

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： がんや糖尿病等におけるシアリダーゼ異常の機構解明と制御
2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点)

研究代表者： 宮城 妙子(宮城県立がんセンター研究所 所長／生化学部長)

主たる共同研究者：

鈴木 進(東北大学大学院医学研究科 准教授)(～平成 18 年 12 月)

加藤 茂樹(香川大学医学部 客員准教授)(平成 19 年 4 月～)

東 秀好(東北薬科大学学生体膜研究所 教授)

古川 圭子(中部大学生命健康科学部 教授)

袖岡 幹子((独)理化学研究所基幹研究所 主任研究員)

3. 研究内容及び成果：

先に、形質膜局在型シアリダーゼのヒト型酵素(NEU3)が各種ヒトがんでほとんど例外なく異常に亢進していること、この遺伝子導入マウスに糖尿病が発症することを見出した。これらの成果に基づき、本研究では、NEU3 を主な対象として、その生理的機能および癌や糖尿病等におけるシアリダーゼ異常発現の機構や意義について解析を進めた。さらに、制御法を探索し、本遺伝子を標的とした新しい診断・治療法の開発を目指した。

具体的には、シアリダーゼ機能の解析、がんや糖尿病発症におけるその異常発現機構と意義の解析、異常発現を制御する方法の探索の3項目について研究を進めた。その結果、主な成果として、(1)NEU3 は生理的にはシグナル分子として機能しており、がんや糖尿病における NEU3 の異常発現が、それぞれ、アポトーシスおよびインスリンのシグナリング障害をもたらしていること、(2)NEU3 はがん細胞の悪性度を助長していること、(3)ノックダウンにより、がん細胞では細胞死をもたらすが、正常細胞には影響せず、がん治療の優れた標的分子である可能性が高いこと、等が明らかになった。さらに、(4)NEU3 阻害剤の設計・合成において、新規な CF₂-シアロシド結合をもつシアリルガラクトース誘導体の合成に成功した。以下に研究グループ毎の研究内容と成果について簡単に記述する。

宮城グループ:シアリダーゼ NEU3 を主な対象として、その生理的および病理的役割について解析を進め、本遺伝子を標的とした新規診断・治療法の開発を目指してきた。第一に、NEU3 ががん細胞の運動や浸潤を亢進、細胞死を抑制することによって、がん細胞の悪性度を助長する方向に働いていることを明らかにした。また、ノックダウンすると、がん細胞特異的に細胞死をもたらすことから、NEU3 ががん治療の優れた標的分子である可能性が高いことがわかった。第二に、NEU3 がシグナル伝達の制御に関わっていることを見出し、その機構として、酵素反応によるガングリオシド修飾機構に加え、他のシグナル分子との相互作用を介した制御も行うという2つの機構の存在が明らかとなった。第三に、アゾキシメタン投与によるAberrant crypt fociの発生率が糖尿病を発症するNEU3 トランスジェニックで対照に比べて有意に高く、NEU3 異常によるがんや糖尿病発症が関連した現象であることが示唆された。第四に、インフルエンザシアリダーゼ阻害剤で、治療薬であるタミフルのヒトシアリダーゼ活性への影響が危惧されたが、ヒト酵素には阻害効果が非常に低いことがわかった。

鈴木グループ: NEU3 トランスジェニックマウスが著明なインスリン抵抗性を伴う糖尿病のフェノタイプを示すことを基盤として、2型糖尿病の成因におけるNEU3 の役割を明らかにすることを目指した。2型糖尿病患者

において、NEU3 とSIAT9 の遺伝子多型、変異を検索し、臨床像との関連を解析した。2型糖尿病患者においてNEU3 遺伝子の多型の頻度が正常者に比べて有意に高く($p<0.001$)、かつインスリン抵抗性と高い相関を示した。NEU3 変異がインスリン分泌能を変化させている可能性が示唆された。

