

ガレクチン1が糖タンパク質間を繋ぐ仕組みを再現

～筋ジストロフィーや癌治療の新たな糸口～

ポイント

- ・ガレクチン1がラミニンとジストログリカン糖鎖不全モデル糖ペプチドを架橋することを実証。
- ・ガレクチンが同一タンパク質上（シス）結合からトランス架橋に変化する仕組みの提案に成功。
- ・筋ジストロフィーや癌治療の新戦略に繋がる発見。

概要

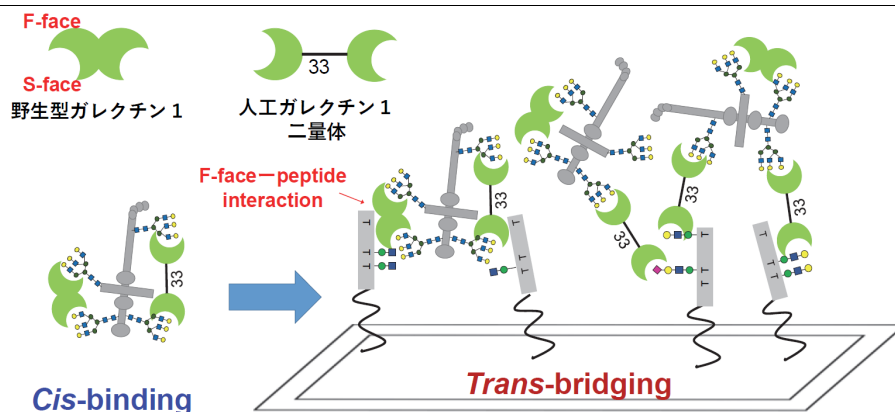
北海道大学大学院先端生命科学研究院の比能 洋教授、相沢智康教授、西村紳一郎教授、及びミュンヘン・ルートヴィヒ＝マクシミリアン大学のハンズ・J・ガビウス教授（故人）、ヘルベルト・カルトナー教授らの研究グループは、筋ジストロフィー*¹の原因となる糖鎖*²不全が生じた糖タンパク質に、ガレクチン1を添加することで、細胞外の成分との相互作用が再生することを示しました。

筋ジストロフィーは、筋肉細胞や神経細胞と、細胞外成分との相互作用が低下して生じる先天性疾患です。特に、ジストログリカノパシーと呼ばれる疾患では、筋・神経細胞の表面に存在する α ジストログリカン*³という糖タンパク質上で、O-マンノース型と呼ばれる糖鎖がうまく形成されません。そのため、 α ジストログリカンと、細胞外成分の一つであるラミニン*⁴との相互作用がうまくいかずに、疾患が起こります。ガレクチン*⁵は、ガラクトースを含む糖鎖に結合しやすいレクチン*⁶の仲間であり、細胞の分化、再生、炎症、免疫、癌など幅広い生命現象を調整しています。

比能教授らの研究グループは、ジストログリカノパシーを起こすような糖ペプチドを合成してライブラリを作成し、ガレクチン類との相互作用を調査しました。その結果、ガレクチン1が、この不完全なO-マンノース型糖鎖を持つ α ジストログリカンと強く相互作用することを発見しました。さらに、ガレクチン1が存在することで、糖鎖が不完全な α ジストログリカンでも、ラミニンとの相互作用が再生することを示しました。

この成果は糖鎖不全筋ジストロフィーに対し、新しい治療戦略を提案するものです。

なお、本研究成果は、2022年10月23日（日）公開のScientific Report誌及び2023年3月10日（木）公開のChemBioChem誌にオンライン掲載されました。



ガレクチン1はF-faceの相互作用を介して糖タンパク質を繋ぐ

【背景】

あらゆる生命体は糖衣と呼ばれる糖鎖パターンを身にまとい、組織や細胞を保護するとともに、識別対象として生命の多様性維持に活用しています。糖タンパク質の糖鎖パターンも生体内におけるタンパク質動態や生体間の免疫や感染制御の場として利用されており、その構造制御及び機能解析技術はバイオ医薬品の開発と品質管理、及び医療現場における迅速検査のためのバイオマーカー^{*7}として重用されています。ガレクチン等のレクチン類は我々の体内の制御因子として様々な生命現象に関与していますが、糖鎖認識機能のみではその高度な生命シグナル制御機構の説明は困難でした。

