

機関番号：31305

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23651196

研究課題名(和文)肝再生は糖鎖で決まる

研究課題名(英文)Liver regeneration is dependent on sugar chain

研究代表者

顧 建国 (Gu, Jianguo)

東北薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：40260369

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円、(間接経費) 810,000円

研究成果の概要(和文)：生体肝移植が盛んに行われているが、高齢化社会の進行に伴うドナーの高齢化による肝臓の再生不全が大きな問題になりつつある。肝再生メカニズムに関しては、多くの液性因子に注目して精力的な研究が進められてきたが、その調節分子メカニズムは十分には解明されていない。本研究では、1,6フコース糖鎖の発現は肝細胞の増殖能に寄与し、その分子機序を明らかにした。更にL-フコース補充療法による肝再生の促進が確認された。

研究成果の概要(英文)：The expression of alpha1,6-fucosyltransferase (Fut8) and its products (alpha1,6-fucosylated N-glycans) are known to be elevated in both liver and serum during the process of hepatocarcinogenesis (HCC). However, the regulatory mechanism of high Fut8 expression in HCC progression remains poorly understood. In fact, cell proliferation plays a crucial role in the process of liver regeneration. Therefore, to examine effects of Fut8 on cell growth in vivo, we performed a partial hepatectomy on wild type and Fut8 knockout mice to induce liver regeneration. Interestingly, the speed of liver regeneration in Fut8 knockout mice was significantly slower than that in wild-type mice. Interestingly, an oral administration of L-fucose significantly accelerated liver regeneration of the Fut8-hetero mice, but did not affect the sham mice. These results further suggest that Fut8 and its products are important for cell proliferation in liver regeneration.

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ゲノム科学・ゲノム医科学

キーワード：1,6フコース Fut8 liver regeneration

1. 研究開始当初の背景

近年、生体肝移植が盛んに行われているが、高齢化社会の進行に伴うドナーの高齢化による肝臓の再生不全が大きな問題になりつつある。肝再生メカニズムに関しては、HGFをはじめとする多くの成長因子やサイトカインなどの肝再生促進因子やTGF- β などの肝細胞増殖抑制因子に注目して精力的な研究が進められてきた。しかし、その調節分子メカニズムは十分には解明されていない。その一因として、肝再生因子の受容体や肝再生因子自身も糖タンパク質であるにもかかわらず、糖鎖修飾による機能変化に注目した研究がほとんど行われていないことが考えられる。糖鎖修飾は複雑であるためこれまでは敬遠されがちであったが、実はタンパク質への糖鎖修飾はそのタンパク質の機能を考える上で非常に重要である。申請者らは、N-結合型糖鎖のリモデリングによって、受容体の機能が激変すること、また、受容体上の特定の糖鎖構造がその発現や機能を制御することを証明してきた。

これまで、申請者らは、1,6 フコースの生理機能を調べるため、その触媒酵素である Fut8 の欠損マウスを作製し、機能解析を行った。その欠損マウスに見られた肺気腫様の組織変化は TGF- β 受容体や VEGF 受容体の機能低下に起因するという分子メカニズムを明らかにした (PNAS. 102: 15791-6, 2005; JB.145: 643-51, 2009)。また、細胞増殖と深く関わる EGFR の機能発現にも Fut8 による修飾が必要であることも明らかとなった (JBC 281: 2572-7, 2006)。一方、肝がんにおいては 1,6 フコースの発現は上昇

すると報告されたが、その意義に関しては全く不明である。また、正常の肝実質細胞においては Fut8 の発現が低いため、Fut8 と肝細胞増殖との関連性についての研究は全く行われてこなかった。

2. 研究の目的

肝再生に関しては臨床との関連性が高いことなどから、精力的な研究が進められているが、肝細胞の増殖における分子調節メカニズムは十分には解明されていない。その一因として、肝再生因子の受容体が糖タンパク質であるにもかかわらず、糖鎖修飾による機能変化に注目した研究がほとんど行われていないためと考えられる。本研究では、糖鎖修飾による受容体の機能変化による肝再生の制御という新しい視点から、部分肝切除後の糖鎖変化および肝再生における糖鎖の役割を明らかにし、糖鎖を用いた肝再生の促進療法の開発を行う。本研究を通じて、肝再生の過程において、どの細胞またはどのシグナル伝達経路が重要であることを明らかにする。また、Fut8 ヘテロ欠損マウスを利用して、L-フコースを投与することによって肝再生が促進されれば、臨床的にも応用可能となる。

