

令和元年6月13日現在

機関番号：13601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15640

研究課題名(和文) alphaGlcNAcの諸臓器における腫瘍の悪性度マーカーとしての有効性の検討

研究課題名(英文) Significance of alphaGlcNAc expression status in human tumors

研究代表者

山ノ井 一裕 (Yamanoi, Kazuhiro)

信州大学・先鋭領域融合研究群バイオメディカル研究所・助教(特定雇用)

研究者番号：80464965

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,600,000円

研究成果の概要(和文)：正常ヒト幽門腺は、コア蛋白のMUC6の側鎖に 1,4-linked N-acetylglucosamine(GlcNAc)による糖鎖修飾を伴う腺粘液を産生する。本研究では、胃、膵、子宮頸部の腫瘍性病変における GlcNAc発現を免疫組織化学的に検討した。その結果、がん病変だけでなく、前がん病変である、幽門腺型腺腫、膵管内上皮新生物(PanIN)、膵管内乳頭状粘液性腫瘍(IPMN)、分葉状頸管腺過形成(LEGH)でも、異型度の増加と共に、GlcNAcの発現が減弱していた。これは、腫瘍発生の早期から GlcNAcによる糖鎖修飾が減弱することを示しており、早期がん診断の一助になると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、幽門腺型粘液に特異的な糖鎖修飾である 1,4-linked N-acetylglucosamine(GlcNAc)の消失が、胃や膵臓、子宮頸部の腫瘍において、浸潤がんだけでなく、その前がん状態から起きていることが明らかになった。

近年のがん診断、治療デバイスの進歩によって、腫瘍の早期病変の病理診断が非常に重要になっている。本研究成果にて、胃、膵臓、子宮頸部の病理標本で GlcNAcの発現を確認すれば、腫瘍の早期診断に役立つことが示された。また、糖鎖修飾の変化と腫瘍の悪性度の関連を示した本成果により、糖鎖の変化を基盤とした、新たながん悪性化の機序が明らかにされる可能性が考えられる。

研究成果の概要(英文)：Gastric pyloric glands characteristically contain O-glycans having 1,4-linked N-acetylglucosamine residue (GlcNAc) largely attached to MUC6 scaffold. In normal human gastric mucosa, GlcNAc and MUC6 are co-expressed in pyloric gland cells. We examined GlcNAc and MUC6 expression in human gastric, pancreas and uterine cervical tumors. We showed that reduced GlcNAc expression relative to MUC6 was observed not only in invasive carcinoma lesions but also in their pre-malignant lesions, such as high-grade pyloric gland adenoma, high-grade intraepithelial neoplasia, high-grade intraductal papillary-mucinous neoplasm and atypical lobular endocervical gland hyperplasia. These results indicate that reduced GlcNAc expression has already started in pre-malignant status in these organs. Thus, GlcNAc could serve as a critical biomarker for malignant potential in early stage of gastric, pancreas and uterine cervical neoplasms.

研究分野：人体病理学

キーワード：幽門腺 粘液 糖鎖 がん 病理診断 GlcNAc MUC6 HIK1083

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

研究代表者らのグループでは、これまで、胃癌の発生機序の解明のため、胃の固有分泌腺の役割について検討を重ねてきた。その中で、胃の幽門側の粘膜深部を構成する幽門腺細胞にて特異的に分泌される、幽門腺型粘液の役割に注目してきた。幽門腺型粘液は、ムチンコア蛋白である MUC6 を主鎖とし、 α 1,4-*N*-アセチルグルコサミン(α GlcNAc)の修飾を側鎖に伴う糖タンパクからなる。

研究代表者らは発現クローニング法により α GlcNAc の生合成に関わる糖転移酵素である α 1,4-*N*-アセチルグルコサミン転移酵素(α 4GnT)の cDNA を単離し(Nakayama et al, Proc Natl Acad Sci USA 96, 8991-8996, 1999)、そして α GlcNAc がピロリ菌の増殖や運動能を抑制し、ピロリ菌感染から胃粘膜を防御していることを明らかにした(Kawakubo et al, Science 305,1003-1006, 2004)。さらに、 α 4GnT をコードする A4gnt 遺伝子を欠損した A4gnt ノックアウトマウスを作成し、このマウスの胃粘膜と十二指腸粘膜では α GlcNAc が完全に消失すると共に、ピロリ菌感染がなくても胃幽門部に、過形成-異形成を経て分化型腺癌が発症することを示した。また、ヒトの分化型胃癌において検討したところ、MUC6 陽性のがん細胞において α GlcNAc の発現が消失していることを発見し報告した。(Shiratsu et al., Cancer Science 105,126-133, 2014)。

