

自己評価報告書

平成 23 年 4 月 25 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2008～2012

課題番号：20249018

研究課題名（和文） アセチルグルコサミン糖鎖サイクルの生体制御機構の解析

研究課題名（英文） Biological Regulation of GlcNAc cycle

研究代表者

谷口 直之（TANIGUCHI NAUYUKI）

大阪大学・産業科学研究所・寄附研究部門教授

研究者番号：90002188

研究代表者の専門分野：生化学

科研費の分科・細目：基礎医学・病態医化学

キーワード：糖鎖、糖ヌクレオチド、糖鎖サイクル、グルコサミン転移酵素、細胞膜受容体、オルガネラ、シグナル

1. 研究計画の概要

糖タンパク質のN結合型糖鎖がもつ糖鎖機能を糖鎖サイクルとして統合的に解析することにより、その生理的、病態的意義を明らかにする。我々はこれまで糖転移酵素の機能に着目してきたが、本研究はGlcNAcに関わる糖鎖サイクルに焦点を絞り、サイクルを形成する分子、1)単糖代謝、2)糖ヌクレオチド、3)糖ヌクレオチド輸送体、4)糖転移酵素、5)細胞膜受容体糖鎖、それぞれの機能を解明し、最終的にそれらを統合的に理解する。

2. 研究の進捗状況

(1) 糖ヌクレオチドの解析

① イオンペア逆相HPLC法の分離条件を最適化し、糖鎖修飾に関わる糖ヌクレオチド（UDP-GlcNAcを含む）とヌクレオチドの一斉分離に世界で初めて成功した。細胞内糖ヌクレオチドの一斉定量が可能になった。

② 癌細胞中のUDP-GlcNAcは正常細胞に比べて有意に高いことを明らかにした。

③ 癌組織種によって癌微小環境における糖ヌクレオチドの低グルコース応答が異なった。膵臓癌細胞株に特異的にUDP-Gal やUDP-GlcNAcが劇的に減少することを見出した。

(2) 単糖代謝の動的追跡

① 上記HPLC法を質量分析計と直結し、更に安定同位体単糖により標識した糖ヌクレオチドを測定するシステムを構築した。MSスペクトルにおける糖ヌクレオチドの同位体分布の継

時的変化から、ヘキソサミン経路、核酸合成経路、解糖系への流れを追跡することに成功した。

② 高グルコース状態に伴う膵臓β細胞株のUDP-GlcNAc合成経路の変化を捉えることに成功した。また膵臓β細胞において特異的なUDP-GlcNAc代謝系の存在も突き止めつつある。

(3) GlcNAc転移酵素異性体の機能解析

① GnT-IVbのKOマウス由来試料の糖鎖解析から、GnT-IVbと他のGnTとの間には、分岐の程度が一定に保つ協調的な活性調節機構があることを見出した。

② In-Vitroや過剰発現系でしか測定できなかったGnT-IX(GnT-Vの異性体)の活性測定法を確立した。

(4) マクロファージの免疫機能におけるGlcNAcサイクル。RAW細胞を低酸素状態に暴露するとβ1-6GlcNAc糖鎖含有糖タンパク質が減少することを見出し、その原因がUDP-GlcNAcの減少、GnT-Vの活性低下など複数の因子により生じることを明らかにした。

3. 現在までの達成度

① 当初の計画以上に進展している。

当初想定していた糖ヌクレオチドの一斉定量法の確立から派生して、本実験系が単糖代謝経路の追跡や糖ヌクレオチド輸送体機能の追跡などにも応用され、糖鎖サイクルを追跡する解析基盤が整いつつある。更にGlcNAc転移酵素の酵素間の活性調節や、UDP-GlcNAcとの

協調的な制御を既に見い出しつつある。

4. 今後の研究の推進方策

(1) 既に確立した糖ヌクレオチドの定量法の高感度化を行う。生化学的或いは細胞生物学的手法を駆使した試料調製法を確立し、糖ヌクレオチド輸送体の機能やゴルジ体における消費速度の計時的測定を試みる。

