

厚生労働科学研究費補助金  
医療機器開発推進研究事業

シュガーチップを用いた検査・診断技術の開発

平成19年度 総括研究報告書

主任研究者 隅田 泰生

平成20年(2008年)4月

# 目 次

ページ

## I. 総括研究報告書

シュガーチップを用いた検査・診断技術の開発

隅田泰生（鹿児島大学大学院理工学研究科） ..... 1

## II. 分担研究報告書

リンカーおよび硫酸化オリゴ糖の合成、シュガーチップの作成ならびに SPR

および MLDI-TOF/MS 解析

隅田泰生（鹿児島大学大学院理工学研究科） ..... 13

糖尿病やその合併症診療への応用

片桐秀樹（東北大学大学院医学系研究科） ..... 22

シアル酸含有オリゴ糖鎖の合成

石田秀治（岐阜大学応用生物科学部） ..... 28

オリゴ糖を用いたウイルス感染症の診断技術の開発

奥野寿臣（兵庫医科大学病原微生物学） ..... 32

てんかん等の脳疾患への応用

加藤啓子（大阪府立大学生命環境科学研究科） ..... 35

糖鎖チップを用いた早期がん診断マーカー測定系の確立

奥 直人（静岡県立大学薬学部） ..... 38

ウイルス感染症(ATL)への応用：糖鎖を標的とした成人 T 細胞白血病の新規治療法開発

有馬直道（鹿児島大学大学院医歯学総合研究科） ..... 44

多チャンネル同時計測型局在プラズモン共鳴測定装置の開発

小川智央（株式会社モリテックス） ..... 47

## III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ..... 51

## IV. 研究成果の刊行物・印刷

# 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業）  
平成19年度 総括研究報告書

シュガーチップを用いた検査・診断技術の開発

主任研究者 隅田泰生 鹿児島大学大学院理工学研究科 教授

研究要旨

オリゴ糖鎖は生体内で多彩な機能を示し、生命現象に不可欠な役割を有する。分子レベル（ナノメートルスケール）で糖鎖の生理活性を解析することは非常に重要であるが、構造明確なオリゴ糖を十分量得ることは困難が伴う。また、オリゴ糖1分子の活性は弱く、生体内ではそれらが集合して働いている。これらの特徴を持つオリゴ糖鎖とその作用相手である蛋白質や細胞との結合相互作用の分子レベルでの迅速な解析に基づき、さらにナノテクノロジーを活用した新規診断技術確立することを目的として本研究を行った。即ち、我々独自の技術として糖鎖がリガンドとして固定されている「シュガーチップ」および「糖鎖固定化金ナノ粒子（SGNP と略）」（図1参照）を迅速な検査・診断や病原因子の解明といった先端医療技術の開発に応用した。

本年度は7名の分担研究者の協力のもと、以下の成果をあげた。

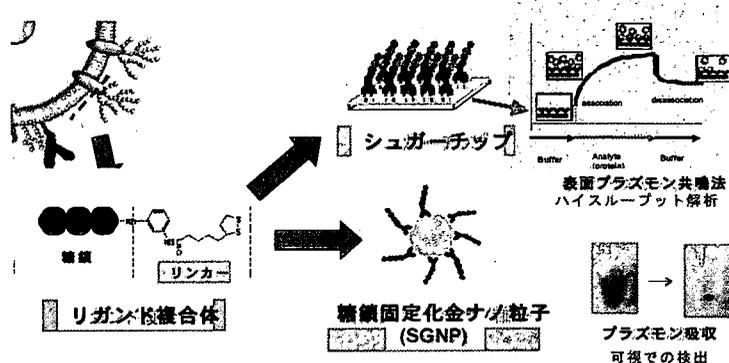


図1 技術のまとめ

(癌疾患への応用)

研究班員（括弧内は、分担研究テーマ）

主任研究者：

隅田泰生 鹿児島大学大学院理工学研究科・教授  
(リンカーおよび硫酸化オリゴ糖の合成、シュガーチップの作製ならびに SPR および MALDI-TOF/MS 解析)

分担研究者：

片桐秀樹 東北大学大学院医学系研究科・教授  
(糖尿病やその合併症診療への応用)

石田秀治 岐阜大学応用生物科学部・教授  
(シアル酸含有オリゴ糖の合成)

奥野寿臣 兵庫医科大学・助教授  
(ウイルス感染症への応用)

加藤啓子 大阪府立大学農学部・准教授  
(てんかん等の脳疾患への応用)

奥 直人 静岡県立大学薬学部・教授

有馬直道 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科・教授 (ウイルス感染症 (ATL) への応用)

小川智央 モリテックス (株)・ナノバイオサイエンス研究所・研究員 (ハイスループット型多チャンネル型表面プラズモン共鳴測定装置の製造)

本年度の成果は、以下のとおりである。

(1) 硫酸化オリゴ糖チップの調製

当初の目的であるヘパリン部分二糖構造を有するオリゴ糖4種、ならびにコンドロイチン硫酸基本二糖構造を有するオリゴ糖4種の合成を達成し、合成したオリゴ糖を、既開発に技術によってシュガーチップ化並びに糖鎖固定化金ナ

ノ粒子(SGNP)化をおこなった。

#### (2) シアル酸含有オリゴ糖鎖チップの作製

一連のシアル酸含有オリゴ糖やその誘導体を化学合成法、または酵素法によって種々合成し、同様にシュガーチップ化、SGNP化をおこなった。

#### (3) ウイルス感染症への応用

3-1) インフルエンザウイルス株識別法の開発:

8種のオリゴ糖鎖を固定化したアレイタイプのシュガーチップを使用し、約20種類のインフルエンザ株のオリゴ糖鎖への相対結合活性を調べ、総数394個のデータを得た。それらの相対結合活性をユークリッド距離情報としてデータベース化し、さらにウイルス株の識別を行うためのインフォマティクス解析を行った。現在までに精度80%で、インフルエンザウイルス株の予測ができることが明らかとなった。

3-2) ヘルペスウイルスの分別法の開発:

ヘパリンやコンドロイチン硫酸の部分構造をチップ化し、HSV-1/2の分別が可能か検討した。実験室株では分別は可能であったが、臨床分離株への適用は困難であった。

3-3) ウイルスの捕捉・濃縮:

ヘルペスウイルスのアクセプターとなるヘパリンを固定化したSGNPを用いて、ウイルスの捕捉・濃縮を試みた。約1000倍の濃縮が可能であること、また補足したウイルスは感染性を保っていることが分かった。

#### (4) 糖尿病への応用

東北大学医学部の倫理委員会で承認のもと、糖尿病患者をその合併症である網膜症・腎症・神経障害や動脈硬化による虚血性疾患の病期に応じて分類し、その血清をアレイ型のシュガーチップを用いて、病状の進行状況による結合パターンの違いを網羅的に調べている。また、これら網羅的解析から、有望と思われる数種のオリゴ糖鎖を選択し、糖尿病モデルマウスのβ細胞、またはその培養細胞(MIN6)に存在して、これらの糖鎖に強く結合する蛋白質の解析を開始した。

#### (5) てんかん等の脳疾患への応用

キンドリングモデルマウス(てんかんモデルマウス)中で発現が変化するST3Gal IV(α2,3-シアル酸転移酵素)遺伝子のエンドプロダクトに結合する蛋白質の同定を、シアル酸含有オリゴ糖鎖を固定化したSGNPと質量分析を用いて行った。複数の蛋白質が候補として見つかり、現在さらに検討している。

#### (6) 多チャンネル同時計測型表面プラズモン共鳴測定装置の製造

光ファイバー技術を用いた簡易型多検体同時測定装置を8チャンネル化することに成功した。現在糖鎖の固定化を正確かつ容易にするためのスポットターを改良し、今年度末には一連のシステムの完成が達成できる見込みである。

#### 研究発表

##### 1. 論文・総説・著書等

- ◆ M. Hashimoto, M. Furuyashiki, R. Kaseya, Y. Fukada, M. Akimaru, K. Aoyama, T. Okuno, T. Tamura, T. Kirikae, F. Kirikae, N. Eiraku, H. Morioka, Y. Fujimoto, K. Fukase, K. Takashige, Y. Moriya, S. Kusumoto, Y. Suda, "Evidence of immunostimulating lipoprotein co-existing in natural lipoteichoic acid fraction", *Infect. Immun.*, **75**(4), 1926-1932(2007)
- ◆ Y. Fujimoto, M. Iwata, N. Imakita, A. Shimoyama, Y. Suda, S. Kusumoto, K. Fukase, "Synthesis of immunoregulatory *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide partial structures", *Tetrahedron Lett.*, **48**, 6577-6581(2007)
- ◆ H. Kariya, A. Kiyohara, S. Masuda, Y. Yoshihara, M. Ueno, M. Hashimoto, Y. Suda, "Biological roles of carboxymethyl-chitin associated for the growth factor production", *J. Biomed. Mater. Res.*, **83A**, 58-63(2007)
- ◆ 隅田泰生, 「糖鎖アレイ」, マイクロアレイ・バイオチップの最新技術 第12章(伊藤嘉浩監修), (株)シーエムシー, 2007年12月
- ◆ M. Hashimoto, K. Takashige, M. Furuyashiki, K.

