

"Glycosylation Switching": 生物に学ぶ新しい化学的活性制御

東北大学大学院理学研究科 上田 実

1. はじめに

ケミカルバイオロジーには2つの大きな流れがあると言われる。生体内イメージングとドラッグの標的同定である。しかし、学問性という観点からケミカルバイオロジーを考えた時、これらはいずれも単なる方法論に過ぎないことに気付く。私自身は理学部に所属するので、現象の観察から仮説を立て、それを実験的に証明することで、新しいコンセプトを見いだすことが、学問の目的であり醍醐味であると思う。生物現象を始め、生体内で起こっていることは、未だケミストリーの研究対象とするにはあまりにも複雑であるが、それ故に、思いも掛けない発見の可能性に満ちている。

我々は、ケミカルバイオロジーと天然物有機化合物を組み合わせた作用機構研究から、このような新規コンセプトの発見を目指している。20世紀において、天然物化学が新しい分子構造の発見とその合成を通じて種々の新規化学的コンセプトを生み出した歴史を見ると、天然から得られる生理活性物質の特異な活性に関する研究は、今後、新たな科学的コンセプトのソースとして重要な地位を占めるであろう。今回は、内因性配糖体天然物の作用機構研究を通じて見いだされた生体内活性調節機構”Glycosylation Switching”に関する研究を紹介する。

天然物を始めとする小分子は、受容体と「鍵の鍵穴」の関係で相互作用し、切れ味の良い活性を示すとされてきた。しかし実際には多くの天然物リガンドは、複数の鍵穴に作用する「鍵束」のような性質 (Multi-ligandability) をもつ¹。生体内では、天然物リガンドの複数の標的をひとつに限定する何らかの仕組みが働いており、生物学的イベントを厳密に制御している。

1. 植物における”Glycosylation Switching”：「免疫応答」から「イオンチャネル制御」へ

アメリカネムノキ (*Samanea saman*) の就眠運動を制御する天然物リガンドとして同定されたジャスモン酸グルコシド (JAG)² は、その後、食虫植物ハエトリソウの捕虫運動を誘導する内因性リガンド³ としても働くことが明らかになった。

通常、ジャスモン酸 (JA) の作用機構は、COI1-JAZ 経路で説明される⁴。JA は、生体内でイソロイシン複合体 (JA-Ile) に変換後、細胞質の COI1-JAZ 受容体と結合して各種の生理活性を発現する⁵⁻⁷が、一方その配糖体 JAG は COI1-JAZ 経路に関与せず⁸、細胞膜の標的タンパク質 MTJG (Membrane target protein for jasmonate glucoside) と結合して⁹カリウムチャネルを活性化し就眠運動を引き起こす (図1)。これは、あるリガンドの生物活性と受容体が、グリコシル化によってスイッチを切り替えるように全く異なるものへと交換される現象であり、複数の標的をもつ天然物リガンドの標的を制御する全く新しい分子機構である。我々は、この活性制御機構を”*Glycosylation Switching*”と名付けた。これは、生体内における小分子のグリコシル化の新たな生物学的意義を示唆する発見である。