(2) 癌における糖代謝異常に焦点を絞り、糖ヌクレオチドや糖ヌクレオチド輸送体機能の変化による糖鎖機能を探る。

(3) バイオインフォマティクスによりGlcNAcサイクルの統合的理解を進める。

5. 代表的な研究成果

[雑誌論文] (計 14件)

- ① Shirato K, Nakajima K, Korekane H, Takamatsu S, Gao C, Angata T, Ohtsubo K, Taniguchi N. Hypoxic regulation of glycosylation via the N-acetylglucosamine cycle. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 48(1): 20-25, 2011, 査読有. (総説)
- ② Nakagawa T, Takeishi S, Kameyama A, Yagi H, Yoshioka T, Moriwaki K, Masuda T, Matsumoto H, Kato K, Narimatsu H, Taniguchi N, Miyoshi E. Glycomic analyses of glycoproteins in bile and serum during rat hepatocarcinogenesis. *J. Proteome Res.*, 9(10):4888-4896, 2010, 査読有.
- ③ Korekane H, Matsumoto A, Ota F, Hasegawa T, Misonou Y, Shida K, Miyamoto Y, Taniguchi N. Involvement of ST6Gal I in the biosynthesis of a unique human colon cancer biomarker candidate, alpha2,6-sialylated blood group type 2H (ST2H) antigen. *J. Biochem.*, 148(3): 359-370, 2010, 査読有.
- ④ Takamatsu S, Antonopoulos A, Ohtsubo K, Ditto D, Chiba Y, Le DT, Morris HR, Haslam SM, Dell A, Marth JD, Taniguchi N. Physiological and Glycomic Characterization of N-acetylglucosaminyltransferase -IVa and -IVb Double Deficient Mice. *Glycobiology*, 20(4): 485-97, 2010, 査読有.
- ⑤ Nakajima K, Kitazume S, Angata T, Fujinawa R, Ohtsubo K, Miyoshi E, Taniguchi N. Simultaneous Adetermination of nucleotide sugars with ion-pair

reversed-phase HPLC. *Glycobiology*, 20(7): 865-871, 2010, 査読有.

(他 9件)

[学会発表] (計 9件)

- ① Taniguchi N, Role of "glycan cycles" for understanding the role of glycan in disease, *Ixth International Symposium on "Biochemical Roles of Eukaryotic Cell Surface Macromolecules"*, 2011年1月30日, エスチュアリーアイランドリゾート (トリバンドラム・インド) (招待講演).
 - ② Taniguchi N, Role of N-glycans in disease, *International Symposium: Glyco-biomarker for Cancer: as targets for early diagnosis and therapeutics*, 2011年1月28日, KRIBB (大田市・大韓民国) (招待講演)
 - ③ Nakajima K, Ohtsubo K, Takamiya R, Shirato K, Kitazume S, Angata T, Taniguchi N. Novel Analytical Methods for nucleotide sugar metabolites, *2010 RIKEN Chemical Biology International Symposium*, 2010年10月26日, 理化学研究所 (埼玉県) (招待講演)
 - ④ 谷口直之、Role of glycans in cancer (がん と糖鎖) *第69回日本糖学会学術総会*, 2010年9月24日、大阪国際会議場/リーガロイヤルホテル大阪 (大阪府) (招待講演)
 - ⑤ Taniguchi N, Significance of Nucleotide Sugar Metabolism for Understanding Functional Glycomics by Using Ion-Pair Reversed-Phase HPLC and LC-ESI-MS, *HUPO 2010 World Congress*, 2010年9月20日, コンベンションアンドエキシビジョンセンター (シドニー・オーストラリア)
- (他 4件)

[図書] (計 1件)

- ① Nakano M, Kakehi K, Taniguchi N and Kondo A, Human Press, **Capillary Electrophoresis of Carbohydrates**, Capillary Electrophoresis and Capillary Electrophoresis-Mass Spectrometry for Structural Analysis of N-Glycans Derived from Glycoproteins, 2011, pp.205-235.