

## 血糖生成酵素 MGAM の分子構造と阻害機構を解明

～血糖値上昇を抑制する新規薬剤・食品開発への貢献に期待～

### ポイント

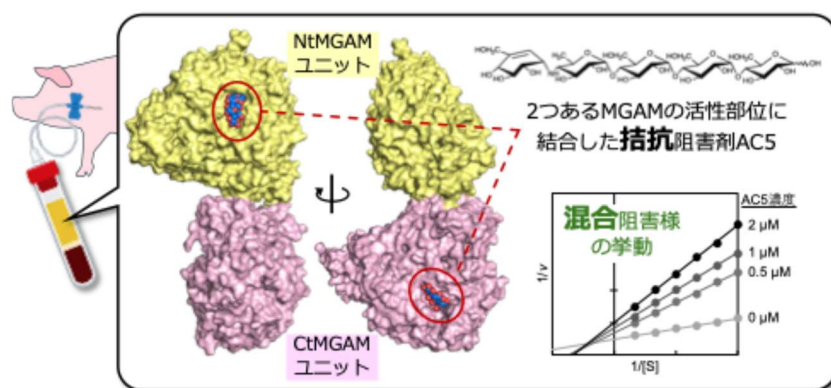
- ・小腸に存在するはずの血糖生成酵素 MGAM が、ブタの血清に大量に含まれることを発見。
- ・高純度の MGAM が利用可能となったことで、その立体構造や阻害剤の作用の詳細な解析に成功。
- ・血糖値上昇を抑制する新規化合物の探索や設計などの応用研究の発展に期待。

### 概要

北海道大学大学院農学研究院の田上貴祥准教授、奥山正幸教授らと、高エネルギー加速器研究機構（KEK）物質構造科学研究所構造生物学研究センターの川崎政人准教授、安達成彦特任准教授（研究当時。現 筑波大学生存ダイナミクス研究センター准教授）、千田俊哉教授らの研究グループは共同で、血糖を生成する酵素であるマルターゼ-グルコアミラーゼ（MGAM）が拮抗阻害剤<sup>\*1</sup>AC5<sup>\*2</sup>によって阻害される仕組みを分子レベルで明らかにしました。

MGAM は哺乳類の小腸に存在する澱粉消化酵素の一つです。MGAM の阻害は、食後血糖値の急激な上昇（血糖値スパイク）を抑制し、2 型糖尿病<sup>\*3</sup>の予防や治療に有効です。しかし、MGAM を小腸から大量に取得することは難しく、MGAM と阻害剤との相互作用の詳細は明らかにされてきませんでした。本研究では MGAM がブタの血清中に大量に存在することを発見し、高純度の MGAM を高収量で取得する方法を確立しました。さらに AC5 により阻害された MGAM の立体構造を KEK のクライオ電子顕微鏡を用いて解明、阻害の速度論的解析を行い、AC5 による MGAM の阻害で観察される混合阻害に似た挙動が、二重の拮抗阻害に起因することを明らかにしました。本研究の成果は、食後の血糖値スパイクを抑制する医薬品や食品の研究開発の加速につながることを期待されます。

なお、本研究成果は、2026 年 1 月 14 日（水）公開の Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry 誌にオンライン掲載されました。



クライオ電子顕微鏡-単粒子解析によって明らかにしたブタ血清 MGAM と拮抗阻害剤 AC5 との複合体構造。AC5（青と赤）は MGAM の NtMGAM ユニット（黄色）と CtMGAM ユニット（ピンク）それぞれの活性部位に結合する「二重の拮抗阻害剤」として働くため、阻害型式は一見すると混合阻害として観測されることが明らかとなった。

## 【背景】

食事に含まれる澱粉は、唾液と膵液に含まれる  $\alpha$ -アミラーゼによってマルトオリゴ糖へと分解された後、小腸でブドウ糖へと分解されます。ブドウ糖は小腸で吸収されて血液へと運ばれ血糖となります。マルトオリゴ糖を分解してブドウ糖を生成する消化酵素が、小腸に局在するマルターゼ-グルコアミラーゼ (MGAM) です。MGAM は二つの触媒ユニット (NtMGAM と CtMGAM) が連結した酵素であり、NtMGAM と CtMGAM はそれぞれ異なる触媒活性を有しています。

