

京都大学薬学研究科 教授

川寄 敏祐

「糖鎖シグナルを介する生体防御システムの解析」

1. 研究実施の概要

基本構想

近年、糖タンパク質、糖脂質などの形で存在する糖鎖に含まれる糖鎖シグナルが、生体内のさまざまな機構において重要な役割を持つことが明らかにされてきている。生体の防御機構は、先天性免疫と獲得性免疫に分けられる。獲得性免疫が、高等動物の特性であるのに対し、先天性免疫は下等動物より高等動物まで動物全体に見られるより基本的な生体防御機構である。最近、この先天性免疫においても糖シグナルが大変重要な役割を持つことが明らかに成りつつある。生体における糖鎖シグナルは、糖鎖認識機構である内在性糖結合タンパク質（動物レクチン）により認識される。動物レクチンは哺乳類から無脊椎動物まで血液成分として広く分布しているほか、細胞表面に存在し、糖特異的エンドサイトーシスの受容体として異物の排除を担っている。本研究は、このような高等動物から下等動物に至る普遍的な基本原理としての糖鎖シグナルと糖鎖認識機構を介する生体防御機構の全貌の解明を、それぞれの領域で国際的に高い評価を得ている3つのグループの総合的かつ統合的な研究による解明をめざした。

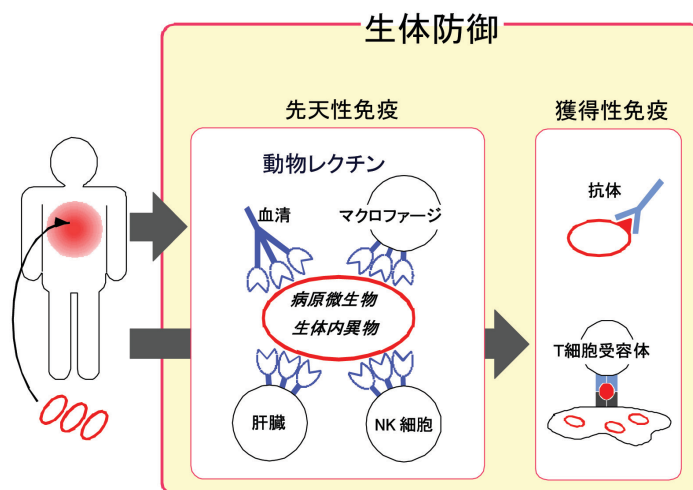
研究成果の概要

「哺乳動物の生体防御グループ」では、主に以下の研究成果をあげた。

1) マンナン結合タンパク質 (mannan-binding protein, MBP) は筆者らにより見出された血清レクチンである。その後、同じく筆者らにより MBP が補体活性化作用を持つことが見出された (1987 年)。この補体活性化

経路は、現在、第3の経路として、広く認められて、レクチン経路と呼ばれている。本研究では、この MBP による補体活性化の分子機構を解明した。すなわち、MBP による補体の活性化にはその高次オリゴマー形成が不可欠であることを明らかにした。高次オリゴマーでは、その中心部に球状結節様構造が形成され、ここに、補体系セリンプロテアーゼが結合することを明らかにした。この球状構造を SPBD (serine protease binding domain, SPBD) と名づけた。また、MBP 分子上の糖結合活性部位の空間位置情報を得ることができ、自然免疫における異物認識の特徴といわれるパターン認識の実体に迫ることができた。

2) MBP は補体系を活性化することなく、がん増殖抑制作用を示すことを、動物実験によるがんの遺伝子療法により明らかにした。この新しい生体防御機能を細胞性細胞傷害作用 (MDCC) と名づけた。さらに、この機構を解析し、がん細胞表面の糖鎖リガンドと結



合した MBP が、単球形細胞を活性化し、ついで、活性化された単球形細胞より放出された液性因子ががん細胞に作用し、細胞傷害活性を示すことを明らかにした。また、リガンド糖鎖に結合した MBP は、ヒト多形核白血球を活性化し、走化性因子を放出することにより多形核白血球を凝集させ、活性酸素を放出することを見出した。

さらに、がん増殖抑制作用を引き起こすがん細胞表面の MBP リガンドは、フコースを含む血液型関連糖鎖であるルイス a およびルイス b 糖鎖が主要なエピトープであること明らかにした。また、このリガンド糖鎖を単離し、これらのエピトープは、これまでに報告のない新規な N-グリコシド型の高分子糖鎖の側鎖として含まれることを明らかにした。

3) MBP には遺伝子多形が存在することが知られている。今回、この変異型 MBP は高次オリゴマー形成能を欠損していることが明らかにした。また、この変異型 MBP 保有者では MBP の血中濃度が低いことが知られているがその理由は不明であった。そこで、MBP の転写制御の機構を調べ、遺伝子の転写は HNF-3 (hepatocyte nuclear factor 3) 応答配列を介して正の制御を受けること、グルココルチコイド応答配列を介してデキサメサゾンにより負の制御を受けることを明らかにした。また、変異型 MBP は野生型 MBP に比べ血液中での代謝回転が速いことを示し、血中濃度減少の一つの理由を明らかにした。

4) MBP は肝臓でのみ生合成されるものと考えられていたが、肝臓型 L-MBP が小腸、特に空腸の絨毛先端部の小腸上皮細胞において強く発現することを明らかにした。腸管免疫における MBP の役割を示唆している。

5) 胸腺細胞表面に含まれる膜結合型のチロシンホスファターゼ CD45 分子、CD45RO、が MBP と強く反応することを明らかにした。

6) ブタ血清中に新規な殺菌性レクチンを見出し、その精製と遺伝子クローニングに成功し、本レクチンがマンノース 6-リン酸を認識するレクチンであることを明らかにした。

