

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：「がん関連遺伝子産物の転写後発現調節を標的とした治療法の開発」（乳がんにおける新規O-結合型糖転移酵素の基質特異性の解明と革新的創薬研究）

2. 研究開発代表者： 片桐 豊雅（国立大学法人徳島大学 疾患プロテオゲノム研究センター）

3. 研究開発の成果

（1）BCGT2 基質特異性解明のための結合タンパク質の機能解析

本研究の目的である基質特異性を通じた BCGT2 の機能解明の1つとして、平成 26 年度までに同定した BCGT2 結合タンパク質である小胞体応答シャペロンタンパク質および分泌タンパク質の BCGT2 による糖転移部位の同定について、BCGT2 リコンビナントタンパク質を用いた *in vitro* 糖転移酵素反応後に質量分析を通じて決定した。一方、分泌タンパク質においては糖転移酵素反応後の十分量の反応産物が得られず同定できなかった。次に、小胞体応答シャペロンタンパク質の同定した糖転移部位のアラニン残基変異体コンストラクトを用いた免疫細胞染色法と通じて、正常型とは異なる細胞内局在を観察し、この糖鎖修飾が小胞体応答シャペロンタンパク質の安定性に関与することを明らかとした。

（2）BCGT2 阻害化合物のスクリーニングとリード化合物の同定

平成 27 年度においても継続して、BCGT2 阻害リード化合物同定では、BCGT2 酵素活性阻害および細胞増殖阻害の BCGT2 阻害化合物 107 個のスクリーニング中、*in vitro* 酵素阻害活性 (IC₅₀) 100 nM 未満かつ細胞増殖抑制 (IC₅₀) 1 μM 未満で、BCGT2 陽性細胞 (2 株) と陰性細胞 (1 株) 用いた細胞増殖抑制効果を検討したところ、5 倍以上差のある true hit 化合物を 7 個選抜した。さらに、これら 7 個の細胞増殖抑制効果の認められた化合物のうち、3 個について、BCGT2 高発現が認められるがん細胞における皮下移植モデルマウスを用いた *in vivo* 抗腫瘍効果について検討したところ、溶媒のみの投与群に比較して、2 個の化合物において 20% 程度の抗腫瘍効果を認めた。

（3）乳がん組織の継続的収集、データベース作成および免疫染色による発現解析

分担研究施設である兵庫医科大学病院にて乳がんの手術を受けた患者を対象に、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に基づいてインフォームドコンセント (IC) 取得済みの臨床検体を平成 27 年度に 24 例を収集し、本プロジェクトの研究期間にて合計 264 症例のデータを集積し、臨床病理学的所見ならびに治療効果等に関するデータベースの構築を行った。今回集積した症例は、治療を行っていない乳癌のバイオロジーを検索することが目的であるため、術前療法は行っておらず、また非浸潤癌は除外した。

さらに、平成 27 年度に収集した検体においては、エストロゲン受容体 (ER)、HER2 受容体への免疫組織染色によるバイオマーカーの検索を行った結果、Luminal type (ER+/HER2-)：11 例、Luminal-HER2 type (ER+/HER2+)：1 例、HER2 type (ER-/HER2+)：2 例、TN (ER-/Her2-)：10 例をサブタイプ分類した。さらに増殖マーカーの Ki67 の発現割合を検討した結果、Ki67 低値群 (20%未満) は 5 例 (21%)、Ki67 高値群 (20%以上) は 19 例 (79%) であった。この結果により、平成 26 年度までに収集した検体と合わせ、Luminal type：192 例、Luminal-HER2 type：19 例、HER2 type：16 例、TN：37 例のデータベースを構築した。