

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「糖鎖の動態-機能相関への統合的アプローチ」

## 研究終了報告書

研究期間 平成16年10月～平成22年3月

研究代表者:木下 タロウ

大阪大学 免疫学フロンティア研究センター 糖鎖免疫学・教授  
微生物病研究所 生体防御研究部門・教授

## § 1 研究実施の概要

糖鎖の機能は、動態に対応して変化する。糖鎖の動態と機能の相関に統合的にアプローチするため、糖鎖動態を時間的流れに沿って、生成時の動態、膜上動態、プロセッシングの動態の3相に分けてとらえ、各相における機能との相関をとらえることを目的とした。対象として、GPI アンカー、N-、O-グリカン、グリコサミノグリカンを取り上げ、各相における糖鎖の動態を支配する構造的、細胞生物学的基盤を明らかにし、機能との相関の解明と病態解明への展開を図った。その結果、以下のような成果を得た。

(1) 糖鎖生成時の動態と機能発現に関し、英国で発見された先天性 GPI アンカー欠損症が、小胞体での GPI アンカー生合成の低下のために起こっており、それが PIGM 遺伝子のプロモーター変異によっている事を証明した(Almeida, Murakami et al, *Nat Med*, 2006)。さらに NaButyrate によってヒストンのアセチル化を回復させると生合成が回復することを発見し、英国グループによって治療に用いられた(Almeida, Murakami et al, *N Eng J Med*, 2007)。一方、哺乳動物の GPI アンカー型タンパク質の多くが、1 アルキル 2 アシル型ホスファチジルイノシトールを持っていることに関し、これが生合成の第 3 ステップ後にジアシル型から劇的に変化すること(Houjou et al, *J Lipid Res*, 2007)、それにペルオキシソームのアルキルリン脂質生合成経路が必要であることを示した(Kanzawa et al, *Proc Natl Acad Sci*, 2009)。前立腺癌、膀胱癌、精巣腫瘍などの泌尿器悪性腫瘍および尿路感染症などの腎・泌尿器領域の疾患における糖鎖発現の意義を検討した結果、特に、前立腺特異抗原(PSA)糖鎖の癌性変化を明らかにする成果を得た。すなわち、前立腺癌由来の PSA は末端にシアル酸が alpha-2,3 で結合し、分岐した N-glycan が多いこと、正常 PSA には 2 本鎖 N-glycan はほとんど含まれず、ハイブリッドタイプや高マンノースタイプが主体であることを明らかにした(Tajiri et al, *Glycobiology*, 2008)。膵がんの新しい腫瘍マーカーであるフコシル化ハプトグロビンの産生に関与するフコシル化制御因子として、インターロイキン6を同定し、これをレクチン ELISA キットで証明した(Inohara et al, *Biochem Biophys Res Commun*, 2008)。フコシル化制御因子の 1 つである GMD 遺伝子の変異を大腸癌で発見し、腫瘍免疫との関連を解析した(Moriwaki et al, *Gastroenterology*, 2009)。糖鎖の構造多様性における平衡支配の可能性を、N-アセチルグルコサミン転移酵素-III の協同的活性調節機構の速度論的モデルから反応可逆性の定量的な解析により示唆した(論文準備中)。グリコサミノグリカン糖鎖の生合成に関わる種々の糖転移酵素と硫酸基転移酵素の遺伝子の機能発現を、動物個体および培養細胞系において解析し、神経突起伸長に重要なコンドロイチン硫酸/デルマトン硫酸ハイブリッド鎖の機能構造と発現パターンを明らかにした(Mitsunaga et al, *J Biol Chem*, 2006 ほか)。

(2) 糖鎖の膜上動態と機能発現に関しては、小胞体で生成された GPI アンカー型タンパク質の不飽和脂肪酸が、ゴルジ体膜上で新規の PGAP2 と PGAP3 遺伝子の関与のもと、飽和脂肪酸に置き換えられる脂肪酸リモデリングが起こることを発見し、それが脂質ラフトへの濃縮に必須な現象であることを証明した(Tashima et al, *Mol Biol Cell*, 2006; Maeda et al, *Mol Biol Cell*, 2007)。また、GPI アンカー型タンパク質が小胞体からゴルジ体へ輸送される際に、第 2 マンノースに付加されているエタノールアミンリン酸側鎖が新規遺伝子 PGAP5 によって除去される糖鎖リモデリングを発見した。これが小胞体からの効率的な輸送に必要であることを示し、タンパク質の膜アンカーに脂質だけでなく複雑な糖鎖が含まれていることの意義のひとつを明らかにした(Fujita M et al, *Cell*, 2009)。さらに、GPI アンカー型タンパク質だけでなく、広く糖タンパク質と糖脂質の輸送及び N-、O-型糖鎖の構造形成に、ゴルジ体の pH が重要であること、その制御に新規の塩素イオンチャンネル GPHR がプロトンポンプのカウンターイオンチャンネルとして働くことが必須であることを明らかにした(Maeda Y et al, *Nat Cell Biol*, 2008)。リサイクリングエンドソームが、細胞内膜輸送の多くの経路で重要な中継地点として機能していることを示した(Misaki et al, *Biochem Biophys Res Commun* 2007)。また、糖脂質に依存する逆行性膜輸送経路へのリサイクリングエンドソームの関与と、その制御因子を明らかにすることができた。EGF と TGF-beta などの増殖因子受容体やインテグリンに付加された N-型糖鎖により、膜上受容体の機能が正にまたは負に制御されることを明らかにし、また、インテグリン二量体の形成に重要な糖鎖付加部位を同定した(Isaji et al, *J Biol Chem*, 2006; Isaji et al, *J Biol Chem*, 2009; Sato, et al, *J Biol Chem*, 2009)。

(3) 糖鎖プロセッシングの動態と機能発現に関し、GPI アンカー型タンパク質が精巣で細胞膜から遊離

することを追求し、精巢型アンジオテンシン変換酵素(tACE)が GPI を切断する GPIase 活性を持つこと、tACE による GPI 切断が受精能獲得に必要であることがわかった(Kondoh et al, *Nat Med*, 2005)。糖タンパク質から脱離した N 型糖鎖の細胞質でのプロセッシングの全体像を明らかにすることを旨とし、遊離糖鎖の微量簡便定量法を確立した(Suzuki, et al, *Anal Biochem*, 2008)。さらに、細胞質マンノシダーゼの Man2C1 が、分解経路においてマンノースの刈り込みに働くことを証明した(Suzuki, et al, *Biochem J*, 2006)。

## § 2. 研究構想

### (1) 当初の研究構想

糖鎖の動態と機能の相関に統合的にアプローチするため、糖鎖動態を変化の時間的流れに沿って3つの相に分けてとらえ、各相における機能との相関を明らかにする。第1は、「糖鎖生合成時の動態と機能発現」である。特に、GPI アンカー、N-グリカン、グリコサミノグリカンといった複雑な構造の糖鎖生合成時の動態を支配する構造的、細胞生物学的基盤を解明し、病態解明への展開を図る。

第2は、「糖鎖の膜上動態と機能発現」である。生合成された糖鎖は、細胞膜上・膜外に局在し機能を発現するが、特に膜のドメインである脂質ラフトは様々な膜構成成分が相互作用しつつ細胞内外の情報のやりとりを行う場になっている。脂質ラフトの構成成分である糖脂質と GPI アンカー型タンパク質のラフト局在メカニズム、細胞内トラフィッキングと機能発現の相関を解明する。

第3は、「糖鎖プロセッシングの動態と機能発現」である。できあがった糖鎖がグリコシダーゼなどによってプロセッシングを受け、新たに生成する糖鎖あるいは遊離したタンパク質が機能を発現する現象を対象に、糖鎖プロセッシングに働く酵素・制御因子群を解明する。さらに、それらの欠損・変調の糖鎖機能への影響を解析し、糖鎖プロセッシングが生体機能に果たす役割を解明する新領域を開く。

#### 1. 糖鎖生合成時の動態と機能発現(主担当:木下、菅原、田口友、池田、顧、大山、和田)

小胞体における GPI アンカーの生合成とタンパク質への付加に働く20数遺伝子が木下らの研究を中心に明らかになっているが、さらに GPI アンカーが付加された後、小胞体からゴルジ体へのトラフィッキング中に GPI アンカー部分の側鎖修飾が起り、さらに脂質リモデリングも起る。これらの構造変化の詳細と、修飾と輸送に働く遺伝子群を明らかにしようとするが、それらの異常は細胞表面での GPI アンカー型タンパク質の完全欠損から部分欠損まで様々な程度の影響を来すと予想される。これら一連の反応に関わる全遺伝子群の解明のため、新たに GPI アンカー型タンパク質発現変異細胞を徹底分離する。すでに我々が確立している GPI アンカー結合毒素を用いるスクリーニングの選択度を調節して用いることにより、欠損の程度が様々な変異細胞株を多数確立する。得られた変異細胞の責任遺伝子をクローニングする。さらに、タンパク質トラフィッキングに働く輸送小胞の解析を進めている研究分担者の田口友のグループと共同で、変異細胞におけるトラフィッキングの異常を解析する。一方、質量分析法で GPI アンカーの詳細構造を決定するシステムを構築している研究分担者の田口良のグループと共同で、変異細胞株の GPI アンカーの構造を決定し、たんぱく質への付加後に起こる構造変化を明らかにする。トラフィッキング、構造、責任遺伝子の解析から、GPI アンカー型タンパク質の生合成時の動態の構造的、細胞生物学的基盤を解明する。

研究分担者の菅原は、グリコサミノグリカン糖鎖の生合成に関わる種々の糖転移酵素と硫酸基転移酵素の遺伝子クローニングを行ってきた。本研究では、動物個体および培養細胞系において、これらの遺伝子の機能発現を攪乱することによって引き起こされるフェノタイプを見出し、糖鎖の機能を解明する。また、フェノタイプ発現のプロセスを詳細に検討し、生合成の攪乱の結果現れる糖鎖構造の変化を解析するとともに、どのような機能性タンパク質との相互作用の変化が起るかを解明し、グリコサミノグリカン糖鎖の動態と機能発現の分子メカニズムを統合的に解明する。実際には、マウス、ゼブラフィッシュ、培養細胞系で

遺伝子ノックアウト、ノックダウンを行い、糖鎖の構造変化と変化した糖鎖の細胞増殖因子、形態形成因子などの機能性タンパク質との相互作用を比較検討し、異常フェノタイプ発現の分子メカニズムを解明する。

N-グリカンが、組織、分化ステージ、癌化の程度などの違いによって異なる構造をとり、それが糖タンパク質の機能に大きな影響を与えることはよく知られている。研究分担者の池田は、ゴルジ体内での糖転移酵素群の空間的配置の解明が、こうしたN-グリカン構造の決定メカニズムの理解に重要であると考え、本研究では、細胞内での糖鎖アセンブリーの時間的推移をモニターする系の確立に取り組む。また、N-アセチルグルコサミン転移酵素III(GnT-III)を対象に、糖転移酵素サブユニット間の相互作用を解析する。これらの成果を、空間内配置の解析につなげる。顧は、GnT-III が高発現した細胞では、カドヘリンやインテグリンの機能変化が起こることを見出している。和田と協力し、質量分析技術を駆使して糖鎖構造を決定し、糖鎖構造の変化が主要な接着タンパク質の機能に及ぼす影響を解明する。大山は、泌尿器科の臨床研究に重点を置き、前立腺特異抗原(PSA)の N-グリカン構造の癌化に伴う変化を検出する手法を開発し、前立腺癌のスクリーニング効率を向上させる。さらに、GnT-V とコア2N-アセチルグルコサミン転移酵素を前立腺癌の悪性度マーカーとして取り上げ、治療方針決定因子としての応用を図る。

## 2. 糖鎖の膜上動態と機能発現(主担当:木下、田口友、田口良)

GPI アンカー型タンパク質は、脂質ラフトのマーカーに用いられるように、脂質ラフトに濃縮される典型的な膜構成成分である。木下は、GPI アンカー型タンパク質が脂質ラフトに濃縮されるメカニズムの解明を目指す。すでに樹立している GPI アンカー型タンパク質の脂質ラフトへの濃縮が低下した変異細胞株の責任遺伝子をクローニングし、GPI アンカー型タンパク質の脂質ラフトへの濃縮に働く因子を明らかにする。さらに、田口良のグループと共同で、変異細胞株の GPI アンカーの構造を決定し、ラフトへの濃縮に必要な GPI アンカーの構造を明らかにする。また、得られた遺伝子のノックアウトマウスを作成し、脂質ラフトへの組み込みの不全が GPI アンカー型タンパク質の機能に与える影響を解析するとともに、生体に及ぼす影響を解析する。

## 3. 糖鎖プロセッシングの動態と機能発現(主担当:鈴木、近藤)

主として以下の2つのテーマを推進し、生体機能に果たす糖鎖プロセッシングの重要性を明確にする。

真核細胞の細胞質に広く遊離の N 型糖鎖が蓄積、プロセスされる現象は古くから知られている。そのプロセスの順序として主に(1)糖タンパク質からの糖鎖の脱離(PNGase)(2)糖鎖の還元末端の GlcNAc 残基の脱離(ENGase)そして(3)非還元末端の Man 残基の脱離( $\alpha$ -マンノシダーゼ)の3段階で行われることが示唆されている。遊離糖鎖の生理機能については、例えば高等植物においては果実の成熟や茎の成長に関わるとされているが、生成過程の分子的基盤が全く不明であったため、それ以上解析されていないのが現状である。研究分担者の鈴木はこれまでに(1)の酵素の発見と遺伝子同定および(2)の酵素の遺伝子同定を世界に先駆けて行った。最近、(3)の酵素に関してもその遺伝子を突き止め、機能の解析をすすめている。本酵素の阻害は細胞質における遊離糖鎖の蓄積を引き起こし、細胞の成長を阻害したり形態に変化をおこしたりする。遊離糖鎖の生成、プロセッシングの分子機構の全容を明らかにし、その変質によってもたらされる細胞の形態変化のメカニズムに迫る。

研究分担者の近藤は、精巣において GPI アンカー型タンパク質が細胞から遊離することを見いだしていたが、それが精巣型アンギオテンシン変換酵素(ACE-T)による GPI アンカー部分の切断によって起こることを最近発見した。ACE-T は、体細胞型の ACE-S と異なり、本来のジペプチジルカルボキシペプチダーゼ活性以外に GPI アンカーを切断する活性部位を持っていることを示すデータを得ている。一方、ACE-T 欠損が雄性不妊をもたらすことが、ノックアウトマウスの解析から推定されている。ACE-T による GPI アンカー型タンパク質のプロセッシング過程の全容を明らかにする。さらに、プロセッシングの結果生成する遊離の部分 GPI の生物活性も含め、受精における GPI アンカープロセッシングの役割を解明する。

## (2)新たに追加・修正など変更した研究構想

平成16年度から19年度まで「グリコサミノグリカンの動態-機能相関への統合的アプローチ」の研究を分担した北海道大学先端生命科学院菅原一幸教授研究グループは、1)ヒトのコンドロイチン硫酸の生合成に関与する3種の糖転移酵素と重合因子のいずれか2つの相互作用によってコンドロイチン骨格の合成が可能であることの証明、2)ハエでのヘパラン硫酸合成における *EXT*ファミリーメンバーの3つの遺伝子産物がそれぞれ必須の固有の機能を有することの証明、3)ヒドラにグリコサミノグリカンの存在を示し、ヒアルロン酸は存在しないことの発見、4)ヘルペスウイルスの感染に細胞表面の CS-E がレセプターとして機能し最小糖鎖構造が八糖であることの証明、5)いくつかの硫酸化グリコサミノグリカン特異抗体の糖鎖エピトープの一次構造と高次構造の解明など一定の重要な成果をあげた。グループリーダーである菅原一幸教授が、NEDO プロジェクト、知的クラスター創成事業等のプロジェクトにも参画し、それらのプロジェクトが拡大することに伴い、より従事時間を増やす必要が生じたことから、本 CREST 研究の分担を平成19年度末で終了することとした。本チームには、新たに大阪大学医学系研究科三善英知教授にグループリーダーとして参画を求め、疾患への展開力を高めることとした。

### §3 研究実施体制

(○：研究代表者または主たる共同研究者)

#### (1)「木下タロウ」グループ

##### ① 研究参加者

	氏名	所属	役職	参加時期
○	木下 タロウ	大阪大学免疫学フロンティア研究センター／微生物病研究所	教授	H16-10～
	前田 裕輔	大阪大学微生物病研究所	准教授	H16-10～H19-8
	大石 一人	同上	助手	H16-10～H17-3
	芦田 久	同上	助手	H16-10～H17-12
	森田 康裕	同上	特任助教	H16-10～H17-3
	村上 良子	同上	助教	H16-10～
	瀧田 聡	同上	CREST 研究員	H16-12～H21-3
	木下 圭子	同上	研究生	H16-10～
	洪 淵喆	同上	特任研究員	H18-4～H19-2
	田嶋 優子	同上	特任研究員	H18-4～H19-3
	森 文子	同上	CREST 研究補助員	H18-4～H20-5
	三柳 加奈	同上	CREST 研究補助員	H18-9～H19-3
	永宗 喜三郎	同上	助手	H19-5～H20-1
	太田(今井)里永子	同上	特任研究員	H19-4～H19-12
	神澤 範行	同上	特任研究員	H19-4～
	森田康裕	同上	特任助教	H20-4～
	藤田 盛久	同上	CREST 研究員→特任助教	H20-4～
	成 智賢	同上	RA (D1)	H21-5～
	王 治陶	大阪大学免疫学フロンティア研究センター	CREST 研究員→特任研究員	H18-4～
	Matthew J. Stokes	同上	CREST 研究員→特任研究員	H19-7～

##### ② 研究項目:

- ・ GPI アンカー型タンパク質の生合成時の動態の解明
- ・ GPI アンカー型タンパク質の脂質ラフトへの組み込みと機能発現との相関の解明

#### (2)「池田 義孝」グループ

##### ① 研究参加者

	氏名	所属	役職	参加時期
○	池田 義孝	佐賀大学・医	教授	H16.10～
	高橋 素子	佐賀大学・医	助教授	H17.1～H18.12
	井原 秀之	佐賀大学・医	助教	H19.2～
	伊東 利津	佐賀大学・医	教務員	H16.10～
	岡田 貴裕	佐賀大学・医	CREST 研究員	H19.2～

##### ② 研究項目

- ・ アスパラギン結合型糖鎖のアセンブリと多様性の制御機構

(3)「大山 カ」グループ

① 研究参加者

	氏名	所属	役職	参加時期
○	大山 カ	弘前大学大学院医学研究科泌尿器科学講座	教授	H16.10～
	神村典孝	同上	准教授	H17.10～
	古家琢也	同上	講師	H16.10～
	橋本安弘	同上	助教	H19.7～
	米山高弘	同上	助教	H16.10～
	岩瀬郁哉	同上	助教	H18.10～
	畠山真吾	同上	助教	H20.10～
	工藤茂将	同上	助教	H21.8～
	盛 和行	同上	助教	H16.10～
	立和田 得志	同上	医員	H21.4～
	岡本亜希子	同上	医員	H17.4～
	山本勇人	同上	D2	H19.10～
	杉山尚樹	同上	D1	H21.4～
	鈴木裕一朗	同上	D1	H21.4～
	百瀬昭志	同上	特別研究員	H21.4～
	坪井滋	同上	特別研究員	H20.9～
	大和隆	同上	講師	H16.12～H19.7
	萩沢茂	同上	助手	H17.8～H19.10
	今井篤	同上	助手	H16.10～H21.3

② 研究項目

- ・ 前立腺特異抗原(PSA)の糖鎖構造解析
- ・ 前立腺癌の悪性を反映する新規バイオマーカーの開発
- ・  $\alpha$ -Galactosylceramide の NKT 細胞活性化作用を利用した尿路感染症治療法の開発
- ・ 泌尿器癌における糖転移酵素の遺伝子多型解析
- ・ ヒト精子の運動能におけるトロフィニンの役割
- ・ 癌の血行性転移における Sialyl Lewis X(sLeX)のリガンド探索
- ・ 前立腺液の癌特異的タンパク質の探索
- ・ 糖鎖を標的にした前立腺癌、膀胱癌治療の研究

(4)「顧 建国」グループ

① 研究参加者

	氏名	所属	役職	参加時期
○	顧 建国	東北薬科大学	教授	H16.11～H22.3
	福田 友彦	東北薬科大学	講師	H18.4～H22.3
	伊左治 知弥	東北薬科大学	助教	H16.11～H22.3
	陸 亮昊	東北薬科大学	委託研究員	H19.4～H20.6
	ハオ イエン	東北薬科大学	委託研究補助員	H19.6～H22.3
	許 青松	東北薬科大学	委託研究員	H21.11～H22.3
	佐伯 裕美	東北薬科大学	研究補助員	H18.4～H19.3
	赤間 亮太	東北薬科大学	M2	H18.4～H20.3
	佐藤 裕也	東北薬科大学	M2	H19.4～H21.3
	橋本 弘和	東北薬科大学	M1	H20.3～H22.3
	加藤 里佳	東北薬科大学	M1	H20.3～H20.9



②研究項目:

N-結合型糖鎖による細胞膜受容体の機能制御とそのメカニズムの解析

(5)「近藤 玄」グループ

① 研究参加者

	氏名	所属	役職	参加時期
○	近藤 玄	京都大学・再生医科学研究所	准教授	H16.10～
	谷 妙子	京都大学・再生医科学研究所	研究補助員	H17.4～H21.3
	出口 央士	京都大学・再生医科学研究所	技術職員	H16.10～
	村上 惇	京都大学・再生医科学研究所	技術補佐員	H17.4～H21.1
	折橋 郁	京都大学・再生医科学研究所、大 阪市立大学大学院医学研究科	D4	H18.4～
	竹村 浩昌	京都大学・再生医科学研究所、大 阪大学大学院医学系研究科	D4	H18.4～
	渡邊 仁美	京都大学・再生医科学研究所	教務補佐員	H19.10～
	大川 実穂	京都大学・再生医科学研究所	技術補佐員	H21.4～

② 研究項目

- ・ GPI-APの生体内での代謝メカニズムを解明するため、GPI-AP遊離因子を単離する。
- ・ 同定された因子につき、生体内での機能を解明するため、種々の遺伝子改変マウスを用いた解析を行う。

(6)「菅原 一幸」グループ

① 研究参加者

	氏名	所属	役職	参加時期
○	菅原 一幸	北海道大学	教授	H16.10～H20.3
	北川 裕之	神戸薬科大学	教授	H16.10～H20.3
	山田 修平	北海道大学	准教授	H16.10～H20.3
	三上 雅久	神戸薬科大学	講師	H16.10～H20.3
	Shaobo ZHOU	神戸薬科大学	ポスドク	H18.4～H19.4
	Ajaya K. SHETTY	北海道大学	CREST 研究員	H16.12～H20.3
	Li FUCHUAN	北海道大学	CREST 研究員	H18.4～H19.1
	BASAPPA	北海道大学	CREST 研究員	H18.4～ H20.3
	水本秀二	北海道大学	CREST 研究員	H18.4～H20.3
	Sengottuvelan MURUGAN	北海道大学	CREST 研究員	H18.9～ H19.9
	Kottayath Govindan NEVIN	北海道大学	CREST 研究員	H19.4～ H20.3
	Duriya FONGMOON	北海道大学	特別研究学生	H17.4～(H19.4
	赤津 ちづる	北海道大学	D2	H18.4～H20.3
	橋口 太志	北海道大学	M2	H18.4～H20.3
	金岩 知之	北海道大学	M1	H18.4～H20.3
	小林 孝成	北海道大学	M1	H19.4～H20.3
	小林 英美	北海道大学	学部4年	H19.4～H20.3
	藤倉 依子	北海道大学	CREST 技術員	H18.4～H19.3
	西 みゆき	北海道大学	CREST 技術員	H18.4～H18.5

②研究項目

- ・ グルコサミノグリカンの動態-機能相関への統合的アプローチ

### (7)「鈴木 匡」グループ

#### ① 研究参加者

	氏名	所属	役職	参加時期
○	鈴木 匡	大阪大学/理化学研究所	准教授/チームリーダー	H16.10～
	原 いづみ	大阪大学	CREST 研究補助員	H17.4～H19.3
	船越陽子	大阪大学/理化学研究所	研究員	H19.10～H20.3
	芳賀淑美	理化学研究所	CREST 研究員	H20.4～
	平山弘人	理化学研究所	特別研究員	H20.4～
	清野淳一	理化学研究所	テクニカルスタッフ	H20.4～

#### ② 研究項目

- 細胞質における遊離糖鎖のプロセッシング機構とその生物学的重要性

### (8)「田口 友彦」グループ

#### ① 研究参加者

	氏名	所属	役職	参加時期
○	田口友彦	University of Queensland	Senior Research Officer	H16.10～
	三崎 亮 <sup>1</sup>	大阪大学工学部	助教	H17.1～H20.4
	三神 恵 <sup>2</sup>			H19.9～H20.3

<sup>1</sup>H17.1-H17.12: CREST 研究補助員, H18.1-H20.4: CREST 研究員

<sup>2</sup>CREST 研究補助員 (派遣先の所属: 大阪大学医学部)

#### ② 研究項目

- エキソ・エンドサイトーシスに関する輸送小胞の形成機構の解明

### (9)「田口 良」グループ

#### ① 研究参加者

	氏名	所属	役職	参加時期
○	田口 良	東京大学	客員教授	H16.10～
	中西 弘樹	東京大学	リサーチフェロー	H16.10～
	北條 俊章	東京大学	CREST 研究員	H16.10～H19.3
	飯田 泰浩	東京大学	リサーチフェロー	H16.10～H17.9
	村田 千恵	東京大学	博士課程学生	H16.10～H19.3
	石川 将己	東京大学	産学官連携研究員	H17.4～H17.9
	池田 和貴	東京大学	産学官連携研究員	H18.4～H19.3
	小木曾英夫	東京大学	産学官連携研究員	H19.4～H21.9
	羅紋眞	東京大学	博士課程学生	H18.4～H21.9
	羅紋眞	東京大学	産学官連携研究員	H21.10～H22.3

#### ② 研究項目

- 糖鎖合成時の動態と機能発現

(10) 「三善英知」グループ

① 研究参加者

	氏名	所属	役職	参加時期
○	三善 英知	大阪大学	教授	H20.4～
	吉岡 智子	大阪大学	研究補助員	H20.4～
	森脇 健太	大阪大学	大学院(D4, RA)	H20.4～
	桑本 佳奈	大阪大学	大学院(M2)	H20.4～H21.3
	津田 沙織	大阪大学	大学院(M2)	H20.4～H21.3
	河本早由利	大阪大学	大学院(M2)	H20.4～
	成定 愛	大阪大学	大学院(M2)	H20.4～
	石川 章子	大阪大学	大学院生(M1)	H21.4～
	奥戸久美子	大阪大学	大学院生(M1)	H21.4～
	黒木 絵莉	大阪大学	大学院生(M1)	H21.4～
	武田 百合	大阪大学	大学院生(M1)	H21.4～
	増田 智美	大阪大学	大学院生(M1)	H21.4～
	森 華奈子	大阪大学	大学院生(M1)	H21.4～
	戸田 美樹	大阪大学	大学院生(M1)	H21.4～

② 研究項目

- ・ フコシル化の制御とその機能解析

(11) 「和田芳直」グループ

① 研究参加者

	氏名	所属	役職	参加時期
○	和田 芳直	地方独立行政法人大阪府立病院機構 大阪府立母子保健総合医療センター研究 研究所	研究所長	H16.10～H22.3
	渋川 幸直	同上	研究員	H16.10～H22.3
	中村 織江	同上	流動研究員	H17.4～H22.3
	大門 江津子	同上	研究補助員	H17.4～H22.3
	山崎 奈津子	同上	研究補助員	H17.4～H22.3
	田尻 道子	同上	JST 技術員	H17.4～H22.3
	竹内 孝江	奈良女子大学理学部	准教授	H17.5～H22.3
	藤田 惇子	奈良女子大学理学研究科	M2	H20.3～H22.3
	角谷真知子	地方独立行政法人大阪府立病院機構 大阪府立母子保健総合医療センター研究 研究所	研究補助員	H20.3～H22.3
	岩井 香織	大阪大学大学院医学系研究科	大学院生	H21.4～H22.3
	吉田 周美	大阪大学大学院医学系研究科	大学院生	H16.10～H18.3
	田中 勝啓	大阪府立大学大学院 生命農学研究科	大学院生	H16.10～H20.3

②研究項目

- ・ 部位特異的な糖鎖構造解析と糖鎖合成疾患解析への応用

(12) 「木下 憲明」グループ

① 研究参加者

	氏名	所属	役職	参加時期
○	木下 憲明	株式会社免疫生物研究所・経営企画室	室長 執行役員	H21.10～H22.6
	醍醐 弥太郎	東京大学医科学研究所 ヒトゲノム 解析センター・ゲノムシーケンス解 析分野	准教授	H21.10～H22.6
	小山 信人	タカラバイオ株式会社・臨床開発部	部長	H21.10～H22.6
	上萩 京子	タカラバイオ株式会社 バイオ研究 所・抗体プロテオーム部門抗体関連受 託	従業員	H21.11～H22.6
	大塚 恵	タカラバイオ株式会社・ バイオ研究 所抗体関連受託部門	従業員	H21.11～H22.6
	土屋 陽子	株式会社免疫生物研究所・製造開発部	従業員	H21.11～H22.6
	永井 弘枝	株式会社免疫生物研究所・製造開発部	従業員	H22.1～H22.5
	小林 恭子	株式会社免疫生物研究所・製造開発部	従業員	H22.1～H22.6
	三善 英知	大阪大学大学院医学系研究科・保健学 専攻機能診断科学講座	教授	H21.10～H22.6
	谷口 直之	大阪大学産業科学研究所疾患糖鎖学 (生化学工業) 寄附研究部門	教授	H21.11～H22.6

② 研究項目

- ・ フコシル化ハプトグロビン ELISA キットの Validation Study

## § 4 研究実施内容及び成果

### 3. 1 GPI アンカー型タンパク質の生合成時の動態の解明、および、GPI アンカー型タンパク質の脂質ラフトへの組み込みと機能発現との相関の解明

(大阪大学 木下タロウグループ)

#### (1)研究実施内容及び成果

GPI アンカー型タンパク質は、小胞体で生合成された GPI がタンパク質に翻訳後修飾され、分泌経路でゴルジ体へ輸送後、さらに細胞表面の脂質ラフトに濃縮されて様々な機能を発揮する。本研究では、その一連の過程で起こる GPI アンカーの構造変化とそれを担う遺伝子を解明し、機能発現との関連を明らかにすること、さらにこの過程の欠損が起こす異常形質及び疾患の研究から、この過程自体の生理的意義を明らかにすることを目標にした。

具体的テーマとして、1) GPI アンカー型タンパク質が脂質ラフトに濃縮されることの構造的基盤と反応過程、およびそれに働く遺伝子群を解明すること; 2) GPI アンカー型タンパク質の輸送に働く遺伝子群を同定しそれらの機能を解明すること; 3) ヒトと哺乳動物の GPI アンカーに含まれるホスファチジルイノシトール(PI)は、1 アルキル 2 アシル型が主であるが、この特殊な構造がどのようにしてできるかを解明すること; 4) 従来 GPI アンカー欠損症としては、後天性の発作性夜間血色素尿症だけが知られていたが、英国の Karadimitris らが、先天性 GPI アンカー欠損症の2家系を見いだしたので、共同研究により原因遺伝子を決定すること; 5) GPI アンカー生合成酵素群の特徴であるタンパク質複合体の構成と機能を解明すること; 6) GPI アンカーの詳細構造と機能の相関を解明することをあげた。

#### 1) GPI アンカー型タンパク質が脂質ラフトに濃縮されるメカニズム

この課題にアプローチするため、細胞表面への GPI アンカー型タンパク質の発現が部分低下する変異株を CHO 細胞から確立した。それら変異細胞の、GPI アンカー型タンパク質の動態異常と構造異常の解析、責任遺伝子のクローニングを行った。具体的には、CHO 由来の変異細胞株 clone84 (GPI アンカーの合成は正常であるが、細胞表面での発現が大きく低下) および clone84 由来の二重変異株 (GPI アンカー型タンパク質の発現がほぼ正常レベルに回復) を確立し、それぞれの GPI アンカー型タンパク質の解析と責任遺伝子のクローニングを行った。その結果以下の成果を得た。1) 変異細胞株 clone84 では、GPI アンカー中の PI の sn2 位の脂肪酸がゴルジ体で除去されてリゾ体になり、それが細胞表面に輸送後ホスホリパーゼDで切断されて遊離することにより、細胞表面の GPI アンカー型タンパク質の発現が低下すること、クローニングした責任遺伝子 PGAP2 の産物はゴルジ体の新規膜タンパク質であることがわかった (Tashima et al, *Mol Biol Cell*, 2006)。2) clone84 由来の二重変異株で細胞表面の GPI アンカー型タンパク質の発現が正常化した C2 細胞では、GPI アンカーがリゾ体にならず“2本足”であったので、ホスホリパーゼDに抵抗性で安定に発現したと考えられた。しかし、正常細胞の GPI の脂肪鎖がともに飽和型である (sn2 は、ほとんどがステアリン酸) のと異なり、sn2 の脂肪酸がオレイン酸、アラキドン酸、ドコサテトラエン酸などの不飽和鎖であった。sn1 の脂肪鎖は正常細胞と同様ほとんどが飽和鎖であった。責任遺伝子である PGAP3 の産物は、PGAP2 と同様にゴルジ体に存在する膜タンパク質であった。これらのことから、GPI アンカーは、小胞体では sn2 に不飽和脂肪酸を持つ形で合成され、ゴルジ体でステアリン酸に置換される脂肪酸リモデリングを受けること、不飽和脂肪酸の除去に PGAP3 が、ステアリン酸の付加に PGAP2 が必要であることがわかった (Maeda et al, *Mol Biol Cell*, 2007)。3) 脂肪酸リモデリングが異常な二重変異株 C2 細胞の GPI アンカー型タンパク質は、detergent resistant membrane 画分に回収されないことから、脂質ラフトへの濃縮に、GPI の脂質リモデリングが必須であることがわかった (Maeda et al, 同上)。4) GPI アンカー型タンパク質が脂質ラフトに濃縮されないときに、生体にどのような影響が起こるかを明らかにするため、PGAP3 のコンディショナル KO マウスを作製した。現在、異常な表現型を解析しつつある (Wang Y et al, 論文準備中)。

## 2) GPI アンカー型タンパク質の輸送に働く遺伝子群の同定と機能解明

GPI アンカー型タンパク質が小胞体で生合成された後、分泌経路でゴルジ体に輸送され、その後細胞表面の膜マイクロドメインに発現される。この輸送過程に働く遺伝子群の解明を目指し、GPI アンカー型タンパク質の小胞体から細胞表面への輸送が遅れる CHO 細胞株を複数樹立した。このうちの1株は、GPI アンカー型タンパク質だけでなく、膜貫通型タンパク質の輸送も遅れる変異株であった。この変異株では、調べたすべての糖タンパク質の N-,O-結合糖鎖と糖脂質の糖鎖が不完全であった。異常の本質は、ゴルジ体の pH が正常より 0.3 から 0.4 高いことであり、それは本変異株の責任遺伝子の産物 GPHR が Cl チャネルとしてゴルジ体の酸性化に必須の働きをしているためであることがわかった(Maeda Y et al, *Nat Cell Biol*, 2008)。

別の変異株では、GPI アンカー型タンパク質の輸送だけが選択的に遅延していた。この変異株の責任遺伝子 PGAP5 をクローニングし、リン酸エステラーゼであることを証明した。変異株の GPI アンカー型タンパク質では、正常細胞では数%しか存在しない、第2マンノースのエタノールアミンリン酸側鎖が、大部分のアンカーに結合していた。この事は、GPI 前駆体段階で結合している第2マンノースのエタノールアミンリン酸側鎖が、タンパク質への付加後 PGAP5 によって除去される糖鎖部分のリモデリングが存在し、それが GPI アンカー型タンパク質の小胞体からゴルジ体への効率的な輸送に重要であることを示している (Fujita M et al, *Cell*, 2009)。

## 3) 1アルキル 2アシル型 GPI アンカーの生合成機序

ヒトと哺乳動物 GPI アンカーのホスファチジルイノシトール(PI)が、1アルキル 2アシル型が主であることに関し、生合成経路のどの時点で1アルキル 2アシル型になるかを決定するため、生合成経路の各ステップの異常細胞株に蓄積している中間体の構造を質量分析で解析し、構造を決定した(田口良グループとの共同研究)。その結果、GPI の生合成は細胞内在性のジアシル型 PI を使って開始され、第2段階のグルコサミン-PI までは、ほぼ内在性の PI そのままであること、第3段階のグルコサミン-アシル PI で劇的に1アルキル 2アシル型に変化することがわかった(Houjou et al, *JLipid Res*, 2007)。これがペルオキシソームでのアルキル型リン脂質合成経路に依存しているか検討した。米国 Zoeller 博士から分与されたペルオキシソーム経路の第1, 第2酵素の欠損変異 CHO 細胞株では、1アルキル 2アシル型 GPI 中間体ができないこと、タンパク質に付加された GPI アンカーもジアシル型だけであることを見出した。すなわち、1アルキル 2アシル型 GPI アンカーの合成には、ペルオキシソームの経路が必須であることがわかった。すなわち、哺乳動物細胞の GPI アンカー型タンパク質の生合成には、小胞体、ゴルジ体、ペルオキシソームの3つのオルガネラが必要であることがわかった(Kanzawa et al, *Proc Natl Acad Sci*, 2009)。

さらに、ジアシル型のままのグルコサミン-アシル PI の脂肪酸組成が、PI や第1段階の N-アセチルグルコサミン-PI の脂肪酸組成と異なることから、ジアシル型から1アルキル 2アシル型中心に変化するものは、ジラジル型への変化であること、すなわちグルコサミン-アシル PI の中に生合成ステップがひとつ含まれていることがわかった。これに基づき、GPI アンカー生合成経路の修正モデルを提出した(Kanzawa et al, 同上)。

## 4) 先天性 GPI アンカー欠損症の原因遺伝子の解明と治療法の確立

英国のグループが 2 家系から確立した異常 B 細胞株の提供を受け、欠損ステップの特定、原因遺伝子の決定、突然変異の同定を完了した。突然変異が遺伝子発現低下をもたらすメカニズムの解析を終了し、発現を回復させる手法を発見し、その手法が共同研究者により患者に適用された。すなわち、3人の患児は、マンノース転移酵素である PIGM の遺伝子のプロモーター領域に点突然変異をホモに持ち、それによって好中球、B細胞など特定の細胞種で PIGM の著しい発現低下を起こしていることがわかった。患児は、門脈血栓とてんかんを共通症状として示したが、発作性夜間血色素尿症の主症状である溶血性貧血は見られなかった。また、形態形成異常は全く認められなかった。これらのことは、点変異の影響が細胞種によって、また形態形成の過程と完成後で異なっていることを示しており、従来ハウスキーピング遺伝子であると考えられてきた GPI 生合成遺伝子の PIGM が、様々に制御されていることを示唆した(Almeida,

Murakami et al, *Nat Med*, 2006)。

プロモーター領域の点変異は、ヒストン H4 のアセチル化の低下を起し、PIGM の転写の低下を来すことがわかった。患者由来の B 細胞株を、ヒストン脱アセチル酵素の阻害剤である NaButyrate 存在下で培養すると、ヒストン H4 のアセチル化が回復し、PIGM の転写が回復し、細胞表面の GPI アンカー型タンパク質の発現が正常化した。この結果に基づき英国の共同研究者が、てんかん症状が悪化していた一人の患児に Butyrate を投与したところ、血液細胞上の GPI アンカー型タンパク質の発現上昇とそれに伴う症状の著しい改善が認められた(Almeida, Murakami et al, *N Eng J Med*, 2007)。

#### 5) GPI アンカー生合成酵素群の構成と機能の解明

生合成の第 1 ステップに働く GPI N-アセチルグルコサミン転移酵素複合体を精製し、新規で 7 番目のサブユニットである PIG-Y を発見し、本酵素が単糖転移酵素としてもっとも複雑な複合体であることを示した (Murakami et al, *Mol Biol Cell*, 2005)。

3 分子複合体であるドリコールリン酸マンノース合成酵素において、DPM3 は、触媒サブユニットである DPM1 と結合し、膜につなぎ止める働きをしていることを証明した (Ashida et al, *J Biol Chem*, 2006)。

#### 6) GPI アンカーの詳細構造と機能の相関

生合成の途上、イノシトールの 2 位に付加されるアシル基は、アンカーがタンパク質に付加された直後に除去される。一見無駄に見えるこの現象の意義を明らかにするため、脱アシル酵素である PGAP1 の KO マウスを作製した。KO マウスでは、イノシトールにアシル基が残ったままの GPI アンカー型タンパク質が発現し、脂質ラフトへの局在に大きな変化はなかった。しかし、多くの個体は頭部の発達異常(耳頭症)により出生前後に死亡した。生存したマウスの雄は、不妊であった。すなわち、GPI アンカー型タンパク質が脂質ラフトに発現しても、イノシトールに余分のパルミチン酸が結合していることで生体に大きな影響を与えること、つまり GPI の詳細構造が機能に重要であることが明らかになった (Ueda et al, *J Biol Chem*, 2008)。

#### (2)研究成果の今後期待される効果

私たちが 2001 年に PIGM 遺伝子をクローニングし報告していたことが、先天性 GPI アンカー欠損症の原因解明と治療法確立につながった事、1998 年に報告したドリコールリン酸マンノース合成酵素の触媒サブユニットの遺伝子である DPM1 が、先天性糖鎖異常症(CDG)の原因遺伝子のひとつである事の発見につながったことから、私たちが報告している GPI アンカー生合成、修飾、輸送関連遺伝子群の情報が未解明の糖鎖異常症の原因解明につながると期待される。実際、2001 年に私たちが報告したドリコールリン酸マンノース合成酵素のサブユニットの遺伝子である DPM3 が、典型的な CDG ではなく、筋ジストロフィー症例の原因遺伝子であることがごく最近ヨーロッパの研究者達によって報告された。サブユニットによって、その異常が主として N-型糖鎖に影響を与え CDG として発症するか、ジストログリカン O-結合糖鎖に影響を与えて筋ジストロフィーとして発症するかの違いになることが明らかになった。

GPI アンカー型タンパク質は、代表的な脂質ラフト構成成分であるが、それが脂質ラフトに局在しないときに、機能発現がどうなるかは明らかでない。GPI アンカー型タンパク質の脂質ラフト局在に必至な PGAP3 遺伝子の KO マウスを解析中であり、その生理的意義が近く明らかになる。この事は、細胞膜上での糖脂質/脂質間の相互作用に依存するタンパク質の分布状態が、機能発現に重要であろうという近年のコンセプトに実験的根拠を与えることになる。この事は、将来、細胞膜上でのタンパク質の分布状態を操作することによって、機能発現を調節する技術の開発につながると期待される。

### 3.2 アスバラギン結合型糖鎖のアセンブリと多様性の制御機構

(佐賀大学 池田義孝グループ)

#### (1)研究実施内容及び成果

糖鎖はタンパク質や核酸とは全く異なる仕組み、つまり鋳型非依存的に合成され、単糖一つ一つの付加の各々に特異的な酵素を必要とすることが大きな特徴である。最終的にどのような構造の糖鎖が細胞に発現するかは、糖転移酵素群の発現パターンと深い関連があることが知られているが、酵素の量的調節に加えて、機能を制御する質的調節も重要であると考えられる。例えば、低分子化合物がエフェクターとして働くアロステリック効果や、制御タンパク質との相互作用による活性調節、ドナー基質の供給量の変動、さらにゴルジ装置内における酵素の空間的配置などによっても糖鎖生成が制御されると考えられる。糖鎖構造の変化や多様性を遺伝子発現パターンにだけにその原因を求めるのではなく、別のレベルでの制御機構の存在を明らかにすることによって、糖鎖の生成がいかんとして行われ調節されるかということより詳細に議論することが可能になると考えられる。我々はアスパラギン結合型糖鎖の生成過程や糖タンパク質の機能発現に重要な役割を演じるN-アセチルグルコサミン転移酵素(GnT)-IIIおよび $\alpha$ 1,6ブコース転移酵素(FUT8)について、酵素の活性制御機構やその分子メカニズム、可逆反応の平衡状態などを解析し、N型糖鎖の構造多様性や生成経路における質的調節について検討した。

#### 1) N-アセチルグルコサミン転移酵素(GnT)-IIIの活性制御機構

N-アセチルグルコサミン転移酵素(GnT)-IIIは、アスパラギン結合型糖鎖の生成過程においてコア構造分岐形成を制御する酵素として知られており、この酵素の活性制御機構はN型糖鎖の生成に何らかの影響をもつ可能性がある。以前より無機ピロリン酸による酵素活性阻害を見いだしていたが、これが大変強い協同性をもつプロセスであり、ピロリン酸結合によるコンフォメーション変化を伴うことが内因性トリプトファン蛍光の変化によって追跡することができた。協同性を生み出す構造的基盤としては、球状タンパク質にして約500,000を越えるような会合状態、おそらく10量体以上の多量体を形成することによりサブユニット間の連絡を通して強い協同性が発現すると考えられた。また、協同性におけるコンフォメーション変化には、協同性のない成分と強い協同性をもつ成分二つからなっていることがわかり、ピロリン酸の作用する部位(=結合部位)として少なくとも2カ所存在することが示唆された。これは速度論的な検討から得られた結果とも一致しており、協同性を示さない成分が $k_{cat}$ を増加させ弱く活性化しながら、後者の成分が基質に対する $K_m$ を協同的に増加させ低親和性の不活性型へと変換すると考えられた。このような相反する二つが同時に作用するというユニークなメカニズムによって、ON-OFF様の見かけ上大変強い協同性を実現していることが示唆された。

