

酵素受け渡しによるがん関連糖鎖の新たな改変機構を解明 ～がん細胞は糖鎖合成酵素 GnT-V を小胞に乗せて分泌する～

【本研究のポイント】

- ・糖鎖合成酵素 GnT-V が作る糖鎖は、がんの進行に関わることが知られている。
- ・がん細胞が放出する細胞外小胞には GnT-V が多く含まれている。この小胞を受け取った細胞に GnT-V が受け渡されると、その細胞の糖鎖ががんタイプに改変されることがわかった。
- ・糖鎖の新たな改変機構とがん進行機構への解明が期待される。

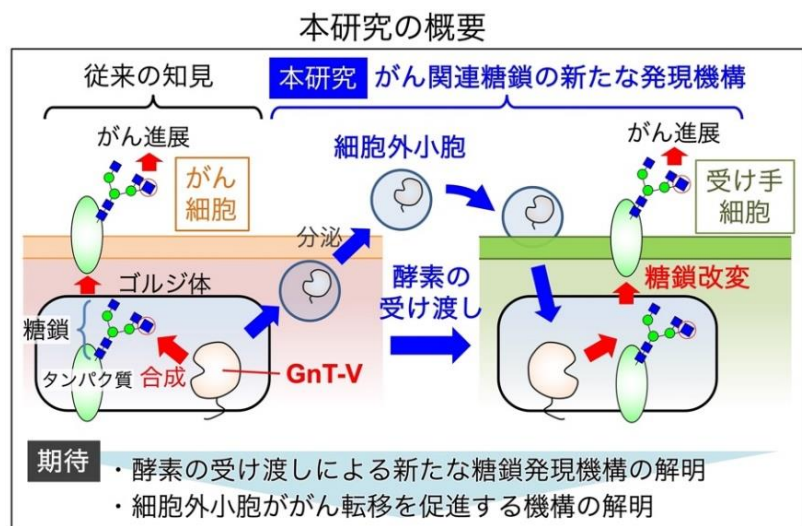
【研究概要】

国立大学法人東海国立大学機構 岐阜大学糖鎖生命コア研究所の木塚康彦教授らの研究グループは、同研究所鈴木健一教授、大阪国際がんセンターとの共同研究で、がんに関わる糖鎖が作られる新たな仕組みを発見しました。

GnT-V は糖鎖を作る酵素で、作られた糖鎖はがんを進行させることが知られています。本研究で、GnT-V はがん細胞が放出する細胞外小胞に存在しており、この小胞がそのまま別の細胞に受け渡されることがわかりました。小胞を受け取った細胞は、GnT-V が作るがんタイプの糖鎖を新たに作るようになることから、小胞上の酵素の受け渡しを介して細胞の糖鎖が改変されることが明らかになりました。