血糖値は食後に一時的に上昇しますが、通常はインスリンの働きによって適切な値へと戻ります。しかし、糖尿病ではインスリンの作用不足により、慢性的に血糖値が高い状態が続いてしまいます。高血糖は動脈硬化を促進し、心筋梗塞や脳梗塞などの合併症を発症するリスクを高めることから、食後の血糖値の上昇を抑えることが重要とされています。血糖値の上昇を抑える方法の一つが、MGAM の働きを阻害し、ブドウ糖の生成を遅らせることです。MGAM を標的とした薬剤としてボグリボース、ミグリトール、アカルボースなどが処方されますが、お腹の張りや便秘異常などの副作用に加え、低血糖、腸閉塞などの重大な副作用も報告されています。よって、より安全で継続的に利用しやすい医薬品や食品成分の開発が求められています。

MGAM を効率的に阻害する新たな薬剤や機能性食品の開発では、MGAM のタンパク質立体構造を基にして分子レベルで阻害化合物をデザインすること、またこれら化合物の阻害効果を実際に検証することが必要となります。しかし、小腸の細胞膜に固定されていて大きく複雑な酵素である MGAM を完全な形で取得することは困難であり、その立体構造解析や阻害の詳細な解析が行われていないのが実情でした。

## 【研究手法】

本研究では、新規 MGAM 阻害剤開発の基盤構築を目的とし、MGAM の簡便な調製法を確立しました。また、アカルボース類似阻害剤 AC5 をモデルに、MGAM に対する阻害機構を解析しました。ブタ血清中に MGAM に似た活性を有する酵素が存在することが 1976 年に報告されていたことから、ブタ血清から 4 段階のカラムクロマトグラフィー<sup>\*4</sup> 操作によってこの酵素を精製し、N 末端アミノ酸配列解析によって MGAM であることを同定しました。ブタ小腸 MGAM の cDNA<sup>\*5</sup> をピキア酵母に導入し、MGAM の組換え酵素<sup>\*6</sup> を生産しました。MGAM の二つの触媒ユニットそれぞれ単独の組換え酵素－組換え NtMGAM と組換え CtMGAM－やこれらの変異体酵素の生産にもピキア酵母を用いました。これら酵素の活性阻害を速度論的解析に基づいて評価しました。また、MGAM と AC5 の複合体構造をクライオ電子顕微鏡-単粒子解析<sup>\*7</sup> によって決定し、AC5 の結合様式を分子レベルで解明しました。

## 【研究成果】

本研究ではまず、ブタの血清に含まれる酵素がブタ小腸 MGAM と同一であることを同定しました。具体的には、ブタ血清から精製した酵素の N 末端アミノ酸配列が、小腸 MGAM の配列と完全に一致することを確認しました。さらに、ピキア酵母を用いたブタ小腸 MGAM 組換え酵素生産法を確立し、組換え酵素と血清中の酵素の性質が同等であることを明らかにしました。

ブタ MGAM とヒト MGAM のアミノ酸配列を比較したところ、80% の高い一致率を示したことから、ブタ血清 MGAM をヒト小腸 MGAM の代替酵素として利用可能であることを見出しました。加えて、ブタ血清からの高収率かつ高純度 MGAM 精製法を確立するとともに、スクロース存在下での凍結乾燥により、活性を維持したままブタ血清 MGAM を長期保存できることを明らかとしました。

組換え NtMGAM 及び組換え CtMGAM はそれぞれ異なる基質特異性や熱変性の特徴を有しており、

全長の MGAM は両ユニットの特性を反映した挙動を示しました。阻害解析の結果、阻害剤 AC5 は組換え NtMGAM 及び組換え CtMGAM に対してはそれぞれ拮抗阻害を示した一方、血清由来 MGAM に対しては混合阻害に似た挙動を示しました (図 1)。この現象を分子レベルで解明するため、クライオ電子顕微鏡-単粒子解析を行い、血清 MGAM と AC5 との複合体構造を観察しました。その結果、AC5 は各ユニットの活性部位にのみ結合しており、構造的にも両ユニットに対して拮抗阻害剤として作用することが支持されました (図 2)。最終的に、二つの触媒ユニットが独立して拮抗阻害を受ける「二重の拮抗阻害」から導かれる理論式を適用することで、MGAM で見られたみかけの混合型阻害を説明することに成功しました。本研究結果は、MGAM の阻害剤評価において、その阻害型式の判定には細心の注意が必要であることを明確に示しています。

