

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：16301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24792228

研究課題名(和文)細胞表面の糖タンパク質を標的とした口腔癌治療の開発

研究課題名(英文)The development of novel treatment for oral cancer targeted on glycoprotein of cell surface

研究代表者

石川 詔子(Ishikawa, Akiko)

愛媛大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：90444760

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：口腔扁平上皮癌培養細胞株・臨床検体の両者において、細胞表面に発現する α -dystroglycan (α -DG) の糖鎖修飾に構造変化が生じていることが明らかになった。また、この構造変化には糖転移酵素である LARGE が関与している可能性が示唆された。他臓器悪性腫瘍で報告されている糖修飾酵素 (MGAT3, MGAT5, NEU1, NEU3, Fut8) のうち、NEU3 mRNA は正常粘膜に比べて口腔癌組織での発現量が有意に高かった。口腔癌の進展過程において、特定の糖鎖構造とこれを修飾する酵素が重要な役割を果たしていると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In both the oral squamous cell carcinoma cell lines and clinical specimens, it was identified that the structure in the glycosylation of α -dystroglycan (α -DG) on the cell surface changed. It was suggested that the LARGE might be an influential glycosyltransferase which involved in this structural change. Among the glycoside modifying enzymes that have been reported in other malignant tumors (MGAT3, MGAT5, NEU1, NEU3, Fut8), the expression level of NEU3 mRNA in oral cancer tissues was significantly higher than in normal mucosa tissues. Some specific glycoconjugates and enzymes for glycoside modification are considered to play an essential role in the process of oral cancer development.

研究分野：口腔癌

キーワード：口腔癌 α -dystroglycan LARGE sialidase

1. 研究開始当初の背景

口腔癌の転移・浸潤に関する研究は数多く行われてきているが、その制御は困難であり、5年生存率の改善には至っていない。DNAマイクロアレイなどの技術が進歩したことによって、癌組織に特異的な遺伝子発現の解析は行われているが、糖鎖で修飾されている糖タンパク質の構造や機能に着目した研究は未だ少ない。

研究代表者は、過去に乳腺上皮細胞におけるジストログリカン(DG)の機能に関する研究を行った。DGは細胞表面に存在する糖タンパク質であり、細胞膜外の -DG と膜貫通型タンパク質である -DG の2つのサブユニットからなる。 -DG の発現量は正常細胞と悪性乳腺腫瘍細胞の間で差がない一方で、ラミニン結合型の糖鎖構造を有する -DG の発現が減少していたことから、タンパク質の翻訳後修飾のひとつである糖鎖修飾が細胞の機能に深く関与しているのではないかと考えるに至った。

口腔癌に特異的な糖タンパク質の発現や、糖鎖修飾に関与する因子を検索することで、治療や診断に応用できるのではないかと考える。

2. 研究の目的

口腔癌に特異的な糖タンパク質の発現や、糖鎖修飾に関与する因子を検索することで、新たな治療や診断への応用を検索する。

3. 研究の方法

口腔扁平上皮癌組織と前癌病変である白板症組織を用いて免疫組織学染色を行い、DGの発現と局在を確認した。

口腔扁平上皮癌組織と正常歯肉とにおける DAG1 mRNA 発現を real-time quantitative RT-PCR 法で検索した。また、ウェスタンブロット法で -DG、ラミ

ニン結合型 -DG、 -DG それぞれのタンパク質発現を検索した。

口腔癌扁平上皮癌培養細胞株における DAG1 mRNA 発現を real-time quantitative RT-PCR 法で解析した。また、ウェスタンブロット法で -DG、ラミニン結合型 -DG、 -DG それぞれのタンパク質発現を検索した。

ラミニン結合型 -DG の発現に関与する5種類の糖転移酵素 (Protein O-mannosyl-transferase 1 (POMT1), Protein O-linked mannose beta-1 (POMTGnT1), like-glycosyltransferase (LARGE), Beta-1,4-galactosyltransferase 2 (B4GalT2), ST3 beta-galactoside alpha-2,3-sialyltransferase 3 (ST3Gal3)) について、口腔癌扁平上皮癌培養細胞株における発現を real-time quantitative RT-PCR 法で解析した。

他臓器の悪性腫瘍において発現が特異的に変化すると報告されている糖修飾酵素 (MGAT3, MGAT5, NEU1, NEU3, Fut8) について、口腔扁平上皮癌組織と正常口腔粘膜組織を用いて mRNA 発現を解析した。

4. 研究成果

ラミニン結合型 -DG、 -DG とともに、白板症組織においては基底膜上の細胞で細胞膜に明瞭に発現していたが、一方で口腔癌組織では細胞質内にびまん性に拡散した局在を示した。また、粘膜下層へ浸潤している腫瘍細胞では、ラミニン結合型 -DG の発現が低下していた。

DAG1 mRNA はすべての口腔扁平上皮癌組織と正常歯肉に同程度に発現していた。タンパク質発現については、 -DG はすべての口腔

扁平上皮癌組織と正常歯肉で同程度に発現していたが、ラミニン結合型 -DG は口腔癌組織で有意に低下もしくは欠失していた。

口腔癌扁平上皮癌培養細胞株である HSC3、HSC4、SAS の全てにおいて DAG1 mRNA は発現していた。タンパク質発現については、全ての培養細胞株で -DG は発現していたが、ラミニン結合型 -DG タンパク質は低下もしくは欠失していた。

5 種類の糖転移酵素のうち、like-glycosyltransferase (LARGE) は実験に用いた口腔癌培養細胞株すべてにおいて有意な発現低下が認められ、ラミニン結合型 -DG の糖鎖修飾に関与している可能性が示唆された。

検討した糖修飾酵素のうち、NEU3 mRNA は正常組織に比べて口腔癌組織での発現が有意に高かった。このことから、口腔癌の浸潤・転移の過程で重要な役割を果たしている可能性が考えられた。

口腔癌組織においては、乳癌等での報告と同様に、-DG の糖修飾異常が生じており、ラミニン結合能力を欠失して腫瘍浸潤・転移に関与している可能性が考えられた。糖修飾異常に関与している糖転移酵素としては、LARGE が有力であると思われた。

特定の酵素が口腔癌特異的な糖タンパク質発現に関与しているのではないかと推測し、いくらかの糖修飾酵素について解析を加えたところ、NEU3 は口腔癌組織で有意に高発現していた。口腔癌における NEU3 の機能は明らかになっておらず、今後の研究課題と考えている。

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)

[雑誌論文](計 0 件)

[学会発表](計 1 件)

口腔扁平上皮癌における dystroglycan の発現解析

八塚恵輔、大西詔子、中城公一、浜川裕之

第 71 回日本癌学会学術総会，ロイトン札幌・さっぽろ文芸館・札幌市教育文化会館（北海道札幌市）

2012 年 9 月 19 日

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

取得年月日：

国内外の別：

[その他]

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究代表者

石川 詔子 (Ishikawa, Akiko)

愛媛大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：90444760

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし