

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
「マイクロドメイン機能異常にもとづく
2型糖尿病の病態解明」

研究終了報告書

研究期間 平成15年10月～平成21年 3月

研究代表者：井ノ口仁一

(東北薬科大学分子生体膜研究所 教授)

1. 研究実施の概要

本研究では、「2型糖尿病などの生活習慣病の病態は、スフィンゴ糖脂質の異常発現によって細胞膜（マイクロドメイン）の構成・構造および機能に変化し、シグナル伝達が異常になったマイクロドメイン病である」という作業仮説を検証し、新たな分子病態像の解明を目指した。即ち、(1) マイクロドメインの脂質、糖鎖およびプロテオーム解析を行い、個々の病態におけるマイクロドメインの機能異常の原因分子の同定とシグナル伝達制御機構の解明。(2) 病態に於ける糖脂質関連遺伝子（合成酵素、代謝酵素）および関連シグナル伝達分子の発現相関データベースを構築し、2型糖尿病の病態に即した新規な診断法を開発する。さらには、これらの情報を統合したマイクロドメイン矯正療法ともいえるポストゲノム時代の新規治療法の開発を目的とした。

まず、2型糖尿病におけるインスリン抵抗性の病態にはマイクロドメインの異常、即ち、インスリン受容体（IR）のカベオラマイクロドメインへの局在化の消失が関与している可能性を検証した。その結果、TNF処理脂肪細胞ではIRのマイクロドメインへの局在が消失し、インスリン刺激によるIRのインターナリゼーションが起こらないために、細胞内アダプター蛋白であるIRS-1とIRとの細胞内シグナルソーム形成が抑制されていることが強く示唆された。この結果より、2型糖尿病におけるインスリン抵抗性の病態にはマイクロドメインの異常、即ち、IRのマイクロドメインへの局在化の消失が関与していることが強く示唆された。そこで我々は、GM3のカベオラマイクロドメインへの過剰集積によるマイクロドメインからのIRの解離機構の解明に挑戦した。正常な成熟脂肪細胞におけるインスリン代謝性シグナルは、カベオラに存在するIRから始まり、一連の経路を介して糖取り込みをおこなう。一方、インスリン抵抗性状態では、GM3の増加によりマイクロドメインの構成および機能に異常が生じ、IRをカベオラから解離することで代謝性シグナルを抑制することを生細胞イメージングなどの手法をもちいて明らかにした。（図1）。本研究成果は、広く新聞、ニュース等に「新たな糖尿病メカニズムの解明」「新しい2型糖尿病の治療法へ道」として報道された。

本研究成果をさらに発展させ、GM3発現増加によるインスリン抵抗性発症機序を様々な角度から追求した。近年、脂肪組織は生体最大の内分泌器官であることが明らかになり、生活習慣病の成因に深く関わっていることが明らかとなっている。特に内臓脂肪の蓄積と肥大化にともなって善玉サイトカインであるアディポネクチンの分泌低下および悪玉サイトカインTNFの分泌亢進によって、肝臓、筋肉などの全身性のインスリン抵抗性が誘発されることが、2型糖尿病をはじめとするメタボリックシンドロームの発症原因であることが明らかになっている。

我々は、肥満・糖尿病モデル動物において脂肪組織のGM3量が正常動物と比べて著明に増加していることを見出していた。ただ、使用したモデル動物はレプチンあるいはそのレセプターの遺伝子に変異を有しているため、GM3量の変化はそれらの分子の欠如に起因する二次的現象である可能性を否定できない。そこで、ヒトの生活習慣のモデ

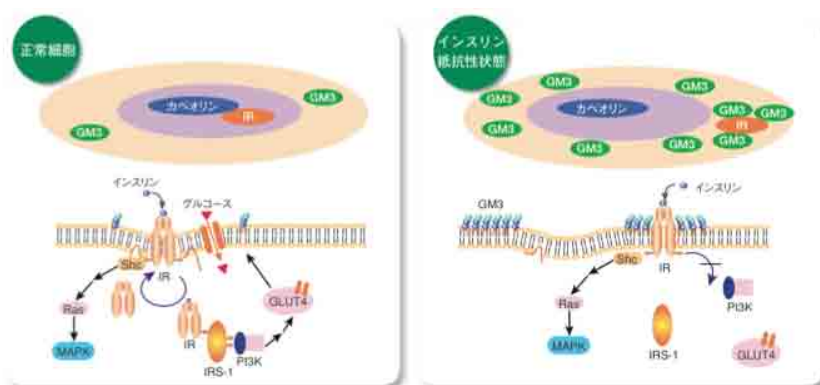


図1 マイクロドメイン病の観点からみたインスリン抵抗性の概念図

ルとして高脂肪食の摂食をマウスに行うことによって、肥満と脂肪組織 GM3 量の関係を検討した。内臓脂肪組織の GM3 量を解析したところ、高脂肪食グループでは通常食グループと比して3倍増加しており、肥満・高血糖と脂肪組織 GM3 量とは正の相関が認められた。さらに興味あることに、高脂肪食負荷マウスの内臓脂肪組織では GM3 合成酵素遺伝子発現も3倍増加していた。これらの結果より、メタボリックシンドローム（内臓脂肪症候群）における慢性炎症状態下におけるインスリン抵抗性発症等における GM3 の病態生理学的意義が注目された。GM3 合成酵素（SAT-I）欠損マウスでは正常マウスと比して筋肉や肝臓におけるインスリン感受性が亢進し、高脂肪食負荷による2型糖尿病の発症が回避されることが報告されている。そこで、2型糖尿病は内臓脂肪組織の慢性炎症状態に起因することから、本欠損マウスの内臓脂肪組織の炎症状態を種々のアディポカインの発現レベルをもとに検討した。高脂肪食を負荷した SAT-I 欠損マウスおよび野生型マウスにおける内臓脂肪組織の遺伝子発現を解析した。SAT-I 欠損マウスでは正常マウスと比して内臓脂肪組織の炎症性サイトカインの遺伝子発現が低かったのに対して、抗炎症性サイトカインの発現は高かった。さらに、SAT-I 欠損マウスの方がアディポネクチンの発現が高かったが、動脈硬化の進展に關与する PAI-1 や iNOS の発現は低かった。以上より、SAT-I 欠損マウスのインスリン感受性亢進の要因として、肥満による内臓脂肪組織の慢性炎症状態に対しては抵抗性を示し、全身のメタボリズムが維持されていると考えられる。

最近我々は、ヒト血清を用いた検討により、肥満糖尿病患者で有意な血清 GM3 レベルの上昇が確認され、GM3 はメタボリックシンドロームの新たなバイオマーカーとしての可能性を見いだした。さらに、メタボリックシンドローム患者血清を収集し、GM3 レベルと内臓脂肪面積には正の相関性が認められることなどが判明した。これらの研究によって、インスリン抵抗性の新たな発症機序を提唱している（図2）。

以上、本研究課題「マイクロドメイン機能異常にもとづく2型糖尿病の病態解明」の達成状況について概観したが、生活習慣病の新たな診断・治療法の開発に向けての新知見を得ることが出来た。

本研究課題の波及効果としては、「膜マイクロドメイン機能異常と病態」すなわちマイクロドメイン病の発掘が期待される。クレスト研究を遂行した5年間に我々が出会った発見としては、GM3 合成酵素 (SAT-I) 欠損マウスは聴覚障害を示すことであった。SAT-I KO マウスでは、内耳蝸牛内の音を電気信号に変換する器官であるコルチ器は一見正常に形成されるが、生後まもなく聴覚機能異常を発症し、その後成長するにつれコルチ器の選択的脱落が観察された。GM2/GD2 synthase と GD3 synthase のダブルノックアウトマウス (GM3 only mice) は音に反応するという報告から、GM3 が聴覚機能において重要な役割を果たしていることが示唆される。この発見は、聴覚機能に複合糖質が深く関与していることを示す、最初の例である。

SAT-I は、ゴルジ体においてラクトシルセラミドにシアル酸を転移し、GM3 を合成するII型の膜タンパク質であるが、SAT-I の細胞内動態に関しては不明な点が多い。我々は、SAT-I は leaky scanning により、N 末側の細胞質領域の長さが 69 aa (M1)、42 aa (M2)、14 aa (M3) と異なる3種類のアイソフォームを産生することを明らかにした。SAT-I の細胞内局在を調べたところ、M2-及び M3-SAT-I はゴルジ体に局在していたが、M1-SAT-I

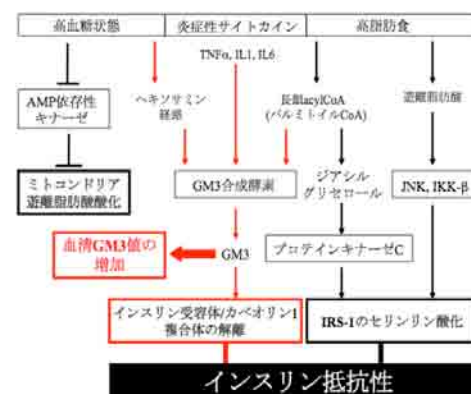


図2新たなインスリン抵抗性の発症機序の提唱
(赤。黒は既知の発症機序)

は驚くべきことに小胞体に局在していることが明らかになった。その、小胞体局在化機構を検討したところ、M1-SAT-I の細胞質領域に存在する複数のアルギニン残基 (RRXXXXR) からなる R-based motif といわれる小胞体への逆行輸送シグナルとして機能するシグナル配列が存在していることを証明した。ガングリオシド合成に関わる最初の酵素である SAT-I が、細胞内局在や安定性の異なるアイソフォームを産生するシステムは、様々な環境変化やストレス状況下における GM3 及びそれ以降のガングリオシドの安定供給に重要だと推測される。この発見が端緒となって、新たなガングリオシド合成制御法の開発が期待される。

2. 研究構想及び実施体制

(1) 研究構想

スフィンゴ糖脂質 (GSL) は、ポスト・ポストゲノム研究の重要課題である複合糖質ファミリーに属し、細胞外からのシグナル伝達を中心である細胞膜マイクロドメイン (ラフト) に集積してシグナル伝達を制御している事実が明らかにされてきている。この GSL 研究の新しい潮流は、細胞外情報→細胞膜 (マイクロドメイン) →核内シグナルの流れに基づく時間的空間的な遺伝子発現制御による細胞生命維持機構の重要性を解きあかし、セントラルドグマを補う学際的新学問体系を醸成し、21世紀の医療研究に貢献することを確認した。

研究代表者である井ノロの研究グループは、TNF α により惹起される2型糖尿病におけるインスリン抵抗性には、ガングリオシド GM3 合成酵素 (SAT-I) 遺伝子発現が誘導され、増加した GM3 はマイクロドメインを介したインスリンシグナルを抑制し、インスリン抵抗性を惹起していることを世界に先駆けて証明した (Tagami *et al.*, *J. Biol. Chem.* 2002)。GM3 がインスリン抵抗性の原因物質である理由として、1) TNF 刺激脂肪細胞およびインスリン抵抗性モデル動物 (*ob/ob* マウス, *db/db* マウス, Zucker *fa/fa* ラット) では、SAT-I 遺伝子の発現上昇に伴う GM3 の発現増加が認められる。2) TNF 刺激脂肪細胞における GM3 の増加を、井ノロと Radin が開発したグルコシルセラミド合成酵素阻害剤 D-PDMP によって阻止すると、インスリン刺激による IR-IRS-1 シグナルが正常化した。3) 外因性に GM3 を添加した際、インスリンシグナルおよび糖の取込みが抑制された。などの実験的根拠を提示した。これらの発見は、SAT-I KO マウスではインスリンシグナルが亢進し、高脂肪食下におけるインスリン抵抗性が軽減しているとの NIH の Proia の研究グループからの報告 (*Proc. Natl. Acad. of Sci. USA.* 2003) から支持されており、インスリン抵抗性が基礎疾患として存在している2型糖尿病、高脂血症、高血圧、肥満などの生活習慣病の病態への GM3 の関与を強く示唆するものである。

上述した構想・知見に基づき「2型糖尿病などの生活習慣病の病態は、スフィンゴ糖脂質の異常発現によって細胞膜 (マイクロドメイン) の構成・構造および機能が変化し、シグナル伝達が異常になったマイクロドメイン病である」という作業仮説を検証し、新たな分子病態像を解明することを本クレストの研究課題とした。即ち、マイクロドメインの脂質、糖鎖およびプロテオーム解析を行い、個々の病態におけるマイクロドメインの機能異常の原因分子の同定とシグナル伝達制御機構を明らかにする。また、糖脂質関連遺伝子 (合成酵素、代謝酵素、関連シグナル伝達分子など) を検出する DNA アレイによるデータベースを構築し、2型糖尿病の病態に即した新規な診断法を開発する。さらには、これらの情報を統合したマイクロドメイン矯正療法ともいえるポストゲノム時代の新規治療法の開発を推進することを目的とした。

(2)実施体制

本クレストの主課題である「マイクロドメイン機能異常にもとづく2型糖尿病の病態解明」は、研究代表者井ノ口の所属した北海道大学薬学研究科（平成18年3月31日）および現所属機関（東北薬科大学 分子生体膜研究所 機能病態分子学教室）の研究者が中心となり、さらに各研究グループとの共同研究にも参加して研究目標の達成に努めた。従って、研究実施内容の成果を的確に把握していただくために、本プロジェクトに属する下記の1から7のテーマ毎に次項に記載し、その中に共同研究者の貢献度が理解出来るように整理して記載することにする。

テーマ1：GM3発現増加によるインスリン抵抗性の発症機序の解明

テーマ2：ヒト2型糖尿病（生活習慣病）におけるガングリオシドの関与

テーマ3：内臓脂肪細胞および肥大化脂肪組織におけるGM3の関与

テーマ4：ラット内臓脂肪細胞初代培養系の確立と内臓脂肪組織マクロファージの機能解析

テーマ5：GM3合成酵素のトランスクリプショナルバリエーションの生理的・病態的意義の解析

テーマ6：GM3合成酵素の立体構造解析

テーマ7：聴覚におけるガングリオシドの機能解析

グループ名	研究代表者又は主たる共同研究者氏名	所属機関・部署・役職名	研究題目
マイクロドメイン分子病態研究	井ノ口 仁一	東北薬科大学・分子生体膜研究所・教授	マイクロドメイン機能異常にもとづく2型糖尿病の病態解明
メタボローム・プロテオーム研究	鈴木 實	理化学研究所・フロンティア生体超分子研究グループ・研究員	マイクロドメインのプロテオーム解析
1分子動態研究	金城 政孝	北海道大学・電子科学研究所・教授	1分子観察によるインスリン抵抗性脂肪細胞のマイクロドメイン動態検討
構造生物学研究	稲垣 冬彦	北海道大学大学院・薬学研究科・教授	GM3合成酵素(SAT-I)の構造解析
ノックアウトマウス解析	岩崎 克典	福岡大学・薬学部・教授	インスリン抵抗性状態における脳の解析
聴覚機能解析	小宗 静男	九州大学大学院・医学研究院・教授	内耳の電気生理学的研究

3. 研究実施内容及び成果

(1) 研究実施内容および成果

テーマ1：GM3 発現増加によるインスリン抵抗性の発症機序の解明。

本クレスト申請時のエビデンスとして、脂肪細胞におけるインスリン抵抗性状態はガングリオシドGM3の過剰発現が原因である可能性を見いだしていた(Tagami S. *et al. J. Biol.Chem.* 2002)。

クレスト採択後、培養3T3-L1 脂肪細胞の検討結果より、TNF α 処理脂肪細胞ではIRのマイクロドメインへの局在が消失し、インスリン刺激によるIRのインターナリゼーションが起これないために、細胞内アダプター蛋白であるIRS-1とIRとの細胞内シグナロソーム形成が抑制されていることが示唆される結果を得た(Kabayama K. *et al. Glycobiology*15,21,2005)。

この研究成果により、2型糖尿病におけるインスリン抵抗性の病態にはマイクロドメインの異常、即ち、IRのマイクロドメインへの局在化の消失が関与していることが強く示唆された。そこで、GM3のカベオラマイクロドメインへの過剰集積によるマイクロドメインからのIRの解離機構の解明を試みた。現在までに、北海道大学の金城政孝教授ら(1分子動態研究グループ)の協力を得て、生細胞(GM3再構成細胞)を用いた

蛍光標識IRおよびcaveolin1(cav-1)の生細胞イメージング(FRAP法:Fluorescence Recovery After Photobleaching)によって、GM3はIRとcav-1との結合を阻害することを証明

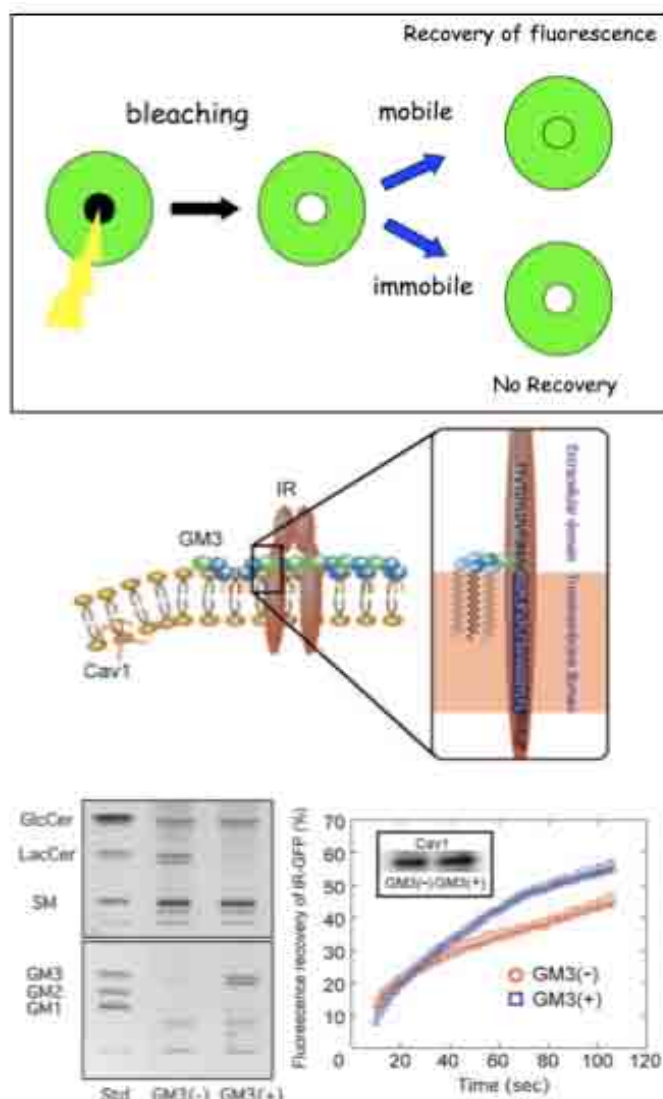


図3 FRAP法を用いたGM3によるIRの流動性変化の検討

FRAP(Fluorescence Recovery After Photobleaching)法とは生細胞において分子の動態を観察する方法である。まず目的のタンパク質に蛍光標識した分子を細胞に発現させ、至適領域に短時間で強力な光を照射し、分子の性質を変えずに蛍光のみを退色させる。もし、目的分子が不動化(immobile)している分子ならば時間経過による照射領域内での蛍光の回復はみられない。一方、細胞内を動く(mobile)分子であれば、蛍光の回復がみられ、その回復率や回復速度などから、分子の挙動を観察することができる(上図)。

IRはcaveolin1が形成するcaveolae構造と細胞膜内側で結合し、不動化する分子が増大する。一方、GM3とIRは細胞膜の外側で相互作用している可能性が高い(中図)。

そこで、caveolin1の発現量が同等(下右図内カラム)でGM3の発現量が異なる株GM3(-)細胞とGM3(+)細胞(脂質組成:下左図)を作製し、IR-GFPの膜流動性をFRAP法により解析したところ、GM3高発現株GM3(+)においてIR-GFPの蛍光回復率が上昇した。つまり、IRとcaveolaeの複合体形成が低下し、GM3とIRの複合体形成が上昇したことが示された(下右図)。

した(図3)。また、ミラノ大学 Sonnino 教授の研究室との共同で行った免疫沈降法および放射標識 GM3 のアシル鎖をアジリジン修飾した光感受性 GM3 を用いた架橋実験の結果、GM3 と IR が直接相互作用する証拠を得(図4)、その機構として IR の b サブユニットの細胞膜直上のリジン残基と GM3 のシアル酸残基の静電的相互作用の重要性を示すことができた(図5)。従って、2型糖尿病におけるインスリン抵抗性発症におけるマイクロドメイン機能異常は、GM3 の発現上昇が IR と cav-1 との結合を阻害し、インスリンシグナルが抑制される分子機構を証明することが出来た(Kabayama K. *et al. Proc.Natl.Acad.Sci.USA.2007*) (図6)。

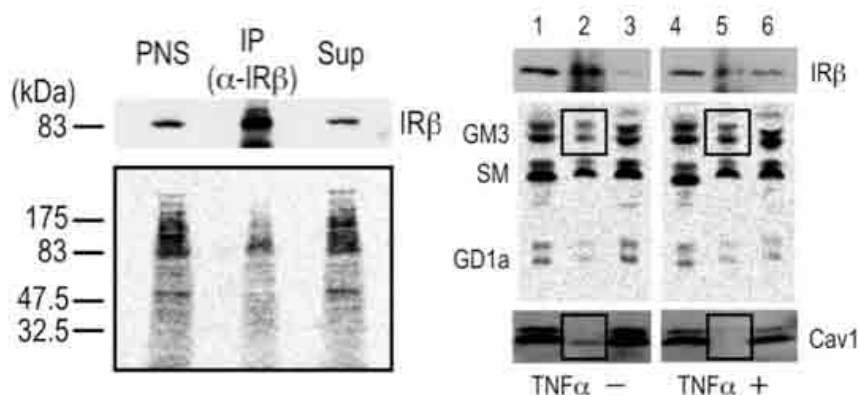


図4 放射能標識光架橋GM3誘導体を用いた、GM3とIRの直接相互作用の確認実験

脂肪細胞膜上にGM3誘導体を取り込ませ光架橋の後、標的タンパク質をSDS-PAGEにより分離しオートラジオグラフィーにて測定。GM3とタンパク質の複合体と思われるブロードなバンドが80 kDaから200 kDaの範囲に検出された(左図: 左レーン)。これらはGM3の近傍に存在する様々な細胞表面タンパク質(インスリン受容体も含む)であると推察できる。この条件においてIRの抗体で免疫沈降をおこないタンパク質泳動を試みたところ、IRβサブユニットに相当する分子量付近にGM3アナログ由来のシグナルが検出された(左図: 中央レーン)。また、上記の条件においてTNFα処理後IRの抗体で免疫沈降を行うと、未処理(右図: レーン2)に比べ、共沈分子のカベオリン(Cav1)の減少とGM3の増加が見られた(右図: レーン5)。

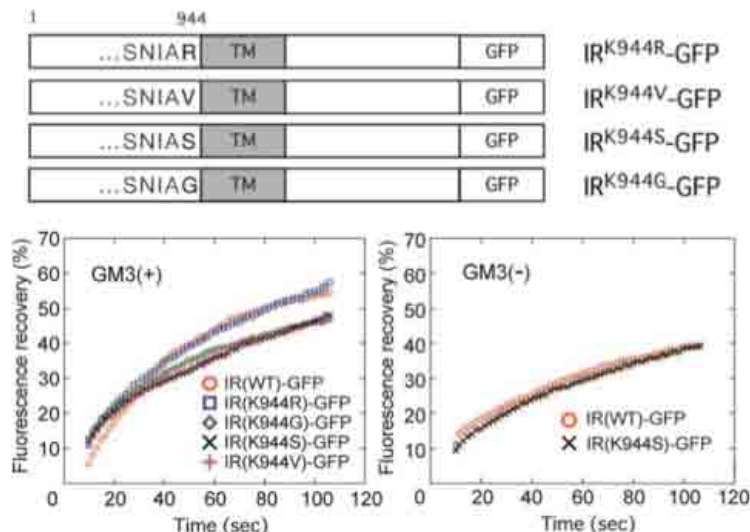


図5 FRAP法によるIRの944番目のリジン残基とGM3の特異的相互作用の検討

IR-GFP融合タンパク質944番目のリジン(K)残基(細胞膜直上)を塩基性アミノ酸(R:アルギニン)残基および中性アミノ酸(V:バリン,S:セリン,G:グリシン)残基に置換した構造の簡略図(上図)。GM3高発現細胞におけるIR-GFP変異体のFRAP解析。中性アミノ酸に置換すると、IR-GFP変異体の蛍光回復率が低下する(caveolin1との結合によりcaveolae構造へ不動態化する分子が増加する)(下左図)。一方、GM3およびそれ以降のガングリオシドのない細胞では、置換したアミノ酸残基の電荷によらずIR-GFP変異体の蛍光回復率に顕著な変化は見られない(下右図)。

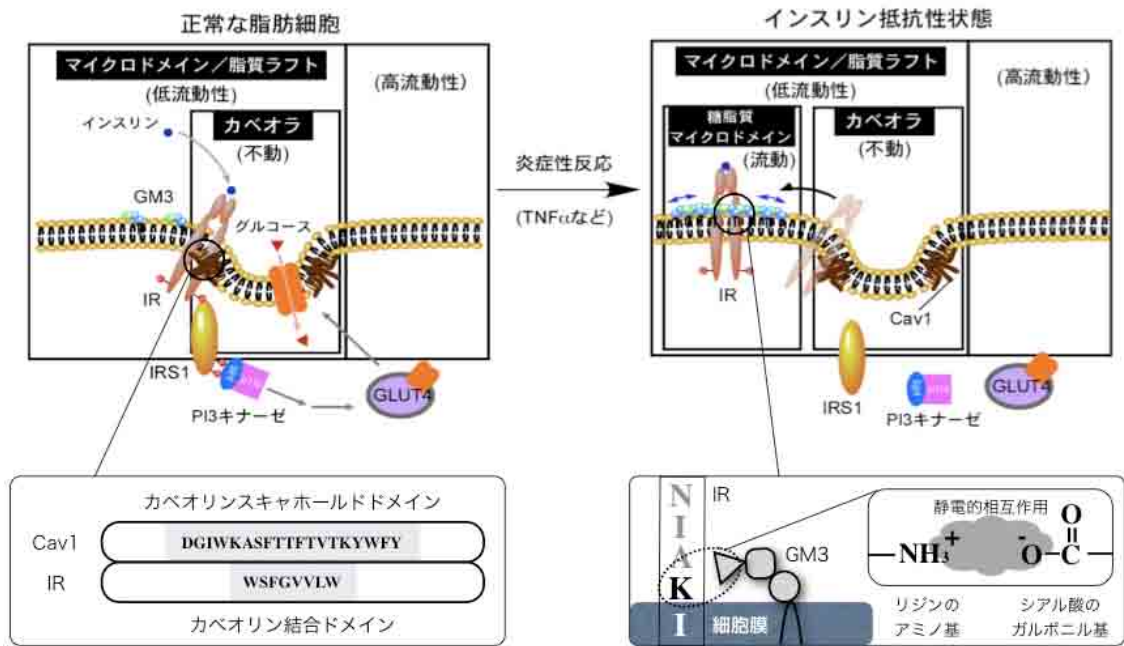


図6 正常な成熟脂肪細胞におけるインスリン代謝性シグナルは、カベオラに存在するインスリン受容体から始まり、一連の経路を介して糖取り込みを行う。インスリン抵抗性状態では、GM3の増加によりマイクロドメインの構成および機能異常が生じ、インスリン受容体をカベオラから解離することで代謝性シグナルを抑制する。その解離機構には、インスリン受容体の細胞膜直上のリジン残基とGM3のシアル酸残基の静電的相互作用の関与が示唆される

テーマ2：ヒト2型糖尿病（生活習慣病）におけるガングリオシドの関与。

メタボリックシンドローム（内臓脂肪症候群）は内臓脂肪の蓄積を基盤として、ひとりに複数の危険因子が集中し、動脈硬化性疾患（心筋梗塞や脳梗塞など）の危険性を高める複合型リスク症候群状態である。現在のところ、メタボリックシンドロームの主要な危険因子であるインスリン抵抗性を簡便に診断する指標がない。血液中の血球成分を除いた血漿または血清中には、ガングリオシド GM3 を主成分として、GD3、GD1a、GM2 および GT1b などが存在していることが知られている。また、血漿または血清中のガングリオシド量は、自己免疫疾患や胃がんが増加傾向が認められることが報告されているが、2型糖尿病患者におけるガングリオシドに関する報告は現在までない。さらに、血漿または血清中のガングリオシドの由来は肝臓やマクロファージなどの血球系細胞が推定されているが明確ではなかった。従って、肥満およびインスリン抵抗性状態における脂肪細胞または脂肪組織のガングリオシド GM3 発現の増加が血液試料において検知し得るか否かは全く不明であった。そこで、インフォームドコンセントによって同意を得られた、健康人、高脂血症および2型糖尿病患者の患者血液を、岩見沢労災病院内科部長の田上医師の共同研究によって採取し、血清ガングリオシド分画を精製し、高性能薄層クロマトグラフィー（HPTLC）分離定量した。Table 1 に患者背景と血清 GM3 値の結果を示す。高脂血症および2型糖尿

Table 1 GM3 levels and clinical parameters of the subjects in the Study 1

	Control	T2DM	HL	T2DM+HL
Number	17	24	18	23
(Men/Women)	9/8	17/7	10/8	13/10
Age (years)	56 ± 11	63 ± 8	57 ± 12	59 ± 7
GM3 (μg/ml)	5.9 ± 2.4	8.9 ± 3.6 ^a	9.7 ± 3.4 ^a	9.8 ± 3.2 ^a
GLU (μg/dL)	99 ± 9	134 ± 30 ^a	105 ± 12	149 ± 41 ^a
Hb1Ac (%)	5.3 ± 0.3	7.3 ± 1.2 ^a	5.4 ± 0.6	7.4 ± 1.0 ^a
GA (%)	13 ± 1	20 ± 5 ^a	13 ± 1	18 ± 4 ^a
HOMA-R	1.2 ± 0.5	1.5 ± 0.8	1.8 ± 0.7 ^a	2.6 ± 1.6 ^a
Insulin (μU/ml)	4.7 ± 1.9	4.7 ± 2.6	6.9 ± 2.6 ^a	6.8 ± 3.0 ^a
T-cho (μg/dL)	182 ± 25	180 ± 27	212 ± 31 ^a	202 ± 31 ^a
LDL-c (μg/dL)	114 ± 20	115 ± 22	138 ± 31 ^a	133 ± 29 ^a
HDL-c (μg/dL)	65 ± 21	56 ± 13 ^a	58 ± 9	53 ± 14 ^a
TG (μg/dL)	92 ± 29	79 ± 29	154 ± 44 ^a	146 ± 46 ^a

Data are presented as means ± S.D. T2DM = type 2 diabetes mellitus; HL = hyperlipidemia; HOMA-IR = homeostasis model assessment; T-cho = total cholesterol; LDL-c = low density lipoprotein-cholesterol; HDL-c = high density lipoprotein-cholesterol; TG = triglyceride; BMI = body mass index.

^a p < 0.05 vs. control group.

病群の患者で健常人のそれぞれ 1.7 および 1.5 倍に増加していた。従って、2 型糖尿病などの生活習慣病病態では、血清中の GM3 レベルが健常人と比較して有為な高値を示すことが明らかになった。

次に、血中 GM3 濃度の脂肪面積、BMI 値との層別解析を東京通信病院内科部長の宮崎滋医師と実施した。

図 7 に示すように、BMI が 30 以上または CT による内臓脂肪面積値(VFA)が 200 cm² 以上では、明らかな高分子量アディポネクチンの血中レベルの低下が認められる(C,F)。一方、GM3 値は、これらの高度肥満患者に於いて明らかに上昇していることが判明した(A,D)。従って、インスリン抵抗性病態を示す疾患、特にヒト 2 型糖尿病の患者の血漿中には、ガングリオシド GM3 が高値かつ血液中のガングリオシド分子群の中でも選択的に増加していることを見いだした。ヒト 2 型糖尿病の患者の血漿中のガングリオシド GM3 量の増加は、2 型糖尿病をはじめとする複雑なメタボリック症候群の病態を新たな角度から検出することが出来る新規な病態マーカーである可能性を見出した (Sato T. *et al. Obesity Research & Clinical Practice* in press)。

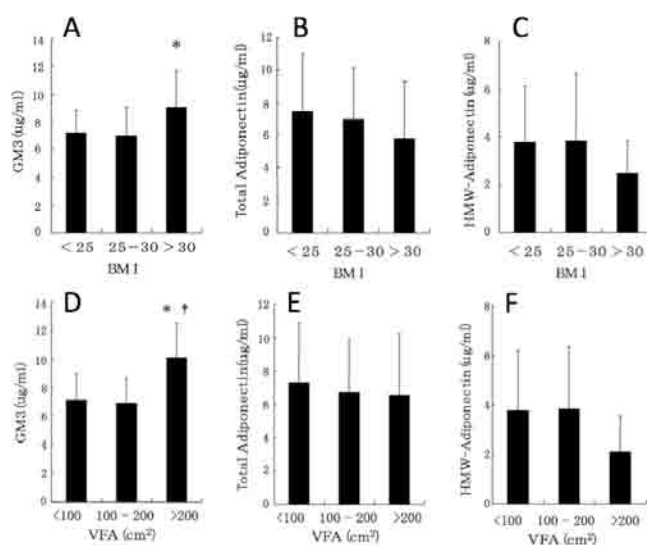


図7 内臓脂肪肥満と血清GM3の相関

テーマ3:内臓脂肪細胞および肥大化脂肪組織における GM3 の関与

これまでに我々は、肥満・糖尿病モデル動物において脂肪組織の GM3 量が正常動物と比べて著明に増加していることを見出している。ただ、使用したモデル動物はレプチンあるいはそのレセプターの遺伝子に変異を有しているため、GM3 量の変化はそれら分子の欠如に起因する二次的現象である可能性を否定できない。そこで、ヒトの生活習慣のモデルとして高脂肪食の摂食をマウスに行うことによって、肥満と脂肪組織 GM3 量の関係を検討した。使用した高脂肪食 (HFD) は単位グラム当たり通常食 (ND) の約 5 倍のカロリーを含む餌である。10 週齢の C57BL/6J マウス (平均体重 25.3 グラム) を 2 つのグループに分け、一方には通常食をもう一方には高脂肪食を 10 週間与えた。その結果、通常食グループの体重は平均 31.0 グラムであったのに対して、高脂肪食グループでは著しい肥満化 (平均 46.0 グラム) が認められた (図 8A)。さらに、空腹時血糖は正常食グループが平均 110mg/dl であったのに対して、高脂肪食グループでは高血糖状態 (平均 225mg/dl) に陥っていた (図 8B)。

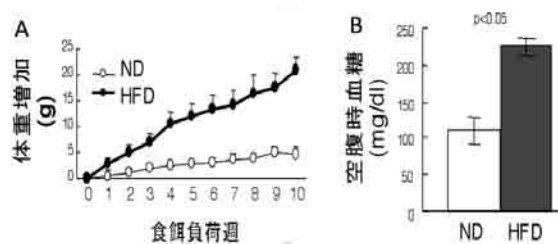


図8 肥満・糖尿病モデルの作成
A: 体重増加曲線 B: 高脂肪食食後10週間後の血糖値上昇

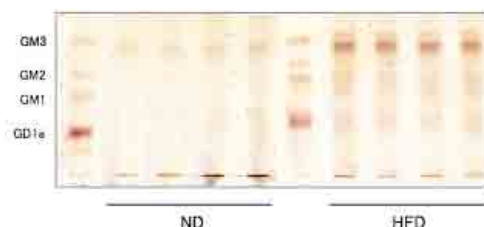


図9 HPTLCによる内臓脂肪組織のガングリオシド分析

このとき、内臓脂肪組織の GM3 量を解析したところ、高脂肪食グループでは通常食グループと比して約 3 倍増加しており、肥満・高血糖と脂肪組織 GM3 量とは正の相関が認められた (図 9)。

さらに興味あることに、高脂肪食負荷マウスの内臓脂肪組織では GM3 合成酵素遺伝子 (SAT-I) 発現も 3 倍増加していた (図 10)。一方、筋肉や肝臓では、高脂肪食負荷による GM3 の増加は認められなかった。これらの結果より内臓脂肪組織における GM3 の増加は肥満に伴う内臓脂肪組織の慢性炎症と平行であることから、インスリン抵抗性発症における GM3 の病態生理学的意義が注目される。

既報より SAT-I KO マウスは高脂肪食負荷によるインスリン抵抗性が野生型と比べて軽度である (Yamashita T. *et al. Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 2003)。その要因として、肥満状態に伴う筋肉および肝臓での IR シグナル伝達の低下が SAT-I KO マウスでは認められないことが挙げられた。しかし、肥満に伴う

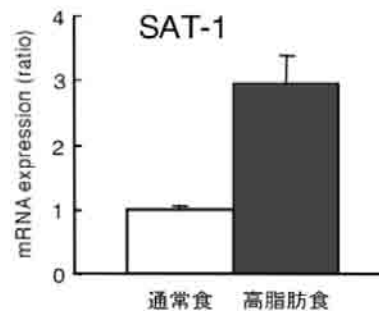


図10 肥大化した内臓脂肪組織におけるSAT-I遺伝子の発現上昇

GM3 の増加はインスリン責任臓器のなかで内臓脂肪組織にしか認められない現象であること、そして筋肉や肝臓のインスリン抵抗性は内臓脂肪組織の慢性炎症状態が重要な要因であることを踏まえると、SAT-I KO におけるインスリン抵抗性の軽減は、内臓脂肪組織の炎症状態が軽減していることに起因する可能性が考えられた。そこで、高脂肪食誘導性肥満における SAT-I KO マウスの内臓脂肪組織の炎症状態を解

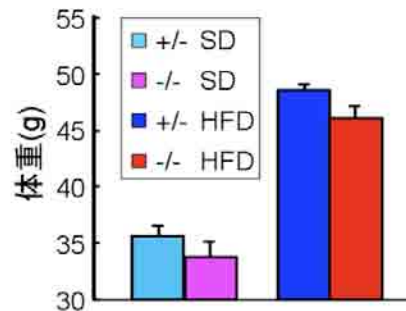


図11 SAT-I KOマウスは高脂肪食負荷ヘテロ型マウスと同様に肥満を呈する。
*本チャプターの以降の図はこの色区分に統一。

析した。まず、SAT-I KO マウスの食餌量は野生型およびヘテロ型マウスと同等量であり、高脂肪食負荷 16 週間後の肥満の程度 (体重増加) も同等であった (図 11)。次に、糖負荷試験およびインスリン負荷試験を行うことによってインスリン抵抗性を評価した。

その結果、野生型マウスはインスリン抵抗性状態に陥っていたが、SAT-I KO マウスはインスリン抵抗性が軽減してしていることを確認した (図 12)。そこで、高脂肪食負荷野生型マウスと SAT-I KO マウスの内臓脂肪組織の遺伝子発現を解析した。SAT-I KO マウスの内臓脂肪組織は野生型マウ

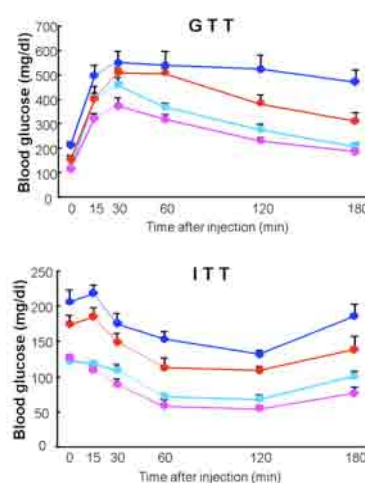


図12 SAT-I KOマウスでは高脂肪食負荷によるインスリン抵抗性が改善されている
GTT:グルコース負荷試験
ITT: インスリン負荷試験

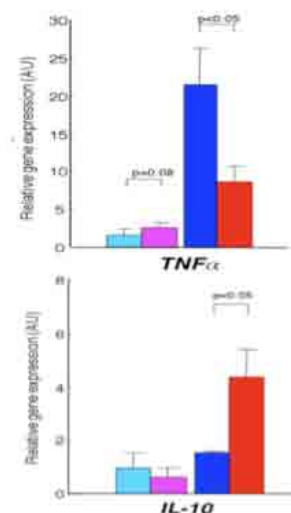


図13 SAT-I KO マウス内臓脂肪組織中のTNFおよびIL10遺伝子発現

スと比して炎症性サイトカイン (TNF- α) の発現が顕著に低く、反対に抗炎症サイトカイン (IL-10) の発現が顕著に高かった (図 13)。

さらに、SAT-I KO マウスでは内臓脂肪組織のアディポネクチンおよびレプチンの発現が野生型マウスと比べて亢進していた (図 14)。以上の結果より、SAT-I KO マウスでは肥満に伴う内臓脂肪組織の炎症状態が抑制していることが判明した。正常食負荷マウスの内臓脂肪組織では抗炎症状態のマクロファージ (M2 タイプ) が局在しており、肥満に伴い内臓脂肪組織では炎症状態のマクロファージ (M1 タイプ) が血中より動員されることが知られている。肥満した SAT-I KO マウスの内臓脂肪組織では M2 タイプのマクロファージが優位を保ち、その結果、内臓脂肪組織からの炎症性サイトカイン産生が抑制され筋肉や肝臓のインスリン感受性が保たれていることが考えられる。さらに、アディポネクチンの産生が高いこともインスリン感受性に好影響を与えていることが

