




審査委員会報告書

【書式10】

令和 4年 8月 14日

申請者	フリガナ	ホリ トモミ	生年月日	昭和48年10月6日生
	氏名	堀 智美 (男・ <input checked="" type="radio"/> 女)	国籍又は本籍	岡山県
	学籍番号		専攻名	生命情報工学専攻
論文題目		糖鎖の生理機能と疾患		
翻訳題目 (英文の場合のみ)				
審査 委員会 委員	(氏名) 印 (所属機関名) (役職名)			
	主査委員:	西原 祥子		創価大学大学院理工学研究科 教授
	委員:	高瀬 明		創価大学大学院理工学研究科 教授
	委員:	榎谷内 晶		創価大学大学院理工学研究科 教授
内容の要旨及び審査結果の要旨 最終試験の結果の要旨		別紙1 別紙2	※文系は書式任意	
博士学位申請論文の受付		受付日: 令和 4年 6月 20日		
博士学位申請論文の受理		受理日: 令和 4年 7月 6日	<input checked="" type="radio"/> 可 ・ 不可	
論文審査の合否		実施日: 令和 4年 7月 19日	<input checked="" type="radio"/> 合 ・ 否	
最終試験の合否		実施日: 令和 4年 8月 4日	<input checked="" type="radio"/> 合 ・ 否	
審査 委員会の 結論	審査委員会は、申請者である堀智美の提出した学位論文について詳細な検討を行い、かつ、申請者の語学・学力および研究能力に関する試問を行った。その結果、論文の内容が博士(工学)の学位に値するものであり、かつ、申請者が十分な語学および学力と研究能力を有するものと認定した。			

審査委員会の審査及び最終試験の結果を受け、当該研究科委員会は以下の通り判定しました。

研究科委員会の判定	開催日: 令和4年8月26日		
	出席者数 33 名	可数 33 名	不可数 0 名

最終合否 合 ・ 否

学位記番号	博 甲 <input checked="" type="radio"/> 乙 第26号	授与年月日	令和 4年 9月10日
学位の種類	博士 (工 学)	備考	

研究科長 北野 晃朗 

内容の要旨及び審査結果の要旨

【書式11】

令和 4 年 8 月 14 日

氏名 (本籍)	堀 智美 (岡山県)		
学位の種類	博士 (工学)		
学位記番号	博乙第 26 号		
学位記の授与日	令和 4 年 9 月 1 0 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当 創価大学大学院学則第 31 条第 6 項該当 創価大学学位規則第 3 条の 3 第 4 項該当		
論文題目	糖鎖の生理機能と疾患		
論文審査機関	工学研究科委員会		
論文審査委員	主査委員	理学博士	西原 祥子
	委員	獣医学博士	高瀬 明
	委員	博士 (薬学)	梅谷内 晶



<論文の内容の要旨>

糖鎖修飾は主要な翻訳後修飾の一つである。細胞表面の膜タンパク質や分泌タンパク質、また、細胞膜に埋め込まれている複合脂質は、様々な糖鎖修飾を受けている。これらの糖鎖は、発生、分化、免疫、癌など様々な生理学的プロセス、個体の生理機能の維持・調節に深く関与している。しかし、このような多様な糖鎖機能が十分に解明されているとは言えない。本研究では、種々の糖鎖の生理機能の解析を行い、① 筋ジストロフィーに関わる糖転移酵素の活性発現メカニズムとその欠損による表現型、② 種固有な糖鎖構造と糖転移酵素の保存性、③ 糖鎖の硫酸化の大腸癌増殖への関与、④ 硫酸化糖鎖構造のウイルス感染増強と発育鶏卵馴化への関与、を初めて明らかにした。これらは、創薬・治療法開発にもつながる成果である。

