

Title	Deficiency of GMDS Leads to Escape from NK Cell-Mediated Tumor Surveillance Through Modulation of TRAIL Signaling
Author(s)	森脇, 健太
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54233
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について〈/a〉をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【76】

氏名	もり わき けん た 森 脇 健 太
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 2 3 6 4 5 号
学位授与年月日	平成 22 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学位論文名	Deficiency of GMDS Leads to Escape from NK Cell-Mediated Tumor Surveillance Through Modulation of TRAIL Signaling (大腸癌細胞はフコシル化欠失によりTRAIL誘導性アポトーシスを介した腫瘍免疫を回避する)
論文審査委員	(主査) 教 授 林 紀夫 (副査) 教 授 森 正樹 教 授 辻本 賀英

論文内容の要旨

〔 目 的 〕

糖鎖は翻訳後修飾を担う分子の中でもとりわけ重要な生体高分子であり、生体内のすべての細胞に存在する。個体の発生・分化の段階でみられる糖鎖構造の劇的な変化はその生理的重要性をうかがわせるが、それだけでなく、癌・神経疾患・糖尿病などの数多くの疾患において異常な糖鎖が出現することから、各種疾患の病因・病態と糖鎖との深い関係が示唆されてきた。フコースは糖鎖を構成する単糖の一種であり、フコースを付加するフコシル化と呼ばれる反応は癌化に伴い変化し、癌における糖鎖構造の変化の中で最も重要なものの一つである。フコシル化には糖転移反

応のドナー基質となるGDP-フコースが必要であるが、これまでの研究から、フコシル化レベルの調節にはフコース転移酵素よりもGDP-フコースが重要であることが明らかとなってきた。本研究では、大腸癌細胞株HCT116がGDP-フコースの合成に必須の酵素であるGDP-mannose-4, 6-dehydratase (GMDS)の遺伝子変異(エキソン5-7の欠損)によりフコシル化を欠失していることを見出し、このフコシル化欠失の大腸癌細胞における生物学的意義を検討した。また、このようなGMDSの遺伝子変異が実際のヒト癌組織中でもみられるかについても検討を行った。

〔 方法ならびに成績 〕

HCT116細胞に野生型GMDSを遺伝子導入するとフコシル化が回復したことから、この細胞はGMDS遺伝子単独の異常によりフコシル化を欠失していることが分かった。これらフコシル化欠失細胞と野生型GMDS導入細胞の*in vitro*における増殖速度には違いが見られなかったが、ヌードマウスに移植したところフコシル化欠失細胞は非常に大きな腫瘍を形成し、また著しい転移が確認されたのに対し、野生型GMDS導入細胞ではそのような腫瘍形成能、転移能が著しく抑制されていた。しかしながら、ヌードマウスにおいて主に腫瘍免疫に関与するナチュラルキラー (NK) 細胞を枯渇させると野生型GMDS導入細胞でも大きな腫瘍を形成するようになった。これは、フコシル化を回復させた野生型GMDS導入細胞はマウスのNK細胞により排除されやすくなっていることを示している。NK細胞は様々なメカニズムによって腫瘍細胞を排除するが、その中で重要なものにTumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)がある。TRAILはTNFファミリーに属する281アミノ酸からなる膜蛋白質である。主にNK細胞などの免疫細胞表面上に発現し、腫瘍免疫に関与している。TRAILは癌細胞表面に発現しているTRAIL受容体を介してアポトーシスを誘導するが、現在5種類のTRAIL受容体が報告されている。そこで、フコシル化欠失細胞と野生型GMDS導入細胞のTRAILに対する感受性を調べてみたところ、野生型GMDS導入細胞においてのみ著しいアポトーシスが誘導された。また、野生型GMDS導入細胞はNK細胞に対して強い感受性を示すが、それは抗TRAIL阻害抗体により抑制された。以上の結果より、大腸癌細胞株HCT116はGDP-フコース合成酵素であるGMDSの遺伝子変異によりTRAIL誘導性アポトーシスに対しての抵抗性を獲得し、NK細胞を主とする腫瘍免疫を回避することによって大きな腫瘍を形成するようになったということが明らかとなった。

次に、GMDS遺伝子の変異がHCT116細胞以外の大腸癌細胞株でもみられるかを検討したところ、10種類の大腸癌細胞株のうち2種類でGMDS遺伝子の変異を認めた。また、胃原発性絨毛癌細胞株SCHにおいてGMDSのエキソン2-4の欠損が確認された。そして、ヒト大腸癌組織100例中2例において更に新たなタイプの変異が確認され、ヒト卵巣癌組織10例中5例にRT-PCRで確認できるGMDS遺伝子のフレームシフト変異を同定した。今回明らかとなった遺伝子変異は全て、GMDSの酵素活性を不活化させるものであった。

〔 総 括 〕

正常大腸組織におけるフコシル化レベルは低く、癌化に伴い増加することは古くから知られている。フコシル化含有糖鎖構造が大腸癌の血行性転移を促進させるという報告もあり、今までフコシル化の増加は全ての大腸癌の進展を促進すると思われてきた。しかしながら、本研究は、ある種の癌細胞においてフコシル化欠失が起こると、TRAIL誘導性アポトーシスに耐性となりNK細胞による腫瘍免疫を回避することにより、更なる悪性形質を獲得する可能性を示しており、フコシル化欠失による新たな癌進展経路の存在を示唆している。

論文審査の結果の要旨

本研究は、フコシル化糖鎖を欠損しているヒト大腸癌細胞株HCT116を発見し、その原因がGDP-フコース合成酵素・GMDSの遺伝子変異であることを同定した。また、このフコシル化糖鎖の欠損により、癌細胞がナチュラルキラー（NK）細胞による細胞障害に対して抵抗性を示すようになることを明らかとした。そして、この原因がNK細胞表面上に発現する細胞死誘導因子・TRAILによって誘導されるアポトーシスに抵抗性を示すためであることも明らかとした。脱フコシル化により癌細胞は腫瘍免疫監視機構を回避し、癌の進行が促進するという本研究の発見は、今まで知られていない新たな癌進展経路を見出したといえる。さらに、実際のヒト臨床大腸癌組織、ならびにその他の臨床癌組織においてもGMDSの遺伝子変異を同定していることから、本研究成果は今後の癌の臨床検査、治療方針の決定に応用できる可能性がある。以上のことから、本論文は博士（医学）の学位授与に値する。