### 【今後への期待】

2 型糖尿病の蔓延は世界的に深刻な状況であり、国際糖尿病連合によると、患者数は 2050 年までに 8.5 億人を超えると予測されています。こうした背景から、効果的な血糖管理戦略の構築は喫緊の課題です。医薬品のみならず、特に日常生活の食品や飲料を通じて高血糖を抑制するアプローチは、予防医学の観点からも有効であると考えられます。本研究により、これまで入手が困難であった MGAM の安定的な供給基盤の確立に道が開かれました。これにより、世界中の研究者が MGAM を用いた解析を容易に実施できるようになり、新規 MGAM 阻害成分の探索や、それに基づく機能性食品・創薬研究が飛躍的に加速することが期待されます。

### 【謝辞】

日本フードパッカー株式会社道南工場には研究試料を恵与いただきました。本研究は JSPS 科研費 JP17K15389、JSPS 地域中核・特色ある研究大学強化促進事業 JPJS00420230001 及び日本農芸化学会第 18 回農芸化学研究企画賞の助成を受けたものです。また、クライオ電子顕微鏡-単粒子解析は AMED の創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム (BINDS; 課題番号 JP24ama121001 及び JP24ama121002) の支援を受けて実施されました。

## 論文情報

論文名 Porcine Serum Maltase-Glucoamylase: Structure, Kinetics, and Inhibition (ブタ血清マルターゼ-グルコアミラーゼ：立体構造、反応動態並びに阻害)

著者名 渡邊 憲<sup>1</sup> (研究当時)、田上貴祥<sup>2</sup>、枇杷千尋<sup>1</sup> (研究当時)、川崎政人<sup>3</sup>、安達成彦<sup>3</sup> (研究当時)、<sup>4</sup>、守屋俊夫<sup>3</sup>、千田俊哉<sup>3</sup>、奥山正幸<sup>2</sup> (<sup>1</sup>北海道大学大学院農学院、<sup>2</sup>北海道大学大学院農学研究院、<sup>3</sup>高エネルギー加速器研究機構物質構造科学研究所、<sup>4</sup>筑波大学生存ダイナミクス研究センター)

雑誌名 Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry (酵素阻害と創薬化学の専門誌)

D O I 10.1080/14756366.2025.2612391

公表日 2026 年 1 月 14 日 (水) (オンライン公開)

## お問い合わせ先

北海道大学大学院農学研究院 准教授 田上貴祥 (たがみ たかよし)

T E L 011-706-2816 F A X 011-706-2808 メール tagami@agr.hokudai.ac.jp

U R L <https://sites.google.com/elms.hokudai.ac.jp/molenz/home>

## 配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

高エネルギー加速器研究機構広報室 (〒305-0801 つくば市大穂 1-1)

T E L 029-879-6047 メール press@kek.jp

筑波大学広報局 (〒305-8577 つくば市天王台 1-1-1)

T E L 029-853-2040 F A X 029-853-2014 メール kohositu@un.tsukuba.ac.jp

## 【参考図】

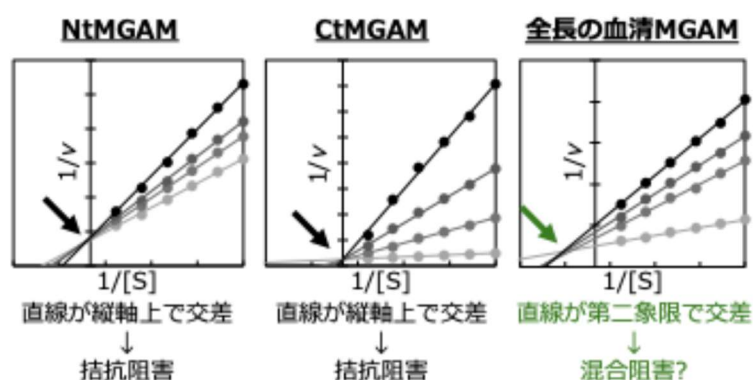
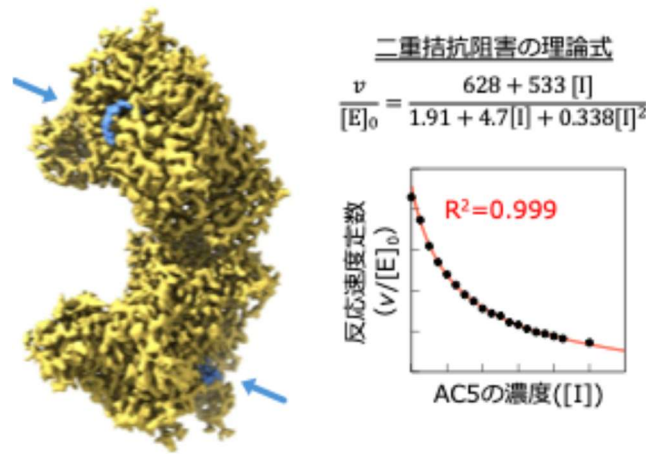


