

戦略的創造研究推進事業 CREST  
研究領域「糖鎖の生物機能の解明と利用技術」  
研究課題「癌の進展における細胞接着性  
機能糖鎖の解明」

## 研究終了報告書

研究期間 平成14年11月～平成20年 3月

研究代表者:神奈木玲児  
(愛知県がんセンター分子病態学部・部長)

## 1 研究実施の概要

本研究では、糖鎖が機能性分子としてがんの進展で主役を演じる局面を解明し、新利用技術を開発してがんの診断・治療に展開応用を試みる。糖鎖の機能には大別して細胞識別機能とシグナル分子機能の二つがある。セレクチンと糖鎖リガンドを介したがん細胞の接着においては糖鎖の細胞識別・接着機能が良く発揮されており、がん細胞の CD44-ヒアルロン酸シグナル伝達系においては糖鎖のシグナル分子としての機能が良く発揮されている。本研究ではこれらの糖鎖を介した二つの細胞接着系のがん進展との関わりを研究する。

セレクチンと糖鎖リガンドを介した細胞接着の研究を担当する四つの研究グループのうち**神奈木グループ**は、細胞接着分子セレクチンとその特異的リガンド糖鎖を介した細胞接着のがんの進展における意義を明らかにすることを目的とした。セレクチンの特異的リガンドであるシアリル Le<sup>x/a</sup> 糖鎖の発現は、がんの発生母地である正常上皮細胞とくらべ、癌化した細胞では著しく亢進している。本研究においては、がんにおけるシアリル Le<sup>x/a</sup> 糖鎖の発現亢進のメカニズムを明らかにし、さらにこれら糖鎖のがん進展における機能的意義を明らかにする事を目標とした。白血病細胞、とくに成人T細胞性白血病ではセレクチンの特異的リガンドであるシアリル Le<sup>x</sup> 糖鎖の発現が著しく亢進するが、これが成人T細胞性白血病のウイルスである HTLV-1 ウイルスによってコードされる Tax 蛋白質が、シアリル Le<sup>x</sup> 糖鎖の合成糖転移酵素遺伝子の転写を強く誘導することによることを明らかにした。これに関連して、シアリル Le<sup>x</sup> 糖鎖の正常白血球、特にTリンパ球における発現は、合成糖転移酵素遺伝子の転写のレベルで精密に調節されていることを明らかにした。また固形がんにおいては、がんの発生母地である正常上皮細胞にはシアリル Le<sup>x/a</sup> 糖鎖と合成系を共通にしながら、シアリル Le<sup>x/a</sup> 糖鎖よりさらに複雑な構造を有する糖鎖が発現していることを明らかにした。がん化に伴ってこれら複雑な糖鎖の合成が不全となり、これによってがん細胞にシアリル Le<sup>x/a</sup> 糖鎖の発現が誘導されることが明らかとなった。すなわち、「糖鎖不全現象」の機構が早期がんにおけるシアリル Le<sup>x/a</sup> 糖鎖の発現誘導に関与している。その背景には、正常細胞において複雑な構造を有する糖鎖を合成する糖鎖関連遺伝子の DNA メチル化などによるエピジェネティックな発現抑制がある。局所進行癌の段階には、がん細胞におけるシアリル Le<sup>x/a</sup> 糖鎖の発現はさらに亢進する。その背景には、局所進行癌病巣において低酸素抵抗性を獲得したがん細胞のもつ転写因子 hypoxia inducible factor による一連の糖鎖関連遺伝子の転写誘導があることを明らかにした。

セレクチンの糖鎖リガンドであるシアリル 6-スルホ Le<sup>x</sup> 分子中のシアリ酸は、脱アセチル化ののちさらに環状ラクタム化されてサイクリックシアリル 6-スルホ Le<sup>x</sup> となり、この変化によってセレクチンとの結合が制御される。**北島グループ**では、このようなシアリ酸構造の変化による細胞接着の制御機構の生体内における普遍性の検証と、シアリ酸構造の人為的改変による細胞接着機能の制御を目指して、(1)サイクリックシアリル酸形成とセレクチンおよび関連シアリル酸結合分子を介する細胞接着制御の解明、(2)その他のシアリル酸構造変化による細胞接着制御の解明、(3)シアリル酸を介する相互作用の人為的制御による癌の進展防御の技術基盤の開発を行なう。(1)については、16年度までに、サイクリックシアリル酸の普遍的な存在証明のために、その残基のユニークな化学的性質を見いだすとともに、モデル化合物を用いて化学的検出法を考案した。17 および 18、19 年度ではその方法を正常および癌細胞に適用するための種々の質量分析法を駆使しながら微量検出法の開発に取り組み、その目処を得るとともに、様々な正常および癌細胞での質量分析による定量法

の基盤の確立をほぼ達成した。(2)については、18年度までに、乳腺、ミクログリア細胞、乳癌にポリシアル酸構造をみいだした。またKDN、ジシアル酸構造、硫酸化シアル酸構造などユニークなシアル酸について、癌組織、培養細胞における存在検索を進め、いくつかの担体分子の同定に成功した。19年度には、特に、癌におけるKDN量の増大を低酸素順応の性質によることをつきとめ、診断、治療につながる知見が得られた。(3)について、18年度までに、サイクリックシアル酸特異的分解酵素活性を天然に見いだした。この酵素は微弱な活性であり、大量調製に適した精製法を検討した結果、現在ようやく目処がたった。今後、酵素の精製を成功させてこの酵素の利用を目指している。また、分子シャペロン熱ショックタンパク質にシアル酸認識分子結合活性を見いだし、血液中においてその複合体の存在を見いだした。この複合体は、シアル酸をもつ糖鎖のような抗原性の低い分子の免疫源として優れている可能性があり、そこから癌の免疫療法への応用が期待される。

**土肥グループ**は癌における糖鎖異常のメカニズムとして糖鎖不全現象に着目した。我々は Sd<sup>a</sup> 血液型糖鎖が正常消化管にのみ発現するが、癌組織ではその発現が著明に低下すること、癌細胞の転移能がこの糖鎖の発現に依存することを明らかにしていた。また、その糖鎖の発現低下はその合成酵素 Sda-β4GalNAcT の発現の低下によるものであった。本研究では発現低下のメカニズムを解明するため、癌細胞株のメチル化阻害剤処理やメチル化酵素欠損細胞を用いた解析を行い、Sda-β4GalNAcT 遺伝子のプロモーター領域にある CpG 配列が DNA 高メチル化を受けているため遺伝子サイレンシングがおこっていることを見いだした。また、実際の胃がん、大腸癌組織でも強い DNA メチル化がおこっていることが明らかとなった。さらに、Sda-β4GalNAcT の他にも遺伝子サイレンシングによって糖鎖不全に関与している糖鎖関連分子がないか、44の糖鎖関連遺伝子について癌細胞株で検討した結果、糖鎖関連遺伝子の中に Sda-β4GalNAcT と連動して DNA メチル化を受けて発現低下している遺伝子があることを見いだした。これらの一群の遺伝子は、胃がん組織でも同時に DNA メチル化サイレンシングがみられた。また、糖鎖不全により欠失する正常型糖鎖の機能を明らかにすることを最終目的とし、ヒト大腸粘膜で、正常型糖鎖認識蛋白(シグレック)を発現する免疫担当細胞の同定をこころみたと、シグレック7陽性細胞、シグレック9陽性細胞ともマクロファージ系の細胞分画内に存在することが明らかとなり、正常型糖鎖が消化管免疫恒常性維持に関与していることが示唆された。

**小島グループ**は、細胞や組織から得られる多様なオリゴ糖鎖を人工糖脂質化した糖鎖ライブラリーとして調製し、このライブラリーから接着機能性のオリゴ糖鎖をスクリーニング後、機能性糖鎖の構造を解析する技術を構築すること、さらに構築された解析法を用いてセレクトインのリガンド糖鎖をはじめとしてがん細胞の多様な細胞接着性糖鎖を解明することを目的とした。この目的を達成するために、ジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン(DPPE)とパラアミノ安息香酸(ABA)とをカルボジイミドで縮合させて蛍光脂質プローブ(ABA-DPPE)を合成し、このプローブと市販オリゴ糖とを還元アミノ化反応により縮合して定量的に蛍光人工糖脂質へと導く方法を確立した。また、蛍光人工糖脂質の PVDF 膜上への固定化と抗体での検出、膜上でのホスホリパーゼ D 消化による人工糖脂質からの蛍光標識糖鎖の回収、および蛍光標識糖鎖の HPLC による分離が系統的に行なえることをモデル糖鎖により確認した。しかし、HPLC での分離条件を設定する場合に溶媒系が限られ、分離が困難であるなどの欠点が認められたので、新たな標識脂質プローブを用いて糖タンパク質糖鎖から誘導される人工糖脂質ライブラリーの解析法を構築した。このプローブから調整

した人工糖脂質ライブラリーは ODS カラムを用いた HPLC によりアセトニトリル系溶媒で PA 化糖鎖と同じように糖鎖構造の違い(糖鎖の長さ)によって分離可能であった。そこで微量人工糖脂質ライブラリーをマイクロ LC とスポッターを用いてカラムからの溶出液を直接 PVDF 膜や HPTLC プレート上ドットスポットし、人工糖脂質ライブラリーとして展開した。このようにして作成された糖鎖の人工糖脂質ライブラリーはレクチンや抗体などの糖鎖認識機能性分子を用いて検出でき、また質量分析計で構造を解析することが可能であった。一方、大腸がん細胞株における細胞表面上の機能的な E-セレクトリンリガンド分子の探索と調製を細胞膜マイクロドメインに着目して行った。その結果、細胞表面上ではマイクロドメインに局在するシアリル Le<sup>a</sup> 糖鎖発現分子が機能的なリガンドとして働いており、これら機能性リガンドを含むコレステロール非依存的なマイクロドメインが機能的リガンドドメインを構成していて、細胞表面で E-セレクトリンとの接着を介したシグナル伝達のプラットフォームになっていることが示唆された。

CD44 とヒアルロン酸の研究を担当する二つの研究グループのうち**浜口グループ**はヒアルロン酸合成が活性化している v-Src 癌化細胞やヒト癌由来細胞株を用いて、ヒアルロン酸合成酵素とそのレセプターである CD44、あるいはその下流のシグナル伝達因子を標的とする siRNA アンチセンスを開発し、癌細胞の浸潤転移を抑制する新たな遺伝子治療法を開発することを研究目的としている。細胞外マトリックスのヒアルロン酸とそのレセプターである CD44 は、種々の生理機能を担うと共に、その合成・発現の増大が大腸癌、肺癌、乳癌やグリオーマ等で観察され、腫瘍マーカーとしても注目されている。腫瘍組織におけるヒアルロン酸合成の活性化は、1930 年代からラウス肉腫ウイルスによる発癌過程で観察されている。しかしその生理・病理的意義は長らく不明のままであった。本研究では、癌細胞において恒常的に活性化されているシグナル伝達系に焦点をあて、特定のシグナル伝達因子に対する siRNA やアンチセンスを癌細胞に導入し、そのヒアルロン酸依存細胞運動や、マトリックスメタロプロテナーゼの分泌に対する作用を調べる。これまでにヒアルロン酸合成酵素(HAS1, HAS2, HAS3)に対する特異抗体を作成し、これを用いて v-Src が STAT3 依存的にヒアルロン酸合成酵素特に HAS2 の発現を活性化する事を明らかにした。さらにヒアルロン酸合成と CD44 発現の腫瘍特異的活性化機構の解析とそれを標的とする癌細胞浸潤阻害法を研究し、FAK、Stat3、Ras/MAPK/AP-1 が重要なシグナル伝達因子として機能し、HAS,1 HAS2 の転写を活性化、ヒアルロン酸合成を活性化する事を明らかにした。さらに、FAK、Stat3、Jun に対する siRNA を開発し、これらの蛋白質合成を抑制する事に成功した。また BATF による癌浸潤転移の抑制については、Stat3 の下流で AP-1 と拮抗する因子として、BATF を見いだした。ヒアルロン酸合成が亢進している v-Crk 癌化細胞に、条件依存性に BATF を発現できる系を確立した。BATF 発現によりヒアルロン酸の合成を抑制できる事を確認した。更にこの減少を補完する系として、D/Nfos や c-Jun に対する siRNA の開発を行い、同様の結果を得つつある。更に新たな展開として、ヒアルロン酸/CD44シグナルの研究の他、癌細胞で発現が低下する糖蛋白質 SHPS-1 について研究を進めたところ、SHPS-1/SHP-2 が炎症性サイトカインや ConA による MMP 産生に重要な役割を担う事を見いだした。更に、SHPS-1 が ConA の機能的なレセプターとして細胞内シグナルの活性化にかかわる事を見いだした。そこで、ヒアルロン酸と合わせて、ConA/SHP-1 の細胞機能に及ぼす影響を解析した。

**板野グループ**は、癌組織、特に進行癌においてその産生増加が指摘されているヒアルロン酸糖鎖分子とその受容体分子に着目し、癌進展との関係解明、更には、ヒアルロン酸合成を作用点とし

た制癌・抗転移薬の開発を目指した。先ず、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸受容体 CD44、そしてヒアルロン酸結合蛋白質 SHAP の三者複合体によって発信される糖鎖情報について、ヒアルロン酸と CD44 の相互作用を SHAP が増強する新たな機構を世界に先駆けて証明した(J. Biol. Chem. 2006 年に発表)。次に、ヒアルロン酸合成酵素(HAS)遺伝子を強発現あるいは抑制した癌細胞株を樹立して、ヒアルロン酸と癌細胞の増殖性や、運動能、造腫瘍性、転移性について評価した。そして、ヒアルロン酸の過剰な産生と異常なマトリックスの形成が、過度の細胞増殖を引き起こし、癌細胞の浸潤を特徴づける細胞運動の促進に働くことを明らかにした。一方、ヒアルロン酸合成を低下させた場合には、癌細胞の運動性と腹膜播種転移が有意に抑制されることを見出した(J. Biol. Chem. 2004 年に発表)。ヒアルロン酸の過剰産生を伴って進展するヒト乳癌の病態解明を目的に、ヒアルロン酸合成酵素 2 (HAS2) 遺伝子を誘導性に発現するトランスジェニックマウスを作製し、乳癌特異的にヒアルロン酸を過剰に産生するモデルマウスを樹立した。発生した乳癌の組織像から、ヒアルロン酸過剰産生群は対照群に比して、その腫瘍内に顕著な間質反応を示すこと、さらに免疫組織学的解析から、血管やリンパ管が腫瘍内に著しく新生していることを明らかにした。血管やリンパ管は主に腫瘍間質内あるいはその近傍に新生していることから、腫瘍間質が血管形成の“場”として機能していると考えられた。以上の解析から、当該モデルマウスが、間質反応を伴うヒト進行性乳癌の病態モデルとして、癌進展や転移における病態解明と病態の進行阻止に向けた技術開発に極めて強力なツールと成り得ることが明らかとなった(Am. J. Pathol. 2007 に発表及び印刷中)。

上記結果から、異常なヒアルロン酸合成を正常化することで、癌の退縮や転移の阻止が可能と考えられた。そこで、ヒアルロン酸糖鎖合成を作用点とした制癌・抗転移薬の開発を目的に、従来報告のあるヒアルロン酸合成阻害剤 4-メチルウンベリフェロン(MU)について、その阻害機序の解明を試みた。細胞培養下に MU を添加すると、細胞内在性 UDP-グルクロン酸糖転移酵素(UGT)の働きにより、UDP-グルクロン酸からグルクロン酸が MU に糖転移した MU-グルクロン酸が生成することを見出した。そして、UGT による糖転移反応が、ヒアルロン酸合成基質である UDP-グルクロン酸の細胞内プールを著しく低下させて、間接的にヒアルロン酸合成阻害に働くという新たな阻害の機序を明らかにした(J.Biol.Chem.2004 年に発表)。一方、ヒアルロン酸無細胞合成系の確立を目指して、バキュロウイルス発現系によるヒト HAS2 蛋白質の大量発現と可溶化並びに部分精製に成功し、ヒアルロン酸糖鎖合成阻害剤のハイスループットな探索を可能にする技術基盤を確立した。

## 2 研究構想及び実施体制

### (1) 研究構想

本研究の当初計画においては、細胞接着分子としてセレクチンファミリーと CD44 とを取り上げ、その糖鎖リガンドのがんにおける病態的意義を解析することを計画していた。がんにおいてセレクチンの糖鎖リガンドを産生している合成経路は不全に陥っており、この合成経路が正常の上皮細胞でほんらい合成している複雑な構造をした糖鎖は、Siglec の糖鎖リガンドであることが判明した。Siglec ファミリーの糖鎖認識分子の糖鎖リガンドの研究は、当初計画では想定されていなかったものである。今後、がんの病態発生に関連する事項については、Siglec についての研究も本研究計画にあらたに含めることとした。その結果、Siglec-7, Siglec-9, Siglec-2 について新規の糖鎖リガンドを見いだした。また、本研究の結果、こうした糖鎖不全現象の背景には、正常上皮細胞で複雑な糖鎖を合成している糖鎖遺伝子の、DNA メチル化によるエピジェネティックな転写抑制機構が存

在することが判明したため、計画途中から土肥多恵子班員に分担研究者として加入し、この方面の検討を担当していただくこととした。

セレクトインの糖鎖リガンドであるシアリル 6-スルホ  $Le^X$  分子中のシアル酸は、脱アセチル化、さらに環状ラクタム化されて、セレクトインとの結合が制御される。北島グループでは、このようなシアル酸構造の変化による細胞接着の制御機構の生体内における普遍性の検証と、シアル酸構造の人為的改変による細胞接着機能の制御を目指して、(1)サイクリックシアル酸形成とセレクトインおよび関連シアル酸結合分子を介する細胞接着制御の解明、(2)その他のシアル酸構造変化による細胞接着制御の解明、(3)シアル酸を介する相互作用の人為的制御による癌の進展防御の技術基盤の開発を行った。(1)については、これまでにサイクリックシアル酸の普遍的な存在証明のために、その残基のユニークな化学的性質を見いだすとともに、モデル化合物を用いて化学的検出法を考案した。サイクリックシアル酸の性質が予測を超える特徴的な性質をもつため、検出法の確立には予想以上に時間がかかったが、質量分析を用いた検出法の技術基盤を確立することができた。今後、さらなる微量検出法さらには簡便検出法の開発を進め、癌との発現を確実に証明することが必要である。(2)については、乳腺およびマイクログリア細胞上に新たにポリシアル酸構造をみだし、乳癌細胞でのポリシアル酸の検出を行った。また KDN、ジシアル酸構造、硫酸化シアル酸構造などユニークなシアル酸について、癌組織、培養細胞における存在検索を進めた。これらのシアル酸エピトープは、自己抗原であり、有用な検出抗体を調製することは容易ではないが、本プロジェクトによっていくつもの有用モノクローナル抗体が得られた。これらの基盤をもとに、今後は癌進展におけるこれらのシアル酸の役割を探求することが可能になり、それが新たな目標である。(3)については、まず、サイクリックシアル酸に対する特異的な検出および機能探求プローブの開発を推進して成果を得た。特に、今後の目標として、これまでに天然から見いだした新規のサイクリックシアル酸特異的分解酵素活性を利用可能な形にすることが挙げられる。その他のシアル酸誘導体については、上述の種々のモノクローナル抗体を利用した診断、治療法の開発が今後の重要な目標となる。さらには、シアル酸の修飾を司る代謝酵素の遺伝子を同定することは、今後の重要な方向性である。

癌性糖鎖の発現異常は癌細胞の転移能など予後にも関連する癌の悪性形質の重要な因子である。土肥グループは癌性糖鎖の発現異常のメカニズムとして糖鎖不全現象に着目し、糖鎖不全を引き起こす機序としてとくに糖鎖合成遺伝子の DNA メチル化に着目した。即ち正常上皮細胞では多彩な糖鎖が合成されているが、病変部ではその合成経路の一部に不全・障害が生じるため、正常型糖鎖の発現が低下し、癌に特有な腫瘍型糖鎖が出現するに至る現象である。我々は  $Sd^a$  血液型糖鎖が正常消化管にのみ発現するが、癌組織ではその発現が著明に低下すること、癌細胞の転移能がこの糖鎖の発現に依存することを明らかにしていた。また、その糖鎖の発現低下はその合成酵素  $Sda-\beta 4GalNAcT$  の発現の低下によるものであり、DNA メチル化が重要であることも見いだしていた。そこで、この結果を発展させるべく、18 年度より本研究を開始した。まず  $Sd^a-\beta 4GalNAcT$  遺伝子のエピジェネティックな変化を明らかにするとともに、その DNA メチル化を症例で解析することとした。さらに、 $Sda-\beta 4GalNAcT$  の他にも遺伝子サイレンシングによって糖鎖不全に関与している糖鎖関連分子がないか、癌細胞株と正常組織の比較や DNA メチル化酵素欠損細胞の検討を行うこととした。この結果、糖鎖関連遺伝子の中に  $Sda-\beta 4GalNAcT$  と連動して DNA メチル化を受ける遺伝子があることを見いだしたため、この点についても詳しく症例で検討することと

した。さらに、糖鎖不全により欠失する糖鎖の機能を明らかにすることを最終目的とし、ヒト大腸粘膜で糖鎖認識蛋白(シグレック)を発現する免疫担当細胞を同定すること、既知の糖鎖認識タンパクのなかに、Sd<sup>a</sup> 糖鎖を認識するものがあるかどうかを検討した。ヒト大腸粘膜ではシグレック陽性細胞は CD33 陽性マクロファージ系の細胞にあることが明らかとなったので、さらに慢性炎症での状態も検討し、この細胞の消化管の免疫学的恒常性維持機構における意義の解明をめざした。

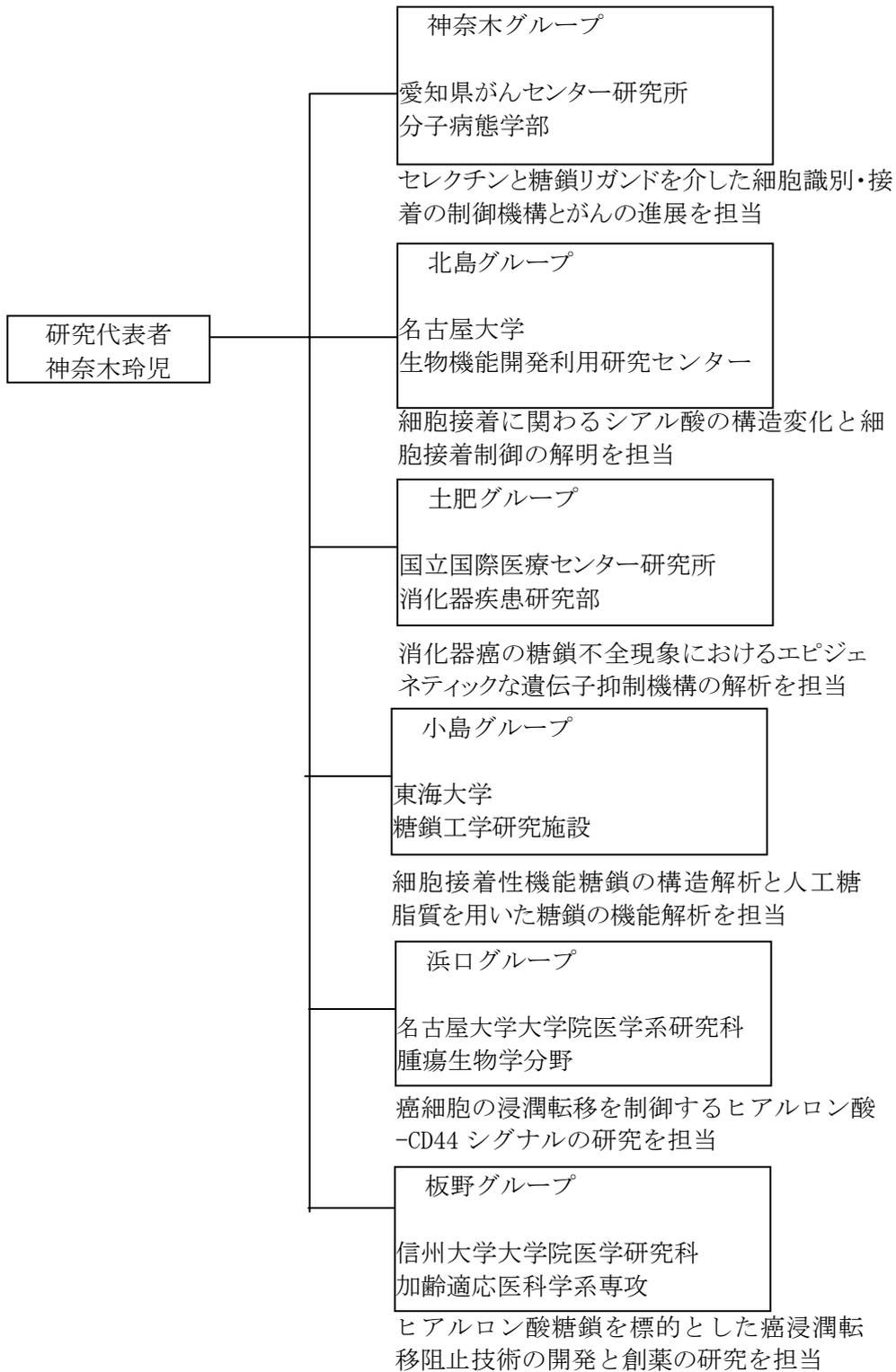
小島グループは当該研究機関の有する糖鎖構造解析技術および人工糖脂質の作製・ハンドリング技術を活用して各種オリゴ糖および糖アミノ酸・ペプチドから変換した人工糖脂質を大量に調製し、それらをシアル酸転移酵素やフコース転移酵素などにより修飾することで、既知あるいはこれまでに見いだされていないような接着機能性糖鎖の人工糖脂質ライブラリーを作製し機能解析に応用することを目標として計画を立案した。しかし細胞や糖タンパク質に存在する様々な構造未知の糖鎖から特定の機能を有する糖鎖を検出しその構造を解析する方法は未だ存在していないことから、本計画実施に際しては、細胞や組織の糖鎖を膜等に固定化可能な人工糖脂質に誘導・ライブラリー化し、この人工糖脂質ライブラリーから接着機能性のオリゴ糖鎖をスクリーニング後その構造を解析する技術を確立し、この技術を用いてセレクトインリガンドの糖鎖の接着機能と構造解析を行う戦略を立てた。その為に、蛍光ラベルを導入したリン脂質誘導体を合成することを目指した。このプローブを用いるとホスホリパーゼ消化により人工糖脂質を水溶性の蛍光糖鎖に変換できるので、糖脂質のもつ機能解析へのメリットと標識糖鎖のもつ構造解析へのメリットの両者を持つと考えられた。このプローブを用いて糖鎖の解析するための諸条件を検証し、当初の目標を達成しうるプローブとして使用できる目処が見ついたが、天然糖タンパク質の糖鎖に実際に適応してみたところ、リン脂質を基盤とする人工糖脂質には分離上の欠点が認められたので、HPLC の分離に適した新たな標識脂質プローブ(リポドプローブ X)を探索・開発した。最終的にリポドプローブ X 用いた人工糖脂質の分離方法の構築に取り組み、微量人工糖脂質ライブラリーの分離・固定化・検出・解析に至る一連の技術を確立した。一方、これまで大腸がん細胞株の E-セレクトインリガンドとして様々な分子が候補として挙げられているが、細胞上でどの分子のどのような糖鎖構造が E-セレクトインとの結合や認識に寄与しているのか未だに明らかではなかった。従って E-セレクトインリガンド糖鎖の解析を行うためには、実際に細胞表面上で機能している E-セレクトインリガンド分子を単離する必要がある。そこでまず機能性リガンドの探索を行ったところ、E-セレクトインリガンドとなるシアリルルイス a 型糖鎖発現分子がマイクロドメイン中に局在していることを見いだした。マイクロドメインは情報伝達のプラットフォームとして知られているので、マイクロドメイン中に局在するシアリルルイス a 陽性糖タンパク質が機能的なリガンドかどうかを検証し、上記のような成果に繋がった。

CD44 とヒアルロン酸の研究を担当する二つの研究グループのうち浜口グループは、ヒアルロン酸合成が活性化している v-*Src* 癌化細胞やヒト癌由来細胞株を用いて、ヒアルロン酸合成酵素とそのレセプターである CD44、あるいはその下流のシグナル伝達因子を標的とする siRNA アンチセンスを開発し、癌細胞の浸潤転移を抑制する新たな遺伝子治療法を開発しようと試みた。細胞外マトリックスのヒアルロン酸とそのレセプターである CD44 は、種々の生理機能を担うと共に、その合成・発現の増大が大腸癌、肺癌、乳癌やグリオーマ等で観察され、腫瘍マーカーとしても注目されている。しかしその生理・病理的意義は長らく不明のままであった。浜口グループの研究から、ヒアルロン酸合成とそのシグナル伝達に FAK、Stat3、Ras/MAPK/AP-1 が重要なシグナル伝達因子として機能し、HAS1、HAS2 の転写を活性化、ヒアルロン酸合成を活性化する事を明らかになった。さら

に、FAK、Stat3、Jun に対する siRNA を開発し、これらの蛋白質合成を抑制する事に成功した。また、Stat3 の下流で、AP-1 と拮抗する因子として、BATF を見いだした。ヒアルロン酸合成が亢進している v-Crk 癌化細胞に、条件依存性に BATF を発現できる系を確立した。BATF 発現によりヒアルロン酸の合成を抑制できる事を確認した。更にこの減少を補完する系として、D/Nfos や c-Jun に対する siRNA の開発を行い、同様の結果を得つつ有る。更に新たな展開として、ヒアルロン酸/CD44 シグナルの研究の他、癌細胞で発現が低下する糖蛋白質 SHPS-1 について研究を進めたところ、SHPS-1/SHP-2 が炎症性サイトカインや ConA による MMP 産生に重要な役割を担う事を見いだした。更に、SHPS-1 が ConA の機能的なレセプターとして細胞内シグナルの活性化に関わる事を見いだした。そこで、ヒアルロン酸と合わせて、ConA/SHP-1 の細胞機能に及ぼす影響を更に解析中である。また、人乳癌細胞に SHPS-1 を強制発現すると、通常の培養条件では増殖に変化が認められなかったが、がん細胞に特異的な増殖である足場非依存増殖が著明に抑制されることを明らかにした。さらに、SHPS-1 の強制発現によって、細胞の Rho シグナルが活性化され、アクチンストレスファイバーの形成と、細胞接着斑の回復が認められた。この結果は、SHPS-1 ががん抑制遺伝子としての機能を持つことを示す。

**板野グループ**は、ヒアルロン酸糖鎖を標的とした癌浸潤転移阻止技術の開発と創薬を担当した。そして、ヒアルロン酸糖鎖とその受容体 CD44 との相互作用によって発信される糖鎖情報を解読して、ヒアルロン酸の合成異常が癌の進展に果たす役割を解明することを第一の課題とし、また、ヒアルロン酸合成を作用点とした制癌・抗転移薬の開発を第二の課題として目標を設定した。ヒアルロン酸と受容体 CD44 との相互作用によって発信される糖鎖情報の制御機構に関して、ヒアルロン酸結合蛋白質 SHAP がヒアルロン酸-CD44 相互作用を調節する仕組みの解明を試みた。また、HAS 遺伝子を強発現あるいは抑制した癌細胞株を樹立して、癌細胞の増殖性や、運動能、造腫瘍性、転移性について評価することを計画した。乳癌の進展におけるヒアルロン酸の役割について、HAS2 遺伝子を誘導性に発現するトランスジェニックマウスから、乳癌特異的にヒアルロン酸を過剰に産生するモデルマウスを樹立し、病態の解析を計画した。ヒアルロン酸糖鎖合成を作用点とした制癌・抗転移薬の開発に関して、従来報告のあるヒアルロン酸合成阻害剤 MU について阻害機序を明らかにし、その情報に基づき新規阻害剤を開発することを試みた。また同時に、無細胞ヒアルロン酸合成系を確立して、ハイスループットな阻害剤の探索を目指した。乳癌特異的にヒアルロン酸を強発現するトランスジェニックマウスを開発して解析した結果、当該マウスに発生した乳癌は、腫瘍間質の形成や血管・リンパ管の新生を伴って進行し、ヒト進行性乳癌の病態を極めてよく反映していることが明らかとなった。言い換えれば、ヒアルロン酸糖鎖合成を制御して腫瘍間質の形成を抑制し、癌の進展に密接に関連する広範な癌病態(血管新生やリンパ管新生、腫瘍増殖、転移等)を制御することも可能と考えられる。このような新展開から、今後、阻害剤開発のための新たな知見に基づき、あるいは新規に確立した無細胞ヒアルロン酸合成系を駆使して新規阻害剤を開発し、当該進行性乳癌モデルマウスを用いた動物試験により前臨床試験を進め、臨床応用のための基礎的な情報を得るといふ新しい目標が生じた。