本研究は、糖鎖の合成を調節する新たなメカニズムの解明や、細胞外小胞を介してがんが進展するメカニズムの解明への貢献が期待されます。

本研究成果は、2022年12月5日付（現地時間）で、国際学術誌『iScience』に掲載されました。

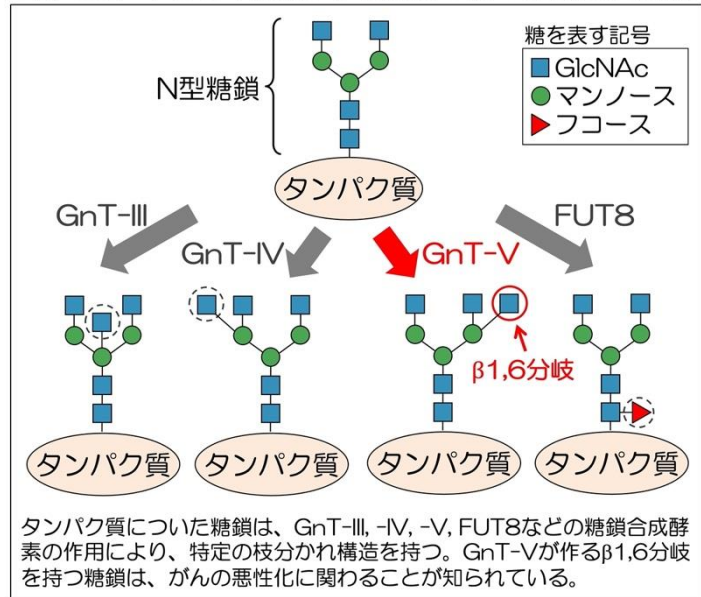


【研究背景と内容】

糖鎖とは¹⁾、グルコースなどの糖（動物では約 10 種類の糖が存在）が枝分かれしながら鎖状につながったもので、多くはタンパク質や脂質などに結合した状態で存在しています。動物では、体内の半数以上のタンパク質に糖鎖がついていると考えられています。タンパク質についている糖鎖にはさまざまな形のものがあり、タンパク質ごとに形が異なることや、同じタンパク質でも、健康なときと病気のと看とで糖鎖の形が変化することが知られています。こうした疾患特異的な糖鎖の変化は、実際に医療の現場でがんの診断などに使われています。また、特定の糖鎖が、糖尿病、がん、アルツハイマー病などさまざまな疾患の発症や進行に重要な役割を果たすことから、糖鎖を標的とした新たな治療薬の開発が期待されています。

タンパク質につく糖鎖は、細胞の中で糖転移酵素²⁾（糖鎖合成酵素）と呼ばれる酵素の働きによって作られます。180 種類ほど存在しているヒトの糖転移酵素のうち、GnT-V³⁾などの酵素は、細胞の中で、タンパク質についた N 型糖鎖⁴⁾と呼ばれる糖鎖に作用し、糖鎖の特定の枝分かれ構造を作ります（図 1）。特に、GnT-V が作る β 1,6 分岐構造を持った糖鎖は、さまざまながんでその量が増大し、GnT-V 欠損マウスでがんの増殖・転移が抑制されることから、

図1. GnT-Vなどの酵素が作る糖鎖の様々な枝分かれ構造



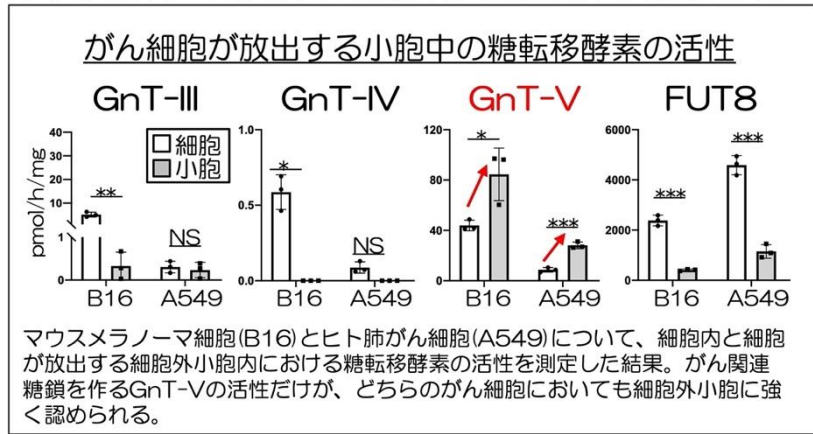
がんの進行・転移などに関わることが知られています。さらに、GnT-Vが多いがん患者では予後が悪くなる傾向を示すことなどから、GnT-V はがんの治療標的の一つと考えられています。その一方で、GnT-V が作る糖鎖ががんで増える仕組みや、がんの転移に関わる詳細な分子メカニズムについてはまだ十分にはわかっていません。

近年、細胞が分泌するエクソソーム⁵⁾などの細胞外小胞⁶⁾にさまざまな生体分子が含まれており、それらの小胞が別の細胞に取り込まれることで生体分子が受け渡され、細胞同士が情報を伝達していることがわかってきました。この情報伝達の仕組みは、がんの転移にも深く関わると考えられています。一方、細胞外小胞を介した情報伝達と糖鎖の発現制御の関係はまだほとんどわかっていません。そこで、木塚教授らは、細胞外小胞に糖転移酵素が含まれ、それによって小胞を受け取った細胞の糖鎖が改変されるという、新たな糖鎖発現メカニズムがあるのではないかと仮説を立て、その可能性を検証しました。

まず、がん細胞が放出する細胞外小胞を集め、その細胞とそこから放出される小胞とで、それぞれの中に含まれる糖転移酵素の活性を測定しました。その結果、GnT-III、GnT-IV、FUT8 といった糖転移酵素の活性は、細胞中には含まれていましたが、それに

比べて細胞外小胞に含まれる量は極めて少ないことがわかりました。一方、がん関連糖鎖を作る GnT-V では、調べた全てのがん細胞において、細胞中よりも小胞中に高い活性が検出されました(図 2)。このことから、がん細胞が放出する細胞外小胞には糖転移酵素が存在し、特に GnT-V が多く含まれていることがわかりました。

