

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 山口 世堯

論 文 題 目

Expression of B4GALNT1, an essential glycosyltransferase for the synthesis of complex gangliosides, suppresses BACE1 degradation and modulates APP processing

(複合ガングリオシド合成における必須酵素、B4GALNT1 の発現は BACE1 の分解を抑制することで APP 切断を調整する)

論文審査担当者

名古屋大学教授

主 査 委員

門 弘 健 治 

名古屋大学教授

委員

藤 本 豊 士 

名古屋大学教授

委員

葛 谷 雅 文 

名古屋大学教授

指導教授

岡 島 徹 也 

論文審査の結果の要旨

別紙1-2





今回の研究では、melanoma 細胞株に対し、種々の ganglioside 合成酵素(ST8SIA1、B4GALNT1、B3GALT4) cDNA を強制発現させ、異なる ganglioside を発現する細胞株を作製した。これらの細胞株を使用し、ganglioside 合成酵素とその産物である ganglioside の発現が APP の切断に与える影響を検討した。すると、B4GALNT1 を発現した細胞株では BACE1 の発現上昇と、APP の β 切断亢進が認められた。これらは、BACE1 の lysosome における分解抑制と、BACE1 の lipid raft における発現上昇によるものであることが示唆された。これらの機序により、B4GALNT1 の発現が A β の産生、AD の病態を促進する可能性が考えられた。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. β secretase や γ secretase による APP 切断は Raft 内で切断されていることが報告されている。一方で、BACE1 の細胞内局在は、trans Golgi network (TGN)、early endosome で認められ、これらの分画で APP の切断が行われていることが報告されている。TGN や early endosome に lipid raft が存在するかどうかは、まだ議論の余地があるが、これら細胞分画でも ganglioside や脂質の発現、タンパク同士の相互作用が認められることから、lipid raft が存在し、そこで BACE1 による切断が行われている可能性は考えられる。
2. 細胞外から ganglioside を加える実験では、BACE1 の発現に影響は認められなかった。このため、BACE1 の細胞内発現と合わせて、TGN における B4GALNT1、または ganglioside の発現が BACE1 の endosome から TGN への輸送を促進させることで、lysosome への輸送を抑制している可能性が最も考えられた。しかし、B4GALNT1 と BACE1 の共沈実験では、共沈が認められなかった。
3. APP の C 末端を認識する抗体と、Golgi マーカー(GM130)または、early endosome マーカー(EEA1)との共染色では、ganglioside 合成酵素発現による影響は認められなかった。BACE1 の C 末端に His tag を付与したものを強制発現し、抗 His 抗体により単染色した実験では、ganglioside 合成酵素発現により染色部位が明らかに異なることはなかった。
4. 本研究で使用した melanoma 細胞株は、脳における神経細胞と同じ神経堤由来であり、神経細胞に近いモデル系と言える。Alzheimer 病(AD)患者では ganglioside GM1 や GM2 の発現が上昇していることが報告されており、B4GALNT1 の発現上昇が AD の病態と関係している可能性は十分考えられる。
5. Western blotting と、ELISA により A β 産生量を検討したが、検出下限値以下のため、検出することが出来なかった。

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	山口 世堯
試験担当者	主査 門下 健一  藤本 豊士  藤原 雅文 			
	指導教授 岡島 徹也 			
(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. BACE1による切断の起こる細胞分画と、BACE1のRaft局在との関連性 2. BACE1の発現上昇の機序 3. ganglioside合成酵素発現によるBACE1、APPの細胞内分布への影響 4. 神経細胞でも、ganglioside合成酵素の発現と、APPの切断について、同じ機序が考えられるかどうか 5. 最終的なAβ産生について <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、分子細胞化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>				