研究グループは、糖鎖の酵素による生合成工程を模倣した糖鎖自動合成法^{*8}と樹脂などの固相担体上で化学合成反応を繰り返すペプチド自動合成法を融合することにより、学部生や修士課程の学生でも糖ペプチドライブラリ^{*9}を構築できる方法を開発し、この技術を活用した生命科学研究を展開しています。

本研究成果は筋ジストロフィーの原因の一つである α ジストログリカンという糖タンパク質の糖鎖形成不全モデル糖ペプチドライブラリを作成し、このライブラリをマイクロアレイスライド^{*10}上に提示した細胞表面モデルを用いて、その構造活性相関^{*11}を探る研究プロジェクトで得られた成果の一つです。

【研究手法・成果】

糖鎖形成不全に伴う筋ジストロフィーは、細胞膜表面に提示されている α ジストログリカンという糖タンパク質上で発見されたO-マンノース型と呼ばれる糖鎖の形成不全により、細胞外マトリックス^{*12}成分であるラミニンとの相互作用が失われることが原因です。これまで、この相互作用に関与する糖鎖合成関連遺伝子が15個以上見つかり、研究グループはこのO-マンノース型糖鎖合成の最上流に存在する2つの糖転移酵素^{*13}であるprotein O-mannosyltransferase (POMT) 及びprotein O-linked mannose β 1、2-N-acetylglucosaminyltransferase (POMGNT) が合成するコア M1 型と呼ばれる糖鎖構造に着目した糖ペプチドライブラリを合成し、ガレクチン1がこのコア M1 型糖鎖を有する糖ペプチドと強く相互作用することを見出しました。

マイクロアレイを用いた詳細な構造活性相関兼研究、合成糖鎖を用いた競合阻害研究^{*14}、及び¹H-¹⁵N HSQC NMR 解析^{*15}により、ガレクチン1はS-face とよばれるレクチンポケット面で糖鎖を認識し、F-face とよばれる反対面で α ジストログリカンのペプチド部分と相互作用していることが示されました (図 1a、1b)。さらに、ガレクチン1の添加によりラミニンと α ジストログリカン糖ペプチド間の相互作用が回復することを実証しました (図 1c)。

さらに、ガレクチン1とガレクチン3の人工二量体ライブラリを用いてラミニンと α ジストログリカン糖ペプチド間相互作用回復の構造活性相関を調査したところ、ラミニンとガレクチン3は α ジストログリカン糖ペプチドとの架橋構造を形成できないことが実証されました (図 1d)。さらに、人工ガレクチン1二量体はS-face を用いた架橋構造を形成できることを確認しました (図 1c)。

【今後への期待】

これらの研究成果はガレクチン1による糖鎖不全筋ジストロフィーの新しい治療戦略を提案するものです。さらに、本研究は架橋構造形成という組織形成の鍵となるガレクチンの機能を標的とした薬剤探索やその機能制御方法を提案するものです。ガレクチン類は再生医療や癌治療の標的分子として既に盛んに研究が行われており、本研究成果はこれらの分野においても新しい薬剤分子設計や治療戦略を提案するものになると期待しています。

【謝辞】

本研究は科学研究費補助金（22H02191、17K05920、25220206）、JST A-STEP（JPMJTM20JB）、及び JKA 機械振興補助事業（2019M-165）からの支援を受けて実施しました。

論文情報

論文名	Exploring the <i>In situ</i> Pairing of Human Galectins toward Synthetic O-Mannosylated Core M1 Glycopeptides of α -Dystroglycan（合成 O-マンノシル化コア M1 型糖鎖を有する α ジストログリカン糖ペプチドに対するヒトガレクチン類の <i>In situ</i> ペア探索）
著者名	Larena L. Villones Jr. ¹ 、Anna-Kristin Ludwig ² 、久米田博之 ¹ 、菊池星矢 ¹ 、越智里香 ¹ 、相沢智康 ¹ 、西村紳一郎 ¹ 、Hans-Joachim Gabius ² 、比能 洋 ¹ （ ¹ 北海道大学大学院先端生命科学研究院、 ² ミュンヘン・ルートヴィヒ=マクシミリアン大学）
雑誌名	Scientific Report
DOI	10.1038/s41598-022-22758-0
公表日	2022 年 10 月 23 日（日）
論文名	Altering the Modular Architecture of Galectins Affects its Binding with Synthetic α -Dystroglycan O-Mannosylated Core M1 Glycoconjugates <i>In situ</i> （ガレクチン類のモジュール構造が合成 O-マンノシル化コア M1 型糖鎖を有する α ジストログリカン糖ペプチドに対する <i>In situ</i> 相互作用に与える影響）
著者名	Larena L. Villones Jr. ¹ 、Anna-Kristin Ludwig ² 、菊池星矢 ¹ 、越智里香 ¹ 、西村紳一郎 ¹ 、Hans-Joachim Gabius ² 、Herbert Kaltner ² 、比能 洋 ¹ （ ¹ 北海道大学大学院先端生命科学研究院、 ² ミュンヘン・ルートヴィヒ=マクシミリアン大学）
雑誌名	ChemBioChem
DOI	10.1002/cbic.202200783
公表日	2023 年 3 月 9 日（木）

