

配信先：宮城県政記者会、文部科学記者会、
科学記者会、名古屋教育記者会



令和6年12月4日

報道関係者各位

学校法人東北医科薬科大学
国立大学法人東海国立大学機構 名古屋大学

**糖転移酵素 GnT-III は、ERK/MAPK シグナル伝達を介して赤血球分化を制御する
—慢性骨髄性白血病に対する分化誘導機構を基盤とする新しい治療法—**

【発表のポイント】

- 慢性骨髄性白血病細胞の赤血球分化において GlcNAc 転移酵素III (GnT-III) の発現が大幅に増加した。GnT-III を欠失されると赤血球への分化が著しく阻害された。
- GnT-III は、細胞表面に発現する赤血球分化誘導に大事な膜受容体 c-Kit や CD71 などの発現を誘導し、下流の ERK/MAPK の活性化を促進する。その MAPK を抑制すると、赤血球分化が阻害される。
- GnT-III の発現制御は慢性骨髄性白血病に対する分化誘導機構を基盤とする新しい治療法となる可能性がある。

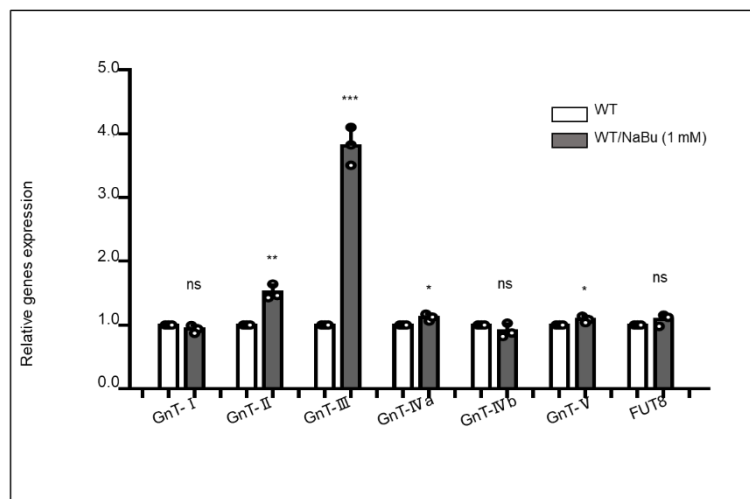
【概要】

東北医科薬科大学 薬学部の顧建国 教授、名古屋大学 糖鎖生命コア研究所 古川潤一 特任教授、島津製作所 分析計測事業部 Solutions COE 西風隆司、東京都健康長寿医療センター 三浦ゆり 部長らの研究グループは、糖転移酵素^{*1} のひとつである GlcNAc 転移酵素III (GnT-III) ^{*2} による ERK/MAPK シグナル伝達^{*3} を介した赤血球分化制御とその仕組みを明らかにしました。

慢性骨髄性白血病 (CML) は、骨髄増殖性腫瘍の 1 つで、フィラデルフィア染色体

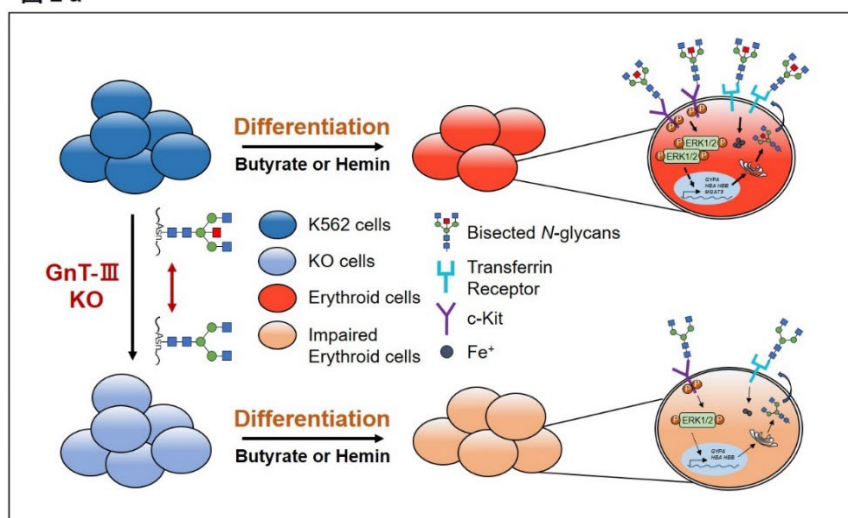
(BCR-ABL1 融合遺伝子) によりつくられるチロシンキナーゼの活性化を特徴としています。現在、ABL1 チロシンキナーゼに対する分子標的薬により、患者の平均余命が著しく改善されていますが、薬剤耐性が生じるため、白血病細胞の分化誘導による寛解が注目されています。本研究では、CML 細胞株である K562 細胞*⁴ に酪酸ナトリウム (NaBu) を用いて赤血球分化を誘導し、糖鎖構造の変化を検討したところ、GnT-III とその産物であるバイセクト糖鎖 2 の発現が顕著に増加し、逆に GnT-III を欠損させた K562 細胞は赤血球マーカーの減少と分化の抑制を認めました (図 1)。また、赤血球分化に重要な ERK/MAPK 経路を阻害すると GnT-III の発現が著しく抑制されること、赤血球分化に密接に関連する c-Kit や CD71 などの膜タンパク質に付加された糖鎖が GnT-III によって修飾され、その生物学的機能を変化させていることを明らかにしました。

