

Press Release(R2/4/30)

糖鎖合成酵素 FUT8 が働く新しい仕組みを発見 ゴルジ体で働く糖鎖合成酵素は細胞表面にも存在

岐阜大学高等研究院 生命の鎖統合研究センター（G-CHAIN）の木塚康彦准教授（東海国立大学機構 糖鎖生命コア研究拠点を兼任）、自然科学技術研究科1年の富田晟太さん（研究当時は応用生物科学部4年）、広島大学大学院統合生命科学研究科の中ノ三弥子准教授らのグループは、がんや慢性閉塞性肺疾患（COPD）などに関係の深い糖鎖合成酵素 FUT8 が細胞内で働く新しい仕組みを発見しました。従来、糖鎖合成酵素は細胞内のゴルジ体に存在すると考えられてきましたが、FUT8 がゴルジ体に加えて細胞表面にも存在することや、FUT8 の活性を制御する新しいタンパク質を発見しました。これらの知見は、ゴルジ体で働く糖鎖合成酵素の制御の仕組みについて新たな考え方をもたらすと期待されます。

本研究成果は、日本時間 2020 年4月30日に米国の国際誌 Journal of Biological Chemistry 誌のオンライン版で発表されました。

【発表のポイント】

- FUT8 が細胞内で作るコアフコースと呼ばれる糖鎖は、がんや COPD の発症・進行と関係している。
- FUT8 はゴルジ体にのみ存在すると思われていたが、細胞表面にも存在している。
- RPN1 は FUT8 と結合するタンパク質で、FUT8 の活性を正に制御している。
- FUT8 の細胞表面への局在や RPN1 との結合には、FUT8 中の SH3 ドメインが必要である。
- 不明な点が多い細胞内での糖鎖合成の仕組みの解明や、その医療応用につながることを期待される。

【概要】

糖鎖¹⁾とは、ブドウ糖などの糖（動物では約 10 種類の糖が存在）が鎖状につながったもので、タンパク質や脂質などに結合して存在しています。動物では、半数以上のタンパク質に糖鎖が付いています。コアフコース²⁾は、タンパク質に付いた糖鎖の構造の一つで、FUT8³⁾と呼ばれる酵素によって作られます。FUT8 が作るコアフコースは、免疫機能や神経機能に必須であり、さらに COPD（慢性閉塞性肺疾患）⁴⁾ やがんなどの疾患の発症・進行と深い関係があることがわかっています。その一方で、FUT8 が細胞内でコアフコースを作る過程がどのように制御されているかはまだ不明な点が多く残されています。

これまで、FUT8 などの糖転移酵素⁵⁾（糖鎖合成酵素）は、細胞内のゴルジ体⁶⁾に存在すると思われてきました。本研究で FUT8 の細胞内での局在を調べたところ、従来考えられていたゴルジ体に加えて、細胞表面にも存在することが分かりました。さらに、FUT8 と結合するタンパク質として RPN1⁷⁾を新たに同定し、RPN1 が FUT8 の細胞内での活性を高めていることも明らかになりました。また、FUT8 は他の糖転移酵素にはない SH3 ドメイン⁷⁾と呼ばれる領域を持っており、FUT8 の細胞表面への局在や RPN1 との結合には、この SH3 ドメインが必要であることも分かりました。以上の結果は、FUT8 の新しい制御の仕組みを明らかにしたものであり、細胞内で糖鎖が作られるメカニズムの解明へつながると期待されます。

