

## 論文審査の結果の要旨

報告番号	甲第 978 号	氏名	藤原麻衣子
論文審査担当者	主査 樋口京一 副査 佐々木克典・森泉哲次		
(論文審査の結果の要旨)			
<p>N-アセチルグルコサミンの6位の炭素に硫酸基を転移するN-アセチルグルコサミン6-O-硫酸転移酵素 (GlcNAc6ST) はヒトでは5種類がクローニングされており、そのうちGlcNAc6ST-1とGlcNAc6ST-2はリンパ節、扁桃、パイエル板などの二次性リンパ性臓器に存在する高内皮細静脈 (high endothelial venule: HEV) に発現している。この2つの酵素はHEV内腔面に発現している6-硫酸化シアリルルイスX (6-sulfo sLeX) の生合成に排他的に関与し、L-セレクチンを介したリンパ球ホーミングにおいて重要な役割を演じている。ヒトGlcNAc6ST-1 cDNAの読み枠の長さは1,593 bpであるが、その5'末端には翻訳開始メチオニンコドンが141 bp離れて2個存在している。これら2つの翻訳開始メチオニンコドンから転写が始まると、長鎖型と短鎖型の2種類のGlcNAc6ST-1が合成されることになる。これまでの多くの研究は短鎖型のGlcNAc6ST-1を対象にしており、長鎖型に対する解析は行われていない。また、長鎖・短鎖型に拘わらず、これまでヒトGlcNAc6ST-1の内因性蛋白発現については確認されていない。そこで、ヒトGlcNAc6ST-1における2個の翻訳開始メチオニンコドンの間に存在するアミノ酸残基を認識する抗体を作製し、長鎖型GlcNAc6ST-1がヒトの組織において内因性に発現しているか否かを調べると共に、長鎖型および短鎖型GlcNAc6ST-1の細胞内局在や酵素活性の違いを検討した。</p> <p>その結果、藤原は次の結論を得た。</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. 遺伝子導入したHeLa細胞のウェスタンブロットティングと蛍光免疫染色で、Anti-GlcNAc6ST-1-N抗体は長鎖型GlcNAc6ST-1を特異的に認識した。</li><li>2. 長鎖型GlcNAc6ST-1は核周囲に点状に存在し、これは短鎖型GlcNAc6ST-1においても同様であった。</li></ol> <p>短鎖型、長鎖型GlcNAc6ST-1の細胞内酵素活性をCell-ELISAにより解析したところ、GlcNAc6ST-1は両者ともGlcNAc6ST-2より有意に高い酵素活性を示したが、両者間で有意差は認められなかった。</p> <ol style="list-style-type: none"><li>3. FACS解析では長鎖型GlcNAc6ST-1に比べて短鎖型の方が蛋白の発現が高く、半定量的分析RT-PCRでは短鎖型の方がmRNA発現も高かった。</li><li>4. Anti-GlcNAc6ST-1-N抗体と各種ゴルジマーカを用いたヒトリンパ節組織の蛍光二重免疫染色では、ヒトの長鎖型GlcNAc6ST-1はHEVを構成する内皮細胞のtrans-Golgi network (TGN) に発現していた。</li></ol> <p>これらの結果より、Anti-GlcNAc6ST-1-N抗体は長鎖型GlcNAc6ST-1を特異的に認識することが明らかとなった。また、長鎖型及び短鎖型のヒトGlcNAc6ST-1の細胞内における局在はほぼ同じであり、両者における細胞内酵素活性は同等であることが示唆された。さらに、ヒトリンパ組織には長鎖型GlcNAc6ST-1が内在性に発現しており、その大部分はHEVを構成する内皮細胞のTGNに局在していることを示した。よって、主査、副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。</p>			