

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年4月25日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22501029

研究課題名（和文） 肺癌におけるフコシル化糖鎖合成系の異常とバイオマーカー開発に関する研究

研究課題名（英文） Alteration of fucosylation and biomarker development in lung cancer

## 研究代表者

秋田 弘俊（AKITA HIROTOSHI）

北海道大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：70222528

## 研究成果の概要（和文）：

$\alpha$ 1-6 fucosyltransferase ( $\alpha$ 1-6 FucT)の高発現は、非小細胞肺癌において、腺癌で扁平上皮癌よりも高頻度に認められた。腺癌においては pN 因子の進行と正の相関がみられる。 $\alpha$ 1-6 FucTの高発現は完全切除された腺癌、病理病期 I 期の腺癌において予後不良と関係している。これらの結果から、 $\alpha$ 1-6 FucT とそのコアフコシル化産物は非小細胞肺癌、とくに腺癌のバイオマーカーである可能性があるし、また治療標的である可能性がある。

## 研究成果の概要（英文）：

High  $\alpha$ 1-6 fucosyltransferase ( $\alpha$ 1-6 FucT) expression is more frequently found in adenocarcinomas than squamous cell carcinomas, and is correlated with advanced pN status in adenocarcinomas. High  $\alpha$ 1,6-FucT expression is associated with an unfavorable clinical outcome in potentially curatively resected and pStage I adenocarcinomas. These findings suggest that  $\alpha$ 1,6-FucT and its core-fucosylated products could be promising biomarkers and therapeutic targets for NSCLCs, especially for adenocarcinomas.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：腫瘍学・腫瘍診断学

キーワード：バイオマーカー、肺癌、糖鎖、糖転移酵素 $\alpha$ 1-6 fucosyltransferase

## 1. 研究開始当初の背景

癌細胞表面の EGF 受容体や TGF $\beta$ 受容体のアスパラギン結合型糖鎖の $\alpha$ 1-6 フコース付加は、それぞれの受容体型チロシン

キナーゼ活性に深く関わっていることが近年、明らかにされている。本申請研究において、 $\alpha$ 1-6 フコース付加に関与する一連の酵素タンパク質の発現、及び、その結果つ

くられるアスパラギン結合型糖鎖の $\alpha$ 1-6  
フコース修飾を解析することによって、肺  
癌における糖転移酵素発現や糖鎖修飾、糖  
鎖機能の分子生物学意義を明らかにすると  
ともに、疾患や病態との関係を明らかにし、  
肺癌のバイオマーカー開発の可能性を探索  
する。さらに、治療標的分子の探索につな  
がるのが期待される。

## 2. 研究の目的

糖転移酵素  $\alpha$ 1-6 fucosyltransferase  
( $\alpha$ 1-6 FucT)、さらにはこの酵素のドナー基  
質となるGDP-L-フコースの供給の鍵になる  
酵素GDP-mannose 4, 6-dehydratase (GMD)に  
着目して、非小細胞肺癌における発現異常を  
免疫組織化学法で解析し、臨床病理学的因子、  
患者の生存期間・予後等との関係を解析して、  
非小細胞肺癌における糖鎖修飾関連酵素の  
発現異常の意義を明らかにした。臨床的・臨  
床病理学的情報、細胞増殖能 (Ki-67陽性率)  
や各種分子マーカー発現異常に関する解析  
データが揃った非小細胞肺癌手術摘出腫瘍  
129腫瘍を材料として、 $\alpha$ 1-6 FucTおよびGMD  
に対する特異抗体を用いて解析を行った。特  
異抗体は、谷口直之教授 (大阪大学産業科学  
研究所疾患糖鎖学) と三善英知教授 (大阪大  
学大学院医学研究科糖鎖診療学教室) が作製  
したものを用いた。肺癌組織での解析と同時  
に、同一手術摘出材料内の正常肺・気管支組  
織における発現や随伴する非腫瘍性疾患肺  
における発現を検討した。

$\alpha$ 1-6 FucTの触媒作用によって実際に、  
 $\alpha$ 1-6 フコースがアスパラギン結合型糖鎖に  
転移・付加されているか否かをレクチン組織  
染色法、レクチンプロット法で解析し、糖鎖  
科学的に裏付けた。

