

|      |                   |
|------|-------------------|
| 研究区分 | 教員特別研究推進 独創・先進的研究 |
|------|-------------------|

|       |                                                       |       |          |    |       |
|-------|-------------------------------------------------------|-------|----------|----|-------|
| 研究テーマ | Notch シグナルの活性化と筋ジストロフィー治療を志向した<br>O-グルコース型糖鎖修飾増強技術の開発 |       |          |    |       |
| 研究組織  | 代 表 者                                                 | 所属・職名 | 薬学部・教授   | 氏名 | 竹内 英之 |
|       | 研究分担者                                                 | 所属・職名 | 薬学部・准教授  | 氏名 | 高橋 忠伸 |
|       |                                                       | 所属・職名 | 薬学部・客員教授 | 氏名 | 南 彰   |
|       |                                                       | 所属・職名 | 薬学部・助教   | 氏名 | 紅林 佑希 |
|       | 発 表 者                                                 | 所属・職名 | 薬学部・教授   | 氏名 | 竹内 英之 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 講演題目                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| Notch シグナルの活性化と筋ジストロフィー治療を志向した O-グルコース型糖鎖修飾増強技術の開発                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 研究の目的、成果及び今後の展望                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <p>本研究では、申請者が開拓してきた独自の糖鎖科学研究を遂行し、生化学分野における教育の推進を図る。Notch シグナルは、細胞の運命決定を司る細胞間シグナル伝達経路である。哺乳類では、Notch 遺伝子は 4 種類存在する。Notch の細胞外部位には、29-36 個の上皮増殖因子様 (EGF) ドメインの繰り返し構造が存在する。申請者は、Notch の細胞外部位における糖鎖修飾が、その活性化に重要な役割を果たしていることを明らかにしてきた。申請者は、Notch の EGF ドメインに O-グルコースを付加する糖転移酵素 POGLUT1 を、Notch シグナルに必須の因子として同定した [Cell 2008]。申請者は、POGLUT1 のミスセンス変異により、POGLUT1 の酵素活性が著しく低下し、筋肉の幹細胞である衛星細胞の数の減少と衛星細胞における Notch シグナルの低下が起こり、そのことが、肢帯型筋ジストロフィー (LGMD) の原因となることを報告した [EMBO Mol Med 2016, Acta Neuropathologica 2020]。さらに、予備的知見として、最近になって申請者は、東京大学創薬機構の支援を受けて、ハイスループットスクリーニングにより、野生型のヒト POGLUT1 の酵素活性を上昇させる低分子化合物を見出した。本研究では、POGLUT1 特異性を確認するため、同じく EGF リピートに O-グルコースを付加する POGLUT2/3 に対する化合物の影響を確認した。POGLUT1/2/3 およびその受容基質となる EGF ドメインを発現・精製し、供与基質 UDP-グルコースを用いて <i>in vitro</i> での糖付加反応を実施した。反応産物は、逆相 HPLC および質量分析計を用いて分析した。各酵素ごとに糖付加反応時に化合物を添加して活性を測定することで、化合物の 3 種類の糖転移酵素活性への影響を比較解析した。POGLUT1/2/3 反応産物を逆相 HPLC および質量分析によって分析した結果、<i>in vitro</i> での糖付加反応の進行が確認された。化合物の POGLUT1/2/3 への影響を解析した結果、試験した化合物は、調べたどの酵素の活性も変化させることが明らかとなった。今後、見出した化合物の構造類似体のスクリーニング、並びに、筋ジストロフィーの原因となる変異を有する POGLUT1 変異体に対して、見出した化合物がどのように作用するか解析する。さらに、これらの化合物の、細胞レベルでの Notch 上の糖鎖修飾と受容体機能に対する影響を調べる。得られる知見は、糖鎖修飾を標的とする革新的な Notch 活性化剤の開発と筋ジストロフィーの治療薬開発に結び付く可能性がある。</p> |