

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 10 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10705

研究課題名(和文) 膵癌の浸潤・転移に関する糖鎖の同定と新規治療薬の開発

研究課題名(英文) Identification of glycosylation related to invasion and metastasis of pancreatic cancer and development of new therapeutic agent

研究代表者

平下 禎二郎 (HIRASHITA, TEIJIRO)

大分大学・医学部・病院特任助教

研究者番号：10527758

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：膵癌におけるフコシル化とそれを制御するフコース転移酵素(FUT)の発現と癌化の関係を解明し、FUT抑制による新規治療薬の開発が目的である。膵癌にフコシル化が与える影響の検討では、フコシル化関連レクチンは正常膵管部より癌部で高発現であった。さらに癌部はFUT8が高発現で、FUT8発現はリンパ節転移や無再発生存との関連を認めた。次に膵癌細胞株PK1とPK8でFUT8発現を抑制すると、浸潤能が低下した。ヌードマウスの膵癌細胞株の腹膜播種モデルではFUT8発現を抑制したPK-1は、腹膜播種の大きさや数が抑制された。以上よりFUT8が膵癌における浸潤や転移に関わる因子であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵癌におけるフコシル化とそれを制御するFUTの発現と癌化の関係を検討し、FUT8の発現はリンパ節転移や無再発生存と関連し、膵癌細胞株で浸潤や転移に関わる因子である可能性が示唆された。膵癌は未だ予後不良の疾患で、早期発見や新規治療薬が必要である。今後のさらなる研究は必要であるが、FUTが膵癌の進展に関わる可能性が示されたため、この因子は早期診断のためのマーカーとしての使用や効果的な治療標的分子となりうると考えられる。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to identify glycan alterations and their relationship with the malignant potential of PDAC. Using a lectin microarray, we evaluated glycan expression in PDAC samples. Expression of fucosyltransferase 8 (FUT8) was investigated by immunohistochemistry. The role of FUT8 in PDAC invasion and metastasis was confirmed using an in vitro assay and a xenograft peritoneal metastasis mouse model. The microarray data demonstrated that core fucose-binding lectins were higher in carcinoma than in normal pancreatic duct tissues. Similarly, FUT8 protein expression was higher in carcinoma than in normal pancreatic duct tissues. High FUT8 protein expression was associated with lymph-node metastases and relapse-free survival. FUT8 knockdown reduced the invasion in PDAC cell lines and impaired peritoneal metastasis in the xenograft model. This study provide evidence that FUT8 plays a pivotal role in PDAC invasion and metastasis and might be a therapeutic target for this disease.

研究分野：癌

キーワード：膵癌 レクチン フコシル化 FUT

## 1. 研究開始当初の背景

膵癌には外科治療、化学療法、放射線治療を組み合わせた集学的治療が行われているが、既知の治療法では他の癌と比較して予後はきわめて不良であり、新規薬剤の開発が期待されている。糖鎖は細胞表面に発現し、癌化に伴う構造変化が増殖、浸潤・転移に関与している。フコシル化は癌の糖鎖構造変化の1つであり、フコース転移酵素 (Fucosyltransferase, FUT) により制御されており、これまでに糖鎖構造を認識するレクチンマイクロアレイによる分析で、膵管内乳頭粘液性腫瘍の発癌にはフコシル化が関与していることを報告した (Surg Today 2016)。膵癌 (浸潤性膵管癌) においてもこのフコシル化が癌化に関与していることが考えられるため、今回の研究を行った。

## 2. 研究の目的

膵癌組織における糖鎖の発現プロファイリングを行い、フコシル化とそれを制御する FUT の発現を検討し、膵癌と FUT の関係の解明を行う。さらに膵癌細胞株やヌードマウスを用いて FUT を抑制することによる癌化および癌の進行の抑制効果を検討するとともに、膵癌に対する新規治療薬を開発することが本研究の目的である。

## 3. 研究の方法

膵癌組織におけるフコシル化および FUT の発現と臨床病理学的因子の関係の検討

(1) 切除した浸潤性膵管癌の組織を用いる。ホルマリン固定された切除標本より Laser microdissection 法で膵癌組織を採取し、レクチンマイクロアレイを用いた網羅的解析による通常型膵癌の糖鎖発現のプロファイリングを行う。

(2) 通常型膵癌の免疫組織化学法による FUT の発現を検討する。

膵癌細胞株における FUT の発現とその意義の検討

(1) 膵癌細胞株 4 種 (Panc1, MIAPaca2, PK1, PK8) における I - (1) で同定した通常型膵癌と関連のある FUT についての発現を qPCR で検討する。