序論

糖鎖修飾は翻訳後修飾の 1 つであり、タンパク質の活性、安定性、局在などの機能を緻密に制御している。糖鎖はタンパク質や脂質に結合した状態で存在し、それぞれ糖タンパク質、糖脂質の形をとっている。その多くは、細胞表面や細胞間基質に局在し、発生、分化、免疫、神経などの様々な生理学的プロセス、更には、遺伝性疾患や癌、感染症などの多くの疾病に関与している。糖鎖修飾を担う 200 種類以上の糖転移酵素が、小胞体やゴルジ体に存在し、細胞外へ輸送されるタンパク質や脂質に多様な糖鎖構造を付加する。このため、糖転移酵素の欠損や発現の変化は、糖鎖構造の変化を誘起する。本研究では糖鎖の生理機能を、① *O*-マンノース (Man) 転移酵素と筋ジストロフィー、② 種固有な糖鎖構造と糖転移酵素、③ 大腸癌における硫酸化糖鎖、④ インフルエンザウイルスの感染における硫酸化糖鎖の 4 つの観点から検討した。

方法、結果及び考察

本論文では、方法、結果、考察が分かれて記載されているが、ここでは、各研究項目ごとにまとめて記す。

① *O*-Man 転移酵素と筋ジストロフィー

O-結合型糖鎖の一つである *O*-Man 型糖鎖は骨格筋や脳、神経系などに存在し、コアタンパク質の α -ジストログリカン (α -DG) とラミニンなどの細胞外マトリックスを結合させるリガンドとして機能する。この *O*-Man 型糖鎖合成の最初のステップである Man の転移には、*O*-Man 転移酵素 1 (POMT1) と POMT2 が関わり、これらの酵素は、ヒトとショウジョウバエで 1:1 に保存されている。Man の転移には、POMT1 と POMT2 が共発現していることが必須であり、どちらかが欠損すると筋ジストロフィーの表現型を示すことを、ショウジョウバエの POMT1、POMT2 の変異体や RNAi 体、*in vitro* の酵素発現系を用いて、新規に明らかにした。

② 種固有な糖鎖構造と糖転移酵素

社会性を持つ昆虫であるミツバチの記憶中枢には、非還元末端に Gal β 1-3GalNAc (T 抗原) ユニットを持つ *N*-結合型糖鎖が存在することが報告され、その機能が注目されている。しかし、

それを合成する糖転移酵素は明らかではなかった。昆虫に共通して存在する *N*-結合型糖鎖上の T 抗原を合成する β 1-3Gal 転移酵素を、ショウジョウバエとミツバチで新規に同定し、保存されている酵素活性に重要な領域を明らかにした。

③大腸癌における硫酸化糖鎖

糖鎖の硫酸化は、種々の硫酸転移酵素によりゴルジ体内腔で、活性硫酸である 3'-Phosphoadenosine-5'-phosphosulfate (PAPS) を硫酸供与体として行われる。PAPS は細胞質で合成された後、PAPS 輸送体 (PAPST) 1 と 2 によって、硫酸化の場となるゴルジ体内腔へ輸送される。PAPST1 は、大腸がん細胞で高発現しており、RNAi でノックダウンすると、ヘパラン硫酸の硫酸化が減少し、FGF シグナルが抑えられ、癌細胞の増殖が抑制された。すなわち、硫酸化糖鎖が、FGF-2/ERK 経路を活性化して大腸癌の増殖を促進していることを新規に明らかにした。

④インフルエンザウイルスの感染における硫酸化糖鎖

インフルエンザはヒトだけでなく多くの動物に感染する人獣共通感染症である。インフルエンザウイルスの粒子表面には、ヘマグルチニン (HA) が存在しており、インフルエンザウイルスの感染は、この HA が宿主細胞表面に存在するシアル酸に結合して、開始される。シアル酸以外の糖鎖の関与を検討するため、データマイニングにより、公開糖鎖結合アレイデータから高い結合親和性を示す硫酸化糖鎖構造 Gal β 1-4 (SO₃⁻-6) GlcNAc を抽出した。本構造を合成する硫酸転移酵素 *hGlcNAc6ST-1* を安定発現する MDCK 細胞を作出し、検討を行ったところ、本硫酸化糖鎖構造が、発育鶏卵で継代されたヒトインフルエンザウイルスの感染を増強し、さらには、発育鶏卵馴化を促進するレセプターとして機能することを、新規に明らかにした。