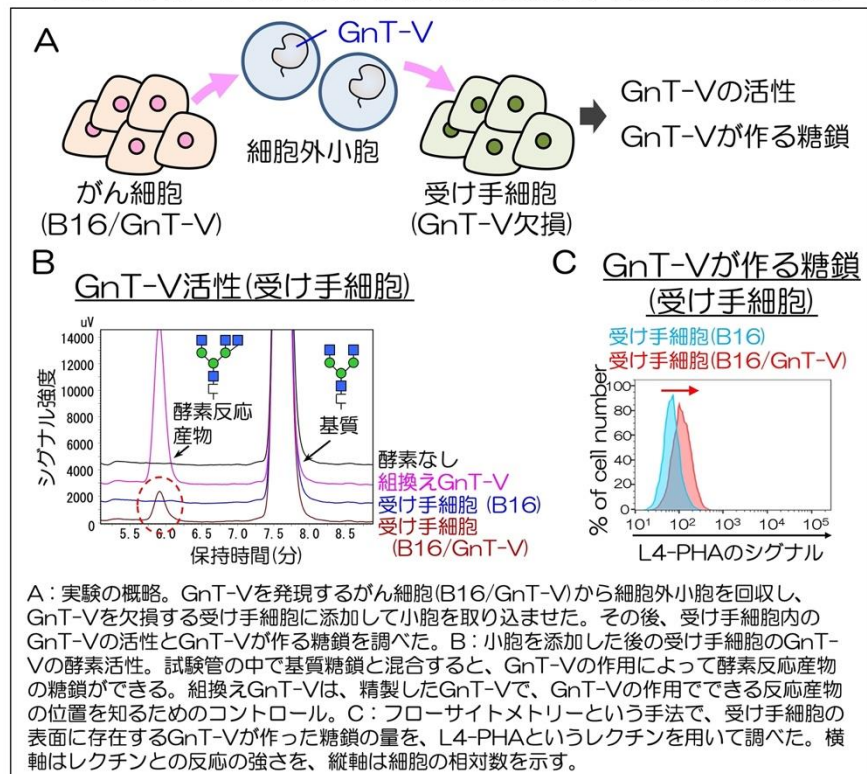
図2. GnT-Vはがんの放出する細胞外小胞に存在



次に、GnT-V を含む細胞外小胞が別の細胞に取り込まれることによって、GnT-V が細胞間で受け渡されるかどうか調べました。GnT-V を産生するがん細胞 (B16/GnT-V) から分泌される細胞外小胞を回収し、これを GnT-V を欠損させた別の細胞に取り込ませました(図 3A)。その後、小胞を受け取った細胞の GnT-V の酵素活性を調べたところ、小胞を受け取っていない細胞や、GnT-V 量が少ない細胞(B16)由来の小胞を受け取った細胞では、GnT-V の酵素活性は検出されませんでした。一方で、GnT-V 量が多いB16/GnT-V 由来の小胞を受け取った細胞では、GnT-V の酵素活性が検出されることがわかりました(図 3B)。このことから、がん細胞が分泌する小胞の中の GnT-V は、別の細胞に受け渡された後も活性を保っていることがわかりました。

さらに、GnT-V を含む小胞を受け取った細胞の糖鎖ががんタイプの糖鎖に変化しているかどうかを、レクチン⁷⁾を用いたフローサイトメトリー⁸⁾という手法によって調べました。L4-PHA⁹⁾は、

図3 GnT-Vを含む小胞による受け手細胞の糖鎖改変



GnT-V がつくる糖鎖と特異的に結合するレクチンであり、このレクチンとの結合の強さを見ることで、GnT-V が細胞内でどの程度糖鎖を作っているのかを調べることができます。その結果、B16/GnT-V 由来の小胞を受け取った細胞では、L4-PHA との結合性が増加し(図 3C)、GnT-V が作る糖鎖の量が増えていることがわかりました。

これらのことから、がん細胞が分泌した細胞外小胞に存在する GnT-V は、活性を保ったまま別の細胞に取り込まれ、その細胞内で新たに元のがん細胞と同じタイプの糖鎖を作る可能性が示されました。

【成果の意義】

本研究により、糖転移酵素が小胞を介して別の細胞に受け渡されることがわかりました。本発見は、糖転移酵素が取り込まれた先の細胞で活性を発揮し、細胞の糖鎖を改変する可能性を示しており、これまで知られている直接的な遺伝子発現を介さない、「酵素タンパク質獲得型」とも言える新たな糖鎖改変機構の存在を示唆しています。さらに、GnT-V が作る糖鎖はがんの転移と密接な関係があることから、本研究で明らかになった仕組みは、糖鎖ががん転移を制御する仕組みの解明にも貢献することが期待されます。