7) CD57/HNK-1 糖鎖抗原は免疫系 (NK 細胞等) および神経系に特異的に発現する珍しい構造をもつ糖鎖抗原 (硫酸化グルクロン酸) である。本抗原の生合成を担うグルクロン酸転移酵素 (GlcAT-P、GlcAT-S) の遺伝子クローニングに成功し、続いて GlcAT-P 欠損マウスを作成したところ、海馬シナプスにおける長期増強 (LTP) の抑制、水迷路試験による空間学習能力の減少が観察され、本抗原が高次脳機能の維持に必要であることを明らかにした。

「糖鎖シグナルと疾病グループ」では、主に以下の研究成果をあげた。

1) 免疫系において重要な役割を果たしているサイトカインが生理活性を発現する場合のモジュレーターとしての糖鎖シグナルに着目して研究を行った。その結果、IL-2 及び IL-18 は特定の糖鎖を認識することによって生理機能が促進されることを発見し、サイトカインの生理活性発現を調節する因子としての糖鎖の重要性を明らかにした。

2) 大腸のがん化に伴う糖鎖シグナルの変化は、がんの浸潤、転移の原因の一つである。大腸上皮の主要糖鎖である硫酸化糖鎖の生合成機構の律速となる硫酸転移酵素の中で、

粘液産生大腸がんにも異所性発現する GlcNAc 6-O-硫酸転移酵素-2 を発見し、同定した。また、スルホムチンの主要糖鎖 3'スルホルイス a 及び 3'スルホコア 1 鎖合成に関わる Gal 3-O-硫酸転移酵素群を同定した。

3) VIP36 は大量発現された糖タンパク質の細胞内輸送に関与する細胞内レクチンであると推定されている。そこで、VIP36 の詳細な糖結合特異性、細胞内局在性、輸送機構における役割を解析した。

4) ガレクチンファミリーの 1 つであるガレクチン-4 が 3'-硫酸化コア 1 鎖を認識することを初めて明らかにした。また、この抗体を作製して組織染色すると、組織特異的、なおかつ分化した細胞と増殖性細胞とでは局在性が異なり、ガレクチン-4 の機能の多様性が示された。

「無脊椎動物の生体防御グループ」では、主に以下の研究成果をあげた。

1) 無脊椎動物であるカブトガニより新規な生体防御分子を単離精製し、その一次構造、高次構造を解析することにより、先天性免疫における異物認識の基本機構を明らかにした。すなわち、カブトガニの顆粒細胞の大顆粒からこれまで知られていたタキレクチン (TL)-1、TL-2 に加えて、糖鎖結合特異性のことなる TL-3 を精製し、機能解析とクローニングを行った。一方、血漿よりアセチル基を認識する 2 種類の強い赤血球凝集活性と細菌凝集活性を示す TL-5A、TL-5B を精製し、機能解析とクローニングを行った。TL-5 は、フィブリノーゲン (β や γ 鎖) の相同タンパク質であった。また、TL-2、TL-5A の X 線結晶構造解析に成功した。TL-2 の立体構造は、5 回の繰り返し配列を反映して、5 つの β -プロペラ構造から構成される正五角形トラスである。また、レクチン-リガンド複合体の構造解析から、それぞれのプロペラに 1 個の D-GlcNAc が結合していることが判明した。一方、フィブリノーゲン重合ポケットと TL-5A のアセチル基を結合する部位は、立体構造的に見事に保存されていた。自己 (フィブリン) と非自己 (感染微生物) が共通の祖先タンパク質から進化したタンパク質で認識されることが判明した。また、顆粒細胞から 3 種類の抗菌ペプチド、タキスタチン A、B、C を精製するとともに、機能解析とクローニングを行った。さらに、タキサイチンの溶液中での構造を NMR より決定した。

2) カブトガニヘモシアニンが、その体液凝固プロテアーゼの一つである凝固酵素と反応して、フェノールオキシダーゼ活性を発現することを見いだした。

3) 種々のカブトガニ生体防御因子に対する抗体を用いた FACSscan による解析の結果、大顆粒成分であり、LPS と特異的に結合してセリンプロテアーゼ活性を発現する前駆体で、体液凝固カスケードの開始因子である FactorC に類似した抗原が細胞表面に存在することが明らかとなった。

4) カブトガニ外皮を構成する主要タンパク質分子のうち、特にキチンと結合するタンパク質をキチンアフィニティークロマトグラフィーを用いて精製した。

2. 研究構想

本研究はいずれも糖鎖シグナルを介する生体防御の分野で国際的に高いオリジナリティーをもつ研究グループが新しい展開を目指したものである。研究成果は羅列的な情報量の増大を目的としたものではなく、新しいコンセプトの確立をめざした。