(2)実施体制



### 3 研究実施内容及び成果

#### 3.1 セレクチンと糖鎖リガンドを介した細胞識別・接着の制御機構とがんの進展(愛知県がんセンター 神奈木グループ)

##### (1)研究実施内容及び成果

細胞が悪性化するとさまざまな糖鎖異常が出現する。とくに細胞接着分子セレクチンのリガンドであるシアリル Le<sup>x</sup> やシアリル Le<sup>a</sup> 糖鎖の発現は癌細胞で亢進し、これらの糖鎖と血管内皮 E-セレクチンとの結合により癌の血行性転移や腫瘍血管形成が促進される。本グループは、細胞接着分子セレクチンとその特異的リガンド糖鎖を介した細胞接着の機能的意義を明らかにすることを研究目的としている。

##### (1) 白血病細胞のセレクチン糖鎖リガンド発現の誘導機構

白血球とくにリンパ球系細胞のシアリルルイス x 糖鎖の発現においては、フコース転移酵素のうち七番目のアイソザイム(Fuc-T VII)が重要な役割を演じる。白血球の悪性疾患である白血病では、とくに本邦に多発する成人T細胞性白血病の腫瘍細胞にシアリルルイス x 糖鎖が高発現し、その発現の程度はこの白血病細胞の組織浸潤と相関することから、成人T細胞性白血病細胞における Fuc-T VII 遺伝子の発現を検索したところ、転写が著明に増加していた。このメカニズムを解析し、成人T細胞性白血病の病原ウイルスがコードする転写活性化因子 Tax が、Fuc-T VII 遺伝子の調節領域の CRE 配列に、CREB/ATF ファミリーの転写因子のリン酸化非依存的で恒常的な結合を引き起こすことが、白血病細胞における異常な転写亢進の原因であることを明らかにした。正常細胞においては Fuc-T VII 遺伝子の転写は CREB/ATF ファミリーの転写因子のリン酸化の程度によって調節されている。Tax はこの調節機構を逸脱して、きわめて強い本遺伝子の恒常的な転写を誘導することが判明した(*Blood* 101: 3615-3621, 2003)。

##### (2) 健常人におけるセレクチンの糖鎖リガンドによる白血球動態の調節

正常個体ではセレクチンは本来、リンパ球をはじめとする白血球の体内動態を調節している。これについては我々が以前に L-セレクチンの糖鎖リガンドとして同定したシアリル 6-スルホルイス x の生理的意義を、主としてノックアウトマウスを用いて解析した。シアリル 6-スルホルイス x を合成する硫酸基転移酵素には少なくとも主要なものが二つあり、ひとつは GlcNAc6ST-1 であり、他の一つは HEC-GlcNAc6ST である。これまでの成績

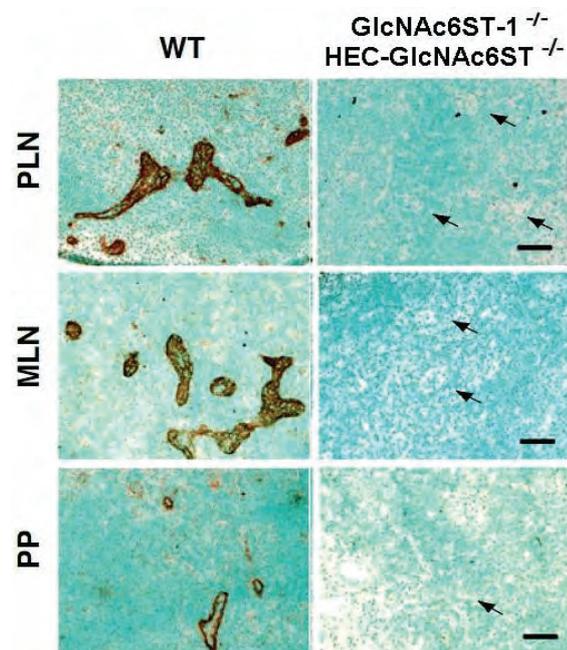


図 1. 硫酸基転移酵素 HEC-GlcNAc6ST および GlcNAc6ST-1 遺伝子のダブルノックアウトマウスにおけるリンパ装置高血管内皮細静脈のシアリル 6-スルホ Le<sup>x</sup> の発現喪失。特異抗体による検出を示す。PLN:末梢リンパ節、MLN:腸間膜リンパ節、PP:パイエル版。

では、両者は相補的に働いていると考えられている。このうち、GlcNAc6ST-1 遺伝子のノックアウトマウスを解析し、本遺伝子がリンパ球のパイエル板へのホーミングを規定しており、また、腸間膜リンパ節へのホーミングを一部媒介していることを明らかにした(*J. Biol. Chem.*, **279**: 35001-35008, 2004)。一方、末梢リンパ節へのホーミングについては他方の酵素 HEC-GlcNAc6ST の貢献が大きいので、両酵素遺伝子をとともにノックアウトしたダブルノックアウトマウスについても析を行った。ダブルノックアウトマウスにおいてはいずれのリンパ装置へのホーミングも著明に低下しており、両酵素がリンパ球ホーミングを媒介する硫酸基転移酵素として主要なものであることが判明した(図1)(*Nat. Immunol.*, **6**: 1105-1113, 2005)。

さらに Fuc-T VII の調節領域に CREB/ATF, Sp1, MZF-1 に加えて T-bet と GATA-3 の結合部位が存在することを明らかにした(図 2)。T細胞の活性化時にシアルリルイスXが Th1 細胞でより強く発現するのは、Th1 細胞では Th1 細胞特異的転写因子 T-bet がヒストンアセチル化酵素 CBP/P300 を結合して Fuc-T VII の転写を促進し、Th2 細胞では Th2 細胞特異的転写因子 GATA-3 がヒストン脱アセチル化酵素 HDAC-3 および-5 を結合して Fuc-T VII の転写を抑制するためであることが判明した(*Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **103**: 16894-16899, 2006)。また、転写因子 GATA-3 が HDAC-3 および-5 と結合するにあたっては、GATA-3 のリン酸化が重要な役割を演じていることが明らかになった。大部分のリンパ球は resting 状態ではシアルリルイスXを発現せず、活性化すると発現するようになる。以上の Fuc-T VII の転写調節機構は活性化リンパ球におけるシアルリルイスX発現誘導をよく説明する。

一方、resting 状態でごく一部のT細胞にセレクトインリガンドが発現する。健康人ヒト末梢血リンパ球のうちヘルパーメモリーT細胞の約 10~15%は無刺激下でシアルリル 6-スルホ Le<sup>X</sup> 糖鎖を発現し、E-, P-, L-セレクトインと接着する。抗シアルリル 6-スルホ Le<sup>X</sup> 抗体によりこの接着が阻害されることから、シアルリル 6-スルホ Le<sup>X</sup> 糖鎖が接着を媒介していると考えられる。シアルリル 6-スルホ Le<sup>X</sup> 糖鎖を発現するヘルパーメモリーT細胞サブセットは CCR4<sup>+</sup>CCR9<sup>-</sup>α4β7-integrin<sup>-</sup>であり、皮膚ホーミング性のヘルパーメモリーT細胞であることが判明した。このT細胞サブセットは CCR4 陽性シアルリル 6-スルホ Le<sup>X</sup> 陽性でありながら、CCR7 と L-セレクトインも陽性である事が明らかになり、皮膚ホーミング性のヘルパーメモリーT細胞のうち、エフェクターヘルパーメモリーT細胞ではなくてセントラルヘルパーメモリーT細胞であることが明らかになった。このT細胞はフコース転移酵素 VII

および硫酸基転移酵素 HEC-GlcNAc6ST の mRNA を有意に発現していることから、これらによりシアルリル 6-スルホ Le<sup>X</sup> が合成されていると考えられた(*Blood*, **107**: 3197-3204, 2006)。このサブセットが特別の活性化刺激なしでシアルリル 6-スルホ Le<sup>X</sup> を発現するについては、

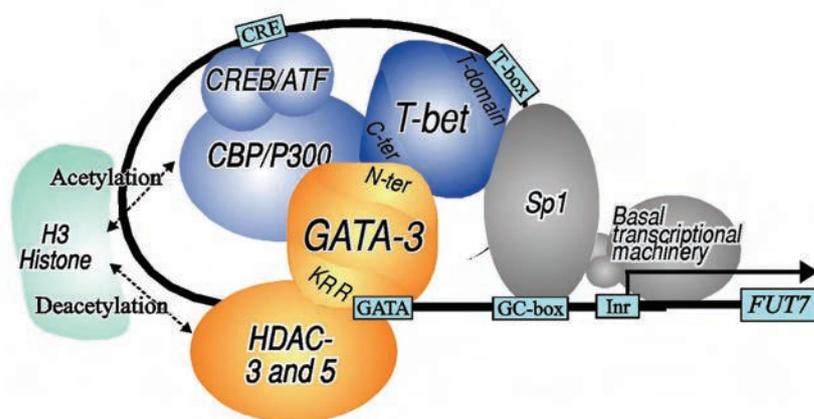


図 2. フコース転移酵素 Fuc-T VII の調節領域に結合する転写因子複合体。

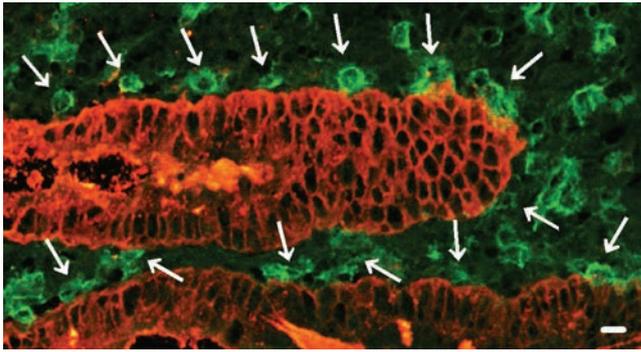


図 3. ヒト大腸粘膜における上皮細胞と白血球との接着。上皮細胞の糖鎖リガンドシリアル Le<sup>a</sup> を赤で、この糖鎖と特異的に結合する Siglec-7 陽性の白血球を緑で染色しコンフォーカル顕微鏡で観察した。

GATA-3 のリン酸化状態の変化が重要と推定される。

### (3) 早期がんにおけるシリアル Le<sup>a</sup> 糖鎖発現の誘導機構

また我々は発癌初期に「糖鎖不全現象」のメカニズムによって消化器癌細胞においてシリアル Le<sup>a</sup> 糖鎖の発現が誘導される機構を解明した。正常消化管上皮細胞においては、シリアル Le<sup>a</sup> 糖鎖はごく弱くしか発現されて居らず、それよりも複雑な構造を持つ 2-3,2-6 ジシリアル Le<sup>a</sup> 糖鎖が強く発現している。これは、正常上皮細胞ではシアル

酸転移酵素 ST6GalNAcVI の働きによって合成されている。癌化した細胞では ST6GalNAcVI 遺伝子の発現が抑制され、このため癌細胞ではシリアル Le<sup>a</sup> 糖鎖の発現が誘導される。この背景には、癌化に伴う DNA のメチル化やヒストンの脱アセチル化などのエピジェネティックな遺伝子発現抑制機構が存在することが明らかになった。また、正常上皮細胞に強く発現するジシリアル Le<sup>a</sup> 糖鎖は、Siglec-7 の特異的糖鎖リガンドとして働き、正常粘膜内で白血球系細胞と上皮細胞との相互作用を媒介することを明らかにした (*Cancer Res.*, **64**: 4498-4505, 2004) (図 3)。この細胞間相互作用は正常粘膜内の免疫学的ホメオスタシスを保持する働きをしていると見られる成績が得られつつある。

### (4) 局所進行癌病巣におけるシリアル Le<sup>x/a</sup> 糖鎖発現の亢進機構の解明

癌細胞はしばしば低酸素状態にさらされ、低酸素状態を克服する代謝偏倚を獲得する事が知られているので、とくに低酸素時にはたらく転写因子 hypoxia inducible factor (HIF) のシリアル Le<sup>x/a</sup> 糖鎖発現に対する作用を解析した。その結果、細胞の低酸素下培養によってシリアル Le<sup>x/a</sup> の発現が有意に亢進することを見いだした (図 4)。

この誘導の分子生物学的機序を明らかにするために、低酸素で転写誘導される遺伝子を DNA マイクロアレイ法および RT-PCR 法にて検索したところ、糖転移酵素および糖トランスポーター遺伝子数種の転写誘導を認めた。これら遺伝子の低酸素による転写誘導は、リポーターアッセイにおいて転写因子 HIF のドミナントネガティブ体の共発現により消失し、HIF の下流にある現象と考えられた (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**:8132-8137, 2004)。

糖鎖リガンドに対する特異抗体を用いて *in vivo* の動物実験において腫瘍形成阻害実験

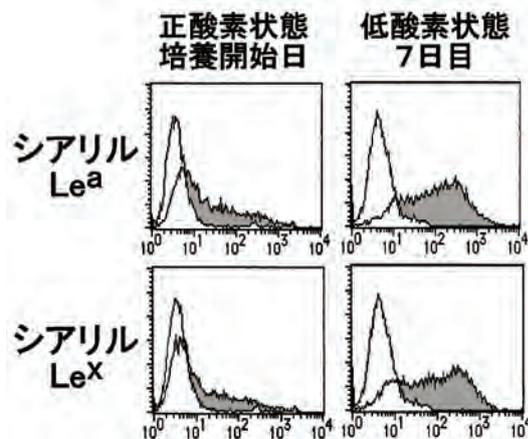


図 4. 大腸癌細胞の低酸素培養によるシリアル Le<sup>x/a</sup> 発現亢進。

を試みたところ、セレクチンと糖鎖を介した細胞接着は、従来から指摘してきた血行性転移のみならず、腫瘍巢の結果異型性にも関与することが明らかになった(*Cancer Res.*, **62**: 6289-6296, 2002)。このことは、局所がん病巣の低酸素環境下において、シアリル  $Le^{x/a}$  の発現が亢進したがん細胞には growth advantage があることを示している。

転写因子 HIF はシアリル  $Le^{x/a}$  のみならず、他の糖鎖の発現や細胞接着分子の発現にも大きな変化を誘

導する。また低酸素により  $\alpha 5$ -integrin や syndecan-4 などの接着分子の発現も強く誘導された (図 5)。また、腫瘍巢の低酸素条件による癌のプログレッションに伴い、シアリ酸トランスポーター *sialin* 遺伝子の転写が増大し、これにより *N*-グリコシル型のシアリ酸 NeuGc の発現が癌細胞で誘導されることを明らかにした(*Cancer Res.*, **66**: 2937-2945, 2006)。

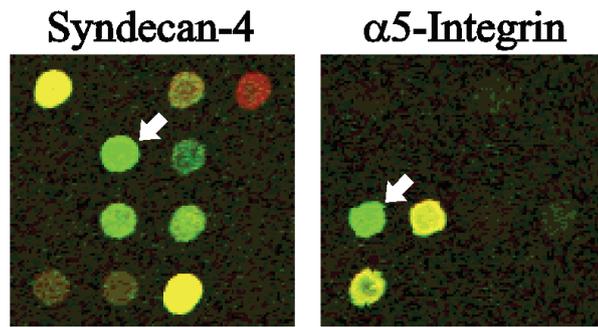


図 5. DNA マイクロアレイによる低酸素による Syndecan-4,  $\alpha 5$ -integrin 遺伝子の発現誘導 (Normoxia-赤, Hypoxia-緑).

## (2)研究成果の今後期待される効果

細胞が悪性化するとさまざまな糖鎖異常が出現する。とくに細胞接着分子セレクチンのリガンドであるシアリル  $Le^x$  やシアリル  $Le^a$  糖鎖の発現は癌細胞で亢進し、これらの糖鎖と血管内皮 E-セレクチンとの結合により癌の血行性転移や腫瘍血管形成が促進される。細胞の悪性化に伴う糖鎖変化の機構として古くから「糖鎖不全現象」と「異常糖鎖の新規合成」の二つの機構が知られている。本研究成果はがん細胞におけるシアリル  $Le^x$  やシアリル  $Le^a$  糖鎖の発現誘導や亢進にも、これらの機構が働いていることを示すものである。これらの結果から、エピジェネティックな遺伝子発現抑制機構や、転写因子 HIF の高発現による低酸素抵抗性の獲得機構が、がんの糖鎖異常の要因として重要であることが判明した。またこれらの機構を阻害することによる治療法を展開できると考えられる。

## 3.2 細胞接着に関わるシアリ酸の構造変化と細胞接着制御の解明 (名古屋大学 北島グループ)

### (1)研究実施内容及び成果

北島グループでは、シアリ酸構造の変化が細胞接着を制御する重要な機構であることを広く証明し、その多様な構造変化を理解して、さらには癌の診断や治療につながる技術基盤の確立に貢献することを目指し、サイクリックシアリ酸、KDN、ジシアリ酸、ポリシアリ酸、硫酸化シアリ酸構造を対象として、その検出法と新しい検出プローブの開発を行った。その結果、これらの新規性の高いシアリ酸誘導体の検出プローブを獲得することができ、この点で完全に世界をリードしている状況である。また、これらサイクリックシアリ酸などのシアリ酸誘導体の存在を癌組織中にはじめて見いだした。とくに、特異的なモノクローナル抗体の獲得は、他の追随を許さない状況にある。さらに、サイクリックシアリ酸などのシアリ酸誘導体を特異的に分解する酵素の検索も順調に進められ、特定のシアリ酸をターゲットにした分解が可能になれば、治療法などへの応用が期待できる。この点においても、本研究グループは世界で唯一の研究グループであると言える。

### (1) サイクリックシアル酸形成とセレクチンおよび関連シアル酸結合分子を介する細胞接着制御の解明

セレクチンの糖鎖リガンドであるシアリル 6-スルホ Le<sup>x</sup> 分子中のシアル酸は、脱アセチル化、さらに環状ラクタム化されて、セレクチンとの結合が制御される。これまでにサイクリックシアル酸の普遍的存在証明のために、その残基のユニークな化学的性質を見いだすとともに、モデル化合物を用いて化学的検出法を考案した。サイクリックシアル酸の性質が予測を超える特徴的な性質をもつため、検出法の確立には予想以上に時間がかかったが、質量分析を用いた検出法の技術基盤を確立することができた。図 6 に方法概要を示す。今後、さらなる微量検出法さらには簡便検出法の開発を進め、癌との発現を確実に証明することが必要である。

### (2) その他のシアル酸構造変化による細胞接着制御の解明

乳腺およびミクログリア細胞上の CD36 に新規にポリシアル酸構造をみだし、乳癌細胞でのポリシアル酸の検出を行った。また KDN、ジシアル酸構造、硫酸化シアル酸構造などユニークなシアル酸について、癌組織、培養細胞における存在検索を進め、いくつかの担体分子の同定に成功した。特に 19 年度には、癌における KDN 量の増大を低酸素順応の性質によることをつきとめ、診断、治療につながる知見が得られた。これらのシアル酸エピトープは、自己抗原であり、有用な検出抗体を調製することは容易ではないが、本プロジェクトによっていく

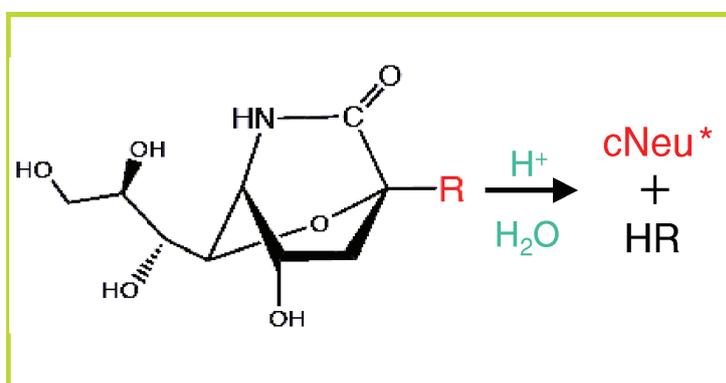


図 6. サイクリックシアル酸の化学的検出のストラテジー。

つもの有用モノクローナル抗体が得られた(表1)。これらの基盤をもとに、今後は癌進展におけるこれらのシアル酸の役割を探求することが可能になった。

### (3) シアル酸を介する相互作用の人為的制御による癌の進展防御の技術基盤の開発

まず、サイクリックシアル酸に対する特異的な検出および機能探求プローブの開発を推進して成果を得た。特に、今後の目標として、これまでに天然から見いだした新規のサイクリックシアル酸特異的分解酵素活性を利用可能な形にすることが挙げられる。その他のシアル酸誘導体については、上述の種々のモノクローナル抗体を利用した診断、治療法の開発が今後の重要な目標となる。さらには、シアル酸の修飾を司る代謝酵素の遺伝子を同定することは、今後の重要な方向性である。

#### (2) 研究成果の今後期待される効果

上記の研究成果を踏まえて、サイクリックシアル酸などのユニークなシアル酸誘導体をターゲットとして、臨床における癌組織を用いた検出法の開発、あるいは糖鎖の破壊による治療法の開発へと進展する高い可能性を秘めている。癌との関係が明確になることによって、社会的に役立つものと期待される。一方、これらのユニークなシアル酸誘導体は、その原因酵素遺伝子の同定がいまだになされていないため、我々が有する化学的および免疫化学的検出法を利用して、これらの遺伝子のクローニングを行うことができる。その点からも、基礎科学的に重要な研究成果であるといえる。

表1. シアル酸の構造変化と検出試薬および組織局在のまとめ

新規シアル酸	化学的検出法の開発	検出抗体	組織局在と癌化に伴う変化
$\alpha$ 2,8-polySia	○	○ ; mAb.12E3	存在(神経,腎);増加
$\alpha$ 2,8-diSia	○	○ ; mAb.S2-566	存在;変化なし
$\alpha$ 2,9-polySia	○	○ ; mAb.4E7	現在進行中
Neu5Ac8S	○	○ ; mAb.3G9	存在(乳腺);変化なし
KDN	○	○ ; kdn8kdn	存在(血球);増加

本研究では、シアル酸誘導体の理解と検出や操作の技術基盤を確立しており、今後、確実性の高い癌の診断や治療法の開発へと展開する可能性は高いと考えている。

### 3. 3 消化器癌の糖鎖不全現象におけるエピジェネティックな遺伝子抑制機構の解析(国立国際医療センター研究所 土肥グループ)

#### (1)研究実施内容及び成果

##### 1) 糖鎖関連遺伝子発現の癌性変化

44種の糖鎖関連遺伝子の発現について、ヒト胃・大腸の正常組織、6種の胃がん細胞株(MKN45, MKN28, MKN7, MKN74, KATOIII, AZ521)、9種の大腸細胞株(CACO2, COLO320, LOVO, SW480, HCT116, RKO, HT29, DLD1, SW48)を用いて定量RT-PCRを行い比較を行った。その結果、癌細胞株で特異的に発現上昇が見られるような遺伝子はなく、逆に、正常組織では発現しているが、癌細胞株で発現低下している遺伝子がいくつかみられた。Sd<sup>a</sup>-GalNAcTが癌細胞特異的に発現低下していることも確認された。

これまで、接着分子として機能して転移を仲介するシアリルルイス X やシアリルルイス a など癌糖鎖抗原の発現機構として、その合成経路にあるフコース転移酵素などの活性が高まるために、合成が更新しているのではないかという可能性が検討されていた。しかし、解析した細胞株で高いシアリルルイス X やシアリルルイス a がみられるにも関わらず、発現亢進している糖転移酵素が見いだせなかったことから、この仮説は明らかに否定されることとなった。また、糖鎖関連遺伝子の一つを選んでノックダウンのターゲットとする糖鎖修飾法も困難であることが示された。すなわち、糖鎖不全現象は、正常組織に発現しているさまざまな糖転移酵素のうちいくつかに異常なサイレンシングがおこることにより、糖鎖合成経路に変化をきたし、その結果として、シアリルルイス X やシアリルルイス a といった癌性糖鎖が発現するというメカニズムを示すことができた。

##### 2) DNA メチル化阻害剤処理による糖鎖関連遺伝子サイレンシング機構の解析

大腸癌細胞株 HT29 について、Sd<sup>a</sup>-GalNAcT の発現低下の原因が、エピジェネティックな変化にあると考え、DNA メチル化阻害剤である 5-aza-2-deoxycytidin (5-AZAdC)、及びヒストン脱アセチル化阻害剤である butyrate を培養液中に加え、Sd<sup>a</sup>-GalNAcT の mRNA 発現及び細胞表面上の Sd<sup>a</sup> 糖鎖の発現をそれぞれ RT-PCR とフローサイトメトリーで解析した。その結果、5-AZAdC 添加により Sd<sup>a</sup>-GalNAcT の発現が亢進し、処理前は細胞表面上で全くみられなかつ

た Sd<sup>a</sup> 糖鎖の発現が検出されるようになった。Butyrate ではこのような変化は見られなかった。よって、Sd<sup>a</sup> 糖鎖の癌組織での欠失は Sd<sup>a</sup>-GalNAcT 遺伝子の DNA 高メチル化によるものであり、ヒストン脱アセチル化の果たす役割は小さいと考えられた。

そこで、上記の胃癌、大腸癌細胞株をすべて 5-AZAdC で処理し、1) の解析で明らかになった癌性発現低下を起こす糖鎖関連遺伝子のうちから N-アセチルガラクトサミン転移酵素(Sd<sup>a</sup>-GalNAcT を含む)、ガラクトース酸転移酵素、シアル酸転移酵素、フコース転移酵素、計 9 種の糖転移酵素 mRNA 発現を定量 PCR で測定したところ、3 種の N-アセチルガラクトサミン転移酵素(Sd<sup>a</sup>-GalNAcT を含む)、4 種のシアル酸転移酵素がほとんどの細胞株で 10 倍から 10000 倍に及び発現亢進していた。一方フコース転移酵素である FUT1, FUT2 の遺伝子発現は 5-AZAdC によりほとんど影響を受けなかった。以上により、癌細胞における一群の糖鎖遺伝子サイレンシング機構として DNA メチル化が重要であることが明らかとなった。

次に、さらに確証を得るために DNA メチル化酵素 DNMT1, DNMT3 の欠損大腸癌細胞株 HCT116 を用いた解析を行った。欠損のないもとの HCT116 細胞には Sd<sup>a</sup> 糖鎖は発現していないが、DNMT1, DNMT3 いずれの欠損細胞においても高い Sd<sup>a</sup> 糖鎖発現と Sd<sup>a</sup>-GalNAcT mRNA 発現が確認された。これにより、癌細胞における Sd<sup>a</sup>-GalNAcT サイレncing には、DNA メチル化が十分条件であることが示された。

### 3) 胃癌組織における Sd<sup>a</sup>-GalNAcT 及びシアル酸転移酵素の DNA メチル化解析

BRAT 検索により、Sd<sup>a</sup>-GalNAcT のプロモーター領域には CpG アイランドが存在することが明らかとなったので、DNA メチル化状態を多数の検体で検証するための COBRA 法(combined bisulfite restriction analysis 法)を確立した。COBRA 法では bisulfite で処理したのち特異的 PCR にてメチル化を検出する方法であり、比較的短い範囲の DNA が検出対象となるため、CPG アイランドにわたる 39 箇所のメチル化部位を bisulfite 処理の後シーケンスを行って確認した(bisulfite シークエンス法)。まず、胃癌細胞株6種を用いて Sd<sup>a</sup>-GalNAcT の COBRA 及び bisulfite シークエンス法をおこなったところ、Sd<sup>a</sup>-GalNAcT 発現低下に一致して COBRA でメチル化陽性となり、それらの細胞株では 39 カ所のメチル化部位のほとんどがメチル化を受けていることが明らかとなった。正常の背景粘膜ではこのような DNA メチル化はみられなかった。次に、胃癌症例で COBRA による Sd<sup>a</sup>-GalNAcT の検討を行ったところ、約半数という高い頻度で DNA 高メチル化状態にあることが明らかとなった。COBRA 陽性症例では Sd<sup>a</sup>-GalNAcT プロモータ領域 CPG アイランドの広範な領域でメチル化を受けていることも bisulfite シークエンス法により確認された。

さらに、胃癌細胞株で Sd<sup>a</sup>-GalNAcT と同時に発現低下していたシアル酸転移酵素についても COBRA 法にて DNA メチル化状態を検討した結果、Sd<sup>a</sup>-GalNAcT と強い相関を持って高メチル化状態にあることが明らかとなった。以上より、癌組織においてもある一群の糖鎖関連遺伝子が DNA メチル化を受けてサイレンシング状態にあることが明らかとなった。

### 4) 癌組織で発現変化する糖鎖を認識する細胞の同定

シグレック 7 及びシグレック 9 分子は、正常上皮細胞に発現しているが癌組織で発現低下する糖鎖ジシアリルルイス a やシアリル 6 スルホルルイス x を認識する。シグレック 7/9 はシグナル抑制性の ITIM モチーフを持つことから、消化管における免疫恒常性維持機構を支える因子の一つと推測された。そこで、シグレック 7 及びシグレック 9 分子がヒト消化管で、どのような細胞に発現しているかを検索した。研究協力のインフォームドコンセントを得た症例の大腸外科手術標本よ

り、非病変部の粘膜を採取し、EDTA, collagenase 処理をおこない、大腸粘膜固有層単核細胞 (LPMC)を得た。LPMC をマグネティックソーティングにてさらに CD33+細胞(マクロファージ系細胞)と CD33-に分画し、シグレック 7 及びシグレック 9 分子の細胞表面の発現をフローサイトメトリーで解析した。その結果、ヒト大腸 LPMC ではシグレック7陽性細胞、シグレック9陽性細胞、シグレック 7&9 陽性細胞は、CD33 陽性分画のそれぞれ  $11.3 \pm 3.4\%$ ,  $5.6 \pm 4.6\%$ ,  $2.8 \pm 2.0\%$  を占めた。CD33 陰性分画ではシグレック7陽性細胞がわずかに  $1.7 \pm 3.4\%$ , シグレック9陽性細胞  $1.7 \pm 0.7\%$  であり、CD33 陽性細胞が LPMC 全体の20%未満であることを考慮しても、シグレック 7/9 を発現している主な分画は CD33 陽性のマクロファージ分画であることが明らかとなった。

さらに、この細胞の機能を解析する緒として、消化管炎症におけるシグレック分子の発現を解析した。腸結核の症例で検討したところ、CD33+シグレック7陽性細胞は LPMC で顕著に減少しており、かわって CD33+シグレック9陽性細胞が増加していることがわかった。この結果より、シグレック分子は炎症に伴って発現変化し、とくにシグレック 7 とシグレック9は、異なった機能を持っていることが示唆される。我々は正常型糖鎖 Sd<sup>a</sup> についてもシグレックリガンドとなる可能性を考え試験したが、シグレック 7/9 いずれも現在の検討方法では Sd<sup>a</sup> 糖鎖との結合は確認されなかった。

