

糖鎖合成系酵素遺伝子群の発現モードと多型の解析に基づく疾患病態の解析

●古川 圭子 ◆沼田 真一郎 ◆古川 鋼一

名古屋大学大学院医学系研究科

〈研究の目的と進め方〉

複合糖質の糖鎖の多様性は、複雑な生命現象に深く関与している。近年の糖鎖合成酵素遺伝子群の単離とその操作実験は、具体的な生命過程における個々の糖鎖構造の意義を明らかにしつつある。本研究では、1) 糖鎖合成酵素遺伝子の多型の同定と変異遺伝子の機能およびその疾患との関連の解析、2) 各種癌と正常組織における糖鎖合成酵素遺伝子の発現プロファイルのDNAチップによる検討とデータベースの作成により、糖鎖と発がん、病型、予後、薬剤感受性等との関連を明らかにする。よって病態解明と診断・予防および治療法の開発に資する。

〈研究開始時の研究計画〉

1、糖鎖合成系遺伝子群の遺伝子多型の有無の検討と、検出システムを確立する。具体的には、既知の血液型(ABO型、P/p型、Lewis型など)、CAGリピートを含むシアル酸転移酵素などにつき検討し、次に未知の多型を同定する。
2、遺伝子多型が同定されたら、その変異遺伝子産物の酵素の機能変異を解析する。
3、各種癌および正常組織における糖鎖合成系酵素遺伝子の発現プロファイルを検討し、データベースの作成を試みる。そのために、各遺伝子の特異的配列の検出システムの確立、その配列を用いたDNAアレイの作製、アレイを用いての種々の癌組織における糖鎖合成系酵素遺伝子の発現プロファイルの検討と、データベースの作成を行う。

〈研究期間の成果〉

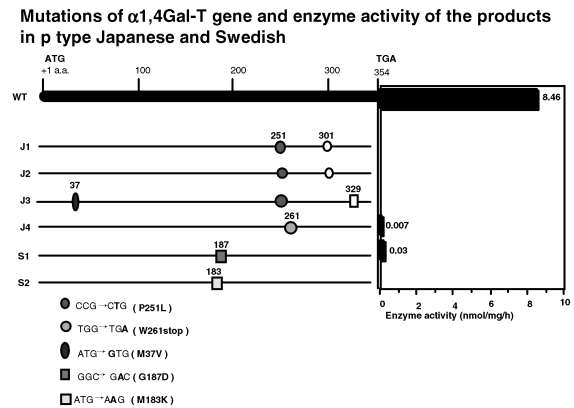
1) 糖鎖合成酵素遺伝子の多型性解析(研究計画1および2)

単離した α 1,4-ガラクトース転移酵素はGb3/CD77および血液型Pkの合成酵素である。Gb3はバーキット関連抗原とよばれ、大腸菌0157の毒素受容体である。P型における本遺伝子の変異を検討した結果、日本人でP251L、W261stop、スウェーデン人でM183K、G187Dと、両国間で異なった変異が同定され、変異遺伝子の機能消失が確認された(図1)(論文1、2、3)。Xgal-T1はC.エレガンスsqv3のヒトホモログであるが、Ehlers-Danlos症候群早老型患者の遺伝子変異を検討し、2種の機能喪失または低下を伴う変異を同定した。

2) 糖転移酵素遺伝子チップの作成(計画3)

約120種のヒト糖鎖合成酵素遺伝子の同定とクローン収集および塩基配列の確認を進めた。また、小スケールによるDNAアレイの検討を行ったが、発現量の低いものは検出が困難であった。

(図1)



〈国内外での成果の位置づけ〉

α 1,4-ガラクトース転移酵素遺伝子の変異とその酵素活性の低下については、デンマークのグループからもスウェーデン人を対象とした研究報告がほぼ同時にされた。しかし本研究では、日本人を対象としたのでスウェーデン人の変異位置とは異なっていた。従って、人種が分れた後に本遺伝子変異が起こったことが示唆され、興味を持たれた。糖鎖合成酵素遺伝子及び関連遺伝子DNAアレイについては、日本の理化学研究所及びアメリカにおいても作成された。

〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

糖鎖合成酵素遺伝子DNAアレイを完成することができなかった。糖鎖合成酵素遺伝子は、ファミリー間の相同性が高く、DNAアレイのための特異的な部位を決定することが困難であったこと、及び一般的に発現量が低い為、感度を上げる技術が必要であり、これらの問題点を解決できなかった。

〈今後の課題〉

完成された糖鎖合成酵素遺伝子DNAアレイによる癌関連糖鎖合成酵素遺伝子の癌特異的発現パターンの検討。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

1. Furukawa, K., Horie, M., Okutomi, K., Sugano, S., Furukawa, K.: Isolation and functional analysis of the melanoma specific promoter region of human GD3 synthase gene. *Biochim. Biophys. Acta.* 1627, 71-78, 2003
2. Furukawa, K., Yokoyama, K., Sato, T., Wiels, J., Hirayama, Y., Ohta, M., and Furukawa, K.: Expression of the Gb3/CD77 synthase gene in megakaryoblastic leukemia cells: implication in the sensitivity to verotoxins. *J. Biol. Chem.* 277, 11247-11254, 2002
3. Furukawa, K., Iwamura, K., Uchikawa, M., Sojka, B.N., Wiels, J., Okajima, T., Urano, T., and Furukawa, K.: Molecular basis for the p phenotype: Identification of distinct and multiple mutations in the α 1,4-galactosyltransferase gene in Swedish and Japanese individuals. *J. Biol. Chem.* 275, 37752-37756, 2000