

# 癌の転移・生存戦略における Sialyl-Tn糖鎖抗原の役割



Kumamoto University

熊本大学 大学院 生命科学研究部  
生体分子制御解析学講座

大坪 和明

# 講義内容

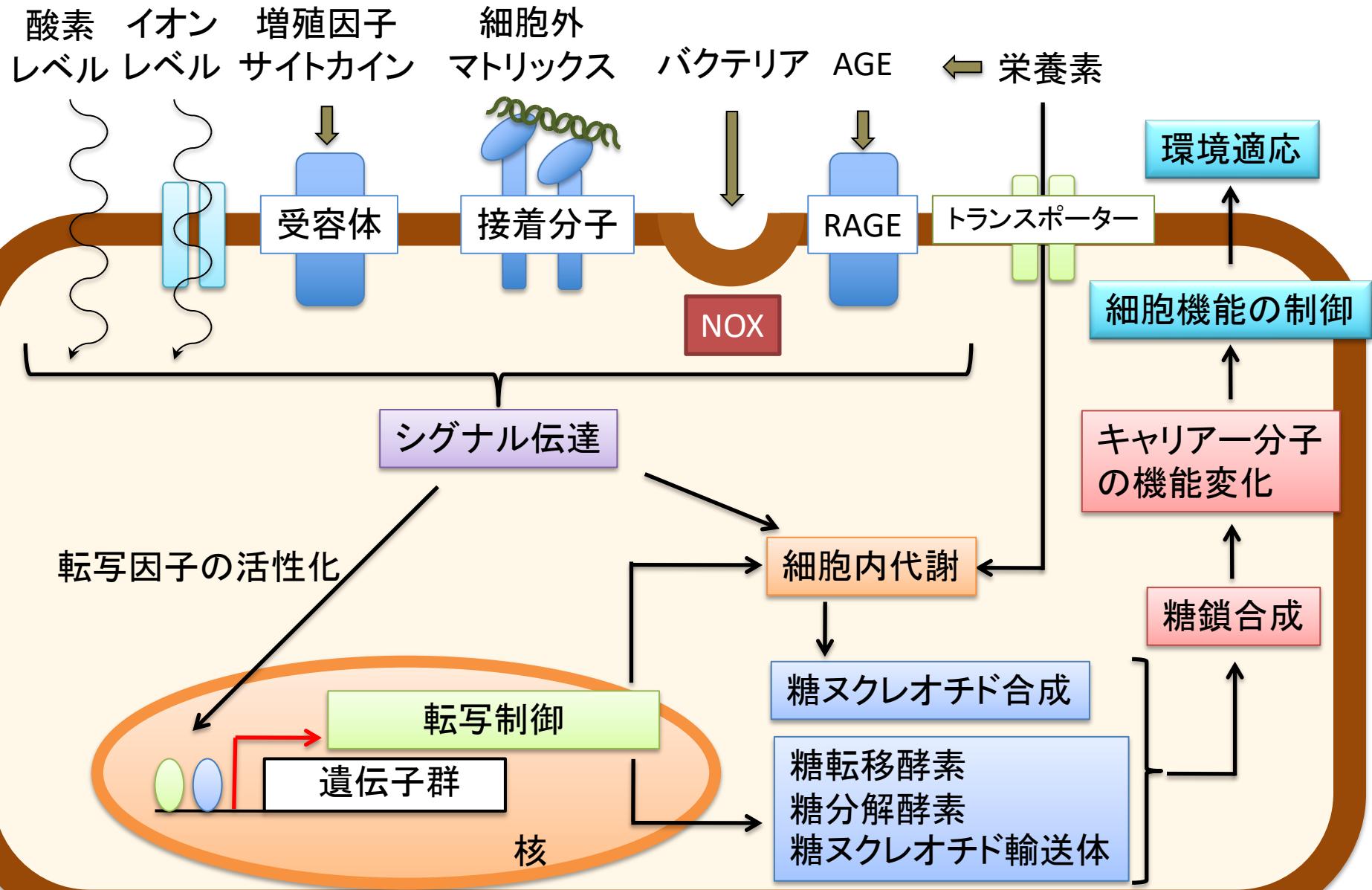
低酸素環境によって誘導されるSialyl-Tn  
糖鎖抗原

sTn抗原の発現とがん転移

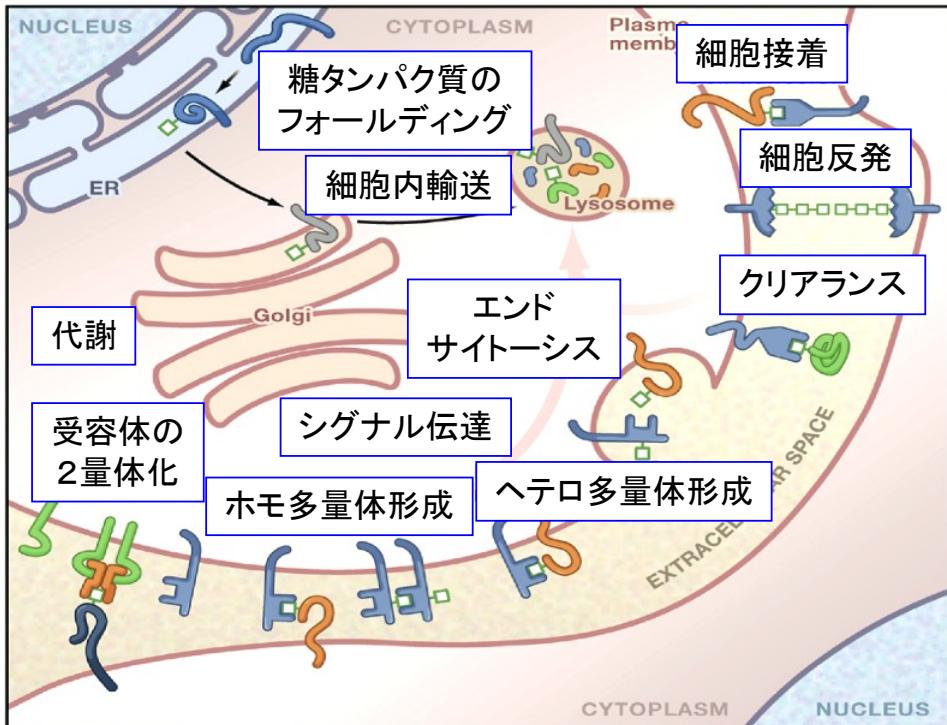
腫瘍微小環境のリモデリングとsTn抗原

sTn抗原を標的としたがん治療の可能性

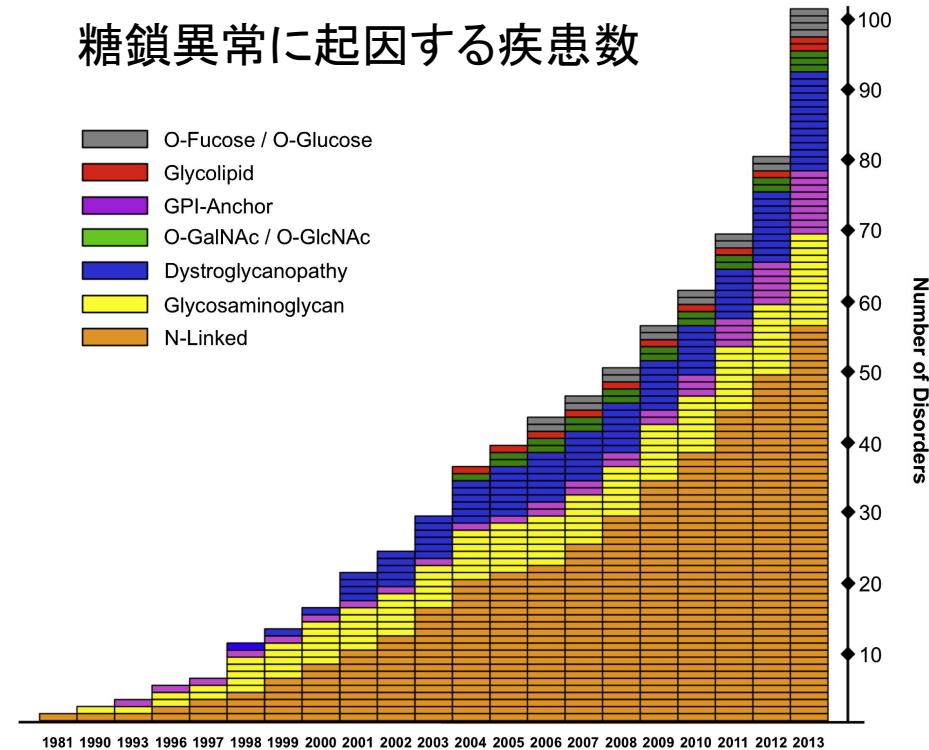
# 細胞微小環境変化に応じた糖鎖合成



# 糖鎖異常と疾患



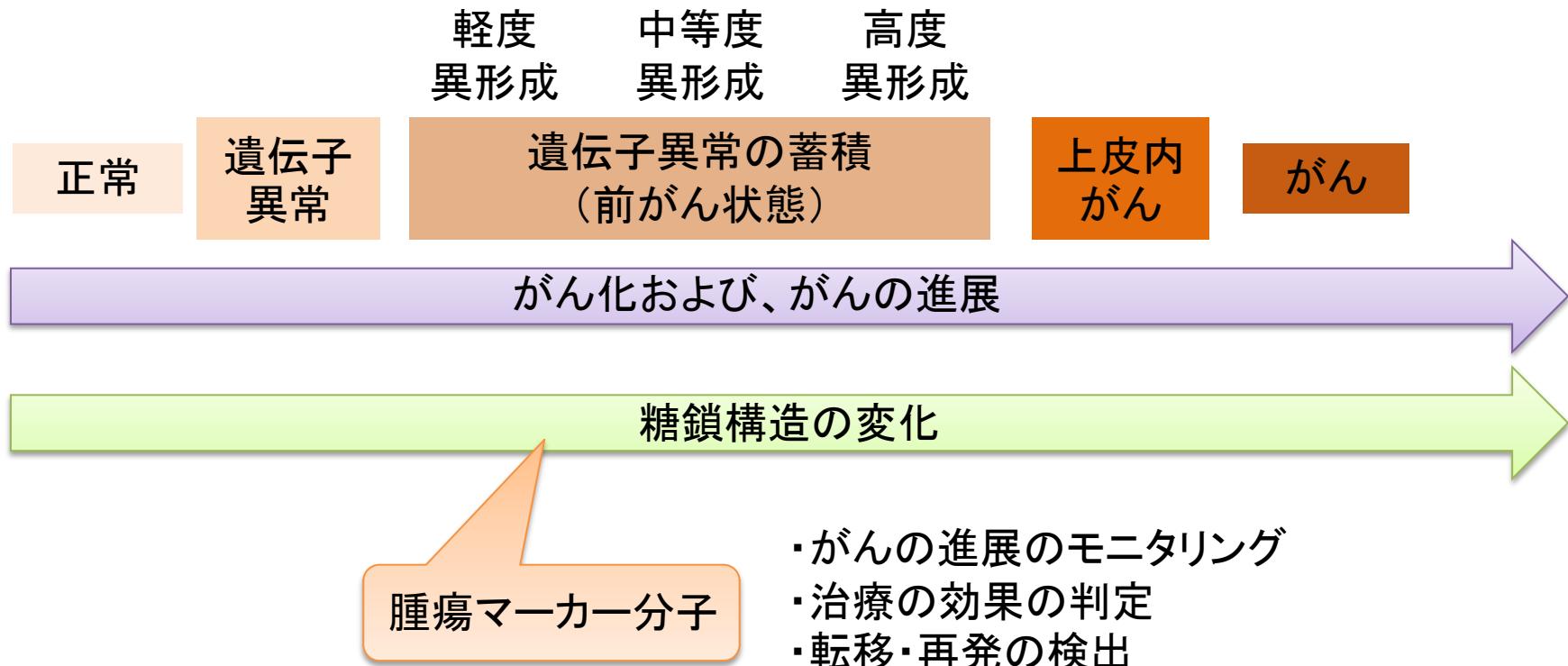
糖鎖異常に起因する疾患数



Ohtsubo, K. and Marth JD.  
*Cell* 126: 855-867, 2006より改変

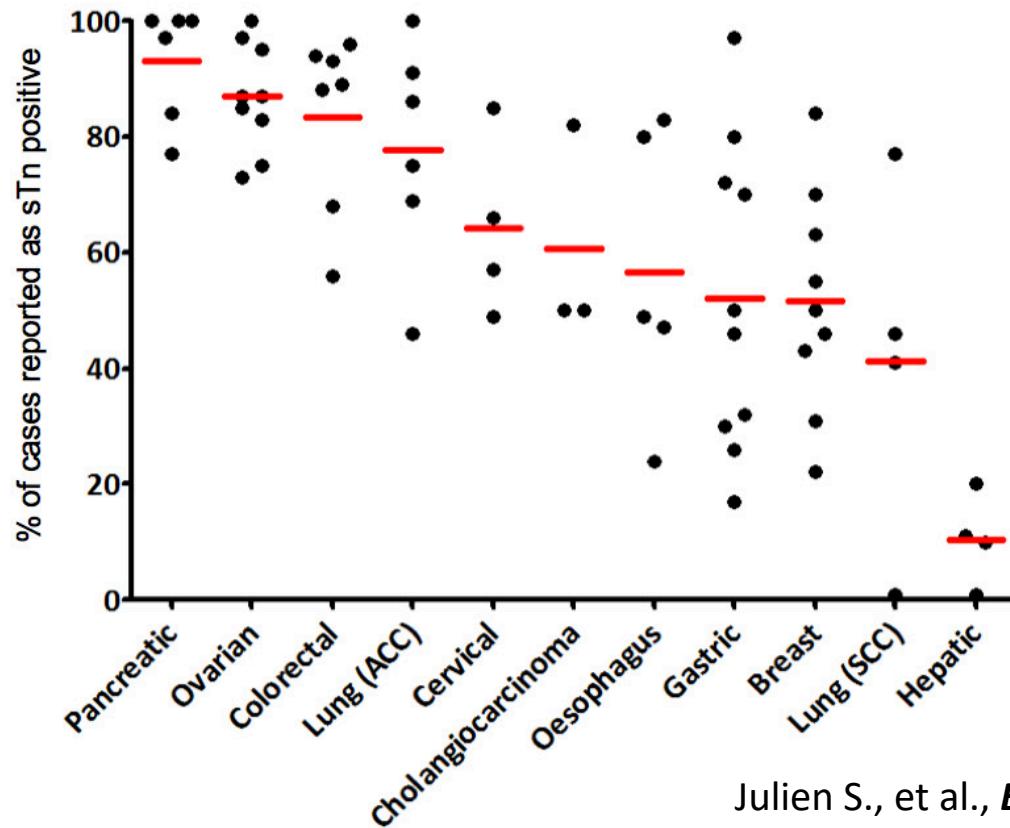
Hudson H. F. et al. *AJHG* 94:161-175, 2014