<論文審査結果の要旨>

本論文では、難治性疾患、癌、感染症の三大疾病を中心に、これまでに明らかにされていなかった糖鎖の生理機能を明らかにした。①筋ジストロフィーの原因遺伝子である 2 つの *O*-Man 転移酵素 *POMT1* と *POMT2* は、両者が共に *POMT* 活性に必要であり、直接相互作用して *O*-Man 型糖鎖を合成し、正常な筋発生に関わることを、生体内で初めて明らかにした。②硫酸化糖鎖が、FGF-2/ERK 経路を活性化して大腸癌の増殖を促進していることを新規に見出した。③硫酸化糖鎖がインフルエンザウイルス感染を増強することを、感染実験を通じてはじめて明らかにし、これがワクチン製造過程で起こる卵馴化の一因を担っていることを新規に示した。これらのいずれもが、新規機能を証明する十分なデータを有し、創薬・治療法開発にもつながる成果である。以上の理由で、本論文は、学位論文に値する内容であると認定する。

本論文の内容は、申請者を第一著者とした以下の 5 報の論文に出版済みである。なお、これらの論文は、Ichimiya (堀の旧姓) で執筆されている。

(1) Ichimiya T, Many H, Ohmae Y, Yoshida H, Takahashi K, Ueda R, Endo T, Nishihara S. The twisted abdomen phenotype of *Drosophila* *POMT1* and *POMT2* mutants coincides with their heterophilic protein *O*-mannosyltransferase activity. *J Biol Chem*. 2004 Oct 8;279(41):42638-47. doi: 10.1074/jbc.M404900200.

(2) Kamiyama S*, Ichimiya T*, Ikehara Y, Takase T, Fujimoto I, Suda T, Nakamori S, Nakamura M, Nakayama F, Irimura T, Nakanishi H, Watanabe M, Narimatsu H, Nishihara S. Expression and the role of 3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate transporters in human colorectal carcinoma. *Glycobiology*. 2011 Feb;21(2):235-46. doi: 10.1093/glycob/cwq154. * co-first author.

(3) Ichimiya T, Nishihara S, Takase-Yoden S, Kida H, Aoki-Kinoshita K. Frequent glycan structure mining of influenza virus data revealed a sulfated glycan motif that increased viral infection. *Bioinformatics*. 2014 Mar 1;30(5):706-11. doi: 10.1093/bioinformatics/btt573.




(4) Ichimiya T, Maeda M, Sakamura S, Kanazawa M, Nishihara S, Kimura Y. Identification of β 1,3-galactosyltransferases responsible for biosynthesis of insect complex-type *N*-glycans containing a T-antigen unit in the honeybee. *Glycoconj J*. 2015 May;32(3-4):141-51. doi: 10.1007/s10719-015-9585-7.

(5) Ichimiya T, Okamatsu M, Kinoshita T, Kobayashi D, Ichii O, Yamamoto N, Sakoda Y, Kida H, Kawashima H, Yamamoto K, Takase-Yoden S, Nishihara S. Sulfated glycans containing NeuAc α 2-3Gal facilitate the propagation of human H1N1 influenza A viruses in eggs. *Virology*. 2021 Oct;562:29-39. doi: 10.1016/j.virol.2021.06.008.

最終試験の結果の要旨

【書式12】

令和 4年 8月 14日

フリガナ 申請者氏名	ホリ トモミ 堀 智美	専攻名	生命情報工学 専攻
審査委員会委員	主査委員	西原 祥子	
	委員	高瀬 明	
	委員	榎谷内 晶	
<p>要旨</p> <p>最終試験は、上記3名の審査委員により、令和4年8月4日に実施し、学位申請者に対して、研究内容と関連研究領域に関する試問を行った。また、令和4年7月19日に、フランス語と英語の語学試験（筆記）も行った。その結果、申請者は、博士（工学）としての十分な学力・語学力と研究能力を有するものと判定された。したがって、審査委員会は、最終試験を合格と認定した。</p>			