

アレイを組み合わせることで、がんの分子生物学的特徴を把握するための reverse genetics にもとづく新規解析システムの構築が可能となった。このシステムは独創性が高く、がん関連遺伝子の機能を培養細胞レベルで迅速に把握し、その解析結果をがんの分子基盤を解明するために役立てることが期待できる。

ラット ES 細胞の樹立は、マウスとは異なる全く新しいがんのモデル動物の作製に結びつく可能性がある。今後は樹立したラット ES 細胞を用いたキメララット作製およびラット胚操作の技術確立への展開をはかることが必要だと考える。

E. 結論：

マウス ES 細胞、霊長類のカニクイザル ES 細胞などから単層培養のみで肝細胞を分化誘導する系を世界に先駆けて開発した。ヒト肝臓がんの特異的に発現の変化する遺伝子群の完全長 cDNA はすでにクローニングされたものを準備完了した。siRNA ライブラリーの作成にも着手している。さらに幹細胞への遺伝子導入と迅速な機能解析に最適な独自のセルトランスフェクションアレイ解析技術も本研究用に整備した。また 3 系統のラット胚盤胞から ES 細胞をそれぞれ樹立する方法を検討し、幹細胞として

の性質を明らかにした。

F. 健康危惧情報：

本実験計画においては、倫理に関わるようなヒトに関する材料、受精卵等は全く扱うことはない。また、動物の操作は、すべて国立がんセンター研究所動物倫理委員会の定める規則に基づいて行われた。

G. 研究発表：

1. 論文発表

1). Teratani T, Yamamoto H, Aoyagi H, Sasaki H, Quinn G, Sasaki H, Asari A, Terada M, Ochiya T. Direct hepatic fate specification from embryonic stem cells. **Hepatology**, in press.

2). Honma K, Miyata T, and Ochiya T. Atelocollagen-based cell transfection array allows high-throughput screening of gene functions and drug discovery. **Current Drug Discovery Technologies**,1: 287-294, 2004.

3). Teratani T, Quinn G, Yamamoto Y, Sato T, Yamanokuchi H, Asari A, and Ochiya T. Long-term maintenance of liver-specific functions in cultured ES cell-derived hepatocytes with hyaluronan sponge. **Cell Transplant.**, in press.

4). Sasaki H, Hirai K, Yamamoto Y, Tanooka H, Sakamoto H, Iwamoto T, Takahashi T, Terada M, Ochiya T. HST-1/FGF-4 plays critical role in crypt cell

survival and facilitates epithelial cell , 23: 3681-3688, 2004.

5). Minakuchi Y, Takeshita F, Kosaka N, Sasaki H, Yamamoto T, Kouno M, Honma K, Nagahara S, Hanai K, Sano A, Kato T, Terada M, Ochiya T. Atelocollagen-mediated delivery of synthetic small interfering RNA for effective gene silencing *in vitro* and *in vivo*. **Nucleic Acids Res.**, 32: e109, 2004.

6). Hirai K, Sasaki H, Yamamoto H, Sakamoto H, Kubota Y, Kakizoe T, Terada M, Ochiya T. HST-1/FGF-4 protects male germ cells from apoptosis under heat-stress condition. **Exp Cell Res.**, 294: 77-85, 2004.

7). Kai E, and Ochiya T. A method for oral DNA delivery with N-acetylated chitosan. **Pharm Res.**, 21:838-843, 2004.

8). Hanai K, Kurokawa T, Minakuchi Y, Maeda M, Nagahara S, Miyata T, Ochiya T, and Sano A. Potential of atelocollagen-mediated systemic antisense therapeutics for inflammatory disease. **Hum Gene Ther.**, 15: 263-272, 2004.

9). Nakamura M, Ando Y, Nagahara S, Sano A, Ochiya T, Maeda S, Kawaji T, Ogawa M, Hirata A, Terazaki H, Haraoka K, Tanihara H, Ueda M, Uchino M, and Yamamura K. Targeted conversion of the transthyretin gene *in vitro* and *in vivo*. **Gene Ther.**, 11: 838-846, 2004.

10). Ochiya T, Quinn G, Yamamoto Y,

restitution and proliferation. **Oncogene**

Teratani T. Liver cells from embryonic stem cells. In: **Pediatric Gastroenterology 2004-Reports from the 2nd World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition.** Italy, Medimond S.r.l., pp187-193, 2004.

2. 学会発表

1) siRNAによるアンドロゲン非依存性前立腺がん細胞の増殖抑制、第63回日本癌学会（福岡）竹下ら（口演）

2) Atelocollagen-based Cell Transfection Arrayによるがん関連遺伝子の解析、第63回日本癌学会（福岡）本間ら（口演）

3) ES細胞の肝細胞分化及び成熟化を制御する分化メカニズムの解析、第27回日本分子生物学会（神戸）山本ら（ポスター）

4) ヒト間葉系幹細胞由来肝細胞の新たな展開、第4回日本再生医療学会シンポジウム（大阪）指定講演 落谷孝広

5) 2nd WORLD CONGRESS OF PEDIATRIC

GASTROENTEROLOGY, HEPATOLOGY AND NUTRITION,

Paris, July 3-7, 2004 Ochiya T.