# がんの発生・進展と糖鎖構造の変化



# Sialyl-Tn (sTn) 糖鎖抗原の分布

がん腫別のsTn抗原の陽性率



Julien S., et al., *Biomol.* 2:435-66, 2012

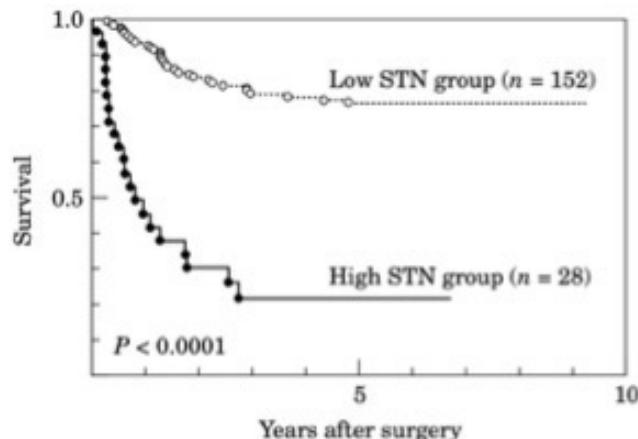
がんの種類に関係なく発現が認められる



正常組織には発現が認められない

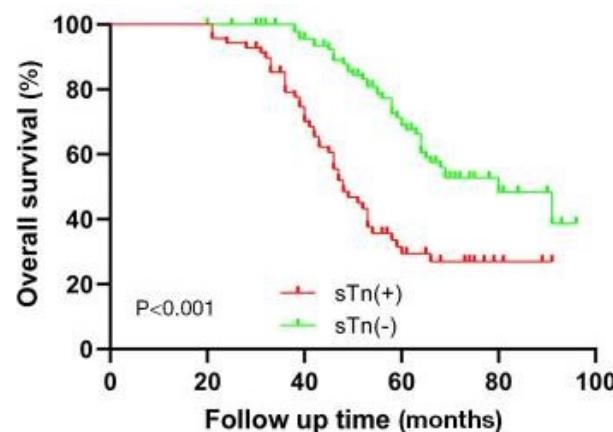
# sTn抗原とがん患者の予後

胃がん患者



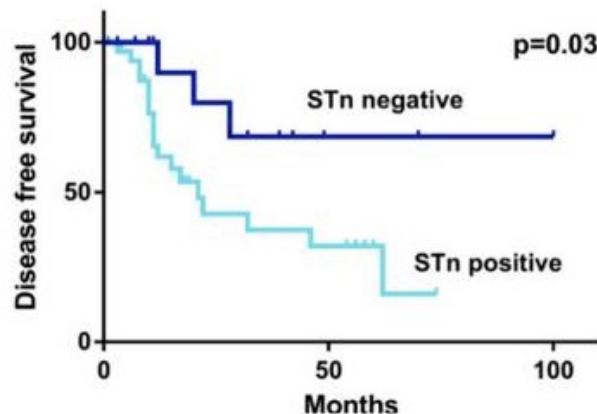
Nakagoe, T., et al, *EJSO* 27: 731-739, 2001

乳がん患者



Xu, F., et al, *Gland surgery* 10: 2673-2685, 2021

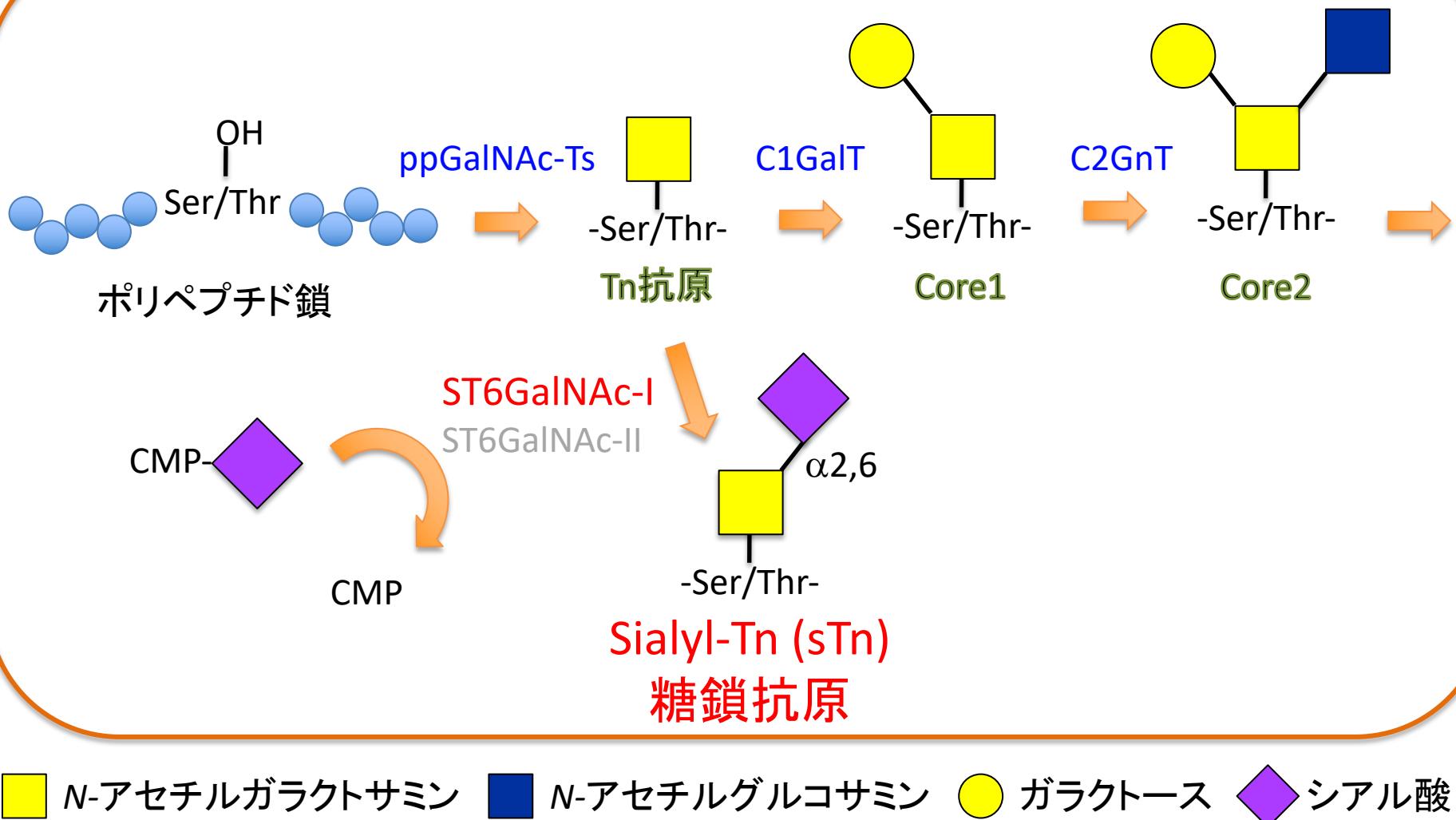
食道がん患者



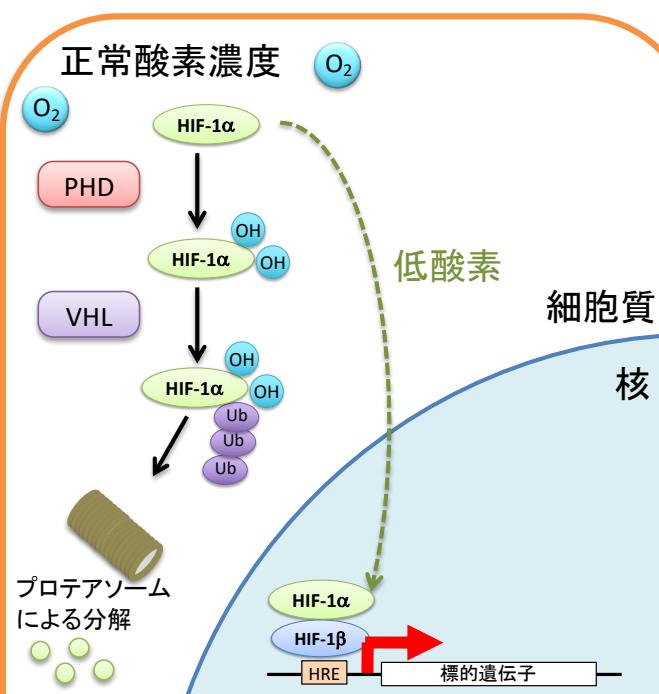
Cotton, S., et al, *Int J Mol Sci.* 22: 1664, 2021

