

“ 故高垣啓一先生（弘前大学）の御業績を振り返って ”
プロテオグリカン研究における業績

柿崎 育子（弘前大学医学部医学科生化学第一講座）

弘前大学医学部医学科生化学第一講座 教授 高垣啓一先生は、2002 年に教授に就任され、今後の活躍が期待されて前途有望でありながら、病気療養中の 2006 年 8 月 16 日に 53 歳の若さで逝去されました。誠に無念です。ご逝去から既に半年が過ぎ去ってもこの大きな喪失感は薄れることはなく深まるばかりですが、この機会に高垣先生が歩んで来られた研究の軌跡を辿らせていただきたく存じます。故 高垣先生は、当時の教授 遠藤正彦先生が主宰されていた生化学第一講座のプロテオグリカンに関する研究に 1980 年より参画し、多くの研究者とともに糖鎖工学上実に重要な発見と開発をして来られました。その中の主要な研究について、研究に関わった研究者達の共通の財産として紹介させていただきます。

1. プロテオグリカンに作用するエンド型グリコシダーゼの発見と糖鎖工学への応用

プロテオグリカンは、コアとなるタンパク質に GlcUA-Gal-Gal-Xyl-Ser の橋渡し領域を介して 1 本から 100 本以上のグリコサミノグリカン糖鎖が共有結合した複合糖質です。この橋渡し領域に作用する 3 種のエンド型グリコシダーゼ（エンド-β-キシロシダーゼ、エンド-β-ガラクトシダーゼ、エンド-β-グルクロニダーゼ）が発見されました。中でも、ホタテ中腸腺からのエンド-β-キシロシダーゼの精製と性状の解析は高垣先生の学位論文でもあり、その後、同酵素を糖鎖分析や人工プロテオグリカンの合成に応用する技術も開発されました。同酵素の加水分解活性を利用することにより、プロテオグリカンの Ser 残基からグリコサミノグリカン糖鎖を長鎖のまま無傷で遊離することが可能となり、2 の分析法にも応用されました。同酵素の逆反応である糖転移活性を用いることにより、プロテオグリカンの Ser 残基に長鎖の糖鎖を導入することにも成功しました。

2. グリコサミノグリカン糖鎖の構造分析法の開発

蛍光ラベルや酵素消化と各種のHPLCや質量分析などの方法の組

み合わせを駆使して、グリコサミノグリカン糖鎖の還元末端の糖の同定や、酵素消化で生じたヒアルロン酸オリゴ糖の非還元末端糖の同定、コンドロイチン硫酸オリゴ糖の硫酸基の数や位置を決定する方法が開発されました。ここで開発された方法は 3 で発見されたグリコサミノグリカン糖鎖の生合成中間体や、4 で合成された組み換えオリゴ糖の構造決定にも利用されました。

3. 培養細胞を用いてβ-D-キシロシドより伸長した糖鎖の構造分析

コアタンパク質の代わりに蛍光等により検出しやすい低分子のアグリコンを用いた糖鎖プライマーから培養細胞の糖鎖合成能を利用したグリコサミノグリカン糖鎖の伸長法は古くに開発されています。この方法を用いて合成阻害剤の存在・非存在下においてβ-D-キシロシドより伸長させた各種オリゴ糖の構造を分析しました。その結果、新規のオリゴ糖を発見しました。また、この方法により、エンド-β-キシロシダーゼの簡便な活性測定法のための、橋渡し領域を含む長鎖のグリコサミノグリカン蛍光基質が調製され、酵素の分離に貢献しました。この研究が将来、グリコサミノグリカン糖鎖の生合成経路解明のヒントになることが期待されます。

4. 精巢性ヒアルロニダーゼを用いたグリコサミノグリカン糖鎖の組み換え

エンド型グリコシダーゼの一種であるウシ精巢性ヒアルロニダーゼの糖転移活性を利用して、グリコサミノグリカン糖鎖をデザイン通りに伸長させる方法が開発されました。この酵素は、ヒアルロン酸の他、硫酸基の位置や数の異なるコンドロイチン硫酸にも作用するため、ドナーとアセプターの組み合わせにより、これまでに 8 糖、10 糖を中心とした 100 種を超える新規ハイブリッド型オリゴ糖の合成に成功しました。また、これらの組み換えオリゴ糖を、細胞外マトリックス構築における V 型コラーゲンとプロテオグリカンの結合に寄与するコンドロイチン硫酸鎖中のドメイン構造の探索や、*Streptococcus Hyaluronidase SD* の作用部位の決定などの研究に応用することにも成功しました。最も単純な構造のプロテオグリカンであるデコリンのコンドロイチン硫酸/デルマタン硫酸鎖を、コアタンパク質を有したままヒアルロン酸に改変することにも成功しました。