

# 糖鎖工学研究の現状と展望

京都大学薬学部 生物化学教室 川崎敏祐

糖といえばグルコース、セルロースなどの植物由来の単糖や多糖あるいは動物体内のグリコーゲンなどを思い浮かべる人が多い。糖の研究はこのように多量にふくまれる成分より始められた。これらの糖は栄養源としてあるいは機械的強度を付与するために欠かせない成分であることはよく知られている。しかし、タンパク質、核酸に次ぐ第三の成分としての糖の役割は実はもっと高次の生命機能の調節にあることが最近しだいに明らかにされてきている。このような働きをもつ糖は多くの場合、タンパク質や脂質と結合して複合分子を形成している。これらの複合分子の糖部分を糖鎖とよび、糖鎖の生物学意義を探りその存在理由を明らかにしようとする研究を糖鎖生物学、また糖鎖の応用面への利用価値を高めていこうとする研究を糖鎖工学と呼んでいる。ここでは最近の糖鎖生物学研究の流れと糖鎖工学の必要性およびその目指すところについて筆者の研究の周辺から考えてみたい。

## 1. 糖鎖構造研究法の確立

糖鎖に限らず、化学構造を解明することはその物質の性質を理解する原点となる。ところが、糖鎖は直鎖状構造を持つタンパク質や核酸と異なり、複雑な枝分れ構造を取り、また、糖鎖非還元末端近傍には本質的に多様性がみられるところから、構造研究は当初困難を極めた。しかし、やがて各種グリコシダーゼ消化とゲル濾過を組み合わせた糖鎖解析方法の開発、糖鎖還元末端の蛍光標識法の開発、HPLCなど分離精製手段の発達、<sup>1</sup>H-NMRやFAB-MSなどの機器分析手段の開発と分析方法の進歩により、いまではかなり少量の試料（1mg以下）について正確な糖鎖構造の決定が可能となってきている。現在の課題は一次構造解析の一層の微量化、迅速化、自動化および高次構造解析法の開発であろう。

## 2. 情報分子としての糖鎖

糖鎖が注目されるようになった最大の理由は糖鎖が情報分子であるという考えが一般に受け入れられ始めたことであろう。今世紀前半にすでに ABO 式血液型を担う物質が糖鎖であることが示されており、また細菌の表面糖鎖が非常に強い免疫原性を示すことなどは比較的古くから知られている。これらの分野を中心とする研究により、糖タンパク質性および糖脂質性の糖鎖抗原の構造が明らかにされ、また、糖鎖の生合成は基本的に糖転移酵素の触媒作用により糖ヌクレオチドを糖供与体とし糖が受容体に一分子ずつ段階的に結合して伸長する方法により行なわれること、これらの糖転移酵素は厳密に遺伝的支配を受けていることなどが明らかにされた。

細胞接着因子としての糖鎖の役割は最近のトピックスの一つである。免疫系における細胞接着因子のうちに動物レクチンの構造を分子内に含む一群の分子がありセレクチンと呼ばれている。白血球のホーミング現象における血管壁内皮細胞との白血球の選択的結合、炎症時における好中球や単核球の集合、活性化された血小板の白血球への結合などに関与することが知られている。これらのレクチンの識別する細胞表面の糖鎖構造は、最近、血液型関連抗原であるシアリルルイス X と呼ばれる四糖およびその類似化合物と同定され注目を集めている。

神経組織は複雑な回路形成を特徴とする。この過程には数々の細胞接着因子の関与が想定されているが、最近、これらの細胞接着因子のいくつかに共通のエピトープ (HNK-1) として硫酸化グルクロン酸という珍しい構造が見いだされている。このエピトープは糖脂質糖鎖の一部として同定されたものであるが糖タンパク質糖鎖の一部にも含まれており細胞接着における本糖鎖の役割の解明が期待されている。

生体膜の成分として微量ながら非常に多様な構造を持つことで知られている糖脂質の分野では、ガングリオシド GQ1b が神経突起増成作用を示すこと、この糖鎖情報は細胞のタンパク質リン酸化機構と関連して変換伝達されることなどの新しい知見が注目されている。また GM3 には細胞増殖抑制作用や分化誘導能があることも示されている。