#### 2) GnT-IIIの逆反応の解析

糖転移酵素反応は一般に生理的不可逆であると考えられており、糖鎖生成経路はいわゆる速度支配(rate-control)によって合成が進むプロセスであると思われる。この点を検討し平衡支配の関与を議論するため、糖転移酵素による逆反応としてGnT-IIIによるbisected糖鎖からのbisectingGlcNAcの除去反応を速度論的に解析し、反応の平衡状態について検討を行なった。UDP存在下でのみbisectingGlcNAcの除去反応が観察され、その際にUDP-GlcNAcが化学量論的に生成することから、反応自体は可逆であることが実証された。反応は極度に糖転移反応(順反応)へと平衡が偏っており、平衡定数にして約 $1.6 \times 10^6$ 、自由エネルギー変化にして約8.8 kcal/molであると計算された。この結果から、UDP濃度の増減による影響はほとんどなく、細胞内では実質的に不可逆であると考えられた。最近、他の転移酵素でも逆反応および平衡反応の解析が行なわれつつあるが、すべての糖転移酵素で糖付加が必ずしも圧倒的に有利というわけではない。例えば、反応生成物であるUDPの変動によって影響を受けやすい反応と受けにくい反応があると思われ、反応生成物濃度により生成経路が変化する可能性が考えられた。

#### 3) GnT-III導入による昆虫細胞の糖鎖生成経路の改変

昆虫細胞(鱗翅目)の産生するN型糖鎖はトリマンノース、パウチマンノース型糖鎖が主体であり、複合型を特徴とするほ乳類細胞とは構造が大きく異なっている。これは昆虫細胞の糖鎖生成の途中でN型糖鎖特異的ヘキシサミニダーゼが作用しGlcNAc残基が分解されることが主たる原因の一つであり、ヒト型糖タンパク質産生の宿主細胞として昆虫細胞を使用するのを阻んでいた。一方、糖鎖構造解析におけるヘキシサミニダーゼ消化に対して、bisected糖鎖は耐性であることが知られており、この性質を応用して昆虫細胞の産生する糖鎖構造をほ乳類型に改変出来ないか検討した。バキュロウイルスによる組換えタンパク質発現系で頻用されるSf細胞にGnT-III遺伝子を導入した細胞を作成し、細胞の全N型糖鎖およ



び組換え糖タンパク質の糖鎖構造解析を行った。その結果、導入したラット GnT-III はそのままの形で昆虫細胞内でも機能しており、産生される糖鎖に bisecting GlcNAc が付加されるとともに混合型・複合型糖鎖が著明に増加することがわかった。すなわち bisecting GlcNAc 導入により昆虫細胞のヘキシサミニダーゼの作用に耐性になり、哺乳類細胞様の糖鎖構造に変化することが示された。遺伝子導入によってバキュロウイルスの感染性には変化することはなく、糖鎖改変組換え糖タンパク質の発現のための宿主細胞として使用出来ることもわかった。

#### 4) $\alpha$ 1,6 フコース転移酵素(FUT8)の構造ドメインの機能解析

$\alpha$ 1,6-フコースを付加する酵素として FUT8 以外にも、根粒菌の Nod ファクターの生合成に関わる NodZ の結晶構造が報告されているおり、触媒ドメインは立体構造的によく保存されていた。NodZ には FUT8 に見られるようなアミノ末端の coiled coil 構造および SH3 ドメインを欠いており、これらの構造は酵素活性には必須ではないことを示唆している。FUT8 に特有な SH3 ドメインの機能を明らかにするため変異酵素を使った機能解析を行なった。SH3 ドメインに結合する PI3 キナーゼのペプチドを用いて検討したところ、他のタンパク質の SH3 ドメインと同様にペプチドに対する結合性をもつことがわかった。しかし、ペプチドの有無によって活性の有意な変動は見られず直接的に酵素活性を制御しているのではないと思われた。SH3 ドメインの変異体を作成し哺乳類細胞における発現と活性の検討を行なうと、有意に活性が低下した変異体が見出され、SH3 ドメインが酵素分子中で活性発現に何らかの役割をもつことが示唆された。一方、キトオリゴ糖を受容体基質として FUT8 による NodZ 様活性を検討したところ、3糖以上の糖鎖にフコースを転移すること、転移する残基はコアフコースから予想された還元末端 GlcNAc ではなく、非還元末端から3残基めの GlcNAc にフコースを転移することがわかった。糖鎖の重合度に無関係に常に還元末端 GlcNAc に転移する NodZ とは性質が大きく異なっており、このユニークな性質は SH3 ドメインのような FUT8 に固有の構造によって付与されている可能性が考えられ、SH3 ドメインの機能としても大変興味深いものであると思われた。また、N型糖鎖のコアフコシル化は、還元末端の1残基めを認識したのではなく、 $\beta$ 1,4 配列の非還元末端から3残基めを認識した結果である可能性も考えられた。

#### (2)研究成果の今後期待される効果

細胞が産生する糖鎖構造はきわめて多様であるが、それが単純な糖転移酵素の発現パターンだけでなく、機能的な活性調節や化学平衡における生成物の関与などにも依存して緻密に調節されていることを実証することによって、少ないプレーヤーでより多く(の構造)を時期や環境などに合わせて自律的に生み出す生体のシステムが明らかに出来るのではと期待している。

### 3. 3 泌尿器疾患における糖鎖の意義と臨床応用

(弘前大学 大山カグループ)

#### (1)研究実施内容及び成果と(2)研究成果の今後期待される効果

##### 1)前立腺特異抗原(PSA)の糖鎖構造の解析

(目的)PSA の糖鎖構造を解析して、新規アッセイ法開発の基礎データとすること。

(方法)ヒト正常 PSA および前立腺癌血清 PSA の糖鎖構造をエンドリシルペプチダーゼでペプチドごと切り出して MALDI TOF-MS で解析した。

(結果と意義)前立腺癌に特徴的な糖鎖構造を明らかにした。前立腺癌由来の PSA は末端にシアル酸が  $\alpha$ -2,3 で結合し、分岐した N-glycan が多いことが明らかになった。また、正常 PSA には2本鎖 N-glycan はほとんど含まれず、ハイブリッドタイプや高マンノースタイプが主体であることを明らかにした。さらに、癌性変化を利用して特異度の高い新規アッセイ法を開発した。

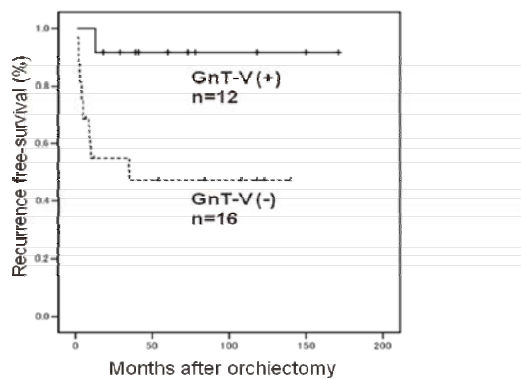
##### 2)精巣癌における N-glycan の発現に関する研究

(目的)精巣癌における GnT-V とその産物である分岐 N-glycan の臨床的意義を明らかにすること。

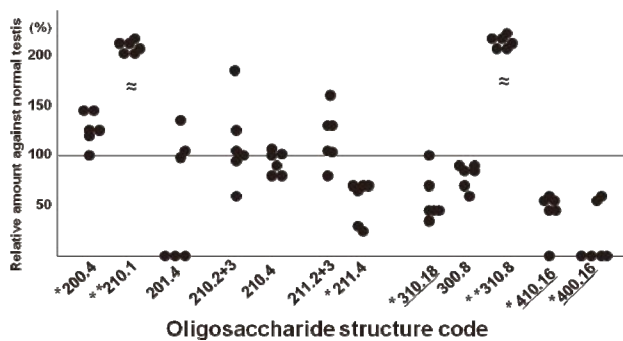
(方法)ヒト精巣癌のパラフィン切片に対して抗 GnT-V モノクローナル抗体による免疫染色を行い、その染色性と臨床経過とを比較検討した。

(結果と意義)精巣癌において GnT-V は予後の良い症例に高発現する傾向があった。下図は精巣摘除

術後の非再発率曲線である。GnT-V(+)<sup>1</sup>の症例は GnT-V(-)<sup>2</sup>の症例よりも有意に再発率が低い。



さらに糖鎖構造解析によって GnT-V の発現と beta-1,6 分岐 N-glycan の発現が相関することを明らかにした。下図は正常精巣組織を 100 とした場合の精巣癌組織の N-Glycan の組成割合をプロットしたものである。GnT-V の産物と GnT-IV の産物が癌組織で増加している。



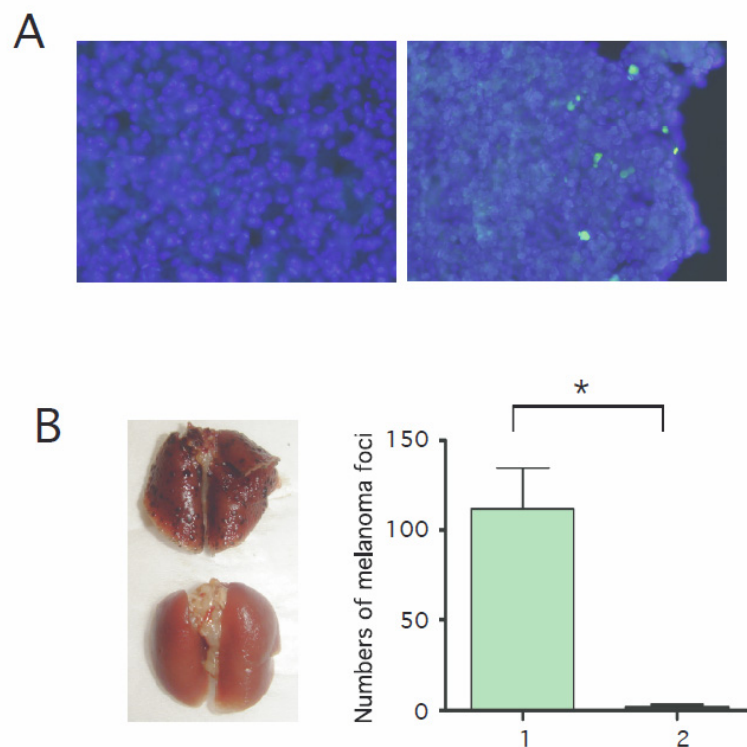
3) **ヒト精子運動能における trophinin の意義** (目的) ヒト精巣における trophinin の発現を確認し、精子運動能における意義を検討する。(方法) 免疫染色にてヒト精子および精巣における trophinin の発現と局在を確認した。ヒト精子に外因的に trophinin を添加して、精子運動能が亢進するか否かを検討した。(結果と意義) trophinin はヒト精子の尾部に発現し、精子尾部鞭毛運動に関わるシグナル伝達に関与することが明らかになった。さらに、trophinin はヒト精子運動能を亢進させることを見出した。男性不妊症の分子機構解明と治療法開発に貢献するものと期待される。

#### 4) 癌の血行性転移における血管内皮糖鎖リガンドの同定

(目的) 癌の血行性転移における Sialyl Lewis X (sLeX) や sLeA のリガンドとして、E-selectin 以外の分子を同定すること。

(方法) phage display 法で抗 sLeA モノクローナル抗体と反応する糖鎖の mimic peptide: IELLQAR (I)-peptide を同定した。血管内皮細胞に発現する I-peptide receptor (IPR) を in vivo biotinylation 法で同定した。

(結果と意義) IPR として血管内皮細胞に発現する mRNA splicing factor (Sfrs) が同定され、この分子も sLeX や sLeA のリガンドになることを証明した。Sfrs はフコシル化糖鎖との親和性が高い。Sfrs のターゲッティングを目的として、palmitoyl I-peptide にアポトーシス誘導物質として ganglioside GD3 を結合させてマウス尾静脈から注入すると、肺血管内皮細胞にアポトーシスが誘導される (下図 A 右パネル)、この状態で B16-FTH-M (高肺転移株) を尾静脈注入しても肺転移はわずかしか形成されなかった (下図 B)。腫瘍生物学における糖鎖の役割について一石を投じる論文である。mRNA splicing factor を分子標的にする新規癌治療の可能性が期待される。



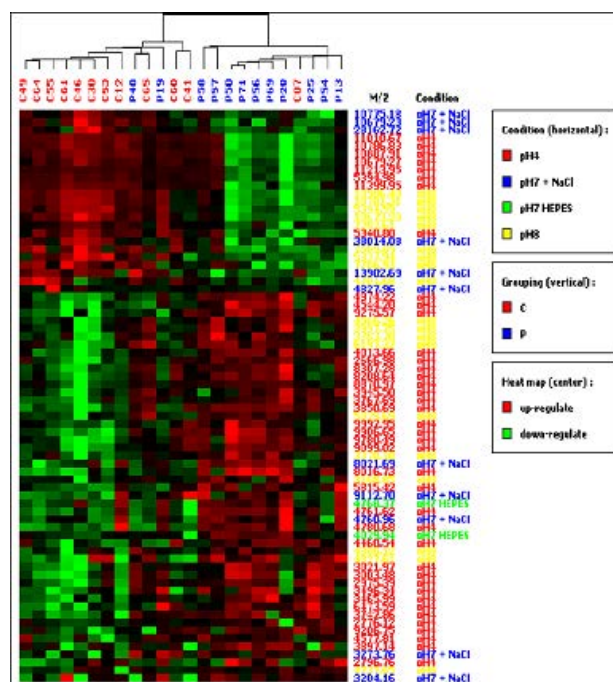
#### 5) 前立腺圧出液の protein profiling

(目的) 前立腺圧出液の protein profile 解析を行い、前立腺癌と良性疾患との間で peak intensity が異なるピークを同定すること。

(方法) protein chip 法による SELDI-TOF MS で前立腺圧出液のタンパク質の質量分析を行った。

(結果と意義) 前立腺癌と良性疾患との間で peak intensity が異なるピークを同定し、階層クラスター解析を行ったところ、感度 91.7%、特異度 83.3% で両者を鑑別することが可能であり、現行の PSA テストを凌駕する

特異度が得られた。シングルマーカー解析では、m/z 10788 が再現性を持って有意な候補ピークとして検出された。今後、このピークの構造解析を行い、前立腺癌の新規バイオマーカーとしての意義を確立していきたい。



### 3.4 N-結合型糖鎖による細胞膜受容体の機能制御とそのメカニズムの解析 (東北薬科大学 顧建国グループ)

#### (1) 研究実施内容及び成果と(2)研究成果の今後期待される効果

N-結合型糖鎖は多くの膜タンパク質を修飾し、その機能を制御することが知られているが、細胞膜上の糖鎖がどのようにして受容体の機能または分子間相互作用を制御するかに関してはほとんど不明である。その分子的基盤の解明は、生理的な細胞内情報伝達システムやシステム破綻による癌化などの原因解明に不可欠である。本研究では、N-結合型糖鎖が付加される標的タンパク質の同定および疾患に重要な糖鎖モジュールの機能解析を通じて、様々な病態解明や糖鎖医薬品の開発につながる研究を目指してきた。主な成果は以下の3点にまとめられた。

1) まず、糖鎖リモデリングによるがんの浸潤転移に深く関わる細胞接着分子であるインテグリンの機能制御に着目して研究を進めた。インテグリンは、 $\alpha$ 鎖と $\beta$ 鎖からなるヘテロダイマーで、海綿のような単純な後生動物類の生物からヒトに至るまで広く存在する細胞外マトリックス(ECM)の受容体である。ヒトでは、現在までに $\alpha$ 鎖18種、 $\beta$ 鎖8種類が知られており、その組み合わせにより、少なくとも24種類のヘテロ二量体が存在する。インテグリンは、細胞内において細胞骨格と連結し、接着構造を安定化させ細胞の形態および組織構造の維持を担う一方、増殖因子受容体と協同して細胞内にシグナルを伝え細胞分化、増殖といった細胞形質の制御を行う。また、インテグリンはN-結合型糖鎖の主なキャリアータンパク質の一種である。糖転移酵素N-アセチルグルコサミン転移酵素III(GnT-III)はbisecting GlcNAc糖鎖を持つユニークな分枝型糖鎖構造を触媒する糖転移酵素である。bisecting GlcNAcが合成されると、ほかの分枝型糖転移酵素(例えば、N-アセチルグルコサミン転移酵素V(GnT-V))がこのbisected糖鎖を基質としないため、糖鎖の伸長反応ができなくなる。従ってGnT-IIIはGnT-Vのアンタゴニストであろうと考えた。

我々は、標的分子の一つであるインテグリン  $\alpha 3 \beta 1$  を用いて、その仮説を証明した(Zhao, et al. *J. Biol. Chem.*, 32122-, 2006)。基底膜の主な成分であるラミニン-332 上でのインテグリン  $\alpha 3 \beta 1$  を介したがん細胞浸潤は、細胞に GnT-III 遺伝子を導入することによって阻害されたが、逆に GnT-V の発現によって促進された。この GnT-V によるがん細胞浸潤の促進は GnT-III の発現によって著しく抑制された。それは、GnT-III が GnT-V の機能と拮抗すること、受容体の機能が異なった糖鎖修飾で正または負に制御できることを初めて明らかにしたものである(Gu, et al. *Cell Adhesion & Migration* 2:4. 1-3, 2008; Gu, et al. *J. Proteome Res.* 8:431-435, 2008)。インテグリン  $\alpha 3 \beta 1$  のリガンドであるラミニン-332 もそれらの酵素によって修飾され、その細胞接着機能が制御されることをも証明した(Kariya, Y., et al. *J. Biol. Chem.* 283: 33036-33045, 2008)。

2)インテグリンの  $\alpha$  鎖と  $\beta$  鎖は、多数の N-結合型糖鎖付加サイトを持っているので、インテグリン上のどのサイトが糖鎖で修飾されるか、どの糖鎖が重要であるか、または特定の糖鎖を持つインテグリンがどの分子と結合するかを同定することが必要である。我々は、 $\alpha 5$  鎖の 14 カ所 N 型糖鎖付加サイトのうち N 末端側から 3-5 番目のサイトが機能発現に重要であることを同定した(Isaji, et al. *J. Biol. Chem.*, 33258-, 2006)。また、 $\beta 1$  鎖の機能発現に重要な糖鎖付加サイトを検討し、その結果、I-like ドメインに付加される N 型糖鎖は、インテグリン  $\beta 1$  鎖の機能発現に重要であることが明らかとなった(Isaji, T., et al. *J. Biol. Chem.* 284:12207-16, 2009)。さらに、興味深いところ、 $\alpha 5$  鎖の 14 カ所 N 型糖鎖付加サイトに GnT-III が特異的にサイト4を修飾し、機能を制御することが判明した(Sato, Y., et al. *J. Biol. Chem.* 284:11873-81., 2009)。一方、我々は、E-カドヘリンを介する細胞間接着により特異的に GnT-III が強く誘導され、その結果、インテグリンの機能が低下し、細胞移動が抑制されることを発見した(Iijima, et al. *J. Biol. Chem.* 281: 13038-46, 2006; Akama, et al. *Proteomics* 8: 3221-3228, 2008)。このことから、E-カドヘリンを介した細胞-細胞間の接着が糖鎖変化を通じて細胞-ECM 間の接着を制御できる可能性が示唆された。細胞間接着と細胞-ECM 間接着との相互作用は、初期胚発生や器官形成の過程だけではなく、がんの転移・浸潤の過程においても重要である。つまり、それらの過程は Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT: 上皮間葉移行)と深く関わっている。EMT は、上皮細胞が間葉系様細胞に形態変化する現象であり、細胞間接着が弱くなる一方、細胞-ECM 間接着が適度に促進されることが知られている。従って、細胞間接着により誘導された糖鎖遺伝子の発現とその機能解析は、細胞接着間のクロストークの理解に不可欠である。糖鎖を介する細胞膜受容体間の複合体を調べるために、他の研究者との共同研究によって生細胞の細胞膜上の任意分子から約 300 nm 以内の分子が網羅的に同定できる新しい複合体解析法を開発した(Kotani, N., et al. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 105: 7405-9, 2008)。

3) 糖転移酵素  $\alpha 1,6$  フコース転移酵素(Fut8)欠損マウスの作成に成功した。TGF- $\beta$  受容体にこの  $\alpha 1,6$  フコース糖鎖が付加されないと、受容体とリガンドとの親和性が低下し、TGF- $\beta$  受容体を介するマトリックスメタプロテアーゼの発現抑制が解除される。よって、肺組織の細胞外マトリックス生合成と分解の均衡が破れ、肺組織が壊れて肺気腫になることをマウスの実験で確認した。またこの欠損マウスは TGF- $\beta$  を大量投用することにより肺気腫が改善することも確かめた (Wang, X., et al. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 102:15791-6, 2005)。Fut8 欠損マウスにおいて認められる肺気腫様変化の原因は、TGF- $\beta$  受容体の機能低下だけではなく、VEGF 受容体の発現低下とその結果生じるセラミドの生合成亢進により、肺胞アポトーシスが誘導されるためであるという新たな肺気腫発症メカニズムを明らかにした(Wang, X., et al. *J. Biochem.* 145:643-51. 2009)。また、糖転移酵素 Fut8 の糖鎖修飾は、EGF 受容体(Wang, et al. *J. Biol. Chem.* 281:2572-7, 2006)やインテグリン  $\alpha 3 \beta 1$  (Zhao, et al. *J. Biol. Chem.*, 38343-, 2006)にもこの  $\alpha 1,6$  フコース糖鎖の付加が必要であることが明らかになった。

### 3. 5 糖鎖プロセッシングの動態と機能発現

(京都大学 近藤 玄グループ)

#### (1)研究実施内容及び成果

当グループの研究テーマは、培養細胞や遺伝子改変マウスを用いて、哺乳動物におけるグリコシルフォスファチジルイノシトール (GPI) アンカー型タンパク質(GPI-AP)の代謝メカニズムの解明、特に精子の受精能獲得過程における GPI-AP 遊離の生物学的意義の探究である。

このため、本プロジェクト開始以前に我々は GPI-AP の生体内での局在を調べるために、GPI アンカー型 GFP レポータータンパク質(EGFP-GPI)を作製した(Kondoh, G. et al. *FEBS Lett.*, 458-3, 299-303, 1999)。なお、最近、このコンストラクトのプロテアーゼ耐性型を作製し、細胞膜ラフトのマーカーとして国内外多数の研究機関に分与している。

また、EGFP-GPI トランスジェニックマウスの精巣で同分子が遊離していることを見出し、本プロジェクトの開始当初、この現象を担当している GPI-AP 遊離因子の精製・構造解析を行った。その結果、同活性をもつ因子のひとつとしてアンジオテンシン変換酵素 (ACE)を単離した。すなわち、この酵素には、アンジオテンシン I やブラディキニンなどの昇圧ペプチドの活性を制御するのみならず、GPI-AP を遊離する新たな活性を持つことが明らかになった(Kondoh, G. et al., *Nat. Med.*, 11, 160-166, 2005)。最近これと類似の活性が他のグループからも報告された(Sun, X. et al., *Biol Chem.*, 389, 1477-1485, 2008)。

一方、ACE ノックアウトマウスでは、精子-透明体結合不全による雄性不妊が知られている。そこで、このマウスの精巣上体精子における GPI-AP の存在様式を調べたところ、Prss21 や Spam1 といった受精に関連する分子が遊離されず精子膜上にとどまっていることが判明した。さらに、ACE ノックアウトマウス精子をジペプチダーゼ欠損 ACE で処理しても透明帯との結合不全が回復することから、ACE はこの活性をもって受精に重要な役割を担っていることが示唆された。

一方、GPI アンカー生合成過程において脂質修飾にたざさわる PGAP1 遺伝子ノックアウトマウスでも、精子膜上の GPI-AP 貯留と ACE ノックアウトマウスと酷似した雄性不妊を示すことが報告された。(Ueda et al., *J. Biol. Chem.*, 282, 30373-30380, 2007) これらのことから、GPI-AP の精子膜上からの遊離は精子の受精能獲得にとって重要なステップであることが推察された。

一方、我々の作出したジペプチダーゼ欠損型 ACE 導入したトランスジェニックマウスでは、ACE ノックアウトマウスと同様の精子-卵透明帯結合不全が見られた。しかしその程度は軽微なもので、ACE ノックアウトマウス精子で見られる子宮卵管移行部通過障害はなかった。そこで、同トランスジェニックマウスの精巣および精巣上体内容物のジペプチダーゼ活性および GPIase 活性を測定したところ、精巣上体内容物のジペプチダーゼ活性が特異的に低下していることを見出した。このことから、ACE は GPIase のみならずジペプチダーゼ活性によっても精子-卵透明帯結合に寄与していると考えられた(Deguchi, E. et al. *Biol. Reprod.*, 77, 794-802, 2007)。

また、我々は、受精を担当する精巣型 ACE(tACE)の酵素活性に対する糖鎖修飾の影響を検討した。tACE の N 末端側には、体細胞型にはない36アミノ酸残基からなる特異領域がある。この領域はセリン・スレオニンリッチで、O 型糖鎖修飾を受けることが報告されていたが、その生物学的意義は不明であった。そこで、我々は、この領域の9か所のスレオニン残基を全てアラニンに置換した変異体を作製し、GPIase 活性およびジペプチダーゼ活性を野生型と比較した。その結果、いずれの活性も有意差はなかった。さらに、野生型分子を CHO 細胞で発現させて得た分子の両活性を、COS7 由来分子と比較したところ、ジペプチダーゼ活性は同等であったが、GPIase 活性は CHO 由来分子のほうが2倍程度有意に高かった。そこで、これらの分子の糖鎖プロファイリングを、レクチンアレイを用いて分析したところ、COS7 由来分子の mucin 系 O 型糖鎖は T-antigen, Tn-antigen, sialyl-T-antigen が混在しているのに対して、CHO 由来分子ではほぼ全てが sialyl-T-antigen であることが判明した。これらのことから、O 型糖鎖の有無は tACE の両活性の基盤に影響は与えないものの、そのプロファイリングの違いは、GPIase 活性の高低を左右する可能性が示唆された(Kondoh, G., et al. *J. Biochem.*, 145-1, 115-121, 2009)。

## (2)研究成果の今後期待される効果

近年、我々が見出した ACE のほかに、Wnt シグナルの制御因子として知られていた Notum にも同様の GPIase 活性が見出された(Traister, A. et al. *Biochem. J.*, 410, 503-511, 2008)。また、最近、我々は ACE とは異なる新たな GPI-AP 遊離因子候補も見出している。今後は、この分子の機能解析や ACE との連関

を精子のみならずより広範な細胞・組織系で行い、GPIase ワールドの生物学的意義、全貌を明らかにしていきたいと考えている。

### 3. 6 グリコサミノグリカンの動態-機能相関への統合的アプローチ

(北海道大学 菅原一幸グループ)

#### (1) 研究実施内容および成果

##### 1) コンドロイチン硫酸の生合成機構の解明

コンドロイチン硫酸グルコニルトランスフェラーゼが、コンドロイチン合成酵素-1、-2、コンドロイチン重合化因子とともに、コンドロイチン硫酸の生合成に関与することを、神薬大の北川裕之博士らと共同で証明した。コンドロイチン硫酸グルコニルトランスフェラーゼの過剰発現はコンドロイチン硫酸の合成量を増加させ、この酵素の RNAi によってコンドロイチン硫酸の合成量が減少することを見いだした。この酵素自身は、グルクロン酸転移酵素活性しか持たないが、他の因子と相互作用し、生合成酵素複合体を形成していると考えられた。

グリコサミノグリカンのコアタンパク質との橋渡し部位は、多糖鎖の二糖繰り返し領域とは異なる特殊な四糖配列からなっているが、この部分にリン酸化や硫酸化等の修飾が施されることがある。これらの修飾構造の意義は知られていなかったが、最近我々は、神薬大の北川裕之博士らと共同で、この部分に修飾構造が存在することによってその後の糖鎖伸長が大きく影響を受けることを証明し、これら修飾構造のグリコサミノグリカン生合成への関与を示した。さらに、これらの修飾構造の1つであるガラクトースの6-O-sulfate が、コンドロイチン硫酸の二糖繰り返し領域の GalNAc の6位に硫酸基を転移する酵素の1つであるコンドロイチン 6-硫酸基転移酵素-1 によって担われていることも明らかにした。

##### 2) ウイルスレセプターとしてのコンドロイチン硫酸

ヘルペス単純ウイルス-1 の哺乳動物細胞への感染をイカ軟骨のコンドロイチン硫酸 E が強く阻害すること、宿主細胞のコンドロイチン硫酸にも E 二糖構造が存在しレセプターとして機能していることを、スウェーデンのヨーテボリ大の Bergström 博士らとともに証明し、ウイルス表面糖タンパク質 C の結合サイトの最小構造を八糖と決定した。

ヘルペス単純ウイルス-1 の感染に抵抗性を示す培養マウス L 細胞変異株 gro2C と sog9 ではヘパラン硫酸合成酵素 EXT-1 が欠損しているが、gro2C には感染性が残存し、sog9 には 99% 感染性が欠如している原因は不明であった。我々は、sog9 細胞でコンドロイチン 4-硫酸基転移酵素遺伝子が欠失していること、sog9 細胞への正常遺伝子の導入でウイルス感染性が回復し、細胞でのコンドロイチン硫酸 E 構造の出現と対応することを示し、ヘルペス単純ウイルス-1 の感染に細胞表面のコンドロイチン硫酸 E 構造が深く関わっていること、コンドロイチン 4-硫酸基転移酵素が E 構造の合成に必須であることを証明した。

##### 3) モデル生物のグリコサミノグリカン生合成変異株のフェノタイプの解析

ハエでのヘパラン硫酸合成における EXTファミリーメンバーの3つの遺伝子を異なる組み合わせで共発現させ、3つの遺伝子産物がそれぞれ必須の固有の機能を有することを証明した。また、これまで機能が不明であった線虫のヘパラン硫酸合成酵素遺伝子と推定されていた *rib-1* にコードされるタンパク質が相同遺伝子 *rib-2* のコードタンパク質と複合体を形成し、ヘパラン硫酸合成酵素活性をもつことを証明した。また、deletion mutagenesis によって *rib-1* の null mutant ではヘパラン硫酸合成が低下し、原腸陥入かそれ以降の発生時期で形態形成異常を起こし、致死になるフェノタイプを示した。このように、*rib-1* はヘパラン硫酸の合成と形態形成に必須であることが分かった。

イリノイ大の P. G. Okkema 博士らと共同で、ピリミジンの *de novo* 合成酵素をコードする *pyr-1(cu8)* 遺伝子の線虫突然変異株でヘパラン硫酸合成が低下し、線虫の気管形成 (pharyngeal isthmus の伸長) が不完全になる形態形成異常を見いだした。これらの結果は、線虫でのピリミジン合成異常が間接的にヘパラン硫酸合成異常を来し、気管形成異常のフェノタイプをもたらすことを示している。

線虫よりも下等なヒドラのヘパラン硫酸とコンドロイチン硫酸を初めて同定し、ヒドラでは線虫と同様に、ヒアルロン酸がないことを発見し、コンドロイチン硫酸による機能の補完を示唆した。

##### 4) ゼブラフィッシュを用いたコンドロイチン硫酸の機能解析

コンドロイチン硫酸が発生の過程で重要な役割を果たしていることを示唆する報告が多くなされてきた。そこで、モルフォリノオリゴヌクレオチドを用いて遺伝子のノックダウン解析が行いやすいモデル生物であるゼブラフィッシュを利用し、コンドロイチンの4-*O*-sulfateの機能を解析した。この構造を生合成する鍵酵素であるコンドロイチン4-硫酸基転移酵素-1について、whole-mount *in situ* hybridization 解析を行ったところ、ゼブラフィッシュ胚の脊索や体節等での強い発現が見られた。コンドロイチン4-硫酸基転移酵素-1をノックダウンしたゼブラフィッシュ胚では、将来筋肉になる体節の形成が異常となり、体軸が曲がるという表現型が得られた。さらに、運動神経の形成異常を引き起こすことも分かった。これらの結果より、コンドロイチン硫酸の4-*O*-sulfateが筋肉や運動神経の発生の過程で重要な役割を果たしていることが示された。

#### 5) 脳のグリコサミノグリカンの機能と生合成の相関関係の解析

ブタ胎児脳から精製したコンドロイチン硫酸/デルマトン硫酸ハイブリッド鎖のマウス海馬ニューロンに対する神経突起伸長促進活性にプレイオトロフィンと肝細胞増殖因子のシグナル伝達経路が関与していることを見だし、活性を担うプレイオトロフィン結合ドメイン八糖を、プレイオトロフィン固定化カラムを用いて単離し、構造決定した。

ブタ胎児脳から単離精製したコンドロイチン硫酸/デルマトン硫酸ハイブリッド鎖の神経突起伸長促進活性が、デルマトン硫酸構造の指標となるIdoUA含量と相関していることを以前に示していた。今回、生後7日から7週齢のマウス脳を用いて、コンドロイチン硫酸およびデルマトン硫酸の合成に関わる硫酸基転移酵素遺伝子の発現と発現したハイブリッド鎖の二糖組成を解析し、特に小脳の発達期でデルマトン硫酸構造に特徴的な2種類の二糖単位 iA[IdoUA-GalNAc(4-*O*-sulfate)]と iB[IdoUA(2-*O*-sulfate)-GalNAc(4-*O*-sulfate)]の量が有意に上昇し、その合成に関与する2種類の硫酸基転移酵素、デルマトン4-硫酸基転移酵素とウロン酸硫酸基転移酵素の特異的な発現上昇を見いだした。これらの結果は、生後の小脳の発達に、iAとiBを含むハイブリッド鎖が重要な働きをしていることを示している。

神経幹細胞の維持におけるコンドロイチン硫酸/デルマトン硫酸の役割を解明するため、ドイツのルール大のA. Faissner博士らとともに、神経幹細胞におけるコンドロイチン硫酸/デルマトン硫酸の構造とそれらの生合成に関わる酵素群の発現について調べた。単なる電気陰性度のみが神経幹細胞の維持に関わっているのではなく、特定の硫酸化配列をもったコンドロイチン硫酸/デルマトン硫酸が必要であることを示すことができた。

成熟した脳の神経細胞の多くは、神経細胞周囲網(perineuronal net, PNN)と呼ばれる特殊な構造体で覆われている。PNNはシナプス回路が構築される臨界期の終わり頃から形成されるマトリクスだが、そこに存在するプロテオグリカンの構造や機能はほとんど研究されていなかった。今回、ケンブリッジ大のJ. W. Fawcett博士らと共同で、生理緩衝液に異なる可溶化剤を添加することによって、PNNの性質の異なるコンドロイチン硫酸プロテオグリカンを効率よく、段階的に抽出する条件を見いだした。さらに、正常脳と人工的に損傷させた脳について、ヘパラン硫酸プロテオグリカンの構造、関連遺伝子の発現量の変化について比較した。その結果、ヘパラン硫酸鎖中のウロン酸の2-*O*-sulfateの増加が見られ、この構造を生合成する鍵酵素であるヘパラン硫酸2-硫酸基転移酵素のmRNAの発現量も上昇していた。したがって、この2-*O*-sulfate構造が中枢神経系の損傷に対する反応において、何らかの重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

コンドロイチン硫酸プロテオグリカンの1つであるアグリカンは、オルターナティブスプライシングによる複数の産物が存在することが知られている。我々はイタリアのパルマ大のR. Perris博士らとの共同研究によって、それぞれのアイソフォームを別々に認識する抗体を作成し、それらを用いて脳内でのアグリカンアイソフォームの分布を調べた。その結果、大脳皮質において異なるPNNの層は、異なるアグリカンアイソフォームを発現していることを見いだした。したがって、特定のアグリカンアイソフォームが、大脳神経のあるサブグループに特異的な働きをしている可能性が示唆された。

#### 6) コンドロイチン硫酸の関与する疾病の発見とがん転移への関与の証明

コンドロイチン硫酸の生合成酵素の変異を原因とする遺伝病の解析を行った。トルコのイスタンブール大のB. Tuysuz博士、ニュージーランドのオタゴ大のS. P. Robertson博士らにより見いだされた、複数の骨異形成症の原因が、コンドロイチン硫酸の生合成酵素の1つであるコンドロイチン6-硫酸基転移酵素



-1 の変異である可能性が示唆された。我々は、これら変異酵素の酵素活性を測定するとともに、患者の組織のコンドロイチン硫酸の構造や生合成酵素活性を生化学的に解析したところ、複数の患者で見つかった異なる各々の点変異について、コンドロイチン 6-硫酸基転移酵素活性が有意に低下していた。各患者組織におけるコンドロイチン 6-硫酸基転移酵素活性も低下しており、コンドロイチン硫酸そのものの合成量の減少と、その構成二糖組成も変化していた。これらの知見は、変異による酵素活性の低下が原因となり、コンドロイチン硫酸の量的、質的変化が生じ、その結果本来のコンドロイチン硫酸が発揮すべき機能が損なわれ、正常に骨が形成しないことを示している。

癌の転移における高硫酸化コンドロイチン硫酸の関与についても解析した。高硫酸化コンドロイチン硫酸 E に対するファージディスプレイ抗体 GD3G7 に対する反応性を高転移性と低転移性のルイス肺癌由来細胞株と比較したところ、高転移性株で強い染色が見られた。そこで、各細胞株からコンドロイチン硫酸を単離し、その構造解析を行ったところ、E 構造は高転移性株に高い割合で検出された。これらの結果は、高硫酸化コンドロイチン硫酸と癌の高転移性との関連を示唆している。高転移性株をマウスの尾静脈より注射することによる肺でのコロニー形成は、コンドロイチン硫酸分解酵素で癌細胞を処理した場合、高硫酸化コンドロイチン硫酸 E を同時に添加した場合、GD3G7 抗体を同時に添加した場合のいずれにおいても、抑制され、癌細胞表面の高硫酸化コンドロイチン硫酸が、癌の転移に深く関わっていることが証明された。この成果は、癌の転移抑制剤の開発に結びつく可能性をもつと考えられる。

#### 7) 新規のコンドロイチン(硫酸)分解酵素の同定

我々は以前、線虫の系を用いて、硫酸化されていないコンドロイチンが存在すること、コンドロイチンが胚発生において不可欠の働きをすることを証明し、さらにコンドロイチンの生合成に関わる酵素の同定を行った。今回はコンドロイチンの代謝酵素の同定を目指した。線虫にはコンドロイチンと構造がよく似たグリコサミノグリカンであるヒアルロン酸が存在しないことが知られているが、それにも関わらずヒアルロン酸分解酵素であるヒアルロニダーゼのホモログが線虫ゲノムに存在するのを見いだした。そこで、この遺伝子産物について解析したところ、発現タンパク質の酵素活性が検出され、さらにヒアルロン酸には殆ど作用せず、コンドロイチンに特異的に作用するエンド型の加水分解酵素であることが判明した。このような酵素の報告はこれまでに例がない。最近さらに、ヒトのヒアルロニダーゼと考えられてきた複数の酵素の1つ(ヒアルロニダーゼ4)が実はコンドロイチン硫酸分解酵素であり、特定の配列を認識する非常に特異性の高い b-N-アセチルガラクトサミニダーゼであることを見いだした。

#### 8) 糖鎖認識プローブである抗グリコサミノグリカン抗体の認識する糖鎖構造の解析

ホヤから単離した高硫酸化デルマタン硫酸を免疫源として、世界に先駆けて抗デルマタン硫酸単クローン抗体を作成し、海馬と小脳を特異的に染色することを示し、ホヤの多糖からエピトープ十糖を単離し、構造決定した。

一方、サメ軟骨由来の CS-D から単離構造決定していた5種類の硫酸化八糖について、900MHz <sup>1</sup>H-NMR と古典的分子力学に基づくモデリングで解析し、3種類の抗体(MO-225、CS-56、473-HD)によって共通に認識される立体構造と静電ポテンシャルの分布を明らかにし、D 二糖単位 GlcUA(2-O-sulfate) の構造及び八糖の両端に位置する6位の硫酸基の重要性を明らかにした。さらに、サメ胎児軟骨の CS プロテオグリカンに対して調製したマウス単クローン抗体 WF6 によって認識される抗原が卵巣がん患者の血清中で上昇する腫瘍マーカーであることを見だし、エピトープの一次構造を決定すると共に、量子力学に基づく分子軌道法による計算化学の手法を導入し、エピトープの立体構造と静電ポテンシャルの分布を明らかにした。

イカ軟骨由来のコンドロイチン硫酸 E は神経突起伸長促進活性、ヘパリン結合性増殖因子との結合活性、ヘルペスウイルス感染阻害活性等の活性を示すが、詳細な構造は不明であった。我々は、一連の硫酸化八糖と十糖を単離、構造決定し、構造解析ツールであるマウス単クローン抗体 MO-225 が十糖を最小単位として認識し、しかも、4つの E 二糖単位と1つの C 二糖単位からなる E-E-E-E-C とだけ結合し、A 二糖単位を含む E-E-E-E-A や、E-E-E-E-E などの十糖には結合しないことを見いだした。現在、立体構造や静電ポテンシャルの分布を解析している。

#### 9) コンドロイチン硫酸の新規構造解析法の開発

海産動物のコンドロイチン硫酸には、GlcUA(3-O-sulfate)構造という珍しい修飾構造を含むものがあることが知られている。この構造は、通常の組成分析方法であるコンドロイチナーゼABCでの低分子化を行うと分解が起こり、検出不能になる。そのため、哺乳動物でも存在しているが見逃されてきた可能性がある。そこで、この構造の上記の酵素による分解機構を解明し、かつこの構造を定量する方法を新規に開発した。

また、コンドロイチン硫酸の解析をより効果的に行うことを目的として、<sup>1</sup>H-NMRによるコンドロイチン硫酸中のウロン酸のタイプを定量する方法を開発した。本法を利用すると、非破壊的に、微量でコンドロイチン硫酸/デルマトン硫酸ハイブリッド鎖中のGlcUAとIdoUAの量比、すなわちコンドロイチン硫酸とデルマトン硫酸の割合を算出できる。

## (2) 研究成果の今後期待される効果

今回、高硫酸化コンドロイチン硫酸の関わるヘルペス単純ウイルスの感染や癌の転移、また神経幹細胞の維持などグリコサミノグリカンの新規機能をいくつか証明できた。これらはグリコサミノグリカンに関連した疾患の原因究明や、それらの治療法の開発に於いて極めて有益な情報になりうる。また、グリコサミノグリカンの生合成や代謝のメカニズムに関する新しい知見は、グリコサミノグリカンの機能に関連する生命現象の機構を解明する上で有用であり、今後グリコサミノグリカンの機能調節を行う上での基礎的データとして大いに活用できる。さらに、今回開発した糖鎖認識プローブは、グリコサミノグリカンに関連した癌などの疾患の検出、特定の機能糖鎖ドメイン構造の検出に有効である。

また今回、解析をコンドロイチン硫酸抗体によって認識されるオリゴ糖鎖配列に対して実行したが、この量子力学を反映した分子軌道法による計算化学による解析を行った。これは、糖鎖と機能性タンパク質の相互作用の理解への新しいアプローチであり、新分野の開拓が期待される。

## 3.7 細胞質における遊離糖鎖のプロセッシング機構とその生物学的重要性 (理化学研究所 鈴木匡グループ)

### (1) 研究実施内容及び成果

真核細胞の細胞質に広く遊離のN型糖鎖が蓄積、プロセスされる現象は古くから知られているが、その代謝の分子機構は長い間不明なまだった。我々はこれまで、(1)糖タンパク質からの糖鎖の脱離(PNGase)の酵素の発見と遺伝子同定、(2)糖鎖の還元末端のGlcNAc残基の脱離(ENGase)の分子クローニングを行ってきたものの、そのほかに関わると考えられる酵素およびトランスポーターの遺伝子は不明であった。そこで、本研究では、遊離糖鎖の微量簡便解析、定量法を確立するとともに、新規酵素のアッセイ系の確立、およびこれまで明らかになっている関連酵素の生物学的重要性の解析を行った。その結果、これまで主に以下に示すような成果を達成できた。

### 1) 細胞質マンノシダーゼ(Man2C1)の同定およびその糖鎖代謝における役割の解明 (Suzuki, T., et al. (2006) *Biochem. J.* **400**, 33-41.)

これまで哺乳動物細胞を用いた生化学的な解析から、細胞質のマンノシダーゼが遊離糖から特定のマンノースを刈り込むことが明らかになっていたが、その酵素をコードする遺伝子は不明だった。我々はこれまでのヒトのゲノム情報から明らかにされているマンノシダーゼ・およびマンノシダーゼ様遺伝子について検討を行い、これまで小胞体マンノシダーゼといわれていたMan2C1が細胞質マンノシダーゼと同一である可能性が高いと結論づけ、その仮説の検証を行った。その結果、Man2C1は実際細胞質に発現し、酵素的性質もこれまで調べられている細胞質マンノシダーゼと類似していることが判明した。更にsiRNAによる酵素の発現抑制によって、細胞表面の糖鎖に大きな変化は見られないものの、遊離糖鎖の量および構造に大きな変化が認められ、Man2C1の主要な生理機能は細胞質遊離糖鎖の代謝であることが強く示唆された。この発見によって、PNGase(Suzuki, T., et al., (2000) *J. Cell Biol.* **149**, 1039-1051)、ENGase(Suzuki, T., et al., (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**, 9691-9696)Man2C1という細胞質高マンノース型遊離糖鎖の代謝経路の分子機構がはじめて明らかになった。

2) 哺乳動物細胞質に蓄積する高マンノース型遊離糖鎖の HPLC による簡便な分離、検出法の確立  
(Suzuki, T., et al. (2008) Anal. Biochem. 381, 224-232.)

