

3S-Ea03 ムチンの生物学的機能の解析と医薬への展望

○中田 博
(京都産業大学・総合生命)
hnakada@cc.kyoto-su.ac.jp

くはじめに> ムチンは上皮性細胞によって産生される高分子の糖タンパク質であり、現在、20 数種の遺伝子が同定されている。Ser,Thrに富む一定のアミノ酸配列の繰り返し構造（タンデムリピート）を持つことを特徴とし、O-グリカンが多数結合している。一般的に、癌化に伴って産生量の増加と糖鎖の変化が見られる。また、癌化に伴う細胞の極性の消失は、正常とは異なるムチンの分布をもたらす。すなわち、正常細胞では、生合成されたムチンはアピカル側に輸送されるが、癌細胞では、輸送方向は限定されず、膜結合型ムチンは細胞膜全体に発現され、間質に浸潤してきた免疫細胞上のレクチンなどとの相互作用が可能になる。MUC1は普遍的に分布する膜結合型ムチンであり、細胞間やECMとの物理的バリアーとしての機能が取り上げられてきたが、近年、シグナル伝達分子として注目されている。従来の報告では、膜表面において、MUC1はEGFRやFGFR3と近傍に共局在し、増殖因子を起点としたシグナル伝達を中継する役割を担うとされている。

< MUC1を介したシグナル伝達 > 我々は、MUC1上の糖鎖にレクチンが結合した場合もシグナルが惹起され、癌細胞の増殖・進展に関与する可能性について検討した。レクチンとしてはガレクチン-3とシグレック-9を対象とした。癌組織微小環境においては、癌細胞自体も産生するガレクチン-3が細胞外に放出され、また、間質には様々なレクチンを発現する免疫細胞が浸潤し、MUC1と相互作用することが予想された。MUC1は多数のシアログリカンを発現することから、免疫細胞上のシグレックファミリーを想定し、MUC1との結合を検討したところ、シグレック-9が最も強い結合活性を示した。ヒト癌組織標本を免疫染色するとガレクチン-3とMUC1の分布は完全に一致した。また、シグレック-9陽性細胞はMUC1陽性組織中に散在し、シグレック-9とMUC1の相互作用が予想された。ヒト大腸癌細胞HCT116、マウス繊維芽細胞3T3などにヒトMUC1遺伝子を強制発現した。それらの細胞の細胞表面におけるガレクチン-3とMUC1は共局在した。また、細胞抽出液に抗ガレクチン-3抗体を加え、免疫沈降するとMUC1が共沈した。HCT116細胞において、MUC1の発現により増殖能、移動能が亢進したが、同細胞のガレクチン-3のノックダウンにより、その効果は抑制された。また、培養中に合成ポリラクトサミン（静岡大、村田博士より提供）を加えることにより増殖が抑制された。また、これらの細胞をラクトースを含む培養液で洗浄後、ガレクチン-3を加えるとMUC1のリン酸化が認められ、 β -カテニンがリクルートされた。また、ERK,AKTのリン酸化も亢進した。これらの結果は、癌組織においてガレクチン-3はMUC1を介してオ-トクライン的に癌細胞の悪性化に関与しているものと考えられる。一方、シグレック-9とMUC1との結合においても、シグナル伝達が惹起され、リクルートされた β -カテニンは核に輸送され、c-mycの発現を誘導し、細胞の増殖を促進した。免疫細胞上のシグレック-9が癌細胞上のMUC1のカウンター-リセプターとして、癌細胞の悪性化に寄与していることがわかった。

< 展望 > ムチンあるいはレクチンの生物学的作用を背景とした応用研究では、MUC1の細胞質ドメインをミミックしたペプチドが臨床応用に入っている。また、ガレクチン-3のアンタゴニストであるGCS-100はミエロ-マの治療薬に期待されている。このようにMUC1やガレクチンを標的分子とした応用が開始されており、分子の背景をもとにより有効な薬物の開発が期待される。また、ムチンは癌の血清診断の対象物質とされてきたが、より精緻な測定技術の開発が期待されている。我々は、CA125(MUC16)の糖鎖の質的差異に基づく卵巣癌と子宮内膜症の識別方法を開発している。

3S-Ea04 異種細胞を用いた医療用糖タンパク質の生産

○藤山 和仁
(阪大・生工国際セ)
fujiiyama@icb.osaka-u.ac.jp

医療用タンパク質の需要増加と組換え技術の発展により、CHO細胞に加えて多様な異種細胞が実用生産系として活用されるようになった。最近では、植物および昆虫細胞にワクチン生産が注目されている。また、カイコを宿主とした生産技術も開発され、実用化されている。

医療用タンパク質の多くは糖タンパク質で、その糖鎖部分は生物学的機能の発現に重要である。糖鎖修飾は宿主細胞により異なり、植物、昆虫（カイコを含む）で生産したタンパク質にはヒトには見られない糖残基が存在し、免疫原性が懸念される。このため、医療タンパク質を異種細胞で生産する場合、糖鎖修飾機能をエンジニアリングすることで、より生物学的機能を高め、ヒトに優しい医療タンパク質の生産が可能となる。

ここでは、ゲノムデータをもとに見出した糖鎖修飾酵素を含めてカイコにおける糖鎖修飾機能に関する基礎的知見を植物・ヒトと比較して紹介し、異種細胞における組換え医療タンパク質生産に関して議論する。

Analyses of biological functions of mucins and approach to medicine

○Hiroshi Nakada
(Fac. Life Sci., Kyoto Sangyo Univ.)

Pharmaceutical protein production using heterologous host systems

○Kazuhiro Fujiyama
(ICBiotech, Osaka Univ.)

Key words mucin, galectin-3, siglec-9, signal transduction

Key words glycosylation, heterologous production, plant, silkworm