The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	A glycomic approach to hepatic tumors in N-acetylglucosaminyltransferase III (GnT-III) transgenic mice induced by diethylnitrosamine(DEN) : Identification of haptoglobin as a target molecule of GnT-III
Author(s)	江國, 敦子
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43701
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

【20】

氏　　名	江　國　敦　子（えくにあつこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　16817　号
学位授与年月日	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生体制御医学専攻
学　位　論　文　名	A glycomic approach to hepatic tumors in *N*-acetylglucosaminyltransferase III (GnT-III) transgenic mice induced by diethylnitrosamine (DEN): Identification of haptoglobin as a target molecule of GnT-III （*N*-アセチルグルコサミン転移酵素III（GnT-III）トランスジェニックマウスにおけるジエチルニトロサミン（DEN）誘発肝癌のグライコーム解析：標的分子としてのハプトグロビン）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　谷口　直之 （副査） 教　授　中村　敏一　　教　授　高井　義美

論　文　内　容　の　要　旨

【目的】

生体内で糖転移酵素がどのような分子を標的としているのかを検索することは、in vivo での糖転移酵素遺伝子の重要性を理解するために有用な方法であり、このような方法をグライコーム解析とよんでいる。*N*-アセチルグルコサミン転移酵素Ⅲ（GnT-Ⅲ）は正常な肝臓では発現が低いが、肝臓癌の形成過程で慢性肝炎期から発現が上昇することが報告されている。しかし、肝臓癌の形成にGnT-Ⅲがいかに関与するかは明らかではない。そこで、グライコーム解析の手法を用いて、GnT-Ⅲの肝発癌過程における役割を明らかにすることを目指した。

【方法ならびに成績】

肝臓特異的プロモーター（SAP）を用いて作製したGnT-Ⅲトランスジェニックマウスに生後14日でジエチルニトロサミン（DEN）を5 μg/g（体重）投与した。6ヵ月後に肝臓を肉眼的に観察したところ、コントロールマウスでは16匹中11匹に腫瘍がみられたのに対してGnT-Ⅲトランスジェニックマウスでは19匹中1匹にしか腫瘍が認められず（$p<0.01$）、腫瘍形成が抑制されていた。

しかしながら、肝臓癌自然発症ラット（LECラット）の研究ではGnT-Ⅲの発現が上昇した肝癌もみられたことから、GnT-Ⅲと肝癌形成の関係を知るために、GnT-ⅢトランスジェニックマウスにDENを10 μg/g（体重）投与し、24匹中9匹に腫瘍を形成させた。GnT-Ⅲのターゲット分子を検索するために、これらのマウスから採取した血清を等電点電気泳動とSDS-PAGEを組みあわせた二次元電気泳動により分画した。さらにE_4-PHAレクチンを用いたレクチンブロット法でGnT-Ⅲのproductであるbisecting GlcNAcを持つタンパク質を検索した。その結果、GnT-Ⅲトランスジェニックマウスにおいて腫瘍形成時に増加するスポットを検出することができた。このスポットのN末端アミノ酸配列を解析したところ、ハプトグロビンが同定された。さらにマウスの血清、多検体について、抗ハプトグロビン抗体によって免疫沈降を行い、E_4-PHAレクチンブロットを行った。その結果、腫瘍を形成したトランスジェニックマウスにおいては、形成していないマウスに比べて、ハプトグロビンあたりのE_4-PHAの結合量が増加していることが確認できた。

【総括】

GnT-Ⅲは慢性肝炎期から肝臓で発現が上昇するが、GnT-Ⅲトランスジェニックマウスを用いた発癌実験は、肝臓でのGnT-Ⅲの高発現が肝発癌を抑制する可能性を示唆した。

また、グライコーム解析によって、肝発癌過程におけるGnT-Ⅲの標的分子の一つとしてハプトグロビンを同定した。ハプトグロビンはラジカルスカベンジャーとして働くことが知られており、糖鎖の変化がその機能に影響を与えた可能性があると考えられる。今回の結果は、全く新しいアプローチ法により肝発癌とラジカルスカベンジャー活性を有するタンパク質への糖鎖修飾との関連性を示したものである。

論文審査の結果の要旨

N-アセチルグルコサミン転移酵素Ⅲ（GnT-Ⅲ）はN結合型糖鎖のコアマンノースにバイセクティングGlcNAcを転移し、糖鎖の分岐を制御する重要な酵素である。本酵素は正常肝組織ではほとんど活性がみられないが、自然肝癌発症ラット（LECラット）において、慢性肝炎期に発現の上昇が認められる。しかし、これまでにGnT-Ⅲトランスジェニックマウスやノックアウトマウスが作成され、解析が行われたにもかかわらず、肝発癌における肝臓でのGnT-Ⅲの役割は明らかではなかった。本研究ではまず、肝癌の発症がGnT-Ⅲの強発現によって抑制されることを示した。これは肝臓特異的なGnT-Ⅲの発現が肝癌の発症に関与することを明確に示した重要な発見である。またさらに、肝癌の発症に関連してGnT-Ⅲに修飾される分子の一つがハプトグロビンであることを、グライコーム解析の技法を用いて同定し得た。これは、ラジカルスカベンジャーである分子の糖鎖修飾と肝発癌の関係を示唆する初めての報告である。以上の理由から本研究は学位の授与に値するものと考えられる。