これまで、哺乳動物中に遊離糖鎖が存在することは知られていたが、その殆どは還元末端が GlcNAc1 残基である Gn1 型糖鎖となっているのが構造的な特徴である。これまで、還元末端にキトビオース構造 (GlcNAc1-4GlcNAc) を持つ Gn2 型糖鎖の分離定量法はよく知られていたが、Gn1 型の糖鎖を効率よく分離する方法は知られていなかった。特に蛍光(PA)標識した Gn2 型糖鎖において、構造異性体同士を分離できる逆相カラムにおいて、従来の条件では Gn1 型糖鎖は殆どカラムに保持されず、非常に分離、定量が難しかった。我々は PA 標識糖鎖の逆相カラムへの保持が pH に大きく依存することに注目し、通常よく用いられているブタノール濃度に加えて pH のグラジエントを加えた新しい HPLC の条件を確立し、この方法とサイズ分画であるアミノカラムを併用することでこれまで見出されている細胞質高マンノース糖鎖の構造異性体の殆どを分画、定量することが出来ることを示した。この新しい分析方法によって、哺乳動物由来の細胞質遊離糖鎖の構造同定が格段に容易になった。

3) ヒト胃がん由来細胞 MKN7/45 細胞における複合型遊離糖鎖蓄積の発見  
(Ishizuka, A., et al. (2008) Biochem. J. 417, 227-237)

これまで哺乳動物の細胞質に蓄積する遊離糖鎖の報告はほぼ高マンノース型(小胞体型)糖鎖に限定されていた。我々は、各種のヒト由来がん細胞中の遊離糖鎖を解析する過程で、胃がん由来の MKN7/MKN45 細胞で複合型(ゴルジ型)N 型糖鎖が蓄積することを明らかにし、その構造を精密に解析した。生化学的解析により、この糖鎖はリソソーム膜の機能低下により、直接細胞質から漏れ出していることが示唆された。また細胞質シリアダーゼである Neu2 の発現により、シアル酸を含む糖鎖の量が著しく減少したことから、細胞質のシアル化遊離糖鎖が Neu2 の生理的な基質となりうる可能性を提唱した。

4) 蛍光標識糖鎖を用いた小胞体膜上の糖鎖トランスポーター活性のアッセイ法の確立  
(Haga, Y., et al. (2009) Glycobiology 19, 987-994)

細胞質遊離糖鎖の生成経路の一つとして、細胞質 PNGase 依存的経路のほか小胞体内腔で生じる PNGase 非依存的経路が知られている。小胞体内の糖鎖は特異的な小胞体膜トランスポーターによって細胞質に放出されるとされているが、簡便なアッセイ法が存在しないことから、その遺伝子は未だ不明のままである。

そこで、小胞体膜上の糖鎖トランスポーターの新規アッセイ法の確立を目指し、蛍光標識した N 型遊離糖鎖を用いた。その結果、マウス肝臓より小胞体膜を調製し、膜をアルカリ pH で処理することで、蛍光糖鎖プローブを内腔に封入し、逆行輸送されたプローブは膜外に加える蛍光物質に対する抗体によってクエンチされる。この経時変化を観察することで、逆行輸送の新規アッセイ系を確立した。本アッセイにより、糖鎖の小胞体膜上の輸送がこれまでの報告どおり能動輸送であり、輸送活性には ATP のほか細胞質成分が必須であること、糖鎖の輸送には構造特異性があることなどが明らかとなった。

5) 出芽酵母における遊離糖鎖の解析法の確立と、ERAD マーカーとしての遊離糖鎖の利用  
(Hirayama, H., et al., submitted for publication)

哺乳動物における遊離糖鎖の存在の報告は広く存在するが、他の種における遊離糖鎖の代謝機構はその多くが不明である。これまで出芽酵母では遊離糖鎖が存在することが報告されているものの、その詳細な構造多様性などは明らかになっていなかった。我々は出芽酵母から遊離糖鎖を単離、定量する方法を確立した。興味深いことに、これらの糖鎖は細胞質 PNGase の欠損株では殆ど消失することが分かり、少なくとも通常の実験条件下では出芽酵母における遊離糖鎖は PNGase 依存的経路によって作られることが判明した。また、以前の報告と同様その遊離糖鎖の代謝には細胞質に存在するマンノシダーゼである Ams1 によって行われることが明らかとなった。このことから、Ams1 欠損株における遊離糖鎖の構造は小胞体関連分解(ERAD)において分解されるタンパク質上の糖鎖構造を反映していることが強く示唆された。Ams1 欠損株においても糖鎖の構造多様性は顕著であり、ERAD をうける変性糖タンパク質の糖鎖

のプロセッシングは非常に多様であることが示唆された。特に 20%程度の糖鎖は Och1 という酵母特有のゴルジに局在する糖転移酵素によって修飾をうけており、変性糖タンパク質の1部は明らかにゴルジに到達した後で分解を受けていることが明らかとなった。

## (2)研究成果の今後期待される効果

以上のべたように、我々の研究によって、細胞質における遊離糖鎖とその代謝機構が酵母からヒトにいたるまで真核細胞に広く存在する基本的な生物学的素過程であることを示すことが出来た。その分子機構の全容解明にはまだ多くの困難な道りが予想されるものの、これまで生化学の教科書でも全く無視されていたこの過程が、少しずつ関連分野の研究者に認知されるにいたってきている。例えば、遊離糖鎖の存在やその代謝機構について、糖鎖生物学におけるもっとも Comprehensive な教科書といえる”Essential Glycobiology” (A. Varki, eds) の 2nd edition には細胞質遊離糖鎖とその代謝機構に関する記述が初めて見られた。我々の細胞質 Man2C1 に関する論文 (Suzuki, T., et al., (2006) *Biochem. J.* 400, 33-41) や、遊離 N 型糖鎖に対する総説 (Suzuki, T. and Funakoshi Y., (2006) *Glycoconj. J.* 23, 291-302) は、この3年弱の間に既に20回以上他の論文に引用されている。また、我々の研究に加え、線虫において遊離糖鎖の存在が示されるなど (Kato, T., et al. (2007) *J. Biol. Chem.* 282, 22080-22088)、その普遍性も明らかにされつつある。また、複合型の遊離糖鎖の存在はこれまで殆ど報告がなく、その存在自体が疑問視されていたが、本研究によって、少なくともある種のがん細胞中には大量の複合型遊離糖鎖が蓄積することが明らかとなった。また、その後の解析により複合型遊離糖鎖の蓄積が細胞に普遍的に存在する現象であり、その特殊な代謝機構についても明らかにされつつある (清野ら、未発表)。

糖鎖の代謝異常とその疾患に関しては、これまでリソソーム酵素との関連が良く知られているが、今回新しく見いだされた遊離N型糖鎖の代謝の生理機能や、その欠損に伴う病態の変化については未だに明らかではない。我々は既に遊離糖鎖の代謝に関与することが明らかにされている細胞質 PNGase、ENGase のノックアウトの作成とその解析を進めており、近い将来その生物学的重要性と、更にこれらの酵素が関わる非リソソーム代謝がリソソームにおける糖鎖代謝とどのようなクロストークを持つかが明らかにされると期待される。

## 3. 8 エキソ・エンドサイトーシスに関与する輸送小胞の形成機構の解明

(University of Queensland 田口友彦グループ)

リサイクリングエンドソーム (以下 REs と略す) は、エンドサイトーシスを受けたのちに細胞膜へ戻っていく分子が一時的に滞留する核近縁部の膜系として 1980 年代に同定された比較的歴史の浅い細胞小器官である。ところが、近年 REs がエキソサイトーシスの経路にも関与していることが我々の研究から明らかとなり、REs はリサイクリング経路だけでなく、より広範な膜輸送経路にも関与していることが示唆されてきた。

本研究に於ける我々の大きな狙いは、(A) REs の細胞内膜輸送経路における位置をより明確にすることと、(B) REs の局在タンパク質を同定することによって膜輸送の制御因子を同定すること、の二つである。

1) REs を通過する膜輸送経路の可視化に適している細胞のスクリーニングを行い、その中から COS-1 細胞を見いだした (Masaki et al, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2007)。COS-1 細胞では、ゴルジ体が空間的に球体を形成しており、その内部に REs を、外側にその他の細胞小器官 (初期エンドソーム、後期エンドソーム、リソソームなど) を配するユニークな細胞小器官の空間的分布を示す。

この特徴を活かして、糖脂質-毒素複合体によって代表される“細胞膜から小胞体へ至る”逆行性膜輸送経路の解析を行ったところ、コレラ毒素-GM1 糖脂質複合体は“細胞膜→初期エンドソーム→リサイクリングエンドソーム→ゴルジ体→小胞体”という流れを辿ることが明らかとなった。更に REs の不活化実験などにより、REs の機能がコレラ毒素の逆行性膜輸送に必要なことが示された。この発見によって、リサイクリングエンドソームは、細胞の持つ3つの主要な膜輸送経路-エンドサイトーシス (リサイクリング経路)、エキソ

サイトーシス、逆行性膜輸送を制御することが示された。

また、シガ毒素(コレラ毒素と同じく A<sub>1</sub>B<sub>5</sub> タイプのタンパク質性毒素で Gb3 糖脂質に結合)もリサイクリングエンドソームを通過することを明らかにした (McKenzie et al, *FEBS J.* 2009) )。

2) コレラ毒素の逆行性膜輸送の制御因子として、新たに REs に局在する膜タンパク質 evectin-2 を同定した。Evectin-2 はその N 端に PH-domain を持つ 20K のタンパク質で広範囲の組織で発現している。この PH-domain は evectin-2 の REs へのターゲティングに必要十分であり、*in vitro* での酸性脂質に対する親和性の解析により、ホスファチジルセリンに特異的に結合することが明らかになった。このことから REs はホスファチジルセリンを豊富に発現しているユニークな細胞小器官であることが明らかとなった。Evectin-2 のノックダウンによってコレラ毒素の輸送が REs で遅延するのみならず、ゴルジ体-細胞膜を巡回しているタンパク質 TGN46 の局在もゴルジ体からエンドソームへと劇的に変化することが判明し、TGN46 の巡回に REs を通過する逆行性膜輸送が必要なことが示された。また PH-domain 以外の細胞質領域で、TGN に局在する幾つかの t-SNARE タンパク質 (Syntaxin 6, Syntaxin 16, Vti1a) とインタラクションすることが明らかとなり、evectin-2 は REs-Golgi の間の tethering factor として機能している可能性が示唆された。

3) COS-1 細胞の特性を活かして REs の局在タンパク質として small GTPase である Rap2 を同定し、integrin の細胞膜へのリサイクルの経路への関与を示した。Rap2 はパルミトイル修飾を受けるが、このパルミトイル修飾が REs の局在化と機能発現に必要なことを示すことができた (Uechi et al, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2009) )。

4) 近年、small GTPase の Rab protein family が膜輸送の制御因子として重要であることが明らかにされてきている。Rab5-初期エンドソーム、Rab7-後期エンドソーム、Rab6-ゴルジ体、Rab1/2-小胞体-ゴルジ体、Rab11-REs などが主な研究対象であるが、それ以外の 60 を越える Rab タンパク質の機能・局在に関してはほとんどが依然不明のままである。そこで、COS-1 細胞が細胞小器官の空間的分離に優れている特性を活かして、Rab-GFP library (東北大学: 福田光則先生との共同研究) を COS-1 細胞で発現させることにより、Rab タンパク質のスクリーニングを行った。その結果、60 種類の Rab タンパク質のうち、約 1/4 もの Rab タンパク質 (Rab17, 23 など) が REs に主に局在することがわかった。

更に、Rab23 のノックダウンによって TGN46 の局在がゴルジ体からエンドソームへと劇的に変化することから、Rab23 は逆行性膜輸送の新たな制御因子であることがわかった。Rab23 は分化・発生において重要である Sonic Hedgehog 経路の negative な制御因子であることがマウスの系で示されているが、その site of action は不明のままであった。この結果は、REs が分化・発生に重要な細胞小器官であることを示すものである。

5) N-Ras, H-Ras, Cdc42 などのシグナル伝達分子が細胞膜以外にも REs に局在することがわかり、更に Ras に関しては RE への局在に関する構造上の必要十分条件を明らかにすることができた。局在場所を強制的にゴルジ体へと変化させた Ras 変異体 (パルミトイル修飾を欠損させたもの) は REs に局在する正常形の Ras と比較して活性が著しく低下することがわかり、REs の細胞内情報伝達における重要性を示すこととなった。

3) の Rap2 の REs 局在におけるパルミトイル修飾の必要性も併せて考えると、パルミトイル化タンパク質と REs には緊密な関係があることが示唆される。REs はゴルジ体と異なり、パルミトイル基に高い親和性がある脂質環境を持っていることが予想される。

6) TNF (tumor necrosis factor: 腫瘍壊死因子) はゴルジ体を脱出後 REs を通過してから細胞外へ放出されることが明らかにされている。TNF の膜輸送経路を阻害する薬剤のスクリーニングをで行ったところ、wortmannin (基質特性が低い PI3-kinase の阻害剤) が TNF の輸送をゴルジ体のレベルで阻害することが明

らかとなった。PI3-kinase には多くの isoform があるので、より特異性が高い阻害剤を用いて検討を行ったところ、特に PI3-kinase d の主要な関与が示唆された。更に、PI3-kinase d の活性 null mutant mice から単離した bone-marrow macrophage では TNF の細胞外への輸送が 5 倍以上減少しており(タンパク質の合成量には顕著な差は無い)、TNF のゴルジ体への顕著な集積が認められた。PI3-kinase d のノックダウンによっても TNF の細胞外への輸送が減少することが確かめられた。

Live-cell imaging により TNF のゴルジ体からの膜輸送経路を観察したところ、PI3-kinase d の機能不全によって、ゴルジ体からの数 mm にも及ぶ異常に長い tubulation を多数認めることができた。この tubulation は、dynamin (membrane fission に関する分子)の機能阻害剤である dynasore で細胞を処理した時に現れる tubulation と酷似していた。PI3-kinase d はゴルジ体から TNF を輸送する tubular carrier の fission process に関与していると考えられる。

本結果は、PI3-kinase の分泌経路への関与を初めて示すものであり(細胞膜またはエンドソームでの機能は今までに良く知られている)、更にゴルジ体での tubulation process の新たな制御因子を同定したのものとしても意義がある。

### 3.9 糖鎖合成時の動態と機能発現

(東京大学、田口良グループ)

#### (1) 研究実施内容及び成果

GPI アンカー型タンパク質の C 末端糖脂質の構造は側鎖やアシル基の付加等、種々の微細な構造上の変化があることが知られている。また脂質部のホスファチジルイノシトールの分子種も基のリン脂質の分子種組成と大きく異なり、sn-1 位には前駆体の PI のほとんどがジアシル型であるのに対して膜表面の GPI ではアルキル型が 50%以上含まれ、sn-2 位には前駆体の PI に多い高度不飽和脂肪酸のアラキドン酸ではなく飽和脂肪酸のステアリン酸がほとんどである等、特徴的な構造を持つことが判っている。これらの特異的構造がどのように形成されるか、すなわち、GPI 前駆体の合成時又はタンパク質の翻訳後修飾の後に脂質部分のリモデリングが起こることなどの可能性について解明すべき多くの問題が残されていたが、このクレスト研究の以前においては GPI 構造の分子レベルでの詳しい解明は行われていなかった。

このクレスト研究で田口良グループはタンパク質の GPI アンカー修飾構造の質量分析による解析を通じて得られたイノシトールやグルコサミン、エタノールリン酸マンノース等を含む GPI 特異的マスマフラメント情報を用いて、生合成中間体や翻訳後修飾後の酵素作用により分解を受けた種々の GPI アンカーペプチド代謝物の選択的同定法を確立した。これらの手法を用いて、木下グループと共同して、種々の GPI タンカータンパク質に関連する変異細胞から得られた GPI アンカータンパク質の翻訳後修飾構造の多様性やそれが細胞膜上で位置特異的な加水分解を受ける際の作用点などの解明を行った。

この際、GPI アンカーの疎水性部分であるホスファチジルイノシトールの構造解析についてもホスファチジルイノシトール特異的リン脂質同定法を用いて、生合成変異株の GPI アンカー部のイノシトールの脂質分子種解明への適用を試みた。この疎水性部分の解析を通じてラフトにおける他の成分との相互作用の可能性や膜流動性に対する性質、脂肪酸リモデリングに関する酵素作用の解明を目指した。

田口良グループは、構築した高感度質量分析システムとそれに連動したタンパク質や脂質の検索同定システムを用いて、GPI アンカー糖脂質部の詳細な構造とこれらの構造に変異をもつためその動態に異常を生じるタンパク質との違い等について詳細に調べた。さらに糖脂質の脂質分子種のリモデリング等については当研究室で開発した脂質分子種同定システムを用いて、各種 GPI アンカー変異株を用いイノシトール糖脂質の脂質分子種を詳細に解析し、前駆体生合成や脂肪酸リモデリングの実態とその生理的意味との関連を探った。

さらに、膜の特定なドメインに局在する GPI アンカータンパク質との相互作用が推定されるスフィンゴ糖脂質の特異的かつ包括的解析手法の確立を目指すと共に、膜ドメインの機能の解析を試みた。

これらの研究を実施することにより、以下の研究結果を得た。

#### 1) 膜表面 GPI アンカータンパク質の脂質リモデリング機構の解明と構造解析

木下グループとの共同で GPI アンカータンパク質合成変異体の一つにおいて、ホスホリパーゼ D 様の酵素作用により、生じる GPI アンカー C 末端ペプチドの微細構造を質量分析により解明した。さらに、GPI アンカー野生株と GPI 合成2重変異株の PI 分子種の質量分析により PI の *sn*-2 位の脂肪酸のリモデリング過程の存在を明らかにした。このリモデリングでは、アラキドン酸が切断され、ステアリン酸に置き換わることを証明することが出来た。このことは膜のラフト様ドメインへの局在において、流動性の高いアラキドン酸から流動性の低い飽和型脂肪酸であるステアリン酸へのリモデリングが重要であることを裏付けている。

この際、リモデリングの途中で生成するアラキドン酸が切断されたリゾ型の構造が容易に遊離される構造に変換される事が半り、この遊離型 GPI アンカーを合成する変異株より得た、GPI アンカータンパク質のトリプシン分解ペプチド混合物を液体クロマトグラフィータンデム質量分析法(LCMS/MS)により解析することにより、GPI アンカー C 末端ペプチドを、GPI アンカーペプチド特異的なフラグメント情報から同定し、そのペプチドの分子量関連イオン、フラグメントイオンを詳細に解析することにより、この遊離が、前駆体である GPI アンカータンパク質 C 末端部分のイノシトールとリン酸の間のホスホリパーゼ D 様の切断によって引き起こされることを明らかにした。

そこで、野生株とアラキドン酸遊離とその後の再アシル化過程が欠損していると考えられる二重変異株の GPI アンカータンパク質の PVDF 上の精製バンドから亜硝酸処理により切断、遊離したホスファチジルイノシトール分子種を分析した結果、野生株では *sn*-2 位がほとんど飽和型のステアリン酸(18:0)であるのに対して、二重変異株では、前駆体の PI の *sn*-2 位と同じ 20:4, 22:6, 18:1 等の不飽和型の分子種であることが判った。この二重変異株では、予想したように *sn*-2 位の脂肪酸リモデリングに異常があることを明らかにすることが出来た。

## 2) GPI アンカー構造中の PI のアルキルアシル型サブクラスの生成機構の解析

哺乳動物の GPI アンカー型タンパク質では、1 アルキル 2 アシル型ホスファチジルイノシトールが主体であることに関して、質量分析による解析結果より、GPI アンカータンパク質の GPI アンカー前駆体のうち、前駆体初期合成反応の GlcNPI から GlcN-acylPI の間で、*sn*-1 位のアルキル体の大きな増加が観察され、全体ではアシル体よりも増加しており、その一方、これらの前駆体の PI の *sn*-2 位は 20:4, 22:6, 18:1 等の不飽和型の分子種であることが判った。この GPI アンカー構造に存在する PI の *sn*-1 位のアルキル体の増加が、この過程の輸送過程による選択制か酵素反応の基質選択制による可能性か、又はアシルからのアルキルへの未知のホスホリパーゼ D タイプの未知のリモデリング置換反応のいずれかの機構により起こると考えている。

また、最近この生合成はペルオキシソームでのアルキル型リン脂質合成経路に依存していることがわかった。つまり、このペルオキシソームのプラズマローゲン合成変異株がアルキル対でなくジアシル体の GPI アンカータンパク質を持つことを明らかにし、ペルオキシソームにおけるプラズマローゲンの *de novo* 合成が必須であることを明らかにした。

しかし、アルキル型が主要成分を占める機構の詳細についてはさらに検討を必要とする。

## 3) マンノースの側鎖に存在するエタノールリン酸の切断変異株における分析、同定

最近の成果として、GPI 前駆体段階で結合している第 2 マンノースのエタノールアミンリン酸側鎖が、タンパク質への付加後除去される糖鎖部分のリモデリングが存在し、それが PGAP5 によって行われること、GPI アンカー型タンパク質の小胞体からゴルジ体への効率的な輸送に重要であることがわかった。長らく第 2 マンノースの側鎖に存在するエタノールアミンリン酸の生理的意味は不明であったが、この付加構造の切断がこの輸送に深く関与する事が明らかになった。

## 4) スフィンゴ糖脂質、特にガングリオシド、サルファチドの包括的解析と局在

また GPI の膜ラフトドメインへの局在について、GPI アンカー構造との相互作用が予想される分子としてガングリオシドの質量分析による解析を検討し、ガングリオシドの網羅的解析法を確立した。これまでガン

グリオシド分析に用いられた煩雑な手法に代わる簡便かつ迅速な手法として ODS (octadecyl silane) カラムを用いた逆相液体クロマトグラフィーと三連四重極型質量分析計を組み合わせた分析法を用いた。その際、逆相系で ODS カラムを用いてスフィンゴ糖脂質のセラミド部との疎水性相互作用を利用した分離法に着目した。これまでの逆相系でのガングリオシドについての分析法は、対象として GM1, GM2, GM3 といった比較的構造が複雑でないものについての報告が多く、糖鎖やシアル酸の数がさらに増えた GD1 や GT1 などについては十分な検討がなされていなかった。このため、様々な構造をもつガングリオシドが多く混在している条件下で、包括的分析が可能な溶媒、グラジエント条件等の最適化を行なった。その結果、methanol, isopropanol および 100 mM HCOONH<sub>4</sub> aq の 3 液混合グラジエントを用いることで、ガングリオシドのセラミド部を疎水性相互作用により ODS カラムに安定的に吸着させ、その後、セラミド構造と同じガングリオシドごとに規則的に溶出させることが可能となった。さらに、このような高いセラミド認識性を利用することで、スルファチドについても同様に分析が可能であることが明らかとなった。ガングリオシドやスルファチドの定量分析法として三連四重極型質量分析計による negative ion mode で MRM (multiple reaction monitoring) を用いた検討を行なった結果多くの分子種について pico - femto mol オーダーで高感度な定性および定量分析が可能となった。

この手法により、ラフトには脂肪酸鎖長の長い、比較的流動性の低い分子種が局在化している可能性を確認した。今後、GPI アンカータンパク質のラフトへの局在化との関係を調べる予定である。また、マウス小脳のサンプルについてレーザーマイクロダイセクションと LC/MS の組み合わせやイメージング MS を用いる局在解析の手法を確立し、これによりガングリオシドやサルファチドの微量解析が可能であることを確認した。

また、この他に、リン酸化等のタンパク質翻訳後修飾を高感度に測定するための誘導体化を用いた質量分析法を開発した。

## (2)研究成果の今後期待される効果

質量分析法の解析を GPI アンカータンパク質の生合成変異株を用いた研究に応用することにより、これまで詳細が不明であった、個々の生合成過程の酵素反応の実際を翻訳後修飾構造の解析により明らかにすることが出来た。また、これらの変異株の示すフェノタイプから個々の生合成過程の持つ生理的な意味に迫ることが出来た。生合成変異株と質量分析による実際の代謝過程の構造解析を組み合わせた研究手法は、非常に有力なアプローチであることが示された。得られた研究成果は GI アンカー構造の生理的意味のさらなる理解に大きく寄与するものと期待される。

また、スフィンゴ糖脂質の包括的分析法の確立により、ラフト様ドメインに局在する生体分子の挙動や生理的意義の解明に有力な手法になると考えられる。今後さらに、ウイルス粒子の形成や、膜タンパク質受容体のモジュレーション等におけるガングリオシド等のスフィンゴ糖脂質の機能解析に応用したい。

## 3. 10 フコシル化の制御とその機能解析

(大阪大学 三善英知グループ)

### (1)研究実施内容及び成果

#### 1) フコシル化ハプトグロビンに関する研究

タカラグループ(代表:小山信人)の CREST で、新しい膵癌の腫瘍マーカーであるフコシル化ハプトグロビンを発見し(Int. J. Cancer 118 (11), 2803-2808, 2006)、その産生機序と臨床検査法の開発を行ってきた。この研究に引き続き、ヒト膵癌患者血清から精製したハプトグロビンの部位特異的な糖鎖解析に成功した(Int J Cancer, 122(10), 2301-09, 2008)。精製したハプトグロビンをトリプシンで処理した後に、マスマスペクトロメリー法によって解析した。ハプトグロビンには、4カ所に N 型糖鎖結合部位が存在する。膵癌患者、慢性膵炎患者、高齢者健常人、若年健常人由来のハプトグロビンの構造解析を行なったところ、3番目の N 型糖鎖の構造が他の部位の糖鎖に比べて、非常にユニークな構造をしていた。つまり、他の 3カ所の糖鎖は基本的な 2 本鎖構造を持つものの比率が高かったが、この 3 番目の N 型糖鎖には枝分かれ構造をもつものが多かった(下記の図 1 を参照)。膵癌患者由来のハプトグロビンは、すべての部分の糖鎖でフコシル化が増加しており、特に 3 番目の N 型糖鎖ではフコースが 2 つ結合したユニークな糖鎖構造を認めた。恐らくルイス型のフコースが、この 3 番目の N 型糖鎖に多く結合しているものと考えられる。



図1

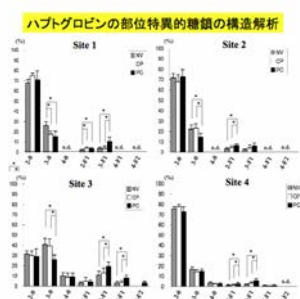
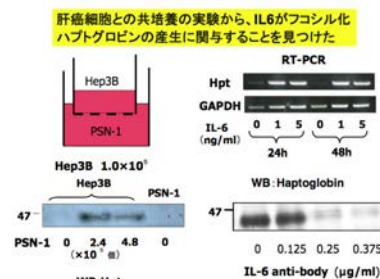


図2



ハプトグロビンは、本来肝臓で産生される急性期タンパクの1つで、正常の肝臓にはフコシル化反応を制御する一連の遺伝子群の発現が非常に低い。何故、肝癌患者の血清にフコシル化ハプトグロビンが上昇するのか不明であった。そこで、培養細胞系を用いて、肝癌細胞が分泌するIL6(インターロイキン6)が、肝癌細胞からのハプトグロビンの産生を促進させることを、共培養、IL6の阻害抗体などの実験から証明した(*Biochem Biophys Res Commun.*377 (3), 792-796, 2008)。すなわち、上記の図2に示すように、肝癌細胞と共培養すると、肝癌細胞Hep3Bから分泌されるハプトグロビンの量が著増した。この現象は、IL6を産生する肝癌細胞にのみ認められたことから、IL6そのものによる刺激でも、ハプトグロビンのmRNA発現量の増加することが、RT-PCRによって確認された。そして、共培養の実験系にIL6の阻害抗体を添加することによって、ハプトグロビンの産生量が抗体の濃度依存的に阻害された。さらに、IL6によって産生誘導されたハプトグロビンが、レクチンとハプトグロビン抗体のサンドイッチELISA法でフコシル化されていることがわかった。実際にフコシル化制御因子であるフコース転移酵素、GMD、FXなどのmRNA発現量がIL6の刺激によって増加した。肝癌では古くから、癌遺伝子rasの活性化が高頻度に行われることが知られており、最近rasの活性化がIL6の産生誘導を介して癌化に関与することが報告された(Ancrile B *et al*, *Genes & Development* 21, 1714-9, 2008)。フコシル化ハプトグロビン陽性の肝癌の生物学的特性を推測する上でも、本研究は示唆に富む。この研究において作製したフコシル化ハプトグロビンELISAキットは、培養細胞の培養上清をサンプルに使った場合、フコシル化ハプトグロビンの定量が直線的に可能であるが、ヒト血清を用いた場合においてもアッセイ可能かどうか検討した。その結果、研究室レベルの少数例の血清を用いた検討では、90%程度、従来のウエスタンブロット法に一致することがわかり、臨床応用への期待が持てる。

## 2) 大腸癌の脱フコシル化と腫瘍免疫に関する研究

一般的にフコシル化は、癌化や炎症によって増加し、一部のフコシル化タンパクは腫瘍マーカーとして用いられている。私達の研究室では、細胞のフコシル化が全く欠損しているHCT116細胞を発見した。フコシル化が全般的に欠損しているため、フコース転移酵素のドナー基質GDP-フコースの合成に関与する遺伝子群を解析した結果、変異型GMDを発現していることがわかった。この変異とは、シーケンズ解析の結果、エクソン5-7の欠損であることがわかった。そして、HCT116細胞に野生型GMDを強制発現すると細胞のフコシル化が回復することから、変異型GMDの発現が脱フコシル化の原因であることがわかった(図3)。次にHCT116細胞にベクターのみ入れた細胞(Mock)と野生型GMDを入れた細胞(WT-GMD)の細胞学的特性を検討した。通常のdishで*in vitro*で培養した時、明らかな細胞増殖の速度に差を認めなかった(図4左)。しかし、ヌードマウスの皮下に移植した場合、mockに比べてWT-GMDでは腫瘍サイズは著しく縮小した(図4右)。この腫瘍サイズの差は、ヌードマウスからNK細胞を除去すると激減するため、NK細胞による腫瘍免疫と脱フコシル化との関係が示唆された。

図3

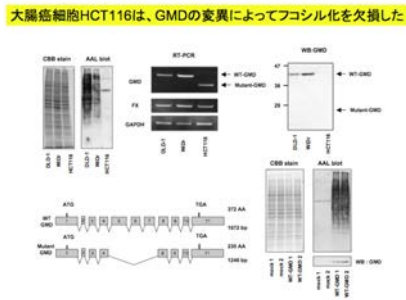
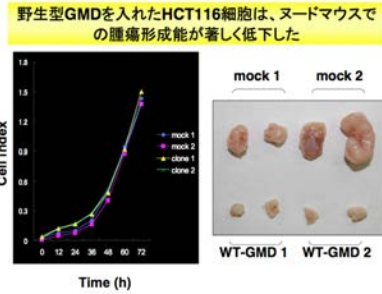


図4



そこで、NK 細胞が腫瘍細胞を殺す時に重要な pathway の1つである TRAIL を培養細胞に添加して、cologenic assay によって、その効果を検討した。予想通り、ヒトおよびマウスのリコンビナント TRAIL とともに、mock に較べて WT-GMD の方が腫瘍増殖を抑制した。この結果は、ヌードマウスで見られた腫瘍サイズの抑制に一致した(図 5 左)。さらに、TRAIL による細胞死(アポトーシス)の誘導を Cleaved PARP の発現で検討したところ、同様に野生型 GMD を戻した細胞において、アポトーシスが低濃度の TRAIL 処理で誘導された(図 5 右)。こうした GMD の変異の普遍性を検討するため、多くの癌細胞を調べたところ、いくつかの細胞で HCT116 と同じ、あるいは異なる GMD の変異を認めた。また、ヒトの大腸癌組織、卵巣癌組織を調べたところ、GMD の変異を認めた。これら、総ての変異型 GMD を HCT116 に発現させ、フコシル化が回復するか否かで GMD の活性を検討したところ、総ての変異 GMD にその活性を認めなかった。ただし、ヘテロ型 GMD の変異では、細胞全体のフコシル化のレベルに変化は見られず、HCT116 と同様の変異を認めたものは胃癌細胞 SCH のみであった(図 6)。以上の結果を大腸癌の発癌過程の中で考えてみると、初期の大腸癌ではフコシル化の程度は増加し、ある程度の段階になって転移する時には、NK 細胞の攻撃から免れるため、脱フコシル化を起こすという仮説が成り立つ。以上の実験結果は、*Gastroenterology* 137, 188-198, 2009 に掲載され、editorials にも取り上げられた。細胞を用いたフコシル化の基礎研究から臨床検体まで解析が及んだ研究として高く評価され、朝日新聞の科学欄にも掲載された。

図5

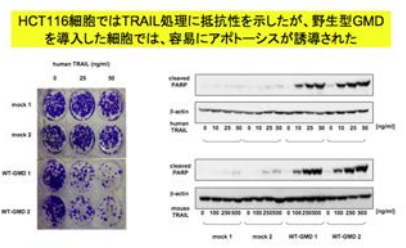
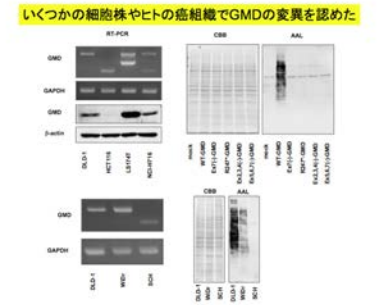


図6



## (2)研究成果の今後期待される効果

レクチン-ELISA キットを用いたフコシル化ハプトグロビンの定量は、多施設の臨床検体を用いた validation study を行ない、臨床検査としての価値を検討する。さらに、企業との連携によって、診断キットとしての実用化の可能性もある。フコシル化欠損によって、TRAIL 体制になる分子機構を解明することが次なる大きな研究課題であるが、人工的にフコシル化を回復させる方法を開発すれば、新しい糖鎖治療の可能性もある。現在海外では、TRAIL による癌の免疫療法は臨床治験に入っているが、フコースと TRAIL の関係を明らかにすることによって、TRAIL 療法の新たな展開を見せるであろう。

## 3. 11 部位特異的な糖鎖構造解析と糖鎖合成疾患解析への応用

(地方独立行政法人大阪府立病院機構大阪府立母子保健総合医療センター研究所 和田芳直グループ)

### (1)研究実施内容及び成果

21 世紀のポストゲノム生命科学研究において、糖鎖の機能、特に糖タンパク質における特定部位に付加する糖鎖の果たす役割が注目されていることから、部位特異的な糖鎖構造を迅速に解析する必要がある。そのための基盤技術として 2004 年に発表した糖ペプチド分析法は広く世界で用いられるようになったが、CREST 研究では N 型糖鎖に関するチーム間共同研究において、この手法を応用展開するとともに、特に注目されるフコシル化糖鎖について微量定量法の検討、また O 型(ムチン型)糖タンパク質のプロファイリング法、さらに、酸性糖や酸性糖脂質の高感度分析法の開発を以下のように行った。

1) 大山グループとの共同研究では、前立腺腫瘍マーカーである前立腺特異抗原 PSA 血清レベル上昇が癌特異的でなく、前立腺肥大症や炎症においても見られるため、癌特異的な PSA 糖鎖の探索を行った。PSA には配列上の 1ヶ所に N 型糖鎖が結合する。大山らはかつてレクチンを用いた研究によって癌患者血清 PSA では  $\alpha$  2,3 シアル酸が増加しており、それをもって良性疾患と鑑別できることを提案した。この結果を検証するため、前立腺癌患者血清 PSA および対照としての精漿 PSA の質量分析による糖鎖構造解析を行った。PSA 以外に由来する糖鎖が試料に混在するのを回避するために、糖鎖を切り出して分析するのではなく、PSA をプロテアーゼ消化し、得られた糖ペプチドを試料として解析した。 $\alpha$  2,3 シアル酸を選択的に脱離する Streptococcus ノイラミニダーゼを組み合わせた分析の結果、癌患者では確かに  $\alpha$  2,3 シアル酸が存在するが、対照とした精漿 PSA には  $\alpha$  2,6 シアル酸のみであることを証明した。血清中 PSA は遊離型の他に  $\alpha$  1 アンチキモトリプシン(ACT)とエステル結合したフォームがある。これらのフォームに結合する PSA 糖鎖は同一であることを初めて明らかにした。また、精漿 PSA の糖鎖は従来報告されていたバイアンテナ糖鎖は主要な糖鎖でなく、混成型および高マンノース型が主要な糖鎖として存在すること、そして、精漿 PSA 標品には PSA 以外の分子に由来するバイアンテナ糖鎖が混在していることもあわせて見出した。これまでも PSA 糖鎖に関する解析報告は多々あるが、従来法の欠陥は糖鎖をタンパク質から遊離して測定するため、血中で PSA とエステル結合している ACT の糖鎖との分別が不十分であることにあった。それに対し、糖ペプチドを解析することで PSA 特異的な糖鎖を分析していることが保証できる我々の結果は信頼性の高いものであり、従来報告にない確かな構造情報を取得することに成功した。診療現場にこの方法を導入することは現実的でないが、レクチン等スループットの高い方法のレファレンスとして有用である。

2) 顧グループが進めるインテグリンの N 型糖鎖機能解析について、部位特異的な糖鎖解析を行った。内容は同グループからの報告の通りであるが、この実施例は糖ペプチド解析の微量構造解析能力を証明したという技術的価値が高い。

3) N 型糖鎖に関してさらに、糖鎖の中でも近年とみにその機能に注目が集まっているフコース付加について、フコシル化レベルを質量分析法によって正しく判断(定量)するための技術基盤研究を行った。すなわち、N 型糖鎖含有糖ペプチドにおけるアンテナ・ルイスフコースとコアフコースの開裂の違いを明らかにし、さらに、イオン化法によらずフコースレベルの測定、すなわち定量を信頼性高く行えることを証明した。これは、糖鎖あるいは糖ペプチドにおけるフコースについて、質量分析過程での脱離が「漠然」と

懸念されていたことへの明確な結論であり、高感度糖鎖プロファイリングを行う際の根拠として価値がある。

4) 糖鎖機能を考えるとき、個体レベルでの表現型として先天性糖鎖合成異常症に関する知見を増やすことの意義は大きい。先天性糖鎖合成異常症 CDG にはこれまで約 20 種類が報告されているが、診療現場での臨床検査では診断が不可能である。我々のチームでは、これまでに発展させてきた糖ペプチド解析法を CDG 診断支援という臨床現場での実用に供し、2008 年未までに全国の小児医療機関から依頼された約 500 検体の分析を行い、4 例を新たに診断した。このような実試料の分析はいろいろな示唆を与えるが、例えば、CDG 疾患群のうち最頻の CDG-1a 型の原因遺伝子 *phosphomannomutase-2 (PMM2)* における R141H 変異が欧州で高頻度であるのに対し、日本人には R238P が多いことがわかった。この研究は開発技術の臨床への還元であるとともに、我々は糖ペプチド解析という一部欧州や米国で行われているよりも詳細な解析も含めて分析しているので、二次的な糖鎖構造変化など多くの知見を蓄積しつつあり、糖鎖機能を個体レベルで理解するための資料として意義がある。

5) 以上は、N 型糖鎖に関する研究であるが、O 型糖鎖、特にムチン型糖鎖のプロテオーム観点の情報は圧倒的に少なく、O 型糖鎖に関する疾患の診断など応用面においても手つかずの状態である。このことを打開するためにムチン型糖鎖付加部位に関する解析法の開発に取りかかった。まず、従来からの  $\beta$  脱離を利用する修飾法を改良して血漿タンパクについて新規付加部位の決定を開始した。その過程において、質量分析法による構造解析には不活性ガス等中性粒子との衝突励起解離が行われているが、新しい開裂法である電子移動解離は糖鎖構造に影響を与えずにペプチド鎖のみを切断できる。この方法によって付加部位の決定のみならず付加率についても解析できることをヘモペキシンの O 型糖鎖解析において証明した。また、IgA1 ヒンジ領域にクラスター的に付加する O 型糖鎖を糖ペプチド解析法で分析したところ、クラスター状である糖鎖付加が決してランダムに起こっているのではなく、健常人においてはよく保存されていることを明らかにした。このことは、糸球体腎炎の原因として主要で、透析に至る率も高い IgA 腎症に報告されている糖鎖異常に関連する重要な基本情報である。そのような疾患における糖鎖変化を数値化する方法をあわせて開発した。例えば、IgA1 ヒンジ領域における多数のムチン型 (I 型コア) 糖鎖全体の GalNAc、Gal は健常人において、それぞれ  $4.55 \pm 0.05$  および  $3.53 \pm 0.08$  (mol/glycopeptide; n=7) であるのに対し、IgA 腎症例ではそれぞれ  $4.54$  ( $P>0.5$ ) および  $3.24$  ( $0.02>P>0.01$ ) (mol/peptide) といった計量を行える。

このような定量評価は従来行われていなかったもので、疾患における糖鎖変化の客観的記述法を示した意義がある。例えば、リウマチ等慢性炎症性疾患の IgG の N 型糖鎖で Gal が減少していることは古くから知られているが、IgA1 の O 型糖鎖に関する報告はほとんどなかった。そこで、同じ患者血清の IgA1 の O 型糖鎖を調べると、Gal の減少ではなく、GalNAc の減少が見られた。リウマチの IgG における N 型糖鎖変化は IgG 産生細胞におけるガラクトシルトランスフェラーゼ  $\beta$  4Gal-TI 活性低下(あるいはそのようなクローンの増加)が原因であるとされているが、IgA を産生する B 細胞にも糖鎖遺伝子発現変化が起こっていることの可能性を示唆している。

6) 従来、酸性糖鎖、酸性糖脂質は質量分析が得意とする試料でなかった。中赤外 ( $6 \mu\text{m}$ ) レーザーによるマトリックス支援レーザー脱離イオン化 MALDI について研究を行い、一般に用いられている紫外レーザーよりも温和なイオン化、特に開裂の起こりやすいシアル酸や硫酸基、リン酸基の脱離がほとんど起こらず、そのために感度よく測定できることを明らかにした。そのイオン化過程について奈良女大と共同研究を行った。

## (2) 研究成果の今後期待される効果

我々が CREST において開発し、チーム内グループ間共同研究における N 型糖鎖やわれわれのグループにおける O 型糖鎖解析例によってその有効性を証明したグライコプロテオーム解析技術は、糖鎖プロファイルの数値化という流れを作り、今後の糖鎖生物学・糖鎖医学における疾患関連での糖鎖変化の解析法(記述法)のスタンダードになるであろう。これまで数年にわたり実施してきた CDG 診断支援活動はそのことの実践である。特に、本 CREST 後半に取りかかった O 型糖鎖解析は、未解明の O 型糖鎖機能解

析への波及効果が大きいであろう。

### 3. 11 フコシル化ハプトグロビン ELISA Kit の Validation Study

(株式会社免疫生物研究所 木下憲明グループ)

#### (1) 研究実施内容及び成果

以前の CREST 研究において、タカラグループ(代表: 小山信人)の三善らは、新しい膵がんの腫瘍マーカーとして、フコシル化ハプトグロビンを発見し(*Int. J. Cancer* 118 (11), 2803-2808, 2006)、その産生機序の解明および本分子の血中量測定のための臨床検査法の開発および各種がんや炎症疾患患者での測定とその有用性の解析などを行っている。我々は本研究の中で試作された、ハプトグロビン抗体とフコシル化糖鎖に反応するレクチンとのサンドイッチ ELISA Kit を用い、その基礎的検討および膵がん患者血清を用いた臨床的有用性について評価を行った。

#### 1) フコシル化ハプトグロビン ELISA Kit の基礎的検討

対照試料として、倫理委員会の承認を受けた健康人ボランティア 15 例の血清および各種抗凝固剤を用いた血漿を用いた。膵がん患者血清は、東大医科学研究所オーダーメイド医療実現化プロジェクトより、膵局内進展度、リンパ節転移および遠隔転移情報の有無を条件に計 300 例を所定の手続きを経て入手した。また阪大保健学科で測定した健康者の中から、膵がん患者と年齢が合うものをランダムに 300 例抽出し用いた。

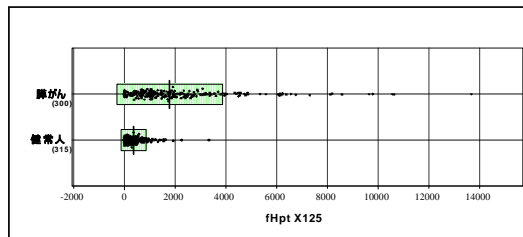
- ① 測定検体の種類による影響：健康人血清および EDTA、ヘパリン、クエン酸採血の各血漿を用いて本キットにおける同一人物での測定値の変化を見たところ、各測定値が大きく異なり、血清では各抗凝固剤採血血漿と比較して高値が得られた。本測定には汎用性の点から血清を検体とするのが良いと思われ、以後の検討には血清を使用した。
  - ② 測定検体の希釈倍率：血清中には ELISA の測定感度に対して高濃度の Hpt タンパク質が存在するため、あらかじめ希釈して測定することが必要と考えられた。個々の検体における希釈曲線に相違があるかを検討するために、健康人 15 例および膵がん患者 300 例のすべての血清について、x5 から x78,125 まで 7 段階の 5 倍段階希釈を行い、その比較を行った。その結果、健康人では x3,125 以上の高希釈で、膵がん患者では、x15,625 以上の高希釈で、有効な測定値が得られなかった。
  - ③ 比較検討が可能となる適度な測定値を得られる希釈倍率を設定するため、各希釈倍率間での測定値の相関関係を見たところ、x25、x125 および x625 の希釈倍率間で、測定値に相関関係が見られた。このことより、この範囲にある一定の希釈倍率で血清を希釈することにより、測定値を相対的に分析できると考えられた。検体についての以上の検討より、本キットでは、あらかじめ血清を x125 希釈して測定することで、測定値の相対的分析による評価が可能となると考え、以後この検体希釈倍率を以って検討を進めた。
  - ④ 同時再現性：あらかじめ fHpt 濃度を測定して、低、中、高濃度に分別した血清各 4 検体ずつを選択し、同一プレート内で n=16 にて多重測定し、同時再現性を検討した。その結果、CV 値の平均値として低濃度(平均値=500~800U/mL)で 12.73%、中濃度(平均値=1,200~1,400 U/mL)で 7.27%、高濃度(平均値=3,000~5,000U/mL)で 6.07%であり、優れた精度での測定が可能であった。
  - ⑤ 測定間再現性：キット添付のコントロールおよび、fHpt を高濃度産生する HepG2 細胞の培養上清を希釈して、本キット標準曲線内の、低、中、および高濃度の各領域に入るよう調製、保存した社内コントロールについて、測定プレートを変えて測定した。日を変えて行ったものを含め、計 25 枚のプレート間でこれらの測定間変動を CV 値で求めたところ、10.8%~20.8%であり、測定間再現性においても満足できる精度が得られた。
  - ⑥ 干渉物質の影響：市販の干渉物質検用試薬を用いて、乳び、溶血(ヘモグロビン)、遊離型および抱合型ビリルビンの影響を見た。その結果、溶血による測定値低下が認められ、その他の物質の影響は認められなかった。
- 2) フコシル化ハプトグロビン ELISA Kit の膵がん患者における臨床有用性の検討
- ① CA19-9 との相関：前述の健康人ボランティア 15 例と膵がん患者 300 例の血清について、従来のマーカーである CA19-9 を測定し、各血清の fHpt 測定値との相関関係を見た。その結果 CA19-9 の値は、すべての倍率における fHpt 測定との間で相関関係は認められなかった。このことより、CA19-9 と fHpt は異なる産生機序を示すと考えられた。
  - ② 健康人群と膵がん患者群間の有意差検定：膵がん患者 300 例と健康人合計 315 例における fHpt 測定

値の基本統計量とその分布図(箱図は Mean±SD を示す)を以下表 1 および図 1 に示す。

表 1

	N	Mean (U/mL)	SD (U/mL)
膵がん	300	1,787	2,073
健常人	315	362	481

図 1



両群間の Mann-Whitney U 検定での比較では、 $P < 0.001$  以下で有意差が認められた。

- ③ 膵がん患者群間の有意差検定：CA19-9 測定値および fHpt の x125 希釈での測定値について、膵がん患者のうち膵局内進展度、リンパ管転移度、遠隔転移の有無によって分類された各群における有意差検定を試みたが、病態情報が不十分であるため参考までの結果であった。
- ④ ROC 曲線：fHpt 測定値の診断効率を示すカットオフ値を求めるために ROC 曲線を作成したところ、カットオフ値：535 U/mL において、感度：70.3、特異度：76.8%であった。

(2)研究成果の今後期待される効果

血清中のタンパク質のうち糖タンパク質は約 50%以上を占めると言われる。各血清の本キット測定での希釈曲線から、低希釈による測定域では血中に豊富存在する他の糖タンパク質との非特異的反応により fHpt の抗原抗体反応が打ち消され、fHpt 量が反映されない測定となることが予想された。一方、希釈倍率を上げていくと、妥当な測定値を示すようになる現象が観察され、検体の希釈により非特異的反応が徐々に低減し、特異結合による抗体とレクチンとのサンドイッチにより fHpt が定量的に検出されるようになったと考えられた。我々はこれらのことから、x125 という一定の倍率で血清を希釈することにより、fHpt 量を相対的に比較、評価できるという考えのもとに、検討を進め確信を得た。この希釈倍率での測定値において、健常人と膵がん患者との間には明らかな有意差が認められた。また、ROC 曲線から臨床有用性を考えたカットオフ値を設定することで、スクリーニング的な診断や治療効果の動向の判定などに有効性があると思われた。今後更なる臨床例での検討により、本キットによるフコシル化ハプトグロビン測定が膵がんばかりでなく、その他の疾患での臨床検査としての実用化が期待される。

## §5 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 2件、国際(欧文)誌 134件)

1. 著者、論文タイトル、掲載誌 巻、号、発行年

和文

1. 吉川和暁、盛 和行、工藤誠治、劉 星星、米山高弘、橋本安弘、古家琢也、神村典孝、高橋信好、鈴木唯司、**大山 力**：膀胱癌細胞に抗腫瘍効果を発揮する *Bacillus Calmette-Guerin (BCG)* 菌体成分の探索。弘前医学 2007、59 ; 41-8
2. 盛 和行、山本勇人、岡本亜希子、今井 篤、畠山真吾、岩瀬郁哉、米山高弘、橋本安弘、古家琢也、百瀬昭志、神村典孝、**大山 力**：BCG、ナノパーティクルBCGの直接効果。泌尿器外科 2009 ; 22(2) : 176-7.

