

レーザーマイクロダイセクション法とレクチンアレイによる 進行肺腺癌組織の糖鎖解析

中西陽子¹⁾, 辻野一郎²⁾, 高橋典明²⁾, 四万村三恵³⁾, 増田しのぶ¹⁾

Glycosylation analysis from lung biopsy using by laser microdissection and lectin array techniques

Yoko NAKANISHI¹⁾, Ichiro TSUJINO²⁾, Noriaki TAKAHASHI²⁾,
Mie SHIMAMURA³⁾, Shinobu MASUDA¹⁾

要旨

肺生検よりレーザーマイクロダイセクション法(LMD)で回収した腫瘍細胞からレクチンアレイによる糖鎖解析を行って、進行肺腺癌組織における糖鎖構造の違いと化学療法の効果との関係について検討した。この結果、化学療法非奏功群では特定の糖鎖における異常分枝の伸長が顕著であり、レクチンの局在も非癌部から逸脱していることが示された。また、癌と非癌部ではなく、化学療法非奏功群と奏功群の間でレクチン発現の有意差が認められたことから、肺腺癌細胞の糖鎖構造の違いは化学療法の効果に関与する可能性が示された。

1. はじめに

非小細胞肺癌では上皮成長因子受容体(EGFR)遺伝子¹⁾やAnaplastic lymphoma kinase(ALK)融合遺伝子²⁾などのドライバー変異³⁾に対する分子標的治療の進歩が目覚ましい。一方、治療標的変異を有さず化学療法が適用される患者も多く、その効果にも個人差がある。今回、肺生検を対象として、レクチンを用いた糖鎖解析を行い、進行肺癌組織の糖鎖構造と化学療法の効果との関係を明らかにすることを目的とした。

2. 対象および方法

2009年-2010年に日大板橋病院で手術不能な肺腺癌として化学療法施行された29例の肺生検組織より化学療法奏功(PR)群3例、非奏功(PD)群3例と、対照の非悪性気管支上皮組織(N)2例を用い、LMD法⁴⁾で腫瘍細胞を回収した後、LecChipならびにGlycoStation Reader(グライコテクニカ)でレクチンアレイを行った。また、ビオチン標識レクチン(杉山産業化学研究所)を用いてStreptavidin-biotin(SAB)

法によるレクチン組織化学を行い、腫瘍組織内の局在を比較した。(臨床研究承認番号RK-110610-2)

3. 結果

10種類のレクチンでPD, PR, N群間の発現量の差を認め(図1)、癌と非癌部ではなく、PD群とPR+N群間で差が認められたことから、PD群では特定の糖鎖における異常分枝の伸長が顕著である可能性が示唆された。レクチン組織化学の結果(図2)では、PD群で正常細胞での局在から逸脱した局在が示された。

4. 考察

レクチンの発現量は腫瘍部-非腫瘍部間で異なるというよりも、化学療法非奏功群に対して奏功群は非腫瘍部に類似した傾向を示した。癌細胞における蛋白質の糖鎖付加異常は、細胞の運動性や浸潤能の亢進、蛋白質の機能障害、転移促進、免疫回避などの機能が知られている⁵⁾。さらに今回検討を行ったレクチンの局在から、腫瘍細胞では細胞質への糖鎖

