

糖鎖プライマー法によるマウス FBJ 骨肉腫細胞に発現する
糖鎖の探索および細胞遊走能に関する糖鎖の機能解析

2013 年 3 月

王 毅楠

主 論 文 要 旨

報告番号	甲 乙 第	号	氏 名	王 毅楠
主 論 文 題 目： 糖鎖プライマー法によるマウス FBJ 骨肉腫細胞に発現する糖鎖の探索および細胞遊走能に 関与する糖鎖の機能解析				
(内容の要旨) マウス FBJ 骨肉腫細胞の転移性の制御因子として糖鎖が注目されているが、転移に関わる糖鎖の 解析および糖鎖が関与する転移のメカニズムは十分には解明されていない。そこで、糖鎖プライマ ー法を用いて、転移性の異なる FBJ 細胞における発現糖鎖の比較解析を実施した。得られた結果を 基にして、ガングリオシド GD1a やグリコサミノグリカン鎖が細胞の遊走性に与える影響を解析す ることで、骨肉腫細胞が転移性を獲得する分子機構の解明を目指した。 第 1 章では、糖鎖の構造および機能、特にがん転移との関係について概説した。また糖鎖プラ イマー法の原理と応用について述べ、本研究の目的と方針をまとめた。 第 2 章では、糖鎖プライマー法を用いて、低転移性の FBJ-S1 細胞と高転移性の FBJ-LL 細胞に発 現する糖鎖を比較解析し、転移に関与する糖鎖の同定を行った。糖鎖プライマーとして Lac-C12、 Xyl-Ser-C12 などを用いて、FBJ-S1 細胞と FBJ-LL 細胞における生成物の比較解析を行った。Lac-C12 の投与により、低転移性の FBJ-S1 細胞において、GD1a などのガングリオ系列の発現が顕著に高い ことが見出された。また、Xyl-Ser-C12 由来の糖鎖伸長生成物の解析により、高転移性の FBJ-LL 細 胞においてグリコサミノグリカン (GAG) のひとつであるへパラン硫酸型の糖鎖の発現量が低下し ている事が見出された。 第 3 章では、ガングリオシド GD1a が FBJ 細胞の遊走能を制御する作用機序の解析を行なった。 GD1a の発現と Caveolin1 および肝細胞増殖因子 HGF などの転移に関与する分子の発現の関連性 について検討した。これにより、FBJ 細胞において、GD1a が Caveolin1 を介して HGF の発現を制御 していることが示された。また Caveolin1 の発現抑制により、FBJ-S1 細胞の遊走能が向上するこ とが明らかとなった。 第 4 章では、FBJ 細胞における Xyl-Ser-C12 由来の糖鎖伸長生成物の比較解析の結果に基づき、 GAG の合成酵素と分解酵素の発現と細胞遊走能との関連について検討した。へパラン硫酸の合成遺 伝子 <i>Ext1</i> が分解酵素であるへパラナーゼの遺伝子の発現を制御して、さらに細胞遊走能を制御して いることが見出された。 第 5 章では、結論として本論文を総括した。 本論文では腫瘍の転移性に関与する糖鎖生合成経路のモニタリングにおける糖鎖プライマー法 の有用性を示した。さらに骨肉腫細胞の遊走性に関与する新たな標的分子を見出したことで、がん 細胞の転移機構の解明のみならず、診断や創薬への展開が期待できる。				

SUMMARY OF Ph.D. DISSERTATION

School Graduate School of Science and Technology	Student Identification Number 80847565	SURNAME, First name WANG, Yinan
Title Exploration of glycans expressed in murine FBJ osteosarcoma cells by saccharide primer method and functional analysis of glycans participating in cell migration		
Abstract <p>To clarify the involvement of glycans in the metastasis of murine FBJ osteosarcoma cells, a comparative analysis of glycans between highly metastatic FBJ-LL and poorly metastatic FBJ-S1 cells using the saccharide primer method was conducted in this study. Ganglioside GD1a and glycosaminoglycans were identified as the regulators participating in the motility of FBJ cells. The involvement of those glycans in cell motility was studied to elucidate the mechanism of tumor metastasis.</p> <p>In Chapter 1, the involvement of glycans in metastasis was summarized. Additionally, the introduction of saccharide primer method and the purpose of this study were described.</p> <p>In Chapter 2, to explore glycans participating in the metastasis of FBJ cells, a comparative analysis of glycans between FBJ-LL and FBJ-S1 cells using the saccharide primer method was conducted. Glycosylated products obtained from FBJ-S1 and FBJ-LL cells using different types of saccharide primers (such as Lac-C12 and Xyl-Ser-C12) were analyzed by LC-MS. The administration of Lac-C12 into culture medium gave more ganglio-series oligosaccharides, such as GD1a, from FBJ-S1 cells compared to FBJ-LL cells. Glycosylated products derived from Xyl-Ser-C12 in FBJ-S1 cells were glycosaminoglycan-type oligosaccharides such as heparan sulfate.</p> <p>In Chapter 3, the mechanism that ganglioside GD1a regulates the motility of FBJ cells was studied. The involvement of Caveolin1 and hepatocyte growth factor HGF in cell motility regulated by GD1a was investigated. GD1a was found to suppress HGF expression through Caveolin1. In addition, Caveolin1 was shown to regulate the motility of FBJ cells.</p> <p>In Chapter 4, based on the result shown in Chapter 2, the expression of GAG-related glycosyltransferases and glycan-degrading enzymes in FBJ cells, and their involvement in the motility of FBJ cells were studied. It was found that heparan sulfate (HS) synthase <i>Ext1</i> regulated the expression of heparanase and the expression of <i>Ext1</i> and heparanase influenced the motility of FBJ cells.</p> <p>In Chapter 5, the results of this thesis were summarized.</p> <p>In this thesis, The availability of saccharide primer method in monitoring the biosynthesis of glycans was demonstrated. By finding target molecules participating in cell motility, it is considered that this thesis would contribute to the elucidation of tumor metastasis and drug discovery.</p>		