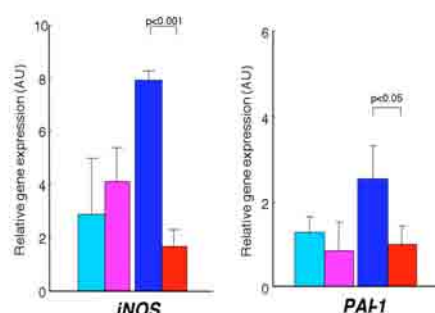
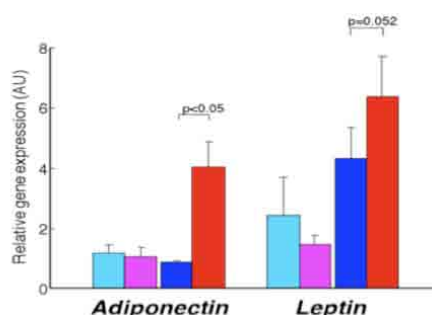


図 14 SAT-I KO マウス内臓脂肪中のアディポカイン遺伝子の発現 図 15 SAT-I KO マウス内臓脂肪組織中の PAI-1 および iNOS 遺伝子の発現

考えられる。さらに、高脂肪食負荷 SAT-I KO マウスの興味深い表現型として、内臓脂肪組織の粥状動脈硬化関連因子 (PAI-1 や iNOS) の発現増加が抑制されていることが明らかになった (図 15)。粥状動脈硬化症はメタボリック症候群に起因する重要な疾患である。ヒトおよび実験動物の結果より、粥状動脈硬化部位 (プラーク) では GM3 および SAT-I 遺伝子の発現が増加しているという報告があり、GM3 が粥状動脈硬化症の発症や進展に重要な役割を果たしている可能性が示唆される。現在、SAT-I KO マウスにおける粥状動脈硬化症の発症におけるガングリオシドの病態生理学的意義について検討中である。

テーマ 4-1 : ラット内臓脂肪細胞初代培養系の確立と内臓脂肪組織マクロファージの機能解析

腸管から吸収された栄養成分は門脈やリンパ管を通して肝臓へ運ばれ、全身組織に分配される。門脈、リンパ管が分布する腸間膜には年齢と共に脂肪組織が増殖するが、近年この腸間膜脂肪の過剰蓄積は、糖尿病、高脂血症、動脈硬化等の生活習慣病を引き起こすことが検証されてきている。したがって、内臓脂肪細胞の性質について知ることは、これらの生活習慣病の病態像を理解する上で重要な位置を占める。我々は世界に先駆けて、ラット腸間膜脂肪組織から調製した前駆脂肪細胞 (stromal visceral cells:SVC) を成熟脂肪細胞 (visceral adipocytes : VAC) にまで分化誘導する新規な培養法を確立した (Sato T. *et al.* Cell Biol. Int. in press)。本分化誘導系は、デキ

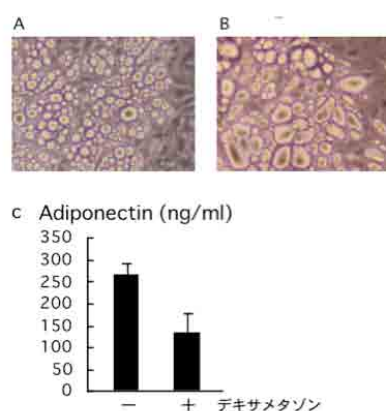


図 16 デキサメタゾンによるVACの機能低下

本分化誘導系は、デキ

サメタゾンやイソブチルメチルキサンチンなどを必要とせず、天然物である脂肪酸、ビタミンおよび生理的濃度のインスリンおよびIGF-1のみでVSCからVACへの分化を可能にするという特徴を持っている(図16A)。実際、この生理的分化誘導培地中にデキサメタゾンを添加すると、分化効率には差が無いものの、脂肪滴の単胞化が促進され(図16B)、さらにはアディポネクチンの分泌量の明らかな低下が認められた(図16C)。したがって、内臓脂肪細胞が持つ生理機能を評価するためには、人工分化誘導剤を含まない分化誘導法を用いる事が重要であることが判明した。

また、我々が確立した腸間膜内臓脂肪は正常状態(生理的条件)での培養系に高濃度のインスリンを添加することで「インスリンレセプター(IR)の減少」が引き起こされた(図17)。すなわち、生体内での生理的条件下におけるSVCからVACへの分化維持

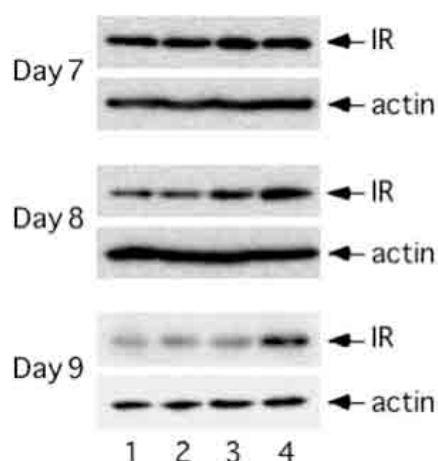


図17 非生理的高濃度のインスリンによるIR発現量の低下

1: 10 μ g/mlのインスリンによる3日間の分化誘導後、22 ng/mlのインスリンで2日間成熟させてから、残りの期間10 μ g/mlのインスリンで培養した。2: 10 μ g/mlのインスリンによる3日間の分化誘導後、22 ng/mlのインスリンで2日間成熟させてから、残りの期間0.2 μ g/mlのインスリンで培養した。3: 10 μ g/mlのインスリンによる3日間の分化誘導後、22 ng/mlのインスリンで2日間成熟させてから、残りの期間70 ng/mlのインスリンで培養した。4: 10 μ g/mlのインスリンによる3日間の分化誘導後、22 ng/mlのインスリンで2日間成熟させてから、残りの期間22 ng/mlのインスリンで培養した。

法を確立したことから、内臓脂肪細胞分化のメカニズム解析やインスリン抵抗性状態を再現できる *in vitro* 系の構築に成功した (Sato *et al. Cell Biol. Int.* in press)。本内臓脂肪細胞分化誘導培養系をもちいて以下の研究を実施した。

テーマ4-2：内臓脂肪組織マクロファージによる脂肪細胞分化の制御機構の解析。脂肪細胞は前駆脂肪細胞から分化・成熟する。近年、炎症性サイトカイン(TNF α やIL-1 α など)が *in vitro* で脂肪細胞分化を抑制するという報告がされた。炎症性サイトカインの主要な産生細胞はマクロファージ(m ϕ)であり、また、正常な脂肪組織あるいは内臓脂肪(腸間膜脂肪組織)の存在する腹腔内環境にはm ϕ が常在している。以上より、m ϕ が炎症性サイトカインを分泌し脂肪細胞分化を抑制している可能性がある。そこで、腸間膜脂肪組織より前駆脂肪細胞とm ϕ を分離採取することによって、脂肪細胞の分化におけるm ϕ の役割を検討した。ラットの腸管膜脂肪組織を採取し、コラゲナーゼ処理後、低速遠心(300g)を行うことによって脂肪細胞を除去した画分(SVC)を得た。SVCには前駆脂肪細胞、線維芽細胞、神経組織やm ϕ などが含まれている。フローサイトメトリー解析の結果、m ϕ の割合は約30%であった。SVCからm ϕ 除去を分離するために2つの方法を独

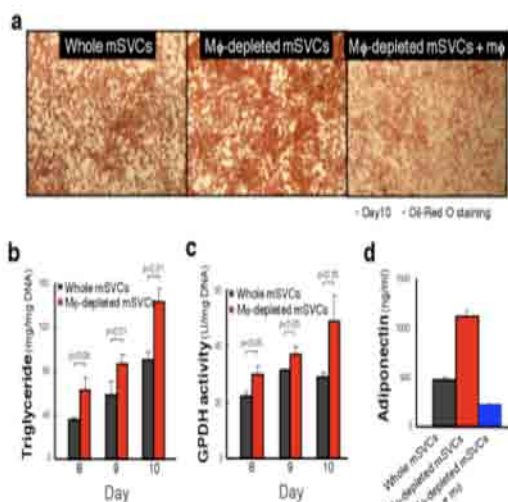


図18 内臓脂肪中のマクロファージによる脂肪細胞分化抑制

立して用いた。ひとつは抗Mac-1抗体と磁気ビーズを用いた細胞セレクションであり、もうひとつはクロドロネートリポソームによるマクロファージの選択的除去であり、以下に示す結果はいずれの方法を用いても同様の結果が得られた。SVCおよびmφ除去SVCに脂肪細胞分化誘導を行ったところ、SVCに比してmφ除去SVCでは脂肪細胞分化の効率が上昇し（図18a,b,c）、adiponectin産生も増強した（図18d）。さらに、mφ除去SVCに除去したmφを戻したところ脂肪細胞分化効率は元に戻った（図18）。この結果は、mφが脂肪細胞分化に抑制的に働くことを示唆している。

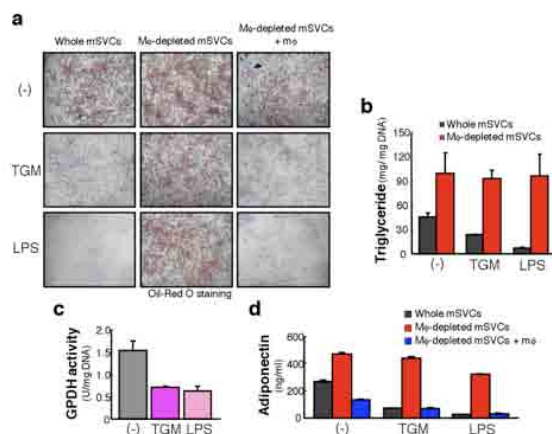


図19 脂肪組織内在性マクロファージは脂肪細胞分化を負に制御している

そこで、mφの活性が脂肪細胞分化に影響するかを検証した（図19）。分化誘導系にmφの活性誘導剤としてチオグリコレート（TGM）およびリポポリサッカライド（LPS）を添加したところ、SVCでは脂肪細胞分化（図19a,b）やadiponectin産生（図19d）が顕著に抑制され、反対にmφ除去SVCでは殆ど影響がなかった（図19a,b,d）。また、SVCでは炎症性サイトカイン（TNF α 、IL-1 β ）が産生されていたがmφ除去SVCでは産生されず、mφによる脂肪細胞分化の抑制は炎症性サイトカインによることが示唆された。そこで、mφ除去SVCの分化誘導系にTNF α あるいはIL-1 β を添加すると脂肪細胞分化は完全に抑制された（図20）。

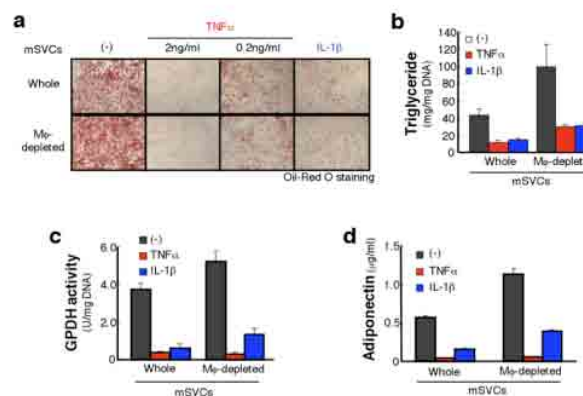


図20 脂肪組織内在性マクロファージ由来炎症性サイトカインによる脂肪細胞分化抑制。

以上の研究結果より、活性化mφによる脂肪細胞分化の抑制が実証され、mφの活性を介した内臓脂肪の制御法開発が期待される。

テーマ5：GM3合成酵素(SAT-I)のトランスクリプショナルバリエーションの生理的・病態的意義の解析

GM3増加が2型糖尿病の増悪に深く関与していることから、細胞内糖脂質生合成の制御機構の解明は重要な課題である。これまでに、酵母における新規糖脂質合成酵素の同定に成功し（Uemura S. *et al.* *J. Biol. Chem.* 2003）、その活性調節機構を明らかにしてきた（Uemura S. *et al.* *J. Biol. Chem.* 2007）。これらの研究成果を基にGM3合成酵素

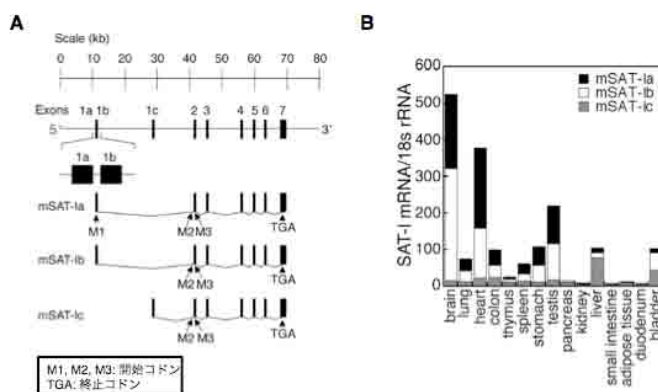


図21 mSAT-Iトランスクリプショナルバリエーションの組織分布

(SAT-I) の活性調節機構の解明を行った。

当初、マウス脳及び肝臓のトータル RNA をテンプレートとした 5'-RASE 解析によって、マウス SAT-I (mSAT-I) にはエクソン 1 の異なるトランスクリプショナルバリエントが少なくとも 3 種類 (mSAT-Ia, mSAT-Ib, mSAT-Ic) 存在することを見出した (図 21A)。各バリエントの組織分布を調べたところ、mSAT-Ia 及び mSAT-Ib は脳、心臓、精巣で高い発現が認められ、mSAT-Ic は肝臓と膀胱で高い発現が観察された (図 21B)。

3 種類のバリエントの内、mSAT-Ia と mSAT-Ib の 5'-UTR を含む SAT-I cDNA (図 22A) を細胞に導入し、発現した SAT-I の分子量を正確に把握するために、アスパラギン結合型糖鎖を全て切断する酵素 (PNGase F) で細胞破碎液を処理した後、抗 SAT-I 抗体を用いたウェスタンブロッティングを行った。その結果、PNGase F 処理のサンプルで、複数のバンドが検出された (図 22B)。分子量から考えると、mSAT-Ia からは 3 箇所の開始コドン (M1, M2, M3)、mSAT-Ib からは 2 箇所の開始コドン (M2, M3) のそれぞれから翻訳された産物である可能性が考えられた。通常、最初のメチオニンが開始コドンとなるのが原則 (First-AUG rule) であるが、開始コドンとしての認識配列 (GCCRCCAUGG, R=A もしくは G) が不十分な場合、さらに下流のメチオニンが開始コドンとして認識され、翻訳が開始することがある。この現象は *leaky scanning* として知られている。そこで、mSAT-Ia の開始コドン M2 と M3 をアラニンに置換した変異体 (mSAT-Ia M28/56A)、mSAT-Ib の開始コドン M3 をアラニンに置換した変異体 (mSAT-Ib M29A) を作成し、CHO-K1 細胞に発現させた。

その結果、mSAT-Ia M28/56A 変異体を発現させた細胞では M1 からの翻訳産物 (M1-SAT-I)、mSAT-Ib M29A 変異体を発現させた細胞では M2 からの翻訳産物 (M2-SAT-I) のみが検出された。つまり、mSAT-Ia 及び mSAT-Ib からは、*leaky scanning* によって、一つの mRNA から N 末端側の細胞質領域の長さが異なる複数のアイソフォームが翻訳されることが示唆された。

各アイソフォームの機能的差異を調べるために、*leaky scanning* を最小限にする GCCACC 配列 (ks) を M1, M2, M3 の直前に組み込んだコンストラクト (ks-M1-SAT-I, ks-M2-SAT-I, ks-M3-SAT-I) を作成し (図 23A)、CHO-K1 細胞に安定発現させた。まず、安定発現させた SAT-I に付加するアスパラギン結合型糖鎖の構造を調べるために、小胞体で作られるハイマンノース型糖鎖のみを切断する酵

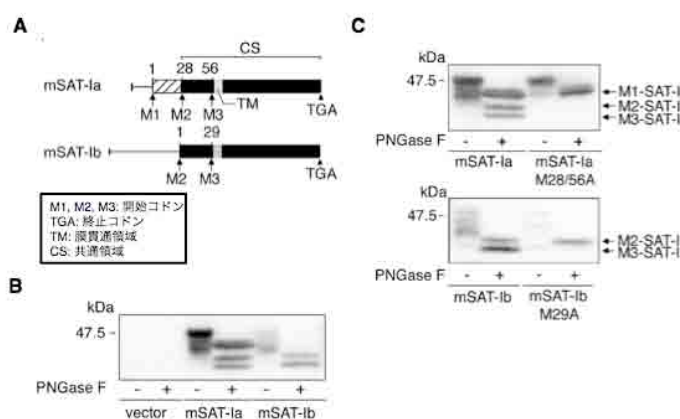


図22 Leaky scanning により複数のSAT-Iアイソフォームが翻訳される

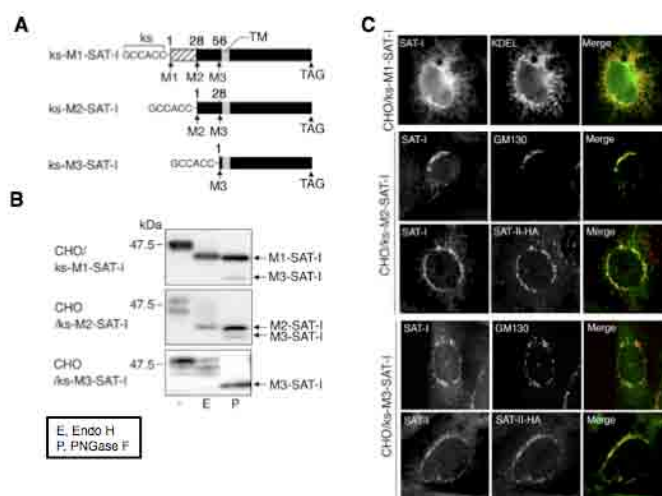


図23 M1-SAT-IIは小胞体に、M2-SAT-I及びM3-SAT-IIはゴルジ体に局在する

素 (Endo H) と PNGase F で処理し、抗 SAT-I 抗体を用いたウェスタンブロッティングにより SAT-I を検出した。その結果、M1-SAT-I に付加する糖鎖は、Endo H で完全に切断されるのに対して、M2-SAT-I の一部と M3-SAT-I の大部分の糖鎖は Endo H で切断されなかった (図 23B)。この結果は、各アイソフォームで SAT-I の細胞内局在が異なることを示唆している。そこで、各アイソフォームの細胞内局在を調べるために、抗 SAT-I 抗体を用いた間接蛍光抗体染色を行った。その結果、M1-SAT-I は小胞体に局在するタンパク質が持つ KDEL 配列の抗体の染色像と一致するのに対して、M2-SAT-I と M3-SAT-I はシスゴルジ (GM130) やトランスゴルジ (SAT-II-HA) に局在するタンパク質との共局在が認められた。つまり、この結果は、M1-SAT-I が小胞体に、M2-SAT-I と M3-SAT-I がゴルジ体に局在することを示している。