- Yoshidome, R. Sano, Y. Kawamura, S. Ijichi, H. Morioka, H. Koide, N. Oku, Y. Moriya, S. Kusumoto, Y. Suda, "Enhancement of antitumor activity of OK-432 (Picibanil) by Triton X-114 phase partitioning", *International Immunopharmacology*, 8, 12-19(2008)
- ◆ N. Sasaki, K. Okishio, K. Ui-Tei, K. Saigo, A. Kinoshita-Toyoda, H. Toyoda, T. Nishimura, Y. Suda, M. Hayasaka, K. Hanaoka, S. Hitoshi, K. Ikenaka, and S. Nishihara, "Heparan sulfate regulates self-renewal and pluripotency of embryonic stem cells", *J. Biol. Chem.*, in press
  - ◆ M. Wakao, A. Saito, K. Ohishi, Y. Kishimoto, T. Nishimura, M. Sobel, Y. Suda, "Sugar Chips Immobilized with Synthetic Sulfated Disaccharides of Heparin/Heparan Sulfate Partial Structure", *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, in press
  - ◆ S. Nakamura-Tsuruta, Y. Kishimoto, T. Nishimura and Y. Suda, "One-Step Purification of Lectins from Banana Pulp Using Sugar-immobilized Gold Nano-Particles (SGNPs)", *Journal of Biochemistry*, in press
  - ◆ Takahashi R, Ishihara H, Takahashi K, Tamura A, Yamaguchi S, Yamada T, Katagiri H, Oka Y. (2007) Efficient and controlled gene expression in mouse pancreatic islets by arterial delivery of tetracycline-inducible adenoviral vectors. *J. Mol. Endocrinol.* 38: 127-36.
  - ◆ Hasegawa Y, Ogihara T, Yamada T, Ishigaki Y, Imai J, Uno K, Gao J, Kaneko K, Ishihara H, Sasano H, Nakauchi H, Oka Y, Katagiri H. (2007) Bone Marrow (BM) Transplantation Promotes Beta Cell Regeneration after Acute Injury through BM Cell Mobilization. *Endocrinology* 148: 2006-15.
  - ◆ Yamada T, Katagiri H. (2007) Avenues of Communication between the Brain and Tissues/Organs Involved in Energy Homeostasis. *Endocrine J.* 54: 497-505.
  - ◆ Katagiri H, Yamada T, Oka Y. (2007) Adiposity and Cardiovascular Disorders: Disturbance of the Regulatory System Consisting of Humoral and Neuronal Signals- *Circ Res.* 101: 27-39.
  - ◆ Ono H, Sakoda H, Fujishiro M, Anai M, Kushiyama A, Fukushima Y, Katagiri H, Ogihara T, Oka Y, Kamata H, Horike N, Uchijima Y, Kurihara H, Asano T. (2007) Carboxyl-terminal modulator protein (CTMP) induces AKT activation, thereby enhancing anti-apoptotic, glycogen synthetic and glucose uptake pathways. *Am J Physiol Cell Physiol.* 293:C1576-85.
  - ◆ Yamada T, Imai J, Ishigaki Y, Hinokio Y, Oka Y, Katagiri H. (2007) Possible relevance of HLA-DRB1\*0403 haplotype in insulin autoimmune syndrome induced by  $\alpha$ -lipoic acid, used as a dietary supplement. *Diabetes Care* 30: e131.
  - ◆ Yamada T, Oka Y, Katagiri H. (2008) Communications between the Brain and Peripheral Tissues/Organs Involved in Energy Homeostasis - Potential Therapeutic Targets for Obesity and Metabolic syndrome- *Pharmacol Ther.* 117(1):188-98.
  - ◆ Okimoto H, Ishigaki Y, Koiwa Y, Hinokio Y, Ogihara T, Suzuki S, Katagiri H., Ohkubo T, Hasegawa H, Kanai H, Oka Y. (2008) A novel method for evaluating human carotid artery elasticity: possible detection of early stage atherosclerosis in subjects with type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 196: 391-7
  - ◆ Nedachi T, Kadotani A, Ariga M, Katagiri H, Kanzaki M (2008) Ambient Glucose Levels Qualify the Potency of Insulin Myogenic Actions by Regulating SIRT1 and FoxO3a in C2C12 myocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* in press
  - ◆ Ariga M, Nedachi T, Katagiri H, Kanzaki M (2008) Functional role of sortilin in myogenesis and development of insulin-responsive glucose transport system in C2C12 myocytes. *J Biol Chem* in press
  - ◆ Yamaguchi S, Ishihara H, Yamada T, Tamura A, Usui M, Tominaga R, Munakata Y, Satake C,

- Katagiri H, Tashiro F, Aburatani H, Tsukiyama-Kohara K, Miyazaki J, Sonenberg N, Oka Y (2008) ATF4-Mediated Induction of 4E-BP1 Contributes to Pancreatic Beta Cell Survival under Endoplasmic Reticulum Stress. *Cell Metab.* in press
- ◆ Fujikawa, K., Ishida, H. and Kiso, M.: Synthesis of ganglioside GM3 analog carrying phytoceramide by employing intramolecular glycosylation as a key reaction. *Carbohydr. Res.*, 2008 submitted.
  - ◆ Imamura, A., Yoshikawa, T., Komori, T., Ando, M., Ando, H., Wakao, M., Suda, Y., Ishida, H. and Kiso, M.: Design and synthesis of versatile ganglioside probes for carbohydrate microarrays. *Glycoconjugate J.*, 2008, in press.
  - ◆ Imamura, A., Ando, H., Ishida, H. and Kiso, M.: DTBS(di-tert-butylsilylene)-directed  $\alpha$  - galactosylation for the synthesis of biologically relevant glycans. *Curr. Org. Chem.*, 2008, in press.
  - ◆ Komori, T., Ando, T., Imamura, A., Li, Y.-T., Ishida, H. and Kiso, M.: Design and efficient synthesis of novel GM2 analogues with respect to the elucidation of the function of GM2 activator. *Glycoconjugate J.*, 2008, in press.
  - ◆ Yoshikawa, T., Kato, Y., Yuki, N., Yabe, T., Ishida, H. and Kiso, M.: A highly efficient construction of GM1 epitope tetrasaccharide and its conjugation with KLH. *Glycoconjugate J.*, 2008, in press.
  - ◆ Yoon, S.-J., Ikeda, S., Sadilek, M., Hakomori, S., Ishida, H. and Kiso, M.: Self-recognition of N-linked glycans with multivalent GlcNAc, determined as ceramide mimetic conjugate. *Glycobiology*, 17(9), 1007-1014, 2007.
  - ◆ Ishibashi, Y., Nakasone, T., Kiyohara, M., Horibata, Y., Sakaguchi, K., Hijikata, A., Ichinose, S., Omori, A., Yasui, Y., Imamura, A., Ishida, H., Kiso, M., Okino, N. and Ito, M.: A novel endoglycoceramidase hydrolyzes oligogalactosylceramides to produce galactooligosaccharides and ceramides. *J. Biol. Chem.*, 282(15), 11386-11396, 2007.
  - ◆ Yu, J., Sawada, T., Adachi, T., Gao, X., Takematsu, H., Kozutsumi, Y., Ishida, H., Kiso, M. and Tsubata, T.: Synthetic glycan ligand excludes CD22 from antigen receptor-containing lipid rafts. *Biochem. Biophys. Res. commun.*, 360, 759-764, 2007.
  - ◆ Sawada, T., Hasimoto, T., Nakano, H., Suzuki, T., Suzuki, Y., Kawaoka, Y., Ishida, H. and Kiso, M.: Influenza viral hemagglutinin complicated shape is advantageous to its binding affinity for sialosaccharide receptor. *Biochem. Biophys. Res. commun.*, 355, 6-9, 2007.
  - ◆ Takaku, H., Ishida, H.-K., Fujita, M., Inazu, T., Ishida, H. and Kiso, M.: A chemical synthesis of GlcNAc(1-4)GlcUA-UDP to elucidate catalytic mechanism of hyaluronic acid synthesis (HAS). *Synlett*, 5, 818-820, 2007.
  - ◆ Hashimoto, M., Furuyashiki, M., Kaseya, R., Fukuda, Y., Akimaru, M., Aoyama, K., Okuno, T., Tamura, T., Kirikae, T., Kirikae, F., Eiraku, N., Morioka, H., Fujimoto, Y., Fukase, K., Takashige, K., Moriya, Y., Kusumoto, S., Suda Y. Evidence of immunostimulating lipoprotein existing in the natural lipoteichoic acid fraction. *Infect Immun*, 75: 1926-1932, 2007.
  - ◆ Otani, N. and Okuno, T. Human herpesvirus 6 infection of CD4(+) T-Cell subsets. *Microbiol Immunol*, 51: 993-1001, 2007.
  - ◆ Inoue M, Kato K, Matsushashi H, Kizuka Y, Kawasaki T, and Oka S. Distributions of glucuronyltransferases, GlcAT-P and GlcAT-S, and their target substrate, the HNK-1 carbohydrate epitope in the adult mouse brain with or without a targeted deletion of the GlcAT-P gene., *Brain Res* (2007) 1179:1-15.
  - ◆ Kato K. (2007) Glycobiological approach to understanding neural plasticity *Trends in glycoscience and glycotecnology* 19(106)97-110.
  - ◆ Yonezawa, S., Asai, T. and Oku, N.: Effective tumor regression by antineovascular therapy in hypovascular orthotopic pancreatic tumor model. *J.*