Stem Cell Biology of the Liver: Liver Cells form ES Cells. 招待講演

- 6) WORLD CONFERENCE ON DOSING OF ANTIINFECTIVES, Nurnberg, Germany, September 9-11, 2004 Ochiya T. Efficient inhibition of inflammatory disease and cancer by atelocollagen-mediated siRNA delivery. 招待講演
- 7) 立身体障害者リハビリテーションセンター創立25周年記念シンポジウム 落谷孝広 講演：組織再生におけるアテロコラーゲン遺伝子医薬導入技術の応用
- 8) 5回生体組織工学研究会 シンポジウム 落谷孝広：胚性幹細胞の肝細胞分化制御と再生医療、肝組織再構築への展望
- 9) 3回遺伝子治療国際シンポジウム（大阪）講演 Ochiya T. Atelocollagen-based siRNA transfer in cells allows high-throughput screening of gene functions
- 10) 国立感染症研究所・学友会シンポジウム：テクノロジーの進化と感染症研究の展望 講演 落谷孝広
- 利用」特許出願番号2005-042364
EPC出願準備中
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

H. 知的財産の出願・登録状況

1. 特許取得

出願中：「ヒト肝細胞様細胞及びその

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書

蛋白質リン酸化を介する運動能・接着能の調節機構とその分子経路の解明

分担研究者 堀 隆一 国立がんセンター研究所 細胞増殖因子研究部 部長

研究要旨 骨肉腫細胞株 Hu09 の亜株群を用いて、その転移能に関わるチロシンリン酸化蛋白質の探索を行った。その結果、高転移能を有する細胞群で細胞接着斑に集積する分子パキシリンの過剰発現及びチロシンリン酸化亢進を見いだした。Src ファミリーのキナーゼ Fyn とパキシリンを共発現させるとこの細胞株の運動能は相乗的に増加し、逆に RNAi によりパキシリン発現を抑制すると運動能が下がることにより、細胞の転移能における Fyn とパキシリンの協調作用が明らかになった。また神経芽腫細胞においては、神経特異的ドッキング分子 ShcC のチロシンリン酸化が著明であるが、正常型 ShcC の過剰発現によりヌードマウスの造腫瘍能や足場非依存性増殖能に対し著明な抑制効果を持つことが明らかになった。足場非依存性獲得に対応して Src ファミリーキナーゼの浮遊細胞状態での活性化が見られたが、ShcC が同時にこの Src ファミリーの活性化も抑制することが示された。このような ShcC の腫瘍に対する抑制的な作用は SH2 ドメインを欠損した ShcC では見られず、SH2 ドメインを介した新規の作用であることが示唆された。

A. 研究目的

腫瘍の進行に伴いチロシンキナーゼの活性化がしばしば観察されるが、特に Src チロシンキナーゼの活性化は腫瘍の足場非依存性増殖能や転移能獲得などにつながる事が示唆されている。リン酸化蛋白質の網羅的解析及び既知の蛋白質のリン酸化状態の観察という2種類のアプローチを用いて、キナーゼ基質の伝える腫瘍シグナルを解析することにより、チロシンキナーゼによる腫瘍のアポトーシス阻害や転移能亢進のメカニズムを詳細に明らかにする事を本研究の目的とする。

B. 研究方法

(1) 骨肉腫細胞の接着能、運動に関わるチロシンリン酸化蛋白質の解析

国立がんセンター研究所で樹立された骨肉腫細胞株 Hu-09 は、高転移群、低転移群の亜株がそれぞれ複数樹立されており、二群の間には細胞運動能や接着能に大きな違いがある。この骨肉腫細胞の運動能や接着能を制御している鍵となる分子を、それぞれの細胞群のチロシンリン酸化蛋白質の解析により明らかにする。ウエスタンブロット、キナーゼアッセイ、細胞免疫染色などの手法を用いてこれらの蛋白質のリン酸化に関わるチロシンキナーゼキナーゼを推定するとともに、過剰発現や RNAi による発現抑制の系を用いてこれらの分子の接着・運動能への関わりを明らかにする。