次に、SAT-I の細胞質領域が細胞内局在を決定しているかどうかを調べるために、膜貫通領域を含む各アイソフォームの N 末側と EGFP との融合タンパク質 (M1-SAT-I(N)-EGFP, M2-SAT-I(N)-EGFP, M3-SAT-I(N)-EGFP) を CHO-K1 細胞に発現させ、その細胞内局在を調べた。その結果、全長 SAT-I の結果と同じように、M1-SAT-I(N)-EGFP は小胞体に、M2-SAT-I(N)-EGFP と M3-SAT-I(N)-EGFP はゴルジ体に局在していた (図 24A, B)。

さらに、M1-SAT-I(N)-EGFP の種々の欠失変異体を作成し、細胞内局在を調べたところ、12-21 番目のアミノ酸が M1-SAT-I の小胞体局在化に必要であることを突き止めた。マウスとヒトで細胞質領域のアミノ酸配列を比較すると、12-21 番目付近では複数のアルギニンが保存

されていることがわかる (図 25A, *印)。これまでに、膜貫通領域からある程度離れたところに存在するアルギニンのクラスターが小胞体への

逆行輸送シグナルとして機能する事が知られている。そこで、M1-SAT-I に存在する、これらのアルギニン残基が M1-SAT-I の小胞体局在化に必要であることを調べるために、M1-SAT-I(N)-EGFP の 11, 12, 17 番目のアルギニンをセリンに置換した変異体を作成し、その局在を調べた。その結果、単独の変異では、その局在は大きく変わらないが、2つの変異が組み合わさった (R11/12S, R11/17S, R12/17S) 場合に、その局在がゴルジ体へ変化することが明らかとなった (図 25B)。また、全長の SAT-I を用いた場合も同様の結果を得ている。つまり、これらの結果は、M1-SAT-I の小胞体

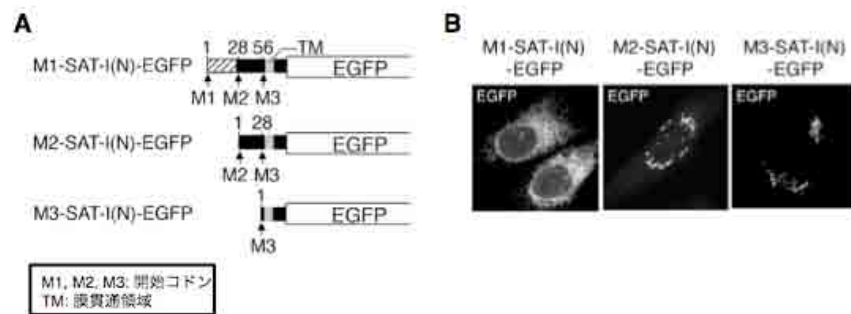


図24 細胞質領域が細胞内局在を決定している

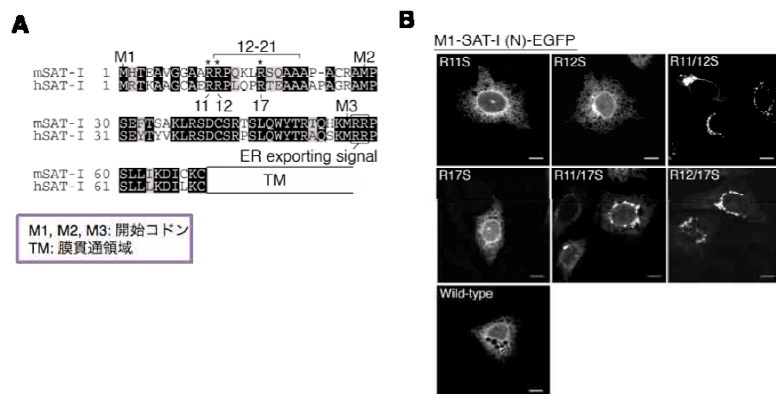


図25 複数のアルギニン残基がM1-SAT-Iの小胞体局在化に関与する

局在化に必要な最小配列が RR, RXXXXR, RXXXXXR (X は任意のアミノ酸) の3つであること示している。これまでに報告されている逆行輸送の最小配列は RR 及び RXR であるので、RXXXXR と RXXXXXR 配列は新規の逆行輸送シグナルと考えられる。

次に、細胞内局在の異なる各アイソフォームの細胞内での安定性を比較するために、パルスチェイス実験を行った。その結果、M1-SAT-I と M3-SAT-I が比較的安定であるのに対し、M2-SAT-I と逆行輸送されない M1-SAT-I R11/12S 変異体は3時間のチェイスでほぼ完全に消失した (図 26A)。また、この M2-SAT-I と M1-SAT-I R11/12S 変異体の消失は、ライソソームにおけるタンパク質分解の阻害剤であるクロロキンで処理すると抑制された (図 26B)。つまり、M2-SAT-I と M1-SAT-I R11/12S 変異体はゴルジ体に運ばれた後、速やかに

ライソソームに運ばれて分解されるが、M1-SAT-I は小胞体への逆行輸送によって、M3-SAT-I はおそらくゴルジ体間における逆行輸送によって、その分解経路から逃れていると考えられる。

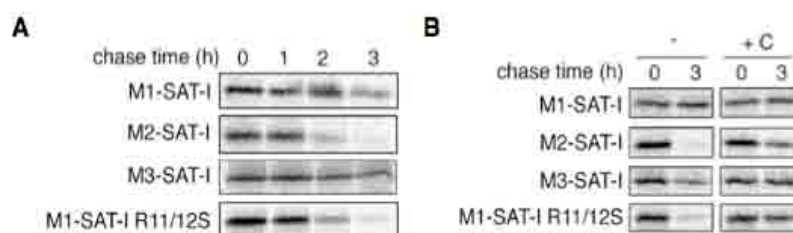


図26 SAT-Iアイソフォームの安定性の比較

次に、*in vivo* における各アイソフォームの GM3 合成活性を調べるために、レトロウイルスを用いて、SAT-I KO マウス MEF 由来の不活化細胞に各アイソフォーム

(ks-M1-SAT-I, ks-M2-SAT-I, ks-M3-SAT-I) と leaky scanning を完全に抑制する変異体 (ks-M1-SAT-I M28/56A 及び ks-M2-SAT-I M29A) を導入し、real-time PCR でその発現が同程度あることを確認した後 (図 27A)、それらの細胞のガングリオシド組成を解析した。その結果、

ks-M1-SAT-I, ks-M2-SAT-I, および ks-M3-SAT-I を発現させた細胞のガングリオシド組成に大きな差は認められないが、ks-M1-SAT-I M28/56A 変異体を発現させた細胞で、ガングリオシド量が減少していた (図 27B)。

この結果は、

ks-M1-SAT-I を発現させた時、leaky scanning によって産生される M3-SAT-I 量で GM3 合成が飽和しているために、ks-M2-SAT-I や ks-M3-SAT-I を発現させた細胞と産生されるガングリオシド量に差はなく、M1-SAT-I 自身は逆行輸送されることで、ゴルジ体への輸送がかなり制限され、GM3 合成活性が低いことを示唆している。

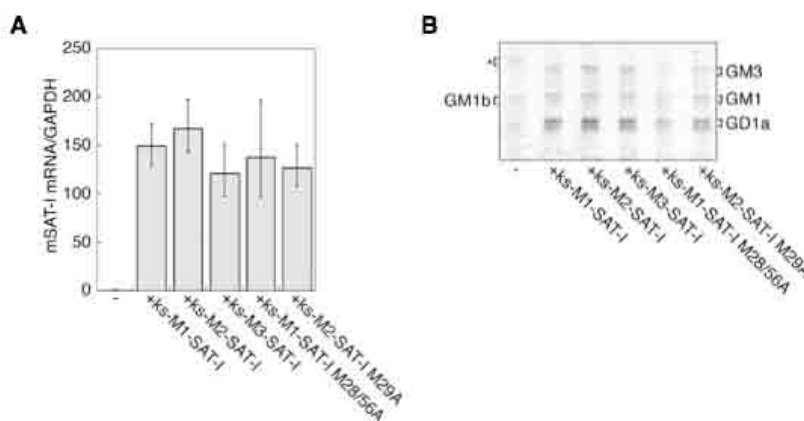


図27 小胞体局在化によりM1-SAT-IのGM3合成活性は減少する

以上の結果をまとめものが図 28 である。SAT-I は、leaky scanning によって、細胞質領域の長さの異なる 3 種類のアイソフォームが産生され、細胞内ではこれらのアイソフォームが混在している。最も細胞質領域の長い M1-SAT-I は、逆行輸送シグナルによって小胞体に安定して局在しており、そのごく一部はゴルジ体へ運ばれ、GM3 合成に関わっている。この

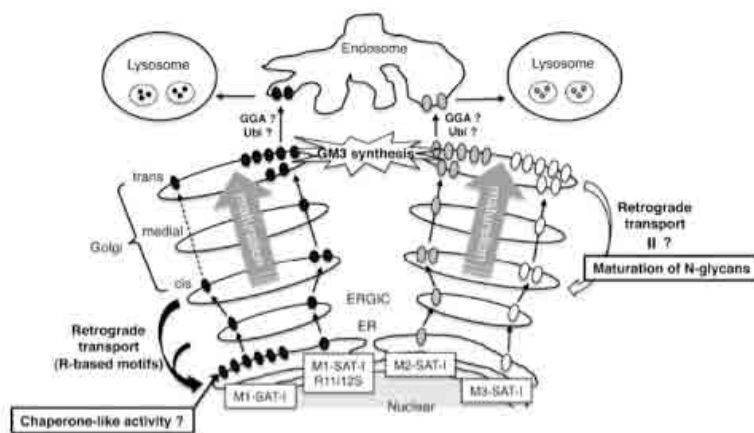


図28 SAT-Iの細胞内トラフィック

M1-SAT-I は緊急時の SAT-I リザーバーとして機能していると考えられるが、OFUT1 のように、小胞体でシャペロンとして機能している可能性も否定できない。一方で、M2-SAT-I はゴルジ体へ運ばれた後、速やかにライソソーム運ばれ、分解される。M1-SAT-I R11/12S 変異体が M2-SAT-I と同じ運命をたどり、M3-SAT-I がゴルジ体に安定して存在していることを考えると、M2 と M3 の間にライソソームへの輸送シグナルが存在していると予想される。また、M-SAT-I に付加する糖鎖だけ、その成熟度合いが高いことも興味深い。もしも、M3-SAT-I がゴルジ体に安定して存在するために、ゴルジ体間で逆行輸送しているならば、その輸送と M3-SAT-I に付加する糖鎖の成熟に何らかの因果関係がある可能性も考えられる。

今後は、様々なストレス条件下や病態の発症時に SAT-I アイソフォームの比率が変化し、細胞や組織の GM3 合成量に影響を与えるかを調べ、さらに GM3 量を正常に戻す方法論を確立することが課題である。また、本研究によって、小胞体に局在する M1-SAT-I が GM3 合成活性以外の機能を持つ可能性や SAT-I に付加する糖鎖の成熟機構を明らかにすることもまた、新たな課題として浮かび上がってきたと感じている。

テーマ 6 : GM3 合成酵素の立体構造解析

タンパク質の立体構造情報は創薬においてヒット化合物の選抜・修飾の効率化、リード化合物の改良に利用することができ、今後ますます重要なツールになってくると考えられる。しかしながら、我々の研究対象である糖転移酵素の立体構造解析は困難である。その大きな障害要因として、糖転移酵素の多くが結晶化の妨げとなるアスパラギン結合型糖鎖を持つ糖タンパク質であり、その糖鎖が酵素活性に必須であることが挙げられる。しかしながら、シアル酸転移酵素のアスパラギン結合型糖鎖付加部位を、種間 (human, dog, bovine, mouse, rat, chicken, zebrafish, tetradon, fugu,

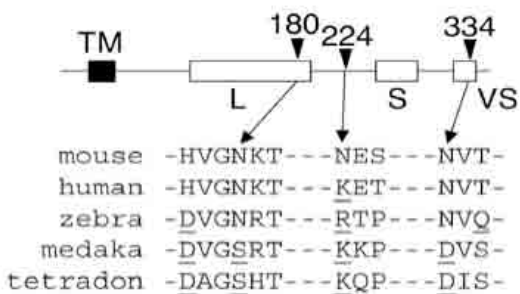


図29 mSAT-IIにおける糖鎖機能代替アミノ酸置換

medaka, xenopus) で比較すると、その保存性は驚くほど低く、糖鎖が無い種の酵素では、そのアミノ酸配列が糖鎖機能を模倣している可能性が示唆された (図 29)。つまり、ある特定の変異を人為的に起こすことにより、酵素活性を維持したまま糖鎖を除くことができると考えられた (Uemura S. *et al. Glycobiology* 2006)。

そこで、マウス GM3 合成酵素 (mSAT-I) をモデル酵素として選択し、糖鎖が無くても *in vitro* の酵素活性を維持している変異体の作成を試みた。mSAT-I には糖鎖付加配列 (NXS/T, X は P 以外のアミノ酸) が 3 箇所存在し、全てに糖鎖が付加する。図 29 では mSAT-I の糖鎖付加部位近辺のアミノ酸配列をヒト、ゼブラフィッシュ、メダカ、テトラドンで比較している。この種間でのアミノ酸配列変化を参考に、糖鎖機能代替アミノ酸配列として H177D/N180S, N224K, T336Q を選定し、それらの変異体の活性を *in vitro* で測定した。その結果、SAT-I は糖鎖付加を抑制する阻害剤やアスパラギンをグルタミンに変えた変異体において著しく活性が低下するが、糖鎖機能を模倣すると考えた変異体では、活性が維持されていた (図 30)。

さらに大腸菌を用いたコールドショック発現システムで、大腸菌のシャペロン (GroEL, GroES, Tig) を共発現させることにより、SAT-I を可溶性タンパク質として大量発現させる系を確立し (図 31A)、糖鎖機能を代替する変異体が大腸菌で発現させた場合でも高い比活性を持つことを確認した (図 31B)。その後、結晶構造解析を行うにあたり、SAT-I の大量調製及び精製と進めていたが、ゲル濾過の際、SAT-I が高分子量側に溶出され、SAT-I の凝集が確認された。この凝集は、ある特定の界面活性剤を添加することで回避されるが、逆に酵素活性が失われるという結果を得た。現段階で、SAT-I の会合状態と酵素活性に何らかの関係があるのか、あるいは、ただ単に界面活性剤添加によって、立体構造が崩れて活性が失われているかは不明であり、今後の大きな課題である。

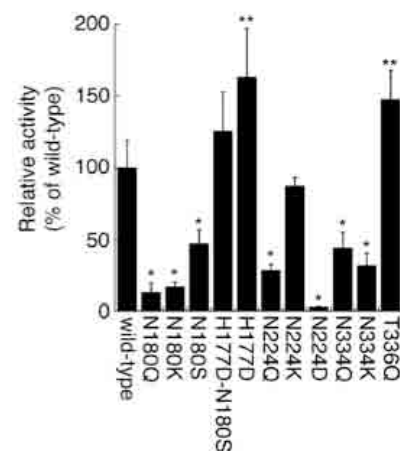
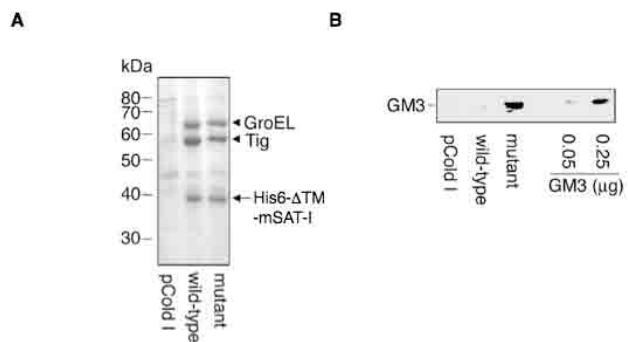


図30 糖鎖機能代替アミノ酸置換による酵素活性の維持



* mutant: H177D/N180S/N224K/T336Q

図31 大腸菌における活性型SAT-I変異体の産生

テーマ7：聴覚におけるガングリオシドの機能解析

感覚器 (聴覚, 視覚, 臭覚, 痛覚など) におけるマイクロドメイン研究は未踏の領域であった。井ノ口らは、ガングリオシド GM3 合成酵素 (SAT-I) KO マウスの行動薬理学的検討を福岡大学臨床疾患薬理学教室の岩崎克典教授のグループと検討したところ、聴覚障害というフェノタイプを示すことを見いだした。そこで、SAT-I KO マウスの聴覚障害の原因を聴覚の生理学および組織学的検討を九州大学耳鼻咽喉科教室の小宗静男教授のグループとの3研究機関の共同研究によって実施した。

SAT-I KO マウスは音刺激に対して全く驚愕反応を示さないが、物理的刺激 (air-puff) に対しては驚愕反応を示した (図 32)。このことは、驚愕反応に必要な神経伝達、筋力、脳機能などの障害ではなく聴覚機能が特異的に障害を受けていることを示唆する。

聴覚機能試験の一つ、聴性脳幹反応 (Auditory Brain-stem Response ; ABR) 試験の結果、

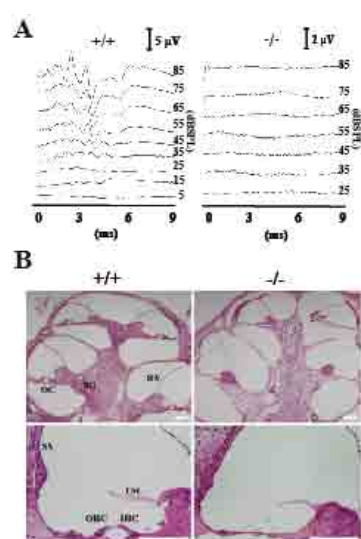


図 33 SAT-I K.O. マウスの内耳機能評価

(A) 聴性脳幹反応 (ABR)

(B) 蝸牛組織形態学的観察

に蝸牛の障害による聴覚機能障害を発症していることが明らかとなった。

ABR によって聴覚機能を評価したところ、SAT-I KO マウスの難聴発症時期は非常に早く、マウスの聴覚機能開始時期である生後 14~15 日目において、約 60% が完全に聴覚が全く機能しておらず (図 34-A)、残りの約 40% でも高度な難聴であった (図 34-B)。また、生後 14~15 日目において高度難聴であった SAT-I KO も生後 17 日目までに完全に聴覚機能を失った。蝸牛内の各器官はコルチ器を含め生後 14 日目ではほぼ正常に形成されていたが (図 35-A)、電子顕微鏡による観察では、生後 14 日目にすでにコルチ器を構成する細胞の一つである有毛細胞の一部に微細構造 (stereocilia 構造) の欠損が確認された (図 35-B)。その後、生後 17 日にかけて、コルチ器の細胞の変性が徐々に進行するのが確認された。

バランスなどの他の内耳の機能を、rota-rod テスト及び組織形態学的に検討したところ、蝸牛以外の機能は正常であり (図 36)、SAT-I KO における内耳障害は蝸牛に限定されていることが明らかとなった。

これまでに GM2/GD2 synthase KO マウス、GD3 synthase KO マウス、GM2/GD2 synthase

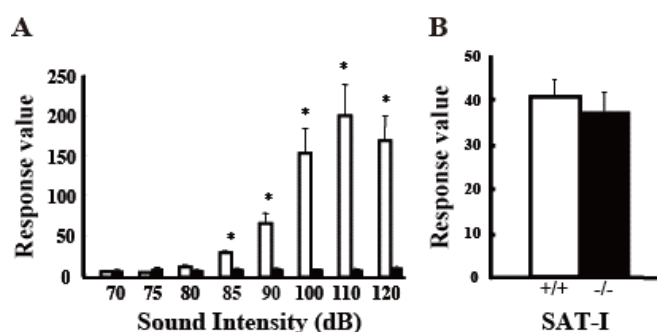


図 32 SAT-I K.O. マウスの驚愕反応試験

(A) 音刺激に対する驚愕反応

(B) 物理刺激 (air-puff) 刺激に対する驚愕反応

SAT-I KO マウスは 8 週齢で完全に聴覚機能を消失しており、また、内耳・蝸牛内の音刺激 (振動) を電気刺激に変換する器官であるコルチ器が脱落していた (図 33)。外耳、中耳においては顕著な変性は認められなかったことから、SAT-I KO マウスは内耳、特

