

## 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 张 爱玲

論 文 題 目

Secretory expression of mammalian NOTCH tandem epidermal growth factor-like repeats based on increased O-glycosylation

(O-グリコシル化の増加に基づく哺乳類 NOTCH タンデム上皮成長因子様リピートの分泌発現)

論文審査担当者 名古屋大学教授

主 査 委員 門松 健治  
名古屋大学教授

委員 榎本 篤  
名古屋大学教授

委員 石井 晃  
名古屋大学教授

指導教授 西脇 公俊

## 論文審査の結果の要旨

別紙 1-2

今回、Notch 受容体 EGF リピートの分泌発現に対する EGF ドメイン特異的糖転移酵素の効果の評価することを通じて、内因性 NOTCH 受容体への影響とは異なり、過剰発現した EGF ドメイン特異的 O-GlcNAc 転移酵素 (EOGT) が酵素活性依存的に NOTCH1 EGF リピートの分泌を増強することを見出した。また、小胞体 (ER) の EGF ドメインに作用する複数の糖転移酵素の複合効果を検討した結果、EOGT と タンパク質 O-グルコース転移酵素 1 (POGLUT1) の共発現は、EOGT 単独と比較して分泌をさらに増加させた。これら酵素の共発現は NOTCH1 だけでなく NOTCH3 EGF リピートの分泌を促進させた。分泌タンパク質を精製し、質量分析により O 型糖鎖の半定量解析を行った結果、EOGT と POGLUT1 の共発現は NOTCH3 EGF リピートの O-GlcNAc 化を増加させる一方で、O-グルコース修飾には大きな変化が認められなかった。これらの結果より、EOGT と POGLUT1 は異なる原理により、Notch 受容体 EGF リピートの分泌発現を促進することが示唆された。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. 分泌された NOTCH3 EGF リピートの質量分析より、O-グルコース修飾の付加率がほぼ 100% のドメインが大半なのに対し、O-GlcNAc 修飾の付加率はドメインによりまちまちであり、ほぼ修飾を受けないドメインも完全に修飾を受けるドメインも存在した。POGLUT1 による O-グルコース修飾は、NOTCH 受容体の分泌の前提であるとする、過剰発現により O-グルコースを含む O 型糖鎖修飾が低下することで小胞体に留まる異常な NOTCH1 が、POGLUT1 を同時に発現させることで O-グルコース修飾が正常化し、細胞外に分泌されるようになることが考えられる。一方で、EOGT による O-GlcNAc 修飾の亢進も、過剰発現させた NOTCH1 の分泌低下を回復させると考えられるが、詳細なメカニズムは今後の解析が必要である。
2. FRINGE は、直接的に DLL4 と NOTCH1 の物理的な相互作用を増強するのに対して、EOGT は NOTCH1 の細胞表面発現と物理的相互作用の両面から、DLL4 との結合の制御の可能性が示唆される。
3. 今回の研究成果の 1 つとして、培養細胞を用いた NOTCH DECOY の大量生産に向けた課題の解決があり、糖鎖修飾を最適化した NOTCH DECOY タンパク質自体が創薬の対象になると考える。一方で、糖転移酵素を最適化した細胞に NOTCH DECOY を分泌発現させる糖鎖改変細胞をベースにした治療戦略の創出の可能性も考えられる。

本研究は、培養細胞を用いた NOTCH DECOY の大量生産システムを確立する上で、重要な知見を提供した。

以上、適正な議論がなされたことにより、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	张 爱 玲
試験担当者	主査 門松 健治		副査 <sub>1</sub> 榎本 篤	
	副査 <sub>2</sub> 石井 晃		指導教授 西脇 公俊	
(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"><li>1. EOGT /POGLUT1 共発現より分泌を促進する作用機序について</li><li>2. DLL4 と結合について EOGT と FRINGE の異なる作用機序について</li><li>3. 今後 NOTCH DECOY を治療に応用する場合、アデノウイルスベクターにするのか、それとも糖鎖をつけた NOTCH DECOY を投与するのか</li></ol>				
<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、麻酔・蘇生医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>				