# sTn抗原の合成

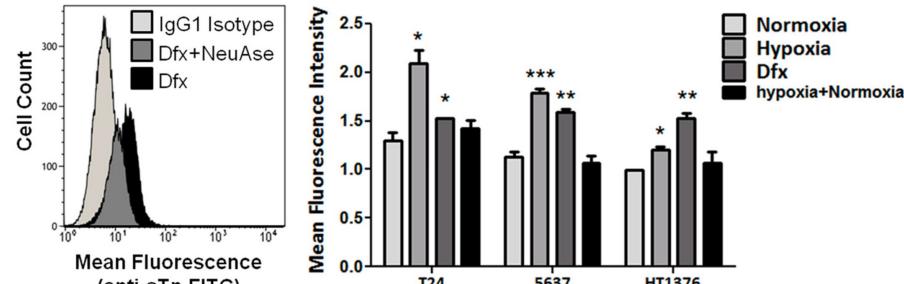
## O-型糖鎖の初期合成経路



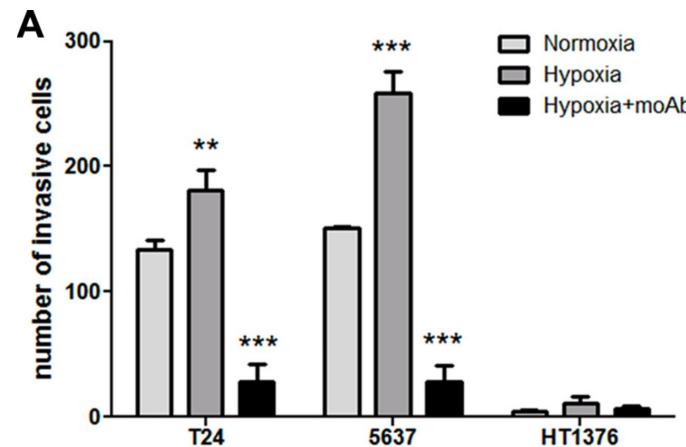
# 低酸素によるsTn抗原の発現誘導



## 低酸素によるsTn抗原の誘導



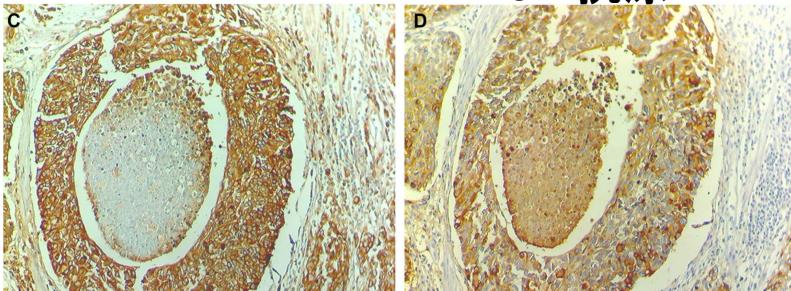
## 低酸素暴露細胞の浸潤能亢進とsTn抗体による阻害



## 膀胱癌組織におけるsTn抗原の発現とHIF-1 $\alpha$ の核局在

HIF-1 $\alpha$

sTn抗原



# 講義内容

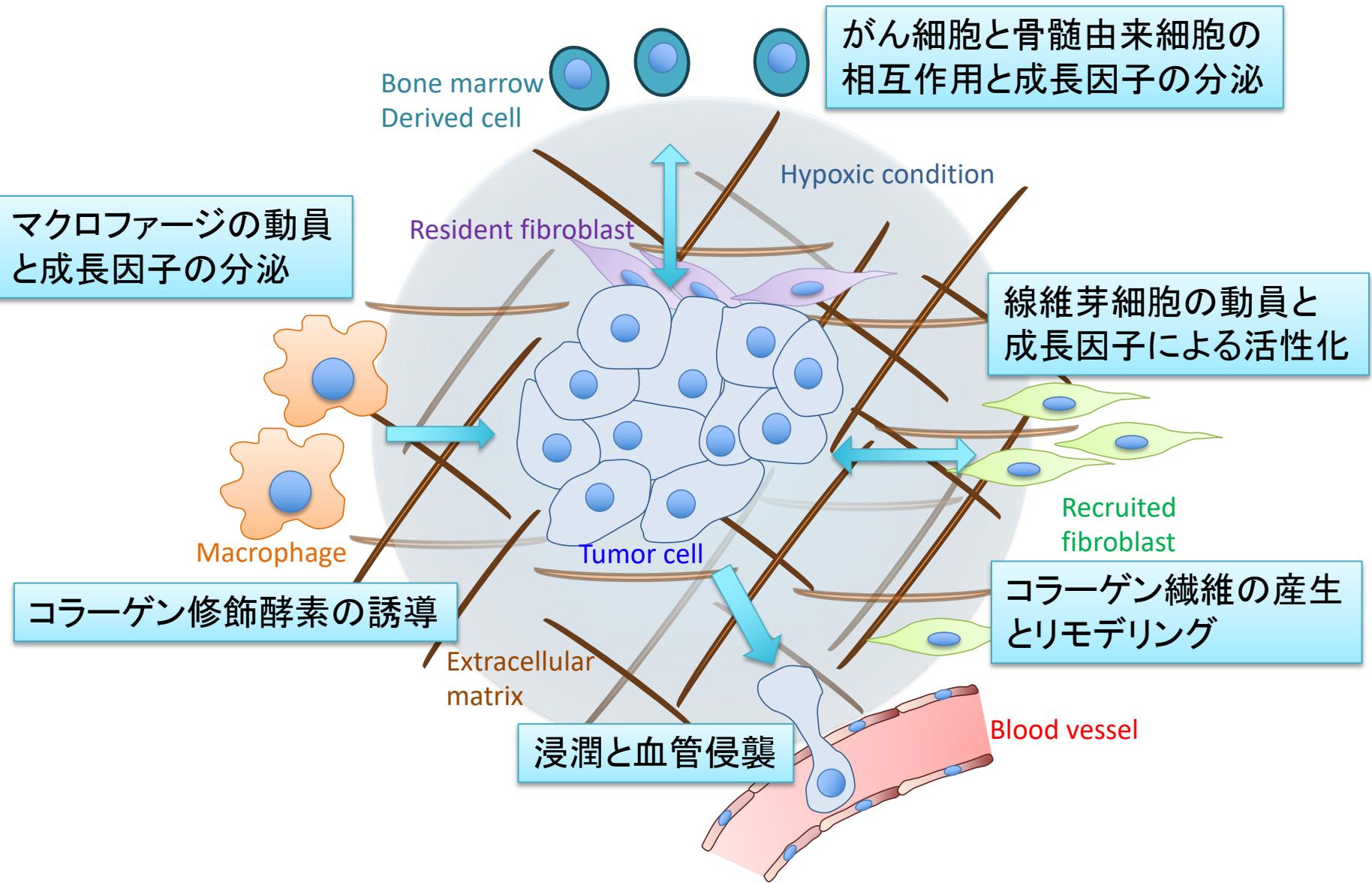
低酸素環境によって誘導されるSialyl-Tn  
糖鎖抗原

sTn抗原の発現とがん転移

腫瘍微小環境のリモデリングとsTn抗原

sTn抗原を標的としたがん治療の可能性

# 低酸素とがん転移を促す微小環境形成



# sTn抗原の発現と転移

Serum sialyl-Tn antigen level as a prognostic indicator in patients with gastric-cancer.

Maeda K, Chung Y, Onoda N, Nakanishi I, Nitta A, Arimoto Y, Yamada N, Kondo Y, Kato Y, Sowa M.  
Int J Oncol. 1994 Jan;4(1):129-32. PMID: 21566901

sTn抗原の発現と  
胃がんのリンパ節転移

Correlation between sialyl Tn antigen and lymphatic metastasis in patients with Borrmann type IV gastric carcinoma.

Kakeji Y, Maehara Y, Morita M, Matsukuma A, Furusawa M, Takahashi I, Kusumoto T, Ohno S, Sugimachi K.  
Br J Cancer. 1995 Jan;71(1):191-5. doi: 10.1038/bjc.1995.39. PMID: 7819038

sTn抗原の発現と  
胃がんのリンパ節転移

Immunohistochemical expression of sialyl Tn and sialyl Lewis(a) antigens in stromal tissue correlates with peritoneal dissemination in stage IV human gastric cancer.

Ikeda Y, Mori M, Kamakura T, Saku M, Sugimachi K.  
Eur J Surg Oncol. 1995 Apr;21(2):168-75. doi: 10.1016/s0748-7983(95)90369-0. PMID: 7720892

sTn抗原の発現と  
胃がんの腹膜播種

Expression of sialyl-Tn in breast cancer. Correlation with prognostic parameters.

Soares R, Marinho A, Schmitt F.  
Pathol Res Pract. 1996 Dec;192(12):1181-6. doi: 10.1016/S0344-0338(96)80148-8. PMID: 9182286

sTn抗原の発現と  
乳がんのリンパ節転移



## 実験的にsTn抗原発現細胞の性状を解析

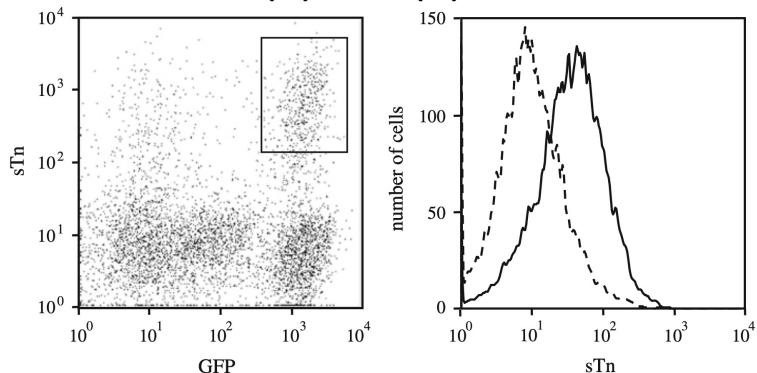
Cloning and expression of a human gene encoding an N-acetylgalactosamine-alpha2,6-sialyltransferase (ST6GalNAc I): a candidate for synthesis of cancer-associated sialyl-Tn antigens.

