

Mieap- α の役割について」、
平成24年12月11日、第35回日本分子生物
学会年会（福岡市）

14. 吉田将紀、中村康之、喜多村憲章、加美
野宏樹、村井竜也、齋藤有理、佐野仁哉、荒
川博文

ポスター発表、演題「低酸素ストレスはリソ
ソームタンパク質のミトコンドリア内集積を
誘導する」、

平成24年12月12日、第35回日本分子生物
学会年会（福岡市）

15. 加美野宏樹、中村康之、喜多村憲章、二
村学、加美野宏樹、吉田将紀、村井竜也、齋
藤有理、佐野仁哉、金井弥栄、荒川博文

口演発表、演題「大腸がんでみられる Mieap
制御性ミトコンドリア品質管理機構の破綻と
その意義について」、

平成24年12月19日、第12回日本ミトコン
ドリア学会年会（つくば市）

16. 佐野仁哉、加美野宏樹、中村康之、吉田
将紀、村井竜也、齋藤有理、二村学、吉田和
弘、荒川博文

口演発表、演題「Analysis of the
p53/Mieap/BNIP3 mitochondrial quality
control pathway in esophageal and
gastric cancer」、

17. 吉田将紀、中村康之、喜多村憲章、加美
野宏樹、村井竜也、齋藤有理、佐野仁哉、荒
川博文

口演発表、演題「低酸素ストレスはリソソ
ームタンパク質のミトコンドリア内集積を誘導

する」、

平成24年12月19日、第12回日本ミトコン
ドリア学会年会（つくば市）

18. 中村康之、尾野雅哉、宮本嵩史、喜多村
憲章、加美野宏樹、吉田将紀、村井竜也、齋
藤有理、佐野仁哉、山田哲司、荒川博文

口演発表、演題「Mieap 結合タンパク質とし
ての14-3-3 γ の同定とそのミトコンドリア品
質管理における役割について」、

平成24年12月19日、第12回日本ミトコン
ドリア学会年会（つくば市）

19. 村井竜也、中村康之、吉田将紀、加美野
宏樹、齋藤有理、佐野仁哉、荒川博文

口演発表、演題「ミトコンドリア由来活性酸
素種のがん治療標的としての意義」、

平成24年12月20日、第12回日本ミトコン
ドリア学会年会（つくば市）

20. 齋藤有理、中村康之、喜多村憲章、吉田
将紀、加美野宏樹、佐野仁哉、荒川博文

口演発表、演題「Mieap 誘導性液胞様構造物
の形成における UVRAG との結合を介した
Mieap- α の役割について」、

平成24年12月20日、第12回日本ミトコン
ドリア学会年会（つくば市）

H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

がん間質の免疫微小環境に関する研究

分担研究者 平岡 伸介 国立がん研究センター研究所

分子病理分野 ユニット長

研究要旨：本研究では、ヒト膵がん間質の免疫微小環境の理解を深めるために、それに関わる形態学的変化、腫瘍間質に浸潤する免疫担当細胞、腫瘍間質で発現される分子の免疫微小環境における意義を検討し、さらに抗腫瘍性の免疫微小環境の形成に関わる分子機序に迫ることで、効果的な免疫療法の開発や分子標的治療の開発、がんの予後予想に資する知見を得ることを目指している。平成24年度の具体的な成果は、1) 膵がん間質に浸潤する複数の免疫担当細胞を同時に評価することにより、個々の免疫担当細胞浸潤の評価では得られなかった、細胞浸潤と免疫微小環境の特性との関係を明らかにした。2) 膵がん間質に浸潤する活性型の異なるマクロファージの浸潤様式から、同一症例内でも微小領域によって免疫環境の特性に違いのある、不均一な状態であることが示唆され、それは遺伝子発現パターンの違いとして示されることが示唆された。3) サイトカイン・サイトカインリセプター遺伝子発現と患者予後とを比較検討し、抗腫瘍性免疫微小環境(患者長期生存)と深く関連するサイトカイン遺伝子候補を複数同定した。更にその結果を新たな2つの膵がんコホートを用いて検証した。これらの知見を元に、今後さらに免疫微小環境の遺伝子発現の特徴付けを行うことで、免疫微小環境形成の分子機序に迫っていけるものと期待される。

A. 研究目的

浸潤・転移等、がんの重要な臨床的特性は、がん細胞、がん間質、また両者の相互作用によって規定されている。免疫担当細胞はがん間質を構成する一員であり、がんの微小環境に与える影響は大きい。未だ有効な治療法として確立されていないがんに対する免疫療法にとって、その問題点を克服し、効果的な治療を確立することは急務である。それにはヒトがんで実際に起こっている、がんとヒト免疫系を含めたがん間質との相互作用を深く理解することは不可欠である。本研究では、厚生労働行政上にも緊急の課題である難治性膵がんに注目して、ヒトがん間質の免疫微小環境の理解を深めることを目指し、それに関わる形態学的変化、腫瘍間質に浸潤する免疫担当細胞、腫瘍間質で発現される分子について臨床病理学的検討を元に、それら分子発現や免疫細胞浸潤様式の内の何が、抗腫瘍性(免疫反応性)と好腫瘍性(免疫寛容)といった免疫微小環境を特徴付けているのかを検討し、次いでそれらの分子発現や細胞浸潤がどのような分子機序で各微小環境の形成に寄与しているのかを、*in vitro* 解析や動物モデルを用いて解析する。