英文

1. Shishioh, N., Y. Hong, K. Ohishi, H. Ashida, Y. Maeda and **T. Kinoshita**. 2005. GPI7 is the second partner of PIG-F and involved in modification of glycosylphosphatidylinositol. *J. Biol. Chem.* 280:9728-9734.
2. Hong, Yeongjin, J. Y. Kang, Y. U. Kim, D.-J. Shin, H. E. Choy, Y. Maeda, and **T. Kinoshita**. 2005. New mutant Chinese hamster ovary cell representing an unknown gene for attachment of glycosylphosphatidylinositol to proteins. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 335:1060-1069.
3. Murakami, Y, U. Siripanyaphinyo, Y. Hong, Y. Tashima, Y. Maeda, **T. Kinoshita**. 2005. The Initial Enzyme for Glycosylphosphatidylinositol Biosynthesis Requires PIG-Y, a Seventh Component. *Mol. Biol. Cell.* 16:5236-5246.
4. Ashida, H., Y. Maeda and **T. Kinoshita**. 2006. DPM1, the catalytic subunit of dolichol-phosphate-mannose synthase, is tethered to and stabilized on the endoplasmic reticulum membrane by DPM3. *J. Biol. Chem.*, 281, 896-906.
5. Hong, Yeonchul, K. Nagamune, K. Ohishi, Y. S. Morita, H. Ashida, Y. Maeda and **T. Kinoshita**. 2006. TbGPI16 is an essential component of GPI transamidase in *Trypanosoma brucei*. *FEBS Let.*, 580:603-606.
6. Hong, Yeonchul, K. Nagamune, Y. S. Morita, F. Nakatani, H. Ashida, Y. Maeda and **T. Kinoshita**. 2006. Removal or maintenance of inositol-linked acyl chain in GPI is critical in trypanosome life cycle. *J. Biol. Chem.*, 28:11595-11602
7. Almeida, A., Y. Murakami, M. Layton, P. Hillmen, G. S. Sellick, Y. Maeda, S. Richards, S. Patterson, I. Kotsianidis, L. Mollica, D. Crawford, A. Baker, M. Ferguson, I. Roberts, R. Houlston, **T. Kinoshita** and A. Karadimitris. 2006. Hypomorphic promoter mutation in the mannosyltransferase-encoding PIG-M gene causes inherited glycosylphosphatidylinositol deficiency. *Nat. Med.*, 12:846-851.
8. Maeda, Y., H. Ashida and **T. Kinoshita**. 2006. CHO glycosylation mutants: GPI anchor. *Methods Enzymol.*, 416: 182-205.
9. Maeda Y., Y. Tashima, T. Houjou, M. Fujita, T. Yoko-o, Y. Jigami, **R. Taguchi**, and **T. Kinoshita**. 2007. Fatty acid remodeling of GPI-anchored proteins is required for their raft association. *Mol. Biol. Cell.* 18(4):1497-1506.
10. Tashima Y, **Taguchi R**, Murata C, Ashida H, **Kinoshita T**, Maeda Y. PGAP2 is essential for correct processing and stable expression of GPI-anchored proteins. *Mol Biol Cell.* 17,1410-1420, 2006

11. Almeida A.M\*, Y. Murakami\*, A. Baker, Y. Maeda, I.A.G Roberts, **T. Kinoshita**, D. M. Layton, and A. Karadimitris. 2007. Targeted therapy for inherited GPI deficiency. *N. Engl. J. Med.*, 356:1641-1647. (\* equal contribution)
12. Kim Y.U., H. Ashida, K. Mori, Y. Maeda, Y. Hong, and **T. Kinoshita**. 2007. Both mammalian PIG-M and PIG-X are required for growth of GPI14-disrupted yeast. *J. Biochem.*, 142:123-129.
13. Ueda, Y., R. Yamaguchi, M. Ikawa, M. Okabe, E. Morii, Y. Maeda and **T. Kinoshita**. 2007. PGAP1 knockout mice show otocephaly and male infertility. *J. Biol. Chem.*, 283 :30373-30380
14. Takida, S., Y. Maeda and **T. Kinoshita**. 2007. Mammalian GPI-anchored proteins require p24 proteins for their efficient transport from the ER to the plasma membrane. *Biochem. J.*, 409 :555-562
15. Maeda, Y., T. Ide, M. Koike, Y. Uchiyama and **T. Kinoshita**. 2008. GPHR is a novel anion channel critical for acidification and functions of the Golgi apparatus. *Nat. Cell Biol.*, 10:1135–1145.
16. Fujita, M., Y. Maeda, M. Ra, Y. Yamaguchi, **R. Taguchi** and **T. Kinoshita**. 2009. GPI-glycan remodeling by PGAP5 regulates transport of GPI-anchored proteins from the ER to the Golgi. *Cell*, 139 : 352-365
17. Kanzawa N., Y. Maeda, H. Ogiso, Y. Murakami, **R. Taguchi**, and **T. Kinoshita**. 2009. Peroxisome dependency of alkyl-containing GPI-anchor biosynthesis in the endoplasmic reticulum. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106 : 17711-17716.
18. Eguchi H, **Ikeda Y**, Ookawara T, Koyota S, Fujiwara N, Honke K, Wang PG, Taniguchi N, Suzuki K: Modification of oligosaccharides by reactive oxygen species decreases sialyl lewis x-mediated cell adhesion. *Glycobiology* 15, 1094-1101, 2005.
19. Ihara H, **Ikeda Y**, Taniguchi N: Reaction mechanism and substrate specificity for nucleotide sugar of mammalian alpha1,6-fucosyltransferase--a large-scale preparation and characterization of recombinant human FUT8. *Glycobiology* 16, 333-342, 2006.
20. Ihara H, **Ikeda Y**, Toma S, Wang X, Suzuki T, **Gu J**, Miyoshi E, Tsukihara T, Honke K, Matsumoto A, Nakagawa A, Taniguchi N: Crystal structure of mammalian alpha1, 6-fucosyltransferase, FUT8. *Glycobiology* 17, 455-466, 2007.
21. Li W, Takahashi M, Shibukawa Y, Yokoe S, **Gu J**, Miyoshi E, Honke K, **Ikeda Y**, Taniguchi N: Introduction of bisecting GlcNAc in N-glycans of adenylyl cyclase III enhances its activity. *Glycobiology* 17, 655-662, 2007.
22. Okada T, Ihara H, Ito R, Taniguchi N, **Ikeda Y**: Bidirectional N-acetylglucosamine transfer mediated by beta-1,4-N-acetylglucosaminyltransferase III. *Glycobiology* 19, 368-374, 2009.
23. Hatakeyama S, **Ohvama C**, Minagawa S, Inoue T, Kakinuma H, Kyan A, Arai Y, Suga T, Nakayama J, Kato T, Habuchi T, Fukuda MN. Functional correlation of trophinin expression with the malignancy of testicular germ cell tumor. *Cancer Res.* 64:4257-4262, 2004.
24. **Ohvama C**, Hosono M, Nitta K, Oh-eda M, Yoshikawa K, Habuchi T, Arai Y, Fukuda M. Carbohydrate structure and differential binding of prostate specific antigen to Maackia amurensis lectin between prostate cancer and benign prostate hypertrophy. *Glycobiology.* 14:671-679, 2004.
25. Li Z, Habuchi T, Tsuchiya N, Mitsumori K, Wang L, **Ohvama C**, Sato K, Kamoto T, Ogawa O, Kato T. Increased risk of prostate cancer and benign prostatic hyperplasia associated with transforming growth factor-beta 1 gene polymorphism at codon10. *Carcinogenesis.* 25:237-240, 2004.
26. Hagisawa S, **Ohvama C**, Takahashi T, Endoh M, Moriya T, Nakayama J, Arai Y, Fukuda M.



- Expression of Core 2 {beta}1,6-N-acetylglucosaminyltransferase Facilitates Prostate Cancer Progression. *Glycobiology*, 15:1016-1024,2005.
27. Wang L, Mitoma J, Tsuchiya N, Narita S, Horikawa Y, Habuchi T, Imai A, Ishimura H, **Ohvama C**, Fukuda M. An A/G polymorphism of core 2 branching enzyme gene is associated with prostate cancer. *Biochem Biophys Res Commun*, 331:958-63,2005.
  28. Minagawa S, **Ohvama C**, Hatakeyama S, Tsuchiya N, Kato T, Habuchi T. Activation of natural killer T cells by alpha-galactosylceramide mediates clearance of bacteria in murine urinary tract infection. *J Urol*, 173:2171-4,2005.
  29. Takahashi T, Hagsiawa S, Yoshikawa K, Tezuka F, Kaku M, **Ohvama C**. Predictive value of N-acetylglucosaminyltransferase-V for superficial bladder cancer recurrence. *J Urol*. 175(1):90-93,2006.
  30. Ishimura H, Takahashi T, Nakagawa H, Nishimura S, Arai Y, Horikawa Y, Habuchi T, **Miyoshi E**, Kyan A, Hagsiawa S, **Ohvama C**. N-acetylglucosaminyltransferase V and beta1-6 branching N-linked oligosaccharides are associated with good prognosis of patients with bladder cancer. *Clin Cancer Res*. 12(8):2506-2511,2006.
  31. Imaizumi T, Yoshida H, Nishi N, Sashinami H, Nakamura T, Hirashima M, **Ohvama C**, Itoh K, Satoh K. Double-stranded RNA induces galectin-9 in vascular endothelial cells: involvement of TLR3, PI3K, and IRF3 pathway. *Glycobiology*. 2007 Jul;17(7):12C-5C.
  32. de Jong J, Stoop H, Gillis AJ, van Gurp RJ, van Drunen E, Beverloo HB, Lau YF, Schneider DT, Sherlock JK, Baeten J, Hatakeyama S, **Ohvama C**, Oosterhuis JW, Looijenga LH. JKT-1 is not a human seminoma cell line. *Int J Androl*. 2007 Aug;30(4):350-65.
  33. Harada O, Suga T, Suzuki T, Nakamoto K, Kobayashi M, Nomiya T, Nadano D, **Ohvama C**, Fukuda MN, Nakayama J. The role of trophinin, an adhesion molecule unique to human trophoblasts, in progression of colorectal cancer. *Int J Cancer*. 2007 Sep 1;121(5):1072-8
  34. Li Y, Tabatabai ZL, Lee TL, Hatakeyama S, **Ohvama C**, Chan WY, Looijenga LH, Lau YF. The Y-encoded TSPY protein: a significant marker potentially plays a role in the pathogenesis of testicular germ cell tumors. *Hum Pathol*. 2007 Oct;38(10):1470-81.
  35. Kyan A, Kamimura N, Hagsiawa S, Hatakeyama S, Koie T, Yoneyama T, Arai Y, Nakagawa H, Nishimura S, **Miyoshi E**, Hashimoto Y, **Ohvama C**. Positive expressions of N-acetylglucosaminyltransferase-V (GnT-V) and beta1-6 branching N-linked oligosaccharides in human testicular germ cells diminish during malignant transformation and progression. *Int J Oncol*. 2008 Jan;32(1):129-34.
  36. Kusumi T, Koie T, Tanaka M, Matsumoto K, Sato F, Kusumi A, **Ohvama C**, Kijima H. Immunohistochemical detection of carcinoma in radical prostatectomy specimens following hormone therapy. *Pathol Int*. 2008 Nov;58(11):687-94.
  37. Tsushima M, Terayama Y, Momose A, Funyu T, **Ohvama C**. Progression of atherosclerosis in hemodialysis patients: effect of adiponectin on carotid intima media thickness. *J Atheroscler Thromb*. 2008 Aug;15(4):213-8.
  38. Hatakeyama S, Sugihara K, Lee SH, Nadano D, Nakayama J, **Ohvama C**, Fukuda MN. Enhancement of human sperm motility by trophinin binding peptide. *J.Urol*. 2008 ; 180(2): 767-71.

39. Imaizumi T, Arikawa T, Sato T, Uesato R, Matsumiya T, Yoshida H, Ueno M, Yamasaki S, Nakajima T, Hirashima M, Sakata K, Ishibashi Y, Toh S, **Ohvama C**, Satoh K. Involvement of retinoic acid-inducible gene-I in inflammation of rheumatoid fibroblast-like synoviocytes. *Clin Exp Immunol*. 2008 Aug;153(2):240-4.
40. Tsushima M, Terayama Y, Momose A, Funyu T, **Ohvama C**, Hada R. Carotid intima media thickness and aortic calcification index closely relate to cerebro- and cardiovascular disorders in hemodialysis patients. *Int J Urol*. 2008 Jan;15(1):48-51.
41. Tsuboi S, Takada H, Hara T, Mochizuki N, Funyu T, Saitoh H, Terayama Y, Yamaya K, **Ohvama C**, Nonoyama S, Ochs HD. FBP17 Mediates a Common Molecular Step in the Formation of Podosomes and Phagocytic Cups in Macrophages. *J Biol Chem*. 2009 Mar 27;284(13):8548-56.
42. Hatakeyama S, Sugihara K, Nakayama J, Akama TO, Wong SM, Kawashima H, Zhang J, Smith DF, **Ohvama C**, Fukuda M, Fukuda MN. Identification of mRNA splicing factors as the endothelial receptor for carbohydrate- dependent lung colonization of cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Mar 3;106(9):3095-100.
43. Nigawara T, Sakihara S, Kageyama K, Terui K, Takayasu S, Hatakeyama S, **Ohvama C**, Sasano H, Suda T. Endothelial cyst of the adrenal gland associated with adrenocortical adenoma: preoperative images simulate carcinoma. *Intern Med*. 2009;48(4):235-40
44. Koie T, Yoneyama T, Hashimoto Y, Kamimura N, Kusumi T, Kijima H, **Ohvama C**. An aggressive course of Xp11 translocation renal cell carcinoma in a 28-year-old man. *Int J Urol*. 2009 Mar;16(3):333-5.
45. Lee SH, Hatakeyama S, Yu SY, Bao X, **Ohvama C**, Khoo KH, Fukuda MN, Fukuda M. Core3 O-glycan synthase suppresses tumor formation and metastasis of prostate carcinoma PC3 and LNCaP cells through down-regulation of  $\alpha_2\beta_1$  integrin complex. *J Biol Chem*. 2009 Jun 19;284(25):17157-69
46. Imai A, Yamamoto H, Hatakeyama S, Iwabuchi I, Yoneyama T, Hashimoto Y, Koie T, Kamimura N, Danjyo K, **Ohvama C**. Risk factors for erectile dysfunction in healthy Japanese men. *Int J Androl*. 2009 (in press)
47. Imai A, **Ohvama C**: Cauda equine symptoms are closely related to male lower urinary tract symptoms. *Urologia Internationalis*. 2009( in press)
48. Wang, X., Inoue S., **Gu J.**, Miyoshi, E., Noda, K., Li, W., Mizuno-Horikawa, Y., Nakano M., Asahi, M., Takahashi, M., Uozumi, N., Ihara, S., Lee, SH., Ikeda, Y., Yamaguchi, Y., Aze, Y., Tomiyama, Y., Fujii, J., Suzuki, K., Kondo, A., Shapiro, SD., Lopez-Otin, C., Kuwaki T, Okabe, M., Honke, K., Taniguchi, N. Dysregulation of TGF-beta1 receptor activation leads to abnormal lung development and emphysema-like phenotype in core fucose-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 102:15791-6, 2005.
49. Wang X, **Gu J.** Ihara H, Miyoshi E, Honke K, Taniguchi N. Core fucosylation regulates EGF receptor-mediated intracellular signaling. *J Biol Chem*. 281:2572-7, 2006.
50. Okuyama N, Ide Y, Nakano M, Nakagawa T, Yamanaka K, Moriwaki K, Murata K, Ohigashi H, Yokoyama S, Eguchi H, Ishikawa O, Ito T, Kato M, Kasahara A, Kawano S, **Gu J.** Taniguchi N, and

- Miyoshi E. Fucosylated haptoglobin is a novel marker for pancreatic cancer: A detailed analysis of the oligosaccharide structure and a possible mechanism for fucosylation. *Int. J. Cancer* 118:2803-8, 2006.
51. Inamori, K., Mita, S., **Gu, J.**, Mizuno-Horikawa, Y., Miyoshi, E., Dennis, JW., and Taniguchi, N. Demonstration of the expression and the enzymatic activity of N- acetyl- glucosaminyltransferase IX in the mouse brain. *Biochim Biophys Acta* 1760:678-84, 2006.
  52. Inamori, K., **Gu, J.**, Ohira, M., Kawasaki, A., Nakamura, Y., Nakagawa, T., Kondo, A., Miyoshi, E., Nakagawa, A., and Taniguchi, N. High expression of N-acetylglucosaminyltransferase V in favorable neuroblastomas: Involvement of its effect on apoptosis. *FEBS Letters*, 580:627-32, 2006
  53. Ide, Y., Miyoshi, E., Nakagawa, T., **Gu, J.**, Tanemura, M., Nishida, T., Ito, T., Yamamoto, H., Kozutsumi, Y. and Taniguchi, N. Aberrant expression of N-Acetylglucosaminyltransferase-IVa and IVb ( GnT-IVa and b ) in pancreatic cancer. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 341:478-82, 2006.
  54. Lee, SH., Takahash, M., Honke, K., Miyoshi, E., Osumi, D., Sakiyama, H., Ekuni, A., Wang, X., Inoue, S., **Gu, J.**, Kadomatsu, K., Taniguchi, N. Loss of core fucosylation of low-density lipoprotein receptor-related protein-1 impairs its function, leading to the upregulation of serum levels of insulin-like growth factor-binding protein 3 in Fut8<sup>-/-</sup> mice. *J. Biochem.* 139:391-8, 2006.
  55. Shigeta, M., Shibukawa, Y., Ihara, H., Miyoshi, E., Taniguchi, N., **Gu, J.** beta-1, 4-N-Acetylglucosaminyltransferase III potentiates {beta}1 integrin-mediated neuritogenesis induced by serum deprivation in Neuro2a cells. *Glycobiology.* 16:564-571, 2006
  56. Iijima, J., Zhao, Y., Isaji, T., Kameyama, A., Nakaya, S., Wang, X., Ihara, H., Cheng, X., Nakagawa, T., Miyoshi, E., Kondo, A., Narimatsu, H., Taniguchi, N., and **Gu, J.** Cell-cell interaction-dependent regulation of N-acetylglucosaminyltransferase III and the bisected N-glycans in GE11 epithelial cells: involvement of E-cadherin-mediated cell adhesion. *J. Biol. Chem.* 281:13038-46, 2006
  57. Li, W., Nakagawa, T., Koyama, N., Wang, X., Jin, J., Mizuno-Horikawa, Y., **Gu, J.**, Miyoshi, E., Kato, I., Honke, K., Taniguchi, N. and Kondo, A. Down regulation of trypsinogen expression is associated with growth retardation in alpha1,6-fucosyltransferase-deficient mice: attenuation of proteinase-activated receptor 2 activity. *Glycobiology.* , 16:1007-19, 2006
  58. Nakagawa, T., Uozumi, N., Nakano, M., Mizuno-Horikawa, Y., Okuyama, N., Taguchi, T., **Gu, J.**, Kondo, A., Taniguchi, N., and Miyoshi, E. Fucosylation of N-glycans regulates the secretion of hepatic glycoproteins into bile ducts. *J. Biol. Chem.* 281: 29797-29806, 2006
  59. Zhao, Y., Nakagawa, T., Itoh, S., Inamori, K. I., Isaji, T., Kariya, Y., Kondo, A., Miyoshi, E., Miyazaki, K., Kawasaki, N., Taniguchi, N., and **Gu, J.** N-acetylglucosaminyltransferase III antagonizes the effect of N-acetylglucosaminyltransferase V on alpha3beta1 integrin-mediated cell migration. *J. Biol. Chem.* 281: 32122-32130, 2006
  60. Isaji, T., Sato, Y., Zhao, Y., Miyoshi, E., **Wada, Y.**, Taniguchi, N., and **Gu, J.** N-glycans on the beta-propeller domain of the integrin alpha5 subunit are essential for alpha5beta1 heterodimerization, expression on the cell surface and its biological function. *J. Biol. Chem.* 281: 33258-33267, 2006
  61. Nakahara S., Saito, T., Kondo, N., Moriwaki, K., Noda, K., Ihara, S., Takahashi, T., Ide, Y., **Gu, J.**, Inohara, H., Katayama, T., Tohyama, M., Takeshi Kubo, T., Taniguchi, N., and **Miyoshi, E.** A secreted type of beta1.6 N-acetylglucosaminyltransferase V (GnT-V), a novel angiogenesis inducer, is regulated by gamma-secretase. *FASEB J.* 20:2451-9, 2006
  62. Zhao, Y., Itoh, S., Wang, X., Isaji, T., Miyoshi, E., Kariya, Y., Kondo, A., Miyazaki, K., Kawasaki, N., Taniguchi, N., and **Gu, J.** Deletion of core fucosylation on alpha3beta1 integrin down-regulates its functions. *J. Biol. Chem.* 281: 38343-38350, 2006

63. Matsumura, K., Higashida, K., Ishida, H., Hata, Y., Abe, Y., Kato, M., Ueda, M., Yamamoto, K., Shigeta, M., Mizuno, Y., Miyoshi, E., **Gu, J.** and Taniguchi, N. Carbohydrate-binding specificity of a fucose-specific lectin from *Aspergillus Oryzae*: a novel probe for core fucose. *J. Biol. Chem.* 282:15700-8, 2007
64. Kotani, N., **Gu, J.**, Isaji, T., Udaka, K., Taniguchi, N., and Honke, K. Biochemical visualization of cell surface molecular clustering in living cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 105: 7405-9, 2008.
65. Akama, R., Sato, Y., Kariya, Y., Isaji, T., Fukuda, T., Lu, L., Taniguchi, N., Ozawa, M. and **Gu, J.** N-Acetylglucosaminyltransferase III Expression Is Regulated by Cell-Cell Adhesion via the E-cadherin-catenin-actin Complex. *Proteomics* 8: 3221–3228, 2008
66. Kariya, Y., Kato, R., Itoh, S., Fukuda, T., Shibukawa, Y., Sanzen, N., Sekiguchi, K., **Wada, Y.**, Kawasaki, N., **Gu, J.** N-glycosylation of laminin-332 regulates its biological functions: A novel function of the bisecting GlcNAc. *J. Biol. Chem.* 283: 33036-33045, 2008
67. Wang, X., Fukuda, T., Li, W., Gao, C., Kondo, A., Matsumoto, A., **Miyoshi, E.**, Taniguchi, N. and **Gu, J.** Requirement of Fut8 for the expression of vascular endothelial growth factor receptor-2: a new mechanism for the emphysema-like changes observed in Fut8-deficient mice. *J. Biochem.* 145:643-51. 2009
68. Isaji, T., Sato, Y., Fukuda, T. and **Gu, J.** N-glycosylation of the I-like domain of beta1 integrin is essential for beta1 integrin expression and biological function: Identification of the minimal N-glycosylation requirement for alpha 5beta 1. *J. Biol. Chem.* 284:12207-16, 2009
69. Sato, Y., Isaji, T., Tajiri, M., Yoshida-Yamamoto, S., Yoshinaka, T., Somehara, T., N-Fukuda, T., **Wada, Y.** and **Gu, J.** An N-glycosylation site on the beta-propeller domain of the integrin alpha5 subunit plays key roles in both its function and site-specific modification by beta1,4-N-acetylglucosaminyltransferase III. *J. Biol. Chem.* 284:11873-81, 2009
70. Kariya, Y., Kawamura, C., Tabei, T., **Gu, J.** Bisecting GlcNAc residues on laminin-332 downregulates galectin-3 dependent keratinocyte motility. *J. Biol. Chem.* In press
71. **Kondoh, G.**, H. Tojo, Y. Nakatani, N. Komazawa, C. Murata, K. Yamagata, Y. Maeda, **T. Kinoshita**, M. Okabe, R. Taguchi and J. Takeda: Angiotensin-converting enzyme is a GPI-anchored protein releasing factor crucial for fertilization. *Nat. Med.*, 11, 160-166 (2005).
72. Deguchi, E., T. Tani, H. Watanabe, S. Yamada, **G. Kondoh**: Dipeptidase-inactivated tACE action in vivo: selective inhibition of sperm-zona pellucida binding in the mouse. *Biol. Reprod.*, 77, 794-802 (2007).
73. **Kondoh, G.**, H. Watanabe, Y. Tashima, Y. Maeda, **T. Kinoshita**: Testicular Angiotensin-Converting Enzyme with Different Glycan Modification: Characterization on Glycosylphosphatidylinositol-Anchored Protein Releasing and Dipeptidase Activities. *J. Biochem.*, 145-1, 115-121 (2009).
74. Bao, X., Mikami, T., Yamada, S., Faissner, F., Muramatsu, T., and **Sugahara, K.** (2005) Heparin-binding growth factor, pleiotrophin, mediates neuritogenic activity of embryonic pig brain-derived chondroitin sulfate/dermatan sulfate hybrid chains. *J. Biol. Chem.*, 280 (10), 9180-9191
75. Izumikawa, T., Egusa, N., Taniguchi, F., **Sugahara, K.**, and Kitagawa, H. (2006) Heparan sulfate polymerization in *Drosophila*. *J. Biol. Chem.*, 281(4), 1929-1934.
76. Bao, X., Muramatsu, T., and **Sugahara, K.** (2005) Demonstration of the pleiotrophin-binding oligosaccharide sequences isolated from chondroitin sulfate/dermatan sulfate hybrid chains of embryonic

- pig brains. *J. Biol. Chem.*, 280(42), 35318-35328.
77. Bergefall, K., Trybala, E., Johansson, M., Uyama, T., Naito, S., Yamada, S., Kitagawa, H., **Sugahara, K.**, and Bergstrom, T. (2005) Chondroitin sulfate characterized by the E disaccharide unit is a potent inhibitor of herpes simplex virus infectivity and provides the virus binding sites on gro2c cells. *J. Biol. Chem.*, 280(37), 32193-32199.
  78. Bao, X., Pavao, M. S., Dos Santos, J. C., and **Sugahara, K.** (2005) A functional dermatan sulfate epitope containing Iduronate(2-O- sulfate)alpha1-3GalNAc(6-O-sulfate) disaccharide in the mouse brain: Demonstration using a novel monoclonal antibody raised against dermatan sulfate of Ascidian ascidia nigra. *J. Biol. Chem.*, 280(24), 23184-23193.
  79. Ito, Y., Hikino, M., Yajima, Y., Mikami, T., Sirko, L., von Holst, A., Faissner, A., Fukui, S., and **Sugahara, K.** (2005) Structural characterization of the epitopes of the monoclonal antibodies 473HD, CS-56 and MO-225 specific for chondroitin sulfate D-type using the oligosaccharide library. *Glycobiology*, 15(6), 593-603.
  80. Kitagawa, H., Izumikawa, T., Mizuguchi, S., Dejima, K., Nomura, K. H., Egusa, N., Taniguchi, F., Tamura, J., Gengyo-Ando, K., Mitani, S., Nomura, K., and **Sugahara, K.** Expression of rib-1, a Caenorhabditis elegans Homolog of the Human Tumor Suppressor EXT Genes is indispensable for heparan sulfate synthesis and embryonic morphogenesis. *J. Biol. Chem.*, 282 (11), 8533-8544, 2007.
  81. Deepa, S. S., Kalayanamitra, K., Ito, Y., Kongtawelert, P., Fukui, S., Yamada, S., Mikami, T., and **Sugahara, K.** Novel sulfated octa- and decasaccharides from squid cartilage chondroitin sulfate-E: Sequencing and their application for determination of the epitope structure of monoclonal antibody MO-225. *Biochemistry*, 46 (9), 2453-2465, 2007.
  82. Li, F., Shetty, A. K., and **Sugahara, K.** Neuritogenic activity of chondroitin/dermatan sulfate hybrid chains of embryonic pig brain and their mimicry from shark liver: Involvement of the pleiotrophin and hepatocyte growth factor signaling pathways. *J. Biol. Chem.*, 282 (5), 2956-2966, 2007.
  83. Blanchard, V., Chevalier, F., Imbert, A., Leeflang, B. R., Basappa, **Sugahara, K.**, and Kamerling, J. P. Conformational studies on five octasaccharides isolated from chondroitin sulfate using NMR spectroscopy and molecular modeling. *Biochemistry*, 46 (5), 1167-1175, 2007.
  84. Nakagawa, H., Hama, Y., Sumi, T., Li, S. C., Maskos, K., Kalayanamitra, K., Mizumoto, S., **Sugahara, K.**, and Li, Y. T. Occurrence of a non-sulfated chondroitin proteoglycan in the dried saliva of collocalia swiftlets (edible bird's nest). *Glycobiology*, 17 (2), 157-164, 2007.
  85. Uyama, T., Ishida, M., Izumikawa, T., Trybala, E., Tufaro, F., Bergstrom, T., **Sugahara, K.**, and Kitagawa, H., Chondroitin 4-O-sulfotransferase-1 regulates "E" disaccharide expression of chondroitin sulfate required for herpes simplex virus infectivity. *J. Biol. Chem.*, 281 (50), 38668-38674, 2006.
  86. Pothacharoen, P., Ong-Chai, S., Supaphun, J., Kumja, P., Wanaphirak, C., **Sugahara, K.**, Hardingham, T., and Kongtawelert, P. Raised serum chondroitin sulfate epitope level in ovarian epithelial cancer. *J. Biochem.*, 140 (4), 517-524, 2006.
  87. Franks, D.M., Izumikawa, T., Kitagawa, H., **Sugahara, K.**, and Okkema, P.G. C. elegans pharyngeal morphogenesis requires both de novo synthesis of pyrimidines and synthesis of heparan sulfate proteoglycans. *Dev. Biol.*, 296 (2), 409-420, 2006.
  88. Mitsunaga, C., Mikami, T., Mizumoto, S., Fukuda, J., and **Sugahara, K.** Chondroitin sulfate/dermatan sulfate hybrid chains in the development of cerebellum: Spatiotemporal regulation of the expression of critical disulfated disaccharides by specific sulfotransferases. *J. Biol. Chem.*, 281 (28), 18942-18952, 2006.

89. Deepa, S. S. Carulli, D., Galtrey, C., Rhodes, K., Fukuda, J., Mikami, T., **Sugahara, K.**, and Fawcett, J. W. Composition of perineuronal net extracellular matrix in rat brain: A different disaccharide composition for the net-associated proteoglycans. *J. Biol. Chem.*, 281 (26), 17789-17800, 2006.
90. Dejima, K., Seko, A., Yamashita, K., Gengyo-Ando, K., Mitani, S., Izumikawa, T., Kitagawa, H., **Sugahara, K.**, Mizuguchi, S., and Nomura, K. Essential roles of 3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate synthase in embryonic and larval development of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *J. Biol. Chem.*, 281 (16), 11431-11440, 2006.
91. Deepa, S. S., Yamada, S., Fukui, S., and **Sugahara, K.** Structural determination of novel sulfated octasaccharides isolated from chondroitin sulfate of shark cartilage and their application for characterizing monoclonal antibody epitopes. *Glycobiology*, 17 (6), 631-645, 2007.
92. Yamada, S., Morimoto, H., Fujisawa, T., and **Sugahara, K.** Glycosaminoglycans in *Hydra magnipapillata* (Hydrozoa, Cnidaria): demonstration of chondroitin in the developing nematocyst, sting organelle, and structural characterization of glycosaminoglycans. *Glycobiology*, 17(8), 886-894, 2007.
93. Purushothaman, A., Fukuda, J., Mizumoto, S., ten Dam, G. B., van Kuppevelt, T. H., Kitagawa, H., Mikami, T., and **Sugahara, K.** Functions of chondroitin sulfate/dermatan sulfate chains in brain development: critical roles of E and iE disaccharide units recognized by a single chain antibody GD3G7. *J. Biol. Chem.*, 282 (27), 19442-19452, 2007.
94. ten Dam, G. B., van de Westerlo, E. M. A., Purushothaman, A., Stan, R. V., Bulten, J., Sweep F. C. G. J., Massuger, L. F., **Sugahara, K.**, and van Kuppevelt, T. H. Antibody GD3G7 selected against embryonic glycosaminoglycans defines chondroitin sulfate-E domains highly up-regulated in ovarian cancer and involved in VEGF binding. *Am. J. Pathol.*, 171(4):1324-1333, 2007.
95. Pothacharoen, P., Kalayanamitra, K., Deepa, S. S., Fukui, S., Hattori, T., Fukushima, N., Hardingham, T., Kongtawelert, P., and **Sugahara, K.** Two related but distinct chondroitin sulfate mimotope octasaccharide sequences recognized by monoclonal antibody WF6. *J. Biol. Chem.*, 282 (48), 35232-35246, 2007.
96. Fongmoon, D., Shetty, A. K., Basappa, Yamada, S., Sugiura, M., Kongtawelert, P., and **Sugahara, K.** Chondroitinase-mediated degradation of rare 3-O-sulfated glucuronic acid in functional oversulfated chondroitin sulfate K and E. *J. Biol. Chem.*, 282 (51), 36895-36904, 2007.
97. Izumikawa, T., Uyama, T., Okuura, Y., **Sugahara, K.**, and Kitagawa, H. Involvement of chondroitin sulfate synthase-3 (chondroitin synthase-2) in chondroitin polymerization through its interaction with chondroitin synthase-1 or chondroitin polymerizing factor. *Biochem. J.*, 403(3), 545-552, 2007.
98. Properzi, F., Lin, R., Kwok, J., Naidu, M., van Kuppevelt, T.H., ten Dam, G.B., Camargo, L.M., Furukawa, Y., Mikami, T., **Sugahara, K.**, and Fawcett, J.W. Heparan sulphate proteoglycans in glia and in the normal and injured CNS: Expression of sulfotransferases and changes in sulfation. *Eur. J. Neurosci.*, 27(3) 593-604, 2008.
99. Li, F., Yamada, S., Bassapa, Shetty, A. K., Sugiura, M., and **Sugahara, K.** Determination of Iduronic acid and glucuronic acid in sulfated chondroitin/dermatan hybrid chains by <sup>1</sup>H-nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Glycoconj. J.* 25:603-610, 2008
100. Akita, K., von Holst, A., Furukawa, Y., Mikami, T., **Sugahara, K.**, and Faissner, A. Expression of multiple chondroitin/dermatan sulfotransferases in the neurogenic regions of the embryonic and adult CNS suggests that complex chondroitin sulfates function in neural stem cell maintenance. *Stem Cells*, 26(3), 798-809, 2008

101. Izumikawa, T., Koike, T., Shiozawa, S., **Sugahara, K.**, Tamura, J., and Kitagawa, H. Identification of chondroitin sulfate glucuronyltransferase as chondroitin synthase-3 involved in chondroitin polymerization: Chondroitin polymerization is achieved by multiple enzyme complexes consisting of chondroitin synthase family members. *J. Biol. Chem.*, 283 (17), 11396-11406, 2008.
102. Kaneiwa, T., Yamada, S., Mizumoto, S., Montano, A. M., Mitani, S., and **Sugahara, K.** Identification of a novel chondroitin hydrolase in *Caenorhabditis elegans*. *J. Biol. Chem.*, 283 (22), 14971-14979, 2008.
103. Tone, Y., Pedersen, L. C., Yamamoto, T., Izumikawa, T., Kitagawa, H., Nishihara, J., Tamura, J., Negishi, M., and **Sugahara, K.** 2-O-phosphorylation of xylose and 6-O-sulfation of galactose in the protein linkage region of glycosaminoglycans influence the glucuronyltransferase-I activity involved in the linkage region's synthesis. *J. Biol. Chem.*, 283 (24), 16801-16807, 2008.
104. van Roij, M.H.H., Mizumoto, S., Yamada, S., Morgan, Tim., Tan-Sindhunata, M.B., Meijers-Heijboer, H., Verbeke, J.L.M., Markie, D., **Sugahara, K.**, Robertson, S. P. Spondyloepiphyseal dysplasia, Omani type: further definition of the phenotype. *Am. J. Med. Genet.*, 146A (18), 2376-2384, 2008.
105. Kitagawa, H., Tsutsumi, K., Ikegami-Kuzuhara, Nadanaka, S., A., Goto, F., Ogawa, T., and **Sugahara, K.** Sulfation of the Galactose Residues in the Glycosaminoglycan-Protein Linkage Region by Recombinant Human Chondroitin 6-O-Sulfotransferase-1. *J. Biol. Chem.*, 283 (41), 27438-27443, 2008.
106. Li, F., ten Dam, G B., Murugan, S., Yamada, S., Hashiguchi, T., Mizumoto, S., Oguri, K., Okayama, M., van Kuppevelt, T. H., and **Sugahara, K.** Involvement of highly sulfated chondroitin sulfate in the metastasis of the Lewis lung carcinoma cells. *J. Biol. Chem.*, 283 (49), 34294-34304, 2008.
107. **T. Suzuki**, I. Hara, M. Nakano, M. Shigeta, T. Nakagawa, A. Kondo, Y. Funakoshi, and N. Taniguchi (2006) Man2C1, an a-mannosidase is involved in the trimming of free oligosaccharides in the cytosol. *Biochem. J.* 400, 33-41.
108. Ishizuka, Y. Hashimoto, R. Naka, M. Kinoshita, K. Kakehi#, J. Seino, Y. Funakoshi, **T. Suzuki**#, A. Kameyama, and H. Narimatsu (2008) Accumulation of free complex-type N-glycans in stomach cancer cells, MKN7 and MKN45. *Biochem. J.* 413, 227-237. (#-corresponding authors)
109. **T. Suzuki**, I. Matsuo, K. Totani, S. Funayama, J. Seino, N. Taniguchi, Y. Ito, and S. Hase (2008) Dual-gradient HPLC for identification of cytosolic high mannose-type free glycans. *Anal. Biochem.* 381, 224-232.
110. Y. Haga, K. Totani, Y. Ito and **T. Suzuki** (2009) Establishment of a real-time analytical method for free oligosaccharide transport from the ER to the cytosol. *Glycobiology* 19, 987-994.
111. Misaki, R., T. Nakagawa, M. Fukuda, N. Taniguchi, and **T. Taguchi**, 2007. Spatial segregation of degradation- and recycling-trafficking pathways in COS-1 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 360:580-585.
112. Hieda, M., M. Isokane, M. Koizumi, C. Higashi, T. Tachibana, M. Shudou, **T. Taguchi**, Y. Hieda, and S. Higashiyama. 2008. Membrane-anchored growth factor, HB-EGF, on the cell surface targeted to the inner nuclear membrane. *J. Cell Biol.* 180:763-769.
113. Fujibayashi, A., **T. Taguchi**, R. Misaki, M. Ohtani, N. Dohmae, K. Takio, M. Yamada, J. Gu, M. Yamakami, M. Fukuda, S. Waguri, Y. Uchiyama, T. Yoshimori, and K. Sekiguchi. 2008. Human RME-8 is involved in membrane trafficking through early endosomes. *Cell Struct Funct.* 33:35-50.

114. Uechi, Y., M. Bayarjargal, M. Umikawa, M. Oshiro, K. Takei, Y. Yamashiro, T. Asato, S. Endo, R. Misaki, **T. Taguchi**, and K. Kariya. 2009. Rap2 function requires palmitoylation and recycling endosome localization. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 378:732-737.
115. McKenzie, J., L. Johannes, **T. Taguchi**, and D. Sheff. 2009. Passage through the Golgi is necessary for Shiga toxin B subunit to reach the endoplasmic reticulum. *FEBS J.* 276:1581-1595.
116. Houjou T, Hayakawa J, Watanabe R, Tashima Y, Maeda Y, **Kinoshita T, Taguchi R.** Changes in molecular species profiles of glycosylphosphatidylinositol anchor precursors in early stages of biosynthesis. *J Lipid Res.* 48:1599-606, 2007
117. Ikeda K, Shimizu T, **Taguchi R.** Targeted analysis of ganglioside and sulfatide molecular species by LC/ESI-MS/MS with theoretically expanded multiple reaction monitoring. *J Lipid Res.*;49(12):2678-89, 2008
118. Tsumoto H, Murata C, Miyata N, Kohda K, **Taguchi R.** Efficient identification and quantification of proteins using isotope-coded 1-(6-methylnicotinoyloxy) succinimides by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.*; 21(23):3815-24, 2008
119. Tsumoto H, Ra M, Samejima K, **Taguchi R.** Kohda K. Chemical derivatization of peptides containing phosphorylated serine/threonine for efficient ionization and quantification in matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 22(7):965-72, 2008
120. Yamanaka K, Ito Y, Okuyama N, Noda K, Matsumoto H, Yoshida H, Miyauchi A, Capurro M, Filmus J, **Miyoshi E.** Immunohistochemical study of glypican3 in thyroid cancer. *Oncology* 73(5-6), 389-94, 2008.
121. Nakano M, Nakagawa T, Ito T, Kitada T, Hijioka T, Kasahara A, Tajiri M, Wada Y, Taniguchi N, **Miyoshi E.** Site-specific analysis of N-glycans on haptoglobin in sera of patients with pancreatic cancer: A novel approach for the development of tumor markers. *Int J Cancer*, 122(10), 2301-09, 2008.
122. Nakagawa T, **Miyoshi E.** Yakushijin T, Ikura H, Hiramatsu N, Hayashi N, Taniguchi N, Kondo A. Structural and enzymatic bases of N-glycans of alpha-fetoprotein L2 and L3 from hepatoma cell lines and hepatocellular carcinoma patients. *J. Proteome Research* 7(6), 2222-2233, 2008.
123. Narisada M, Kawamoto S, Kuwamoto K, Moriwaki K, Nakagawa T, Matsumoto H, Asahi M, Koyama N, **Miyoshi E.** Identification of an inducible factor secreted by pancreatic cancer cell lines that stimulates the production of fucosylated haptoglobin in hepatoma cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 377 (3), 792-796, 2008.
124. Moriwaki K, Noda K, Furukawa Y, Oshima K, Uchiyama A, Nakagawa T, Taniguchi N, Daigo Y, Nakamura Y, Hayashi N, **Miyoshi E.** Deficiency of GMD leads to escape from NK cell-mediated tumor surveillance through modulation of TRAIL signaling. *Gastroenterology* 137(1), 188-198, 2009.
125. Sasaki N, Moriwaki K, Uozumi N, Noda K, Taiguchi N, Kameyama A, Narimatsu H, Takeishi S, Yamada M, Koyama N, **Miyoshi E.** E<sub>4</sub>-PHA-reactive oligosaccharides are a novel marker for hepatic progenitor cells. *Glycoconjugate J.* in press.
126. **Wada Y,** Tajiri M, Yoshida S. " Hydrophilic Affinity Isolation and MALDI Multiple-Stage Tandem Mass Spectrometry of Glycopeptides for Glycoproteomics." *Anal Chem.* 76, 6560-6565, (2004)
127. Tajiri M, Yoshida S, **Wada Y.** "Differential analysis of site-specific glycans on plasma and cellular fibronectins: Application of a hydrophilic affinity method for glycopeptide enrichment." *Glycobiology* 15,



1332-1340 (2005)

128. Sekiya S, **Wada Y**, Tanaka K. "Derivatization for stabilizing sialic acids in MALDI-MS" *Anal Chem* 77, 4962-4968 (2005)
129. **Wada Y**, Azadi P, Costello CE, Dell A, Dwek RA, Geyer H, Geyer R, Kakehi K, Karlsson NG, Kato K, Kawasaki N, Khoo K-H, Kim S, Kondo A, Lattova E, Mechref Y, Miyoshi E, Nakamura K, Narimatsu H, Novotny MV, Packer NH, Perreault H, Peter-Katalinic J, Pohlentz G, Reinhold VN, Rudd PM, Suzuki A, Taniguchi N. "Comparison of the methods for profiling glycoprotein glycans—HUPO Human Disease Glycomics/Proteome Initiative multi-institutional study" *Glycobiology* 17: 411-422 (2007)
130. **Wada Y**. "Mass spectrometry in the detection and diagnosis of congenital disorders of glycosylation" *Eur. J Mass Spectrom* 13, 101-103 (2007)
131. Tajiri M, **Ohvama C**, **Wada Y**. Oligosaccharide profiles of the prostate specific antigen in free and complexed forms from prostate cancer patient serum and in seminal plasma: a glycopeptide approach. *Glycobiology*. 18, 2-8, (2008)
132. **Wada Y**, Tajiri M. "Tackling difficulties in the determination of O-glycosylation sites: approaches to mucin-type glycoproteins" *Trends Glycosci. Glycotechnol.* 20, 69-80 (2008)
133. Tajiri M, Kadoya M, **Wada Y**. "Dissociation profile of protonated fucosyl glycopeptides and quantitation of fucosylation levels of glycoproteins by mass spectrometry." *J Proteome Res* 8, 688-693 (2009)
134. Tajiri M, Takeuchi T, **Wada Y**. "Distinct features of matrix-assisted 6  $\mu\text{m}$  infrared laser desorption/ionization mass spectrometry in biomolecular analysis" *Anal Chem* 81(16) 6750-6755 (2009)

(2)その他の著作物(総説、書籍など)

1. 大石一人、木下タロウ：補体経路の免疫における役割「免疫と疾患—自然・獲得免疫と疾患—」最新医学3月増刊号60：509-518、2005
2. **Kinoshita, T.**, Y. Murakami and Y.S. Morita. 2007. Diseases associated with GPI anchors. In *Comprehensive Glycoscience*. Ed. J. P. Kamerling, p393-419, Elsevier Ltd., Amsterdam.
3. Murakami, Y. and **T. Kinoshita**. 2008. Research in Japan has contributed to the understanding of GPI anchor deficiency. In *Glycoscience Lab Manual*. Ed. N. Taniguchi, p183-185, Springer, Tokyo.
4. Maeda, Y. and **T. Kinoshita**. 2008. GPI anchor biosynthesis and related genes in mammalian cells. In *Glycoscience Lab Manual*. Ed. N. Taniguchi, p289-292, Springer, Tokyo.
5. Maeda, Y. and **T. Kinoshita**. 2008. Dolichol-phosphate mannose synthase: structure, function and regulation. *Biochim. Biophys. Acta*, 1780:861-868.
6. **Kinoshita, T.**, M. Fujita and Y. Maeda. 2008. Biosynthesis, remodeling and functions of mammalian GPI-anchored proteins: recent progress. *J. Biochem.*, 144:287-294.
7. Ferguson, M., **T. Kinoshita** and G. Hart. 2008. Glycosylphosphatidylinositol anchors. In *Essentials of Glycobiology*, 2nd ed. Ed. Varki, A.; Cummings, R.D.; Esko, J.D.; Freeze, H.H.; Stanley, P.; Bertozzi, C.R.; Hart, G.W.; Etzler, M.E., p143-161. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
8. **Kinoshita, T.** 2008. Designing sleeping sickness control. *ACS Chem. Biol.*, 3, 601-603.