炎症粘膜では、癌性変化に至らないまでも、糖鎖が変化している可能性がある。実際潰瘍性大腸炎局所ではムチン産生細胞の減少がよく知られており、このことと、糖鎖認識蛋白発現細胞の変化とは関連がある可能性がある。消化管炎症における糖鎖構造の発現変化は未だ詳しい解析が行われていないが、近年炎症粘膜が癌の母地となることがはっきり示されてきており、この結果はさらに詳しく検討していく必要がある課題である。

## (2)研究成果の今後期待される効果

本研究によって明らかとなった一群の糖鎖関連遺伝子の DNA メチル化異常は、癌性の糖鎖不全を感度よく検出する方法ともなるため、個々の臨床情報、病理診断などと関連させた解析や、前向きコホート研究を進めることによって、糖鎖腫瘍マーカーをさらに発展させた形の診断マーカー及び予後推定マーカーとなる可能性がある。また DNA メチル化解析において糖鎖関連遺伝子に関する臨床的な検討はこれまで情報が少なく、一群の糖鎖遺伝子が連動して DNA メチル化を受ける現象は、エピジェネティックな糖鎖発現制御機構として新しい研究分野の発展をもたらしたと考えている。とくに、DNA メチル化が特徴となっている一部の消化器癌のタイプ CpG island methylater phenotype (CIMP)とのオーバーラップが示唆されることから、糖鎖遺伝子がこのタイプの癌でどのような意義を持つかが、今後の展開として重要な部分であると考えている。また、DNA メチル化阻害剤によって、癌細胞株に正常型糖鎖発現を誘導することが可能なため、がん治療のターゲットとなっていく可能性もある。診断や治療に本成果を応用していくためには、前癌病変、炎症発癌の過程での糖鎖関連遺伝子発現とDNAメチル化状態の解析を行うことが欠かせない。

さらに、消化管ではマクロファージの免疫応答制御が炎症の収束あるいは慢性化の鍵を握っていることが強く示唆されている。我々も潰瘍性大腸炎局所のマクロファージが正常では決してみられない免疫応答能を獲得していることを明らかにしてきた。本研究で、正常型糖鎖認識蛋白及びそれを発現する細胞がマクロファージであること、炎症で発現が変化することをみだしたことは、糖鎖発現とマクロファージ機能という消化管免疫の新しい研究テーマの発展につながっている。

### 3. 4 細胞接着性機能糖鎖の構造解析と人工糖脂質を用いた糖鎖の機能解析 (東海大学・小島グループ)

#### (1)研究実施内容及び成果

本研究項目では、細胞や機能性分子に存在する多種多様な糖鎖から機能性糖鎖をスクリーニングし、その構造を解析する手段として、人工糖脂質ライブラリーを構築し、それらに含まれる機能性糖鎖の同定ならびに解析を行うことを目的とした。そのために、以下の項目について検討することとした。

#### 1. 細胞や組織の人工糖脂質ライブラリーを作製し、このライブラリーから接着機能性のオリゴ糖鎖をスクリーニングし、その構造を解析するという一連の糖鎖機能・構造解析法を構築する

糖鎖の機能と構造を一連のサンプルで解析する方法は確立されていない。糖鎖の構造解析および機能解析を行うためには、糖タンパク質などから糖鎖のみを遊離させる必要があるが、糖鎖は適当な吸収などを有しておらず、また水に対する溶解性がきわめて高いことから、糖鎖を何らかの方法で糖鎖誘導体へと導いた上で解析するのが一般的である。しかし、機能解析と構造解析では

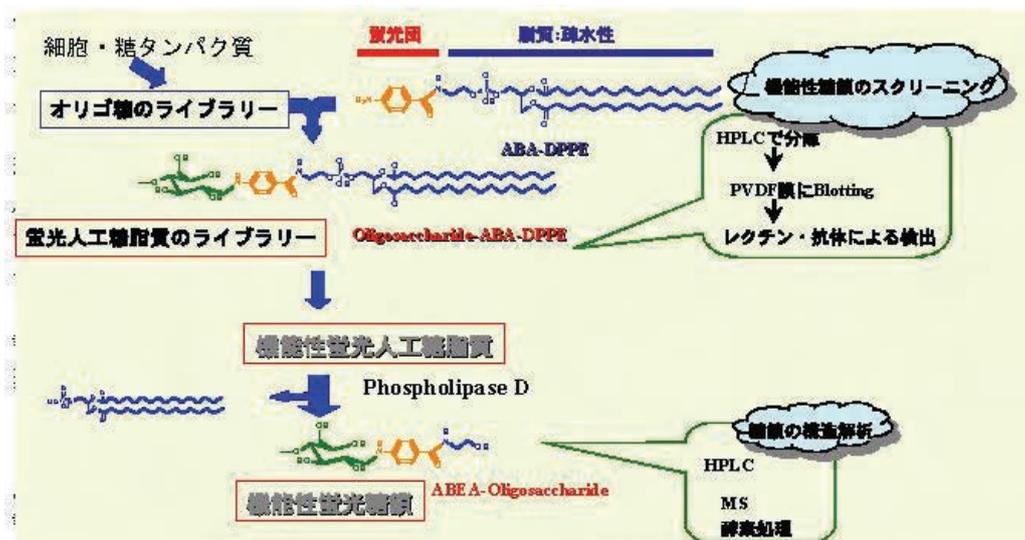


図7. 機能性糖鎖のスクリーニングと構造解析の戦略

異なる誘導体へ誘導する必用があり、細胞や糖タンパク質に存在する様々な構造未知の糖鎖から特定の機能を有する糖鎖を検出しその構造を解析する方法は未だ存在していない。本研究目的を達成するためには、糖鎖の機能と構造を微量のサンプルから一連の操作で解析する必要がある。そこで本研究では、人工糖脂質の利点を活かしつつ、微量の構造解析にも適した新規人工糖脂質の調製技術を確立し、この技術を用いてセレクトリガンドの糖鎖の接着機能と構造解析を行う戦略を立てた。人工糖脂質は様々な基質に固定化でき糖鎖の機能解析に優れているが、蛍光団などが存在しないため微量で検出することができないという欠点を持つ。一方、蛍光標識糖鎖は分離が容易であり微量検出ができることからこれまで構造解析に広く用いられてきたが糖鎖の機能解析に応用しようとする場合には、固相に結合させることが困難であるという欠点を持っていた。そこで、第1項目については両者の利点をあわせ持つようなプローブの創製を目指すことにした。特に糖鎖とリン脂質から構築される人工糖脂質が糖鎖の機能解析に優れているという点と、リン脂質がホスホリパーゼで消化でき、水溶性の物質へと変換できるという点に着目し、(i) 糖鎖とリン脂質の間に蛍光標識を挿入した新しい人工糖脂質(新規人工糖脂質)の構築、(ii) 人工糖脂質(新規人工糖脂質)の機能解析と構造解析への適合性、について検討した。

まず新規蛍光脂質プローブとして蛍光団とリン脂質部分を有するABA-DPPEを合成した。図7には合成したABA-DPPEを用いた蛍光人工糖脂質の調製と機能ならびに構造解析への展開の概略を示している。すなわち、蛍光団を有する人工糖脂質のライブラリーを細胞、糖タンパク質から作成することができれば、このような蛍光人工糖脂質はPVDF膜やTLC上に固定化することができることから、非常に微量であっても抗体やセレクトインをはじめとする糖鎖認識分子により検出することが可能であり、特定の分子に認識

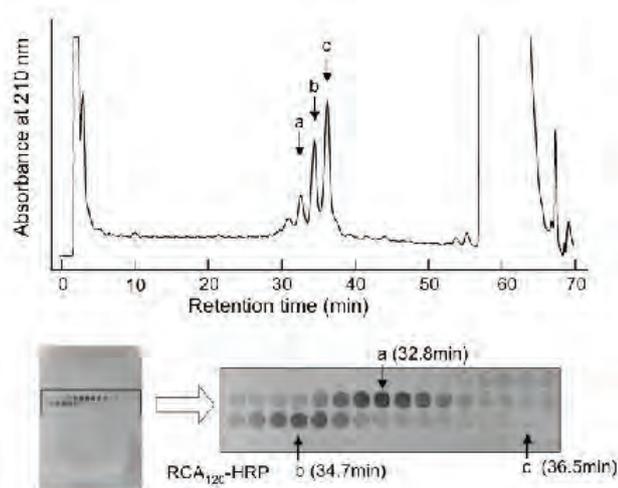


図8. 新規人工糖脂質の分離とレクチンによる検出.

される機能性糖鎖を検出・スクリーニングすることができる。またスクリーニングした人工糖脂質糖鎖をホスホリパーゼDで処理し水溶性の蛍光糖鎖として遊離させることができるので既存の構造解析法に準じて構造解析が可能であると考えられた。以上のような戦略に基づいて既知のオリゴ糖を用いて新規解析法の構築に取り組んだ。まず、既知のオリゴ糖とABA-DPPEを還元アミノ化法で縮合し蛍光人工糖脂質へと誘導した。誘導された人工糖脂質はHPLCでの分離状況を蛍光モニターでき、その感度はこれまでの蛍光糖鎖と同程度であった。また予想どおり蛍光人工糖脂質はPVDF膜やTLC上に固定化でき抗体等で微量検出が可能であった。次いで、膜上に固定化されレクチン等で検出された機能性人工糖脂質を膜上で直接ホスホリパーゼD処理を行うことで定量的に水溶性の蛍光糖鎖へと変換した。このようにして得られた標識機能性糖鎖は、これまでの蛍光標識糖鎖と同様にHPLCを用いて微量分析が可能であることが判明した。そこで実際の糖タンパク質糖鎖に適応する為に反応の微量化を行なった。しかし、実際の糖タンパク質に適応しようとすると、人工糖脂質ライブラリーをHPLCで分離するための溶媒系が限られ、特に酸性糖鎖に由来する人工糖脂質の分離が困難であるなどの欠点が認められた。

そこで、新たな標識脂質プローブ(リポドプローブX)を開発し、この脂質プローブを用いて糖タンパク質糖鎖を還元アミノ化法で人工糖脂質へと変換した。リポドプローブXからなる人工糖脂質をHPLCで分離すると、アセトニトリル系溶媒でPA化糖鎖と同じように糖鎖構造の違いによって分離できることが判明した(図8)。また感度的にもPA化糖鎖と遜色の無いレベルであった。そこでマイクロLCとスポッターを用いて、カラムからの溶出液を直接PVDF膜やHPTLCプレート上ドットスポットすることで、糖タンパク質オリゴ糖鎖を微量人工糖脂質ライブラリーとして膜あるいはプレート上に展開することを試みた。図8はイムノグロブリンGのN-型糖鎖をリポドプローブXで人工糖脂質化し、ODSカラムを用いてマイクロLCで分離したパターンとその溶出液を一定量づつスポッターを用いて自動的にPVDF膜にスポットして人工糖脂質を固定化し、ガラクトース認識レクチンであるRCA120で検出した場合の例を示す。ピークa(32.8 min)はガラクトースを2つ有する2本鎖複合型糖鎖、ピークb(34.7 min)はガラクトースを一つ有する2本鎖複合型糖鎖、ピークc(36.5 min)はガラクトースを持たない2本鎖複合型糖鎖である。ピークcはRCA120で検出されないが、他の2つのピークがRCA120で検出されているおり、レクチンによる構造特異的な糖鎖の検出が可能であった。この検出されたスポットから人工糖脂質を抽出し、構造を質量分析計で確認できる。すなわち、糖タンパク質の多様な糖鎖の中から機能を有する糖鎖をスクリーニングしその構造を解析する基本的な技術を確認したといえる。糖鎖の機能解析を行うためには、糖鎖を脂質やビオチンあるいはマトリクス等に結合させる方法が用いられているが、この方法は機能解析には優れている反面、構造解析

には蛍光標識糖鎖に比べ多量の試料を必要とするなどの問題がある。これらの欠点を補うために、蛍光標識糖鎖から蛍光標識を外し、それを機能解析用のプローブへと変換する方法が報告されている。しかし、この方法では構造既知の糖鎖の機能が解析できるのみで、構造未知の糖鎖の機能を検出し、その構造を解析する方法は未だ存在していない。本研究で構築した方法は、これまで技術開発されてきた水溶性の蛍光糖鎖の構造解析法を限りなく踏襲できるという点で、機能・構造解析技術として有用であると考えている。

## 2. 大腸がん細胞のE-セレクチンリガンド分子中に含まれる接着機能性糖鎖を解析する:

これまで大腸がん細胞株のE-セレクチンリガンドとして様々な分子が候補として挙げられているが、細胞上でどの分子のどのような糖鎖構造がE-セレクチンとの結合や認識に寄与しているのか

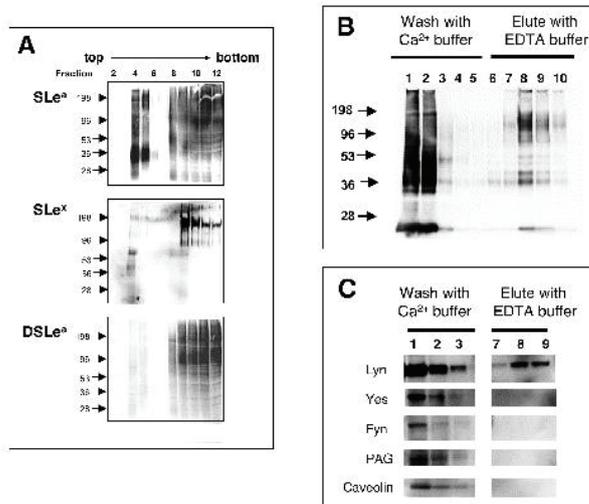


図9. ミクロドメイン中に存在する E-セレクチンリガンド.

未だに明らかではない。従って機能的なE-セレクチンリガンド糖鎖の解析を行うため、まず大腸がん細胞株Colo201細胞を使用して細胞表面上の機能的なE-セレクチンリガンド分子の探索を行った。その結果、E-セレクチンリガンドとなりうる分子が大腸がん細胞株のミクロドメイン中に存在することを見いだした。すなわちミクロドメイン中にはシアリアルLe<sup>a</sup>エпитープをもつ120kDaおよび30kDaの糖タンパク質が非常に高濃度に集積しており(図9パネルA)、N-グリコナーゼ処理の結果から、120kDaおよび30kDaの糖タンパク質中のシアリアルLe<sup>a</sup>エピトープは、

それぞれO-およびN-結合型糖鎖上に主に担われていると推定された。一方、E-セレクチンリガンドとして機能しうるシアリアルLe<sup>x</sup>糖鎖は高密度画分にもみ分布していた。E-セレクチンカラムによるアフィニティークロマトグラフィーではシアリアルLe<sup>a</sup>エピトープをもつ糖タンパク質を含むミクロドメインの一部がリガンドとなることから(図9パネルB)、このE-セレクチンカラムに結合するミクロドメインが機能的なリガンドである可能性が考えられた。また、このE-セレクチンカラムに結合するミクロドメインには非受容体型チロシンキナーゼ(Srcファミリーキナーゼ)の一つであるLynが共存したことから(図9パネルC)、大腸がん細胞へのシグナル伝達のプラットフォームとしても機能している可能性が考えられた。そこで、実際にこのようなミクロドメインが生理的な条件でE-セレクチンのリガンドとして機能しうるかどうかについて検証した。まず、E-セレクチン-Fcを結合させた磁気ビーズを細胞と混合し、ビーズを結合した細胞を磁石で分離した。次に、この細胞をE-セレクチン磁気ビーズとリガンド分子の結合を維持したまま、可溶化し、すぐにリガンド分子複合体を磁石で回収した。その後ビーズからリガンド複合体をEDTAで溶出し、ショ糖密度勾配法で分離した(Cell surface)。また別の方法として、細胞を最初に可溶化し、その後E-セレクチン磁気ビーズで全てのリガンド分子を回収した(Whole cell lysate)(図10)。このような2つの方法で得たE-セレクチンリガンドを比較した結果、可溶化後に回収したリガンドのシアリアルLe<sup>a</sup>糖鎖は低密度および高密度画分に存在しており、また高密度画分に分布するシアリアルLe<sup>x</sup>糖鎖もリガンドとして機能していた(図10左)。しかし細胞表面から直接リガンドを単離した場合、シアリアルLe<sup>a</sup>糖鎖はほとんど全て低密度画分である界面活性剤に抵抗性のミクロドメインに分布していた(図10右)。またシアリアルLe<sup>x</sup>糖鎖は高密度画分にもミクロド

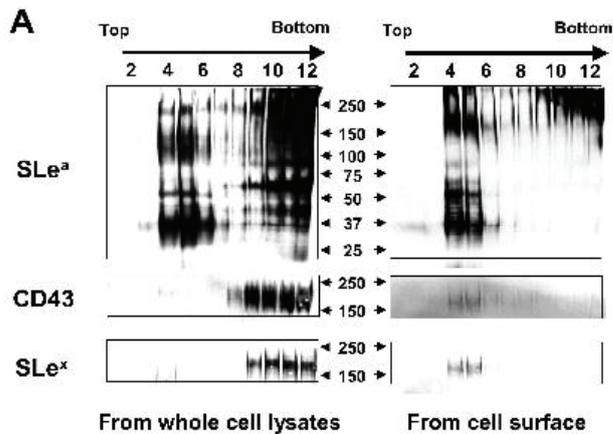


図 10. E-セレクチンの機能性リガンドはマイクロドメインに存在する。

メイン画分にもほとんど見いだすことができなかった。すなわち可溶化後には様々な分子がリガンドとして機能しうるが、実際の細胞表面上ではマイクロドメインに局在するシアリルLe<sup>a</sup>糖鎖発現分子が機能的なリガンドとして働いており、これら機能性リガンドを含むマイクロドメインが機能的リガンドドメインを構成していると考えられた。さらにこのようにして得られた機能的リガンドドメインにはやはりLynが共存していた。そこで、このリガンドドメインのシグナル伝達との関連について検討した。その結果、細胞をE-セレクチン-FCおよび抗

FC-抗体で架橋すると、機能的リガンドドメインの再編(キャッピング)を通してシグナルが伝達されERKのリン酸化が一過性に増加すること、またE-セレクチンへの接着で細胞が形態的にも一過性に变化するも見いだした。すなわち、この機能的リガンドドメインは血管内皮細胞上のE-セレクチンとの間でグリコシナプスを形成することで大腸がん細胞へのシグナル伝達のプラットフォームになっていると考えられた。また、ERKのリン酸化や細胞接着などはメチル-β-シクロデキストリンで影響を受けないことから、コレステロール非依存的なマイクロドメインの関与が示唆された。これまでシアリルLe<sup>x</sup>糖鎖やシアリルLe<sup>a</sup>糖鎖をもつ様々な分子、例えばLAMP、CD43、CD44、MUC-1、DR-3などが大腸がん細胞株細胞表面上のE-セレクチンリガンド分子として提唱されてきた。またMAPキナーゼのリン酸化の亢進がE-セレクチンへの接着に伴いある種の大腸がん細胞株で認められることから、リガンドを介したシグナル伝達系の存在が示唆されていた。しかし、マイクロドメインの関与に関してはほとんど考慮されていなかった。本研究に於ける寄与は、大腸がん細胞株において機能的なE-セレクチンのリガンドは細胞膜マイクロドメインに局限していること、またこのリガンドマイクロドメインを介して大腸がん細胞にシグナル伝達が行われるということを示したところにある。セレクチンリガンドがマイクロドメイン中に局在しシグナル伝達に関与しているという報告はP-セレクチンリガンドであるPSGL-1で極最近に報告されたのみであり、E-セレクチンリガンドでは最初の報告である。

## (2)研究成果の今後期待される効果

新たな脂質プローブ(リポドプローブX)から誘導される人工糖脂質は高感度(ピコモルレベル)でHPLCにおける分離で検出できる。12糖程度までであれば十分な分離能も得られており、糖鎖のライブラリーとしてPVDF膜やHPTLCプレートに固定化・展開できるので、O-結合型糖鎖ライブラリーから機能性糖鎖をスクリーニングし解析する為には優れた方法であると考えられる。しかし、新規プローブ中にはホスホリパーゼなどの酵素に感受性の構造は含まれておらず、親水性のラベル化糖鎖への変換ができない。そこで現在ジスルフィド結合を導入し、還元条件下で水溶性の糖鎖へ変換できるようなプローブを開発中である。このようなプローブを用いることで今後糖鎖の優れた解析系が構築されることが期待される。一方、このような方法で機能性糖鎖の構造が明らかになれば、その人工糖脂質を化学合成し、リポソームなどの表面に提示させることで、ターゲティングやイメージングといった医療分野への応用も期待される。一方、セレクチンリガンドに関してはムチン型糖タンパク質の関与するグリコシナプスの重要性を示すことができ、これまでの研究動向に対して新しい方向性が示された。今後、ムチン型糖タンパク質を含むグリコシナプスの理解が進むことで新たな糖鎖研究の進展が期待される。

### 3.5 癌細胞の浸潤転移を制御するヒアルロン酸-CD44 シグナルの研究 (名古屋大学 浜口グループ)

#### (1)研究実施内容及び成果

ヒアルロン酸合成が活性化している v-Src 癌化細胞やヒト癌由来細胞株を用いて、ヒアルロン酸合成酵素とそのレセプターである CD44、あるいはその下流のシグナル伝達因子を標的とする、癌細胞の浸潤転移を抑制する新たな遺伝子治療法を開発しようと試みた。ヒアルロン酸合成酵素



図 11. 抗 HAS 抗体の反応性.

(HAS)を特異的に認識できる抗体を作成し、その抗体を用いて v-Src が STAT3 依存的にヒアルロン酸合成酵素、特に HAS2 の発現を活性化する事を明らかにした。まず最初に GST 融合蛋白の形で、HAS のそれぞれ特異的なアミノ酸配列部分をバクテリアに発現し、抗体を作成した(図 11)。抗 HAS2 抗体を用いて細胞を蛍光染色したところ、がん化細胞で特異的な蛍光を観察できた(図 12)。次に、RT-PCR 法で種々の src 変異株発現細胞における HAS の発現を調べた。その結果、HAS の中でも特に HAS1、HAS2 に癌化に特異的な発現の活性化が認められた(図 13)。ヒアルロン酸分泌が高く、ヒアルロン酸-CD44 シグナル伝達系が活性化されており、Src キナーゼも活性化されている細胞系を検索し、この条件に合うヒト乳癌細胞株を見い出した。更にこの細胞系では、ヒアルロン酸刺激によって MMP-2 分泌も活性化している事を確認した。ヒアルロン酸合成と CD44 発現の腫瘍特異的活性化機構を解析し、それを標的とする癌細胞浸潤阻害法を研究した結果、FAK、Stat3、Ras/MAPK/AP-1 が重要なシグナル伝達因子として機能し、HAS,1 HAS2 の転写を活性化、ヒアルロン酸合成を活性化する事を明らかにした。さらに、FAK、Stat3、Jun に対する siRNA を開発し、これらの蛋白質合成を抑制する事に成功した。また BATF による癌浸潤転移の抑制については、Stat3 の下流で AP-1 と拮抗する因子として、BATF を見いだした。ヒアルロン酸合成が亢進している v-Crk 癌化細胞に、条件依存性に BATF を発現できる系を確立した。BATF 発現によりヒアルロン酸の合成を抑制できる事を確認した。更にこの減少を補完する系として、D/Nfos や c-Jun に対する siRNA の開発を行い、同様の結果を得つつ有る。また、ConA の刺激を伝達する機能レセプターとして SIRP $\alpha$ が機能している証左をつかんだ。更に、その下流で、チロシンフォスファターゼの SHP-2 が機能している事を明らかにした。SHP-2 遺伝子を破壊した細胞では、ConA 刺激による MMP 産生が著しく低下していた。他方、この細胞に SHP-2 を導入すると MMP 産生が回復した。また、この系が実際のヒト癌細胞で機能しているかを明らかにする為に、乳癌細胞における MMP 産生過程における SHP-2 の機能をその siRNA を用いてしらべ、乳癌細

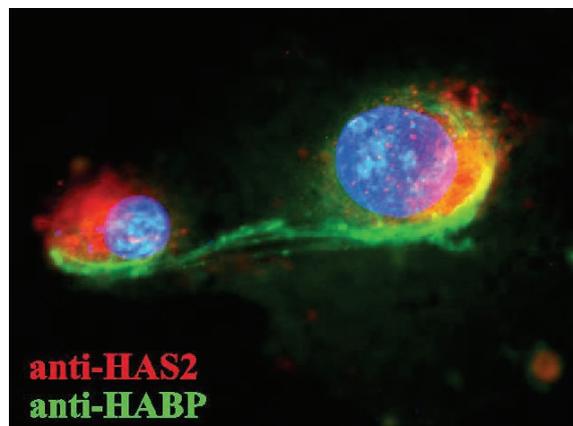


図 12. 抗 HAS 抗体による蛍光染色.

胞の浸潤過程に SHP-2 が重要な役割を果たす事を明らかにした。

## (2)研究成果の今後期待される効果

以上の結果より、ヒアルロン酸合成酵素とそのレセプターである CD44、あるいはその下流のシグナル伝達因子を標的とする siRNA アンチセンスを開発し、癌細胞の浸潤転移を抑制する新たな遺伝子治療法を開発するための基盤が整ったと考えられる。

### 3.6 ヒアルロン酸糖鎖を標的とした癌浸潤転移阻止技術の開発と創薬の研究 (信州大学 板野グループ)

#### 1. ヒアルロン酸・CD44 による癌転移促進機構の解明

##### (1)研究実施内容及び成果

①**研究実施方法:** ヒアルロン酸と受容体 CD44 との相互作用によって発信される糖鎖情報の制御機構を解析するため、ヒアルロン酸被覆基質に対する CD44 発現細胞の接着実験を施行した。血清蛋白質インター- $\alpha$ -トリプシンインヒビターの長鎖サブユニットに相当する SHAP(Serum-derived Hyaluronic acid-Associated Protein)は、ヒアルロン酸と複合体を形成して、その機能調節に働くと考えられている。そこで、ヒアルロン酸-SHAP 複合体と対照のヒアルロン酸単独を被覆した培養皿を用いて、Tリンパ腫細胞株 Hut78 細胞の CD44 依存的な細胞接着を比較検討した。

発癌に伴う三種のヒアルロン酸合成酵素(HAS1,2,3)の発現変動は、種々のがん遺伝子(v-ras や v-src, v-fos)で形質転換したラット線維芽細胞株 3Y1 細胞を用いて、リアルタイム定量 RT-PCR 法により解析した。また、v-ras で形質転換した 3Y1 細胞(HR-3Y1)に、アンチセンス HAS2 発現ベクターを導入し、ヒアルロン酸合成を抑制した細胞を樹立して、腹膜播種性の転移について検討した。次に、HAS1 や HAS2 遺伝子を導入した HR-3Y1 細胞を樹立して、ヌードマウス皮下における腫瘍増殖について、ヒアルロン酸産生量との関係を検討した。さらに、これら遺伝子導入細胞の運動性について、タイムラプス顕微鏡観察により I 型コラーゲン基質上での細胞移動速度を計測した。

ヒアルロン酸の過剰産生を伴って進展するヒト乳癌の病態解明を目的に、HAS2 遺伝子を Cre-loxP システムにより誘導性に発現するトランスジェニックマウスを作製した。そして MMTV-Neu 乳癌発症モデルマウスとの交配により、HAS2 コンディショナルトランスジェニックマウスに乳癌を誘発した。Cre リコンビナーゼの発現により、乳癌特異的にヒアルロン酸合成を誘導することで、ヒアルロン酸の過剰産生による腫瘍形成や増殖、血管新生、リンパ管新生への影響を検討した(図 14)。また、血管新生に対するヒアルロン酸の作用を明らかにするため、EHS 腫瘍由来の細胞外マトリックス成分であるマトリゲルに各種ヒアルロン酸標品を混入し、マウス皮下に移植して血管新生を評価した(マトリゲルプラグアッセイ)。抗 CD31 抗体を用いた免疫組織染色や CD31 遺伝子のリアルタイム定量 RT-PCR により、マトリゲル内に侵入した血管内皮細胞数を定量して

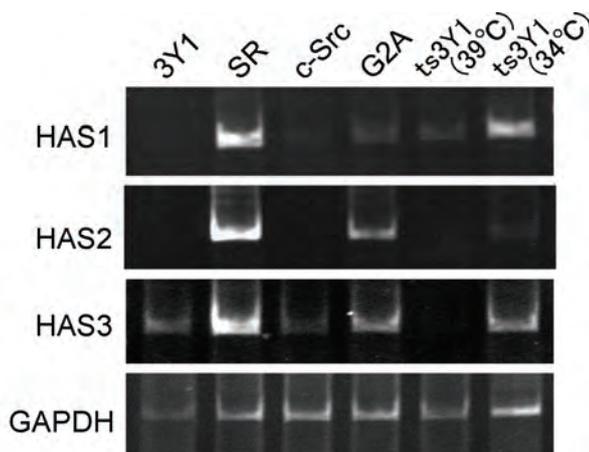


図 13. 各種 src 変異株発現細胞における HAS の発現.

