

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 担癌状態におけるムチンを介した免疫能の変化の解析と応用
2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点)

研究代表者： 中田 博(京都産業大学 大学院長／工学部教授)

主たる共同研究者：

福井 成行 (京都産業大学工学部 教授)

村田 健臣 (静岡大学農学部 准教授)

川人 豊 (京都府立医科大学大学院医学研究科 講師)

3. 研究内容及び成果：

上皮性癌細胞の産生するムチンは、癌組織や血流中に分泌され、古くから腫瘍マーカーとして研究対象とされてきたが、腫瘍形成の結果ではなく、腫瘍の悪性化に関与する因子として機能している可能性が示唆されてきた。一方、免疫系細胞や血管内皮などに多くのレクチンが見出され、その生物学的機能が注目されている。とりわけ、シグレックファミリーはシアル酸を含む糖鎖を認識し、かつ、その多くが細胞質側に ITIM をもち、免疫抑制の観点から注目される。また、このような視点から研究を進める過程で、ムチン上のシアル酸や硫酸基の負電荷を認識するスカベンジャーリセプターがレクチンとは別にムチンと相互作用する分子として同定された(PNAS,100,2736,2003)。このような背景のもとでマイクロアレイを用いた糖鎖とレクチンの結合の解析(福井グループ)、ムチン様の糖鎖をもつグリコポリマーの合成(村田グループ)、炎症と糖鎖(川人グループ)でチームを構成した。スカベンジャーリセプター(SCR)を介した系では、癌患者血清による SCR を介したマクロファージの活性化、CA19-9 の血中含量と PGE2 産生の相関性などを明らかにした(Clin.Cancer Res.,11,6127,2005, Cancer Lett.,245,149,2007)。また、子宮癌組織におけるシアル Tn 抗原と COX2 発現の相関性などを明らかにした(Anticancer Res.,26,4047,2006)。マウス乳癌細胞株 TA3-Ha を用いた系においても、同細胞の産生するムチンが SCR を介して PGE2 の産生を亢進することを示すとともに、PGE2 の産生に伴う血管新生や免疫抑制が腫瘍の増殖に大きく関与していることを示した(Cancer Res.,66,6175,2006)。また、SCR を介した炎症作用の抑制という観点から、マウス関節炎に対する可溶性 SCR 組み換え体の効果を検討した。その結果、関節炎に対する抑制効果を認めた。とりわけ、関節炎において特徴的に見られる滑膜の増殖が著しく抑制されることがわかった(特願 2008-32226、川人グループとの共同研究)。

次に、シグレックファミリーとムチンの相互作用と生物学的作用について検討した。多くのシグレックのリガンドの中にシアル Tn 抗原が含まれることから、癌細胞の産生するムチンとの結合が予想された。ムチンとの結合は、可溶性組み換え体(シグレック 2,3,7,9)を作成し、プレートアッセイなどで確認した。また、結合糖鎖の確認は、糖鎖マイクロアレイによっても行った(中田、福井グループ共同研究)。さらに、シグレックとの結合特異性については、合成グリコポリマーを用いても確認した(中田、村田グループ共同研究)。生物学的作用については、まず、B細胞上に発現しているシグレック 2 について検討した。すなわち、シグレック 2 へのムチンの結合が B細胞受容体を介した情報伝達にもたらす影響について検討したところ、シグレック 2 のリン酸化の抑制、SHP-1 のリクルートの抑制とともに、ERK1/2 のリン酸化の抑制が見られた。ムチンによる B細胞表面の多数のシグレック 2 分子の架橋が、シグレック 2 および B細胞受容体のラフトへの移行を阻害することに起因するものと考えられる(BBRC,372,45,2008)。次に、マウス乳癌細胞由来細胞株(TA3-Ha)と亜株のム

チン非産生細胞株(TA3-St)の担癌マウスにおけるB細胞への影響を検討した。TA3-Haの産生するムチン(エピグリカニン)によっても同様にB細胞の情報伝達が抑制されることがわかった。蛍光標識したエピグリカニンを正常マウスに静注すると、大半のエピグリカニンは肝臓に取り込まれたが、一部は脾臓にトラップされ、脾臓のマージナルゾーンに検出された。担癌マウスの脾細胞を調製し、FACSで解析するとB細胞の減少がみられ、とりわけCD1d、CD23 高発現 B細胞、すなわちマージナルゾーン B細胞の減少が顕著であった。この結果は組織化学的観察とも一致した。また、同細胞がT細胞非依存性抗原に対して応答するB細胞であることから、担癌状態におけるマウスの同免疫応答の抑制を確認した(Biochem.J. in press)。また、担癌状態のマウスに抗ムチン抗体を静注することによってもマージナルゾーン B細胞の減少を部分的に抑制することができた(特願 2006-287359)。

樹状細胞上に発現しているシグレック 3,9 についても、ムチンとの結合と生物学的作用について検討した。単球から樹状細胞への分化過程の初期においてシグレック 3 にムチンが結合した場合、アポトーシスを誘導することを示した(Proteomics,8,3342,2008)。また、未熟樹状細胞から成熟樹状細胞に至る過程において、LPSとともにムチンが存在した場合、シグレック 9 を介して IL-12 の産生が抑制されることがわかり、細胞性免疫に影響を与えることが示唆された(manuscript in preparation)。このように、様々な免疫細胞においてムチンを介した免疫抑制作用が明らかとなった。

4. 事後評価結果

4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

上皮性癌細胞の産生するムチンは、従来より腫瘍マーカーとして知られている。しかしながらこれが腫瘍形成の結果なのか、それとも腫瘍の悪性化に関する因子なのか不明であった。代表者らはムチンによるマクロファージスカベンジャーレセプターを介する伝達系の活性化が、腫瘍の悪性化の促進に寄与することを明らかにした。特にムチンという生化学上もっとも扱いが困難な分子を対象としたにもかかわらず、その特性をとらえた研究は大いに評価できる。しかし、ムチンの腫瘍悪性作用が、上皮性癌細胞の産生するムチンやウシ顎下腺ムチンに特徴的であり、正常ムチンやブタ顎下腺ムチンなどにはみられない、といった糖鎖シグナルの実体に迫る方向への進展は、やや弱い。

論文は、研究代表者と1グループが、発表しており、他の2グループからの論文はない。全体としては質の高い論文は研究後半には、あまり発表されていない。

原著論文 6 件 招待講演 12 件 口頭発表 24 件

特許出願 国内 3 件 海外 0 件

4-2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

ムチンは従来より、腫瘍マーカーとして良く調べられているが、癌に対する生理活性は未だ緒についたばかりであり、研究代表者らの研究は世界的に評価を得ている。当初の研究計画どおり、血中ムチンが免疫細胞を抑制することが証明できたと思われる。今後は、この現象をいかにして癌診断、癌治療に応用するかの研究を進展させて欲しい。ムチンの影響は癌以外にも、アレルギー、関節リュウマチと広く免疫分野で観察されており、現象的には興味ある結果を得ている。一方、ムチンの作用機構の解明に関しての掘り下げは今後の課題である。

4-3. その他の特記事項(受賞歴など)

本チームは、研究代表者のリーダーシップも良く、異なる分野の研究者の組み合わせにより互いに補完しあった研究体制であった。

以上