氏名（本籍）	我妻　孝則
学位の種類	博士（　医学　）
学位記番号	博乙第 2977 号
学位授与年月	令和　3　年　1　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	疾患生物学に関連する生体内微量試料中の糖鎖修飾意義の探求と情報の可視化

主　査	筑波大学教授	医学博士	正田　純一
副　査	筑波大学教授	博士（医学）	小田　竜也
副　査	筑波大学准教授	博士（医学）	工藤　崇
副　査	筑波大学講師	博士（医学）	長谷川直之

論文の内容の要旨

我妻孝則氏の博士学位論文は、B 型肝炎ウイルス粒子と膵癌組織を対象に糖鎖プロファイリングの解析を行い、それらの糖鎖修飾パターンを情報として抽出してそれらの意義について探求し、さらに、糖鎖情報の可視化を試みたものである。その要旨は以下のとおりである。

（研究目的）

糖鎖修飾は真核生物の翻訳後修飾として広く知られており、タンパク分子や脂質分子への糖鎖付加は分子局在や機能制御などの生命事象に関与する。そこで著者は、糖鎖修飾情報解析の対象となる疾患領域として、ウイルス感染症と腫瘍領域を設定している。標的となるウイルス粒子や癌組織に由来する糖鎖構造を解析してそれらの糖鎖修飾の意義を探求し、さらに、データサイエンステクノロジーを用いて、多角的視点からの生体試料における糖鎖修飾情報の可視化を試みている。

（方法）

1. 精製 B 型肝炎ウイルス（HBV）粒子を使用し、レクチンマイクロアレイを用いた糖鎖プロファイリング解析をおこなった。レクチンブロッティングによる生化学解析から Jacalin レクチンを選択している。B 型慢性肝炎の血清試料を用いて、Jacalin 反応性による HBV 粒子の分画系を構築し、糖鎖構造による血清中ウイルス粒子の精製を検討している。

2. 膵管腺癌 14 症例の凍結試料を使用し、病理標本から注目領域を採取し、この抽出試料に蛍光色素を直接標識化後、レクチンマイクロアレイにて組織糖鎖プロファイリングを行っている。さらに、ヒト組織遺伝子発現データーベースを用いて、糖鎖生合成に関連する遺伝子群の発現解析を実施している。

（結果）

1. HBV 粒子の糖鎖プロファイルから、エンベロープ上の N-, O-結合型糖鎖修飾を網羅的に検出した。各糖鎖構造を認識するレクチン 5 種類を選択して HBV 試料のレクチンブロットを行った結果、Jacalin が認識するエンベロープを確認している。患者血清から、Jacalin 反応性有無で血清中糖タンパク質を分画し、画分に含まれる HBV DNA 量を PCR 法にて測定し、Jacalin 反応性を示す HBV は感染本体である Dane 粒子であることを見出している。
2. 膵管腺癌症例の組織糖鎖プロファイリングにより、癌部－非癌部を特徴づける糖鎖修飾を見出している。非癌部組織においては、ABO 組織－血液型抗原を認識するレクチン 7 種類の反応性が検出され、各症例の血液型情報と一致すること、これらのレクチン反応性は癌部組織においていずれも消失していることを明らかにしている。癌部組織では、糖鎖構造末端に存在するシアル酸や N-結合型糖鎖中にバイセクティング GlcNAc 構造の増加を認めている。ヒト組織 RNA 発現情報を用いて、糖転移酵素群の発現比較を行い、ABO 血液型の H 抗原を合成する *FUT1* 遺伝子が膵癌組織において有意に発現低下していることを見出している。

（考察）

HBV 粒子表面に暴露した糖鎖構造のプロファイリングがレクチンマイクロアレイにより可能となった。レクチン反応性が得られたエンベロープ上の糖鎖修飾情報は、感染者血清中でも高い反応性を示す領域となる可能性があり、著者はこの糖鎖構造を含む糖ペプチド抗原による抗体やワクチン開発などは、HBV 感染症における新たな創薬シーズとして期待されると考察している。

凍結組織病理標本を用いた糖鎖修飾情報の可視化では、同一症例での癌部－非癌部間を特徴づける糖鎖構造を見出した。糖転移酵素発現情報と組み合わせることで、有力な糖鎖修飾情報の蓄積が可能であった。著者はこれらの糖鎖構造を持つキャリア分子を見出すことで、疾患による組織細胞膜上糖鎖修飾差異を標的とした創薬開発の基礎情報となることが期待されると考察している。

審査の結果の要旨

（批評）

これまで、疾患に関連する生体由来試料として血清や組織中に存在する分泌糖タンパク質が盛んに研究され疾患マーカーとして幅広く実用化されている。本論文で著者は、ウイルス感染症領域において、微量血清試料中のHBV 感染本体を特徴づける糖鎖修飾を見出した。O-結合型糖鎖を標的とした新たな創薬ストラテジーへの応用が可能であると考える。腫瘍領域において、病理組織標本の様な微量試料から癌部-非癌部を特徴づける糖鎖修飾パターンを抽出した。実験アプローチとデータサイエンスアプローチを組み合わせることで、有益な組織糖鎖修飾情報を蓄積していくことが可能となる。このように、本論文の意義は、生体由来の微量試料における糖鎖修飾情報に関する可視化に成功した点にある。

令和 2 年 11 月 20 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

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