

体内のマンノース濃度を保つ仕組みを解明 ～進化の過程で選択された糖代謝経路～

シアル酸は細胞の表層を覆う糖鎖の末端に位置し、細胞間認識や微生物との相互関係に関わっています。哺乳類が糖鎖合成に用いるシアル酸には Neu5Ac と Neu5Gc があり、ヒトは進化の過程で Neu5Gc を合成する酵素 (CMAH) を失いました。しかし牛肉や豚肉などの赤身肉に含まれる Neu5Gc はヒトの糖鎖に一部組み込まれ、血中の抗 Neu5Gc 抗体による炎症を生じます。そのため Neu5Gc は動脈硬化や大腸癌などの疾患との関連が注目されています。一方、魚類の糖鎖から発見されたシアル酸 Kdn は、当初、ヒトを含む哺乳類には存在しないと考えられてきましたが、糖鎖合成に必須であるマンノースの代謝産物として産生され、前立腺癌などの悪性腫瘍組織にも含まれることなどが分かってきました。

本研究では、シアル酸と腎不全の病態との関連を調べるため、血液透析患者の血液を分析したところ、Kdn が蓄積していることを見いだしました。さらに、血液透析患者の血中では、Kdn が健常者の約 6 倍に上昇するものの、マンノース濃度は基準値付近に保たれること、健常者では過剰なマンノースが Kdn に代謝され、尿中に排泄されることを明らかにしました。また、マンノースを付加した培養細胞を分析すると、遊離型の Kdn は産生されても、糖鎖に組み込まれる Kdn はごくわずかであることを明らかにしました。

さらに、マンノース代謝に関連する酵素群の遺伝子配列の分析により、ヒトを含む脊椎動物では、進化の過程で、過剰なマンノースを無毒化し、突然変異を排除するような自然選択 (純化淘汰) が行われたことが示唆されました。

研究代表者

筑波大学医学医療系 (研究当時: カリフォルニア大学サンディエゴ校細胞分子医学)

川西 邦夫 助教

名古屋大学糖鎖生命コア研究所統合生命医科学糖鎖研究センター

佐藤 ちひろ 教授

北島 健 教授

研究の背景

ヒトを含む脊椎動物の細胞表面は、糖鎖と呼ばれる単糖が連なった構造で覆われています。また、タンパク質や脂質が合成される過程で、糖鎖が修飾され、生体内での機能が綿密にコントロールされています。シアル酸^{注1}は糖鎖の最外層に位置しており、細胞同士の認識や、微生物が侵入する際に利用することが知られています。たとえば、鳥インフルエンザウイルスは、ヒトのシアル酸には結合しにくいいため、一般的にはヒト-鳥間の感染は生じません。脊椎動物では、三種類のシアル酸が知られており（図1）、ヒトと遺伝的に近いチンパンジーとを分ける特徴の一つが *N*-グリコリルノイラミン酸（Neu5Gc）の有無です。Neu5Gc は Neu5Ac を基質として、シチジン 5'-リン酸（CMP）-Neu5Ac 水酸化酵素（CMAH）により合成されますが、ヒトは2～3百万年前に CMAH を失い、Neu5Gc を合成することができません。しかしながら、ヒトの動脈硬化やがん組織に Neu5Gc が蓄積していること、抗 Neu5Gc 抗体価と大腸がん発症との間に有意な相関があることを示す大規模コホート研究などが報告されました。また、高 Neu5Gc 含有食品の代表である牛肉、豚肉、羊肉などの赤身肉摂取によって、微小炎症が惹起されることも分かっています。

一方、Kdn は、名古屋大学の北島教授らが魚卵から発見したシアル酸で、当初はヒトを含む哺乳類には存在しないと考えられていましたが、近年、マンノース^{注2}の代謝産物として、哺乳類の細胞においても、糖鎖に組み込まれない遊離型 Kdn が合成されること、前立腺がんなどのがん組織中の *N*型糖鎖中に組み込まれた Kdn が存在することなどが報告されました。マンノースは糖鎖合成に欠かせない単糖ですが、その代謝産物であるマンノース 6-リン酸が過剰になると、生命活動に必須なエネルギー源であるアデノシン三リン酸（ATP）が消費され、細胞毒性を示すことが「ミツパチ症候群」（ミツパチがマンノースを摂取すると、マンノース 6-リン酸が蓄積し、ATP が消費されて死に至る）として知られています。このようないわば「マンノース毒性」を示唆する現象は、通常の哺乳類では見られません。