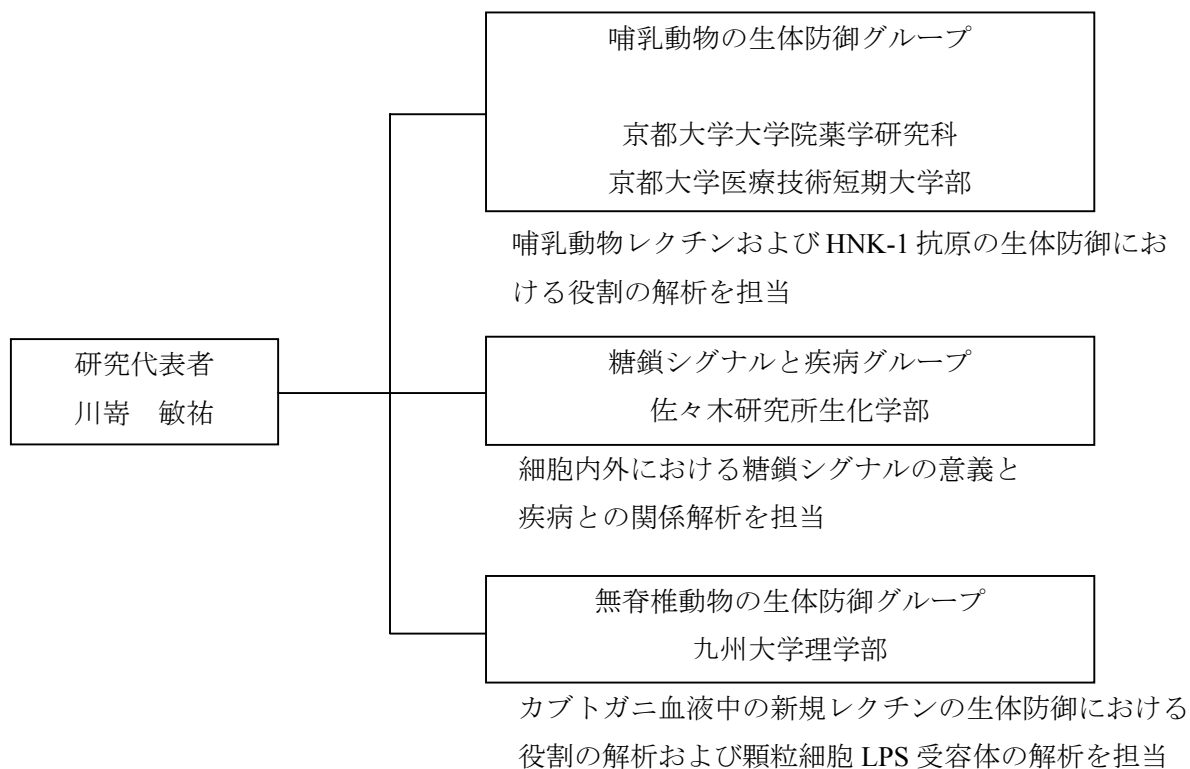
「哺乳動物の生体防御グループ」では、血清レクチン MBP が、以前に明らかにした補体系の活性化を介する生体防御作用の他に、補体非依存的に細胞傷害作用を持つことを見出し、この作用を MBP 依存的細胞性細胞傷害作用(MDCC)と呼んだ。MBP は MDCC によりがん細胞傷害作用を示すことを明らかにした。がん細胞表面における MBP リガンド認識は、外来性微生物の認識に関与していたマンノース残基ではなくフコース残基の認識によること、また、そのリガンド構造は血液型関連糖鎖を含む新規なポリラクトサミン型糖鎖であることを明らかにした。MBP の小腸粘膜上皮に発現を見出し、腸管免疫における本レクチンの新たな役割を提出した。

「糖鎖シグナルと疾病グループ」では、各種サイトカインがレクチン活性を持つこと、また、このレクチン活性が免疫細胞へのシグナル伝達に重要な役割を持つことを見出し、細胞表面におけるサイトカイン-サイトカイン受容体相互作用において、従来よく知られているペプチド間相互作用に、ここで見出された糖鎖-レクチン相互作用が加わることによる dual recognition により効率的なシグナル伝達が達成されることを見出した。

「無脊椎動物の生体防御グループ」では、新規カプトガニレクチンの発見とその構造生物学的研究で世界をリードする成果をあげ、分子レベルにおける「パターン認識」機構の解明に大きく貢献した。

3. 研究実施体制

(1) 体制



4. 研究期間中の主な活動

(1) ワークショップ・シンポジウム等

なし

5. 主な研究成果

(1) 論文発表（国内 36 件、海外 76 件）

<哺乳動物の生体防御グループ>（京都大学）

1. Masaki, M., Ikeda, A., Shiraki, E., Oka S. and Kawasaki, T., Mixed lineage kinase LZK and antioxidant protein-1 activate NF-kB coordinately. *E.J.B.* 270(1), 76-83 (2003)
2. Hart, M. L., Saifuddin, M., Uemura, K., Bremer, E.G., Hooker, B., Kawasaki, T. and Spear, T., High mannose glycans and sialic acid on gp120 regulate binding of mannose- binding lectin (MBL) to HIV-1. *AIDS.* 18(17), 1311-1317 (2002)
3. Uemura, K., Saka, M., Nakagawa, T., Kawasaki, N., Thiel, S., Jensenius J. C. and Kawasaki, T., L-type mannan binding protein is expressed in epithelial cells of mouse small intestine. *J. Immunology*, 169, 6945-6950 (2002)
4. Imiya, K., Ishizaki, T., Seiki, T., Saito, F., Inazawa, J., Oka, S. and Kawasaki, T., cDNA cloning,

