

論文内容要旨

しめい 氏名	のだ まさる 野田 勝
学位論文題名	糖転移酵素遺伝子発現プロファイリングによる予後不良大腸癌サブタイプの同定
<p>大腸癌の発癌・進展過程において、癌細胞表面の糖鎖構造が変化することが知られ、癌特異的な糖鎖は癌の生物学的機能に関連している。糖鎖修飾機構は多数の糖転移酵素が関連する複雑なプロセスであり、癌においても転写レベルでの糖鎖生成異常が知られる。我々は、糖転移酵素遺伝子の発現が個々の大腸癌の形質や臨床転帰と関連し、新規分子亜型やバイオマーカー確立につながると考えている。網羅的な糖転移酵素遺伝子発現により177例の大腸癌をクラスタリングし低分化・予後不良に関連する群を見出した。この群に特異的な15の糖転移酵素遺伝子を、4コホート、計764例に適用することで、右側結腸、低分化・粘液癌、DNAミスマッチ修復機能欠損（dMMR）、BRAF変異、P53野生型および予後不良を示す際立った群の存在を検証した。特にGALNT6は、11コホート、計2261例の大腸癌、および151の大腸癌細胞株の解析により、dMMR症例で発現低下していた。さらに複数コホートを用いた大腸腺腫・大腸癌の遺伝子発現解析および免疫染色により、GALNT6は、mRNA・タンパクレベルにおいて、大腸腺腫で発現亢進し、一部の大腸癌において発現低下することを見出した。GALNT6発現低下がメチル化レベルと相関し、大腸癌細胞株の脱メチル化処理により発現が回復することから、エピジェネティックな発現抑制機構が示唆された。GALNT6タンパクは、335例の大腸癌のうち約15%で発現消失を認め、この群は低分化・粘液癌、dMMR、予後不良と関連していた。多変量解析により、GALNT6発現消失は、他の臨床病理学的因子と独立して不良な癌特異的な生存、全生存と関連していることが示され、特にステージⅢ症例でその意義が顕著であった。また、5FUベースの術後補助治療施行症例において、GALNT6発現消失は不良な無再発生存と関連していた。大腸癌細胞株を用いて、siRNAによりGALNT6をノックダウンすると、細胞増殖能やアポトーシスには変化がないものの、浸潤能、遊走能、5FU抵抗性の上昇を認めた。レクチンアレイを用いた細胞表面糖鎖プロファイルの解析と、フローサイトメトリーでの検証により、GALNT6ノックダウン細胞ではTn抗原の発現が上昇することを見出した。Tn抗原は、低分化・粘液癌に発現し、予後不良と関連する短縮型の癌関連糖鎖抗原として知られる。したがって発癌早期段階において、エピジェネティックな機構により一部の群ではGALNT6発現が抑制され、Tn抗原の発現上昇や癌の進展に寄与しているものと考えられ、癌における糖鎖不全現象の概念に合致している。以上から本研究は、大腸癌の予後や治療抵抗性と関連するバイオマーカーとしてのGALNT6発現の意義を示すとともに、大腸癌の発癌・進展におけるGALNT6発現異常の重要性を示唆するものである。</p>	

学位論文審査結果報告書

平成 29 年 2 月 4 日

大学院医学研究科長 様

下記のとおり学位論文の審査を終了したので報告いたします。

【審査結果要旨】

氏 名：野田 勝 （乳腺外科学講座（旧器官制御外科学講座））

学位論文題名：Glycosyltransferase gene expression profiling identifies a molecularly distinct subtype of colorectal cancer associated with poor prognosis

糖鎖修飾は細胞機能の重要な役割を担うが、大腸癌の発癌・進展過程においても、癌細胞表面の糖鎖構造が変化することが知られている。本研究では、糖転移酵素遺伝子の発現と大腸癌の臨床病理学的特徴や臨床転帰との関連性につき研究を行った。

まず網羅的な糖転移酵素遺伝子発現により 177 例の大腸癌をクラスタリングし低分化と予後不良に関連する群を見出した。この群を特徴づける遺伝子である *GALNT6* を同定し、計 2261 例の大腸癌、および 151 の大腸癌細胞株を用いた解析から、*GALNT6* は mRNA・タンパクレベルにおいて、大腸腺腫で著明に発現亢進し、一部の大腸癌において発現低下することを見出した。さらに *GALNT6* 発現消失は、他の臨床病理学的因子と独立した予後不良因子であることが示された。大腸癌細胞株において、siRNA により *GALNT6* をノックダウンすると、細胞増殖能やアポトーシスに変化はないものの、浸潤能、遊走能の上昇を認めた。さらにレクチンマイクロアレイを用いて細胞表面の糖鎖プロファイルを解析すると、ノックダウン細胞ではレクチン HPA が認識する Tn 抗原の発現上昇を認めた。Tn 抗原は、低分化・粘液癌に高発現し、高悪性度形質、予後不良と関連する短縮型の癌関連糖鎖抗原として知られている。これらから大腸癌の発癌段階において、一部の群では *GALNT6* 発現が抑制され、Tn 抗原の発現上昇や癌の進展に寄与しているものと考えられた。

糖鎖修飾は重要な研究課題であるが、極めて多数の糖転移酵素が関連する複雑なプロセスであり解明が難しい。この中で、申請者らは糖転移酵素の発現に着目し、様々な研究手法を用いてその意義を解析した。細胞機能への作用メカニズムが未だ明確でないなど課題はあるものの、本研究で得られた多数の研究データと、本課題の今後の発展性を考えればその学術的意義は大きいと判断できる。以上から、本研究は学位授与に値するものと考えられる。

論文審査委員 主査 腫瘍内科学講座 佐治重衡

副査 細胞科学研究部門 和田郁夫

副査 病理病態診断学講座 橋本優子