

氏名	ないとう ゆうこ 内 藤 裕 子
学位(専攻分野)	博 士 (生命科学)
学位記番号	生 博 第 124 号
学位授与の日付	平 成 19 年 5 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	生 命 学 研 究 科 高 次 生 命 学 専 攻
学位論文題目	マウス胚中心B細胞におけるシアル酸分子種の変化とその生理的意義

論文調査委員 (主査) 教授 小 堤 保 則 教授 山 本 憲 二 教授 稲 葉 カ ヲ

論 文 内 容 の 要 旨

シアル酸は炭素9個からなる酸性糖であり、細胞表面を覆う糖鎖の最も外側に位置することから、様々な分子間認識において重要な役割を果たしていることが明らかにされてきた。哺乳動物細胞では、*N*-アセチルノイラミン酸 (Neu5Ac) と *N*-グリコリルノイラミン酸 (Neu5Gc) が主なシアル酸分子種として存在する。

本研究では、マウスのB細胞において、活性化に伴い主要シアル酸分子種がNeu5GcからNeu5Acへと大きく変化することを明らかにした。マウスをT細胞依存性抗原で免疫すると、二次リンパ器官内に胚中心と呼ばれる構造が形成される。B細胞は胚中心で活発に増殖し、抗体産生細胞や記憶B細胞へと分化する。この胚中心を特異的に染色するマーカーとして、モノクローナル抗体であるGL7が広く用いられてきた。GL7が認識するエピトープはこれまで明らかにされていなかったが、細胞のシアリダーゼ処理によりGL7の結合が阻害されることから、筆者はシアル酸の存在に注目してGL7エピトープの同定を行い、GL7がa2-6結合のNeu5Acを含むN-結合型糖鎖を認識することを明らかにした。そして、マウスのB細胞では通常Neu5Gcが主であるが、胚中心B細胞ではNeu5AcからNeu5Gcへの変換を担う酵素、*Cmah*の発現が抑制されることにより、主要シアル酸分子種がNeu5GcからNeu5Acへと変化し、この変化がGL7により検出されることを明らかにした。

さらに胚中心B細胞におけるシアル酸分子種の変化が持つ生理的意義を解明するため、Neu5Gcを欠損している*Cmah*ノックアウトマウスの解析を行った。*Cmah*ノックアウトマウスでは、野生型マウスと比較して、抗体産生の増加や*in vitro*刺激時のB細胞増殖の亢進という、B細胞の活性化亢進を示す表現型が見られ、Neu5Gc含有糖鎖がB細胞の活性化に対し抑制的に働いていることが示された。

以上の結果から、B細胞活性化の場である胚中心では、*Cmah*の発現抑制により主要シアル酸分子種がNeu5GcからNeu5Acへと変化し、B細胞がNeu5Gc含有糖鎖を介した負の制御から逃れている可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

糖鎖修飾はタンパク質の翻訳後修飾の一つであり、免疫、発生・分化、タンパク質の品質管理等に於いて重要な役割を持つことが知られている。シアル酸はこれら糖鎖の非還元末端に存在し、レクチンを始めとする糖鎖結合タンパク質の標的となることで、細胞間及び同一細胞上の様々な分子間認識に関与し、糖鎖の役割の重要な一端を担っていることが知られている。

生体内に於ける主要なシアル酸分子種は*N*-アセチルノイラミン酸 (Neu5Ac) とその5位のアセチル基がグリコリル基に変化した*N*-グリコリルノイラミン酸 (Neu5Gc) であり、後者はCMP-Neu5Ac hydroxylase (*Cmah*) により、前者から生合成されることが明らかにされている。しかしながら、このような分子種の存在する意味はこれまで十分には解明されてこなかった。申請者は、マウス胚中心B細胞に焦点を当て、シアル酸分子種の変化とその生理的意義に関する研究を行った。評価すべき点は以下の通りである。

1. GL7は胚中心を特異的に染色するマーカーとして広く用いられてきたモノクローナル抗体であるが、GL7が認識するエピトープはこれまで明らかにされていなかった。申請者はDNAマイクロアレイと相関解析を組み合わせることで、GL7が α 2-6結合のNeu5Acを含むN-結合型糖鎖を認識することを明らかにした。
2. マウスのB細胞では通常Neu5Gcが主要なシアル酸分子種であるが、胚中心B細胞ではNeu5AcからNeu5Gcへの変換を担う酵素、Cmahの発現が抑制されることにより、主要分子種がNeu5GcからNeu5Acへと変化することを明らかにした。この変化の結果、Neu5Acを持つ糖鎖が細胞表面に出現し、これらがGL7により検出されることを示した。
3. 胚中心B細胞におけるシアル酸分子種の変化の持つ生理的意義を解明するため、Neu5Gcを欠損しているCmahノックアウトマウスの解析を行った。ノックアウトマウスでは、野生型マウスと比較して、抗体産生の増加や*in vitro* 刺激時のB細胞増殖の亢進という、B細胞の活性化亢進を示す表現型が見られた。

これらの研究は、胚中心B細胞に於いて、Cmahの発現抑制により主要シアル酸分子種がNeu5GcからNeu5Acへと変化し、B細胞がNeu5Gc含有糖鎖を介した負の制御から逃れている可能性を示唆したものであり、シアル酸分子種の役割に関して有用な情報を提供するものであると考えられる。

以上より本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値あるものと認めた。更に、平成19年4月9日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。