(2) 神経芽腫進展における ShcC の役割

ShcC ドッキング蛋白質は、正常組織では神経系に特異的に発現を認め、固形腫瘍では神経芽腫を中心とする神経系腫瘍細胞株の多くで発現のみならず顕著なチロシンリン酸化を認める。ShcC の神経芽腫に対する作用を詳細に検討するため、ShcC の全長及びその変異体を、神経芽腫細胞に発現させた安定株を樹立し、増殖能、運動能、足場非依存性などの腫瘍特性に対する生物学的影響を解析すると同時に、下流シグナルや Src ファミリーの活性などの影響を生化学的に解析する。腫瘍における役割がこれまで解析されてきた ShcA と ShcC の間でどのように異なるかを明らかにするとともに、ShcC のシグナルを介して神経芽腫の進展を抑制するモデルを樹立する。

ヒト試料の解析研究を行うにあたっては国立がんセンターの倫理委員会の承認を得、資料等の提供者、その家族・血縁者その他関係者の人権及び利益の保護の取り扱いについて充分配慮する。動物実験は国立がんセンター研究所の動物委員会の定める動物実験倫理規定に従って、動物愛護の観点から動物の生命の尊重と苦痛をともなう実験への十分な配慮のもとに、慎重に進めている。

C. 研究結果

細胞の転移能の異なる同系の骨肉腫細胞株についてのチロシンリン酸化の異なる蛋白質を解析したところ、転移性の骨肉腫細胞において著明にチ

ロシリン酸化が亢進している 70kD の蛋白質はバキシリンであった。バキシリンは発現レベルチロシリン酸化レベルとも亢進していた。また同じく Src キナーゼの基質として知られる 130kD の Cas 蛋白質もチロシリン酸化の亢進した蛋白質として検出された。これらの細胞における Src ファミリーのキナーゼ活性は上昇しており、Fyn の自己リン酸化の上昇が観察された。RNAi により高転移性の腫瘍株のバキシリンの発現量を抑制すると細胞の運動能も抑制された。逆に低転移群の細胞にバキシリンを過剰発現すると、細胞の運動能が亢進したが、3ヶ所のリン酸化部位をアラニンに置換した変異体ではこのような効果は見られなかった。さらに Fyn とバキシリンを共発現させると細胞運動能が相乗的に増加し、Fyn を介したバキシリンのリン酸化が骨肉腫細胞の運動を制御していると考えられた。

神経芽腫における ShcC の役割の解析では、ShcC の Grb2 結合部位である 3 箇所のチロシンをフェニルアラニンに置換したドミナントネガティブ型を過剰発現する細胞株では、細胞増殖能に有意な変化が見られない一方で、Erk 経路や PI3K-Akt 経路が抑制されており、細胞運動能・浸潤能の低下やレチノイン酸による分化誘導後の突起形成能の消失などが認められた。一方、正常型 ShcC の過剰発現によりヌードマウスの造腫瘍能や足場非依存性増殖能に対し著明な抑制効果を持つことが明らかになった。同時に ShcC が神経芽腫細胞の浮遊状態における Src ファミリーの活性を著明に抑制することが示された。このような ShcC の腫瘍に対する抑制的な作用は SH2 ドメインを欠損した ShcC では見られず、SH2 ドメインを介した新規の作用であることが示唆された。

D. 考察

腫瘍進行や転移に伴うチロシンキナーゼの活性化は広く認められているが、一般にチロシンキナーゼの活性化は多くの蛋白質のリン酸化を引き起こすため、実際どの下流シグナルがチロシンキナーゼ活性化の情報を受け渡すのかについては整理された情報が未だ得られていない。今回、腫瘍細胞の転移能・足場非依存性増殖能などの特性異常が、バキシリンや ShcC などのキナーゼ基質を介したシグナルで制御されていることを明らかにしたことにより、正常細胞においてはインテグリンを

介した細胞外基質との接着情報を伝える分子や、増殖因子受容体にコントロールされる細胞増殖情報を伝える分子の、リン酸化制御の破綻が腫瘍の無秩序な増殖や転移をもたらすと考えることが出来る。これまで特に足場非依存性増殖能に関しては PI3 キナーゼ-Akt 経路の重要性が強調されてきたが、新たにこのような分子の恒常的なチロシリン酸化のもたらすシグナルをブロックすることによって腫瘍の異常な特性のみを効果的におさえられる可能性がある。

E. 結論

これまでの研究結果より、悪性黒色腫における Fyn-コルタクチン経路、骨肉腫における Fyn-バキシリン経路といった、腫瘍の組織系に対応した特定のチロシンキナーゼと基質の組み合わせがその細胞の運動能・浸潤能に関わっていることが明らかになってきている。このチロシンキナーゼと基質の結合を阻害するあるいは基質のリン酸化部位をマスクするような分子は、キナーゼ活性化が伝える多くのシグナルのうち特定のものを特異的にブロックするため転移・浸潤といった腫瘍の特性に照準を合わせた治療に応用可能であると考えられる。実際の転移浸潤のプロセスには、癌細胞の足場非依存性増殖能、接着能を含む多くの特性が影響を与える可能性があるため、マウスの尾錠脈注射による転移能の測定やウイルスベクターを併用した局所発現で既存の腫瘍組織に対する効果などのデータをとっていくことが必須である。この方向で進めることによりキナーゼ阻害薬などよりさらに特異的な分子標的治療薬の開発にも結びつくものと期待する。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Tanaka, M., Ohashi, R., Nakamura, R., Shinmura K., Kamo, T., Sakai, R. and Sugimura, H. Tiam1 mediates neurite outgrowth induced by ephrin-B1 and EphA2. *EMBO J* 23, 1075-1088, 2004

