言うとなかなか難しいということになります。どうして難しいかというと、糖鎖研究というのはこれまで、例えばDNAとかRNAというゲノムの構成成分はたった4つの塩基で鎖ができています。ゲノミクス (Genomics) と言います。実はDNAを合成するとか、配列を決めるとか、PCRとかそういう増幅するもの、遺伝子クローニングというのは確立してしまっていて、かなりの人は大学院に入って2~3回やると、だいたいできるようになる。

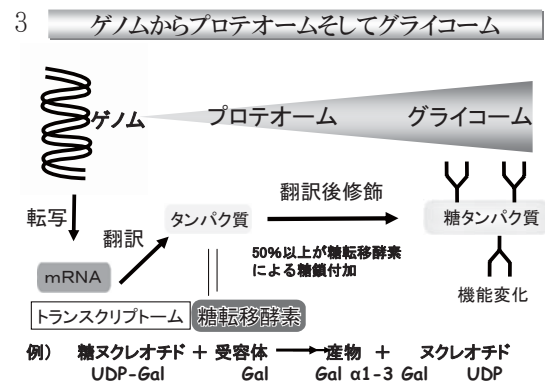
タンパク質はほぼ20個のアミノ酸が鎖を作っています。その研究をプロテオミクスと言っていますが、こういうペプチドを作ったり、シーケンス、その配列を決めたり、それから電気泳動したり、標識したりする、こういう技術が非常に盛んで、これも比較的簡単にできるようになっています。ところが糖は、ここのこれが糖ですが、非常に揺らぎがあって、我々の身体の中で9種類か10種類の単糖からなる鎖ですが、非常に多様で簡単に増幅、つまり増やしたりできない。クローン化という技術もない。そういうことで大変難しいということになっています。ただ最近、これがやっと構造研究ができるようになって、例えば数年前に田中耕一さんという人が質量分析計の開発ということでノーベル賞を取りました。この質量分析計を使うと、糖鎖の構造がかなりわかるようになりました。そのような技術が発展し、糖の構造もかなりわかってきたのですが、いまだに難しいです。

なぜ糖鎖が大事かと言いますと、ヒトとチンパンジーのゲノムの配列を見ると、違いはわずか1.2%、部分的に2.0%くらい違うところもあるのですが、実際はわずか1.2%です。1.2%の違いをタンパク質やゲノムでは説明が付かないことがたくさんあります。多分この差は、例えば糖鎖とか、先程言いました翻訳修飾などが鍵を握っています。これは遺伝子の数を書いてありますが、ヒトは約25,000ですね。マウスが30,000、ショウジョウバエが14,000、線虫というのが23,000、これは植物ですが、シロイヌナヅナが28,000、パンなどにする酵母5,900、大腸菌4,900。このくらいの遺伝子の数がありますが、ヒトとチンパンジーはわずかしが違います。これをゲノムとか、タンパクの差では、とても違いがわからないのです。そういうことで、糖鎖が非常に大事になってきたわけです。

糖鎖というのは結局このようにタンパク質の翻訳修飾で生まれてきた裸のタンパク質に服を着せる。やはり糖鎖によって修飾を受ける。これがポストゲノムの研究で大事ですよということが、だいたい10年くらい前からやっと、世界的に認知されてきたのです。

<血液型と糖鎖>

糖鎖が特に関わるのは、実は皆さんの血液型です。血液型を作るというのは、先程言いました糖

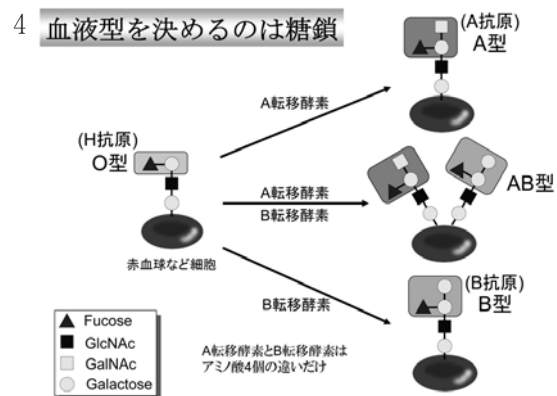


転移酵素によって作られます。例えば皆さんのなかのA型の人(今、私達専門家も丸とか四角とか三角で糖鎖を表現します。これはフコース(Fuc)、N-アセチルグルコサミン(GlcNAc)、N-アセチルガラクトサミン(GalNAc)、ガラクトース(Gal)という構造です)、どういう構造を持っているかという、フコースと四角のN-アセチルガラクトサミンというのを持っているのです。A酵素というのを持っている人がA型なのです。A酵素を持っている遺伝子はA遺伝子といいますが、A遺伝子を持っている人はA型ですし、B遺伝子を持っている人はB型になります。これは何が違ったかという、丸と四角が違うだけで、ガラクトースは付いているわけですね。AB型の方はA酵素とB酵素を半分ずつ両方持っています。O型の方はこれが両方ともない、いわば欠損症ですね。つまりたった1個の糖の違いで皆さんの血液型が違っているのです(4)。

もう1つ大事なものは、血液型と性格の関係というのは、全く科学的なエビデンスがありません。やっとこの頃マスコミでこれを取り上げなくなって良くなりましたが、ABO型の血液型が性格を決めると書いた本の人、商売があがったりだと訴えているという話を聞きましたが、残念ながら現在全くそういうエビデンスはありません。

ただ、今日、多分中山先生からお話がありますが、血液型は感染症とは非常に関わりがあります。ある血液型の人特定の感染症に、かかりやすい、かかりにくいということが知られています。

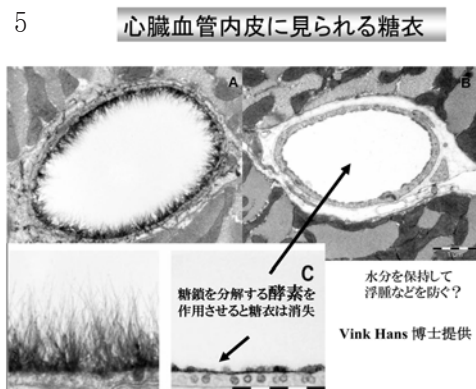
そういうことで、血液型は、非常に糖鎖とは大変関係があります。



<糖鎖の形>

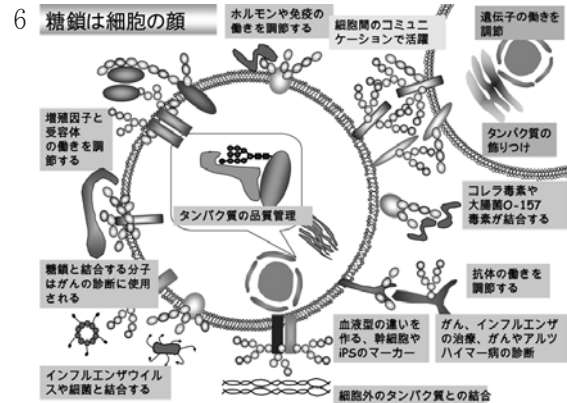
糖鎖はどんな格好をしているかということで、大変良い電子顕微鏡写真を見つけることができました。サイエンスゼロというNHKの番組に出演することになって、NHKから何かわかりやすい写真はありますかと言われて、一生懸命探したのですが、なかなか糖鎖の研究は難しく、皆さんに見せるものがなくて、一生懸命探したらオランダの先生がこれを持っています、これをNHKに使って良いですかと言ったら、オランダの先生が250ドルなら良いですというので、250ドルのお金を払いました。心臓血管の内皮に見られる糖衣、グライコカリックス(glycocalyx)と言いますが、糖の衣と言っていますが、横から切るとこのようにひげのように出ているのです。(5)

これがまさしく糖鎖です。これを、糖鎖を分解するヒアルロニダーゼ(hyaluronidase)という酵素で切ると、全くなくなるのです。ですからこれは横から見るとこれですね。ひげが切れています。糖鎖を特異的に分解する酵素でこうなっていますので、これは糖です。どうしてこうなっているのかという、これはヒアルロン酸(hyaluronic acid)が多いのですが、水分を保持して浮腫など防ぐためにあるのではないかと思います。ヒアルロン酸は皆さんの化粧品の中などにっていて、保湿に使うと言われていていますね。ヒアルロン酸はそういう性質を持っているのです。