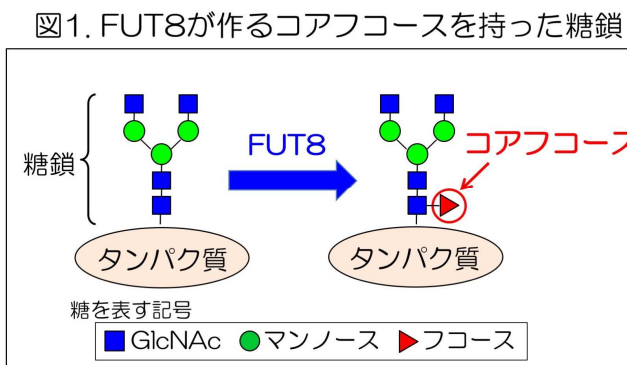
【研究内容】

タンパク質に付いている糖鎖には様々な形のものがあり、タンパク質ごとに形が異なります。また疾患や刺激に応じて糖鎖の形は変化します。こうした糖鎖の変化は、バイオマーカー⁸⁾として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、マウスにおいて特定の形の糖鎖をなくしたり増やしたりすると、アルツハイマー病、がん、COPD（慢性閉塞性肺疾患）といった疾患に似た症状を引き起こしたり、これらの病態を改善させることが知られています。このように、様々な形の糖鎖が体の中で働いており、その量や形の変化が疾

患に深く関わることがわかっています。一方で、糖鎖の形が変化する仕組みはまだあまりよくわかっていない点が多いことから、この仕組みを解明することによって、糖鎖を標的とした医療への応用が期待できます。

タンパク質に付く糖鎖は、細胞の中で糖転移酵素と呼ばれる酵素の働きによって作られます。糖転移酵素はヒトでは180種類ほど存在しており、主に細胞の中のゴルジ体と呼ばれる小器官で働いています。糖転移酵素はほぼ全ての遺伝子が明らかにされましたが、個々の酵素の活性が細胞内でどのように調節されているのかはまだあまりよくわかっていません。

FUT8は糖転移酵素の一つで、コアフコースと呼ばれる形の糖鎖をタンパク質に付ける働きがあります(図1)。コアフコースは私たちの体を持つ様々な生理機能や、多くの疾患と深く関わっています。例えば、FUT8を欠損するマウスでは、学習能力、免疫機能、肺の機能が低下することがわかっています。また、メラノーマや肝がんなどのがんの発症や進行にコアフコースが関わることも報告されています。さらに、現在がんやリウマチなどの治療で広く用いられる抗体医薬品⁹⁾にもコアフコースがついており、コアフコースを除いた抗体医薬品ではその活性が数十倍程度上昇することがわかっています。このように、生理的な機能や疾患と関わりの深いFUT8に関しては、コアフコースをつくる酵素であることはわかっているものの、FUT8の活性が細胞内でどのように制御されているかはあまりよくわかっていませんでした。



木塚准教授らは、細胞内でのFUT8の制御の仕組みを明らかにするため、まずFUT8の細胞内の局在を詳細に調べたところ、ゴルジ体に加えて細胞表面にも存在していることを新たに見出しました(図2上段)。従来、FUT8を含む多くの糖転移酵素はゴルジ体のみ存在すると考えられており、細胞表面での存在はほとんど知られていません。木塚准教授らは、このFUT8に特有の細胞表面局在を可能にするメカニズムを明らかにするため、FUT8が持つ特徴的なSH3ドメイン¹⁰⁾と呼ばれる領域に着目しました(図3)。SH3ドメインは、主に細胞質¹¹⁾でタンパク質同士の結合に関わることで情報伝達を行う領域で、糖転移酵素ではFUT8にしか存在していません。SH3ドメインのみを欠損させたFUT8を細胞に発現させたところ、ほぼゴルジ体のみ局在し、細胞表面への局在が大きく低下したことから(図2下段)、FUT8の特徴的な細胞表面局在には、FUT8の中にあるSH3ドメインが不可欠であることがわかりました。