お問い合わせ先

北海道大学大学院先端生命科学研究院 教授 比能 洋（ひのうひろし）

T E L 011-706-9040 F A X 011-706-9042 メール hinou@sci.hokudai.ac.jp

U R L <https://sites.google.com/eis.hokudai.ac.jp/hinou>

配信元

北海道大学社会共創部広報課（〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目）

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

【参考図】

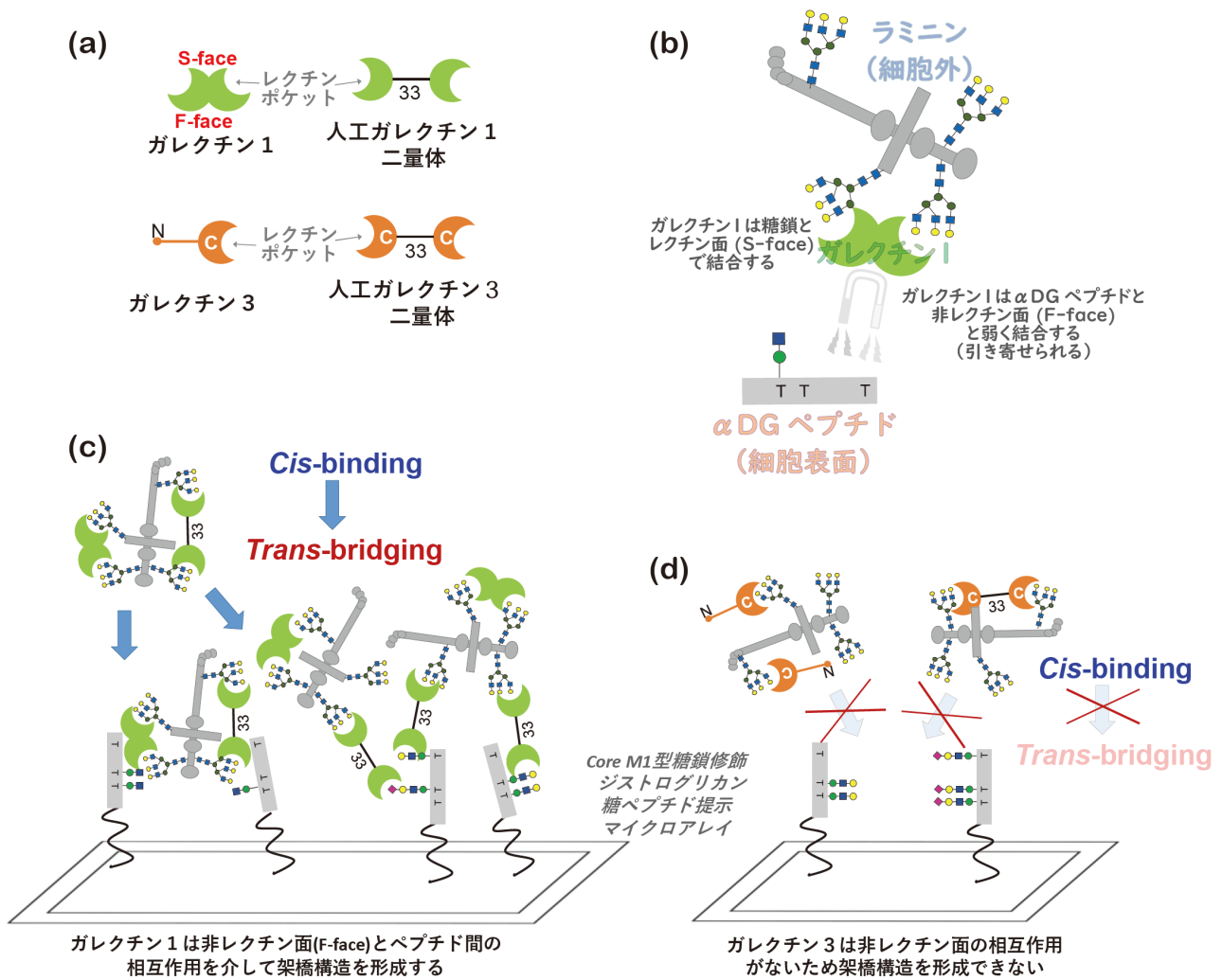


図 1. 非レクチン面 (F-face) の相互作用が架橋構造形成に重要な役割を果たすことを実証

- (a) 実験で使用した野生型ガレクチンと人工ガレクチンの模式図
- (b) 本研究で明らかとなったガレクチン1の F-face と α ジストログリカンペプチドとの相互作用及び、その相互作用がかかると予想される架橋形成時のメカニズム
- (c) ガレクチン1は α ジストログリカンペプチドとの F-face の相互作用を介してシス結合からトランス架橋構造に移行できる
- (d) ガレクチン3は α ジストログリカンペプチドと F-face で相互作用できないため、トランス架橋構造を形成できない

【用語解説】

- *1 筋ジストロフィー … 筋肉の形成と維持機能に障害を生ずる遺伝子疾患の総称。これまでに 50 種以上の原因遺伝子が報告されている
- *2 糖鎖 … 糖が鎖状に繋がった分子、オリゴ糖とも呼ばれる。タンパク質や脂質と結合した複合糖質と呼ばれる状態で存在するものが多く、その構造解析には高度な知識と複雑な前処理工程が必要。
- *3 α ジストログリカン … ラミニンなどの細胞外マトリックスと細胞を繋ぐ細胞表面受容体の一つ。 α ジストログリカン上の成熟 O-マンノース型糖鎖を介してラミニン等と結合する。
- *4 ラミニン … 細胞外マトリックスの主要成分の一つ。細胞外マトリックスと細胞をつなぐ細胞接着機能を担う。高度に糖鎖修飾されており、ガレクチン類とよく結合する。