- genomic structure and chromosomal mapping of the mouse glucuronyltransferase-S involved in the biosynthesis of the HNK-1 carbohydrate epitope. *Gene*, 296, 29-36 (2002)
5. Ikeda, A., Sakuma, H., Masaki, M., Kozutsumi, Y., Oka S. and Kawasaki, T., Genomic organization and fine-mapping of the human leucine zipper-bearing kinase (LZK) gene. *J. Biochem. Mol. Biol. Biophys.*, 6(2), 113-116 (2002)
 6. Yamamoto, S., Oka, S., Saito, F., Inazawa J., and Kawasaki, T., Molecular cloning and genomic analysis of mouse glucuronyltransferase involved in biosynthesis of the HNK-1 epitope. *J. Biochem.* 131(3), 337-347 (2002)
 7. Yamamoto, S., Oka, S., Inoue, M., Shimuta, M., Manabe, T., Takahashi, H., Miyamoto, M., Asano, M., Sakagami, J., Sudo, K., Iwakura, Y., Ono, K. and Kawasaki, T., Mice deficient in nervous system-specific carbohydrate epitope HNK-1 exhibit impaired synaptic plasticity and spatial learning. *J. Biol. Chem.* 277(30), 27227-27231 (2002)
 8. Ikeda, A., Masaki, M., Kozutsumi, Y., Oka, S. and Kawasaki, T., Identification and characterization of functional domains in a mixed lineage kinase LZK. *FEBS Lett.*, 488, 190-195 (2001)
 9. Katsuyama, R., Morioka, A., Oka, S. and Kawasaki, T., Expression of macrophage asialoglycoprotein-binding protein is induced through MAPK classical pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 280 (5), 1269-1273 (2001)
 10. Yamaji, T., Nakamura, S., Takematsu, H., Kawasaki, T. and Kozutsumi, Y., Apoptosis of CTLL-2 cells induced by an immunosuppressant, ISP-I, is caspase-3-like protease-independent. *J. Biochem.*, 129, 521-527 (2001)
 11. Uwatoku, R., Akaike, K., Yamaguchi, K., Kawasaki, T., Ando M. and Matsuno, K., Asialoglycoprotein receptors on rat dendritic cells: Possible roles for binding with kupffer cells and ingesting virus particles. *Arch. Histol. Cytol.*, 64 (2), 223-232 (2001)
 12. Ikeda, A., Hasegawa, K., Masaki, M., Moriguchi, T., Nishida, E., Kozutsumi, Y., Oka, S. and Kawasaki, T., Mixed lineage kinase LZK forms a functional signaling complex with JIP-1, a scaffold protein of the c-Jun NH2-terminal kinase pathway. *J. Biochem.*, 130, 773-781 (2001)
 13. V-Jensen, T., Sorensen, E.S., Jensen, U.B., Schwaebler, W., Kawasaki, T., Wakamiya, N., Jensen, T.G., Takahashi, K., Ezekowitz, R.A., Thiel, S. and Jensenius, J.C. Recombinant expression of human mannose-binding lectin. *Int. Immunopharm.*, 1(4), 677-687 (2001)
 14. Oka, S., Terayama, K., Imiya, K., Yamamoto, S., Kondo, A., Kato, I. and Kawasaki, T., The N-glycan acceptor specificity of a glucuronyltransferase, GlcAT-P, associated with biosynthesis of the HNK-1 epitope. *Glycoconjugate J.*, 17(12), 877-885 (2000)
 15. Ueda, K., Wiesmuller, K-H., Kienle, S., Jung, G., Tamamura, H., Yamagishi, H., Okumura, K., Walden, P., Suto, T. and Kawasaki, T., An automated prediction of MHC class I-binding peptides based on positional scanning with peptide libraries. *Immunogenetics*, 51, 816-828 (2000)
 16. Mitsumoto, Y., Oka, S., Sakuma, H., Inazawa, J. and Kawasaki, T., Cloning and chromosomal mapping of human glucuronyltransferase involved in biosynthesis of the HNK-1 carbohydrate epitope. *Genomics*, 65, 166-173 (2000)
 17. Ohtsubo, K., Imajo, S., Ishiguro, M., Nakatani, T., Oka, S. and Kawasaki, T., Studies on the structure-function relationship of the HNK-1 associated glucuronyltransferase, GlcAT-P, by computer modeling and site directed mutagenesis. *J. Biochem.*, 128, 283-291 (2000)

18. Kanazawa, T., Nakamura, S., Momoi, M., Yamaji, T., Takematsu, H., Yano, H., Sabe, H., Yamamoto, A., Kawasaki, T. and Kozutsumi, Y., Inhibition of cytokinesis by a lipid metabolite, psychosine. *J. Cell Biol.*, 149, 943-950 (2000)
19. Sun, Y., Taniguchi, R., Tanoue, D., Yamaji, T., Takematsu, H., Mori, K., Fujita, T., Kawasaki, T. and Kozutsumi, Y., Sli2 (Ypk1), a homologue of mammalian protein kinase SGK, is a downstream kinase in the sphingolipid-mediated signaling pathway of yeast. *Mol. Cell Biol.*, 20, 4411-4119 (2000)
20. Ma, Y., Uemura, K., Oka, S., Kozutsumi, Y., Kawasaki N., and Kawasaki, T., Antitumor activity of mannan-binding protein in vivo as revealed by a virus expression system: Mannan-binding protein dependent cell-mediated cytotoxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96, 371-375 (1999)
21. Seiki, T., Oka, S., Terayama, K., Imiya, K. and Kawasaki, T., Molecular cloning and expression of a second glucuronyl transferase involved in the biosynthesis of the HNK-1 carbohydrate epitope. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 255 (1), 182-187 (1999)
22. Naito, H., Ma, Y., Uemura, K., Y. Asano and Kawasaki, T., Metabolic properties of normal and mutant mannan-binding proteins in mouse plasma. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 256, 231-234 (1999)
23. Kawasaki, T., Structure and biology of mannan-binding protein, MBP, an important component of innate immunity. *Biochim. Biophys. Acta*, 1473, 186-195 (1999)
24. Naito, H., Ikeda, A., Hasegawa, K., Oka, S., Uemura, K., Kawasaki, N. and Kawasaki, T., Characterization of human serum mannan-binding protein promoter. *J. Biochem.*, 126, 1004-1012 (1999)
25. Tone, Y., Kitagawa, H., Imiya, K., Oka, S., Kawasaki, T. and Sugahara, K., Characterization of recombinant human glucuronyltransferase I involved in the biosynthesis of the glycosaminoglycan-protein linkage region of proteoglycans. *FEBS Lett.*, 459, 415-420 (1999)
26. Terayama, K., Seiki, T., Nakamura, A., Matsumori, K., Ohta S., Oka, S., Sugita M. and Kawasaki, T., Purification and characterization of a glucuronyltransferase involved in the biosynthesis of the HNK-1 epitope on glycoproteins from rat brain. *J. Biol. Chem.*, 273, 30295-30300 (1998)
27. Kitagawa, H., Tone, Y., Tamura, J., Neumann, K.W., Ogawa, T., Oka, S., Kawasaki, T. and Sugahara, K., Molecular cloning and expression of Glucuronyltransferase I involved in the biosynthesis of the glycosaminoglycan-protein linkage region of proteoglycans. *J. Biol. Chem.*, 273, 6615-6618 (1998)
28. Uenishi, H., Iwanami, N., Kuribayashi, K., Tamamura, H., Fujii, N., Nakatani, T., Kawasaki, T. and Yamagishi, H., Overlapping epitopes of friend murine leukemia virus gag-encoded leader sequence recognized by single cytotoxic T-lymphocyte clones. *Immunol. Lett.*, 62, 33-38 (1998)
29. Uenishi, H., Iwanami, N., Yamagishi, H., Nakatani, T., Kawasaki, T., Tamamura, H., Fujii N., and Kuribayashi, K., Induction of cross-reactivity in an endogenous viral peptide non-reactive to FBL-3 tumor-specific helper T-cell clones *Microbiol. Immunol.*, 42, 479-484 (1998)
30. Kawasaki, N., Satonaka, M., Imagawa, M., Naito, H. and Kawasaki, T., Functional characterization of the bovine conglutinin promoter: Presence of a novel element for transcriptional regulation of a C-type mammalian lectin containing a collagen-like domain. *J.*