図2. FUT8の細胞内の局在

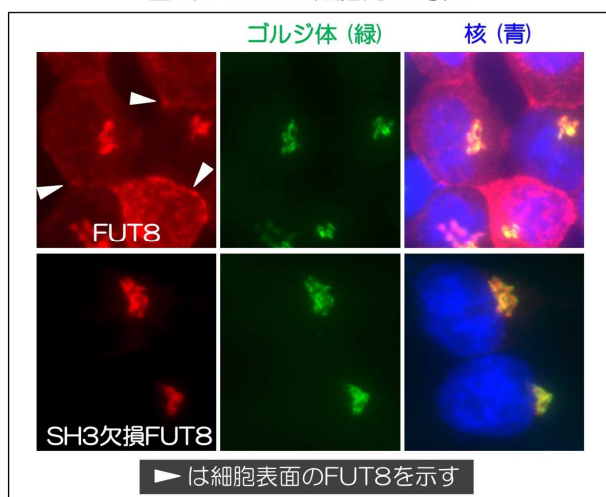
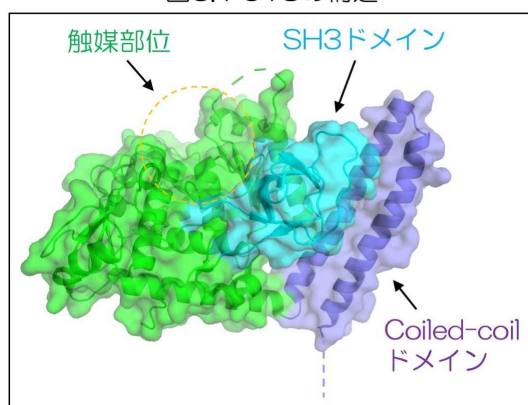


図3. FUT8の構造



次に、FUT8の細胞内局在や活性を制御するタンパク質を探索したところ、新たにFUT8と結合するタンパク質としてRPN1を同定しました。RPN1は、小胞体¹²⁾に存在するオリゴ糖転移酵素複合体¹³⁾を構成するタンパク質で、これまでゴルジ体の糖転移酵素との関わりは知られていません。RPN1の発現を低下させた細胞を調べたところ、FUT8の酵素活性が低下し(図4)、作られるコアフコースの量も低下しました。さらに、FUT8とRPN1との結合には、FUT8のSH3ドメインが欠かせないこともわかりました。これらの結果から、RPN1はFUT8の活性を正に調節していることがわかりました。

【今後の展開】

本研究により、これまでゴルジ体のみ存在すると考えられてきた糖転移酵素 FUT8 が細胞表面にも存在すること、RPN1 と呼ばれるタンパク質と結合して活性を高めていること、細胞表面への局在や RPN1 との結合には FUT8 の中に存在する SH3 ドメインが必要なこと、がわかりました。一方、FUT8 が細胞表面に存在することの意義や、RPN1 との結合によりなぜ酵素活性が高まるのか、といったことはまだ明らかになっていません。FUT8 が作るコアフコースはがんや COPD と深い関連があることから、これら未解決の疑問を今後解明することによって、関連疾患の診断や治療につながる事が期待されます。

【論文情報】

雑誌名：Journal of Biological Chemistry

タイトル：The SH3 domain in the fucosyltransferase FUT8 controls FUT8 activity and localization and is essential for core fucosylation

著者：Seita Tomida, Misaki Takata, Tetsuya Hirata, Masamichi Nagae, Miyako Nakano, Yasuhiko Kizuka