研究内容と成果

本研究チームは、腎不全患者において増加する動脈硬化やがんには、遊離型 Neu5Gc の蓄積が関与しているという仮説のもと、血液透析患者の血液分析を行いました。その結果、予想に反して、血中には遊離型 Kdn が蓄積していました。

もし Kdn が、Neu5Ac や Neu5Gc と同様に、哺乳類の糖鎖合成に重要であれば、細胞や組織の糖鎖内に Kdn を含む構造が検出されるはずですが、GlyTouCan (<https://glytoucan.org>)をはじめとする複数の糖鎖データベースを調べても、Kdn を含む糖鎖構造は魚類や両生類にしか存在しません。そこで、ヒトやマウスの細胞にマンノースを添加し、細胞内の成分について、高速液体クロマトグラフィーや質量解析を行いました。すると、遊離型 Kdn の産生が促進されることを確認できた一方、糖鎖に含まれる Kdn は、ごく微量しか検出されませんでした。このことは、哺乳類の細胞は、過剰なマンノースを遊離型 Kdn に変換する代謝経路は持っていますが、Kdn を積極的に糖鎖合成に利用しないことを示唆します。

次に、脊椎動物について、マンノース代謝系の酵素の遺伝子配列の相違を検討したところ、進化の過程で、突然変異を排除するような自然選択（純化淘汰）がなされてきたことがわかりました。これまでの報告によると、*N*-アセチルノイラミン酸リン酸合成酵素（NANS）という、シアル酸合成経路に重要な酵素のアミノ酸配列のうち、42番目のアミノ酸がメチオニン（M42）であることが、Kdn 合成に重要とされていますが、魚類や両生類では M42 であるものが、爬虫類、鳥類、哺乳類ではロイシン（L42）やバリリン（V42）へと多様化する中、ヒトを含む類人猿では M42 となっていることがわかりました。また、シアル酸を糖鎖に組み込むのに重要な CMP-シアル酸合成酵素（CMAS）に着目し、魚類の CMAS の遺伝子をヒトの細胞に組み込むと、細胞膜に Kdn を発現するようになりました。以上のことから、水中から

陸上に上がる進化の過程で、糖鎖合成に用いるシアル酸として、Kdn に替えて Neu5Ac や Neu5Gc を用いるようになる中でも、遊離型 Kdn を作る経路は残されたと考えることができます。すなわち、マンノース代謝酵素群が脊椎動物間で保持されていることは、環境要因などで同様の選択圧（この場合は過剰なマンノースを無毒化するという選択圧）に曝されることにより、似かよった性質や形態を保持する収斂進化（しゅうれんしんか）を遂げたことを示唆しています（図2）。

さらに、健常者にマンノースを経口投与すると、その血中濃度は1時間後をピークに定常化されること、また、過剰なマンノースはKdnに変換され、尿中に排泄されることが分かりました。血液透析を行っている腎不全患者では、尿排泄が行われず血中に蓄積されるため、血中Kdn濃度が高くなります（図3）。近年、マンノースには、尿路感染治療での有益性や、腫瘍抑制、腸内細菌叢を変化させることによる肥満改善、自己免疫膵炎モデル改善といった作用があることが報告されていますが、本研究成果は、生体機能として、過剰なマンノースの代謝が優先されることを裏付けています。

加えて、本研究では、ヒトには抗 Neu5Gc 抗体同様、抗 Kdn 抗体が存在することも発見しています。これは、ヒトの通常の組織ではKdnが糖鎖合成に使われない（だからこそ免疫系が異物として抗体を作る）ことを示唆します。遊離型Kdnが過剰となる腎不全や、糖鎖構造中のKdnが発見されているがんなど、特別な状況下の組織では、抗 Kdn 抗体がその病態の進展に関与している可能性があります。

