



Title	N-AcetylglucosaminyltransferaseIII and V Messenger RNA Levels in LEC Rats during Hepatocarcinogenesis
Author(s)	三善, 英知
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38928
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	三 善 英 知
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 2 8 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 6 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科内科系専攻
学 位 論 文 名	N-Acetylglucosaminyltransferase III and V Messenger RNA Levels in LEC Rats during Hepatocarcinogenesis (LEC ラット発癌過程における N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ III と V の発現)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 鎌田 武信 (副査) 教 授 谷口 直之 教 授 中村 敏一

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

高等生物において、タンパク質の糖鎖は細胞の発生、分化、接着、増殖の制御に関与すると言われている。そして、その糖鎖構造の変化は固有の糖転移酵素により調節される。N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ III と V (以下 GnT-III, -V) は、アスパラギン結合型の糖鎖合成を触媒する主要な酵素である。即ち、GnT-III は core β -Mannoside の 4 の位置に GlcNAc (N-acetylglucosamine) を転移するもので、GnT-V は α -Mannoside の 6 の位置に分枝鎖の GlcNAc を転移するものである。以前より、癌化や癌転移に伴ってタンパク質の糖鎖構造に変化が見られることが注目されてきた。それらの変化は、糖転移酵素の活性化によるものと推測されるが、詳細なメカニズムや癌化における意味は未だ明らかではない。

LEC ラット (Long-Evans with a cinnamon-like color rat) は、何らかの遺伝的素因に基く銅代謝異常により肝炎、肝癌を自然発症するラットである。生後12-16週齢で急性肝炎のためその約50%が死亡するが、生存例は慢性肝炎を経て肝癌を発症する。本研究の目的は、LEC ラット発癌過程における GnT-III, GnT-V の発現をタンパク質と mRNA のレベルから検討することである。

【方法】

加齢による変化を見るためのコントロールとしては、同系で肝炎を発症しない LEA ラット (Long-Evans with an agouti coat color rat) を用いた。

LEC ラットは、その臨床経過から生後 1-9 週齢 (肝炎発症前)、10-19 週齢 (急性肝炎期)、20-29 週齢 (急性肝炎からの回復期)、30 週齢以後 (慢性肝炎期) の 4 つの病期に分類し検討した。各週齢のラットから肝臓を摘出後、10 mM Tris-HCl (pH7.4)、0.25M sucrose 溶液中でホモジナイズし、900 $\times$ g で遠心後その上清をサンプルとした。GnT-III と V の活性測定は 2-アミノピリジンで標識した 2 本鎖糖鎖を基質とし、反応後 HPLC で解析して行った。mRNA の発現は GnT-III, V の cDNA の一部をプローブとして Northern blot 法にて検出した。発癌症例では、癌部と非癌部から別々に RNA を抽出し検討した。

【結果】

GnT-III の活性は急性肝炎期には低く、生後30週齢以降の慢性肝炎期に上昇した (肝炎発症前の2.5-11.5倍)。GnT-V の活性は、急性肝炎回復期の生後20週齢より上昇し (肝炎発症前の1.5-2.5倍)、発癌期まで持続高値を示した。

GnT-Ⅲ の mRNA は4.7 kb の 1 本のバンドとして、GnT-V の mRNA は6.6kb と3.5kb の 2 本のバンドとして検出された。肝炎発症前は、両酵素とも mRNA の発現が殆ど見られず、mRNA の変化はおおよそ活性値の変化に一致した。52週齢以後の発癌例では癌部だけでなく非癌部においても強く発現していた。腹腔内リンパ節に転移した一例では、GnT-Ⅲ、V の mRNA は原発巣にくらべ転移巣で著しく発現していた。

【総括】

本研究によって、GnT-Ⅲ と GnT-V が LEC ラット発癌過程の異なる時期に誘導され、糖タンパク質におけるアスパラギン結合型糖鎖の癌性変化の原因となっていることが示唆された。さらに発癌例では、癌部のみならず非癌部においても mRNA は発現していることを見出した。従来、アスパラギン結合型糖鎖の癌性変化は糖転移酵素の活性と糖鎖構造からのみ研究されてきたが、遺伝子の面から解析することにより今後さらにその詳細なメカニズムの解明が期待される。

論文審査の結果の要旨

糖タンパク質のアスパラギン結合型糖鎖構造が癌化に伴って変化することは以前から注目されてきた。その原因としては本研究の GnT-Ⅲ と GnT-V を含めた固有の糖転移酵素が活性化されるためと考えられるが、詳細なメカニズムは未だ明らかでない。これらの酵素は、生体内に極めて微量しか存在しないこと、活性測定が煩雑なことなどから、現在、約200種類あると言われている糖転移酵素の中で精製、クローニングされたものかわずか10数種しかない。そのため分子レベルからの研究が困難であった。特に *in vitro* で測定した酵素活性の上昇が *in vivo* での活性をどれ程反映しているのか、つまり実際にこれらの蛋白の遺伝子発現は増えているのか否かということは、極めて興味深いことであった。これまで発癌と糖転移酵素の関係を mRNA のレベルから検討した報告は一例もなく、本論文が世界で初めてのものと思われる。特に、GnT-Ⅲ、GnT-V の mRNA が癌化に先だって発現の増加がみられること、癌転移巣で著増していることなど示唆に富む。また、肝癌のモデル動物として用いた LEC ラットは、慢性肝炎から肝癌を発症する点でヒトの肝発癌過程と類似しており、将来ヒト肝癌の研究にも応用できる可能性がある。

以上より、本論文は博士（医学）の学位を授与するに値すると認定する。