Azuma, K., Horie K., Inoue, S., Ouchi, Y. and Sakai, R. Analysis of estrogen receptor alpha signaling complex at the plasma membrane. *FEBS Lett.* **577**, 339-344, 2004

Miyamoto, Y., Chen, L., Sato, M., Sokabe, M., Nabeshima, T., Pawson, T., Sakai, R. and Mori, M. Hippocampal synaptic modulation by the phosphotyrosine adapter protein ShcC/N-Shc via interaction with the NMDA receptor. *J. Neurosci.* **25**, 1826-1835, 2005

Miyake, I., Hakomori, Y., Musu, Y., Nakadate, H., Matsuura, N., Sakamoto, M and Sakai, R. Domain-specific function of ShcC docking protein in neuroblastoma cells. *Oncogene* 2005 in press

Azuma, K., Tanaka, M., Uekita, T., Inoue, S., Yokota, J., Ouchi, Y. and Sakai, R. Tyrosine phosphorylation of paxillin affects the metastatic potential of human osteosarcoma. *Oncogene* 2005 in press

Osajima-Hakomori, Y., Miyake, I., Ohira, M., Nakagawara, A., Nakagawa, A. and Sakai, R. Biological role of anaplastic lymphoma kinase in neuroblastoma. *Am. J. Pathol.* 2005 in press

2. 学会発表

Tanaka, M., Kamata R., and Sakai, R. "Involvement of Eph receptor tyrosine kinase and ephrin ligand in the regulation of cell-to-cell adhesion by interaction with claudins" 6th Joint Conference of the American Association for Cancer Research and the Japanese Cancer Association, Waikoloa, Hawaii Jan. 2004

Sakai, R., Miyake, I., Hakomori, Y. and Asawa, T. "Biological roles of hyperphosphorylated ShcC docking protein in neuroblastoma cells." 11th conference of Advances in Neuroblastoma Research, Genova, Italy, 2004

田中正光、鎌田礼子、堺隆一「Eph 受容体/Ephrin による細胞接着制御の解析」第63回日本癌学会総会、博多、2004年

東浩太郎、田中正光、井上聡、横田淳、大内尉義、堺隆一「骨肉腫細胞の転移性に関わる Paxillin のチロシンリン酸化亢進」第63回日本癌学会総会、博多、2004年9月

堺隆一、三宅 泉、笈島 裕子、浅輪珠恵「神経芽腫におけるドッキング分子 ShcC のリン酸化の意味」第20回日本小児癌学会、京都、2004年11月

H. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

細胞接着糖鎖を介する運動能・接着能・血管新生能の調節機構と その分子経路の解明

分担研究者 神奈木 玲児 愛知県がんセンター・研究所分子病態学部・部長

研究要旨：血行性転移においてがん細胞が血管内皮に接着する際にセレクチンファミリーの接着分子が重要な役割を演じる。がんの悪性度の増大に伴い、セレクチンの特異的なリガンドであるシアリルルイス x 糖鎖やシアリルルイス a 糖鎖の発現が亢進する。本年度我々は、シアリルルイス x/a 糖鎖の発現が、細胞を低酸素状態で培養することによって誘導されることを発見した。低酸素抵抗性の獲得は進行がんにおいてがんのプログレッションを起こす要因のひとつであり、がん細胞は転写因子 HIF (hypoxia-inducible factor) の恒常的発現によって低酸素抵抗性を獲得する。DNAマイクロアレイの結果から HIF は一連の糖鎖関連遺伝子の転写を誘導し、その結果シアリルルイス x/a 糖鎖の発現が亢進する事が明らかになった。また今回見出された低酸素で転写が誘導される一連の糖鎖関連遺伝子はいずれも実際の患者がん組織でも正常粘膜に比べて転写が増大しており、新規腫瘍マーカーの候補と考えられた。

A. 研究目的

がん細胞の浸潤・転移においては細胞接着分子が重要な役割を演じる。本研究では悪性細胞における細胞接着糖鎖の発現亢進をもたらす遺伝子発現調節機構とその分子経路を明らかにする。がんにおける細胞接着糖鎖の発現異常は、血管外浸潤・血行性転移および腫瘍血管形成に関与しており、こうした糖鎖異常を導く機構を遺伝子レベルから明らかにすることによって、細胞の分化・がん化のバイオマーカーとなる新たな糖鎖分子を同定し、適切な浸潤・転移の検出法や防止法を樹立することを目指す。

