

「糖鎖の生物機能の解明と利用技術」

平成16年度採択研究代表者

鏑田 武志

(東京医科歯科大学大学院疾患生命科学部 教授)

「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」

1. 研究実施の概要

本研究では、糖鎖シグナルによる獲得免疫応答の制御機構を解明し、その制御法の開発を行うことを目的とする。我々はBリンパ球(B細胞)のin vitroでの解析により、Siglec2/CD22がCD72とともに抗原と反応したB細胞が活性化・増殖するか、あるいは、アポトーシスをおこすかを決定する分子スイッチとしての機能を持つことを示した。また、細胞株を用いた解析から、記憶B細胞ではSiglec2/CD22がBCRシグナル抑制をおこさないことを示唆し、記憶応答の際の迅速な抗体産生に関与することを示唆した。そこで本研究では、生体内でSiglec2/CD22が、Bリンパ球が活性するか否か、あるいは迅速な免疫応答をおこすか否かを決定し、液性免疫応答の制御で中心的な役割を果たすかを解明する。また、Siglec2/CD22の糖鎖リガンドの機能やその発現制御機構の解明などを行う。本研究では種々の遺伝子変異マウスを用いるが、本年度は種々の遺伝子改変マウスを導入し、他の種々の遺伝子導入マウスとの交配を行い、Siglec2/CD22とそのリガンドの機能解明の準備を行うとともに、新たな遺伝子改変マウス樹立の準備を行った。また、Siglec2/CD22が多糖抗原への反応の際に、通常のタンパク抗原への反応の際とは異なった挙動をとることを示す予備的な結果を得た。今後、Siglec2/CD22が多糖抗原への免疫応答に関与するかの解明を行う。さらに、Siglec2/CD22がBリンパ球活性化や液性免疫応答の迅速さを制御するのか、また、その糖鎖リガンドがSiglec2/CD22の機能発現に関与するのかなど、糖鎖シグナルによる液性免疫応答制御機構の解明をはじめた。

2. 研究実施体制

免疫シグナル制御グループ

研究分担グループ長 鏑田武志 (東京医科歯科大学大学院疾患生命科学部

教授)

研究項目：免疫応答におけるSiglec2/CD22の機能解明

糖鎖リガンドグループ

研究分担グループ長 小堤保則 (京都大学生命科学研究科教授)

研究実施項目：Siglec2/CD22の糖鎖リガンドの機能解明、Siglec2/CD22の糖鎖リガンド発現制御機構の解明

リガンド代謝グループ

研究分担グループ長 橋本康広

(理化学研究所フロンティア研究システムチームリーダー)

研究実施項目：Siglec2/CD22の糖鎖リガンド発現制御機構の解明

3. 主な研究成果の発表（論文発表および特許出願）

(1) 論文（原著論文）発表

- Hirai, H., Adachi, T., and Tsubata, T.: Involvement of cell cycle progression in survival signaling through CD40 in B lymphocyte line WEHI-231. *Cell Death Differ.* 11: 261-269, 2004
- Kawamura, T., Kanai, T., Dohi, T., Uraushihara, K., Totsuka, T., Iiyama, R., Taneda, C., Yamazaki, M., Nakamura, T., Higuchi, T., Aiba, Y., Tsubata, T. and Watanabe, M.: Ectopic CD40 ligand expression on B cells trigger intestinal inflammation. *J. Immunol.* 172: 6388-6397, 2004
- S. Kitazume, R. Oka, Y. Tachida, K. Ogawa, K. Nakagawa, Y. Luo, M. Citron, H. Shitara, C. Taya, H. Yonekawa, J.C. Paulson, E. Miyoshi, N. Taniguchi and Y. Hashimoto, "In vivo cleavage of alpha2,6-sialyltransferase by Alzheimer's beta-secretase (BACE1)," *J. Biol. Chem.*, 280, 8589-8595 (2005)
- N. Kotani, S. Kitazume, K. Kamimura, S. Takeo, T. Aigaki, H. Nakato, Y. Hashimoto Characterization of Drosophila aspartic proteases that induce the secretion of a Golgi-resident transferase, heparan sulfate 6-O-sulfotransferase, c *J. Biochem.*, 137, 315-322 (2005)
- K. Miyazaki, K. Ohmori, M. Izawa, T. Koike, K. Kumamoto, K. Furukawa, T. Ando, M. Kiso, T. Yamaji, Y. Hashimoto, A. Suzuki, A. Yoshida, M. Takeuchi and R. Kannagi, "Loss of disialyl Lewis^a, the ligand for lymphocyte inhibitory receptor sialic acid-binding immunoglobulin-like lectin-7 (Siglec-7) associated with increases sialyl Lewis^a expression on human colon cancer," *Cancer Research*, 64, 4498-4505 (2004)
- I. Ichinose, Y. Hashimoto and T. Kunitake, "Wrapping of Bio-macromolecules (Dextran, Amylopectin, and Horse Heart Cytochrome c) with Ultra thin Silicate Layer," *Chem. Lett.*, 33, 656-657, 2004
- S. Kitazume, M. Suzuki, T.C. Saido and Y. Hashimoto, "Involvement of proteases in glycosyltransferase secretion: Alzheimer's beta-secretase-

dependent cleavage and a following processing by an aminopeptidase,”
Glycoconjugate J., 21, 25-29, 2004

- T. Kimura, D. Shuto, S. Kasai, P. Liu, K. Hidaka, T. Hamada, Y. Hayashi, C. Hattori, M. Asai, S. Kitazume-Kawaguchi, T.C. Saido, S. Ishiura and Y. Kiso, “KMI-358 and KMI-370, highly potent and small-sized BACE1 inhibitors containing phenylnorstatine,” *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 14, 1527-1531, 2004
- S. Kitazume, T.C. Saido and Y. Hashimoto, “Alzheimer’s beta-secretase cleaves a glycosyltransferase as a physiological substrate,” *Glycoconjugate J.*, 20, 59-62, 2004
- Momoi, M., Tanoue, D., Sun, Y., Takematsu, H., Suzuki, Y., Suzuki, M., Suzuki, A., Fujita, T., and Kozutsumi, Y. (2004). SLI1 (YGR212W) is a major gene conferring resistance to the sphingolipid biosynthesis inhibitor ISP-1, and encodes an ISP-1 N-acetyltransferase in yeast. *Biochem J* 381, 321-328.
- 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, H., Yamamoto, H., Takematsu, H., Suzuki, A., Kozutsumi, Y., and Kannagi, R. (2004). 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.
- Taguchi, Y., Kondo, T., Watanabe, M., Miyaji, M., Umehara, H., Kozutsumi, Y., and Okazaki, T. (2004). Interleukin-2-induced survival of natural killer (NK) cells involving phosphatidylinositol-3 kinase-dependent reduction of ceramide through acid sphingomyelinase, sphingomyelin synthase, and glucosylceramide synthase. *Blood* 104, 3285-3293.

(2) 特許出願

H16年度特許出願件数：1件（CREST研究期間累積件数：1件）