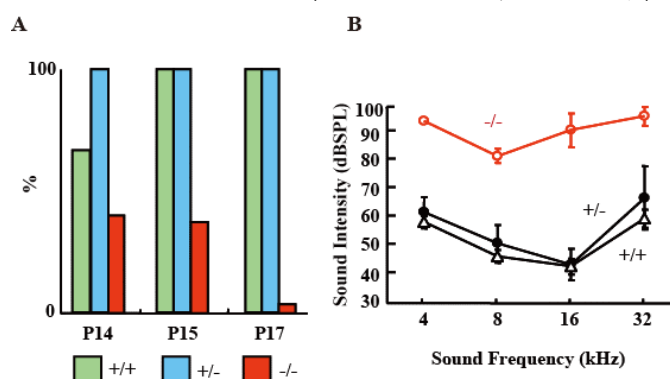


図 34 SAT-I K.O. の聴覚機能開始時期における聴覚機能評価

(A) ABR 陽性率

(B) P14 における ABR threshold

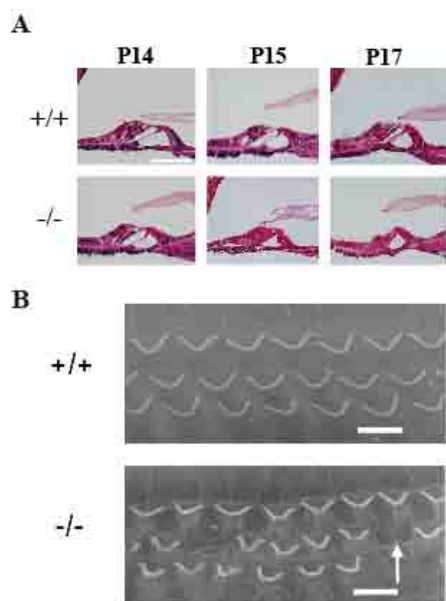


図 35 聴覚機能開始時期における SAT-I K.O. マウス

のコルチ器の形態

(A) HE 染色によるコルチ器の形態観察

(B) 走査型電子顕微鏡による有毛細胞の観察

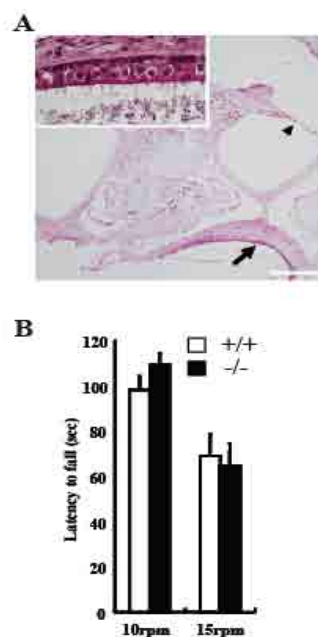


図 36 SAT-I K.O. マウスの前庭機能評価

(A) 蝸牛および前庭の組織形態学的観察

(B) rota-rod test

および GD3 synthase double KO マウスが作成され、報告されている。この中で、GM2/GD2 synthase KO マウスと GM2/GD2 synthase および GD3 synthase double KO マウスに関しては音に反応することが、報告または確認されている。これらのマウスは、ガングリオシドのいくつかを欠損するが、GM3 を発現している。これらの事実と SAT-I KO で聴覚障害が確認されたことから、特に GM3 が聴覚において重要な役割を担っていると考えられる。

糖脂質組成を調べたところ、マウス蝸牛では酸性糖脂質として sulfatide (SM4) が主要であり、ガングリオシドとしては GM3、GM1、GD1a、GD1b、GT1b が発現していることが確認された (図 37-A)。SAT-I KO では a-, b-シリーズのガングリオシドは消失し、代わりに SAT-I を経ないで合成される 0-シリーズガングリオシドの GM1b、GD1a の発現が確認された。また SAT-I KO の蝸牛では中性糖脂質としてラクトシルセラミドの蓄積が確認された。

免疫組織染色で、蝸牛内における各ガングリオシドの局在を調べたところ、GM3 は adult では血管条 (SV)、螺旋神経節 (SG) に強く発現していることが明らかとなった (図 38 上段)。

また、生後 3 日では GM3 は蝸牛全体にほぼ均等に発現しているが、聴覚機能開始時期の生後 14 日にかけて、血管条および螺旋神経節に大きく局在を変化させることが示された。この間に、蝸牛内の各細胞は様々な機能的成熟を行うことで、聴覚機能を獲得する。SAT-I KO は生後 14 日の時点で高度難聴であることから、GM3 が、この生後の聴覚の機能的成熟過程に重要な役割を担っていることが示唆される。

また、GT1b に関しては、GM3 と同様、生後 3 日目では蝸牛全体に発現するが、生後

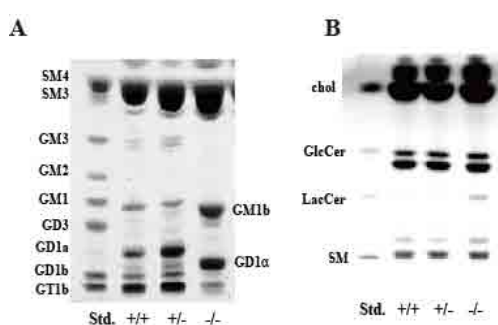


図 37 マウス蝸牛の脂質解析

(A) 酸性糖脂質

(B) 中性糖脂質

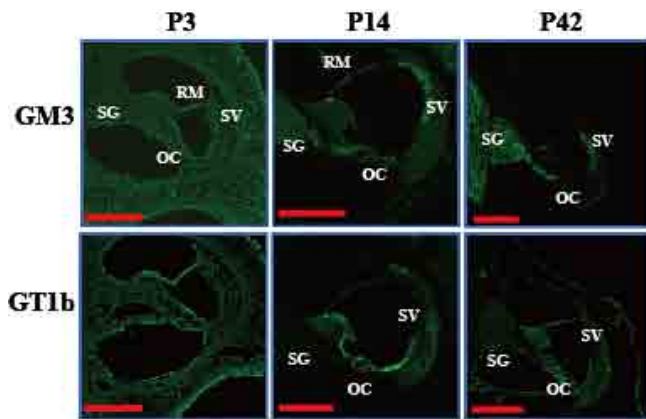


図 38 マウス蝸牛におけるガングリオシドの局在およびその経時変化

14 日にかけて、その局在を大きく変化させる (図 38 下段)。Adult での GT1b の発現は GM3 が強く発現する SV や SG では低く、それ以外の部分で強かった。

このことは、各ガングリオシドの発現は蝸牛内において部位特異的に厳密に制御されており、それぞれ固有の機能を有していることを示唆する。

現在、SAT-I KO における難聴およびコルチ器崩壊の詳細な分子メカニズムを解析中であるが、SAT-I KO の難聴症状は、他の難聴原因遺伝子の欠損マウス、変異マウスに

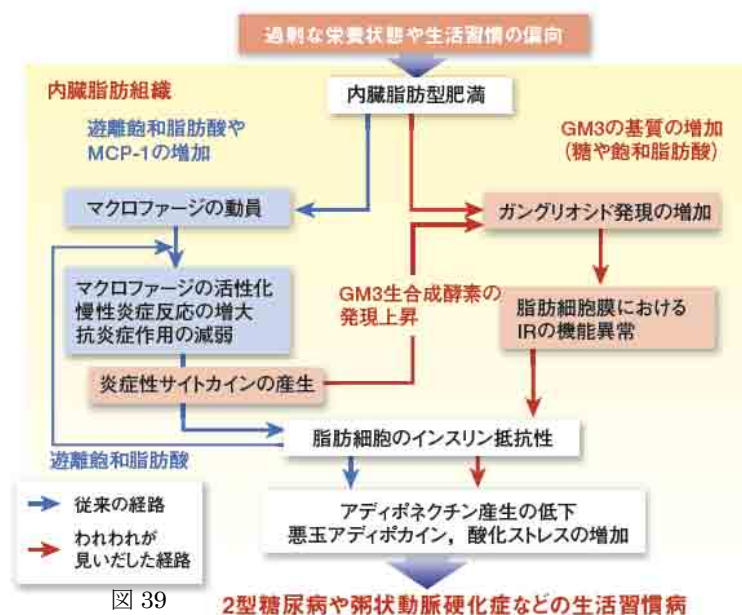
比べ、その発症時期も早く、劇的である。ガングリオシドは多数の分子と複合体を形成し、その機能をコントロールすることが知られている。よって、SAT-I KO における難聴の発症機構は、様々な分子の複合的機能異常によって引き起こされると考えられ、それゆえ、特異な症状を発症しているものと考えられる。

今後さらに、解析を進めることで新たな難聴発症機構の発見、治療・診断法の開発にガングリオシドが利用できる可能性が示唆された。

(2) 研究成果の今後期待される効果。

2 型糖尿病発症に関わる糖鎖の機能異常としては、高グルコースによるヘキシサミン生合成経路の活性化はシグナル分子の 0-GlcNAc 化を亢進させインスリン抵抗性を誘導することを主張しているジョンスポプキンス大の Hart 教授らのグループ (PNAS 99, 5313, 2002) や高脂肪食によって引き起こされる膵臓 b 細胞のグルコースセンサーである GLUT-2 の細胞表面上への発現低下は、N-アセチルグルコサミン転移酵素 4a 遺伝子の発現抑制により GLUT-2 の糖鎖構造が変化したことが原因であること示された (Ohtsubo K. *et al.* Cell 123, 1307, 2005)。また、Miyagi らのグループは、シアリダーゼ Neu3 のトランスジェニックマウスでは、GM2, GM1 が蓄積し、インスリン抵抗性を発症することを報告している (*J. Biol. Chem.* 278, 27896, 2003)。これらの報告から、多岐にわたる 2 型糖尿病発症原因に糖鎖機能の異常が関わっていることを示している。我々は、肥満に伴う脂肪細胞のインスリン抵抗性発症では、GM3 の発現上昇が起こることをレプチン欠損肥満モデルマウスおよび TNF α 処理培養脂肪細胞でクレスト申請時の根拠として示していたが、高脂肪食負荷肥満糖尿病動物モデルでも SAT-I 遺伝子発現上昇を伴って GM3 が内臓脂肪組織に蓄積していることを見いだした。さらに、2 型糖尿病患者の血中 GM3 濃度も有意に高いことが判明したことから、我々が提唱している『GM3 過剰発現による IR のマイクロドメインからの解離、すなわち IR とカベオリン-1 複合体の解離』は、脂肪細胞におけるインスリン抵抗性発症機序を反映しており、内臓脂肪蓄積による実際の 2 型糖尿病の病態を反映している可能性が示された (Kabayama K. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 2007) (図 39)。

ミシガン大学の Radin と井ノ口は、世界で初めてグルコシルセラミド合成酵素阻害剤 D-PDMP の開発に成功し、スフィンゴ糖脂質の機能解明の重要なツールとして過去 20 年間使用されてきている。最近、D-PDMP 誘導体を肥満糖尿病モデル動物に経口投与したところ、著功を示すことが確認された (Zhao H. *et al. Diabetes* 2007)。さらに我々は、ヒト 2 型糖尿病の患者の血漿中のガン



グリオシド GM3 量の増加は、2 型糖尿病をはじめとする複雑なメタボリック症候群の病態を新たな角度から検出することが出来る**新規なリスクファクター**である可能性を見いだしている (Sato *et al. Obesity Research & Clinical Practice* in press)。また、生理的条件による内臓脂肪分化誘導系を世界で初めて確立出来たことから (Sato *et al., Cell Biol. Int.*, in press)、この生理的条件に種々のストレス負荷した際に SAT-I 発現が上昇していることが明らかになり、ガングリオシド発現異常にもとづく病態像の全貌が明らかになりつつある。以上、テーマ 1-4 の研究成果の位置づけを述べたが、我々の研究成果はメタボリックシンドロームの新たな診断・治療法の開発に繋がるものであり、研究成果の臨床応用への貢献が期待される。

上記の本クレスト研究の遂行過程に於いて、我々が出会った特記すべき新発見としては、GM3 合成酵素 (SAT-I) 欠損マウスは聴覚障害を示すことであった (テーマ 7)。SAT-I KO では、内耳蝸牛内の音を電気信号に変換する器官であるコルチ器は一見正常に形成されるが、生後まもなく聴覚機能異常を発症し、その後成長するにつれコルチ器の選択的脱落が観察された。GM2/GD2 synthase と GD3 synthase のダブルノックアウトマウス (GM3 only mice) は音に反応するという報告から、GM3 が聴覚機能において重要な役割を果たしていることが示唆される。この発見は、聴覚機能に複合糖質が深く関与していることを示す最初の例である。SAT-I は、ラクトシルセラミドにシアル酸を転移し、GM3 を合成する II 型の膜タンパク質であるが、その細胞内動態に関しては不明な点が多い。我々は、SAT-I は leaky scanning により、N 末側の細胞質領域の長さが 69 aa (M1), 42 aa (M2), 14 aa (M3) と異なる 3 種類のアイソフォームを産生することを明らかにした (テーマ 5)。SAT-I の細胞内局在を調べたところ、M2-及び M3-SAT-I はゴルジ体に局在していたが、M1-SAT-I は驚くべきことに小胞体に局在していることが明らかになった。その、小胞体局在化機構を検討したところ、M1-SAT-I の細胞質領域に存在する複数のアルギニン残基 (RRXXXXR) からなる R-based motif といわれる小胞体への逆行輸送シグナルとして機能するシグナル配列が存在していることを証明した。ガングリオシド生合成に関わる最初の酵素である SAT-I が、細胞内局在や安定性の異なるアイソフォームを産生するシステムは、様々な環境変化やストレス状況下における GM3 及びそれ以降のガングリオシドの安定供給に重要だと推測される。この発見が端緒となって、新たなガングリオシド生合成制御法の開発が期待される。

4. 研究参加者

①マイクロドメイン分子病態研究グループ

	氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
○	井ノ口 仁一	東北薬科大学機能病態分子学	教授	マイクロドメイン分子病態研究総括	H15.10 ～ H21.3
	樺山 一哉	東北薬科大学機能病態分子学	助教	マイクロドメインにおけるインスリン受容体の動態観察	H15.10 ～ H21.3
	上村 聡志	東北薬科大学機能病態分子学	助教	SAT-I の transcriptional variants の生理的・病理的意義の解析	H15.10 ～ H21.3
	田上 清一	岩見沢労災病院	内科部長	メタボリックシンドロームにおける血中 GM 3 の診断意義の検討	H18.7 ～ H21.3
*	永福 正和	東北薬科大学機能病態分子学	CREST 研究員	インスリン抵抗性状態における GM3 の役割の検討	H17.4 ～ H21.3
	郷 慎司	東北薬科大学機能病態分子学	研究員	GM3 合成酵素遺伝子 SAT-I KO マウスの聴覚異常のメカニズム解析	H19.5 ～ H21.3
*	斉藤 厚子	東北薬科大学機能病態分子学	CREST 研究補助員	腸間膜脂肪細胞の機能探索	H15.10 ～ H21.3
	爲川 ゆかり	東北薬科大学機能病態分子学	研究補助員	組織のガングリオシド分析	H18.7 ～ H21.3
	吉川 弥里	東北薬科大学機能病態分子学	アソシエイトスタッフ	GM3 合成酵素遺伝子 SAT-I KO マウスの聴覚異常のメカニズム解析	H19.4 ～ H21.3
	佐藤 貴繁	プライマリーセル	客員研究員	腸間膜脂肪細胞の機能探索	H15.10 ～ H21.3
	宍戸 史	東北薬科大学機能病態分子学	研究補助員	SAT-I の大量調整及び変異体作製	H18.7 ～ H21.3
	関本 淳二	東北薬科大学機能病態分子学	大学院研究員	電子顕微鏡を用いた糖尿病関連分子の局在観察	H20.4 ～ H21.3
	鬼丸 友里	福岡大学薬学部	M2	SAT-I KO マウス由来組織および細胞におけるインスリンシグナル解析	H19.4 ～ H21.3
	出口 友紀子	福岡大学薬学部	M2	SAT-I KO マウス由来組織および細胞におけるインスリンシグナル解析	H19.4 ～ H21.3
	速水 博考	東北薬科大学機能病態分子学	M1	血清中 GM3 の微量測定法の確立	H20.4 ～ H21.3

	佐藤 沙耶	東北薬科大学機能病態分子学	M1	マイクロドメインにおけるインスリンシグナルの動態観察	H20.4 ~ H21.3
	鈴木 俊一	東北薬科大学機能病態分子学	M1	聴覚における糖鎖機能の解明	H20.4 ~ H21.3
	舟橋 のぞみ	東北薬科大学機能病態分子学	M1	SAT-I の transcriptional variants の生理的・病理的意義の解析	H20.4 ~ H21.3
	二平 豊	東北薬科大学機能病態分子学	M2	血清中 GM3 の微量測定法の確立	H18.4 ~ H20.3
	野口 真理子	北海道大学大学院薬学研究科	D3	マイクロドメインにおけるインスリン受容体の動態観察	H15.10 ~ H19.3
	吉田 清香	北海道大学大学院薬学研究科	M2	SAT-I の transcriptional variants の生理的・病理的意義の解明	H16.4 ~ H19.3
	藤田 まみ	東北薬科大学機能病態分子学	4年	SAT-I の transcriptional variants の生理的・病理的意義の解明	H18.4 ~ H19.3
	大森 千聡	東北薬科大学機能病態分子学	4年	マイクロドメインにおけるインスリン受容体の動態観察	H18.4 ~ H19.3
	今 良将	東北薬科大学機能病態分子学	4年	インスリン抵抗性状態における GM3 の役割の検討	H18.4 ~ H19.3
	藤田 今日子	東北薬科大学機能病態分子学	4年	血清中 GM3 の微量測定法の確立	H18.4 ~ H19.3
	アシフ・モハマド・ザカリア	北海道大学大学院薬学研究科	D3	マイクロドメインにおけるインスリン受容体の動態観察	H15.10 ~ H18.3
	鈴木 智子	北海道大学大学院薬学研究科	M2	マイクロドメインにおけるインスリン受容体の動態観察	H15.10 ~ H17.3
	久米 摩耶	北海道大学大学院薬学研究科	M2	SAT-I の transcriptional variants の生理的・病理的意義の解明	H15.10 ~ H18.3
	斉藤 久美子	北海道大学大学院薬学研究科	M2	マイクロドメインにおけるインスリン受容体の動態観察	H15.10 ~ H18.3
	穴田 佳大	北海道大学大学院薬学研究科	M1	マイクロドメインにおけるインスリン受容体の動態観察	H16.4 ~ H17.3

②メタボローム・プロテオーム研究グループ

	氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
○	鈴木 實	理化学研究所フロンティア生体超分子研究 G	研究員	マイクロドメインのプロテオーム解析	H15.10 ~ H20.3
	榎本 綾子	理化学研究所フロンティア生体超分子研究 G	技術員	マイクロドメインのプロテオーム解析	H15.10 ~ H19.9
*	萩生田 絵美	理化学研究所フロンティア生体超分子研究 G	CREST 研究補助員	マイクロドメインのプロテオーム解析	H18.5 ~ H19.3

③1分子動態研究グループ

	氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
○	金城 政孝	北海道大学電子科学研究所	教授	1 分子観察によるインスリン抵抗性脂肪細胞のマイクロドメイン動態検討	H15.10 ~ H19.3
	高橋 保夫	北海道大学電子科学研究所	研究員	1 分子観察によるインスリン抵抗性脂肪細胞のマイクロドメイン動態検討	H15.10 ~ H18.3
	斉藤 健太	北海道大学電子科学研究所	研究員	1 分子観察によるインスリン抵抗性脂肪細胞のマイクロドメイン動態検討	H16.5 ~ H18.3

④構造生物学研究グループ

	氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
○	稲垣 冬彦	北海道大学大学院薬学研究科	教授	GM3 合成酵素(SAT-I)の構造解析	H15.10 ~ H20.3
	堀内 正隆	北海道大学大学院薬学研究科	助教	GM3 合成酵素(SAT-I)の構造解析	H15.10 ~ H20.3

⑤ノックアウトマウス解析グループ

	氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
○	岩崎 克典	福岡大学薬学部	教授	インスリン抵抗性状態における脳の解析	H17.6 ~ H21.3
	高崎 浩太郎	福岡大学薬学部	助教	インスリン抵抗性状態における脳の解析	H19.10 ~ H21.3

