

平成30年6月21日現在

機関番号：13401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19078

研究課題名(和文) 正常中皮・中皮腫特異的な糖鎖マーカーの開発と、その構造的・機能的解析

研究課題名(英文) Development of glycobiological markers specific for normal mesothelium and mesothelioma.

研究代表者

酒井 康弘 (Sakai, Yasuhiro)

福井大学・学術研究院医学系部門・特命助教

研究者番号：20754394

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：正常中皮細胞や悪性中皮腫細胞の膜上に6-硫酸化シアリルラクトサミンという糖鎖が発現していることを、免疫組織化学・高速液体クロマトグラフィー・質量分析法で突き止めた。様々な亜型の悪性中皮腫でも発現していることから、中皮細胞に特異的に発現するマーカーは病理診断において非常に有用であり、診断応用が期待される。

また、この糖鎖はマウスの実験によって、中皮細胞内に存在するKSGal6ST・GlcNAc6ST-1・GlcNAc6ST-2という酵素によって生合成されていると考えられた。これは硫酸化糖鎖の生体分布に関する糖鎖生物学的な新知見である。

研究成果の概要(英文)：We discovered that 6-sulfo sialic lactosamine (sLacNAc) is expressed on normal mesothelial cells and malignant mesothelioma cells by immunohistochemistry, high-performance liquid chromatography, and mass spectrometry. 6-sulfo sLacNAc is identified in various histological types of malignant mesothelioma; thus, the marker recognizing 6-sulfo sLacNAc is very useful to diagnose malignant mesothelioma pathologically. Moreover, some additional animal experiments revealed that this glycostructure is biosynthesized by some sulfotransferases including KSGal6ST, GlcNAc6ST-1, and GlcNAc6ST-2. This glycobiological findings include new aspects of the distribution of sulfated glycans.

研究分野：糖鎖生物学

キーワード：硫酸化糖鎖 悪性中皮腫

1. 研究開始当初の背景

(1) 中皮腫は漿膜の単層扁平細胞から発生する腫瘍である。ところが、肺胞上皮細胞も単層扁平細胞で構成されているため、これらが腫瘍化した場合、すなわち中皮腫と肺腺癌との病理学的鑑別はしばしば困難である。両者では予後や治療法が大きく異なるため、正確な病理診断を下すためにも、中皮細胞に特異的に発現するマーカーの探索は病理診断学的に非常に重要である。しかし、既存の中皮腫マーカーでは鑑別に難しい症例もあり、新たなマーカーの開発が望まれている。

(2) 申請者等は糖鎖、特に *N*-アセチルグルコサミンに硫酸基が結合した硫酸化糖鎖に着目し、炎症性疾患の疾病発生機序や腫瘍の微小環境形成について研究してきた。特に、慢性炎症を惹起させる傷害性刺激（感染症・自己免疫・腫瘍）に組織が暴露された際に、通常の細静脈が内腔面に硫酸化糖鎖を発現することで、組織中にリンパ球を動員することを、鳥肌胃炎・自己免疫性膵炎・潰瘍性大腸炎などの炎症性疾患や、精巣精上皮腫・唾液腺ワルチン腫瘍などの腫瘍固有間質で証明してきた。

2. 研究の目的

一般的に高内皮細静脈の内皮細胞には硫酸化糖鎖が発現しているが、本研究では中皮細胞にも硫酸化糖鎖が発現していることを示し、糖転移酵素や硫酸転移酵素の発現解析・質量分析を用いた構造解析など、糖鎖生物学的手法を用いて、中皮腫マーカーの探索を行う。これらの病理学的・糖鎖生物学的視点を組み合わせながら、硫酸化糖鎖の生体分布・構造・機能に関する新たな知見を集積し、これを基に新たな病理診断マーカーを開発する。

3. 研究の方法

免疫組織化学で正常中皮・中皮腫に陽性を示す糖鎖関連抗体を厳選し、およその硫酸化糖鎖構造を推定するとともに、中皮腫に特異的な糖鎖マーカーを見つける。また、中皮腫や肺腺癌の凍結生体材料や細胞株を用いて、どのような糖転移酵素・硫酸転移酵素が発現しているかを検索する。また高速液体クロマトグラフィーや質量分析を用いて、中皮腫細胞と肺腺癌細胞で発現する糖鎖構造を詳細同定し、比較・検討する。

4. 研究成果

(1) 福井大学医学部附属病院で悪性中皮腫・adenomatoid tumor・正常中皮症例を収集し、ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)切片を用いて中皮細胞に発現する糖鎖プロファイルを検証した。

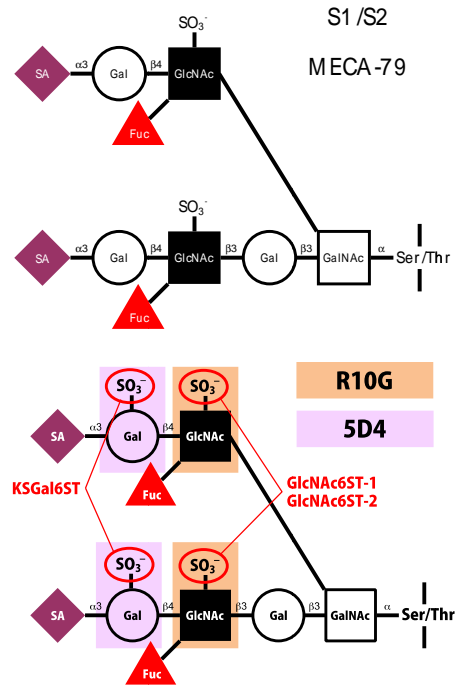


図1. 各種糖鎖を抗原とする抗体のエピトープ

糖鎖をエピトープとする各種抗体 (MECA-79・S1、図1)を用いて免疫組織化学を施行したところ、中皮細胞上に発現する糖鎖は 6-硫酸化シアリルラクトサミンが発現している一方で、core 1 extension 上の *N*-アセチルグルコサミンは硫酸化されていないことが明らかになった(図2)。これらの結果から、中皮細胞上に発現している糖鎖構造は、core 2 branch 上に発現する 6-硫酸化シアリル *N*-アセチルラクトサミンと推定できた(図3)。

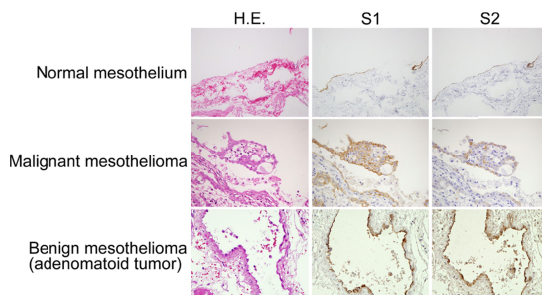


図2. 正常中皮細胞・悪性中皮腫・adenomatoid tumorでの糖鎖プロファイルの比較

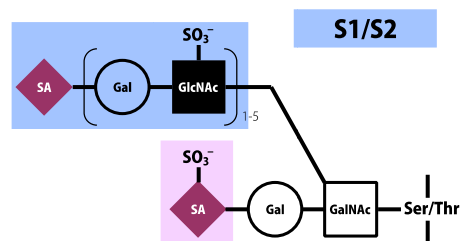


図3. 中皮細胞上に発現すると推定される糖鎖構造



5．主な発表論文等  
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計0件)  
現在さらなる追加実験を進めており、論文投稿の準備をすすめている。

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕  
特になし

6．研究組織

(1)研究代表者

酒井 康弘(SAKAI, Yasuhiro)

福井大学・学術研究院医学系部門・特命助教

研究者番号：20754394