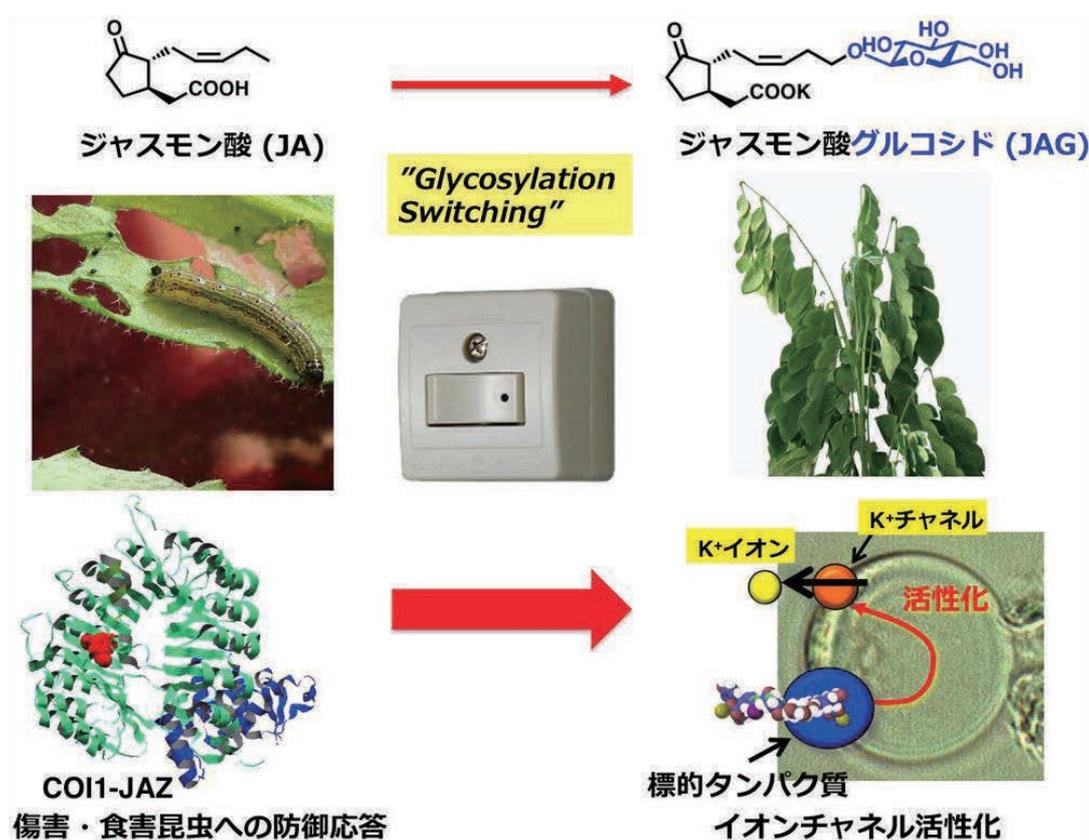


図1 植物における”*Glycosylation Switching*”： JA→JAG

2. ヒトにおける”*Glycosylation Switching*”：「ステロイドホルモン」から「酵素阻害剤」へ

”*Glycosylation Switching*”は、生物全般において機能するのであろうか？我々

レポーターアッセイシステムによって受容体候補を絞り込んだ後、これを大腸菌で発現させてアフィニティー実験で確認した結果、OBGは生体内においてある種の核内受容体と結合する新規ステロイドホルモンとして働くことが示された。生体内において、ステロイドホルモンの一種OBGは、グリコシル化によって膜上のNa/K-ATPaseに対する阻害剤OUAに変換され、ヒトの血圧調節に関与している(図3)。この結果は、ヒトにおいても、”Glycosylation Switching”による活性制御が機能していることを示す。