<生命現象と糖鎖>

さて、どんな性質があるのかということをもう少し見ますと、実は糖鎖というのは、いろいろな働きを持っていて、一番よく知られているのは、細胞を1つ1つ書いてありますが、細胞と細胞の両方のコミュニケーションに使うのです(6)。これが一番大事です。もう1つはコレラ毒素とか、大腸菌 O-157とか、こういうものが出す毒素。菌体から毒素が出ますが、毒素がこういう相手側の糖鎖に付く。毒素が入ってくるときの最初の認識は全部糖です。コレラ毒素というのは GM1-ガングリオシド(GM1 Ganglioside) というのを捕まえますし、O-157はグロボトリオシルセラミド (globotriosylceramide : Gb3) という三糖のものを捕まえます。なぜこれらに感染したら下痢などになるかというと、大腸の中にそういうガングリオシドなどを持っていて、それを捕まえるからです。この毒素を例えばウサギの皮下に注射しても、筋肉に打ってもコレラにならないのは、そういうことです。



そのほか先程言いました血液型の違いをするのもそうですし、あとで話しますが、抗体の働きを調整します。インフルエンザ、癌、アルツハイマー病の診断にも使うことがあります。インフルエンザの話をしてますが、インフルエンザと細菌と結合します。細菌と結合するのは、中山先生からお話しになると思います。糖鎖と結合する分子を使うことで、癌の診断に使うことができます。これは今日お話しします。

そのほか、細胞というのは増殖するたびに外からシグナルをもらいます。増殖する際にシグナルを受け取りますが、シグナルを受ける増殖因子の受容体にも糖が付いていて、シグナルを調節しています。脳下垂体から出るホルモンにも糖が付いています。免疫の力値を調整することもわかっています。それからちょうど工場で品質管理するようにタンパク質も品質管理をしますが、そういうものも糖で調整されていたり、遺伝子の働きを調節することも知られています。そのほか、毎日のように新聞に出ている iPS があります。山中先生が作った iPS は、本当にそれが iPS かどうかというのは、ほとんど糖の反応で決めていて、マーカーとなっています。

そういうわけで、身体、糖鎖がいろんな生命現象とか健康と関わるかということが、わかっています。今日はお話ししませんが、受精のステップにも関わっていますし、先程言いました iPS 幹細胞の再生とも関わっていますし、糖鎖不全症という病気があって45種類くらいの病気が見つかっています。糖鎖を作ることができないために、先天的な病気になります。それから感染症が特に大事で、特定のノロウィルスにかかるとすごい下痢と吐き気で大変ですが、ノロウィルスの特定の種類は、B型の人になりやすいとか、B型の人ばかりにくいとか、そういうことです。ピロリ菌は多分中山先生からお話しがあります。エイズも若干そういうことが言えます。コレラ毒素と糖が結合するのは、ちょっとモデルでお見せすると、コレラ毒素が、これは上から見たところですが、ベロ毒素と言いますが、ベロ毒素と Gb3 という糖鎖が結合しているものがモデルでわかっています。

もう1つこれは、白血球とか血小板、がん細胞というのは、大変糖鎖が大事です。特にこういう白血球、癌細胞、血小板が作る糖鎖が、接着分子と特異的に結合します。逆のこともあります。血小板とか癌細胞で作る接着分子ですけど、これをモデルの図でお見せします。上は白血球を見ている。血管の中に白血球が流れています。上は糖鎖と接着分子が結合しない。つまりオリンピックの選手が100mの選手がものすごい速さで走るように、白血球が流れています。白血球が流れることで、皆さんの身体の中をいわば監視しているのです。どこか傷が付いたら、そこに白血球がいて働きます。そのようにして体中を白血球は動いているわけです。下の方は何が起きているのか

という、接着分子です。丸いのは白血球です。白血球と血管内細胞にできているセレクトリン(Selectin)というタンパク質がお互いに結合しているのです。付いたり離れたりしています。何が起こるかという、癌細胞だと転移しやすくなります。例えば腎臓癌だったら5-10年後でも肺に転移を起こしやすいと言われていました。それは血液中をのろのろと付いたり離れたりして、ローリングと言いますが、付いたり離れたりしながら、どこかに止まりちょうど受精の着床のように溜まってしまいます。血小板でも固まりができて、血管が詰まる原因にもなります。これはまさしく糖鎖とタンパク質、糖鎖を認識する接着分子です。それが結合しているのです。これは名古屋大学におられた神奈木先生からいただいたものです。こういう事がわかり、これを見たら一目瞭然、上の方は、白血球が流れるけれど、ここは詰まってしまっています。

もう1つはインフルエンザの感染です。これは皆さんいろいろ聞いていると思いますが、インフルエンザの感染の主役は糖鎖です。ウィルスが芽を出したり、出芽したり増殖に関わります。もう1つ皆さん聞いたことがあると思いますが、タミフルとかリレンザというものがあります。これはウィルスが出芽するときに働く酵素を阻害するのです。そういうことで薬が開発されています。これはインフルエンザA型の宿主を見ているのですが、だいたいもともとはカモなどから豚に移り、豚から人に感染する。(7)カモから直接ヒトには感染しないようです。にわとり、トリインフルエンザももちろん感染しますが、あまり世界で何百人かは死んでいますが、何十万人という人が罹っているうちの何百人なので、頻度は高くないと言われていました。H1N1とかH5N1とか、いろいろあります。これはもちろん今年も何が流行るかわかりませんが、最終的にはヒトに移ります。糖鎖の形が実はカモの形と、豚の形と我々とは違うのです。トリの糖鎖が直接こちらに入るといことはあまりないと専門家に聞いています。ただ非常

にたくさん、大量に曝露されたら、肺の奥の方にこういう、ニワトリの糖鎖を認知するというものがある、そこに結合する可能性があると言われていました。

これはマンガですが、これは細胞です。ここにインフルエンザが入るときには、インフルエンザが2つのスパイクを持っています。1つはHAというスパイクで、これはヘマグルニチン(hemagglutinin)と言いますが、もう1つはNA、ノイラミニダーゼ(Neuraminidase)というスパイクです。この2つのスパイクがあって、入るときにはヘマグルニチンのスパイクがこちら側のシアル酸(sialic acid)と結合して中に入ります。中に入って増殖して、今度は出るときにヘマグルニチンはシアル酸と結合してここにもあるのですから、出ようと思ってまた結合すると、ウィルスは外に出られないのです。ウィルスは外に出て増殖したいので、そこで今度はNAノイラミニダーゼというシアル酸を切る酵素を使って、これを切って外に出す。それがインフルエンザの生活環です。ですからこの切るのを抑えてやれば増殖ができないということで、切るのを抑えるのがリレンザとかタミフルで、これはオーストラリアのグループが10数年くらいかけて研究して、見つけました。インフルエンザに罹った方が薬をスプレーするか飲むかがありますが、それで治るわけです。

これはマンガですが、これは細胞です。ここにインフルエンザが入るときには、インフルエンザが2つのスパイクを持っています。1つはHAというスパイクで、これはヘマグルニチン(hemagglutinin)と言いますが、もう1つはNA、ノイラミニダーゼ(Neuraminidase)というスパイクです。この2つのスパイクがあって、入るときにはヘマグルニチンのスパイクがこちら側のシアル酸(sialic acid)と結合して中に入ります。中に入って増殖して、今度は出るときにヘマグルニチンはシアル酸と結合してここにもあるのですから、出ようと思ってまた結合すると、ウィルスは外に出られないのです。ウィルスは外に出て増殖したいので、そこで今度はNAノイラミニダーゼというシアル酸を切る酵素を使って、これを切って外に出す。それがインフルエンザの生活環です。ですからこの切るのを抑えてやれば増殖ができないということで、切るのを抑えるのがリレンザとかタミフルで、これはオーストラリアのグループが10数年くらいかけて研究して、見つけました。インフルエンザに罹った方が薬をスプレーするか飲むかがありますが、それで治るわけです。

