

200922017B

厚生労働科学研究費補助金

認知症対策総合研究事業

細胞を血行性脳実質内動員する機序の解析および
そのアルツハイマー病治療への応用に関する研究

平成19年度～平成21年度 総合研究報告書

研究代表者 内村 健治

平成22(2010)年 3月

目 次

I.	総合研究報告	
	細胞を血行性脳実質内動員する機序の解析および	
	そのアルツハイマー病治療への応用に関する研究	----- 1
	内村 健治	
II.	研究成果の刊行に関する一覧表	----- 9
III.	研究成果の刊行物・別刷	----- 10

厚生労働科学研究費補助金（認知症対策総合研究事業）
総合研究報告書細胞を血行性脳実質内動員する機序の解析および
そのアルツハイマー病治療への応用に関する研究

研究代表者 内村 健治 独立行政法人 国立長寿医療研究センター 室長

研究要旨：アルツハイマー病の予防・治療法の開発は複数の介入点から様々な試みがなされているが薬剤あるいは遺伝子担体を血液脳関門を越えて如何にして脳内に送り込むかが大きな問題となる。本研究はこの問題を解決するために計画・実施された。アルツハイマー病（AD）モデルマウスを用いた解析から骨髄由来ミクログリア細胞がAD病態に伴って脳内へ移行し、神経毒性アミロイドβタンパク（Aβ）の除去に関与していることが国内外で明らかになってきた。本研究者はマウスミクログリア細胞およびADモデルマウスを用いて、脳移行性細胞の脳内浸潤における分子メカニズムを明らかにする目的で本研究を遂行した。本研究者は全く新規な組織内細胞浸潤機序を発見し（Veerman et al., *Nature Immunol*, 2007）、脳血管内での骨髄由来ミクログリア細胞の動態を生体内ビデオ蛍光顕微鏡で観察する技術を確立した（Uchimura et al., *Nature Immunol* 2005の応用）。マウスミクログリア細胞のADモデルマウス脳血管内におけるローリングおよび接着の増加が示された。さらに本研究者は脳移行ミクログリア細胞におけるセレクトインリガンド糖鎖の発現およびADモデルマウス脳における糖鎖認識セレクトイン分子の発現誘導を発見した。一方、ヘパラン硫酸多硫酸化ドメインが脳内重合Aβ沈着部位に選択的に強く発現することを本研究者は発見した。この特殊なドメインを持つヘパラン硫酸糖鎖が脳内におけるAβの重合に深く関わる事が示唆された。細胞医薬により脳内へ送り込む遺伝子の候補としてAD病理変化を低減させるとされるヘパラン硫酸糖鎖細胞外スルファターゼSulfを明らかにし（Hossain et al., *Glycobiology*, 2010）、Sulf遺伝子をミクログリア細胞に特異的に発現させるウイルス発現システムを構築した。これらの結果から、脳移行性細胞を遺伝子の脳内搬送体として使用する技術基盤が確立された。本研究により開発される細胞医薬の活用によりAD治療薬の効果的な投与方法や効果の増強が期待される。ADに対する革新的な治療法に繋がりさらにAD患者のQOL向上を導く研究である。

A. 研究目的

高齢化社会を迎えた我が国においてアルツハイマー病（AD）は増加の一途をたどっており、その治療法の確立は国民が強く求めるものとなっている。ADモデルマウスを用いた解析から、骨髄由来ミクログリア細胞がAD病態に伴って脳内へ移行し、AD病理変化に積極的に関わっていることが明らかになってきた（El Khoury et al., *Nature Med*

2007; Town et al., *Nature Med* 2008など）。骨髄由来ミクログリア細胞の血行性脳内浸潤の分子機序解明が急務となっている。本研究は脳内への当該細胞の血行性移入分子機序を明らかにし、得られた技術および情報をADの新規治療技術の開発へ応用することを目的とする。また、当該細胞を遺伝子の搬送体として脳内へ動員させる細胞医薬の確立を目指す。脳内へ搬送する遺伝子は

毒性をもった脳内A β 沈着体の凝集を停滞および減少させる分子遺伝子が対象となり、細胞外スルファターゼSulfをその候補遺伝子として検討した。

B. 研究方法

本研究者は白血球の血管から標的末梢組織内へ浸潤する際の分子機序を以前明らかにした (Uchimura et al., *Nature Immunol* 2005, Veerman et al., *Nature Immunol* 2007など)。以下の研究で使用したADモデルマウスはTg2576マウスおよびJ20マウスである。脳移行性ミクログリアはマウスMG5細胞およびマウスBV2細胞を使用した。①研究代表者はトランスウェルアッセイを用いて脳移行性ミクログリアと血管内皮細胞との相互作用をin vitroで検討した。また、ホーミングアッセイ (Uchimura et al., *Nature Immunol* 2005) により末梢投与したミクログリア細胞の脳内移行性を野生型マウスおよびADモデルマウスでin vivoで検討した。②脳移行性を示すミクログリア細胞の野生型マウスおよびADモデルマウス脳内での動態を生体内ビデオ蛍光顕微鏡法で観察した。ADモデルマウス脳内における脳移行性細胞の動態をイメージング解析し、野生型マウスと比較検討した。末梢組織炎症で細胞浸潤に働く分子およびそのメカニズムとの関連を明らかにするため2ヶ月齢の野生型マウスにLPS (15g/mouse)を腹腔内投与し4時間経過後、CFSE標識したマウスBV2ミクログリア細胞 (4×10^6)を尾静脈より投与した。同様に脳内における動態を観察した。他の末梢組織でみられるローリングや接着の機構が脳内で観察されるかどうか検討した。脳移行時に働くと予想される接着分子 (セレクチンリガンド、インテグリン) の生化学的解析およびフローサイトメトリーによる解析を行った。また、ADモデルマウス脳血管における接着分子 (セレクチン、ICAM1, VCAM1) の発現を免疫組織染色により解析した。③本代表者はヘパ

ラン硫酸多硫酸化ドメインが脳内アミロイド斑に異常に蓄積する知見を得た (2009年米国神経科学会発表)。この結果に関連してヘパラン硫酸多硫酸化ドメインのA β 重合への役割を多硫酸化ドメインが多いヘパリンと含有が非常に少ない化学修飾ヘパリンを用いたin vitro A β 重合アッセイにより比較検討した。また、当該ドメインを分解する細胞外スルファターゼSulf (本代表者が2002年に発見)のA β 重合への関与を検討した。④脳移行性細胞に恒常的に外来遺伝子を発現させるウイルス発現システムを各種ウイルスの使用により検討した。外来遺伝子の発現システム構築にはマウスミクログリア細胞株 (MG5)を用いた。培養MG5にZsGreen蛍光タンパク質遺伝子を組み込んだ各種ウイルスベクター (1×10^8 particles)を感染させ60時間後にZsGreen陽性細胞数を測定した。本センター-研究所中西章室長の研究協力により実施した。⑤一方、福祉村病院長寿医学研究所 赤津裕康副所長の研究協力によりヒトアルツハイマー病患者剖検脳におけるセレクチンおよび多硫酸化ヘパラン硫酸糖鎖ドメインの発現解析を実施した。

(倫理面への配慮)