- *5 ガレクチン … 動物に多く見られガラクトースと結合しやすいレクチンのグループ。発見された順番で番号が付けられている。多彩な生命現象に関与しているが、その機能発現機構は不明点が多い。
- *6 レクチン … 糖(鎖)に結合しやすいタンパク質の総称。酵素や抗体は含まない。
- *7 バイオマーカー … 生物の固有の特徴や疾患などの状態変化の指標となるもの。PCR や抗原抗体反応によるコロナウイルスの診断もコロナウイルスの持つ特徴的な分子配列を指標としている。
- *8 糖鎖自動合成法 … 北海道大学の西村紳一郎教授が考案した、酵素機能と分子量で分子を分ける技術を活用して生体外で均一な糖鎖構造を構築する技術。化学合成した均一な分子上で糖鎖を伸ばしたり切断したりできる。
- *9 糖ペプチドライブラリ … 糖鎖またはペプチドの構造が少しずつ異なる設計の化合物グループ。レクチンや抗体、酵素などが選ぶ分子構造を探し、詳しく決めることができる。
- *10 マイクロアレイスライド … 化合物を少量ずつスライドグラス(透明なプラスチック板でもよい)に並べたもの。糖ペプチドライブラリのような、たくさんの分子の性質を一度に比較解析できる。
- *11 構造活性相関 … 分子やタンパク質の構造とその相互作用の関係性に関する情報。タンパク質の機能や創薬研究などに利用される。
- *12 細胞外マトリックス … 細胞を覆う足場構造、組織形状維持に必須。細胞間質とも呼ばれる。
- *13 糖転移酵素 … リン酸結合などで活性化された糖の結合を転移する(別の分子へ移す)ことにより糖鎖を合成する酵素の総称。英語名ではまず移動先の物質の名前(省略することがある)、次に移動する糖の種類を示し、最後に“transferase”と標記する。
- *14 競合阻害研究 … タンパク質と結合する分子(本研究では合成糖鎖)を調査したい分子と一緒に混ぜることでタンパク質との結合の競争が起きることを利用して、対象タンパク質や対象分子の性質を調べる研究方法。
- *15 ^1H - ^{15}N HSQC NMR 解析 … タンパク質の窒素原子を安定同位体(^{15}N)でラベル化して、 ^{15}N が持つ核磁気共鳴(NMR)という性質を利用して溶液中でタンパク質の構造を分析する方法。他の分子と一緒に解析することにより、その分子がラベル化したタンパク質と結合する場所やタンパク質の構造に与える影響などを予測できる。