<私と糖鎖生物学>

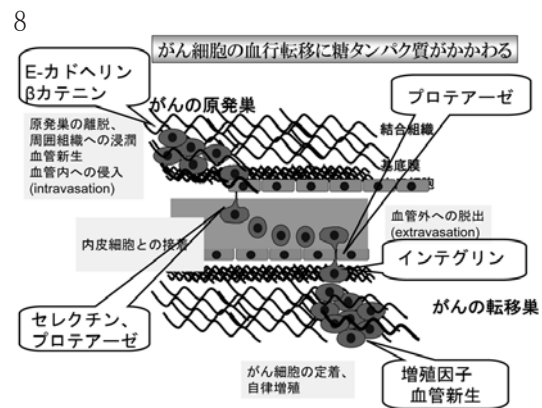
この後、私の研究を中心に糖鎖がどのように働くのかをお話しさせていただきます。これは癌の転移を決める糖鎖という話です。癌はご承知のように、皆さんがおそらく90歳とか100歳まで生きたとしたら、ほとんどの方が癌でなくなるかも知れません。この5年くらいまでは3人に1人と言っていたのですが、今は2人に1人が癌で亡くなる。癌はどんどん増えています。ですから癌と共存し



ようとか、癌と仲良くしようとか、癌を特別な病気と考えないで、癌と共存して100歳まで生きようという考えです。つまり普通の病気になっています。他の心疾患とか血管疾患は全部減っていますが、悪性新生物だけが増えています。肺炎というのは増えています、どんな病気でも最後は、いろいろな感染症でなくなる方が多いので、そういうことだと思います。

この癌の転移は、リンパ性の転移と血行性の転移とがあります。血行性の転移を見ますと、実は4つのステップが今まで言われていて、ひとつは原発、最初にできた癌がそこから離れて血管の中に入り、先程のようなローリングを起こして、付いたり離れたりしてずっと遠くに行き、そこからまた血管を破って出て、そこでまた増殖します。このように赤く出ているのは、アンジオジェネシス(血管新生、Angiogenesis)と言いますが、血管新生がどうしても必要なのです。癌細胞自身も自ら酸素を取って栄養分を取るために、こういう血管新生をします。これはだいたい増殖因子ですが、増殖因子を作ります。

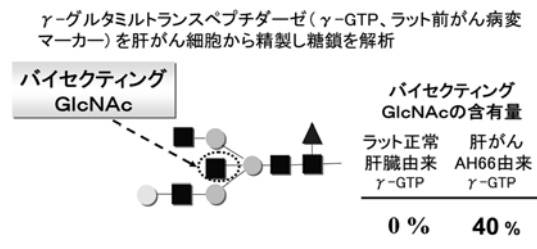
4つくらいの主なステップがありますが、このステップ全てに、実は糖が非常に強く関わっています。(8) こういう E-カドヘリン(E-Cadherin) というタンパクがあって、これはのり付けをします。今日、ちょっとお話しします。それからこれを切って、切るときにプロテアーゼ(Protease)が働いて切りますが、ローリングには先程お話ししましたセレクトリン(Selectin)という接着分子があります。セレクトリンも糖タンパクです。ここでまたプロテアーゼ。最後はインテグリン(Integrin)というのが大事ですが、これも糖タンパクです。最後の増殖因子、血管新生これも全部糖です。ですから癌の転移というのは、ほとんど糖タンパクとか糖鎖が非常に重要だということがわかります。



私達はこういう癌に特異的な糖鎖がないかということはずっと調べてきました。大学院生の時からずっとやっていました。実はその中で特異的に発現する糖鎖を見いだしました。γ-グルタミルトランスぺプチダーゼという酵素なのですが、γ-GTP と言っていて、皆さんのお父さん達がアルコールをしょっちゅう飲むとか、アルコール性の肝炎になっている人は、かなり高い。肝臓が少し悪くなっていますとか、メタボリックシンドロームと言われたときには、ちょっとこのγ-GTPが増えます。この酵素を実はネズミの癌細胞と肝癌の細胞と、正常の細胞から精製しまして、糖鎖の構造を共同研究で進めました。そうしたら何がわかったかという、ラットの正常の幹細胞由来のγ-GTP にはほとんどないのですが、肝癌になるとこれが出てくるということがわかりました。

(9) これをバイセクティング GlcNAc と言いますが、これは別に腎臓にもあるし他にもありますが、肝臓に限っては全くなくて癌になると出てくる。この構造ですが、2本の鎖の中に真ん中にバイセクティング GlcNAc というのができてくる。なぜこれができるのかということで、今、これを作る糖転移酵素、先程血液型のところで糖転移酵素についてお話ししました。この糖が付く酵素の精製をしました。この酵素をきれいに分離して、どういう構造かを見て、それを使って遺伝子のクローニングをしたのですが、その時に最初にこの GnT-III という、先程のバイセクティング GlcNAc を作る酵素を取って、これは4~5年かか

9 肝癌に特異的に発現する糖鎖の発見



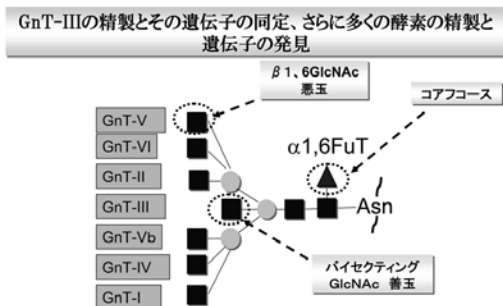
りましたが、ネズミの腎臓10kgからわずか数 μ g取れたのです。ネズミの腎臓というのは1個1gしかありませんから、方々の先生の所に行って、いらなくなったネズミをいただいて、そこから腎臓を取り出しました。腎臓からGnT-IIIという酵素を見つけることができました。同じような技術でGnT-VとかGnT-VIとかこういう酵素をどんどん取りました。(10) 今日お話しするのは、ここに糖鎖をつけるGnT-Vという酵素、これは悪玉です。ここにさっき言ったバイセクティングGlcNAcを作るのは、善玉的な働きをします。この根本につけるコアフコース(Core Fucose)は、いろいろな機能があることが最近わかりましたので、こういうものを今日はお話ししたいと思います。

悪玉のGnT-Vという酵素です。今お話しした根本に β -1,6GlcNAcという糖鎖をつけるのですが、この酵素の遺伝子は転移を促進させます。どういう実験をしたかという、胃癌の細胞をネズミの脾臓に注射して、腹腔の中にどれだけ癌細胞が散らばるかを見た実験です。胃癌細胞だけではリンパ節とか、肝臓にほとんど転移しないのですが、この癌細胞の中にこの遺伝子だけを入れてやると、このようにリンパ節とか肝臓で転移が見られる。つまりこの遺伝子は、糖鎖を変えて非常に転移しやすいような細胞に変えてしまったこととなります。

ネズミの実験で同じようなことをしました。これは悪性黒色腫、これは現在も信州大学にいる谷口俊一郎先生が作った細胞をいただきました。彼がまだ九州大学におられた頃ですが、その細胞を使わせていただいてやりました。ネズミのしっぽから癌細胞を注射しました。そうすると3週間後に肺に癌細胞が詰まって、ここに累々とした転移が見られます。これを数えるのです。(11) 全部ダブルブラインドと言って、注射する人もわからない、正常細胞と癌細胞とをわからないようにして、実験する人に渡して実験をします。二重盲検法と言いますが、そうすると最初の悪玉の多いのは、たくさん癌ができます。悪性黒色腫というのは、特にアメリカ人とか西欧人に多く、日本人には少ないです。アメリカ人は皮膚を裸にして紫外線に長期間あたるとできやすいのです。オーストラリアも非常に紫外線を浴びますので、多いですオーストラリアでは子どもを外に出して遊ばせるときには、裸にさせない。裸にするときには紫外線を遮断するクリームが3段階くらいあって、紫外線が強いときには、非常に強いクリームを塗らないと外で遊ばせません。学校や幼稚園で、そのようになっています。というのは、非常に悪性黒色腫になる人が多いからです。日本人は少なく、皮膚が隠れたところに出ます。悪性黒色腫は悪玉が非常に多いので、このように転移がすごく多いです。もう片方の善玉の、バイセクティングGlcNAcを作るのは善玉です。そういうことがわかります。

