

「糖鎖の生物機能の解明と利用技術」

平成14年度採択研究代表者

神奈木 玲児

(愛知県がんセンター分子病態学部 部長)

「癌の進展における細胞接着性機能糖鎖の解明」

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。セレクトイ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。本研究ではこの両者のがん進展との関わりを研究する。

本研究は平成14年11月から開始された。平成14年度は研究計画の立ち上げ、研究に必要な測器の選定・購入作業を行い、さらに班員相互間の交流と共同作業の計画策定のために班会議を行った。

セレクトインと糖鎖リガンドの研究に従事する神奈木グループは今年度はセレクトインと糖鎖を介した細胞接着を阻害することによる治療が可能であるかを探るため、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を試みた。その結果、セレクトイ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、腫瘍巣の結果異型性にも関与することが明らかになった。サイクリックシアル酸の形成機構を解析しその阻害剤の検討を開始した。今後さらにセレクトインファミリーの全メンバーの糖鎖結合特異性の詳細を明らかにし、阻害効率の高い細胞接着阻害剤を開発する予定である。また、今後CD44-ヒアルロン酸系の細胞接着の研究を展開するために、固定化ヒアルロン酸を用いたフローシステムによる細胞接着の実験系を立ち上げた。

北島グループは、今年度はサイクリックシアル酸形成とその細胞接着制御機構の解明および接着機能に関わるユニークなシアル酸構造の同定と機能解明を目指す研究を開始した。サイクリックシアル酸に関しては、まずその微量解析法（蛍光高分解能液体クロマトグラフィーによる化学的検出）をモデル化合物を用いて検討した。今後、この解析法の確立を行い、反応の追跡や検索を実行する予定である。また、ユニークなシアル酸構造に関しては、シアル酸の重合体の存在検索を行い、ヒトミルク中にシアル酸ポリマー構造（ポリシアル酸）をもつ接着性糖タンパク質を発見した。今後、乳癌組織細胞における存在を検索し癌進展との関連を調べる予定である。

小島グループはセレクチン糖鎖リガンドの構造と機能を解明するために、接着性機能糖鎖エピトープを有する人工糖脂質の糖鎖工学的的手法による合成・精製を行った。一方、癌細胞上のセレクチン糖鎖リガンドは一般にO結合型糖鎖上に担われているので、これら癌細胞のO結合型糖鎖上のセレクチン糖鎖リガンドの構造を明らかにするために、まず合成糖ペプチドおよび標準糖タンパク質を用いて、ヒドラジン分解によるO結合型糖鎖の遊離条件の検討を詳細に行い、O結合型糖鎖を定量的に遊離させる条件の目処をつけることができた。今後はセレクチンと相互作用する大腸癌細胞株SW1083およびこの細胞株に様々な糖転移酵素遺伝子を導入したトランスフェクタントを大量に培養し、それらO結合型糖鎖の構造を比較・解析するとともに、これら糖鎖を人工糖脂質へと変換し、セレクチンと相互作用を示すような癌細胞に特徴的な糖鎖を検索する予定である。

CD44とヒアルロン酸の研究に従事する浜口グループは今年度は、従来v-*Src*癌化細胞とCD44発現の高いヒト肺癌細胞で各々独立に進めていた実験を統一化する為に、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。また、siRNA導入の予備実験を行い、3Y1細胞系、ヒト乳癌細胞系での至適条件を調べた。今後さらにヒト乳癌細胞へ、CD44アンチセンス、siRNAを導入し、MMP-2分泌の抑制を確認する予定である。

板野グループは今年度はヒアルロン酸糖鎖合成阻害剤の開発を目的として、既存のヒアルロン酸合成阻害物質であるMU（4-メチルウンベリフェロン）の阻害機序に関する研究を行った。その結果、MUによるヒアルロン酸合成の阻害に、細胞内在性糖転移酵素によるMUへの糖付加反応が深く関与していることを明らかにした。今後さらに詳細な機構の解明を進め、その阻害機序に関する情報をもとに新規合成阻害物質の探索と開発を進める予定である。また、ヒアルロン酸が細胞間接着の調節に働く機構に関しても、今年度に引き続いてその解明に取り組む予定である。

2. 研究実施体制

神奈木グループ

- ① 研究分担グループ長：神奈木 玲児（愛知県がんセンター分子病態学部・部長）
- ② 研究項目：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

北島グループ

- ① 研究分担グループ長：北島 健（名古屋大学生物分子応答研究センター・助教授）
- ② 研究項目：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

小島グループ

- ① 研究分担グループ長：小島 直也（東海大学工学部生命化学科・助教授）
- ② 研究項目：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

濱口グループ

① 研究分担グループ長：濱口道成（名古屋大学大学院医学系研究科・教授）

② 研究項目：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

板野グループ

① 研究分担グループ長：板野 直樹（愛知医科大学分子医科学研究所・講師）

② 研究項目：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