	桂林 秀太郎	福岡大学薬学部	助教	インスリン抵抗性状態における脳の解析	H20.4 ~ H21.3
	渡辺 拓也	福岡大学薬学部	研究生	インスリン抵抗性状態における脳の解析	H18.5 ~ H21.3
	野上 愛	福岡大学薬学部	DC1	インスリン抵抗性状態における脳の解析	H20.4 ~ H21.3
	原口 珠美	福岡大学薬学部	MC2	インスリン抵抗性状態における脳の解析	H20.4 ~ H21.3
	中野 佐知子	福岡大学薬学部	MC1	インスリン抵抗性状態における脳の解析	H20.4 ~ H21.3
	藤原 道弘	福岡大学薬学部	教授	インスリン抵抗性状態における脳の解析	H17.6 ~ H19.3
	吉川 弥里	福岡大学薬学部	MC2	インスリン抵抗性状態における脳の解析	H18.11 ~ H19.3
	清水 芳香	福岡大学薬学部	MC2	インスリン抵抗性状態における脳の解析	H18.11 ~ H19.3

⑥聴覚機能解析グループ

	氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
○	小宗 静男	九州大学大学院医学研究院	教授	内耳の電気生理学的研究	H19.8 ~ H21.3
	賀数 康弘	九州大学大学院医学研究院	助教	内耳の電気生理学的研究	H19.8 ~ H21.3
	大橋 充	九州大学大学院医学研究院	研究員	内耳の電気生理学的研究	H19.8 ~ H21.3

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
Loberto Nicoletta (ミラノ大学、研究員)	脂肪細胞において GM3 と直接会合している分子を検索することを目標とした共同研究を遂行するため	北海道大学次世代ポストゲノム研究棟薬学部生体機能化学分野	2005 年 10/24-11/23

6. 成果発表等

(1) 原著論文発表 (国内(和文)誌 0 件、国際(欧文)誌 15 件)

【主論文】

1. Sato T, Nagafuku M, Shimizu K, Taira T, Igarashi Y, Inokuchi J. Physiological levels of insulin and IGF-1 synergistically enhance the differentiation of mesenteric adipocytes. *Cell Biol. Int.* 32, 1397-1404(2008)
2. Sato T, Nihei Y, Nagafuku M, Tagami S, Chin R, Kawamura M, Miyazaki S, Suzuki M, Sugahara S, Takahashi Y, Saito A, Igarashi Y, Inokuchi J. Circulating Levels of Ganglioside GM3 in Metabolic Syndrome: A Pilot Study. *Obesity Research & Clinical Practice* 2,231-238(2008)
3. Kabayama K, Sato T, Saito K, Loberto N, Prinetti A, Sonnino S, Kinjo M, Igarashi Y, Inokuchi J. Dissociation of the insulin receptor and caveolin-1 complex by ganglioside GM3 in the state of insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci. USA* 104, 13678-13683 (2007)
4. Noguchi M, Suzuki T, Kabayama K, Takahashi H, Chiba H, Shiratori M, Abe S, Watanabe A, Satoh M, Hasegawa T, Tagami S, Ishii A, Saito M, Kaneko M, Iseki K, Igarashi Y, Inokuchi J. The GM3 synthase gene is a novel biomarker for histological classification and drug sensitivity against epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancer. *Cancer Science* 98, 1625-1632 (2007)
5. Uemura S, Fei Feng, Kume M, Yamada K, Kabayama K, Nishimura S, Igarashi Y, Inokuchi J. Cell Growth Arrest by Sialic Acid Clusters in Ganglioside GM3 Mimetic Polymers. *Glycobiology* 17, 568-577 (2007)
6. Uemura S, Kihara A, Iwaki S, Inokuchi J, Igarashi Y. Regulation of the transport and protein levels of the inositol phosphorylceramide mannosyltransferases Csg1 and Csh1 by the Ca²⁺-binding protein Csg2. *J. Biol. Chem.* 282, 8613-8621 (2007)
7. Noguchi M, Kabayama K, Uemura S, Kang BW, Saito M, Igarashi Y, Inokuchi J. Endogenously Produced Ganglioside GM3 Endows Etoposide and Doxorubicin Resistance by Up-regulating Bcl-2 Expression in 3LL Lewis Lung Carcinoma Cells. *Glycobiology* 16, 641-650 (2006)
8. Uemura S, Kurose T, Suzuki T, Yoshida S, Ito M, Saito M, Igarashi Y, Inokuchi J. Substitution of the N-glycan Function in Glycosyltransferases by Specific Amino Acids (SUNGA): ST3Gal-V as a model enzyme. *Glycobiology* 16, 258-270 (2006)
9. Tani-ichi S, Maruyama K, Kondo N, Nagafuku M, Kabayama K, Inokuchi J, Shimada Y, Ohno-Iwashita Y, Yagita H, Kawano S, Kosugi A. Structure and function of lipid rafts in human activated T cells. *Int. Immunology* 17, 749-758 (2005)
10. Sato T, Zakaria AM, Uemura S, Ishii A, Ohno-Iwashita Y, Igarashi Y, Inokuchi J. Role for up-regulated ganglioside biosynthesis and association of Src family kinases with microdomains in retinoic acid-induced differentiation of F9 embryonal carcinoma cells. *Glycobiology* 15, 687-699 (2005)
11. Kabayama K, Sato T, Kitamura F, Uemura S, Kang BW, Igarashi Y, Inokuchi J. TNF alpha-induced insulin resistance in adipocytes as a membrane microdomain disorder: involvement of ganglioside GM3. *Glycobiology* 15, 21-29 (2005)

【関連論文】

12. Inokuchi J, Kabayama K, Uemura S, Igarashi Y. Glycosphingolipids govern gene expression. *Glycoconjugate Journal* 20, 169-178 (2004)
13. Nagafuku M, Kabayama K, Oka D, Kato A, Tani-ichi S, Shimada Y, Ohno-Iwashita Y, Yamasaki S, Saito T, Iwabuchi K, Hamaoka T, Inokuchi J, Kosugi A. Reduction of Glycosphingolipid Levels in Lipid Rafts Affects the Expression State and Function of Glycosylphosphatidyl-inositol-anchored Proteins but Does Not Impair Signal Transduction via the T Cell Receptor. *J. Biol. Chem.* 278, 51920-51927 (2003)
14. Uemura S, Kihara A, Inokuchi J, Igarashi Y. Csg1p and the newly identified Csh1p function in mannosylinositol phosphorylceramide synthesis by interacting with Csg2p. *J. Biol. Chem.* 278, 45049-45055 (2003)
15. Uemura S, Kabayama K, Noguchi M, Igarashi Y, Inokuchi J. Sialylation and Sulfation of Lactosylceramide Distinctly Regulate Anchorage-Independent Growth, Apoptosis and Gene Expression in 3LL Lewis Lung Carcinoma Cells. *Glycobiology* 13, 207-216 (2003)

(2)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21件、国際会議8件)

1. Misato Yoshikawa^{1,2}, Shinji Go¹, Jin-ichi Inokuchi¹ (¹Div. of Glycopathology, Inst. of Molecular Biomembrane and Glycobiology, Tohoku Pharmaceu. Univ., ² CREST, JST) (2008) Deafness in mice lacking ganglioside GM3 synthase : 第 11 回神経細胞死・変性による疾患ならびにその治療薬に関するワークショップ (仙台, 9月12～14日)
2. 樺山一哉 (東北薬科大) (2008) マイクロドメイン異常症としてのインスリン抵抗性 : 平成 20 年度日本薬学会東北支部総会・学術講演会 (仙台, 7月12日)
3. 樺山一哉 (東北薬科大) (2008) Dissociation of the insulin receptor and caveolin-1 complex by ganglioside GM3 in the state of insulin resistance : 日本生化学会東北支部第 74 回例会 (優秀論文賞受賞講演) (岩手, 5月17日)
4. 井ノ口仁一 (東北薬科大、CREST,JST) (2008) 脂肪細胞のマイクロドメイン機能異常とインスリン抵抗性 : 日本薬学会第 128 回年会 (横浜, 3月26～28日)
5. 井ノ口仁一 (東北薬科大、CREST,JST) (2008) インスリン耐性と糖鎖 : 研究成果公開発表シンポジウム「第 3 の生命鎖 : 糖鎖の謎が今、解る」(東京, 1月25、26日)
6. 井ノ口仁一 (東北薬科大、CREST,JST) (2008) 細胞膜マイクロドメイン機能異常とインスリン抵抗性 : 理研シンポジウム第 11 回「生体分子の化学」(和光, 1月25日)
7. 井ノ口仁一 (東北薬科大、CREST,JST) (2007) 糖脂質と 2 型糖尿病との関連を中心として : 第 5 回次世代バイオナノ研究会 (高松, 12月7日)

8. 井ノ口仁一（東北薬科大、CREST,JST）（2007）マイクロドメイン機能異常とインスリン抵抗性：第5回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム（東京，11月26、27日）
9. J. Inokuchi^{1,5}, K. Kabayama¹, T. Sato^{2,1}, K. Saito⁴, N. Loberto³, A. Prinetti³, S. Sonnino³, M. Kinjo^{4/1} (¹Div. of Glycopathology, Inst. of Molecular Biomembrane and Glycobiology, Tohoku Pharmaceu. Univ., ²Dept. of Biomem. Biofunc. Chem., Grad. of Pharm. Sci., Hokkaido Univ., ³Dept. of Med. Chem., Biochem. and Biotech., Univ. of Milan, ⁴Lab. of Supramol. Biophys., Res. Inst. for Elec. Sci., Hokkaido Univ., ⁵CREST, JST) (2007) Dissociation of insulin receptor and caveolin complex by GM3: a new pathological feature of insulin resistance in adipocytes. (XIX International Symposium on Glycoconjugates, Cairns, Australia, July 15-20)
10. 井ノ口仁一（東北薬科大、CREST,JST）（2007）ヒト非小細胞肺癌におけるガングリオシド GM3 発現に基づく新しい抗がん剤感受性評価法の検討：第6回福岡大学高機能物質研究所研究成果報告会（福岡，1月24日）
11. Jin-ichi Inokuchi（東北薬科大、CREST,JST）（2007）Dissociation of Insulin Receptor and Caveolin-1 Complex by Ganglioside GM3: A New Pathological Feature of Insulin Resistance in Adipocytes. (Japan-Switzerland 2nd Joint Seminar on Synthesis and Trafficking of Glycolipids and Glycolipid Anchored Proteins, Tsukuba, Jan.30-Feb.2)
12. 井ノ口仁一（東北薬科大、CREST,JST）（2006）細胞膜マイクロドメイン構成原理の解明とその機能異常にもとづく生活習慣病の病態解明：日本薬学会東北支部講演会第28回東北薬学セミナー（仙台，12月8日）
13. 井ノ口仁一（東北薬科大、CREST,JST）（2006）マイクロドメイン病としてのインスリン抵抗性と2型糖尿病—ガングリオシド GM3 の関与：生体機能と創薬シンポジウム2006 福岡（福岡，9月8、9日）
14. 上村聡志^{1,2}、木原章雄¹、井ノ口仁一^{1,2}、五十嵐靖之¹（1.北大院・薬 2. CREST,JST）（2005）酵母におけるスフィンゴ糖脂質の基質特異性とマイクロドメイン局在との関連：第43回日本生物物理学会年会（札幌，11月23日～25日）
15. 井ノ口仁一（北大院・薬、CREST,JST）（2005）2型糖尿病におけるインスリン抵抗性の新しい病態像—マイクロドメイン機能異常とガングリオシド：高知大学医学部セミナー（高知，7月1日）
16. Inokuchi J. (Faculty of Pharm. Sci., Hokkaido Univ., CREST, JST) (2005) Role for upregulated ganglioside biosynthesis and association of Src family kinases with microdomains in retinoic acid-induced differentiation of F9 embryonal carcinoma cells (Satellite Meeting, Glycobiology of lipid membrane domains, Siena, Italy, September 9-11)
17. Inokuchi J. (Faculty of Pharm. Sci., Hokkaido Univ., CREST, JST) (2005) Dissociation of insulin receptor and caveolin complex by GM3: a new pathological feature of insulin resistance in adipocytes (XVIII International Symposium of Glycoconjugates, Florence, Italy, September 4-9)

18. Inokuchi J. (Faculty of Pharm. Sci., Hokkaido Univ., CREST, JST) (2005) Membrane microdomain functions in Cancer and Diabetes. (The 11th International Conference on Organized Molecular Films, Sapporo, Japan, June 26-30)
19. Inokuchi J. (Faculty of Pharm. Sci., Hokkaido Univ., CREST, JST) (2005) Involvement of membrane microdomains in insulin resistance and type-2 diabetes. (The Georgia Glycoscience Symposium, Athens, USA, May 12)
20. Inokuchi J. (Faculty of Pharm. Sci., Hokkaido Univ., CREST, JST) (2005) TNF alpha-induced insulin resistance as a membrane microdomain disorder: involvement of ganglioside GM3. (2nd Glycobiology Workshop The Netherlands-Japan, Utrecht, Netherlands, April 18-21)
21. Inokuchi J. (Faculty of Pharm. Sci., Hokkaido Univ., CREST, JST) (2005) Insulin resistance and membrane microdomains. (Seminar, Steno Diabetes Center, Gentofte, Denmark, April 15)
22. 井ノ口仁一（北大院・薬、CREST,JST）（2005）ガングリオシド GM3 合成酵素の N 結合型糖鎖の意義：第 125 年会日本薬学会（東京，3 月 29 日～31 日）
23. 井ノ口仁一（北大院・薬、CREST,JST）（2005）マイクロドメイン病としてのインスリン抵抗性と 2 型糖尿病—ガングリオシド GM3 の関与：第 12 回東海大学糖鎖工学研究施設講演会（平塚，1 月 20 日）
24. 井ノ口仁一（北大院・薬、CREST,JST）（2004）マイクロドメイン病としてのインスリン抵抗性とガングリオシド GM3：第 77 回日本生化学会大会（横浜，10 月 13 日）
25. 井ノ口仁一（北大院・薬、CREST,JST）（2004）TNF alpha-induced Insulin Resistance In Adipocytes As a Membrane Microdomain Disorder: Involvement of Ganglioside GM3：第 53 回高分子討論会（札幌，9 月 15 日～17 日）
26. 佐藤貴繁¹、アシフ・モハマド・ザカリヤ¹、上村聡志¹、石井睦³、岩下淑子⁴、五十嵐靖之¹、井ノ口仁一^{1,2}（1. 北大院・薬 2. CREST,JST 3. 北大創成・人獣 4. 東京都老人研）（2004）Differentiation of F9 Embryonal Carcinoma Cells Requires Upregulation of Gangliosides Biosynthesis and Formation of Functional Microdomains：糖鎖によるタンパク質と分子複合体の機能調節第 2 回夏期シンポジウム（木更津，8 月 26, 27 日）
27. 井ノ口仁一（北大院・薬、CREST,JST）（2004）マイクロドメイン機能異常にもとづく 2 型糖尿病の病態解明：第 2 回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム（東京，8 月 25 日）
28. 井ノ口仁一（北大院・薬、CREST,JST）（2004）マイクロドメイン病としてのがんおよび 2 型糖尿病：タンパク質最前線セミナー（疾患グライコプロテオミクス）（東京都，8 月 6 日）
29. 井ノ口仁一^{1,2}、樺山一哉^{1,2}、野口真理子¹、上村聡志¹、五十嵐靖之¹（1. 北大院・薬 2. CREST,JST 3. 北大電子研）（2004）肺癌細胞の抗癌剤抵抗性とガングリオシド：

特定領域研究第 2 回公開シンポジウム「糖鎖によるタンパク質と分子複合体の機能調節」(名古屋, 1 月 2 3 日)

②口頭発表 (国内会議18件、国際会議 2件)

1. 上村聡志¹, 宍戸史¹, 井ノ口仁一^{1,2} (1.東北薬科大 2. CREST,JST) (2008)GM3 合成酵素 (SAT-I)の細胞内動態解析: 第 28 回日本糖質学会年会 (つくば, 8 月 1 8 ~ 2 0 日)
2. 井ノ口仁一 (東北薬科大、CREST,JST) (2008) GM 3 合成酵素ノックアウトマウスは聴覚障害を示す: 第 7 回福岡大学高機能物質研究所研究成果報告会 (福岡, 1 月 2 3 日)
3. 樺山一哉 (東北薬科大) (2007) 糖脂質マイクロドメインにおける細胞膜分子の可視化動態解析: 第 1 回東北糖鎖研究会 (仙台, 1 2 月 2 2、2 3 日)
4. 樺山一哉¹, 佐藤貴繁², 斉藤久美子², ロベルト・ニコレッタ³, プリネッティ・アレサンドロ³, ゾニーノ・サンドロ³, 金城政孝⁴, 五十嵐靖之⁴, 井ノ口仁一^{1,5} (1.東北薬科大 2.北大院・薬 3.ミラノ大・医 4.北大院・生命 5.CREST,JST) (2007) インスリン抵抗性状態においてガングリオシド GM 3 はインスリン受容体とカベオリンの複合体を解離する: BMB2007 (横浜, 1 2 月 1 1 ~ 1 5 日)
5. 上村聡志¹, 吉田清香², 宍戸史¹, 井ノ口仁一^{1,3} (1.東北薬科大 2.北大院・薬 3. CREST,JST) (2007) GM 3 合成酵素の細胞質領域が酵素の安定性と細胞内局在を支配している: BMB2007 (横浜, 1 2 月 1 1 ~ 1 5 日)
6. 佐藤貴繁^{1,2}, 永福正和^{3,6}, 樺山一哉³, 清水恭子⁴, 宮川功⁵, 平敏夫⁴, 井ノ口仁一^{3,6} (1.北大院・薬 2.日本学術振興会 3.東北薬科大 4.プライマリーセル 5.倉敷紡績・技術研 6.CREST,JST) (2007) マクロファージは腸間膜内臓脂肪細胞のスフィンゴ糖脂質の発現を制御する: BMB2007 (横浜, 1 2 月 1 1 日 ~ 1 5 日)
7. J.Inokuchi^{1,5}, M.Yoshikawa^{1,5}, K.Takasaki², Y.Kakazu³, M.Ohashi³, S.Go¹, M.Nagafuku^{1,5}, K.Kabayama¹, T.Kimithuki³, N.Matsumoto³, S.Komune³, K.Takaiwa³, M.Saito⁴, M.Fujiwara², K.Iwasaki² (¹Div. of Glycopathology, Inst. of Molecular Biomembrane and Glycobiology, Tohoku Pharmaceu. Univ., ²Dept. of Biomem. Biofunc. Chem., Grad. of Pharm. Sci., Fukuoka Univ., ³Meiji Pharm. Univ., ⁴Dept. of Otorhinolaryngo., Grad. Sch. Med. Sci., Kyushu Univ., ⁵CREST,JST) (2007) Mice lacking ganglioside GM3 synthase exhibit complete hearing loss due to selective degeneration of the organ of Corti (Glycobiology2007, Boston, USA, Nov.11-14)
8. S.Uemura¹, S.Yoshida², F.Shishido¹, J.Inokuchi^{1,3} (¹Div. of Glycopathology, Inst. of Molecular Biomembrane and Glycobiology, Tohoku Pharmaceu. Univ., ²Dept. of Biomem. Biofunc. Chem., Grad. of Pharm. Sci., Hokkaido Univ., ³CREST,JST) (2007) The cytosolic region of GM3 synthase defines its stability and subcellular localization(Glycobiology2007, Boston, USA, Nov.11-14)
9. 上村聡志¹, 吉田清香², 宍戸史¹, 井ノ口仁一^{1,3} (1.東北薬科大 2.北大院・薬 3. CREST,JST) (2007) GM 3 合成酵素の細胞質領域が酵素の安定性と細胞内局在を支配している: 第 46 回日本薬学会東北支部大会 (仙台, 1 0 月 2 8 日)