- Biochem.*, 124, 1188-1197 (1998)
31. Schmelz, E., Dombrink-Kurtzman, M., Roberts, P., Kozutsumi, Y., Kawasaki, T. and Merrill, A., Induction of apoptosis by fumonisin B1 in HT29 cells is mediated by the accumulation of endogenous free sphingoid bases. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 148, 252-260 (1998)
 32. Irie, A., Koyama, S., Kozutsumi, Y., Kawasaki, T. and Suzuki, A., The molecular basis for the absence of N-glycolylneuraminic acid in humans. *J. Biol. Chem.*, 273, 15866-15871 (1998)
 33. Matsuda, M., Shikata, K., Wada, J., Sugimoto, H., Shikata, Y., Kawasaki, T. and Makino, H., Deposition of mannan binding protein and mannan binding protein-mediated complement activation in the glomeruli of patients with IgA nephropathy. *Nephron*, 80, 408-413 (1998)
 34. Terayama, K., Oka, S., Seiki, T., Miki, Y., Nakamura, A., Kozutsumi, Y., Takio, K. and Kawasaki, T., Cloning and functional expression of a novel glucuronyltransferase involved in the biosynthesis of the carbohydrate epitope, HNK-1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94, 6093-6098 (1997)
 35. Morio, H., Kurata, H., Katsuyama, R., Oka, S., Kozutsumi, Y. and Kawasaki, T., Renal expression of serum-type mannan-binding protein in rat. *Eur. J. Biochem.*, 343, 770-774 (1997)
 36. Ma, Y., Shida, H. and Kawasaki, T., Functional expression of human mannan-binding proteins (MBPs) in human hepatoma cell lines infected by recombinant vaccinia virus: Post-translational modification, molecular assembly, and differentiation of serum and liver MBP. *J. Biochem.*, 122, 810-818 (1997)
 37. Sakuma, H., Ikeda, A., Oka, S., Kozutsumi, Y., Zanetta, J.P. and Kawasaki, T., Molecular cloning and functional expression of a cDNA encoding a new member of mixed lineage protein kinase from human brain. *J. Biol. Chem.*, 272, 28622-28629 (1997)
 38. Sakuma, H., Itoh, T., Oka, S. and Kawasaki, T., A monoclonal antibody recognizing nestin and the phosphorylated form of neurofilament-M. *Dev. Neurosci.*, 19, 348-356 (1997)
 39. Yamaji, T., Miyake, Y., Kozutsumi, Y. and Kawasaki, T., Neutral glycosphingolipids induce cell-cell aggregation of a variety of hematopoietic cell lines. *Eur. J. Biochem.*, 247 (1), 21-29 (1997)
 40. Bakker, H., Friedmann, I., Oka, S., Kawasaki, T., Nifant'ev, N., Schachner, M. and Mantei, N., Expression cloning of a cDNA encoding a sulfotransferase involved in the biosynthesis of the HNK-1 carbohydrate epitope. *J. Biol. Chem.*, 272, 29942-29946 (1997)
 41. 川寄敏祐監訳、レーニンジャーの新生化学第3版、廣川書店、(2002)
 42. 川寄敏祐、先天性免疫と血清レクチン、ポストゲノム時代の糖鎖生物学がわかる、羊土社、p111 (2002)
 43. 川寄敏祐、糖鎖リモデリングと疾病、細胞、34(2), 50-51 (2002)
 44. Oka, S. and Kawasaki, T., HNK-1 Glucuronyltransferase. "Handbook of Glycosyltransferases and related genes." (eds. Taniguchi, N., Honke, K. and Fukuda, M.) 359-367 (2002)
 45. Yamamoto, S. and Oka, S., Glucuronyltransferases involved in the HNK-1 carbohydrate epitope biosynthesis. *Trend. Glycosci. Glycotech.* 13 (70) 193-208 (2001)
 46. 川寄敏祐、岡 昌吾、神経系特異的糖鎖抗原 HNK-1 の役割、日本神経精神薬理学雑誌、21, 95-99 (2001)
 47. 川寄敏祐、 α_1 -酸性糖タンパク質、廣川タンパク質化学、血漿タンパク質 1, 20-24 (2001)
 48. 川寄敏祐、自然免疫とマンナン結合タンパク質、感染・炎症・免疫、31(4), 22-29 (2001)

49. 川寄敏祐、生体防御レクチン、生化学、73 (3), 167-178 (2001)
50. 川寄敏祐、生体防御と動物レクチン、シリーズ・バイオサイエンスの新世紀 糖と脂質の生物学、川寄敏祐・井上圭三編、共立出版、45-57 (2001)
51. 岡 昌吾、山本昌司、川寄敏祐、神経系と糖鎖、シリーズ・バイオサイエンスの新世紀 糖と脂質の生物学、川寄敏祐・井上圭三編、共立出版、81-89 (2001)
52. 川寄敏祐、糖鎖情報で感染に立ち向かうマンナン結合タンパク質による生体防御--補体活性化作用および細胞性細胞障害作用、*Molecular Medicine*, 36 (8), 848-853 (1999)
53. 大坪和明、生木尚志、岡 昌吾、川寄敏祐、神経系における HNK-1 糖鎖抗原の生物学的役割、蛋白質、核酸、酵素、43 (16), 102-108 (1998)
54. 上村和秀、馬 永、内藤はるな、川寄伸子、川寄敏祐、先天性免疫に関与する血清マンナン結合蛋白質の構造と機能、蛋白質、核酸、酵素、43 (16), 164-170 (1998)
55. 川寄敏祐監訳、キャンベル生化学第2版、廣川書店、(1998)
56. T. Kawasaki, Biological Functions of Mannan-Binding Protein., *Fungal Cells in Biodefense Mechanism*, SAIKON Publishing Co., Ltd., 183-187(1997)