血管新生の促進効果を解析した。また、HAS アイソフォームのうち HAS1 遺伝子のノックアウトマウスを作製して、あるいは、HAS2 遺伝子の siRNA を作用させてヒアルロン酸合成を抑制した際の血管新生への影響をマトリゲルプラグアッセイにより評価した。

②研究実施内容・成果: CD44 発現細胞である Hut78 細胞は、SHAP-ヒアルロン酸複合体を被覆した基質に対し、ヒアルロン酸単独を被覆した基質に比して、より強い細胞接着活性を示した(図 15)。この接着はヒアルロン酸の添加や、細胞を抗 CD44 抗体にて前処理することで完全に阻害されることから、ヒアルロン酸と CD44 の相互作用を介して成立していることが明らかとなった。さらに、CD44 非発現細胞である Jurkat 細胞に CD44 を発現させると、Hut78 細胞と同様、SHAP-ヒアルロン酸複合体に対して強い接着性を示した。以上の成果から、SHAP-ヒアルロン酸高分子会合体の形成が、CD44 を介した細胞認識を促進するという新たな調節機構が明らかとなった。

癌遺伝子により細胞を形質転換した場合は、ヒアルロン酸合成が有意に増加し、それと対応して HAS1 と HAS2 遺伝子の発現が亢進することを見出した。本解析から、細胞癌化に伴うヒアルロン酸合成の異常が、HAS 遺伝子の発現増加に起因している事が明らかとなった。さらに、v-ras 癌遺伝子によって形質転換した細胞において、HAS2 遺伝子の発現をアンチセンス法により抑制してヒアルロン酸合成を低下させた場合には、細胞運動性と腹膜播種性転移が有意に抑制されることを見出した。逆に HAS1 や HAS2 遺伝子を導入してヒアルロン酸の産生増加を誘導した場合には、ヌードマウスの皮下における腫瘍の成長が産生量依存的に促進されることを明らかにした。なお、ヒアルロン酸産生能が顕著な細胞株は、皮下における造腫瘍性がむしろ低下しており、過度のヒアルロン酸産生が腫瘍増殖にとって抑制的に働くことも新たに判明した。つまり、癌細胞は至適のヒアルロン酸合成能を獲得することで、増殖や転移に有利な細胞外環境を形成し、増殖性や接着性、運動性を高め、その性質をより増悪なものにしている機構が明らかとなってきた。

乳癌特異的にヒアルロン酸を過剰に産生するモデルマウスを作製し、病態解析を施行した。その結果、ヒアルロン酸過剰産生群では、乳癌組織における HAS2 の発現とヒアルロン酸量共に対照群よりも著明に上昇していた。腫瘍発生までの期間は、対照群に比べヒアルロン酸過剰産生群で短縮しており、腫瘍増殖速度も急速な増大を認めた。腫瘍の組織学的な検討から、ヒアルロン酸過剰産生群の腫瘍では低分化型腺癌の像を呈し、腫瘍内への間質細胞の動員と腫瘍間質の形成が顕著であった。一方、対照群の腫瘍は間質の乏しい腺癌の像を呈した。更に、ヒアルロン酸過剰産生群の腫瘍組織では、I 型コラーゲンとフィブロネクチン抗体陽性の間質構造が著明に観察された。また腫瘍内に CD31 抗体陽性の微小な血管が多数認められた。腫瘍間質の近傍に腫瘍血管の形成が著しいことから、間質由来の血管新生因子の関与が考えられ、事実、リアルタイム定量 RT-PCR による解析の結果、basic FGF や SDF-1a/CXCL12 の発現増加が明らかとなった。以上の

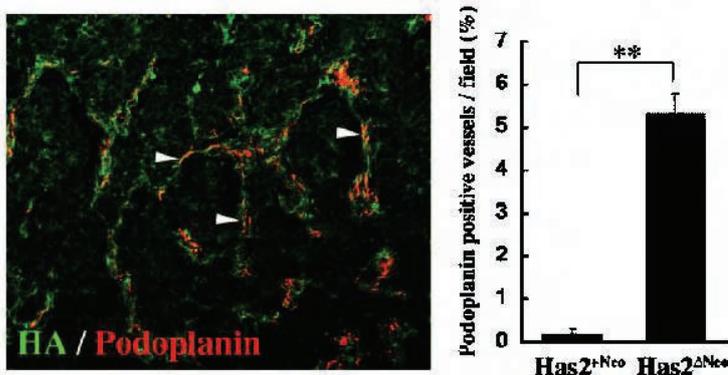


図 14. 乳癌特異的にヒアルロン酸を過剰に産生するモデルマウス(HAS コンディショナルトランスジェニックマウス)の乳癌組織におけるリンパ管形成の著明な亢進。

結果は、血管新生のヒアルロン酸依存的な促進に腫瘍間質の密接な関与を強く示唆している。次に、ヒアルロン酸合成の増加が間質反応及び血管新生促進に働く分子機構を解明するため、腫瘍内の細胞外マトリックスについてその構成分子の発現と局在を解析した。その結果、ヒアルロン酸結合性プロテ

オグリカンであるパーシカン/PG-M が、ヒアルロン酸合成の増加に伴って、腫瘍間質細胞の細胞外マトリックスに蓄積していることを明らかにした。これらの発見は、ヒアルロン酸リッチマトリックスが宿主間質細胞の動員に有利な細胞外微小環境を形成し、癌進展の促進に働くという考えを支持する。

腫瘍形成や癌転移の促進に働く血管新生に着目し、ヒアルロン酸の作用をマトリゲルプラグアッセイにより解析した。種々のヒアルロン酸標品をマトリゲルプラグアッセイに供して血管新生促進効果を検討した結果、高分子ヒアルロン酸単独では誘導されない血管新生が、パーシカンとの複合体により促進されるという新規の機構を明らかにした。マトリゲル内に新生した血管周囲にはヒアルロン酸マトリックスが形成されており、その形成に HAS1 と HAS2 が合成酵素として関与していることが明らかとなった。そして HAS1 遺伝子欠損マウスと野生型マウスについてマトリゲル内への血管侵入を測定した結果、HAS1 遺伝子欠損マウスは野生型マウスのそれと有意差を認めなかった。一方、HAS2 の siRNA を作用させると、血管侵入の有意な抑制が観察された。以上の結果より、HAS2 によって合成されるヒアルロン酸が、血管新生の促進に深く関与していることが明らかとなった。

③成果の位置づけ:ヒアルロン酸-CD44 相互作用によって発信される糖鎖情報の解読とその調節機構については、その解明が癌進展阻止の重要なポイントと位置づけられている。にもかかわらず、その調節機構が複雑で全体像を解明するに至っていない。これまでのところ、ヒアルロン酸糖鎖長や CD44 の活性化状態がその調節に重要とされている。しかしながら、ヒアルロン酸結合蛋白質による調節機構については、近年まさに注目され始めたところである。本研究はそうした状況の中で、ヒアルロン酸-CD44 相互作用に SHAP が調節因子として関与している事をいち早く解明した点で先駆的と言える。

癌遺伝子によるヒアルロン酸産生の亢進については古くからその報告があるが、今回我々は癌遺伝子による HAS 遺伝子の発現増加を明らかにした。さらに、ヒアルロン酸産生による腫瘍増殖の促進が単にヒアルロン酸量に依存しているのではなく、二層性の反応を呈し、過度なヒアルロン酸産生はむしろ腫瘍増殖の抑制に働く事を世界で初めて明らかにした。以上の事実は、細胞の癌化とヒアルロン酸合成異常との詳細な関係を知るために極めて重要な研究成果と位置づけられ、その後多くの論文により引用されている。また、HAS2 コンディショナルトランスジェニックマウスの樹立は、世界的に例がなく、乳癌におけるヒアルロン酸の過剰産生の報告も無い。今回、乳癌特異的にヒアルロン酸を過剰産生するモデルマウスを用いて解析した結果、このモデルマウスがヒト進行性乳癌の病態を反映した新規モデル動物であることが判明した。従って当該モデルマウスは、今後乳癌の進行を解析する為の極めて良い実験動物を提供するという点で重要である。ヒアルロン酸合成

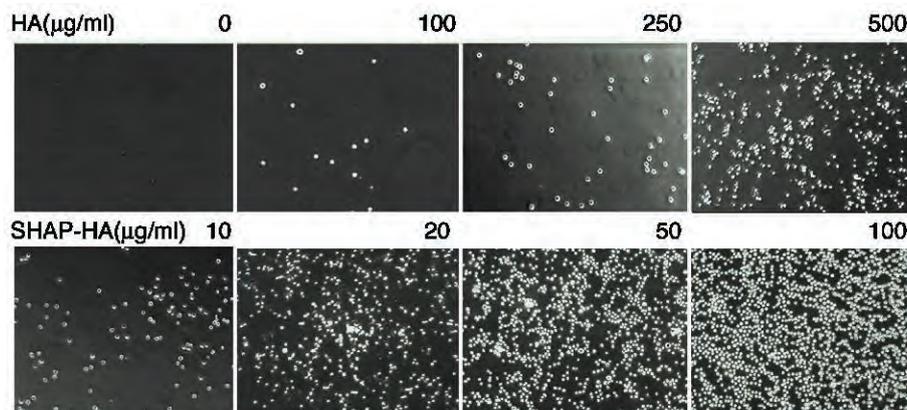


図 15. CD44 陽性細胞のヒアルロン酸および SHAP-ヒアルロン酸複合体への接着。CD44 陽性の HUT78 細胞が各濃度の固定化ヒアルロン酸および SHAP-ヒアルロン酸複合体へ接着する様子を観察した。SHAP-ヒアルロン酸複合体と同等の接着には 20~30 倍のヒアルロン酸濃度が必要である。

の制御技術を確認して、癌進展との関連を探るとい研究領域において、我々は現時点で既にヒアルロン酸合成に関して制御技術を確認しており、またその制御技術を用いて血管新生の抑制に成功している点で研究の最前に位置していると言える。

④類似研究との比較：癌進展におけるヒアルロン酸の関与についてはこれまでのところ癌細胞株を用いた研究が中心であり、ヒアルロン酸産生と癌細胞の増殖性や浸潤性との関係が報告されているに過ぎない。今回我々は、こうしたヒアルロン酸の関与について、発現レベルの異なる細胞を選別して解析する事により至適なヒアルロン酸合成レベルがある事を新規に明らかにした。一般にヒト癌において、ヒアルロン酸の産生増加と癌の進展との間に正の相関関係が認められているが、例外も知られていた。今回の結果は、従来の類似研究では解明されていない機構として、過度のヒアルロン酸産生がむしろ癌細胞の増殖に対して抑制的に働く可能性を示して、この問題の理解に新たな方向性を示した。一方、癌細胞株を用いた従来の解析では、前癌状態から癌化初期におけるヒアルロン酸の役割については解明されなかった。しかし今回、自然発症の乳癌モデルを用いることにより、ヒアルロン酸が癌の発生初期からその発生率や増殖速度を高める働きのある事が初めて確認された。

## (2)研究成果の今後期待される効果

①成果の今後の展開見込：本研究で示した SHAP やバーシカンの例にも明らかのように、ヒアルロン酸の機能発現や糖鎖情報が、結合分子の関与する複雑な分子間ネットワークによって総合的に調節される機構が浮き彫りとなった。従って今後の方針として、これら超分子複合体の有する生物機能に着目した応用研究を視野に研究を展開する見込みである。同時に、これらヒアルロン酸結合分子の機能阻害に基づく制癌・抗転移薬の開発が見込まれる。今後、ヒアルロン酸合成阻害剤やヒアルロン酸糖鎖シグナルの下流で機能するシグナル分子の阻害剤については、マウス動物試験により制癌・抗転移の前臨床試験を進め、臨床応用のための基礎的な情報を得ることを目指す。

②想定される科学技術や社会への波及効果：これまで、多くの癌組織において、ヒアルロン酸の過剰産生と予後との関係が指摘されてきたが、ヒアルロン酸糖鎖の過剰な産生が腫瘍内間質反応を強力に惹起するという今回の結果は、腫瘍間質を標的とした癌治療の新たな可能性を示すとともに「異常となったヒアルロン酸合成レベルを正常化することにより、癌を退縮させ転移を阻止することも可能」であることを示唆した。この点で、本研究の成果が新たな治療法開発に途を拓いたと言える。本研究により作製した HAS コンディショナルトランスジェニックマウスは、間質反応を伴う進行性乳癌の病態解明と治療法開発に有用であり、今後モデルマウスを用いたヒアルロン酸糖鎖合成阻害剤の制癌・抗転移効果の検討、さらにはその臨床応用が期待される。また、HAS コンディショナルトランスジェニックマウスは Cre リコンビナーゼを組織特異的に発現する事により基本的にあらゆる臓器でヒアルロン酸の過剰産生を誘導可能である。例えば、過剰なヒアルロン酸産生を伴ってその病態が進行する動脈硬化症や肝硬変等臓器線維症において、これら疾患の治療法開発の為のモデルマウスとして有用と成り得る点でその波及効果は大きい。

## 2 ヒアルロン酸合成機構の解明と合成阻害剤の開発

### (1) 研究実施内容及び成果

①研究実施方法：ヒアルロン酸合成阻害剤 4-メチルウンベリフェロン(MU)の阻害機序を明らかにするため、HAS2 遺伝子導入ラット 3Y1 細胞を用いて MU 添加によるヒアルロン酸合成への影響を解析した。合成酵素に対する MU の阻害活性については、遺伝子導入細胞の細胞膜画分を酵素源として、試験管内ヒアルロン酸合成系により検討した。ヒアルロン酸合成は、UDP-[14C]グルクロン酸のヒアルロン酸への取り込みを濾紙クロマトグラフィーにより解析して測定し、MU グルクロン酸

の生成は、薄層クロマトグラフィーと HPLC カラムクロマトグラフィーにより解析した。さらに UDP-グルクロン酸糖転移酵素(UGT1A6)と HAS2 cDNA を導入した COS 細胞を用いて、MU 添加によるヒアルロン酸合成阻害の増強効果を調べた。

無細胞ヒアルロン酸合成系の確立のため、バキュロウイルス-昆虫細胞系にてヒト HAS2 蛋白質をヒスチジンタグとの融合蛋白質として発現した。ウイルス感染細胞を培養した後、超音波処理にて細胞を破碎し、不溶性膜画分として HAS2 蛋白質を得た。その膜画分に界面活性剤を添加して脂質二重膜から HAS2 蛋白質を可溶化した。次に可溶化した HAS2 蛋白質をニッケルカラムクロマトグラフィーにより精製し、リン脂質から作製したリポソームを添加して脂質二重膜を再構成して酵素活性を調べた。

②**研究実施内容・成果**:ヒアルロン酸糖鎖合成阻害剤の開発を目的として、ヒアルロン酸合成阻害剤として報告されている MU について、その阻害機序に関する研究を行った。その結果、MU が濃度依存的に合成酵素活性を阻害すること、また MU によるヒアルロン酸合成の阻害に、UDP-グルクロン酸糖転移酵素(UGT)の糖転移反応による MU グルクロン酸の生成が深く関与していることを証明した。この結果は、UGT1A6 発現 COS 細胞において、MU の阻害作用が著しく増強されること、またこの酵素を発現していない COS 細胞では、MU によるヒアルロン酸合成阻害が認められないことから支持された。

無細胞ヒアルロン酸合成系の確立を目指し、バキュロウイルス-昆虫細胞発現系を用いた HAS 蛋白質の大量発現と精製を試みた。そして、HAS 蛋白質をヒスチジンタグとの融合蛋白質として発現し、界面活性剤により活性を保持した状態で可溶化、さらに部分精製することに成功した。そして、昆虫細胞系においても従来の哺乳動物細胞系で発現した場合と同程度の活性を保持した HAS2 蛋白質を得ることが示された。可溶化のための界面活性剤としては、概して親水部に糖鎖を持った非イオン性のものが適していることがわかった。リン脂質により膜の再構成を図ったものは界面活性剤で可溶化しただけのものに比べて活性が向上した。リン脂質の種類に関しては、親水部の電荷、アルキル鎖長や不飽和度の違いが HAS2 蛋白質の安定性に大きな影響を及ぼすことが明らかとなった。さらに膜再構成前後の HAS2 蛋白質をゲルろ過クロマトグラフィーにより分画したところ、複数のピークが現れたが、高分子量域にある HAS2 蛋白質-脂質複合体のピークが相対的に最も活性が高いことがわかった。以上の結果から、脂質等により HAS2 蛋白質が堅固に保持された安定な複合体として存在する場合に、十分な活性が維持されることが示唆された。

③**成果の位置づけ**:HAS2 蛋白質は細胞膜を 7 回貫通する膜蛋白質であるために精製は困難とされてきたが、今回我々は哺乳動物由来の HAS 蛋白質を安定にしかも活性を維持した状態で精製することに世界に先駆けて成功した。これにより、無細胞ヒアルロン酸合成系の確立に向け大きく前進した。また、細菌由来の HAS については、精製酵素を用いた解析例の報告があるが、哺乳動物由来の HAS については、精製蛋白質を用いた無細胞ヒアルロン酸合成系についての報告は無く、本研究は先駆的と言える。

④**類似研究との比較**:細菌由来の HAS については、精製酵素を用いたリン脂質の要求性についての解析例が報告されている。しかしながら、哺乳動物由来の HAS については、精製蛋白質を用いたヒアルロン酸合成機構解明についての報告は無く、リン脂質に対する依存性も明らかとなっていなかった。今回の解析により、細菌由来の HAS 蛋白質がその活性にカルジオリピンを要求するのに対して、哺乳動物の HAS 蛋白質はフォスファチジルセリンがその活性発現に最も効果的であり、脂質要求生に差異がある事を今回初めて明らかにした。

(2)研究成果の今後期待される効果

①**成果の今後の展開見込**:本研究の結果、UGT の基質となる化合物が潜在的にヒアルロン酸合成阻害に働く可能性が示唆された。今後、その阻害機序に関する情報をもとに新規阻害

物質の探索と開発を進めることが可能である。また、無細胞ヒアルロン酸合成系の確立を受けて、今後は新規ヒアルロン酸合成阻害剤をハイスループットに探索し、阻害活性の認められた化合物について動物試験により制癌・抗転移活性を評価することにより、前臨床試験的なデータを取得して薬の開発を展開する事が期待される。

**②想定される科学技術や社会への波及効果:**ヒアルロン酸合成阻害剤の開発は癌に対する薬の開発に留まらず、ヒアルロン酸の過剰な産生を伴ってその病態が進行する動脈硬化や肝硬変といった臓器線維症の治療薬としてもその有効性が期待されている。これらの疾患は癌と並び我が国における死亡原因の上位を占めている。しかしながら、これまでのところ有効な治療薬が少ないのが現状である。今後、本研究の成果に基づいて開発される新規合成阻害剤がこれら臓器線維症の新規治療薬として開発される事は、疾患に悩む患者にとって有益であり、社会への波及効果も大きいと想像される。

#### 4 研究参加者

①神奈木グループ(セレクチンと糖鎖リガンドを介した細胞識別・接着の制御機構とがんの進展)

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
神奈木玲児	愛知県がんセンター研究所分子病態学部	部長	研究全般統括	平成14年11月～平成20年3月
田口 修	同上	室長	動物実験	平成14年11月～平成20年3月
京ヶ島守	同上	主任研究員	細胞生物学的実験	平成16年4月～平成20年3月
佐久間敬一朗	同上	主任研究員	分子生物学的実験	平成19年4月～平成20年3月
金森審子	同上	主任研究員	分子生物学的実験	平成14年11月～平成20年3月
陳 国雲	同上	CREST 研究員	分子生物学的実験	平成15年10月～平成20年3月
林 啓智	同上	特任研究員	分子生物学的実験	平成18年1月～平成20年3月
殷 軍	同上	リサーチレジデント	分子生物学的実験	平成15年4月～平成20年3月
安川然太	同上	リサーチレジデント	分子生物学的実験	平成18年4月～平成20年3月
遊佐亜希子	同上	リサーチレジデント	分子生物学的実験	平成19年4月～平成20年3月
井澤峯子	同上	技師	細胞生物学的実験	平成14年11月～平成20年3月
後藤嘉子	同上	技師	細胞生物学的実験	平成15年1月～平成20年3月
宮崎敬子	同上	CREST 技術員	細胞生物学的実験	平成14年11月～平成20年3月
橋本彩子	同上	CREST 研究補助員	分子生物学的実験	平成15年4～平成17年11月
西岡明子	同上	技術補佐員	動物実験	平成15年4月～平成20年3月
木村尚子	同上	研修員(大学院博士課程)	分子生物学的実験	平成15年5月～平成20年3月
藤井正宏	同上	研修員(大学院博士課程)	細胞生物学的実験	平成18年6月～平成20年3月
矢木宏和	同上	研修員(大学院博士課程)	分子生物学的実験	平成18年4月～平成20年3月
近藤幸子	同上	研修員	生化学的実験	平成18年4月～平成20年3月

萩原和美	同上	研修員	細胞生物学的実験	平成18年6月～平成20年3月
藤井正宏	同上	研修員(大学院博士課程)	細胞生物学的実験	平成18年6月～平成20年3月
小池哲史	同上	研修員(大学院博士課程)	分子生物学的実験	平成15年4月～平成20年3月
芥川篤史	同上	研修員(大学院博士課程)	細胞生物学的実験	平成16年5～平成19年3月
八尾村多佳朗	同上	リサーチレジデント	分子生物学的実験	平成15年4～平成17年3月
上田 大	同上	リサーチレジデント	生化学的実験	平成16年4～平成17年3月
Fathy ElFasakhany	同上	外国人特別研究員	細胞生物学的実験	平成14年11～平成17年10月
隈元謙介	大原病院	医師	分子生物学的実験	平成14年11～平成17年3月
藪田智範	大原病院	医師	分子生物学的実験	平成14年11～平成17年3月
内村健治	国立長寿医療センター	室長	分子生物学的実験	平成18年11月～平成20年3月
玉置広美	愛知県がんセンター研究所	技術補佐員	細胞生物学的実験	平成19年4月～平成20年3月

②北島グループ(細胞接着に関わるシアル酸の構造変化と細胞接着制御の解明)

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
北島 健	名古屋大学・生物機能開発利用研究センター	教授	研究全般とグループ統括	平成14年11月～平成20年3月
佐藤ちひろ	同上	准教授	研究全般、特に検出法の確立	平成14年11月～平成20年3月
井上貞子	同上	客員研究員	メカニズムの解析	平成18年4月～平成20年3月
朝比奈慎二	同上	D2-D3	メカニズムの解析	平成14年11月～平成18年9月
矢部字一郎	同上	D2-D3	メカニズムの解析	平成14年11月～平成17年3月
安川然太	同上	D1-D3	メカニズムの解析	平成14年11月～平成18年3月
足立朋子	同上	M2-D3	メカニズムの解析	平成14年11月～平成19年6月
郷 慎司	同上	M2-D3	メカニズムの解析	平成14年11月～平成19年4月
宮田真路	同上	M2-D3	メカニズムの解析	平成14年11月～平成18年3月

原田陽一郎	同上	D1-D3, CREST 研究補助員	メカニズム解析、 利用技術基盤確立	平成15年4月～ 平成19年6月
殷 軍	同上	D1-D3	メカニズムの解 析	平成15年4月～ 平成18年3月
遊佐重希子	同上	D1-D3	メカニズムの解 析	平成15年4月～ 平成18年3月
藤田明子	同上	M1-D3	メカニズムの解 析	平成14年11月～ 平成19年3月
山川奈緒	同上	M1-D3	メカニズムの解 析	平成14年11月～ 平成20年3月
岩田章子	同上	CREST 研究補 助員	検出法の確立、メ カニズム解析、利 用技術基盤確立	平成15年4月～ 平成20年3月

③土肥グループ(消化器癌の糖鎖不全現象におけるエピジェネティックな遺伝子抑制機構の解析)

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
土肥多恵子	国立国際医療 センター研究所 消化器疾患研 究部	部長	消化器癌の糖鎖不全現 象におけるエピジェネテ ィックな遺伝子抑制機構 の解析	平成18年4月～ 平成20年3月
河村由紀	国立国際医療 センター研究所	CREST 研 究員	消化器癌の糖鎖不全現 象におけるエピジェネテ ィックな遺伝子抑制機構 の解析	平成18年4月～ 平成20年3月
川島 麗	国立国際医療 センター研究所	研究補助 員	消化器癌の糖鎖不全現 象におけるエピジェネテ ィックな遺伝子抑制機構 の解析	平成19年8月～ 平成20年3月

④小島グループ(細胞接着性機能糖鎖の構造解析と人工糖脂質を用いた糖鎖の機能解析)

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
小島 直也	東海大学・糖鎖 工学研究施設	教授	グループの統括、リガ ンドドメインの機能解 析	平成14年11月～ 平成19年10月
清水 佳隆	東海大学・糖鎖 工学研究施設	東海大学 ・特定研究 員	機能性糖鎖の人工糖脂 質ライブラリーの構築 およびセレクトインリガ ンド糖鎖の検索	平成14年11月～ 平成15年10月
黒田 泰弘	東海大学・糖鎖 工学研究施設、 JST(東海大学 ・糖鎖工学研究 施設)	東海大学 ・特定研究 員、CRES T 研究員	糖鎖の構造解析および タンパク質部分の解析	平成14年11月～ 平成19年8月

松村 和俊	JST (東海大学・糖鎖工学研究施設)	CREST 技術員	リガンドの構造解析	平成 15 年 5 月～平成 17 年 1 月
鈴木 智佳子	東海大学・糖鎖工学研究施設	研究補助員	マイクロドメイン中の糖タンパク質の解析	平成 16 年 9 月～平成 18 年 12 月
森 泰之	東海大学大学院・理学研究科	大学院生	蛍光人工糖脂質の開発と糖鎖の機能・構造の解析	平成 17 年 4 月～平成 19 年 3 月

④ 浜口グループ(癌細胞の浸潤転移を制御するヒアルロン酸-CD44 シグナルの研究)

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
浜口道成	名古屋大学大学院医学系研究科	教授	総括	平成 14 年 11 月～平成 19 年 10 月
岩本隆司	名古屋大学大学院医学系研究科	助教授	遺伝子の解析	平成 14 年 11 月～平成 18 年 3 月
NaingNaing Mon	名古屋大学大学院医学系研究科	外国人研究者	シグナル伝達因子の解析	平成 16 年 4 月～平成 19 年 10 月
長谷川仁紀	名古屋大学大学院医学系研究科	客員研究者	Crk 癌化細胞の解析	平成 16 年 4 月～平成 19 年 10 月
黄鵬宇	名古屋大学大学院医学系研究科	研究員	細胞生物学的解析	平成 14 年 11 月～平成 19 年 10 月
鈴木紀子	名古屋大学大学院医学系研究科	CREST 研究補助員	遺伝子、細胞の調整	平成 14 年 11 月～平成 19 年 10 月

⑤ 板野グループ(ヒアルロン酸糖鎖を標的とした癌浸潤転移阻止技術の開発と創薬の研究)

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
板野 直樹	信州大学大学院医学研究科加齢適応医科学系専攻	准教授	ヒアルロン酸・CD44 による癌転移促進機構の解明・ヒアルロン酸合成機構の解明と合成阻害剤の開発	平成 14 年 11 月～平成 19 年 3 月
卓 麗聖	愛知医科大学分子医科学研究所	助教	ヒアルロン酸・CD44 による癌転移促進機構の解明	平成 14 年 11 月～平成 18 年 3 月 (平成 15 年 4 月～平成 16 年 3 月 CREST 研究員)

森 俊明	東京工業大学 大学院生命理 工学研究科 生 体分子機能工 学専攻	准教授	ヒアルロン酸合成機構 の解明と合成阻害剤の 開発	平成 17 年 4 月～ 平成 18 年 3 月
日比 輝正	科学技術振興 機構	CREST 技術員	ヒアルロン酸・CD44 に よる癌転移促進機構の 解明（データの収集及 び解析）	平成 16 年 5 月～ 平成 17 年 4 月
村川 明子	東京工業大学 大学院生命理 工学研究科 生 体分子機能工 学専攻	D3	ヒアルロン酸合成機構 の解明と合成阻害剤の 開発（データの収集及 び解析）	平成 16 年 7 月～ 平成 18 年 3 月 （平成 16 年 7 月～ 平成 17 年 6 月 CREST 研究補助員）
大池 朋子	科学技術振興 機構	CREST 研究補助 員	ヒアルロン酸合成機構 の解明と合成阻害剤の 開発（データの収集及 び解析）	平成 17 年 7 月～ 平成 19 年 3 月
小山 洋	信州大学大学 院医学研究科 加齢適応医科 学系専攻	D2	ヒアルロン酸・CD44 に よる癌転移促進機構の 解明	平成 17 年 8 月～ 平成 20 年 3 月
小林 宣隆	信州大学大学 院医学研究科 加齢適応医科 学系専攻	D1	ヒアルロン酸・CD44 に よる癌転移促進機構の 解明	平成 19 年 3 月～ 平成 20 年 3 月
畑田 靖世	信州大学大学 院医学研究科 加齢適応医科 学系専攻	M1	ヒアルロン酸合成機構 の解明と合成阻害剤の 開発	平成 19 年 5 月～ 平成 19 年 10 月 （研究補助員として 大学で採用し、JST 委 託費で雇用）
三好 征司	信州大学大学 院医学研究科 加齢適応医科 学系専攻	M1	ヒアルロン酸・CD44 に よる癌転移促進機構の 解明	平成 19 年 5 月～ 平成 19 年 10 月 （研究補助員として 大学で採用し、JST 委 託費で雇用）

#### 5 招聘した研究者等

氏名(所属、役職)	招聘の目的	滞在先	滞在期間
なし			

## 6 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内誌 0件、国際誌 73件)

1. Tei, K., Kawakami-Kimura, N., Taguchi, O., Kumamoto, K., Higashiyama, S., Taniguchi, N., Toda, K., Kawata, R., Hisa, Y., and Kannagi, R. Roles of cell adhesion molecules in tumor angiogenesis induced by co-transplantation of cancer and endothelial cells to nude rats. *Cancer Res.*, **62**: 6289-6296, 2002.
2. Koike, C., Luppi, P., Sharma, S.B., Kannagi, R., Nakashima, I., Starzl, T.E., and Trucco, M. Molecular basis of evolutionary loss of  $\alpha$ 1,3-galactosyltransferase gene in higher primates. *J. Biol. Chem.*, **277**: 10114-10120, 2002.
3. Hamada, T., Hirota, H., Yokoyama, S., Yamaguchi, M., Ohtsu, Y., Ishida, H., Kiso, M., Kanamori, A., and Kannagi, R. NMR structure elucidation of cyclic sialyl 6-sulfo Lewis x, a biologically dormant form of L-selectin ligand. *Tetrahedron Lett.*, **44**: 1167-1170, 2003.
4. Hiraiwa, N., Yabuta, T., Yoritomi, K., Hiraiwa, M., Tanaka, Y., Suzuki, T., Yoshida, M., and Kannagi, R. Transactivation of the fucosyltransferase VII gene by human T-cell leukemia virus type 1 tax through a variant cAMP-responsive element. *Blood*, **101**: 3615-3621, 2003.
5. Tsuchida, A., Okajima, T., Furukawa, K., Ando, T., Ishida, H., Yoshida, A., Nakamura, Y., Kannagi, R., Kiso, M., and Furukawa, K. Synthesis of disialyl Lewis a structure in colon cancer cell lines by a sialyltransferase ST6GalNAc VI responsible for the synthesis of  $\alpha$ -series gangliosides. *J. Biol. Chem.*, **278**: 22787-22794, 2003.
6. Yamaguchi, M., Ishida, H., Kanamori, A., Kannagi, R., and Kiso, M. Studies on the endogenous L-selectin ligands: systematic and highly efficient total synthetic routes to lactamized-sialyl 6-O-sulfo Lewis X and other novel gangliosides containing lactamized neuraminic acid. *Carbohydr. Res.*, **338**: 2793-2812, 2003.
7. Hirata, T., Furukawa, Y., Yang, B.G., Hieshima, K., Fukuda, M., Kannagi, R., Yoshie, O., and Miyasaka, M. Human PSGL-1 interacts with the skin-associated chemokine CCL27 via sulfated tyrosines at the PSGL-1 amino terminus. *J. Biol. Chem.*, **279**: 51775-51782, 2004.
8. Itano, N., Sawai, T., Atsumi, F., Miyaishi, O., Taniguchi, S., Kannagi, R., Hamaguchi, M., and Kimata, K. Selective expression and functional characteristics of three mammalian hyaluronan synthases in oncogenic malignant transformation. *J. Biol. Chem.*, **279**: 18679-18687, 2004.
9. Kakizaki, I., Kojima, K., Takagaki, K., Endo, M., Kannagi, R., Ito, M., Maruo, Y., Sato, H., Yasuda, T., Mita, S., Kimata, K., and Itano, N. A novel mechanism for the inhibition of hyaluronan biosynthesis by 4-methylumbelliferone. *J. Biol. Chem.*, **279**: 33281-33289, 2004.
10. Kanda, H., Tanaka, T., Matsumoto, M., Umemoto, E., Ebisuno, Y., Kinoshita, M., Noda, M., Kannagi, R., Hirata, T., Murai, T., Fukuda, M., and Miyasaka, M. Endomucin, a sialomucin expressed in high endothelial venules, supports L-selectin-mediated rolling. *Int. Immunol.*, **16**: 1265-1274, 2004.
11. Koike, T., Kimura, N., Miyazaki, K., Yabuta, T., Kumamoto, K., Takenoshita, S., Chen, J., Kobayashi, M., Hosokawa, M., Taniguchi, A., Kojima, T., Ishida, N., Kawakita, M., Yamamoto, H., Takematsu, H., Kozutsumi, Y., Suzuki, A., and Kannagi, R. Hypoxia induces adhesion molecules on cancer cells-a missing link between Warburg effect and induction of selectin ligand carbohydrates. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **101**: 8132-8137, 2004.
12. Miyazaki, K., Ohmori, K., Izawa, M., Koike, T., Kumamoto, K., Furukawa, K., Ando, T., Kiso, M., Yamaji, T., Hashimoto, Y., Suzuki, A., Yoshida, A., Takeuchi, M., and Kannagi, R. Loss of disialyl Lewis<sup>a</sup>, the ligand for lymphocyte inhibitory receptor Siglec-7, associated with increased sialyl Lewis<sup>a</sup> expression on human colon cancers. *Cancer Res.*, **64**: 4498-4505, 2004.
13. Murata, K., Miyoshi, E., Ihara, S., Kameyama, M., Ishikawa, O., Doki, Y., Fukuoka, H., Tarui, T., Takada, Y., Kannagi, R., Taniguchi, N., and Imaoka, S. Attachment of colon cancer cells onto vascular endothelial cells is enhanced by N-acetylglucosaminyltransferase V (GnT-V). *Oncology*, **66**: 492-501, 2004.
14. Suzuki, A., Yoshioka, S., Sekine, M., Yonekawa, H., Takenaka, M., and Kannagi, R. Core 2 GlcNAc transferase and kidney tubular cell-specific expression. *Glycoconj. J.*, **20**: 151-156,