(2) -(1) において FUT が高発現であった膵癌細胞株において、その FUT の Knock down を行う。

siRNA による FUT の Knock down を行う。

FUT を Knock down した膵癌細胞株において増殖能、浸潤能、接着能をコントロール群と比較検討する。

III: 膵癌の浸潤や転移と FUT の関係

(1) 腹膜播種モデルによる FUT 抑制による腫瘍の増殖、浸潤抑制効果の検討

ヌードマウスと -(2) で使用した膵癌細胞株を用いて腹膜播種モデルを作成し、コントロール群および Knock down 群における腫瘍の形態や進展様式、腫瘍サイズについて比較検討を行う。

## 4. 研究成果

膵癌の癌化にフコシル化が与える影響 (膵癌切除標本を用いた検討)

(1) 癌部と正常膵管部のフコシル化に関連するレクチン発現の比較: Laser microdissection 法で採取した膵癌組織において、レクチンマイクロアレイを用いた網羅的解析では膵癌部は正常膵管部よりフコシル化関連レクチンである AOL, AAL が高発現であった。

(2) 膵癌の癌化に関与する FUT の同定と臨床病理学的因子との関係: 癌部は正常膵管部よりフコース転移酵素 8 (FUT8) が高発現であった。また、FUT8 の発現はリンパ節転移の有無に関わっていた。FUT8 高発現群は全生存率には差を認めなかったが、無再発生存率は有意に不良であった。

膵癌の浸潤や転移と FUT の関係

(1) 膵癌細胞株 4 種のうち、PK1, PK8 で FUT8 が高発現であった。

(2) ヒト膵癌細胞株における FUT の増殖能、細胞浸潤能、接着能に与える影響の検討では FUT8 が高発現している PK1 および PK8 を用いて FUT8 の発現を抑制したところ、増殖能に差はなく、浸潤能が有意に低下した。

III: 膵癌の浸潤や転移と FUT の関係

(1) ニードマウスと膵癌細胞株を用いた腹膜播種モデルにおける FUT 抑制による腫瘍の増殖、浸潤抑制効果の検討では、FUT8 の発現を抑制した膵癌細胞株 PK-1 はコントロールと比

較し、腹膜播種の大きさや数が有意に抑制された。

これらの結果より、FUT8が浸潤性膵管癌の進行に関わっていることが示された。本研究期間内に治療薬の開発までは至っていないが、FUT 8 が治療標的となりうる結果であり、今後治療薬としての研究を進めていく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

|  |                             |
|--|-----------------------------|
| 1. 著者名<br>Tada K, Ohta M, Hidano S, Watanabe K, Hirashita T, Oshima Y, Fujnaga A, Nakanuma H, Masuda T, Endo Y, Takeuchi Y, Iwashita Y, Kobayashi T, Inomata M | 4. 巻<br>Epub ahead of print |
| 2. 論文標題<br>Fucosyltransferase 8 plays a crucial role in the invasion and metastasis of pancreatic ductal adenocarcinoma  | 5. 発行年<br>2020年             |
| 3. 雑誌名<br>Surg Today   | 6. 最初と最後の頁<br>-             |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1007/s00595-019-01953-z  | 査読の有無<br>有                  |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-                   |

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

|                                       |
|---------------------------------------|
| 1. 発表者名<br>多田和裕                       |
| 2. 発表標題<br>膵癌におけるFUT8発現を制御する新しい治療法の確立 |
| 3. 学会等名<br>第53回制癌剤適応研究会               |
| 4. 発表年<br>2020年                       |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

|       | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                         | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)                     | 備考 |
|-------|---|---|----|
| 研究分担者 | 猪股 雅史<br><br>(Inomata Masafumi)<br><br>(60315330) | 大分大学・医学部・教授<br><br><br><br>(17501)        |    |
| 研究分担者 | 太田 正之<br><br>(Ohta Masayuki)<br><br>(80271104)    | 大分大学・国際教育研究推進機構・教授<br><br><br><br>(17501) |    |
| 研究分担者 | 岩下 幸雄<br><br>(Iwashita Yukio)<br><br>(60534203)   | 大分大学・医学部・講師<br><br><br><br>(17501)        |    |

## 6. 研究組織（つづき）

|                   | 氏名<br>(研究者番号)                                   | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)               | 備考 |
|-------------------|---|-------------------------------------|----|
| 研究<br>分<br>担<br>者 | 上田 貴威<br><br>(Ueda Yoshitake)<br><br>(30625257) | 大分大学・医学部・准教授<br><br><br><br>(17501) |    |
| 研究<br>分<br>担<br>者 | 多田 和裕<br><br>(Tada Kazuhiro)<br><br>(50792503)  | 大分大学・医学部・医員<br><br><br><br>(17501)  |    |