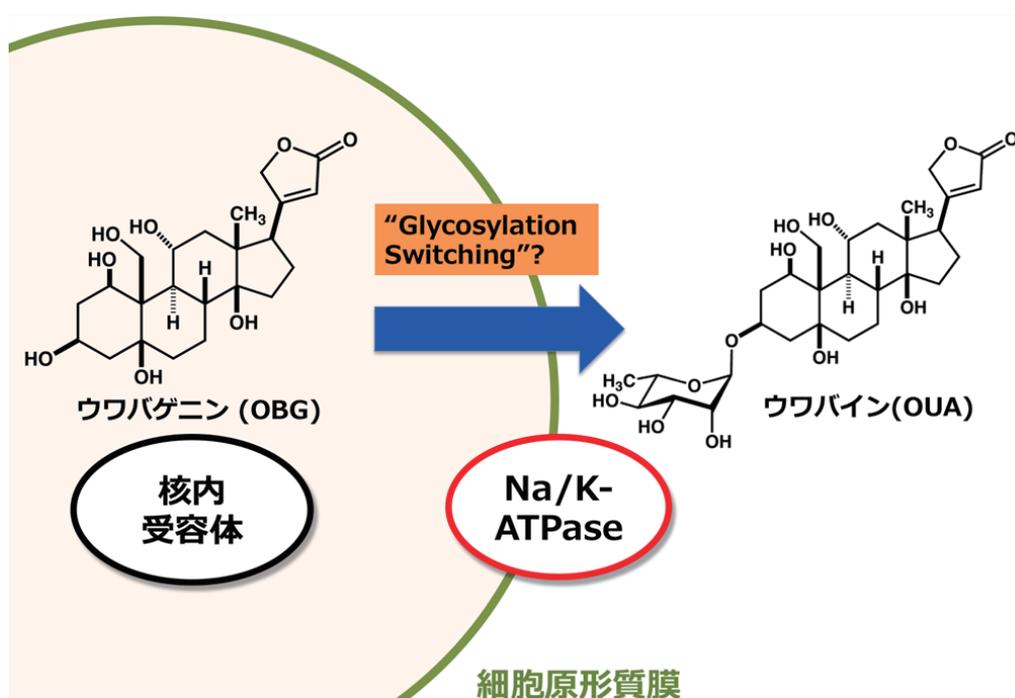


図3 ヒトにおける”Glycosylation Switching”： OBG→OUA

3. ”Glycosylation Switching”による「鍵束」の *In vivo* 制御機構

天然物リガンドは、複数の鍵穴に作用する「鍵束」のような性質 (Multi-ligandability) をもち、生体内では標的をひとつに限定する仕組みによってその活性が制御されている。その仕組みとしては、まさしく鍵束のように、分子内の異なる構造単位が異なる標的タンパク質と結合する例や、グルタミン酸と各種受容体サブタイプとの関係にみられるようように、分子のもつ複数のコンホメーションがそれぞれ異なる受容体のリガンドとなる例などがよく知られていた。今回我々が発見した”Glycosylation Switching”による活性制御は、生体

内における生理活性物質の修飾によってその活性と受容体が全く異なるものに変化する例であり、これまで全く知られていない新たな活性制御機構である。内因性天然物リガンドの作用機構研究の奥には、生体内での誘導体化によって、あるホルモンが全く別のホルモンに変換されるという驚くべきコンセプトが眠っていた。

グリコシル化などの構造修飾がリガンドの「活性化」や「不活性化」に働く例は、生体高分子、生理活性物質のいずれにも普遍的であるが、本例のように誘導体化によってホルモンなどの生理活性物質が、別の受容体に結合する全く別の生理活性物質へと変化する例は知られていない。配糖体分子は、これまで、生体内での貯蔵や輸送の役割を担う不活性型誘導体の典型例と考えられてきたが、実際には活性の制御にダイナミックに関与する「忘れられた」生理活性リガンドであると考えられる。本研究は、内因性生理活性天然物のケミカルバイオロジー研究が、新たな科学的コンセプトの発掘に繋がった例であると言える。今後、配糖体分子の生理活性と生物学的意義の再評価や、メタボローム解析などを併用した内因性ホルモン配糖体の探索を含む新たな見地からの検討が必要かも知れない。また、特に哺乳動物の内因性生理活性天然物は、未知の活性制御機構の宝庫である可能性があり、集中的な検討が必要な時期を迎えていると考える。

