

Title	N-Acetylglucosaminyltransferase III Antagonizes the Effect of N-Acetylglucosaminyltransferase V on $\alpha 3\beta 1$ Integrin-mediated Cell Migration
Author(s)	趙, 艶陽
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47450
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	趙 艶 陽
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 0 9 0 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 19 年 3 月 23 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	<i>N</i> -Acetylglucosaminyltransferase III Antagonizes the Effect of <i>N</i> -Acetylglucosaminyltransferase V on $\alpha 3 \beta 1$ Integrin-mediated Cell Migration (GnT-IIIはGnT-Vによるインテグリン $\alpha 3 \beta 1$ を介する細胞移動の促進効果を抑制する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 高 井 義 美 (副査) 教 授 中 村 敏 一 教 授 木 下 タ ロ ウ

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

N-Acetylglucosaminyltransferase V (GnT-V) catalyzes the addition of $\beta 1, 6$ GlcNAc-branching of *N*-glycans which contributes to metastasis. *N*-acetylglucosaminyltransferase III (GnT-III) catalyzes the formation of a bisecting GlcNAc structure in *N*-glycans, resulting in the suppression of metastasis. It has long been hypothesized that the suppression of GnT-V product formation by the action of GnT-III would also exist *in vivo*, which will consequently lead to the inhibition of biological function of GnT-V. Therefore in this study we try to demonstrate that the competition of GnT-III and GnT-V in the living cells by test of this hypothesis.

[方法ならびに成績]

We draw a comparison among MKN45 cells, which were transfected with GnT-III, GnT-V, or both, respectively. We found that $\alpha 3 \beta 1$ integrin-mediated cell migration on laminin 5 was greatly enhanced in the case of GnT-V transfectant. This enhanced cell migration was significantly blocked after the introduction of GnT-III. However, the inhibition was not observed after transfection of the GnT-III inactive mutant, suggesting that the activity of GnT-III was essential for the negative regulation of GnT-V induced cell migration. Therefore, we proposed that GnT-III directly counteracted the effect of GnT-V on $\alpha 3 \beta 1$ integrin-mediated cell migration. Consistently, an increase in bisected GlcNAc but a decrease in $\beta 1, 6$ GlcNAc branched *N*-glycans on integrin $\alpha 3$ subunit was observed in the double transfectants of GnT-III and GnT-V. Furthermore, transfection of GnT-III had no effect not only on the expression of GnT-V and integrin $\alpha 3$ subunit but on the activity of GnT-V. To further reinforce our suggestion, we respectively purified $\alpha 3 \beta 1$ integrin from GnT-III, GnT-V and GnT-III plus GnT-V transfectants, then analyzed *N*-glycan patterns by mass spectrometry (MS). The MS results largely matched that of the lectin blot. Conversely, we did GnT-III-knockdown in CHP134 cells, a human

neuroblastoma cell line, which express endogenous GnT-III and GnT-V. GnT-III-knockdown resulted in increased migration on laminin 5, concomitant with an increase β 1, 6 GlcNAc branched N-glycans on α 3 subunit.

[総 括]

In the present study we examined the functions of α 3 β 1 integrin, which is believed to be highly associated with tumor metastasis and found that α 3 β 1 integrin can be modified by either GnT-III or GnT-V. Our finding clearly shows that GnT-III inhibits the effects of GnT-V on α 3 β 1 integrin-mediated cell migration by competing with GnT-V for the modification of α 3 subunit. Therefore, the priority of GnT-III for the modification of α 3 subunit may be an explanation for why GnT-III inhibits GnT-V-induced cell migration. Taken together, our results demonstrate for the first time that GnT-III and GnT-V can competitively modify the same target glycoprotein, further positively or negatively regulate its biological functions.

論文審査の結果の要旨

インテグリンは多細胞生物の様々な生物学のプロセスに深く関わる N 結合型糖鎖の主なキャリアータンパク質である。糖転移酵素 GnT-V の産物である β 1, 6 GlcNAc 分枝型糖鎖の細胞表面での発現量は、がん転移の亢進と深く関わる事が明らかとなりつつである。一方、GnT-III は bisecting GlcNAc 糖鎖を持つユニークな分枝型糖鎖構造を触媒する糖転移酵素である。bisecting GlcNAc が合成されると、ほかの分枝型糖転移酵素（例えば、GnT-V）がこの bisected 糖鎖を基質としないため、糖鎖の伸長反応ができなくなる。申請者らは、GnT-III が GnT-V のアンタゴニストであろうと考えた。本研究では、がん転移・浸潤と深く関わる標的分子インテグリン α 3 β 1 を用いて、その仮説を証明した。基底膜の主な成分であるラミニン-5 上でのインテグリン α 3 β 1 を介したがん細胞浸潤は、細胞に GnT-III 遺伝子を導入することによって阻害されたが、逆に GnT-V の発現によって促進された。この GnT-V によるがん細胞浸潤の促進は GnT-III の発現によって著しく抑制された。さらに、各細胞から精製したインテグリン α 3 β 1 の糖鎖を解析したところ、GnT-V の糖鎖産物は GnT-III 遺伝子の導入によって顕著に低下していたことを明らかとなった。以上のことから、本研究は、GnT-III が GnT-V の機能と拮抗すること、受容体の機能が異なった糖鎖修飾で正または負に制御できることを初めて明らかにしたものである。よって学位の授与に値すると思われる。