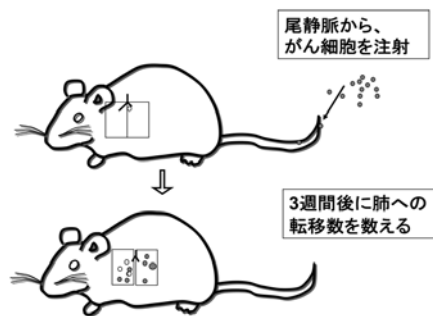
どうして善玉が抑えられて、悪玉がだめなのかをみますと、善玉を入れるとのり付けをするタンパク質のE-カドヘリンというのがたくさん出てくることわかりました。このE-カドヘリンというのは、京都大学におられた武市先生が見つけた大変世界的な良いお仕事なのですが、このE-カドヘリンも糖タンパクで、このE-カドヘリンに先程のバイセクティングGlcNAcが作ると、細胞の表面に出てきて、癌細胞と癌細胞をのり付けして、動かさないのです。そういうことがわかりま

10



11

悪性黒色腫のがん転移実験モデル

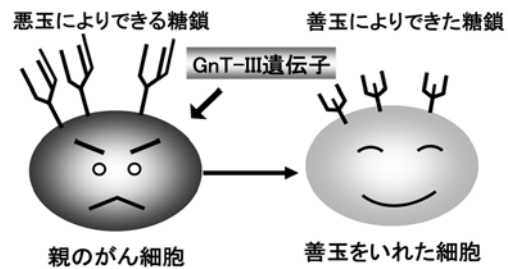


した。これを僕たちがやったのは15年前ですが、最近これが人間の胃癌でもこういう事が起こることがわかっていますし、いろいろところで善玉と悪玉が交互にやっているということがわかってきました。つまり悪玉、例えば親の癌細胞、悪性黒色腫、メラノーマと言いますが、こういうのはGnT-Vという悪玉が非常に多いのですが、そこに善玉を入れてやるとその構造が変わって、例えばE-カドヘリンの構造が変わって、良くなるということがわかりました。(12)

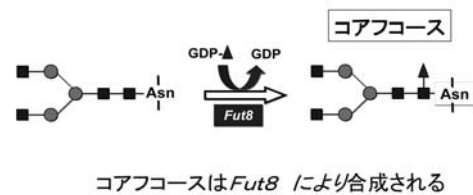
最後のシリーズの話ですが、コアフコースのお話をします。これはかなり最近いろいろところで使われ出しました。これもここに、Asnと書いてあるのはアスパラギンですが、アミノ酸の中にこういう糖が付いていて、根本にフコースという単糖が付いていて、これをコアフコースと言いますが、このコアフコースはGDP-フコースという糖ヌクレオチドからフコースだけを渡す、Fut8という酵素で作られます。(13) この遺伝子を私ども、世界で3~4カ所で競争していたのですが、私どもが初めて精製に成功して遺伝子を取ることができました。このコアフコースがいろいろな役割をしているということが、特に最近わかりました。

これはFut8という酵素をロックアウトといって、遺伝子を欠損させた動物を作ります。何が起こるかという、生後3日でほとんどネズミは死んでしまいます。(14) たった1個の先程のフコースがないためにネズミが死んでしまいます。7割のネズミが死んで、3割だけが生き残るのですが、生き残ったネズミは成長が非常に遅くて、3週間後に肺気腫という病気になります。肺気腫というのは、普通の皆さんの肺はきれいです、肺気腫は肺泡が膨らんで、隙間だらけになり、酸素と炭酸ガスの入れ替えがうまくいけなくなり、炭酸ガスが溜まってきます。ちょうど風船で言うと風船というのは、膨らんでも縮まっても弾力性がありますが、膨らみっぱなしになります。この病気は人間で非常に重要で、COPD（慢性閉塞性肺疾患）といわれ、我が国で22万人の患者さんがいます。22万人というと大したことはないと思いますが、実は隠れた患者さんが530万人います。これはヘビースモーカー、皆さん、もし、ヘビースモーカーだったらその方の内2割の方が確実にCOPDになります。ただ8割の方は大丈夫です。だから自分は大丈夫と思われる方もいるかも知れませんが、そういうヘビースモーカーを計算すると、我が国の推定患者は530万人いるのですが、治療は全く受けていません。死亡者数は年間15,000人。順位ですが、2020年では世界の死因の第4位になります。対症療法なので、有効な治療法はないのです。だから治療薬を開発することは、非常に重要なのです。今、我々は22万というのは本当に氷山の一角なのです。どうして重要かという、一般的にヘビースモーカーの方が年を取ってなるのですが、年を取ると糖尿病も罹ったりしますが、特にインフルエンザに罹りますと、日本、カ

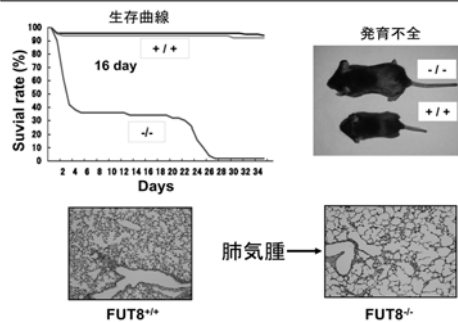
12 善玉遺伝子GnT-IIIにより糖鎖を変える



13 コアフコースと肺気腫の新しい発症機構



14 Fut8 KOマウス(赤-/-)はコアフコースが作られず生後3日で70%が死亡し生存例は肺気腫を発症



ナダ、アメリカ、オーストラリア、ほとんど世界共通ですが、インフルエンザで亡くなった方の3割は全部このCOPD(Chronic Obstructive Pulmonary Disease)を持った患者です。時々街でポンペを引っ張っておられるかたがいます。あの方はCOPDの方です。慢性閉塞性肺疾患といいます。これは世界的に非常に重要になっています。

どうしてなるのかというと、難しい話ですが、喫煙が多いのですが、その他環境因子があります。中国の女性のCOPDになっているうちの3割は、たばこを吸っていません。つまり換気が悪い。あるいは環境因子がある。日本でも天ぷら屋のご主人はたばこを吸わないがCOPDになっている例があります。これは環境因子による例です。

どういうことが起こるのかというと、炎症が起こって、サイトカインが刺激されるといろいろな物質が出ます。特にMMP(Matrix Metalloproteinases)、マトリックスメタロプロテアーゼといいますが、MMPという一種のタンパク分解酵素ですが、こういうものが細胞壁を破壊して、細胞壁にあるエラスチン(Elastin)やコラーゲン(Collagen)などの物質を壊して、肺気腫になることがわかっています。

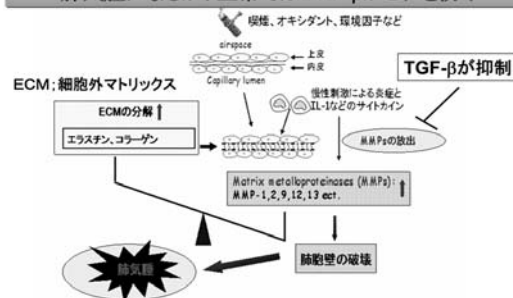
少し難しいのですが、TGF- β という物質がMMPの発現を抑制しています。(15)しかしこのネズミは、この抑制がなくなるということがわかりました。実際にどうということかということ、TGF- β 受容体がありまして、この場合はここにコアフコースを持ってしています。だけど、ノックアウトマウスにはないのです。(16)これがなくてこのTGF- β がうまく結合しないことがわかりまして、こちらにちゃんと結合して、下の方にシグナル、Smad2をリン酸化してMMPの発現を抑えますというシグナルを与えていますが、このネズミはこれがなくなりまして、うまくいかないために、MMPがたくさん出てきて、これが壊れてくるということがわかりました。ですからここを何とか抑えることによって、治療ができるということで、現在もそういう研究をしています。

