

Title	Lewis Type I Antigen Synthase (β Gal-T5) Is Transcriptionally Regulated by Homeoproteins.
Sub Title	ルイス1型抗原合成酵素(β Gal-T5はホメオボックス蛋白により転写調節されている
Author	一色, 聡一郎
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.3 (2005. 9) ,p.10-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050902-0010

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Lewis Type 1 Antigen Synthase (β 3Gal-T5) Is Transcriptionally Regulated by Homeoproteins.

(ルイス 1 型抗原合成酵素 β 3Gal-T5はホメオボックス蛋白により転写調節されている)

— 色 聡 — 郎

内容の要旨

論文審査の要旨

1 型糖鎖 (Gal β 1-3GlcNAc) は β 1,3ガラクトース転移酵素 (β 3Gal-T) により合成され、主に消化管上皮に発現してその分化および癌化に関与すると考えられており、消化器癌組織に高頻度に発現するCA19-9 抗原 (シアリル・ルイスA抗原) も 1 型糖鎖の構造を有している。 β 3Gal-Tは既に 5 種類が報告されているが、そのうちわれわれが以前にクローニングした β 3Gal-T5が消化管上皮における 1 型糖鎖構造の合成を担っていると考えられている。本研究においては、 β 3Gal-T5遺伝子の転写制御が腸上皮に特異的なホメオボックス遺伝子であるCdxおよびHNF1ファミリーにより調節されていることを見いだしたので報告する。

まずレポーターアッセイにより β 3Gal-T5の転写開始点の上流-151~-121bpの部位に本遺伝子の転写に必須の領域があることを示し、この領域をGCE (Gal-T5 Control Element) と名付けた。GCEはCdxおよびHNF1ファミリーの結合配列を有しており、この部位に変異配列を導入するとプロモーター活性は消失した。ゲルシフトアッセイでは、GCEは 4 種の転写因子タンパク (Cdx1, Cdx2, HNF1 α , HNF1 β) のいずれとも結合しうることが分かった。またこれらの転写因子cDNAを共発現させると β 3Gal-T5プロモーター活性は増大した。また β 3Gal-T5を高発現するヒト大腸癌細胞株SW1116の核抽出液をゲルシフトアッセイにより検討したところ、HNF1 α およびCdxタンパク質の高発現が認められた。

Caco-2細胞は腸上皮細胞の分化モデルに頻用されるヒト大腸癌細胞株であり、本細胞株の分化誘導により β 3Gal-T酵素活性が上昇し、結果として 1 型糖鎖構造が増大することがすでに示されている。本研究においてはCdx2およびHNF1 α の転写量がこの過程で増大し、同時に β 3Gal-T5の転写量も上昇することが見いだされた。

大腸癌では正常組織に比して β 3Gal-T活性が減少することがすでに示されているが、手術切除検体の検討でも β 3Gal-T5の転写量が癌組織において減少することが示された。また抗 β 3Gal-T5モノクローナル抗体を作製して免疫組織染色を行ったところ、正常小腸・大腸のほか胃に発生する腸上皮化生においても本タンパクが高発現すること、また大腸癌では正常上皮に比して発現が低下することが示された。

以上、本研究においては β 3Gal-T5が腸上皮における 1 型糖鎖の合成量を調節していること、また腸管特異的なホメオボックス遺伝子により転写制御を受けていることが示され、 β 3Gal-T5が腸上皮細胞の分化や癌化に関与している可能性が示唆された。

従来より糖鎖は生体において各種の生理現象に密接に関与していると考えられ、特に消化管上皮や神経細胞に豊富に発現することから、これらの細胞での分化や癌化における糖鎖構造の変化が観察されてきた。しかし糖鎖のもつ高度の多様性から生化学的手法による分析には限界があり、特に発現制御機構の解析は困難であった。近年になり糖鎖の合成に関わる各種の糖転移酵素群がクローニングされ、糖鎖の変化を分子生物学的手法を用いて解析することが可能となった。申請者らは以前、ヒト消化管上皮細胞に発現する主要な糖鎖の一つであるルイス 1 型抗原群を合成する糖転移酵素UDP-galactose : β -N-acetylglucosamine β 1,3 galactosyltransferase-5 (β 3Gal-T5) の新規クローニングに成功した。本研究では本遺伝子の主要な転写調節領域を同定し、同部位にホメオボックス蛋白であるCDXおよびHNF1ファミリーが結合して転写調節に直接関わっていることを示した。さらにCaco-2細胞を用いた消化管上皮細胞の分化モデルや大腸癌組織における転写産物の定量により、消化管上皮の分化や癌化において本遺伝子の発現が大きく変化すること、またその変化にはCDXおよびHNF1ファミリーが直接的に関与することを示した。また β 3Gal-T5に対するモノクローナル抗体を作製し、大腸癌組織ではその発現が減弱すること、また胃における腸上皮化生腺管に多く発現することを示した。また、これらの発現変化はすでに報告されているルイス 1 型糖鎖抗原および β 1,3ガラクトース転移酵素活性レベルでの観察結果を裏付けるものであった。

審査では、まず本研究の前半部において β 3Gal-T5の発現制御機構を分子生物学的な転写研究の手法を用いて解析し、ホメオボックス遺伝子が直接的に関与することを示した点が評価された。しかしCaco-2細胞の分化モデルと大腸癌組織での結果に乖離がある点、すなわち変化する転写因子が異なる点に疑問が示され、分化と癌化で作用する転写因子が異なる可能性がある旨の回答があった。また組織検体での転写因子の変化が β 3Gal-T5の変化に比べて少ない点に疑問が示されたが、個々の細胞レベルで大きな変化があっても組織検体では細胞集団全体として評価されるため、差が出にくいのではないかの回答があった。また腫瘍マーカーCA19-9の発現量と β 3Gal-T5の発現量との関連について質問があり、 β 3Gal-T5を含め既知の糖転移酵素の発現量との関連は証明されておらず、CA19-9の発現量を制御する因子については依然説明されていない旨の返答があった。また、組織染色に用いられたモノクローナル抗体について、特異性の証明のため免疫吸収試験や細胞染色が行われることが望ましいとの指摘があった。

以上のように、本研究はさらに検討されるべき課題を残しているものの、糖転移酵素 β 3Gal-T5の転写調節機構を分子生物学的手法を用いて明らかにし、さらに消化管上皮細胞の癌化および分化において実際に機能していることを明らかにした点で、有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 外科学 北島 政樹
先端医科学 河上 裕 病理学 坂元 亨宇
内科学 日比 紀文
学力確認担当者：北島 政樹、河上 裕
審査委員長：河上 裕

試問日：平成17年 5月25日