【研究支援】

本研究は、平成 30 年度から始まった科学技術振興機構 (JST) の戦略的創造研究推進事業 CREST 課題『高精度 1 分子観察によるエクソソーム膜動態の解明』(JPMJCR18H2) の支援のもとで行われたものです。

【用語説明】

- 1) 糖鎖：グルコース(ブドウ糖)などの糖が鎖状につながった物質。遊離の状態で存在するものもあれば、タンパク質や脂質に結合した状態のものもある。デンプン、グリコーゲンなどの多糖は数多くの糖がつながり、糖鎖だけで遊離の状態で存在する。一方タンパク質に結合したものは、数個から 20 個程度の糖がつながったものが多い。糖鎖が結合したタンパク質を糖タンパク質と呼ぶ。
- 2) 糖転移酵素：糖鎖を合成する酵素のことで、ヒトでは 180 種類程度存在することが知られている。主に、細胞の中のゴルジ体と呼ばれる小器官に存在している。
- 3) GnT-V：糖鎖を合成する酵素(糖転移酵素)の一つで、細胞の中に存在し、 β 1,6 分岐という糖鎖の枝分かれ構造を作る。GnT-III、GnT-IV、FUT8 は、N 型糖鎖の中の別の分岐構造を作る酵素。
- 4) N 型糖鎖：タンパク質につく糖鎖の種類の一つで、タンパク質のアスパラギン残基(アミノ酸の 1 文字表記で N)に結合している。ヒトでは 7,000 種類以上のタンパク質が N 型糖鎖を持つと考えられている。
- 5) エクソソーム：細胞外小胞の一つで 100 nm 程度の直径を持つ。テトラスパニンなどのタンパク質を多く含み、主に細胞内のエンドソームと呼ばれる小器官で生まれ、細胞外へと分泌される。受け手細胞に取り込まれることで生体分子を細胞間で伝達し、がんの転移などに関わると考えられている。
- 6) 細胞外小胞：細胞が分泌する小胞で、サイズの異なるさまざまな種類が知られている。エクソソームもその一つ。エクソソームなどのサイズが小さな小胞を特

に、Small extracellular vesicle を略して、sEV と呼ぶ。

- 7) レクチン：さまざまな糖鎖や糖と選択的に結合するタンパク質の総称。糖鎖と結合するタンパク質であっても、抗体はレクチンに含まれない。ヒトの体内のレクチンは、先天性免疫などに重要な役割を果たす。植物などから精製したレクチンが、糖鎖を検出する試薬として研究に用いられる。
- 8) フローサイトメトリー：細胞を1列に並べて順次レーザーを当て、個々の細胞が持つ蛍光の強さを調べる手法。本研究では、蛍光標識したレクチンを用い、レクチンと細胞との結合の強さを調べている。
- 9) L4-PHA：インゲンマメレクチンの一つ。GnT-V が作る枝分かれ構造を持った N 型糖鎖と結合する。類似したインゲンマメレクチンである E4-PHA は、別の糖転移酵素である GnT-III が作る N 型糖鎖の枝分かれ構造と結合することが知られている。

【論文情報】

雑誌名：iScience

論文タイトル：*N*-Acetylglucosaminyltransferase-V (GnT-V)-enriched small extracellular vesicles mediate *N*-glycan remodeling in recipient cells

著者：Tetsuya Hirata, Yoichiro Harada, Koichiro M. Hirosawa, Yuko Tokoro, Kenichi G. N. Suzuki, Yasuhiko Kizuka (下線は本学教職員)

DOI: 10.1016/j.isci.2022.105747

【研究者連絡先】

東海国立大学機構 岐阜大学糖鎖生命コア研究所

教授 木塚 康彦 (きづか やすひこ)

TEL : 058-293-3356 FAX : 058-293-3209

E-mail : kizuka[at]gifu-u. ac. jp

【報道連絡先】

東海国立大学機構 岐阜大学総務部総務課広報グループ

TEL : 058-293-3377 FAX : 058-293-2021

E-mail : kohositu[at]gifu-u. ac. jp

科学技術振興機構 広報課

TEL : 03-5214-8404 FAX : 03-5214-8432

E-mail : jstkoho[at]jst. go. jp

【JST 事業に関すること】

科学技術振興機構 戦略研究推進部 ライフイノベーショングループ

保田 睦子 (やすだ むつこ)

TEL : 03-3512-3524 FAX : 03-3222-2064

E-mail : crest[at]jst. go. jp