図 1. AC5 の阻害型式判定のための Lineweaver-Burk プロット

直線の交点の位置から阻害型式を判定できる。AC5 は単独の NtMGAM と CtMGAM には拮抗阻害の挙動を示したのに対し、全長の血清 MGAM には混合阻害のような挙動を示した。



**図 2.** 血清 MGAM と AC5 の複合体構造及び二重拮抗阻害の実証

AC5 に由来する静電ポテンシャルマップ（青）は二つの活性部位にのみ観察され、二重の拮抗阻害が支持された。

二重拮抗阻害の型式から導出された「阻害剤濃度と反応速度定数の関係を表す理論曲線（赤線）」は、実際の測定値（黒プロット）と良く一致した（決定係数 0.999）。

### 【用語解説】

- \* 1 拮抗阻害剤 … 一般的に基質と競合して酵素の活性部位に結合することで酵素反応を阻害する物質。拮抗阻害と混合阻害は酵素反応を阻害する機構の違いで、混合阻害剤は、酵素活性部位に加えて酵素－基質複合体にも結合して酵素反応を阻害する。またこの時、基質もしくは阻害剤の結合が他方の結合に影響を及ぼし合う。阻害型式は Lineweaver-Burk の両逆数プロットに基づいて判別できる。阻害剤濃度をいくつか変えて両逆数プロットをとると、拮抗阻害では縦軸上（1/V<sub>max</sub> を示す値）に交点をもつ交差直線群を与えるが、混合型阻害では直線が縦横両軸上にない一点で交わる。
- \* 2 AC5 … 澱粉消化酵素群の拮抗阻害剤であるアカルボース（擬似四糖）の還元末端に 1 分子のブドウ糖を連結した擬似五糖。アカルボースと同様に、澱粉消化酵素の拮抗阻害剤として働くことが報告されている。
- \* 3 2 型糖尿病 … インスリンの作用不足によって血糖値が慢性的に高い状態が続く代謝疾患。日本の糖尿病患者の約 9 割以上を占め、主に中高年以降に多く見られる生活習慣病の一種。自己免疫異常などによりインスリンがほとんど分泌されなくなる 1 型糖尿病とは異なり、2 型糖尿病は適切な予防や生活改善によって発症や進行を抑えることが可能である。
- \* 4 カラムクロマトグラフィー … 分子を荷電状態やサイズなどの違いを利用して分離する手法のこと。
- \* 5 cDNA … 成熟した mRNA を鋳型とした逆転写反応によって人工的に合成された DNA のこと。cDNA の塩基配列には、翻訳によってタンパク質のアミノ酸配列となる情報がコードされている。
- \* 6 組換え酵素 … ある生物由来の酵素の遺伝子や cDNA を本来とは別の生物（本研究ではピキア酵母を使用）に導入することで生産させた酵素のこと。大量かつ安定的に目的酵素を得ることが可能であり、生命科学研究のみならず医薬品などとしても広く利用されている。
- \* 7 クライオ電子顕微鏡-単粒子解析 … タンパク質などの生体高分子の立体構造を原子レベルで観察するための手法の一つ。ランダムな方向を向いた状態で急速凍結されたタンパク質試料に電子線を照射し、得られた 2 次元の粒子像をコンピュータで重ね合わせて 3 次元構造に再構成する。