9. Kinoshita, T. and M. Fujita. 2009. Overview of GPI biosynthesis. In *The Enzymes*, Vol. 26, Eds. Menon, A. K., Kinoshita, T., Orlean, P. and Tamanoi, F., p1-30. Academic Press, Burlington.
10. Hong, Y and T. Kinoshita. 2009. Trypanosome glycosylphosphatidylinositol biosynthesis. *Korean J. Parasitol.*, 47:197-204.
11. Ikeda Y, Taniguchi N: Gene expression of gamma-glutamyltranspeptidase. *Methods Enzymol.* 401, 408-425, 2005.
12. Eguchi H, Ikeda Y, Ookawara T, Fujiwara N, Taniguchi N, Suzuki K: Specific cleavage of carbohydrates by reactive oxygen species. In *Natural Antioxidants and Micronutrients* (B Zhao, G Liu, L Packer, eds), Medimond, Bologna, 127-132, 2005.
13. Cheng G, Ikeda Y, Iuchi Y, Fujii J: A novel method to detect S- glutathionylated proteins by glutathione S-transferase. In *Natural Antioxidants and Micronutrients* (B Zhao, G Liu, L Packer, eds), Medimond, Bologna, 155-158, 2005.
14. 池田義孝: ErbB ファミリー. 谷口直之、伊藤幸成監修、糖鎖科学の新展開 – 機能解明・次世代型材料・医薬品開発に向けて. 289-294, エヌ・ティー・エス, 東京 2005.
15. 池田義孝: 増殖因子受容体機能における糖鎖の重要性. 永井克孝監修、未来を拓く糖鎖科学. 370-371, 金芳堂 京都 2005.
16. 池田義孝: (共訳) がんのベーシックサイエンス日本語第3版 (The Basic Science of Oncology 4<sup>th</sup> Edition). 谷口直之、大島 明、鈴木敬一郎監訳、メディカル・サイエンス・インターナショナル, 東京 2006.
17. Ikeda Y, Takahashi M: 3.07 Glycosyltransferases and glycosidases: Enzyme Mechanisms. In “Comprehensive Glycoscience: From chemistry to system biology” Vol. 3, 115-128, Elsevier, New York, 2007.
18. Takahashi M, Suzuki K, Ikeda Y, Taniguchi N: 4.28 Glycation and Disease. In “Comprehensive Glycoscience: From chemistry to system biology” Vol. 4, 515-532, Elsevier, New York, 2007.
19. 池田義孝: がんと放射線「新・がん医学入門1 : がんとは何か (谷口直之・杉山治夫・松浦成昭・三善英知編)」中山書店, 2008, 96-110.
20. Ikeda Y: Importance of sugar chains in the function of growth factor receptors. In “Experimental Glycoscience: Glycobiology”, Taniguchi N, Suzuki A, Ito Y, Narimatsu H, Kawasaki T, Hase S (eds.), 349-350, Springer, Tokyo, 2008.
21. 大山 力. 限局性前立腺癌の治療選択とバイオマーカー. *臨床泌尿器科*:59(10),717-725,2005,
22. 大山 力. 糖鎖と病気の発症,泌尿器疾患の発症と糖鎖, 遺伝子医学 MOOK3, 糖鎖と病気,59-63,2005.
23. 大山 力. 前立腺癌スクリーニングの新しい展開「癌特異的P S Aは存在するか? : P S Aの糖鎖構造解析から. *Urology View*:3(4),77-82,2006.
24. 大山 力: Glycobiology と泌尿器疾患. *Urology Today*,13:4-8, 2006.
25. 大山 力: 泌尿器科学と糖鎖生物学. *泌尿器外科*,19: 323-327,2006.

26. 大山 力, 神村典孝, 盛 和行: 精巣腫瘍における画像診断の進歩; F D G - P E T を中心に. *Urology View* 2009 ; 7 (3) : 41-5
27. Taniguchi, N., Miyoshi, E., Gu, J., Honke, K., and Matsumoto, A. Decoding of Sugar Functions by Identifying Target Glycoproteins. *Current Opinion in Structural Biology*, 16:561-6, 2006
28. Kondo, A., Li, W., Nakagawa, T., Nakano, M., Koyama, N., Wang, X., Gu, J., Miyoshi, E., and Taniguchi, N. From glycomics to functional glycomics of sugar chains: identification of target proteins with functional changes using gene targeting mice and knock down cells of FUT8 as examples. *Biochem. Biophys. Acta* 1764:1881-9, 2006
29. Wang, X., Gu, J., Miyoshi, E., Honke, K. and Taniguchi, N. Phenotype changes of Fut8 knockout mouse: core fucosylation is crucial for the function of growth factor receptors. *Methods Enzymol.* 417: 11-22, 2006
30. Zhao, Y., Gu, J., and Taniguchi, N. Signaling and Glycoproteins. *Comprehensive Glycoscience*, 4.14: 249-265, 2007
31. Zhao, Y., Sato, Y., Isaji, T., Fukuda, T., Matsumoto, A., Miyoshi, E., Gu, J., Taniguchi, N. Branched N-glycans regulate the biological functions of integrins and cadherins. *FEBS J.* 275: 1939-48, 2008
32. Zhao, Y., Takahashi, M., Gu, J., Miyoshi, E., Matsumoto, A., Kitazume, S. and Taniguchi, N. Functional roles of N-glycans in cell signaling and cell adhesion in cancer. *Cancer Sci.* 99: 1304-10, 2008
33. Gu, J. and Taniguchi, N. Potential of N-glycan in cell adhesion and migration: As either a positive or negative regulator. *Cell Adhesion & Migration* 2:4. 1-3, 2008
34. Gu, J., Sato, Y. and Isaji, T. N-glycans Regulate Integrin alpha5beta1 Functions. *Experimental Glycoscience (Springer)*, 358-359, 2008
35. Gu, J., Sato, Y., Kariya, Y., Isaji, T., Taniguchi, N. and Fukuda, T. A mutual regulation between cell-cell adhesion and N-glycosylation: implication of the bisecting GlcNAc for biological functions *J. Proteome Res.* 8:431-435, 2008
36. Gu, J., Isaji, T., Sato, Y., Kariya, Y. and Fukuda, T. Importance of N-glycosylation on alpha5beta1 integrin for its biological functions. *Biol. Pharm. Bull.* 32:780-5, 2009
37. Kariya, Y., Kariya, Y. and Gu, J. Roles for laminin-332 and beta4 integrin in tumor progression. *Mini-Rev Med Chem.* In press, 2009
38. 近藤 玄: 受精担当分子としてのアンギオテンシン変換酵素: GPI アンカー型タンパク質遊離機能との相関。医学のあゆみ「レニン・アンギオテンシン系のすべて」228巻5号、p513-516、2009
39. T. Suzuki (2005) Evolutional Conservation of the Glycan-mediated Quality Control System for Newly Synthesized Proteins in the Endoplasmic Reticulum (ER). In "Comparative Glycomics and Life Evolution (J. Hirabayashi, ed.) Glycoforum, Seikagaku Corporation, <http://www.glycoforum.gr.jp/science/word/evolution/ES-B01E.html>
40. 鈴木 匡 細胞質における遊離糖鎖の生成、代謝とその生理機能 遺伝子医学 MOOK 「糖鎖と病気」(メディカル ドゥ) (谷口直之 編) pp118-122 (2005)
41. 鈴木 匡 細胞質ペプチド:N-グリカナーゼ 糖鎖科学の新展開 機能解明・次世代型材料・医薬品開発に向けて (NTS) (谷口直之/伊藤幸成 監修) pp86-91 (2005).

42. 鈴木 匡 細胞質における糖タンパク質の分解とペプチド:N-グリカナーゼ 未来を拓く糖鎖科学 (金芳堂) (永井克孝 監修) pp257-259 (2005)
43. T. Suzuki, and Y. Funakoshi (2006) Free oligosaccharides; formation and degradation (review article). *Glycoconjugate J* 23, 291-302.
44. K. Tanabe, W. J. Lennarz, and T. Suzuki (2006) The cytoplasmic peptide:N-glycanase. *Methods Enzymol.* 415, 46-55.
45. 鈴木 匡 細胞質ペプチド:N-グリカナーゼ (PNGase) と、細胞質 N 型糖鎖の代謝 *Functional Glycomics* ポストゲノム時代のバイオサイエンス *News Letter* 糖鎖フラッシュ号 No. 7 (文部科学省科学研究費補助金特定領域研究 糖鎖によるタンパク質と分子複合体の機能調節) pp36-40 (2006).
46. 鈴木 匡 細胞質 PNGase と、細胞質 N 型糖鎖の代謝 *生化学* (日本生化学会) pp1123-1130 (2006).
47. T. Suzuki (2007) Peptide:N-glycanase (PNGase) and free N-glycans in cytosol, In "Quality Control, Trafficking and Sorting of Glycoproteins" (K. Yamamoto, ed.) *Glycoforum*, Seikagaku Corporation, <http://www.glycoforum.gr.jp/science/word/qualitycontrol/QS-A04E.html>
48. T. Suzuki (2007) Cytoplasmic peptide:N-glycanase and catabolic pathway for free N-glycans in the cytosol. *Sem. Cell Develop. Biol.* 18, 762-769.
49. T. Suzuki, K. Tanabe, and Y. Funakoshi (2007) Folding and quality control of glycoproteins In "Comprehensive Glycoscience; From chemistry to systems biology" (J. P. Kamerling, ed.) Elsevier Science Ltd., Netherland; pp129-149.
50. T. Suzuki (2008) A cytoplasmic peptide:N-glycanase and ER-associated degradation. In "Experimental Glycoscience - Glycobiology" (N. Taniguchi, et al. ed.) Springer Japan Ltd., Japan, pp201-203.
51. Y. Funakoshi and T. Suzuki (2009) Glycobiology in the cytosol: the bitter side of a sweet world. *Biochim. Biophys. Acta* 1790, 81-94.
52. T. Suzuki (2009) Introduction to Glycometabolome. *Trends Glycosci. Glycotechnol.* accepted for publication.
53. 田口友彦、膜リサイクルシステム：リサイクリングエンドソームについての最近の話題、*生体の科学* (医学書院) 57 巻 2 号 (2006 年 4 月)
54. 田口友彦、膜リサイクリングシステム、*生体の科学*(医学書院) 59 巻 5 号 (2008 年 10 月)
55. 有田正規、田口良 「メタボロームによる脂質代謝パスウェイ解析」 *実験医学*, Vol.23, No.6(増刊), 947-953, 2005
56. 田口良 「脂質メタボローム解析との融合」 *遺伝子医学 MOOK2 疾患プロテオミクスの最前線* プロテオミクスで病気を治せるか, 366-370, 2005
57. 田口 良, *リピドミクス:脂質メタボロームの手法と考え方*, *生物工学会誌*, 86: 218-234, 2006
58. 田口 良, *メタボロミクスの現状と未来*, *特集メタボロミクス*(監修: 田口良), *細胞工学*, 秀潤社, 25, 1374-1378, 2006

59. 石田真悠子, 田口良, 脂質メタボローム解析法とその適用、特集メタボロミクス(監修: 田口良)、細胞工学、秀潤社、25, 1421-1426, 2006
60. 田口良, 質量分析によるメタボローム解析とそのめざすもの、最新プロテオミクス・メタボロミクス、細胞工学別冊、秀潤社、pp130-136, 2007
61. 田口良, リピドミクスによる肥満・炎症の包括的解析、実験医学、羊土社、26, 30-34, 2008
62. 佐野元昭、菱木貴子、末松誠、中西広樹、田口良: 「メタボローム」 Annual Review 循環器 (山口、高本、中澤、小室編)、中外医学社、2009年1月
63. Takahashi M, Yokoe S, Asahi M, Lee S, Li W, Osumi D, Miyoshi E, Taniguchi N. N-glycan of ErbB family plays a crucial role in dimer formation and tumor promotion. *Biochimica et Biophysica Acta* 1780(3), 520-524, 2008.
64. Miyoshi E, Moriwaki K, Nakagawa T. Biological Function of Fucosylation in Cancer Biology. *J. Biochem.* 143(6), 725-729, 2008.
65. Miyoshi E, Nakano M. Fucosylated haptoglobin is a novel marker for pancreatic cancer: detailed analyses of oligosaccharide structures. *Proteomics* 8(16), 3257-3262, 2008.
66. Zhao Y, Sato Y, Isaji T, Fukuda T, Matsumoto A, Miyoshi E, Gu J, Taniguchi N. Branched N-glycans regulate the biological functions of integrins and cadherins. *FEBS J.* 275 (9), 1939-1948, 2008.
67. Zhao Y, Takahashi M, Gu J, Miyoshi E, Matsumoto A, Kitazume S, Taniguchi N. Functional roles of N-glycans in cell signaling and cell adhesion in cancer. *Cancer Sci.* 99(7), 1304-1310, 2008.
68. Ihara S, Miyoshi E, Taniguchi N. *Comprehensive Glycoscience*, Elsevier Ltd. 2008 Chapter 4-22, p.421-437, GnT-V and Cancer
69. Miyoshi E. *Experimental Glycoscience*, Springer, 2008 Section XI Cancer, p.235-237, Fucosylation and Cancer
70. 三善英知 医学のあゆみ 225 (8) 5/24号 グライコミクスの世界 編集, 2008.
71. 森脇健太, 三善英知 癌における糖鎖異常と臨床検査 —フコシル化を中心に 臨床検査 52 (6) , 699-704, 2008.
72. 三善英知 谷口直之 糖鎖を標的にした新しい癌および消化器疾患の血清診断法の開発 遺伝子医学 MOOK(11), p.142-147, 2008 臨床糖鎖バイオマーカーの開発 —糖鎖機能の解明とその応用—、メデイカルドゥ
73. 和田芳直、プロテオミクス、医学を学ぶための生物学(改訂第2版) pp423-428、南江堂 2004
74. Wada Y. "Mass spectrometry for congenital disorders of glycosylation, CDG" *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 838, 3-8 (2006)
75. 和田芳直. 生体分子の質量分析. 実験化学講座 20-1、pp432-442、丸善、東京、(2007)
76. 和田芳直、田尻道子、久田美貴、伊藤喜之. O-グリコプロテオームの解析戦略. 細胞工学別冊「プロテオミクス・メタボロミクス—質量分析の基礎からバイオ医薬への応用」(丹羽利充監修) pp71-79 秀潤社 東京(2007)

77. Wada Y. "Mass spectrometry of glycopeptides" in Experimental glycoscience: Glycochemistry (eds. Taniguchi N et al.) Springer pp98-99 (2008)
78. Wada Y. "Molecular diagnosis of congenital disorders of glycosylation" in Experimental glycoscience: Glycobiology (eds. Taniguchi N et al.) Springer pp319-322 (2008)

(3)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 107 件、国際会議 61 件)  
発表者(所属)、タイトル、学会名、場所、月日
1. Taroh Kinoshita, Mammalian PIG-X and Yeast Pbn1p are the regulatory components of ER-resident GPI-mannosyltransferaseI. 4<sup>th</sup> International Symposium on Glycosyltransferases November 4-6, 2004 Le Touquet France
2. Yusuke Maeda, Yuko Tashima, Hisashi Ashida and Taroh Kinoshita. Processing and trafficking of GPI-anchored proteins 2<sup>nd</sup> Workshop the Netherlands-Japan on recent advances in Glycobiology, Apr.17-21, 2005, Utrecht, Netherlands
3. 木下タロウ GPI アンカーのリモデリングとラフトへの取り込み ナノドメイン生物学ワークショップ05 2005年6月9日 東京 日本薬学会 長井記念ホール
4. Taroh Kinoshita, Structural remodeling of GPI-anchor in mammalian cells. European-Japanese Glycomics Workshop 2005年9月3-4日 Montebello Splendid Hotel Florence イタリア
5. Taroh Kinoshita Roles of GPI-anchored proteins in host and parasites., 平成17年度アジア学術セミナー (JSPS Asian Science Seminar) 2005年12月20-23日, 中国 天津市 TEDA International Hotel & Club
6. 木下タロウ 糖鎖の動態-機能相関への統合的アプローチ 第3回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム 2005年12月6-7日 東京コンファレンスセンター
7. 木下タロウ 抗感染症薬の新戦略: GPI アンカー生合成を標的として 日本抗生物質学術協議会講演会 2006年1月17日 東京 学士会館
8. Taroh Kinoshita, Yuko Tashima, Hisashi Ashida and Yusuke Maeda. Processing of GPI-anchored proteins in mammalian cells. International Symposium on "Glycans on Proteins and Lipids: Implications in Cellular Functions and Evolution". 2006年2月20日-28日, Bangalore, India
9. Yusuke Maeda, Toshiaki Houjou, Yuko Tahim, Chie Murata, Hisashi Ashida, Ryo Taguchi, Taroh Kinoshita. Lipid remodeling of glycosylphosphatidylinositol in mammalian cells, a requirement for association of GPI-APs with lipid rafts. 20<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOBMB Congress June 16-23, 2006 Kyoto, Japan
10. Taroh Kinoshita, Topogenesis of -anchored proteins and human disorders. 20<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOBMB Congress June 16-23, 2006 Kyoto, Japan
11. Taroh Kinoshita, Yuko Tashima, Toshiaki Houjou, Ryo Taguchi and Yusuke Maeda, Requirement of Fatty Acid Remodeling for Raft-Association of GPI-Anchored Proteins. FASEB SUMMER RESEARCH CONFERENCES Protein Lipidation, Signaling & membrane Domain. July 22-27, 2006 Indian Wells, California USA

12. Taroh Kinoshita, Yuko Tashima, Toshiaki Houjou, Ryo Taguchi, Yusuke Maeda, Fatty acid remodeling of GPI anchor in CD59., XXII International Complement Workshop October 22-27 2006, Beijing China
13. Taroh Kinoshita, Overview of Research Institute for Microbial Diseases of Osaka University & roles of glycosylphosphatidylinositol in host and parasites, International CVRDC-BIKEN Joint Symposium, "Infection, Immunity & Vaccine" 2006. 11. 9 – 11. 10, Gwangju, Korea
14. Taroh Kinoshita, Fatty acid remodeling of mammalian GPI-anchored proteins, Japan-Switzerland 2<sup>nd</sup> Joint Seminar "Synthesis and trafficking of glycolipids and glycolipid-anchored proteins" Jan 30 to Feb 2, 2007. Tsukuba
15. Taroh Kinoshita, Three step model of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. The Fourth Annual Meeting of Asian Hematology Association Feb. 24-25, 2007, Bangkok, Thailand
16. 前田裕輔、田嶋優子、北條俊章、藤田盛久、横尾岳彦、地神芳文、田口良、木下タロウ, 哺乳動物細胞の GPI アンカー型タンパク質の脂肪酸リモデリングと脂質ラフトへの集積 (ワークショップ), 第7回日本蛋白質科学学会年会 2007年5月24日~26日 仙台市 仙台国際センター
17. Taroh Kinoshita, Fatty acid remodeling of mammalian GPI-anchored preteins and lipid raft association, XIX International Symposium on Glycoconjugates, (GLYCO 19), July 15-20, 2007 Cairns, Australia
18. 木下タロウ, GPI アンカー生合成酵素の欠損と疾患, 第5回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム 2007年11月26、27日 東京コンファレンスセンター
19. Taroh Kinoshita Pathophysiology of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, XXXIInd World Congress of the International Society of Hematology.19-23 Oct, 2008 Bangkok Thailand
20. Yusuke Maeda, Toru Ide, Masato Koike, Yasuo Uchiyama, Taroh Kinoshita. Acidification of the Golgi apparatus is regulated by GPHR, a novel anion channel, and critical for glycosylation. (シンポジウム、糖鎖による生体膜近傍の細胞機能制御機構) 第31回日本分子生物学会年会、第81回日本生化学会合同大会 9-12、神戸 Dec.2008
21. Taroh Kinoshita The biosynthesis of GPI-linked proteins and the pathogenesis of PNH. Mini-Symposium on PNH フィレンツェ イタリア 2009-2-27~28
22. Taroh Kinoshita, Clonal expansion in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH), GPI-anchor deficiency due to somatic mutation in PIGA gene. FASEB Summer Research Conferences -Protein Lipidation, Singnaling and Membrane Domiins-, Saxtons River, Vermont USA 2009.7.26-31
23. 池田義孝:  $\gamma$ -グルタミルトランスペプチダーゼの酵素学的性質と生体における役割. 日本学術振興会第170委員会研究会. 下関 2006. 8. 1.
24. 大山 力. 前立腺の診断と治療 ー我々のアプローチを中心にー.岩手泌尿器科懇話会盛岡,H17. 1. 2
25. Ohyama C. Cancer-Associated carbohydrate alteration of PSA. The 18th International Symposium of Foundation for Promotion of Cancer Research, 2005/1/27,Tokyo.
26. 大山 力. 限局性前立腺癌に対する我々のアプローチー新規バイオマーカーから低侵襲手術までー.第107回 静岡県泌尿器科医会,浜松市,H17. 1. 29.

27. 大山 力. 前立腺癌 Up to Date –新規バイオマーカーから低侵襲手術まで-.第8回 県北泌尿器疾患研究会,古川市,H17. 2. 17.
28. 大山 力. 限局性前立腺癌への挑戦 –弘前大学泌尿器科の取り組み-.第3回 アストラゼネカ 泌尿器科セミナー,仙台,H17. 3. 25.
29. 大山 力. 限局性前立腺癌に対する我々のアプローチ –新規バイオマーカーから低侵襲性手術まで-.第4回 KKUC (KAGAWA-KANSAI Urological Conference),大阪,H.17.4.1.
30. 大山 力. 前立腺癌の新規バイオマーカー泌尿器科サマーキャンプ2005,新潟,H17.7.23
31. 大山 力. 泌尿器科学と糖鎖生物学,第70回 日本泌尿器科学会東部総会,花巻,H17.9.28.
32. 大山 力. 限局性前立腺癌 –問題点と我々の取り組み方-.第52回 札幌医科大学 Urology Seminar,札幌,H17. 10. 24.
33. Ohyama C. Roles of sialyl Lewis X in cancer metastasis. Hirosaki International Symposium, 2005/11/11,Hirosaki
34. 大山 力. 限局性前立腺癌をめぐる諸問題と私たちのアプローチ.東京女子医科大学腎泌尿器癌研究会,東京,H17.12.1.
35. 大山 力. 進行性腎癌の治療戦略：金沢大学泌尿器科学術講演特別講演, 金沢市 H18.6.2.
36. 大山 力. 立腺癌の糖鎖バイオマーカー：第5回奈良前立腺研究会特別講演, 大阪市 H18.6.16
37. 大山 力. 膀胱癌の悪性度を反映する糖鎖性バイオマーカー：第15回日本腎泌尿器科予防医学研究会, 京都市 H18.7.7
38. 大山 力. Surgeon-Scientist として前立腺癌に挑む -糖鎖バイオマーカーと低侵襲手術-：第10回信州泌尿器科腫瘍研究会特別講演, 松本市 H18.11.11
39. 大山 力. 泌尿器科領域のトピックス –排尿障害と前立腺癌-：日本医師会生涯教育講座, 八戸市 H19.1.19
40. 大山 力. 膀胱癌診療の諸問題と私たちのアプローチ：第80回日本泌尿器科学会四国地方会特別講演, 徳島市 H19.1.27
41. 大山 力. Urology meets Glycobiology：第11回北陸泌尿器科 Basic Research Conference 特別講演, 金沢市 H19.2.10
42. 大山 力. 進行性腎癌の治療戦略：腎癌治療セミナー特別講演, 岐阜市 H19.2.22
43. 大山 力. 膀胱癌診療の問題点を考える：第64回日本泌尿器科学会山梨地方会特別講演, 甲府市 H19.3.10
44. 大山 力：膀胱癌診療の問題点と私たちのアプローチ。第8回愛宕泌尿器科医会、東京慈恵会医科大学 H19.4.5
45. 大山 力：膀胱癌診療の問題点と私たちのアプローチ。第26回神戸UGカンファレンス、神戸市, H19.9.14



46. 大山 力：膀胱癌の問題点とその対策。第 361 回秋の宮 C. C.、湯沢市 H19.9.20
47. 大山 力：膀胱癌診療の問題点と対策。第 27 回阪神泌尿器科医会、西宮市、H19.10.11
48. 大山 力：膀胱癌；日常診療の諸問題と対策。第 2 回鹿児島泌尿器疾患研究会、鹿児島市 H19.11.16
49. 大山 力：細胞解析の「昨今」私の FACS 解析。BD バイオフォーラム in 弘前大学、弘前市 H19.12.4
50. 大山 力：前立腺癌の基礎と臨床 ―バイオマーカーから低侵襲手術まで―。第 55 回東北腎泌尿器科疾患研究会、平成 20 年 2 月 14 日 福島市
51. 大山 力：「特別講演」膀胱癌：診療の問題点と解決策。第 2 回千葉泌尿器オンコロジー研究会 千葉市、H20.5.30
52. 大山 力：「特別講演」前立腺癌のリスク分類と治療戦略。第 2 回 Osaka Prostate Cancer Conference 大阪市 H20.6.6
53. 大山 力：特別講演「Male LUTS の処方箋。過活動膀胱学術講演会 弘前市 H30.6.12
54. 大山 力：「特別講演」泌尿器科疾患における糖鎖の役割。御殿場研究所講演会 御殿場市 H20.7.4
55. 大山 力：前立腺癌における Core2 GnT の発現について。第 3 回 Basic Urology Research Seminar 松山市 H20.9.6
56. 大山 力：「特別講演」難治性前立腺癌の治療。前立腺癌学術講演会 秋田市 H20.12.4
57. 顧 建国、糖鎖とインテグリンのシグナル、大阪大学 COE 合同シンポジウム、大阪、2005 年 12 月 21-22 日
58. 顧 建国、Regulation of integrin functions by N-glycans、第 126 回日本薬学会、仙台、2006 年 3 月 28-30 日
59. 顧 建国、Biological functions of Fut8: Roles of core fucosylation in diseases、第 26 回日本糖質学会、仙台、2006 年 8 月 23-25 日
60. 顧 建国、CORE FUCOSYLATION REGULATES INTEGRIN AND GROWTH FACTOR RECEPTORS-MEDIATED SIGNALING、Symposium for Frontiers in Glycomics: Bioinformatics and Biomarkers in Disease, NIH Natcher Conference Center, Bethesda, Maryland, USA、2006 年 9 月 11-13 日
61. 顧 建国、N-結合型糖鎖によるインテグリンの機能制御、第 80 回日本薬理学会、名古屋、2007 年 3 月 14-16 日
62. 顧 建国 糖鎖による細胞接着およびがん転移の制御、山形大学医学部セミナー、山形大学医学部、2007 年 10 月 5 日
63. 顧 建国 N-結合型糖鎖によるインテグリンとその複合体形成の機能制御、第 30 回年日本分

子生物学会・第80回生化学会合同会議、横浜、2007年12月11-15日

64. 顧 建国 コアフォースの重要性について：Fut8 欠損マウスの解析から、高知大学第一回公開シンポジウム『糖鎖と医学との関わり』、高知、2008年3月21日
65. 顧 建国 N-Acetylglucosaminyltransferase III Expression Is Regulated by Cell-Cell Adhesion via the E-cadherin-catenin-actin Complex. The 6th International GlycoT conference, Emory Conference Center, Atlanta 2008年5月17-20日
66. 顧 建国 N-Acetylglucosaminyltransferase III Expression Is Regulated by Cell-Cell Adhesion via the E-cadherin-catenin-actin Complex. The 6th International GlycoT conference, Emory Conference Center, Atlanta 2008年5月17-20日
67. 顧 建国 N-Acetylglucosaminyltransferase III Expression Is Regulated by Cell-Cell Adhesion via the E-cadherin-catenin-actin Complex. The 6th International GlycoT conference, Emory Conference Center, Atlanta 2008年5月17-20日
68. 顧 建国 糖転移酵素 Fut8 と肺気腫、「第4回産業医科大学大学院シンポジウム」産業医科大学ラマチーニホール 2008年10月16日
69. 顧 建国 インテグリンの N-結合型糖鎖による細胞接着機能の制御「日本第6回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム」東京 2008年12月3,4日
70. 顧 建国 Emphysema and Fut8. 「Frontiers in Glycomics workshop」The Shanghai Centre for Systems Biomedicine, Shanghai Jiao Tong University, China; 2009年1月4,5日
71. 顧 建国 Identification of important N-glycosylation sites on  $\alpha 5 \beta 1$  integrin for its functions 「International Clinical and Translational Research on Cancer: Glycomics Applications」, 伊勢志摩, 2009年3月24-27日
72. 顧 建国 Importance of N-glycan on glycoprotein for its biological functions and related diseases Scientific lecture series of Dalian University Dalian University; 2009年8月26日
73. 顧 建国 Importance of N-glycan in cell adhesion Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai; 2009年8月29日
74. 顧 建国 糖鎖修飾によるインテグリンの機能調節とその意義 蛋白質研究所セミナー「蛋白質修飾：新たな癌の診断・治療標的, 大阪; 2009年9月17-18日
75. 顧 建国 Potential of N-glycan in cell adhesion and migration: As either a positive or negative regulator 日奥国際交流シンポジウム, 湘南国際村センター ; 2009年9月21-22日
76. 近藤 玄 : アンギオテンシン変換(ACE)の新機能 : GPI アンカー型蛋白質遊離と受精への関与、関西実験動物研究会第86回研究会「受精機構の神秘を解く」、大阪、2005
77. 近藤 玄 : GPI アンカー型タンパク質遊離酵素としての ACE、大阪大学蛋白質研究所セミナー「Membrane-proximal proteolysis:膜近傍におけるプロテオリシス研究の最先端」、大阪大学、2006、吹田市。
78. Kondoh, G: Angiotensin-converting enzyme is a GPI-anchored protein releasing factor crucial for fertilization. The Gordon Research Conference on Angiotensin. Aussois, France (2006)

79. 菅原一幸 甲南大学学術フロンティア第2回会合 「グリコサミノグリカン糖鎖を利用した疾病の診断法の開発と創薬を目指して」 神戸 2005.5.10.
80. 菅原一幸 (第13回PGフォーラム. 「糖鎖創薬を志向したグリコサミノグリカン機能発現メカニズムの解明」 東京 2006.2.18
81. 菅原一幸 (北海道大学大学院生命科学院・先端生命科学研究センターキックオフシンポジウム 「プロテオグリカンシグナリングの解析と医療応用を目指して」 札幌 2006.3.17
82. 菅原一幸 (月刊「がんを治す完全ガイド」 創刊2周年記念講演 (フォーラム) 「生命の第3の鎖「糖鎖」-糖鎖と「細菌・ウイルス感染」と「がん」」 東京 2006.3.21
83. 菅原一幸 2nd Glycobiology Workshop The Netherlands-Japan "Novel Functions of Chondroitin Sulfate: Neurite Outgrowth Promotion and Growth Factor Binding" Utrecht 2005.4.19
84. 菅原一幸 (「創薬シーズとしてのシグナル分子グリコサミノグリカン糖鎖の探索: コンドロイチン硫酸デルマトラン硫酸混成鎖による神経突起伸長の分子メカニズムの解析」 第41回高分子学会北海道支部研究発表会 札幌 2007.2.6
85. 菅原一幸 5<sup>th</sup> International Symposium on Glycosyltransferases (GlycoT 2006) 「Chondroitin sulfate/dermatan sulfate hybrid chains in the development of cerebellum: spatiotemporal regulation of the expression of critical disulfated disaccharide by specific sulfotransferases」 つくば 2006. 6. 27
86. 菅原一幸 Extracellular Glycomatrix in Health and Disease 「Functions of chondroitin sulfate/dermatan sulfate in the brain development: Critical roles of E and/or iE disaccharide units recognized by a specific antibody」 淡路島 2006. 6. 15
87. Sugahara, K., Glycobiology of proteoglycan signaling in brain development. FEBS advanced lecture course Patras, Greece. 2007.5.23
88. Purushothaman, 福田純子, 水本秀二, G.B. ten Dam, T. H. van Kuppevelt, 北川裕之, 三上雅久, 菅原一幸, "Functions of chondroitin sulfate/dermatan sulfate in the brain development: Critical roles of "E" and/or "iE" disaccharide units recognized by a single chain antibody GD3G7." Glycobiology and Sphingobiology 2007 (GS2007) -Hakomori Commemorative Forum-, 徳島 2007.2.28
89. Kazuyuki Sugahara, "Glycosaminoglycan Research for 30 Years: Structure, Biosynthesis, and Functions", 5<sup>th</sup> International Conference on Proteoglycans, Rio de Janeiro, Brazil. 2007.9.16,
90. Kazuyuki Sugahara, "Glycobiology of Proteoglycan Signaling in Brain Development", Pierre Fabre Meeting "Proteoglycans and Glycosaminoglycans as Therapeutic Targets and Tools", Sorèze, France. 2007.10. 3
91. T. Suzuki Cytosolic Processing of N-glycans: more important than you think? 第77回生化学会大会、横浜 2004年10月15日
92. T. Suzuki Cytosolic free oligosaccharides: formation and cytosolic processing. US/Japan Glyco 2004 (Joint meeting of the society for glycobiology and the Japanese society of carbohydrate research) at Honolulu, 2004年11月18日
93. T. Suzuki Cytoplasmic PNGase: structure and function. Department Seminar at University of Bologna (Bologna, Italy) 2005年2月16日

94. T. Suzuki Cytosolic N-linked glycans: how they are formed and how they are degraded. Institute Seminar at Swiss Federal Institute of Technology Zurich (Zurich, Switzerland) 2005年2月21日
95. K. Tanabe, I. Hara, N. Taniguchi, and T. Suzuki Biological function of PNGase in budding yeast, *Saccharomyces cerevisiae* 2<sup>nd</sup> Workshop the Netherlands-Japan on Recent Advances in Glycobiology at Utrecht (The Netherlands) 2005年4月18日
96. T. Suzuki ERAD における遊離糖鎖の生成、代謝機構 文部科学省科学研究費補助金特定領域研究 糖鎖によるタンパク質と分子複合体の機能調節 第3回夏期シンポジウム (岐阜) 2005年8月8日
97. T. Suzuki The cytoplasmic free N-linked oligosaccharides: formation and degradation. The European-Japan Glycomics Workshop at Florence (Italy) 2005年9月4日
98. T. Suzuki 細胞質 PNGase の構造と機能の研究 第78回日本生化学会大会 (神戸) (奨励賞受賞講演) 2005年10月19日
99. K. Tanabe, I. Hara, N. Taniguchi, and T. Suzuki Functional involvement of cytoplasmic PNGase in ERAD process. PACIFICHEM2005 (The international chemical congress of pacific basin societies) at Honolulu (USA) 2005年12月16日
100. T. Suzuki 糖鎖脱離の生物学: PNGase の ERAD における機能と細胞質における糖鎖代謝 第47回日本生化学会中国・四国支部例会 (松江) 2006年5月12日
101. T. Suzuki Degradation of free oligosaccharides in the cytosol: non-lysosomal catabolic pathways for N-glycans. 20<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOBMB Congress at Kyoto (Japan), June 19<sup>th</sup>, 2006
102. T. Suzuki and H Rao Deglycosylation of Newly Synthesized Glycoproteins by Cytoplasmic Peptide:N-glycanase (PNGase) 4<sup>th</sup> NIBB-EMBL Symposium at Okazaki (Japan), December 5<sup>th</sup>, 2006
103. T. Suzuki 小胞体関連分解と細胞質ペプチド:N-グリカナーゼ(PNGase) 香川大学農学部 (高松) 2007年1月12日
104. T. Suzuki 細胞質ペプチド:N-グリカナーゼと遊離 N 型糖鎖の非リソソーム代謝機構-これまでの研究を振り返って 基礎生物学研究所 学生セミナー (岡崎) 2007年11月21日
105. T. Suzuki, M. Della Mea, D. Serafini-Fracassini, and N. Taniguchi The cytoplasmic peptide:N-glycanase: a deglycosylating enzyme with a transglutaminase domain. 第80回生化学会/第30回日本分子生物学会合同年会 (横浜) 2007年12月12日
106. T. Suzuki 細胞質の PNGase と遊離 N 型糖鎖の非リソソーム代謝機構 第32回「ケミカルバイオロジー研究」勉強会・理研セミナー (和光) 2007年12月19日
107. T. Suzuki 細胞質 PNGase と細胞質 N 型糖鎖の代謝機構 第28回日本糖質学会年会 (奨励賞受賞講演) (つくば) 2008年8月18日
108. T. Suzuki 細胞質 PNGase と、細胞質 N 型糖鎖の代謝機構 第1回理研ケミカルバイオロジー研究領域国際シンポジウム (熱海) 2008年9月25日
109. T. Suzuki The Cytoplasmic Peptide:N-glycanase (PNGase) and catabolic pathway for free N-glycans

- in the cytosol. Departmental Seminar at Shenyang Pharmaceutical University (Shenyang, China) 2008年11月4日
110. T. Suzuki Non lysosomal catabolic pathway for N-glycans. 2008 SJTU-RIKEN Workshop "Glycomics; Biological and Medical Application" (Shanghai, China) 2008年11月7日
  111. Hosomi, K. Tanabe, T. Suzuki The cytoplasmic PNGase-dependent ERAD pathway in *Saccharomyces cerevisiae*, Annual Conference of the Society for Glycobiology at Fort Worth, TX, November 15, 2008
  112. T. Suzuki 遊離N型糖鎖の代謝機構 第6回日本糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム(東京) 2008年12月3日
  113. T. Suzuki Non-lysosomal degradation pathway for free N-linked oligosaccharides. International Symposium on Systems Glycobiology -A Bridge between Chemical Biology and Functional Glycomics- at Tokyo, 2008年12月5日
  114. T. Suzuki The Cytoplasmic Peptide:N-glycanase (PNGase) and catabolic pathway for free N-glycans. Symposium on "Protein Modification and Disease" at Yonsei University, Seoul (South Korea) 2008年12月10日
  115. T. Suzuki N型糖鎖の非リソソーム代謝 第81回生化学会/第31回日本分子生物学会合同年会(神戸) 2008年12月12日
  116. T. Suzuki 新生タンパク質の品質管理系における糖鎖代謝 第153農芸化学特別セミナー 岡山大学(岡山)、2009年1月23日
  117. T. Suzuki Non-lysosomal catabolic pathway for N-glycans: recent topics. University of Strasbourg/JSPS joint seminar at University of Strasbourg (Strasbourg, France) 2009年6月5日
  118. T. Suzuki Non-lysosomal catabolic pathway for N-glycans in mammalian cells. Department Seminar at University of Haute-Alsace (Mulhouse, France) 2009年6月19日
  119. T. Suzuki N型遊離糖鎖:構造と分解機構 日本ヒトプロテオーム機構(JHUPO)第7回大会(東京) 2009年7月27日
  120. T. Suzuki Free N-glycans; formation and degradation. Austria/Japan Seminar on Comparative and Developmental Glycobiology at Hayama, 2009年9月21日
  121. Tomohiko Taguchi A specific detection of GlcNAc1-6Man1- branches in N-linked glycoproteins based on the specificity of N-acetylglucosaminyltransferase VI "Frontiers in Glycomics : Bioinformatics and Biomarkers in Disease" (アメリカ, メリーランド, 2006年9月)
  122. Ryo Misaki, Naoyuki Taniguchi and Tomohiko Taguchi : Recycling endosomes are indispensable during retrograde transport of cholera toxin from the plasma membrane to the Golgi complex. 第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会合同大会、パシフィコ横浜、2007年12月14日
  123. 田口 良、「脂質メタボロミクス(リピドミクス)における種々の質量分析手法の適用」第15回クロマトグラフィー科学会議、東京 2004.11.11
  124. 田口 良、リピドミクスにおける効率的脂質同定のための質量分析法と検索システム、日本薬学会第125年会、東京 2005.3.31

125. 田口 良 脂質メタボローム(LIPIDOMICS)の為の質量分析による網羅的、特異的脂質解析法,第47回日本脂質生化学会, 金沢市, 2005.6.3
126. 田口 良, 脂質メタボローム解析システムの構築とその適用、バイオウィーク in Sapporo 2005(シンポジウム)、 札幌、 2005.7.20
127. 田口 良 脂質メタボロミクス (リピドミクス) のための質量分析と解析システム,第18バイオメディカル分析科学シンポジウム、 静岡 2005.8.6
128. 田口 良, LC-MS によるメタボローム解析-脂質メタボロミクスを中心に、Tokyo Conference 2005 シンポジウム、 千葉、2005.8.31
129. 田口 良, メタボローム解析の展望と脂質メタボロミクスの現状、ゲノム創薬フォーラムキータクノロジー2005、 2005.9.12, 東京
130. 田口 良: 質量分析による脂質メタボローム解析とその適用、日本農芸化学会年会セミナー、東京、2007/3/26
131. 田口 良: グリコシルファチジルイノシトールアンカー蛋白質の脂質リモデリングと細胞膜局在化の機構、日本ヒトプロテオーム機構(JHUPO)第5回大会、横浜、2007.7.30
132. 田口 良: 脂質メタボロミクスとその糖脂質解析への適用、第27回日本糖質学会年会セミナー、博多、2007/8/3
133. 田口 良: 脂質メタボロームによる酸化ストレス、炎症時における硬化脂質の包括的解析、レドックス生命科学第170委員会第18回研究会、蔵王、2007/8/9-10
134. 田口 良: 脂質メタボロミクス解析の基盤技術と戦略、第2回メタボロームシンポジウム、東京、2007/11/5
135. 田口 良: メタボロームから創薬へ メタボロームから創薬へ、ゲノム創薬フォーラム第10回記念シンポジウム、東京、2007/11/7
136. 田口 良: 脂質メタボローム解析の脂質生理機能及び関連病態解析への適用、京都エキスパートミーティング、 京都、 2008/1/21
137. 田口 良: 脂質メタボロミクスによる肥満、炎症の包括的解析、東北生活習慣病フォーラム、仙台、2008/1/29
138. 田口 良: 脂質メタボロームと肥満・炎症マーカー、 神奈川科学アカデミーセミナー、川崎、 2008/3/12
139. 田口 良: 脂質メタボロミクスのための基盤技術と戦略、日本農芸化学会年会シンポジウム、 名古屋、2008/3/30
140. 田口 良: 酸化ストレス、炎症とシツメタボローム、第56回日本質量分析総合討論会シンポジウム、つくば、2008/5/15
141. 田口 良, 中西広樹, 池田和貴, 炎症性疾患における酸化脂質の包括的解析, 第50回日本脂質生化学会, 徳島市(徳島県郷土文化会館), 6/6/2008