図 1



これらの発見は、GnT-III が赤血球分化を促進する上で重要な役割を果たしていることを示しており (図 2a)、慢性骨髄性白血病に対する分化誘導機構を基盤とする新しい治療法につながることを期待されます。

図 2 a



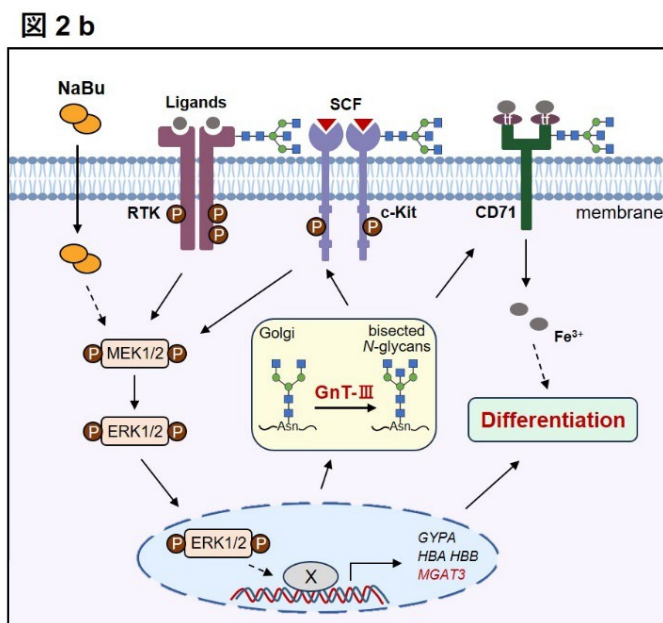
なお、この研究成果は米国の科学雑誌 *The Journal of Biological Chemistry (JBC)*

に 2024 年 11 月 19 日付で公開されました。

【研究背景と内容】

慢性骨髄性白血病（CML）は、多能性造血幹細胞（HSC）から発生するクローン性の骨髄増殖により成熟および幼若顆粒球の著しい過剰産生をもたらします。この疾患は、がん遺伝子 ABL を含む 9 番染色体の一部が 22 番染色体に転座し、フィラデルフィア（Ph）染色体が形成され、BCR-ABL チロシンキナーゼが産生されます。BCR-ABL 阻害剤であるイマチニブにより CML 患者の生存率は改善しましたが、多くの患者でイマチニブに対する耐性獲得が大きな問題となっています。近年、白血病細胞の未熟細胞または悪性細胞の成熟と特殊化を促進し、それによって正常細胞と同様の特性を獲得できるようにする分化誘導が疾患寛解を達成する方法として期待されています。糖タンパク質に付加された糖鎖は細胞間コミュニケーションに大きく関わり、幹細胞の分化や維持に作用していることがわかってきています。

本研究では分化療法のメカニズムを探るために酪酸ナトリウム（NaBu）を使用して赤血球分化を誘導できる K562 細胞をモデル細胞として用いて検討したところ、赤血球分化プロセスと一致して GnT-III（遺伝子名:MGAT3）とその産物であるバイセクト糖鎖の発現が顕著に増加することをレクチンブロットおよび MALDI-TOF MS 分析で見いだしました(図 2 b)。



赤血球分化が GnT-III の発現増加と関連していることが強く示唆されましたので、このプロセスにおける GnT-III の役割を調べるために、GnT-III 欠損 K562 細胞株を作成して検討したところ、KO 細胞は分化が阻害されました。さらに、赤血球分化に関連するマーカーの変化を検討したところ、 β -グロビンの誘導が抑制され、細胞表面の CD235a および高度に N 型糖鎖修飾された膜タンパク質として知られる細胞表面の

