

審査の結果の要旨

氏名 小谷典弘

β 1,4-galactosyltransferase-I (GalT-I) は、糖タンパク質糖鎖の β 1,4ガラクトシル化を担う重要な酵素として注目されてきた。1997年に作製された本酵素のノックアウトマウスは、大半が出生後早期に死亡し、生き残ったマウスは成長遅延、皮膚の肥厚、小腸上皮細胞の分化異常、好中球増加、等の多様な異常を呈する。しかしその後、 β 1,4ガラクトシル化に関与する複数の酵素の存在が明らかになり、本ノックアウトマウスの病態や、GalT-Iが糖鎖の β 1,4ガラクトシル化に果たす役割の解明にとって、詳細な糖鎖の構造変化の解析が必須となってきた。

そこで本研究では、まずGalT-Iのノックアウトに伴う糖鎖の構造変化に関する研究を進め、本酵素の糖鎖生合成における役割を解析した。次に、糖鎖の構造異常と病態との関連性を解明する一環として、本マウスの異常の一つである貧血に着目し、その機構について解析した。

[I] GalT-I欠損による糖鎖の構造変化

レクチン染色法による分析や酵素活性測定から、GalT-Iノックアウトマウスの主要な組織において、Galの転移活性やGal結合性レクチンとの反応性が激減することがこれまで示されていた。しかし、本研究における詳細な解析の結果、以下に示す多様な糖鎖の構造変化が起きていることが判明した。1) GalT-Iのノックアウトによって、赤血球の膜糖タンパク質のコア2型O-グリカンの β 1,4ガラクトシル化が劇的に低下するのに対し、N-グリカンのガラクトシル化の低下は軽微である。2) コア2型O-グリカンの β 1,4ガラクトシル化の劇的な低下は脾臓細胞においても認められる。3) 赤血球膜のN-グリカンの構造変化は、O-グリカンとは異なり年齢依存的であり、加齢に伴って分岐構造が増加する。4) 肝細胞膜や血漿の糖タンパク質においては、N-グリカンの β 1,4Gal残基が激減し、補償的に β 1,3Gal残基が顕著に増加し（側鎖の基本骨格のタイプ2鎖からタイプ1鎖への変換）、同時にシアル酸の結合様式も変化する。以上の結果から、GalT-Iはコア2型O-グリカンのガラクトシル化において中心的な役割を果たしていることを明らかにした。また、GalT-IのN-グリカンのガラクトシル化への寄与は組織により異なり、本酵素の欠損が組織や年齢に依存して、側鎖の基本骨格構造やシアリル化にも影響する多様な糖鎖構造変化を引き起こすことを示した。

[II] 貧血と赤血球表面糖鎖構造変化の関係

本研究過程で、ノックアウトマウスのヘマトクリット値が有意に低下しており貧血であることが分かった。そこで、ノックアウトマウス赤血球表面糖鎖のGal残基が欠損することに注目し、GlcNAc残基が露出した赤血球が異物として認識され、排除（溶血）されることが貧血の原因ではないかという可能性を検証した。その結果、1) 補体血清の添加により、ノックアウトマウスの赤血球特異的に溶血が起こり、この反応は補体要求性で、GlcNAc添加で阻害される糖鎖依存性を示すこと、2) 正常マウス血清から精製したコレクチンが、ノックアウトマウス赤血球表面のGlcNAcを認識して特異的に結合し凝集させること、3) ノックアウトマウスでは血漿中のコレクチン量が激減していること、等が判明した。以上の結果から、本マウスの貧血の一因として、レクチン経路による持続的な溶血が関与していることを示唆した。

以上、本研究はGalT-Iのノックアウトマウスの解析から、*in vivo*における糖鎖生合成における本酵素の役割に関する新しい知見を示し、また、ノックアウトマウスの病態の一つである貧血の背景を明らかにしたものであり、糖鎖生物学の発展に寄与する有用な知見を提供するものである。よって博士（薬学）の学位に値すると判定した。