<糖鎖シグナルと疾病グループ> (佐々木研究所)

1. Ohkura, T., Seko, A., Hara-Kuge, S., and Yamashita, K., Occurrence of secretory glycoprotein-specific GalNAc $\beta \rightarrow 4$ GlcNAc sequence in *N*-glycans in MDCK cells. *J. Biochem. (Tokyo)*, 132(6), 891-901 (2002)
2. Hara-Kuge, S., Ohkura, T., Ideo H., Shimada, O., Atsumi, S., and Yamashita, K., Involvement of VIP36 in intracellular transport and secretion of glycoproteins in polarized MDCK cells. *J. Biol. Chem.*, 277, 16332-16339 (2002)
3. Seko, A., Nagata, K., Yonezawa, S., and Yamashita, K., Ectopical Expression of a GlcNAc 6-*O*-sulfotransferase, GlcNAc6ST-2, in Colonic Mucinous Adenocarcinoma. *Glycobiology*, 12, 379-388 (2002)
4. Ideo, H., Seko, A., Ohkura, T., Matta, K.L. and Yamashita, K., High Affinity Binding of Recombinant Human Galectin-4 to $\text{SO}_3^- \rightarrow 3\text{Gal} \beta 1 \rightarrow 3\text{GalNAc}$ pyranoside. *Glycobiology*, 12, 199-208 (2002)
5. Seko, A., Nagata, K., Yonezawa, S., and Yamashita, K., Down-regulation of Gal 3-*O*-sulfotransferase-2 (Gal3ST-2) Expression in Human Colonic Non-mucinous Adenocarcinoma. *Jpn. J. Cancer Res.*, 93, 507-515 (2002)
6. Fukushima, K., Hara-Kuge, S., Ideo, H., and Yamashita, K., Carbohydrate recognition site of interleukin-2 in relation to cell proliferation. *J. Biol. Chem.*, 276, 31202-31208 (2001)
7. Seko, A., Hara-Kuge, S., and Yamashita, K., Molecular cloning and characterization of a novel human galactose 3-*O*-sulfotransferase that transfers sulfate to Gal $\beta 1 \rightarrow 3\text{GalNAc}$ residue in *O*-glycans. *J. Biol. Chem.*, 276, 25697-25704 (2001)
8. Fukushima, K., and Yamashita, K., Interleukin-2 carbohydrate recognition modulates CTLL-2 cell proliferation. *J. Biol. Chem.*, 276, 7351-7356 (2001)
9. Tsuchida, T., Ikeda, H., Yamashita, K. and Kaneko, M., Hereditary persistence of α -fetoprotein and its origin. *Medical and Pediatric Oncology*, 35, 506-507 (2000)
10. Seko, A., Sumiya, J., Yonezawa, S., Nagata, K., and Yamashita, K., Biochemical differences in two types of *N*-acetylglucosamine: $\rightarrow 6$ sulfotransferase between human colonic adenocarcinomas and the adjacent normal mucosa: specific expression of a GlcNAc: $\rightarrow$

- 6sulfotransferase in mucinous adenocarcinoma. *Glycobiology*, 10, 919-929 (2000)
11. Yamanoi, T., Inagaki, J., Mizuno, M., Yamashita, K. and Inazu, T., Syntheses of partial structures of glycosyl phosphatidylinositol anchor. *Heterocycles*, 52, 921-928 (2000)
 12. Yoshikawa, K., Umetsu, K., Shinzawa, H., Yuasa, I., Maruyama, K., Ohkura, T., Yamashita, K. and Suzuki, T., Determination of carbohydrate-deficient transferrin separated by lectin affinity chromatography for detecting chronic alcohol abuse. *FEBS Lett.*, 458, 112-116 (1999)
 13. Hara-Kuge, S., Ohkura, T., Seko, A. and Yamashita, K., Vesicular-integral membrane protein, VIP36, recognizes high-mannose type glycans containing $\alpha 1 \rightarrow 2$ mannosyl residues in MDCK cells. *Glycobiology*, 9, 833-839 (1999)
 14. Yamashita, K., Hara-Kuge, S. and Ohkura, T., Intracellular lectins associated with *N*-linked glycoprotein traffic. *Biochem. Biochim. Acta*, 1473, 147-160 (1999)
 15. Seko, A., Hara-Kuge, S., Yonezawa, S., Nagata, K. and Yamashita, K., Identification and Characterization of *N*-Acetylglucosamine-6-*O*-sulfate-Specific $\beta 1,4$ -Galactosyl-transferase in Human Colorectal Mucosa. *FEBS Lett.*, 440, 307-310 (1998)
 16. Fukushima, K., Hara-Kuge, S., Seko, A., Ikehara, Y. and Yamashita, K., Elevation of Gal: $\alpha 2 \rightarrow 6$ sialyltransferase and Gal: $\alpha 1 \rightarrow 2$ fucosyltransferase activities in human choriocarcinoma. *Cancer Res.*, 58, 4301-4306 (1998)
 17. Fukushima, K., Hada, T., Higashino, K. and Yamashita, K., Elevated serum levels of Trichosanthes japonica agglutinin-I reactive alkaline phosphatase in relation to high risk groups for hepatocellular carcinomas. *Clinical Cancer Res.*, 4, 2771-2777 (1998)
 18. Ozawa, H., Yamashita, K., Sakuraba, H., Itoh, K., Lase, R. and Tai, T., Generation and characterization of mouse monoclonal antibodies specific for *N*-linked oligosaccharides of glycoproteins. *Arch. Biochem. Biophys.*, 342, 48-57 (1997)
 19. Fukushima, K., Ohkura, T., and Yamashita, K., Synthesis of lipid-linked oligosaccharides is dependent on the cell cycle in rat 3Y1 cells. *J. Biochem.(Tokyo)*, 121, 415-418 (1997)
 20. Ohkura, T., Fukushima, K., Kurisaki, A., Sagami, H., Ogura, K., Ohno, K. and Yamashita, K., A partial deficiency of dehydrolipicol reduction is a cause of carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type I. *J. Biol. Chem.*, 272, 6868-6875 (1997)
 21. Fukushima, K., Hara-Kuge, S., Ohkura, T., Seko, A., Ideo, H., Inazu, T. and Yamashita, K., Lectin-like characteristics of recombinant human interleukin-1b recognizing glycans of glycosylphosphatidylinositol anchor. *J. Biol. Chem.*, 272, 10579-10584 (1997)
 22. Yamashita, K. Biosynthetic pathways of *N*-glycans. "Handbook of Glycosyltransferases and related genes." (eds. Taniguchi, Honke, K., Fukuda, M.) 625-630 (2002)
 23. Fukushima, K., and Yamashita, K., Functional significance of IL-2 carbohydrate recognition. *Trend. Glycosci. Glycotech.* 13, 595-602 (2001)
 26. Seko, A. Galectins involved in angiogenesis and nerve regeneration. *Trend. Glycosci. Glycotech.* 13, 99-100 (2001)
 27. 山下克子、大倉隆司、先天性グリコシル化異常症、バイオサイエンスの新世紀、第4巻、糖と脂質の生物学、90-102 (2001)
 28. 大倉隆司、オリゴ糖の微量分析法、生化学実験講座、東京化学同人、126-131 (2000)
 29. 瀬古玲、福島慶子、糖タンパク質のレクチンによる分離精製法、生化学実験講座、168-172 (2000)
 30. 山下克子、久下小百合、大倉隆司、VIP36の糖鎖認識と細胞内輸送における役割、蛋白