CD71 の発現も抑制されました。

細胞増殖と分化の間には顕著な逆相関関係があることは広く認識されていますので、GnT-III と細胞増殖への影響を検討したところ、GnT-III 欠損は分化誘導中の細胞増殖の抑制を妨げました。さらに、GnT-IIIによる赤血球分化制御メカニズムを明らかにするために、これまでの研究で、受容体チロシンキナーゼ (RTK) /MAPK 経路が分化に関連する最も重要な経路の1つであることがわかっているので、リン酸化チロシンを調べたところ、GnT-III 欠損によって大幅にリン酸化チロシンが減少し、リン酸化 ERK1/2 も減少しました。一方、野生型の K562 細胞では ERK 活性化を媒介する RTK ファミリーの重要なメンバーである c-Kit タンパク質のバイセクト糖鎖修飾が増加しました。これは、GnT-IIIが c-Kit のを介して、ERK/MAPK シグナル伝達経路を活性化していることを示唆しています。次に、NaBu 誘導性赤血球分化における MEK/ERK1/2 経路の重要性を検討するために、MEK 阻害剤である U0126 を用いたところ、赤血球分化を阻害しました。さらに、ERK1/2 シグナル伝達と GnT-IIIの関係を明らかにするために、U0126 がバイセクト糖鎖の発現に与える影響を調べたところ、ERK1/2/MAPK シグナル伝達経路が抑制されると、GnT-IIIの発現とバイセクト糖鎖の発現が大幅に減少しました。また、これらの現象は、NaBu 誘導だけではなく、ヘミンによる赤血球分化誘導でも観察されました。さらに、K562 細胞の他に、ヒト赤白血病細胞である HEL 細胞でも同様な現象が見られました。

これらの知見により、GnT-IIIおよびその産物であるバイセクト糖鎖の発現が赤血球分化誘導に必須とする ERK/MAPK シグナル伝達に重要であることを結論づけました。

【成果の意義】

今回明らかにした、GnT-IIIが赤血球分化における潜在的な RTK 受容体である c-Kit などを修飾すること、GnT-III欠損細胞で c-Kit を介した ERK 活性化が抑制されることは、GnT-IIIが ERK 活性化による分化療法における潜在的な標的になると考えられ、慢性骨髄性白血病に対する分化誘導機構を基盤とする新しい治療法につながることを期待されます。

【用語および図の説明】

*1 糖転移酵素：糖鎖合成に関与する酵素。ヒトでは約 180 種類存在することが知られている。主に、細胞中のゴルジ体と呼ばれる小器官に存在している。糖供与体である糖ヌクレオチドから糖をタンパク質に付加する。

*2 GnT-III/バイセクト糖鎖：N-acetylglucosaminyltransferase III の略で糖転移酵素の一つである。糖タンパク質上の N 型糖鎖に bisecting GlcNAc を持つ構

造(バイセクト糖鎖)を作る。N型糖鎖は複雑な分岐構造を持つが bisecting GlcNAc(図 X 参照)を作ると、他の糖転移酵素による分岐構造を作り難くなるため、N型糖鎖の高分岐化が抑制される。

- *³ ERK/MAPK シグナル伝達経路: Ras-Raf-MEK-ERK 経路としても知られる。細胞表面の受容体からの信号を細胞核内の DNA に伝達する一連の細胞内タンパク質のリン酸化で、細胞の増殖や分化に関与する。
- *⁴ K562 細胞: 慢性骨髄性白血病細胞株で、種々の化学物質により赤芽球系細胞や巨核球系細胞に分化させることが出来る。酪酸ナトリウム (NaBu) を用いて刺激すると赤芽球系に分化させると、ヘモグロビンを合成して細胞が赤くなる。

・ 図 1 説明 NaBu 誘導における糖転移酵素の発現

N型糖鎖の生合成に関与する糖転移酵素の mRNA レベルを qPCR で測定したところ、NaBu で赤血球分化を誘導すると GnT-III が特異的に増加しました。NaBu を含まない WT 細胞(1.0 に設定)に標準化しています。

・ 図 2 説明 GnT-III による NaBu 誘導性赤血球分化の制御に関する分子メカニズム

GnT-III は、赤血球分化に重要な c-Kit や CD71 などの膜糖タンパク質を修飾します。受容体型チロシンキナーゼ (RTK) である c-Kit は赤血球分化に極めて重要であることが知られています。また、CD71 はトランスフェリンからの鉄イオンの細胞内への取り込みを促進します。GnT-III の発現とバイセクト糖鎖を増加させると、NaBu 誘導性赤血球分化中の ERK1/2 活性化を介して分化を促進します。逆に、ERK1/2 活性化を阻害すると GnT-III の発現と赤血球分化が抑制されました。図 2b の点線 (---) は、不明瞭な影響および/または間接的な影響を示しています。

【論文名】

タイトル: The acetylglucosaminyltransferase GnT-III regulates erythroid differentiation through ERK/MAPK signaling

著者: 吴天貴¹、孫鈺涵¹、王丹¹、伊左治知弥¹、福田友彦¹、鈴木千春²、花松久寿²、西風隆司³、津元裕樹⁴、三浦ゆり⁴、古川潤一^{2, 5}、顧建国¹

著者所属：¹東北医科薬科大学 薬学部、²名古屋大学 糖鎖生命コア研究所、³島津製作所 分析計測事業部、⁴東京都健康長寿医療センター 老化機構研究チーム、⁵北海道大学 医学部

D O I : 10.1016/j.jbc.2024.108010