

学 位 論 文 題 名

マウスの消化管と尿生殖器における内在性レクチン、
ガレクチンの発現解析

学位論文内容の要旨

ガレクチンは、ファミリーを増やしつつある内在性レクチンのひとつで、哺乳類では少なくとも 15 種類のサブタイプが存在する。ガレクチンは、ガラクトースを含む糖鎖を特異的に認識し、とくにガラクトースと *N*-アセチルグルコサミンの結合した *N*-アセチラクトサミン (Gal β 1-3/4GlcNAc) の繰り返し構造に強い結合能を示す。ガレクチンファミリーは、糖鎖認識部位によく保存されたアミノ酸配列をもち、分子構築からプロト型 (galectin-1、galectin-2、galectin-7 など)、キメラ型 (galectin-3) およびタンデムリピート型 (galectin-4、galectin-6、galectin-9 など) に分類される。ガレクチンは細胞質にも核にも存在し、細胞の分化や増殖、アポトーシスを調節する。また、シグナルペプチドをもたず、未知の経路により細胞外に分泌され、細胞の接着や移動に関与することが示唆されている。ガレクチンサブタイプは、間質に広く存在する galectin-1 を除いて組織特異的な発現を示すが、詳細な発現細胞の同定や分布様式の解析は不十分である。本研究では、主要な 6 種類のガレクチンサブタイプ (galectin-1、-2、-3、-4/6 および galectin-7) について、マウスの消化管と尿生殖器における発現様式を主に *in situ* hybridization 法により明らかにした。一部のサブタイプに関しては特異抗体を用いた免疫組織化学によりタンパクレベルでの局在を検索した。

消化管では、5つのサブタイプ (galectin-2、-3、-4/6 および galectin-7) が部位および細胞特異的に発現していた。腺胃では galectin-2 と galectin-4/6 が主要なサブタイプで、腺頸部から胃小窩に分布する粘液細胞が主なガレクチン産生細胞であった。小腸では galectin-2、galectin-3 および galectin-4/6 が、粘膜上皮の分化度に関連して発現していた。絨毛の基部と増殖帯のある陰窩では galectin-2 が、絨毛の先端部では galectin-3 が強く発現し、その間の絨毛下半分では galectin-4/6 の発現が最も強かった。また、galectin-2 は小腸の杯細胞で発現していたが、大腸の杯細胞ではシグナルは検出できなかった。大腸のガレクチンは galectin-4/6 と galectin-3 が主要なサブタイプで、陰窩上皮に強く発現していた。口唇から前胃にかけてと肛門の上皮は、重層扁平上皮型の galectin-7 を強く発現していた。消化管におけるガレクチン発現の特徴は、①数種のサブタイプ

が上皮に強く発現すること、②口腔から肛門に至るまでいずれかのサブタイプが発現し、ガレクチンの発現が途切れないこと、③粘膜上皮の分化度に伴って、プロト型 (galectin-2) からタンデムリピート型 (galectin-4/6)、そしてキメラ型 (galectin-3) へと移行する現象が認められたことである。

一方、泌尿器では消化管と異なり、galectin-3 のみが主要なサブタイプであった。galectin-3 は、腎臓から尿道まで連続して発現していた。腎臓では集合管と乳頭管が galectin-3 を強く発現し、主細胞がガレクチン産生細胞であった。腎臓から尿道にかけての移行上皮は全層で galectin-3 を含んでいた。免疫電顕観察では、galectin-3 の陽性反応は上皮の細胞質内にびまん性に存在し、いくぶん集積するものの特定の小器官との関係は認められなかった。泌尿器における galectin-3 の発現は尿管芽と尿生殖洞由来の上皮が主であり、galectin-3 は移行上皮の有用なマーカーになると思われた。galectin-3 はバクテリアのリポ多糖と強く結合することから、尿路感染との関係が注目される。

卵巣では、galectin-1 と galectin-3 が主なサブタイプであった。galectin-1 は卵巣の間質に広く存在するほか、galectin-3 とともに非妊娠および分娩後の黄体に強く発現していた。しかし、黄体におけるこれらガレクチンの発現は妊娠黄体では完全に消失した。黄体におけるガレクチンの発現は、プロジェステロンを非活性型に変換する酵素である 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase (20 α -HSD) の発現ときれいに相関し、galectin-1 と galectin-3 が黄体におけるプロジェステロンの活性を負に調節している可能性が示唆された。