### 3. 糖鎖認識分子

免疫系は微細な糖鎖構造を見分ける能力を持っている。近年、単クロー

ン抗体作成技術を用いて免疫系による糖鎖識別能力を拡大増幅することにより、ルイス型活性糖鎖など血液型関連の構造をもつ糖タンパク質あるいは糖脂質糖鎖が多数いわゆる癌関連糖鎖抗原としてあるいはまた分化マーカー抗原として同定されている。

糖分解酵素や糖転移酵素などの酵素群も糖認識分子である。神経細胞の接着あるいは受精における卵細胞認識に糖転移酵素あるいは糖分解酵素が関与するなどの研究が活発に行なわれている。

糖鎖受容体として糖結合タンパク質、動物レクチンがある。1970年代の初め見いだされた肝レクチンは、非還元末端にガラクトースあるいはN-アセチルガラクトサミンをもつ糖タンパク質が血清中に現われると、これを素早く捕捉し速やかに血流中より肝細胞に取り込む受容体としての働きを持っている。このような糖鎖依存性エンドサイトーシスの受容体としてマクロファージ表面のマンノース特異的レクチン、フコース特異的レクチン、ガラクトースおよびN-アセチルガラクトサミンに特異的なレクチンなどがある。繊維芽細胞などのマンノース 6-リン酸受容体はリソソーム酵素をリソソーム顆粒へターゲティングするレクチンである。

筆者らの見いだした血清中のレクチンは抗体を介さない異物認識機構を担っている。すなわち、マンナン結合タンパク質（あるいはマンノース結合タンパク質）MBPは糖鎖リガンドに結合すると古典経路を介して補体系カスケードを活性化する。細胞表面に適当な糖鎖を持つ細菌にたいして補体依存的殺菌作用をしめす。本血清レクチンに関しては直接オプソニン様作用を示し多形核白血球への細菌の取り込みを促進する、エイズウイルス（HIV）感染防止作用を示すなどの興味深い知見が得られている。また古くより知られているインフルエンザウイルスにたいする血清中の $\beta$ インヒビターはこのレクチンではないかといわれている。

## 5. 糖質工学への期待

糖質工学の第一の目標は、希望する構造を持つ糖鎖を実用化レベルで調製する技術を確立することであろう。顕著な生物活性を示す糖鎖は比較的 low molecular weight である場合が多いので、これらを人工的に合成することが可能と考えられる。例えば、ヘパリンは血液凝固を遅延させる試薬として古くより

知られていたが、その後の生化学的研究により抗血液凝固活性は実はヘパリンの一部として含まれる特異な構造を持つ硫酸化5糖であることが判明し、現在ではこの5糖が化学的に合成され実用化されようとしている。

酵素を用いて糖鎖を調製する試みとしては以前より糖加水分解酵素の逆反応を利用して2糖などを合成する研究がある。糖転移酵素を用いて糖鎖を用いる合成法も着実な歩みを見せており、すでに一部の糖転移酵素は市販されている。現在、世界中で種々の糖転移酵素のクローニングが進められており、近い将来これらの酵素が比較的安価に入手できるものと期待される。なお、糖転移酵素の利用は基質である糖ヌクレオチドの十分な供給を前提としておりこの方面の開発も同時に進められる必要がある。

現在すでに実用化が進んでいる遺伝子工学、タンパク質工学面からの糖質工学への期待も大きい。遺伝子組換え操作により糖タンパク質を合成する際に有核細胞を宿主に用いるが、同じ遺伝子を用いても使用する細胞により生成する糖タンパク質の糖鎖構造が異なることが知られている。最近の組換えエリスロポエチンの研究での大きな話題となったように、これらの糖鎖はin vivoおよびin vitroでの糖タンパク質の活性に大きく影響を及ぼすためその構造を制御することは非常に大切である。

糖認識タンパク質としての単クローン抗体のうちには癌の血清診断、癌組織のイメージング、ミサイル療法のキャリアーとして癌の治療などに実用化されている例も多い。細胞接着因子としての糖鎖の役割を調節する試薬としても、抗イディオタイプ抗体なども含め新しい糖認識抗体の開発が進められるものと思われる。血清レクチンMBPは生体防御作用を持つ内在性の因子であり、免疫グロブリン製剤のように一種の血清療法として利用することが可能である。

糖鎖特異的なエンドサイトーシス受容体のいくつかは組織あるいは細胞特異的な分布を示すところから、これらを新しい薬物投与技術であるDDS（ドラッグデリバリーシステム）に利用する試みも進められている。