本年度は、1) 膵がん間質に浸潤する免疫担当細胞を個々の免疫担当細胞の評価に止まらず、実際の

がん間質の状態に近づけるため同時に複数の免疫担当細胞を評価し、免疫微小環境の特性との関係を検討した。2) 免疫微小環境の不均一性をマクロファージの活性化の違いを指標に検討し、同時にM1マクロファージとM2マクロファージが浸潤する各がん間質の免疫微小環境を特徴付ける遺伝子発現の同定を試みた。3) サイトカイン・サイトカインリセプター遺伝子発現と患者予後とを比較検討し、抗腫瘍性免疫微小環境(患者長期生存)と深く関連するサイトカイン遺伝子候補を複数同定した。更にその結果を新たな2つの膵がんコホートを用いて検証した。

本研究により、がん間質において抗腫瘍免疫を惹起し、宿主免疫に対する抑制を解除する分子機構が見出され、効果的な免疫療法の開発や分子標的治療の開発、がんの予後予想に資する知見を得ることが期待される。膵がんの治療選択肢が広がるようになれば、国民の保険・医療に寄与するところが大変に大きい。

に寄与するところが大変に大きい。

B. 研究方法

免疫微小環境は、抗腫瘍性(免疫反応性)と好腫瘍性(免疫寛容)に大別でき、がん間質ではそれらが種々の程度に混在した状況と考えられる。また好腫瘍

性環境の中には、がんの浸潤・転移等に有意な関係を示す亜環境もあると推測される。そこで、まず抗腫瘍性と好腫瘍性の免疫微小環境がどのような形態学的変化、免疫担当細胞の浸潤様式や分子の発現により特徴付けられるのかを検討し、次いでそれらの分子発現や細胞浸潤がどのような分子機序で各微小環境の形成に寄与しているのかを解析する。以下に本年度に実施した研究の方法を記す。

1. 膵がん組織に浸潤する免疫担当細胞と免疫微小環境

1990-2005年に国立がん研究センター中央病院肝胆膵外科で切除された膵がん約200症例について、主たる6種の免疫細胞浸潤(CD4⁺T細胞、CD8⁺T細胞、CD4⁺FOXP3⁺制御性T細胞、マクロファージ(M1, M2各マクロファージ)、好中球)を免疫組織化学により解析し、患者予後を主体に臨床病理学的情報と比較検討した。各免疫細胞浸潤を全症例の中間値で、浸潤の多い群と少ない群の2群に分けた。2種の免疫細胞浸潤を各々の多少群から4群に分けて生存解析を行い、3種の免疫細胞浸潤の場合は、各々免疫細胞浸潤の多少群から8群に分けて生存解析を行った。

2. 膵がん組織のM1マクロファージあるいはM2マクロファージ浸潤が優位な微小領域に特徴的な遺伝子発現に関する研究

膵がん組織凍結組織切片から免疫組織化学によりM1マクロファージあるいはM2マクロファージが優位に浸潤する部を特定し、連続切片を用いてそれらの部位をレーザーマイクロダイセクションにより切り出し、その組織から全RNAを抽出後、マイクロアレイ(アジレント社G4851A)を用いた網羅的遺伝子発現解析を実施した。

3. 免疫微小環境を特徴付けるサイトカイン遺伝子あるいはサイトカインリセプター遺伝子発現の同定に関する研究

これまでの膵がんコホート(2003-2005年当院切除約120症例)に加えて、2つのコホート[凍結組織約150症例(2006-2008年当院切除)、ホルマリン固定パラフィン包埋組織約120症例(199-2002年当院切除)]を追加して検討した。凍結組織から全RNAを抽出し、それを元にサイトカイン遺伝子発現を定量的RT-PCR法により解析し、ホルマリン固定組織に対してはサイトカイン分子に対する抗体を作成し、免疫組織化学によりそのサイトカイン分子を発現する免疫細胞浸潤を解析し、患者予後情報を含めた臨床病理学的情報と比較検討した。患者予後良好・不良との有意な関連性を以て、その発現が抗腫瘍性(免疫反応性)と好腫瘍性(免疫寛容)の微小環境を特徴付ける遺伝子と判断した。