加藤グループ: マウス喘息モデルにおいて、HA結合性CD4 陽性T細胞が存在し、CD44-HA結合にシアリ酸が抑制的に関与していた。この系において、抗原再刺激により脾臓細胞のシアリダーゼ (Neu1, Neu3) の発現が亢進し、CD4陽性T細胞のHA結合性が誘導された。喘息の病態形成へのシアリダーゼの関与が示唆されたので、今後、シアリダーゼ欠損マウスを用いた喘息モデルを解析し、喘息の新規治療薬の開発へと発展させたい。

東グループ: 先に東らの見出したガングリオシド情報伝達系の機能解析結果に基づき、マウスにおいて、Neu3 感受性、抵抗性のガングリオシドが神経細胞間の情報伝達にどのように係わっているのかを調べた。その結果、Neu3感受性のガングリオシドGT1b, GD1bはブラジキニンB2受容体を活性化するリガンドであるが、Neu3 抵抗性のGM1 はそうではないことが明らかになった。また、Neu3 と相同性の高い細胞質シアリダーゼNeu2 とのキメラタンパク質の解析から、ガングリオシド基質を認識すると考えられるドメインを見出した。

古川グループ: メラノーマにおいて、GD3 発現に基づく癌性形質誘導の分子メカニズムの解明、及びNEU3 シアリダーゼの発現の変化と意義を解析し、がん治療法開発への応用を目指した。その結果、GD3 の高発現により細胞の増殖、浸潤能および細胞接着能の亢進が認められ、FCS刺激により、MAPK、Akt、FAK、p130Cas及びpaxillinのリン酸化が増強した。インテグリンを介した接着刺激により細胞増殖や浸潤性が亢進し、p130Cas及びpaxillinも顕著に活性化した。現在、NEU3 の発現を人為的に制御、細胞形質の変化について解析している。

袖岡グループ: ヒトシアリダーゼNEU3 の阻害剤の設計と合成を行ってきた。NEU3 によって加水分解を受けないガングリオシドのアナログ分子の創製を目的とした。これを実現するプローブとして、C-sialoside結合を有するガングリオシドアナログ分子を考案し、Ireland-Claisen転位反応を利用した効率的、かつ立体選択的なCF₂-sialoside結合合成法を確立した。さらに、CF₂-連結型α(2,3)-sialylgalactoseおよびCF₂-連結型ガングリオシドGM4 アナログへの誘導に成功し、世界で初めて炭素連結部を有するガングリオシドアナログの創製に成功した。本アナログは、ガングリオシドを基質とするシアリダーゼにN阻害活性を示した。

4. 事後評価結果

4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

NEU3 がガングリオシドを基質とする酵素活性以外に、EGFリセプター機能の亢進、IL-6 シグナルの活性化、癌で高発現する laminin5 に対する接着を促進する等シグナル分子として作用するという意外性のある発見についてもかなり証拠を固めている。2 型糖尿病患者において、NEU3 遺伝子の多型の頻度が正常者に比べて優位に高いことを見出した研究も評価できる。NEU2の発現量は、他のシアリダーゼに比べて非常に少ないが、脳と肺での発現量について初めて信頼性のあるデータを出した。研究を着実に進め、論文発表も適切である。特許出願件数は、基礎研究であるため少ない。

原著論文 32 招待講演 18件 口頭発表 56件

特許出願 国内 1 件 海外 1 件

4-2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

シアリダーゼの活性発見からクローニングを経て、その機能解析まで、ライフワークとして一貫して集中し研究を遂行してきた研究態度は大いに賞賛される。**CREST** の研究成果としても、それぞれのシアリダーゼの癌との関係を中心に重要な成果を出し続けており、シアリダーゼ研究で世界をリードしている。

NEU3 と癌との関係において、今後も研究を積み重ね、治療法の開発につながることを期待したい。

4-3. その他の特記事項(受賞歴など)

本研究チームは独創性が高く、研究代表者のリーダーシップが発揮された研究体制で、**CREST** 研究としては十分な研究成果を挙げた。

以上