研究実施に先立ち、各研究実施協力機関の倫理委員会による厳正中立な審査を受け、研究実施計画の承認を受ける。特にヒト試料を用いた研究実施に際しては人権の保護および個人情報の保護に最大限の注意を払うことを理解遵守し一層の徹底を図る。また、1)インフォームドコンセントの徹底、2)検体の使用及び保存についての中止請求を含む研究協力同意書の十分な説明、3)検体保存責任者を設置し当該者以外には連結不可能な匿名化を施したうえでのサンプル及びデータの保管、さらにスタンドアローンのコンピューターを用いたデータ処理、鍵のかかるキャビネット内へのデータ保管を行う。本研究において遺伝子の抽出・保

管および遺伝子発現の解析は行わず、遺伝情報に触れる事はない。

研究実施に先立ち、研究実施機関である国立長寿医療センターの倫理委員会による厳正中立な審査を受け、研究実施計画の承認を受けた。本申請研究で実施するモデルマウス対象研究はすべて本センター設置の遺伝子組換え生物実験安全委員会の審査を受け承認を得た。また、本センター設置の実験動物委員会および動物実験倫理委員会の審査を受け承認を得た。本研究課題に参画する者は「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律（カルタヘナ法）」、「動物の愛護及び管理に関する法律」および「動物を用いる生物医学研究のための国際指導原則」の更なる理解を確認し遵守した。

C. 研究結果

1) 本代表者は新規血管外遊走の分子機序を発見することに成功した (Veerman et al, *Nature Immunol*, 2007)。トランスウェルアッセイを進展させ脳移行性ミクログリアと血管内皮細胞との相互作用を *in vitro* で確認した。また、ホーミングアッセイにより百日咳毒素で処理した野生型マウスでは末梢投与した細胞の脳内移行性が観察される *in vivo* の知見を得た。ADモデルマウスでは末梢投与した細胞の脳内移行性が百日咳毒素の処理無しでも観られた。2) 本代表者は以前末梢組織で生体内ビデオ顕微鏡法を確立した (Uchimura et al, *Nature Immunol*, 2005)。この技術と脳位固定装置およびThin Skull法を用いて脳内における細胞イメージング解析法を本研究室に設置することが出来た。末梢投与ミクログリア細胞のマウス脳内におけるライブイメージングに成功した。末梢投与ミクログリア細胞は野生型マウス脳血管内ではfree flow血流速度で流れていたがADモデルマウス脳血管内では投与した一部の細胞が血管内ローリングや接着という動態を示した。また、

AD病態に伴って脳血管内において細胞ローリングや接着が誘発される知見が得られた (図)。LPS感作マウスにおいてBV2細胞の脳

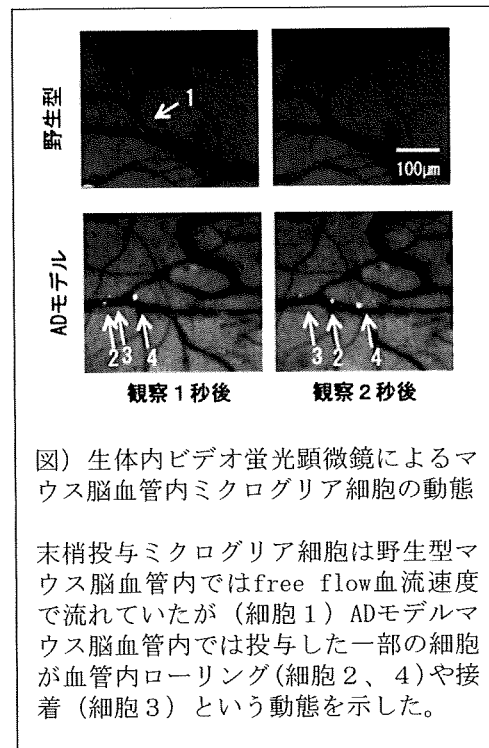


図) 生体内ビデオ顕微鏡によるマウス脳血管内ミクログリア細胞の動態

末梢投与ミクログリア細胞は野生型マウス脳血管内ではfree flow血流速度で流れていたが(細胞1) ADモデルマウス脳血管内では投与した一部の細胞が血管内ローリング(細胞2、4)や接着(細胞3)という動態を示した。

血管内腔における解析を行った結果、BV2のローリングおよび接着の増加が観察された。加齢アルツハイマー病モデルマウスの脳血管内解析結果とほぼ同じことが観察された。フローサイトメトリーの結果、末梢投与ミクログリア細胞がE-セレクトリンリガンド糖鎖、CD44および α Mインテグリンを発現している事が明らかとなった。さらに、免疫組織染色の結果、ADモデルマウス脳血管でE-セレクトリンが発現誘導される知見を得た。3) 本代表者が明らかにしたヘパラン硫酸多硫酸化ドメインの脳内アミロイド斑における異常蓄積の結果から、ヘパラン硫酸多硫酸化ドメインが $A\beta$ 重合を誘発促進していることが示唆されていた。*in vitro* $A\beta$ 重合アッセイの結果、多硫酸化ドメインが多いヘパリンが $A\beta$ 重合を促進する事が明らかとなった。一方、多硫酸化ドメイン

がほとんど無い化学修飾ヘパリンは当該作用を示さなかった事から多硫酸化ドメインそのものがA β 重合を促進すると強く示唆された。さらに、当該ドメインを分解することが知られている細胞外スルファターゼ Sulf (Hossain, Uchimura et al., *Glycobiology* 2009) がADモデルマウス脳内アミロイド斑において異常蓄積したヘパリン硫酸多硫酸化ドメインをex vivoで分解する事を明らかにした。4) 末梢投与ミクログリア細胞における外来遺伝子発現ウイルスベクターの開発を本研究所 遺伝子治療研究室 中西章室長の研究協力を受け行った。レンチウイルスベクターおよびポリオーマウイルスベクターを用いるとミクログリア細胞において高い確率で外来遺伝子を発現させる事ができる知見を得た。神経毒性重合A β の除去を亢進させることが強く期待される細胞外スルファターゼ遺伝子 Sulfを脳移行性細胞にウイルスベクターを用いて発現させ、血行性にAD脳内へ送り込む細胞医薬の基盤技術が確立された。5) ヒトアルツハイマー病剖検脳側頭葉におけるセレクチン分子の発現上昇をウェスタンブロット法により一部明らかにした。ヒトサンプルの採取はすべて医療法人さわらび会福祉村病院で行ったものを用いた。ヒトサンプルの解析はすべて国立長寿医療センター研究所で行った。

D. 考察

1) ホーミングアッセイの結果より、AD病態に伴って血液脳関門の機能が低下すると思われた。このことにより骨髄由来細胞の脳移行性が促進される可能性が示された。2) また、マウスミクログリア細胞株BV2がアルツハイマー病モデルマウス脳血管内において野生型では観られないローリングおよび接着の増加を示すことが示された。脳内浸潤においても他の末梢組織で見られるローリングや接着の機構が働くことが示された。さらに、LPS感作による全身性炎症

