

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	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
論文題目	「Glycosylation of MUC6 by α 1,4-linked <i>N</i> -acetylglucosamine enhances suppression of pancreatic cancer malignancy (α 1,4 結合型 <i>N</i> -アセチルグルコサミンによる MUC6 の糖鎖修飾は膵癌の悪性化抑制効果を増強させる)」
(論文の内容の要旨)	<p>[背景と目的]α1,4 結合型 <i>N</i>-アセチルグルコサミン (αGlcNAc) は、胃腺粘液に特異的な糖鎖であり、α1,4-<i>N</i>-アセチルグルコサミン転移酵素(α4GnT)により合成され、コア蛋白質 MUC6 に結合している。本研究室ではこれまでに、1)MUC6 陽性のヒト胃分化型癌において、αGlcNAc 陰性症例は陽性症例に比べて予後不良であること、2)膵癌ではその悪性化に伴い αGlcNAc や MUC6 の発現量が低下すること、を報告してきた。これらの研究結果から、αGlcNAc と MUC6 の発現量低下が、膵癌の早期診断において有用なバイオマーカーとなり得ることが示唆された。今回、培養細胞レベルでこれら分子の機能を明らかにすることを目的として解析を行った。</p> <p>[材料及び方法]α4GnT 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 α4GnT をコードする遺伝子 <i>A4GNT</i>、コア蛋白質 MUC6 をコードする遺伝子 <i>MUC6</i> を導入し、MUC6 のみを発現する細胞、α4GnT と MUC6 が共発現する細胞を樹立した。ベクターのみを導入した細胞を対照群とした。発現した遺伝子産物は、免疫沈降法とウェスタンブロッティング法で確認した。得られた細胞について、標準的な培養条件下での足場依存性細胞増殖能と poly-HEMA コートプレートでの培養による足場非依存性細胞増殖能を、MTS 法により解析した。また、細胞運動能、細胞浸潤能を、トランスウェルを用いた遊走能評価、マトリゲル浸潤法により解析した。さらに、両細胞株における TFF2 の発現をウェスタンブロッティング法により解析し、培養上清中に分泌された TFF2 と MUC6 との複合体について免疫沈降法を用いて解析した。<i>A4GNT</i> または <i>MUC6</i> の mRNA 発現量と、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浸潤性膵管癌患者のデータを用いて生存曲線を作成した。</p> <p>[結果]足場依存性細胞増殖能は、MIA PaCa-2 では MUC6 を単独発現させると有意に低下し、MUC6 と α4GnT を共発現させるとさらに低下した。PANC-1 では、MUC6 と α4GnT を共発現させると、対照群、MUC6 単独発現群に比べ、増殖能が低下した。足場非依存性細胞増殖能は、MUC6 単独発現または MUC6 と α4GnT を共発現させた MIA PaCa-2 では、対照群と比較して有意に低下したが、PANC-1 では、対照群、MUC6 発現群、MUC6 と α4GnT 共発現群で増殖能は同程度であった。細胞運動能、細胞浸潤能は、MIA PaCa-2、PANC-1 ともに、MUC6 を単独発現させると対照群に比べて有意に低下し、MUC6 と α4GnT の共発現により、さらに低下した。この分子機構を明らかにするため、αGlcNAc に結合することが報告されている TFF2 に着目した。TFF2 は、両細胞株で発現しており、MUC6 と α4GnT を共発現させるとその発現量が亢進した。また、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、αGlcNAc 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。TFF2 は、ムチンと結合することにより、その粘度を増加させることが報告されている。粘性の高い αGlcNAc 結合型 MUC6-TFF2 複合体が分泌された結果、細胞の運動能、浸潤能がより強く抑制されるという分子機構が考えられた。さらに、浸潤性膵管癌患者の生存曲線を作成したところ、<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有意に良好な予後を示し、<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有意に良好であった。</p> <p>[結論]今回の結果より、αGlcNAc 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。予後解析の結果と考えあわせ、αGlcNAc と MUC6 が、膵癌の有用なバイオマーカーになり得ることが示された。</p>

