

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名：糖鎖シグナルによる獲得免疫応答制御の解明と疾患制御への応用

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

鏑田 武志 (東京医科歯科大学大学院疾患生命科学部 教授)

主たる共同研究者

小堤 保則 (京都大学大学院生命科学研究科 教授)

橋本 康弘 (福島県立医科大学医学部生化学講座 教授)

3. 研究実施概要

本研究は、Bリンパ球に発現するシグナル制御機能をもつ膜型レクチン分子 CD22/Siglec-2 および CD72 とその糖鎖リガンドに焦点を合わせ、獲得免疫応答におけるこれらの分子の役割を明らかにすることにより、獲得免疫応答における糖鎖シグナルとそのレセプターの重要性を明らかにし、さらに、改変糖鎖リガンドを用いた免疫制御法の開発を行うことを目的として行った。その結果、CD22/Siglec-2 および CD72 分子やそのリガンドが、抗体の産生制御や自己免疫の発症制御などで重要な役割を果たすことを明らかにした。さらに、CD22/Siglec-2 の合成改変糖鎖リガンドにより B 細胞機能を制御し、感染防御が可能になることを示し、これら改変糖鎖リガンドによりワクチンや抗菌／抗ウイルス薬とは別の画期的な感染防御薬の開発が可能であることを実証した。以下にその概要を示す。

(1)CD22/Siglec-2 の機能解明

CD22/Siglec-2 欠損ナイーブ B 細胞が免疫応答の際に記憶細胞のように迅速に活性化し、抗体産生を行うことを明らかにした。この知見は、CD22/Siglec2 機能阻害によりナイーブ B 細胞が記憶 B 細胞様の反応性を獲得することを示唆する。

(2)CD22/Siglec-2 に高親和性に結合する合成改変糖鎖リガンドの合成

岐阜大学木曾教授らの研究グループと共同で CD22/Siglec-2 に数十ないし 100nM で結合する優れた化合物の開発に成功した。

(3)CD22/Siglec-2 の糖鎖リガンドの機能解明

Neu5Gc 合成に必要な CMP-N-アセチルノイラミン酸水酸化酵素(CMAH)欠損マウスを解析することにより、マウス CD22/Siglec2 がもっぱら認識する Neu5Gc が B 細胞機能に抑制的に働くことを明らかにした。また、合成糖鎖リガンドで CD22/Siglec-2 と内因性の糖鎖リガンドとの反応を阻害すると、CD22/Siglec-2 が B 細胞抗原受容体と共局在しなくなるなど、CD22/Siglec-2 の糖鎖リガンドが CD22/Siglec-2 の機能を正に制御して B 細胞機能を阻害することが示唆された。

(4)CD22/Siglec-2 糖鎖リガンド代謝の解明

CD22/Siglec-2 リガンドの発現は、主要なシアル酸分子種を Neu5Gc から Neu5Ac に変換することで活性化 B 細胞、特に胚中心 B 細胞において抑制されることを明らかにした。また、β セクレターゼ欠損マウスを樹立し、β セクレターゼが CD22/Siglec-2 の糖鎖リガンドの発現制御を行っていることを明らかにした。なお、細胞表面での糖鎖発現制御に関わる責任酵素遺伝子の DNA マイクロアレイプロファイル解析を通じた新たなスクリーニング法の確立も行った。

(5)CD72 の糖鎖結合活性

CD72 の C タイプレクチンドメインの可溶化タンパクを作成し、糖鎖結合能があることを明らかにした。

(6)CD72 の機能解明

CD72 ハプロタイプコンジェニックマウス、CD72 欠損マウスの樹立により、マウス CD72 が自己抗体産生や自己免疫疾患の発症を制御していることを明らかにした。また、ヒト CD72 が B 細胞の機能を制御し、自己免疫発症に関連することを明らかにした。

## (7)Siglec7 の機能解明

Siglec7はヒトのNK細胞や単球に発現され、ガン関連糖鎖に強く結合することが示されている。Siglec7にITIMに依存しない新規のシグナル系を持つことを示した。

## 4. 事後評価結果

### 4-1. 研究の達成状況及び得られた研究成果(論文・口頭発表等の外部発表、特許の取得状況等を含む)

CD22/Siglec-2 欠損ナイーブ B 細胞が免疫応答の際に、記憶細胞のように迅速に活性化し、抗体産生を行うことを明らかにした。この知見は CD22/Siglec-2 が免疫応答のタイムコースを制御していることを示すと共に、CD22/Siglec-2 の機能阻害により、ナイーブ B 細胞が記憶 B 細胞様の反応性を獲得することを示唆する。

岐阜大学の本曾教授らと共同研究で CD22/Siglec-2 に強く結合する化合物の開発を行った結果、CD22/Siglec-2 のリガンドとされる  $\alpha$  2,6 シアル酸と、数十ないし、100nM で結合する優れた化合物の開発に成功した。この化合物によりインフルエンザ感染症状が有意に軽減した。

CD72 ハプロタイプコンジェニックマウス、CD72 欠損マウスを樹立し、マウス CD72 が自己抗体産生や自己免疫疾患の発症を制御していることを明らかにした。また、ヒト CD72 が B 細胞の機能を制御し、自己免疫発症に関連することを示した。さらに糖鎖抗原への免疫応答に関与することを示すなど、CD72 が抗体応答において重要な機能を持つことを明らかにした。

小堤グループは Neu5Gc 合成に必要な GMP-N-アセチルノイラミン酸水酸化酵素欠損マウスを解析することにより、Neu5Gc が B 細胞機能に抑制的に働くことを明らかにした。また、CD22/Siglec-2 の糖鎖リガンドが CD22/Siglec-2 の機能を正に制御することが示唆された。

橋本グループはアルツハイマー病の原因因子の一つと考えられる  $\beta$  -セクレターゼのコンディショナル KO マウスを確立し、 $\beta$  -セクレターゼが CD22/Siglec-2 の糖鎖リガンドである  $\alpha$  2,6 シアロ糖タンパクの発現制御を行っていることを明らかにした。

インパクトファクターが高い雑誌での発表も数件あり、論文数も50と十分な成果である。特許も国内2件、海外1件出願している。

### 4-2. 研究成果の科学技術や社会へのインパクト、戦略目標への貢献

CD22/Siglec-2 の研究者は他にもいるが研究代表者はB細胞の専門家として、免疫における糖鎖生物学の重要性を示した。

糖鎖生物学が感染・免疫に重要な役割を果たすと思われる。タミフルやリレンザのような具体例が、今後次々と現れることが期待され、本研究はその候補になる可能性があり、戦略目標にフィットする研究である。

CD22/Siglec-2 阻害剤の開発により、獲得免疫応答を制御し、初回感染でも迅速に大量の抗体を産生でき、しかもウイルス・微生物の同定を必要としない感染防御の開発が可能であることを示した。これが成功すれば社会的インパクトは極めて大きい。

### 4-3. 総合的評価

免疫分野から糖鎖生物学研究を展開し、ナイーブB細胞の迅速な活性化を促す CD22/Siglec-2 阻害剤を開発することが出来た。これを用いて、実際にインフルエンザウイルス等で免疫応答を解析し、ユニバーサルな感染防御法の開発へ一歩を踏み出した。抗原性の変化や、新型ウイルスへの対応も可能性があり、今後の展開が注目される。

研究代表者は、免疫学の専門家として、異分野、近接分野との融合研究の重要性を示したことが評価できる。

以上