Ikehara Y, Kojima N, Kurosawa N, Kudo T, Kono M, Nishihara S, Issiki S, Morozumi K, Itzkowitz S, Tsuda T, Nishimura SI, Tsuji S, Narimatsu H.  
Glycobiology. 1999 Nov;9(11):1213-24. doi: 10.1093/glycob/9.11.1213.

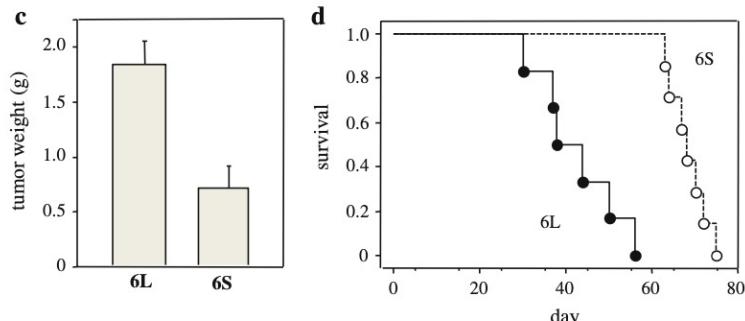
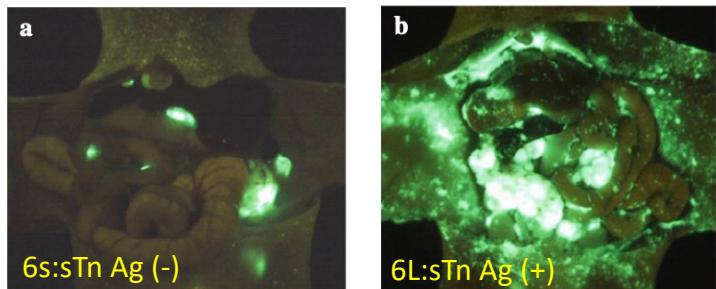
ST6GalNAc-I遺伝子の  
クローニング