## 3. 研究の方法

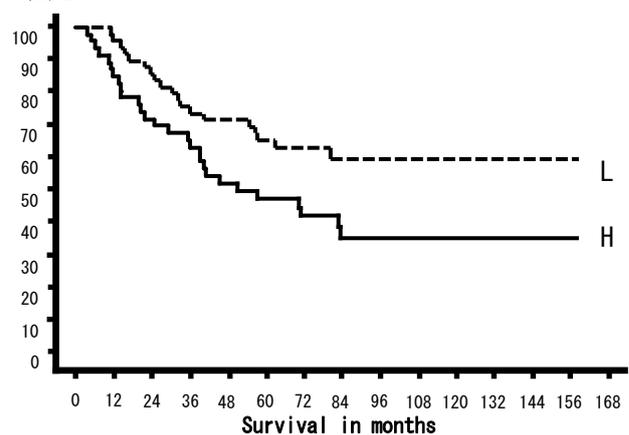
臨床的・臨床病理学的情報ならびに各種分  
子マーカー発現異常に関する解析データが  
揃った非小細胞肺癌手術摘出腫瘍 156 腫瘍を  
材料として、糖転移酵素 $\alpha$ 1-6  
fucosyltransferase ( $\alpha$ 1-6 FucT)、さらには  
この酵素のドナー基質となる GDP-L-フコ  
ースの供給の鍵になる酵素 GDP-mannose 4,  
6-dehydratase (GMD)の発現について、特異  
抗体を用いて免疫組織化学法 (Streptavidin  
biotin 法) で解析した。さらに、 $\alpha$ 1,6-フコ  
ースがアスパラギン結合型糖鎖に転移・付加  
されているか否かを、 $\alpha$ 1,6-フコース特異的  
な PhoS レクチン組織染色で解析した。

上記結果と、臨床的・臨床病理学的情報 (組  
織型、分化度、TNM 分類、術後生存期間、予  
後など)、細胞増殖能 (Ki-67 陽性率) や各種  
分子マーカー発現異常 (p53、RB、サイクリ  
ンE、p27 など)、糖転移酵素 (GalNAc-T3 及  
び GnT-V) 発現との関係を統計学的に解析し  
た。

## 4. 研究成果

非小細胞肺癌手術摘出腫瘍 156 腫瘍のうち  
内因性陽性コントロールの気管支上皮細胞  
の染色が陽性の 129 腫瘍について $\alpha$ 1-6 FucT  
発現と種々の因子の関係を統計学的に解析  
した。 $\alpha$ 1-6 FucT の高発現は 67 腫瘍、低発  
現は 62 腫瘍に認めた。 $\alpha$ 1-6 FucT の高発現  
は性別 (女性)、喫煙 (非喫煙)、組織型 (非  
扁平上皮癌) と有意な関係を示し、多変量解  
析の結果、組織型と有意な関係を示した (扁  
平上皮癌に比し非扁平上皮癌で高発現)。完  
全切除された症例において、 $\alpha$ 1-6 FucT の高  
発現腫瘍患者群は低発現腫瘍患者群に比し、  
術後生存期間が有意に短かった (図 1)。さ  
らに、完全切除された症例 (図 2)、完全切  
除された腺癌症例 (図 3)、および病理病期  
I 期の腺癌症例 (図 4) において、高発現腫  
瘍患者群は低発現腫瘍患者群に比し、術後生  
存期間が有意に短かく、術後再発のバイオ  
マーカーになることが示唆された。

図 1 .

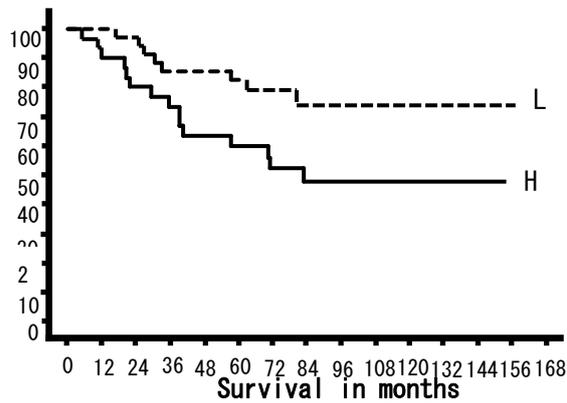


L: Low  $\alpha$ 1,6-FT, n = 49, 5-yr survival 66%

H: High  $\alpha$ 1,6-FT, n = 46, 5-yr survival 48%

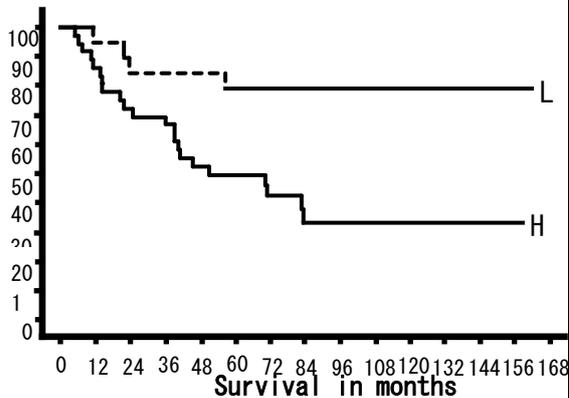
p = 0.03

図 2.