<参考文献>

1. M. Ueda, *Chem. Lett.*, **2012**, *41*, 658-666.
2. M. Ueda and S. Yamamura, *Nat. Prod. Lett.*, **2000**, *14*, 325-331.
3. M. Ueda, T. Tokunaga, M. Okada, Y. Nakamura, N. Takada, R. Suzuki and K. Kondo, *ChemBioChem* **2010**, *11*, 2378-2383.
4. C. Wasternack and E. Kombrink, *ACS Chem. Biol.*, **2009**, *5*, 63-77.
5. L. B. Sheard, X. Tan, H. Mao, J. Withers, G. Ben-Nissan, T. R. Hinds, Y. Kobayashi, F. F. Hsu, M. Sharon, J. Browse, S. Y. He, J. Rizo, G. A. Howe and N. Zheng, *Nature* **2010**, *468*, 400-405.
6. B. Thines, L. Katsir, M. Melotto, Y. Niu, A. Mandaokar, G. Liu, K. Nomura, S. Y. He, G. A. Howe and J. Browse, *Nature* **2007**, *448*, 661-665.
7. A. Chini, S. Fonseca, G. Fernandez, B. Adie, J. M. Chico, O. Lorenzo, G. Garcia-Casado, I. Lopez-Vidriero, F. M. Lozano, M. R. Ponce, J. L. Micol and R.

- Solano, *Nature* **2007**, *448*, 666-671.
8. Y. Nakamura, A. Mithofer, E. Kombrink, W. Boland, S. Hamamoto, N. Uozumi, K. Tohma and M. Ueda, *Plant Physiol.*, **2011**, *155*, 1226-1236.
 9. Y. Nakamura, R. Miyatake and M. Ueda, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **2008**, *47*, 7289-7292.
 10. A. Kawamura, J. S. Guo, Y. Itagaki, C. Bell, Y. Wang, G. T. Hauptert, S. Magil, R. T. Gallagher, N. Berova and K. Nakanishi, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1999**, *96*, 6654-6659.
 11. J. M. Hamlyn, M. P. Blaustein, S. Bova, D. W. Ducharme, D. W. Harris, F. Mandel, W. R. Mathews and J. H. Ludens, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1991**, *88*, 6259-6263.
 12. E. Silva and P. Soares-da-Silva, *Int Rev Cel Mol Bio*, **2012**, *294*, 99-132.
 13. A. Y. Bagrov and J. I. Shapiro, *Nat. Clin. Pract. Nephrol.*, **2008**, *4*, 378-392.
 14. W. Schoner and G. Scheiner-Bobis, *Am. J. Physiol. - Cell Physiology*, **2007**, *293*, C509-C536.
 15. J. R. Murrell, J. D. Randall, J. Rosoff, J.-l. Zhao, R. V. Jensen, S. R. Gullans and G. T. Hauptert, *Circulation* **2005**, *112*, 1301-1308.
 16. W. Schoner and G. Scheiner-Bobis, *Am. J. Cardiovascular Drugs*, **2007**, *7*, 173-189.
 17. H. J. Adrogué and N. E. Madias, *New Engl. J. Med.*, **2007**, *356*, 1966-1978.
 18. A. Jaitovich and A. M. Bertorello, *Life Sci.*, **2010**, *86*, 73-78.
 19. S. Paula, M. R. Tabet and W. J. Ball, *Biochemistry (Mosc)* **2004**, *44*, 498-510.
 20. A. Y. Bagrov, J. I. Shapiro and O. V. Fedorova, *Pharmacol. Rev.*, **2009**, *61*, 9-38.
 21. M. Haas, A. Askari and Z. Xie, *J. Biol. Chem.*, **2000**, *275*, 27832-27837.
 22. J. Liu, J. Tian, M. Haas, J. I. Shapiro, A. Askari and Z. Xie, *J. Biol. Chem.*, **2000**, *275*, 27838-27844.
 23. J. Liu, S. M. Periyasamy, W. Gunning, O. V. Fedorova, A. Y. Bagrov, D. Malhotra, Z. Xie and J. I. Shapiro, *Kidney Int.*, **2002**, *62*, 2118-2125.
 24. Z. Xie and A. Askari, *Eur. J. Biochem.*, **2002**, *269*, 2434-2439.