ネズミに実際たばこを吸わせてみようということになりまして、たばこの喫煙装置を買いました。ここにたばこを入れるのです。たばこはケンタッキーという非常に高いたばこです。この辺で売っているものより高い、標準化したたばこなのです。ここにネズミを入れますと、2日ほどは逃げているようですが、3日から飛びついていくようになります。だからアディクション(嗜癖、addiction)と言いますが、たばこから逃れられなくなって、たばこを1日4本のませて、1週間続けます。そうするとこのネズミは我々が作ったヘテロノックアウトマウスというのは、遺伝子が全部なくなると死んでしまうので、半分だけ生きているものを使うのですが、そうすると3ヶ月で肺気腫になります。つまりこのネズミは肺気腫になりやすい性質を持っている。普通のネズミは半年かかって肺気腫になりますが、このネズミは3カ月でなります。

そうすることで、実際にFut8の活性もこのネズミでは下がっていて、肺のFut8の数も下がっていますし、肺胞の平均直径、広がっているかどうかを見ているのですが、それも上がってしまっていて、横のネズミは6ヶ月かかるところ、3ヶ月で肺気腫を作る。つまりそういう遺伝的に弱いネズミだ

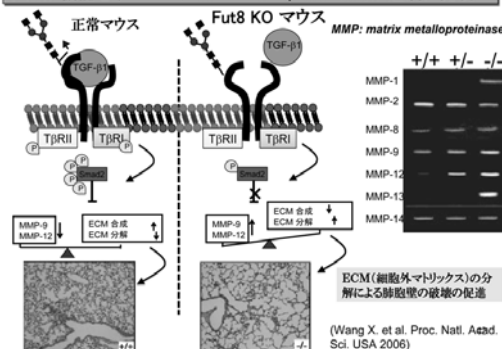
15

喫煙などによりMMP(マトリックスメタロプロテアーゼ)による細胞外器質の分解が優位になると肺胞壁が破壊され肺気腫になるが、正常ではTGF- β がこれを防ぐ



16

Fut8 KO マウスではTGF β 受容体のコアフコースがなく、抑制シグナルが機能せずMMP(Matrix metalloproteinase)が過剰に発現



(Wang X. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2006)

ったことがわかります。(17)

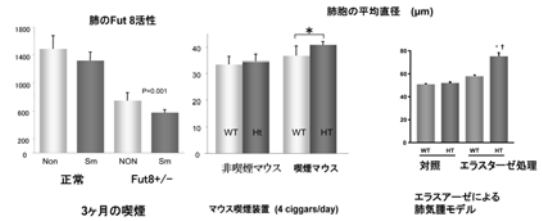
人間でもこういうことをやっています、人間も最近東京医科歯科大学の先生達が Fut8 のあるアミノ酸の所に変異が起こるとこの人は COPD に罹りやすいということを報告しました。血液を測って見ますと、COPD の末期の患者さんですと、非常に Fut8 の活性が低くなります。(18)

腫瘍マーカーというのは、皆さんが癌になったとき、血液の中に癌細胞、あるいはその周辺から物質を出します。(19) 例えば今天皇陛下が罹っている病気は前立腺癌です。今はマイコプラズマ肺炎になられていますが、実は10年ほど前に前立腺癌の手術をされました。前立腺癌の腫瘍マーカーという PSA (Prostate Specific Antigen) というのがありまして、前立腺癌にかなり特異的なものです。そのほかにも卵巣癌の CA125 という物質もあります。そのほか肝癌では AFP α -フェトプロテイン (α -fetoprotein) と言いますが、ここに出ているのはほとんどが糖関連の物質です。今測定している腫瘍マーカーというのは、ほとんどが糖タンパクに関しては、タンパクだけを測定していましたが糖鎖の量は測定していません。ところが最近糖鎖を見ることによって、この特異性が高まる。例えば前立腺癌と前立腺炎、前立腺肥大と区別が付くかということ、100%区別が付かないのです。6割5分くらいが陽性です。最近私の友人で、糖の専門家の先生が前立腺癌で転移で亡くなったのですが、この方は前立腺癌が転移しても、PSA は全く正常でした。つまり前立腺癌の人でも2割は正常、PSA が正常でも2割は癌だと言われています。これは中山先生がよく共同研究されている弘前大学の大山先生もそうおっしゃっていました。腫瘍マーカーによる診断率は100%ではないのですが、糖鎖をもうちょっと見ると、そういう特異的なことができるのではないかとというのが、我々の研究です。

例えば肝癌を見ますと、肝癌というのは慢性肝炎から肝硬変、肝癌に移行します。10年とか20年単位になりますが。このときに L3 という分画があるのです。この L3 というのは、これは我々が取った L3 ですが、肝硬変の患者さんにはほとんど出ていませんが、肝癌になるとこの L3 が出ています。(20) 正常肝、肝炎、肝硬変、肝癌。この区別が L3 によってできるわけです。これは40年ほど前に日本の臨床の先生達がこの現象を見つけていまして、やっと2005年に日本のメーカーがこれをキットにして、アメリカの FDA (Food and

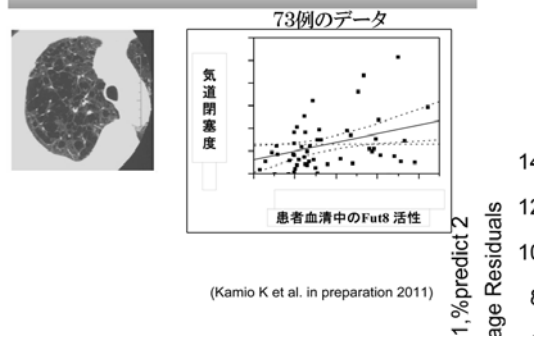
17

Fut8 の遺伝子を半分しか持たないマウスは喫煙などにより肺気腫になりやすい。



18

ヒトCOPD患者の気道閉塞が強いほど血清FUT8活性が低下し、マウスでもヒトでもコアフォースの関与を解明



(Kamio K et al. in preparation 2011)

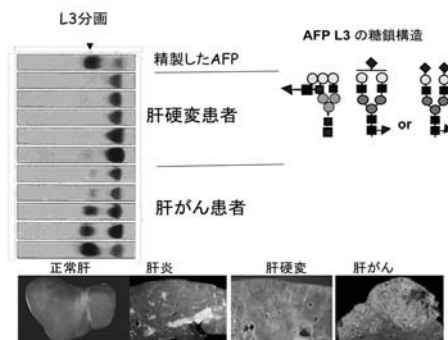
19

腫瘍マーカーの種類 (国立がんセンター)

腫瘍	腫瘍マーカー	腫瘍	腫瘍マーカー
食道がん	SCC	神経芽細胞腫	NSE
肺癌	CA-125, CEA, SLX	甲状腺癌	NSE
扁平上皮がん	CYFRA, SCC	乳がん	CA-125, CA15-3
小細胞がん	NSE, ProGRP	胃がん	CEA, STN
肝細胞がん	AFP, PIVKA-II	膵がん	CA-125, CA19-9
結直がん	CA19-9, CEA	大腸がん	CEA, NCC-ST-439, STN
前立腺がん	PSA	子宮頸がん	AHC0, SCC, STN
		子宮体がん	AHC0, SCC
		卵巣がん	AHC0, CA125, STN, SLX

20

フコシル化AFP



Drug Administration) がこれを認めました。この構造を私もかなり昔に調べました。この構造を見ると、さっきの私どもの取った遺伝子 Fut8によって作られるコアフコースがこれになります。もっと最近、質量分析計が発達しましたので、そういうものでもっと詳しい構造を見ることができます。

最近、私のほうの共同研究者で三善先生という方が見つけたものですが、糖鎖の変化に着目した新しい膵臓癌のマーカーです。フコシル化ハプトグロビン (Fucosylated haptoglobin) と言います。これはどういうことかと言いますと、P というのは膵臓癌の患者さんと正常の人を、普通のタンパク染色を電気泳動すると差が余り見つからないのですが、レクチンという糖鎖構造、これはコアフコース、これは先程の、ここはルイス型のフコースですが、こういうものと結合する AAL というレクチンというタンパク質を染色すると、このようにバンドが出てくる。正常だとないけれど膵臓癌だと出てくる。それを質量分析計で調べるとハプトグロビンのβ鎖ということがわかりました。それをどのくらい頻度があるのかと見たら、これも6割5分くらいです。膵臓癌の患者に出てきて、健康時でも30例に1例は出てきて、膵炎では2割。ですからこれくらいは今の腫瘍マーカーの平均的な値ですが、しかしこれは、糖鎖をターゲットにしてみようということです。(21)

