

令和 4 年 10 月 18 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16764

研究課題名(和文)新規標的蛋白LAMP-2による絨毛癌転移機構の解明

研究課題名(英文) Investigation about LAMP-2 which could be a noble therapeutic target against choriocarcinoma

研究代表者

西野 公博(Nishino, Kimihiro)

名古屋大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：80801448

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、絨毛癌の治癒率向上のため、絨毛癌の接着、浸潤、転移機構において絨毛癌細胞膜に存在するLAMP-2が果たす役割を、*in vitro*及び*in vivo*での発現抑制または過剰発現モデル実験を通して明らかにし、LAMP-2を標的とした新規遠隔転移抑制治療の基礎を確立することを目的として行われた。本研究を通して、絨毛癌細胞株、及び、実際の絨毛癌組織の細胞膜にLAMP-2が発現していること、絨毛癌の細胞膜に発現しているLAMP-2が、その豊富な糖鎖を介して、コラーゲン、フィブロネクチンといった細胞外マトリックスへの接着を促進し、絨毛癌の浸潤・転移に促進的に作用しているのが確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、絨毛癌細胞株、及び、実際の絨毛癌組織の細胞膜におけるLAMP-2の発現プロファイルが明らかとなった。また、絨毛癌の細胞膜に発現しているLAMP-2が、その豊富な糖鎖を介して、コラーゲン、フィブロネクチンといった細胞外マトリックスへの接着を促進し、絨毛癌の接着、浸潤、転移に促進的に作用しているのが明らかとなり、LAMP-2が新規の絨毛癌遠隔転移抑制治療の標的となることが示され、LAMP-2を標的とした創薬基盤の基礎を確立することができた。以上の研究成果は、国際学術誌に掲載され、学術的、社会的意義は大きく、難治性絨毛癌の治療成績向上に貢献しうると考えられる。

研究成果の概要(英文)：This study was performed to investigate the function of LAMP-2 in choriocarcinoma adhesion, invasion and metastasis in order to establish the basis of new therapeutic methods targeting LAMP-2 and improve the prognosis of choriocarcinoma. LAMP-2 was observed in the cell surface membrane of some choriocarcinoma cell lines and tumor cells of choriocarcinoma tissue. Cell surface membrane LAMP-2 knockout decreased cell adhesion and invasion in choriocarcinoma cells. Conversely, cell surface membrane LAMP-2A overexpression increased cell adhesion and invasion. Experiments in the presence of galectins revealed that abundant N-glycans bound to the peptide core of the luminal side of the cell surface membrane LAMP-2 mediated cell adhesion of choriocarcinoma cells by interacting with galectins in the extracellular matrix (ECM). Cell surface membrane LAMP-2 contributes to the malignancy of choriocarcinoma by promoting cell adhesion with the ECM via abundant N-glycans.

研究分野：産婦人科

キーワード：絨毛癌 化学療法抵抗性 遠隔転移 細胞接着 LAMP-2

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

絨毛癌の約 85%は化学療法が奏功するが、約 15%は化学療法に抵抗性の難治性絨毛癌となり、多発転移後に死亡するため、既存の化学療法とは異なる、遠隔転移に着目した絨毛癌の新規治療法の開発が必要である。これまで我々は、ライソソーム膜の構成蛋白である lysosome-associated membrane glycoprotein 2 (LAMP-2) が、絨毛癌細胞膜に存在することを明らかにしたが、癌細胞の接着、浸潤、転移といった、腫瘍生物学的意義は不明であった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、絨毛癌の治癒率向上のため、絨毛癌の接着、浸潤、転移機構において絨毛癌細胞膜に存在する LAMP-2 が果たす役割を、in vitro 及び in vivo での発現抑制または過剰発現モデル実験を通して明らかにし、LAMP-2 を標的とした新規遠隔転移抑制治療の基礎を確立することである。

3. 研究の方法

(1) 絨毛癌細胞膜における LAMP-2 の発現についての検討。

絨毛癌細胞株を用いた局在確認実験、及び、実際の絨毛癌組織標本を用いた免疫組織化学を行った。

(2) 絨毛癌の接着、浸潤、転移機構における細胞膜 LAMP-2 の果たす役割の解明。

絨毛癌細胞株 Jar を用いた発現抑制、及び、過剰発現モデル実験を行った。具体的には、細胞増殖能、細胞外マトリックスへの接着能、細胞遊走能、浸潤能の変化、また、ヌードマウスへの皮下注射による皮下腫瘍形成率の変化を検討した。

4. 研究成果

(1) 絨毛癌細胞膜における LAMP-2 の発現についての検討。

絨毛癌細胞膜に普遍的に LAMP-2 が発現していることを確認した。具体的には、抗 LAMP-2 抗体を用いたフローサイトメトリー実験により、すべての絨毛癌細胞株の細胞膜に LAMP-2 が発現していることを確認した。また、抗 LAMP-2 抗体を用いた細胞免疫染色実験により、LAMP-2 が細胞膜に発現している事を確認した。さらに、抗 LAMP-2 抗体を用いた免疫組織化学により、LAMP-2 が実際の絨毛癌組織において、絨毛癌細胞膜に発現していることを確認した。

(2) 絨毛癌の接着、浸潤、転移機構における細胞膜 LAMP-2 の果たす役割の解明

第一段階として、絨毛癌細胞株 Jar を用いた発現抑制モデル実験を行った。LAMP-2 ノックアウト細胞株を CRISPR/Cas9 システムを用いて作成した。細胞増殖能は LAMP-2 をノックアウトしても変化しないことを確認した。一方で、コラーゲン、フィブロネクチンといった細胞外マトリックスへの接着能が低下することを確認した。また、遊走能は変化しなかったものの、浸潤能は低下し、ヌードマウスにおける皮下腫瘍形成率が低下した。

第二段階として、絨毛癌細胞株 Jar を用いた過剰発現モデル実験を行った。LAMP-2 過剰発現細胞株をウイルスベクターを用いて作成した。細胞増殖能は LAMP-2 を過剰発現させても変化しないことを確認した。一方で、コラーゲン、フィブロネクチンといった細胞外マトリックスへの接着能が増加した。また、遊走能は変化しなかったものの、浸潤能は増加し、ヌードマウスにおける皮下腫瘍形成率が増加するという、発現抑制モデルとは正反対の結果を示した。

以上の結果は、絨毛癌細胞膜に発現している LAMP-2 が、その豊富な糖鎖を介して、絨毛癌細胞の細胞外マトリックスへの接着を促進し、絨毛癌細胞の浸潤、転移に促進的に作用していることを示すものと考えられた。

その結果、LAMP-2 が新規の絨毛癌遠隔転移抑制治療の標的となることが示され、LAMP-2 を標的とした創薬基盤の基礎を確立することができた。以上の研究成果は、国際学術誌に掲載され、学術的、社会的意義は大きく、難治性絨毛癌の治療成績向上に貢献しうると考えられる。

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 1件）

1. 著者名 Nishino Kimihiro, Nishiko Yuki, Shibata Mayu, Oda Yukari, Watanabe Eri, Niimi Kaoru, Yamamoto Eiko, Kajiyama Hiroaki	4. 巻 117
2. 論文標題 Cell surface membrane lysosome-associated membrane glycoprotein 2 promotes cell adhesion via abundant N-glycans in choriocarcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Placenta	6. 最初と最後の頁 109 ~ 117
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.placenta.2021.11.005	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------