

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 那仁图雅

論 文 題 目

GlcNAc6ST3 is a keratan sulfate sulfotransferase for the protein-tyrosine phosphatase PTPRZ in the adult brain

(GlcNAc6ST3は成体脳で発現するケラタン硫酸糖鎖で修飾されたプロテインチロシンホスファターゼPTPRZに対する硫酸転移酵素である)

論文審査担当者

名古屋大学教授

主 査 委員

岡島 徹也



名古屋大学教授

委員

木山 博資



名古屋大学教授

委員

宮田 卓樹



名古屋大学教授

指導教授

門松 健治



論文審査の結果の要旨

別紙 1-2

GlcNAc6STはマウスでは GlcNAc6ST-1,-2,-3,-4 の4つの酵素が存在する。本研究では、4つの酵素遺伝子をそれぞれ欠損する遺伝子ノックアウトマウスを作製した。成体マウス脳における R10G-KS の発現量は、GlcNAc6ST-1、GlcNAc6ST-2、GlcNAc6ST-4 遺伝子欠損では変化が見られず、野生型マウスと同じ発現量を示した。GlcNAc6ST-3 遺伝子欠損では R10G-KS の発現量がほぼ消失した。R-10G 免疫沈降物に対する質量分析機器を用いた解析から R10G-KS 糖鎖を担うタンパク質として Ptporz/phosphacan が同定された。ウェスタンブロット解析の結果、Ptporz/phosphacan が R10G-KS 糖鎖のコアタンパク質であることを確認した。これらの結果から、成体マウスの脳における R10G-KS 糖鎖の生合成は GlcNAc6ST-3 により担われることが明らかとなった。その主なコアタンパク質は Ptporz/phosphacan であることが明らかとなった。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. それぞれ遺伝子ノックアウトマウス発達において肉眼で明らかな異常見られなかった。GlcNAc6ST-1 ノックアウトマウスでは、ケラタン硫酸特異的モノクローナル抗体である 5D4 の反応性が完全に消失した。R10G により認識されるケラタン硫酸は GlcNAc6ST-3 ノックアウトマウスでほぼ消失し、GlcNAc6ST-1,-3 ノックアウトマウスで完全に消失した。
2. ペリニューロナルネット (PNN) 構造は、特定の神経細胞の細胞体および樹状突起にみられる網目状の構造物である。成体マウス大脳皮質における抑制性神経細胞の数をそれぞれの遺伝子欠損マウスで定量した結果、予想に反して GlcNAc6ST-3 遺伝子欠損では野生型と変わりはない。GlcNAc6ST-2, GlcNAc6ST-4 遺伝子欠損マウスにおいても変化は観察されなかった。しかしながら GlcNAc6ST-1 遺伝子欠損マウスでパルブアルブミン陽性抑制性神経細胞の数が減少していた。このことから、発生期もしくは生後発達期の脳における KS の生合成が成体脳における抑制性神経細胞の分化維持に重要であることが強く示唆された。
3. R-10G モノクローナル抗体は、C-6 硫酸化された GlcNAc と Gal の単硫酸化された二糖類を含んでいる KS 構造を認識する。5D4 モノクローナル抗体は、C-6 硫酸化された GlcNAc と C-6 硫酸化された Gal の二硫酸化された二糖類を含んでいる KS 構造を認識する。phosphacan 上の 5D4 により認識されるケラタン硫酸は GlcNAc6ST-1 ノックアウトマウスでは消失したことが報告されている。R10G により認識されるケラタン硫酸は GlcNAc6ST-3 ノックアウトマウスではほぼ消失した。GlcNAc6ST-1,-3 ノックアウトマウスでは完全に消失した。

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	那仁图雅
試験担当者	主査	岡島徹也	副査 ₁	木山博資
	副査 ₂	宮田卓彦	指導教授	阿松 健治
(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. 酵素遺伝子ノックアウトマウスではどんな表現型があるか？特に GlcNAc6ST1ノックアウトマウス, GlcNAc6ST3ノックアウトマウスではどんな差が見られたか？ 2. PNNが発現している場所はどこですか？胎生期および生後発達期脳でGlcNAc6ST1ノックアウトマウスの全PV陽性細胞中のPV, PNN両陽性細胞の比率が野生型に比べて減少していたが、成体マウスではどうして差が見られなかったか？ 3. R10Gモノクローナル抗体に認識されるKS (R10G-KS) と5D4モノクローナル抗体に認識されるKS (5D4-KS) エピトープ(epitope)にどのように違いがあるのか？GlcNAc6ST1ノックアウトマウス, GlcNAc6ST3ノックアウトマウスではPhosphacan 上のKSエピトープに違いがあるのか？ <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、分子生物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>				