

鶴屋伸一郎論文内容の要旨

主論文

Homology between ABH-carrier α 2-seminoglycoprotein
and Mac-2 binding protein

精漿 2-seminoglycoproteinとMac-2 binding protein との相同性について

鶴屋伸一郎、津田亮一、池松和哉、松本秀樹、賀川慎一郎、中園一郎

Legal Medicine (2006)

長崎大学大学院医学研究科社会医学系専攻
(指導教授：中園一郎 教授)

【緒言】

犯罪科学において、精液等の体液の血液型検査は、しばしば捜査の方向性を決定づけることから、重要な検査法に位置づけられている。体液中に含まれる血液型物質の糖鎖抗原に関しては精力的に研究が行われ、ABO遺伝子の産物である糖転移酵素によりABO式血液型が決定されること、Se酵素遺伝子の多型が血液型物質の分泌型・非分泌型を決定していること等が明らかになっている。しかし、血液型物質のコアとなる蛋白質部分についてはほとんど研究がなされておらず、その性質については未知の部分が多い。2-seminoglycoprotein (2-SGP) は、津田らによって発見されたABO式血液型活性を持つ精漿中の糖蛋白質である。2-SGPは他の血液型物質と同様に、構造や機能はまったく未知のままである。我々は2-SGPに着目し、その構造及び機能解明を目的に本研究を企図した。

【対象・方法】

- (1) 津田らの報告にもとづき、ASe型精漿より、2-SGPを分離・精製した。脱糖処理後に、SDS-PAGEを行い、メンブレンに転写後、2-SGPのバンドを検出し、このバンドより、アミノ酸内部配列解析を行った。
- (2) A型精漿を用いて2-SGP、Mac-2 binding protein (M2BP)、A型活性物質を精製し、

抗 2-SGPモノクローナル抗体、抗M2BPモノクローナル抗体、抗Aモノクローナル抗体を用いてそれぞれについて交差反応の有無をELISA法にて検討した。

(3) M2BPと結合能を有するGalectin-3 と 2-SGPとの結合能の有無について、抗 Galectin-3 抗体を用いて検討した。

(4) 精囊におけるM2BPの局在について免疫組織学的に検討した。

(5) 健常人 44 人から提供を受けた精液を用い、精漿中の 2-SGPと分泌・非分泌型との相関性について検討した。

【結果及び考察】

2-SGPの内部アミノ酸配列を検討した結果、8残基 (Ala - Val - Asp - Thr - Trp - Ser - Trp - Gly) と12残基 (Thr - Leu - Gln - Ala - Leu - Glu - Phe - His - Thr - Val - Pro - Phe) を決定し、ホモロジー検索を行ったところ、近年、細胞接着能や host defense能等で注目されているMac-2 Binding Protein (M2BP)のアミノ酸内部配列と一致した。

この結果をもとに、2-SGPとM2BPを精漿から精製し、免疫学的な相同性について検討を行ったところ、精製 2-SGPは抗M2BPと交差反応を示し、また、精製M2BPは抗 2-SGPと交差反応を示した。精漿より精製したA型活性物質も抗 2-SGPと抗M2BPと交差反応を示し、2-SGPと同様にM2BPもABO式血液型活性を有することを確認した。さらに、M2BPと結合能を有するGalectin-3 は 2-SGPと結合した。ついで、M2BPは 2-SGPと同様に精囊中に局在することを確認した。

従って、2-SGPの内部アミノ酸配列を利用したホモロジー検索から示唆されたM2BPと 2-SGPとの相同性をアミノ酸配列からだけではなく、血清免疫学的、機能的及び組織学的にも証明することができた。

現在までにABO式血液型物質の体液中への分泌がSe酵素遺伝子に依存すると報告されている。我々は、ABO式血液型物質の分泌量は、糖転移酵素のみに依存するのではなく、そのコア蛋白質である 2-SGP量にも依存するのではないかと考え、分泌型・非分泌型の精漿中に含まれる 2-SGP量を測定した。その結果、非分泌型では 0.0725 ± 0.0292 mean \pm S.D.: N=11、分泌型では 0.0386 ± 0.0206 : N=33 であり、非分泌型群が分泌型群より高いという結果が得られ、2-SGP量はABO式血液型物質の分泌量との関連性は全く認められなかった。

今回の検討により、精漿中の血液型物質 2-SGPのアミノ酸配列と機能の一部を判明することができ、いまだ不明な点が多い体液中血液型物質の解明の一端になったものと考えられる。