また、研究代表者は、ヒトの胃の前がん病変として知られる幽門腺型腺腫においても、 α GlcNAc の発現消失がその悪性化と関連して認められることを報告し、ヒトの胃癌においても α GlcNAc の発現消失は腫瘍発生の早期から引き起こされていることを明らかにした(Yamanoi et. al.,Histopathology 67, 898-904, 2015)。

2. 研究の目的

胃以外の臓器においても、幽門腺型粘液を産生する腫瘍は多数知られているが、これらの腫瘍における、 α GlcNAc の発現消失と腫瘍の悪性度の関係については知られていない。そこで、研究代表者は、各臓器の幽門腺型粘液の産生を伴う腫瘍において、 α GlcNAc の発現消失と腫瘍の悪性度の相関を検討し、新たながんの悪性度診断や治療法の開発につなげたいと考えた。

3. 研究の方法

膵臓、子宮頸部の外科切除検体の病理標本を用いて、MUC5AC, MUC6 などの粘液コアタンパクおよび α GlcNAc の免疫染色を行い、それぞれの症例の臨床病理学的特徴と免疫染色の結果の相関を検討した。また、同一症例内で形態学的に確認された多段階発癌過程と、免疫染色の染色性的変化についてもあわせて検討を行い、腫瘍の悪性化と α GlcNAc の発現の変化の関係についても調べた。

4. 研究成果

本研究の結果、膵臓では、膵管内上皮新生物 (PanIN) を介した発癌経路 (PanIN-IDAC sequence)、膵管内乳頭状粘液性腫瘍 (IPMN) を介した発癌経路 (IPMN-IPMNAIC sequence)のいずれにおいても、浸潤がんだけでなく、その前がん病変から、異型度が増して high-grade になると共に GlcNAc の発現が减弱していた(図 1)。

また、子宮頸部においても、分葉状頸管腺過形成 (LEGH) から胃型腺癌 (GAS) に至る発癌過程における α GlcNAc の発現の変化を検討した。その結果、GAS だけではなく、その前がん病変である LEGH において、細胞の異型度が増した atypical LEGH になると GlcNAc の発現が减弱していくことが明らかになった(図 2)。

これらの結果は、胃以外の臓器においても、幽門腺型粘液の産生を伴う腫瘍では、その発生の早期から α GlcNAc による糖鎖修飾が减弱すること

図 1: 膵癌の発癌過程における α GlcNAc 発現の変化

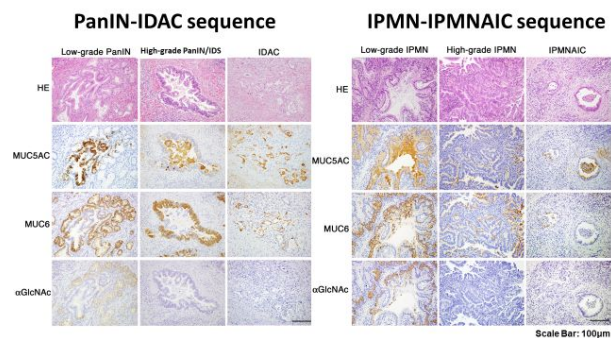


図 3

Decreased α GlcNAc glycosylation on MUC6 has already begun at the pre-cancerous stage in uterine cervix.