マウスでも同様に観察された。これらの事から、細胞のアルツハイマー病態脳内浸潤メカニズムは末梢組織炎症におけるメカニズムと一部共通する可能性が示された。ローリングや接着の機構に中心的に働く分子の発現がミクログリア細胞およびADモデルマウス脳血管で確認された。これらのことから、セレクチンリガンド糖鎖の発現を脳内遺伝子搬送細胞に効率よく発現させることが脳内細胞医薬に重要であると思われた。BV2はL-セレクチン分子やPSGL-1(P-セレクチンリガンド分子)は発現しないがE-セレクチンリガンド分子(シアリルルイスX糖鎖)は発現する。BV2の脳内血管におけるローリングの増加はE-セレクチンとそのリガンド分子を介した相互作用による結果であることが示唆された。3、4) 脳移行性ミクログリアを外来遺伝子脳内搬送体として利用する事を検討するためこれらの細胞に効率良く遺伝子を導入発現させるシステムの開発を検討した。マウスポリオーマウイルスPY2ベクターの選択的な高効率遺伝子発現結果はこのベクターを用いたシステム構築が有用であることを示している。レンチウイルスベクターは恒常的に発現を維持出来るがポリオーマウイルスベクターは数週間で発現がなくなることから、副作用に対処する場合はポリオーマウイルスベクターが有用であると思われた。さらに、AD病態脳内へ搬送する分子遺伝子を細胞外スルファターゼ Sulf遺伝子とすることが妥当であること、AD病態脳内で当該遺伝子を発現させ機能させればA β 沈着体の凝集を停滞および減少が期待できることが明らかとなった。5) ヒトアルツハイマー病剖検脳側頭葉におけるセレクチン分子の発現亢進結果はアルツハイマー病の大部分を占める孤発性アルツハイマー病の発症メカニズム解析へマウスの知見が応用できることを強く示唆する。

E. 結論

末梢静脈投与ミクログリア細胞の脳実質内への浸潤の機序がセレクトインとそのリガンド糖鎖を中心にほぼ解明できた。アルツハイマー病における毒性A β を減弱させる脳内搬送遺伝子の一つとして細胞外スルファターゼが同定された。今後はこれら重要となる分子を中心に臨床応用研究を行う必要がある。本研究により開発される細胞医薬の活用によりAD治療薬の効果的な投与方法や効果の増強が期待される。ADに対する革新的な治療法に繋がりさらにAD患者のQOL向上を導く研究である。また、認知症を最小限に抑える研究成果が予想され、それに付随した介護負担の軽減が社会的に期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

Veerman, K.M., Williams M.J., Uchimura, K., Singer, M.S., Merzaban, J.S., Naus S., Carlow, D.A., Owen, P., Rivera-Nieves, J., Rosen, S.D. and Ziltener, H.J. Interaction of the selectin ligand PSGL-1 with chemokines CCL21 and CCL19 facilitates efficient homing of T cells to secondary lymphoid organs.

Nature Immunol., 8, 532-539 (2007)

内村健治 (2007) リンパ球ホーミングとセレクトインリガンド糖鎖 実験医学 25巻、7 (増刊)、57-63

Muramatsu, T. and Uchimura, K. Sulfotransferases. In Experimental Glycoscience. (N. Taniguchi, A. Suzuki, Y. Ito, H. Narimatsu, T. Kawasaki and S. Hase, editors). Springer, Tokyo. 386-388. (2008)

Uchimura, K. and Muramatsu, T. N-acetylglucosamine-6-O-sulfotransfera

ses. In Experimental Glycoscience. (N. Taniguchi, A. Suzuki, Y. Ito, H. Narimatsu, T. Kawasaki and S. Hase, editors). Springer, Tokyo. 83-86. (2008)

内村健治

セレクトインと糖鎖

臨床検査 52:465-471, (2008)

Hossain MM, Hosono-Fukao T, Tang R, Sugaya N, van Kuppevelt TH, Jenniskens GJ, Kimata K, Rosen SD, Uchimura K. Direct detection of HSulf-1 and HSulf-2 activities on extracellular heparan sulfate and their inhibition by PI-88. Glycobiology. 20:175-86. (2010)

2. 学会発表

Kenji Uchimura; Md. Motarab Hossain; Durwin Tsay; Guido J. Jenniskens; Steven D. Rosen

Cell surface expression of heparan sulfate epitope regulated by Sulfs, extracellular endosulfatases

Annual meeting of Glycobiology 2007, Boston, USA, Nov 13, 2007

Hanayo Arata-Kawai; Kenji Uchimura; Steven D Rosen

Role of the sulfotransferase, GlcNAc6ST-2, in a mouse model of rheumatoid arthritis

Annual meeting of Glycobiology 2007, Boston, USA, Nov 14, 2007

Hanayo Arata-Kawai; Kenji Uchimura; David M Lee; Steven D Rosen

The role of sulfotransferases in autoimmune inflammatory arthritis

2007 Annual Scientific Meeting of American College of Rheumatology, Boston, USA, Nov 10, 2007

内村健治

「リンパ球ホーミングにおける血管外遊走メカニズム：細胞表面セレクトインリガンド糖鎖」

平成19年度名古屋大学医学部分子生物学セミナー

名古屋大学医学部、名古屋、2008年1月24日

内村健治

「セレクトインリガンド糖鎖とリンパ球血管外遊走メカニズム」

第12回Nagoyaアポトーシス研究会

名古屋大学医学部、名古屋、2008年2月28日

内村健治

「Cells Exploit Sugar」

第2回ミッドカイン研究会

名古屋大学医学部、名古屋、2008年3月13日

細野友美, Britschgi, M., Jenniskens, G. J., ホサインモタラブ 道川 誠
Wyss-Coray, T., 内村健治

アルツハイマー病モデルマウスの脳におけるヘパラン硫酸糖鎖の発現解析

第28回日本糖質学会年会、つくば、平成20年8月19日

ホサインモタラブ Tsay, D. Jenniskens, G. J. Rosen, S. D. 内村健治

細胞外スルファターゼにより発現調節される細胞表面抗ヘパラン硫酸抗体エピトープ

第28回日本糖質学会年会、つくば、平成20年8月20日

内村健治

アルツハイマー病と糖鎖生物学：モデル動物を用いた解析

第2回GFRG研究会、東京、平成20年9月18

日

内村健治

セレクトインリガンド糖鎖の硫酸化とリンパ球血管外遊走メカニズム

第19回プロテオグリカン特別講演会、札幌、2008年10月28日、

Tomomi Hosono, Motarab Hossain, Markus Britschgi, Makoto Michikawa, Guido J. Jenniskens, Tony Wyss-Coray and Kenji Uchimura

Cerebral Accumulation of Highly Sulfated Domains of Heparan Sulfate in Mouse Models of Alzheimer's Disease, Annual meeting of Glycobiology 2008, Fort Worth, USA, Nov 13, (2008)

内村健治

リンパ球血管外遊走におけるセレクトインリガンド糖鎖の硫酸化

第6回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム、品川、2008年12月4日

Tomomi Hosono, Motarab Hossain, Markus Britschgi, Makoto Michikawa, Guido J. Jenniskens, Tony Wyss-Coray and Kenji Uchimura

Cerebral accumulation of highly sulfated domains of heparan sulfates in mouse models of Alzheimer's disease
BMB2008, 神戸、2008年12月9日

Md. Motarab Hossain, Tomomi Hosono, Renhong Tang, Toin van Kuppevelt, Guido Jenniskens, Steven Rosen and Kenji Uchimura

Extracellular Remodeling of Heparin/Heparan Sulfate Proteoglycans by Sulfs, Glucosamine 6-endosulfatases
BMB2008, 神戸、2008年12月9日

Tomomi Hosono, Steven Rosen, Linda Noble,
Kenji Uchimura
Gene-expression patterns of
proteoglycans and sulfotransferases in
the mouse spinal cord temporally
regulated after contusion injury
BMB2008, 神戸, 2008年12月9日

