



Biological Role of Site-specific O-glycosylation in Cell Adhesion Activity and Phosphorylation of Osteopontin

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2019-06-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 大山, 翠 メールアドレス: 所属:
URL	https://fmu.repo.nii.ac.jp/records/2000251

論文内容要旨 (和文)

学位論文題名	Biological role of site-specific <i>O</i>-glycosylation in cell adhesion activity and phosphorylation of osteopontin オステオポンチンの細胞接着活性とリン酸化における部位特異的 <i>O</i>-結合型糖鎖修飾の生物学的役割
オステオポンチン (osteopontin : OPN) は、細胞外に分泌されるリン酸化糖タンパク質である。OPN の発現は、多くの癌において悪性化に伴い上昇し、患者の予後不良と相関する。OPN は癌細胞の接着や運動、増殖を促進する。OPN のそうした活性の発現は、主に細胞表面受容体インテグリン $\alpha\beta3$ や $\alpha5\beta1$ を介しておこなわれるが、その相互作用には OPN リン酸化の関与が考えられている。 糖鎖修飾は、ほとんどの膜および分泌タンパク質に付加される翻訳後修飾のひとつである。糖鎖はタンパク質の機能を調節し、様々な生体反応に関与する。しかしながら、タンパク質の糖鎖と機能に関する分子レベルでの解析はほとんどなされていないのが現状である。 以前、私たちは、OPN 内のスレオニン/プロリンリッチ領域に存在する 5 か所の <i>O</i>-結合型糖鎖付加部位 (Thr¹³⁴/Thr¹³⁸/Thr¹⁴³/Thr¹⁴⁷/Thr¹⁵²) を欠損させたところ、OPN の細胞接着活性とリン酸化が上昇することを見出した。本研究では、OPN の糖鎖による活性調節機構をより詳細に検討するため、部位特異的 <i>O</i>-結合型糖鎖修飾をもつ組換え型 OPN の細胞接着活性およびリン酸化について調べた。 そのために糖鎖を部位特異的に 1 か所あるいは複数か所欠損させた OPN を作製した。前側 2 か所 (Thr¹³⁴/Thr¹³⁸)、後側 3 か所 (Thr¹⁴³/Thr¹⁴⁷/Thr¹⁵²) の糖鎖付加部位を欠損した OPN は、野生型に比べ、それぞれ細胞接着活性の低下および上昇がみられた。一方、糖鎖付加部位を 1 か所のみ欠損した OPN は野生型と同程度の活性を示した。 OPN と受容体との相互作用に対する糖鎖の影響を調べるため、インテグリン $\alpha\beta3$ と $\beta1$ の機能阻害抗体やインテグリン $\alpha\beta3$ 高発現細胞を用いて、各組換え型 OPN に対する細胞接着アッセイをおこなった。その結果、OPN とそれらインテグリンとの相互作用に OPN 糖鎖が関与することが明らかとなった。 質量分析やリン酸基を特異的に認識する Phos-tag を用いた ELISA 解析から、OPN のリン酸化レベルやリン酸化部位が糖鎖の付加状態に影響されることがわかった。また、OPN のリン酸化レベルと <i>O</i>-結合型糖鎖の数、細胞接着活性は必ずしも相関しないことが明らかとなった。 これらの結果は、OPN の <i>O</i>-結合型糖鎖による細胞接着活性およびリン酸化の新たな調節機構を示唆するものである。	

(Biochemical Journal, May 9, 2018, 475, 1583–1595)

平成 31 年 2 月 14 日

学位論文審査結果報告書

大学院医学研究科長

下記の通り学位論文の審査を終了したので報告いたします。

審査結果要旨

氏名 大山 翠

学位論文題名 Biological Role of Site-specific O-glycosylation in Cell Adhesion Activity and Phosphorylation of Osteopontin. (オステオポオンチンの細胞接着活性とリン酸化における部位特異的 O-結合型糖鎖修飾の生物学的役割)

申請者は細胞外において細胞接着などを介して様々な生理活性を示すオステオポンチン(OPN)の O 型糖鎖とリン酸化による細胞接着への影響について解析した。様々な O 型糖鎖欠損変異体のリン酸化部位を同定して、それらの細胞接着活性を調べ、想定される $\beta 1$ と $\beta 3$ を持つインテグリンの関与を調べた。その結果、これまでいわれているようなリン酸化と細胞接着活性は必ずしも単純な相関にはなく、部位により異なることも示された。このような知見から、インテグリンを介した細胞間接着において O 型糖鎖が重要な働きを果たす可能性が示された。

本審査会は平成 31 年 1 月 16 日に行われ、質疑応答に適切に回答された。指摘を踏まえて本論文は修正されたものが再度提出された。本研究は、厳密な生化学的研究により適切に行われ、細胞接着の分子メカニズムに新たな視点をくわえるものであり、臨床応用の新しい可能性も提示するとして、審査員一同、博士論文に相応しい論文であると結論された。

審査委員

和田 郁夫

関亦 正幸

東 智仁