Control. Release, 118, 303-309 (2007).

- ◆ Ichikawa, K., Urakami, T., Yonezawa, S., Miyauchi, H., Shimizu, K., Asai, T. and Oku, N.: Enhanced desensitization efficacy by liposomal conjugation of a specific antigen. *Int. J. Pharm.*, 336, 391-395 (2007).
- ◆ Fuse, C., Ishida, Y., Hikita, T., Asai, T. and Oku, N.: Junctional adhesion molecule-C promotes metastatic potential of HT1080 human fibrosarcoma. *J. Biol. Chem.*, 282, 8276-8283 (2007).
- ◆ Katanasaka, Y., Asai, T., Naitou, H., Ohashi, N. and Oku, N.: proteomic characterization of angiogenic endothelial cells stimulated with cancer cell-conditioned medium. *Biol. Pharm. Bull.* 30, 2300-2307 (2007).
- ◆ Urakami, T., Akai, S., Katayama, Y., Harada, N., Tsukada, H., and Oku, N. Novel amphiphilic probes for [18F]-radiolabeling preformed liposomes and determination of liposomal trafficking by positron emission tomography. *J. Med. Chem.* 50, 6454-6457 (2007).
- ◆ Shimizu, K., Sawazaki, Y., Tanaka, T., Asai, T., and Oku, N.: Chronopharmacological cancer treatment with angiogenic vessel-targeted liposomal drug. *Biol. Pharm. Bull.* 31(1)95-98 (2008).
- ◆ Akimoto M, Kozako T, Sawada T, Matsushita K, Ozaki A, Hamada H, Kawada H, Yoshimitsu M, Tokunaga M, Haraguchi H, Uozumi K, Arima N, and Tei C. Anti-HTLV-1 Tax Antibody and Tax-specific Cytotoxic T Lymphocyte are Associated with a Reduction in HTLV-1 Proviral Load in Asymptomatic Carriers. *Journal of Medical Virology*, 79:977-986, 2007.
- ◆ Arimura K, Arima N, Matsushita K, Akimoto M, Park C-Y, Uozumi K, and Tei C., High incidence of morphological myelodysplasia and aototic bone marrow cells in Behcet's disease. *Journal of Clinical Immunology*, *Journal of Clinical Immunology*, 27:145-151, 2007
- ◆ Owatari S, Uozumi K, Haraguchi K, Ohno N, Tokunaga M, Tokunaga M, Suzuki S, Hanada S, Arima N. A new cytogenetic abnormality, t(2;7)(33;q36), in acute promyelocytic leukemia. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 174, 71-74, 2007
- ◆ Akimoto M, Matsushita K, Suruga Y, Aoki N, Oaki A, Uozumi K, Tei C, Arima N., Clinical manifestations of human T lymphotropic virus type I-infected patients with systemic lupus erythematosus. *Journal of Rheumatology*, 34:1841-1848, 2007.
- ◆ Ozaki A, Arima N, Matsushita K, Uozumi K, Akimoto M, Hamada H, Kawada H, Hourai S, Tanaka Y, and Tei C. Cyclosporin A inhibits HTLV-1 Tax expression and shows anti-tumor effects in combination with VP-16. *Journal of Medical Virology* vol 79, 1906-1913, 2007.

## 2. 学会発表 (シンポジウム等)

- ◆ Y. Suda, T. Nishimura, Y. Kishimoto, S. Yamashita, M. Shigeta, S. Takahashi, M. Wakao, A. Saito, T. Kondo, R. Saruwatari, K. Ohishi, Y. Takahashi, S. Nakamura-Tsuruta, H. Ishida, H. Okuno, H. Tsutsui, "Advanced Analytical Systems for the Binding Interaction of Sugar Chains with Proteins, Cells or Viruses: Sugar Chips and Sugar Chain-Immobilized Gold Nano-Particles", XIX International Symposium on Glycoconjugates (GLYCO-19), *Glycoconjugate Journal*, 24(6,7), 272, 2007年7月
- ◆ M. Ando, T. Komori, T. Yoshikawa, A. Imamura, H. Ishida, M. Kiso, Y. Suda, "Systematic Synthesis of Functional Oligosaccharide Probes for Sugar Chips" XIX International Symposium on Glycoconjugates (GLYCO-19), *Glycoconjugate Journal*, 24(6,7), 315, 2007年7月
- ◆ S. Nakamura-Tsuruta, Y. Kishimoto, T. Nishimura, Y. Suda, "One-Step Purification of Lectins Using Sugar-Immobilized Gold Nano-Particles(SGNPS)", XIX International Symposium on Glycoconjugates

- (GLYCO-19), *Glycoconjugate Journal*, 24(6,7), 368, 2007年7月
- ◆ Y. Suda, M. Wakao, Y. Takahashi, A. Saito, T. Kondo, R. Saruwatari, K. Ohishi, S. Nakamura-Tsuruta, T. Nishimura, Y. Kishimoto, M. Shigeta, S. Takahashi, H. Ishida, H. Tsutsui, H. Okuno, "Sugar Chips and Sugar Chain-immobilized Gold Nano-Particles: Towards a Diagnosis for Influenza Virus Strains", XIX International Symposium on Glycoconjugates (GLYCO-19), *Glycoconjugate Journal*, 24(6,7), 385, 2007年7月
  - ◆ M. Wakao, S. Watanabe, T. Ogawa, K. Suzuki, T. Yumino, T. Myogadani, A. Saito, K. Muta, M. Kimura, K. Kajikawa, Y. Suda, "Development of Optical Fiber-Type Sugar Chip for Localized Surface Plasmon Resonance Apparatus", XIX International Symposium on Glycoconjugates (GLYCO-19), *Glycoconjugate Journal*, 24(6,7), 397, 2007年7月
  - ◆ 隅田 泰生, インフルエンザウイルス株の検査法を目指して—シュガーチップと糖鎖固定化金ナノ粒子, 第56回高分子討論会 予稿集, 56, 5415-5416, 2007年9月
  - ◆ 仮屋 博敬, 増田 真吾, 吉原 雄祐, 上野 勝, 橋本 雅仁, 隅田 泰生, カルボキシメチルキチンによる TGF-beta1 を介した軟骨形成の誘導, 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), BMB2007 講演要旨集, 323, 2007年12月
  - ◆ 橋本 雅仁, 本田 大士, 梶山 健次, 隅田 泰生, 永田 真紀, 九町 健一, 阿部 美紀子, 内海 俊樹, 一酸化窒素誘導性 *Mesorhizobium loti* 由来リポ多糖の研, 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), BMB2007 講演要旨集, 542, 2007年12月
  - ◆ 俵積田 一樹, 斎藤 敦, 隅田 泰生, 橋本 雅仁, *Bacteroides fragilis* 由来免疫調整リポプロテインの同定, 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), BMB2007 講演要旨集, 846, 2007年12月
  - ◆ 隅田 泰生, 若尾 雅広, 高橋 優子, 齊藤 彰寛, 近藤 宇男, 大石 紘, 鶴田-中村 祥子, 西村 知晃, 岸本 裕子, 山下 早希子, 石田 秀治, 奥野 寿臣, ウイルスの糖鎖結合性を利用したウイルス株の識別, 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), BMB2007 講演要旨集, 727, 2007年12月
  - ◆ 古屋鋪舞子, 高重 克洋, 小出 裕之, 奥 直人, 守屋 陽一郎, 橋本 雅仁, 隅田 泰生, トリトン X-114 相分離法による OK-432 (ピシバニール) の抗腫瘍活性の向上, 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), BMB2007 講演要旨集, 823, 2007年12月
  - ◆ 村岡 賢, 伊東 祐二, 橋口 周平, 馬場 昌範, 有馬 直道, 隅田 泰生, 中島 敏博, 杉村 和久, 抗体ファージライブラリによる HTLV 感染細胞に対するヒト抗体の単離とそのアポトーシス誘導能, 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), BMB2007 講演要旨集, 830, 2007年12月
  - ◆ 鶴田 (中村) 祥子, 岸本 裕子, 西村 知晃, 奥野 寿臣, 隅田 泰生, 糖鎖固定化金ナノ粒子(SGNPs)を用いた糖結合タンパク質の1ステップ精製, 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), BMB2007 講演要旨集, 558, 2007年12月
  - ◆ 若尾 雅広, 倉橋 佳江, 渡辺 省伍, 小川 智央, 弓野 猛, 牟田 健一, 斎藤 敬, 梶川 浩太郎, 隅田 泰生, 多チャンネル光ファイバー型シュガーチップによる糖鎖相互作用解析, 日本化学会第88回春季年会, 2008年3月
  - ◆ 片桐秀樹 シンポジウム 生体内での膜 \_ 細胞再生を目指した治療法開発 第46回日本生体医工学会 2007年4月25日 仙台
  - ◆ 片桐秀樹 学会賞 (リリー賞) 受賞講演 自