内村健治

「白血球血管外遊走におけるセレクチン硫酸糖鎖の分子相互作用」
愛知医科大学 分子医科学研究所セミナー
講演, 愛知, 2009年2月4日

Kenji Uchimura

“Study of lymphocyte homing to lymph
nodes and its application for an analysis
of brain homing in an Alzheimer’s mouse
model”
1st NAGOYA Global Retreat, 大府, 2009
年2月21日

Md. Motarab Hossain, Tomomi Hosono,
Renhong Tang, Toin H. van Kuppevelt,
Guido J. Jenniskens, Steven D. Rosen and
Kenji Uchimura
Extracellular degradation of the RB4CD12
anti-heparan sulfate epitope by HSulf-1
and HSulf-2 67th Harden Conference,
Cambridge UK, Mar 29, (2009)

細野友美, モタラブ ホサイン, マーカス
ブリッチギ, 道川 誠, トインクッペヴェ
ルト, トニーワイスコレイ, 内村健治
ヘパラン硫酸多硫酸化ドメインのアルツハ
イマー病モデルマウス脳内における発現解
析
第73回日本生化学中部支部例会・シンポジ
ウム, 名古屋, 平成21年5月23日

内村健治

細胞の血行性組織内浸潤に関わる細胞表面
セレクチンリガンド糖鎖-リンパ球ホーミ
ング, 骨髄細胞アルツハイマー病脳内浸潤-
信州大学大学院医学研究科講義, 2009年6
月1日, 松本

細野友美, ホサインモタラブ, Britschgi M,
赤津裕康, 道川 誠, van Kuppevelt T,
Wyss-Coray T, 内村健治
アルツハイマー病態脳におけるヘパラン硫
酸糖鎖の解析
第3回GFRG研究会 8月25日, 北海道大
学

細野友美, ホサインモタラブ, マーカスブ
リッチギ, 赤津裕康, 道川 誠, トインクッ
ペヴェルト, トニーワイスコレイ, 内村健
治
アルツハイマー病態脳におけるヘパラン硫
酸鎖内部ドメインの発現解析
第29回日本糖質学会年会, 高山市, 平成
21年9月10日

ホサインモタラブ, 細野友美, レンホントン,
高之瀬邦子, 道川 誠, トインクッペヴェルト,
スティーブローゼン, 内村健治
ヘパラン硫酸多硫酸化ドメインの脳内にお
ける発現解析およびSulfによる分解
第29回日本糖質学会年会, 高山市, 平成
21年9月11日

細野友美, マーカスブリチギ, 赤津裕康,
道川 誠, トインクッペベルト, トニーワイ
スコレイ, 内村健治
アルツハイマー病脳アミロイド沈着におけ
るRB4CD12抗体認識ヘパラン硫酸鎖内部ド
メインの蓄積
第82回日本生化学会大会 神戸国際会議場,
2009年10月24日, 神戸.

ホサインモタラブ, 細野友美, レンホント
ン, 道川 誠, トインクッペベルト, スティ

ーブンローゼン, 内村健治

RB4CD12抗体が認識する細胞外スルファターゼ修飾ヘパラン硫酸内部ドメインのマウス脳内における発現
第82回日本生化学会大会 神戸国際会議場, 2009年10月24日, 神戸.

Tomomi Hosono, Motarab Hossain, Markus Britschgi, Hiroyasu Akatsu, Makoto Michikawa, Tony Wyss-Coray, Kenji Uchimura

Highly sulfated domains of heparan sulfate accumulate in cerebral A β plaques
Society for Neuroscience meeting, Chicago, 10/21/2009. Chicago

Kenji Uchimura

Sulfated endothelial ligands involved in cell migration into lymph nodes
IMMAG Seminar, Medical College of Georgia, 10/15/2009, Augusta

細野友美, ホサインモタラブ, マーカスブリチギ, 赤津裕康, 道川誠, トニーワイスコレイ, 内村健治

Highly sulfated domains of heparan sulfate accumulate in amyloid plaques of Alzheimer's disease brain
グローバルCOE第2回国際シンポジウム 名古屋ヒルトンホテル 2009年11月27日, 名古屋

ホサインモタラブ, 細野友美, 高之瀬邦子, 道川誠, ステューブンローゼン, 内村健治
Cerebral immunolocalization of the RB4CD12 anti-heparan sulfate epitope and its degradation by Sulfs, extracellular

endosulfatases

グローバルCOE第2回国際シンポジウム 名古屋ヒルトンホテル 2009年11月27日, 名古屋

細野友美, ホサインモタラブ, マーカスブリチギ, 赤津裕康, 道川誠, トインクッペヴェルト, トニーワイスコレイ, 内村健治
アルツハイマー病態脳におけるヘパラン硫酸糖鎖多硫酸化ドメインの発現解析
第28回日本認知症学会 東北大学百周年記念会館, 2009年11月20日, 仙台.

Tomomi Hosono, Motarab Hossain, Markus Britschgi, Hiroyasu Akatsu, Makoto Michikawa, Tony Wyss-Coray, Kenji Uchimura

Highly sulfated domains of heparan sulfate accumulate in cerebral A β plaques of patients and mouse models of Alzheimer's disease
第2回Nagoyaグローバルリトリート 愛知健康プラザ 2010年2月26日, 大府

G. 知的財産権の出願・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
新聞報道等
内村健治

「細胞移動仕組み解明、毒性物質排除 白血球治療に期待」
中日新聞 2007年4月3日朝刊

別紙 4

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Uchimura K and Muramatsu T	N-aetylglucosamine-6-0-sulfotransferases	Taniguchi N, Suzuki A, Ito Y, Narimatsu H, Kawasaki T, and Hase S	Experimental Glycoscience Glycobiology	Springer	Japan	2008	83-86
Muramatsu T and Uchimura K	Sulfotransferases	Taniguchi N, Suzuki A, Ito Y, Narimatsu H, Kawasaki T, and Hase S	Experimental Glycoscience Glycobiology	Springer	Japan	2008	386-388

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
内村健治	リンパ球ホーミングとセレクトインリガンド糖鎖	実験医学 (増刊)	25	57-63	2007
Veerman KM, Williams MJ, Uchimura K, Singer MS, Merzaban JS, Naus S, Carlow DA, Owen P, Rivera-Nieves J, Rosen SD, Ziltener HJ	Interaction of the selectin ligand PSGL-1 with chemokines CCL21 and CCL19 facilitates efficient homing of T cells to secondary lymphoid organs	Nature Immunology	8	532-539	2007
内村健治	セレクトインと糖鎖	臨床検査	52	465-471	2008
Hossain MM, Hosono-Fukao T, Tang R, Sugaya N, van Kuppevelt TH, Jenniskens GJ, Kimata K, Rosen SD, Uchimura K.	Direct detection of HSulf-1 and HSulf-2 activities on extracellular heparan sulfate and their inhibition by PI-88.	Glycobiology	20	175-186	2010