今後の展開

本研究チームは、ヒトの体内で抗 Kdn 抗体が作られるメカニズムを明らかにするべく、さらに研究を進めています。これまでに、口腔・鼻咽頭の常在菌であるインフルエンザ菌がKdnを取り込み、その糖鎖に組み入れていることや、抗 Kdn 抗体が、臍帯を通じて母体から胎児に移行することを突き止めています。今後は、マンノースやKdnが腎不全やがんの病態にどのように関わっているかその仕組みの解明に取り組めます。

参考図

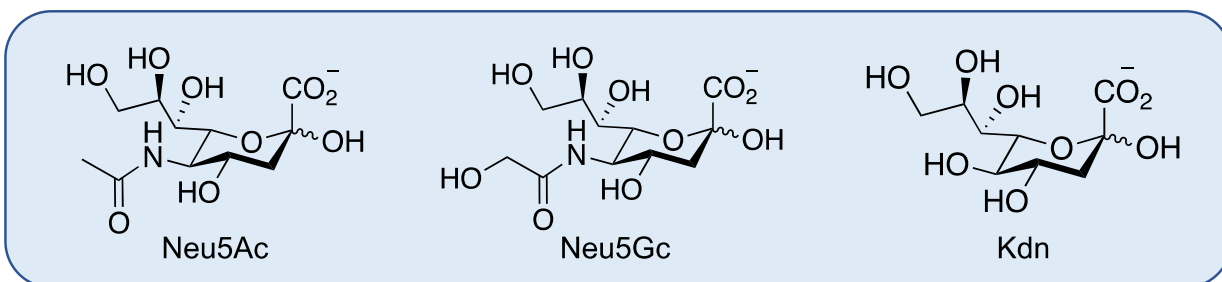
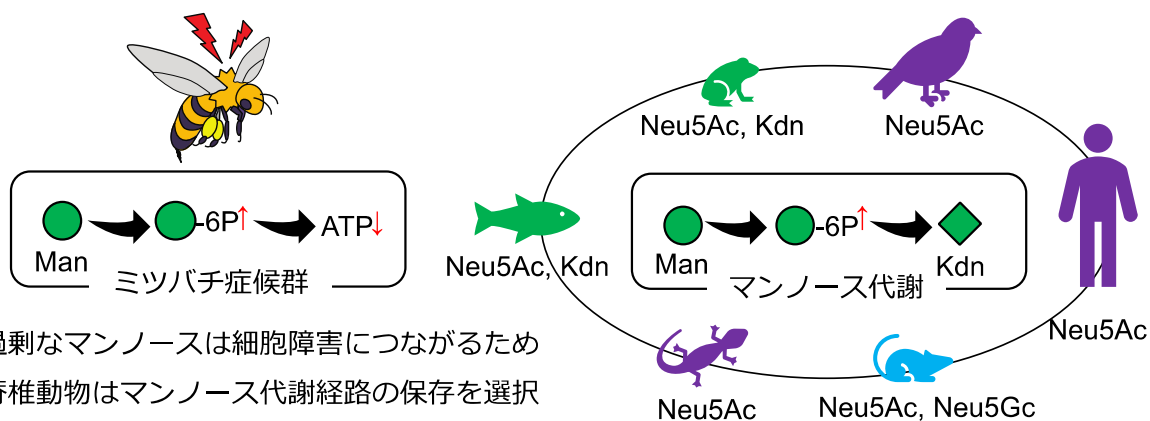


図1 脊椎動物で認められるシアル酸分子種



過剰なマンノースは細胞障害につながるため
脊椎動物はマンノース代謝経路の保存を選択

図2 脊椎動物におけるマンノース代謝経路の進化

ミツバチにマンノースを摂取させるとマンノース6-リン酸が蓄積しATPが消費され死んでしまう(ミツバチ症候群、左図)。脊椎動物は糖鎖合成にマンノースを使うが、過剰なマンノースをKdnまで代謝する酵素群を保持している。糖鎖中のKdn(緑)は魚類や両生類(水性生物)でしか認められない。ヒトは主にNeu5Ac(紫色)を糖鎖に利用する(右図)。