- 自律神経系を介した臓器間ネットワークによる糖・エネルギー代謝の協調的調節機構 第 50 回日本糖尿病学会 2007 年 5 月 24-26 日 仙台
- ◆ 石垣泰、沖本久志、檜尾好徳、片桐秀樹、岡芳知 シンポジウム 6 肥満コントロールの重み付け 第 50 回日本糖尿病学会 2007 年 5 月 24-26 日 仙台
  - ◆ 山田哲也、片桐秀樹、岡芳知 シンポジウム 9 自律神経系を介する協調的エネルギー代謝調節機構 第 50 回日本糖尿病学会 2007 年 5 月 24-26 日 仙台
  - ◆ 片桐秀樹 シンポジウム「Metabolic Information Highway～糖尿病・メタボリックシンドローム研究の新展開～」東北バイオサイエンスシンポジウム 2007 年 6 月 4 日 仙台
  - ◆ 片桐秀樹 研究奨励賞受賞講演 臓器間連関によるインスリン抵抗性改善機構 第 80 回日本内分泌学会学術総会 2007 年 6 月 14-16 日 東京
  - ◆ 片桐秀樹 教育講演 Metabolic Information Highway～メタボリックシンドローム研究の新展開～ 第 62 回日本体力医学会大会 2007 年 9 月 15 日 秋田
  - ◆ 片桐秀樹 シンポジウム 3 臓器・細胞間クロストークによるエネルギー代謝制御 自律神経を介した臓器(組織)間代謝情報ネットワーク 第 28 回日本肥満学会 2007 年 10 月 19-20 日 東京
  - ◆ 片桐秀樹 特別講演 糖尿病・メタボリックシンドローム研究の新展開 山梨科学アカデミー交流大会 2007 年 11 月 26 日 山梨
  - ◆ 片桐秀樹 シンポジウム メタボリックシンドローム-臓器間連関と分子メカニズム- 2S4-2 自律神経系による臓器間代謝情報ネットワーク機構 BMB2007 (第 30 回日本分子生物学会年会 第 80 回日本生化学会 合同大会) 2007 年 12 月 12 日 東京
  - ◆ 片桐秀樹 シンポジウム 肝からの神経シグナルによる臓器間代謝情報ネットワーク 第 22 回日本糖尿病・肥満動物学会 2008 年 2 月 8 日 東京
  - ◆ 片桐秀樹 レクチャー糖尿病診療の将来 エネルギー代謝維持機構を標的とした治療開発 第 42 回糖尿病学の進歩 2008 年 2 月 16 日 高松
  - ◆ 片桐秀樹 特別講演 ランチョンセミナー Metabolic Information Highway～肥満・糖尿病研究の新展開～ 第 7 回日本内分泌学会東海支部学術集会 2008 年 2 月 23 日 名古屋
  - ◆ 片桐秀樹 自律神経を介した臓器間代謝情報ネットワーク 自然科学研究機構生理学研究所研究会「中枢・末梢臓器間連携による摂食、エネルギー代謝調節」自律神経を介した臓器間代謝情報ネットワーク 2008 年 2 月 28-29 日 岡崎
  - ◆ Yamada T., Katagiri H. Autonomic nerve circuits modulate energy and glucose metabolism. Okazaki Symposium 2007 on Obesity and Diabetes, Apr 14-15, 2007 Okazaki, Japan
  - ◆ Ariga M., Nedachi T., Katagiri H., Kanzaki M. Functional Role of Sortilin in Myogenesis and the Development of Insulin-Responsive Glucose Transport System in C2C12 Myocytes. American Diabetes Association, 67th Scientific Sessions, June 22-26, 2007 Chicago, IL, USA
  - ◆ Imai J., Katagiri H., Suzuki T., Oka Y. Activation of Hepatic ERK Pathway Promotes Pancreatic Beta Cell Proliferation. American Diabetes Association, 67th Scientific Sessions, June 22-26, 2007 Chicago, IL, USA
  - ◆ Katagiri H. Inter-organ communication via autonomic nerve circuits modulates systemic energy and glucose metabolism. The 25th JES Summer Seminar on Endocrinology & Metabolism, July 17-18, 2007 Awaji, Japan
  - ◆ Imai J., Katagiri H., Oka Y. Activation of Hepatic ERK Pathway Promotes Pancreatic Beta Cell Proliferation. Office of Life Sciences/National University of Singapore - Tohoku

University/Centre of Excellence Joint Symposium,  
Sep 5-7, 2007 Singapore

- ◆ Yamada T., Katagiri H., Uno K., Oka Y. Neuronal pathway from the liver modulates energy expenditure and systemic insulin sensitivity. Congress of the International Society for Autonomic Neuroscience, Oct 5-8, 2007 Kyoto, Japan
- ◆ Abdu-Allah, H.H.M., Yu, J., Lu, Z., Tsubata, T., Ishida, H. and Kiso, M.: Design, synthesis, and structural activity relationships of novel sialosides as CD22-specific inhibitors. The Eleventh Membrane Research Forum. (February 21, 2008, Kyoto).
- ◆ Magesh, S., Moriya, S., Suzuki, T., Miyagi, T., Ishida, H. and Kiso, M.: Towards the selective inhibition of human plasma-membrane associated sialidase (NEU3) for therapeutic value. Kyoto. (February 21, 2008, Kyoto).
- ◆ Fujikawa, K., Ishida, H. and Kiso, M.: Development of an efficient synthetic method of ganglioside GM3 as a cell membrane component. The Eleventh Membrane Research Forum. (February 21, 2008, Kyoto).
- ◆ Fujikawa, K., Ishida, H. and Kiso, M.: Efficient synthesis of GM3 analog by employing intramolecular glycosylation. 14th European Carbohydrate Symposium. (September 2-7, 2007, Luebeck, Germany).
- ◆ Ishida, H. and Kiso, M.: Development of novel methods to construct glycolipids and glycopeptides. NIPER-ACCT (I) 2007 CARBO-XXII. (December 13-15, 2007, Punjab, India).
- ◆ Yoshikawa, T., Yuki, N., Yabe, T., Ishida, H. and Kiso, M.: A synthesis of GM1 epitope-KLH conjugate for elucidation of the pathogenic mechanism of the Guillan-Barré Syndrome. XIX International Symposium on Glycoconjugates. (15-20 July 2007, Cairns, Australia).
- ◆ Sato, T., Imamura, A., Ishida, H. and Kiso, M.: Di-tert-butylsilylene-Directed  $\alpha$ -Selective Synthesis of p-Nitrophenyl T-antigen analogs. XIX International Symposium on Glycoconjugates. (15-20 July 2007, Cairns, Australia).
- ◆ Ando, M., Komori, T., Yoshikawa, T., Imamura, A., Ishida, H. and Kiso, M.: Systematic synthesis of functional oligosaccharide probes for sugar\_chips. XIX International Symposium on Glycoconjugates. (15-20 July 2007, Cairns, Australia).
- ◆ Abdu-Allah, H.H.M., Tsubata, T., Ishida, H. and M., Kiso: Design and synthesis of novel sialosides as potential CD22-specific inhibitors. XIX International Symposium on Glycoconjugates. (15-20 July 2007, Cairns, Australia).
- ◆ S. Magesh, T. Suzuki, T. Miyagi, H. Ishida and M. Kiso: Design and library synthesis of human sialidase NEU3 selective inhibitors, 第27回日本糖質学会年会、August 1-3, 2007.
- ◆ 今村彰宏、H. Attrill, P. R. Croker, D. M. F. Aalten、安藤弘宗、石田秀治、木曾真: 合成ガングリオシドプローブを用いた Siglec-7 との共結晶構造解析. 第27回日本糖質学会年会、August 1-3, 2007.
- ◆ 吉川武、野原偏弘、石田秀治、木曾真: 生理活性糖鎖への蛍光標識 FITC の効率的導入法の開発、第27回日本糖質学会年会、August 1-3, 2007.
- ◆ 大野ひろみ、佐藤哲郎、中村紀夫、西河淳、石田秀治、木曾真: ボツリヌス毒素のリガンド探索に向けたムチン型糖鎖の合成と生物活性、第27回日本糖質学会年会、August 1-3, 2007.
- ◆ 小森達也、石田秀治、木曾真: GM2 activator の作用機構解明を目的とした新規 GM2 類縁体の設計と合成、第27回日本糖質学会年会、August 1-3, 2007.
- ◆ 澤田敏彦、橋本智裕、鈴木徹、中野博文、石田秀治、木曾真、鈴木康夫: 非経験的フラグメント分子軌道法によるインフルエンザHA とシアロ糖鎖の相互作用解析、第27回日本糖質学会年会、August 1-3, 2007.