質核酸酵素、共立出版、Vol 43, 2455-2463 (1998)

31. 福島慶子、山下克子、肝産生 ALP 糖鎖と癌性変化 [特集・アルカリフォスファターゼ—マルチ機能蛋白]、臨床科学、エースアート社、157-163 (1997)

<無脊椎動物の生体防御グループ> (九州大学)

1. Suetake, T., Aizawa, T., Koganesawa, N., Osaki, T., Kobashigawa, Y., Demura, T., Kawabata, S., Kawano, K., Tsuda, S. and Nitta, K., Production and characterization of recombinant Tachycitin, the chitin-binding protein. *Protein Engineering*, 15(9), 763-769 (2002)
2. Osaki, T., Okino, N., Tokunaga, F., Iwanaga, S. and Kawabata, S., Proline-rich cell surface antigens of horseshoe crab hemocytes are substrates for protein cross-linking with a clotting protein coagulin. *J. Biol. Chem.*, 277(42), 40084-40090 (2002)
3. Kawabata, S. and Tsuda, R., Molecular basis of non-self recognition by the horseshoe crab tachylectins. *Biochim. Biophys. Acta*, 1572(2, 3), 414-421 (2002)
4. Fujitani, N., Kawabata, S., Osaki, T., Kumaki, Y., Demura, M., Nitta, K. and Kawano, K., Structure of the antimicrobial peptide tachystatin A. *J. Biol. Chem.* 277, 23651-23657 (2002)
5. Inamori, K., Koori, K., Mishima, C., Muta, T. and Kawabata, S., A horseshoe crab receptor structurally related to *Drosophila* Toll. *J. Endotoxin Res.* 6, 397-399 (2001)
6. Nagai, T., Osaki, T. and Kawabata, S., Functional conversion of hemocyanin to phenoloxidase by horseshoe crab antimicrobial peptides. *J. Biol. Chem.* 276, 27166-27170 (2001)
7. Kairies, N., Beisel, H.-G., Fuentes-Prior, P., Tsuda, R., Muta, T., Iwanaga, S., Bode, W., Huber, R. and Kawabata, S., The 2.0-Å crystal structure of tachylectin 5 provides evidence for the common origin of the innate immunity and the blood coagulation systems. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 98, 13519-13524 (2001)
8. Inamori, K., Saito, T., Iwaki, D., Nagira, T., Iwanaga, S., Arisaka, F. and Kawabata, S., Horseshoe crab hemocyte-derived lectin recognizing specific O-antigens of lipopolysaccharides. *Adv. Exp. Med. Biol.* 484, 185-190 (2001)
9. Kawabata, S., Beisel, H.-G., Huber, R., Bode, W., Gokudan, S., Muta, T., Tsuda, R., Koori, K., Kawahara, T., Seki, N., Mizunoe, Y., Wai, S. N. and Iwanaga, S., Role of tachylectins in host defense of the Japanese horseshoe crab *Tachypleus tridentatus*. *Adv. Exp. Med. Biol.* 484, 195-202 (2001)
10. Suetake, T., Tsuda, S., Kawabata, S., Miura, K., Iwanaga, S., Hikichi, K., Nitta, K. and Kawano, K., Chitin-binding proteins in invertebrates and plants comprise a common chitin-binding structural motif. *J. Biol. Chem.* 275, 17929-17932 (2000)
11. Nagai, T. and Kawabata, S., A link between blood coagulation and prophenoloxidase activation in arthropod host defense. *J. Biol. Chem.* 275, 29264-29267 (2000)
12. Kawasaki, H., Nose, T., Muta, T., Iwanaga, S., Shimoshigashi, Y. and Kawabata, S., Head-to-tail polymerization of coagulogen, a clottable protein of the horseshoe crab. *J. Biol. Chem.* 275, 35297-35301 (2000)
13. Inamori, K., Saito, T., Iwaki, D., Nagira, T., Iwanaga, S., Arisaka, F. and Kawabata, S., A newly identified horseshoe crab lectin with specificity for blood group A antigen recognizes specific O-antigens of bacterial lipopolysaccharides. *J. Biol. Chem.* 274, 3272-3278 (1999)
14. Gokudan, S., Muta, T., Tsuda, R., Koori, K., Kawahara, T., Seki, N., Mizunoe, Y., Wai, S. N., Iwanaga, S. and Kawabata, S., Horseshoe crab acetyl group-recognizing lectins involved in