研究成果の刊行物・別刷

EXPERIMENTAL MEDICINE

実験医学  増刊

別刷

羊土社

〒101-0052

東京都千代田区神田小川町2-5-1 神田三和ビル

TEL 03(5282)1211 FAX 03(5282)1212

E-mail : eigyo@yodosha.co.jp

5. リンパ球ホーミングとセレクトインリガンド糖鎖

内村健治

血液/骨髄液由来の細胞が血行性に末梢組織へ移入するとき、ターゲットとなる組織の血管内において流速を減速することが第一のステップである。この場合、セレクトインとよばれる細胞表面分子とそのリガンド糖鎖の分子相互作用が重要である。リンパ球のリンパ節へのホーミングにおいてはリンパ球表面のL-セレクトインと高内皮細静脈(HEV)内皮細胞に発現するシアリル6-スルホルイスX硫酸化糖鎖の分子相互作用が必要であり、炎症部位への白血球の動員には内皮細胞表面上のP-セレクトインおよびE-セレクトインとそれらの白血球表面リガンドが重要である。本稿では、これらセレクトインとそのリガンド糖鎖の最近の知見を紹介する。

はじめに

白血球の一種であるリンパ球にはさまざまな種類が知られている。抗原による感作を受けていないナイーブリンパ球は恒常的にリンパ節や脾臓といった二次リンパ組織へ血行性に動員され、その後リンパ管および胸管を経て再び血液を介して二次リンパ組織へ戻ってくる。この現象はリンパ球ホーミングとして知られ¹⁾、

限られた数のナイーブリンパ球が二次リンパ組織内で効率よく抗原に出会う機会を増やしている。リンパ球のリンパ節ホーミングおよび炎症時における白血球の末梢炎症部位への血行性移入は、多段階の分子シグナルによって厳密に制御されていることが知られている^{2) 3)}。以下に記す多段階モデルは1991年に提唱され現在広く研究者に受け入れられている。すなわち、ターゲットとなる組織の血管内で、血液中を流れる細胞の表面分子はセレクトインとその認識リガンドである血管内皮細胞表面の糖鎖がタンパク質-糖/糖鎖^{※1}の比較的弱い相互作用を利用し血管内皮細胞上でローリングとよばれる現象を示すことで流速を減少させる。

【キーワード&略語】

ホーミング, リンパ球, セレクトイン, 糖鎖, 硫酸化

GlcNAc6ST : *N*-acetylglucosamine-6-sulfotransferase (*N*-アセチルグルコサミン-6-硫酸転移酵素)

GlyCAM-1 : glycosylation-dependent cell adhesion molecule-1

HEV : high endothelial venule (高内皮細静脈)

PNAAd : peripheral node addressin (末梢節アドレッシン)

PSGL-1 : P-selectin glycoprotein ligand-1

※1 糖/糖鎖修飾

タンパク質の翻訳後修飾の一つである。糖/糖鎖修飾には、加齢やアルツハイマー病などの病気で増加すると言われている“glycation”とよばれる非酵素的糖化反応(メイラード反応)と“glycosylation”とよばれる酵素的糖鎖付加反応が存在する。本稿で述べる糖/糖鎖は後者の酵素的付加反応によるものであり、それらを担う糖鎖合成酵素、糖鎖修飾酵素は主に細胞のゴルジ体に局在する。

Lymphocyte homing and carbohydrate ligands for selectins

Kenji Uchimura : Section of Pathophysiology and Neurobiology, Department of Alzheimer's Disease Research, National Institute for Longevity Sciences (国立長寿医療センター研究所アルツハイマー病研究部発症機序解析研究室)

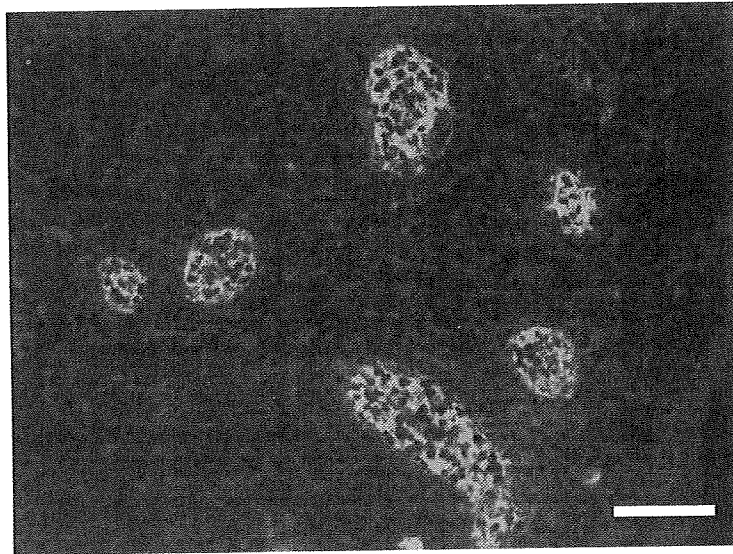


図1 MECA-79抗体で染色されたマウスリンパ節のHEV（高内皮細静脈）
 成体マウスの末梢リンパ節の凍結切片をMECA-79抗体で染色し蛍光赤（Cy3）で標識した二次抗体で検出した結果、MECA-79抗体は硫酸化されたL-セレクトリンリガンド糖鎖を認識する。本文参照。スケールバー：50 μ m（巻頭カラー図5参照、文献15より転載）

その後内皮細胞上に提示されたケモカインとローリング細胞上のケモカイン受容体が結合しローリング細胞に活性化シグナルが入る。このシグナルがローリング細胞上のインテグリンを活性化する。インテグリンと内皮細胞上の細胞接着分子とのタンパク質-タンパク質の結合が誘導され、その結果ローリング細胞は内皮細胞に強固に接着する。最終的に細胞は血管内皮細胞層をすり抜けて血管外遊走し組織内へ移入する。本稿ではこの多段階モデルの最初のステップであるセレクトリンとそのリガンド糖鎖の相互作用について述べる。ケモカインのシグナル機構およびインテグリンの活性化については総説¹⁾を読まれることを強く推薦する。

1 セレクトリン

セレクトリンファミリーにはL-セレクトリン（CD62L）、P-セレクトリン（CD62P）、E-セレクトリン（CD62E）の3つのメンバーが存在する。これらセレクトリン分子はN末端細胞外領域にカルシウム依存性レクチン様ドメインをもつ。L-セレクトリンは多くの白血球の細胞表面で発現され、リンパ球のリンパ節へのホーミングに重要である。P-セレクトリンは血小板の顆粒および

内皮細胞のバイベル・パラデー小体^{※2}に存在し、炎症性刺激により数分でそれぞれ細胞表面へ発現される。P-セレクトリンのリガンドとして多くの白血球に発現されるPSGL-1が知られている。PSGL-1分子中の硫酸化チロシン残基とそのシアリルルイスX^{※3}構造をもつ糖鎖の複合体をP-セレクトリンは認識する⁶⁾。E-セレクトリンは炎症性サイトカインにより内皮細胞での発現が誘導されその細胞表面に提示される。E-セレクトリンの主な認識決定構造はシアリルルイスX様糖鎖であると考えられる。この糖鎖構造をもつ細胞表面分子は多く報告されており、PSGL-1⁷⁾、CD44⁸⁾が生体内でE-セレクトリンリガンド分子として働くことが知られている。

※2 バイベル・パラデー小体

Weibel-Palade Body：血管内皮細胞に観られる細長い顆粒。細胞内小器官の一つ。

※3 シアリルルイスX

ルイスX構造 [Gal β 1-4 (α 1-3Fuc) GlcNAc] とよばれるオリゴ糖にシアリ酸が付加された構造。Sia α 2-3Gal β 1-4 (α 1-3Fuc) GlcNAc⁹⁾。

