

## 22J-pm06S

腎癌において糖鎖修飾は azurocidin の細胞外小胞への搭載を促進し癌を悪性化させる。

○内藤 拓也<sup>1</sup>, 神宮司 健太郎<sup>1,2</sup>, 植田 幸嗣<sup>3</sup>, 植村 元秀<sup>2</sup>, 長谷 拓明<sup>1</sup>, 野々村 祝夫<sup>2</sup>, 辻川 和丈<sup>1</sup> (<sup>1</sup>阪大院薬, <sup>2</sup>阪大院医, <sup>3</sup>がん研)

【背景・目的】当研究室では正常腎と腎癌組織の培養上清および健常人と腎癌患者血清から細胞外小胞(Extracellular vesicles:EVs)を回収し、LC/MSによりタンパク質の網羅的解析を行った。その結果、腎癌組織由来 EVs において azurocidin(AZU1)が高発現していること、腎癌患者血清由来 EVs 特異的に AZU1 が検出されることを明らかとした。さらに、AZU1 高発現腎癌細胞放出 EVs (EV-AZU1) が血管内皮細胞の透過性を上昇させることも明らかとしている。しかし、AZU1 がどのようにして EVs に搭載されるかはわかっていない。そこで本研究では AZU1 の EVs への搭載機構を明らかとするため AZU1 の糖鎖修飾に着目して検討を行った。

【方法】EV-AZU1 を N 型糖鎖修飾切断酵素である PNGaseF で処理し、AZU1 のウェスタンブロット解析を行った。さらに、N 型糖鎖修飾阻害剤であるツニカマイシンで処理した AZU1 高発現腎癌細胞放出 EVs サンプルおよび N 型糖鎖修飾を受けうる箇所に変異を導入した AZU1 (AZU1 mt) を高発現させた腎癌細胞放出 EVs サンプルも同様に AZU1 の発現を検討した。また、AZU1 mt 高発現腎癌細胞放出 EVs が血管内皮細胞透過性に及ぼす影響を endothelial transmigration assay により検討した。

【結果・考察】N 型糖鎖修飾切断により EV-AZU1 バンドのシフトがみられたことから EVs 中の AZU1 が N 型糖鎖修飾を受けていることが明らかとなった。ツニカマイシンおよび変異導入による N 型糖鎖修飾阻害により EVs への AZU1 搭載量が大きく減少した。また、腎癌細胞放出 EVs による血管内皮細胞の透過性上昇は、AZU1 mt の発現により有意に抑制された。このことから腎癌細胞において AZU1 の N 型糖鎖修飾が EVs への搭載や、腎癌細胞の転移に深く関わっていることが示唆された。