- ◆ 藤川紘樹、石田秀治、木曾真: 分子内グリコシル化を利用したフィトスフィンゴシン含有 GM3 の合成. 第 27 回日本糖質学会年会、August 1-3, 2007.
- ◆ Abdu-Allah, H.H.M., 鏑田武志, 石田秀治, 木曾真: CD22 特異的阻害剤としての新規シアロシドの設計と合成、日本ケミカルバイオロジー研究会 第2回年会、京都, May 9-10, 2007.
- ◆ 今村彰宏, H. Attrill, P. R. Croker, D. M. F. van Aalten, 安藤弘宗, 石田秀治, 木曾真: ガングリオシド GT1b 糖鎖プローブの合成と Siglec-7 との共結晶構造解析 : 日本ケミカルバイオロジー研究会 第2回年会、京都, May 9-10, 2007.
- ◆ 澤田敏彦、橋本智裕、中野博文、鈴木徹、石田秀治、木曾真: ab initio フラグメント分子軌道法によるインフルエンザHAとシアロ糖鎖の相互作用解析、2007 年度大会 日本農芸化学会、東京、March 24-27、2007.
- ◆ 今村彰宏、安藤弘宗、石田秀治、木曾真: ガングリオシド GQ1b の合成に向けた方法論の開発と応用 : 2007 年度大会 日本農芸化学会、東京、March 24-27、2007.
- ◆ 佐藤哲郎、大野ひろみ、今村彰宏、石田秀治、木曾真: ビフィズス菌由来 endo-alpha-N-acetylgalactosaminidase 特異的基質の設計と合成 : 2007 年度大会 日本農芸化学会、東京、March 24-27、2007.
- ◆ 藤川紘樹、石田秀治、木曾真: 分子内グリコシル化を利用した効率的糖脂質合成法の開発 : 2007 年度大会 日本農芸化学会、東京、March 24-27、2007.
- ◆ 高久博直、石田秀樹、藤田雅也、稲津敏行、石田秀治、木曾真: ヒアルロン酸合成酵素の詳細な反応機構解明を目的とした、UDP-2 糖の合成. 2007 年度大会 日本農芸化学会、東京、March 24-27、2007.
- ◆ 大谷成人, 馬場宏一、奥野寿臣 : 水痘帯状疱疹ウイルスに対する細胞性免疫の評価. 第 55 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007
- ◆ Otani, N., Song, X., Shao, H. and Okuno, T : Antiviral activity of Dandelion (*Taraxacum Officinale*) extract against herpes simplex virus (HSV). The 32nd International Herpesvirus Workshop, 2007, Asheville.
- ◆ Kato K., Yamada S., Miyamoto K., Kuwamura M., Okada T., Osuka S., Itoharu S., Endo S., and Hirabayashi Y. シアル酸転移酵素(ST3Gal IV) 遺伝子欠損マウスにおける神経機能における解析 (Analysis of brain function on the adult mouse with ST3Gal IV deficiency) BMB2007 (12 月 11 日~15 日) 2007 年 12 月 14 日 (金) パシフィコ横浜・第3会場
- ◆ 加藤啓子 In vivo 脳内における薬剤効果の査定方法の開発と応用 BioJapan2007 2007. 9.19-21 パシフィコ横浜
- ◆ 加藤啓子・宮本佳苗・桑村充・岡田利也・大須賀壮・糸原重義・遠藤昌吾・平林義雄 神経機能におけるシアル酸転移酵素(ST3Gal IV) 遺伝子欠損の影響 第 27 回日本糖質学会平成 19 年 8 月 1 - 3 日福岡
- ◆ 加藤 啓子「てんかん等の脳疾患とモデル動物」第 6 回大阪府立大学獣医学専攻・大阪府立成人病センター 場所: 大阪府立成人病センター 本館 5 階会議室 2007 年 6 月 11 日 (月)
- ◆ 奥 直人、市川早苗、浦上武雄、米澤 正、宮内春奈、清水広介、浅井知浩、石田竜弘、際田弘志 : 抗原特異的薬物送達技術、Reverse-Targeting DDS (RT-DDS). 第 23 回日本 DDS 学会 2007 年 6 月 14 日 熊本
- ◆ 宮内春奈、市川早苗、浦上武雄、米澤 正、清水広介、浅井知浩、奥 直人 : Reverse Targeting-DDS(RT-DDS) を用いた抗原特異的免疫システムの制御. 第 23 回日本 DDS 学会 2007 年 6 月 14 日 熊本
- ◆ 浦上武雄、赤井周司、片山百合恵、原田典弘、塚田秀夫、奥 直人 : ポジトロン断層診断 (PET) を用いたリポソーム製剤の非侵襲的リアルタイムイメージング解析技術の開発. 第 23 回日本 DDS 学会 2007 年 6 月 14 日 熊本

- ◆ 今中宏真、清水広介、小出裕之、浅井知浩、牧野武利、奥 直人：植物ステロールリポソームの経口投与による癌転移抑制効果について。第 23 回日本 DDS 学会 2007 年 6 月 15 日 熊本
- ◆ 小出裕之、今中宏真、清水広介、浅井知浩、牧野武利、奥 直人：シトステロールの腸管での機能解明。第 23 回日本 DDS 学会 2007 年 6 月 15 日 熊本
- ◆ 清水広介、宮澤壮一郎、刀坂泰史、浅井知浩、久保直樹、秋田倫幸、丸田福門、宮川眞一、田中俊樹、奥 直人：標的化リポソームを用いた胃がん由来腹膜播種性転移がんに対する治療。第 23 回日本 DDS 学会 2007 年 6 月 15 日 熊本
- ◆ 奥 直人：リポソーム DDS のがん治療への応用。第 25 回物性物理化学研究会。2007 年 6 月 22 日 京都
- ◆ Haruna Miyauchi, Kanae Ichikawa, Takeo Urakami, Sei Yonezawa, Kosuke Shimizu, Tatsuhiro Ishida, Hiroshi Kiwada, Tomohiro Asai, Naoto Oku: Antigen-conjugated liposomes enhanced hyposensitization immune therapy with extra-low doses. 34th Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society. 2007 年 7 月 9 日 Long Beach, CA, USA.
- ◆ Takeo Urakami, Shuji Akai, Yurie Katayama, Norihiro Harada, Hideo Tsukada, Naoto Oku: New technology for non-invasive real-time imaging of liposome by positron-emission tomography. 34th Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society. 2007 年 7 月 9 日 Long Beach, CA, USA.
- ◆ Yasufumi Katanasaka, Tomohiro Asai, Hirotaka Naitou, Norio Ohashi, Naoto Oku: Analysis of BiP protein as a targeting molecule to tumor endothelium for drug delivery system. 34th Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society. 2007 年 7 月 10 日 Long Beach, CA, USA.783.
- ◆ Hiromasa Imanaka, Kosuke Shimizu, Tomohiro Asai, Atsushi Ishikado, Taketoshi Makino, Naoto Oku: Chemoprevention of tumor metastasis by liposomal beta-sitosterol intake. 34th Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society. 2007 年 7 月 9 日 Long Beach, CA, USA.
- ◆ 梅本拓也、角田優花、浅井知浩、出羽毅久、南後 守、奥 直人：新規ポリカチオンリポソームを用いた遺伝子デリバリーシステムの開発。第 16 回 DDS カンファレンス 2007 年 7 月 14 日 静岡
- ◆ Norihiro Harada, Takeo Urakami, Shuji Akai, Naoto Oku, Hideo Tsukada: Novel [<sup>18</sup>F]labeled probes to evaluate pharmacokinetics and pharmacodynamics of lipid formulations in vivo with positron emission tomography (PET). Seventh Japan-China Joint Seminar on Radiopharmaceutical Chemistry. 2007 年 9 月 27 日 京都
- ◆ Takeo Urakami, Shuji Akai, Yurie Katayama, Mina Yamashita, Norihiko Harada, Hideo Tsukada, Naoto Oku: A Novel Positron-labeling System for Accelerating the Development of Nanomedicines through Micro-dosing tests. Seventh Japan-China Joint Seminar on Radiopharmaceutical Chemistry. 2007 年 9 月 27 日 京都
- ◆ Naoto Oku: Application of antineovascular therapy with liposomal DDS on orthotopic pancreatic tumor model. 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. 2007 年 10 月 5 日 横浜
- ◆ 奥 直人、清水広介、清水直美、塚田秀夫：がんの実験的移転に及ぼす長期カテキン摂取の効果。第 2 回 食品薬学シンポジウム 2007 年 10 月 18 日 静岡
- ◆ Fumika Kan, Haruna Tamano, Hiromasa Itoh, Atsushi Takeda, and Naoto Oku: Preferential dysfunction in the hippocampus in zinc deficiency. A Joint Conference on Trace Elements in Diet, Nutrition, & Health: Essentiality and Toxicity 2007 年 10 月 25 日 Crete, Greece
- ◆ Mika Kawamura, Haruna Tamano, Hiromasa Itoh,