142. 田口 良, 脂質代謝異常症とメタボロミクス, 質量分析による組織の脂質局在解析, 第 33 回日本医用マススペクトル学会年会, 東京都 (東京大学医学部鉄門記念講堂), 9/26/2008
143. 田口 良, リピドミクスによる個別脂質分子種の局在と機能の解析, 第 3 回メタボロームシンポジウム, 鶴岡市 (慶應義塾大学先端生命科学研究所), 10/31/2008
144. Eiji Miyoshi, Sunnybrook Research Institute Molecular and Cellular Biology Research Seminar Series; Fucosylation is a promising target for cancer diagnosis and therapy, トロント H20. 11. 19
145. Miyoshi E. Fucosylated haptoglobin is a promising marker for pancreatic cancer: clinical applications and a possible mechanism of fucosylation. The 2<sup>nd</sup> Seminar on Functional Glycomics for Young Investigators HGPI, Clinical and Translational Research on Cancer : Glycomics Applications, Ise-Shima, March 24-27, 2009
146. 三善英知 蛋白質翻訳後修飾 「糖鎖を標的にしたバイオマーカーの開発」 蛋白質研究所セミナー 大阪 平成 20 年 1 月 10-11 日
147. 三善英知 糖鎖機能の解明から新しい診断法、治療法の開発 2008 年バイオ・高分子研究会 大阪 平成 20 年 9 月 27 日
148. 三善英知, 中の三弥子, 谷口直之, 成定 愛, 河本早百合, 森脇健太, 中川 勉, 松本 仁, 野田勝久 ハプトグロビンの部位特異的糖鎖解析による新規腫瘍マーカーの開発と応用, 日本ヒトプロテオーム機構第 6 回大会 大阪 平成 20 年 7 月 29-30 日
149. 三善英知, 森脇健太, フコシル化の制御と癌化におけるその生物学的意義, 第 31 回日本分子生物学会, 第 61 回日本生化学会, 合同大会シンポジウム 神戸 平成 20 年 12 月 9-12 日
150. 三善英知 癌とフコシル化 : 診断マーカーから治療の標的へ (日本ヒトプロテオーム機構第 7 回大会シンポジウム) 東京 平成 21 年 7 月 27-28 日
151. 三善英知, 高橋 剛, 森脇健太 膜受容体の糖鎖異常とがん化に関する研究 第 29 回 日本糖質学会年会シンポジウム) 岐阜 平成 21 年 9 月 9 日~11 日
152. 三善英知 疾患関連糖鎖マーカーの開発から糖鎖治療へ 大阪大学蛋白質研究所セミナー 「蛋白質修飾 : 新たな癌の診断、治療の標的」 大阪 平成 9 月 17-18 日
153. Y. Wada "Hydrophilic affinity isolation and MALDI MS of glycopeptides for elucidation of site-specific glycan structures of glycoprotein" The HUPO 3rd Annual World Congress 北京 招待講演 2004.10.27
154. Y. Wada "To open the era of molecular mass diagnostics" International Symposium on Stereodynamics of Chemical Reactions 2004 大阪 特別セッション招待講演 2004.10.30
155. 和田芳直, Congenital Disorders of Glycosylation (CDG)の分子診断と質量分析. 第 17 回大阪小児先進医療研究会, 大阪 (阪大銀杏会館) 2006.4.18
156. Wada, Y. Mass spectrometry in the detection and diagnosis of CDG (Congenital Disorders of Glycosylation). 18th International Mass Spectrometry Conference, : Prague, Czech. Keynote lecture 2006.8.28.
157. 和田芳直, 田尻道子. O-グリコプロテオームの解析戦略. 第 31 回日本医用マススペクトル学会年会. : 名古屋. シンポジウム 2006.9.28

158. 和田芳直. 質量分析法のタンパク質等生体高分子解析への先駆的導入とその医学応用. 第 31 回日本医用マスマススペクトル学会年会. :名古屋. 受賞講演 2006.9.29
159. Wada Y. MS of glycopeptides for glycoproteomics. 台湾質量分析学会 : 台南 plenary lecture 2007、2007.6.30
160. Wada Y. "Glyco-biomedical mass spectrometry" The 9th Asian Conference on Analytical Sciences : 韓国 済州、Keynote Lecture 2007.11.5
161. 和田芳直. 糖鎖とリウマチ病. 第 19 回中之島リウマチセミナー : 大阪 2007.12.8
162. 和田芳直. バイオがイオン反応研究に期待するもの. 第 56 回質量分析総合討論会 2008、: つくば シンポジウム 2008.5.16
163. 和田芳直. O-グリコプロテオームと電子移動解離MS. 日本ヒトプロテオーム機構第 6 回大会 : 吹田 シンポジウム 2008.7.29
164. Wada Y. Getting a real picture of molecules for the diagnosis by MS. 2008 韓国質量分析学会 2008、済州、韓国 plenary lecture 2008.8.26
165. 和田芳直. 「糖鎖合成異常症 CDG から O グリコプロテオームへ : 質量分析からの挑戦」文部科学省私立大学学術高度化推進事業平成 20 年度東北薬科大学分子生体膜研究所学術フロンティアシンポジウム「病態と糖鎖」、東北薬科大学、仙台 2008.11.7
166. Wada Y. Clinical glycoproteomics: from CDG to O-glycoproteomics. 日台科学技術セミナー・シンポジウム (タンパク質翻訳後修飾)、台北 2008.12.3
167. Wada Y. " Soft ionization and dissociation required for glycoproteomic studies" ANZSMS2009 : シドニー 招待講演 2009.1.28
168. 和田芳直. 「糖鎖合成異常症」第 12 回広島先天代謝異常研究会、広島グランドインテリジェントホテル、広島 2009.2.13

② 口頭発表 (国内会議 136 件、国際会議 31 件)  
発表者(所属)、タイトル、学会名、場所、月日

1. 芦田 久、ホン ヨンジン、杉本 央、村上良子、前田裕輔、木下タロウ、ほ乳類 PIG-X と出芽酵母 PBN1p は、小胞体に局在する GPI マンノース転移酵素 I の調節的サブユニットである, 第 77 回日本生化学会大会 横浜市 2004 年 10 月 13 日~16 日
2. 田嶋優子、芦田 久、村田千恵、田口良、木下タロウ、前田裕輔、PGAP2 欠損細胞における GPI アンカー型蛋白質の分泌メカニズムの解析, 第 77 回日本生化学会大会 横浜市 2004 年 10 月 13 日~16 日
3. Nobue Shishioh, Yeongjin Hong, Yusuke Maeda and Taroh Kinoshita, hGPI7 Regulates the Generation of GPI-Anchors by Competing for OIG-F with PIG-O, US/JAPAN Glyco 2004 Honolulu Hawaii USA November 17-20, 2004
4. 森田康裕、永宗喜三郎、木下タロウ プロサイクリック型 Trypanosoma brucei における GPI アンカー型表面タンパク質の欠乏とその細胞増殖に与える影響 第 74 回日本寄生虫学会大会 米子市 2005 年 4 月 8 日~9 日



5. Yeonchul Hong, 永宗喜三郎, 森田康裕, 前田裕輔, 木下タロウ 血流型 *Trypanosoma brucei* における GPI inositol deacylase の解析 第74回日本寄生虫学会大会 米子市 2005年4月8日~9日
6. 芦田 久, 前田裕輔, 木下タロウ ドリコールリン酸マンノース合成酵素複合体の安定化機構 (Mechanism for Stabilization of Dolichol-Phosphate-Mannose synthase Complex) 第25回日本糖質学会 大津市, 2005年7月20日~22日
7. 井上徳光・泉井朋久・遠藤雄一・村上良子・西村純一・Charles J. Parker・木下タロウ, GPI アンカー欠損細胞に染色体異常を伴う新規発作性夜間血色素尿症(PNH)症例の解析 第42回補体シンポジウム 名古屋市 2005年8月19~20日
8. 村上良子・前田裕輔・洪 榮振・木下タロウ, GPI アンカー生合成の最初のステップに係わる7番目のコンポーネント PIG-Y の解析 第42回補体シンポジウム 名古屋市 2005年8月19~20日
9. 村上良子, シンパニューフィニョ ワンポン, ホン ヨンジン, 前田裕輔, 木下タロウ, GPI 生合成の最初のステップに関わる遺伝子 PIG-Y の解析 第78回日本生化学会大会, 2005年10月19~22日
10. 田嶋優子, 田口 良, 芦田 久, 木下タロウ, 前田裕輔, 哺乳細胞における GPI-アンカー型蛋白質の脂質リモデリング機構の解析 第78回日本生化学会大会, 神戸市 2005年10月19~22日
11. Yeonchul Hong, 永宗喜三郎, 森田康裕, 前田裕輔, 木下タロウ, *Trypanosoma brucei* における GPI inositol deacylase の同定と解析 第78回日本生化学会大会, 神戸市 2005年10月19~22日
12. 仲谷文貴, 永宗喜三郎, 前田裕輔, 木下タロウ, トリパノソーマ・ブルセイのトランスシアリダーゼホモログ第78回日本生化学会大会, 2005年10月19~22日, 神戸市 2005年10月19日~22日
13. 植田康敬, 前田裕輔, 山口亮, 伊川正人, 岡部勝, 木下タロウ GPI イノシトール脱アシル酵素欠損マウスは雄性不妊を示す。 第43回補体シンポジウム 福岡 2006年8月18~19日
14. 木下タロウ, 村上良子, 前田裕輔, Antonio Almeida, Anastasios Karadimitris, 遺伝性 GPI アンカー欠損症 第43回補体シンポジウム 福岡 2006年8月18~19日
15. 村上良子, Antonio Almeida, Anastasios Karadimitris, 前田裕輔, 木下タロウ 遺伝性 GPI アンカー欠損症の2家系, 第68回日本血液学会総会・第48回日本臨床血液学会合同総会 2006年10月6-8日 福岡
16. Yoshiko Murakami, Antonio Almeida, Mark Layton, Peter Hillmen, Yusuke Maeda, Anastasios Karadimitris, Taroh Kinoshita. A point mutation in an Sp1 binding motif in the promoter of the mannosyltransferase-encoding PIG-M gene causes inherited glycosylphosphatidylinositol deficiency. XXII International Complement Workshop Beijing China October 22-27
17. Yusuke Maeda, Yuko Tashima, Toshiaki Houjou, Morihisa Fujita, Takehiko Yoko-o, Yoshifumi Jigami, Ryo Taguchi and Taroh Kinoshita. Fatty acid remodeling of GPI-anchored proteins International CVRDC-BIKEN Joint Symposium, "Infection, Immunity & Vaccine" Gwangju, Korea 2006.

11. 9 – 11. 10

18. Yusuke Maeda and Taroh Kinoshita, Identification of a Golgi-resident molecule involved in glycosylation and transport of proteins Japan-Switzerland 2nd Joint Seminar “Synthesis and trafficking of glycolipids and glycolipid-anchored proteins” Tsukuba Jan 30 to Feb 2, 2007
19. Taroh Kinoshita, Overview of Research Institute for Microbial Diseases of Osaka University & roles of glycosylphosphatidylinositols in host and parasites International CVRDC-BIKEN Joint Symposium, “Infection, Immunity & Vaccine” Gwangju, Korea 2006. 11. 9 – 11. 10
20. Y. S. Morita, B. N.I. McMillan, H. Billman-Jacobe, Y. Maeda, T. Kinoshita, Subcellular localization of Glycosyltransferases involved in glycolipid biosynthesis in mycobacteria, XIX International Symposium on Glycoconjugates, (GLYCO 19), Cairns, Australia July 15-20, 2007
21. 村上良子、前田裕輔、Antonio Almeida, Anasrasios Karadimitris, 木下タロウ, 遺伝性 GPI アンカー欠損症と治療について, 第 44 回補体シンポジウム 平塚市 2007.8. 24-25、
22. Y. S. Morita, T. Fukuda, H. Billman-Jacobe, M. J. McConville, Y. Maeda and T. Kinoshita, Subcellular Compartmentalization of Membrane-Bound Enzymes Involved in the Synthesis of Phosphatidylinositol Mannosides in Mycobacterium Smegmatis, 7<sup>th</sup> International Conference on the Pathogenesis of Mycobacterial Infections. Stockholm, Sweden 2008年6月26-29日
23. 村上良子、太田里永子、井上徳光、木下タロウ, HMGA2 の発現について 3 学会合同集会「自然免疫の最前線」Frontier of Innate Immunity (第 73 回日本インターフェロンサイトカイン学会学術集・第 19 回日本生体防御学会学術総会・第 45 回補体シンポジウム 3 学会合同集会) 札幌 2008 年 7 月 10 日～12 日
24. 藤田盛久、前田裕輔、羅 紋眞、田口 良、木下タロウ, GPI アンカー型タンパク質の糖鎖リモデリングと輸送に関与する PGAP5 の同定, 第 31 回日本分子生物学会年会、第 81 回日本生化学会合同大会 神戸 9-12、Dec. 2008、
25. 福田剛士、前田裕輔、木下タロウ、森田康裕, マイコバクテリアの GPI 型糖脂質生成に関わる酵素の細胞内局在, 第 31 回日本分子生物学会年会、第 81 回日本生化学会合同大会 神戸 9-12、Dec. 2008
26. Morihisa Fujita, Yusuke Maeda, Moonjin Ra, Ryo Taguchi, and Taroh Kinoshita, Molecular machinery for transport of GPI-anchored proteins from the ER to the Golgi The Joint Symposium of the 4th International Symposium of Institutes Network and Osaka University Global COE (Frontier Biomedical Science Underlying Organelle Network Biology) Symposium 吹田市 2009-1-31～2-1
27. 藤田 盛久, 前田 裕輔, 羅 紋眞, 山口 芳樹, 田口 良, 木下 タロウ, GPI アンカー型タンパク質の細胞内輸送を制御する糖鎖リモデリング、第 61 回日本細胞生物学会大会 名古屋市 ワークショップ 2009.6.2- 4
28. Hatakeyama S, Ohyama C. Functional correlation of trophinin expression in testicular germ cell tumor. 100<sup>th</sup> Annual meeting of American Urological Association., San Antonio, TX. 5/22/2005
29. 石村大史, 大山 力. P S A の糖鎖構造解析. 第 16 回 前立腺がんワークショップ, 東京, H 17. 9. 9.
30. 喜屋武 淳、大山 力、他:糖転移酵素 C2GnT および GnT-V の精巣腫瘍における発現の意義。第 94 回日本泌尿器科学会総会 福岡 平成 18 年 4 月、

31. Mori K, Kamimura N, Yamato T, Koie T, Yoneyama T, Iwabuchi I, Hagsawa Shigeru, Hatakeyama Shingo, Ishimura Hirofumi, Imai A, Okamoto A, Yokomizo H, Naka T, Yano I, Ohyama C: Anti-tumoe effect nano-particulated Bacillus Calmette-Guerin (BCG) complex on bladder cancer cell line. 102th Annual meeting of American Urological Association, Anaheim, CA. 2007/5/19-24
32. Inoue T, Ohyama C, Hatakeyama S, Tsuchiya N, Habuchi T: Natural Killer T Cell Ligand alpha-Galactosylceramide Inhibits Tumor Growth of Murine Renal Cell Carcinoma. 102th Annual meeting of American Urological Association. Anaheim, CA. 2007/5/19-24,
33. 盛 和行、ラマンナイム、岡本亜希子、今井 篤、石村大史、萩沢 茂、岩渕郁哉、米山高弘、古家琢也、大和 隆、神村典孝、大山 力: Mn SOD投与によるラット腎阻血再灌流組織障害の軽減。第23回腎移植・血管外科研究会、岩手県志戸平 平成19年6月29-30日
34. 岩渕郁哉、岡本亜希子、今井 篤、萩沢 茂、米山高弘、古家琢也、盛 和行、神村典孝、大山 力: 当科における腎盂・尿管癌の治療成績。第72回日本泌尿器科学会東部総会、札幌市 平成19年8月30-31日
35. 今井 篤、岡本亜希子、萩沢 茂、岩渕郁哉、米山高弘、橋本安弘、盛 和行、古家琢也、大和 隆、神村典孝、大山 力: 住民健診における夜間頻尿のリスクファクターに関する検討。第72回日本泌尿器科学会東部総会、札幌市 平成19年8月30-31日
36. 竹内欽哉、杉原一廣、高田佳世子、花田麻衣子、畠山真吾、大山 力、金山尚裕: 着床における接着分子トロフィニン精子運動に果たす役割。第25回日本受精着床学会総会・学術講演会、仙台市 平成19年8月30-31日
37. 高田佳世子、杉原一廣、竹内欽哉、花田麻衣子、畠山真吾、大山 力、金山尚裕: ヒト精子鞭毛運動におけるトロフィニンの役割。第52回日本生殖医学総会、秋田市 H19.10.25-26
38. 橋本安弘、岡本亜希子、山本勇人、今井 篤、岩渕郁哉、米山高弘、古家琢也、神村典孝、盛和行、大山 力: 前立腺全摘術標本の腫瘍体積の検討。第238回日本泌尿器科学会東北地方会盛岡市 平成20年4月19日
39. 山本勇人、岡本亜希子、今井 篤、岩渕郁哉、米山高弘、橋本安弘、古家琢也、盛 和行、大山 力、二川原 健、須田俊宏、笹野公伸: 画像上副腎癌と酷似した Vascular cyst of adrenal gland の1例。第238回日本泌尿器科学会東北地方会 盛岡市 平成20年4月19日
40. 岩渕郁哉、山本勇人、岡本亜希子、今井 篤、米山高弘、盛 和行、古家琢也、神村典孝、大山 力: 腎盂・尿管癌術後の下部尿路再発に関する検討。第96回日本泌尿器科学会総会 横浜市 平成20年4月25-27日
41. Yoneyama T, Yamamoto H, Okamoto A, Imai A, Iwabuchi I, Hashimoto Y, Mori K, Koie T, Kamimura N, Ohyama C: Low-dose effects of Bacille Calmette-Guerin perfusion therapy for upper urinary tract urothelial carcinoma in situ. 103th Annual meeting of American Urological Association Orlando, FL. 2008/5/17-22,
42. Hatakeyama S, Kamimura N, Koie T, Mori K, Hashimoto Y, Iwabuchi I, Yoneyama T, Imai A, Okamoto A, Yamamoto H, Ohyama C, Fukuda N M.: Trophinin-binding peptide, GWRQ, promotes human sperm motility. 103th Annual meeting of American Urological Association, Orlando, FL. 2008/5/17-22

43. 神村典孝、百瀬昭志、古家琢也、橋本安弘、米山高弘、岩渕郁哉、今井 篤、岡本亜希子、山本勇人、盛 和行、大山 力：精巣腫瘍転移巣の viability 評価における PET/CT の有用性。第 73 回日本泌尿器科学会東部総会 東京 平成 20 年 9 月 18-19 日
44. 山本勇人、岡本亜希子、今井 篤、岩渕郁哉、米山高弘、橋本安弘、盛 和行、百瀬昭志、古家琢也、神村典孝、大山 力：cT2c/T3 前立腺癌に対する LHRH アゴニスト+エストラムスチンによるネオアジュバント療法の有用性。第 73 回日本泌尿器科学会東部総会 東京 平成 20 年 9 月 18-19 日
45. 橋本安弘、岡本亜希子、山本勇人、今井 篤、岩渕郁哉、米山高弘、古家琢也、盛 和行、百瀬昭志、神村典孝、大山 力：前立腺全摘症例における腫瘍体積の意義について。第 73 回日本泌尿器科学会東部総会 東京 平成 20 年 9 月 18-19 日
46. 百瀬昭志、梶原 哲、斎藤久夫、三国恒靖、舟生富寿、山本勇人、岡本亜希子、今井 篤、岩渕郁哉、古家琢也、神村典孝、大山 力、和田龍一：透析関連皮膚掻痒症患者における皮膚 Aquaporin-3 について。第 73 回日本泌尿器科学会東部総会 東京 平成 20 年 9 月 18-19 日
47. 百瀬昭志、梶原 哲、斎藤久夫、三国恒靖、舟生富寿、山本勇人、岡本亜希子、今井 篤、米山高弘、橋本安弘、盛 和行、神村典孝、大山 力：血液透析患者における血管石灰化と骨塩量との関係についての検討。第 73 回日本泌尿器科学会東部総会 東京 H20. 9. 18-19
48. 古家琢也、岡本亜希子、山本勇人、今井 篤、岩渕郁哉、橋本安弘、百瀬昭志、神村典孝、大山 力、成田 知、美濃真成：筋層浸潤膀胱癌に対するゲムシタピン+カルボプラチンによる術前化学療法の有効性。第 73 回日本泌尿器科学会東部総会 東京 平成 20 年 9 月 18-19 日
49. 村上礼一、中村典雄、藤田 雄、嶋谷祐子、熊坂隆一郎、奥村 謙、鳴海俊治、畠山真吾、米山高弘、古家琢也、大山 力：拒絶反応との鑑別に苦慮したBKV腎症の2例。第11回東北移植研究会 仙台市 平成 20 年 11 月 22 日
50. 顧 建国  $\alpha 5 \beta 1$  インテグリンに付加した N-結合型糖鎖の特異性とその機能糖質学会 岐阜県飛騨 2009 年 9 月 9-11 日
51. 伊左治知弥、顧 建国 インテグリン  $\alpha 5$  の機能糖鎖モジュールに関する研究 第 75 回日本生化学会東北支部、東北大学 2009 年 5 月 9 日
52. 福田友彦、顧 建国  $\alpha 1,6$  フコース転移酵素 (Fut8) 欠損マウスにおける統合失調症様行動 第 75 回日本生化学会東北支部 東北大学 2009 年 5 月 9 日
53. 苅谷慶喜、顧 建国 N-glycosylation of laminin-332 affects its functional activities 「International Clinical and Translational Research on Cancer: Glycomics Applications」伊勢志摩 2009. 3. 24-27
54. 佐藤裕也、顧建国 インテグリン  $\alpha 5$  の機能発現に重要な N-結合型糖鎖付加部位および GnT-III の特異的な修飾部位の同定「第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会の合同大会」神戸市 2008 年 12 月 9-12 日
55. 伊左治知弥、顧建国 インテグリン  $\alpha 5 \beta 1$  の N-結合型糖鎖の機能解析「第 28 回日本糖質学会」つくば市 2008 年 8 月 18-20 日
56. 福田友彦、顧建国 Fut8 欠損マウスにおける統合失調症様行動「第 28 回日本糖質学会」つくば市 2008 年 8 月 18-20 日

57. 苅谷慶喜、加藤里佳、福田友彦、顧建国 N-結合型糖鎖によるラミニン-332 (ラミニン-5) の機能制御 「第40回日本結合組織学会学術大会/第55回マトリックス研究会大会合同学術集会」、東京 2008年5月29-31日
58. 伊左治 知弥、佐藤裕也、三善英知、谷口 直之、顧建国、N-glycans of beta-propeller domain of  $\alpha 5$  integrin are essential for  $\alpha 5 \beta 1$  heterodimer formation and its biological functions、第26回日本糖質学会、2006年8月23-25日 仙台
59. 顧建国、Cell-cell Interaction-dependent Regulation of N-Acetylglucosaminyltransferase III and The Bisected N-Glycans In GE11 Epithelial Cells: Involvement of E-cadherin-mediated Cell Adhesion、Glyco2006、筑波、2006年6月25-28日
60. 近藤玄: アンギオテンシン変換酵素 (ACE) による GPI アンカー型蛋白質遊離と受精への関与. ワークショップ「受精の分子生物学」 第28回日本分子生物学会年会、福岡市、2005。
61. 近藤玄: 受精メカニズムの解明、京都大学再生医科学研究所学術講演会、京都大学、京都市、2005。
62. 近藤玄: GPI アンカー型タンパク質遊離因子としてのアンギオテンシン変換酵素、J o i n t F o r u m - I F M S (京大再生研)、I M E G (熊大発生研)、C D B (理研) 一、熊本大学、熊本市、2006。
63. 出口 央士、渡邊 仁美、吉田 佳世、森田 隆、山田 秀一、近藤玄 ペプチダーゼ欠損型アンギオテンシン変換酵素 (ACE) の機能解析。第53回日本実験動物学会、神戸市、2006。
64. Kondoh, G.: Angiotensin-converting enzyme in fertilization: involvement of GPI-anchored protein releasing and dipeptidase activities. Japan-Switzerland 2<sup>nd</sup> Joint Seminar on Synthesis and Trafficking of Glycolipids and Glycolipid-anchored Proteins. Tsukuba, Japan 2007. 2. 2
65. 近藤玄、出口 央士、谷 妙子、渡邊 仁美、山田 秀一 ジペプチダーゼ欠損型アンギオテンシン変換酵素 (ACE) を用いた精子機能解析。第30回日本分子生物学会・第80日本生化学会合同大会、横浜市、2007。
66. 渡邊 仁美、谷 妙子、村上 惇、折橋 郁、近藤玄 マウス精子における GPI アンカー型タンパク質動態を追跡するためのレポーターマウスの作出と解析。第56回日本実験動物学会、さいたま市、2009。
67. 菅原一幸, X.Bao, C.Nandini, 三上雅久, 山田修平, 秋山-南部文子, 太田光熙, 伊藤信行, A. Faissner, 村松喬, コンドロイチン硫酸とデルマトン硫酸の増殖因子結合活性と神経突起伸長促進活性” 日本薬学会第125年会 (シンポジウム) 東京 2005. 3. 29.
68. 三上雅久, 満永知恵, 水本秀二, 菅原一幸, 第25回日本糖質学会年会「マウス脳におけるコンドロイチン硫酸/デルマトン硫酸ハイブリッド糖鎖の発現」 大津 2005.7.22.
69. 泉川友美, 北川裕之, 江草徳幸, 谷口史恭, 菅原一幸, 他第78回日本生化学会大会 "Heparan Sulfate Polymerization in Drosophila" 神戸 2005.10.21
70. Kittiwat Kalayanamitra, S. S. Deepa, Peraphan Pothacharoen, Prachya Kongtawelert, 福井茂行、菅原

- 一幸, 第 78 回日本生化学会大会 "Structural Determination of a Sulfated Octasaccharide Isolated from Shark Cartilage Chondroitin Sulfate: An Epitope for a Novel Monoclonal Antibody WF6, Which Detects an Ovarian Cancer Marker in Serum" 神戸 2005.10.21
71. 宇山徹, 北川裕之, Bergefall, K., Trybala, E., Johansson, M., Bergstrom, T., Tufaro F., 菅原一幸, 第 28 回日本分子生物学会年会 "Chondroitin 4-O-sulfotransferase-1 Regulates the Chain Length of Chondroitin Sulfate and Expression of the E Disaccharide Unit: Implication for Herpes Simplex Virus Infectivity" 福岡 2005.12.8
  72. 泉川友美, 北川裕之, 谷口史恭, 江草徳幸, 菅原一幸, 他 第 28 回日本分子生物学会年会 「rib-1 は *C. elegans* のヘパラン硫酸の生合成に必須である」 福岡 2005.12.8
  73. 野村一也, 水口惣平, 野村和子, 泉川友美, 北川裕之, 菅原一幸, 他 第 28 回日本分子生物学会年会 「遺伝子破壊による糖鎖機能の戦略的解明—線虫 *C. elegans* を用いた解析の中間報告」 福岡 2005.12.8
  74. 水本秀二, 小林直樹, 三上雅久, 伊藤信行, 菅原一幸, 他 第 28 回日本分子生物学会年会 「コンドロイチン 4-O-硫酸基転移酵素-1 のゼブラフィッシュにおける機能解析」 福岡 2005.12.10
  75. 塩澤章子, Sun-Young Park, 湯浅和樹, 北川裕之, 菅原一幸 日本薬学会第 126 年会 「ヘパラン硫酸重合化における EXTL3 の関与」 仙台 2006. 3.
  76. 竹中裕美, 三上雅久, 濱崎裕美, 福永純伸, 水本秀二, 菅原一幸 日本薬学会第 126 年会 「軟骨分化モデル細胞の分化過程におけるコンドロイチン硫酸の硫酸化を担う硫酸基転移酵素の発現変動」 仙台 2006. 3.
  77. 菅原一幸 XVIII International Symposium on Glycoconjugates "Neuritogenic and Growth Factor Binding Activities of the Brain Chondroitin Sulfate/Dermatan Sulfate Hybrid Chains" Florence 2005.9.5
  78. 菅原一幸 Proteoglycans in Signaling. "Roles of the EXT Family Members in the Polymerization of Heparan Sulfate in *Drosophila*" Stockholm 2005.9.8
  79. 菅原一幸, Anurag Purushotaman, 福田 純子, 満永 知恵, 水本 秀二, Fuchuan Li, Duriya Fongmoon, Basappa, Ajaya Kumar Shetty, 三上 雅久, 山田 修平, 北川 裕之, 村松 喬, Gerdy B. ten Dam, Toon H. van Kuppevelt 「脳の発達におけるコンドロイチン/デルマタン硫酸ハイブリッド鎖の機能」 第 26 回日本糖質学会年会 仙台 2006.8.24
  80. 菅原一幸 JST 新技術説明会 「治療方法・治療薬」 「機能性硫酸化グリコサミノグリカン糖鎖とその抗体」 東京 2006.10.27
  81. 山田修平, 内藤聡美, 宇山徹, 北川裕之, Kicki Bergefall, Edward Trybala, Maria Johansson, Tomas Bergström, 菅原一幸 「コンドロイチン硫酸 E は単純ヘルペスウィルスの glycoprotein C に直接結合し, 抗ウイルス活性を発揮する」 第 4 3 回日本生化学会北海道支部例会 札幌 2006.11.3
  82. Duriya Fongmoon, Ajaya Kumar Shetty, Basappa, 山田修平, 菅原一幸 「Development of Analytical Method to Detect Rare 3-O-Sulfated Glucuronic Acid-containing Disaccharides in Various Chondroitin Sulfate Preparations」 第 4 3 回日本生化学会北海道支部例会 札幌 2006.11.3
  83. 水本秀二, 満永知恵, 福田純子, 三上雅久, 菅原一幸 「小脳の発達に關与するコンドロイチン

- 硫酸／デルマトン硫酸ハイブリッド糖鎖」 第 127 回日本薬学会北海道支部例会 札幌 2006.12.9
84. Fuchuan Li, Ajaya Kumar Shetty, 菅原一幸 Novel Chondroitin Sulfate/Dermatan Sulfate Hybrid Chains from Shark Liver, Which Exhibit Potent Neuritogenic Activities Mediated by HGF and Pleiotrophin 第 127 回日本薬学会北海道支部例会 札幌 2006.12.9
  85. 菅原一幸「硫酸化グリコサミノグリカン糖鎖の医療応用技術」北海道／札幌 IT&BIO ビジネス マッチング in 神戸 北海道大学研究シーズプレゼンテーション 神戸 2007.2.2
  86. 菅原一幸（「創薬シーズとしてのシグナル分子グリコサミノグリカン糖鎖の探索：コンドロイチン硫酸デルマトン硫酸混成鎖による神経突起伸長の分子メカニズムの解析」 第 41 回高分子学会北海道支部研究発表会 札幌 2007.2.6
  87. 李 福川、山田 修平、杉浦 眞喜子、菅原一幸「コンドロイチン硫酸 (CS) /デルマトン硫酸(DS)中のイズロン酸 (IdoA) とグルクロン酸 (GlcA) の <sup>1</sup>H NMR 解析による定量」日本薬学会第 127 年会 富山 2007.3.30
  88. 李 福川、Ajaya Shetty、菅原一幸「ブタ胎仔脳とサメ肝臓由来のコンドロイチン／デルマトン硫酸ハイブリッド鎖の神経突起伸長促進活性：プレイオトロフィンと HGF シグナル伝達経路の関与」日本薬学会第 127 年会 富山 2007.3.30
  89. Veronique Blanchard, Franck Chevalier, Anne Imberty, Bas R. Leeﬂang, Basappa, 菅原一幸, Johannes P. Kamerling 「Experimental correlation for understanding the recognition of chondroitin sulfate (CS) octasaccharides by anti-CS mAbs using immunological and conformational studies through NMR and molecular modeling 」日本薬学会第 127 年会 富山 2007.3.30
  90. Hiroki Nakagawa, Yoichiro Hama, Toshihisa Sumi, Su-Chen Li, Karol Maskos, Kittivan Kalayanamitra, 水本秀二、菅原一幸, Yu-The Li 「Occurrence of a non-sulfated chondroitin proteoglycan in the dried saliva of collocalia swiftlets (edible bird's nest). 日本薬学会第 127 年会 富山 2007.3.30
  91. Purushothaman, A., 福田純子、水本秀二、GB. ten Dam, T. H. van Kuppevelt、北川裕之、三上雅久、菅原一幸 「Functions of chondroitin sulfate/dermatan sulfate in the brain development: Critical roles of “E” and/or “iE” disaccharide units recognized by a single chain antibody GD3G7」 Glycobiology and Sphingobiology 2007 (GS2007) -Hakomori Commemorative Forum- 徳島 2007.2.28
  92. 中川浩毅、濱洋一郎、墨利久、Su-Chen Li, Karol Maskos, Kittivan Kalayanamitra, 水本秀二、菅原一幸, Yu-The Li, アナツバメ唾液腺(ツバメの巣)由来コンドロイチンプロテオグリカンの同定、第 44 回 日本生化学会北海道支部例会、札幌、2007.7.6
  93. Sarama Sathyaseelan Deepa, Kittivan Kalayanamitra, 伊藤友美, Prachya Kongtawelert, 福井成行, 山田修平, 三上雅久, 菅原一幸, 抗コンドロイチン硫酸 D (CS-D) 抗体 MO-225 が認識する CS-E 由来のオリゴ糖の構造解析、第 44 回 日本生化学会北海道支部例会、札幌、2007.7.6
  94. Blanchard V, Chevalier F, Imberty A, Leeﬂang BR, Basappa, Sugahara K, Kamerling、Conformational Studies on Five Chondroitin Sulfate Octasaccharides using NMR and Molecular Modeling、第 44 回 日本生化学会北海道支部例会、札幌、2007.7.6
  95. 菅原一幸, Sarama S. Deepa, Kittivan Kalayanamitra, Peraphan Pothacharoen, Prachya Kongtawelert, 伊藤由美、三上雅久、Basappa、山田修平、福井成行、Tim Hardingham、Veronique Blanchard、Franck Chevalier, Anne Imberty、Bas R. Leeﬂang、Johannes P. Kamerling、服部知秀、福島信弘、抗

コンドロイチン硫酸抗体のエピトープ構造、第27回日本糖質学会年会、福岡、2007.8.1

96. 李福川、山田修平、杉浦眞喜子、菅原一幸、コンドロイチン硫酸 (CS) /デルマタン硫酸 (DS) 中のグルクロン酸 (GlcA) とイズロン酸 (IdoA) の H NMR 解析による定量、BMB2007 (第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会 合同大会)、横浜、2007.12.12
97. 水口惣平、野村和子、出嶋克史、泉川友美、江草徳幸、谷口史恭、田村純一、中島紫、伊藤さつき、川崎ナナ、安藤恵子、三谷昌平、北川裕之、菅原一幸、野村一也、モデル生物 *C. elegans* を用いたヘパラン硫酸とコンドロイチンプロテオグリカンの生体内機能解析 BMB2007 (第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会 合同大会) 横浜 2007.12.12
98. Kazuyuki Sugahara, Fuchuan Li, Ajaya Shetty, Shuji Mizumoto, Anurag Purushothaman, Junko Fukuda, Chie Mitsunaga, Tadahisa Mikami, Hiroshi Kitagawa, Gerdy B. ten Dam, and Toin H. van Kuppevelt, Proteoglycan Signaling in Brain Development BMB2007 (第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会 合同大会) 横浜 2007.12.12
99. 迫田直樹、三上雅久、菅原一幸、多屋長治、北川裕之、コンドロイチン 6-O-硫酸基転移酵素-1 を過剰発現するトランスジェニックマウスの脳に発現するコンドロイチン硫酸の解析 BMB2007 (第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会 合同大会) 横浜 2007.12.12
100. Ajaya K Shetty, Duriya Fongmoon, Basappa, Shuhei Yamada, Makiko Sugiura, Prachya Kongtawelert and Kazuyuki Sugahara, Chondroitinase-Mediated Degradation of Rare 3-O-Sulfated Glucuronic Acid in Functional Oversulfated Chondroitin Sulfate Chains、BMB2007 (第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会 合同大会)、横浜、2007.12.12
101. 金岩知之、山田修平、水本秀二、Adriana M. Montaña、三谷昌平、菅原一幸、線虫 *Caenorhabditis elegans* における新規のコンドロイチン加水分解酵素の同定、第42回高分子学会北海道支部研究発表会、札幌、2008.1.29
102. 金岩知之、山田修平、水本秀二、Adriana M. Montaña、三谷昌平、菅原一幸、線虫 *Caenorhabditis elegans* における新規のコンドロイチン加水分解酵素の同定 第42回高分子学会北海道支部研究発表会 札幌 2008.1.29
103. 山田修平、金岩知之、水本秀二、Adriana M. Montaña、三谷昌平、菅原一幸、線虫 *Caenorhabditis elegans* における新規のコンドロイチン加水分解酵素の同定 日本薬学会第128年会 横浜 2008.3.28
104. Sugahara, K., Li, F., and Shetty, A.K., Neuritogenic Activity And Mechanism of BRAIN Chondroitin/Dermatan Sulfate Hybrid Chains. Benzon Symposium No. 54, "Glycosylation: Opportunities in Drug Development" Copenhagen 2007.6.14
105. 鈴木 匡、田邊 香、原 いずみ、船越 陽子、谷口 直之 細胞質遊離 N 型糖鎖の生成、代謝機構 第25回糖質学会年会 於大津 2005年7月24日
106. Tadashi Suzuki, Izumi Hara, Miyako Nakano, Kiichiro Totani, Ichiro Matsuo, Naoyuki Taniguchi, and Yukishige Ito Specific labeling of cytoplasmic PNGase by oligosaccharide-related compounds. 18th International Symposium on Glycoconjugate at Florence (Italy), September 9, 2005
107. 鈴木 匡 トランスグルタミナーゼドメインを持つ脱糖鎖酵素、PNGase 第1回 TGase 研究会&ポリアミン研究会 合同学術集会、於神戸 2005年10月23日



108. 鈴木 匡、原いずみ、中の三弥子、Gang Zhao、William J. Lennarz、Hermann Schindelin、谷口直之、戸谷希一郎、松尾一郎、伊藤幸成 細胞質 PNGase のキトビオース糖鎖誘導体への特異的結合：反応機構の解明に向けて 第 26 回糖質学会年会 於仙台 2006 年 8 月 24 日
109. 石塚 文、橋本有樹、木下充弘、掛樋一晃、船越陽子、鈴木 匡 ヒト胃癌細胞中の遊離糖鎖の構造解析 第 8 回関西グライコサイエンスフォーラム 於大阪 2007 年 5 月 12 日
110. Tadashi Suzuki, Izumi Hara, Yoko Funakoshi and Naoyuki Taniguchi Free N-glycans in the cytosol: formation and degradation. 19<sup>th</sup> International Symposium on Glycoconjugate at Cairns (Australia), July 17, 2007
111. Aya Ishizuka, Junichi Seino, Mitsuhiro Kinoshita, Yoko Funakoshi, Kazuaki Kakehi, Tadashi Suzuki. Free sialooligosaccharides as potential; physiological substrates for Neu2, a cytosolic sialidase. Sialoglyco conference 2008 at Moscow-St. Petersburg (Russia), July 25, 2008
112. 鈴木 匡、原いずみ、中の三弥子、茂田昌樹、中川孝俊、近藤昭宏、船越陽子、谷口直之 細胞質において遊離糖鎖の代謝に関わるマンノシダーゼ、Man2C1 第 27 回糖質学会年会 於福岡 2007 年 8 月 1 日
113. Tadashi Suzuki, and Kazuaki Kakehi. Cytosolic free oligosaccharides: formation and degradation. 24<sup>nd</sup> International Carbohydrate Symposium at Oslo (Norway), July 31, 2008
114. 船越陽子、Peter Gergen、William J. Lennarz、一宮智美、西原祥子、谷口直之、鈴木 匡 PNGase ホモログのショウジョウバエ発生における機能解析 第 28 回糖質学会年会 於つくば (2008 年 8 月 19 日)
115. 船越陽子、根岸由紀、Peter Gergen, William J. Lennarz, 谷口直之、鈴木 匡 ショウジョウバエの細胞質 PNGase ホモログの機能解析 第 1 回理研ケミカルバイオロジー研究領域国際シンポジウム 於熱海 (2008 年 9 月 25 日)
116. 平山弘人、鈴木 匡 出芽酵母の生成する中性遊離糖鎖の構造とその生成メカニズム 第 1 回理研ケミカルバイオロジー研究領域国際シンポジウム 於熱海 (2008 年 9 月 25 日)
117. 細見 昭、梶 裕之、田邊 香、鈴木 匡 糖ペプチド解析による新規の ERAD 基質糖タンパク質の探索と ERAD 機構の解析 第 1 回理研ケミカルバイオロジー研究領域国際シンポジウム 於熱海 (2008 年 9 月 25 日)
118. 芳賀淑美、伊藤幸成、鈴木 匡 蛍光ラベルした糖を利用した生体機能解明への試み 第 1 回理研ケミカルバイオロジー研究領域国際シンポジウム 於熱海 (2008 年 9 月 25 日)
119. 芳賀淑美、伊藤幸成、阪口雅郎、鈴木 匡 小胞体における遊離糖鎖の逆行輸送メカニズム解析への試み 第 81 回日本生化学会大会/第 31 回日本分子生物学会大会合同大会 於神戸 (2008 年 12 月 9 日)
120. 船越陽子、Peter Gergen、William J. Lennarz、一宮智美、西原祥子、谷口直之、鈴木 匡 細胞質 PNGase ホモログのショウジョウバエ発生における機能解析 第 81 回日本生化学会大会/第 31 回日本分子生物学会大会合同大会 於神戸 (2008 年 12 月 11 日)
121. 平山弘人、喜多島敏彦、地神芳文、鈴木 匡 小胞体分解(ERAD)依存的に分解される糖タンパク質を修飾する糖鎖の構造解析-遊離糖鎖の構造に基づいた解析 第 42 回酵母遺伝学フォーラム 於つくば (2009 年 7 月 30 日)

122. 細見 昭、田邊 香、鈴木 匡 PNGase (peptide:N-glycanase) 依存的 ERAD 機構の解析 第 42 回酵母遺伝学フォーラム 於つくば (2009 年 7 月 30 日)
123. 平山弘人、喜多島敏彦、地神芳文、鈴木 匡 *Saccharomyces cerevisiae* の生成する遊離糖鎖と ERAD についての解析 第 29 回日本糖質学会年会 於高山 (2009 年 9 月 9 日)
124. Tomohiko Taguchi, Tae Watanabe, Hideyuki Ihara, Eiji Miyoshi, Koich Honke, Naoyuki Taniguchi, A specific detection of GlcNAc $\beta$ 1-6Man $\alpha$ 1 branches in N-linked glycoproteins based on the specificity of N-acetylglucosaminyltransferase VI, ICS meeting (International Carbohydrate Symposium) (カナダ、ウィスラー、2006 年 7 月)
125. Tomohiko Taguchi, Tae Watanabe, Hideyuki Ihara, Eiji Miyoshi, Koich Honke, Naoyuki Taniguchi, A specific detection of GlcNAc $\beta$ 1-6Man $\alpha$ 1 branches in N-linked glycoproteins based on the specificity of N-acetylglucosaminyltransferase VI HUPO meeting (米国、カリフォルニア、2006 年 10 月)
126. Ryo Misaki, Miki Morimatsu, Michiyuki Matsuda and Tomohiko Taguchi: Post-Golgi trafficking pathway of H-Ras protein. 第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会合同大会、パシフィコ横浜、2007年12月13日
127. Shigehiro Nishijima, Fumihito Mishima, Shinya Maenosono, Tomohiko Taguchi, Ryosuke Nakao 強磁性ナノ粒子を用いた膜輸送小胞の磁気分離に関する研究 電気学会研究会、京都 2009 年 6 月 11 日
128. 田口 良, GPI アンカーを中心に脂質によるタンパク質の翻訳後修飾、日本ヒトプロテオーム機構第 3 回大会、横浜 2005. 8.1,
129. 村田千恵、小田吉哉、田口 良, マススペクトロメトリー(MS)によるタンパク質翻訳後修飾の解析、第 30 回日本医用マススペクトル学会年会、大阪 2005.9.9,
130. 平野瞳子、岸美紀子、杉本博之、村田千恵、田口 良, 和泉孝志, 質量分析法を用いたリゾホスホリパーゼによるパルミトイル化ペプチドの検出、第 48 回日本脂質生化学会、東京都 2006.6.9,
131. 田口 良, 北條俊章, 清水孝雄, 田嶋優子, 前田裕輔, 木下タロウ, リピドミクスによるリン脂質分子種制御機構の解明、第 48 回日本脂質生化学会、東京都 2006.6.9
132. 池田和貴、清水孝雄、田口 良、スフィンゴ糖脂質の包括的解析による脳局在の解明、第 50 回日本脂質生化学会シンポジウム、徳島、2008/6/6
133. Moriwaki K, Sasaki N, Uozumi N, Takeishi S, Taniguchi N, Miyoshi E. Oligosaccharide is a novel marker for the isolation of hepatic progenitor cells. 2008 HGPI meeting, Fort Worth November 13,
134. 成定 愛、伊藤敏文、三善英知 膵癌の新しいマーカーとしてのハプトグロビンの糖鎖解析と産生機序に関する検討、第 39 回日本膵臓学会大会 横浜 平成 20 年 7 月 30-31 日
135. 中嶋和紀、北爪しのぶ、藤縄玲子、三善英知、谷口直之 糖鎖修飾に関わる糖ヌクレオチドの一斉定量法 日本ヒトプロテオーム機構第 6 回大会 大阪 平成 20 年 7 月 29-30 日
136. 新崎信一郎、飯島英樹、中川孝俊、辻井正彦、近藤昭宏、三善英知、林 紀夫 IgG フコシル化糖鎖の変化が炎症性腸疾患の活動性や臨床経過を反映する診断マーカーとなる 日本ヒト