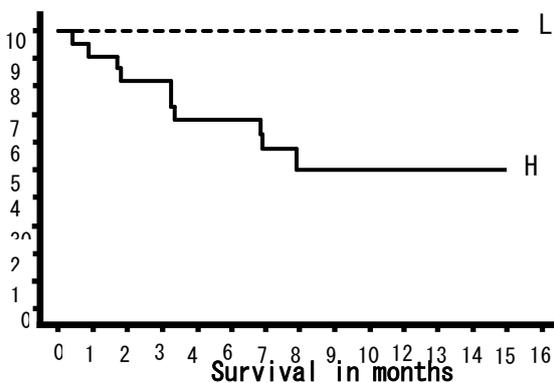
L: Low  $\alpha 1,6$ -FT, n = 35, 5-yr survival 83%  
 H: High  $\alpha 1,6$ -FT, n = 30, 5-yr survival 60%  
 p = 0.03

図 3.



L: Low  $\alpha 1,6$ -FT, n = 19, 5-yr survival 79%  
 H: High  $\alpha 1,6$ -FT, n = 36, 5-yr survival 49%  
 p = 0.009

図 4.



L: Low  $\alpha 1,6$ -FT, n = 15, 5-yr survival 100%  
 H: High  $\alpha 1,6$ -FT, n = 22, 5-yr survival 68%

GMD 発現は性別 (女性)、喫煙 (非喫煙)、組織型 (非扁平上皮癌) と有意な関係を示し、多変量解析の結果、組織型と有意な関係を示した (扁平上皮癌に比し非扁平上皮癌で高発現)。しかし、術後生存期間とは有意な関係を示さなかった。

$\alpha 1-6$  FucT および GMD の発現は細胞増殖能 (Ki-67 陽性率) や各種分子マーカー発現異常 (p53、RB、サイクリン E、p27 など) と明らか関係を示さなかった。

PhoS レクチン組織染色では、 $\alpha 1-6$  FucT/GMD 高発現腫瘍は低発現腫瘍に比し、PhoS レクチン組織染色が高発現・中等度発現となる頻度が高く (表 1)、 $\alpha 1-6$  フコースが生成されていることが示された。

表 1.

$\alpha 1,6$ -FT/GMD	PhoS staining			p
	Low	Moderate	High	
Low/Low	6	1	2	0.02
High/High	0	2	6	

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)

[学会発表] (計 4 件)

- ① Honma R, Dosaka-Akita H, Kinoshita I, et al. Prognostic significance of  $\alpha$ 1,6 fucosyltransferase ( $\alpha$ 1,6 FT) in non-small cell lung cancers (NSCLCs). 2013 Annual Meeting of American Society of Clinical Oncology (ASCO). 2013年6月1日(採択済み). McCormick Place (シカゴ、米国).
- ② Honma R, Dosaka-Akita H, Kinoshita I, et al. Decreased expression of GMD and GDP-fucose transporter is associated with squamous histology in NSCLCs. 第70回日本癌学会学術総会. 2011年10月3日. 名古屋国際会議場.
- ③ Honma R, Dosaka-Akita H, Kinoshita I, et al. GDP-mannose-4,6-dehydratase (GMD) and GDP-fucose transporter in non-small cell lung cancers (NSCLCs) : their decreased expression in squamous cell carcinomas by immunohistochemistry. 14<sup>th</sup> World Conference on Lung Cancer of International Association for the Study of Lung Cancer. 2011年7月5日. Amsterdam RAI (アムステルダム、オランダ)
- ④ Honma R, Dosaka-Akita H, Kinoshita I, et al. Decreased expression of GMD in non-small cell lung cancers (NSCLCs). 102nd Annual Meeting of American Association of Cancer Research (AACR). 2011年4月5日. Orange County Convention Center (オーランド、米国)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

秋田 弘俊 (AKITA HIROTOSHI)  
北海道大学・大学院医学研究科・教授  
研究者番号：70222528

(2) 連携研究者

木下 一郎 (KINOSHITA ICHIRO)  
北海道大学・大学院医学研究科・准教授