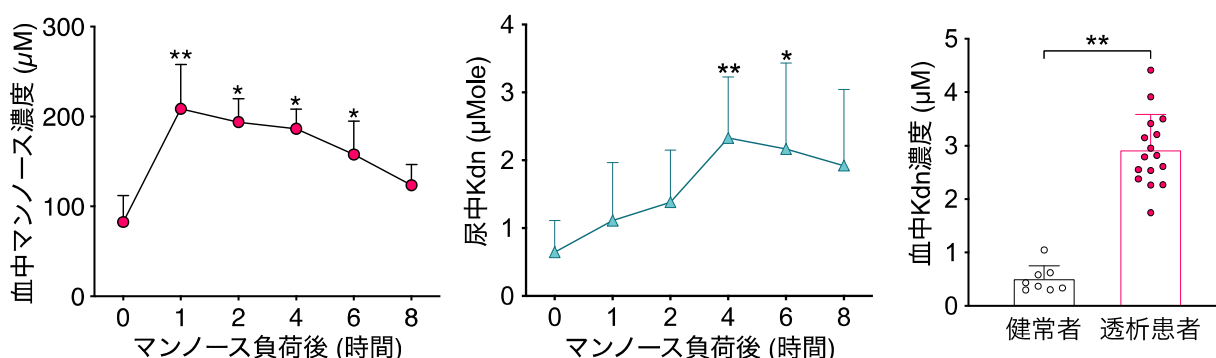


図3 健常者へのマンノース投与後の血中マンノース濃度(左図)と尿中のKdn濃度(中図)、および健常者と透析患者の血中Kdn濃度(右図)

健常者では、マンノースの血中濃度は厳格に保たれつつ、過剰なマンノースはKdnに変換され尿排泄される。透析(腎不全)患者は、Kdnの尿排泄ができず、血中に蓄積される。

用語解説

注1) シアル酸

アスパラギン残基の側鎖に連なるN-型糖鎖、セリンやスレオニン残基側鎖に連なるO-型糖鎖、糖脂質などの糖鎖の末端(非還元末端)に存在し、様々な生体反応に関与する。9つの炭素からなる単糖で、5位のアミノ基の違いでNeu5Ac、Neu5Gc、Kdnなどがある。

注2) マンノース

果物などに含まれる単糖類の一つで、糖タンパク質の糖鎖(特にN-型糖鎖)の重要な構成成分である。

研究資金

本研究は、科研費のプロジェクトの一環として実施されました。

掲載論文

【題名】 Evolutionary conservation of human ketodeoxynonulosonic acid production is independent of sialoglycan biosynthesis.

(ヒトの Kdn 産生経路はシアル化糖鎖合成とは独立した存在意義(マンノース代謝)を持つ)

【著者名】 Kawanishi K^{1), 2)}, Saha S¹⁾, Diaz S¹⁾, Vaill M¹⁾, Sasmal A¹⁾, Siddiqui SS¹⁾, Choudhury BP¹⁾, Sharma K³⁾, Chen X⁴⁾, Schoenhofen IC⁵⁾, Sato C⁶⁾, Kitajima K⁶⁾, Freeze HH⁷⁾, Münster-Kühnel A⁸⁾, Varki A^{1) 3)}

¹⁾カリフォルニア大学サンディエゴ校細胞分子医学

²⁾筑波大学医学医療系

³⁾カリフォルニア大学サンディエゴ校内科学

⁴⁾カリフォルニア大学デービス校化学科

⁵⁾カナダ国立研究機構

⁶⁾名古屋大学糖鎖生命コア研究所統合生命医科学糖鎖研究センター

⁷⁾サンフォードバーナムプレビス医学研究所

⁸⁾ハノーバー医科大学臨床生化学

【掲載誌】 Journal of Clinical Investigation

【掲載日】 2020年12月29日

【DOI】 10.1172/JCI137681