本年度は特にがん細胞と血管内皮細胞との接着を誘導するセレクチンの糖鎖リガンドに焦点を合わせる。その生理的意義と機能を明らかにする。セレクチンの糖鎖リガンドには、CA19-9(シアリルルイス a 系糖鎖)や SLX・NCC-ST-439(シアリルルイス x 系糖鎖)などすでにがんの臨床診断において腫瘍マーカーとして用いられている糖鎖が含まれており、この物質の生理的意義と機能の解明は、がんの診療上も大きな意義をもつと考えられる。細胞のがん化に伴い、

シアリルルイス x 糖鎖やシアリルルイス a 糖鎖の発現が亢進する。本年度はがん細胞でシアリルルイス x 糖鎖やシアリルルイス a 糖鎖の発現亢進をもたらす機構とその分子生物学的背景について検索した。

B. 研究方法

がん細胞が増殖すると血液の供給が不足がちとなり、がん病巣は低酸素状態となる。低酸素状態におちいったがん病巣では、遺伝子変異の結果、hypoxia inducible factor (HIF) という転写因子のレベルが高止まり状態になって低酸素抵抗性が強くなったがん細胞だけが生き残り、これによりがん細胞のいっそうの悪性化が進行する。このように、低酸素抵抗性の獲得は進行がんにおいてがんのプログレッションを起こすひとつの大きな要因である。そこで我々は、低酸素(1% O₂)下で上皮細胞を培養することによって、細胞表層にシアリルルイス x 系糖鎖やシアリルルイス a 系糖鎖の発現が誘導されるかどうかを検索した。

また、低酸素によって発現が増加する糖鎖について、その増加の分子生物学的背景

を明らかにするために、低酸素によって転写が誘導される遺伝子をDNAマイクロアレイおよびRT-PCR法にて検索した。DNAマイクロアレイによって低酸素発現誘導が明らかになった遺伝子については、その背景に転写因子HIF (hypoxia-inducible factor)が働いているかどうかを検索した。またその転写増大が、実際の臨床例においても引き起こされているかどうかを明らかにするため、大腸がん臨床例20例についてリアルタイムRT-PCR法によりその転写発現を測定した。

(倫理面への配慮)

研究に使用する臨床材料は、材料を得る各施設での倫理委員会を経たものを用いた。

C. 研究結果

1) 低酸素によるシアリルルイス x およびシアリルルイス a 糖鎖の発現亢進

低酸素下で上皮細胞を培養することによって、細胞表層にシアリルルイス x 系糖鎖やシアリルルイス a 系糖鎖の発現が誘導されることが判明した。この発現誘導は可逆的であり、細胞を正常酸素濃度に戻して培養するとこれらの糖鎖は消退した。このとき低酸素によって転写が誘導される遺伝子をDNAマイクロアレイおよびRT-PCR法にて検索したところ、糖鎖発現に深く関連する遺伝子として四種の遺伝子(*FUT7*, *ST3O*, *UGT1*, *GLUT1*)が得られた。これらの遺伝子の5'調節領域についてluciferaseを用いたリポーターアッセイを行ったところ、低酸素による転写誘導が認められた。この転写誘導は、リポーターアッセイにおいて転写因子HIFのドミナントネガティブ体の同時移入によって阻害されたことから、HIFの下流で起こっていることが明らかになった。

2) 糖鎖および細胞接着関連の遺伝子を用いた大腸がん診断の試み

上記の四種の遺伝子の転写は大腸がん患者20例の手術材料から採取したがん組織においても、非がん部粘膜に比して統計的に有意に増加していた(*FUT7*, $p < 0.0002$; *ST3O*, $p < 0.0001$; *UGT1*, $p < 0.02$; *GLUT1*,

$p < 0.0005$, いずれも $n=20$)。これらの遺伝子の転写増大は、Dukes A, Bよりも、Dukes C, Dの進行期患者において著明であった。上皮細胞を低酸素下で培養すると上記のほか細胞接着分子の遺伝子*SDC4*, *ITGA5*が有意に増加していたが、これらも実際の患者の手術材料から採取したがん組織においても有意に増加していた(*SDC4*, $p < 0.0001$; *ITGA5*, $p < 0.002$, いずれも $n=20$)。

D. 考察

シアリルルイス x およびシアリルルイス a 糖鎖はがんの早期に発現誘導され、その後もがんのプログレッションに伴ってさらに亢進する。がんの早期におけるシアリルルイス x およびシアリルルイス a 糖鎖の発現誘導は、いわゆる「糖鎖合成不全」の機構によることを我々は以前より提唱している。今年度の成果は、進行がんにおいて起こる、がんのプログレッションに伴うシアリルルイス x およびシアリルルイス a 糖鎖発現のさらなる亢進の背景にある分子機構であると位置づけられる。