本研究により、マウスの消化管と尿生殖器におけるガレクチンの発現様式が明らかにされ、特定の細胞に特定のガレクチンサブタイプが発現することが示された。また、本研究はガレクチンがステロイドホルモンの活性を調節している可能性を示し、ガレクチンに関する新しい研究領域を切り拓いたといえる。ガレクチンの発現はリンパ性器官にも認められ、ステロイドの活性調節を介して、免疫系を大きく動かしていることが考えられる。ガレクチンの産生や働きはラクトースなどの簡単な糖により影響をうけることから、ガラクトースを含む機能性多糖類が体内の免疫バランスを調節する仕組みを解明するための新たな糸口になるかもしれない。また、細胞内のシグナル伝達系の中継点であるミクロドメインにガレクチンが関与していることが示されており、細胞間ばかりでなく細胞内シグナル伝達におけるガレクチンの機能が注目されている。

糖鎖は生体内に豊富に存在し、多くの生命現象に関与するが、機能発現には内在性レクチンの存在が重要である。ガレクチンは多くのサブタイプをもち、細胞特異的に生体内で最も広く分布するレクチンである。それぞれのガレクチンサブタイプは、特定の糖鎖を認識して、細胞の分化や増殖および細胞内のシグナル伝達系を調節しており、組織や細胞によって異なった働きをしている。ガレクチンサブタイプの生体内における分布と細胞局在を明らかにしたことは、ガレクチンの機能を考える第一歩として、重要なことである。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 昆 泰 寛
副 査 教 授 岩 永 敏 彦 (医学研究科)
副 査 教 授 梅 村 孝 司
副 査 助 教 授 橋 本 善 春

学 位 論 文 題 名

マウスの消化管と尿生殖器における内在性レクチン, ガレクチンの発現解析

ガレクチンは、ガラクトースを含む糖鎖を特異的に認識するレクチンで、さまざまな生命現象に関与する。哺乳類では 15 種類以上のサブタイプが存在するが、詳細な発現細胞の同定や分布様式の解析は不十分である。本研究は、主要な 6 種類のガレクチンサブタイプ (galectin-1, -2, -3, -4/6 および galectin-7) について、マウスの消化管と尿生殖器における発現を明らかにすることを目的として行われた。

消化管は最も豊富にガレクチンを発現する器官であり、5 つのガレクチンサブタイプ (galectin-2, -3, -4/6 および galectin-7) が部位および細胞特異的に発現していた。胃では、galectin-2 と galectin-4/6 が主なサブタイプで、粘液分泌細胞がガレクチン産生細胞であった。小腸上皮では galectin-2, -3, -4/6 が発現し、上皮の分化度に応じて galectin-2→galectin-4/6→galectin-3 と推移する現象が認められた。小腸の杯細胞は galectin-2 を特異的に発現していた。大腸の陰窩上皮は galectin-3 と galectin-4/6 を発現し、後者が優勢であった。口唇から前胃と肛門の重層扁平上皮は galectin-7 を強く発現していた。

一方、泌尿器では galectin-3 のみが主要なサブタイプで、腎臓から尿道まで上皮系に連続して発現していた。腎臓では尿管芽由来の集合管と乳頭管が galectin-3 を強く発現し、主細胞がガレクチン産生細胞であった。腎盤から尿道にかけての移行上皮は全層で galectin-3 を含んでおり、galectin-3 は移行上皮の有用なマーカーになると思われた。

卵巣では、galectin-1 と galectin-3 が主なサブタイプで、galectin-1 は卵巣の間質に広く存在するほか、galectin-3 とともに非妊娠および分娩後 3 日目の黄体に強く発現していた。しかし、黄体におけるこれらガレクチンの発現は妊娠黄体では完全に消失した。黄体におけるガレクチンの発現は、プロジェステロンを非活性型に変換する酵素である 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase (20 α -HSD) の発現ときれいに相関し、galectin-1 および galectin-3 が黄体におけるプロジェステロンの活

性を負に調節している可能性が示唆された。

本研究は、マウスの消化管と尿生殖器におけるガレクチンの発現を形態学的に解析し、細胞の種類により特定のガレクチンサブタイプが発現することを明らかにした。また、ガレクチンがステロイドホルモンの活性を調節している可能性を示し、ガレクチンに関する新たな研究領域を切り拓いたといえる。これらの結果はガレクチン機能の全容解明に大きく貢献するものである。よって、審査員一同は、上記博士論文提出者仁尾純子の博士論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第6条の規定による本研究科の行う博士論文の審査等に合格と認めた。