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

中西陽子:nakanishi.youko@nihon-u.ac.jp

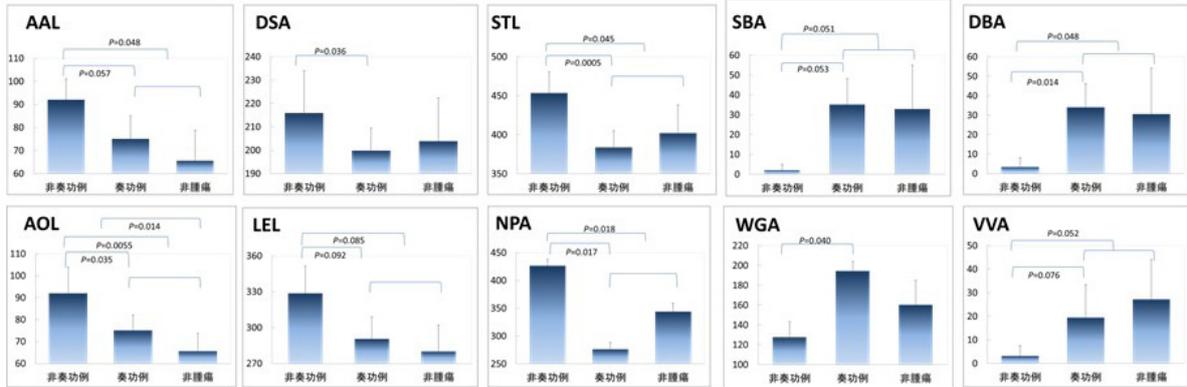


図 1 レクチンアレイにより差が認められたレクチンの比較。
 AAL: ヒドロチャワンタケ, DSA: ヨウシュチョウセンアサガオ, STL: ジャガイモ, SBA: ダイズ,
 DBA: ドリコスマメ, AOL: 麹菌, LEL: トマト, NPA: ラップズイセン, WGA: バンコムギ,
 VVA: ケヤハズエンドウ・ピロウドクサフジ・ヘアリーベッチ

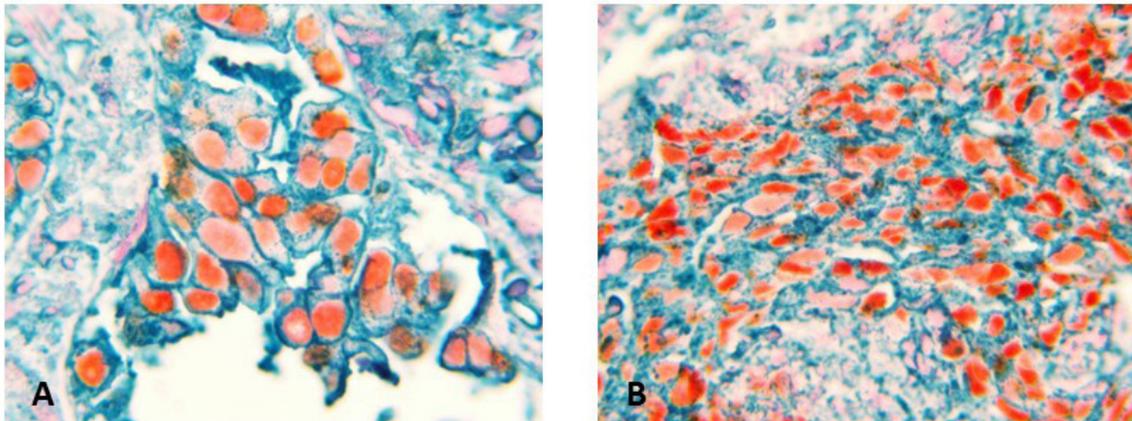


図 2 TTF-1免疫組織化学 (DAB 発色・茶) とビオチン化標識レクチン AAL (HistoGreen 発色・緑) の二重染色 (×100, 油浸)
 AALは、生存期間12か月以上の化学療法奏功例では細胞膜への発現の局在が見られた (A) が、生存期間が6ヶ月未満であった非奏功例では極性は見られず細胞質にドット状に発現していた (B)。

の異常な蓄積があり、抗癌剤への反応性に関与している可能性が示唆された。

5. 結 語

肺腺癌細胞の糖鎖構造の違いは化学療法の効果に関与する可能性がある。

文 献

- 1) Paez JG, Jänne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, Herman P, Kaye FJ, Lindeman N, Boggon TJ, Naoki K, Sasaki H, Fujii Y, Eck MJ, Sellers WR, Johnson BE, Meyerson M. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science*. 2004; 304:1497-500.
- 2) Soda M, Choi YL, Enomoto M, Takada S, Yamashita Y, Ishikawa S, Fujiwara S, Watanabe H, Kurashina K, Hatanaka H, Bando M, Ohno S, Ishikawa Y, Aburatani H, Niki T, Sohara Y, Sugiyama Y, Mano H. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature*. 2007; 448:561-6.
- 3) Pao W, Girard N. New driver mutations in non-small-cell lung cancer. *Lancet Oncol*. 2011; 12: 175-80.
- 4) Nakanishi Y, Shimizu T, Tsujino I, Obana Y, Seki T, Fuchinoue F, Ohni S, Oinuma T, Kusumi Y, Yamada T, Takahashi N, Hashimoto S, Nemoto N. Semi-nested real-time reverse transcription polymerase chain reaction methods for the successful quantitation of cytokeratin mRNA expression levels for the subtyping of non-small-cell lung carcinoma using paraffin-embedded and microdissected lung biopsy specimens. *Acta Histochem Cytochem*. 2013; 46:85-

96.

- 5) Ferreira JA, Peixoto A, Neves M, Gaiteiro C, Reis CA, Assaraf YG, Santos LL. Mechanisms of cisplatin resistance and targeting of cancer stem cells: Adding glycosylation to the equation. *Drug Resist Updat.* 2016; 24:34-54.