

自己評価報告書

平成 23 年 3 月 20 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2008~2011

課題番号：20390205

研究課題名(和文) 糖鎖表出を指標とした肝癌治療戦略

研究課題名(英文) Treatment of hepatocellular carcinoma by the modulation of alpha-1-6 fucosyltransferase (FUT8) gene expression

研究代表者

青柳 豊 (AOYGI YUTAKA)

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：00142266

研究分野：消化器肝臓病学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：(1) フコース転移酵素 (2) 肝細胞癌 (3) フコシル化 AFP
(4) FUT8 (5) 糖鎖

1. 研究計画の概要

α 1-6 フコース転移酵素 (FUT8) は、肝癌の生物学的悪性度の指標とされるフコシル化 AFP 産生に関与しているが、その機序の分子機構は解明されていない。肝癌細胞を用いて RNAi の手法により FUT8 遺伝子発現を抑制し基礎的検討を行なうことを目的とする。

2. 研究の進捗状況

肝癌細胞株に Transient に FUT8 siRNA を 48 時間導入し FUT8 mRNA 発現量をリアルタイム PCR で確認したところ、Control siRNA 導入細胞株と比較し、KYN2 細胞株で最大 5.9 ± 0.9% に FUT8 mRNA 発現が抑制された。しかし、FUT8 蛋白機能評価として、LeeChip™ Ver1.0 を用いた細胞質の糖鎖プロファイリング解析を行った結果、細胞内フコシル化蛋白の低下は確認できなかった。siRNA による明瞭な FUT8 遺伝子発現抑制を認めたが、それに伴う蛋白レベルの発現低下や実際の FUT8 酵素活性低下による遺伝子発現・関連蛋白の解析には更なる遺伝子発現の抑制が必要であると考えられる。

3. 現在までの達成度

③ やや遅れている。

当初の計画どおりには進行していない。理由は蛋白レベルの発現や FUT8 酵素活性の確認が困難なためである。蛋白の検出には市販の抗体を 3 種類使用したが、ウエスタンブロットでは明瞭な蛋白発現が確認できなかった。mRNA 発現量は豊富であるが、蛋白質レベルの発現が低いためと考えられる。一方、酵素活性については、その供与基質の入手が困難なことから、液体クロマトグラフィーの条件検討に時間がかかったことが進捗状況を遅らせている理由に上げられる。

4. 今後の研究の推進方策

今後、FUT8 の Cre-loxP 系を用いたコンディショナルノックアウトマウスの肝発癌実験を行い、FUT8 発現抑制による遺伝子発現および生物学的悪性度の変化を検討し、肝癌悪性度を規定する責任遺伝子群を同定する予定である。現在、FUT8 遺伝子に Lox 配列をもつ C57BL/6N-FUT8^{lox(neo)/lox(neo)}マウスを作製済みであり、B6.Cg-Tg (Alb-cre)マウスと交配中である。

5. 代表的な研究成果
(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 12 件)

1. Aoyagi Y, Tamura Y, Suda T, EDITORIAL, History and recent progress in evaluation of the fucosylated alpha-fetoprotein fraction, *J Gastroenterol Hepatol*, 2011 in press.
2. Aoyagi T, Takahashi M, Higuchi M, Oie M, Tanaka Y, Kiyono T, Aoyagi Y, Fujii M. The PDZ domain binding motif (PBM) of human T-cell leukemia virus type 1 Tax can be substituted by heterologous PBMs from viral oncoproteins during T-cell transformation. *Virus Genes*. 2010 Apr;40(2):193-9.
3. Tamura Y, Igarashi M, Kawai H, Suda T, Satomura S, Aoyagi Y. Clinical Advantage of Highly Sensitive On-Chip Immunoassay for Fucosylated Fraction of Alpha-Fetoprotein in Patients with Hepatocellular Carcinoma. *Dig Dis Sci*. 2010 Dec;55(12):3576-83. Epub 2010 Apr 21.
4. Michitaka K, Nishiguchi S, Aoyagi Y, Hiasa Y, Tokumoto Y, Onji M; The Japan Etiology of Liver Cirrhosis Study Group. Etiology of liver cirrhosis in Japan: a nationwide survey. *J Gastroenterol*. 2010;45(1):86-94. Epub 2009 Sep 30.
5. Tamura Y, Igarashi M, Suda T, Wakai T, Shirai Y, Umemura T, Tanaka T, Kakizaki S, Takagi H, Hiasa Y, Onji M, Aoyagi Y. Fucosylated fraction of alpha-fetoprotein as a predictor of prognosis in patients with hepatocellular carcinoma after curative treatment. *Dig Dis Sci*. 2010 ;55(7): 2095-101.
6. Yano M, Ikeda M, Abe KI, Kawai Y, Kuroki M, Mori K, Dansako H, Ariumi Y, Ohkoshi S, Aoyagi Y, Kato N. Oxidative stress induces anti-hepatitis C virus status via the activation of extracellular signal-regulated kinase. *Hepatology*. 2009 Sep;50(3):678-88.
7. Shoji T, Higuchi M, Kondo R, Takahashi M, Oie M, Tanaka Y, Aoyagi Y, Fujii M. Identification of a novel motif responsible

for the distinctive transforming activity of human T-cell leukemia virus (HTLV) type 1 Tax1 protein from HTLV-2 Tax2. *Retrovirology* 2009, 6:83doi: 10.1186/1742-4690-6-83

8. Tamura Y, Yamagiwa S, Aoki Y, Kurita S, Suda T, Ohkoshi S, Nomoto M, Aoyagi Y. Serum alpha-fetoprotein levels during and after interferon therapy and the development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci*. 2009 Nov; 54(11):2530-7.
9. Yoshikawa S, Zen Y, Fujii T, Sato Y, Ohta T, Aoyagi Y, Nakanuma Y Characterization of CD133+ parenchymal cells in the liver: histology and culture. *World J Gastroenterol*. 2009 Oct 21;15(39):4896-906.
10. Isogawa M, Higuchi M, Takahashi M, Oie M, Mori N, Tanaka Y, Aoyagi Y, Fujii M. Rearranged NF-kappa B2 gene in an adult T-cell leukemia cell line. *Cancer Sci*. 2008 Apr;99(4):792-8.
11. Tsuchiya A, Heike T, Baba S, Fujino H, Umeda K, Matsuda Y, Nomoto M, Ichida T, Aoyagi Y, Nakahata T. Sca-1+ endothelial cells (SPECs) reside in the portal area of the liver and contribute to rapid recovery from acute liver disease. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008 ,(365)595-601
12. Yamazaki K, Suzuki K, Ohkoshi S, Yano M, Kurita S, Aoki Y, Toba K, Takamura M, Yamagiwa S, Matsuda Y, Aoyagi Y. Temporal treatment with interferon-b prevents hepatocellular carcinoma in hepatitis B virus-X gene transgenic mice. *J Hepatol*. 2007,(48)255-265.

[学会発表] (計 5 件)

[図書] (計 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

なし