ステージ I、II という、これは膵臓癌はほとんど診断したときには手遅れとか、見つかったもなかなか治らない病気の一つですが、I 期 II 期でも若干陽性になっているものもあります。大量のサンプルを調べられています、もしそれがうまくいけば、こういうことが早期診断につながります。どうしてこういう AFP の L3 とか、こういうものが血液に出てくるのかということ、正常の肝臓にとっては、ほとんどこのフコースやコアフコースが付いたものは、胆管とか消化管に行ってしまうのですが、癌になるとこれが何らかの原因でこちら側に行くということが、糖鎖酵素の研究からわかりました。(22) つまり、普通の状態では、フコースが付いても全部こちらに出ます。血液には出てこないのです。癌、膵臓癌になると、極性が変わるとか、この構造が壊れるのか、理由は分かりませんが、このように血液にでるのです。

<糖鎖創薬の可能性>

最後にこの糖鎖が医薬品として、使われ始めているという話で終わろうと思います。(23) 糖鎖がどうして大事かということ、一番大事なのはエリスロポエチン (Erythropoietin) ということで、これ10年ほど前に明らかになりました。エリスロポエチンというのは、造血をする一種の糖タンパクです。よくこれを使ってドーピングで引っかけられます。エリスロポエチンがたくさんあると、ヘモグロビンをよく運ぶので、酸素が運ばれますの

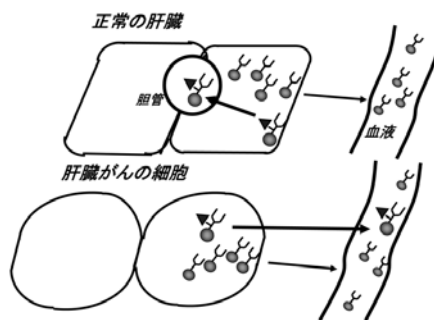
21

フコシル化ハプトグロビンは膵癌患者で非常に高い陽性率を示す

	例数	フコシル化ハプトグロビン		(陽性率)
		(+)	(-) (陽性率)	
健常人	30	1	29	(3%)
膵がん	87	57	30	(66%)
肝細胞がん	23	5	18	(22%)
肝硬変	12	3	9	(25%)
胃がん	10	2	8	(20%)
大腸がん	100	41	59	(41%)
慢性膵炎	9	2	7	(22%)

22

フコースのついた糖タンパク質は通常は血液には分泌されないが、がんでは細胞が壊れて血液のほうにながれる



23

次世代の蛋白質製剤の例

タンパク質	投与方法と半減期	次世代タンパク質	投与方法と半減期
インターフェロン・アルファ	毎週3回皮下 (3-4 hrs)	ポリエチレングリコール付加	週一回皮下 (-40 hrs)
G-CSF	毎日静注 (3.5 hrs)	ポリエチレングリコール付加	一回静注 (80 hrs)
エリスロポエチン	毎週3回皮下 (19 hrs)	(糖鎖2箇所付加)	週一回皮下
TPA	点滴 (5 sec)	高マンノースを除去)	一回静注 (20 sec)

血中に残る時間も薬のがん細胞への到達度も2-3倍を期待〔QOLにも重要〕

で、エリスロポエチンを注射して、高地でトレーニングするとこのエリスロポエチンが増えますし、ヘモグロビンも増えます。高地でトレーニングをする前にこのエリスロポエチンを注射すると、非常に速く走れるとか、マラソンで耐えられるとか、ドーピングの対象になります。

このエリスロポエチンが15年ほど前に、アメリカの会社がたくさん作って、ネズミで実験しました。ネズミで実験したら、異常に造血作用があったのでもうこれでよいと思って、ヒトに使ったら全く効かなかった。なぜ効かなかったかという、糖鎖のことを全く無視してやったからです。9割の製品を全部捨てたという記録が残っています。その後わかったのは、エリスロポエチンの糖を変えて、例えば、これを4個糖を付ける部位がありますが、もっと余分に人工的に2個付けてやると、今まで毎週3回、括弧の中は半減期です。注射したら19時間で半分になってしまう。糖鎖を付加すると、この半減期が多分96時間くらいに伸びますので、週1回の注射でよくなります。これは患者さんにとっては2日の1度病院に行って、高い薬代を払わなくて良くなります。そういうので、エリスロポエチンは非常に重要になってきました。

同じようなことがいくつああって、もう1つ最後のお話しですが、抗体医薬というのがあります。抗体医薬というのは、皆さん新聞で聞いたことがあると思います。例えば商品名でレミケード(Remicade)というのは、関節リウマチに使う。TNF α に対する抗体です。それから商品名でハーセプチン(Herceptin)、これもよく聞くとおもいます。乳がんを使うHER2という増殖因子の抗体です。そのほかに商品名リツキサン(Rituxan)です。これは白血病の一種、非ホジキンリンパ腫に使う抗体です。こういうものがどんどん開発されてきて、世界的にすごくこの薬は使われ始めました。一番下のは、大阪大学の前々総長の岸本先生が初めて、日本初のIL-6(インターロイキン(Interleukin-6)の膜および可溶性の受容体に対する抗体を使った治療を開発しました。2000万人くらい世界で使うだろうと言われています。これも全て抗体医薬です。

抗体医薬で何が糖と関わるかという、こういうことです。抗体医薬というのは、癌細胞の表面にある抗原、例えばHER2とか、リツキサンCD20、そういうものに対する抗体を作ると、抗原抗体反応が起こるわけですね。これだけでは癌細胞は死なないのですが、ここにFc部分(Fragment, crystallizable)というのがあって、そしてここに実は糖鎖があるのです。Fc部分がエフェクター細胞(effector cell)というNK細胞とか単球と結合します。ここにはFc γ レセプタ(Fc gamma receptor)というのがありますが、結合します。結合すると、これを活性化して細胞を壊して、このように幹細胞がやられる。これがターゲットの細胞です。これを抗体依存性細胞障害、ADCC(Antibody-Dependent-Cellular-Cytotoxicity)活性と言います。

癌の抗原に対する抗体、例えばHer2などNK細胞などへの受容体とFc部分で結合して、活性化して肝細胞を殺す。この際抗体IgG、これは抗体です。(24)抗体というのは、免疫グロブリン(Immunoglobulin)です。コアフコースが重要であると書いてあります。どういうことかという先程から何度も出てきますが、2本鎖(biantenna)のこれがタンパクで、抗体イノグロブリンにアミノ酸があって、アミノ酸のアスパラギンの297番目に糖が付いていて、この糖のここに善玉だったGnT-IIIがここに働き、バイセクティングGlcNAcがつくと、ADCC活性が10倍になるということを、2001年にアメリカとスイスのグループが発見しました。この時、私は遺伝子を持っていましたその後、アメリカのグループと日本の製薬会社が(25)このコアフコースを除いてやると、このADCC活性が100倍になるということを発見しました。どういうことかという、今までの抗体医薬というものはものすごく高く、年間300万円くらい



します。12で割っても、1月25万とかかかるわけです。保健で3割負担としても、7万5千円かかるわけです。例えば皆さん、学生さんでお父さん、お母さんからお金がもらえないとすると1月の治療費は出ませんね。どういうことが起こっているのかというと、治療に来た方は、若い方がお金の少ない方が、治療をして1回か2回で一時的に良くなるわけです。(26)良くなってもう良いと思って、いなくなってしまうのです。これはかなり継続して打たないとだめなのです。そういう方はお金がないために治療ができないということで、ここで問題なのは、年間何百万円もする、そういう抗体医薬は事実問題だと思うのですが、もし本当は、100分の1で済むのであれば、300万を30万にすればいいのですが、製薬会社がそれをするとう利益が少なく安価にならないのです。おかしいと思うのですが、でもこういう基礎研究はこういうところには貢献しています。