# sTn抗原の発現と転移

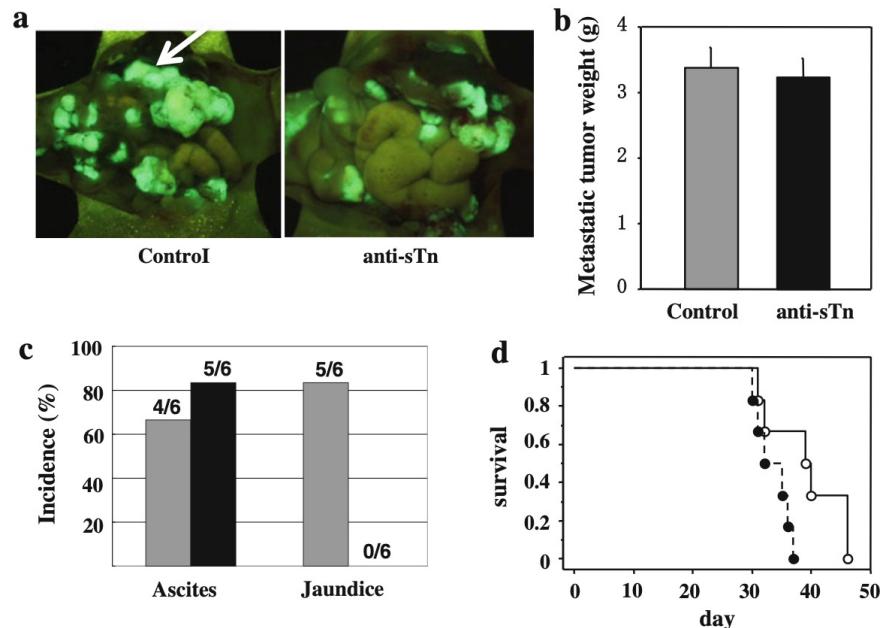
## sTn抗原(+) / GFP(+)細胞の樹立



## sTn抗原発現細胞の腹膜播種亢進



## sTn抗体処理による腹膜播種抑制



# 講義内容

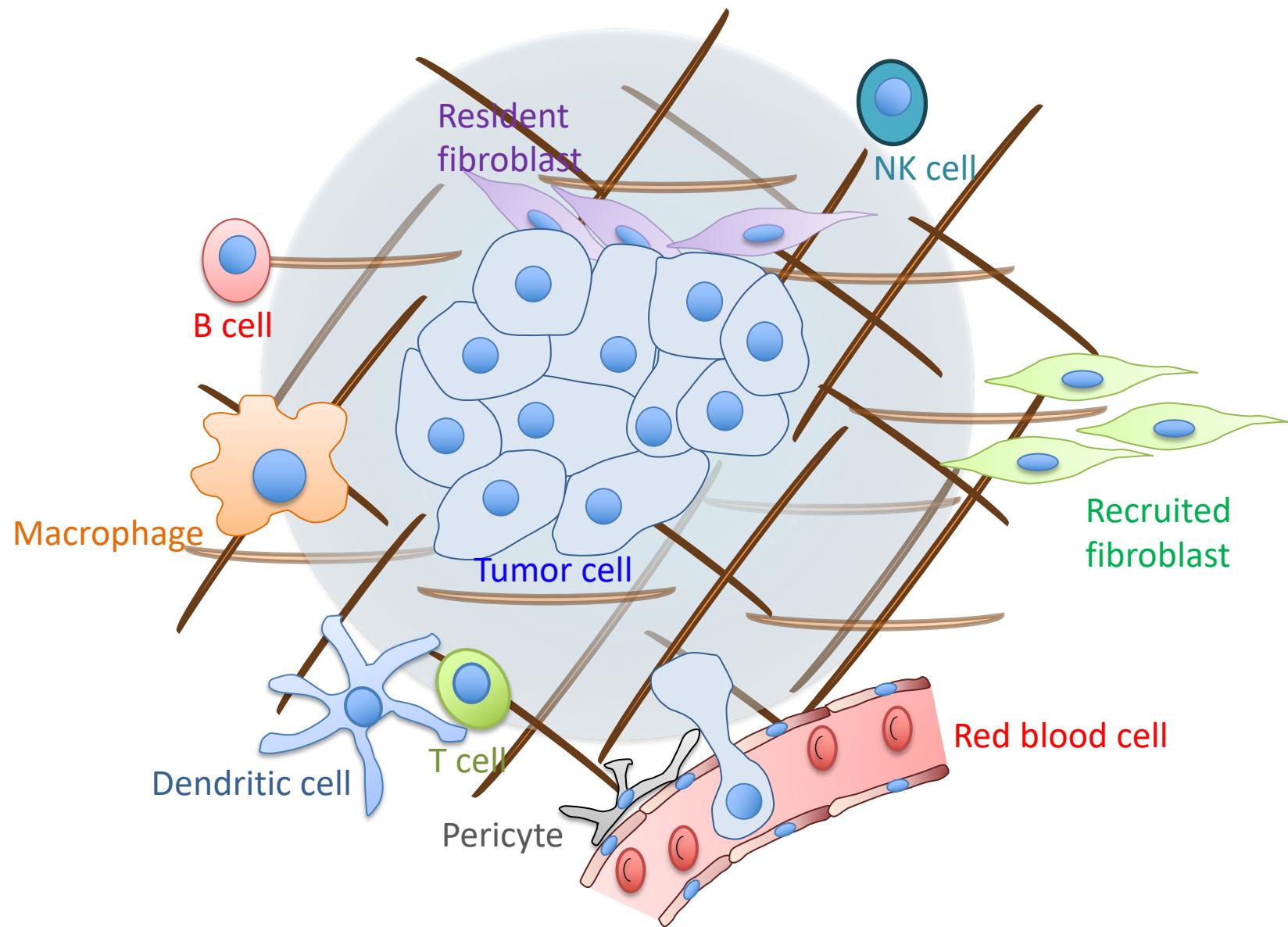
低酸素環境によって誘導されるSialyl-Tn  
糖鎖抗原

sTn抗原の発現とがん転移

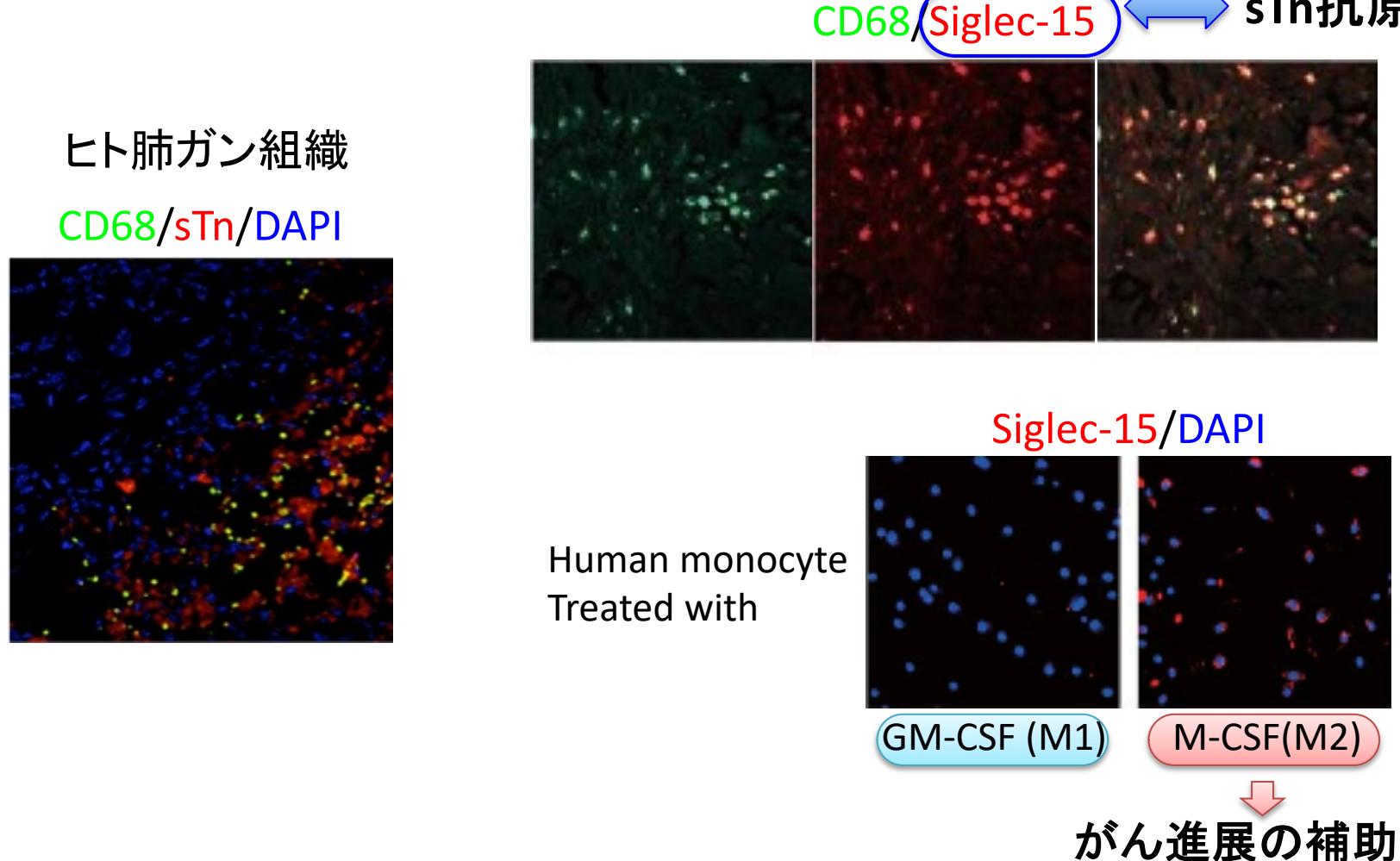
腫瘍微小環境のリモデリングとsTn抗原

sTn抗原を標的としたがん治療の可能性

# 腫瘍微小環境を構成する細胞群

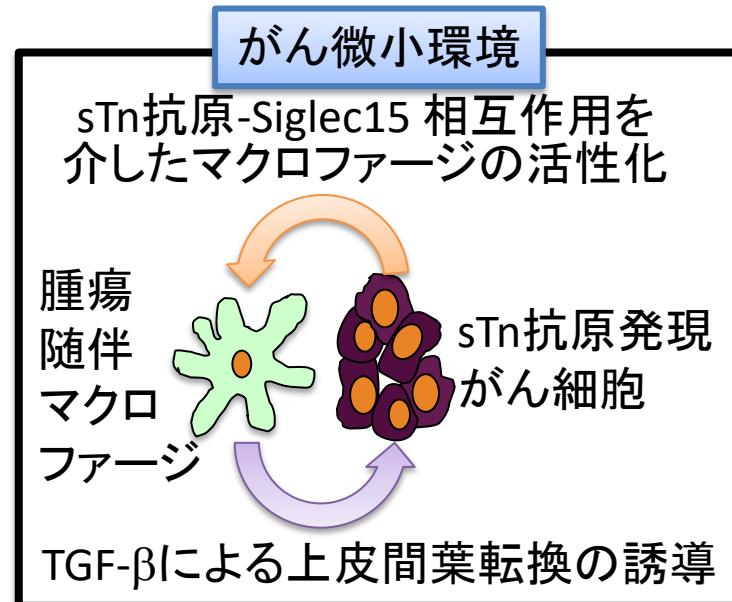
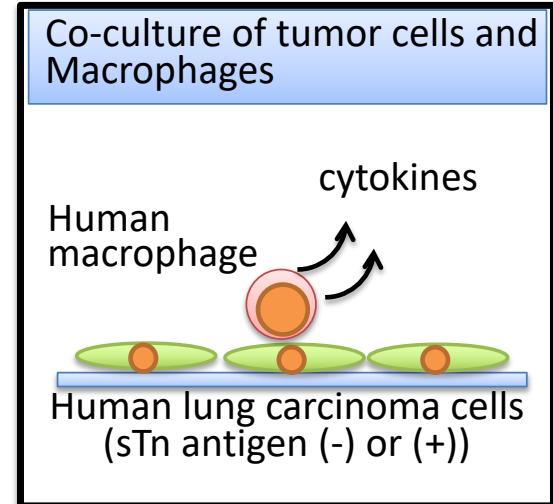
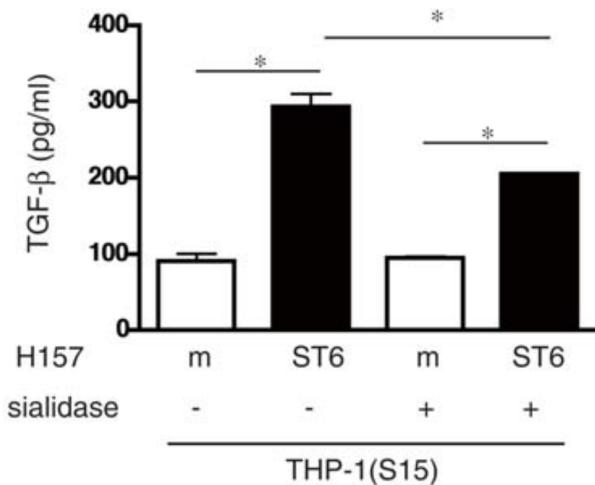
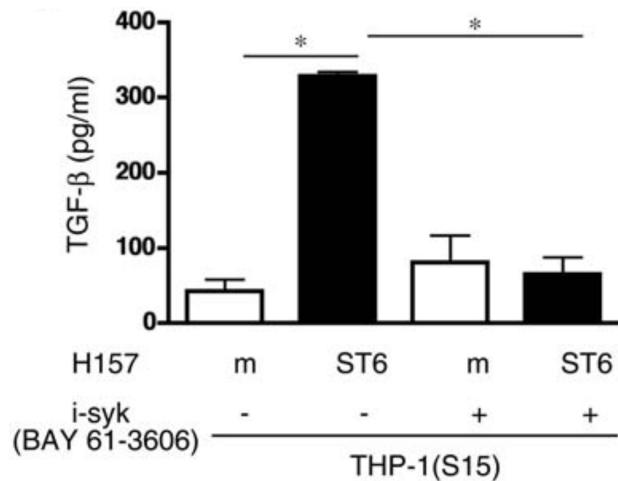
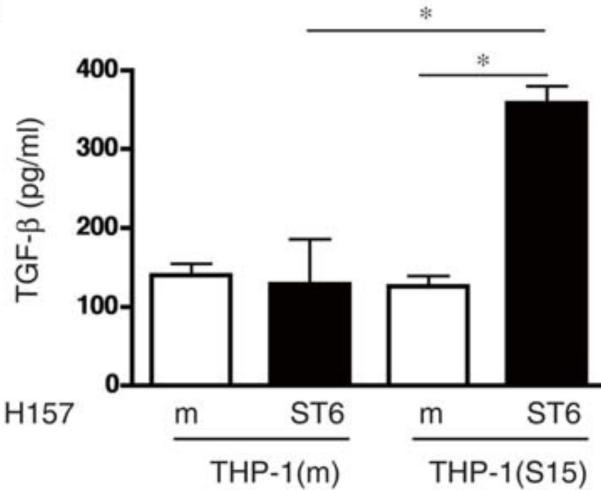


# sTn抗原発現がん細胞に附隨する マクロファージはSiglec-15を発現している



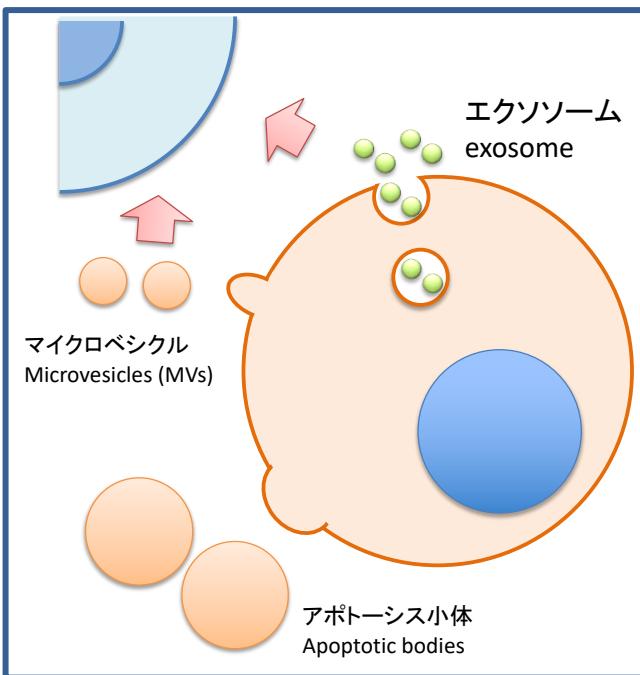
# Siglec-15を介したTGF- $\beta$ の產生誘導

□ MOCK ■ ST6exp



# がん細胞由来細胞外小胞(Extracellular vesicles) による低酸素がん微小環境の制御

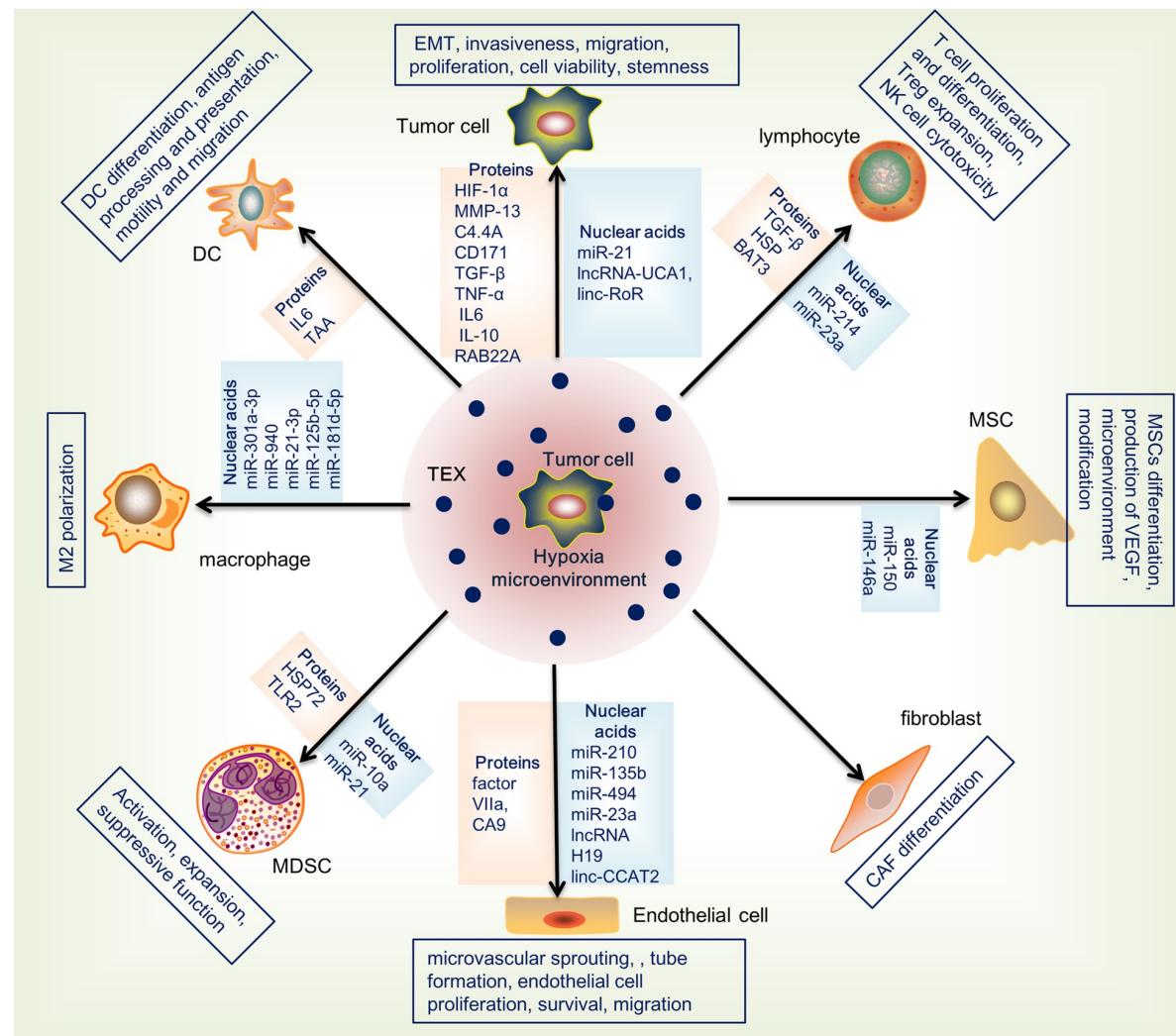
## 細胞外小胞 (Extracellular Vesicles; EVs)



