

Title	ヒト尿由来トロンボモジュリンの糖鎖解析
Author(s)	若林, 弘行
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44602
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	若林 弘行
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 18139 号
学位授与年月日	平成 15 年 9 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	ヒト尿由来トロンボモジュリンの糖鎖解析
論文審査委員	(主査) 教授 長谷 純宏
	(副査) 教授 高尾 敏文 教授 相本 三郎 助教授 妻鹿 友弘

論文内容の要旨

トロンボモジュリンは、血管内皮細胞膜上に存在し、血管表面上の抗凝固能の主役を担っている糖タンパク質であり、その抗凝固活性がグリコサミノグリカン鎖の有無によって変化することが知られている。本研究では、ヒト尿から精製したトロンボモジュリン (uTM) の詳細な糖鎖構造の解析を行うとともに、糖鎖合成制御機構についての考察を行った。

その結果、uTM に結合している主な糖鎖は、血中タンパク質に結合した糖鎖に共通した構造をもっていることが示された。すなわち、*N*-結合型糖鎖および *O*-結合型糖鎖の主要な構造は、それぞれヒトの血中タンパク質の一般的な糖鎖構造であるモノシアロまたはジシアロ化されたフコシルバイアンテナ型糖鎖および Gal β 1-3GalNAc であった。さらに、これらの糖鎖に加えて、uTM には非還元末端が修飾されたフコシルバイアンテナ型糖鎖も存在していたが、それらはすべて血中タンパク質で見つかっている構造であった。

また、uTM には 287 番目の Ser に Glc が単独で結合しており、これは血液凝固タンパク質の EGF 様ドメインで見られた (Xyl)*n*-Glc-*O*-Ser 型糖鎖と同様の糖鎖であると推定された。(Xyl)*n*-Glc-*O*-Ser 型糖鎖結合のコンセンサス領域 (C₁XSXPC₂、*X*は任意のアミノ酸) が存在しない uTM にも Glc が結合しているという本研究結果は、EGF 様ドメインにはこれまで考えられていたよりもより広範に Glc-*O*-Ser 型糖鎖が存在している可能性を示唆していた。

さらに、uTM にはグリコサミノグリカン鎖の結合領域 4 糖の GlcA に 3 位で硫酸が結合した新奇構造の糖鎖 SO₄-3GlcA β 1-3Gal β 1-3(\pm Neu5Ac α 2-6)Gal β 1-4Xyl (3SAGGX) が結合していることが示された。この 3SAGGX 糖鎖は、新奇な特徴を有するユニークな糖鎖であり、生体由来のタンパク質に、①結合領域 4 糖のみが結合していること、②結合領域 4 糖の GlcA の 3 位に硫酸基が結合していること、および③グリコサミノグリカン鎖にシアル酸が結合していることは初めての報告であった。そして、3SAGGX 糖鎖の結合位置は、遺伝子組換え細胞で発現させたヒトトロンボモジュリンにおけるグリコサミノグリカン鎖の結合位置と同じ Ser474 であることが示された。この結果は、コンドロイチン硫酸の合成制御機構は、最初の Xyl がペプチドに付加される段階ではなく、結合領域 4 糖まで合成が進んだ後に 5 番目の GalNAc が転移される段階で調節されている可能性を示唆していた。さらに、3 位が硫酸化された GlcA はウシ血清から部分精製した β -GalNAc 転移酵素の基質とはならないことから、GlcA の 3 位の硫酸化がストップシグナルとなっている可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

若林弘行君提出の論文は、血管表面上の抗凝固活性に中心的な働きをしている糖タンパク質トロンボモジュリン (TM) に結合した糖鎖の詳細な解析により、新規糖鎖の発見を行い、その機能を推定したものである。TM はグリコサミノグリカン鎖の結合の有無によって活性が変化するなど、糖鎖の活性への関与が推測されている。本研究では、ヒト尿から精製したトロンボモジュリンの糖鎖構造を網羅的に解析する事により、TM の糖鎖による活性の関与を解析した。ヒト尿由来 TM のアスパラギン-結合型糖鎖および Ser/Thr-結合型糖鎖の主要な構造を解析したところ、それぞれシアル酸が結合したフコシルパイアンテナ型糖鎖および Gal β 1-3GalNAc 型糖鎖であり、Ser287 には、Glc が結合していることが見出された。また、Ser474 にはグリコサミノグリカン鎖-タンパク質結合領域 4 糖のグルクロン酸の 3 位が硫酸化された新奇構造が見出された。この新奇構造の存在は、TM に結合するグリコサミノグリカン鎖の有無は最初の Xyl がペプチド中のセリン残基に結合する段階ではなく、結合領域 4 糖まで合成が進んだ後に 5 番目の GalNAc が転移される段階で調節されている可能性を示唆していた。

この成果は、糖鎖の生化学における重要な成果であり、糖鎖の役割の解析に大きく寄与するものである。よって、若林君提出の論文は博士 (理学) の学位論文として十分価値有るものと認める。