

合成を基盤として糖鎖の高次機能に迫るケミカルバイオロジー研究

(阪大院理¹・阪大 FRC²) ○真鍋良幸^{1,2}

Chemical biology for revealing the higher-order glycan functions (¹Graduate School of Science, Osaka University, ²Forefront Research Center, Osaka University) ○Yoshiyuki Manabe^{1,2}

Glycans, the third life chain, are involved in various biological phenomena. Glycans in nature have a complex structure, and such complex structures are important for the expression of their functions. To reveal these glycan functions, we have investigated synthetic chemical approaches; after the synthesis of complex glycans, these glycans were used for revealing and controlling glycan functions.

Keywords : Glycan; Carbohydrate synthesis; Chemical biology

糖鎖は、核酸、タンパク質に続く第3の生命鎖と呼ばれ、多様な生命現象に関与する。我々は、糖鎖の機能を正しく理解し、利用するためには、複雑構造を持つ糖鎖・複合糖質ならではの高次の糖鎖機能の解明が重要であると考え、そのための合成化学的なアプローチを展開してきた。すなわち、複雑構造の糖鎖し、さらには、その糖鎖をタンパク質や細胞表層に複合化・再構成し、糖鎖の高次的な機能の解析・制御を行ってきた。

1. *N*-グリカンのライブラリ合成と機能解析

アスパラギン結合型糖タンパク質糖鎖 (*N*-グリカン) は、多様な構造を持ち、その構造に基づいた機能を持つ。*N*-グリカンの機能解析のために、そのライブラリ合成を検討した。まず、マイクロフロー反応を用いて、*N*-グリカンの合成中間体フラグメントの量的供給を実現した (図1 ①, ②)。

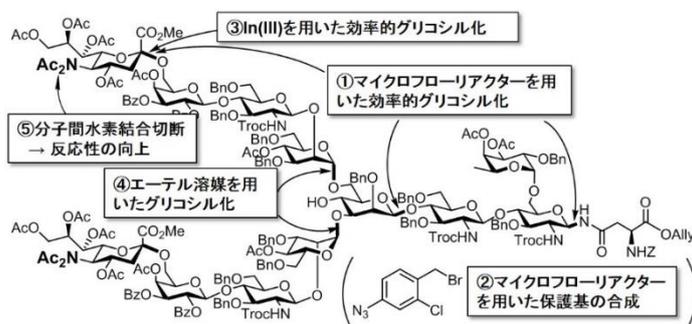


図1 *N*-グリカンの合成研究

また、新規グリコシル化法の開発など、効率的な糖鎖合成の基盤技術を確立した (図1 ③)。*N*-グリカンの骨格構築においては、短工程化のために、収束的ルート採用した。本ルートにおいては、反応性の低い大きなフラグメント間のグリコシル化がカギである。我々は、アミド基 (NHAc) の分子間水素結合がグリコシル化の反応性を下げており、これをジアセチルイミド (NAc₂) として保護することで、反応性が大きく向上することを発見し、NAc₂ 保護体を用いて糖鎖骨格を構築する“ジアセチル戦略”を提唱した (図1 ⑤)。本保護基戦略は分子の凝集状態の制御を指向したもので、新規性が高い。さらに、エーテル溶媒によるカチオン中間体の配位安定化や保護基パターンの精査による立体選択性制御なども利用した (図

1④). これらの検討の結果, *N*-グリカンの実用的な合成を確立でき, 世界初の4分枝シアリル *N*-グリカンの化学合成も達成した¹.

上記のようにして合成した *N*-グリカンライブラリを用い, タンパク質による糖鎖の分子認識について調べた. 免疫制御性のコアフコース含有 *N*-グリカンを認識する因子としてデクチン-1を発見し, デクチン-1が糖鎖に加え, 隣接する芳香族アミノ酸を合わせて多点認識することを見出した². 他にも, 免疫調節や感染症に関与する糖鎖とさまざまな生体分子との相互作用を分子レベルで解析した. 複雑で巨大な *N*-グリカンを合成し, *N*-グリカンの多点認識やコンフォメーション制御を明確に示した本研究は独創性が高い. 加えて, 細胞表面において創発的に働く糖鎖機能解明のために, Tag タンパク質を用いて, 生細胞表面に合成糖鎖を提示する系の構築に成功し, 生細胞上での細胞表面糖鎖ネットワークの解析にも成功した.

2. α -gal-抗体複合体によるがん細胞に対する免疫誘導

多くの動物は3糖構造 α -gal を有するが, ヒトはこの糖鎖を持たず, 代わりに, この糖鎖に対する自然抗体 (抗 Gal 抗体) を大量に持つ. そのため, α -gal は激しい免疫反応 (超急性拒絶反応) を引き起こす. これを利用した

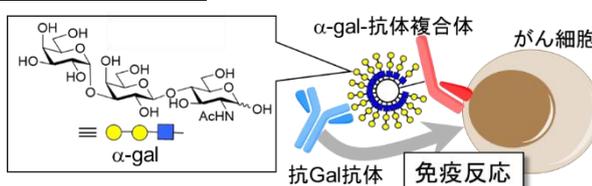


図2 α -gal を用いたがんに対する免疫誘導

がん免疫療法を開発した (図2)³. まず, α -gal 糖鎖を, マイクロフロー系での2度のグリコシル化を経て, ワンフローで一挙に構築した. 続いて, 合成した α -gal と抗がん抗体を複合化した. この際, 効率的な抗 Gal 抗体との反応を指向して, α -gal を16量体のデンドリマーとして用いた. 合成した α -gal デンドリマーと抗体の複合体は, 狙い通り, 高い抗腫瘍効果を示した. 本手法は, 十分な活性を示さない抗体の再開発につながる. 糖鎖は, 合成が困難で, 加えて, その活性がそれほど強力でない場合が多いという問題点があるが, 我々は, 合成を効率化し, さらに, デンドリマー化や複合化といった戦略をとることで, 糖鎖の高次的な機能を引き出し, 糖鎖の医薬品シーズとしての可能性を開拓した.

1. Shirakawa, A.; Manabe, Y.; Marchetti, R.; Yano, K.; Masui, S.; Silipo, A.; Molinaro, A.; Fukase, K.* Chemical Synthesis of Sialyl *N*-Glycans and Analysis of Their Recognition by Neuraminidase. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, *60*, 24686-24693.
2. Manabe, Y.; Marchetti, R.; Takakura, Y.; Nagasaki, M.; Nihei, W.; Takebe, T.; Tanaka, K.; Kabayama, K.; Chiodo, F.; Hanashima, S.; Kamada, Y.; Miyoshi, E.; Dulal, H. P.; Yamaguchi, Y.; Adachi, Y.; Ohno, N.; Tanaka, H.; Silipo, A.; Fukase, K.; Molinaro, A. The core fucose on an IgG antibody is an endogenous ligand of Dectin-1. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 18697-18702.
3. Sianturi, J.; Manabe, Y.; Li, H-S.; Chiu, L-T.; Chang, T-C.; Tokunaga, K.; Kabayama, K.; Tanemura, M.; Takamatsu, S.; Miyoshi, E.; Hung, S-C.; Fukase, K. Development of α -Gal Antibody Conjugates to Increase Immune Response by Recruiting Natural Antibodies. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 4574-4578.