プロテオーム機構第6回大会 大阪 平成20年7月29-30日

137. 中川孝俊、三善英知、薬師神嵩行、平松直樹、井倉 枝、林 紀夫、谷口直之、近藤昭宏 肝がん培養細胞由来および肝細胞がん患者由来の AFP-L3 の糖鎖構造解析 第28回日本糖質学会年会 筑波 平成20年8月18-20日
138. 森脇健太、野田勝久、谷口直之、三善英知、肝癌における GDP-fucose transporter によるフコシル化制御について 第28回日本分子腫瘍マーカー研究会 名古屋 平成20年10月27日
139. 三善英知、成定 愛、奥山紀子、桑本佳奈、森脇健太、中川 勉、松本 仁、中の三弥子、谷口直之、小山信人 新しい肝癌の腫瘍マーカー、フコシル化ハプトグロビンの産生機序と簡易アッセイの確立 第67回日本癌学会総会 名古屋 平成20年10月28-30日
140. 中川 勉、津田沙織、桑本佳奈、森脇健太、中川 勉、松本 仁、谷口直之、三善英知、HepG2細胞において糖蛋白質のフコシル化は、微小胆管様構造内への分泌を制御する 第67回日本癌学会総会 名古屋 平成20年10月28-30日
141. 中川 勉、増田智美、吉岡智子、森脇健太、松本 仁、三善英知 肝細胞における糖タンパク質の極性輸送機構の解明から疾患マーカーの開発へ 第10回関西グライコサイエンスフォーラム 大阪 5月16日
142. 森華奈子、松本 仁、森脇健太、戸田美樹、鎌田佳宏、吉田雄一、木曾真一、林 紀夫、三善英知、糖転移酵素 GnT-V は、肝星細胞におけるコラーゲン1の遺伝子発現を抑制する 第45回日本肝臓学会総会 神戸 6月4-5日
143. 河本早由利、森脇健太、成定 愛、松本 仁、Anand Mehta、Timothy Block、三善英知 糖鎖改変による肝癌の新しい腫瘍マーカーGP73の発現制御に関する検討 第45回日本肝臓学会総会 神戸 6月4-5日
144. 三善英知、中川 勉、増田智美、吉岡智子、魚住尚史、森脇健太、松本 仁、林 紀夫糖鎖の選別輸送に基づく肝癌の AFP-L3 の産生機構の解明 第45回日本肝臓学会総会 神戸 6月4-5日
145. 成定 愛、河本早由利、中川 勉、森脇健太、松本 仁、三善英知、肝癌の新しい腫瘍マーカー、フコシル化ハプトグロビンの産生機序に関する検討 第56回 日本臨床検査医学会 札幌 8月26日-29日
146. 増田智美、中川勉、吉岡智子、寺尾尚子、魚住尚史、三善英知 肝癌の腫瘍マーカーAFP-L3はどのような機序で産生されるのか 第56回 日本臨床検査医学会 札幌 8月26-29日
147. 黒木絵莉、新崎信一郎、竜中法佳、飯島英樹、林 紀夫、三善英知、炎症性腸疾患における IgG 糖鎖異常 — 血清学的マーカーとしての有用性に関する検討 第56回 日本臨床検査医学会 札幌 8月26日-29日
148. 中嶋和紀、北爪しのぶ、三善英知、谷口直之、イオンペア逆相 LC-ESI-MS による糖ヌクレオチドの高感度定量法 第29回 日本糖質学会年会 岐阜 9月9日-11日
149. 中川 勉、増田智美、寺尾尚子、森脇健太、宮本泰豪、谷口直之、三善英知、HepG2細胞において微小胆管構造内へ分泌された糖タンパク質の糖鎖構造解析 第68回日本癌学会 横浜 10月1日-3日

150. 石川章子、寺尾美香、中原 晋、木村明寛、森脇健太、石田大輔、室田浩之、片山一朗、谷口直之、三善英知、GnT-V 過剰発現マウスの皮膚に見られた EMT 様性質の解析 第 68 回日本癌学会 横浜 10 月 1 日～3 日
151. 田尻道子、吉田周美、和田芳直. 効率的グリコプロテオーム解析手法とその応用、第 53 回質量分析総合討論会 (2005)、さいたま、一般演題 2005.5.26
152. 田尻道子、吉田周美、和田芳直. グリコプロテオームを指向する糖鎖・ペプチド構造解析法ーその 2ー. 第 30 回日本医用マスメクトル学会年会. 大阪 一般講演 2005.9.9.
153. Wada Y. "Comparison of the methods for N-glycan profiling: A HGPI Pilot Study Report" Frontiers in Glycomics: Bioinformatics and Biomarkers in Disease workshop : NIH, Washington DC, USA. 2006.9.12.
154. Wada Y. "Difference in the N-glycans of prostate-specific antigen from normal seminal fluid and cancer patient serum: A glycopeptide approach" Frontiers in Glycomics: Bioinformatics and Biomarkers in Disease workshop : NIH, Washington DC, USA. , 2006.9.13.
155. 田尻道子、和田芳直. N型糖鎖付加ペプチドにおけるコア $\alpha$  1,6-フコースとルイス型 $\alpha$  1,3-フコースの解離について. 第 55 回質量分析総合討論会 : 広島 口頭発表 2007、2007.5.16
156. 和田芳直. HUPO 多施設共同パイロット研究ーMS による糖鎖定量ー. 第 55 回質量分析総合討論会 2007、: 広島 シンポジウム 2007.5.18
157. 和田芳直. N グリカン定量に関する HUPO HGPI パイロット研究. 日本ヒトプロテオーム機構 第 5 回大会 : 東京 シンポジウム 2007.7.30
158. 田中勝啓、竹中重雄、小森雅之、和田芳直. マウスのミトコンドリア糖鎖修飾タンパク質の網羅的解析 (ミトコンドリアグリコプロテオーム). 第 144 回日本獣医学会学術集会、江別市 2007.9.4.
159. Wada Y. "Preliminary report on O-glycan pilot study" HGPI Steering committee : ドイツ・リュューベック 2007.9.7
160. 和田芳直、角谷真知子、岡本伸彦. 先天性糖鎖合成異常症 CDG の分子診断プログラム. 第 32 回日本医用マスメクトル学会年会 : 京都 2007.9.28
161. Wada Y. "Preliminary report of the HGPI O-glycoproteomics pilot study" HUPO 6th Annual World Congress : 韓国ソウル 2007.10.6
162. 和田芳直. CDG 診断フィールド活動の現状とグリコプロテオーム解析法. 科学技術振興機構戦略的創造研究推進事業「糖鎖の生物機能の解明と利用技術」全体会議、: 千里 2008.1.22
163. 田尻道子、早川滋雄、鈴木幸子、間久直、和田芳直. 中赤外レーザー-MALDI MS における酸化還元反応. 第 56 回質量分析総合討論会 : つくば シンポジウム 2008、2008.5.14
164. 田尻道子、和田芳直. 中赤外レーザーによる酸性糖鎖のソフトイオン化. 第 57 回質量分析総合討論会 : 大阪国際交流センター ワークショップ 2009.5.15
165. 和田芳直. ありふれたタンパクの疾患糖鎖マーカー. 日本ヒトプロテオーム機構第 7 回大会 :

東京 シンポジウム 2009.7.28

166. 和田芳直, 角谷真知子, 田尻道子. 糖鎖バイオマーカー解析のための糖鎖プロファイル定量化 - IgG と IgA への応用. 第 34 回日本医用マスマススペクトル学会年会 : 東大阪 シンポジウム 2009.9.10
167. Wada Y.. "A new perspective of O-glycoproteomics" The 13th Beijing Conference and Exhibition on Instrumental Analysis (BCEIA2009) : 北京 基調講演 2009.11.26

③ ポスター発表 (国内会議 146 件, 国際会議 98 件)

1. 村上良子, 前田裕輔, 木下タロウ, GPI アンカー生成のファーストステップ に必須の遺伝子 GPI-Y のクローニングと解析, 第 77 回日本生化学会大会 横浜市 2004 年 10 月 13 日~16 日
2. 獅子王信江, Yeongjin Hong, 前田裕輔, 木下タロウ, ヒト GPI7 は PIG-O と競合して PIG-F と結合することにより GPI アンカーの合成を制御する, 第 77 回日本生化学会大会 横浜市 2004 年 10 月 13 日~16 日
3. Yeonchul Hong, 永宗喜三郎, 仲谷文貴, 森田康裕, 前田裕輔, 木下タロウ, Trypanosoma brucei における GPI transamidase コンポーネント TbGPI16 のクローニングと解析, 第 77 回日本生化学会大会 横浜市 2004 年 10 月 13 日~16 日
4. Hisashi Ashida, Yeongjin Hong, Nakaba Sugimoto, Yoshiko Murakami, Yusuke Maeda and Taroh Kinoshita, Mammalian PIG-X and Yeast Pbn1p are the Regulatory Components of er-resident GPI-mannosyltransferase I. US/JAPAN Glyco 2004, Honolulu Hawaii USA November 17-20, 2004
5. JiYoung Kang, Yeongjin Hong, Nobue Shishioh, Hisashi Ashida, Yusuke Maeda and Taroh Kinoshita, PIG-V transfers the Second Mannose to Glycosylphosphatidylinositol US/JAPAN Glyco 2004, Honolulu Hawaii USA November 17-20
6. Y. Murakami, Y. Maeda, Y. Hong, T. Kinoshita, Initial Enzyme for Glycosylphosphatidylinositol Biosynthesis Requires the Seventh Component PIG-Y, Whose Translation is Initiated by Internal Ribosome Entry, 44<sup>th</sup> Annual Meeting of The American Society for Cell Biology, Washington DC USA, December 4-8, 2004
7. Y. Maeda, Y. Tashima, H. Ashida, C. Murata, R. Taguchi, T. Kinoshita, Functional Association of PGAP2 with Glycosylphosphatidylinositol Remodeling, 44<sup>th</sup> Annual Meeting of The American Society for Cell Biology, Washington DC USA December 4-8, 2004
8. 森田康裕, 木下タロウ, マイコバクテリアのホスファチジルイノシトールマンノシド合成に関与する糖転移酵素の機能解析 第 78 回日本細菌学会総会 東京都 2005 年 4 月 4~6 日
9. 森田康裕, 永宗喜三郎, 木下タロウ, プロサイクリック型 Trypanosoma brucei における GPI アンカー型表面タンパク質の欠乏とその細胞増殖に与える影響, 第 74 回日本寄生虫学会大会 米子市 2005 年 4 月 8 日~9 日
10. Yeonchul Hong, 永宗喜三郎, 森田康裕, 前田裕輔, 木下タロウ, 血流型 Trypanosoma brucei における GPI inositol deacylase の解析, 第 74 回日本寄生虫学会大会 米子市 2005 年 4 月 8 日~9 日
11. Yasu S. Morita, Kisaburo Nagamune, Yeonchul Hong, Yusuke Maeda, Taroh Kinoshita, Expression of glycosylphosphatidylinositol-specific inositol deacylase in procyclic form Trypanosoma brucei and its

- effect on the maintenance of surface coat procyclins. The 5th Awaji International Forum on Infection and Immunity Awaji Island Hyogo September 5-8, 2005
12. Ashida, H., Maeda, Y., Kinoshita, T., DPM1, a catalytic subunit of dolichol-phosphate-mannose synthase, is tethered to and stabilized on the ER membrane by DPM3. XVIII International Symposium on Glycoconjugates Palazzo dei Congressi, Florence, イタリア 2005年9月4日~9日
  13. Hong, Y., Nagamune, K., Morita, Y.S., Maeda, Y., Kinosista, T. Physiological significance of GPI inositol deacylation in trypanosoma brucei. XVIII International Symposium on Glycoconjugates Palazzo dei Congressi, Florence, イタリア 2005年9月4日~9日
  14. Tashima, Y., Taguchi, R., Houjou, T., Murata, C. Ashida, H., Kinoshita T., Maeda Y. The lipid remodeling of GPI-anchored proteins in mammalian cells XVIII International Symposium on Glycoconjugates Palazzo dei Congressi, Florence, イタリア 2005年9月4日~9日
  15. Uamporn, S., Maeda, Y., Murakami, Y., Kinoshita, T. A new mutant cell defective in a step after attachment of GPI to proteins. XVIII International Symposium on Glycoconjugates Palazzo dei Congressi, Florence, イタリア 2005年9月4日~9日
  16. 森田康裕, Helen Billman-Jacobe, Malcolm J. McConville, 木下タロウ, Mycobacterium smegmatis におけるホスファチジルイノシトールマンノシドの生合成に関与するマンノース転移酵素の同定 第78回日本生化学会大会, 神戸市 2005年10月19日~22日
  17. Norimitsu Inoue<sup>1</sup>, Tomohisa Izui<sup>2</sup>, Yoshiko Murakami<sup>2</sup>, Yuichi Endo<sup>3</sup>, Jun-Ichi Nishimura, Yuzuru Kanakura, Gabrielle Meyers, Carl Wittwer, Zhong Chen, William Babcock, Debra Frei-Lahr, Charles Parker, and Taroh Kinoshita Clonal expansion in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH): expression of mutant HMGA2 suggests that PNH is a benign tumor of the bone marrow. 第47回米国血液学会総会 アトランタ 米国 2005年12月10日~13日
  18. S Takida; Y Maeda; T Kinoshita Mammalian GPI-anchored proteins required p24 proteins Keystone Symposia "Lipid Rafts and Cell Function". Colorado, USA 2006年3月23~28日
  19. 森田康裕, 木下タロウ, Mycobacterium におけるホスファチジルイノシトールマンノシド生合成に関与するマンノース転移酵素, 第97回日本細菌学会総会 金沢市 2006年3月28~30日
  20. 森田康裕, 永宗喜三郎, Hong Yeonchul, 前田裕輔, 木下タロウ, プロサイクリック型 Trypanosoma brucei における GPI イノシトールのシアル化の意義, 第75回 日本寄生虫学会大会 弘前市, 2006年5月19日~20日
  21. 仲谷文貴, 森田康裕, Hong Yeonchul, 芦田 久, 前田裕輔, 木下タロウ, Trypanosoma brucei のトランスシアリダーゼホモログの解析, 第75回 日本寄生虫学会大会 弘前市, 2006年5月19日~20日
  22. Satoshi Takida, Yusuke Maeda, Taroh Kinoshita. Mammalian GPI-anchored proteins required p24 proteins for their transport from the ER to the PM. 20<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOBMB Congress, Kyoto, June 16-23, 2006
  23. Yasutaka Ueda, Ryo Yamaguchi, Masahito Ikawa, Masaru Okabe, Yusuke Maeda, Taroh Kinoshita. PGAP1 knockout mice show infertility. 20<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOBMB Congress Kyoto, June 16-23, 2006
  24. Yoshiko Murakami, Antonio Almeida, Mark Layton, Peter Hillmen, Yusuke Maeda, Anastasios

- Karadimitris, Taroh Kinoshita. A point mutation in an Ap1 binding motif in the promoter of the mannosyltransferase -encoding PIG-M gene causes inherited glycosylphosphatidylinositol deficiency.
25. Fumiki Nakatani, Yasuhiro Morita, Yeonchul Hong Hisashi Ashida, Yusuke Maeda, Taroh Kinoshita. Analysis of trans-sialidase homologues of *Trypanosoma brucei*. 20<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOBMB Congress June 16-23, 2006 Kyoto, Japan
  26. Yuko Tashima, Ryo Taguchi, Toshiaki Houjou, Chie Murata, Hisashi Ashida, Taroh Kinoshita, Yusuke Maeda, The lipid remodeling of GPI-anchored proteins in mammalian cells, 20<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOBMB Congress June 16-23, 2006 Kyoto, Japan
  27. Yeonchul Hong, Kisaburo Nagamune, Yasu S. Morita, Fumiki Nakatani, Hisashi Ashida, Yusuke Maeda, Taroh Kinoshita. Removal or maintenance of inositol-linked acyl chain in glycosylphosphatidylinositol is critical in trypanosome life cycle. The 6<sup>th</sup> Awaji International Forum on Infection and Immunity Awaji Island Hyogo September 4-7, 2006
  28. Satoshi Takida, Yusuke Maeda and Taroh Kinoshita Mammalian GPI-anchored proteins require p24 proteins for their transport from the endoplasmic reticulum to the plasma membrane. Japan-Switzerland 2nd Joint Seminar “Synthesis and trafficking of glycolipids and glycolipid-anchored proteins” Tsukuba Jan 30 to Feb 2
  29. Yoshiko Murakami, Antonio Almeida, Yusuke Maeda, Anastasios Karadimitris and Taroh Kinoshita. Discovery of inherited GPI deficiency. Japan-Switzerland 2nd Joint Seminar “Synthesis and trafficking of glycolipids and glycolipid-anchored proteins” Tsukuba Jan 30 to Feb 2
  30. Yusuke Maeda, Yuko Tashima, Toshiaki Houjou, Morihisa Fujita, Takehiko Yoko-o, Yoshifumi Jigami, Ryo Taguchi, and Taroh Kinoshita Fatty Acid Remodeling of Mammalian GPI-Anchored Proteins. Glycobiology and Sphingobiology 2007, Hakomori Commemorative Forum, Tsukuba Jan 30 to Feb 2
  31. 村上良子, 前田裕輔, 木下タロウ; ほ乳類細胞における Glypican の shedding について, 第 30 回日本分子生物学会年会、第 80 回日本生化学会大会 合同大会 横浜 2007-12-11～15
  32. 森田康裕, Ben N.I. McMillan, Helen Billman-Jacobe, 前田裕輔, 木下タロウ; マイコバクテリアにおける糖脂質・リン脂質合成経路の細胞内局在, 第 30 回日本分子生物学会年会、第 80 回日本生化学会大会 合同大会 横浜 2007-12-11～15
  33. 神澤範行, 前田裕輔, 田口良, 木下タロウ; 哺乳動物アルキルアシル型 GPI アンカーの生合成機構, 第 30 回日本分子生物学会年会、第 80 回日本生化学会大会 合同大会 横浜 2007-12-11～15
  34. 森田康裕, 木下タロウ, マイコバクテリアの細胞膜ドメインの顕微鏡解析, 第 81 回日本細菌学会総会 京都 2008 年 3 月 24 日～26 日
  35. C. B. C. SENA, S. Matsumoto, K. Kobayashi, M. J. McConville, Y. Maeda, T. Kinoshita and Y. S. Morita, Mannosyltransferase required for  $\alpha$  1,2-mannosylation of lipomannan and lipoarabinomannan in *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guerin, 7<sup>th</sup> International Conference on the Pathogenesis of Mycobacterial Infections. Stockholm, Sweden 2008年6月26-29日
  36. Y. Murakami, R. Ohta, N. Inoue, J. Nishimura, Y. Kanakura, T. Kinoshita. Expression of HMGA2 in blood cells from patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria, XXII International Complement Workshop, Basel Switzerland 28 Sep.-2 Oct. 2008

37. M. Fujita, Y. Maeda, M. Ra, R. Taguchi, and T. Kinoshita, Sugar-chain remodeling of GPI by PGAP5 is required for efficient transport of GPI-anchored proteins, Annual Conference of the Society for Glycobiology, Fort Worth, TX Nov. 12-15, 2008
38. 神澤範行、前田裕輔、小木曾英男、田口 良、木下タロウ、哺乳動物アルキルアシル型 GPI アンカーの生合成機構、第 31 回日本分子生物学会年会、第 81 回日本生化学会合同大会 神戸 9-12、Dec. 2008
39. 村上良子、太田里永子、西村純一、七島 努、井上徳光、木下タロウ、発作性夜間血色素尿症患者における HMGA2 の発現について、第 31 回日本分子生物学会年会、第 81 回日本生化学会合同大会 神戸 9-12、Dec. 2008
40. N. Kanzawa, Y. Maeda, H. Ogiso, R. Taguchi, T. Kinoshita, Peroxisome-dependent biosynthesis of mammalian alkyl-acyl form GPI-anchor, 2009 International CVRDC-RIMD Joint Symposium, Gyeongju, Korea 2009. 1. 8 – 10
41. 福田剛士、木下タロウ、森田康裕、マイコバクテリアのリボアラビノマンナン生合成の抑制が増殖に与える影響、第82回日本細菌学会総会 名古屋市 2009. 3. 12-14
42. 森田康裕、木下タロウ、マイコバクテリアにおけるホスファチジルイノシトール 3-リン酸の同定、第 82 回日本細菌学会総会 名古屋市 2009. 3. 12-14
43. Morihisa Fujita, Yusuke Maeda, Moonjin Ra, Yoshiki Yamaguchi, Ryo Taguchi, Taroh Kinoshita, GPI glycan remodeling regulates transport of GPI-anchored proteins from the ER. Clinical and Translational Research on Cancer: Glycomics Applications, Ise Shima 2009. 3. 24-27
44. Morihisa Fujita, Yusuke Maeda, Moonjin Ra, Yoshiki Yamaguchi, Ryo Taguchi, and Taroh Kinoshita, GPI-glycan remodeling by PGAP5 regulates transport of GPI-anchored proteins from the endoplasmic reticulum, FASEB Summer Research Conferences -Protein Lipidation, Singaling and Membrane Domains- Vermont USA 2009.7.26-31
45. Yusuke Maeda, Toru Ide, Masato Koike, Yasuo Uchiyama, Morihisa Fujita and Taroh Kinoshita, Acidification of the Golgi apparatus is regulated by GPHR that was identified by newly established transport assay, FASEB Summer Research Conferences -Protein Lipidation, Singaling and Membrane Domains- Vermont USA 2009.7.26-31
46. 程 光、池田義孝、藤井順逸：ニトロソグルタチオン(GSNO)はタンパク質の S-グルタチオン化を促進する。第 5 回日本 NO 学会、札幌；2005 年 4 月
47. Cheng G, Ikeda Y, Iuchi Y, Fujii J: Detection of glutathionylated proteins by glutathione S-transferase overlay. The 3rd International Symposium on Natural Antioxidants-Molecular Mechanisms and Health Effects (ISNA) and the 2nd Meeting of the Society for Free Radical Research Asia (SFRR Asia), Shanghai 2005.6
48. 井原秀之、池田義孝、谷口直之：ヒト  $\alpha$ 1,6 フコース転移酵素 (FUT8) のドメイン解析。第 25 回日本糖質学会年会。大津 2005.7.20-22.
49. 江口裕伸、池田義孝、大河原知水、藤原範子、小代田宗一、本家孝一、Peng G Wang、谷口直之、鈴木敬一郎 活性酸素は細胞表面のシアル酸を遊離し、細胞接着を抑制する。第 29 回日本過酸化脂質・フリーラジカル学会、神戸市 2005.10.26-27, 過酸化脂質研究, vol.29, 36, 2005.



50. 高橋素子, 李 尉, 横江俊一, 佐甲靖志, 谷口直之, 池田義孝: N 型糖鎖の修飾による EGFR シグナリングの制御. 第 26 回日本糖質学会年会. 仙台 2006. 8.
51. Motoko Takahashi, Yasushi Sako, Wei Li, Shunichi Yokoe, Naoyuki Taniguchi, Yoshitaka Ikeda: The structure of N-glycan regulates the ligand binding kinetics of EGFR. 20<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology. Kyoto. 2006 7.
52. Hideyuki Ihara, Yoshitaka Ikeda, Sachiko Toma, Jiango Gu, Eiji Miyoshi, Atsushi Nakagawa, Naoyuki Taniguchi: The structure and enzymatic properties of human alpha1,6-fucosyltransferase, FUT8. 20<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology. Kyoto. 2006 7.
53. 大隅大介, 高橋素子, 横江俊一, 野田勝久, 三善英知, 顧建国, 池田義孝, 谷口直之: E-カドヘリンの糖鎖フコシル化は細胞接着を増強しがん転移を抑制する. 第 80 回日本生化学会大会. 横浜 2007.12
54. 井内良仁, 岡田太, 池田義孝, 井川正人, 岡部勝, 藤井順逸: ペルオキシレドキシシン 4 欠損マウスは精巣に異常がある. 第 80 回日本生化学会大会. 横浜 2007.12
55. 伊東利津, 高橋素子, 井原秀之, 岡田貴裕, 池田義孝: Development of ELISA for measurement of peroxiredoxin-4 and quantification in rat tissues. 第 80 回日本生化学会大会. 横浜 2007.12
56. 井原秀之, 伊東利津, 岡田貴裕, 谷口直之, 池田義孝: Site-directed and functional analysis of SH3 domain of alpha1,6-fucosyltransferase, FUT8. 第 80 回日本生化学会大会. 横浜 2007.12
57. 岡田貴裕, 井原秀之, 伊東利津, 谷口直之, 池田義孝: beta-1,4-N-Acetylglucosaminyltransferase III による bisecting GlcNAc 除去反応の速度論的解析. 第 80 回日本生化学会大会. 横浜 2007.12
58. 岡田貴裕, 井原秀之, 伊東利津, 中の三弥子, 谷口直之, 池田義孝: beta-1,4-N-Acetylglucosaminyltransferase III 遺伝子導入による昆虫細胞のアスパラギン結合型糖鎖の合成機構の改変. 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会. 神戸 2008.12
59. 井原秀之, 伊東利津, 岡田貴裕, 谷口直之, 池田義孝: Functional analysis of SH3 domain on alpha1,6-fucosyltransferase, FUT8. 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会. 神戸 2008.12
60. 井内良仁, 岡田太, 角田智志, 岐部紀子, 白澤信行, 井川正人, 岡部勝, 池田義孝, 藤井順逸: 膜結合型ペルオキシレドキシシン 4 は精子形成細胞を酸化ストレスから保護する. 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会. 横浜 2008.12
61. 石村 大史, 大山 力. PSA の糖鎖構造解析. 第 93 回日本泌尿器科学会総会, 東京, H17. 4. 13.
62. 萩沢 茂, 大山 力, 他. 癌における core 2β-1,6-N-acetylglucosaminyltransferase 発現の意義. 第 93 回日本泌尿器科学会総会, 東京, H17. 4. 13.
63. 土谷順彦, 大山 力, 他. 遺伝子多形解析による転移性前立腺癌の予後予測. 第 93 回日本泌尿器科学会総会, 東京, H17. 4. 16.
64. 大山 力, 他. PSA 糖鎖構造の癌性変化について. 第 43 回日本癌治療学会総会, 名古屋, H17, 10.27.

65. 石村大史、大山 力、他：膀胱癌における N-acetylglucosaminyltransferase-V (GnT-V) 発現の意義。第 94 回日本泌尿器科学会総会 福岡,平成 18 年 4 月,
66. 今井 篤、大山 力、他：表在性膀胱癌再発予防における BCG40mg 膀胱療法の有用性 (80mg に対する前向き比較試験)。第 94 回日本泌尿器科学会総会 ,福岡,平成 18 年 4 月
67. 大和 隆、大山 力、他：進行性尿路上皮癌に対する Gemcitabine、Carboplatin 併用化学療法の治療成績。第 94 回日本泌尿器科学会総会 ,福岡,平成 18 年 4 月
68. 盛 和行、大山 力、他：BCG の直接的抗腫瘍効果：細胞株により異なる細胞外基質の関与 (第 2 報)。第 44 回日本癌治療学会総会 ,大阪,平成 18 年 10 月
69. 萩沢 茂、大山 力、他：前立腺癌の新規バイオマーカー (iPos 賞受賞)。第 44 回日本癌治療学会総会 ,東京,平成 18 年 10 月
70. 米山高弘、大山 力、他：当科における BCG 上部尿路灌流療法の長期成績の検討。第 71 回日本泌尿器科学会東部総会,東京,平成 18 年 10 月
71. 今井 篤、大山 力、他：非侵襲的動脈硬化診断法及び液生昇圧物質による勃起不全評価。第 71 回日本泌尿器科学会東部総会 ,東京,平成 18 年 10 月
72. Hatakeyama S, Ishimura H, Okamoto A, Imai A, Hagiwara S, Yoneyama T, Koie T, Yamato T, Habuchi T, Arai Y, Fukuda M, Ohyama C. Carbohydrate structure of prostate-specific and its distinct affinity to Maackia amurensis lectin between cancer and non-cancer source. Annual Conference of The Society for Glycobiology Long beach, CA, 2006/11,.
73. Hatakeyama S, Ishimura H, Takahashi T, Nakagawa H, Nishimura S, Horikawa Y, Miyoshi E, Kyan A, Hagiwara S, Habuchi T, Arai Y, Ohyama C, GnT-V expression correlates with patient survival in bladder. Annual Conference of The Society for Glycobiology, Long beach, CA, 2006/11
74. Mori K, Okamoto A, Imai A, Ishimura H, Hatakeyama S, Hagiwara S, Yoneyama T, Koie T, Yamato T, Yoyamaizu H, Ohyama C. Anti-tumor effect of nano-particulated bacillus calmette-guerin (BCG) cell wall complex on bladder cancer cell line. 10<sup>th</sup> Hirosaki International forum, Hirosaki 2006/11.
75. 盛 和行、横溝秀裕、中 嵩、岡本亜希子、今井 篤、石村大史、萩沢 茂、岩淵郁哉、米山高弘、古家琢也、大和 隆、大山 力：nano-particulated BCG は BCG 生菌と同等の直接効果を示した。第 95 回日本泌尿器科学会総会,神戸,平成 19 年 4 月 14-17 日
76. 石村大史、岡本亜希子、今井 篤、萩沢 茂、米山高弘、古家琢也、大和 隆、大山 力、田尻道子、和田芳直：糖ペプチド構造解析によって判明した P S A 糖鎖の癌性変化。第 95 回日本泌尿器科学会総会,神戸市,平成 19 年 4 月 14-17 日
77. 大和 隆、岡本亜希子、今井 篤、石村大史、畠山真吾、岩淵郁哉、米山高弘、盛 和行、古家琢也、大山 力：進行性腎細胞癌の予後因子の検討。第 95 回日本泌尿器科学会総会,神戸,平成 19 年 4 月 14-17 日
78. 米山高弘、岡本亜希子、今井 篤、石村大史、盛 和行、萩沢 茂、岩淵郁哉、大和 隆、神村典孝、大山 力：表在性膀胱癌に対する BCG 注入療法 80mg と 40mg の比較 (特に T1G3 腫瘍の再発及び進展予防効果に関して)。第 95 回日本泌尿器科学会総会 神戸,平成 19 年 4 月 14-17 日

79. 畠山真吾、岡本亜希子、今井 篤、石村大史、萩沢 茂、米山高弘、古家琢也、大和 隆、大山 力、杉原一廣、福田道子：トロフィニン結合ペプチドの精子運動能改善効果。第95回日本泌尿器科学会総会，神戸，平成19年4月14-17日
80. 井上高光、横山真吾、斉藤 満、熊澤光明、湯浅 健、松浦 忍、土谷順彦、大山 力、羽渕友則： $\alpha$ -Galactosylceramide ( $\alpha$ -GalCer)のマウス進行性腎癌株RE N C Aに対する抗腫瘍効果の検討。第95回日本泌尿器科学会総会，神戸，平成19年4月14-17日
81. 岡本亜希子、神村典孝、古家琢也、橋本安弘、米山高弘、岩渕郁哉、盛 和行、今井 篤、山本勇人、大山 力：前立腺マッサージ後尿(VB3)を用いた SELDI-TOFMS による前立腺癌のバイオマーカー検索。第96回日本泌尿器科学会総会 横浜市 平成20年4月25-27日
82. 神村典孝、山本勇人、岡本亜希子、今井 篤、岩渕郁哉、米山高弘、橋本安弘、古家琢也、大和 隆、大山 力：進行性腎細胞癌の予後因子としてのLDHとコリンエステラーゼの有用性。第96回日本泌尿器科学会総会 横浜市 平成20年4月25-27日
83. 盛 和行、ラーマン ナイーム、山本勇人、岡本亜希子、今井 篤、岩渕郁哉、米山高弘、橋本安弘、古家琢也、神村典孝、高橋信好、大山 力：ヒト組み換え MnSOD 投与はラット腎阻血灌流モデルの組織障害を軽減する。第96回日本泌尿器科学会総会 横浜市 平成20年4月25-27日
84. 今井 篤、山本勇人、岡本亜希子、岩渕郁哉、米山高弘、橋本安弘、盛 和行、古家琢也、神村典孝、大山 力：脈波伝播速度はEDの危険因子である 一住民健診におけるEDの有病率と危険因子に関する検討。第96回日本泌尿器科学会総会 横浜市 平成20年4月25-27日
85. 盛 和行、山本勇人、岡本亜希子、今井 篤、岩渕郁哉、米山高弘、橋本安弘、古家琢也、百瀬昭志、神村典孝、大山 力：BCG菌株により異なる直接的抗腫瘍効果とフィブロネクチンとの相互作用。第46回日本癌治療学会総会 名古屋市 平成20年10月30-1日
86. Koie T, Yoneyama T, Yamamoto H, Okamoto A, Imai A, Hatakeyama S, Iwabuchi I, Hashimoto Y, Kamimura N, Mori K, Ohyama C.: Gynecologic organs sparing cystectomy and U-shaped ileal neobladder for female bladder cancer patients: oncologic and functional outcomes. 103th Annual Meeting of American Urological Association, Orlando, FL 2008/5/17-22.
87. Imai A, Yamamoto H, Okamoto A, Iwabuchi I, Yoneyama T, Hashimoto Y, Mori K, Koie T, Kamimura N, Matsuzaka M, Nakaji S, Ohyama C.: Impact of cauda equine type lumbar spinal stenosis on male lower urinary tract symptoms: a community-based study in Japan. 103th Annual Meeting of American Urological Association, Orlando, FL 2008/5/17-22.
88. 盛 和行、萩沢 茂、山本勇人、岡本亜希子、今井 篤、岩渕郁哉、米山高弘、橋本安弘、古家琢也、百瀬昭志、神村典孝、坪井 滋、山谷金光、寺山百合子、大山 力：前立腺癌におけるCore 2 $\beta$  1,6-N-acetylglucosaminyltransferase (C2GnT) の発現。第31回日本分子生物学会年会&第81回日本生化学会大会合同大会 神戸市 平成20年12月9-12日
89. 坪井 滋、高田英俊、原 寿郎、望月直樹、舟生富寿、斉藤久夫、寺山百合子、山谷金光、大山 力、野々山恵章、Hans D. Ochs：マクロファージの移動と食用に必須の膜構造—ポドソームとファゴサイティック・カップ形成におけるcommon molecular step。第31回日本分子生物学会年会&第81回日本生化学会大会合同大会 神戸市 平成20年12月9-12日
90. 今井 篤、岡本亜希子、山本勇人、畠山真吾、岩渕郁哉、米山高弘、橋本安弘、盛 和行、古家琢也、神村典孝、百瀬昭志、大山 力：下部尿路症状の危険因子としての馬尾症状の重要性

- 住民検診レベルでの検討—。第 97 回日本泌尿器科学会総会 岡山市 平成 21 年 4 月 16-19 日
91. 古家琢也、山本勇人、岡本亜希子、百瀬昭志、今井 篤、畠山真吾、岩渕郁哉、米山高弘、橋本安弘、盛 和行、神村典孝、大山 力：筋層浸潤膀胱癌に対するゲムシタピン+カルボプラチンによる術前化学療法の有用性。第 97 回日本泌尿器科学会総会 岡山市 平成 21 年 4 月 16-19 日
  92. 今井 篤、岡本亜希子、山本勇人、畠山真吾、岩渕郁哉、米山高弘、橋本安弘、盛 和行、古家琢也、神村典孝、百瀬昭志、大山 力：下部尿路症状の危険因子としての馬尾症状の重要性—住民検診レベルでの検討—。第 97 回日本泌尿器科学会総会 岡山市 平成 21 年 4 月 16-19 日
  93. 茂田昌樹、顧 建国、谷口直之、GnT-III is involved in dendritic neuritogenesis by introducing the bisecting-GlcNAc into N-glycan on beta 1 integrin. 第 77 回日本生化学会、神戸、2005 年 10 月 19-22 日
  94. 三田知花、稲森 啓一郎、顧 建国、谷口直之、Immunohistochemical analysis of brain and testis specific GnT-IX. 第 77 回日本生化学会、神戸、2005 年 10 月 19-22 日
  95. 顧 建国 GnT-III antagonizes the effect of GnT-V on  $\alpha 3 \beta 1$  integrin-mediated cell migration、XIX International Symposium on Glycoconjugates、Cairns, Australia、2007 年 7 月 15-20 日
  96. 伊左治知弥、佐藤裕也、福田友彦、顧 建国 インテグリン  $\alpha 5 \beta 1$  の N-結合型糖鎖は二量体の形成と生物学的機能に必須である 「第 60 回日本細胞生物学会大会年会」、横浜 2008 年 6 月 29-7 月 1 日
  97. Yuya Sato, Tomoya Isaji, Chisa Mitsui, Tomohiko Fukuda and Jianguo Gu. The importance of N-glycan in  $\alpha 5 \beta 1$  integrin-mediated biological functions. 「XI WORKSHOP ON APOPTOSIS IN BIOLOGY AND MEDICINE」 仙台 2008 年 9 月 12-14 日
  98. Yuya Sato, Yoshinobu Kariya, Tomoya Isaji, Tomohiko Fukuda, Naoyuki Taniguchi and Jianguo Gu. A mutual regulation between cell-cell adhesion and GnT-III expression. 「2008 Annual Meeting of the Society for Glycobiology」 Fort Worth, Texas, USA 2008 年 11 月 12-15 日
  99. Tomoya Isaji, Yuya Sato, Tomohiko Fukuda and Jianguo Gu. N-glycosylation on I-like domain of  $\beta 1$  integrin is essential for its expression and biological functions. 「2008 Annual Meeting of the Society for Glycobiology」 Fort Worth, Texas, USA 2008 年 11 月 12-15 日
  100. 折橋 郁、森田 隆、近藤 玄：GPI アンカー型タンパク質を用いた品質管理と代謝メカニズムの解明。第 30 回日本分子生物学会・第 80 日本生化学会合同大会、横浜市、2007
  101. 竹村 浩昌、東城 博雅、近藤 玄：遺伝子変異マウスを用いたホスホリパーゼ B/リパーゼの生理機能の解析。第 30 回日本分子生物学会・第 80 日本生化学会合同大会、横浜市、2007
  102. 近藤 玄、渡邊 仁美、田嶋 優子、前田 裕輔、木下 タロウ：精巣型アンギオテンシン変換酵素の糖鎖修飾と機能。第 55 回日本実験動物学会、仙台市、2008

103. 竹村 浩昌、東城 博雅、近藤 玄：遺伝子変異マウスを用いたホスホリパーゼ B/リパーゼの生理的機能の解析。第31回日本分子生物学会・第81日本生化学会合同大会、神戸市、2008
104. Xingfeng Bao, Tadahisa Mikami, Shuhei Yamada, Takashi Muramatsu, and Kazuyuki Sugahara, "An Endogenous Heparin-Binding Growth Factor, Pleiotrophin, Mediates Neuritogenic Activity of Embryonic Pig Brain-Derived Chondroitin Sulfate/Dermatan Sulfate Hybrid Chains Toward Mouse Hippocampal Neurons in Culture" US/JAPAN GLYCO 2004 (日米糖質科学合同会議) (POSTER SESSION 1, 71) Honolulu 2004.11.18.
105. Xingfeng Bao, Tadahisa Mikami, Shuhei Yamada, Andreas Faissner, Takashi Muramatsu, and Kazuyuki Sugahara; "Heparin-binding Growth Factor, Pleiotrophin, Mediates Neuritogenic Activity of Embryonic Pig Brain-derived Chondroitin Sulfate/Dermatan Sulfate Hybrid Chains" 第4回神戸薬科大学ハイテク・リサーチ・シンポジウム 神戸 2005.2.26.
106. 泉川友美, 北川裕之, 江草徳幸, 谷口史恭, 菅原一幸, 他 第25回日本糖質学会年会「Drosophila におけるヘパラン硫酸の重合化」 大津 2005.7.20
107. 森本秀人, 山田修平, 藤澤敏幸, 菅原一幸 第25回日本糖質学会年会「ヒドラ Hydra magnipapillata のグリコサミノグリカンの解析」 大津 2005.7.20
108. 宇山 徹, 北川裕之, 泉川友美, 菅原一幸 科学研究費補助金特定領域研究第3回夏期シンポジウム「コンドロイチン硫酸の重合反応は複数のコンドロイチン合成酵素からなる酵素複合体によって行われる」 岐阜 2005.8.8.
109. 泉川友美, 北川裕之, 江草徳幸, 谷口史恭, 菅原一幸 科学研究費補助金特定領域研究第3回夏期シンポジウム「Drosophila におけるヘパラン硫酸の重合化」 岐阜 2005.8.8
110. Xingfeng Bao, 三上雅久, 山田修平, 菅原一幸, 他 第78回日本生化学会大会 "Heparin-Binding Growth Factor, Pleiotrophin, Mediates Neuritogenic Activity of Embryonic Pig Brain-Derived Chondroitin Sulfate/Dermatan Sulfate Hybrid Chains" 神戸 2005.10.21
111. Shaobo Zhou, 江草徳幸, 北川裕之, 菅原一幸 神戸薬科大学ハイテクシンポジウム Characterization of functions of EXTL2 in the tumor suppressor EXT gene family using EXTL2-overexpressing transgenic mice 神戸 2006.2.23
112. S. S. Deepa, Kittiwat Kalayanamitra, 伊藤友美, 山田修平, 三上雅久, 菅原一幸, 他 神戸薬科大学ハイテクシンポジウム Novel sulfated octa- and deca-saccharides from squid cartilage chondroitin sulfate-E: Sequencing and application for determination of the epitope structure of monoclonal antibody MO-2251 神戸 2006.2.23
113. Anurag Purushothaman, 福田純子, 三上雅久, 菅原一幸, 他 神戸薬科大学ハイテクシンポジウム Functions of chondroitin sulfate/dermatan sulfate in the brain development: Critical roles of "E" and/or "iE" disaccharide units recognized by a single chain antibody GD3G7 神戸 2006.2.23
114. Fuchuan Li, 山田修平, 杉浦真喜子, 菅原一幸, 他 神戸薬科大学ハイテクシンポジウム Determination of iduronic and glucuronic acid in chondroitin/dermatan sulfate using one-dimensional <sup>1</sup>H nuclear magnetic resonance spectroscopic analysis 神戸 2006.2.23
115. Anurag Purushothaman, 福田純子, 三上雅久, 菅原一幸, 他 日本薬学会第126年会「Functions of chondroitin sulphate/dermatan sulphate in the brain development: Critical roles of "E" and/or "iE" disaccharide units recognized by a single chain antibody GD3G7」 神戸 2006.2.23

- and/or "iE" disaccharide units recognized by a single chain antibody GD3G7」 仙台 2006. 3.
116. 泉川友美, 江草徳幸, 谷口史恭, 菅原一幸, 北川裕之、日本薬学会第 126 年会「Drosophila におけるヘパラン硫酸の生合成機構の解析」仙台 2006. 3.
  117. 山田修平, 大西雅子, 藤縄玲子, 田所優子, 菅原一幸, 他 Proteoglycans in Signaling "Structural and Functional Changes of Sulfated Glycosaminoglycans in Xenopus laevis during Embryogenesis" Stockholm 2005.9.7-11
  118. Robert Perris, Kittivan Kalayanamitra, 山田修平, 菅原一幸, 他 Proteoglycans in Signaling "Immunomapping of the Aggrecan Isoforms Structuring the Perineuronal Nets of the Human Cerebral Cortex" Stockholm 2005.9.7-11
  119. Bergefall, K., Trybala, E., Johansson, M., 宇山 徹, 内藤聡美, 山田修平, 北川裕之, 菅原一幸, Bergstrom, T.、Proteoglycans in Signaling "Chondroitin Sulfate-E Inhibits Herpes Simplex Virus Infectivity and Provides Virus Binding Sites on gro2C Cells" Stockholm 2005.9.7-11
  120. Fuchuan Li, Ajaya Kumar Shetty, 菅原一幸 「Novel Chondroitin Sulfate/Dermatan Sulfate Hybrid Chains from Shark Liver, Which Exhibit Specific Growth Factor-binding and Potent Neurogenic Activities」第 26 回日本糖質学会年会 仙台 2006.8.24
  121. Fuchuan Li, Chilkunda D. Nandini, Xingfeng Bao, 村松 喬, 菅原一幸 A Novel Pleotrophin-Binding Hexasaccharide Sequence Isolated from Shark Skin Chondroitin Sulfate/Dermatan Sulfate Hybrid Chains」第 26 回日本糖質学会年会 仙台 2006.8.24
  122. 満永知恵, 三上雅久, 水本秀二, 福田純子, 菅原一幸 「小脳の発達に関与するコンドロイチン硫酸/デルマタン硫酸ハイブリッド糖鎖」第 26 回日本糖質学会年会 仙台 2006.8.24
  123. Peraphan Pothacharoen, Kittivan Kalayanamitra, Sarama Sathyaseelan Deepa, Timothy Hardingham, 菅原一幸, P rachya Kongtawelert 「Structural determination of a sulfated octasaccharide isolated from shark cartilage chondroitin sulfate」第 26 回日本糖質学会年会 仙台 2006.8.24
  124. 内藤聡美, 山田修平, Kicki Bergefall, Edward Trybala, Maria Johansson, 宇山 徹, 北川裕之, 菅原一幸, Tomas Bergström 「単純ヘルペスウィルスの感染に関わるコンドロイチン硫酸 E」第 26 回日本糖質学会年会 仙台 2006.8.24
  125. 福田 純子, Anurag Purushotaman, 森田 知子, Gerdy B. ten Dam, Toin H. van Kuppevelt, 三上雅久, 北川裕之, 菅原一幸 「脳の発達段階における E/iE ユニット含有コンドロイチン硫酸/デルマタン硫酸鎖の発現」第 26 回日本糖質学会年会 仙台 2006.8.24
  126. 泉川友美, 水口惣平, 江草徳幸, 谷口史恭, 出島克史, 野村和子, 田村純一, 安藤恵子, 三谷昌平, 野村一也, 菅原一幸, 北川裕之 「線虫におけるグリコサミノグリカン鎖の生合成機構とその機能」第 26 回日本糖質学会年会 仙台 2006.8.24
  127. Duriya Fongmoon, Ajaya Kumar Shetty, Basappa, 山田修平, 菅原一幸 「Development of Analytical Method to Detect Rare 3-O-Sulfated Glucuronic Acid-containing Disaccharides in Various Chondroitin Sulfate Preparations」第26回日本糖質学会年会 仙台 2006.8.25 2006.8.25
  128. 泉川友美, 宇山 徹, 奥浦由佳, 菅原一幸, 北川裕之 「コンドロイチン合成酵素-2 (ChSy-2) の in vivo および in vitro におけるコンドロイチン硫酸生合成への関与」日本薬学会第 127 年会 富山 2007.3.28

