

令和 5 年 5 月 12 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2022

課題番号：18K07240

研究課題名（和文）悪性リンパ腫における糖鎖とイムノグロブリンシグナル伝達との関連

研究課題名（英文）Glycosylation and immunoglobulin signaling in malignant lymphoma

研究代表者

鈴木 理（Suzuki, Osamu）

福島県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：00325953

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,500,000円

研究成果の概要（和文）：B cell lymphoma細胞株HBL-2のgalectinへの接着には、IgM上のN型糖鎖の変化あるいはシアル化が関与し、PI3K、Cdc42、CD45などのシグナル伝達が作用していた。一方、Burkittリンパ腫細胞株HBL-8 3G3cloneを用いた実験では、フッ素化シアル酸を投与することにより、sialyltransferaseを阻害して、細胞表面のシアル酸を除くと、galectinへの接着が亢進することも明らかとなった。イムノグロブリンとの関連は不明であるが、細胞表面のシアル酸を除くと接着が変化することは、リンパ腫の転移を抑えるという治療法を考える上で重要な知見であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒト悪性リンパ腫における糖鎖の研究はきわめてすくなく、不明な点が多い。今回の成果は、世界的にも新しい知見であると考えられる。今後とも、悪性リンパ腫における糖鎖の研究を継続していくことは、大変貴重であると考えられた。

研究成果の概要（英文）：In adhesion assay using B cell lymphoma cell line, cell adhesion to galectins was enhanced by anti-IgM antibody in HBL-2 cells suggesting glycosylation of IgM may be associated with cell adhesion to galectins.

In adhesion assay using Burkitt lymphoma cell line, cell adhesion to galectins was enhanced by alteration of cell surface sialylation with sialic acid analogue.

These results suggested that cell surface sialic acids may be a target for therapy of human malignant lymphoma.

研究分野：病理学

キーワード：糖鎖 悪性リンパ腫

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ヒト悪性リンパ腫においては、N 糖鎖やシアル酸が、患者予後に関連することが分かっているが、その生物学的機能は不明な点が多い。

我々の教室では、びまん性大細胞型 B リンパ腫において、N 型糖鎖である、L-PHA レクチンに反応する N 型糖鎖のシアル化、あるいは消失が予後不良に関連することを以前に報告している。糖鎖のシアル化は、細胞接着や転移に関連することが言われているが、ヒト悪性リンパ腫での N 型糖鎖やシアル酸の役割はほとんど明らかになっていない。

2. 研究の目的

悪性リンパ腫細胞株、びまん性大細胞型 B リンパ腫 HBL-2, Burkitt リンパ腫細胞株 HBL-8 を用いて、細胞外マトリックスである galectin への細胞接着が N 型糖鎖の改変やシアル酸の改変にて、どのように変化するかについて検討することを目的とする。また、イムノグロブリン上の N 型糖鎖の機能について明らかにすることを目的とする。N 型糖鎖の改変により、IgM へのシグナルに影響する、CD45 protein tyrosine phosphatase の活性についても検討した。

3. 研究の方法

悪性リンパ腫細胞株 HBL-2 を用いて、galectin への細胞接着アッセイにおいて、抗 IgM 抗体を用いて、IgM シグナルがどのように接着を変化させるかを解析した。

Burkitt リンパ腫細胞株 HBL-8 を用いて、細胞外マトリックスである galectin への細胞接着がフッ素化シアル酸アナログにて、シアル酸転移酵素を阻害することにより、どのように変化するかを検討した。

糖鎖の改変においては、シアル酸の除去には、neuraminidase 処理をおこなった。N 型糖鎖の改変には、N 型糖鎖の合成阻害剤である、swainsonine, tunicamycin を用いた。イムノグロブリン、IgM 上の N 型糖鎖の変化は、tunicamycin 処理後に、western blot により解析した。同時に、IgM のシグナルに影響する、CD45 の糖鎖の変化についても、western blot にて解析した。また、tunicamycin 処理後の CD45 phosphatase の活性の測定もおこなった。

4. 研究成果

実験での仮説では、B cell lymphoma におけるイムノグロブリン上の N 型糖鎖がイムノグロブリンのシグナルにどのように関連するかを明らかにすることが目的であったが、びまん性大細胞型 B リンパ腫細胞株 HBL-2 を用いた予備実験での現象は、再現性が得られず、実験内容はやや変更して行われている。イムノグロブリンシグナルを、特に細胞外マトリックスに存在する galectin への細胞接着の観点から解析することとした。

HBL-2 を用いた細胞接着においては、galectin への接着がシアル酸を介していることが分かった。また、この接着に於いては、抗 IgM 抗体投与により接着が増強することから、IgM 上の糖鎖の変化である可能性が示唆された。その接着には、PI3K あるいは Rho family 蛋白である Cdc42 が関連していることが明らかとなった。さらに、tunicamycin 処理にて、N 型糖鎖を合成不全にすると接着が消失することから、N 型糖鎖が接着に必要であることが示唆された。Tunicamycin 処理では、IgM の分子量の低下がウエスタンブロットにおいてみられ、IgM 分子上の N 型糖鎖が変化したことによって、接着が変化したことが推測された。同様に、CD45 のバンドが消失しており、CD45 分子上の N 型糖鎖も変化しており、かつ、phosphatase 活性が低下しており、CD45 protein tyrosine phosphatase の活性も減弱していることが接着に影響していることが推測された。

以上から、HBL-2 の galectin への接着には、細胞表面の IgM 上の N 型糖鎖の変化あるいはシアル化が関与し、PI3K, Cdc42, CD45 などのシグナル伝達が作用していることが推測された。

一方、Burkitt リンパ腫細胞株 HBL-8 3G3clone を用いた実験では、フッ素化シアル酸を投与することにより、sialyltransferase を阻害して、細胞表面のシアル酸を除くと、galectin への接着が亢進す

ることも明らかとなった。イムノグロブリンとの関連は不明であるが、細胞表面のシアル酸を除くと接着が変化することは、リンパ腫の転移を抑えるという治療法を考える上で重要な知見であった。

これらの結果は、

Advances in Cancer Biology-Metastasis 2021. <https://doi.org/10.1016/j.adcanc.2021.100016> に報告することができた。

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 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 0 Suzuki	4. 巻 100016
2. 論文標題 Regulation of cell adhesion to galectins by glycosylation : a new concept in lymphoma cell adhesion.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Advances in Cancer Biology-Metastasis	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.adcanc.2021.100016.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鈴木 理
2. 発表標題 びまん性大細胞型Bリンパ腫におけるN型糖鎖構造改変とgalectin、MBP、DC-SIGNおよびDC-SIGNRとの相互作用について
3. 学会等名 第110回日本病理学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木 理 橋本優子
2. 発表標題 Bリンパ腫における糖鎖によるgalectinへの細胞接着調節：IgMシグナルとの関連
3. 学会等名 第109回 日本病理学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木 理 橋本優子
2. 発表標題 B細胞リンパ腫におけるgalectinへの細胞接着：galectin receptorであるB cell receptorとCD45の糖鎖との関連
3. 学会等名 第60回日本リンパ網内系学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木 理 橋本優子
2. 発表標題 B細胞リンパ腫における糖鎖によるgalectinへの細胞接着制御：IgMシグナルとの関連
3. 学会等名 第109回 日本病理学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木 理 橋本 優子
2. 発表標題 びまん性大細胞型Bリンパ腫における糖鎖のシアル化によるgalectinへの細胞接着調節とIgMとの関連
3. 学会等名 第108回 日本病理学会総会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関