- 2004.
15. Uchimura, K., Kadomatsu, K., El Fasakhany, F.M., Singer, M.S., Izawa, M., Kannagi, R., Takeda, N., Rosen, S.D., and Muramatsu, T. *N*-acetylglucosamine 6-*O*-sulfotransferase-1 regulates expression of L-selectin ligands and lymphocyte homing. *J. Biol. Chem.*, **279**: 35001-35008, 2004.
  16. Yamaguchi, M., Ishida, H., Kanamori, A., Kannagi, R., and Kiso, M. Synthesis and antigenic property of a novel sialyl 6-*O*-sulfo Lewis X neo-glycolipid containing lactamized neuraminic acid. *J. Carbohydr. Chem.*, **23**: 201-215, 2004.
  17. Otsubo, N., Ishida, H., Kannagi, R., and Kiso, M. Design and synthesis of a novel neo-glycolipid containing sialyl Lewis X determinant carried on the mucin GlcNAc $\beta$ 1-6GalNAc $\alpha$  core structure. *Tetrahedron Asymmetry*, **16**: 1321-1327, 2005.
  18. Satoh, T., Kanai, Y., Wu, M.H., Yokozeki, H., Kannagi, R., Lowe, J.B., and Nishioka, K. Synthesis of  $\alpha$ (1,3)fucosyltransferases IV- and VII-dependent eosinophil selectin ligand and recruitment to the skin. *Am. J. Pathol.*, **167**: 787-796, 2005.
  19. Tjew, S.L., Brown, K.L., Kannagi, R., and Johnson, P. Expression of N-acetylglucosamine 6-*O* sulfotransferases (GlcNAc6STs) -1 and -4 in human monocytes: GlcNAc6ST-1 is implicated in the generation of the 6-sulfo N-acetylglucosamine/Lewis x epitope on CD44 and is induced by TNF- $\alpha$ . *Glycobiology*, **15**: 7C-13C, 2005.
  20. Uchimura, K., Gauguier, J.M., Singer, M.S., Tsay, D., Kannagi, R., Muramatsu, T., Von Andrian, U.H., and Rosen, S.D. A major class of L-selectin ligands is eliminated in mice deficient in two sulfotransferases expressed in high endothelial venules. *Nat. Immunol.*, **6**: 1105-1113, 2005.
  21. Yagi, H., Takahashi, N., Yamaguchi, Y., Kimura, N., Uchimura, K., Kannagi, R., and Kato, K. Development of structural analysis of sulfated N-glycans by multi-dimensional HPLC mapping methods. *Glycobiology*, **15**: 1051-1060, 2005.
  22. Yamaguchi, M., Ishida, H., Kanamori, A., Kannagi, R., and Kiso, M. 6-*O*-Sulfo sialylparagloboside and sialyl Lewis X neo-glycolipids containing lactamized neuraminic acid: Synthesis and antigenic reactivity against G159 monoclonal antibody. *Glycoconj. J.*, **22**: 95-108, 2005.
  23. Biswas, M.H., Hasegawa, H.H., Aminur, R.M., Huang, P., Mon, N.N., Ruhul Amin, A.R., Senga, T., Kannagi, R., and Hamaguchi, M. SHP-2-Erk signaling regulates Concanavalin A-dependent production of TIMP-2. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **348**: 1145-1149, 2006.
  24. Chen, G.-Y., Osada, H., Santamaria-Babi, L.F., and Kannagi, R. Interaction of GATA-3/T-bet transcription factors regulates expression of sialyl Lewis X homing receptors on Th1/Th2 lymphocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **103**: 16894-16899, 2006.
  25. Kamiyama, S., Sasaki, N., Goda, E., Ui-Tei, K., Saigo, K., Narimatsu, H., Jigami, Y., Kannagi, R., Irimura, T., and Nishihara, S. Molecular cloning and characterization of a novel 3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate transporter, PAPST2. *J. Biol. Chem.*, **281**: 10945-10953, 2006.
  26. Kanoh, A., Seko, A., Ideo, H., Yoshida, M., Nomoto, M., Yonezawa, S., Sakamoto, M., Kannagi, R., and Yamashita, K. Ectopic expression of *N*-acetylglucosamine 6-*O*-sulfotransferase 2 in chemotherapy-resistant ovarian adenocarcinomas. *Glycoconj. J.*, **23**: 453-460, 2006.
  27. Kyogashima, M., Tamiya-Koizumi, K., Ehara, T., Li, G., Hu, R., Hara, A., Aoyama, T., and Kannagi, R. Rapid demonstration of diversity of sulfatide molecular species from biological materials by MALDI-TOF MS. *Glycobiology*, **16**: 710-728, 2006.
  28. Ohmori, K., Fukui, F., Kiso, M., Imai, T., Yoshie, O., Hasegawa, H., Matsushima, K., and Kannagi, R. Identification of cutaneous lymphocyte-associated antigen as sialyl 6-sulfo Lewis x, a selectin ligand expressed on a subset of skin-homing helper memory T cells. *Blood*, **107**: 3197-3204, 2006.
  29. Yin, J., Hashimoto, A., Izawa, M., Miyazaki, K., Chen, G.-Y., Takematsu, H., Kozutsumi, Y., Suzuki, A., Furuhashi, K., Cheng, F.-L., Lin, C.-H., Sato, C., Kitajima, K., and Kannagi, R. Hypoxic culture induces expression of sialin, a sialic acid transporter, and cancer-associated gangliosides containing non-human sialic acid on human cancer cells. *Cancer Res.*, **66**: 2937-2945, 2006.
  30. Zhuo, L., Kanamori, A., Kannagi, R., Itano, N., Wu, J., Hamaguchi, M., Ishiguro, N., and

- Kimata, K. SHAP potentiates the CD44-mediated leukocyte adhesion to the hyaluronan substratum. *J. Biol. Chem.*, **281**: 20303-20314, 2006.
31. Go, S., Sato, C., Yin, J., Kannagi, R., and Kitajima, K. Hypoxia-enhanced expression of free deaminoneuraminic acid in human cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **357**: 537-542, 2007.
  32. Hu, R., Li, G., Kamijo, Y., Aoyama, T., Nakajima, T., Inoue, T., Node, K., Kannagi, R., Kyogashima, M., and Hara, A. Serum sulfatides as a novel biomarker for cardiovascular disease in patients with end-stage renal failure. *Glycoconj. J.*, 2007.
  33. Koyama, H., Hibi, T., Isogai, Z., Yoneda, M., Fujimori, M., Amano, J., Kawakubo, M., Kannagi, R., Kimata, K., Taniguchi, S., and Itano, N. Hyperproduction of hyaluronan in Neu-induced mammary tumor accelerates angiogenesis through stromal cell recruitment: Possible involvement of versican/PG-M. *Am. J. Pathol.*, **170**: 1086-1099, 2007.
  34. Li, G., Hu, R., Kamijo, Y., Nakajima, T., Aoyama, T., Inoue, T., Node, K., Kannagi, R., Kyogashima, M., and Hara, A. Establishment of a quantitative, qualitative, and high-throughput analysis of sulfatides from small amounts of sera by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Anal. Biochem.*, **362**: 1-7, 2007.
  35. Ruhul Amin, A.R., Uddin Biswas, M.H., Senga, T., Feng, G.S., Kannagi, R., Agarwal, M.L., and Hamaguchi, M. A role for SHPS-1/SIRPa in Concanavalin A-dependent production of MMP-9. *Genes Cells*, **12**: 1023-1033, 2007.
  36. Wu, A.M., Khoo, K.H., Yu, S.Y., Yang, Z., Kannagi, R., and Watkins, W.M. Glycomic mapping of pseudomucinous human ovarian cyst glycoproteins: Identification of Lewis and sialyl Lewis glycotopes. *Proteomics*, **7**: 3699-3717, 2007.
  37. Yamasaki, Y., Ito, S., Tsunoda, N., Kokuryo, T., Hara, K., Senga, T., Kannagi, R., Yamamoto, T., Oda, K., Nagino, M., Nimura, Y., and Hamaguchi, M. SIRP $\alpha$ 1 and SIRP $\alpha$ 2: Their role as tumor suppressors in breast carcinoma cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **361**: 7-13, 2007.
  38. Kimura, N., Ohmori, K., Miyazaki, K., Izawa, M., Matsuzaki, Y., Yasuda, Y., Takematsu, H., Kozutsumi, Y., Moriyama, A., and Kannagi, R. Human B-lymphocytes express  $\alpha$  2-6 sialylated 6-sulfo-N-acetyllactosamine serving as a preferred ligand for CD22/siglec-2. *J. Biol. Chem.*, **282**: 32200-32207, 2007.
  39. Nonomura, C., Kikuchi, J., Kiyokawa, N., Ozaki, H., Mitsunaga, K., Ando, H., Kanamori, A., Kannagi, R., Fujimoto, J., Muroi, K., Furukawa, Y., and Nakamura, M.: CD43, but not P-selectin glycoprotein ligand-1, functions as an E-selectin counter-receptor in human pre-B-cell leukemia NALL-1. *Cancer Res.*, **68**: 790-799, 2008.
  40. Zhang, H., Yoshioka, S., Miyazaki, M., Kannagi, R., and Suzuki, A. Core 2 GlcNAc modification and megalin ligand-binding activity. *Biochim. Biophys. Acta*, in press, 2008.
  41. Maehashi, E., Sato, C., Ohta, K., Harada, Y., Matsuda, T., Hirohashi, N., Lennarz, W. J., and Kitajima, K. Identification of the sea urchin 350 kDa sperm binding protein as a new sialic acid-binding lectin that belongs to the heat shock protein 110 family. Implication of its binding to gangliosides in sperm lipid rafts in fertilization. *J. Biol. Chem.* **278**: 42050-42057, 2003.
  42. Miyata, S., Sato, C., Kitamura, S., Toriyama, M., and Kitajima, K. A major flagellum sialoglycoprotein in sea urchin sperm contains a novel polysialic acid, an  $\alpha$ 2,9-linked poly-N-acetylneuraminic acid chain, capped by an 8-O-sulfated sialic acid residue. *Glycobiology*, **14**: 827-840, 2004.
  43. Asahina, S., Sato, C., and Kitajima, K. Developmental expression of a sialyltransferase responsible for sialylation of cortical alveolus glycoprotein during oogenesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Biochem. (Tokyo)*, **136**: 189-198, 2004.
  44. Fujita, A., Sato, C., Munster-Kuhnel, A.-K., Gerardy-Schahn, R., and Kitajima, K. Development of a simple and efficient method for assaying cytidine monophosphate sialic acid synthetase activity using an enzymatic reduced nicotinamide adenine dinucleotide/oxidized nicotinamide adenine dinucleotide converting system. *Anal. Biochem.*, **337**: 12-21, 2005.
  45. Yasukawa, Z., Sato, C., and Kitajima, K. Inflammation-dependent changes in  $\alpha$ 2,3-,  $\alpha$ 2,6-, and  $\alpha$ 2,8-sialic acid glycotopes on serum glycoproteins in mice. *Glycobiology* **15**: 827-837, 2005.
  46. Go, S., Sato, C., and Kitajima, K. Oral ingestion of mannose alters the expression level of

- deaminoneuraminic acid (KDN) in mouse organs. *Glycoconjugate J.* **23**: 409-419, 2006
47. Yasukawa, Z., Sato, C., Sano, K., Ogawa, H. and Kitajima, K. Identification of disialic acid-containing glycoproteins in mouse serum: a novel modification of immunoglobulin light chains, vitronectin, and plasminogen. *Glycobiology* **16**: 651-665, 2006
  48. Asahina, S., Sato, C., Matsuno, M., Matsuda, T., Colley, K., and Kitajima, K. Involvement of the  $\alpha$ 2,8-polysialyltransferases II/STX and IV/PST in the biosynthesis of polysialic acid chains on the O-linked glycoproteins in Rainbow Trout ovary. *J. Biolchem. (Tokyo)* **140**: 687-701, 2006
  49. Miyata, S., Sato, C., Kumita, H., Toriyama, M., Vacquier, V. D., and Kitajima, K. Flagelliasialin: a novel sulfated  $\alpha$ 2,9-linked polysialic acid glycoprotein of sea urchin sperm flagella. *Glycobiology* **16**: 1229-1241, 2006
  50. Harada, Y., Sato, C., and Kitajima, K. Complex formation of 70-kDa heat shock protein with acidic glycolipids and phospholipids. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **353**: 655-660, 2007.
  51. Yasukawa, Z., Sato, C., and Kitajima, K. Identification of an inflammation-inducible serum protein recognized by anti-disialic acid antibodies as carbonic anhydrase II. *J. Biochem. (Tokyo)* **141**: 429-441, 2007.
  52. Fujita, A., Sato, C., and Kitajima, K. Identification of the nuclear export signals that regulate the intracellular localization of the mouse CMP-sialic acid synthetase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **355**: 174-180, 2007.
  53. Yamakawa, N., Sato, C., Miyata, S., Maehashi, E., Toriyama, M., Sato, N., Furuhata, K., and Kitajima, K. Development of sensitive chemical and immunochemical methods for detecting sulfated sialic acids and their application to glycoconjugates from sea urchin sperm and eggs. *Biochimie* **89**, 1396-1408, 2007.
  54. Dohi, T., and Kawamura, Y.I., Incomplete synthesis of the Sd<sup>a</sup>/Cad blood group carbohydrate in gastrointestinal cancer *Biochimica et Biophysica Acta*, in press, 2008.
  55. Kawamura, Y.I., Toyota, M., Kawashima, R., Hagiwara, T., Suzuki, H., Imai, K., Shinomura, Y., Tokino, T., Kannagi, R. and Dohi, T. DNA hypermethylation causes incomplete synthesis of carbohydrate determinants in gastrointestinal cancer. *Gastroenterology*, (Submitted) 2008.
  56. Takagi, H., Furuya, N., Kojima, N. Preferential production of IL-12 by peritoneal macrophages activated by liposomes prepared from neoglycolipids containing oligomannose residues. *Cytokine*, in press.
  57. Suzuki, C. and Kojima, N. A cholesterol-independent membrane microdomain serves as a functional counter-receptor for E-selectin at the Colo201 cell surface and initiates signaling on E-selectin binding. *J. Biochem*, **142**, 55-64, 2007
  58. Kuroda Y, Shikata K, Takeuchi F, Akazawa T, Kojima N, Nakata M, Mizuochi T, Goto M. Structural alterations in outer arms of IgG oligosaccharides in patients with Werner syndrome. *Exp Gerontol.* **42**, 545-553, 2007
  59. Shimizu, Y., Takagi, H., Nakayama, T., Yamakami, K., Tadakuma, T., Yokoyama, N., and Kojima, N.: Intraperitoneal immunization with oligomannose-coated liposome-entrapped soluble leishmanial antigen induces antigen-specific t-helper type 1 immune response in BALB/c mice through uptake by peritoneal macrophages. *Parasit. Immunol*, **29**, 229-239, 2007
  60. Sakai, K., Shimizu, T., Chiba, T., Takasaki-Matsumoto, A., Kusada, Y., Zhang, W., Nakata, M., Kojima, N., Toma, K., Takayanagi, A., Shimizu, N., and Yamaguchi, Y.: Isolation and characterization of phage-displayed single chain antibodies recognizing nonreducing terminal mannose residues. 1. a new strategy for generation of anti-carbohydrate antibodies. *Biochemistry*, **46**, 253-262, 2007
  61. Ikehara, Y., Niwa, T., Biao, L., Kabata-Ikehara, S., Ohashi, N., Kobayashi, T., Shimizu, Y., Kojima, N., Nakanishi, H.: A carbohydrate recognition-based drug delivery and controlled release system using intraperitoneal macrophages as a cellular vehicle. *Cancer Res*, **66**: 8740-8748, 2006
  62. Tang W, Guo Q, Usuda M, Kokudo N, Seyama Y, Minagawa M, Sugawara Y, Nakata, M., Kojima, N., and Makuuchi, M. Histochemical expression of sialoglycoconjugates in carcinoma of the papilla of Vater. *Hepato-Gastroenterology*, **52**, 67-71, 2005
  63. Oshima, K., Amin, A.R.M.R., Suzuki, A., Hamaguchi, M., Matsuda, S. SHPS-1, a multifunctional transmembrane glycoprotein. *FEBS Lett.* **519** (1-3): 1-7, 2002.
  64. Amin, A.R.M.R., Oo, M.L., Senga, T., Suzuki, N., Feng, G., and Hamaguchi, M. SHP-2

- regulates Concanavalin A-dependent secretion and activation of MMP-2 via the Erk and p38 pathways *Cancer Res.* 63(19):6334-6339, 2003.
65. Tanimura, Y., Kokuryo, T., Tsunoda, N., Yamazaki, Y., Oda, K., Nimura, Y., Nakanuma, Y., Chen, M., Jan, Y., Yeh, T., Chiu, C., Hsieh, L., Nagasaka, T., and Hamaguchi, M. Tumor necrosis factor  $\alpha$  promotes invasiveness of a cholangiocarcinoma cell line, CCKS1, via its receptor, TNFR2. *Cancer Lett.* 219(2): 205-213, 2005.
  66. Naito, Y., Suzuki, N., Huang, P., Hasegawa, H., Sohara, Y., Iwamoto, T., and Hamaguchi, M. Requirement of multiple signaling pathways for the augmented production of hyaluronan by v-Src. *Nagoya J. Med. Sci.* 67: 101-108, 2005.
  67. Ito, S., Ito, Y., Senga, T., Hattori, S., Matsuo, S., and Hamaguchi, M. v-Src requires Ras signaling for the suppression of gap junctional intercellular communication. *Oncogene* 25(16):2420-2424, 2006.
  68. Mon, N.N., Hasegawa, H., Thant, A.A., Huang, P., Tanimura, Y., Senga, T., and Hamaguchi, M. A role for FAK signaling in tumor necrosis factor- $\alpha$ -dependent matrix metalloproteinase-9 production in a cholangiocarcinoma cell line, CCKS1. *Cancer Res.* 66(13):6778-6784, 2006.
  69. Mon, N.N., Ito, S., Senga, T., and Hamaguchi, M. FAK signaling in neoplastic disorders: a linkage between inflammation and cancer. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1086: 199-212, 2006.
  70. Huang, P., Senga, T., and Hamaguchi, M. A novel role of phospho- $\beta$ -catenin in microtubule regrowth at centrosome. *Oncogene* 26: 4357-4371, 2007.
  71. Kokuryo, T., Senga, T., Yokoyama, Y., Nagino, M., Nimura, Y., and Hamaguchi, M. Nek2 as an effective target for inhibition of tumorigenic growth and peritoneal dissemination of cholangiocarcinoma. *Cancer Res.* 67(20): 9637-9642, 2007.
  72. Koyama, H., Kobayashi, N., Harada, M., Takeoka, M., Kawai, Y., Sano, K., Fujimori, M., Amano, J., Ohhashi, T., Kannagi, R., Kimata, K., Taniguchi, S., and Itano, N. Significance of Tumor-Associated Stroma in Promotion of Intratumoral Lymphangiogenesis: Pivotal Role of a Hyaluronan-Rich Tumor Microenvironment. *Am. J. Pathol.* 172:179-193, 2008.
  73. Yamada, Y., Itano, N., Narimatsu, H., Kudo, T., Morozumi, K., Hirohashi, S., Ochiai, A., Ueda, M., and Kimata, K. Elevated transcript level of hyaluronan synthase1 gene correlates with poor prognosis of human colon cancer *Clin. Exp. Metastasis* 21:57-63, 2004.

(2)その他の著作物(総説、書籍など)

1. Kannagi, R. Carbohydrate blood group antigens and tumor antigens. In: S.Y.C. Wong and G. Arsequell (eds.), *Immunobiology of Carbohydrates*, pp. 1-33, New York: Kluwer Academic / Plenum Publishers, 2003.
2. Kannagi, R. Carbohydrate recognition systems in cell-cell interactions and signaling. In: Y. Baba (ed.), *Biomolecular Chemistry, A Bridge for the Future*, pp. 88-91, Tokyo: Maruzen Co., Ltd., 2003.
3. Kannagi, R. Carbohydrate-based treatment of cancer metastasis. In: C.H. Wong (ed.), *Carbohydrate-based Drug Discovery*, pp. 803-829, Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 2003.
4. Kannagi, R., Goto, Y., and Fukui, F. In search of the carbohydrate structures on CD44 critical for hyaluronic acid binding - roles of sialylation and sulfation. *Trends Glycosci. Glycotechnol.*, 16: 211-223, 2004.
5. Kannagi, R. Molecular mechanism for cancer-associated induction of sialyl Lewis X and sialyl Lewis A expression - the Warburg effect revisited. *Glycoconj. J.*, 20: 353-364, 2004.
6. Kannagi, R., Izawa, M., Koike, T., Miyazaki, K., and Kimura, N. Carbohydrate-mediated cell adhesion in cancer metastasis and angiogenesis. *Cancer Sci.*, 95: 377-384, 2004.
7. Kannagi, R. Carbohydrate antigen sialyl Lewis a -its pathophysiological significance and induction mechanism in cancer progression. *Chang Gung Med. J.*, 30: 189-209, 2007.
8. Kannagi, R., Miyazaki, K., Kimura, N., and Yin, J. Selectin-mediated metastasis of tumor cells: Alteration of carbohydrate-mediated cell-cell interactions in cancers induced by epigenetic silencing of glycogenes. In: C. Sansom and O. Markman (eds.), *Glycobiology*, pp. 274-287, Bloxham, Oxfordshire, UK.: Scion Publishing Ltd., 2007.
9. Varki, A., Kannagi, R., and Toole, B.P. Glycosylation changes in cancer. In: A. Varki, R.D.

- Cummings, J.D. Esko, H.H. Freeze, G.W. Hart and J.D. Marth (eds.), *Essentials of Glycobiology*, in press, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2008
10. Kannagi, R., Yin, J., Miyazaki, K., and Izawa, M. Current relevance of incomplete synthesis and neo-synthesis for cancer-associated alteration of carbohydrate determinants. *Biochim. Biophys. Acta*, in press, 2008.
  11. Kannagi, R., Ohmori, K., and Kimura, N.: Anti-oligosaccharide antibodies as tools for studying sulfated sialoglycoconjugate ligands for siglecs and selectins. *Glycoconj J.*, in press, 2008.
  12. 神奈木玲児: SLX とシアリルルイスX系腫瘍マーカーの概要. 肝胆膵 44: 769-778, 2002.
  13. 隈元謙介, 神奈木玲児: 癌関連糖鎖抗原. 血液・腫瘍科 44: 323-330, 2002.
  14. 神奈木玲児: セレクチンおよび CD44 とリンパ球のホーミング動態. 蛋白質・核酸・酵素 増刊「糖鎖機能-第三の生命鎖」 48:1112-1119, 2003.
  15. 神奈木玲児: 大腸癌発生の分子機構. 日本臨床 2003 増刊, 大腸癌の診断と治療—最新の研究動向, pp. 60-66, 2003.
  16. 神奈木玲児: 接着分子と癌転移. 日本臨床 2003 増刊, 癌転移—基礎と臨床アップデート, pp. 87-93, 2003.
  17. 神奈木玲児: 浸潤・転移におけるケモカインの役割. 医学のあゆみ 206: 265-270, 2003.
  18. 神奈木玲児, 井澤峯子, 宮崎敬子, 渡部暁也, 後藤嘉子: 癌の進展における細胞接着性の機能糖鎖. 化学工業 54:748-754, 2003.
  19. 神奈木玲児, 大森勝之, 木村尚子, 殷 軍, 宮崎敬子: 炎症とリンパ球ホーミングにおける糖鎖の役割. 医学のあゆみ 207: 337-342, 2003.
  20. 神奈木玲児: SLX, NCC-ST-439 などシアリルルイスX系の腫瘍マーカー. 日本医師会雑誌 131: 629-633, 2004.
  21. 神奈木玲児, 小池哲史, 宮崎敬子, 木村尚子, 殷 軍, 八尾村多佳朗: セレクチンを介した細胞接着と低酸素誘導因子による癌細胞の糖代謝偏倚. *Biotherapy* 18: 421-430, 2004.
  22. 神奈木玲児: シアリルTn抗原. 日本臨床, 増刊号「広範囲 血液・尿化学検査, 免疫学的検査, 第6版, (4)」pp. 659-662, 2005.
  23. 神奈木玲児: SLX(シアリル SSEA-1, シアリル Le<sup>x</sup>-i). 日本臨床, 増刊号「広範囲 血液・尿化学検査, 免疫学的検査, 第6版, (4)」pp. 675-680, 2005.
  24. 宮崎敬子, 神奈木玲児: 2→6シアリル Le<sup>a</sup> 抗原. 日本臨床, 増刊号「広範囲 血液・尿化学検査, 免疫学的検査, 第6版, (4)」pp. 663-668, 2005.
  25. 隈元謙介, 神奈木玲児: BCA225. 日本臨床, 増刊号「広範囲 血液・尿化学検査, 免疫学的検査, 第6版, (4)」pp. 669-671, 2005.
  26. 神奈木玲児, 宮崎敬子, 井澤峯子: がんの接着と糖鎖. 遺伝子医学 MOOK 3: 91-98, 2005.
  27. 神奈木玲児, 殷 軍, 橋本彩子, 陳 国云: 低酸素と癌のプログレッション. 炎症と免疫 13: 547-555, 2005.
  28. 井澤峯子, 大森勝之, 神奈木玲児: T細胞のホーミングと細胞接着性糖鎖・ケモカイン. 臨床免疫 45: 134-141, 2006.
  29. 神奈木玲児: 糖鎖性の腫瘍マーカー. 検査と技術 34: 1519-1523, 2006.
  30. 神奈木玲児, 宮崎敬子, 井澤峯子, 殷 軍: 癌細胞の生存戦略と糖鎖. 実験医学 増刊「波及・深化する糖鎖研究」 25: 1027-1035, 2007.
  31. 神奈木玲児, 木村尚子, 大森勝之: シアル酸と免疫細胞の接着・ホーミング. 細胞工学 26: 658-663, 2007.
  32. Inoue, S. and Kitajima, K. KDN (Deaminated neuraminic acid): Dreamful past and exciting future of the newest member of the sialic acid family. *Glycoconjugate J.* **23**: 277-290, 2006
  33. Miyata, S., Sato, C., and Kitajima, K. Glycobiology of polysialic acids on sea urchin gametes. *Trends Glycosci. Glycotech.* **19**, 83-95, 2007.
  34. 土肥多恵子: 消化管における粘膜免疫システム-最近の話題. 炎症と免疫 14: 451-457, 2006
  35. Dohi T., Fujihashi K: Type 1 and 2 T helper cell-mediated colitis. *Current Opinion in Gastroenterology* **22**: 651-657, 2006
  36. Ikehara, Y and Kojima, N.: Development of a novel oligomannose-coated liposome-based anticancer drug delivery system for intraperitoneal cancer. *Current Opinion in Molecular Therapeutics*, **9**, 53-61, 2007
  37. Itano, N., Kakizaki, I., Mita, S., Endo, M., Takagaki, K., and Kimata, K. A mechanism for 4-methylumbelliferone-mediated inhibition of hyaluronan biosynthesis. *Hyaluronan: Structure, metabolism, biological activities, therapeutic applications* (Eds, E.A., Balazs and V.C., Hascall)

- Matrix Biology Institute, pp.147-153, 2005.
38. 板野直樹、木全弘治 ヒアルロン酸合成酵素 未来を拓く糖鎖科学(永井克孝 監修) pp. 176-177, 2005.
  39. 板野直樹 プロテオグリカン分子群の合成と構造異常がもたらす細胞機能の変化—癌浸潤・転移の理解と克服に向けた解析— 未来を拓く糖鎖科学(永井克孝 監修) pp. 299-302, 2005.
  40. Itano, N. Abnormal hyaluronan synthesis and cancer progression. *Trends Glycosci. Glycotech.* **16**:199-210, 2004.
  41. Zhuo, L., Shen, L., Nonogaki, T., Wu, J., Itano, N., Watanabe, H., and Kimata, K. Biological function of hyaluronan-SHAP covalent complex. In: *Chemistry and Biology of Hyaluronan.* (Eds, H. G. Garg & C. A. Hales), pp 205-222, 2004, Marcel Dekker, Netherland
  42. 日比輝正、板野直樹 細胞外マトリックスにおけるヒアルロン産の存在様式と癌細胞の運動性. *Biotherapy* (特集:癌転移に関する諸因子) **18**, 413-420, 2004
  43. 板野直樹、木全弘治. 転移と細胞外マトリックス. *日本臨床*(増刊号:癌転移—基礎と臨床アップデート) **61**:111-115, 2003
  44. 板野直樹、木全弘治. ヒアルロン酸合成酵素. *蛋白質核酸酵素* (増刊糖鎖機能:第3の生命鎖) **48**:1027-1032, 2003
  45. 板野直樹、木全弘治. 癌転移とヒアルロン酸. *Cytometry Research.* **12**:121-129, 2003.
  46. 板野直樹、木全弘治. ヒアルロン酸リッチマトリックスと線維化. *現代医療* **35**:51-56, 2003.

(3)学会発表(国際学会発表及び主要な国内学会発表)

① 招待講演 (国内会議 20 件、国際会議 25 件)

1. Kannagi R: Molecular mechanism for glycoconjugate modulation in malignant cells. XVIIth International Symposium on Glycoconjugates, Symposium "Glycoconjugates in Development and Malignancy" Chaired by P. Stanley, Bangalore, India, January 12-16, 2003.
2. Kannagi R: Molecular mechanisms involved in the induction of selectin ligand expression in malignant cells.. US-Japan Workshop on Tumor-associated Mucins and Related Glycoproteins in Metastasis, Tumor-specific Immunity and Immunotherapy, Chaired by O. Finn and T. Irimura, Maui, Hawaii, USA, January 24-36, 2003.
3. Kannagi R: Transcriptional induction of selectin ligand expression in cancer. 2003 Gordon Research Conference on Glycobiology, Chaired by R.D. Cummings, California, USA, March 2-7, 2003.
4. 神奈木玲児: セレクチンを介した細胞接着の糖鎖による制御. 第3回日本蛋白質科学会年会プログラム・要旨集 pp. 30, 2003. 第3回日本蛋白質科学会年会ワークショップ「次世代ポストゲノム研究—糖鎖、脂質による蛋白機能調節—」(西村紳一郎、井ノ口仁一 司会) 札幌, 6月23-25日, 2003.
5. 神奈木玲児: 糖鎖を介した細胞接着と癌の浸潤・転移. 第62回日本癌学会総会シンポジウム, 「糖鎖による細胞間相互作用とがん」(入村達郎, 神奈木玲児 座長) 名古屋, 9月25-27日, 2003..
6. 神奈木玲児: 癌転移と接着分子. 第58回日本大腸肛門病学会総会, 教育講演II, (吉雄敏文 座長) 名古屋, 11月7-8日, 2003.
7. 神奈木玲児 糖鎖を介した細胞識別の機構と癌. 第一回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム, (谷口直之 座長) 東京, 11月4日, 2003.
8. Kannagi R: Carbohydrate recognition systems in cell-cell interactions and signaling. First International Symposium on Biomolecular Chemistry, Chaired by Y. Baba, Awaji, Hyogo, Japan, December 2-5, 2003.
9. Miyazaki K, Ohmori K, Izawa M, Koike T, Yamaji T, Hashimoto Y, Suzuki A and Kannagi R: Interconversion of carbohydrate ligands for siglecs and selectins on colonic epithelial cells upon malignant transformation. Interlec 21, the 21st International Lecture Meeting, Chaired by K. Kasai, Shonan, Kanagawa, Japan, May 23-28, 2004.
10. 神奈木玲児: 細胞における糖鎖発現の制御機構とがん転移. 第13回日本がん転移学会総会, シンポジウム「遺伝子から見たがん転移研究の現状と将来」(西條長宏, 佐谷秀行 司会), 東京, 6月10-11日, 2004.
11. Kannagi R: Sialoconjugates involved in cell-cell interactions. Sapporo Sphingolipid Symposium, Chaired by Igarashi, Y., Sapporo, Japan, July 21 - 23, 2004.

