

学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	腫瘍制御科学領域 泌尿器腫瘍学教育研究分野 4 年 氏名 岡本 哲平
(論文題目) Core 2 <i>O</i> -glycan-expressing prostate cancer cells are resistant to NK cell immunity (Core2 <i>O</i> -glycan を発現している前立腺癌細胞は NK 細胞の免疫に対し抵抗性をもつ)	
(内容の要旨：和文で 2,000 字程度) 【背景と目的】 細胞表面に発現する糖タンパク質は糖転移酵素により伸長し、発癌や癌の浸潤、転移の過程で大きな役割している。 糖転移酵素である Core 2 β -1,6- <i>N</i> -acetylglucosaminyltransferase (C2GnT) は、タンパク質のセリンとスレオニン残基に結合した <i>O</i> 型糖鎖に Core2 構造を付加する酵素である。これにより Core2 <i>O</i> -glycan が形成される。Core2 構造が形成されると、Core2 構造の分枝にラクトサミン二糖類が付加され、poly- <i>N</i> -acetylactosamine 構造が伸長していく。我々は以前に Core2 <i>O</i> -glycan が発現した膀胱癌細胞は NK 細胞の免疫を回避することにより、転移しやすい性質を獲得している可能性について報告した。また、前立腺癌細胞における C2GnT の発現も悪性度と強く関連することが示唆されている。 今回、Core2 <i>O</i> -glycan を発現する前立腺癌細胞の細胞表面の糖タンパク質の構造の差を比較し、さらに NK 細胞への抵抗性について検討した。 【方法】 悪性度が高く、転移のある前立腺癌患者に由来する C2GnT を高発現している前立腺癌細胞株(PC3)と C2GnT を Si RNA にて knock down した前立腺癌細胞株(PC3C2KD)を用いて以下の実験を施行した。 ① 細胞表面に多く分布する糖蛋白質である MUC1 や他の糖蛋白質の構造を Western blotting 法にて調べ、構造の差を検討した。 ② poly- <i>N</i> -acetylactosamine 構造 が MUC1 に由来するかを確かめるために、前立腺癌細胞の <i>N</i> 型糖鎖を tunicamycin で分解処理した後に、 <i>N</i> -acetylactosamine に特異的に結合する LEL を用いて免疫沈降し、抗 MUC1 抗体で Western blotting 法を施行した。 ③ NK 細胞と前立腺癌細胞を共培養し、cytotoxicity assay で前立腺癌細胞の傷害の差を検討し、NK 細胞と前立腺癌細胞の結合率の差を調べた。また、共培養した上清を抽出し、NK 細胞から分泌され標的細胞のアポトーシスを誘導する Granzyme B の活性の差を比較した。さらに、NK 細胞膜上にあり標的細胞の受容体に作用することでアポトーシスを引き起こす TNF- α -related apoptosis inducing ligand (TRAIL) と前立腺癌細胞とを反応させる TRAIL sensitivity で TRAIL に対する感受性の差を検討した。 【結果】 ① PC3 の MUC1 の分子量は PC3C2KD と比べて明らかに高いことが示された。一方で <i>O</i> 型糖鎖を持たない糖蛋白質である LAMP1 では大きな差は認められなかった。 ② PC3 の LEL 免疫沈降物からの MUC1 の量は PC3C2KD のものよりも多いこと	

が示された。

- ③ Cytotoxicity assay、TRAIL sensitivity では PC3 の方が傷害率、感受性が低いことが示された。また、NK 細胞と前立腺癌細胞の結合率や Granzyme B の活性も PC3 で低いことが示された。

【結論】

C2GnT 高発現の前立腺癌細胞は細胞膜表面多く分布する糖タンパク質である MUC1 の O 型糖鎖に Core2 O-glycan を形成し、N-acetyllactosamine が多く修飾されていることが明らかになった。

Core2 O-glycan を発現した前立腺癌細胞は、発現していない細胞よりも NK 細胞に対する抵抗性が高かった。これは、MUC1 上の巨大な塊となった poly-N-acetyllactosamine により、癌細胞表面の粘着性が低下したことで、NK 細胞との結合率が低くなり、NK 細胞との直接の結合が弱められたことに起因すると考えられた。この結果として、NK 細胞と癌細胞の相互作用が弱まり、NK 細胞受容体を介した Granzyme B の分泌や TRAIL を介した細胞障害が低下し、高い抵抗性を示したことが考えられた。

これらのことから、Core2 O-glycan を発現している前立腺癌細胞は、血中での NK 細胞の攻撃を回避して高転移性を獲得し、高悪性度に寄与していることが推測された。

※1 乙の場合、〇〇領域〇〇教育研究分野にかえて、所属の〇〇講座を記入すること。

※2 論文題目が英文の場合は () 内に和訳を付記すること。