

進行肺腺癌における糖転移酵素遺伝子発現と予後の関係
Correlation between glycosyl transferase gene expression and poorer
outcome in advanced lung adenocarcinoma

中西陽子¹、辻野一郎²、四万村三恵³、高橋典明²、増田しのぶ¹
Yoko Nakanishi¹, Ichiro Tsujino², Mie Shimamura³, Noriaki Takahashi²,
Shinobu Masuda¹

¹ 日本大学医学部病態病理学系腫瘍病理学分野、² 日本大学医学部内科学系呼吸器内科学分野、³ 日本大学医学部外科学系呼吸器外科学分野

責任著者：中西陽子 nakanishi.youko@nihon-u.ac.jp

はじめに

肺癌は、進行状態で発見されることの多い予後不良な難治性疾患である。進行肺腺癌の診療においては分子標的治療の進歩が目覚ましく、さらなる標的分子の発見を目指した大規模遺伝子解析が国内外を問わず行われている。しかしながら、標的分子を有さず、分子標的薬以外の化学療法が選択される患者も多く、その効果にも個人差があることが知られている。本研究では、薬剤耐性因子の一つとして細胞防御機構に関係すると考えられるタンパク質の翻訳後修飾の違いに着目した。今回、進行肺腺癌患者の病理組織を用いた *N* 型糖鎖修飾に関する糖転移酵素遺伝子発現解析を行って、進行肺腺癌組織における *N* 型糖鎖構造の違いと予後の関係を明らかにすることを目的とした。

材料と方法

2009 年-2011 年に日大板橋病院受診し、肺腺癌と診断された 62 例のホルマリン固定パラフィン包埋生検組織を対象とした（臨床研究承認番号 RK-110610-2）。

レーザーマイクロダイセクション (LMD) 法で回収した腫瘍細胞より AGPC (Acid-Guanidium-Phenol- Chloroform)法で total RNA を抽出し、QuantiTect Reverse Transcription Kit (QIAGEN)を用いて cDNA を合成した。これらの

cDNA を鋳型として、表 1 に示した各標的遺伝子に対する TaqMan® gene expression assay (Thermo Fisher Scientific) を用いた定量 RT-PCR を行った。各標的遺伝子の相対発現量は、内因性コントロールとして測定した glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) の値による $\Delta \Delta Ct$ 法で求めた。

結果

糖転移酵素遺伝子発現解析の結果、*MGAT4a* 遺伝子と *MGAT5* 遺伝子は各々 7/62 例 (11.3%)、3/62 例 (4.8%) で検出された。*MGAT4a* あるいは *MGAT5* 遺伝子発現の有無と臨床病理学的因子の関係は表 1 に示した通り、ECOG performance status が高値の症例 ($P < 0.05$)、および予後不良例で陽性を示した ($P < 0.05$)。年齢、性別、喫煙歴、病期、主要な遺伝子変異との間に有意な関係は認めなかった。*MGAT4a* あるいは *MGAT5* 遺伝子発現の有無と予後の関係を Kaplan-Meier 法で解析した結果、陽性症例では有意に予後不良であることが示された (図 1, $P = 0.01$)。

考察

手術適応のない進行癌の予後は薬物治療成績に依存するところが大きいため、薬剤耐性は癌治療の重要な問題として多くの研究が行われてきた¹⁾。P 糖蛋白質が、抗癌剤の細胞外排出を行う薬物輸送関連分子として癌細胞から発見されたように、細胞防御機構の点から薬剤耐性と糖鎖についても、種々の蛋白質の機能に影響を及ぼすエピジェネティックな異常として着目されてきた²⁾。肺癌患者の癌組織を用いた糖鎖構造解析では、N 型糖鎖修飾には多様性が存在する可能性が示されている³⁾。また、肺腺癌において *MGAT4a* あるいは *MGAT5* 遺伝子が高発現して癌細胞の増殖促進などに関与している可能性も報告されている³⁻⁵⁾。

今回、我々の研究では、進行期の肺腺癌においても N 型糖鎖修飾に関する糖転移酵素発現の状態は症例によって異なり、PS 不良や予後に関する可能性が示された。

文献

1. Ferreira JA, Peixoto A, Neves M, et al. Mechanisms of cisplatin resistance and targeting of cancer stem cells: Adding glycosylation to the equation. *Drug Resist Updat*. 2016;24:34-54.
2. Juliano RL, Ling V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochim Biophys Acta*. 1976;455:152-62.
3. Ruhaak LR, Taylor SL, Stroble C, et al. Differential N-Glycosylation Patterns in Lung Adenocarcinoma Tissue. *J Proteome Res*. 2015;14:4538-49.
4. Gu J, Nishikawa A, Tsuruoka N, et al. Purification and characterization of UDP-N-acetylglucosamine: alpha-6-D-mannoside beta 1-6N-acetylglucosaminyltransferase (N-acetylglucosaminyltransferase V) from a human lung cancer cell line. *J Biochem*. 1993;113:614-9.
5. Takahashi M, Kizuka Y, Ohtsubo K, Gu J, Taniguchi N. Disease-associated glycans on cell surface proteins. *Mol Aspects Med*. 2016;51:56-70.

