

糖鎖の変化をもたらす免疫機能の調節

—糖鎖の欠損が示すがん免疫療法の新しい道—

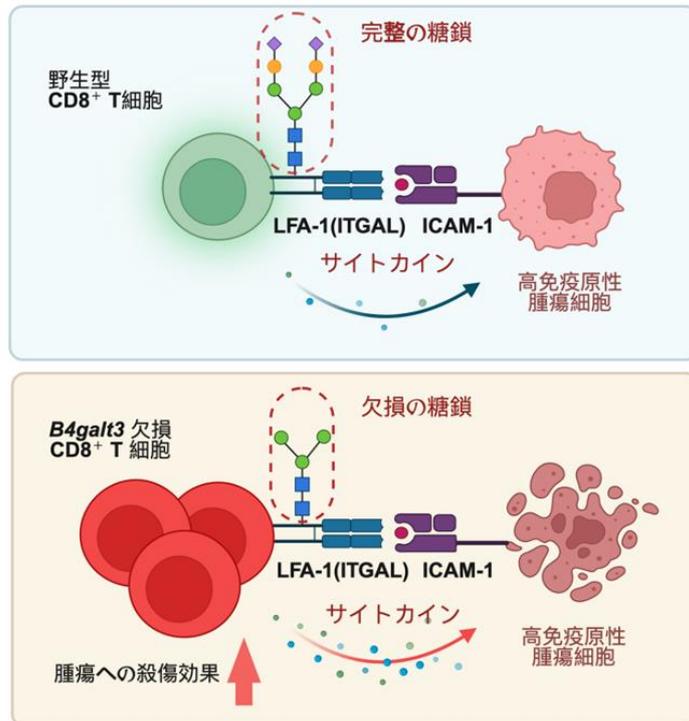
概要

京都大学大学院医学研究科の魏恒技術補佐員、成瀬智恵准教授、浅野雅秀教授、横浜市立大学大学院生命医科学研究科の高倉大輔特任准教授、川崎ナナ教授らの共同研究グループは、 β 1,4-ガラクトース転移酵素-3 (B4GALT3) の欠損マウスが高免疫原性腫瘍^{*1}の増殖を抑制することを発見しました。この発見は、がん免疫療法^{**2}に応用できることが期待されます。

B4GALT3 は、多くの腫瘍においてその周辺の正常組織より高い発現を示し、神経芽腫、子宮頸がん、膀胱がんなどのがんの臨床予後と関連しています。しかし、がん微小環境^{**3} (TIME) でのB4GALT3 の具体的な役割はまだ不明でした。本研究で、Crispr/Cas9 システムにより作製したB4GALT3 ノックアウト(KO)マウスを用いて実験を行った結果、B4GALT3 KO マウスでは、免疫原性の強い腫瘍細胞の増殖が抑制され、腫瘍に浸潤するCD8⁺T細胞の数が有意に増加することがわかりました。

さらに、B4GALT3 の欠損は、CD8⁺T細胞表面のインテグリン α LのN型糖鎖修飾を変化させることが示されました。この研究は、免疫細胞の表面タンパク質の糖鎖修飾を操作することにより、がん免疫療法の新たなアプローチとしての可能性を示しています。

本成果は、2023年10月09日に国際学術誌「*Frontiers in Immunology*」にオンライン掲載されました。



1. 背景

がん細胞の増殖と転移は、がん細胞とがん微小環境との相互作用に大きく依存しており、その中で糖鎖の役割が注目されています。特に、免疫チェックポイントなどの分子の糖鎖付加は、免疫細胞の活性や薬の効果に大きな影響を与えていることが知られています。私たちのグループでは、長年にわたり糖鎖の機能とその疾患における影響に焦点を当て、多くの糖転移酵素遺伝子 KO マウスを作製してきました。本研究では、 β 1,4-ガラクトース転移酵素の3番目の遺伝子、B4GALT3 に注目しました。B4GALT3 は、*N*-アセチルグルコサミン残基にガラクトースを付加する酵素として知られ、神経芽腫や大腸がん、子宮頸がん、膀胱がん、肝がんの肺転移など、多くのがん種と関連していることが報告されています。さらに、TCGA データベースによる解析から、B4GALT3 の高発現が副腎皮質癌(ACC)、子宮頸癌(CESC)、肝細胞癌(LIHC)、中皮腫(MESO)、肉腫(SARC)、頭頸部扁平上皮癌(HNSC)の6つのがん種において患者の生存時間の短縮と相関していることが明らかになりました(図1)。しかし、がん微小環境における B4GALT3 の具体的な糖鎖付加のターゲットやそのメカニズムについては、まだ十分に解明されていませんでした。