今年度の成果は、低酸素抵抗性を獲得した、より悪性度の高いがん細胞では、必然的にシアリルルイス x およびシアリルルイス a 糖鎖が強く発現することを示す。これらの糖鎖が進行がんの血行性転移を媒介することとなる。このことから、治療にはHIFが重要なターゲット分子であると考えられる。また、これらの糖鎖の合成に関与する一連の遺伝子は実際の患者がん組織でも増加しており、がんの分子診断の良いターゲットであると考えられる。

E. 結論

低酸素抵抗性の獲得はがんのプログレッションを起こすひとつの大きな要因であり、がん細胞は主として転写因子HIFの恒常的発現によってこの低酸素抵抗性を獲得する。本年度の成果から、転写因子HIFの恒常的発現は一連の糖鎖関連遺伝子の転写を誘導し、その結果、シアリルルイス a/x 糖鎖の発現が亢進する事が明らかになった。す

なわち、低酸素抵抗性を獲得して悪性度の増大したがん細胞は、必然的にシアリルルイス a/x 糖鎖を強発現するようになる。また今回見出された低酸素で転写が誘導される遺伝子はいずれも実際の患者がん組織でも転写が増大しており、新規腫瘍マーカーの候補であると考えられた。

F.健康危険情報

現在のところ、特記すべきものはありません。

G.研究発表

1.論文発表

1. Koike, T., Kimura, N., Miyazaki, K., Yabuta, T., Kumamoto, K., Takenoshita, S., Chen, J., Kobayashi, M., Hosokawa, M., Taniguchi, A., Kojima, T., Ishida, N., Kawakita, M., Yamamoto, H., Takematsu, H., Kozutsumi, Y., Suzuki, A., and Kannagi, R. Hypoxia induces adhesion molecules on cancer cells—a missing link between Warburg effect and induction of selectin ligand carbohydrates. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**: 8132-8137, 2004.
2. Miyazaki, K., Ohmori, K., Izawa, M., Koike, T., Kumamoto, K., Furukawa, K., Ando, T., Kiso, M., Yamaji, T., Hashimoto, Y., Suzuki, A., Yoshida, A., Takeuchi, M., and Kannagi, R. Loss of disialyl Lewis^x, the ligand for lymphocyte inhibitory receptor Siglec-7, associated with increased sialyl Lewis^x expression on human colon cancers. *Cancer Res.*, **64**: 4498-4505, 2004.
3. Kannagi, R., Izawa, M., Koike, T., Miyazaki, K., and Kimura, N. Carbohydrate-mediated cell adhesion in cancer metastasis and angiogenesis. *Cancer Sci.*, **95**: 377-384, 2004.
4. Kannagi, R., Goto, Y., and Fukui, F. In search of the carbohydrate structures on CD44 critical for hyaluronic acid binding - roles of sialylation and sulfation. *Trends Glycosci. Glycotechnol.*, **16**: 211-223, 2004.
5. Kannagi, R. Molecular mechanism for cancer-associated induction of sialyl Lewis X and sialyl Lewis A expression - the Warburg effect revisited. *Glycoconjugate J.*, **20**: 353-364, 2004.
6. Suzuki, A., Yoshioka, S., Sekine, M., Yonekawa, H., Takenaka, M., and Kannagi, R. Core 2 GlcNAc transferase and kidney tubular cell-specific expression. *Glycoconjugate J.*, **20**: 151-156, 2004.
7. Hirata, T., Furukawa, Y., Yang, B.G., Hieshima, K., Fukuda, M., Kannagi, R., Yoshie, O., and Miyasaka, M. Human PSGL-1 interacts with the skin-associated chemokine CCL27 via sulfated tyrosines at the PSGL-1 amino terminus. *J. Biol. Chem.*, **279**: 51775-51782, 2004.
8. Itano, N., Sawai, T., Atsumi, F., Miyaishi, O., Taniguchi, S., Kannagi, R., Hamaguchi, M., and Kimata, K. Selective expression and functional characteristics of three mammalian hyaluronan synthases in oncogenic malignant transformation. *J. Biol. Chem.*, **279**: 18679-18687, 2004.
9. Kakizaki, I., Kojima, K., Takagaki, K., Endo, M., Kannagi, R., Ito, M., Maruo, Y., Sato, H., Yasuda, T., Mita, S., Kimata, K., and Itano, N. A novel mechanism for the inhibition of hyaluronan biosynthesis by 4-methylumbelliferone. *J. Biol. Chem.*, **279**: 33281-33289, 2004.
10. Uchimura, K., Kadomatsu, K., El-Fasakhany, F.M., Singer, M.S., Izawa, M., Kannagi, R., Takeda, N., Rosen, S.D., and Muramatsu, T. N-acetylglucosamine 6-O-sulfotransferase-1 regulates expression of L-selectin ligands and lymphocyte homing. *J. Biol. Chem.*, **279**: 35001-35008, 2004.

