



|              |   |
|--------------|---|
| Title        | 新生児ウシ皮膚にみられる分子サイズの異った2種のデルマタン硫酸プロテオグリカン   |
| Author(s)    | 松永, 悅治  |
| Citation     | 大阪大学, 1987, 博士論文  |
| Version Type |   |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/35597">https://hdl.handle.net/11094/35597</a>   |
| rights       |   |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

|         |   |
|---------|---|
| 氏名・(本籍) | 松永 悅治   |
| 学位の種類   | 医学博士  |
| 学位記番号   | 第 7541 号                                      |
| 学位授与の日付 | 昭和 62 年 2 月 13 日                              |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 5 条第 2 項該当                              |
| 学位論文題目  | 新生児ウシ皮膚にみられる分子サイズの異った 2 種のデルマタン<br>硫酸プロテオグリカン |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 吉川 邦彦<br>(副査) 教授 藤内 百治 教授 谷口 直之       |

### 論文内容の要旨

#### [目的]

臓器線維化機構において、プロテオデルマタン硫酸 (PDS) とコラーゲン線維が相伴して存在することが電顕的に観察されている。コラーゲン線維形成における PDS の機能をみる目的で分子構造を解析したところ、仔牛皮膚中性塩可溶性画分から得られた PDS は 55K のコア蛋白に 17.5K よりなる 1 本のデルマタン硫酸 (DS) 鎖、1 本の Asn-型オリゴ糖、3 本の O-グリコシド型少糖が共有結合した形態であることを知った (副論文: Nakamura, T. et al., Biochem. J., 213 : 289, 1983; Shinkai, H., et al., Biochem. J., 213 : 297, 1983)。しかしながら中性塩不溶性画分にも DS が認められることから、ここに存在する DS 鎖は上記と同様の PDS に由来するのか、あるいは異ったコア蛋白を有するのかを、グアニジン塩酸にて可溶化して得られたプロテオグリカンを用いて性状を検討した。

#### [方法と成績]

中性塩不溶性画分を 4 モルグアニジン塩酸にて、プロテアーゼ阻害剤の存在下で可溶化し、DEAE-セファデックスイオン交換、コンカナバリン A (Con A) セファロースアフィニティクロマト、塩化セシウム密度勾配遠心法、セファロース CL-4B によるゲルロカにてプロテオグリカンを精製した。プロテオデルマタン硫酸の 1 種は 55K と 53K のコア蛋白を有し、Con A に結合する (PDS-H, 高分子プロテオデルマタン硫酸)。もう 1 種は 20K のコア蛋白を有し Con A に対し非結合性であることが判明した (PGs-L, 低分子プロテオグリカン)。55K と 53K のコア蛋白はトリプシンペプチドマップではほぼ同様のパターンがみられる事から同一分子種と考えられる。一方、PGs-L は PDS-H と比較してペプチドパターン、アミノ酸組成が異なり、55K コア蛋白に対するポリクローナル抗体を用いて免

疫学的交差性を観察すると、55K, 53Kコア蛋白は交差性がみられるが、20Kコア蛋白とは交差しない。又、PGs-Lはグリコサミノグリカン成分としてはDSとコンドロイチン硫酸(CS)から成るが、PDS-HはDSのみから成る。

#### [総括]

仔ウシ皮膚の中性塩可溶性画分から得られたPDSのコア蛋白は55Kのみ認められたが、中性塩不溶性画分からPDS-Hのコア蛋白は55K、及び53Kの両者が得られ、他に分子量20Kを有するPGs-Lがみられた。53Kのコア蛋白はペプチドマップ、免疫学的交差性の結果、55Kと同一分子種と考えられる。これらの相異がオリゴ糖に由来するかを知る目的で、エンド $\beta$ -N-アセチルグルコサミニダーゼHあるいはFで消化したところ、55Kから53Kへの移動は電気泳動上みられない。この事から55Kは53Kの前駆体で、ペプチド部分の相異が電気泳動にて2つのバンドとしてみられることが示唆される。PGs-Lは2つのグリコサミノグリカンから構成され、両者はコンドロイチナーゼABCに感受性を示すが、そのうちの1つはコンドロイチナーゼACに抵抗性を示す。このことからPGs-LはDSとCSとから構成されることが判明した。両酵素消化において、いずれも20Kのコア蛋白が得られた。以上の結果、PGs-Lは既知のPDSとは全く構造を異なる新しいプロテオグリカンの1つであり、コラーゲンとプロテオグリカンの線維化機構における関連を考えると、PGs-Lの役割については不明であるが、重要な細胞外マトリックスの1成分であると考えられる。

#### 論文の審査結果の要旨

プロテオグリカンは真皮結合組織の重要な構成成分があるが、未だ不明の部分が残されている。

本研究は新生児ウシ皮膚真皮の中性塩不溶性、グアニジン塩酸可溶性画分よりデルタマン硫酸プロテオグリカンを分離精製し、その性状を検討した。その結果、コア蛋白には55K、53K、20Kの三種が存在し、53K蛋白は55K蛋白が変化を受けたものであること、20K蛋白は全く別のものであり、本蛋白にはデルマタン硫酸と共にコンドロイチン硫酸も結合するユニークな分子であることが明らかにされた。

真皮結合組織の性状解明にとって、価値ある研究であると思われる。