2. 研究手法・成果

本研究はまず、Crispr/Cas9 システムを用いて B4GALT3 ノックアウト(KO)マウスを作製しました。そして、免疫原性の弱い腫瘍細胞と免疫原性の強い腫瘍細胞を野生型(WT)マウスと KO マウスに皮下移植し、腫瘍細胞の増殖を調べました。B4GALT3 KO マウスは、免疫原性の強い腫瘍細胞の増殖だけを抑制しました(図2)。フローサイトメトリーおよび RNA-seq を用いて、免疫細胞の浸潤および遺伝子発現の違いを調べました。その結果、KO マウスのがん微小環境への CD8⁺T 細胞の浸潤が増加し、Interferon- γ や Granzyme B を分泌してがん細胞を攻撃していることが示唆されました。最後に、質量分析装置(LC-MS/MS)を用いたグライコプロテオミクス解析^{*4}を行い、活性化した T 細胞表面タンパク質の *N*型糖鎖修飾の変化を調べました。CD8⁺T 細胞を活性化するタンパク質のうちインテグリン α L の糖鎖修飾が顕著に減少しており、その下流のシグナル伝達が増強されており、インテグリン α L の糖鎖不全が CD8⁺T 細胞を活性化している可能性が示唆されました。

3. 波及効果、今後の予定

本研究は、B4GALT3 のがん微小環境における重要な役割を明確に浮き彫りにしました。特に、B4GALT3 の欠損が免疫系の遺伝子発現に大きな変動を引き起こすことが確認され、これががんの進行や免疫応答にどのように影響を与えるのかの新しい視点を提供しています。この発見は、B4GALT3 を中心とした新たながん治療の可能性を広げるものであり、がんの診断や治療に対する新しいアプローチの道を開くこととなります。今後、B4GALT3 のさらなるターゲット分子の解明や、その治療への応用に関する研究が進められることで、より効果的ながん治療の実現に向けた大きな一歩を踏み出すことが期待されます。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、文部科学省科学研究費補助金 JP21H02389 (浅野雅秀)、JP21H02617 (高倉大輔)、横浜市立大学戦略的研究推進費 SK3001 (川崎ナナ)、および清水免疫学・神経科学振興財団(成瀬智恵)の支援を受けて実施されました。

<用語解説>

※1 免疫原性

異物が体内に入る時、免疫反応を引き起こす能力を指します。

※2 がん免疫療法

がんの治療の一つで、患者の免疫システムを活性化して、がん細胞を攻撃・排除する方法を指します。

※3 がん微小環境

がんができた場所の周りの「小さな環境」のことを指します。この場所には、がん細胞だけでなく、体を守るための免疫細胞や血液なども含まれています。これらの細胞や物質は、がんが大きくなったり、体の他の部分に広がったりするのを助けたり、防いだりする役割を持っています。

※4 グライコプロテオミクス解析

膜タンパク質を精製し、酵素的に切断して糖ペプチドを濃縮し、糖鎖の部位や構造、糖タンパク質の量を特定するための手法を指します。

<研究者のコメント>

この研究を通じて、糖鎖の役割とがん微小環境におけるその影響についての新しい知見を得ることができました。糖鎖の重要性とがん治療への新しいアプローチの可能性が明らかになりました。糖鎖の研究は、未来の医療において新しい突破口を開くことが期待されます。