<糖鎖とサプリメント>

今日皆さんは栄養関係なので、是非この最後のスライドですが、グルコサミンとコンドロイチン硫酸。この頃は新聞、ラジオ、テレビでたくさん宣伝しています。グルコサミンとコンドロイチン硫酸が変形性関節症の症状を軽減するサプリメントとして利用されています。問題なのは、1つはグルコサミン。これはプラセボという二重盲検法を用いた臨床試験によって、関節空隙の狭窄の進行を遅くするという事は、報告されています。ただしグルコサミンがヌクレオチドの濃度を変化させますので、細胞の応答性を変える可能性があります。こういうときはすぐ変わりますので、そういう意味では、まだこのグルコサミンとコンドロイチン硫酸がサプリメントとして使われているということは、つまり本当に効きますよというエビデンスがあれば、薬剤として認可されるわけです。ですからこれはあくまでエビデンスはないに等しいと言わざるをえません。

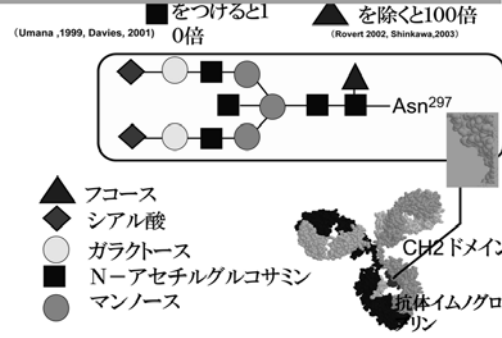
もう1つはコンドロイチン硫酸。これも流行性を示す確定的な証拠は得られていません。だけど新聞ではコンドロイチン硫酸をすると若返ったり、歩けるようになったりしていますが、これも薬剤としてのエビデンスがない。だからこれは、飲んでいけないとは言いません。だけど、本当に効くかどうかというのは、関節炎にこれが効くかどうかドクターにちゃんと効いて、判断する。それでも使うならば個人の自由です。

例えばヒアルロン酸などは、注射をするのは効きます。ですからメジャーリーグ選手は、みんな肩などに注射しています。これは局所に打っていますので、ヒアルロン酸を飲んだから効くという証拠はまだありません。

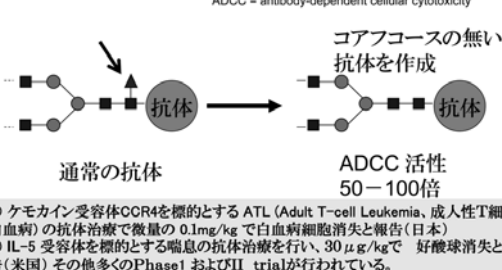
<糖鎖生物学の時代へ>

そういうことを今日、最後にお話ししてまとめになりますが、時間がオーバーして、申し訳ありません。第3の生命としてポストクの研究の中心的な課題だと。遺伝子やタンパクでは説明のできない多くの発症機構、診断治療に関わっています。糖鎖の変化を利用して、癌の細胞、診断マーカーなどに使います。最後はグライコニュートリエント(Glyconutrient)と言っていますが、サブ

25
 抗体の糖鎖を変えると癌細胞を殺す活性が10-100倍に高まり、これを利用したがんの抗体療法が実用化



26
 免疫タンパク質に正常に存在するコアフコースを除去と、抗体活性が50-100倍になる それに基づく抗体療法を日本・米国の製薬会社が開発
 ADCC = antibody-dependent cellular cytotoxicity



○ ケモカイン受容体CCR4を標的とする ATL (Adult T-cell Leukemia, 成人性T細胞白血病)の抗体治療で微量の0.1mg/kgで白血病細胞消失と報告(日本)
 ○ IL-5受容体を標的とする喘息の抗体治療を行い、30μg/kgで好酸球消失と報告(米国)その他多くのPhase I および II trialが行われている。

リメントが今後医薬品として認可されるには、きちんとしたエビデンスが必要でありますということを書いて、終わりにしたいと思います。

こういう Essentials of Glycobiology という本の日本語訳がありますので、もし興味のある方は、その本を読んでいただくと良いと思います。そういうことで、糖鎖生物学もやっと王子様とダンスができるかなという時代になりました。

村松／これから谷口先生とよく共同で研究されている、現在信州大学医学部の分子病理学教室の教授でいらっしゃる中山先生、医学部の副部長でもいらっしゃいます、中山先生に指定発言という形で、講演をお願いしたいと思います。

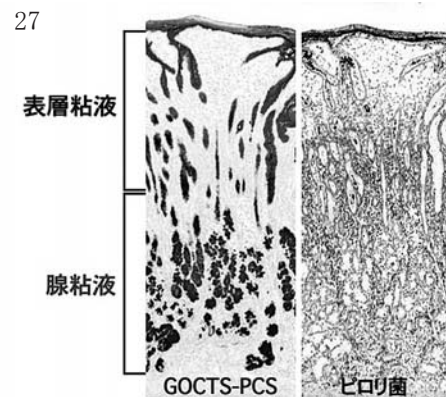
< α 型 GlcNAc とピロリ菌 >

中山／ご紹介有難うございました。今日、私がお話しさせていただく内容は、胃粘液に含まれている糖鎖についてです。胃粘液には GOCTS-PCS 染色とよばれる染色法で青色に染色される表層粘液と茶色に染色される腺粘液があり、私達の研究室では腺粘液に興味を持って研究しています(27)。なぜこの腺粘液に興味を持っているかといいますと、この腺粘液はとてもユニークな糖鎖を持っているからです。それは北里大学石原和彦先生らの研究グループにより明らかにされたことですが、この糖鎖の一番末端には N-アセチルグルコサミンが α 型で結合しています。

N-アセチルグルコサミン、以下グルクナック (GlcNAc) と呼びますが、 α 型と β 型があります。 β 型の GlcNAc は全ての細胞にあります。ところが α 型の GlcNAc を含む O-グリカンは、胃と十二指腸にしかないのです。つまり

α 型 GlcNAc はとてもユニークな糖鎖であると考えられます。では、 α 型と β 型ではどこが違うのでしょうか。皆さんも高校時代に勉強されたと思いますが、 α 型と β 型は一番の炭素原子に付く OH の向きが下を向いているのが α 型、上を向いているのが β 型です。たったこれだけの違いですが、 α 型は胃と十二指腸にしかない、 β 型は全ての細胞にあるということになります。次に α 型 GlcNAc とピロリ菌の関係についてお話したいと思います。ピロリ菌は正確にはヘリコバクター・ピロリ (*Helicobacter pylori*) と言います。これは1983年にオーストラリアのロビン・ウォレン (J. Robin Warren) 先生とバリー・マーシャル (Barry J. Marshall) 先生によって、胃液の中から発見されたものです。当時、胃の中に細菌がいるとは誰も考えていなかったのが、これはものすごい大発見でした。この偉大な功績により、後に彼らがノーベル賞を受賞されたことは皆さんよくご存知だと思います。では、このピロリ菌、一体どの位の大きさかと言いますと、長さ約3ミクロン、つまり1,000分の3mmくらいでとても小さいのです。また、螺旋状の形をしており、その端には鞭毛と呼ばれる、くるくる回る毛のようなものがあります。この菌には「ピロリ」というかわいい印象の名前が付いていますが、困ったことに実はほとんどない悪玉菌で、胃潰瘍、胃癌、胃の血液のがんの一種である悪性リンパ腫など、いろいろな胃の病気を起こします。

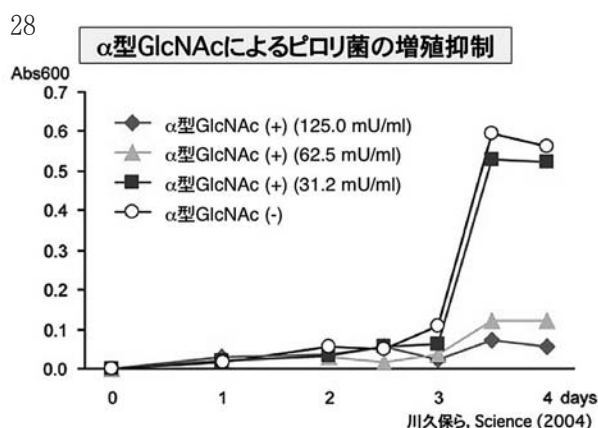
実際のピロリ菌を顕微鏡で見た写真です。皆さん、どれがピロリ菌かわかりますか。これですね。この小さいもの。これが全てピロリ菌です。下にあるのが胃粘膜です。ピロリ菌が無数に胃にくっついておられるのがおわかりかと思いますが、こんなにピロリ菌がいたら、たまったものではありませんね。ピロリ菌は実は世界人口の約半数が感染している、世界最大の感染症とされています。それで今言ったような、胃癌とか胃潰瘍とか様々な病気の原因になっています。しかし、よく考えてみ