12. Kannagi R: Regulation of gene expression in carbohydrate-mediated cell-cell interactions. 2004 Glycolipid and Sphingolipid Biology Gordon Conference, Chaired by Suzuki, A. and Futerman, T., SPring-8, Hyogo, Japan, July 25-30, 2004.
13. Kannagi R: Carbohydrate determinants involved in cell-cell interactions: Transcriptional regulation of their expression. Human Disease Glycomics/Proteome Initiative (HGPI) Workshop "Functional Glycomics in Disease", Chaired by N. Taniguchi, Osaka, Japan, August 23-24, 2004.
14. 神奈木玲児: 糖鎖性腫瘍マーカーの機能解析と発現機序. 第 24 回日本分子腫瘍マーカー研究会, 特別シンポジウム:「分子腫瘍マーカーの新展開」(司会:大倉久直、今井浩三) 福岡, 9月28日, 2004.
15. Kannagi R: Relationship between enhanced selectin-mediated cell adhesion and hypoxia-induced metabolic shift in human cancers. Joint meeting of the Japanese and American Consortia for Glycomics (Chaired by Paulson JC and Taniguchi N), Hawaii, November 21, 2004.
16. 神奈木玲児: がんの転移・増悪と糖鎖. 第 43 回日本癌治療学会総会教育講演,(蔵本博行 司会) 名古屋, 10月25-27日, 2005.
17. 神奈木玲児: クロマチンリモデリングと糖鎖遺伝子:がん治療の観点から. 第 64 回日本癌学会総会シンポジウム, 「糖鎖研究とがん治療」(谷口直之 座長) 札幌, 9月14-16日, 2005.
18. 神奈木玲児: 白血球のホーミングを媒介する細胞接着糖鎖の発現調節機構. 第3回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム, (木全弘治、入村達郎 座長) 東京, 12月6-7日, 2005.
19. Kannagi R: Sialic acid recognition in the skin and gut. Sialoglycoscience 2006, 5th. International Conference, Mishima, August 27-30, 2006.
20. Kannagi R: Tumor hypoxia induces expression of carbohydrate determinants involved in adhesion of circulating cancer cells to vascular endothelium. The 11th International Congress of the Metastasis Research Society, Tokushima, September 3-6, 2006.
21. Kannagi R: Cell-Cell interactions mediated by sialoconjugates. NIH Workshop "Frontiers in Glycomics: Bioinformatics and Biomarkers in Disease", (Organized by Pamela Marino) NIH, Bethesda, Maryland, USA, September 11-13, 2006.
22. Kannagi R: Dr. Hakomori's concepts revisited: Current relevance of "incomplete synthesis" and "neo-synthesis" for cancer-associated alteration of carbohydrate determinants. Hakomori Comemorative Forum "Glycobiology and Sphingobiology 2007" (Chaired by Roger A. Laine), Tokushima, Feb. 27-Mar. 1, 2007.
23. Kitajima, K Polysialic acid in mammary gland. 4th International Symposium on Glycosyltransferases, Le Touquet, France, November 4-6, 2004
24. Kitajima, K, Linkage and chain length diversities of the polysialic acid in animal glycoproteins. Sialobiology 2004. 4th International Conference. St Andrews, UK., July 27-30, 2004.
25. Kitajima, K., Iwata, S., Sato, C., Ando, H., Kiso, M., and Kannagi, R. Development of a chemical method for detecting a unique sialic acid, cyclic neuraminic acid, in naturally-occurring sialyl glycoconjugates, Pacificchem 2005 (Hawaii, USA), December 16, 2005
26. 北島 健 ポリシアル酸の鎖長多様性と神経系における新機能、第 23 回シアル酸研究会講演会(北里大学薬学部コンベンションホール)、平成 17 年 12 月 3 日
27. Chihiro Sato, Uichiro Yabe, Makoto Sawada, and Ken Kitajima: Polysialic acid on microglia cell and its clearance after LPS-induced activation. Sialoglycoscience 2006. 5th International conference, August 27-30, 2006; Mishima, Japan
28. Dohi T: 'Incomplete synthesis' of Sda carbohydrate determinants in gastrointestinal cancer, Glycobiology & Sphingobiology 2007 - Hakomori Commemorative Forum -, Tokushima, 2007, Feb 28
29. 土肥多恵子: 消化管炎症における免疫応答と組織修復. 神戸免疫アレルギー談話会, 神戸, 2007年6月14日.
30. A. R. M. Ruhul Amin and Hamaguchi M. Secretion of MMP-9 by the proinflammatory cytokine IL-1 $\beta$ : a role for SHPS-1-dependent activation of Akt and Erk signaling. 8th World Congress on Advances in Oncology.Oct. 16~18, 2003 at Crete, Greece.
31. Yoko Tanimura, Toshio Kokuryo, Koji Oda, Yuji Nimura, Tetsuro Nakanuma and Hamaguchi

- M. Tumor Necrosis Factor (TNF)- $\alpha$  promotes MMP-9 secretion and invasiveness of cholangiocarcinoma via TNFR2. 2004 ISPO (the International Society for Preventive Oncology) Symposium. "Predictive Oncology & Intervention Strategies" Feb. 7~10, 2004 at Nice, France.
32. Hamaguchi M. Anchorage-independent cell cycle progression by v-Src. The 5<sup>th</sup> UK-Japan Cell Cycle Workshop April 13~16, 2004 at Nara, Japan.
  33. 浜口道成、シンポジウム「炎症性サイトカインによるマトリックスメタロプロテイナーゼ分泌活性化とシグナル伝達系」平成 15 年 9 月 25 日名古屋、日本癌学会総会
  34. Hamaguchi M シンポジウム”The CC motif of Src as a sensor for mercuric chloride” 平成 15 年 10 月 17 日横浜、日本生化学会総会
  35. Itano, N., Koyama, H., Kannagi, R., Kimata, K., and Taniguchi, S. Significance of tumor-associated stroma in promotion of tumor angiogenesis: pivotal role of a hyaluronan-rich tumor microenvironment. The 27th Sapporo Cancer Seminoar International Symposium. Sapporo (The Hokkaido University Conference Hall) 2007.7.13.
  36. Itano, N., Koyama, H., Kannagi, R., Kimata, K., and Taniguchi, S. Significance of the hyaluronan-rich tumor microenvironment in promotion of tumor angiogenesis. The 7th International Conference on Hyaluronan. Charleston, SC USA (Francis Marion Hotel) 2007.4.26.
  37. 板野直樹 ヒアルロン酸リッチマトリックスによる腫瘍微小環境の形成と血管新生 糖鎖科学コンソーシアム第 4 回シンポジウム 品川(東京コンファレンスセンター)2006.10.24
  38. 小山 洋、神奈木玲児、木全弘治、谷口俊一郎、板野直樹 ヒアルロン酸細胞外マトリックスによる腫瘍内血管新生促進作用の解明 平成 18 年度病態糖鎖研究会 愛知(岡崎自然科学研究機構)2006.9.25
  39. Itano, N. The role of hyaluronan in tumor angiogenesis Satellite Symposium of IUBMB 2006 Extracellular Glycomatrix in Health and Disease Hyogo (Awaji Yumebutai International Conference Center) 2006.6.17.
  40. 板野直樹 ヒアルロン酸合成異常と癌の浸潤・転移. 第 36 回日本結合組織学会学術大会. 福岡, 2004.
  41. 卓 麗聖 炎症下 SHAP-HA 複合体の形成と役割. 第 10 回プロテオグリカンフォーラム. 東京, 2004.1.24.
  42. Itano, N., Kakizaki, I., Mita, S., Endo, M., Takagaki, K., Kimata, K. A novel mechanism for inhibition of hyaluronan biosynthesis by 4-methylumbelliferone. International conference of hyaluornan: hyaluronan symposium 2003, OH, USA, 2003.10.12.
  43. 板野直樹、木全弘治 ヒアルロン酸合成酵素とがん細胞の転移 第 62 回日本癌学会総会、名古屋、2003.9.
  44. 板野直樹 がん進展阻止を目指したヒアルロン酸糖鎖合成の制御に関する研究. 第 24 回日本糖質学会年会・研究奨励賞受賞講演. 神奈川、2003.7.
  45. 板野直樹 浸潤・転移促進に働くヒアルロン酸糖鎖の機能制. 第 12 回日本がん転移学会学術集会・研究奨励賞受賞講演、金沢、2003.5.

② 口頭発表 (国内会議 76 件、国際会議 11 件)

1. 木村尚子、神奈木玲児: リンパ球におけるセレクトチンのリガンドとしてのシアリル 6-スルホルイスX. 糖鎖科学名古屋拠点「若手の力」フォーラム第 1 回, 名古屋, 7 月 25-26 日, 2003.
2. 木村尚子、大森勝之、宮崎敬子、井澤峯子、殷 軍、北島 健、森山昭彦、神奈木玲児: リンパ球およびリンパ性白血病細胞におけるセレクトチンリガンドのシアリル酸サイクリック化反応. 第 62 回日本癌学会総会, 名古屋, 9 月 25 日-27 日, 2003.
3. 宮崎敬子、大森勝之、井澤峯子、後藤嘉子、藪田智範、隈元謙介、古川鋼一、山地俊之、橋本康弘、鈴木明身、神奈木玲児: 糖鎖不全現象による大腸癌シアリルルイスa糖鎖の発現誘導と癌進展における機能的意義. 第 62 回日本癌学会総会, 名古屋, 9 月 25 日-27 日, 2003.
4. 後藤嘉子、渡部暁也、小池哲史、丁 剛、井澤峯子、宮崎敬子、神奈木玲児: 大腸粘膜におけるリンパ球動態調節における硫酸化シアリルルイスxの機能. 第 23 回日本分子腫瘍マーカー研究会, 名古屋, 9 月 24 日, 2003.
5. 宮崎敬子、大森勝之、井澤峯子、後藤嘉子、藪田智範、隈元謙介、古川鋼一、山地俊之、橋本康弘、鈴木明身、神奈木玲児: 腫瘍マーカーCA19-9 (シアリルルイスa)の癌における

発現増加の背景とその生理的意義. 第 23 回日本分子腫瘍マーカー研究会, 名古屋, 9 月 24 日, 2003.

6. 宮崎敬子, 大森勝之, 井澤峯子, 木村尚子, 山地俊之, 神奈木玲児: リンパ球のシアル酸結合タンパク質 Siglec-7 と腸管粘膜上皮細胞の糖鎖とを介した細胞接着の解析. 第 33 回日本免疫学会総会, 福岡, 12 月 8 日-10 日, 2003.
7. 後藤嘉子, 渡部暁也, 小池哲史, 丁 剛, 井澤峯子, 宮崎敬子, 神奈木玲児: 粘膜内リンパ球動態におけるケモカインと糖鎖依存性細胞接着のカスケード様反応. 第 33 回日本免疫学会総会, 福岡, 12 月 8 日-10 日, 2003.
8. 井澤峯子, 内村健治, Fathy El-Fasakhany, 門松健治, 村松 喬, 田口 修, 神奈木玲児: 硫酸基転移酵素遺伝子 KO マウスを用いたリンパ節高血管内皮細静脈の L-セレクトインリガンドの解析. 第 33 回日本免疫学会総会, 福岡, 12 月 8 日-10 日, 2003.
9. 矢木宏和, 高橋禮子, 西村真美子, 山口芳樹, 木村尚子, 神奈木玲児, 加藤晃一: N 型硫酸化糖鎖の構造解析のための多次元 HPLC マップの構築. 日本薬学会第 124 年会, 大阪, 3 月 29 日-31 日, 2004.
10. 隈元謙介, 藪田智範, 小池哲史, 石田信宏, 川喜田正夫, 竹之下誠一, 神奈木玲児: 大腸癌における転移性糖鎖抗原の発現機構. 第 13 回日本がん転移学会総会, 東京, 6 月 10-11 日, 2004. [学会奨励賞受賞講演]
11. 小池哲史, 木村尚子, 宮崎敬子, 井澤峯子, 藪田智範, 隈元謙介, 竹之下誠一, 小嶋哲人, 小林正伸, 細川真澄夫, 神奈木玲児: 低酸素によるがん細胞の接着分子発現の転写誘導機構. 第 13 回日本がん転移学会総会, 東京, 6 月 10-11 日, 2004.
12. 矢木宏和, 高橋禮子, 山口芳樹, 木村尚子, 神奈木玲児, 加藤晃一: 多次元 HPLC マップ法の硫酸化糖鎖の構造解析への展開. 第 9 回 FCCA 若手フォーラム, 東京大学薬学部, 東京, 7 月 9 日-10 日, 2004.
13. 山口真範, 石田秀治, 金森審子, 神奈木玲児, 木曾 真: 内在性 L-セレクトインリガンドシアルル 6-スルホルイス X に関連する新規糖脂質の合成と機能研究. 第 9 回 FCCA 若手フォーラム, 東京大学薬学部, 東京, 7 月 9 日-10 日, 2004.
14. 木村尚子, 井澤峯子, 橋本彩子, 森山昭彦, 神奈木玲児: シアルル 6-スルホ糖鎖の合成酵素アイソザイムのがん特異性. 糖鎖科学名古屋拠点「若手の力」フォーラム第 2 回, 名古屋, 9 月 7-8 日, 2004.
15. 小池哲史, 陳 国云, 宮崎敬子, 竹之下誠一, 神奈木玲児: 癌細胞におけるセレクトインの糖鎖リガンドおよび関連する細胞接着分子の低酸素による発現誘導とその機構. 糖鎖科学名古屋拠点「若手の力」フォーラム第 2 回, 名古屋, 9 月 7-8 日, 2004.
16. 宮崎敬子, 陳 国云, 大森勝之, 井澤峯子, 古川鋼一, 山地俊之, 橋本康弘, 鈴木明身, 神奈木玲児: 癌におけるシアル酸 2→6 転移酵素遺伝子発現のエピジェネティックな抑制による腫瘍マーカー CA19-9 (シアルルルイス a) の発現誘導. 第 24 回日本分子腫瘍マーカー研究会, 福岡, 9 月 28 日, 2004.
17. 木村尚子, 宮崎敬子, 陳 国云, 井澤峯子, 小池哲史, 隈元謙介, 石田信宏, 川喜田正夫, 森山昭彦, 神奈木玲児: 大腸癌における腫瘍マーカー糖鎖シアルルルイス x の発現誘導の主因としての硫酸基トランスポーター遺伝子転写の抑制. 第 24 回日本分子腫瘍マーカー研究会, 福岡, 9 月 28 日, 2004.
18. 小池哲史, 陳 国云, 宮崎敬子, 井澤峯子, 藪田智範, 隈元謙介, 竹之下誠一, 陳 健, 小林正伸, 石田信宏, 川喜田正夫, 神奈木玲児: Hypoxia inducible factor により誘導される癌細胞の接着分子. 第 24 回日本分子腫瘍マーカー研究会, 福岡, 9 月 28 日, 2004.
19. 宮崎敬子, 陳 国云, 大森勝之, 井澤峯子, 古川鋼一, 山地俊之, 橋本康弘, 鈴木明身, 神奈木玲児: 上皮細胞癌化にともなう腫瘍マーカー糖鎖シアルルルイス a のエピジェネティックな発現誘導機構. 第 63 回日本癌学会総会, 福岡, 9 月 29 日-10 月 1 日, 2004.
20. 井澤峯子, 宮崎敬子, 大森勝之, 辻村邦夫, 石田廣次, 中村栄男, 山地俊之, 橋本康弘, 鈴木明身, 神奈木玲児: シアルルルイス a 関連糖鎖を認識するシアル酸結合タンパク質 Siglec-7 発現リンパ球の消化管粘膜における選択的出現. 第 63 回日本癌学会総会, 福岡, 9 月 29 日-10 月 1 日, 2004.
21. 木村尚子, 井澤峯子, 後藤嘉子, 橋本彩子, 殷 軍, 北島 健, 加藤宏一, 森山昭彦, 神奈木玲児: セレクトインリガンド, シアルル 6-スルホ糖鎖の合成酵素のがん特異性とシアル酸部分の環状化反応. 第 63 回日本癌学会総会, 福岡, 9 月 29 日-10 月 1 日, 2004.
22. 小池哲史, 陳 国云, 八尾村多佳朗, 宮崎敬子, 井澤峯子, 藪田智範, 隈元謙介, 竹之下誠一, 陳 健, 小林正伸, 神奈木玲児: 低酸素による癌細胞におけるセレクトインの糖鎖リガ

- ンド発現誘導とその機構. 第 63 回日本癌学会総会, 福岡, 9 月 29 日-10 月 1 日, 2004.
23. 矢木宏和, 高橋禮子, 山口芳樹, 木村尚子, 神奈木玲児, 加藤晃一: 硫酸化糖鎖の構造解析のための多次元HPLCマップの構築. 第 77 回日本生化学会大会, 横浜, 10 月 12 日-16 日, 2004.
  24. 板野直樹, 日比輝正, 神奈木玲児, 浜口道成, 木全弘治: 癌の悪性形質転換と関連したヒアルロン酸合成酵素の発現上昇. 第 77 回日本生化学会大会, 横浜, 10 月 12 日-16 日, 2004.
  25. Yagi H, Takahashi N, Yamaguchi Y, Kimura N, Kannagi R, Kato K.: Development of structural analyses of sulfated N-glycans by mass spectrometry and HPLC mapping. US/Japan Glyco 2004, Joint meeting of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research, (President, M.E. Etzler) Hawaii, November 17-20, 2004.
  26. Uchimura K, Singer MS, Tsay D, Kadomatsu K, Kannagi R, Muramatsu T, Rosen SD.: GlcNAc 6-O-sulfotransferase (GlcNAc6ST)-1 and GlcNAc6ST-2 regulate lymphocyte homing to lymph nodes. US/Japan Glyco 2004, Joint meeting of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research, (President, M.E. Etzler) Hawaii, November 17-20, 2004.
  27. 宮崎敬子, 大森勝之, 井澤峯子, 木村尚子, 山地俊之, 神奈木玲児: 腸管粘膜上皮細胞のジシアロルイス糖鎖は ITIM ドメインを持つ複数の免疫抑制リセプターの特異的リガンドである. 第 34 回日本免疫学会総会, 札幌, 12 月 1 日-3 日, 2004.
  28. 井澤峯子, 木村尚子, 内村健治, Fathy El-Fasakhany, 門松健治, 村松 喬, 田口 修, 神奈木玲児: ナイーブ T リンパ球のホーミングを媒介する高血管内皮細静脈 L-セレクトインリガンドを合成する二種の硫酸基転移酵素の貢献-KO マウスを用いた検討. 第 34 回日本免疫学会総会, 札幌, 12 月 1 日-3 日, 2004.
  29. 宮崎敬子, 陳 国云, 大森勝之, 山地俊之, 橋本康弘, 鈴木明身, 神奈木玲児: ジシアリルルイスa糖鎖と一連の Siglec 分子との結合を介した消化管粘膜内の細胞間相互作用の解析. 第 64 回日本癌学会総会, 札幌, 9 月 14 日-16 日, 2005.
  30. 陳 国云, 平岩 望, 長田啓隆, 浜窪隆雄, 児玉龍彦, 神奈木玲児: T-bet および GATA-3 を含んだ転写因子複合体によるヒトリンパ球系細胞のフコース転移酵素 VII 遺伝子の転写調節. 第 64 回日本癌学会総会, 札幌, 9 月 14 日-16 日, 2005.
  31. 橋本彩子, 陳 国云, 小池哲史, 薮田智範, 陳 健, 小林正伸, 神奈木玲児: Hypoxia inducible factor-1 (HIF-1)による癌細胞のセレクトイン糖鎖リガンド発現の転写誘導機構. 第 64 回日本癌学会総会, 札幌, 9 月 14 日-16 日, 2005.
  32. 木村尚子, 大森勝之, 宮崎敬子, 橋本彩子, 加藤宏一, 森山昭彦, 神奈木玲児: 糖鎖認識蛋白質セレクトインおよび Siglec を介した細胞間相互作用に対する糖鎖 6-硫酸化およびシアル酸環状化反応の効果. 第 64 回日本癌学会総会, 札幌, 9 月 14 日-16 日, 2005.
  33. 河村由紀, 川島 麗, 反町典子, 神奈木玲児, 土肥多恵子: Study of physiological function of the S<sup>da</sup> blood group carbohydrate. 第 78 回日本生化学会大会, 神戸, 10 月 19 日-22 日, 2005.
  34. Kamiyama S, Sasaki N, Goda E, Ui-Tei K, Kaoru Saigo K, Narimatsu H, Jigami Y, Kannagi R, Irimura T, Nishihara S: A novel human PAPS transporter: molecular cloning and characterization. 第 78 回日本生化学会大会, 神戸, 10 月 19 日-22 日, 2005.
  35. 殷 軍, 宮崎敬子, 橋本彩子, 田口 修, 竹松 弘, 小堤保則, 鈴木明身, 佐藤ちひろ, 北島 健, 神奈木玲児: 癌細胞の低酸素培養による N-glycolyl 型シアル酸含有 GM2 ガングリオシドの発現誘導とシアル酸トランスポーター sialin の関与. 糖鎖科学名古屋拠点「若手の力」フォーラム第 3 回, 名古屋, 9 月 20 日, 2005.
  36. 神奈木玲児, 陳 国云, 浜窪隆雄, 児玉龍彦: T-bet と GATA-3 を含む転写因子複合体による細胞接着糖鎖シアリルルイスx発現の調節機構. 第 28 回日本分子生物学会年会, ワークショップ「免疫グロブリン・スーパーファミリー細胞接着分子による細胞運動性の制御とがん浸潤」(世話人 佐谷秀行, 村上善則), 福岡, 12 月 7 日-10 日, 2005.
  37. 陳 国云, 浜窪隆雄, 児玉龍彦, 神奈木玲児: Th1 および Th2 細胞におけるホーミング分子発現の T-bet/GATA-3 相互作用による転写調節. 第 35 回日本免疫学会総会・学術集会, 横浜, 12 月 13 日-15 日, 2005.
  38. 井澤峯子, 木村尚子, 内村健治, Fathy El-Fasakhany, 門松健治, 村松 喬, 田口 修, 神奈木玲児: 硫酸基転移酵素ダブル KO マウスを用いた L-セレクトインリガンドにおける糖鎖 6-硫酸化の意義の検討. 第 35 回日本免疫学会総会・学術集会, 横浜, 12 月 13 日-15 日,

- 2005.
39. Kawamura YI, Adachi Y, Nishimoto N, Curiel DT, Kannagi R, Dohi T.: Therapeutic potential of gene transfer of a glycosyltransferase using adenoviral vector to prevent cancer metastasis. 5th International Symposium on Glycosyltransferases (GlycoT2006), Ibaraki, June 25-28, 2006.
  40. 神山伸、佐々木紀彦、合田絵美、程久美子、西郷 薫、成松久、地神芳文、神奈木玲児、入村達郎、西原祥子: 大腸に発現する新規 PAPS 輸送体遺伝子、PAPST2 遺伝子の同定と機能解析. 第 26 回日本糖質学会年会, 仙台, 8 月 23 日-25 日, 2006.
  41. 小山 洋、神奈木玲児、木全弘治、谷口俊一郎、板野直樹: ヒアルロン酸糖鎖合成異常が引き起こすがん進展の分子機構. 第 26 回日本糖質学会年会, 仙台, 8 月 23 日-25 日, 2006.
  42. 河村由紀、川島 麗、神奈木玲児、土肥多恵子: アデノウイルスベクターを利用した Sd<sup>a</sup> 糖鎖合成酵素遺伝子の in vivo 導入による胃癌転移の抑制. 第 65 回日本癌学会総会, 横浜, 9 月 28 日-30 日, 2006.
  43. 陳 国云、長田啓隆、浜窪隆雄、児玉龍彦、神奈木玲児: フコース転移酵素 VII 遺伝子の転写に対する GATA-3 の抑制効果は PKA 依存性リン酸化に依存する. 第 65 回日本癌学会総会, 横浜, 9 月 28 日-30 日, 2006.
  44. 宮崎敬子、林 啓智、安川然太、大森勝之、山地俊之、橋本康弘、鈴木明身、神奈木玲児: 粘膜上皮細胞の正常糖鎖ジシアリルルイス<sup>a</sup>と間質マクロファージの COX-2 発現抑制. 第 65 回日本癌学会総会, 横浜, 9 月 28 日-30 日, 2006.
  45. 後藤嘉子、鈴木喜義、宮浦修一、金 永植、木全弘治、京ヶ島守、神奈木玲児: がん細胞表面における新規ヘパラン硫酸(アカラン硫酸様)糖鎖の出現. 第 65 回日本癌学会総会, 横浜, 9 月 28 日-30 日, 2006.
  46. 木村尚子、大森勝之、宮崎敬子、森山昭彦、神奈木玲児: Bリンパ球およびBリンパ球由来白血病細胞株に選択的に出現する 6-硫酸化シアロ糖鎖. 第 65 回日本癌学会総会, 横浜, 9 月 28 日-30 日, 2006.
  47. 殷 軍、宮崎敬子、田口 修、竹松 弘、小堤保則、鈴木明身、佐藤ちひろ、北島 健、神奈木玲児: 乳癌における N-glycolyl GM2 の低酸素による発現誘導. 第 65 回日本癌学会総会, 横浜, 9 月 28 日-30 日, 2006.
  48. 後藤嘉子、上田 大、井澤峯子、丁 剛、島田剛敏、中井 茂、久 育男、神奈木玲児: 扁平上皮癌におけるケモカインリセプターの発現誘導とその機構. 第 26 回日本分子腫瘍マーカー研究会, 横浜, 9 月 27 日, 2006.
  49. Chen G-Y, Hamakubo T, Kodama T, Kannagi R: Roles of GATA-3 phosphorylation in regulation of *FUT7*, the gene for the rate-limiting step enzyme in selectin ligand synthesis. 第 36 回日本免疫学会総会・学術集会, 大阪, 12 月 11 日-13 日, 2006.
  50. Kawamura YI, Kawashima R, Mizutani N, Toyama-Sorimachi N, Kannagi R, Dohi T.: Elimination of P-selectin ligands by introduction of human *N*-acetylgalactosaminyltransferase, an essential enzyme for the expression of the Sd<sup>a</sup> blood group carbohydrate, inhibits organ infiltration of human adult T cell leukemia cells. 第 36 回日本免疫学会総会・学術集会, 大阪, 12 月 11 日-13 日, 2006.
  51. 殷 軍、宮崎敬子、井澤峯子、神奈木玲児: 癌細胞の低酸素抵抗性と *N*-グリコシルシアル酸含有糖鎖. 第 16 回日本がん転移学会総会, 富山, 7 月 9-10 日, 2007.
  52. 小山 洋、小林宣隆、藤森 実、天野 純、神奈木玲児、木全弘治、谷口 俊一郎、板野直樹: ヒアルロン酸細胞外マトリックスによる腫瘍内リンパ管新生促進作用の解明. 第 16 回日本がん転移学会総会, 富山, 7 月 9-10 日, 2007.
  53. Kitajima K, Go S, Yin J, Kannagi R.: *De novo* synthesis of free deaminoneuraminic acid (Kdn) is regulated by network of metabolisms of sialic acids and mannose 6-phosphate in normal and tumor cells. 19th International Symposium on Glycoconjugates (Glyco19) (Chair P Gleeson). Cairns, Australia, July 15-20, 2007.
  54. Kannagi R, Chen G-Y, Sakuma K, Osada H, Santamaria-Babi LF, Ohmori K: Regulation of selectin ligand expression in human T-lymphocyte subsets. 19th International Symposium on Glycoconjugates (Glyco19)(Chair P Gleeson). Cairns, Australia, July 15-20, 2007.
  55. Miyazaki K, Izawa M, Ohmori K, Mitsuki M, Yamaji T, Hashimoto Y, Suzuki A, Kannagi R: Biological significance of interconversion and overlap between carbohydrate ligands for selectins and siglecs expressed on normal colonic epithelium and cancer cells. 19th International Symposium on Glycoconjugates (Glyco19)(Chair P Gleeson). Cairns, Australia,

July 15-20, 2007.

