

2024年度東京慈恵会科大学大学間共同プロジェクト研究費成果概要

報告日

2024年 4月 17日

部署名	病理学講座
研究代表者氏名	小林 賢司

1. 共同研究テーマ名	タンパク修飾因子に基づくがん関連線維芽細胞の細胞特性・多様性解
2. 共同研究の連携先機関名	東京理科大学薬学部 病態分析化学研究室

研究成果の概要

【目的】がん関連線維芽細胞 (cancer-associated fibroblast: CAF)におけるタンパク修飾因子の発現を解析するため、ヒト乳癌手術検体を用いて癌部より分離培養したCAFと正常組織より分離培養した正常組織由来線維芽細胞 (normal tissue-associated fibroblast: NAF)とでそれぞれ糖鎖分析を行い、比較検討を行った。

【方法】当講座で独自に収集している乳癌由来NAF, CAFのサンプルを用いて、その糖鎖解析を行った。細胞塊を凍結乾燥後、アクチナーゼ処理をしてコアタンパク質を分解した後、30Kスピンカラムで糖鎖を回収した。その後、コンドロイチナーゼABCとACIIでコンドロイチン硫酸 (CS)とヒアルロン酸 (HA)を不飽和二糖まで分解し、30Kスピンカラムに通した画分をHigh performance liquid chromatography (HPLC)試料とした。30Kスピンカラムに残ったヘパラン硫酸 (HS)はヘパリナーゼI, II, IIIで分解しHPLC試料に供した。

【結果】HPLC解析から、NAF, CAFそれぞれのCS不飽和二糖、HS不飽和二糖、HA不飽和二糖のクロマトグラムを得た。CS, HS, HAの二糖組成と含量 (ng/mg protein; 含量は全ての不飽和二糖の合算を1 mgあたりのタンパク質量で補正)を算出し、NAF, CAFとで比較検討を行った。今回は少数例での検討であるが、NAFとCAFとでは硫酸化パターンに明確な相違は認めなかったが、CS, HS, HAの全てにおいてグルコサミノグリカン含有量はCAFよりNAFで多い傾向であった。

今後の展望、成果発表の計画について

本年度、培養ヒト乳癌由来線維芽細胞の糖鎖解析系を確立することができた。今後はより多数例での解析を用いて、癌間質由来CAFにおける糖鎖発現様式を解析していく予定である。さらに、タンパク修飾因子の発現様式と臨床病理学的因子との関連を比較検討するとともに、in vitroの細胞実験を用いてCAF特異的な糖鎖発現様式の意義を明らかにしていく予定である。また、癌部、非癌部を含んだ乳癌のパラフィン包埋切片を用いて同様な測定法が確立できるかどうかも現在検討しており、今後パラフィン包埋切片を用いた糖鎖測定法が確立できれば、更なる症例数の蓄積が期待できる。当プロジェクトの成果発表は今後国内外での学会発表及び論文発表を計画している。