ると、感染している方の全てが胃潰瘍とか胃癌になるわけではありません。これはもしかすると胃粘膜にはピロリ菌に対して何らかの防御機構があるのではと考えることができます。私達は糖鎖を研究していますので、もしかしたら胃粘膜に含まれている糖鎖がピロリ菌から胃粘膜を守ってくれていると良いな、とそんなことを思っていました。

もう一度、先程の胃粘膜の写真を示します。繰り返しになりますが、胃粘液には表層粘液と腺粘液の2種類があります。面白いことにピロリ菌は表層粘液内にいて、腺粘液にはいないのです。ピロリ菌が表層粘液にいる理由として、表層粘液には血液型糖鎖が存在しています。具体的に言うと、谷口先生の話にもありましたように、O型の方はH型抗原と呼ばれる糖鎖を持っていますが、ピロリ菌はこのH型糖鎖が大好きで、この糖鎖にくっついて感染します。ですからO型の人は、胃潰瘍になりやすいと言われています。また、ピロリ菌はルイスbと呼ばれる血液型糖鎖も大好きなのです。逆にピロリ菌は腺粘液にはいません。たまたま、腺粘液にはいないのか、あるいは積極的に腺粘液の中では生きていけない様な理由があるのか、もしそうならこの腺粘液には先程お話しした α 型のGlcNAcがありますので、このユニークな糖鎖がピロリ菌に対して何らかの影響をおよぼしているのではと思ったわけです。

そこで、このことを明らかにするため、当研究室の川久保雅友先生らが中心となって α 型のGlcNAcを持つ糖鎖を試験管内で作って、ピロリ菌と一緒に培養してピロリ菌の増殖能や運動能、形態観察を行いました。糖鎖研究が進み、現在は糖鎖の合成が自由にできる素晴らしい時代になっていますので、私達もこういう実験が自由にできるわけです。(28)は α 型GlcNAcとピロリ菌を培養した時の増殖能の変化を示したもので、横軸はピロリ菌の培養日数、縦軸はピロリ菌の菌量を示しています。大腸菌等と比べてピロリ菌の増殖は遅く、だいたい3日間くらいは α 型のGlcNAcがあってもなくても、ほとんど増えないのですが、3日目以降になると α 型のGlcNAcがない時には、菌が増えてきます。ところが驚いたことに α 型のGlcNAcがあると、ピロリ菌の増殖がこのようにガクンと減ったのです。皆さんは風邪を引いた時には、細菌を退治する抗生物質を服用すると思いますが、 α 型GlcNAcはピロリ菌に対して抗生物質のように効いていることがわかったのです。



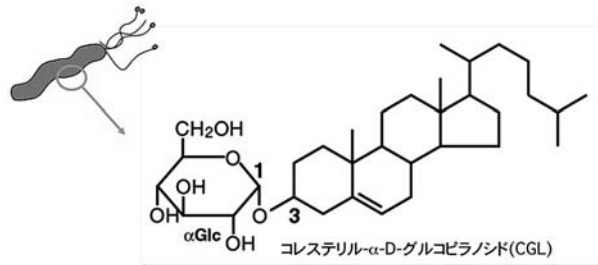
次にピロリ菌の運動速度を調べるために、 α 型GlcNAcの存在下、及び非存在下でピロリ菌を培養し、1秒ごとにコマを切ってピロリ菌の動きを観察しました。そうすると、 α 型GlcNAcがない場合は、1秒間に22 μ mとすごく速く動くのですが、 α 型GlcNAcと一緒に培養すると菌は殆ど動きません。さらに驚いたことに、ピロリ菌の形を電子顕微鏡で見ると、 α 型GlcNAcがない時にはらせん状と通常の形態を示していますが、 α 型のGlcNAcと一緒に培養すると、菌はフランクフルトソーセージの様に長いもの、団子状となったもの、曲がりくねったものと、色々な形の菌が見えたのです。この時は本当にびっくりしました。

ではどうしてこのようなことが起こったのでしょうか。つまり α 型GlcNAcがピロリ菌の増殖を抑制する理由は何故でしょうか。研究はこの様なことを考える時がとても楽しいのです。そこで、私達はピロリ菌の形態変化にその解決の鍵があるのではと考えました。つまり、ピロリ菌を包むように存在している細胞壁に、もしかしたら何かの変化が生じたのではと考えたのです。いろいろな論文を調べていくと、ピロリ菌の細胞壁にはコレステリル- α -Dグルコピラノシドという糖脂質が

含まれているという岡山大学平井義一先生らの論文に注目しました(29)。コレステリル- α -D グルコピラノシド、少し長い名前です。ここではCGLと呼びますが、この糖脂質はコレステロールにグルコースが α 型で結合しているのです。つまり、ピロリ菌は細胞壁にあるCGLを生合成するため、CGL合成酵素の作用によりコレステロールを材料にして、糖ヌクレオチドであるUDP-Glcを利用してCGLができます。皆さんは生化学の講義で教わったことがあると思いますが、一般に酵素反応は生成物質が沢山できると、酵素活性が抑えられ、この現象は最終産物阻害と呼ばれています。そこで私達は腺粘液に含まれている α 型GlcNAcと、ピロリ菌の細胞壁成分であるCGLの α 型Glucoseは構造がよく似ていると考えました。そして、もしかすると α 型GlcNAcはCGL合成酵素の活性を抑えるのではと考えたのです。そこでこの仮説を検証するため、様々な実験を行いました。結論だけを言いますと、予想通り見事に α 型GlcNAcはCGL合成酵素を阻害することが判りました。また、CGLはピロリ菌の生存に重要であることも判ったのです。

29

ピロリ菌の細胞壁に特徴的な
コレステリル- α -D-グルコピラノシド



平井ら, J Bacteriol (1995)

以上をまとめますと、私達の胃粘膜には表層粘液と腺粘液と呼ばれる2種類の粘液が含まれており、後者は α 型GlcNAcというとてもユニークな糖鎖を持っています。一方、ピロリ菌はCGL合成酵素により細胞壁成分であるCGLがつくられますが、CGLがないとピロリ菌は生存できません。 α 型GlcNAcはCGL合成酵素の活性を阻害し、その結果ピロリ菌は死滅させます。つまり、腺粘液細胞から分泌される α 型GlcNAcは、抗生物質のようにピロリ菌に作用し、ピロリ菌感染から胃粘膜を防御していることが判りました。最初にお話したようにピロリ菌は世界人口の約半数に感染していますが、ピロリ菌に感染していても重篤な胃の病気になる人が少ないのはおそらくこの様な理由があるのではと考えています。

谷口先生のお話にもありましたように、ヒトの生命現象の中にはまだまだ判らないことが沢山ありますが、糖鎖研究はヒトの生命現象を理解する上で極めて重要な研究分野です。これからも、一つでも多く、糖鎖の機能を明らかにできればと考えております。

以上です。ご静聴ありがとうございました。

村松/どうもありがとうございました。谷口先生、何か追加しておっしゃりたいことはございますか。

<まとめ>

谷口/中山先生のようなお仕事で、これから薬になる可能性が、当然あるわけですね。そういう研究をされているので、糖鎖創薬と言っていますけれど、そういうものがこれから増えてくるのではないかと思います。

今日はお話ししていませんが、ワクチンですね。いろいろな細菌感染症のワクチンというのは、ほとんど糖関係ですね。ヒブ(Hib)というのを皆さん聞いたことがあると思います。ヒブというのは、肺炎を起こします。子ども達に打っています。あれも実は糖鎖で抗体を作ったりしています。糖鎖創薬と言いますが、あとはグライコニュートリエント(Glyconntrient)の問題は、これからもうちょっとエビデンスがいろいろありますが、今後たぶん、増えてくると思います。