Exosome: 30~150nm

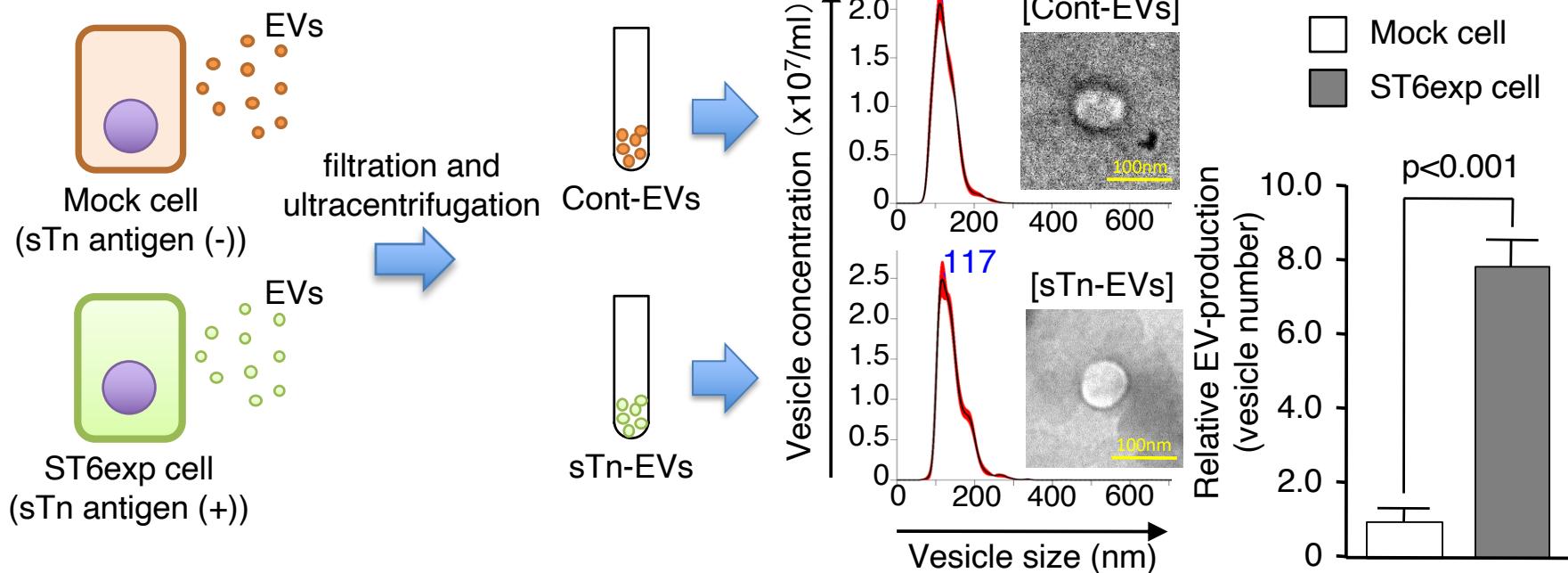
MV: 100~1000nm

Apoptotic body: 50~5000nm

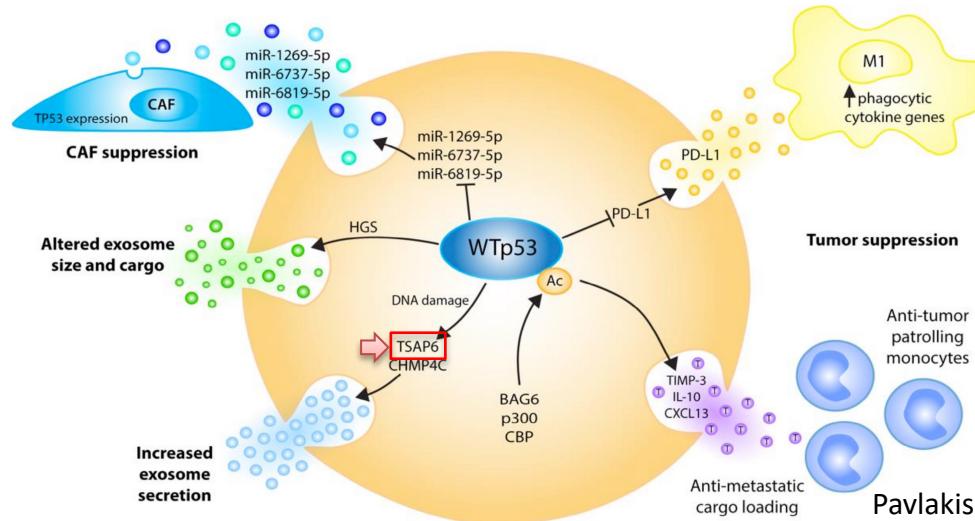


# sTn抗原発現細胞における細胞外小胞(EV)産生レベルの亢進

## 細胞外小胞の調製とサイズ分布解析



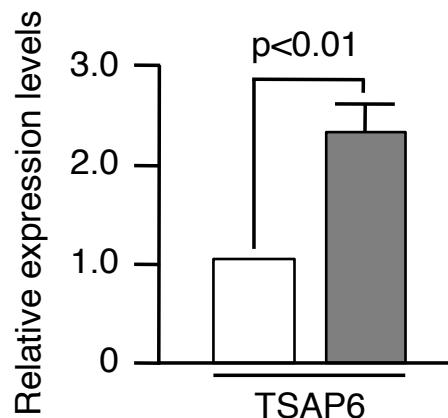
# TSAP6依存的細胞外小胞產生



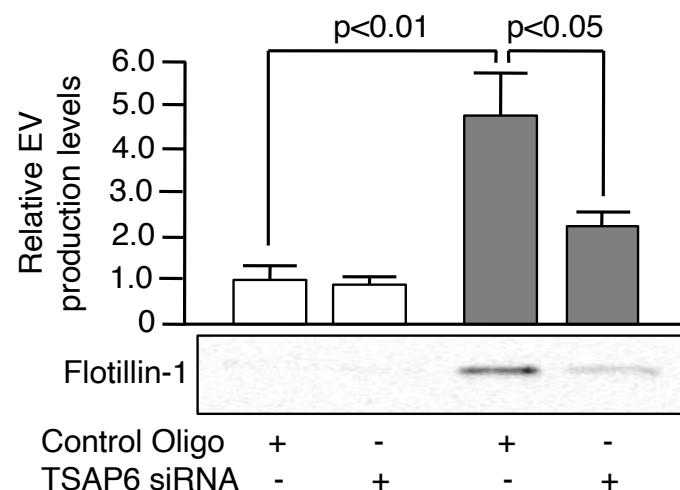
Pavlakis E. et al., *Int J Mol Sci* 21:9648, 2020

## TSAP6発現レベル

□ Mock cell    ■ ST6exp cell

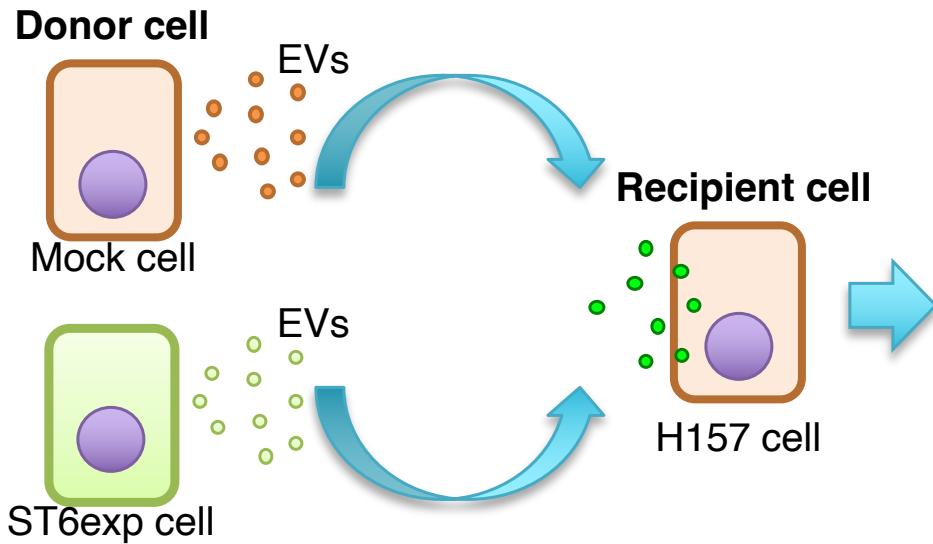


## TSAP6 knock downとEV産生レベル



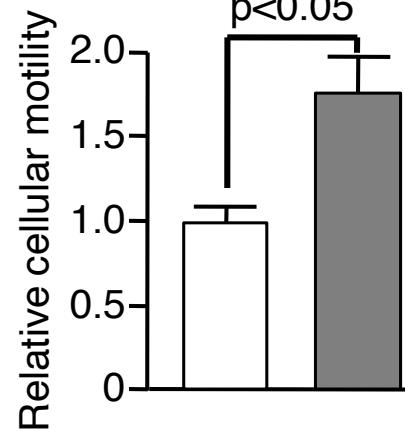
Nagao, K. et al., *J Biochem.* 171: 543-554, 2022

