

氏名	さくまけいいちろう 佐久間圭一郎
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第2992号
学位授与の日付	平成18年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科内科系専攻
学位論文題目	An <i>N</i> -glycan structure correlates with pulmonary metastatic ability of cancer cells (癌細胞の肺転移能と関連する <i>N</i> -結合型糖鎖構造)
論文調査委員	(主査) 教授 藤田 潤 教授 野田 亮 教授 武藤 誠

論文内容の要旨

細胞表面の糖タンパク質糖鎖は癌転移において重要な役割を持つ。高分岐型糖鎖構造やシアリルルイス-X, -A 構造などは癌転移を促進する。一方、癌転移には臓器選択性があることが知られている。臓器選択性を決定する大きな要因の一つは癌細胞と臓器細胞の親和性であり、おのおのの細胞表面分子の特徴によって決定される。糖鎖は細胞表面に存在し、細胞間相互作用において重要な役割を果たす。特に *N*-結合型糖鎖は最表層に存在するため、細胞間相互作用に最初に関与する分子である。しかし、手法的困難さから *N*-結合型糖鎖の構造パターンはこれまでほとんど解析されてこなかった。1mg のアセトン沈殿検体から *N*-結合型糖鎖構造パターンを決定できる2次元 HPLC 解析系を独自に確立し、ヒトやマウスの正常臓器の糖鎖構造解析を行ったところ、おのおのの臓器は特徴的な糖鎖パターンを示し、個体間の差がほとんど存在しないことを発見した。また、A2G2F と呼ばれる糖鎖構造がヒト及び C57BL/6 マウスの正常肺において非常に多く存在する糖鎖であることを特定した。A2G2F は肺においては全 *N*-結合型糖鎖の15%以上を占めるが、他の臓器では5%以下であり、特に脳においては1%しか認めなかった。A2G2F を合成する際に必要な α 1,6-フコース構造を付加する反応は α -1,6-フコシルトランスフェラーゼによって触媒されるが、この酵素遺伝子をノックアウトしたマウスは肺に気腫性変化を示すことが最近報告された。これらは、A2G2F 構造が肺において非常に重要な役割を果たすことを示唆している。この研究では、A2G2F 構造を多く持つ癌細胞と少ない癌細胞の間で肺転移能に差があるかを検証した。

Lens culinaris agglutinin (LCA) は α 1,6-フコース構造を認識するレクチンである。同一原発巣から肺と肝臓に転移したヒト剖検検体を LCA で染色し、染色強度を定量比較したところ、肺転移部位の癌細胞は肝臓転移部位の癌細胞よりも特に細胞膜が有意に強く染色された。C57BL/6 マウスの尾静脈および脾臓から B16 メラノーマ細胞を注入し、3週間後に肺転移および肝臓転移を摘出して *N*-結合型糖鎖構造パターンを解析したところ、肺転移では有意に多くの A2G2F 構造を認めた。同時に切片を作成し、正常肺細胞の混入による結果ではないことを確認した。さらに B16 培養細胞から、細胞表面の A2G2F 構造がより多い細胞集団とより少ない細胞集団を LCA を用いてフローサイトメーターで分離して培養し、それぞれを C57BL/6 マウスの尾静脈から注入したところ、前者は有意に多くの肺転移結節を形成した。以上の結果から、癌細胞表面に存在する A2G2F 構造は肺転移能に大きく関与する可能性が示唆された。今回の研究結果は臨床的にも癌患者の肺転移リスクを事前評価できる可能性を示唆しており意義が大きい。

論文審査の結果の要旨

細胞表面の糖タンパク質糖鎖は癌転移において重要な役割を果たすが、癌転移の臓器選択性と *N*-結合型糖鎖の関係についての研究は少ない。ヒト及びマウスの正常肺には A2G2F と呼ばれる、 α 1,6-フコースを持つ糖鎖構造が他の臓器に比べて非常に多く存在する。この研究では癌細胞表面の A2G2F 構造が肺転移能に関連するかを検証した。同一原発巣から肺と肝臓に転移したヒト剖検検体を、 α 1,6-フコースを認識するレクチンである *Lens culinaris agglutinin* (LCA) で染色した

ところ、肺転移では肝転移よりも転移癌細胞の細胞膜が有意に強く染色された。C57BL/6 マウスの尾静脈および脾臓から B16 メラノーマ細胞を注射し、肺および肝転移結節を摘出して N-結合型糖鎖構造パターンを解析したところ、肺転移では有意に多くの A2G2F 構造を認めた。さらに B16 培養細胞から、細胞表面の A2G2F 構造が多い細胞集団と少ない細胞集団を LCA を用いてフローサイトメーターで分離して培養し、それぞれを C57BL/6 マウスの尾静脈から注射したところ、前者は有意に多くの肺転移結節を形成した。以上の結果から、癌細胞表面に存在する A2G2F 構造は肺転移能に大きく関与する可能性が示唆された。今回の研究結果は癌患者の肺転移リスクを事前評価できる可能性を示唆しており、臨床的にも意義が大きい。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成18年1月30日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格とみとめられたものである。