10. 吉川弥里^{1,5}、高崎浩太郎²、賀数康弘³、大橋 充³、高岩一貴³、小宗静男³、永福正和^{1,5}、斉藤政樹⁴、藤原道弘²、岩崎克典²、井ノ口仁一^{1,5} (1.東北薬科大 2.福岡大学・薬 3.九大病院・耳鼻 4.明治薬科大 5.CREST,JST) (2007) ガングリオシド GM3 合成酵素ノックアウトマウスは聴覚障害を示す：第 27 回日本糖質学会年会 (福岡, 8 月 1 日～3 日)
11. 上村聡志¹、木原章雄²、岩城壮一郎²、井ノ口仁一^{1,4}、五十嵐靖之^{2,3} (1.東北薬科大学 2.北大院・薬 3.北大院・生命 4.CREST,JST) (2007) 出芽酵母におけるスフィンゴ糖脂質合成の調節機構：第 49 回日本脂質生化学会 (札幌, 6 月 5、6 日)
12. 樺山一哉¹、佐藤貴繁^{2,1}、金城政孝⁴、五十嵐靖之^{2,3}、井ノ口仁一^{1,5} (1.東北薬科大 2.北大院・薬 3.北大院・生命 4.北大電子研 5.CREST,JST) (2007) 脂肪細胞のインスリン抵抗性状態におけるガングリオシド GM3 の発現上昇は、インスリン受容体のカベオラからの解離に関与する：第 50 回日本糖尿病学会年次学術集会 (仙台, 5 月 24 日～26 日)
13. 佐藤貴繁¹、永福正和^{1,4}、清水恭子³、平 敏夫³、井ノ口仁一^{1,4} (1.北大院・薬 2.東北薬科大 3.プライマリーセル 4.CREST,JST) (2007) 腸間膜脂肪細胞の生理的分化成熟法の確立：第 50 回日本糖尿病学会年次学術集会 (仙台, 5 月 24～26 日)
14. 上村聡志¹、稲垣冬彦²、五十嵐靖之³、井ノ口仁一^{1,4} (1.東北薬科大 2.北大院・薬 3.北大院・先端生命 4. CREST,JST) (2006) 糖鎖機能代替アミノ酸置換法を用いた機能糖タンパク質の結晶構造解析法の開発：第 45 回日本薬学会東北支部大会 (山形, 10 月 29 日)
15. 上村聡志¹、吉田清香²、佐藤貴繁²、石井陸³、斉藤政樹⁴、五十嵐靖之⁵、井ノ口仁一^{1,6} (1.東北薬科大 2.北大院・薬 3.北大創成・人獣 4.明治薬科大 5.北大院・先端生命 6. CREST,JST) (2006) The N-terminal amino acid sequence of GM3 synthase governs the localization of ER and Golgi：第 26 回日本糖質学会年会 (仙台市, 8 月 23 日～25 日)
16. 永福正和 (東北薬科大、CREST,JST) (2006) 脂肪細胞分化におけるマクロファージの役割：日本薬学会東北支部総会・学術講演会 (仙台市, 7 月 8 日)
17. 井ノ口仁一 (北大院・薬、CREST,JST) (2006) 2 型糖尿病におけるインスリン抵抗性発症とマイクロドメイン機能異常：第 126 年会日本薬学会 (仙台市, 3 月 28 日～30 日)
18. 井ノ口仁一 (北大院・薬、CREST,JST) (2005) 脂肪細胞のインスリン抵抗性発現におけるガングリオシド GM3 発現亢進とマイクロドメインの関与：第 26 回日本肥満学会 (札幌市, 10 月 13、14 日)
19. 井ノ口仁一^{1,2}、鈴木智子¹、樺山一哉^{1,2}、高橋弘毅³、佐藤昌明³、渡邊敦³、阿部庄作³、田上清一⁴、石井睦⁵、斉藤政樹⁶、金子正範⁷、野口真理子¹、井関健¹ (1.北大院・薬 2. CREST,JST 3.札幌大 4.岩見沢労災病院 5.北大創成・人獣 6. 明治薬科大 7.北大院・歯) (2005) 非小細胞肺癌の抗癌剤感受性におけるガングリオシド GM3 合成酵素遺伝子発現量のバイオマーカーとしての意義：第 64 回日本癌学会学術総会 (札幌市, 9 月 14 日～16 日)

20. 樺山一哉^{1,2}、佐藤貴繁¹、斉藤久美子¹、穴田佳大¹、斉藤健太³、金城政孝³、五十嵐靖之¹、井ノ口仁一^{1,2} (1.北大院・薬 2. CREST,JST 3.北大電子研) (2005) ガングリオシド GM3 によるインスリン受容体—カベオリン複合体の解離：第 25 回日本糖質学会年会 (大津市, 7 月 20 日～22 日)

③ポスター発表(国内会議27件、国際会議21件)

1. Masakazu Nagafuku^{1,2}, Yuri Onimaru³, Tadashi Yamashita⁴, Jin-ichi Inokuchi^{1,2} (¹Div. of Glycopathology, Inst. of Molecular Biomembrane and Glycobiology, Tohoku Pharmaceutical Univ., ²CREST, JST, ³ Dept. of Neuropharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Fukuoka Univ., ⁴Div. of Integrated Life Science, Faculty of Advanced Life Science, Hokkaido Univ.,)(2009) Distinct ganglioside-species specific dependencies between CD4⁺ and CD8⁺ T cells in the TCR-mediated activation (2009 Glycobiology Gordon Conference, Venture,USA, Jan. 18-23)
2. Misato Yoshikawa^{1,2}, Shinji Go¹, Kotaro Takasaki³, Yasuhiro Kakazu⁴, Mitsuru Ohashi⁴, Masakazu Nagafuku^{1,2}, Kazuya Kabayama¹, Kazutaka Takaiwa⁴, Takashi Kimitsuki⁴, Nozomu Matsumoto⁴, Shizuo Komune⁴, Daisuke Kamei⁵, Masaki Saito⁶, Micihiro Fujiwara^{2,3}, Katsunori Iwasaki^{2,3}, and Jin-ichi Inokuchi^{1,2} (¹Div. of Glycopathology, Inst. of Mol. Biomembranes and Glycobiology, Tohoku Pharmaceutical Univ., ² CREST, JST ³Dept. of Neuropharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Fukuoka Univ., ⁴Dept. of Otorhinolaryngology, Grad. School of Medical Science, Kyushu Univ., ⁵Field of Supramolecular Biol. International Grad. School of Arts and Sciences, Yokohama City Univ., ⁶Dept. of Pharmacodynamics, Meiji Pharmaceutical Univ.,) (2009) Deafness in mice lacking ganglioside GM3 synthase (2009 Glycobiology Gordon Conference, Venture,USA, Jan. 18-23)
3. 永福正和^{1,2}、小田桐悠大¹、荻野寛子¹、井ノ口仁一^{1,2} (1.東北薬科大 2. CREST,JST) (2008) ガングリオシド GM3 生合成酵素欠損マウスでは肥満による内臓脂肪組織の炎症状態が軽減している：第 29 回日本肥満学会年会 (大分, 10 月 17～18 日)
4. 佐藤貴繁^{1,2}、永福正和^{1,4}、樺山一哉¹、清水恭子²、宮川功³、平敏夫²、井ノ口仁一^{1,4} (1. 東北薬科大 2.プライマリーセル 3.倉敷紡績・技術研 4.CREST,JST) (2008) マクロファージは腸間膜内臓脂肪細胞のスフィンゴ糖脂質の発現を制御する：第 29 回日本肥満学会年会 (大分, 10 月 17～18 日)
5. Kazuya Kabayama¹, Jin-ichi Inokuchi^{1,2} (¹Div. of Glycopathology, Inst. of Molecular Biomembrane and Glycobiology, Tohoku Pharmaceu. Univ., ² CREST, JST) (2008) Dissociation of the insulin receptor and caveolin-1 complex by ganglioside GM3 in the state of insulin resistance：第 11 回神経細胞死・変性による疾患ならびにその治療薬に関するワークショップ (仙台, 9 月 12～14 日)
6. 吉川弥里^{1,6}、郷慎司¹、高崎浩太郎²、賀数康弘³、大橋充³、小宗静男³、永福正和^{1,6}、樺山一哉¹、亀井大助⁵、斉藤政樹⁴、藤原道弘²、岩崎克典²、井ノ口仁一^{1,6} (1.東北薬科大 2.福岡大学・薬 3.九大病院・耳鼻 4.明治薬科大 5.横浜市立大 6.CREST,JST) (2008) GM3 合成酵素ノックアウトマウスは聴覚障害を示す：第 28 回日本糖質学会年会 (つくば, 8 月 18～20 日)
7. 永福正和^{1,2}、小田桐悠大¹、荻野寛子¹、井ノ口仁一^{1,2} (1.東北薬科大 2. CREST,JST)

(2008) GM3 合成酵素欠損マウスでは肥満による内臓脂肪組織の炎症状態が軽減している：第 28 回日本糖質学会年会（つくば，8 月 18～20 日）

8. M.Yoshikawa^{1,6}, S.Go¹, K.Takasaki², Y.Kakazu⁴, M.Ohashi⁴, M.Nagafuku^{1,6}, K.Kabayama¹, K.Takaiwa⁴, T.Kimithuki⁴, N.Matsumoto⁴, S.Komune⁴, D.Kamei⁵, M.Saito³, M.Fujiwara², K.Iwasaki², J.Inokuchi^{1,6} (¹Div. of Glycopathology, Inst. of Molecular Biomembrane and Glycobiology, Tohoku Pharmaceu. Univ., ²Dept. of Biomem. Biofunc. Chem., Grad. of Pharm. Sci., Fukuoka Univ., ³Meiji Pharm. Univ., ⁴Dept. of Otorhinolaryngo., Grad. Sch. Med. Sci., Kyushu Univ., ⁵Yokohama City Univ., ⁶CREST, JST) (2008) Deafness in mice lacking ganglioside GM3 synthesis. (GlycoT 2008, Atlanta, USA, May. 17-20)
9. 樺山一哉¹、佐藤貴繁²、斉藤久美子²、ロベルト・ニコレッタ³、プリネッティ・アレサンドロ³、ゾニーノ・サンドロ³、金城政孝⁴、五十嵐靖之⁴、井ノ口仁一^{1,5} (1.東北薬科大 2.北大院・薬 3.ミラノ大・医 4.北大院・生命 5.CREST, JST) (2007) インスリン抵抗性状態においてガングリオシド GM3 はインスリン受容体とカベオリンの複合体を解離する：BMB2007（横浜，12月11日～15日）
10. 上村聡志¹、吉田清香²、宍戸史³、井ノ口仁一^{1,3} (1.東北薬科大 2.北大院・薬 3.CREST, JST) (2007) GM3 合成酵素の細胞質領域が酵素の安定性と細胞内局在を支配している：BMB2007（横浜，12月11日～15日）
11. 佐藤貴繁^{1,2}、永福正和^{3,6}、樺山一哉³、清水恭子⁴、宮川功⁵、平敏夫⁴、井ノ口仁一^{3,6} (1.北大院・薬 2.日本学術振興会 3.東北薬科大 4.プライマリーセル 5.倉敷紡績・技術研 6.CREST, JST) (2007) マクロファージは腸間膜内臓脂肪細胞のスフィンゴ糖脂質の発現を制御する：BMB2007（横浜，12月11日～15日）
12. 吉川弥里^{1,5}、高崎浩太郎²、賀数康弘³、大橋充³、高岩一貴³、小宗静男³、永福正和^{1,5}、郷慎司¹、樺山一哉¹、齋藤政樹⁴、藤原道弘²、岩崎克典²、井ノ口仁一^{1,5} (1.東北薬科大 2.福岡大・薬 3.九大・医・耳鼻科 4.明治薬科大 5.CREST, JST) (2007) GM3 合成酵素ノックアウトマウスは聴覚障害を示す：BMB2007（横浜，12月11日～15日）
13. J.Inokuchi^{1,5}, M.Yoshikawa^{1,5}, K.Takasaki², Y.Kakazu⁴, M.Ohashi⁴, S.Go¹, M.Nagafuku^{1,5}, K.Kabayama¹, T.Kimithuki⁴, N.Matsumoto⁴, S.Komune⁴, K.Takaiwa⁴, M.Saito³, M.Fujiwara², K.Iwasaki² (¹Div. of Glycopathology, Inst. of Molecular Biomembrane and Glycobiology, Tohoku Pharmaceu. Univ., ²Dept. of Biomem. Biofunc. Chem., Grad. of Pharm. Sci., Fukuoka Univ., ³Meiji Pharm. Univ., ⁴Dept. of Otorhinolaryngo., Grad. Sch. Med. Sci., Kyushu Univ., ⁵CREST, JST) (2007) Mice lacking ganglioside GM3 synthase exhibit complete hearing loss due to selective degeneration of the organ of Corti (Glycobiology 2007, Boston, USA, Nov. 11-14)
14. S.Uemura¹, S.Yoshida², F.Shishido¹, J. Inokuchi^{1,3} (¹Tohoku Pharm. Univ., ²Faculty of Pharm. Sci., Hokkaido Univ., ³CREST, JST) (2007) The cytosolic region of GM3 synthase defines its stability and subcellular localization (Glycobiology 2007, Boston, USA, Nov. 11-14)
15. 永福正和^{1,4}、佐藤貴繁^{2,5}、清水恭子³、平敏夫³、井ノ口仁一^{1,4} (1.東北薬科大 2.北大院・薬 3.プライマリーセル 4.CREST, JST 5.学振) (2007) 腸間膜脂肪組織の局在マクロファージによる脂肪細胞の分化制御：第 28 回日本肥満学会（東京，10月19、20日）

16. 佐藤貴繁^{1,2}、二平豊³、田上清一⁵、陳里菜⁶、川村光信⁶、宮崎滋⁶、鈴木眞⁷、菅原州一⁷井ノ口仁一^{3,4} (1.北大院・薬 2.学振 3.東北薬科大 4.CREST,JST 5.岩見沢労災病院 6.東京通信病院 7.旭化成) (2007)腸間膜、精巣上体辺、および皮下脂肪細胞の生理的分化誘導法の確立と PPAR γ アゴニストの効果：第 28 回日本肥満学会 (東京, 10月19、20日)
17. 永福正和^{1,5}、佐藤貴繁^{2,6}、清水恭子³、宮川功⁴、平敏夫³、井ノ口仁一^{1,5} (1.東北薬科大 2.北大院・薬 3.プライマリーセル 4.倉敷紡績技術研 5.CREST,JST 6.学振)(2007)腸間膜脂肪組織における常在マクロファージによる脂肪細胞の分化制御：第 12 回アディポサイエンス研究会シンポジウム(大阪, 8月18日)
18. 佐藤貴繁^{1,2}、永福正和^{3,4}、清水恭子⁵、宮川功⁶、平敏夫⁵、井ノ口仁一^{3,4} (1.北大院・薬 2.学振 3.東北薬科大 4.CREST,JST 5.プライマリーセル 6.倉敷紡績技術研) (2007)腸間膜、精巣上体辺、および皮下脂肪細胞の生理的分化誘導法の確立と PPAR γ アゴニストの効果：第 12 回アディポサイエンス研究会シンポジウム (大阪, 8月18日)
19. Takashige Sato^{1-3,5}, Masakazu Nagafuku^{3,4}, Kyoko Shimizu^{5,6}, Toshio Taira^{5,6}, Igarashi Yasuyuki¹ and Jin-ichi Inokuchi^{3,4} (2007) (¹Labo. of Biomem. and Biofunc. Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido Univ., ²Japan Society for the Promotion of Science Research Fellow; ³Div. of Glycopathology, Inst. of Mol. Biomem. and Glycobiology, Tohoku Pharmaceutical Univ., ⁴CREST, Japan Science and Technology Agency (JST); ⁵V-CellBio Co., Ltd.; ⁶Primary Cell Co., Ltd.) Physiologic Levels of Insulin and IGF-1 Synergistically Enhance the Differentiation of Mesenteric Adipocytes. (American Diabetes Association-67th Scientific Sessions, Chicago, IL, June 22-26)
20. Kazuya Kabayama¹, Takashige Sato^{1,2}, Nicoletta Loberto³, Alessandro Prinetti³, Sandro Sonnino³, Masataka Kinjo⁴, Yasuyuki Igarashi², Jin-ichi Inokuchi^{1,5} (2007) (¹Div. of Glycopathology, Inst. of Molecular Biomembrane and Glycobiology, Tohoku Pharmaceutical Univ., ²Dept. of Biomem. Biofunc. Chem., Grad. of Pharm. Sci., Hokkaido Univ., ³Dept. of Med. Chem., Biochem. and Biotech., Univ. of Milan, ⁴Lab. of Supramol. Biophys., Res. Inst. for Elec. Sci., Hokkaido Univ., ⁵CREST,JST) Dissociation of Insulin Receptor and Caveolin Complex by Ganglioside GM3 : A New Pathological Feature of Insulin Resistance in Adipocytes.(Xth International Symposium on Action, Stockholm Sweden, May 2-6)
21. Kazuya Kabayama¹, Takashige Sato^{1,2}, Nicoletta Loberto³, Alessandro Prinetti³, Sandro Sonnino³, Masataka Kinjo⁴, Yasuyuki Igarashi², Jin-ichi Inokuchi^{1,5} (2006) (¹Div. of Glycopathology, Inst. of Molecular Biomembrane and Glycobiology, Tohoku Pharmaceutical Univ., ²Dept. of Biomem. Biofunc. Chem., Grad. of Pharm. Sci., Hokkaido Univ., ³Dept. of Med. Chem., Biochem. and Biotech., Univ. of Milan, ⁴Lab. of Supramol. Biophys., Res. Inst. for Elec. Sci., Hokkaido Univ., ⁵CREST,JST) Dissociation of Insulin Receptor and Caveolin Complex by Ganglioside GM3 : A New Pathological Feature of Insulin Resistance in Adipocytes.(2007 Gordon Research Conferences, Venture,CA,Mar.4-9)
22. Mariko Noguchi^{1,2}, Tomoko Suzuki¹, Kazuya Kabayama², Hiroki Takahashi³, Hirofumi Chiba³, Yasuyuki Igarashi¹ and Jin-ichi Inokuchi^{2,4} (¹Graduate school of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido Univ., ²Division of Glycopathology, Institute of Molecular Biomembrane and Glycobiology, Tohoku Pharmaceutical, ³Third Department of Internal

Medicine, Sapporo Medical Univ., School of Medicine, ⁴CREST,JST)(2007) The GM3 Synthase gene is a novel biomarker for histological classification and drug sensitivity against epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancer. (First JCA-AACR Special Joint Conference, Nagoya, March 12-14)

