

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 浦田 悠輔

論 文 題 目


Xylosyl Extension of O-Glucose Glycans on the Extracellular Domain of NOTCH1 and NOTCH2 Regulates Notch Cell Surface Trafficking

(NOTCH1, NOTCH2 細胞外ドメインにおける O-グルコース糖鎖のキシロース伸長は細胞表面への Notch の輸送を制御する)

論文審査担当者

名古屋大学教授

主 査 委員

曾根 三千彦 


名古屋大学教授

委員

阿部 健治 

名古屋大学教授

委員

豊岡 伸哉 

名古屋大学教授

指導教授

日比 英晴 

## 論文審査の結果の要旨

今回 HEK293T 細胞を用い、*GXYLT1*、*GXYLT2*、*XXYLT1* をノックアウト (KO) し Notch1、Notch2 の細胞外ドメイン EGF リピート上の *O*-Glucose 糖鎖修飾を質量分析にて解析し、また機能の変化を調べた。野生型の糖鎖修飾の度合いは、大部分の EGF ドメインで *O*-グルコース三糖が主であったが、キシロース伸長が見られない EGF ドメインも一部存在した。各 KO 細胞ではキシロース伸長が消失していた。さらに、野生型細胞に比べて、KO 細胞では、内因性 NOTCH1、NOTCH2 の細胞表面発現に差は見られなかったが、高レベルに強制発現させた場合には、細胞表面発現が有意に低下した。この結果 *O*-グルコース糖鎖のキシロース伸長が、NOTCH1、NOTCH2 の細胞表面への輸送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. 細胞表面の糖鎖はがん化やその悪性化に伴って変化することは知られており、Notch シグナルは、多くのがんの悪性度とも強く関連している。Notch を修飾する *POFUT1* や *POGLUT1* は種々のがんで発現レベルが増加することも報告されている。一方、悪性度が高いとされるトリプルネガティブ乳癌では、GlcNAc 転移酵素 Lunatic FRINGE の発現が減少し、それが発がんに関わっている。
2. *O*-Glucose 糖鎖は EGF リピートを持つタンパク質のうち、コンセンサス配列 C<sup>1</sup>-X-S-X-(P/A)-C<sup>2</sup> を持つ EGF リピートに付加される。*O*-Glucose 糖鎖の付加を担うタンパク質 *O*-Glucose 転移酵素-1 (*POGLUT1*) と受容基質 EGF リピートの複合体の結晶構造解析から、EGF リピートのコンセンサス配列と折りたたみ構造の両者が、酵素によって厳密に認識されることが明らかとなっている。Notch 以外には凝固因子VII、凝固因子IX、タンパク質 Z、Crumbs などのタンパク質に付加されることが知られている。
3. 先行研究において、Notch 受容体に *O*-Glucose を付加する *POGLUT1* をノックアウト (KO) すると Notch の活性化が阻害されることが報告されていた。*POGLUT1* の KO 細胞では *O*-Glucose の付加が消失するため、その先に位置するキシロース伸長も同様に消失する。故に *POGLUT1* KO 細胞における Notch への影響が、*O*-Glucose 単糖の付加の消失によるものであるのか、キシロース伸長の消失によるものであるのかを調べるため、今回キシロース転移酵素に着目した。

本研究は、Notch シグナルを標的とした、がんの治療法を確立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判断した。

## 試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第	号	氏 名	浦 田 悠 輔
試験担当者	主査	曾根三千彦		副査 <sub>1</sub>
	副査 <sub>2</sub>	豊岡伸哉		指導教授
日比英晴				
				
(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. 悪性度の進行による Notch の糖鎖修飾の変化について</li> <li>2. Notch 以外の O-Glucose 糖鎖が付加するタンパク質について</li> <li>3. キシロース転移酵素に着目した理由について</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、顎顔面外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>				