

## 論文審査の結果の要旨

報 告 番 号	甲 第 1294 号	氏 名	結 城 淳 子
論文審査担当者	主 査           平 塚 佐 千 枝 副 査           田 中 直 樹・杠 俊 介・三 善 英 知		
<p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p><math>\alpha</math>1,4 結合型 <i>N</i>-アセチルグルコサミン (<math>\alpha</math>GlcNAc) は、胃腺粘液に特異的な糖鎖であり、<math>\alpha</math>1,4-<i>N</i>-アセチルグルコサミン転移酵素 (<math>\alpha</math>4GnT)により生合成され、コア蛋白質 MUC6 に結合している。これまでに、膵癌ではその悪性化に伴い <math>\alpha</math>GlcNAc や MUC6 の発現量が低下することが報告されている。本研究では、膵癌での <math>\alpha</math>GlcNAc と MUC6 の発現量低下が、腫瘍の悪性化を引き起こす原因であることを明らかにするために、培養細胞レベルで解析を行った。<math>\alpha</math>4GnT と MUC6 を発現していない2種のヒト膵癌細胞株 MIA PaCa-2 と PANC-1 に、レトロウイルスベクターを用いて <math>\alpha</math>4GnT または MUC6 をコードする遺伝子 <i>A4GNT</i> または <i>MUC6</i> を導入し、MUC6 を単独発現する細胞、<math>\alpha</math>4GnT と MUC6 を共発現する細胞を樹立し、ベクターのみを導入した細胞を対照群とした。作成した3種類の細胞を用いて形質変化を解析した。また、<i>A4GNT</i> または <i>MUC6</i> の転写レベルと膵癌患者の予後との相関関係を評価するために、GEO データベースに登録されているデータを用いて浸潤性膵管癌患者の生存曲線を作成した。</p> <p>その結果、結城淳子は次の結論を得た。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1、 遺伝子導入細胞の総タンパク質抽出液を、免疫沈降法とウェスタンブロッティング法により解析し、<math>\alpha</math>4GnT、MUC6 の発現と <math>\alpha</math>GlcNAc による MUC6 の糖鎖修飾を確認した。</li> <li>2、 足場依存性細胞増殖能を MTS 法により解析した。MIA PaCa-2 では MUC6 単独発現群で増殖能は対照群に比べ有意に低下し、MUC6/<math>\alpha</math>4GnT 共発現群でさらに低下した。PANC-1 では、MUC6/<math>\alpha</math>4GnT 共発現群で、対照群、MUC6 単独発現群に比べ、増殖能が有意に低下した。</li> <li>3、 足場非依存性細胞増殖能を poly-HEMA コートプレートでの培養後、MTS 法により解析した。MIA PaCa-2 では、MUC6 単独発現または MUC6/<math>\alpha</math>4GnT 共発現群で対照群と比較して増殖能が有意に低下したが、PANC-1 では、対照群、MUC6 単独発現群、MUC6/<math>\alpha</math>4GnT 共発現群で増殖能は同程度であった。</li> <li>4、 細胞運動能をトランスウェルを用いた遊走能評価により、細胞浸潤能をマトリゲル浸潤法により解析した。MIA PaCa-2、PANC-1 とともに、MUC6 単独発現群では対照群に比べて運動能及び浸潤能が有意に低下し、MUC6/<math>\alpha</math>4GnT 共発現群で、さらに低下した。</li> <li>5、 これらの分子機構を明らかにするため、<math>\alpha</math>GlcNAc に結合することが報告されている TFF2 に着目した。TFF2 は、両細胞株で内在性に発現しており、MUC6/<math>\alpha</math>4GnT 共発現群でその発現量が亢進した。遺伝子導入細胞の培養上清を用いた免疫沈降法による解析から、<math>\alpha</math>GlcNAc 結合型 MUC6 は、TFF2 との複合体として分泌されていることが示唆された。</li> <li>6、 <i>A4GNT</i> の mRNA 発現量が高い集団は、発現量が低い集団に比べ予後が良好であり、<i>MUC6</i> の mRNA 発現量が高い集団は、発現量が低い集団に比べ予後が良好であった。</li> </ol> <p>以上より、<math>\alpha</math>GlcNAc と MUC6 は、膵癌の悪性化を抑制していることが培養細胞レベルで明らかになった。予後相関の結果と合わせ、<math>\alpha</math>GlcNAc と MUC6 の発現量を調べることで、膵癌の悪性度の診断に有用であることが示された。</p> <p>よって、主査、副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。</p>			