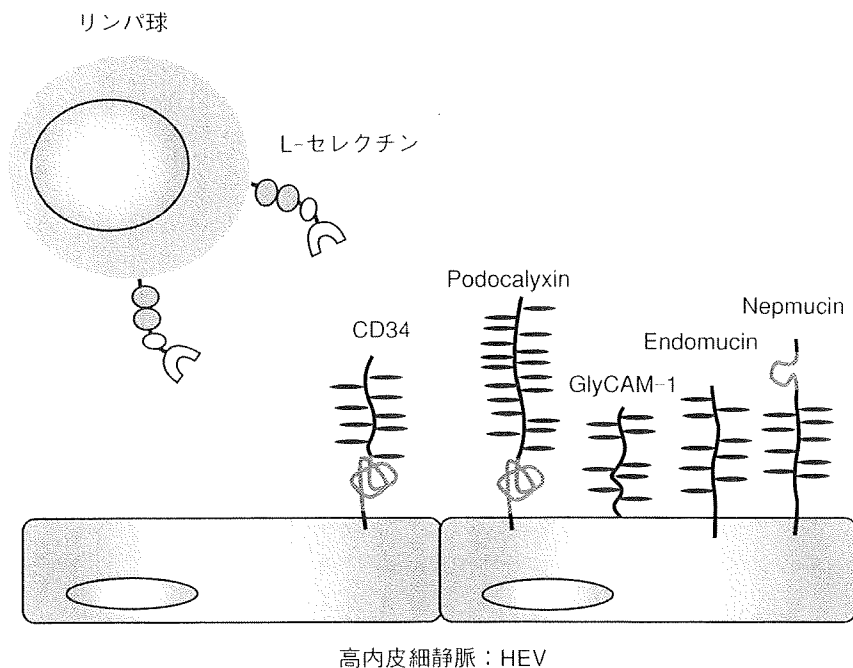


図2 リンパ節のHEVに発現されるL-セレクチンリガンド分子

HEVにおけるL-セレクチンリガンド分子はシアル酸や硫酸基で修飾された糖鎖（—）をもつシアロムチン糖タンパク質である。リンパ球に発現されるL-セレクチンはN末端のレクチンドメイン（∩）を介してこれら分子内のリガンド糖鎖を認識しリンパ球のローリングを媒介する。ここには示さないが腸間膜リンパ節やバイエル板のHEVではMAdCAM-1がL-セレクチンリガンドとして働き、急性炎症の炎症部位血管ではヘパラン硫酸プロテオグリカンが好中球のL-セレクチンリガンドとして作用する

2 セレクチンとリンパ球のローリング

ナイーブリンパ球が末梢のリンパ節へホーミングする際、リンパ球表面のL-セレクチンとリンパ節内の高内皮細静脈（high endothelial venules：HEV）¹⁰（図1）に発現されるその糖鎖リガンドとの分子相互作用によりローリングが媒介される。ナイーブリンパ球はmicrovilli^{※4}を細胞表面に多数保持する。L-セレクチンはmicrovilliに高密度に分布している。血液中を流れるリンパ球はこの突起を介してHEV内皮細胞表面上に繋がろうとする。このリンパ球が血管内で引っかかるような現象はtetheringとよばれる。tetheringの結果、血管内でのローリングが開始され、血流速度（～4,000 μm/秒）で流れるリンパ球は血管内で流速を減速（～10～50 μm/秒）する。一方、炎症時に炎症局所へ白血球が動員される場合、白血球表面上のP-セレクチンリガンド分子/E-セレクチンリガ

ンド分子と内皮細胞上のP-セレクチン/E-セレクチンの分子相互作用が起こる。このほかに、白血球-白血球の相互作用が生じる場合があり、この現象は二次的tetheringとよばれL-セレクチンと白血球上に発現するL-セレクチンリガンドが分子相互作用する¹⁰。二次的tetheringではP-セレクチンおよびE-セレクチンのリガンドとして働くPSGL-1がさらにL-セレクチンリガンドとしても機能することが示されている¹¹。最近、ヒトの末梢血に存在するヘルパーメモリーT細胞およびNK細胞が次節で述べるシアリル6-スルホリスX糖鎖構造を細胞表面に発現することが報告された¹²。これらの細胞が末梢組織へ血行性に移入する際、二次的tetheringがL-セレクチンを介して起こるのかもしれない。炎症部位への白血球の動員に深く関与するE-セレクチンおよびP-セレクチンの作用機序および生理機能についてさらに詳しく知りたい方は総説¹³を参考にすることを薦める。以下にナイーブリンパ球のリンパ節ホーミングに関わるL-セレクチン認識糖鎖およびその生合成酵素についてさらに詳しく解説する。

※4 microvilli

微小絨毛とよばれる細胞表面小突起。

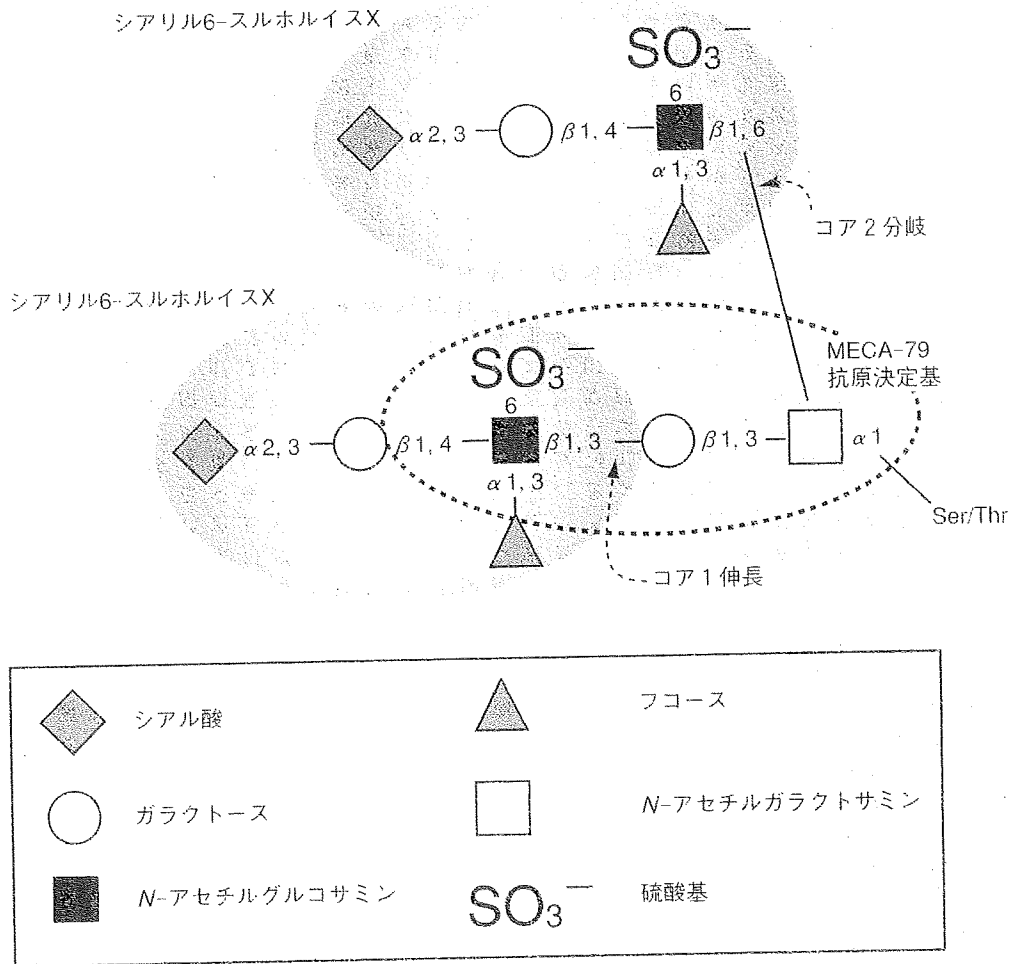


図3 L-セレクチンが認識するシアリル6-スルホルイスX糖鎖
 シアリル6-スルホルイスX糖鎖はコア2分岐鎖およびコア1伸長鎖に生合成される。図1で示すMECA-79抗体の抗原決定基は点線で囲まれた部分である。N-アセチルグルコサミン残基の6位の硫酸化はL-セレクチンによる認識およびMECA-79抗体の認識に重要である