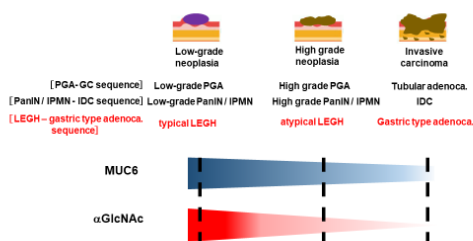
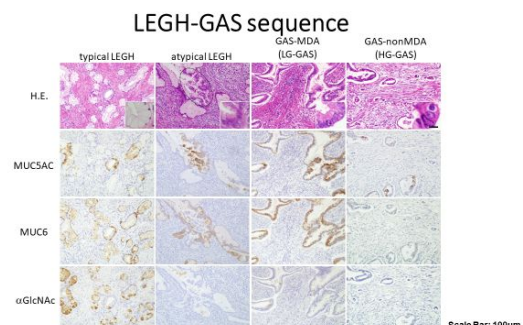


図 2: 子宮頸部胃型腺癌の発癌過程における α GlcNAc 発現の変化



を示している(図 3)。この現象を病理診断の際に免疫染色にて確認できれば、早期がん診断の一助になると考えられる。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

Kazuhiro Yamanoi, Keiko Ishii, Michihiko Tsukamoto, Shiho Asaka, Jun Nakayama, Gastric gland mucin-specific O-glycan expression decreases as tumor cells progress from lobular endocervical gland hyperplasia to cervical mucinous carcinoma, gastric type, VIRCHOWS ARCHIV, 査読有, vol.473, 2018, pp.305-311

DOI: 10.1007/s00428-018-2381-6.

Kazuhiro Yamanoi, Jun Nakayama, Reduced alpha GlcNAc glycosylation on gastric gland mucin is a biomarker of malignant potential for gastric cancer, Barrett's adenocarcinoma, and pancreatic cancer (Review), HISTOCHEMISTRY AND CELL BIOLOGY, 査読有, vol.149, 2018, pp.569-575

DOI: 10.1007/s00418-018-1667-8.

Ayumu Ohya*, Kazuhiro Yamanoi*, Hisashi Shimojo, Chifumi Fujii, Jun Nakayama (*equal contribution), Gastric gland mucin-specific O-glycan expression decreases with tumor progression from precursor lesions to pancreatic cancer, CANCER SCIENCE, 査読有, vol.108, 2017, pp.1897-1902

DOI: 10.1111/cas.13317.

〔学会発表〕(計 6 件)

井田 耕一、山ノ井 一裕、浅香 志穂、竹内 穂高、宮本 強、塩沢 丹里、中山 淳、 α GlcNAc と α 4GnT は子宮頸部胃型腫瘍の有用な予後マーカーとなる、第 77 回日本癌学会学術総会、2018 年

山ノ井 一裕、浅香 志穂、石井 恵子、中山 淳、胃腺粘液産生子宮頸部腫瘍における α GlcNAc の発現の意義、第 107 回日本病理学会総会、2018 年

福島 万奈、川久保 雅友、山田 重徳、山ノ井 一裕、中山 淳、早期分化型胃癌における癌抑制分子、TFF1 と α GlcNAc の関与、第 107 回日本病理学会総会、2018 年

山ノ井 一裕、大彌 歩、藤井 千文、中山 淳、膵臓の発癌過程における α GlcNAc 発現低下とその意義、第 76 回日本癌学会学術総会、2017 年

服部 守恭、藤井 真一、山ノ井 一裕、福島 万奈、中山 淳、分葉状頸管腺過形成 (LEGH) の一例、第 56 回日本臨床細胞学会秋季大会、2017 年

山ノ井 一裕、大彌 歩、下條 久志、中山 淳、胃・膵臓の幽門腺型粘液産生腫瘍における α GlcNAc 発現低下とその意義、第 106 回日本病理学会、2017 年

6 . 研究組織

(1)研究分担者 なし

(2)研究協力者 9 名

研究協力者氏名：中山 淳

ローマ字氏名：Jun Nakayama

研究協力者氏名：藤井 千文

ローマ字氏名：Chifumi Fujii

研究協力者氏名：大彌 歩

ローマ字氏名：Ayumu Ohya

研究協力者氏名：井田 耕一

ローマ字氏名：Koichi Ida

研究協力者氏名：石井 恵子

ローマ字氏名：Keiko Ishii

研究協力者氏名：浅香 志穂

ローマ字氏名：Shiho Asaka

研究協力者氏名：下條 久志

ローマ字氏名：Hisashi Shimojo

研究協力者氏名：宮本 強
ローマ字氏名：Tsutomu Miyamoto

研究協力者氏名：塩沢 丹里
ローマ字氏名：Tanri Shiozawa

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。