

氏 名	おお 大 竹 よう 洋 すけ 介
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2405 号
学位授与の日付	平 成 13 年 7 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	医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Isolation and characterization of an N-linked oligosaccharide that is significantly increased in sera from patients with non-small cell lung cancer (非小細胞肺癌患者血清内に有意に増加している N 結合型糖鎖の単離とその役割)
論文調査委員	(主 査) 教 授 野 田 亮 教 授 武 藤 誠 教 授 和 田 洋 巳

論 文 内 容 の 要 旨

池中らが最近開発した半自動化糖鎖解析法(参考論文3)を用いて、12名の健常人と14例の非小細胞肺癌患者血清内に発現している N 結合型糖鎖構造を解析した。GlycoPrep (Oxford GlycoSystems, UK)を用いて蛋白から糖鎖をヒドラジン分解にて切断し、GlycoTag (Takara, Japan)で蛍光標識した。ノイラミニダーゼにより非還元末端のシアル酸を取り除いて中性糖鎖にした後、順相 HPLC と逆相 HPLC を併用してそれらの溶出時間から2次元マップを作成した。既知構造の標準糖鎖の2次元マップ上の位置と比較することにより、血清内に含まれる糖鎖を同定した。健常人血清と非小細胞肺癌患者血清に含まれる糖鎖構造を比較検討することで、非小細胞肺癌患者特有の構造を検索した。

ヒト血清内に含有される N 結合型糖鎖の30種類、84.1%の構造が明らかにできた。血清内に含まれる糖鎖は、各々の構造の含有率は平均含有量±2倍の標準偏差の範囲内に分布し、血清内の糖鎖発現は極めて厳しく制御されていると考えられた。HPLC にて健常人と非小細胞肺癌患者の血清に発現している N 結合型糖鎖を比較検討することにより、非小細胞肺癌患者血清に有意に多く ($p < 0.01$) 発現しているピークが認められた。そのピークは、トリマンノシルコアの $\alpha 1-6$ 側に $\text{Gal}\beta 1-4\text{GlcNAc}\beta 1-2$ が結合し、 $\alpha 1-3$ 側に $\text{Gal}\beta 1-4$ (Fuc $\alpha 1-3$) $\text{GlcNAc}\beta 1-4$ と $\text{Gal}\beta 1-4\text{GlcNAc}\beta 1-2$ が結合した形の非還元末端にフコース側鎖を有する3本鎖糖鎖 (A3G3Fo) と2次元マップ上で一致した。

実際に患者血清で増加している構造が、この A3G3Fo 構造であることを酵素消化法にて確認した。この A3G3Fo 構造の含有率は、血清 SLX 値、炎症反応(白血球数, CRP)、肝機能 (GOT, GPT) とも相関を認めなかったために、他の臨床検査値とは独立した腫瘍マーカーとなりうる可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

系統的糖鎖解析法を用いて、健常人 ($n=12$) と非小細胞肺癌患者 ($n=14$) 血清内に発現している N 結合型糖鎖構造を解析した。GlycoPrep (自動糖鎖切断装置)を用いてヒドラジン分解にて蛋白から糖鎖を切断し、GlycoTag (自動糖鎖標識装置)で蛍光標識した。ノイラミニダーゼによりシアル酸を取り除いて中性糖鎖にした後、順相 HPLC と逆相 HPLC を併用してそれらの溶出時間から2次元マップを作成した。既知構造糖鎖の2次元マップ上の位置と比較することにより、血清内に含まれる糖鎖を同定した。健常人血清と非小細胞肺癌 (NSCLC) 患者血清に含まれる糖鎖構造を比較検討することで、NSCLC 患者特有の構造を検索した。

ヒト血清中に発現している N 結合型糖鎖の30種類、84.1%の構造が明らかにできた。血清中糖鎖は、各々の構造の含有率のばらつきが少なく、その発現は極めて厳しく制御されていた。健常人と NSCLC 患者血清に発現している糖鎖を比較検討すると、NSCLC 患者血清に有意に多く発現している構造が認められた ($p < 0.01$)。その構造は、トリマンノシルコアの $\alpha 1-6$ 側に $\text{Gal}\beta 1-4\text{GlcNAc}\beta 1-2$ が結合し、 $\alpha 1-3$ 側に $\text{Gal}\beta 1-4$ (Fuc $\alpha 1-3$) $\text{GlcNAc}\beta 1-4$ と $\text{Gal}\beta 1-4\text{GlcNAc}\beta 1-2$ が

結合した形の非還元末端にフコース側鎖を有する3本鎖糖鎖（A3G3Fo）と2次元マップ上で一致した。酵素消化法を用いて、この構造を確認した。このA3G3Fo構造の含有率は、血清SLX値、炎症反応、肝機能とも相関を認めなかったことから、他の臨床検査値とは独立した腫瘍マーカーとなりうる可能性が示唆された。

以上の研究は、非小細胞肺癌の生物学的特徴の解明に貢献し、非小細胞肺癌の新たな腫瘍マーカーの発見に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成13年5月17日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。