3 HEVに発現するL-セレクチンリガンド糖鎖分子

現在までに明らかにされているリンパ節HEVに発現するL-セレクチンリガンド分子はCD34, Podocalyxin, GlyCAM-1, Endomucin, Nepmucin¹⁴⁾があげられる¹⁵⁾(図2)。これらHEVリガンドは多数のO-結合型糖鎖で修飾され、シアル酸や硫酸基で修飾された糖鎖を多く保持することからシアロムチンタンパク質ともよばれる。これらの分子の糖鎖に含まれるL-セレクチンの認識構造はシアル酸、フコース、硫酸基を含むN-アセチルラクトサミン構造(Galβ1-4GlcNAc)を基本骨格とするシアリル6-スルホルイスX^{※5)}構造である(図3)。シアリル6-スルホルイスX構造はコ

ア1伸長構造およびコア2分岐構造の両分岐鎖のキャッピング構造として存在しうる。コア1伸長構造上のシアリル6-スルホルイスX構造はリンパ節HEVを特異的に認識するMECA-79抗体の認識エピトープと重なる(図3)。このことからMECA-79がリンパ球ホーミングを*in vivo*で阻害する“function-blocking”抗体であることが理解できる。MECA-79で認識される分子は伝統的にPNAd(peripheral node addressin, 末梢節アドレスイン)とよばれている。しかしながら、

※5 シアリル6-スルホルイスX

シアリルホルイスX構造のGlcNAc残基の6位に硫酸基が付加された構造はシアリル6-スルホルイスXとよばれ、Gal残基の6位に硫酸基が付加された構造はシアリル6'-スルホルイスXとよばれる¹⁶⁾。

表1 N-アセチルグルコサミン6-硫酸転移酵素ファミリー¹⁵⁾

酵素名	他の文献における酵素名	遺伝子名	HEVにおける発現	L-セクチンリガンド合成能
GlcNAc6ST-1	N-アセチルグルコサミン6-硫酸転移酵素 (GlcNAc6ST)	CHST2	++	Yes
GlcNAc6ST-2	高内皮細静脈内皮細胞 N-アセチルグルコサミン6-硫酸転移酵素 (HEC-GlcNAc6ST), L-セクチンリガンド硫酸転移酵素 (LSST)	CHST4	+++	Yes
GlcNAc6ST-3	腸管 N-アセチルグルコサミン6-硫酸転移酵素 (I-GlcNAc6ST)	CHST5	-	-
GlcNAc6ST-4	コンドロイチン6-硫酸転移酵素-2 (C6ST-2)	CHST7	+/-	?
GlcNAc6ST-5	角膜 N-アセチルグルコサミン6-硫酸転移酵素 (C-GlcNAc6ST)	CHST6	-	-

コア2分岐鎖にのみシアリル6-スルホリスX構造をもつL-セクチンリガンド分子は機能的にはPNAdではあるがMECA-79で認識されないのでPNAdと記述することができず、PNAdという用語の使用に関して注意する場合がある。一方、シアリルリスXを認識せずシアリル6-スルホリスXを特異的に認識するG72およびG152モノクローナル抗体が作製されており¹⁶⁾ 今後これらの抗体の臨床応用が期待される。

4) L-セクチンリガンド糖鎖合成酵素

1) コア2 N-アセチルグルコサミン転移酵素 (Core 2 GlcNAcT)

O-結合型糖鎖のコア1構造に β 1-6結合でN-アセチルグルコサミンを転移し、コア2分岐を産生するCore 2 GlcNAcTは現在までに3種報告されているが¹⁷⁾、Core 2 GlcNAcT-IがHEVに発現しL-セクチンリガンド糖鎖の生合成に関わっていることが明らかにされている¹⁸⁾。Core 2 GlcNAcT-I遺伝子欠損マウスではリンパ節GlyCAM-1はコア2分岐型の糖鎖がほぼ消失する¹⁸⁾。

2) コア1伸長 N-アセチルグルコサミン転移酵素 (Core 1 β 1-3GlcNAcT)

O-結合型糖鎖のコア1構造に β 1-3結合でN-アセチルグルコサミンを転移しコア1構造を伸長させる酵素はCore1 β 1-3GlcNAcTである。この酵素はリンパ節HEVでの発現が確認されている¹⁷⁾。この酵素遺伝子の欠損マウスはMECA-79抗原の発現が消失するこ

とから、生体内では唯一この酵素がHEVのL-セクチンリガンド糖鎖生合成においてコア1伸長に関わる酵素である可能性が強い¹⁹⁾。

3) シアル酸転移酵素

N-アセチルラクトサミン構造のガラクトース残基に α 2-3結合でシアル酸を転移する酵素はST3Gal-III、ST3Gal-IVとST3Gal-VIである²⁰⁾。これら3種の酵素はHEVにおいてL-セクチンリガンド糖鎖の合成に関わることが予想される。ST3Gal-IVの遺伝子欠損マウスにおいてパイエル板のHEVにおけるL-セクチンリガンドの機能は変化しないことが報告された²¹⁾。この遺伝子欠損マウスの二次リンパ節は正常であることから、リンパ節HEVでのL-セクチンリガンド糖鎖のシアル酸合成はST3Gal-VIが補償作用を示しているのではないかと議論されている²¹⁾。

4) フコース転移酵素

コア2分岐のO-結合型糖鎖に α 1-3結合でフコースを転移する酵素はFucT-IVおよびFucT-VIIである。FucT-IVおよびFucT-VIIはともにリンパ節HEVで発現を示す²²⁾。FucT-VII遺伝子欠損マウスではリンパ節へのリンパ球ホーミングがほぼ消失することから、生体内HEVではFucT-VIIがFucT-IVに比べて優位にL-セクチンリガンド糖鎖の生合成に働いていると思われる²³⁾。