2.学会発表

1. 神奈木玲児: 細胞における糖鎖発現の

- 制御機構とがん転移. 第13回日本がん転移学会総会, シンポジウム「遺伝子から見たがん転移研究の現状と将来」(西條長宏, 佐谷秀行 司会), 東京, 6月10-11日, 2004.
2. Kannagi R: Sialoconjugates involved in cell-cell interactions. Sapporo Sphingolipid Symposium, Chaired by Igarashi, Y., Sapporo, Japan, July 21 - 23, 2004.
 3. Kannagi R: Regulation of gene expression in carbohydrate-mediated cell-cell interactions. 2004 Glycolipid and Sphingolipid Biology Gordon Conference, Chaired by Suzuki, A. and Futerman, T., SPring-8, Hyogo, Japan, July 25-30, 2004.
 4. 神奈木玲児: 糖鎖性腫瘍マーカーの機能解析と発現機序. 第24回日本分子腫瘍マーカー研究会, 特別シンポジウム: 「分子腫瘍マーカーの新展開」(司会: 大倉久直, 今井浩三) 福岡, 9月28日, 2004.
 5. 隈元謙介, 藪田智範, 小池哲史, 石田信宏, 川喜田正夫, 竹之下誠一, 神奈木玲児: 大腸癌における転移性糖鎖抗原の発現機構. 第13回がん転移研究会, 東京, 6月10-11日, 2004.
 6. 小池哲史, 木村尚子, 宮崎敬子, 井澤峯子, 藪田智範, 隈元謙介, 竹之下誠一, 小嶋哲人, 小林正伸, 細川真澄夫, 神奈木玲児: 低酸素によるがん細胞の接着分子発現の転写誘導機構. 第13回がん転移研究会, 東京, 6月10-11日, 2004.
 7. 小池哲史, 陳 国云, 八尾村多佳朗, 宮崎敬子, 井澤峯子, 藪田智範, 隈元謙介, 竹之下誠一, 陳 健, 小林正伸, 神奈木玲児: 低酸素による癌細胞におけるセレクトインの糖鎖リガンド発現誘導とその機構. 第63回日本癌学会総会, 福岡, 9月29日-10月1日, 2004.
 8. 宮崎敬子, 陳 国云, 大森勝之, 井澤峯子, 古川鋼一, 山地俊之, 橋本康弘, 鈴木明身, 神奈木玲児: 上皮細胞癌化にともなう腫瘍マーカー糖鎖シアリルルイス a のエピジェネティックな発現誘導機構. 第63回日本癌学会総会, 福岡, 9月29日-10月1日, 2004.
 9. 井澤峯子, 宮崎敬子, 大森勝之, 辻村邦夫, 石田廣次, 中村栄男, 山地俊之, 橋本康弘, 鈴木明身, 神奈木玲児: シアリルルイス a 関連糖鎖を認識するシアリル酸結合タンパク質Siglec-7発現リンパ球の消化管粘膜における選択的出現. 第63回日本癌学会総会, 福岡, 9月29日-10月1日, 2004.
 10. 木村尚子, 井澤峯子, 後藤嘉子, 橋本彩子, 殷 軍, 北島 健, 加藤宏一, 森山昭彦, 神奈木玲児: セレクトインリガンド, シアリル6-スルホ糖鎖の合成酵素のがん特異性とシアリル酸部分の環状化反応. 第63回日本癌学会総会, 福岡, 9月29日-10月1日, 2004.
 11. 後藤嘉子, 殷 軍, 木村尚子, 小池哲史, 陳 国云, 宮崎敬子, 内藤裕子, 山口道成, 神奈木玲児: 悪性細胞表層の糖鎖発現のv-srcによる変動とその背景因子. 第63回日本癌学会総会, 福岡, 9月29日-10月1日, 2004.
 12. 上田 大, 後藤嘉子, 宮崎敬子, 小池哲史, 井澤峯子, 丁 剛, 中井 茂, 久 育男, 神奈木玲児: CD44を介したリンパ球の扁平上皮細胞への接着とホメオスタティック・ケモカインの特異的变化. 第63回日本癌学会総会, 福岡, 9月29日-10月1日, 2004.
 13. 河村由紀, 福永竜子, 川島麗, 神奈木玲児, 土肥多恵子: N-アセチルガラクトサミン転移酵素の導入によるヒト大腸癌細胞の血管内皮への接着抑制. 第63回日本癌学会総会, 福岡, 9月29日-10月1日, 2004.
 21. 柿崎育子, 児島 薫, 高垣啓一, 遠藤正彦, 神奈木玲児, 安田忠司, 三田知花, 木全弘治, 板野直樹: 4-メチルウンベリフェロンによるヒアルロン酸合成阻害の新しい機構. 第77回日本生化学会大会, 横浜, 10月12日-16日, 2004.
 22. Lisheng Zhuo, 金森審子, 神奈木玲児, 板野直樹, Jiwen Wu, Li Shen, 浜口道成,