- Atsushi Takeda, and Naoto Oku: Increase in depression-like behavior of young rats during zinc deficiency. A Joint Conference on Trace Elements in Diet, Nutrition, & Health: Essentiality and Toxicity 2007年10月25日 Crete, Greece
- ◆ Shingo Kanno, Naomi Sakurada, Akira Minami, Atsushi Takeda, and Naoto Oku: Unique response of extracellular zinc in the ventral hippocampus against novelty. A Joint Conference on Trace Elements in Diet, Nutrition, & Health: Essentiality and Toxicity 2007年10月25日 Crete, Greece
  - ◆ Atsushi Takeda, Sayuri Fuke, Naomi Sakurada, Akira Minami, and Naoto Oku: Involvement of zinc in synaptic plasticity and neurodegeneration in the hippocampus via crosstalk with calcium. A Joint Conference on Trace Elements in Diet, Nutrition, & Health: Essentiality and Toxicity 2007年10月25日 Crete, Greece
  - ◆ Haruna Tamano, Kan Fumika, Atsushi Takeda, and Naoto Oku: Enhancement of Aggressive Behavior of Young Mice Induced with Social Isolation in Zinc Deficiency. A Joint Conference on Trace Elements in Diet, Nutrition, & Health: Essentiality and Toxicity 2007年10月25日 Crete, Greece
  - ◆ Takeo Urakami, Akira T. Kawaguchi, Shuji Akai, Kentaro Hatanaka, Norihiro Harada, Hideo Tsukada, Naoto Oku: Non-invasive real-time imaging of lipid nanoparticles using PET. 2007 JSAO-IFAO Joint Congress. 2007年10月30日 大阪
  - ◆ 鶴田 敦、見城江利也、浅井知浩、前田典之、奥 直人：核酸医薬創成に向けた新規 siRNA 搭載技術の開発. 第 29 回 生体膜と薬物の相互作用シンポジウム 2007年11月27日 仙台
  - ◆ Hiromichi Imanaka, Hiroyuki Koide, Kosuke Shimizu, Tomohiro Asai, Naomi Kinouchi Shimizu, Atsushi Ishikado, Taketoshi Makino, and Naoto Oku: Orally Administered Liposomal  $\beta$ -Sitosterol Exerts an Antimetastatic Effect and Enhances NK Activity via IL-12 and IL-18 Induction in the Small Intestine. International Liposome Society 2007 Annual Meeting 2007年12月8日 London, UK.
  - ◆ Hiroyuki Koide, Kentaro Hatanaka, Atsushi Tsuruta, Tomohiro Asai, Tatsuhiro Ishida, Hiroshi Kiwada, Naoto Oku: T cell-independent B cell response induces accelerated blood clearance phenomenon caused by a repeated injection of PEGylated liposomes. International Liposome Society 2007 Annual Meeting 2007年12月8日 London, UK.
  - ◆ Atsushi Tsuruta, Eriya Kenjo, Kentaro Hatanaka, Tomohiro Asai, Noriyuki Maeda and Naoto Oku: Development of Novel Engineering Technology for Preparing Liposomal siRNA. International Liposome Society 2007 Annual Meeting 2007年12月8日 London, UK.
  - ◆ 宮内春奈、市川香苗、米澤 正、浦上武雄、清水広介、浅井知浩、奥 直人：抗原特異的薬物送達技術, Reverse-Targeting DDS (RT-DDS) を用いた免疫システムの制御. 第 30 回日本分子生物学会年会/第 80 回日本生化学会大会 2007年12月12日 横浜
  - ◆ 刀坂泰史、浅井知浩、内藤博敬、大橋典男、奥 直人：BiP protein による VEGF-MAPK シグナルの制御 第 30 回日本分子生物学会年会/第 80 回日本生化学会大会 2007年12月14日 横浜
  - ◆ 片山百合恵、浦上武雄、赤井周司、山下美菜、原田典弘、塚田秀夫、奥直人：ナノキャリア製剤開発のための新技術：体内動態の PET イメージング解析. 第 30 回日本分子生物学会年会/第 80 回日本生化学会大会 2007年12月14日 横浜
  - ◆ Kozako, T, Yoshimitsu M, Fujiwara H, Masamoto I, Horai S, Akimoto M, Kawada H, Suruga Y, Hamada H, Aoki N, Matushia K, Suzuki S, Uozumi K, Arima N. CTL exhaustion in persistent HTLV-1 infection and ATLL is restored through PD-1/PD-L1 pathway., 49th American

Society of Hematology Annual Meeting.(Atlanta),  
December, 2007

### 3. 知的所有権の出願・登録状況

#### 1. 特許取得

- ◆ 若尾 雅広, 隅田 泰生, 小川 智央, 「支持体に対する金属微粒子膜の形成方法及び局在プラズモン共鳴センサ」, 特開 2007-240463, 公開日: 2007年9月2日
- ◆ 隅田 泰生, 西村 知晃, 岸本 裕子, 鶴田 祥子, 病原微生物の濃縮方法」, 特願 2007-307044, 出願日: 2007年11月28日
- ◆ 特願 2008-9479 出願日: 2008.1.18 名称: てんかんの診断、処置または予防用組成物
- ◆ 特願 2008-23135 出願日: 2008.2.2 名称:  $\alpha$  2,3-シアル酸転移酵素 (ST3GalIV) 欠損非ヒト動物およびそれを用いたスクリーニング方法
- ◆ リンパ系腫瘍性疾患治療剤 (03P015): 出願中

#### 4. その他 (研究に関する新聞記事等)

- ◆ 2008年2月18日・22日テレビ報道 テレビ朝日系 「東北大学の世紀・糖尿病に挑む」で紹介

# 分 担 研 究 報 告

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業）

「シュガーチップを用いた検査・診断技術の開発」

平成19年度 分担研究報告書

リンカーおよび硫酸化オリゴ糖の合成、シュガーチップの作製  
ならびに SPR および MALDI-TOF/MS 解析

主任研究者 隅田泰生 鹿児島大学 大学院理工学研究科・教授

研究協力者 若尾雅広 鹿児島大学 大学院理工学研究科・助教

研究協力者 鶴田祥子 鹿児島大学 産学官連携推進機構・

V B 部門プロジェクト研究員

研究要旨

数ナノメートルの大きさのオリゴ糖鎖は、生体内で多彩な機能を示し、生命現象に不可欠な役割を有する [1]。糖鎖の生理活性を解析することは非常に重要であるが、構造明確な糖鎖を十分量得ることは困難が伴う。また、糖鎖1分子の活性は弱く、生体内ではそれらが集合して働いている。これらの特徴を持つ糖鎖とその作用相手である蛋白質や細胞、ウイルス等との結合相互作用を、作用相手を標識することなく迅速に解析するツールとして、我々は「シュガーチップ」及び糖鎖固定化金ナノ粒子「SGNP」を開発している [2-8]。本研究は、これらのナノバイオデバイスを迅速な検査・診断や病原因子の解明といった先端医療技術の開発に応用し、糖鎖が関係する疾患の簡便迅速診断技術や新しい薬剤の開発のためのスクリーニング技術確立することを目指して行っている。ここでは主として隅田が担当しているナノバイオデバイスについて、ならびにそれらを奥野准教授の報告と一部重複するが、インフルエンザウイルスおよびヘルペスウイルスに適応した共同研究の成果について報告する。