56. 京ヶ島守、胡 蕊、李 剛、上條祐司、中畷岳郎、青山俊文、井上晃男、野出孝一、神奈木玲児、原 厚: 血栓症における硫酸化糖脂質スルファチドの役割. 第27回日本糖質学会年会, 福岡, 8月1-3日, 2007.
57. 木村尚子、宮崎敬子、井澤峯子、大森勝之、森山昭彦、神奈木玲児: Novel mechanism for malignant B-cell adhesion to endothelial glycans through CD22/2-6sialyl 6-sulfo LacNAc interaction (CD22とその新規高親和性リガンド2-6シアルル6-スルホLacNAcを介したリンパ系悪性細胞の細胞接着). 第66回日本癌学会総会, 横浜, 10月3日-5日, 2007.
58. 殷 軍、宮崎敬子、田口 修、井澤峯子、竹松 弘、小堤保則、鈴木明身、神奈木玲児: Immunotherapy targeted to a cancer-associated ganglioside having non-human sialic acid residue, *N*-glycolyl GM2 (がん関連性ガングリオシド、*N*-glycolyl GM2をターゲットとしたがん治療の可能性). 第66回日本癌学会総会, 横浜, 10月3日-5日, 2007.
59. 河村由紀、豊田 実、川島 麗、斉藤幸夫、神奈木玲児、土肥多恵子: Cancer-associated transcriptional silencing of glycosyltransferases by DNA hypermethylation. 第66回日本癌学会総会, 横浜, 10月3日-5日, 2007.
60. 遊佐亜希子、藤井正宏、後藤嘉子、鈴木喜義、石丸 剛、宮浦修一、金 永植、木全弘治、京ヶ島守、神奈木玲児: 新規ヘパラン硫酸認識抗体を用いたがん細胞表面ヘパラン硫酸のプロファイリング. 糖鎖科学名古屋拠点「若手の力」フォーラム第5回, 名古屋, 9月15日, 2007.
61. 川上信彦、岩田章子、佐藤ちひろ、安藤弘宗、石田秀治、木曾真、神奈木玲児、北島 健: サイクリックシアル酸グリコシドの酸加水分解産物の同定. 糖鎖科学名古屋拠点「若手の力」フォーラム第5回, 名古屋, 9月15日, 2007.
62. 小林宣隆、小山洋、藤森 実、天野 純、神奈木玲児、木全弘治、谷口俊一郎、板野直樹: ヒアルロン酸細胞外微小環境は腫瘍内リンパ管新生を促進する. 第39回日本結合組織学会学術大会, 東京, 5月11日, 2007.
63. Itano N, Koyama H, Kannagi R, Kimata K, Taniguchi S: Significance of the hyaluronan-rich tumor microenvironment in promotion of tumor angiogenesis. The 7th International Conference on Hyaluronan. Charleston, SC, USA (Francis Marion Hotel), April 26, 2007.
64. Itano N, Koyama H, Kannagi R, Kimata K, Taniguchi S: Significance of tumor-associated stroma in promotion of tumor angiogenesis: pivotal role of a hyaluronan-rich tumor microenvironment. The 27th Sapporo Cancer Seminar International Symposium "Glycomics: new perspectives in cancer cell behavior" (Chaired by N Taniguchi), Sapporo, July 12-14, 2007.
65. Ohmori K, Sakuma K, Kimura N, Miyazaki K, Izawa M, Kannagi R: 皮膚ホーミング性のセントラルヘルパーメモリーT細胞とエフェクターヘルパーメモリーT細胞では異なるセレクトインリガンドが用いられる /Differential expression of selectin ligands in skin-homing central-and effector-memory T cells. 第37回日本免疫学会総会・学術集会, 東京, 11月20日-22日, 2007.
66. 戎野幸彦、片桐晃子、田中稔之、神奈木玲児、宮坂昌之、木梨達雄: Rap1によるリンパ球接着カスケードにおけるインテグリン細胞内領域の検討 /Critical roles of integrin cytoplasmic regions in Rap1-mediated adhesion cascade. 第37回日本免疫学会総会・学術集会, 東京, 11月20日-22日, 2007.
67. 河村由紀、豊田 実、川島 麗、萩原輝記、斉藤幸夫、神奈木玲児、土肥多恵子: Transcriptional silencing of glycosylation-related genes by DNA hypermethylation in gastrointestinal cancer. 第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会合同大会, 横浜, 12月11日-15日, 2007.
68. 矢部宇一郎、佐藤ちひろ、松田幹、北島健 ヒトミルクにおける新しいポリシアル酸含有糖タンパク質 CD36 の発見. 第24回日本糖質学会, 横浜, 2003年7月29-31日
69. Chihiro Sato, Keiko Nohara, Tsukasa Matsuda, Kitajima, K. Identification of the disialic acid-containing glycoprotein in mouse T cells and its involvement in T cell activation. Sialobiology 2004. 4th International Conference. St Andrews, UK., July 27-30, 2004.
70. Go, S., Sato, C., and Kitajima, K. Biosynthesis and subcellular localiztion of deaminoneuraminic acid (KDN) in mammalian cells, The 18th International Symposium on Glycoconjugates (Florence, Italy), Sep 4-9, 2005

71. 朝比奈 慎二、佐藤 ちひろ、北島 健 O 型糖鎖上のポリシアル酸生合成におけるニジマス $\alpha$ 2,8 シアル酸転移酵素 (rtST8Sia VI) の役割、第 78 回日本生化学会大会 (神戸国際会議場)、平成 17 年 10 月 19~22 日
72. 郷 慎司、佐藤 ちひろ、北島 健 哺乳動物細胞におけるデアミノイラミン酸(KDN)の生合成機構及び細胞内局在の解析、第 78 回日本生化学会大会 (神戸国際会議場)、平成 17 年 10 月 19~22 日
73. 藤田明子、佐藤ちひろ、北島 健 脊椎動物 CMP-シアル酸合成酵素の Neu5Ac と KDN の識別機構、第 78 回日本生化学会大会 (神戸国際会議場)、平成 17 年 10 月 19~22 日
74. Chihiro Sato, Uichiro Yabe, Makoto Sawada, and Kitajima, K: Discovery of Polysialic Acid in Microglia. Expression Changes of  $\alpha$ 2,8-Sialyltransferases During Activation of a Mouse Microglia Cell Line. 5th International Symposium on Glycosyltransferases (GlycoT2006), June 25-28, 2006; Tsukuba, Japan
75. 郷 慎司、佐藤 ちひろ、北島 健: 哺乳類細胞におけるデアミノイラミン酸(KDN)代謝調節機構の解析。第 26 回日本糖質学会年会 2006 年 8 月 23-25 日; 仙台
76. 宮田真路、佐藤ちひろ、久美田紘信、鳥山 優、北島 健: ウニ精子鞭毛局在 flagelliasialin のユニークな糖鎖修飾の精子運動性における重要性。第 77 回日本動物学会大会 平成 18 年 9 月 21~24 日; 島根大学(松江)
77. 北島 健、原 弘明、足立朋子、佐藤ちひろ: メダカ初期胚における糖鎖抗原 3D11 の発現と役割 第 77 回日本動物学会大会 平成 18 年 9 月 21~24 日; 島根大学(松江)
78. 小島直也、池原讓、清水佳隆、志内伸光、中山友子、高木秀明、辻村邦夫: 認識を基点とした抗原提示細胞の細胞応答と抗原提示、第 25 回日本糖質学会年会、2005 年 7 月 (大津)
79. 小島直也: 糖鎖被覆リポソームの選択的取り込みから始まるマクロファージの細胞応答とその医療応用、GLYCO TOKYO 2005, 2005 年 11 月 (東京)
80. 小島直也: 糖鎖認識から始まる細胞応答とその医療応用、第 3 回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム、2005 年 12 月 (品川)
81. Naoya Kojima, Chikako Suzuki. Functional Counter Receptors for E-selectin on Colo 201 Cell Surface are Localized in Membrane Microdomain and Closely Associated with Non-receptor Type Tyrosine Kinase. Glyco-biology and Sphingo-biology 2007 (GS2007), Hakomori commemorative Forum, Tokushima, Feb 27-Mar 1, 2007
82. 苺谷育克、松田覚、浜口道成。「RUN ドメインを持つ低分子タンパク質である S-RUN は、Rab5 に結合する事で細胞機能を調節している。」日本癌学会総会、平成 15 年 9 月 25 日、名古屋
83. 谷村葉子、二村雄次、小田高司、国料俊男、千賀威、苺谷育克、松田覚、濱口道成。「TNF- $\alpha$ による胆管細胞癌の浸潤転移能活性化機構」日本癌学会総会、平成 15 年 9 月 26 日、名古屋
84. 深谷泰士、石黒直樹、千賀威、苺谷育克、松田覚、浜口道成。「マウス骨肉腫細胞株における肺転移抑制」日本癌学会総会、平成 15 年 9 月 27 日、名古屋、
85. 角田伸行、山崎由紀子、伊藤聡子、千賀威、二村雄次、浜口道成。Nek2 siRNA による乳癌の分子標的治療の開発。日本癌学会学術総会、平成 18 年 9 月 28 日-30 日、横浜
86. Itano, N., Koyama, H., Isogai, Z., Yoneda, M., Fujimori, M., Kannagi, R., Kimata, K., Taniguchi, S. Overexpression of hyaluronan synthase-2 enhances angiogenesis and stroma reaction in neu-induced mammary tumors. 第 38 回日本結合組織学会学術大会 群馬 (前橋商工会議所会館) 2006.5.12.
87. 村川明子、板野直樹、木全弘治、神奈木玲児、森 俊明、岡畑恵雄 ヒアルロン酸合成膜酵素の調製と機能解析、日本農芸化学会 2006 年度大会 (京都女子大学) 2006.3.27

③ ポスター発表 (国内会議 88 件、国際会議 76 件)

1. 渡部暁也、後藤嘉子、小池哲史、宮崎敬子、藪田智範、金森審子、井澤峯子、竹之下誠一、神奈木玲児: 大腸癌細胞のリンパ球への細胞接着とホメオスタティック・ケモカインの特異的变化。第 62 回日本癌学会総会、名古屋、9 月 25 日-27 日、2003.
2. 古川圭子、土田明子、岡島徹也、吉田有人、中村曜子、神奈木玲児、木曾真、古川鋼一: シアル酸転移酵素 ST6GalNAcVI によるヒト大腸癌細胞株における Disialyl Lewis a の合成。第 62 回日本癌学会総会、名古屋、9 月 25 日-27 日、2003.
3. 渡部暁也、藪田智範、隈元謙介、金森審子、宮崎敬子、井澤峯子、竹之下誠一、神奈木

- 玲児: 硫酸基転移酵素遺伝子導入による大腸癌細胞とTリンパ球間のケモカインと細胞接着分子のクロストークの解析. 第 103 回日本外科学会総会, 6 月 4-6 日, 札幌, 2003
4. 隈元謙介, 宮崎敬子, 井澤峯子, 竹之下誠一, 神奈木玲児: 細胞のシグナル伝達に関する GlcNAc 転移酵素の発現変化の検索—大腸癌における検討. 第 103 回日本外科学会総会, 6 月 4-6 日, 札幌, 2003
  5. 小池哲史, 渡部暁也, 後藤嘉子, 藪田智範, 隈元謙介, 竹之下誠一, 平岩望, 宮崎敬子, 井澤峯子, 神奈木玲児: セレクチンの糖鎖リガンドを合成するフコース転移酵素 VII の大腸癌における増加とその機序. 第 62 回日本癌学会総会, 名古屋, 9 月 25 日-27 日, 2003.
  6. 渡部暁也, 藪田智範, 後藤嘉子, 宮崎敬子, 井澤峯子, 金森審子, 竹之下誠一, 神奈木玲児: 大腸粘膜における細胞接着分子とケモカインとのクロストーク. 第 12 回日本がん転移学会総会, 金沢, 5 月 27-28 日, 2003.
  7. 神田英伸, 田中稔之, 松本真典, 梅本英司, 戎野幸彦, 村井稔幸, 神奈木玲児, 宮坂昌之: リンパ節高内皮細静脈に発現するシアロムチン endomucin の機能的意義. 第 33 回日本免疫学会総会, 福岡, 12 月 8 日-10 日, 2003.
  8. 井澤峯子, 宮崎敬子, 木村尚子, 大森勝之, 石田廣次, 中村栄男, 山地俊之, 橋本康弘, 鈴木明身, 神奈木玲児: 2,3/2,6 ジシアロ糖鎖と特異的に結合するシアル酸結合タンパク質 Siglec-7 陽性リンパ球の大腸癌組織内分布. 第 62 回日本癌学会総会, 名古屋, 9 月 25 日-27 日, 2003.
  9. Kannagi R, Koike T, Kimura N, Miyazaki K, Izawa M, Yabuta T, Kumamoto K, Takenoshita S, Chen J, Kobayashi M, Hosokawa M, Taniguchi A, Kojima T, Yamamoto H, Takematsu H, Kozutsumi Y, Ishida N, Kawakita M: Hypoxia transcriptionally induces adhesion of cancer cells to endothelial cells. The 6th Joint Conference of the American Association for Research and the Japanese Cancer Association "Advances in Cancer Research" (Chaired by Hong WK and Tsuruo T), Hilton Waikoloa Village, Waikoloa, Hawaii, January 25-29, 2004.
  10. Yagi H, Takahashi N, Yamaguchi Y, Kimura N, Kannagi R, Kato K.: Development and application of multi-dimensional HPLC mapping of N-linked glycans. 2nd Pharmaceutical Sciences World Congress (PSWC2004) Chaired by Sugiyama Y, Kyoto, Japan, May 29-June 2, 2004.
  11. 河村由紀, 福永竜子, 川島麗, 神奈木玲児, 土肥多恵子: N-アセチルガラクトサミン転移酵素の導入によるヒト大腸癌細胞の血管内皮への接着抑制. 第 63 回日本癌学会総会, 福岡, 9 月 29 日-10 月 1 日, 2004.
  12. 後藤嘉子, 殷 軍, 木村尚子, 小池哲史, 陳 国云, 宮崎敬子, 内藤裕子, 濱口道成, 神奈木玲児: 悪性細胞表層の糖鎖発現の v-src による変動とその背景因子. 第 63 回日本癌学会総会, 福岡, 9 月 29 日-10 月 1 日, 2004.
  13. 上田 大, 後藤嘉子, 宮崎敬子, 小池哲史, 井澤峯子, 丁 剛, 中井 茂, 久 育男, 神奈木玲児: CD44 を介したリンパ球の扁平上皮細胞への接着とホメオスタティック・ケモカインの特異的变化. 第 63 回日本癌学会総会, 福岡, 9 月 29 日-10 月 1 日, 2004.
  14. 柿崎育子, 児島薫, 高垣啓一, 遠藤正彦, 神奈木玲児, 安田忠司, 三田知花, 木全弘治, 板野直樹: 4-メチルウンベリフェロンによるヒアルロン酸合成阻害の新しい機構. 第 77 回日本生化学会大会, 横浜, 10 月 12 日-16 日, 2004.
  15. Lisheng Zhuo, 金森審子, 神奈木玲児, 板野直樹, Jiwen Wu, Li Shen, 浜口道成, 石黒直樹, 木全弘治: SHAP は CD44-ヒアルロン酸相互作用による細胞接着を増強する. 第 77 回日本生化学会大会, 横浜, 10 月 12 日-16 日, 2004.
  16. 岩田章子, 佐藤ちひろ, 安藤弘宗, 木曾 真, 神奈木玲児, 北島 健: サイクリックシアル酸の化学的検出法の開発. 第 77 回日本生化学会大会, 横浜, 10 月 12 日-16 日, 2004.
  17. Wu P-X, Kimura N, Kannagi R, Sato T.: Synthesis of sulfated oligosaccharides by sulfotransferase-transfected ECV304 cells using saccharide primer and structure analysis by MALDI-TOF mass spectrometry. US/Japan Glyco 2004, Joint meeting of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research, (President, M.E. Etzler) Hawaii, November 17-20, 2004.
  18. Iwata S, Sato C, Ando H, Kiso M, Kannagi R, Kitajima K.: Studies on chemical properties of cyclic sialic acid using their synthetic S- and O-glycosides as model compounds. US/Japan Glyco 2004, Joint meeting of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research, (President, M.E. Etzler) Hawaii, November 17-20, 2004.
  19. Kakizaki I, Kojima K, Takagaki K, Endo M, Kannagi R, Yasuda T, Mita S, Kimata K, Itano

- N.: A novel inhibition mechanism of hyaluronan synthesis by 4-methylumbelliferone. US/Japan Glyco 2004, Joint meeting of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research, (President, M.E. Etzler) Hawaii, November 17-20, 2004.
20. Kyogashima M, Hara A, Aoyama T, Kannagi R: Determination of sulfatides and complicated sulfated glycosphingolipids by MALDI-TOF MS. US/Japan Glyco 2004, Joint meeting of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research, (President, M.E. Etzler) Hawaii, November 17-20, 2004.
  21. Takematsu H, Yamamoto H, Okuno Y, Kannagi R, Suzuki A, Kozutsumi Y.: DNA Microarray analysis of genes responsible for the expression of carbohydrate epitopes. US/Japan Glyco 2004, Joint meeting of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research, (President, M.E. Etzler) Hawaii, November 17-20, 2004.
  22. 宮崎敬子, 陳 国云, 井澤峯子, 大森勝之, 神奈木玲児: がん転移関連糖鎖シアリルルイスa合成系の正常上皮細胞における産物、ジシアリルルイスaの生理的機能. 第 14 回日本がん転移学会総会, 大阪, 6 月 2-3 日, 2005.
  23. 岩田章子, 佐藤ちひろ, 安藤弘宗, 木曾 真, 神奈木玲児, 北島 健: サイクリックシアル酸の化学的検出法の開発. 第 25 回日本糖質学会年会, 7 月 20-22 日, 大津, 2005.
  24. 黒田泰弘, 鈴木智佳子, 小島直也, 神奈木玲児: Colo201 のマイクロドメイン中の E-セレクトインリガンドの解析. 第 25 回日本糖質学会年会, 7 月 20-22 日, 大津, 2005.
  25. 殷 軍, 宮崎敬子, 橋本彩子, 田口 修, 竹松 弘, 小堤保則, 鈴木明身, 佐藤ちひろ, 北島 健, 神奈木玲児: N-glycolyl 型シアル酸含有糖鎖の癌選択的発現とシアル酸トランスポーター Sialin の関与. 第 64 回日本癌学会総会, 札幌, 9 月 14 日-16 日, 2005.
  26. 河村由紀, 川島 麗, 反町典子, 神奈木玲児, 土肥多恵子: 正常消化管粘膜に発現する  $\beta$  1,4N-アセチルガラクトサミン転移酵素遺伝子の癌化に伴うエピジェネティックな発現抑制機構. 第 64 回日本癌学会総会, 札幌, 9 月 14 日-16 日, 2005.
  27. 井澤峯子, 殷 軍, 宮崎敬子, 石田廣次, 中村栄男, 神奈木玲児: ヒト癌組織における N-Glycolyl GM2 ガングリオシドの特異的発現と分布. 第 64 回日本癌学会総会, 札幌, 9 月 14 日-16 日, 2005.
  28. 京ヶ島守, 小泉恵子, 江原孝史, 原 厚, 青山俊文, 神奈木玲児: アポトーシス惹起性フィトスフィンゴシン含有糖脂質の MALDI-TOF MS による検出. 第 64 回日本癌学会総会, 札幌, 9 月 14 日-16 日, 2005.
  29. 後藤嘉子, 上田 大, 宮崎敬子, 小池哲史, 井澤峯子, 丁 剛, 中井 茂, 久 育男, 神奈木玲児: 扁平上皮癌および正常 keratinocyte におけるケモカインリセプター CCR7 の発現. 第 64 回日本癌学会総会, 札幌, 9 月 14 日-16 日, 2005.
  30. 黒田泰弘, 鈴木智佳子, 小島直也, 神奈木玲児: Analysis of E-selectin ligand in microdomain of Colo201 cells. 第 78 日本生化学会大会, 神戸, 10 月 19 日-22 日, 2005.
  31. Akutagawa A, Fukami K, Banno Y, Takenawa T, Nagino M, Nimura Y, Kannagi R, Koizumi K.: The possible involvement of phospholipase C $\delta$ 4 and its isoform in liver regeneration. 第 78 日本生化学会大会, 神戸, 10 月 19 日-22 日, 2005.
  32. 河村由紀, 川島 麗, 水谷典子, 反町典子, 神奈木玲児, 土肥多恵子: ヒト血液型関連 Sd<sup>a</sup> 糖鎖抗原合成 N-アセチルガラクトサミン転移酵素の導入による細胞表面 P-セレクトインリガンドの修飾. 第 35 回日本免疫学会総会・学術集会, 横浜, 12 月 13 日-15 日, 2005.
  33. Kamiyama S, Sasaki N, Goda E, Ui-Tei K, Kaoru Saigo K, Narimatsu H, Jigami Y, Kannagi R, Irimura T, Nishihara S: Identification and characterization of 3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate transporter genes. Satellite Symposium of IUBMB 2006 "Extracellular glycomatrix in health and disease," (Chaired by K Kimata), Hyogo, June 14-17, 2006.
  34. Murakawa A, Itano, N, Kimata K, Kannagi R, Mori T, Okahata Y: Preparation of hyaluronan synthase 2 by baculovirus-infected insect cells expression system. Satellite Symposium of IUBMB 2006 "Extracellular glycomatrix in health and disease," (Chaired by K Kimata), Hyogo, June 14-17, 2006.
  35. Goto Y, Maeda H, Suzuki K, Ishimaru T, Yamamoto K, Miyaura S, Kim YS, Kimata K, Kyogashima M, Kannagi R: Profiling of heparan sulfate glycosaminoglycans on the human cancer cell surfaces by various monoclonal antibodies. Satellite Symposium of IUBMB 2006 "Extracellular glycomatrix in health and disease," (Chaired by K Kimata), Hyogo, June 14-17, 2006.
  36. Yagi H, Yamada K, Yamaguchi Y, Takahashi N, Oka S, Kawasaki T, Uchimura K, Kannagi R,

- Kato K.: Application of the multi-dimensional hplc mapping method to the branch specificities of sulfotransferases and glycosyltransferases. 5th International Symposium on Glycosyltransferases (GlycoT2006), Ibaraki, June 25-28, 2006.
37. Lim KT, Miyazaki K, Kimura N, Kannagi R: Roles of carbohydrate side chains of immunoglobulin superfamily cell adhesion molecules (IgCAMs). 55th Fujihara Seminar, Comprehensive understanding of the physiological and pathological significance of cell to cell adhesion by TSLC1/IGSF4. (Chaired by Yoshinori Murakami) Tomakomai, July 10-13, 2006.
  38. 岩田章子、川上信彦、佐藤ちひろ、安藤弘宗、木曾 真、神奈木玲児、北島 健: サイクリックシアル酸グリコシドの化学的安定性の検討. 第 26 回日本糖質学会年会, 仙台, 8 月 23 日-25 日, 2006.
  39. 金森審子、山口真範、石田秀治、木曾 真、神奈木玲児: サイクリックシアル酸生成に携わるシアル酸シクラーゼの遺伝子単離とその解析. 第 26 回日本糖質学会年会, 仙台, 8 月 23 日-25 日, 2006.
  40. 上田 大、神奈木玲児、後藤嘉子、丁 剛、池淵嘉一郎、松井雅裕、中野宏、島田剛敏、四ノ宮隆、中井茂、久育男: 頭頸部扁平上皮癌における CCR7, CXCR4 の発現の検討. 第 30 回頭頸部癌学会, 大阪, 6 月 15-16 日, 2006.
  41. Iwata S, Kawakami N, Sato C, Ando H, Kiso M, Kannagi R, Kitajima K: Studies on acid instability of O-glycosides of cyclic sialic acid. Sialoglycoscience 2006, 5th. International Conference, (President, Y. Suzuki) Mishima, August 27-30, 2006.
  42. 川上信彦、岩田章子、佐藤ちひろ、安藤弘宗、石田秀治、木曾真、神奈木玲児、北島 健: サイクリックシアル酸含有糖鎖の構造と機能解析. 糖鎖科学名古屋拠点「若手の力」フォーラム第 4 回, 名古屋, 9 月 15 日, 2006.
  43. 京ヶ島守、小泉恵子、神奈木玲児、村手 隆: 全トランスレチノイン酸(ATRA)による神経芽細胞腫、SH-SY5Y 細胞株のアポトーシス誘導機構の解明. 第 65 回日本癌学会総会, 横浜, 9 月 28 日-30 日, 2006.
  44. 小山 洋、磯貝善蔵、藤森 実、天野 純、神奈木玲児、木全弘治、谷口俊一郎、板野直樹: 乳癌発症モデルマウスを用いたヒアルロン酸細胞外マトリックスによる腫瘍血管新生促進作用の解明. 第 65 回日本癌学会総会, 横浜, 9 月 28 日-30 日, 2006.
  45. Kawamura YI, Adachi Y, Kannagi R, Mizutani N, Toyama-Sorimachi N, Curiel DT, Nishimoto N, Dohi T: Therapeutic gene transfer of a glycosyltransferase efficiently prevents gastric cancer metastasis. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress (Chair T Honjo). Kyoto, June 19-23, 2006.
  46. Koyama H, Isogai Z, Yoneda M, Fujimori M, Kannagi R, Kimata K, Taniguchi S, Itano N: Hyaluronan accelerates tumor angiogenesis through stromal cell recruitment. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress (Chair T Honjo). Kyoto, June 19-23, 2006.
  47. Iwata S, Sato C, Ando H, Kiso M, Kannagi R, Kitajima K: Quantitative detection of cyclic sialic acid in mammalian cells. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress (Chair T Honjo). Kyoto, June 19-23, 2006.
  48. Koyama H, Isogai Z, Yoneda M, Fujimori M, Amano J, Kannagi R, Kimata K, Taniguchi S, Itano N: Hyperproduction of hyaluronan in neu-induced mammary tumor accelerates angiogenesis through stromal cell recruitment: Possible involvement of PG-M/versican. The 11th International Congress of the Metastasis Research Society, (President, S. Sone) Tokushima, September 3-6, 2006.
  49. Chen G-Y, Osada H, Santamaria-Babi LF, Kannagi R: Interaction of GATA-3/T-bet transcription factors regulates expression of ligands for selectin-family cell adhesion molecules in human leukemic cells. 7th AACR-JCA Joint International Conference "In the Forefront of Basic and Translational Cancer Research" (Chaired by Lynn M. Matrisian and Kohzoh Imai), Hawaii, Jan. 21-25, 2007.
  50. Izawa M, Kimura N, Miyazaki K, Yusa A, Kannagi R: Epigenetic silencing of *DTDST*, a sulfate transporter gene, is involved in the induction of tumor-associated carbohydrate determinant sialyl Lewis X in colon cancers. 7th AACR-JCA Joint International Conference "In the Forefront of Basic and Translational Cancer Research" (Chaired by Lynn M. Matrisian and Kohzoh Imai), Waikoloa, Hawaii, Jan. 21-25, 2007.

51. Miyazaki K, Izawa M, Ohmori K, Mitsuki M, Yamaji T, Hashimoto Y, Suzuki A, Kannagi R: Implication of cancer-associated abnormal glycosylation for enhanced COX2 expression in mucosal macrophages during colonic carcinogenesis. 7th AACR-JCA Joint International Conference "In the Forefront of Basic and Translational Cancer Research" (Chaired by Lynn M. Matrisian and Kohzoh Imai), Waikoloa, Hawaii, Jan. 21-25, 2007.
52. Yin J, Izawa M, Miyazaki K, Chen GY, Cheng FL, Lin CH, Kannagi R: Tumor hypoxia induces expression of *Sialin*, a sialic acid transporter, and cancer-associated gangliosides containing abnormal sialic acid on human cancer cells. 7th AACR-JCA Joint International Conference "In the Forefront of Basic and Translational Cancer Research" (Chaired by Lynn M. Matrisian and Kohzoh Imai), Waikoloa, Hawaii, Jan. 21-25, 2007.
53. Kondo S, Yagi H, Lim K-T, Miyazaki K, Takahashi N, Kato K, Kannagi R: Structural analysis of *N*-glycans carrying disialyl Lewis a determinant. Hakomori Commemorative Forum "Glycobiology and Sphingobiology 2007" (Chaired by Roger A. Laine), Tokushima, Feb. 27-Mar. 1, 2007.
54. Chen G-Y, Osada H, Santamaria-Babi LF, Kannagi R: Transcriptional regulation of selectin ligand expression in helper T-lymphocytes through chromatin modulation. Hakomori Commemorative Forum "Glycobiology and Sphingobiology 2007" (Chaired by Roger A. Laine), Tokushima, Feb. 27-Mar. 1, 2007.
55. Miyazaki K, Izawa M, Ohmori K, Mitsuki M, Yamaji T, Hashimoto Y, Suzuki A, Kannagi R: Cancer-associated "*incomplete synthesis*" of carbohydrate determinants enhances mucosal macrophage COX2 expression in colonic carcinogenesis. Hakomori Commemorative Forum "Glycobiology and Sphingobiology 2007" (Chaired by Roger A. Laine), Tokushima, Feb. 27-Mar. 1, 2007.
56. Yin J, Izawa M, Miyazaki K, Chen GY, Cheng FL, Lin CH, Kannagi R: Tumor hypoxia induces expression of *N*-glycolyl G<sub>M2</sub>, a cancer-associated ganglioside on human cancer cells through "*neosynthesis*" mechanism. Hakomori Commemorative Forum "Glycobiology and Sphingobiology 2007" (Chaired by Roger A. Laine), Tokushima, Feb. 27-Mar. 1, 2007.
57. Kyogashima M, Tadano-Aritomi K, Tamiya-Koizumi K, Aoyama T, Hara A, and Kannagi R: Demonstration of diversities of novel free hydroxyceramides molecular species containing unusual sphingoid bases. Hakomori Commemorative Forum "Glycobiology and Sphingobiology 2007" (Chaired by Roger A. Laine), Tokushima, Feb. 27-Mar. 1, 2007.
58. Chen G-Y, Osada H, Santamaria-Babi LF, Kannagi R: Interaction of GATA-3/T-bet transcription factors regulates homing receptor expression on Th1/Th2 lymphocytes. Experimental Biology 2007, Washington DC, USA, April 28-May 2, 2007.
59. 小池哲史、竹之下誠一、神奈木玲児: 低酸素により誘導された4つの糖鎖関連遺伝子. 第16回日本がん転移学会総会, 富山, 7月9-10日, 2007.
60. Yin J, Izawa M, Miyazaki K, Chen GY, Cheng FL, Lin CH, Kannagi R: *N*-glycolyl G<sub>M2</sub>, a cancer-associated ganglioside on human breast and colon cancers induced by tumor hypoxia. 19th International Symposium on Glycoconjugates (Glyco19)(Chair P Gleeson). Cairns, Australia, July 15-20, 2007.
61. Kyogashima M, Tadano-Aritomi K, Murate T, Tamiya-Koizumi K, Aoyama T, Kannagi R, Hara A: Diversities and their apoptotic activities of hydroxy-ceramides containing long-chain bases with unusual alkyl chain lengths. 19th International Symposium on Glycoconjugates (Glyco19)(Chair P Gleeson). Cairns, Australia, July 15-20, 2007.
62. Yusa A, Fujii M, Goto Y, Suzuki K, Ishimaru T, Yamamoto K, Kim YS, Kimata K, Kyogashima M, Kannagi R: Profiling of heparan sulfate glycosaminoglycans in human cancers with monoclonal antibodies. 19th International Symposium on Glycoconjugates (Glyco19)(Chair P Gleeson). Cairns, Australia, July 15-20, 2007.
63. Kawamura YI, Toyota M, Kawashima R, hagiwara T, Miyake O, Takeshita E, Saito Y, Kawamura YJ, Konishi F, Kannagi R, Dohi T.: Epigenetic mechanism for cancer-associated silencing of a gene encoding a  $\beta$ 1,4*N*-acetylglactosaminyltransferase, which is exclusively expressed in normalgastrointestinal mucosa. 19th International Symposium on Glycoconjugates (Glyco19)(Chair P Gleeson). Cairns, Australia, July 15-20, 2007.
64. 郷 慎司、佐藤ちひろ、殷 軍、神奈木玲児、北島 健: 低酸素状態のヒト癌細胞におけるデアミノノイラミン酸(KDN)の発現誘導. 第27回日本糖質学会年会, 福岡, 8月1-3日,

