The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Loss of core fucosylation of low-density lipoprotein receptor-related protein-limpairs its function,leading to the upregulation of serum levels of insulin-like growth factor-binding protein 3 in Fut8-/- mice
Author(s)	李, 承嚎
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46372
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

【22】

氏　　名	李（イ）　承（スン）　皜（ホ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　２００７９　号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 24 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	Loss of core fucosylation of low-density lipoprotein receptor-related protein-1 impairs its function, leading to the upregulation of serum levels of insulin-like growth factor-binding protein 3 in Fut8$^{-/-}$ mice （Fut8 ノックアウトマウスにおける low-density lipoprotein receptor-related protein-1 の脱フコシル化による血清中 IGFBP-3 の上昇）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　谷口　直之 （副査） 教　授　木下タロウ　　教　授　岡部　　勝

論　文　内　容　の　要　旨

〔目　的〕

α 1,6Fucosylatransferase（α 1,6FucT）は GDP-fucose からフコースを N-結合型糖鎖還元末端の GlcNAc 残基に転移する酵素である。当研究室ではα 1,6FucT の精製及び遺伝子クローニングに成功した。更に糖鎖のコア部位に存在するα 1,6fucose 残基の生物学的な意味を解析するためα 1,6FucT ノックアウトマウスを作成したところ、成長抑制や肺組織の異常が観察された。本研究では low-density lipoprotein receptor-related protein-1（LRP-1）に着目し、LRP-1 におけるコアーフコース残基の役割と Fut8 ノックアウトマウス血清中で上昇した IGFBP-3 との関連性を調べた。

〔方法ならびに成績〕

α 1,6FucT ノックアウトマウスの血清の分析を行った結果トータル-コレステロール量や Insulin like growth factor binding protein-3（IGFBP-3）が上昇していることが分かった。その原因を調べるため、脂質代謝と IGFBP-3 に関係する low-density lipoprotein receptor-related protein-1（LRP-1）というタンパク質に注目して LRP-1 においてコアーフコースの役割を解析した。

まず、LRP-1 が IGFBP-3 の代謝受容体かどうかを調べるため、Wild-type（MEF-1）と LRP-1 のノックアウトマウス由来の Empbryonic Fibroblast 細胞（PEA-13）を用いて ^{125}I で標識した IGFBP-3 の取り込み実験を行った。その結果、MEF-1 細胞に比べて LRP-1 を発現していない細胞（PEA13）では IGFBP-3 の取り込みが低く、さらにこの取り込みが LRP-1 のアンタゴニストである Receptor Associated protein（RAP）によって抑制された。これらの結果から LRP-1 が IGFBP-3 の代謝受容体として働いていることが分かった。

Fut8 ノックアウトマウスにおける LRP-1 の糖鎖構造の変化を調べるため、Wild-type と Fut8 ノックアウトマウスの肺から膜タンパク質を調製し、LRP-1 抗体で免疫沈降後、コアーフコースを認識する Aleuria Aurantia Lectin

（AAL）を用いてレクチンブロッチングを行った。その結果 Fut8 ノックアウトマウス由来 LRP-1 は AAL と反応しないのに対し、Wild type では AAL と強く反応した。これらの結果から Wild-type では LRP-1 がコアーフコシル化された糖タンパク質であることが分かり、Fut8 ノックアウトマウスにおいて LRP-1 の脱フコシル化が機能に影響を及ぼす可能性が示唆された。

次に LRP-1 の取り込みにコアーフコースが関与しているかどうかを検討した。Fut8 ノックアウトマウスの腎臓から Epithelial 細胞を調製し（KK 細胞）、さらに Human Fut8 を遺伝子を高発現した KK 細胞（KF 細胞）を作成した。細胞表面を Biotin 化後 LRP-1 抗体で免疫沈降して発現量を比較し、KK と KF 細胞表面の LRP-1 の発現には変化がないことを確認した上、LRP-1 による IGFBP-3 の取り込み実験を行った。その結果、IGFBP-3 の取り込みは KF 細胞に比べ KK 細胞で低下することが分かった。以上の結果から LRP-1 のコアーフコシル化は IGFBP-3 のエンドサイトーシスに重要な役割をしていることが明らかになった。

〔総　括〕

細胞外のタンパク質を細胞内に取り込む機能を持つ LRP-1 はコアーフコシル化されたタンパク質であり、IGFBP-3 の代謝受容体であることが分かった。更に、LRP-1 の糖鎖コアーフコシル化が IGFBP-3 の取り込みに重要な役割を担うことが示唆された。Fut8 ノックアウトマウスにおける血清中の IGFBP-3 の上昇の原因として LRP-1 の機能不全があると考えられる。

論文審査の結果の要旨

α1,6Fucosyltransferase（Fut8）は GDP-フコースからフコースを N-結合型糖鎖還元末端の GlcNAc 残基に転移する酵素である。α1,6FucT を欠損したマウスは、生後三日以内に 70%が死に、生存例も著しい成長障害をきたすが、そのメカニズムは明らかでない。このマウスの血液生化学検査では総コレステロールと Inslin like growth factor binding protein-3（IGFBP-3）の上昇を認めた。本研究ではその分子メカニズムを検討するため、low-density lipoprotein receptor-related protein-1（LRP-1）という糖タンパク質にターゲットをしぼり、そのα1,6 フコース残基（コア-フコース）の役割を中心に解析した。その結果、細胞外の蛋白質を細胞内に取り込む機能を持つ LRP-1 はコア-フコシル化されたタンパク質であり、IGFBP-3 の代謝受容体であることがわかった。コア-フコースを持つ LRP-1 にくらべ、それを欠損したものは著しく IGFBP-3 の取り込みが低下していた。FUT8 遺伝子の再導入により、それが回復された。Fut8 ノックアウトマウスにおいて LRP-1 の脱フコシル化は血清中 IGFBP-3 の上昇の原因の一つであると考えられ、成長障害との関連が示唆される。LRP-1 は最近非常に注目されている分子で、本研究は Fut8 KO 細胞を用いてその機能を初めて証明したものである。従って、本研究は学位の授与に値すると考えられる。