5) 硫酸転移酵素

シアリル6-スルホリスX構造内のN-アセチルグルコサミン残基の6位の硫酸化はN-アセチルグルコ

サミン-6-硫酸転移酵素 (GlcNAc6ST) により担われる。現在までにヒトでは5種、マウスでは4種のGlcNAc6STが報告されている¹⁵⁾(表1)。この中でGlcNAc6ST-1およびGlcNAc6ST-2はリンパ節HEVでの発現とL-セレクトインリガンド合成能が確認されている^{18) 24) 25)}。遺伝子欠損マウスHEVでのMECA-79抗体染色パターンの違い^{24) 25)}、ゴルジ体内での局在部位の違い²⁶⁾および*in vitro*でのそれぞれの酵素基質特異性²⁷⁾からGlcNAc6ST-1はコア2分岐鎖上のGlcNAc6-硫酸化を効率よく担い、GlcNAc6ST-2はコア1伸長およびコア2分岐両鎖のGlcNAc6-硫酸化を担うことが示唆される。興味深いことにGlcNAc6ST-1はN-結合型糖鎖由来のオリゴ糖に対する酵素活性が強く²⁷⁾、生体内でN-結合型糖鎖内のGlcNAc6-硫酸化を担い生理機能を発揮している可能性が示唆される。GlcNAc6ST-1とGlcNAc6ST-2の両遺伝子欠損マウスでは末梢リンパ節へのホーミングがTリンパ球Bリンパ球ともに減少する²⁸⁾。生体内ビデオ蛍光顕微鏡を使用した解析より、この両遺伝子欠損マウスのリンパ節HEVではリンパ球のローリングは起こるがローリングの速度の減少が不完全であることがわかった²⁹⁾。対照的にFucT-VIIの遺伝子欠損マウスHEVではローリングがほとんど起こらない²³⁾。このことから、フコースの付加はtetheringに重要であるが、硫酸化の付加はtetheringにはあまり寄与せずリンパ球のHEVからのdetachmentを制御していると思われる^{28) 29)}。ローリング速度の不完全な減速によりその後のステップであるケモカイン刺激が受け取れないために、HEV内での接着不全が起こると思われる^{28) 29)}。GlcNAc6ST-1とGlcNAc6ST-2のHEVにおけるシアリル6-スルホリスX合成能は両遺伝子欠損マウスのHEVに含まれる糖鎖解析による結果からも確認されている³⁰⁾。

5 L-セレクトインリガンド糖鎖と慢性炎症

HEVに発現するL-セレクトインのリガンド糖鎖および硫酸転移酵素は、慢性関節リウマチの滑膜炎症部位血管やぜんそく肺における白血球浸潤部位血管にも発現が認められる¹⁵⁾。L-セレクトインとHEVリガンド糖鎖の分子相互作用はリンパ球ホーミングに限らず、慢性炎症における白血球の炎症部位への動員にも関わることが強く示唆され、新たな治療法開発へ応用が期待されている¹⁵⁾。

おわりに

セレクトインリガンドとして働く糖鎖は本稿で詳しく述べたリンパ球のリンパ節へのホーミングに関わるだけでなく、他の血行性末梢組織ホーミングにも関わる。皮膚へホーミングするT細胞はセレクトインリガンド糖鎖合成酵素を発現しP-, E-セレクトインリガンドを細胞表面に発現するが、腸管へホーミングするT細胞はこれらのリガンド発現が抑制され、ホーミング特異性が厳密に制御される³¹⁾。樹状細胞が胸腺へホーミングし自己反応性クローンの除去に関与する場合にはP-セレクトインが重要であり³²⁾、骨髄へホーミングしセントラルメモリーT細胞に抗原提示する場合にはP-, E-セレクトインが重要である³³⁾。また、制御性T細胞がHEVを介してリンパ節へ移入する場合、制御性T細胞はL-セレクトインを発現し、炎症部位へ血行性に移入する場合はP-, E-セレクトインリガンドを発現する³⁴⁾。このようにセレクトインとその糖鎖リガンドの分子相互作用は生体内で多面的に機能し組織特異的な血行性ホーミングに関与しており、今後のさらなる研究の発展が期待されている。

文献

- 1) Gowans, J. L. : Immunol. Today, 17 : 288-291, 1996
- 2) von Andrian, U. H. & Mempel, T. R. : Nat. Rev. Immunol., 3 : 867-878, 2003
- 3) Luster, A. D. et al. : Nat. Immunol., 6 : 1182-1190, 2005
- 4) Kinashi, T. : Nat. Rev. Immunol., 5 : 546-559, 2005
- 5) Kannagi, R. : Curr. Opin. Struct. Biol., 12 : 599-608, 2002
- 6) Sako, D. et al. : Cell, 83 : 323-331, 1995
- 7) Hirata, T. et al. : J. Exp. Med., 192 : 1669-1676, 2000
- 8) Katayama, Y. et al. : J. Exp. Med., 201 : 1183-1189, 2005
- 9) Miyasaka, M. & Tanaka, T. : Nat. Rev. Immunol., 4 : 360-370, 2004
- 10) Eriksson, E. E. et al. : J. Exp. Med., 194 : 205-218, 2001
- 11) Sperandio, M. et al. : J. Exp. Med., 197 : 1355-1363, 2003
- 12) Ohmori, K. et al. : Blood, 107 : 3197-3204, 2006
- 13) Ley, K. & Kansas, G. S. : Nat. Rev. Immunol., 4 : 325-335, 2004
- 14) Umemoto, E. et al. : J. Exp. Med., 203 : 1603-1614, 2006
- 15) Uchimura, K. & Rosen, S. D. : Trends Immunol., 27 : 559-565, 2006
- 16) Mitsuoka, C. et al. : J. Biol. Chem., 273 : 11225-11233,

- 1998
- 17) Yeh, J. C. et al. : Cell, 105 : 957-969, 2001
- 18) Hiraoka, N. et al. : J. Biol. Chem., 279 : 3058-3067, 2004
- 19) Mitoma, J. et al. : Nat. Immunol., in press, 2007
- 20) Harduin-Lepers, A. et al. : Biochimie, 83 : 727-737, 2001
- 21) Sperandio, M. et al. : Eur. J. Immunol., 36 : 3207-3215, 2006
- 22) M'Rini, C. et al. : J. Exp. Med., 198 : 1301-1312, 2003
- 23) Maly, P. et al. : Cell, 86 : 643-653, 1996
- 24) Hemmerich, S. et al. : Immunity, 15 : 237-247, 2001
- 25) Uchimura, K. et al. : J. Biol. Chem., 279 : 35001-35008, 2004
- 26) de Graffenried, C. L. & Bertozzi, C. R. : J. Biol. Chem., 278 : 40282-40295, 2003
- 27) Uchimura, K. et al. : J. Biol. Chem., 277 : 3979-3984, 2002
- 28) Uchimura, K. et al. : Nat. Immunol., 6 : 1105-1113, 2005
- 29) 内村健治 : 実験医学, 24 : 392-395, 2006
- 30) Kawashima, H. et al. : Nat. Immunol., 6 : 1096-1104, 2005
- 31) Iwata, M. et al. : Immunity, 21 : 527-538, 2004
- 32) Bonasio, R. et al. : Nat. Immunol., 7 : 1092-1100, 2006
- 33) Cavanagh, L. L. et al. : Nat. Immunol., 6 : 1029-1037, 2005
- 34) Huehn, J. & Hamann, A. : Trends Immunol., 26 : 632-636, 2005

<著者プロフィール>

内村健治 : 1999年名古屋大学大学院医学研究科博士過程修了(村松 喬教授), 2001年よりカリフォルニア大学サンフランシスコ校医学部解剖学免疫部門(Steven D. Rosen教授), 日本学術振興会特別研究員DC1, PD, 海外特別研究員, 2006年10月より現職, 中枢神経組織実質内への血行性細胞動員の分子メカニズムの解明および糖鎖生物学, 免疫生化学を応用した神経変性疾患の新規治療法の開発に貢献したい, 現在ポスドク, 学生さん募集中,

E-mail : arumihcu@nils.go.jp