◎硫酸化糖鎖の合成とシュガーチップ化ならびにヘルペスウイルスへの適用

図1に示す、ヘパリン部分糖鎖構造4種類、コンドロイチン硫酸の部分構造4種の合成を達成した。そして、前年度に報告しているように、我々がすでに開発しているリンカー化合物と複合体化して、糖鎖リガンド複合体を調製した。それぞれのリガンド複合体を用いて糖鎖を固定化したアレイ型のチップ（アレイ型シュガーチップ）を作製し、ヒト単純ヘルペスウイルスの糖鎖結合特性を調べた。図2に結果を示す。ヒト単純ヘルペ

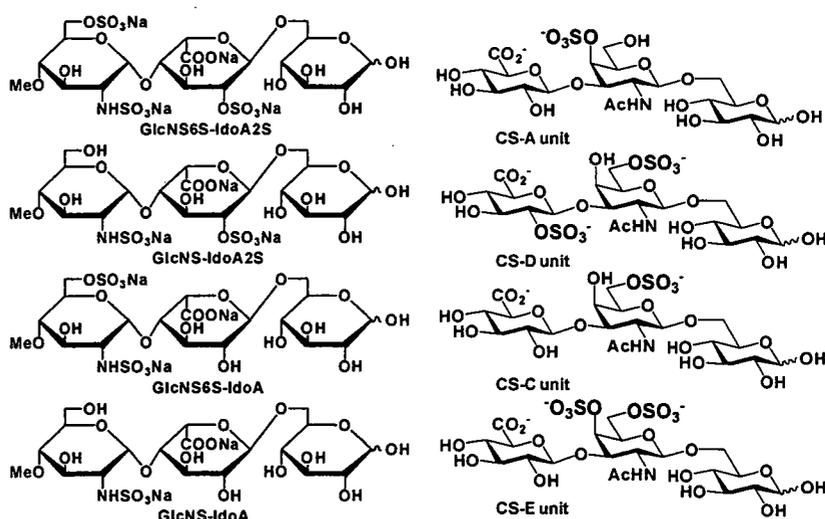


図1 合成した硫酸化オリゴ糖鎖

ス1型と2型で5種類の硫酸化糖への相対結合性は異なることが示され、1型と2型を識別できる可能性が示唆された。

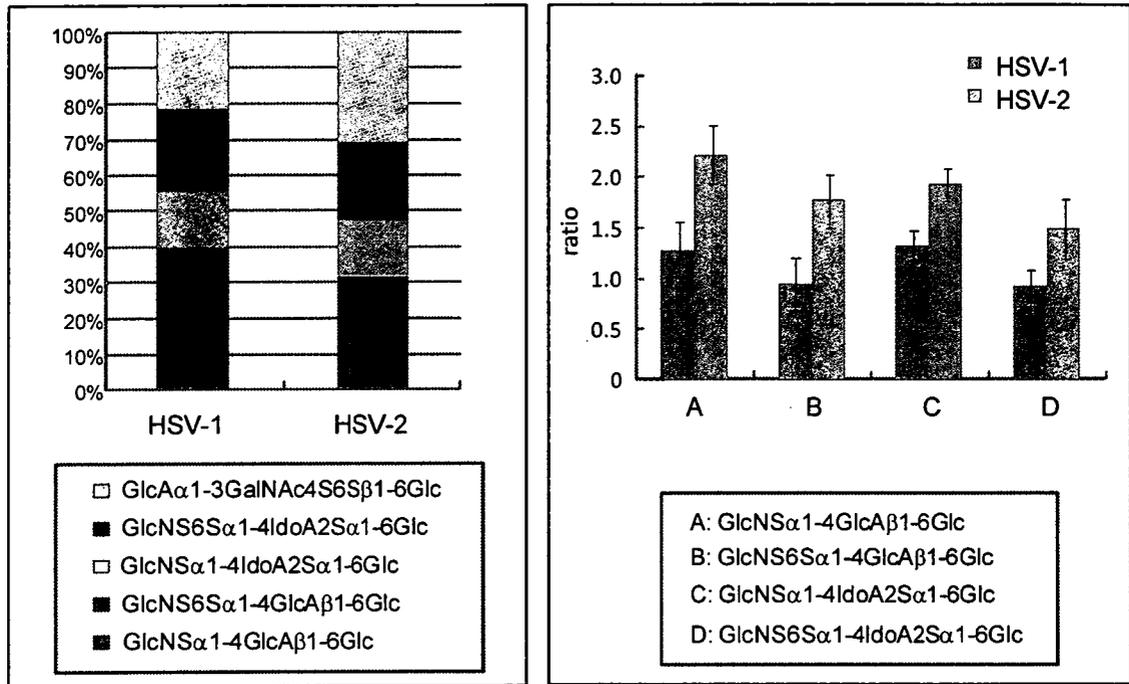


図2 硫酸化オリゴ糖鎖に対するヘルペスウイルスの相対結合活性

◎シアル酸含有糖鎖の合成とシュガーチップ化ならびにインフルエンザウイルスへの適用

図3上段 (Rは $\beta$ グルコース) に示す4種類のシアル酸含有糖鎖を化学・酵素法によって合成した。

そして、図3中段に示す2種の市販のシアリルラクトースおよび図3下段に示す2種類のアシアロ糖とともに、8種類のリガンド複合体を調製した。そして、アレイタイプのシュガーチップを作製し、約20株以上のインフルエンザウイルス株の結合特性を調べ、394個のデータを得た。一例を図4、5に示す。図4は生データである。すなわち、ウイルス濃度100HAU, 50HAU, 25HAUでA型インフルエンザウイルスシドニー株をアレ

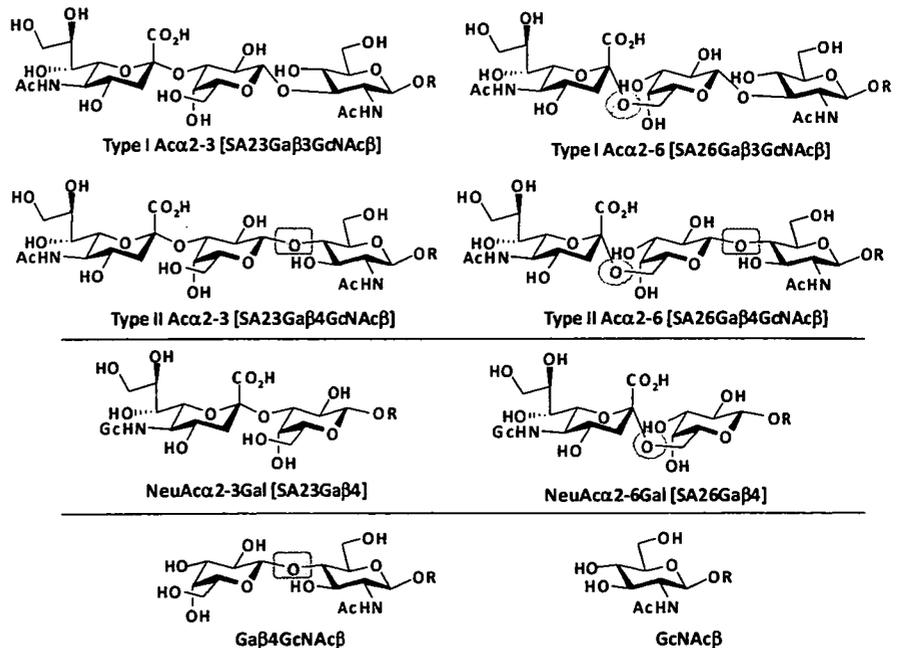


図3 インフルエンザウイルスの糖鎖結合活性に用いた糖鎖

イタイプのシュガーチップにかけたところ、ウイルス濃度が高くなるに従ってシグナル強度は高くなる(図4左下)が、各濃度でのそれぞれの糖鎖に対する結合度を相対結合活性としてプロットする(図4右下)と、ウイルス濃度にかかわらず8種類の糖鎖に対する相対結合活性はほぼ同じであることがわかった。そこで、同様に20株以上のウイルスを培養し、同様な実験を行った。図5は、ウイルス濃度50HAUの図3の8種類の糖鎖のうちコントロールである2種のアシアロ糖鎖への結合活性のデータを省いた6種類のシアル酸含有糖鎖への相対結合活性を示したものである。

