

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	生体直交型反応を用いた体内での糖鎖クラスター構造変換と動態制御法の開発
Title(English)	
著者(和文)	山田健士郎
Author(English)	Kenshiro Yamada
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京科学大学, 報告番号:甲第306号, 授与年月日:2025年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:田中 克典,大河内 美奈,芹澤 武,中村 浩之,伊藤 繁和,田中 浩士
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Institute of Science Tokyo, Report number:甲第306号, Conferred date:2025/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of Graduate major in	応用化学 応用化学	系 コース	申請学位 (専攻分野)： Academic Degree Requested	博士 Doctor of	(工学)
学生氏名： Student's Name	山田健士郎		審査員主査： Chief Examiner	田中克典	

要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

細胞表面で細胞に固有のパターンを形成している糖鎖とレクチンの相互作用は、細胞間認識を担う相互作用である。すなわち、単一では弱い相互作用しか示さない糖鎖およびレクチンが細胞表面にクラスター化し、多価的な相互作用を介して互いを認識することで、強く選択的な相互作用が発現している。著者らの研究室では、ヒト血清アルブミン上に特定の糖鎖のパターンを有する糖鎖アルブミンが、種々のがん細胞や肝臓、腸管などの臓器を糖鎖パターン依存的に認識することを見出し、これを糖鎖のパターン認識と呼んでいる。ここで、もし糖鎖アルブミン上の糖鎖の一部を、マウス個体内で新たな糖鎖に付け替えることができれば、糖鎖のパターン認識が更新され、標的から新たな標的へと体内を糖鎖アルブミンが移動すると考えた。これまでの知見として、シアリル化糖鎖を 10 分子有するアルブミンは血中や腫瘍組織へ分布する一方で、ガラクトシル化糖鎖 10 分子を有するアルブミンは腸管へと移行することを明らかにしている。よってもし、マウス体内でアルブミン表面の糖鎖を、シアリル化糖鎖からガラクトシル化糖鎖へと変化させることができれば、血中やがんから腸管へと糖鎖アルブミンがマウス体内で移動すると期待した。アルブミン上で糖鎖を変化させる手法として、Click-to-Release 反応と呼ばれる *trans*-シクロオクテン(TCO)とテトラジン(Tz)間の反応に着目した。すなわち、TCO を介したアルブミンに導入した糖鎖アルブミンに、Tz 分子を作用させると、両者の結合反応によりアルブミンにガラクトシル化糖鎖が付与され、続いてアルブミン上の TCO 基からシアリル化糖鎖が放出されることで、糖鎖の付け替え反応が進行すると考えた。このような計画に基づき、本博士論文では、生体直交型反応を用いた体内での糖鎖クラスター構造変換と動態制御法の開発と題して、標的から新たな標的へと体内を移動する分子の実現を目指し研究を行なった。第一章では、TCO を含むシアリル化糖鎖アルブミンおよびガラクトシル化糖鎖 Tz 分子をそれぞれ合成したのち、両者を用いて糖鎖付け替え反応を検討した。12 分子の糖鎖で修飾したシアリル化糖鎖アルブミンとガラクトシル化糖鎖 Tz を反応させアルブミンの分子量変化を追跡したところ、10 分子のガラクトシル化糖鎖がアルブミンに付加され、6 分子のシアリル化糖鎖が放出されたことが示唆された。さらに、モデル小分子での糖鎖付け替え反応において、糖鎖の付け替え反応が想定通りの付加中間体を經由して生成物を与えたことから、アルブミン上での糖鎖付け替え反応の進行を強く支持する結果を得た。続けて、マウス体内を模倣した環境として、マウス血液中で Click-to-Release 反応を実施し、Click-to-Release 反応が血中で進行することを示した。第二章では、がん細胞表面およびマウス体内で糖鎖付け替え反応を実施し、糖鎖アルブミンの体内移動を検討した。まず、糖鎖アルブミンの腸管移行に関連する受容体 (ASGPR) を過剰発現する HepG2 がん細胞表面で糖鎖付け替え反応を検討した結果、シアリル化糖鎖からガラクトシル化糖鎖への付け替え反応の進行に従って、ASGPR への相互作用を強めることができた。さらに、マウス体内での糖鎖付け替え反応を実施した結果、糖鎖アルブミンが血中から腸管へ移動した。この結果について、細胞およびマウス実験の両面から、シアリル化糖鎖からガラクトシル化糖鎖への付け替え反応の進行に従って肝臓表面に高密度に発現する ASGPR へと標的が変更され、糖鎖アルブミンが肝臓に取り込まれたのちに代謝を受け、血中から腸管へと移動することを証明した。一方で、SW620 がん表面には Galectine-8 と呼ばれるシアリル化糖鎖を認識するレクチンが過剰発現しており、シアリル化糖鎖アルブミンによって標的化できることがわかっている。よってまず、SW620 がん細胞表面でシアリル化糖鎖からガラクトシル化糖鎖への付け替え反応を実施し、SW620 がんへの相互作用を弱めることができることを確認した。さらに、マウス腫瘍組織内での糖鎖付け替え反応により、がんへの相互作用を弱めつつ ASGPR へと標的を変更することで、腫瘍組織から腸管への糖鎖アルブミンの移動を達成した。以上のように著者は本博士論文において、糖鎖アルブミン上での糖鎖付け替え反応を開発し、様々な条件下、アルブミン上に修飾したシアリル化糖鎖からガラクトシル化糖鎖への糖鎖付け替え反応を実施した。その結果、マウス体内の複雑環境下でも糖鎖付け替え反応が進行し、糖鎖アルブミンの標的認識を更新して、血中やがんから肝臓を經由して腸管へと糖鎖アルブミンを移動させることに成功した。本研究で実現した標的から新たな標的へと移動する糖鎖アルブミンは、体内の複数の疾患部位への標的化や排泄制御が可能であるため、既存の治療分子と組み合わせることで、画期的な治療技術創出への展開が期待される。