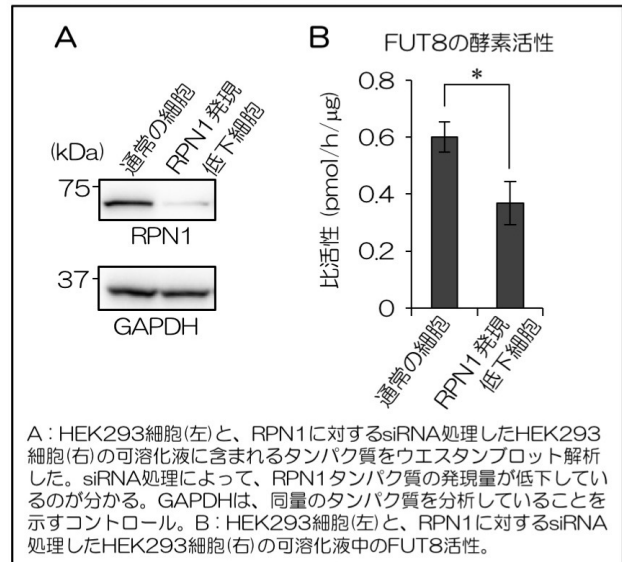
DOI 番号：10.1074/jbc.RA120.013079

論文公開URL：https://www.jbc.org/content/early/2020/04/29/jbc.RA120.013079.abstract

【用語解説】

- 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。遊離の状態が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が存在する。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。
- 2) コアフコース：タンパク質に結合した糖鎖の根元に存在するフコースのことで、FUT8 の働きによって細胞の中で作られる。
- 3) FUT8：糖鎖を合成する酵素(糖転移酵素)の一つで、コアフコースを作る。細胞の中のゴルジ体存在すると考えられている。
- 4) COPD：肺気腫や慢性気管支炎の総称。気道の閉塞による呼吸困難を引き起こす。世界保健機関(WHO)によれば、2030 年までに世界の死亡原因の 3 位を占めるようになると推定されている。COPD は Chronic Obstructive Pulmonary Disease の略。
- 5) 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。
- 6) ゴルジ体：細胞の中の膜に隔てられた小器官の一つで、糖鎖の合成やタンパク質などの生体分子の輸送などを行なっている。
- 7) RPN1：Ribophorin1 と呼ばれ、主に小胞体に存在すると考えられるタンパク質。オリゴ糖転移酵素複合体と呼ばれるタンパク質複合体の構成因子の一つ。
- 8) バイオマーカー：体液中などにおける存在量が疾患の有無や進行度の指標となるような生体物質。糖鎖も、がんなどのバイオマーカーとして用いられる。
- 9) 抗体医薬品：特定の物質(抗原)と結合する「抗体」を成分とする医薬品。がんなどに特徴的に存在する抗原と結合する抗体が用いられ、免疫作用により標的を排除する。抗体は糖鎖を持っており、その糖鎖にはコアフコースがついていることが知られている。
- 10) SH3 ドメイン：タンパク質の中に存在する領域(ドメイン)の一つで、タンパク質同士の結合のために働いている。細胞質に存在するタンパク質に多く見られ、シグナルの伝達に関わっている。
- 11) 細胞質：細胞質ゾル(サイトゾル)とも呼ばれ、細胞の中の小器官(核、ゴルジ体、ミトコンドリアなど)以外の部分。

図4. RPN1の発現低下はFUT8の活性を低下させる



A: HEK293細胞(左)と、RPN1に対するsiRNA処理したHEK293細胞(右)の可溶化液に含まれるタンパク質をウエスタンブロット解析した。siRNA処理によって、RPN1タンパク質の発現量が低下しているのが分かる。GAPDHは、同量のタンパク質を分析していることを示すコントロール。B: HEK293細胞(左)と、RPN1に対するsiRNA処理したHEK293細胞(右)の可溶化液中のFUT8活性。

- 1 2) 小胞体：膜で隔てられた細胞内小器官の一つで、タンパク質の合成などを行なっている。
- 1 3) オリゴ糖転移酵素複合体：小胞体でタンパク質に N 型糖鎖と呼ばれる糖鎖をつける酵素。RPN1 などのタンパク質が複数集まった複合体として働いている。

【研究支援】

本研究は、文部科学省の卓越研究員制度の支援を受けて行われました。

【本件に関する問い合わせ先】

<研究に関すること>

岐阜大学高等研究院 生命の鎖統合研究センター

東海国立大学機構 糖鎖生命コア研究拠点（兼任）

准教授 木塚 康彦

電話：058-293-3356

E-mail：kizuka@gifu-u.ac.jp

<報道担当>

岐阜大学管理部総務課広報係

電話：058-293-3377

E-mail：kohositu@gifu-u.ac.jp