

別紙 1-1

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 橋口 裕樹

論 文 題 目

Glycoproteomic analysis identifies cryptdin-related sequence 1 as
O-glycosylated protein modified with α 1,2-fucose in the small intestine

(グライコプロテオーム解析により、cryptdin-related sequence 1 が小腸において
 α 1,2-fucose で修飾された O-結合型糖タンパク質であることが明らかになった)

論文審査担当者

主 査 委員

名古屋大学教授

小寺 泰弘



名古屋大学教授

委員

石井 晃



名古屋大学教授

委員

室原 豊明



名古屋大学教授

指導教授

藤 成 亮三



論文審査の結果の要旨

別紙 1-2

N-アセチルラクトサミンの α 1,2-fucose による修飾は、腸内細菌との共生や病原菌の排除に関与しているが、詳細な分子機構は解明されていない。筆者らは、マウス回腸組織を対象とした質量分析を行うことによって、 α 1,2-fucosyl 化の新規標的タンパク質を同定することを試みた。MS/MS 解析により、3,312 種類の *O*-結合型糖ペプチドと 2,962 種類の *N*-結合型糖ペプチドが同定された。その中でも、回腸基底部の Paneth 細胞に豊富に蓄積する顆粒状カチオン性殺菌ペプチドである cryptdin と構造的に類似する cryptdin-related sequence 1 (CRS1) が高発現し、 α 1,2-fucosyl 化されていることが判明した。CRS1 は、他の cryptdin ファミリーのペプチドとは異なる unique な Thr 残基を含んでおり、3HexNAc2Hex1Fuc1NeuAc の糖鎖形態を代表とする *O*-結合型糖鎖が結合していた。





本研究に対し、以下の点を議論した。

1. Cryptdin (α ディフェンシン) の発現は Paneth 細胞の、中でも細胞内分泌顆粒のみに特異的であり、他の臓器では全く発現していない点で、呼吸器、消化器、腎臓、生殖器などで広く発現している β ディフェンシンと異なる。
2. Cryptdin (α ディフェンシン) ファミリータンパク質の抗菌メカニズムは、正に荷電した Cryptdin 自体が負に荷電した細胞膜へ集まりイオンチャンネルを標的細胞膜上に形成し、これが細菌の細胞膜上に孔を形成し、膜透過性を亢進させる機序とされている。また、成熟 Cryptdin は腸内の分泌液中では二量体を形成し、単体時よりも強力に抗菌作用を発揮する。
3. CRS1 の機能は完全に明らかでないものの、遺伝子配列および遺伝子座から、Cryptdin ファミリータンパク質と同様の抗菌ペプチドとして働き、腸内フローラを維持していると考えられる。
4. 細胞実験において、糖鎖を有する CRS1の方が糖鎖を有さない CRS1よりも強く分泌される結果が得られた。抗菌作用自体に関する直接的な細胞実験は行えていないものの、抗菌作用にも差が生まれている可能性が考えられる。
5. 本研究の背景となった既報において、腸管細胞に α 1,2-fucose が付加されることにより免疫機能が大きく変化し、ある一定の細菌は殺す反面で常在菌には栄養を提供するような特殊な反応が見られている。本研究でこの α 1,2-fucose が抗菌ペプチドに付いていることが明らかとなったため、今後の抗菌ペプチド研究では糖鎖の存在を無視することなく、研究対象にすべきと考える。

本研究は、腸管免疫の制御メカニズムを解明する上で、重要な知見を提供した。

以上の理由により、本研究は博士（医学）の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第	号	氏 名	橋 口 裕 樹
試験担当者	主査 小寺泰弘  副査 ₁ 石井晃  副査 ₂ 室原豊明  指導教授 藤岡克弘 			
(試験の結果の要旨)				
<p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. CRS1の小腸以外の臓器での発現、あればその役割について 2. αディフェンシンファミリータンパク質の担う抗菌作用の分子機構 3. CRS1の既知の機能について 4. 糖鎖修飾がCRS1の分泌や抗菌作用に与える影響について 5. 糖鎖の発見と既報との関係、今後の展望について <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、消化器内科学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				