# EV受容細胞の運動能促進

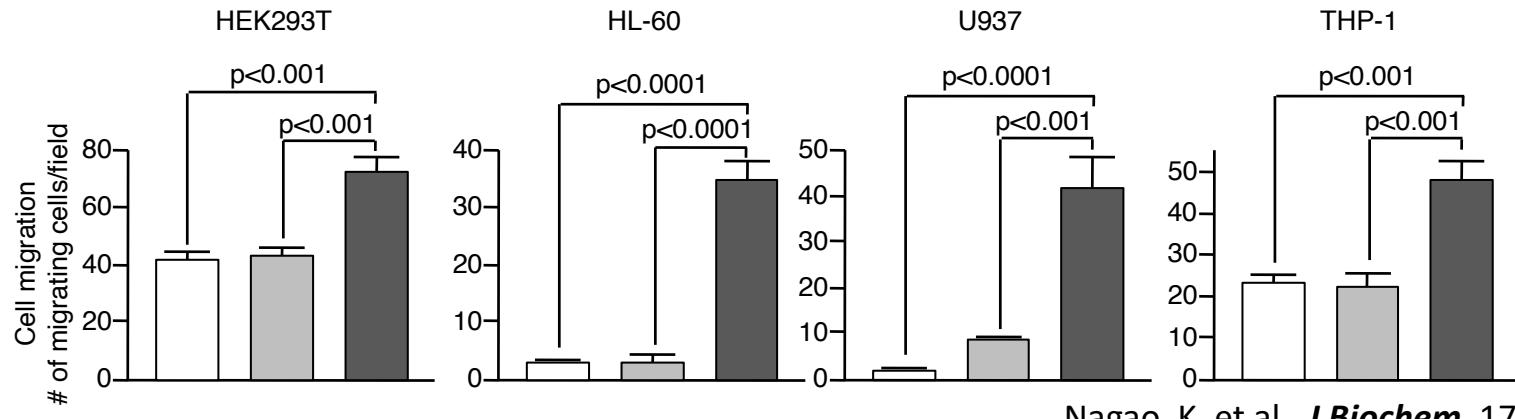


細胞運動能

□ Cont-EVs  
recipient cell  
■ sTn-EVs  
recipient cell

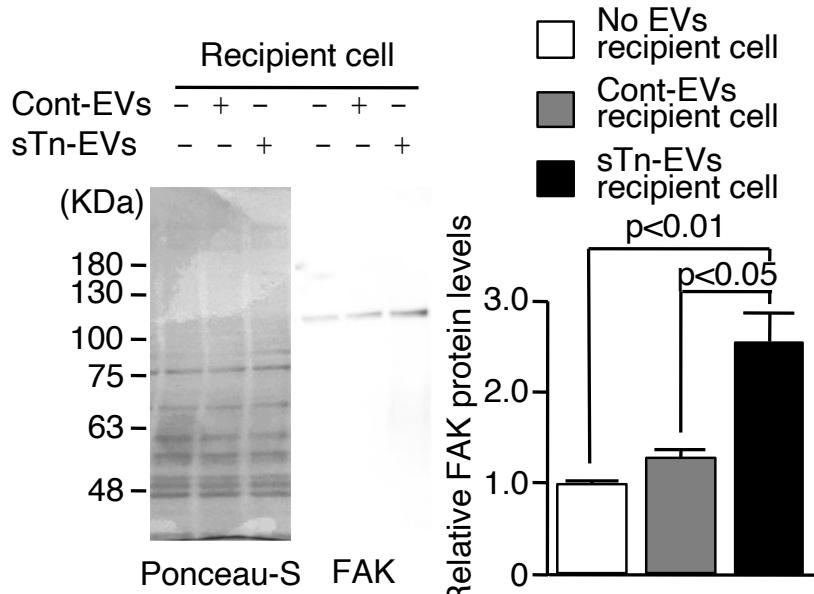


□ No EVs      ■ Cont-EVs      ■ sTn-EVs

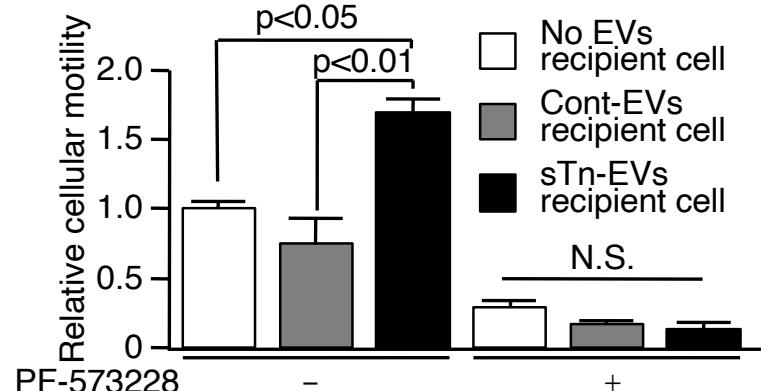


# EVが輸送するFAK

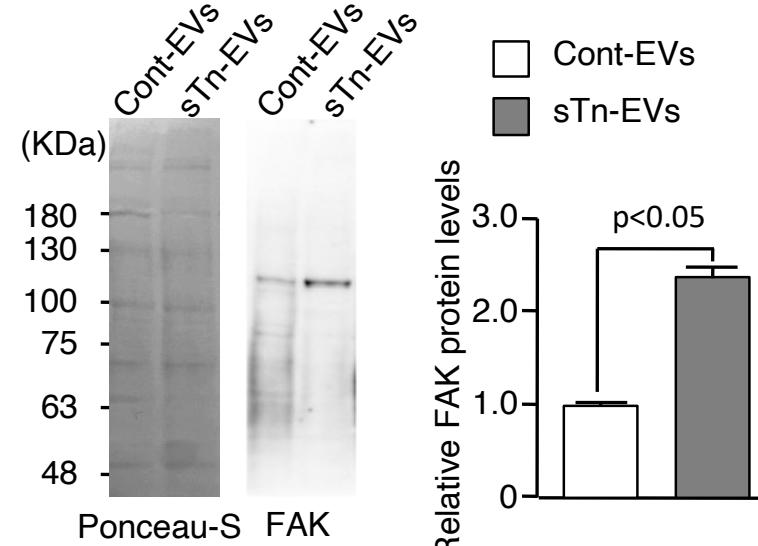
## EV受容細胞内のFAKタンパクレベル



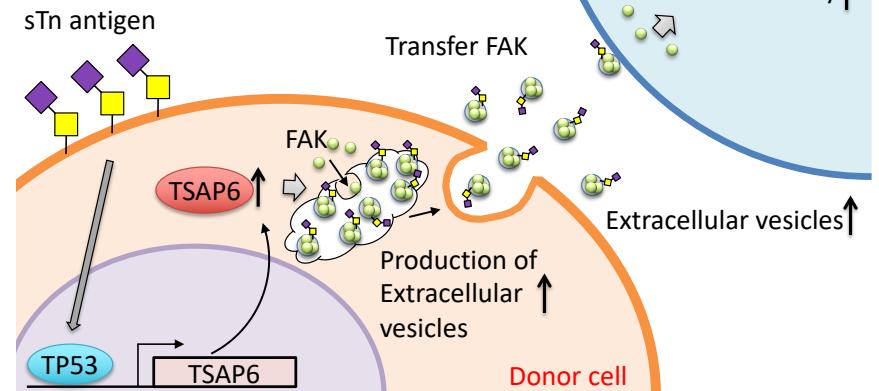
## FAK阻害におけるEV受容細胞の運動能



## EVが含有するFAKタンパク質



sTn antigen facilitates extracellular vesicle-mediated FAK transfer



# 講義内容

低酸素環境によって誘導されるSialyl-Tn  
糖鎖抗原

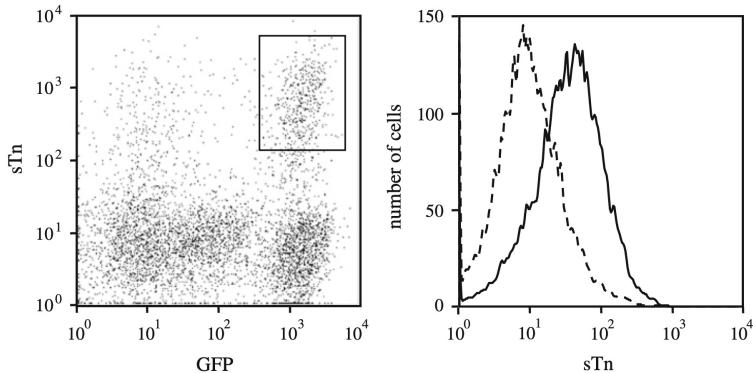
sTn抗原の発現とがん転移

腫瘍微小環境のリモデリングとsTn抗原

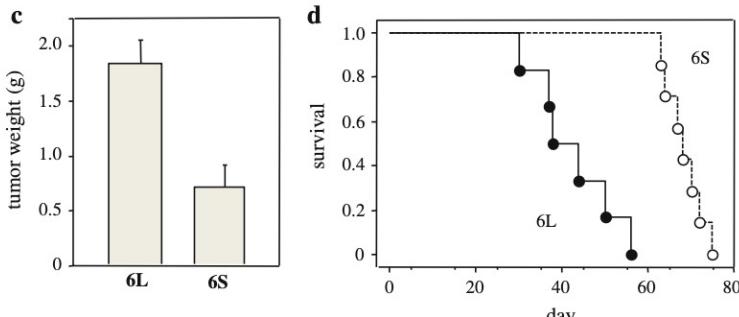
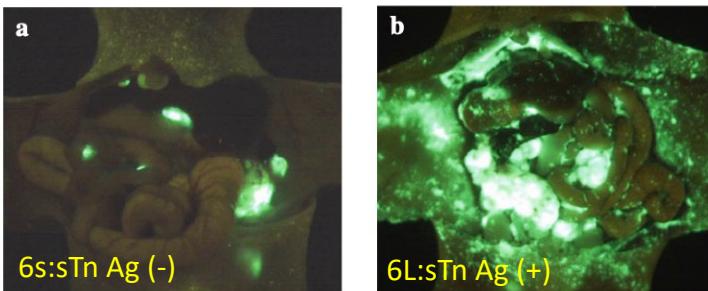
sTn抗原を標的としたがん治療の可能性