- 石黒直樹、木全弘治: SHAPはCD44-ヒアルロン酸相互作用による細胞接着を増強する. 第77回日本生化学会大会, 横浜, 10月12日-16日, 2004.
23. 板野直樹、日比輝正、神奈木玲児、浜口道成、木全弘治: 癌の悪性形質転換と関連したヒアルロン酸合成酵素の発現上昇. 第77回日本生化学会大会, 横浜, 10月12日-16日, 2004.
 24. 岩田章子、佐藤ちひろ、安藤弘宗、木曾真、神奈木玲児、北島健: サイクリックシアル酸の化学的検出法の開発. 第77回日本生化学会大会, 横浜, 10月12日-16日, 2004.
 14. Kannagi R: Relationship between enhanced selectin-mediated cell adhesion and hypoxia-induced metabolic shift in human cancers. Joint meeting of the Japanese and American Consortia for Glycomics (Chaired by Paulson JC and Taniguchi N), Hawaii, November 21, 2004.
 15. Yagi H, Takahashi N, Yamaguchi Y, Kimura N, Kannagi R, Kato K.: Development of structural analyses of sulfated N-glycans by mass spectrometry and HPLC mapping. US/Japan Glyco 2004 (Joint meeting of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research, (President, M.E. Etzler) Hawaii, November 17-20, 2004.
 16. Wu P-X, Kimura N, Kannagi R, Sato T.: Synthesis of sulfated oligosaccharides by sulfotransferase-transfected ECV304 cells using saccharide primer and structure analysis by MALDI-TOF mass spectrometry. US/Japan Glyco 2004 (Joint meeting of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research, (President, M.E. Etzler) Hawaii, November 17-20, 2004.
 17. Uchimura K, Singer MS, Tsay D, Kado-matsu K, Kannagi R, Muramatsu T, Rosen SD.: GlcNAc 6-O-sulfotransferase (GlcNAc6ST)-1 and GlcNAc6ST-2 regulate late lymphocyte homing to lymph nodes. US/Japan Glyco 2004 (Joint meeting of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research, (President, M.E. Etzler) Hawaii, November 17-20, 2004.
 18. Iwata S, Sato C, Ando H, Kiso M, Kannagi R, Kitajima K.: Studies on chemical properties of cyclic sialic acid using their synthetic S- and O-glycosides as model compounds. US/Japan Glyco 2004 (Joint meeting of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research, (President, M.E. Etzler) Hawaii, November 17-20, 2004.
 19. Kakizaki I, Kojima K, Takagaki K, Endo M, Kannagi R, Yasuda T, Mita S, Kimata K, Itano N.: A novel inhibition mechanism of hyaluronan synthesis by 4-methylumbelliferone. US/Japan Glyco 2004 (Joint meeting of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research, (President, M.E. Etzler) Hawaii, November 17-20, 2004.
 20. Kyogashima M, Hara A, Aoyama T, Kannagi R.: Determination of sulfatides and complicated sulfated glycosphingolipids by MALDI-TOF MS. US/Japan Glyco 2004 (Joint meeting of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research, (President, M.E. Etzler) Hawaii, November 17-20, 2004.
 21. Takematsu H, Yamamoto H, Okuno Y, Kannagi R, Suzuki A, Kozutsumi Y.: DNA Microarray analysis of genes responsible for the expression of carbohydrate epitopes. US/Japan Glyco 2004 (Joint meeting of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research, (President, M.E. Etzler) Hawaii, November 17-20, 2004.
 22. 宮崎敬子、大森勝之、井澤峯子、木村尚子、山地俊之、神奈木玲児: 腸管粘膜上皮細胞のジシアロルイス糖鎖はITIMドメインを持つ複数の免疫抑制リ

Mドメインを持つ複数の免疫抑制リセプターの特異的リガンドである. 第34回日本免疫学会総会, 札幌, 12月 1日-3日, 2004.

23. 井澤峯子, 木村尚子, 内村健治, Fathy El-Fasakhany, 門松健治, 村松 喬, 田口修, 神奈木玲児: ナイーブTリンパ球のホーミングを媒介する高血管内皮細静脈L-セレクチンリガンドを合成する二種の硫酸基転移酵素の貢献-KOマウスを用いた検討. 第34回日本免疫学会総会, 札幌, 12月 1日-3日, 2004.

H.知的財産権の出願・登録状況
特にありません。