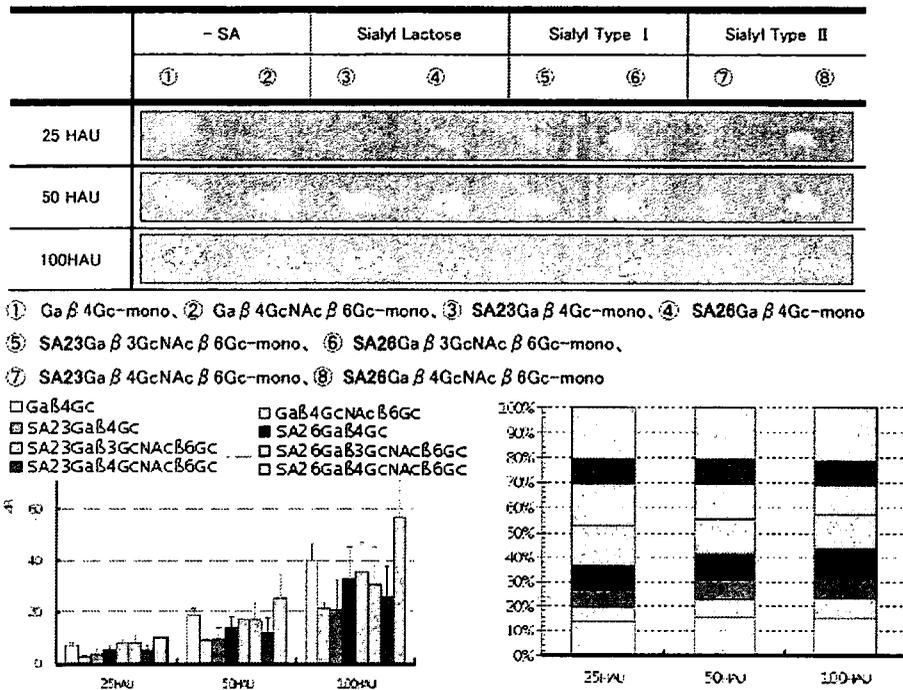


図4 インフルエンザウイルスシドニー株の糖鎖結合性

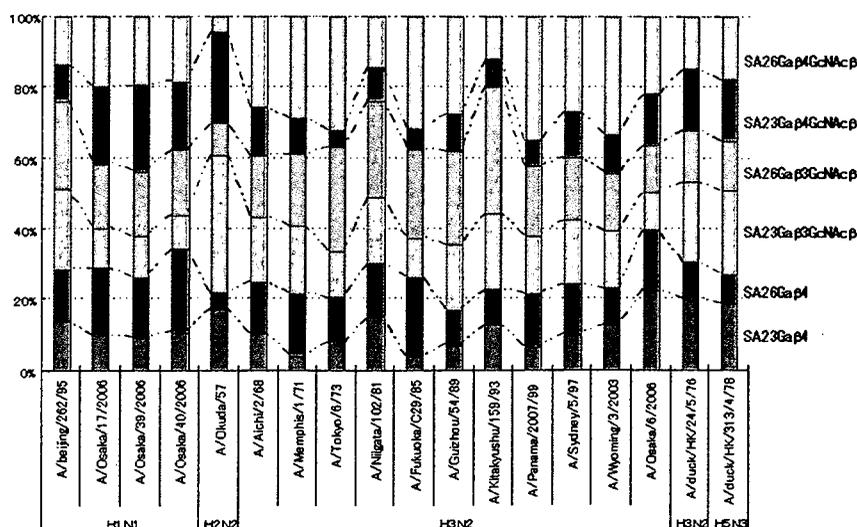


図5 シアル酸含有オリゴ糖鎖に対するインフルエンザウイルスの相対結合活性

次に、図6に示すように、これらの相対結合活性のデータをユークリッド距離情報としてデータベース化し、さらにウイルス株の識別を行うためのインフォマティクス解析を行った。現在までに精度80%で、インフルエンザウイルス株の予測ができることが明らかとなった。

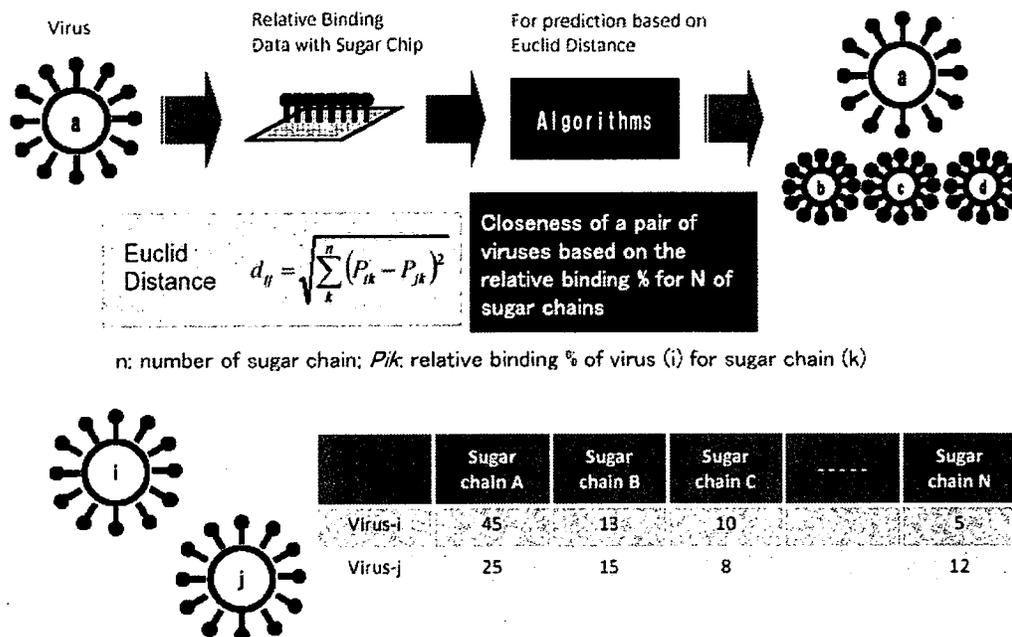
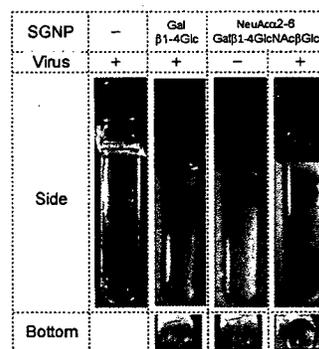


図6 ユークリッド距離に基づくデータベースと予測アルゴリズムの作成戦略

### ◎糖鎖固定化金ナノ粒子 (SGNP) とウイルスの捕捉・濃縮への応用

我々が調製したリガンド複合体が金と結合しやすいことを利用して開発した糖鎖固定化金ナノ粒子 (SGNP と総称) は結合タンパク質の探索、蛋白質の精製、50% 阻害濃度の決定、ドットプロテイング用のプローブといった基礎研究に用いることができ、さらに検査・診断用のツールとしての利用を検討した。図7にはシアル酸含有糖鎖の1つを固定化したSGNPとA型インフルエンザウイルスメンフィス株とを混合し、シヨ糖水溶液の上に重層し、超遠心分離した時の結果を示している。ウイルスとそのレセプターであるシアル酸含有糖鎖を固定化したSGNPを混合した場合は、沈殿が生成した。一方、ウイルスを入れない場合やレセプターでない糖鎖を結合したSGNPとウイルスを混合した場合は沈殿が生じなかった。これから、ウイルスのレセプター糖鎖を固定化したSGNPを用いれば、ウイルスを選択的に捕捉・濃縮が可能であることがわかった。



#### Protocol

Influenza Virus (200 HAU) 500  $\mu$ l  
 ↓ ← SGNP 500  $\mu$ l, 30 min.  
 Ultracentrifuge 24,000 rpm, 90 min, 15°C  
 \*35%/40%/45%/50%/60% sucrose

図7 シアル酸含有オリゴ糖鎖を固定化したSGNPによるウイルスの捕捉

そこで、図8に示すようなシステムを考えた。すなわち、ウイルスのレセプター糖鎖をSGNPやアレイタイプのシュガーチップを用いてスクリーニングし、決定する。その糖鎖を固定化したSGNPとウイルスを混合し、遠心分離して沈殿を得る。その沈殿からDNAもしくはRNAを抽出