

氏名(本籍)	いわさきひろこ 岩崎裕子(東京都)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博乙第1962号		
学位授与年月日	平成15年10月31日		
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	Initiation of O-Glycan Synthesis in IgA1 Hinge Region is Determined by a Single Enzyme, UDP-N-Acetyl- α -D-galactosamine : Polypeptide N-Acetylgalactosaminyltransferase 2 (IgA1 ヒンジ領域におけるO-型糖鎖合成開始を決定する酵素は pp-GalNAc-T2 である)		
主査	筑波大学教授	医学博士	小山哲夫
副査	筑波大学教授	医学博士	澁谷彰
副査	筑波大学教授	医学博士	高橋智
副査	筑波大学教授	理学博士	坂内四郎

論文の内容の要旨

目的: IgA腎症は、腎糸球体メサンギウム領域にIgA1が沈着することにより惹起される高頻度な慢性の一次性糸球体腎炎である。IgA1はO-結合型糖鎖結合部位となりうるセリン、スレオニンに富む特徴的な配列のヒンジ領域を有する。IgA腎症患者では、IgA1ヒンジ領域のO-結合型糖鎖構造に異常があると報告されており、この異常が病因の一つとも考えられている。

O-結合型糖鎖の合成には複数の糖転移酵素が関与するが、その詳細は明らかではない。IgA1ヒンジ領域の糖鎖合成に関わる糖転移酵素のうち、ペプチド配列に最初に糖を転移する酵素、すなわち糖鎖合成を開始し、糖鎖の本数を決定する酵素はN-アセチルガラクトサミン転移酵素(pp-GalNAc-T)である。そこで、10種類のN-アセチルガラクトサミン転移酵素を対象とし、IgA1ヒンジ領域におけるO-結合型糖鎖合成を開始する酵素の同定を目的として研究を行った。

対象と方法: 健常者末梢血中のIgA陽性B細胞およびIgAミエローマ培養細胞より調製したcDNAを用い、10種のN-アセチルガラクトサミン転移酵素遺伝子の発現量を半定量的RT-PCR法により調べた。発現が高い6酵素を対象として、IgA1ヒンジ領域を模した9箇所(O-結合型糖鎖結合部位をもつ蛍光標識ペプチド(IgA1ヒンジペプチド)への糖転移反応を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて解析した。最も糖転移反応が強かったpp-GalNAc-T2に関しては、さらにペプチドシーケンサー、マススペクトロメトリー(MS)を用いて、N-アセチルガラクトサミンの付加位置、および付加される順序の同定を行った。発現が高かった6酵素のうち、pp-GalNAc-T2以外の酵素については、IgA1ペプチドに最初にN-アセチルガラクトサミンを付加する位置を同定した。

結果: 末梢血由来B細胞、IgA陽性細胞、IgAミエローマ培養細胞において、pp-GalNAc-T1、-T2、-T3、-T4、-T6、-T9の発現が高いことが明らかになった。これら6酵素のIgA1ヒンジペプチドに対する糖転移反応を解析したところ、特にpp-GalNAc-T2の反応性が高いことが明らかになった。またpp-

GalNAc - T2 の糖転移反応を経時的に行い、糖の付加数を MS で、付加位置をペプチドシーケンサーにより決定したところ、pp - GalNAc - T2 は、最初に、IgA1 ヒンジペプチドの N 末から 7 番目のスレオニン、または 11 番目のセリンに *N*-アセチルガラクトサミンを付加し、最終的に 8 箇所のセリンまたはスレオニンに糖を付加することが明らかになった。また、pp - GalNAc - T2 は、7、9、11、15 番目のアミノ酸及び 3 あるいは 4 番目のアミノ酸に *N*-アセチルガラクトサミンを付加した中間産物を生成したが、この糖鎖結合部位は、すでに報告されている天然の IgA1 の糖鎖結合部位と一致した。一方、pp - GalNAc - T1、-T3、-T4、-T6、-T9 は、最初に、pp - GalNAc - T2 とは異なるアミノ酸に *N*-アセチルガラクトサミンを転移した。

考察：本研究は、IgA1 ヒンジ領域の *O*-結合型糖鎖合成を担う糖転移酵素を同定するため、第一歩として、その合成を開始する pp - GalNAc - T について解析した。IgA 陽性 B 細胞等における発現量、IgA1 ヒンジペプチドに対する糖転移酵素活性の強度、およびその生成物から IgA1 ヒンジ領域における *O*-結合型糖鎖合成に最も強く関与する *N*-アセチルガラクトサミン転移酵素は pp - GalNAc - T2 であると考えられた。IgA ヒンジペプチドを用いた糖転移反応実験の結果、pp - GalNAc - T2 は天然の IgA1 の糖鎖構造を合成した。pp - GalNAc - T2 単独で IgA1 の *O*-結合型糖鎖合成を開始することが判明した。本実験は *in vitro* で行ったものではあるが、生体内での糖鎖合成を反映していると考えられる。

結論： IgA1 ヒンジ領域の *O*-結合型糖鎖の合成開始を担う酵素は、*N*-アセチルガラクトサミン転移酵素 2 (pp - GalNAc - T2) である。

審 査 の 結 果 の 要 旨

IgA 腎症は世界中で最も頻度の高い慢性腎炎で、発症・発見から 20 年で 30 - 40% の患者が末期腎不全に至ることが知られている。IgA 腎症の発症機序の 1 つに IgA1 ヒンジ領域の *O*-結合型糖鎖構造に異常があると報告されている。本研究は IgA1 ヒンジ領域における *O*-結合型糖鎖合成を開始する酵素の同定を目的として研究を行い、その酵素は、*N*-アセチルガラクトサミン転移酵素 2 (pp - GalNAc - T2) であることを明らかにした。本論文は JBC278, 2003 に掲載され、高い評価を受けている。今後、これらの研究の積み重ねにより、難病の 1 つである IgA 腎症の発症機序が明らかになることが期待される。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。