129. Ajaya Kumar Shetty, Duriya Fongmoon, Basappa, 山田修平, 菅原一幸 「Fate and Detection of Rare 3-O-Sulfated Glucuronic Acid-containing Disaccharides in Various Chondroitin Sulfate Preparations」 日本薬学会第 127 年会 富山 2007.3.28
130. 榎本典子, 周 少波, 谷口史恭, 江草徳幸, 多屋長治, 菅原一幸, 北川裕之 「グリコサミノグリカン鎖生成に関与する糖転移酵素 EXTL2 を過剰発現するトランスジェニックマウスの解析」 日本薬学会第 127 年会 富山 2007.3.28
131. 綿本有希子, 金川奈央, 泉川友美, 坂野雅弘, 杉原一司, 浅野雅秀, 菅原一幸, 北川裕之 「グリコサミノグリカン鎖生成に関与するグルクロン酸転移酵素-I ノックアウトマウスの作製」 日本薬学会第 127 年会 富山 2007.3.28
132. 北川裕之, 泉川友美, 水口惣平, 江草徳幸, 谷口史恭, 安藤恵子 (Keiko Gengyo-Ando), 三谷昌平, 野村一也, 菅原一幸 「Expression of rib-1, a *Caenorhabditis elegans* homolog of the human tumor suppressor EXT genes is indispensable for heparan sulfate synthesis and embryonic morphogenesis」 *Extracellular Glycomatrix in Health and Disease* 淡路島 2006. 6. 15
133. 山田修平, 森本秀人, 藤沢敏孝, 菅原一幸 「Glycosaminoglycans in *Hydra magnipapillata*」 *Extracellular Glycomatrix in Health and Disease* 淡路島 2006. 6. 15
134. Kittiwani Kalayanamitra, 水本秀二, Sarama Sathyaseelan Deepa, Prachya Kongtawelert, 福井成行, 菅原一幸 「Chondroitinase ACI-resistant hexasaccharides isolated from shark cartilage chondroitin sulfate: Structures and binding activities toward signaling molecules and antibody」 *Extracellular Glycomatrix in Health and Disease* 淡路島 2006. 6. 15)
135. 内藤聡美, 山田修平, Kicki Bergefall, Edward Trybala, Maria Johansson, 宇山 徹, 北川裕之, 菅原一幸, Tomas Bergström 「Chondroitin Sulfate E Directly Interacts with Herpes Simplex Virus Attachment Glycoprotein C and Exhibits Potent Antiviral Activity」 20<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOBMB Congress 京都 2006. 6. 19
136. Basappa, Purushothaman, A., Rangappa, K.S., and Sugahara, K., Inhibitory effects of synthetic heterocyclic compounds on angiogenesis as well as the migration and invasion of a mouse osteosarcoma cell line expressing chondroitin sulfate. Benzon Symposium No. 54, "Glycosylation: Opportunities in Drug Development". Copenhagen 2007.6.13
137. 水口惣平, 野村和子, 出嶋克史, 泉川友美, 江草徳幸, 谷口史恭, 田村純一, 安藤恵子, 三谷昌平, 北川裕之, 菅原一幸, 野村一也, モデル生物 *C. elegans* を用いたヘパラン硫酸の生体内機能解析第27回日本糖質学会年会 福岡 2007.8.2
138. Sarama S. Deepa, 山田修平, 福井成行, 菅原一幸; サメ軟骨コンドロイチン硫酸由来の八糖の構造解析と抗体のエピトープ解析への応用、第 27 回日本糖質学会年会、福岡、2007.8.3
139. 中川浩毅, 濱洋一郎, 墨 利久, Su-Chen Li, Karol Maskos, Kittiwani Kalayanamitra, 水本秀二, 菅原一幸, Yu-The Li; アナツバメ唾液腺(ツバメの巣)由来コンドロイチンプロテオグリカンの同定、第 27 回日本糖質学会年会、福岡、2007.8.3
140. Sarama Sathyaseelan Deepa, Kittiwani Kalayanamitra, 伊藤友美, Prachya Kongtawelert, 福井成行, 山田修平, 三上雅久, 菅原一幸. 単クローン抗体 MO-225 が認識するコンドロイチン硫酸 E 由来のオリゴ糖の構造解析」、第 27 回日本糖質学会年会、福岡、2007.8.3

141. 奥浦由佳, 泉川友美, 宇山 徹, 菅原一幸, 北川裕之, コンドロイチン硫酸合成酵素-3 (ChSy-2) のコンドロイチン鎖の重合化への関与 第 27 回日本糖質学会年会 福岡 2007.8.3
142. 森田知子, 竹中裕美, 安永大輝, 藪田ゆみ, 記村真衣, 三上雅久, 菅原一幸, 北川裕之, 軟骨分化過程におけるコンドロイチン硫酸の硫酸化を担う硫酸基転移酵素の発現変動 第 27 回日本糖質学会年会 福岡 2007.8.3
143. 泉川友美, 塩澤章子, 田村純一, 菅原一幸, 北川裕之, コンドロイチン硫酸グルクロン酸転移酵素のコンドロイチン鎖の重合化への関与 第 27 回日本糖質学会年会 福岡 2007.8.3
144. Peraphan Pothacharoen, Kittiwat Kalayanamitra, Sarama S. Deepa, Shigeyuki Fukui, Tomohide Hattori, Nobuhiro Fukushima, Timothy Hardingham, Prachya Kongtawelert, and Kazuyuki Sugahara; Two Related but Distinct Chondroitin Sulfate Mimotope Octasaccharide Sequences of Monoclonal Antibody WF6, Which Recognizes a Human Ovarian Tumor Marker, The 27<sup>th</sup> Sapporo Cancer Seminar International Symposium, 札幌, 2007.7.12-13
145. D. Fongmoon, A. K. Shetty, B. Basappa, S. Yamada, M. Sugiura, P. Kongtawelert, and K. Sugahara, Chondroitinase-Mediated Degradation of Rare 3-O-Sulfated Glucuronic acid in Functional Oversulfated Chondroitin Sulfate Chains, Glyco19 (XIX International Symposium on Glycoconjugates), Cairns, 2007.7.16
146. K. Sugahara, P. Pothacharoen, K. Kalayanamitra, S. S. Deepa, S. Fukui, T. Hattori, N. Fukushima, T. Hardingham, and P. Kongtawelert; Two Related but Distinct Chondroitin Sulfate Mimotope Octasaccharide Sequences Recognized by Monoclonal Antibody WF6. Glyco19 (XIX International Symposium on Glycoconjugates), Cairns, 2007.7.19
147. H. Kitagawa, T. Izumikawa, S. Mizuguchi, K. Dejima, K. H. Nomura, N. Egusa, F. Taniguchi, J. Tamura, K. Gengyo-Ando, S. Mitani, K. Nomura, and K. Sugahara; Expression of rib-1, a Caenorhabditis elegans Homolog of the Human Tumor Suppressor EXT Genes, Is Indispensable for Heparan Sulfate Synthesis and Embryonic Morphogenesis. Glyco19 (XIX International Symposium on Glycoconjugates), Cairns, 2007.7.17
148. Tomomi Izumikawa, Toshiyasu Koike, Shoko Shiozawa, Kazuyuki Sugahara, Jun-ichi Tamura, and Hiroshi Kitagawa, Identification of Chondroitin Sulfate Glucuronyltransferase as Chondroitin Synthase-3 Involved in Chondroitin Polymerization: CHONDROITIN POLYMERIZATION IS ACHIEVED BY MULTIPLE ENZYME COMPLEXES CONSISTING OF CHONDROITIN SYNTHASE FAMILY MEMBERS. XXIV International Carbohydrate Symposium Oslo, Norway 2008.7.27-8.1
149. 庄司奈緒子, 周少波, 谷口史恭, 江草徳幸, 灘中里美, 多屋長治, 菅原一幸, 北川裕之, *EXTL2* を過剰発現するトランスジェニックマウスの解析 第 27 回日本糖質学会年会 福岡 2007.8.3
150. 小池敏靖, 宇山徹, 迫田直樹, 奥浦由佳, 泉川友美, 菅原一幸, 北川裕之, コンドロイチン GalNAc 転移酵素-1 および2 のコンドロイチン硫酸鎖生成への関与 BMB2007 (第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会) 横浜 2007.12.12
151. Shoji Kagiya, Shaobo Zhou, Naoko Shoji, Fumiyasu Taniguchi, Noriyuki Egusa, Satomi Nadanaka, Choji Taya, Kazuyuki Sugahara, Hiroshi Kitagawa, The tumor suppressor *EXT*-like gene *EXTL2* regulates glycosaminoglycan amounts BMB2007 (第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会) 横浜 2007.12.12
152. 安永大輝, 水本秀二, 小林直樹, 三上雅久, 三宅歩, 伊藤信行, 菅原一幸, 北川裕之, コンド



ロイチン 4-O-硫酸基転移酵素-1 のゼブラフィッシュ胚発生過程における機能の解析 日本薬学会第 128 年会 横浜 2008.3.27

153. 田邊 香、原いずみ、谷口直之、鈴木 匡 ERAD と PNGase の関連性についての解析 第 27 回日本分子生物学会年会、於神戸 2004 年 12 月 10 日
154. 田邊 香、谷口直之、鈴木 匡 PNGase (peptide:N-glycanase)は ERAD で機能する 第 39 回酵母遺伝学フォーラム、於柏 2005 年 9 月 6 日
155. Yoko Funakoshi, Kaoru Saigo, Ryu Ueda, Shoko Nishihara, Naoyuki Taniguchi, and T. Suzuki Analysis of putative glycosidases for the metabolic pathways of cytosolic free N-linked glycan species in *Drosophila melanogaster* 18th International Symposium on Glycoconjugate at Florence (Italy), September 6, 2005.
156. Yoko Funakoshi, Kaoru Saigo, Ryu Ueda, Shoko Nishihara, Naoyuki Taniguchi, and Tadashi Suzuki Analysis of glycosidases involved in metabolisms of cytosolic free N-linked glycan species in *Drosophila melanogaster*. 第 78 回生化学会大会、於神戸 2005 年 10 月 20 日
157. 田邊 香、原いずみ、谷口直之、RAO Hai、鈴木 匡 PNGase (peptide:N-glycanase) は ERAD で機能する 第 28 回日本分子生物学会年会、於福岡 2005 年 12 月 9 日
158. 中の三弥子、原いずみ、戸谷希一郎、松尾一郎、伊藤幸成、谷口直之、鈴木 匡 N 結合型糖鎖誘導体と細胞質 PNGase の結合部位の質量分析による同定 第 126 回日本薬学会年会 於仙台 2006 年 3 月 28 日
159. Yoko Funakoshi, Kaoru Saigo, Ryu Ueda, Shoko Nishihara, Naoyuki Taniguchi, and Tadashi Suzuki Analysis of metabolic pathways of cytosolic free N-linked glycans in *Drosophila melanogaster*. 20<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOBMB Congress at Kyoto (Japan), June 19, 2006
160. Kaori Tanabe, Hai Rao, Naoyuki Taniguchi, and Tadashi Suzuki Png1p, a cytoplasmic peptide:N-glycanase in *S. cerevisiae*, implicated in ERAD. 20<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOBMB Congress at Kyoto (Japan), June 23, 2006
161. Tadashi Suzuki, Izumi Hara, Miyako Nakano, Masaki Shigeta, Takatoshi Nakagawa, Akihiro Kondo, Yoko Funakoshi, and Naoyuki Taniguchi Man2C1, an  $\alpha$ -mannosidase involved in the trimming of free oligosaccharides in the cytosol. Annual Conference of the Society for Glycobiology 2006 at Los Angeles, November 16, 2006.
162. Tadashi Suzuki, Izumi Hara, Miyako Nakano, Masaki Shigeta, Takatoshi Nakagawa, Akihiro Kondo, Yoko Funakoshi, and Naoyuki Taniguchi Man2C1, an  $\alpha$ -mannosidase involved in the trimming of free oligosaccharides in the cytosol of mammalian cells. Japan-Switzerland 2<sup>nd</sup> Joint Seminar "Synthesis and trafficking of glycolipids and glycolipid-anchored protein at Tsukuba (Japan), January 31, 2007.
163. Tadashi Suzuki, Izumi Hara Man2C1, a cytoplasmic  $\alpha$ -mannosidase in animal cells. Glycobiology and Sphingobiology 2007 –Hakomori Commemorative Forum- at Tokushima (Japan), February 28, 2007.
164. Kaori Tanabe, Naoyuki Taniguchi and Tadashi Suzuki The cytoplasmic PNGase is implicated in the ERAD system. 27<sup>th</sup> Sapporo Cancer Seminar at Sapporo (Japan), July 12, 2007.
165. Yoko Funakoshi, Peter Gergen, William J. Lennarz, Naoyuki Taniguchi, and Tadashi Suzuki Analysis of PNGase in *Drosophila melanogaster*. 27<sup>th</sup> Sapporo Cancer Seminar at Sapporo (Japan), July 12, 2007.

166. Tadashi Suzuki, Massimiliano Della Mea, Izumi Hara, Rita Casadio, Gianluca Tasco, Naoyuki Taniguchi, and Donatella Serafini-Fracassini Peptide:N-glycanase (PNGase) and transglutaminase (TGase) : same catalytic domain, distinct function. 9<sup>th</sup> International Conference on Transglutaminase and Protein Crosslinking at Marrakech (Morocco), September 2, 2007.
167. 石塚 文、橋本有樹、仲 良輔、木下充弘、掛樋一晃、船越陽子、鈴木 匡 ヒト胃癌細胞中に蓄積する遊離 N 型糖鎖の解析 第 80 回日本生化学会大会／第 30 回日本分子生物学会大会合同大会 於横浜 2007 年 12 月 13 日
168. 田邊 香、谷口直之、鈴木 匡 細胞質 PNGase は ERAD 経路で機能する 第 80 回日本生化学会大会／第 30 回日本分子生物学会大会合同大会 於横浜 2007 年 12 月 14 日
169. 船越陽子、Peter Gergen, William J. Lennarz, 谷口直之、鈴木 匡 Analysis of PNGase in *Drosophila melanogaster* 第 80 回日本生化学会大会／第 30 回日本分子生物学会大会合同大会 於横浜 2007 年 12 月 14 日
170. 清野淳一、石井久美子、水島 昇、鈴木 匡 N 型遊離糖鎖の代謝におけるオートファジーの役割について 第 1 回理研ケミカルバイオロジー研究領域国際シンポジウム 於熱海 2008 年 9 月 25 日
171. 根岸由紀、Massimiliano Della Mea, Donatella Serafini-Fracassini、鈴木 匡 植物と酵母由来 PNGase オルソログの構造比較 第 1 回理研ケミカルバイオロジー研究領域国際シンポジウム 於熱海 2008 年 9 月 25 日
172. Hiroto Hirayama and Tadashi Suzuki The structural diversity and liberation mechanism of neutral free-oligosaccharides in *Saccharomyces cerevisiae*. International Symposium on Systems Glycobiology -A Bridge between Chemical Biology and Functional Glycomics- at Tokyo (Japan), December 5, 2008
173. Yoshimi Haga, Yukishige Ito, and Tadashi Suzuki..Establishment of analytical method of free oligosaccharide transport from the ER to cytosol. International Symposium on Systems Glycobiology -A Bridge between Chemical Biology and Functional Glycomics- at Tokyo (Japan), December 5, 2008
174. Akira Hosomi, Kaori Tanabe, Naoyuki Taniguchi, Tadashi Suzuki. Analysis of PNGase (peptide: N-glycanase) dependent ERAD. International Symposium on Systems Glycobiology -A Bridge between Chemical Biology and Functional Glycomics- at Tokyo (Japan), December 5, 2008.
175. Yoko Funakoshi, Yuki Negishi, Peter Gergen, William J. Lennarz, Naoyuki Taniguchi, and Tadashi Suzuki. Functional Analysis of *Drosophila melanogaster* PNGase homolog. International Symposium on Systems Glycobiology -A Bridge between Chemical Biology and Functional Glycomics- at Tokyo (Japan), December 5, 2008
176. 平山弘人、鈴木 匡 出芽酵母の生成する中性遊離糖鎖の構造と種類について 第 31 回日本生化学会大会／第 81 回日本分子生物学会大会合同大会, 神戸 2008 年 12 月 9 日
177. 細見 昭、田邊 香、谷口直之、鈴木 匡 PNGase (peptide:N-glycanase) 依存的 ERAD 機構の解析 第 81 回日本生化学会大会／第 31 回日本分子生物学会大会合同大会 於神戸 2008 年 12 月 9 日
178. Akira Hosomi, Kaori Tanabe, and Tadashi Suzuki The cytoplasmic PNGase-dependent ERAD pathway in *Saccharomyces cerevisiae*. Clinical and Translational Research on Cancer: Glycomics Applications at Toba (Japan), March 25, 2009.

179. Junichi Seino, Noboru Mizushima, and Tadashi Suzuki. Studies on the role of autophagy on metabolism of free N-glycans. Clinical and Translational Research on Cancer: Glycomics Applications at Toba (Japan), March 26, 2009.
180. 清野淳一、水島昇、鈴木 匡 N 型遊離糖鎖の代謝におけるオートファジーの役割について 日本分子生物学会 第9回 春季シンポジウム 於宮崎 2009年5月11日
181. Yoko Funakoshi, Yuki Negishi, Peter Gergen, William J. Lennarz, Naoyuki Taniguchi, Tadashi Suzuki Functional Analysis of *Drosophila melanogaster* PNGase homolog, dPNG. 9th Japanese *Drosophila* Research Conference、於掛川 2009年7月7日
182. 細見 昭、田邊 香、鈴木 匡 PNGase ((peptide:N-glycanase) 依存的 ERAD 機構の解析 第29回日本糖質学会年会 於高山 2009年9月10日
183. 船越陽子、根岸由紀、Peter Gergen, William J. Lennarz、谷口直之、鈴木 匡 ショウジョウバエ細胞質 PNGase ホモログの機能解析 第29回日本糖質学会年会 於高山 2009年9月11日
184. 芳賀淑美、戸谷希一郎、伊藤幸成、鈴木 匡 蛍光標識糖鎖を用いた小胞体における遊離糖鎖逆行輸送メカニズムの解析 第29回日本糖質学会年会 於高山 2009年9月11日
185. Li Wang, Junichi Seino, and Tadashi Suzuki. Structure analysis of cytosolic free oligosaccharides in human stomach cancer-derived MKN45 cells. Austria/Japan Seminar on Comparative and Developmental Glycobiology at Hayama (Japan), September 21, 2009
186. Hiroto Hirayama, Junichi Seino, Toshihiko Kitajima, Yoshifumi Jigami, and Tadashi Suzuki. Structural diversity of free oligosaccharides from misfolded glycoproteins in *Saccharomyces cerevisiae*. Austria/Japan Seminar on Comparative and Developmental Glycobiology at Hayama (Japan), September 21, 2009
187. Yoko Funakoshi, Yuki Negishi, J. Peter Gergen, William J. Lennarz, Naoyuki Taniguchi, and Tadashi Suzuki. Functional analysis of Dpng, cytosolic PNGase homolog in *Drosophila melanogaster*. Austria/Japan Seminar on Comparative and Developmental Glycobiology at Hayama (Japan), September 21, 2009.
188. Jenna, McKenzie, Tomohiko Taguchi, David Sheff, Retrograde traffic of Shiga and cholera toxins through recycling endosomes, TGN, and cis/medial Golgi, ASCB 学会 (アメリカ、カリフォルニア、12月)
189. Ryo Misaki, Naoyuki Taniguchi, and Tomohiko Taguchi, PO-179: Recycling endosomes are indispensable during retrograde transport of cholera toxin from the plasma membrane to the Golgi complex. Eurocarb14, Lubeck, Germany 2007, September 2-7
190. Yasunori Uchida, Takao Inoue, Takahiro Kanamori, Junya Hasegawa, Tomohiko Taguchi、Yoshiyuki Arai, Human tbc-3 homologue is involved in retrograde trafficking in COS-1 cells BMB2008, 神戸 2008年12月
191. Maitsetseg Bayarjargal, Yukiko Uechi, Shogo Endo, Kimiko Nonaka-Takei, Minoru Oshiro, Masato Umikawa, Tsuyoshi Asato, Yoshito Yamashiro, Tomohiko Taguchi, Ken-ichi Kariya, Localization of Rap2 in recycling endosomes in a palmitoylation-dependent manner, BMB2008, 神戸 2008年12月、
192. Regine Low, Ryo Misaki, Frederic A. Meunier, Tomohiko Taguchi, Jennifer L. Stow, 965/B172 : A role for phosphoinositide 3-kinase in constitutive cytokine secretion. アメリカ細胞生物学会 2008

(ASCB2008), San Francisco, 12 月

193. Ryo Misaki, Darren Brown, Mitsunori Fukuda, Jennifer L. Stow, Tomohiko Taguchi, 182/B125 : Screening of recycling endosomal Rab small-GTPases with COS-1 cells. アメリカ細胞生物学会 2008 (ASCB2008), San Francisco, 12 月
194. 村田千恵, 羅紋眞, 池田和貴, 小田吉哉, 清水孝雄, 田口良, マススペクトロメトリー(MS) による蛋白質翻訳後修飾の分析, 第 78 回日本生化学会大会, 神戸. 2005.10.21
195. 池田和貴, 羅紋眞, 村田千恵, 小田吉哉, 清水孝雄, 田口良, 脂質修飾タンパク質の解析に適したプロテオミクスと脂質ラフトへの適用, 第 54 回質量分析総合討論会, 豊中市 2006.5.18
196. T. Hirano, M.I Barliana, M. Kishi, H. Sugimoto, C. Murata, R. Taguchi, T. Izumi, Lysophospholipase is a deacylating enzyme useful for the detection of palmitoylated peptide by MALDI-TOF mass spectrometry, 20<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOBMB Congress, Kyoto 2006.6.21
197. C. Murata, M. Ra, K. Ikeda, Y. Oda, T. Shimizu, R. Taguchi, Proteomic approach for characterization of lipid modified proteins, 20<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOBMB Congress, Kyoto 2006.6.21
198. M. Ra, K. Ikeda, C. Murata, Y. Oda, T. Shimizu, R. Taguchi, Proteomics of lipid rafts by preparative IEF and mass spectrometry, 20<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOBMB Congress, Kyoto 2006.6.23
199. R. Taguchi, Lipidomic and Proteomic approaches for characterization and regulation of glycosylphosphatidyl-anchoring proteins, 47th International Conference on the Bioscience of Lipids, , Pecs, Hungary 2006.9.5-9
200. Deguchi D, Tanemura M, Miyoshi E, Saga A, Kawamoto K, Machida T, Sawa Y, Nishida T, Ito T. Increased immunogenicity of MUC1 remodeled to express  $\alpha$ -gal epitopes: a novel approach to immunotherapy in pancreatic cancer. 2008 AACR Annual Meeting, San Diego April 12-16
201. Moriwaki K, Noda K, Nakagawa T, Taniguchi N, Miyoshi E. A high expression of GDP-fucose transporter in hepatocellular carcinoma is a key factor for increases in fucosylation. 2008 AACR Annual Meeting, San Diego April 12-16
202. Takeishi S, Nakagawa T, Moriwaki K, Ogawa T, Fujita H, Taniguchi N, Yamada M, Miyoshi E. Glycomic analysis of glycoproteins in bile and serum during rat hepatocarcinogenesis, using lectin microarray. 2008 Annual Conference of the Society for Glycobiology, Fort Worth, November 12-15
203. 桑本佳奈, 津田沙織, 中川 勉, 森脇健太, 松本 仁, 三善英知, 血清糖タンパク fetuin の膵癌に対する腫瘍マーカーの可能性; 糖鎖解析と分解能の検討 第 67 回日本癌学会総会 名古屋 平成 20 年 10 月 28-30 日
204. 津田沙織, 中川 勉, 森脇健太, 増田智子, 水野洋子, 松本 仁, 三善英知, 大腸癌の進展過程におけるフコシル化の変化について 第 67 回日本癌学会総会 名古屋 平成 20 年 10 月 28-30 日
205. Nakajima K, Kitazume S, Fujinawa R, Miyoshi E, Taniguchi N. Simultaneous determination of nucleotide sugars in glycosylation with ion-pair reversed-phase HPLC. 2008 Annual Conference of the Society for Glycobiology, Fort Worth, November 12-15

206. Takahashi M, Osumi D, Miyoshi E, Nakamori S, Gu J, Ikeda Y, Kuroki Y, Taniguchi N. Core fucosylation of E-cadherin enhances cell-cell adhesion in human colon carcinoma cells. Clinical and Translational Research on Cancer: Glycomics Applications, Ise-Shima, march 24-27, 2009
207. Nakajima K, Kitazume S, Fujinawa R, Miyoshi E, Taniguchi N. Simultaneous determination of nucleotide sugars involved in glycosylation and its application. Clinical and Translational Research on Cancer: Glycomics Applications, Ise-Shima, march 24-27, 2009
208. Korekane H, Matsumoto A, Hasegawa T, Miyoshi E, Taniguchi N. Antibody-lectin enzyme immunoassay for the analysis of fucosylation of  $\alpha$ -fetoprotein. Clinical and Translational Research on Cancer: Glycomics Applications, Ise-Shima, march 24-27, 2009
209. Nakagawa T, Takeishi S, Yoshioka T, Moriwaki K, Yamada M, Matsumoto H, Taniguchi N, Miyoshi E. Glycomic analyses of glycoproteins in bile and serum during rat carcinogenesis. Clinical and Translational Research on Cancer: Glycomics Applications, Ise-Shima, march 24-27, 2009
210. Moriwaki K, Noda K, Nakagawa T, Taniguchi N, Daigo Y, Furukawa Y, Nakamura Y, Hayashi N, Miyoshi E. Deficiency of GMD leads to escape from NK cell-mediated tumor surveillance through modulation of TRAIL signaling AACR annual meeting Denver 18-22, USA
211. Honma R, Kinoshita I, Miyoshi E, Matsuno Y, Kaga K, Taniguchi N, Akita HD. Decreased expression of  $\alpha$ 1,6-fucosyltransferase ( $\alpha$ 1,6-FT) is associated with squamous histology in non-small cell lung cancers (NSCLC) AACR annual meeting Denver 18-22, USA
212. Deguchi T, Tanemura M, Miyoshi E, Machida T, Kobayashi S, Marubashi S, Takeda Y, Nagano H, Sawa Y, Ito T, Mori M, Doki Y. Vaccination with increased immunogenicity of tumor antigen MUC1 engineered to express a-gal epitopes elicited significant inhibition of tumor growth AACR annual meeting Denver 18-22, USA
213. 成定 愛、河本早由利、中川 勉、森脇健太、松本 仁、三善英知、新しい腫瘍マーカー、フコシル化ハプトグロビンの産生機序に関する検討 第 45 回日本肝臓学会総会 神戸 6 月 4-5 日
214. 奥戸久美子 森脇健太 佐々木 望 山中香奈子 松本 仁 三善英知、糖鎖による肝幹細胞の分化制御に関する研究 第 56 回 日本臨床検査医学会 札幌 8 月 26 日～29 日
215. 戸田美樹、松本 仁、三善英知、脂肪肝における肝再生と ER stress 第 56 回 日本臨床検査医学会 札幌 8 月 26 日～29 日
216. 森脇健太、野田勝久、古川洋一、中川 勉、谷口直之、醍醐弥太郎、中村祐輔、林 紀夫、三善英知、脱フコシル化により大腸癌細胞は NK 細胞を介した腫瘍免疫を回避する 第 68 回日本癌学会 横浜 10 月 1 日～3 日
217. 武田百合、松本明郎、是金宏昭、中嶋和紀、松本 仁、谷口直之、三善英知、単糖による AFP のフコシル化の制御 第 68 回日本癌学会 横浜 10 月 1 日～3 日
218. 森華奈子、松本仁、戸田美樹、鎌田佳宏、吉田雄一、木曾真一、林紀夫、三善英知、糖転移酵素 N-アセチルグルコサミン転移酵素 V(GnT-V)は、肝星細胞におけるコラーゲン I の遺伝子発現を抑制する 第 68 回日本癌学会 横浜 10 月 1 日～3 日
219. 本間理央、木下一郎、三善英知、松野吉宏、清水康、加賀基知三、谷口直之、秋田弘俊、非小細胞肺癌における $\alpha$ 1,6-fucosyltransferase ( $\alpha$ 1,6-FT)低発現は、組織型で扁平上皮癌に関連する 第 68 回日本癌学会 横浜 10 月 1 日～3 日

220. 田尻道子, 奥野昌二, 竹田康弘, 和田芳直. シアル酸含有糖鎖・糖脂質分析におけるカチオン化マトリックスの効用, 第 53 回質量分析総合討論会 (2005)、さいたま、2005.5.26
221. 和田芳直, 角谷真知子. 糖タンパク質糖鎖合成異常症 CDG 診断法の構築—HUPO イニシアティブ・フィールド活動、第 53 回質量分析総合討論会 (2005)、さいたま、2005.5.27
222. Takeuchi T, Akiuchi S, Kiyama R, Tajiri M, Wada Y. Theoretical study on the fragmentation mechanisms in protonated and sodium-adducted cations of glycopeptides using molecular orbital methods. 53rd ASMS Conference on Mass Spectrometry, San Antonio Tx, USA; 2005.6.9.
223. Tajiri M, Yoshida S, Wada Y. An efficient method of elucidating site-specific glycan heterogeneities in very large glycoproteins. 53rd ASMS Conference on Mass Spectrometry, San Antonio Tx, USA; 2005.6.8.
224. Tajiri M, Yoshida S, Wada Y. Characterization of site-specific glycans of large glycoproteins, fibronectin and apolipoprotein B-100, using a method of hydrophilic affinity isolation of glycopeptides and maldi mass spectrometry. 4th HUPO, Munich, Germany. 2005.8.27
225. 田尻道子, 和田芳直. O型糖鎖付加部位解析のための化学修飾. 第 54 回質量分析総合討論会 2006 : 豊中 2006.5.18
226. 竹内孝江, 田尻道子, 和田芳直. 3'-sialyllactose および 6'-sialyllactose イオンのフラグメンテーションに関する量子化学的研究. 第 54 回質量分析総合討論会 2006 : 豊中 2006.5.18
227. Takeuchi T, Tajiri M, Wada Y. Ab initio MO study on the fragmentation mechanisms of carbohydrate in mass spectrometry. 54th ASMS Conference on Mass Spectrometry : Seattle, USA 2006.5.31.
228. Tajiri M, Yoshida S, Wada Y. Site-determination of mucin-type O-glycosylation for glycoproteomics. 54th ASMS Conference on Mass Spectrometry : Seattle, USA 2006.5.31
229. Tajiri, M., Wada, Y. Method development for building O-glycoproteome. 18th International Mass Spectrometry Conference : Prague, Czech 2006.8.28.
230. Takeuchi, T., Akiuchi, S., Kiyama, R., Tajiri, M., Wada, Y. Initio Study on the Fragmentation Mechanisms of Glycopeptides in Mass Spectrometry. III. 18th International Mass Spectrometry Conference : Prague, Czech 2006.8.28.
231. 田尻道子, 和田芳直. 糖ペプチド構造解析における MALDI と ESI の比較. 第 55 回質量分析総合討論会 2007 : 広島 2007.5.16
232. Takeuchi T, Tajiri M, Wada Y. Theoretical study on fragmentation mechanism of positive and negative ions of oligosaccharides.. 55th ASMS Conference on Mass Spectrometry : Indianapolis, USA 2007.6.5.
233. Tajiri M, Wada Y. Dissociation of core1,6 and antenna 1,3 fucosylated isomers in the MS of glycopeptides. 55th ASMS Conference on Mass Spectrometry : Indianapolis, USA 2007.6.5.
234. Tajiri M, Wada Y. "The stability of N-glycans of protonated glycopeptide ions in gas phase" Annual Conference of the Society for Glycobiology : ボストン、ポスター 2007.11.13
235. 和田芳直, 田尻道子. 中赤外レーザー脱離イオン化質量分析法の分解能. 第 56 回質量分析総合討論会 2008 : つくば 2008.5.14

236. 橋本雅美、早川滋雄、長尾博文、豊田岐聡、茂里康、和田芳直. 電子移動解離を用いる翻訳後修飾ペプチドの構造解析. 第56回質量分析総合討論会 2008 : つくば 2008.5.14
237. 竹内孝江、藤田淳子、田尻道子、和田芳直. シアリルラクトース異性体の Na 付加イオンからの H<sub>2</sub>O 脱離反応におけるエネルギー依存性. 第56回質量分析総合討論会 2008 : つくば 2008.5.14
238. 和田芳直、角谷真知子、田尻道子、岡本伸彦. 先天性糖鎖合成異常症の分子診断プログラムー第2報ー. 日本医用マスペクトル学会第33回年会. 東京 2008.9.26
239. Wada Y, Tajiri M, Takeuchi T. "Distinct features of matrix-assisted 6μm infrared laser desorption/ionization mass spectrometry" 第57回米国質量分析学会 : フィラデルフィア ポスター 2009.6.2
240. Takeuchi T, Nabei S, Tajiri M, Wada Y. "Ab initio study on ionization and fragmentation in matrix-assisted infrared and ultraviolet laser desorption/ionization mass spectrometry" 第57回米国質量分析学会 : フィラデルフィア ポスター 2009.6.2
241. 竹内孝江、藤田淳子、田尻道子、廣瀬賢治、和田芳直. イオンモビリティ衝突誘起解離質量分析と ab initio DFT 計算によるシアリルラクトース異性体イオンのフラグメンテーション機構の研究. 第3回分子科学討論会 : 名古屋 2009.9.22
242. Takeuchi T, Nabei S, Tajiri M, Wada Y. "Ab initio study on ionization and fragmentation mechanisms of dihydroxybenzoic acids in IR- and UV-MALDI mass spectrometry" 第18回国際質量分析学会 : ドイツブレーメン 2009.8.31
243. Tajiri M, Takeuchi T, Wada Y. "Distinct softness of matrix-assisted 6μm infrared laser desorption/ionization mass spectrometry." 第18回国際質量分析学会 : ドイツブレーメン 2009.9.2
244. Wada Y, Yanagishita T, Kiuchi M, Masuda H. "Distinct features of porous alumina substrate for surface-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry." 第18回国際質量分析学会 : ドイツブレーメン 2009.9.2

(4)知財出願

①国内出願 (15 件)

《発明の名称、発明者、出願人、出願日、出願番号》

1. 膀胱癌の悪性度診断法, 発明者 大山 力, 出願人、弘前大学, 出願日 2006/2/8、特願 2006-31618
2. 前立腺癌の診断方法, 発明者 大山 力, 出願人、弘前大学, 出願日 2007/2/16, 特願 2007-36836
3. レクチン吸収法による前立腺がんの診断方法及び判定キット, 発明者 大山 力, 鳥越俊彦, 出願人 弘前大学, 北海道公立大学法人 札幌医科大学, 出願日 2008/10/4, 特願 2008-259114
4. 抗デルマトン硫酸抗体と機能性硫酸化オリゴ糖, 発明者 菅原一幸, バオ シンフォン, 出願人 科学技術振興事業団 (JST) 出願日 2005.3.18, 特願 2005-80724
5. サメ軟骨のコンドロイチン硫酸由来の硫酸化八糖, 発明者: 菅原一幸, 出願人 : JST、出願日 2005 年 6 月 6 日、特願 2005-165699

6. プレイオトロフィン結合性および非結合性のコンドロイチン硫酸/デルマトン硫酸オリゴ糖、  
発明者 菅原一幸、バオ シンフォン、出願人 JST、出願日 2005 年 6 月 6 日、特願  
2005-165699
7. イカ軟骨のコンドロイチン硫酸 E 由来の硫酸化八糖、十糖、発明者 菅原一幸、出願人 JST、  
出願日 2006 年 2 月 24 日、特願 2006-049308
8. 新規低分子化合物およびその製造方法、発明者 菅原一幸、カンチュガラコッパル・エス・ラ  
ンガッパ、バサッパ、出願人 JST、出願日 2006 年 3 月 23 日、特願 2006-081671
9. 糖鎖マーカー認識プローブおよびそれを用いた神経突起伸長阻害剤、ニューロン染色剤、腫瘍  
細胞染色剤、免疫組織染色剤、薬学的組成物および医薬、発明者 菅原一幸、出願人 JST、  
出願日 2006 年 3 月 25 日、特願 2006-084323
10. 硫酸化多糖または硫酸化オリゴ糖の分析方法、硫酸化多糖または硫酸化オリゴ糖を含む薬学的  
組成物および医薬、発明者 菅原一幸、出願人 JST、出願日 2006 年 3 月 26 日、特願  
2006-084337
11. 新規多糖およびオリゴ糖、発明者 菅一幸、出願人 菅原一幸 およびマルハ株式会社、出願日  
2006 年 3 月 31 日、特願 2006-98722
12. グルコサミノグリカン糖鎖の生合成不全マウス、発明者 北川裕之、菅原一幸、浅野雅秀、  
杉原一司、出願人 JST、国立学校法人 金沢大学、出願日 2007 年 2 月 15 日 特願  
2007-34346
13. ムコ多糖分解促進剤、発明者 菅原一幸、山田修平、水本秀二、出願人 国立大学法人北  
海道大学、出願日 2007. 11. 9、特願 2007-291424
14. 膵臓癌マーカーおよび膵臓癌の検査方法、発明者 三善英知、谷口直之、中の三弥子 申請  
者 和光純薬 2009-168470 出願日 平成 21 年 7 月 特願 2008-3696
15. 細胞融合制御法、それに用いる遺伝子組換え用ベクターおよび細胞融合制御剤、発明者 渋  
川幸直、和田芳直、出願人 JST、出願日 平成 19 年 11 月 21 日、特願 2007-301832

②海外出願 (4 件)

《発明の名称、発明者、出願人、出願日、出願番号、出願国》

1. Method for detecting prognosis of cancer, 大山 力, Seikagaku Corporation, et al, 2005/10/25,  
04722143.7-2404-US2004006085 European Patent Office
2. Antibody”, 発明者 KONGTAWELERT Prachya, HARDINGHAMH Tim, ONG-CHAI Siriwan,  
菅原一幸, POTHACHAROEN Peraphan, TIENGBURANATHUM Natthachai、出願人: The  
National Research Council of Thailand, The Thailand Research Fund, and CHIANGMAI  
UNIVERSITY、2005 年 12 月 5 日、WO2005/118645 A1
3. 抗デルマトン硫酸抗体と機能性硫酸化オリゴ糖”, 発明者 菅原一幸、バオ シンフォン、出願  
人 JST、2006 年 3 月 16 日、PCT/JP2006/305229
4. 硫酸化多糖または硫酸化オリゴ糖の分析方法硫酸化多糖または硫酸化オリゴ糖を含む薬学的組  
成物および医薬の製造方法、疾病の治療診断、症状の軽減および予防方法、発明者 菅原一



幸 出願人 JST 2007年3月26日 PTC/Jp2007-056276 (基礎出願番号: 特願  
2006-084337)

(5)受賞・報道等

① 受賞

大山グループ

1. 萩沢 茂、大山 力, 第44回日本癌治療学会総会 iPos 賞受賞、「前立腺癌の新規バイオマーカー」平成18年10月

鈴木グループ

1. 鈴木匡 2005年 日本生化学会 奨励賞
2. 鈴木匡 2008年 日本糖質学会 奨励賞

三善グループ

下記の論文が、阪大大学院医学系研究科保健学専攻の2008年度優秀論文に選出。

Narisada M, Kawamoto S, Kuwamoto K, Moriwaki K, Nakagawa T, Matsumoto H, Asahi M, Koyama N, Miyoshi E. (2008) Identification of an inducible factor secreted by pancreatic cancer cell lines that stimulates the production of fucosylated haptoglobin in hepatoma cells. *Biochem Biophys Res Commun.*377 (3), 792-796.

下記の演題が、分子腫瘍マーカー優秀演題賞に選出。

第28回日本分子腫瘍マーカー研究会 平成20年10月27日 名古屋  
肝臓における GDP-fucose transporter によるフコシル化制御について  
森脇健太、野田勝久、谷口直之、三善英知

下記の演題で、AACR の Award を獲得。

AACR annual meeting Denver 18-22, USA

Deguchi T, Tanemura M, Miyoshi E, Machida T, Kobayashi S, Marubashi S, Takeda Y, Nagano H, Sawa Y, Ito T, Mori M, Doki Y. Vaccination with increased immunogenicity of tumor antigen MUC1 engineered to express a-gal epitopes elicited significant inhibition of tumor growth

和田グループ

日本医用マスメクトル学会・学会賞(松本勇賞)

① マスコミ(新聞・TV等)報道

木下グループ

1. アルキルアシル型 GPI アンカーの生合成にペルオキシゾームが関わっていることを発見した研究成果が、日経産業新聞(2009年10月14日)に掲載された。
2. GPI アンカー型タンパク質の輸送に GPI 糖鎖リモデリングが重要であることを発見した研究成果が、日刊工業新聞(2009年10月16日)、日経産業新聞(2009年10月16日)、読売新聞(2009年10月26日)、科学新聞(2009年10月30日)に掲載された。

鈴木グループ

科学技術振興機構: 戦略的創造研究推進事業 個人型研究「さきがけ」から タイムシグナルと制御領域 『小胞体タンパク質品質管理機構に関わる PNGase の構造と機能』の紹介 科学新聞 (2005年11月4日)

糖質研究の阪大 21世紀 COE 特任助教授に採用されて 科学新聞 (2006年1月13日)

菅原一幸 : 日経産業新聞平成18年12月4日記事「北大次世代ポストゲノム研究センター」

三善グループ

下記の論文の内容を中心とした、これまでの癌とフコースに関する研究が評価され、朝日新聞の科学欄に掲載。

Moriwaki K, Noda K, Furukawa Y, Oshima K, Uchiyama A, Nakagawa T, Taniguchi N, Daigo Y, Nakamura Y, Hayashi N, **Miyoshi E.** (2009) Deficiency of GMD leads to escape from NK cell-mediated tumor surveillance through modulation of TRAIL signaling. *Gastroenterology* **137**(1), 188-198.



(6)成果展開事例

① 実用化に向けての展開

該当無し

② 社会還元的な展開活動

太山グループ

- 本研究成果をインターネット(URL; <http://www.med.hirosaki-u.ac.jp/~uro/>)で公開し、一般に情報提供している。

§6 研究期間中の主な活動(ワークショップ・シンポジウム等)

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2005/10/13	移植医療研究センタープロジェクトミーティング	弘前	60	血液型糖鎖抗原の発現と移植免疫に関するセミナー
2005/11/18	糖鎖の動態-機能相関への統合的アプローチ 第一回研究進捗報告会	大阪大学	20	木下チーム内ミーティング
2006/1/30	臨床糖鎖研究会	弘前	40	糖鎖研究の臨床応用を目指して、基礎研究者と臨床家の交流を目的とする
2006/8/25, 26	糖鎖の動態-機能相関への統合的アプローチ 第2回研究進捗報告会	東北薬科大学	25	木下チーム内ミーティング
2007/1/30 ~2/2	Japan-Switzerland 2 <sup>nd</sup> Joint Seminar "Synthesis and trafficking of glycolipids"	つくば	70	日本学術振興会 2国間セミナー (日本-スイス2国間セミ)

	and glycolipid-anchored proteins”			ナー)
2007/3/8	臨床糖鎖研究会	弘前	50	基礎と臨床の交流の場
2007/8/3, 4	糖鎖の動態-機能相関への統合的アプローチ 第3回研究進捗報告会	佐賀大学	20	木下チーム内 ミーティング
2007/11/5, 6	第2回メタボロームシンポジウム	東京大学医学部鉄門講堂	250	メタボロームに関する研究発表
2008/3/27	臨床糖鎖研究会	弘前	40	基礎と臨床の交流の場
2008/5/16	第56回質量分析総合討論会	つくば	200	シンポジウム「医用分野における質量分析」
2008/9/4, 5	糖鎖の動態-機能相関への統合的アプローチ 第4回研究進捗報告会	東京大学	25	木下チーム内 ミーティング
2008/9/25, 26	第33回医用マスマスベクトロメリー学会年会	東京大学医学部鉄門講堂	260	質量分析の医療分野への応用に関する研究発表
2009/3/5	臨床糖鎖研究会	弘前	30名	糖鎖研究における基礎と臨床の交流の場
2009/12/7, 8, 9, 10	The 7th UPPSALA Conference on ECD & ETD	奈良県新公会堂	100名	糖鎖を含むイオン開裂新技術に関する国際会議
2010/1/19	糖鎖の動態-機能相関への統合的アプローチ 最終研究報告会	理化学研究所	25名	木下チーム内 ミーティング

コメント [PO1]: 私が組織委員長です。

## §7 結び

各研究グループそれぞれ、当初目標をほぼ達成したと自己評価している。138件の原著論文が国際誌に発表されたが、その内訳は、Cell (IF 31.2) 1件, Nat Med (IF 27.5) 2件, Nat Cell Biol (IF 17.7) 1件, N Eng J Med (IF 50.0) 1件, PNAS (IF 9.3) 4件, J Cell Biol (IF 9.1) 1件, Mol Biol Cell (IF 5.5) 3件, J Biol Chem (IF 5.5) 36件, Glycobiology (IF 4.4) 18件, Gastroenterology (IF 12.5) 1件, Anal Chem (IF 5.2) 3件、ほか67件であり、多数の論文が、糖鎖科学、生化学、細胞生物学等の、一定レベル以上のジャーナルに発表され、チーム全体としても、質量ともに合格点がつけられると自己評価している。

全グループが集まり、進捗報告と討論を行うミーティングを毎年、どこかのグループの研究室で行った。これらの会を通じ、グループ間の共同研究の気運が高まり、また、専門的なアドバイスを獲得する機会が持てた。結果的に、チーム内の共同研究が活発に行われたことは、大変有意義であった。原著論文(国際誌) 134件中17件がグループ間の共同研究の成果であった。特に、田口良グループのGPIアンカーの質量分析、和田グループの糖タンパク質の質量分析に関するトップレベルの技術とノウハウが、木下、大山、顧グループの課題の推進に必須な役割を果たしたことは、本CRESTチームの大きな特徴である。CREST事業にとって重要なことは、田口良、和田グループにおいて、本CREST経費で採用された研究員たちが、同じチームからのサンプルを担当することでモチベーションが高まり、質の高い成果につながったと考えられる事である。

先天性GPIアンカー欠損症の治療原理を発見し実施されたこと、前立腺ガンマーカーであるPSAの特異性を高める糖鎖構造の根拠を見出したこと、膵ガンマーカーであるフコシル化ハプトグロビンの研究用に開発したELISAキットが臨床応用できる可能性があることなど、本チームの基礎

コメント [PO2]: すみません、入れておいて下さい。分析化学分野トップのACSジャーナルですので。

研究の成果が、実際に治療に生かされたし、今後さらに臨床研究そして臨床に生かされていくと期待される。



大山グループ



木下グループ