- 2007.
65. 近藤幸子、矢木宏和、林 啓智、宮崎敬子、高橋禮子、加藤晃一、神奈木玲児: ジシアリルルイスa末端を有するN型糖鎖の構造解析. 第27回日本糖質学会年会, 福岡, 8月1-3日, 2007.
  66. 小山 洋、小林宣隆、神奈木玲児、木全弘治、谷口俊一郎、板野直樹: ヒアルロン酸腫瘍微小環境によるリンパ管新生促進. 第27回日本糖質学会年会, 福岡, 8月1-3日, 2007.
  67. 川上信彦、岩田章子、佐藤ちひろ、安藤弘宗、石田秀治、木曾 真、神奈木玲児、北島健: サイクリックシアル酸残基の酸加水分解産物の同定. 第27回日本糖質学会年会, 福岡, 8月1-3日, 2007.
  68. 小山 洋、小林宣隆、竹岡みち子、藤森 実、天野 純、神奈木玲児、木全弘治、谷口俊一郎、板野直樹: Significance of tumor associated stroma in promotion of intratumoral lymphangiogenesis. 第66回日本癌学会総会, 横浜, 10月3日-5日, 2007.
  69. 後藤嘉子、上田 大、丁 剛、島田剛敏、中井 茂、久 育男、神奈木玲児: Reciprocal effect of hypoxia on expression of chemokine receptor CXCR4 and CCR7 in squamous cancer cells (扁平上皮癌におけるケモカインレセプターCXCR4 および CCR7 発現誘導における低酸素の役割). 第66回日本癌学会総会, 横浜, 10月3日-5日, 2007.
  70. 宮崎敬子、木村尚子、井澤峯子、林啓智、安川然太、大森勝之、三ツ木元章、山地俊之、橋本康弘、鈴木明身、神奈木玲児: Siglec ligands on epithelial cells: possible regulators of resident macrophage functions during colonic carcinogenesis (上皮細胞の糖鎖リガンドによる大腸粘膜マクロファージ機能のシグレックを介した調節と大腸発癌). 第66回日本癌学会総会, 横浜, 10月3日-5日, 2007.
  71. 遊佐亜希子、藤井正宏、後藤嘉子、宮浦修一、金 永植、岩田広治、木全弘治、京ヶ島守、神奈木玲児: Increase of heparan sulfate and FGF/VEGF on cancer cell surface in low-serum culture (血清欠乏培地培養下におけるがん細胞表面のヘパラン硫酸ならびに FGF, VEGF の増加). 第66回日本癌学会総会, 横浜, 10月3日-5日, 2007.
  72. 京ヶ島守、只野一有富桂子、青山俊文、原 厚、小泉恵子、村手 隆、神奈木玲児: Hydroxylation in ceramides regulates apoptotic activities towards human tumor cell lines (セラミドの水酸化はヒトがん細胞株に対するアポトーシス活性を制御する). 第66回日本癌学会総会, 横浜, 10月3日-5日, 2007.
  73. Kawamura YI, Toyota M, Kawashima R, Hagiwara T, Kawamura YJ, Konishi F, Takeshita E, Miyake O, Saito Y, Kannagi R, Dohi T.: Silencing of Sd<sup>a</sup> carbohydrate-synthase gene by aberrant methylation in gastrointestinal cancer and ulcerative colitis. 13th International Congress of Mucosal Immunology, Tokyo, July 10, 2007.
  74. Kimura N, Ohmori K, Miyazaki K, Izawa M, Kannagi R: ナイーブ B 細胞には CD22/siglec-2 の優先的リガンド  $\alpha$  2-6 シアリル 6-スルホ糖鎖が発現する/Naive B lymphocytes express  $\alpha$  2-6 sialyl 6-sulfated glycans serving as a preferred ligand for CD22/siglec-2. 第37回日本免疫学会総会・学術集会, 東京, 11月20日-22日, 2007.
  75. Kawamura Y, Kawashima R, Mizutan N, Toyama-Sorimachi N, Kannagi R, Dohi T.: Siglecs, ligands for carbohydrate determinants on non-malignant colonic epithelial cells, are expressed in the colonic lamina propria cells. 第37回日本免疫学会総会・学術集会, 東京, 11月20日-22日, 2007.
  76. 岩田章子, 川上信彦, 佐藤ちひろ, 安藤弘宗, 石田秀治, 木曾 真, 神奈木玲児, 北島 健: サイクリックシアル酸のマウス組織からの化学的検出. 第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会合同大会, 横浜, 12月11日-15日, 2007.
  77. Uichiro Yabe, Chihiro Sato, Tsukasa Matsuda, Kitajima K.: Identification and characterization of human milk CD36 as a new member of mammalian polysialic acid-containing glycoprotein. 第76回日本生化学会大会, 横浜, 平成15年10月15-18日
  78. Shinji Go, Chihiro Sato, Motoko Ikeda, Michihiro Kobayashi, Tsukasa Matsuda and Kitajima K. Biosynthesis of sialic acid in insect cells: Detection of the sialic acid 9-phosphate synthase activity. 第76回日本生化学会大会, 横浜, 平成15年10月15-18日
  79. Akiko Fujita, Chihiro Sato, Anja-K. Münster, Rita Gerardy-Schahn, Kitajima K. Development of a new, facile method to assay CMP-Sia synthetase activity 第76回日本生化学会大会, 横浜, 平成15年10月15-18日
  80. Shinji Miyata, Chihiro Sato, and Kitajima K. Occurrence of a novel 8-O-sulfated Neu5Ac-capped  $\alpha$ 2  $\rightarrow$  9-linked polyNeu5Ac chains in the sea urchin sperm flagella

- glycoprotein. 第76回日本生化学会大会、横浜、平成15年10月15-18日
81. Nao Yamakawa, Shinji Miyata, Eri Maehashi, Kaoru Ohta, Chihiro Sato, Kitajima K. Chemical and Immunochemical Analyses of Sulfated Sialic Acids in Sea Urchin Sperm and Eggs. 第76回日本生化学会大会、横浜、平成15年10月15-18日
  82. Nao Yamakawa, Shinji Miyata, Eri Maehashi, Chihiro Sato, Kitajima K. Development of sensitive chemical and immunochemical methods for detecting sulfated sialic acids. 22nd International Carbohydrate Symposium, Glasgow, UK. July 23-27, 2004.
  83. Zenta Yasukawa, Chihiro Sato, Kitajima K. The 32 kDa glycoprotein containing the di- and oligomers of  $\alpha$ 2,8-linked Neu5Gc increased in mouse serum after induction of inflammation. Sialobiology 2004. 4th International Conference. St Andrews, UK., July 27-30, 2004
  84. Akiko Fujita, Chihiro Sato, Anja-K. Münster-Kühnel, Rita Gerardy-Schahn, Kitajima K. Development of a simple and efficient method for assaying the CMP-sialic acid synthetase activity using an enzymatic NADH/NAD<sup>+</sup> converting system. Sialobiology 2004. 4th International Conference. St Andrews, UK., July 27-30, 2004
  85. 宮田真路、佐藤ちひろ、鳥山優、広橋教貴、Victor D. Vacquier、北島健：ウニ精子先体反応に伴って130 kDa糖タンパク質が精子から分泌される。第75回日本動物学会大会、甲南、2004年9月10-12日。
  86. Uichiro Yabe, Chihiro Sato, Tsukasa Matsuda, Kitajima K. Developmental expression of polysialyltransferases in mammary gland during lactation stages. 第77回日本生化学会大会、横浜、2004年10月13-16日。
  87. Zenta Yasukawa, Chihiro Sato, Kitajima K. Study on the inflammation-induced expression of sialyltransferase genes in mouse liver. 第77回日本生化学会大会、横浜、2004年10月13-16日。
  88. Shinji Go, Chihiro Sato, Kitajima K. Study on the uptake of deaminoneuraminic acid (KDN) by mammalian cells. 第77回日本生化学会大会、横浜、2004年10月13-16日。
  89. Shinji Miyata, Chihiro Sato, Kitajima K. Occurrence of a novel 8-O-sulfated Neu5Ac-capped  $\alpha$ 2 $\rightarrow$ 9-linked polyNeu5Ac chains in the sea urchin sperm flagella glycoprotein. 第77回日本生化学会大会、横浜、2004年10月13-16日。
  90. Shinji Asahina, Chihiro Sato, Kitajima K. Developmental Expression of an  $\alpha$ 2,6-sialyltransferase in Rainbow Trout Ovary during Oogenesis. 4th International Symposium on the Molecular and Cell Biology of Egg- and Embryo-Coats (MCBEEC2004), Ise, Japan, November 8-12, 2004
  91. Shinji Miyata, Chihiro Sato, Masaru Toriyama, Kitajima K. A novel polysialic acid-containing glycoprotein in sea urchin sperm flagellum. 4th International Symposium on the Molecular and Cell Biology of Egg- and Embryo-Coats (MCBEEC2004), Ise, Japan, November 8-12, 2004.
  92. Nao Yamakawa, Chihiro Sato, Kitajima K. A novel specific interaction of a major ganglioside from *Hemicentrotus pulcherrimus* sperm with phospholipids. 4th International Symposium on the Molecular and Cell Biology of Egg- and Embryo-Coats (MCBEEC2004), Ise, Japan, November 8-12, 2004.
  93. Uichiro Yabe, Chihiro Sato, Tsukasa Matsuda, Kitajima K. Identification of a polysialic acid contains glycoprotein : Implication of new functions of polysialic acid. 17th Annual and International Meeting of the Japanese Association for Animal Cell Technology (JAACT), Nagoya, Japan, November 9-11, 2004.
  94. Shinji Go, Chihiro Sato, Kitajima K. Effects of exogenously administered mannose and deaminoneuraminic acid (KDN) to mice or murine cultured cells on the metabolism of KDN. US/Japan Glyco 2004. Honolulu, USA, November 17-20, 2004.
  95. Shinji Miyata, Chihiro Sato, Kitajima K. Occurrence and characterization of a novel sulfated  $\alpha$ 2,9-linked polysialic acid-containing glycoprotein in sea urchin sperm flagellum. US/Japan Glyco 2004. Honolulu, USA, November 17-20, 2004.
  96. 矢部 宇一郎、佐藤 ちひろ、松田 幹、北島 健 マウス乳糖タンパク質 CD36 上のポリシアル酸の乳腺発達段階における発現解析、日本農芸化学会 2005 年度大会(札幌コンベンションセンター)、平成 17 年 3 月 28 日
  97. 郷 慎司、佐藤 ちひろ、北島 健 哺乳類細胞においてマンノース存在下で誘導されるデアミノイラミン酸(KDN)生合成の分子機構、第 25 回日本糖質学会(滋賀県民交流センタ

一)、平成 17 年 7 月 20-22 日

98. 藤田 明子, 佐藤 ちひろ, 北島 健 脊椎動物由来 CMP-シアル酸合成酵素におけるシアル酸分子種認識部位の決定、第 25 回日本糖質学会(滋賀県民交流センター)、平成 17 年 7 月 20-22 日
99. Miyata, S., Sato, C., Kumita, H., Toriyama, M., and Kitajima, K. Co-existence of the  $\alpha$ 2,9- and  $\alpha$ 2,8-linked polysialic acids on sea urchin sperm and their differential roles in fertilization, The 18th International Symposium on Glycoconjugates (Florence, Italy), Sep 4-9, 2005
100. Fujita, A.; Sato, C.; Nakata, D., Münster-Kühnel, A. K., Gerardy-Schahn, R., and Kitajima, K. Identification of the structural units involved in differentiation of Neu5Ac and KDN in the vertebrate CMP-Sia synthase. The 18th International Symposium on Glycoconjugates (Florence, Italy), Sep 4-9, 2005
101. Yamakawa, N., Miyata, S., Maehashi, E., Furuhashi, K., Sato, C., and Kitajima, K. Analysis of sulfated sialic acids in sea urchin sperm and egg. The 18th International Symposium on Glycoconjugates (Florence, Italy), Sep 4-9, 2005
102. 岩田 章子, 佐藤 ちひろ, 安藤 弘宗, 木曾 真, 田口 修, 神奈木 玲児, 北島 健: Chemical detection of cyclic sialic acid in a mouse tumor tissue (マウスがん組織におけるサイクリックシアル酸の化学的検出). 第 78 日本生化学会大会, 神戸, 10 月 19 日-22 日, 2005.
103. 宮田 真路, 佐藤 ちひろ, 久美田 紘信, 鳥山 優, 北島 健 ウニ精子における  $\alpha$ 2,9 および  $\alpha$ 2,8 結合ポリシアル酸構造の共存、第 78 回日本生化学会大会(神戸国際会議場)、平成 17 年 10 月 19-22 日
104. Uichiro Yabe, Kitajima, K., Makoto Sawada, and Chihiro Sato: Clearance of polysialic acid after LPS activation on microglia cells. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, June 18 - 23, 2006; Kyoto, Japan
105. Zenta Yasukawa, Chihiro Sato, Kotone Sano, Haruko Ogawa, and Kitajima, K.: Identification of disialic acid-containing glycoproteins in mouse serum. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, June 18 - 23, 2006; Kyoto, Japan
106. Tomoko Adachi, Hiroaki Hara, Chihiro Sato, and Kitajima, K.: Importance of cell surface glycoconjugates and membrane microdomains in development of medaka embryo. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, June 18 - 23, 2006; Kyoto, Japan
107. Shinji Go, Chihiro Sato and Kitajima, K.: Phosphomannose isomerase and Neu5Ac 9-phosphate synthase regulates the amount of deaminoneuraminic acid (KDN) in mammalian cells. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, June 18 - 23, 2006; Kyoto, Japan
108. Yoichiro Harada, Chihiro Sato and Kitajima, K.: Demonstration of the *N*-glycan-binding activity of Hsp70 and its possible function in a protein quality control. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, June 18 - 23, 2006; Kyoto, Japan
109. Fujita, A., Sato, C., Nakata, D., Münster-Kühnel, A. K., Gerardy-Schahn, R., and Kitajima, K.: A small region of vertebrate CMP-Sia synthetases determines not only the substrate recognition toward Neu5Ac or KDN, but also the intracellular localization. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, June 18 - 23, 2006; Kyoto, Japan
110. Xue Lian, Shinji Miyata, Chihiro Sato, and Kitajima, K.: Demonstration of the occurrence of sulfated sialic acid in pig sperm and its capacitation-induced changes in the surface distribution. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, June 18 - 23, 2006; Kyoto, Japan
111. Keita Hagiya, Chihiro Sato, and Kitajima, K.: Discovery of poly-*N*-glycolylneuraminic acid-containing glycoproteins in the vitelline envelope of medaka, *Oryzias latipes*. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, June 18 - 23, 2006; Kyoto, Japan
112. Hiroshi Fujita, Chihiro Sato, and Kitajima, K.: Demonstration of the prevalent occurrence of sulfated sialic acid in mammalian cells and tissues. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, June 18 - 23, 2006;

Kyoto, Japan

113. Shinji Miyata, Chihiro Sato, Hironobu Kumita, Masaru Toriyama, Victor D. Vaquier, and Kitajima, K.: Flagelliasialin, a novel polysialic acid glycoprotein in sea urchin sperm is involved in sperm motility. Sialoglycoscience 2006. 5th International conference, August 27-30, 2006; Mishima, Japan
114. Shinji Go, Chihiro Sato, Kitajima, K.: Molecular mechanism for controls of metabolism of deaminoneuraminic acid (KDN) in mammalian cells. Sialoglycoscience 2006. 5th International conference, August 27-30, 2006; Mishima, Japan
115. Fujita, A., Sato, C., Nakata, D., M|nster-K|hnel, A. K., Gerardy-Schahn, R., Kitajima, K.: Identification of structural elements that determines the substrate recognition toward Neu5Ac and KDN in vertebrate CMP-Sia synthetases. Sialoglycoscience 2006. 5th International conference, August 27-30, 2006; Mishima, Japan
116. 矢部宇一郎、北島健、澤田誠、佐藤ちひろ: ミクログリア活性化における細胞表面ポリシアル酸の発現変化. 第26回日本糖質学会年会 2006年8月23-25日;仙台
117. 薛蓮、藤田洋、佐藤ちひろ、北島健: ブタおよびマウス精子における硫酸化シアル酸の存在証明. 第26回日本糖質学会年会 2006年8月23-25日;仙台
118. 藤田明子、佐藤ちひろ、北島健: マウス CMP-Sia 合成酵素の核外移行シグナル (NES) の同定、第71回日本生化学会中部支部例会; 2007年5月19日; 名古屋大学(名古屋)
119. Kawamura YI, Adachi Y, Curiel DT, Kawashima R, Mizutani N, Toyama-Sorimachi N, Nishimoto N, Dohi T: Therapeutic gene transfer of a glycosyltransferase, which is exclusively expressed in normal gastrointestinal mucosa, Digestive Disease Week 2006, Los Angeles, 2006, May 22
120. Kawashima R, Kawamura YI, Mizutani N, Shirai Y, Saito Y, Toyama-Sorimachi N, Konishi F, Kawamura YJ, Dohi T: Aberrant respons to indigenous lipopolysaccharide in the colonic lamina propria mononuclear cells in ulceratvie colitis. The 4th Annual Meeting of JSIBD, Tokyo, 2007 Dec 1st.
121. Kawashima R, Kawamura YI, Mizutani N, Toyama-Sorimachi N, Saito Y, Kawamura YJ, Fumio, Konishi, Dohi T: Aberrant responses of human colonic macrophage-type cells to lipopolysaccharide in ulcerative colitis: upregulated expression of MD-2 and production of Inflammatory cytokines. Digestive Disease Week 2007, Washington D.C., 2007 May 22.
122. Biao, Le, 田中慎一、小島直也: オリゴマンノースを被覆したリポソームを用いたがん細胞特異的細胞障害性 T 細胞の誘導、第78回日本生化学会大会、2005年10月(神戸)
123. 伊藤真樹、石原良美、小島直也: 大腸癌細胞株のマイクロドメイン上に発現する E-セレクトインリガンドの解析、日本化学会第86春季年会、2006年3月
124. 森泰之、石原良美、小島直也: 糖鎖機能および構造の新規解析法の構築、日本化学会第86春季年会、2006年3月
125. 森泰之、石原良美、黒田泰弘、小島直也: 糖鎖機能および構造の新規解析法の構築、第26回日本糖質学会年会、2006年8月23-25日(仙台)
126. 小島直也、中山友子、楽ひょう、池原譲、辻村邦夫: オリゴマンノース被覆リポソームによるがん免疫の誘導、第26回日本糖質学会年会、2006年8月23-25日(仙台)
127. 古家直道、望月健、小島直也: シアル酸含有糖鎖被覆リポソームの腹腔内マクロファージの取り込み、第26回日本糖質学会年会、2006年8月23-25日(仙台)
128. 高木秀明、石井麻莉子、高沢果林、小島直也: オリゴマンノース被覆リポソームによるマクロファージの活性化、第26回日本糖質学会年会、2006年8月23-25日(仙台)
129. 阿部雄、松下操、小島直也: 腹腔マクロファージによるオリゴマンノース被覆リポソームの取り込みに関わる因子の検索、第26回日本糖質学会年会、2006年8月23-25日(仙台)
130. 小林翔平、小島直也: オリゴマンノース被覆リポソームのオリゴマンノース量と免疫応答、第26回日本糖質学会年会、2006年8月23-25日(仙台)
131. Naoya Kojima, Chikako Suzuki. Cholesterol-independent membrane microdomain containing sialyl Lewis a carrying mucin-type glycoproteins is a signaling ligand for E-selectin at Colo201 cell surface. XIX International Symposium on Glycoconjugates (Glyco 19), Jul 15-20, 2007.
132. Hideaki Takagi, Yuzuru Ikehara, Naomichi Furuya, Kunio Tsujimura, Naoya Kojima. Activation of Peritoneal Macrophages by Liposomes Coated with Neoglycolipid containing Oligomannose that exhibit Adjuvant activity. XIX International Symposium on

Glycoconjugates (Glyco 19), Jul 15-20, 2007

133. Naoya Kojima, Chikako Suzuki. Functional Counter Receptors for E-selectin on Colo 201 Cell Surface are Localized in Membrane Microdomain and Closely Associated with Non-receptor Type Tyrosine Kinase. Glyco-biology and Sphingo-biology 2007 (GS2007), Hakomori commemorative Forum, Tokusima, Feb 27-Mar 1, 2007
134. Yuzuru Ikehara, Toru Niwa, Le Biao, Sanae Kabata Ikehara, Norifumi Ohashi, Takeshi Kobayashi, Yoshitaka Shimizu, Naoya Kojima, and Hayao Nakanishi. A novel drug delivery system to intraperitoneal metastases. Carbohydrate recognition-based and controlled release system using intraperitoneal macrophages as a cellular vehicle. The 2006 Meeting of the Society for Glycobiology. San Diego, Novenver15-15, 2006
135. Kojima, N., Biao, L., Nakayama, N., Ikehara, Y., and Tsujimura, T., Induction of Anti-tumor Immunity by Oligomannose-Coated Liposome-Based Vaccine. XXIII International Carbohydrate Symposium, Whistler, Canada, July 23-28, 2006
136. Toshio Kokuryou, Miwa Tanaka, Hamaguchi M and Yuji Nimura. Profiling of gene expression associated with hepatolithiasis by complementary DNA expression array. 6<sup>th</sup> Joint Conference of the AACR & JCA. "Advances in Cancer Research" at Waikoloa, Hawaii Jan. 25~29, 2004.
137. Miwa Tanaka, Takeshi Senga, Toshio Kokuryou, Hamaguchi M. Activation of the src signaling pathway by heavy metal compounds causes matrix metalloproteinases secretion. 6<sup>th</sup> Joint Conference of the AACR & JCA. "Advances in Cancer Research" at Waikoloa, Hawaii Jan. 25~29, 2004.
138. Yasushi Fukaya, Takeshi Senga, Yasukatsu Ichigotani, Takashi Iwamoto and Michinari Hamguchi. Inhibition of the PI3K-Akt signal pathway suppresses pulmonary metastasis of murine osteosarcoma cells. 95<sup>th</sup> American Association for Cancer Research. Annual Meeting, at Orlando, Florida. March 27~31, 2004 .
139. Md. Helal Uddin Biswas, Satoko Ito, Takeshi Senga and Hamaguchi M. April 1-5 Requirement for SHP-2 in MMP-2 production and cell invasion of v-Src-transformed cells. 97<sup>th</sup> American Association of Cancer Research Annual Meeting. Washington, DC, USA, 2006,
140. Hitoki Hasegawa, Toshinori Hyodo, Takeshi Senga and Hamaguchi M. Suppression of cell spreading by v-Crk requires AP-1 dependent transcription 20<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOBMB Congress. Kyoto Japan, June 18-23, 2006.
141. Satoko Ito, Takeshi Senga and Hamaguchi M. The role of gap junctional intercellular communication and protein kinase Akt in osteosarcoma metastasis. 20<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOBMB Congress. Kyoto Japan, June 18-23, 2006.
142. Md. Helal Uddin Biswas, Satoko Ito, Takeshi Senga and Hamaguchi M. Role of SHP-2 in v-Src-induced MMP-2 production and cell invasion. 20<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOBMB Congress. Kyoto Japan, June 18-23, 2006.
143. Shunichi Yanagawa, Takashi Shinkawa, Toshiaki Isobe, Hamaguchi M, Kiyohisa Mizumoto, Michimoto Kobayashi and Seisuke Hattori. A quantitative tyrosine phosphoproteome analysis of v-Src transformed cells. 20<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOBMB Congress. Kyoto Japan, June 18-23, 2006.
144. Naing Naing Mon, Hitoki Hasegawa, Hong Yuan, Pengyu Huang, Takeshi Senga and Hamaguchi M. A role for FAK signaling in tumor necrosis factor- $\alpha$ -dependent MMP-9 production in a cholangiocarcinoma cell line, CCKS1. 20<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOBMB Congress. Kyoto Japan, June 18-23, 2006.
145. Takeshi Senga, Rahman Adminur, Satoko Ito Hitoki Hasegawa and Hamaguchi M. 2Regulation of Src kinase by cysteinie modification. 0<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOBMB Congress. Kyoto Japan, June 18-23, 2006.
146. Pengyu Huang, Takeshi Senga, Hong Yuan, Naing Naing Mon and Hamaguchi M. A novel

- role of phospho- $\beta$ -catenin in microtubule regrowth at centrosome. 20<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOBMB Congress. Kyoto Japan, June 18-23, 2006.
147. Satoko Ito, Takeshi Senga and Hamaguchi M. v-Src requires Ras, but not Stat3, signaling for the suppression of gap junctional intercellular communication. 14<sup>th</sup> Conference of the International Society of Differentiation. Innsbruck, Austria. October 7-11, 2006.
  148. Miwa Tanaka, Myat Lin Oo, Takeshi Senga and Hamaguchi M. “Activation of the signaling pathway and the secretion of matrix metalloproteinase by heavy metal compounds” 平成 15 年 10 月 16 日、日本生化学会総会、横浜、2003.
  149. Tsunehiko Yoshida, Takashi Iwamoto and Hamaguchi M. “STAT3 activation is necessary but not sufficient for terminal differentiation and cell growth arrest of M1 mouse leukemia cells” 平成 15 年 10 月 16 日、日本生化学会総会、横浜、2003.
  150. Norihiko Ueda, Myat Lin Oo and Hamaguchi M. “Signaling critical for anchorage-independent growth of v-Src transformed cells” 平成 15 年 10 月 16 日、日本生化学会総会、横浜、2003.
  151. Hitoki Hasegawa, Feng Xu, Takeshi Senga and Hamaguchi M. “Recovery of cell spreading in MEK-transformed cells by BATF, a transcription factor” 平成 15 年 10 月 16 日、日本生化学会総会、横浜、2003.
  152. 橋本茂、小野寺康仁、橋本あり、森重真毅、田中美和、浜口道成、佐辺寿孝、「Arf6 は乳癌細胞の浸潤性獲得において必須の分子装置の一つである」平成 16 年 9 月 30 日、日本癌学会総会、福岡、2004.
  153. 山本竜義、小田高司、二村雄次、浜口道成、「乳癌における SHPS-1 蛋白発現の臨床病理学的検討」平成 16 年 9 月 30 日、日本癌学会総会、福岡、2004.
  154. Miwa Tanaka, Takeshi Senga, Oo Myat Lin, Hiroshi Takeuchi and Hamaguchi M., “The cysteine cluster motif in the C-terminal lobe of the Src family kinases has an allosteric repressor function on the kinase” 平成 16 年 10 月 14 日、日本生化学会、横浜、2004.
  155. Akino Takahashi, Takashi Iwamoto and Hamaguchi M. “Analysis of expression and function of microRNAs 143 and 145 in v-src-transformed fibroblasts” 平成 16 年 10 月 14 日、日本生化学会、横浜、2004.
  156. Naing Naing Mon, Hitoki Hasegawa, Yoko Tanimura and Hamaguchi M., “A role for FAK in TF- $\alpha$ -dependent secretion of MMP-9” 10 月 16 日、日本生化学会、横浜、2004.
  157. “Suppression of anchorage independent growth of the cells by expression of SHPS-1” Yoshiko Ishida, Nozomu Kawashima and Hamaguchi M., 10 月 16 日、日本生化学会、横浜、2004.
  158. Satoko Ito, Aye Aye Thant, Takeshi Senga, Yukio Yuzawa, Seiichi Matsuo and Hamaguchi M., “The Ras-PI3K/Akt pathway suppresses the gap junctional communication in v-Src-transformed cells” 平成 16 年 10 月 16 日、日本生化学会、横浜、2004.
  159. Pengyu Huang, Takeshi Senga, Aye Aye Thant and Hamaguchi M., “The abnormal subcellular localization of  $\beta$ -catenin and microtubule disorganization in v-Src-transformed 3Y1 cells” 平成 16 年 10 月 16 日、日本生化学会、横浜、2004
  160. 田中美和、濱口道成。CC モチーフは Src ファミリーキナーゼで保存された制御ドメインである、平成 17 年 9 月 16 日、日本癌学会学術総会、札幌。2005.
  161. ラーマン アミナー、千賀威、浜口道成。一酸化窒素による細胞の運動の亢進、浸潤の機構。日本癌学会学術総会、平成 18 年 9 月 28 日-30 日。横浜、2006
  162. 山崎由紀子、伊藤聡子、角田伸行、千賀威、二村雄次、浜口道成。乳癌細胞における SHPS-1 の腫瘍抑制効果。日本癌学会学術総会、平成 18 年 9 月 28 日-30 日。横浜、2006
  163. 伊藤聡子、千賀威、山崎由紀子、浜口道成(名古屋大学医学部)v-Src によるギャップ結合抑制における Ras シグナルの役割。日本癌学会学術総会、平成 18 年 9 月 28 日-30 日。横浜、2006.
  164. 村川明子、板野直樹、木全弘治、神奈木玲児、森 俊郎、岡畑 恵雄 昆虫細胞を用いる膜内在性ヒアルロン酸合成酵素の発現とその機能、日本化学会第 5 春季年会、神奈川大学、2005.3.27.

(4)特許出願

①国内出願 (8 件)

発明者：神奈木玲児、井澤峯子、村松 喬、内村健治、細川秀明  
発明の名称：大腸癌および腺腫の検査方法  
出願人：独立行政法人科学技術振興機構，愛知県，和光純薬工業（株）  
出願日：平成 15 年 8 月 20 日  
出願番号：特願 2003-296216

発明者：濱口道成  
発明の名称：転写因子 BATF を用いた癌ならびに炎症性疾患の予防と治療  
出願人：独立行政法人科学技術振興機構 沖村憲樹  
出願日：平成 15 年 9 月 30 日

発明者：小島直也、清水佳隆、池原 譲、中西速夫  
発明の名称：免疫応答システムを利用したドラッグデリバリーシステム  
出願人：東海大学、愛知県  
出願日：平成 16 年 3 月 17 日

発明者：神奈木玲児，宮崎敬子，京ヶ島守  
発明の名称：ケモカイン受容体 CCR10 の発現誘導剤  
出願人：独立行政法人 科学技術振興機構，愛知県，生化学工業(株)  
出願日：平成 16 年 7 月 26 日  
出願番号：特願 2004-216995

発明者：神奈木玲児、井澤峯子、木村尚子、樽井俊介、渡邊一絵  
発明の名称：癌および腺腫の検査方法  
出願人：独立行政法人科学技術振興機構，愛知県，(株)医学生物学研究所  
出願日：平成 17 年 12 月 15 日  
出願番号：PCT/JP2005/023015

発明者：板野直樹  
発明の名称：ヒアルロン酸合成酵素遺伝子を導入した誘導性トランスジェニック動物  
出願人：独立行政法人 科学技術振興機構 板野直樹  
出願日：2006 年 3 月 31 日  
出願番号：特願平 2006-098273

発明者：神奈木玲児，木村尚子，宮崎敬子，松崎祐二，安田洋祐  
発明の名称：2-6 シアリル 6-スルホ糖鎖に対する抗体  
出願人：独立行政法人 科学技術振興機構，愛知県，生化学工業(株)  
出願日：2007 年 2 月 14 日  
出願番号：特願平 2007-033674

発明者：神奈木玲児，松崎祐二，安田洋祐  
発明の名称：2-6 シアリル 6-スルホラクタミン糖鎖含有化合物  
出願人：独立行政法人 科学技術振興機構，愛知県，生化学工業(株)  
出願日：2007 年 2 月 14 日  
出願番号：特願平 2007-033675

②海外出願 (2 件)

発明者：神奈木玲児、井澤峯子、村松 喬、内村健治、細川秀明  
発明の名称：Methods for examining colorectal cancer and colorectal adenoma  
出願人：独立行政法人科学技術振興機構，愛知県，和光純薬工業（株）  
出願日：平成 16 年 7 月 9 日  
出願番号：US 10/568, 544

発 明 者：神奈木玲児、井澤峯子、木村尚子、樽井俊介、渡邊一絵  
 発明の名称：Methods for examining carcinoma and adenoma  
 出 願 人：独立行政法人科学技術振興機構，愛知県，(株)医学生物学研究所  
 出 願 日：平成 19 年 7 月 16 日  
 出願番号：PCT/US2005/023015

(5)受賞等

①受賞

平成 15 年 6 月 日本がん転移学会研究奨励賞 (板野直樹)  
 平成 15 年 7 月 日本糖質学会研究奨励賞 (板野直樹)  
 Poster of Distinction in Digestive Disease Week 2006. (Kawamura YI, Adachi Y, Curiel DT, Kawashima R, Mizutani N, Toyama-Sorimachi N, Nishimoto N, Dohi T)

②新聞報道

平成 17 年 1 月 6 日 中日新聞 朝刊「がん転移阻止に道筋－糖鎖発生“スイッチ”発見」  
 平成 17 年 1 月 11 日 日刊工業新聞「糖鎖の仕組み解明－がんの治療法開発に道」  
 平成 17 年 10 月 10 日 中日新聞 朝刊「リンパ球配置分子－糖鎖解明に成功」  
 平成 19 年年 1 月 24 日、2 月 7, 14, 21 日 四回連載 讀賣新聞 朝刊「がん最前線」

③その他：なし

(6)その他特記事項：なし

7 研究期間中の主な活動

ワークショップ・シンポジウム等

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2004年 3月11日	班会議	愛知県がん センター	7	チーム内ミーティング
2004年 9月6-8日	糖鎖科学名古屋拠点の講 義と若手発表会	名古屋大学 東山キャン パス	80	名古屋周辺の糖鎖研究者が集 まって討論。本研究班もほぼ全 員参加。
2005年 3月15日	糖鎖科学名古屋拠点シン ポジウム	名古屋大学 東山キャン パス	100	名古屋周辺の糖鎖研究者が集 まって討論。本研究班もほぼ全 員参加。
2005年 9月20-22日	糖鎖科学名古屋拠点の講 義と若手発表会	名古屋大学 東山キャン パス	80	名古屋周辺の糖鎖研究者が集 まって討論。本研究班もほぼ全 員参加。
2005年 9月29日	班会議	愛知県がん センター	7	チーム内ミーティング
2006年. 9月13-15日	糖鎖科学名古屋拠点の講 義と若手発表会	名古屋大学 東山キャン パス	80	名古屋周辺の糖鎖研究者が集 まって討論。本研究班もほぼ全 員参加。
2007年. 9月13-15日	糖鎖科学名古屋拠点の講 義と若手発表会	名古屋大学 東山キャン パス	80	名古屋周辺の糖鎖研究者が集 まって討論。本研究班もほぼ全 員参加。

8 結び

特になし。