

Title	がん関連タンパク質AXLのC型糖修飾が機能に及ぼす影響
Sub Title	The effect of C-mannosylation of AXL, cancer-related protein
Author	森, 研人(Mori, Kento)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2024
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2023.)
JaLC DOI	
Abstract	乳がん細胞におけるAXLのC型糖修飾の影響の評価を行った。まず、ヒト乳がん由来MDA-MB-231細胞においてAXLのC型糖修飾は未確認であったため、AXLの細胞外ドメインを過剰発現させ、培養上清より精製を行った。このサンプルについて質量分析を行い、C型糖修飾の有無を確認した。その結果、MDA-MB-231細胞においてもAXLのC型糖修飾が検出された。 次に、機能解析を行うための細胞の樹立に取り組んだ。MDA-MB-231細胞は内在的にAXLを発現しているため、まずCRISPR/Cas9システムを利用してAXLを遺伝子ノックアウト(KO)した細胞を作製した。次に、このAXL-KO細胞に対して野生型のAXL、あるいはC型糖修飾を受けるトリプトファンをフェニルアラニンに置換したC型糖修飾欠損型変異体(WF)を再発現させた細胞を樹立した。これらの細胞を用いて、AXLのC型糖修飾がMDA-MB-231細胞における機能に及ぼす影響を評価した。 機能解析にあたり、血管擬態という現象に着目した。がんの腫瘍は外部から酸素や栄養を獲得するために、既存の血管に対して新たな血管の形成を誘導することで血液供給経路を確保しようとする。これを血管新生と呼び、がんの分子標的治療の主要なターゲットとして知られている。しかし、一部のがんでは血管新生の代わりにがん細胞自身が血管様ネットワーク構造を構築することがある。これが血管擬態である。先行研究において、MDA-MB-231細胞の血管擬態形成において、AXLの発現が重要であることが示唆されている。そこで、血管擬態とAXLのC型糖修飾の関係について評価した。その結果、一度AXLをKOし野生型AXLを再発現させた細胞と比較して、WFを再発現させた細胞では血管擬態形成が抑制された。このことから、AXLのC型糖修飾の阻害は血管擬態形成を負に制御することが示唆された。 本研究によって、乳がん細胞においてAXLのC型糖修飾が確認され、またC型糖修飾がAXLの機能に影響を及ぼすことが示唆された。 We evaluated the effect of C-mannosylation of AXL in breast cancer cells. First, since the C-mannosylation of AXL was not confirmed in human breast cancer MDA-MB-231 cells, the extracellular domain of AXL was overexpressed and purified from the culture supernatant. Mass spectrometry was performed on this sample to confirm the presence of the C-mannosylation. As a result, the C-mannosylation of AXL was detected in MDA-MB-231 cells. Next, we established the cells for functional analysis: since MDA-MB-231 cells express AXL endogenously, we first established AXL knockout (KO) cells using CRISPR/Cas9 system. Next, we re-expressed wild-type AXL or a C-mannosylation defective mutant (WF) in AXL-KO cells. Using these cells, we evaluated the effect of C-mannosylation of AXL on its function in MDA-MB-231 cells. We focused on vasculogenic mimicry (VM). In order to obtain oxygen and nutrients, cancer tumors try to construct blood supply routes by inducing the formation of new blood vessels from existing vessels. This is called angiogenesis and is known as a major target of molecular targeted therapy for cancer. However, in some cancers, instead of angiogenesis, cancer cells themselves construct a vascular-like network structure. This phenomenon is VM. Previous studies have suggested that AXL expression is important for the formation of VM in MDA-MB-231 cells. Therefore, we evaluated the relationship between VM and C-mannosylation of AXL. We found that VM formation was suppressed in WF re-expressing cells compared to wild-type AXL re-expressing cells. This suggests that inhibition of the C-mannosylation of AXL negatively regulates VM formation. This study confirmed the C-mannosylation of AXL in breast cancer cells and suggested that the C-mannosylation affects AXL function.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2023000010-20230250

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)
森 研人、水田 隼斗、 鈴木 健裕、和氣 麗、 林 聡一郎、堂前 直、 片山 量平、清水 史郎	がん関連タンパク質AXLにおける C-mannosylationの発見とその機能解析	日本農芸化学会関東支部 2023年度大会	2023年8月
Kento Mori, Hayato Mizuta, Takehiro Suzuki, Soichiro Hayashi, Urara Waki, Naoshi Dohmae, Ryohei Katayama, Siro Simizu	The Function of C-mannosylation of AXL, a Cancer-related Protein	Glyco 26	2023年8-9月
森 研人、水田 隼斗、 鈴木 健裕、和氣 麗、 林 聡一郎、堂前 直、 片山 量平、清水 史郎	Identification and functional analysis of C-mannosylation in receptor tyrosine kinase AXL	第82回日本癌学会学術総会	2023年9月