3. 研究の方法

肝再生における Fut8 およびその産物である 1,6 フコース糖鎖の機能を明らかにするため、部分肝切除後の肝再生過程における Fut8 の役割を検討すると同時に、肝臓における Fut8 発現細胞の同定および 1,6 フコース糖鎖付加と受容体の機能解析を行う。また、加齢における肝再生の機能低下と 1,6 フコース減少との関係を検討し、Fut8 ヘテロ欠損マウスを用いて L-フコースの投与によって低下した肝再生能の改善が見られるかを検

討する。

- (1) 部分肝切除後の肝再生過程における Fut8 の役割
- (2) 糖鎖付加と受容体の機能解析
- (3) 肝再生能の低下と 1,6 フコース減少の関係検討
- (4) N-diethylnitrosamine(DEN) を用いた化学誘導性肝がん過程における Fut8 の役割

4. 研究成果

(1) 申請者は、1,6 フコースは肝細胞の増殖に重要な役割を果たしているとの仮説を立て、本研究グループしか持っていない Fut8 欠損マウスを用いて検証した。その結果、野生型のマウスに比べ Fut8 欠損マウスの肝再生機能が有意に低下することを見出した。さらに、Fut8 ヘテロ欠損マウスにおいても肝再生能が低下していた。面白いことに、肝再生の初期(5日)では、Fut8 の発現が有意に誘導されたのに対して、後期(7日以降)ではその発現が元のレベルに戻った(Wang, Y., et al. 投稿中)。それらの結果から、Fut8 発現は、肝再生に重要であることが強く示唆された。

(2) Fut8 欠損および野生型マウスから分離した肝実質細胞に対して、EGF・HGF・TGF- β などで刺激を行い、EGFR・c-Met・TGF-R の活性化を比較した。その結果、Fut8 欠損細胞においた活性化が、野生型細胞に比べ何れも低下していた。それらの現象は Fut8 を欠損させた肝がん HepG2 細胞でも確認された。

(3) 全身性の Fut8 欠損マウスより軽度であるが、ヘテロ欠損マウスでも部分肝切除後の肝再生の遅延が観察されている。ヘテロ欠損マウスは完全な Fut8 遺伝子を持っているものの量は半分になっ

ており、1,6 フコース糖鎖の量も低下している。このような全身性または肝実質細胞特異的 Fut8 ヘテロ欠損マウスは、ヒトで見られる老化による肝再生能の低下を mimic する可能性がある。そこで、L-フコースの経口投与によって低下した肝再生能が改善された。

(4) DEN を用いた化学誘導性肝がんの実験モデルマウスでは、野生型に比べ Fut8 欠損マウスの肝がん誘発が著しく抑制されることを見出した。

以上の結果は、初めて Fut8 の発現が肝細胞の増殖に直接に寄与することを証明した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 6 件)

(1) Core fucosylation of mu heavy chains regulates the assembly of precursor B cell receptors and its intracellular signaling. Li, W., Liu, Q., Pang, Y., Jin, J., Wang, H., Cao, H., Li, Z., Wang, X., Ma, B., Chi, Y., Wang, R., Kondo, A., Gu, J. and Taniguchi, N. *J Biol Chem.* 287:2500-2508, 2012

(2) α 1,6-Fucosylation regulates neurite formation via the activin/phospho-Smad2 pathway in PC12 cells: the implicated dual effects of Fut8 for TGF- β /activin-mediated signaling. Gu, W., Fukuda, T., Isaji, T., Hashimoto, H., Wang, Y and Gu, J. *FASEB J.*, 27:3947-3958, 2013

[学会発表](計 8 件)

(1) 1,6-fucosylation and its relationship with diseases, 顧建国 北京大学化学研究所セミナー、北京、2013年6月

(2) 肝臓がん形成および肝再生における

1,6 フコシル化の重要性、王玉琴、福田友彦、顧威、伊左治知弥、三善英知、顧建国、第7回東北糖鎖研究会、新潟、2013年9月

〔図書〕(計 3 件)

1,6-Fucosyltransferase 欠損マウスに見られた統合失調症様行動とその解析、顧建国、谷口直之、福田友彦、実験医学 (羊土社) 2013年6月 P34-39.

6 . 研究組織

(1)研究代表者

顧 建国 (Gu, Jianguo)

東北薬科大学・薬学部・教授

研究者番号 : 40260369

(2)研究分担者

福田 友彦 (Fukuda, Tomohiko)

東北薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号 : 40433510