(博士課程)
Doctoral Program

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of Graduate major in	応用化学 応用化学	系 コース	申請学位(専攻分野)： 博士 Academic Degree Requested Doctor of	(工学)
学生氏名： Student's Name	山田健士郎		審査員主査： Chief Examiner	田中克典

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

Glycan clusters of different types of glycans are formed on the cell surface and are responsible for selective cell-to-cell recognition (glycan pattern recognition). In the author's laboratory, cancer targeting method using glycoalbumin which can selectively discriminate between different cancers and organs in mice depending on the glycan patterns modified on the albumin was developed. Therefore, the author hypothesized that if the glycan pattern on glycoalbumin could be updated in mice, glycoalbumin would be translocated from one target to a new target. In Chapter 1, glycoalbumin-I (TCO-conjugated glycoalbumin) and Gal-Tz (glycan-linked tetrazine) were synthesized and their glycan replacement reaction on albumin was carried out. By tracking changes in the molecular weight of glycoalbumin, two-step reaction involving the addition of new glycans and the removal of old glycans on albumin was confirmed, thereby the glycan replacement reaction progress was demonstrated. Furthermore, the reaction kinetics of the glycan replacement reaction was also investigated using a model compound. In Chapter 2, glycan replacement of glycoalbumin-I with sialylated glycans that recognize blood and SW620 tumor to FL750 glycoalbumin-II with galactosylated glycans that lead albumin to the intestine was performed. Glycan replacement reaction in the mice blood proceeded to transfer glycoalbumin from the blood to the intestinal tract. In addition, glycan replacement reaction in SW620 tumor-bearing mice was also conducted and migration of glycoalbumin from the tumor tissue to the intestinal tract was confirmed. These results have proven the concept of in vivo translocation of glycoalbumin molecules driven by chemical reactions. In this thesis, the author developed a glycan remodeling reaction on glycoalbumin and demonstrated that the reaction proceeds in a flask, in vitro, in blood or in tumor tissue, and that the target recognition of glycoalbumin is updated and that glycoalbumin translocate from blood or SW620-tumor tissue to intestine.

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note: Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1 copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東京科学大学リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Science Tokyo Research Repository Website (T2R2).