



TITLE:

Human natural killer-1 sulfotransferase (HNK-1ST)-induced sulfate transfer regulates laminin-binding glycans on  $\alpha$ -dystroglycan (Abstract\_要旨)

AUTHOR(S):

Nakagawa, Naoki

---

CITATION:

Nakagawa, Naoki. Human natural killer-1 sulfotransferase (HNK-1ST)-induced sulfate transfer regulates laminin-binding glycans on  $\alpha$ -dystroglycan. 京都大学, 2014, 博士(人間健康科学)

ISSUE DATE:

2014-03-24

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k18196>

RIGHT:

This research was originally published in the Journal of Biological Chemistry. Naoki Nakagawa, Hiroshi Manya, Tatsushi Toda, Tamao Endo, Shogo Oka. Human natural killer-1 sulfotransferase (HNK-1ST)-induced sulfate transfer regulates laminin-binding glycans on  $\alpha$ -dystroglycan. The Journal of Biological Chemistry. 2012; 287:30823-30832. © the American Society for Biochemistry and Molecular Biology.

京都大学	博士 (人間健康科学)	氏名	中川直樹
論文題目	Human natural killer-1 sulfotransferase (HNK-1ST)-induced sulfate transfer regulates laminin-binding glycans on $\alpha$ -dystroglycan (HNK-1ST は硫酸基の転移によって $\alpha$ -ジストログリカン上のラミニン結合性糖鎖の発現を制御する)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p><math>\alpha</math>-ジストログリカン (<math>\alpha</math>-DG) は、細胞膜上でラミニンなどの細胞外基質分子と結合し、組織構造の維持に寄与している。<math>\alpha</math>-DG 上の <i>O</i>-マンノース型糖鎖がリガンドとの結合に重要であり、その糖鎖付加不全は精神発達遅滞を伴う先天性筋ジストロフィーの原因となる。実際に、福山型先天性筋ジストロフィーの原因遺伝子である <i>FKTN</i> をはじめ、多数の原因遺伝子 (<i>POMT1</i>, <i>POMT2</i>, <i>POMGNT1</i>, <i>FKRP</i>, <i>LARGE</i>, <i>ISPD</i>, <i>B3GNT1</i> など) が同定されており、これらは全て <math>\alpha</math>-DG の糖鎖修飾に関与すると考えられている。しかしながら、ラミニン結合性糖鎖の詳細な構造は未だ決定されておらず、原因遺伝子群のうち <i>FKTN</i>, <i>FKRP</i>, <i>ISPD</i>, <i>B3GNT1</i> の <math>\alpha</math>-DG 糖鎖修飾における役割が現在も不明であるなど、<math>\alpha</math>-DG のラミニン結合性糖鎖の構造とその発現制御機構に関しては未解明な点が多い。本研究は、<math>\alpha</math>-DG のリガンド結合活性を担う糖鎖構造に着目し、その発現制御機構の解明を目的として遂行されたものである。</p> <p><i>O</i>-マンノース型糖鎖の多様な末端構造の一つに、human natural killer-1 (HNK-1) 糖鎖と呼ばれる硫酸化グルクロン酸を有する構造が存在するが、HNK-1 糖鎖と <math>\alpha</math>-DG の機能との関連は不明であった。そこでまず、HNK-1 糖鎖が <math>\alpha</math>-DG の機能に与える影響を調べるため、<math>\alpha</math>-DG と共に HNK-1 糖鎖生合成に必須のグルクロン酸転移酵素 GlcAT-P および硫酸基転移酵素 HNK-1ST を培養細胞に発現させ、<math>\alpha</math>-DG のラミニン結合能の変化を解析した。その結果、HNK-1 糖鎖生合成酵素の共発現によって <math>\alpha</math>-DG とラミニンとの結合が減弱した。しかし驚いたことに、この抑制作用は HNK-1 糖鎖の機能ではなく、HNK-1ST 単独の作用によるものであった。最近の研究で、<i>O</i>-マンノースにリン酸ジェステル結合を介して付加される特徴的な糖鎖が見出され、<i>LARGE</i> がその合成に関与することが報告された。この糖鎖はポストリン酸構造と呼ばれ、<math>\alpha</math>-DG とラミニンとの結合に特に重要であると考えられている。HNK-1ST の共存下では、<i>LARGE</i> を過剰発現させても <math>\alpha</math>-DG の機能増強が生じなかったことから、HNK-1ST はポストリン酸構造の合成を抑制すると考えられた。さらに、放射性同位体を用いた代謝標識実験の結果、HNK-1ST は <math>\alpha</math>-DG に対して硫酸基を転移することが明らかとなった。以上の結果により、HNK-1ST が硫酸基の転移によってラミニン結合性糖鎖の発現を抑制し、<math>\alpha</math>-DG の機能を負に制御することが示された。</p> <p>次に、HNK-1ST による <math>\alpha</math>-DG 機能調節機構が細胞内で実際に機能しているかどうかを検証した。いくつかのメラノーマ細胞株において、HNK-1ST の転写が分化誘導剤であるレチノイン酸 (RA) によって活性化されることが知られていたため、RA によるメラノーマ細胞の分化モデルを用いた実験を行った。その結果、RA の添加によって発現誘導された HNK-1ST が <math>\alpha</math>-DG のラミニン結合能を抑制し、それを介してメラノーマ細胞の移動性を低下させることが明らかとなった。</p> <p>以上の結果は、従来知られていた HNK-1 糖鎖生合成とは異なり、硫酸基の転移によって <math>\alpha</math>-DG のリガンド結合能を制御するという HNK-1ST の新たな機能を示すものであるとともに、先天性筋ジストロフィーの発症に関わる糖鎖構造の解明につながる重要な知見である。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

$\alpha$ -ジストログリカン ( $\alpha$ -DG) は、骨格筋や神経、上皮など広範な組織の細胞膜上に存在する接着分子であり、ラミニン等の細胞外基質リガンドとの結合により細胞と基底膜とをつなぎ、組織構造の維持に寄与している。ラミニン等のリガンドとの結合には  $\alpha$ -DG 上に存在する特徴的な *O*-マンノース型糖鎖が重要であり、糖鎖修飾不全は中枢神経病変を伴う先天性筋ジストロフィーを引き起こすことが知られている。しかし、 $\alpha$ -DG のラミニン結合性糖鎖の構造とその発現制御機構に関しては未解明な点が多い。本研究は、 $\alpha$ -DG のリガンド結合活性を担う糖鎖の発現制御機構の解明を目的として行われた。

申請者は培養細胞を用いた実験の結果、硫酸基転移酵素である HNK-1ST が、 $\alpha$ -DG のリガンド結合活性に重要なポストリン酸糖鎖の合成を抑制し、 $\alpha$ -DG とラミニンとの結合を減弱させることを見出した。また代謝標識実験の結果、HNK-1ST が  $\alpha$ -DG を直接硫酸化することによって  $\alpha$ -DG の機能を負に制御することを証明した。さらにメラノーマ細胞の分化モデルを用いた実験によって、HNK-1ST による調節機構が細胞内で実際に機能していることを実証した。

以上の研究は、先天性筋ジストロフィーの発症に関わる糖鎖構造とその発現制御機構の解明に貢献する重要な知見であり、本疾患の分子病態の理解、治療法開発に寄与することが期待される。

したがって、本論文は博士 (人間健康科学) 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 25 年 12 月 16 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。

論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文の全文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降