

学位論文の内容の要旨

氏名

伊藤愛子

論文題目

Optimization of the inter-domain structure of galectin-9 for recombinant production

(論文要旨)

動物レクチンファミリー(ガレクチンファミリー)に属するガレクチン9は、T細胞の分化やホメオスタシス、あるいは自然免疫に関わる細胞群に対する作用を通して、免疫システムの破綻を修正する機能(過剰な免疫反応の抑制やがん免疫の活性化)を持つことが知られている。このような免疫調節機能は、様々な疾患、特に自己免疫疾患、アレルギーなどに対する治療薬としてガレクチン9を利用できる可能性を示している。ガレクチン9は、2つの糖鎖認識ドメインがリンカーペプチドで繋がった構造(タンデムリピート型構造)を持つ。リンカーペプチドはプロテアーゼに対する感受性が高く、リンカー部が切断されるとガレクチン9の活性は大きく低下する。野生型ガレクチン9には3つのアイソフォーム(スプライスバリエーション)が存在し、アイソフォーム間ではリンカーペプチドの構造のみが異なるが、プロテアーゼによって容易に不活性化される性質は共通している。このため、治療薬としての利用を目指す上で、野生型ガレクチン9には組換え蛋白質の生産や動物に投与した際の生体内での安定性に問題がある。

ガレクチン9のプロテアーゼ感受性を改善する目的で、構造改変(リンカーペプチドの除去)を行った結果、高いプロテアーゼ耐性を持つ改変体(安定化ガレクチン9)が得られた。安定化ガレクチン9を用いて、自己免疫疾患(関節リュウマチ、多発性硬化症)やアレルギー反応(アレルギー性喘息)に対する治療効果が、動物モデルにおいて確認されている。しかし、安定化ガレクチン9には2つの問題点(低溶解性と組換え蛋白質の低収量)が残されており、臨床応用に向けて組換え蛋白質の量産を行うためには、これらの問題を解決する必要がある。

最近の研究結果から、安定化ガレクチン9の2つの糖鎖結合ドメインの間には、リンカーペプチドと考えられる約20アミノ酸の領域が残存していることが明らかとなった。本研究では、この領域の改変を行い、安定化ガレクチン9の可溶性と収量に対する効果を検討した。ドメイン間領域のアミノ酸残基を、N-末端側から順次削除した改変体を作製した結果、8-13残基削除した改変体において、活性の低下を伴うことなく、可溶性と収量の向上が認められた。さらに、これらの改変体について、この領域のプロリン残基に注目してアミノ酸置換体を作製した。アミノ酸置換体の中で、プロリン残基の数を減らしたものはすべて溶解度が低下し、特に、最もC-末端側に存在するプロリン残基の影響が大きかった。一方、他のアミノ酸残基をプロリン残基に置換した改変体では、溶解度・収量が増加したものが得られた。安定化ガレクチン9のドメイン間領域のアミノ酸残基を10残基削除し、削除部位のC-末端側に存在する1つのアラニン残基をプロリン残基に置換した

改変体(ssG9)は、安定化ガレクチン9と比較して溶解性・収量が4倍以上に増加した。ヒトT細胞株に対する細胞死誘導活性とマスト細胞の脱顆粒抑制活性を指標としてssG9の活性を検討した結果、ssG9は安定化ガレクチン9と同等以上の活性を保持していた。また、この構造改変により、プロテアーゼ耐性が低下することはなかった。これらの結果は、ガレクチン9をベースとして治療薬開発を進める上で、ssG9が優れた性質を備えていることを示している。ssG9は安定化ガレクチン9に代わる研究用試薬としても有用と考えられる。

掲 載 誌 名	Glycobiology		第 23 卷, 第 8 号
(公表予定) 掲 載 年 月	2013年 8月	出版社(等)名	Oxford University Press
Peer Review	有		無

(備考) 論文要旨は、日本語で1,500字以内にまとめてください。