<論文タイトルと著者>

タイトル：Beta-1,4-galactosyltransferase-3 deficiency suppresses the growth of immunogenic tumors in mice

(β 4-ガラクトース転移酵素-3 欠損マウスは高免疫原性腫瘍の増殖を抑制する)

著者：Heng Wei, Chie Naruse, Daisuke Takakura, Kazushi Sugihara, Xuchi Pan, Aki Ikeda, Nana Kawasaki, Masahide Asano*

掲載誌：Frontiers in Immunology DOI：https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1272537

< 参考図表 >

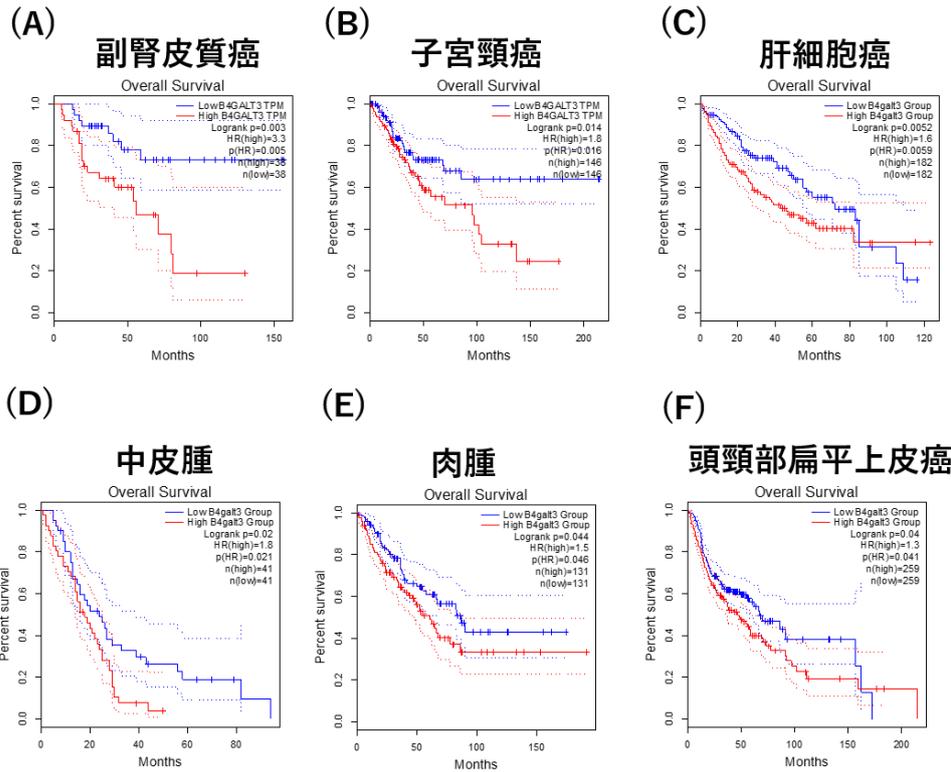


図1 TCGAのデータを使用し、副腎皮質癌 (ACC)、子宮頸癌 (CESC)、肝細胞癌 (LIHC)、中皮腫 (MESO)、肉腫 (SARC)、頭頸部扁平上皮癌 (HNSC) の患者において、B4GALT3の発現と予後の関連性を調べた。その結果、B4GALT3の高発現は予後不良と相関していることが示された。