- innate immunity are structurally related to fibrinogen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 10086-10091 (1999)
15. Iwaki, D., Osaki, T., Yoshimitsu, M., Wai, S. N., Iwanaga, S. and Kawabata, S., Functional and structural diversities of C-reactive proteins present in horseshoe crab hemolymph plasma. *Eur. J. Biochem.* 264, 314-326 (1999)
 16. Nagai, T., Kawabata, S., Shishikura, F. and Sugita, H., Purification, characterization, and amino acid sequence of an embryonic lectin in perivitelline fluid of the horseshoe crab. *J. Biol. Chem.* 274, 37673-37678 (1999)
 17. Beisel, H.-G., Kawabata, S., Iwanaga, S., Huber, R. and Bode, W., Tachylectin-2: crystal structure of a specific GlcNAc/GalNAc-binding lectin involved in the innate immunity host defense of the Japanese horseshoe crab *Tachypleus tridentatus* *EMBO J.* 18, 2313-2322 (1999)
 18. Osaki, T., Omotezako, M., Nagayama, R., Hirata, M., Iwanaga, S., Kasahara, J., Hattori, J., Ito, I., Sugiyama, H. and Kawabata, S., Horseshoe crab hemocyte-derived antimicrobial polypeptides, tachystatins, with sequence similarity to spider neurotoxins. *J. Biol. Chem.* 274, 26172-26178 (1999)
 19. Kawabata, S. and Iwanaga, S., Role of lectins in the innate immunity of horseshoe crab. *Dev. Comp. Immunol.* 23, 391-400 (1999)
 20. 川畑俊一郎、カブトガニの感染菌に対する生体防御戦略、遺伝別冊、15 号、80-87、遺伝/生物の科学、(2002)
 21. 川畑俊一郎、医学のあゆみ、第 200 巻、831-835、医歯薬出版 (2002)
 22. 川畑俊一郎、私のおすすめ実験生物 3 : カブトガニ *Tachypleus tridentatus*., 細胞工学、第 21 巻、3 号、320-321、秀潤社 (2002)
 23. 川畑俊一郎、カブトガニのキチン結合活性を示す抗菌蛋白質群と自然免疫、蛋白質核酸酵素、増刊号、388-394、共立出版 (2001)
 24. 川畑俊一郎、無脊椎動物の自己と非自己を見分ける生体防御レクチン、蛋白質核酸酵素、第 45 巻、679-689、共立出版 (2000)
 25. 川畑俊一郎、カブトガニの異物認識の分子機構、生体の科学、第 51 巻、187-193、(財)金原一郎記念医学医療振興財団／医学書院 (2000)
 26. 川畑俊一郎、自己と非自己を見分ける生体防御レクチン、生物と化学、第 37 巻、647-652、学会出版センター (1999)
 27. 川畑俊一郎、無脊椎動物の先天性免疫と糖鎖認識蛋白質、*Biomedical Perspectives* 第 7 巻、2 号、68-80、メディカルレビュー社 (1998)

(2) 特許出願 (国内 4 件、海外 0 件)

1. 発明者 : 川寄敏祐

出願番号 : 平成 10 年特許願第 350283 号

出願日 : 平成 10 年 12 月 9 日

名 称 : ブタ血清レクチン遺伝子

2. 発明者 : 山下克子、瀬古 玲

出願番号 : 平成 10 年特許願第 313769 号

出願日 : 平成 10 年 11 月 4 日

名 称 : N-アセチルグルコサミン-6-硫酸特異的 β -1, 4 ガラクトース転移酵素

3. 発明者 : 川寄敏祐

出願番号 : 平成 11 年特許願第 267857 号

出願日 : 平成 11 年 9 月 21 日

名 称 : 血清マンナン結合蛋白質欠損マウス

4. 発明者 : 瀬古 玲、山下克子

出願番号 : 特願 2001-135642 号

出願日 : 平成 13 年 6 月 20 日

名 称 : 新規硫酸転移酵素及びその遺伝子

(3) 新聞報道等

①新聞報道

1) 日本薬学会第 118 年会 (平成 10 年) 「先天性生体防御と糖鎖 : 最近の話題」

この際の研究代表者の発表「血清レクチンと生体防御」は平成 10 年 4 月 7 日の京都新聞夕刊に紹介記事として掲載される。

2) 「ポストゲノム」～糖鎖研究に脚光～の記事が平成 14 年 1 月 15 日－17 日の日経産業新聞に 3 日間掲載される。

3) カプトガニレクチンのタキレクチン-2 の立体構造解析に基づく異物認識メカニズムの解明に関して共同通信にて全国配信された。例) 信濃毎日新聞 (平成 14 年 1 月 14 日朝刊)、日本海新聞 (平成 14 年 1 月 14 日朝刊)、山梨日日新聞 (平成 14 年 1 月 14 日朝刊)、熊本日日新聞 (平成 14 年 1 月 14 日朝刊)、宮崎日日新聞 (平成 14 年 1 月 14 日朝刊)、静岡新聞 (平成 14 年 1 月 12 日夕刊) などに掲載される。

4) カプトガニレクチンのタキレクチン-5A の立体構造解析に基づく異物認識メカニズムの解明に関して共同通信にて全国配信された。例) 中国新聞 (平成 14 年 4 月 21 日朝刊)、大分合同新聞 (平成 14 年 4 月 29 日朝刊)、京都新聞 (平成 14 年 5 月 16 日朝刊) などに掲載される。

②受賞

研究代表者は「生体分子認識における糖鎖の役割」にて平成 13 年度薬学会賞を受賞した。