23. 千葉弘文¹、井ノ口仁一^{2,4}、白鳥正典¹、山田 玄¹、渡辺 敦³、佐藤昌明⁴、高橋弘毅¹ (1.札幌大・第三内科 2.東北薬科大 3.札幌大・第二外科 4.NTT 東日本札幌病院・臨床検査科 4. CREST,JST) (2006) 原発性肺癌におけるスフィンゴ糖脂質 GM3 発現と薬剤感受性：第 47 回日本肺癌学会総会（京都，12月14、15日）
24. 永福正和^{1,4}、佐藤貴繁²、平敏夫³、清水恭子³、井ノ口仁一^{1,4} (1.東北薬科大 2.北大院・薬 3.プライマリーセル 4.CREST,JST) (2006) マクロファージによる内臓脂肪細胞の分化制御：第 27 回日本肥満学会（神戸，10月27、28日）
25. 佐藤貴繁¹、永福正和^{2,4}、清水恭子³、平 敏夫³、井ノ口仁一^{2,4} (1.北大院・薬 2.東北薬科大 3.プライマリーセル 4. CREST,JST) (2006) 腸間膜脂肪細胞の生理的分化成熟法の確立：第 27 回日本肥満学会（神戸，10月27、28日）
26. Jin-ichi Inokuchi^{1,4}, Takashige Sato^{1-3,5}, Kyoko Shimizu^{5,6}, Toshio Taira^{5,6} (¹Div.of Glycopathology, Inst. of Molecular Biomembrane and Glycobiology, Tohoku Pharmaceu. Univ.,²Grad. Sch. of Pharm. Sci. Hokkaido Univ., ³Society for the Promotion of Science Research Fellow, ⁴CREST, JST, ⁵V-CellBio Co. Ltd., ⁶Primary Cell Co, Ltd.) (2006) Establishment of Physiological Differentiation System of Mesenteric Adipocytes. (10th International Congress on Obesity, Sydney Australia, Sep.3-8)
27. Jin-ichi Inokuchi^{1,4}, Takashige Sato^{1-3,5}, Kyoko Shimizu^{5,6}, Toshio Taira^{5,6} (¹Div.of Glycopathology, Inst. of Molecular Biomembrane and Glycobiology, Tohoku Pharmaceu. Univ.,²Grad.Sch. of Pharm.Sci.,Hokkaido Univ., ³Society for the Promotion of Science Research Fellow, ⁴CREST, JST, ⁵V-CellBio Co. Ltd., ⁶Primary Cell Co. Ltd.) (2006) Establishment of Physiological Differentiation System of Mesenteric Adipocytes. (Satellite Meeting of 10th International Congress on Obesity, Hamilton Island Resort Australia, Sep.2)
28. Masakazu Nagafuku^{1,5}, Takashige Sato^{1,2,4,6}, Kyoko Shimizu^{3,4}, Toshio Taira^{3,4}, Jin-ichi Inokuchi^{1,5} (¹Div.of Glycopathology, Inst. of Molecular Biomembrane and Glycobiology, Tohoku Pharmaceu. Univ.,²Grad.Sch. of Pharm.Sci., Hokkaido Univ. ³Primary Cell Co., Ltd,⁴V-CellBio Co., Ltd., ⁵CREST, JST, ⁶Japan Society for the Promotion of Science Research Fellow)(2006) Regulation of visceral adipogenesis by mesentery-resident macrophages：第 11 回アディポサイエンス研究会シンポジウム(大阪,8月19日)
29. Takashige Sato^{1-3,5}, Jin-ichi Inokuchi^{1,4}, Kyoko Shimizu^{5,6},Toshio Taira^{5,6} (¹Div.of Glycopathology, Inst. of Molecular Biomembrane and Glycobiology, Tohoku Pharmaceu. Univ.,²Grad.Sch. of Pharm.Sci.,Hokkaido Univ., ³Japan Society for the Promotion of Science Research Fellow, ⁴CREST, JST, ⁵V-CellBio Co. Ltd., ⁶Primary Cell Co. Ltd.) (2006) Establishment of Physiological Differentiation System of Mesenteric Adipocytes：第 11 回アディポサイエンス研究会シンポジウム(大阪,8月19日)
30. Mariko Noguchi¹, Tomoko Suzuki¹, Kazuya Kabayama², Hiroki Takahashi³, Masaaki Satoh⁴, Atsushi Watanabe⁵, Kazutaka Nakajima³, Masanori Shiratori³, Hirofumi Chiba³, Shosaku Abe³, Seiichi Tagami⁶, Atsushi Ishii⁷, Masaki Saitoh⁸, Masanori Kaneko⁹, Ken Iseki¹⁰, Yasuyuki Igarashi¹ and Jin-ichi Inokuchi²(¹Grad. school of Pharmaceutical Sci.,

Hokkaido Univ., ²Div. of Glycopathology, Inst. of Mol. Biomem. and Glycobiology, Tohoku Pharmaceutical Univ., CREST,JST,³Third Dept. of Internal Medicine, Sapporo Med. Univ., School of Medicine, ⁴Second Dept. of Surgery, Sapporo Medical Univ., School of Medicine, ⁵Dept. of Clinical Pathology, Sapporo Medical Univ. Hospital, ⁶Iwamizawa Rousai Hospital, ⁷Creative Reseach Initiative “Sousei”, Hokkaido Univ., ⁸Pharmacodynamics, Meiji Pharmaceutical Univ., ⁹School of Dentistry. Hokkaido Univ., ¹⁰Clinical Pharmaceutics and Therapeutics. Grad. school of Pharmaceutical Sci. Hokkaido Univ.)(2006) Ganglioside GM3 Synthase is a Novel Biomarker for Evaluation of Histological Classification and Anticancer Drug Sensitivity Against Platinum Agents and Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitors in Non-Small Cell Lung Cancer. (GlycoT2006, Tsukuba, June 25-28)

31. Kazuya Kabayama¹, Takashige Sato^{1,2}, Nicoletta Loberto³, Alessandro Prinetti³, Sandro Sonnino³, Masataka Kinjo⁴, Yasuyuki Igarashi², Jin-ichi Inokuchi^{1,5} (2006) (¹Div. of Glycopathology, Inst. of Molecular Biomembrane and Glycobiology, Tohoku Pharmaceu. Univ., ²Dept. of Biomem. Biofunc. Chem. Grad. of Pharm. Sci. Hokkaido Univ., ³Dept. of Med. Chem. Biochem. and Biotech. Univ. of Milan, ⁴Lab. of Supramol. Biophys. Res. Inst. for Elec. Sci. Hokkaido Univ., ⁵CREST,JST) Dissociation of Insulin Receptor and Caveolin Complex by Ganglioside GM3 : A New Pathological Feature of Insulin Resistance in Adipocytes.(20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, Kyoto, June 18-23)
32. Sayaka Yoshida¹, Satoshi Uemura^{2,3}, Takashige Sato^{1,2}, Atsushi Ishii⁴, Masaki Saito⁵, Yasuyuki Igarashi¹, Jin-ichi Inokuchi^{2,3} (¹Faculty of Pharm. Sci. Hokkaido Univ., ²Tohoku Pharm. Univ., ³CREST,JST, ⁴CRIS, Hokkaido Univ., ⁵Meiji Pharm. Univ.) (2006) Subcellular localization and stability of ST3Gal-V is defined by its N-terminal length.(20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress ,Kyoto, June 18-23)
33. Satoshi Uemura^{1,2}, Akio Kihara¹, Jin-ichi Inokuchi^{1,2}, Yasuyuki Igarashi¹ (1.北大院・薬 2.CREST,JST) (2005) Csg2p regulates the subcellular localization and stability of Csg1p and Csh1p in *Saccharomyces cerevisiae* : 第 78 回日本生化学会大会 (神戸, 10月19日～22日)
34. Takashige Sato¹, Asif Zakaria¹, Satoshi Uemura^{1,2}, Atsushi Ishii³, Yoshiko Iwashita⁴, Yasuyuki Igarashi¹, Jin-ichi Inokuchi^{1,2} (1.北大院・薬 2. CREST,JST 3.創成・人獣 4. 都・老人研) (2005)Role for upregulated ganglioside biosynthesis and association of Src family kinases with microdomains in retinoic acid-induced differentiation of F9 embryonal carcinoma cells : 第 78 回日本生化学会大会 (神戸, 10月19日～22日)
35. Kazuya Kabayama^{1,2}, Takashige Sato¹, Kumiko Saito¹, Yoshihiro Anada¹, Kenta Saito³, Masataka Kinjo³, Yasuyuki Igarashi¹, Jin-ichi Inokuchi^{1,2} (1.北大院・薬 2.CREST,JST 3. 北大電子研) (2005) Dissociation of Insulin Receptor and Caveolin Complex by Ganglioside GM3: A New Pathological Feature of Insulin Resistance in Adipocytes : 第 78 回日本生化学会大会 (神戸, 10月19日～22日)
36. Jin-ichi Inokuchi^{1,2}, Kazuya Kabayama^{1,2}, Takashige Sato¹, Kumiko Saito¹, Yoshihiro Anada¹, Kenta Saito¹, Masataka Kinjo³, Yasuyuki Igarashi¹ (1.北大院・薬 2.CREST,JST 3. 北大電子研) (2005) Dissociation of Insulin Receptor and Caveolin Complex by Ganglioside GM3 : 第 10 回アディポサイエンス研究会シンポジウム (第 10 回記念国際シンポジウム) (豊中市, 8月19日)

37. 上村聡志^{1,2}、鈴木智子¹、吉田清香¹、伊藤信³、斉藤政樹⁴、五十嵐靖之¹、井ノ口仁一^{1,2} (2005) (1.北大院・薬 2.CREST,JST 3.九大院・農 4.明治薬科大) 糖鎖代替えアミノ酸置換法(SUNGA):ST3Gal-V をモデル酵素として: 第 25 回日本糖質学会年会 (大津市, 7月20日~22日)
38. Sato T¹, A.M.Zakaria¹, Uemura S¹, Ishii A³, Ohno-Iwashita Y⁴, Igarashi Y¹, and Inokuchi J^{1,2} (2004) (¹Grad.Sch. of Pharm. Sci. Hokkaido Univ., ²CREST,JST, ³CRIS, Hokkaido Univ., ⁴Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology.) Differentiation of F9 Embryonal Carcinoma Cells Requires Up-regulation of Gangliosides Biosynthesis and Formation of Membrane Microdomains (US/Japan Glyco2004,Hawaii,Nov.17-20)
39. Noguchi M¹, Kabayama K^{1,2}, Uemura S¹, Byon-Won Kang¹, Saito M³, Igarashi Y¹, and Inokuchi J^{1,2}(2004) (¹Grad. Sch. of Pharm. Sci. Hokkaido Univ., ²CREST,JST, ³CRIS, Hokkaido Univ., ³Pharmacodynamics, Meiji Pharm. Univ.,) Endogenously produced ganglioside GM3 endows anticancer drug resistance Phenotype by upregulating Bcl-2 expression in 3LL Lewis lung carcinoma cells. (US/Japan Glyco2004,Hawaii,Nov.17-20)
40. Uemura S¹, Suzuki T¹, Ito M², Saito M⁴, Igarashi Y¹, and Inokuchi J^{1,3} (2004) (¹Grad. Sch. of Pharm. Sci. Hokkaido Univ., ²Grad. Sch. Biores. Bioenviron. Sci., Kyushu Univ., ³CREST,JST, ⁴Meiji Pharm. Univ.,) N-glycans on GM3 synthase require for activity but can be substituted with specific amino acids at or near the glycosylation sites. (US/Japan Glyco2004,Hawaii,Nov.17-20)
41. Kabayama K^{1,2}, Sato T¹, Kitamura F¹, Uemura S¹, Byon-Won Kang¹, Igarashi Y¹, and Inokuchi J^{1,2} (2004) (¹Grad. Sch. of Pharm. Sci., Hokkaido Univ., ²CREST,JST,) TNF alpha-induced Insulin Resistance In Adipocytes As a Membrane Microdomain Disorder. (IR04/IXth International Symposium on Insulin Receptors and Insulin Action ,Nice, France Oct.14-17)
42. Noguchi M¹, Kabayama K^{1,2}, Uemura S¹, B.W.Kang¹, Saito M³, Igarashi Y¹, and Inokuchi J^{1,2} (2004)(¹Grad. Sch. of Pharm. Sci. Hokkaido Univ., ²CREST,JST, ³Meiji Pharm. Univ.,) Endogenously produced ganglioside GM3 endows anti-cancer drug resistance phenotype by upregulating Bcl-2 expression in 3LL Lewis lung carcinoma cells. (Glycolipid and Sphingolipid Biology Gordon Conference, Hyogo,SPring-8,July25-30)
43. Sato T¹, A.M.Zakaria¹, Uemura S¹, Ishii A², Ohno-Iwashita Y³, Igarashi Y¹, and Inokuchi J^{1,4} (2004) (¹Grad. Sch. of Pharm. Sci. Hokkaido Univ., ²CRIS, Hokkaido Univ., ³Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology. ⁴CREST,JST) Differentiation of F9 embryonal carcinoma cells requires upregulation of ganglioside biosynthesis and formation of membrane microdomains. (Glycolipid and Sphingolipid Biology Gordon Conference, Hyogo,SPring-8,July25-30)
44. Kabayama K^{1,2}, Sato T¹, Kitamura F¹, Uemura S¹, Byon-Won Kang¹, Igarashi Y¹, and Inokuchi J^{1,2} (2004) (¹Grad.Sch. of Pharm. Sci. Hokkaido Univ., ²CREST,JST) TNF alpha-induced Insulin Resistance In Adipocytes As a Membrane Microdomain Disorder:Involvement of Ganglioside GM3.(FASEB Summer Research Conferences ,Tucson,Arizona July24-29, 2004)
45. 鈴木智子¹、樺山一哉^{1,2}、高橋弘毅³、竹澤千秋¹、阿部庄作³、田上清一⁴、石井睦⁵、齋藤政樹⁶、金子正範⁷、井関健¹、五十嵐靖之¹、井ノ口仁一^{1,2} (2005) (1.北大院・薬 2. CREST,JST 3.札幌医大 4.岩見沢労災病院 5.北大創成・人獣 6.明治薬科大 7.

北大院・歯) ヒト非小細胞肺癌におけるガングリオシド GM3 発現に基づく新規抗がん剤感受性評価法の検討: 第 125 年会日本薬学会 (東京, 3 月 29 日～31 日)

46. 上村聡志^{1,2}、鈴木智子²、伊東信³、斉藤政樹⁴、五十嵐靖之²、井ノ口仁一^{1,2} (2004)
(1.北大院・薬 2. CREST,JST 3.九大院・農 4.明治薬科大) N-glycans on GM3 synthase require for activity but can be substituted with specific amino acids at or near the glycosylation sites:第 77 回日本生化学会大会 (横浜, 10 月 13 日～16 日)
47. 久米麻耶¹、Fei Feng²、上村聡志^{1,3}、山田久里子²、西村紳一郎²、井ノ口仁一^{1,3} (1.北大院・薬 2.北大院・理、産総研・創薬シーズ探索研究ラボ 3. CREST,JST) (2004)
Biological Active Ganglioside GM3 Mimetic Polymers: 第 77 回日本生化学会大会 (横浜, 10 月 13 日～16 日)
48. 斉藤久美子¹、樺山一哉^{1,2}、鈴木佑典³、鈴木實³、鈴木明身³、五十嵐靖之¹、井ノ口仁一^{1,2}(2004)(1.北大院・薬 2. CREST,JST 3.理研)Proteomic analysis of membrane-microdomain in GM3-reconstituted cells:第 77 回日本生化学会大会 (横浜, 10 月 13 日～16 日)

(3)特許出願

① 国内出願 (3件)

1. ハニカム状多孔質体を用いた脂肪細胞の長期培養方法
山本貞明、田中賢、下村正嗣、井ノ口仁一、佐藤貴繁
国立大学法人北海道大学
平成 20 年 1 月 16 日
特願 2008-006906
2. インスリン抵抗性病態を示す疾患の診断方法
井ノ口仁一
独立行政法人科学技術振興機構
平成 18 年 5 月 30 日
特願 2006-149328
3. アスパラギン結合型糖蛋白質糖鎖代替えアミノ酸置換法
井ノ口仁一、上村聡志
生化学工業株式会社、井ノ口仁一
平成 16 年 7 月 21 日
特願 2004-213616

② 海外出願 (2 件)

1. インスリン抵抗性病態を示す疾患の診断方法
井ノ口仁一
独立行政法人科学技術振興機構
平成 18 年 10 月 25 日
PCT/JP2007/061246
2. アスパラギン結合型糖鎖修飾を受けない変異型糖タンパク質
井ノ口仁一、上村聡志
生化学工業株式会社、井ノ口仁一

平成 18 年 1 月 26 日
PCT/JP2005/013424

(4)受賞等

① 受賞

生化学会東北支部優秀論文賞受賞

平成 20 年 5 月 17 日 岩手県民情報交流センター

Dissociation of the insulin receptor and caveolin-1 complex by ganglioside GM3 in the state of insulin resistance.

樺山一哉

(東北薬大)

日本薬学会東北支部若手研究者発表賞受賞

平成 18 年 12 月 8 日 仙台ガーデンパレス

糖鎖機能代替アミノ酸置換法を用いた機能糖タンパク質の結晶構造解析法の開発

上村聡志¹、稲垣冬彦²、五十嵐靖之³、井ノ口仁一⁴

(¹東北薬大 ²北大院・薬 ³北大院・先端生命 ⁴東北薬大、CREST,JST)

第 11 回アディポサイエンス研究会シンポジウム優秀ポスター賞受賞

平成 18 年 8 月 19 日 千里阪急ホテル

Regulation of Visceral Adipogenesis by Mesentery-Resident Macrophages

Masakazu Nafuku^{1,5} Takashige Sato^{1,2,4,6} Toshio Taira^{3,4} Kyoko Shimizu^{3,4} Jin-ichi Inokuchi^{1,5}

(¹Division of Glycopathology, Institute of Molecular Biomembrane and Glycobiology, Tohoku Pharmaceutical Univ., ²Department of Biomembrane and Biofunctional Chemistry, Graduate School of Pharmaceutical Science, Hokkaido Univ., ³Primary Cell Co., Ltd. ⁴V-CellBio Co., Ltd. ⁵CREST, JST ⁶Japan Society for the Promotion of Science Research Fellow)

② 新聞報道

平成19年8月14日(火)朝日新聞夕刊

肥満影響の糖尿病発病の仕組み解明

平成19年8月15日(水)河北新報社朝刊

糖尿病メカニズム解明—新治療法開発に道—

③ その他

文部科学省記者クラブ発表

平成19年8月9日(木)

JST プレスリリース

平成19年8月14日(火)

インスリン抵抗性の新たなメカニズム解明に成功(2型糖尿病の新しい治療法に道)

(5) その他特記事項

その他の出版物(総説、解説、単行本など)

① 総説

Inokuchi J. and Kabayama K.

Modulation of Growth Factor Receptors in Membrane Microdomains.

Trends in Glycosci. Glycotech. Review. in press

Inokuchi J.

Insulin resistance as a membrane microdomain disorder.

Yakugaku Zasshi. 2007 127, 579-586. Review.

Inokuchi J.
Insulin resistance as a membrane microdomain disorder.
Biol. Pharm. Bull. 2006 29, 1532-1537. Review.

② 解説

Newton (雑誌: ニュートンプレス社) 2007 年 11 月号
メディカルトピックスに「解明！糖尿病のメカニズム」として掲載

③ 著書

井ノ口仁一, 樺山一哉, 永福正和, 佐藤貴繁
ミクロドメインにおけるインスリン受容体の機能調節 *蛋白質核酸酵素 増刊*.
糖鎖情報の独自性と普遍性 2008 Vol.53 No.12, 1552-1557. 共立出版

樺山一哉, 井ノ口仁一
マイクロドメイン異常症としてのインスリン抵抗性
THE LUNG perspectives. 2008 Vol.16 226-232. メディカルレビュー社

井ノ口仁一, 樺山一哉, 永福正和, 佐藤貴繁
ガングリオシドが関与する新たなインスリン抵抗性のメカニズム
Medical Bio. 2008 May 76-81. オーム社

Jin-ichi Inokuchi, Kazuya Kabayama (2008) Insulin Resistance and Type 2 Diabetes as Microdomain Disease: Implication of Ganglioside GM3. *Experimental Glycoscience (Glycobiology)* 333-336 (Springer)

Inokuchi J, Kabayama K (2007) Receptor Modifications in Glycobiology. *Comprehensive Glycoscience* 3, 733-744. (Elsevier Science & Technology)

井ノ口仁一
脂肪細胞のインスリン抵抗性発現におけるガングリオシドGM3発現亢進とマイクロドメインの関与
肥満研究<トピックス>. 2006 Vol.12 No.3, 260-262. 日本肥満学会誌

Jin-ichi Inokuchi, Kazuya Kabayama, Takashige Sato, and Yasuyuki Igarashi (2005) A New Pathological Feature of Insulin Resistance and Type 2 Diabetes: Involvement of Ganglioside GM3 and Membrane Microdomains. *Sphingolipid Biology* (Springer-Verlag Tokyo Inc)

井ノ口仁一
マイクロドメイン病としてのインスリン抵抗性と2型糖尿病；ガングリオシドGM3の関与
未来を拓く糖鎖科学. 永井克孝 監修 2005 360-361. 金芳堂

井ノ口仁一
インスリン抵抗性と2型糖尿病-ガングリオシドGM3

遺伝子医学MOOK. 糖鎖と病気 2005 3 号. メディカルドゥ

井ノ口仁一（2005）マイクロドメイン病としてのインスリン抵抗性と2型糖尿病：
ガングリオシド GM3 の関与-糖鎖科学の新展開「機能解明・次世代材料・医薬品開
発に向けて」第2編第1章第4節 P166-173（NTS Inc）

7. 研究期間中の主な活動

年月日	名称	場所	参加人数	概要

8. 結び

本クレスト研究の実施は、研究代表者が所属した北海道大学大学院薬学研究科および現在の東北薬科大学分子生体膜研究所・機能病態分子学教室に所属された多くの研究協力者、そして国内外の諸研究施設の共同研究者との成果であります。ここに、心からの謝意を表します。