表 1. 標的糖転移酵素遺伝子と使用した TaqMan® gene expression assay

Target	Name	Assay ID	Amplicon
MGAT3	mannosyl (beta-1,4)-glycoprotein beta-1,4-N-acetylglucosaminyl-transferase	Hs02379589_s1	101 bp
MGAT4a	mannosyl (alpha-1,3)-glycoprotein beta-1,4-N-acetylglucosaminyl-transferase, isozyme A	Hs00923405_m1	83 bp
MGAT5	mannosyl (alpha-1,6)-glycoprotein beta-1,6-N-acetyl-glucosaminyltransferase	Hs00159136_m1	91 bp
GAPDH	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	Hs99999905_m1	122 bp

表 2. *MGAT4a* および *MGAT5* 遺伝子発現と臨床病理学的因子の関係

Factors		Gene expression of <i>MGAT 4a</i> and/or <i>MGAT 5</i>		P value
		Positive (n=9)	Negative (n=53)	
Age	Median	64 (61-82)	67 (47-86)	N.S.
	(Min –Max)			
Gender	Male	6	36	N.S.
	Femail	3	17	
Smoking status	Never	2	14	N.S.
	Smoker	7	39	
Clinical stage	<3a	0	8	N.S.
	3b	2	11	
	4	7	34	
ECOG PS	0	3	17	< 0.05*
	1	0	26	
	2	2	9	
	3	0	4	
	4	4	3	
Mutation status	<i>EGFR</i>	3	7	N.S.
	<i>ALK</i>	0	1	N.S.
	<i>KRAS</i>	1	9	N.S.
	<i>BRAF</i>	0	2	N.S.
3 year survival	Surviving	1	33	< 0.05*
	Not surviving	8	20	

* $P < 0.05$ (カイ二乗検定)

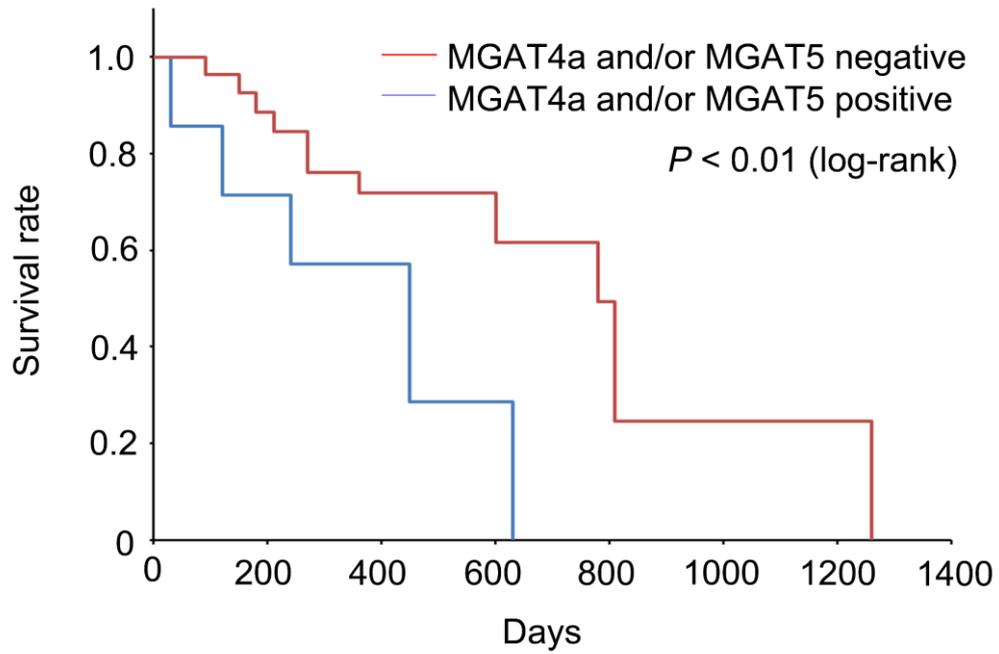


図 1

図の説明

図 1. 生存分析

癌組織における *MGAT4a* および *MGAT5* 遺伝子発現の有無と予後の関係を Kaplan・マイヤー法で分析した結果、*MGAT4a* あるいは *MGAT5* 遺伝子発現陽性症例では有意に予後不良であることが示された。