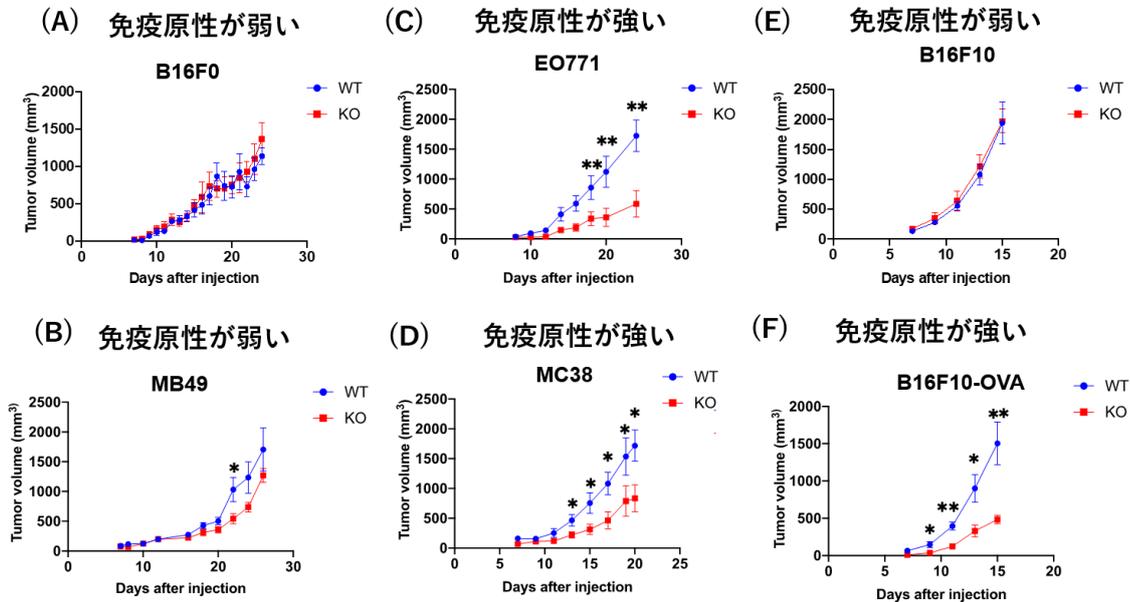


図2 (A-B) 免疫原性の弱いB16F0とMB49の腫瘍細胞を、野生型とB4GALT3 KOのマウスに移植したところ、いずれの細胞の増殖も両マウスで違いがなかった。(C-D) 免疫原性の高いEO771とMC38の腫瘍細胞を、野生型とB4GALT3 KOのマウスに移植したところ、B4GALT3 KOマウスはこれらの腫瘍の増殖を抑制した。(E-F) 免疫原性の弱いB16F10とこの細胞に抗原オボアルブミン (OVA) を導入したB16F10-OVAの腫瘍細胞を、野生型とB4GALT3 KOのマウスに移植したところ、B4GALT3 KOマウスは免疫原性が強まったB16F10-OVAの増殖を抑制した。

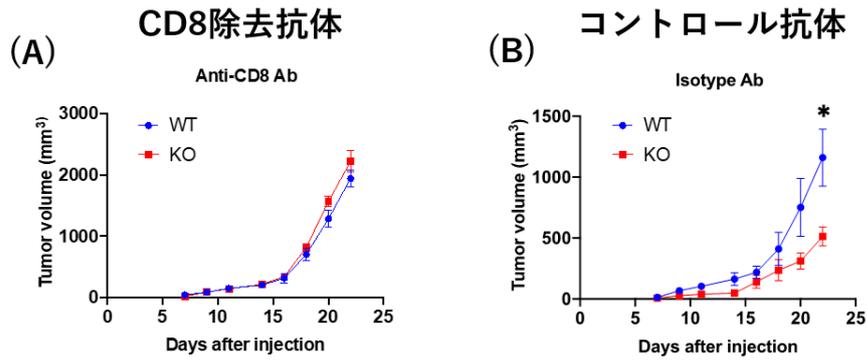


図3 (A) CD8除去抗体を使用してCD8陽性細胞を除去した野生型マウスとB4GALT3 KOマウスに免疫原性の強い腫瘍細胞を移植した結果、B4GALT3 KOマウスでの腫瘍増殖抑制が消失した。
 (B)野生型マウスとB4GALT3 KOマウスにコントロール抗体を注射した場合は、B4GALT3 KOマウスにおいて腫瘍細胞増殖が抑制された。
 B4GALT3 KOマウスはCD8陽性細胞を介して免疫原性の強い腫瘍細胞の増殖を抑制すると考えられる。