# sTn抗原を標的とした治療法(薬)の開発

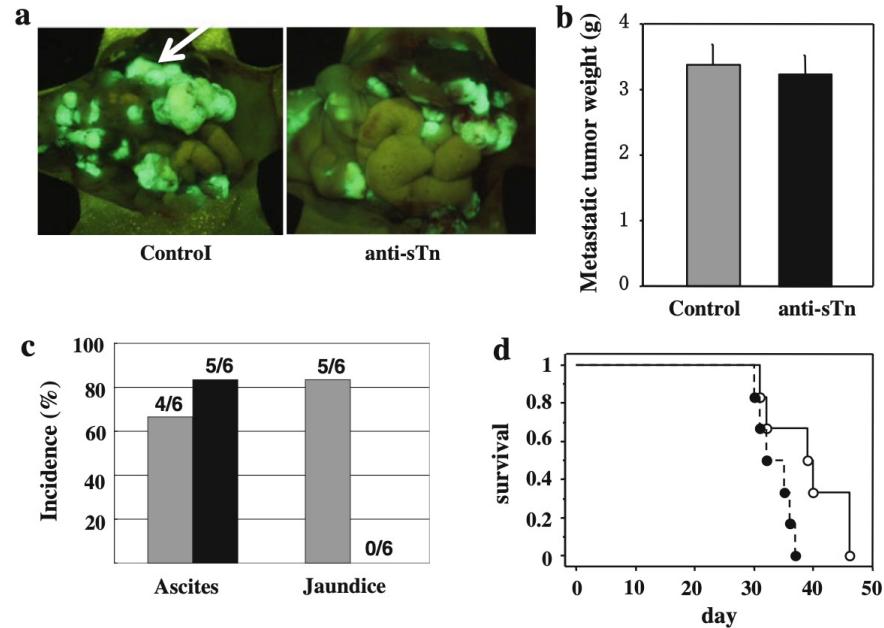
## sTn抗原(+)/GFP(+)細胞の樹立



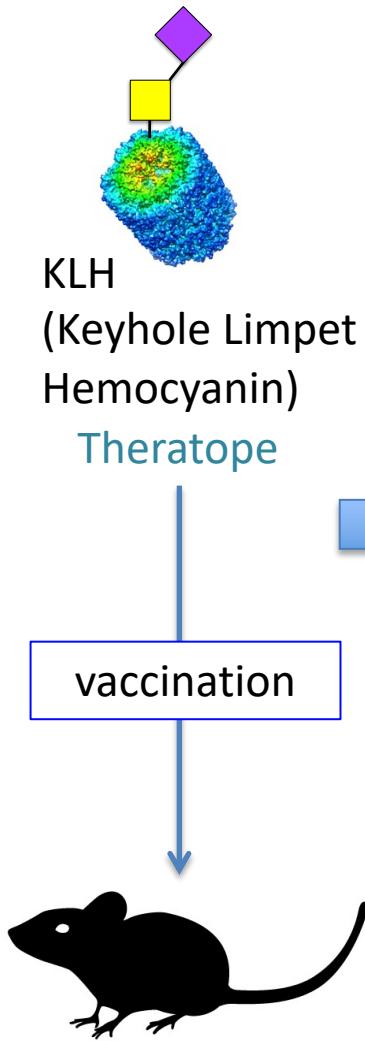
## sTn抗原発現細胞の腹膜播種亢進



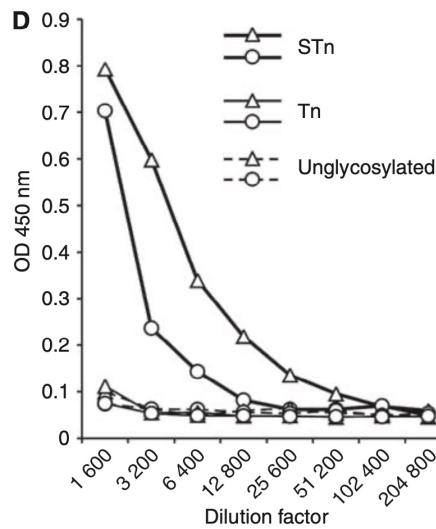
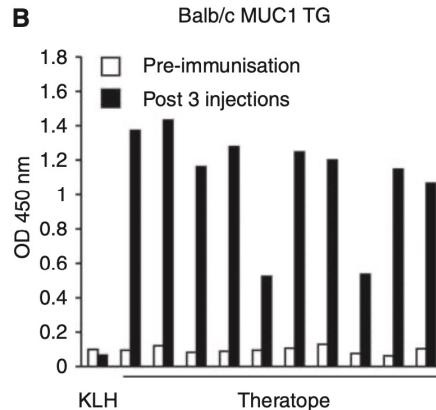
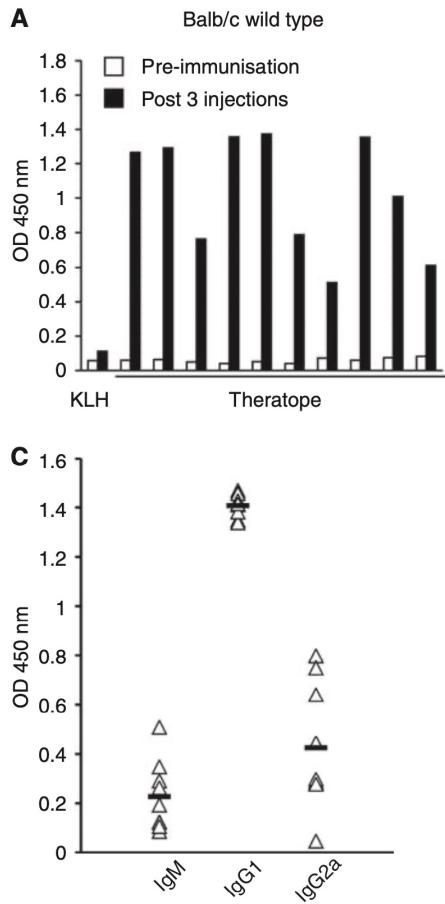
## sTn抗体処理による腹膜播種抑制



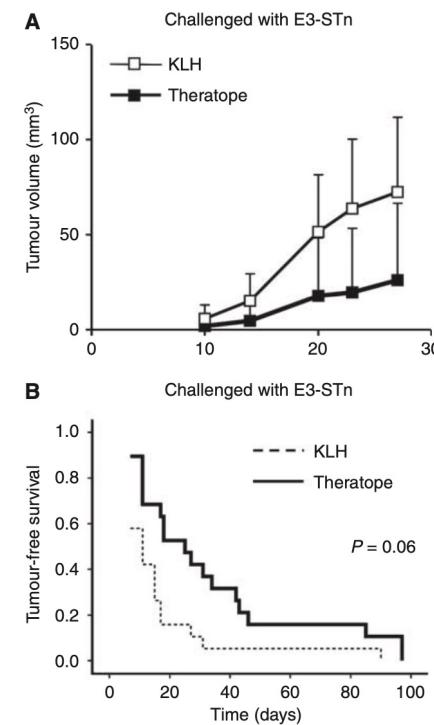
# sTn抗原を標的としたワクチン療法の開発



## sTn抗原特異的抗体の誘導



## 腫瘍抑制効果



# 結論

- sTn抗原は低酸素環境下で転写因子HIF-1によって誘導されるST6GalNAC-IIによって合成される。
- sTn抗原発現細胞は浸潤能を獲得し、高い転移能を有する。
- sTn抗原発現細胞はSiglec-15を介して腫瘍隨伴マクロファージを活性化し、上皮間葉転換をTGF- $\beta$ の分泌を促す。
- sTn抗原発現細胞では細胞外小胞の產生が亢進し、周辺細胞へFAKを輸送する。
- ST6GalNAc-IおよびsTn抗原は、がん転移抑制の標的となる可能性がある。

# 参考文献

Ohtsubo K, Marth JD. Glycosylation in cellular mechanisms of health and disease. *Cell*. 2006 Sep 8;126(5):855-67. doi: 10.1016/j.cell.2006.08.019.

Freeze HH, Chong JX, Bamshad MJ, Ng BG. Solving glycosylation disorders: fundamental approaches reveal complicated pathways. *Am J Hum Genet*. 2014 Feb 6;94(2):161-75. doi: 10.1016/j.ajhg.2013.10.024.

Julien S, Videira PA, Delannoy P. Sialyl-tn in cancer: (how) did we miss the target? *Biomolecules*. 2012 Oct 11;2(4):435-66. doi: 10.3390/biom2040435.

Nakagoe T, Tsuji T, Jibiki M, Nanashima A, Yamaguchi H, Yasutake T, Ayabe H, Arisawa K, Ishikawa H. Pre-operative serum levels of sialyl Tn antigen predict liver metastasis and poor prognosis in patients with gastric cancer. *Eur J Surg Oncol*. 2001 Dec;27(8):731-9. doi: 10.1053/ejso.2001.1199.

Xu F, Li M, Li J, Jiang H. Diagnostic accuracy and prognostic value of three-dimensional electrical impedance tomography imaging in patients with breast cancer. *Gland Surg*. 2021 Sep;10(9):2673-2685. doi: 10.21037/gs-21-348.

Cotton S, Ferreira D, Soares J, Peixoto A, Relvas-Santos M, Azevedo R, Piairo P, Diéguez L, Palmeira C, Lima L, Silva AMN, Lara Santos L, Ferreira JA. Target Score-A Proteomics Data Selection Tool Applied to Esophageal Cancer Identifies GLUT1-Sialyl Tn Glycoforms as Biomarkers of Cancer Aggressiveness. *Int J Mol Sci*. 2021 Feb 7;22(4):1664. doi: 10.3390/ijms22041664.

Peixoto A, Fernandes E, Gaiteiro C, Lima L, Azevedo R, Soares J, Cotton S, Parreira B, Neves M, Amaro T, Tavares A, Teixeira F, Palmeira C, Rangel M, Silva AM, Reis CA, Santos LL, Oliveira MJ, Ferreira JA. Hypoxia enhances the malignant nature of bladder cancer cells and concomitantly antagonizes protein O-glycosylation extension. *Oncotarget*. 2016 Sep 27;7(39):63138-63157. doi: 10.18632/oncotarget.11257.

# 参考文献

Ozaki H, Matsuzaki H, Ando H, Kaji H, Nakanishi H, Ikehara Y, Narimatsu H. Enhancement of metastatic ability by ectopic expression of ST6GalNAcI on a gastric cancer cell line in a mouse model. *Clin Exp Metastasis*. 2012 Mar;29(3):229-38. doi: 10.1007/s10585-011-9445-1. Epub 2012 Jan 8.

Takamiya R, Ohtsubo K, Takamatsu S, Taniguchi N, Angata T. The interaction between Siglec-15 and tumor-associated sialyl-Tn antigen enhances TGF- $\beta$  secretion from monocytes/macrophages through the DAP12-Syk pathway. *Glycobiology*. 2013 Feb;23(2):178-87. doi: 10.1093/glycob/cws139. Epub 2012 Oct 3.

Meng W, Hao Y, He C, Li L, Zhu G. Exosome-orchestrated hypoxic tumor microenvironment. *Mol Cancer*. 2019 Mar 30;18(1):57. doi: 10.1186/s12943-019-0982-6.

Nagao K, Maeda K, Hosomi K, Morioka K, Inuzuka T, Ohtsubo K. Sialyl-Tn antigen facilitates extracellular vesicle-mediated transfer of FAK and enhances motility of recipient cells. *J Biochem*. 2022 May 11;171(5):543-554. doi: 10.1093/jb/mvac008.

Julien S, Picco G, Sewell R, Vercoutter-Edouart AS, Tarp M, Miles D, Clausen H, Taylor-Papadimitriou J, Burchell JM. Sialyl-Tn vaccine induces antibody-mediated tumour protection in a relevant murine model. *Br J Cancer*. 2009 Jun 2;100(11):1746-54. doi: 10.1038/sj.bjc.6605083. Epub 2009 May 12.

# 謝辞

- 大阪国際がんセンター  
谷口直之  
前田賢人
- 東北医科薬科大学  
山口芳樹
- Academia Sinica  
安形高志
- 大阪大学  
黒澤努  
高松真二
- Grant Support  
科研費、熊本大学めばえ研究推進事業、  
大阪対がん協会、日本応用酵素協会、武田科学振興財団
- 理化学研究所  
長田裕之  
是金宏昭
- H.U.グループ  
中央研究所  
犬塚達俊
- 京都大学  
井上正宏  
奥山博昭
- 熊本大学  
藤井格作 池部桂生 橋本華奈子  
田嶋彩香 日和田拓也  
長尾恵介 川上ゆうか  
細見夏純 福嶋昌俊  
伊藤瑠架 宮武優太