

CD82/KAI1による癌転移抑制機構の解析 : シリアル ルイス A, X 生合成抑制による転移抑制

吉濱, 直哉

<https://hdl.handle.net/2324/1441160>

出版情報 : 九州大学, 2013, 博士 (歯学), 課程博士
バージョン :
権利関係 : やむを得ない事由により本文ファイル非公開 (3)



区 分	Ⓐ 乙
-----	-----

論文題目

CD82/KAI1 による癌転移抑制機構の解析ーシアリルルイス A, X 生合成抑制による転移抑制ー

氏 名 吉 濱 直 哉

論文内容の要旨

癌細胞の転移メカニズムは、癌細胞の原発巣からの離脱に始まり、脈管への侵入、脈管内皮への接着、遠隔臓器における転移巣の形成に続く複雑な多段階ステップよりなる。脈管内に侵入した癌細胞が血管外に溢出し遠隔転移巣を形成するためには、癌細胞表面に存在する糖鎖リガンドと血管内皮細胞表面に存在する接着分子であるセレクチンとの結合が必須となる。これらの糖鎖リガンドにはシアリルルイス抗原（シアリルルイス A, X）が含まれており、このシアリルルイス抗原の発現が転移、癌の進行、不良な予後と相関することが多数の臨床研究で報告されているが、癌細胞での分子制御機構はほとんど解明されていない。

テトラスパニン・スーパーファミリーに属する癌転移抑制因子 CD82/KAI1 (CD82) は、増殖因子受容体やインテグリン等の細胞接着因子と複合体を形成して、その機能を制御することが知られており、CD82 の発現が種々の癌において浸潤転移を制御し、癌患者においてその発現が良好な予後とよく相関することが報告されている。当分野では、E-cadherin 依存性の同種細胞間接着における CD82 の機能について解析し、CD82 が E-cadherin/ β -catenin 複合体を細胞膜上に安定化させ、細胞間接着を強固なものにし、原発巣からの離脱を抑制することを明らかにした。しかし、シアリルルイス抗原を介する癌細胞の血管内皮への接着に及ぼす CD82 の影響は明らかにされていない。

そこで、本研究では CD82 が癌細胞と血管内皮の接着に与える影響に着目し、CD82 によるシアリルルイス抗原の生合成の変化とマウスの実験的肺転移モデルにおける転移抑制効果について、CD82 低発現ヒト非小細胞性肺癌細胞株 h1299 に遺伝子導入して樹立した CD82 低発現コントロール細胞株、CD82 強制発現細胞株、この強制発現細胞株に対する short hairpin RNA (shRNA)ベクター導入による CD82 ノックダウンコントロール細胞株、CD82 ノックダウン細胞株を用いて検討した。

マウスの尾静脈より h1299 細胞を接種した実験的肺転移モデルにおいて、CD82 強制発現により約 70%の転移抑制効果を認めた。さらに、癌細胞と血管内皮細胞との接着実験において CD82 強制発現により、血管内皮細胞への接着がコントロール細胞株の約 10%まで抑制された。コントロール細胞株の血管内皮細胞への接着は、抗シアリルルイス A, X 中和抗体により抑制されたことより、CD82 がシアリルルイス抗原を介した接着を抑制すると考えられた。そこで、CD82 がシアリルルイス抗原の生合成に及ぼす影響についてウエスタンブロット法で検討したところ、CD82 強制発現によりシアリルルイス A, X の生合成は蛋白レベルで抑制されていた。以上より、CD82 の強制発現によ

りシアリルルイス A, X の生合成が抑制され、血管内皮細胞との接着が抑制されることが示唆された。マイクロアレイを用いて、シアリルルイス抗原の合成に関与する糖転移酵素遺伝子を抽出し解析を行った結果、CD82 強制発現によりシアリルルイス抗原生合成酵素の一つである ST3 β -galactoside α -2,3-sialyltransferase 4 (ST3GAL4) の遺伝子発現の著明な抑制が認められた。そこで、親株 h1299 に対する shRNA ベクター導入による ST3GAL4 ノックダウン細胞株、ST3GAL4 ノックダウンコントロール細胞株を樹立し検討を行った。ST3GAL4 ノックダウンにより、シアリルルイス X の生合成がコントロール細胞株の約 30%まで抑制された。また癌細胞と血管内皮細胞との接着実験において、ST3GAL4 ノックダウンにより、血管内皮細胞への接着がコントロール細胞株の約 50%まで抑制された。

これらの結果から、CD82 はシアリルルイス抗原の生合成を阻害、その結果血管内皮細胞への癌細胞接着を抑制し、転移抑制効果を示すと考えられた。また、CD82 によるシアリルルイス X の生合成抑制には ST3GAL4 の発現抑制が重要な役割を果たすことが示唆された。