



|              |  |
|--------------|--|
| Title        | Galectin-3 : A Novel Antiapoptotic Molecule with A Functional BH1 (NWGR) Domain of Bcl-2 Family  |
| Author(s)    | 赤埴, 詩朗   |
| Citation     | 大阪大学, 2000, 博士論文   |
| Version Type |  |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/42723">https://hdl.handle.net/11094/42723</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=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">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         | 赤 壇 詩 朗   |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士(医学)  |
| 学位記番号      | 第 15649 号   |
| 学位授与年月日    | 平成12年6月30日  |
| 学位授与の要件    | 学位規則第4条第2項該当  |
| 学位論文名      | Galectin-3 : A Novel Antiapoptotic Molecule with A Functional BH1 (NWGR) Domain of Bcl-2 Family<br>(ガレクチン-3 : bcl-2ファミリーの BH1 (NWGR) ドメインを有す新しい抗アポトーシス分子) |
| 論文審査委員     | (主査)<br>教授 久保 武   |
|            | (副査)<br>教授 野口眞三郎 教授 宮坂 昌之   |

### 論文内容の要旨

#### (目的)

アポトーシス阻害蛋白の一種である bcl-2 は分子生物学的にその BH1 ドメイン内の NWGR モチーフを介して抗アポトーシス作用を発揮し、点突然変異の手法を用いて NWGR モチーフを NWAR に変換することでアポトーシス阻害能を喪失することが知られている。加えて bcl-2 は CPP32/Yama を含むシステインプロテアーゼ依存性にアポトーシスを阻害することが明らかになった。Galectin-3 は分子量約 31kDa のガラクトース結合性レクチンであり細胞の成長、接着、転移といった生物学的現象における関与が示唆されている。その上近年ある種の悪性腫瘍では Galectin-3 の発現と悪性度が正の相関を持つことが示され有用な腫瘍マーカーの一つとしての可能性も模索されている。Galectin-3 は 3 つのドメイン即ち C 末端、N 末端そして remaining 残基から構成され bcl-2 ファミリーには属さないがその C 末端に NWGR モチーフを有する。ここに我々はシスプラチン(以下 CDDP と記す)によって誘発されるアポトーシスにおける Galectin-3 の抗アポトーシス機能とそのメカニズムを乳癌細胞株 BT549 を用いて検証すると共に点突然変異の手法を用いてその NWGR モチーフの意義を解明する。

#### (方法ならびに成績)

Galectin-3 を発現しない乳癌細胞株 BT549 (Wild Type) とその組み替え型 Galectin-3 Sense-Transfected である 11914、Antisense-Transfected である 41421 について CDDP 感受性を比較検討したところ Sense-Transfected では他の 2 種株に比し細胞死、DNA 断片化やクロマチン濃縮が惹起されず CDDP 耐性を示した。また抗 CPP32/Yama 抗体を用いたウエスタンブロッティングにより CDDP 付加後 Wild Type および Anti-Sense Transfected ではシステインプロテアーゼの一つである CPP32/Yama 活性化が認められたが Sense-Transfected では認められなかった。次に点突然変異の手法を用いて Galectin-3 の NWGR モチーフを NWAR に変換した変異型 Galectin-3 Sense-Transfected である BT549/Gal-3G182A では上記の CDDP 耐性を示さず、一方 CPP32/Yama 活性化が認められた。

#### (総括)

乳癌細胞株 BT549において組み替え型 Galectin-3 を強制発現させることで CDDP に対する抗アポトーシス能が増強し Galectin-3 が bcl-2 と同様にシステインプロテアーゼ依存性にアポトーシスを阻害することを証明した。また点突然変異の手法を用いて Galectin-3 の NWGR モチーフがその抗アポトーシス能に関与し bcl-2 と同様に NWAR へ

の変換によりアポトーシス阻害能を喪失することを証明した。以上より Galectin-3は分子生物学的に bcl-2-like な構造と機能をもつ新しいアポトーシス阻害分子であると考察される。

#### 論文審査の結果の要旨

ガラクトース特異的レクチンの一種であるガレクチン-3は古くから細胞増殖との関係が指摘されており、頭頸部癌を含む様々な悪性腫瘍においてはガレクチン-3の発現と悪性転化度が正の相関を持つことが示唆されている。この論文では乳癌細胞株 BT549を用いた分子生物学的実験によりガレクチン-3がシスプラチニによって惹起されるアポトーシスを阻害することが示された。また Bcl-2のアポトーシス抑制活性に必須と考えられている NWGR モチーフ (BH1ドメイン) がガレクチン-3の糖結合部位近傍に存在することに注目し、点突然変異の手法を用いてそのモチーフがガレクチン-3のアポトーシス阻害作用に関与すること、加えてガレクチン-3が Bcl-2と同様にシステムプロテアーゼ依存性にアポトーシスを阻害することが示された。この論文はガレクチン-3が Bcl-2と類似した構造と機能を有すことを証明した唯一の論文であり、かつガレクチン-3によるアポトーシス阻害機構の解明への鍵になると思われ、学位論文に値すると考える。