倫理面への配慮

平成19年8月16日改正文部科学省・厚生労働省「疫学研究に関する倫理指針」に従い、倫理面に十分配慮して研究をすすめる。手術材料の残余の組織などの研究利用につき、患者に対して予め説明し文書で包括的同意を得る。患者の治療方針決定のための病理組織標本を迅速に作成して残余の組織を採取することにより、患者への不利益を生じさせない。患者の臨床情報のうち本研究に必要なものは、別に診療録より調査しておき、解析の過程では連結可能匿名化して取り扱うなどの細心の注意を払い、患者のプライバシーを遵守する。本研究に関して、所属施設の倫理委員会の承認を既に得ている(国立がん研究センター倫理審査委員会課題番号17-77)。動物実験は動物愛護の立場に立ち、動物愛護管理法(環境省)、厚生労働省における動物実験等の実施に関する基本指針(厚生労働省)、カルタヘナ法(文部科学省)等の法令、指針に基づく国立がん研究センターにおける動物実験に関する指針に則って実施する。

C. 研究結果

1. 複数の免疫細胞浸潤評価と免疫微小環境の特性に関する研究

より現実的な免疫微小環境の特性を検討するため、同一がん組織で複数の免疫細胞種の浸潤様式を組み合わせて検討した。膵がん組織に浸潤する個々の免疫細胞[CD4⁺T細胞、CD8⁺T細胞、CD68⁺HLA-DR⁺M1マクロファージ、CD163⁺あるいはCD204⁺M2マクロファージ、CD4⁺FOXP3⁺制御性T細胞(Treg)]と患者予後との関係は以下の通りであった。CD4⁺T細胞、CD8⁺T細胞の各浸潤が多い症例、およびがん間質に浸潤するマクロファージ全体に占めるCD68⁺HLA-DR⁺M1マクロファージの比率(%M1)の高い症例は、そうでない症例群に比して、全生存率(overall survival, OS)および無病生存率(disease-free survival, DFS)が有意に高い。CD163⁺M2マクロファージ、あるいはCD66b⁺好中球のがん間質浸潤の多い症例、およびTregのCD4⁺T細胞に占める割合(%Treg)の多い症例は、そうでない症例群に比してOSとDFSが共に有意に短い。何れの免疫細胞浸潤も多変量解析により、独立した予後因子もしくは予後不良因子として位置付けられる。そこでこれら6種の免疫細胞浸潤を組み合わせてKaplan-Meier生存解析を実施した。その免疫細胞のがん間質への浸潤が多いと予後良好の2種の免疫細胞浸潤を組み合わせると、2種とも細胞浸潤が多い群で最も生存が長く、2種とも細胞浸潤が少ない群で最も生存が短く、どちらか一方の細胞浸潤が多く他方が少ない群では生存が前二者の中間に来ると推測される。ところが、いくつかの組み合わせでそうではない結果となった。CD4⁺T細胞、CD8⁺T細胞の組み合わせでは、両細

細胞浸潤が多い群のみが生存が有意に長く、他の3群(両細胞浸潤が少ない群、どちらか一方の細胞浸潤が多く他方が少ない群)はほぼ同様の生存曲線を示し、生存が短かった。CD4⁺T細胞と%Treg、CD8⁺T細胞と%Tregの組み合わせでは、CD4⁺T細胞もしくはCD8⁺T細胞の細胞浸潤が多く%Tregが少ない群のみが生存が有意に長く、他の3群はほぼ同様の生存曲線を示し、生存が短かった。また%M1が多くCD163⁺M2マクロファージ浸潤が少ない群のみが、生存が有意に長く、他の3群はほぼ同様の生存曲線を示し生存が短かった。次にCD4⁺T細胞、CD8⁺T細胞、%Tregの3種を組み合わせると、CD4⁺T細胞とCD8⁺T細胞の細胞浸潤が多く%Tregが少ない群のみが他の組み合わせ群に比して際だって生存が長いことがわかった。さらにこれら因子を組み合わせで新たな因子として「CD4⁺T細胞とCD8⁺T細胞浸潤が多く%Tregが少ない」か否か、「%M1が多くCD163⁺M2マクロファージ浸潤が少ない」か否か、を定義し多変量解析により、CD4⁺T^{high}/CD8⁺T^{high}/%Treg^{low}(ハザード比 2.667(1.661-4.281)、 $P < 0.0001$)と%M1^{high}/M2^{low}(ハザード比 2.252(1.545-3.284)、 $P < 0.0001$)は、いずれもより高いハザード比を有する独立した予後因子となった。以上、複数の免疫細胞浸潤を組み合わせることで、個々の免疫細胞浸潤では計れなかったよりリアルな免疫微小環境の特性を推し量ることが可能となった。

2. 膵がん組織のM1マクロファージあるいはM2マクロファージ浸潤が優位な微小領域に特徴的な遺伝子発現に関する研究

膵がん間質に浸潤するM2マクロファージは腫瘍支持性(免疫寛容)免疫微小環境を、M1マクロファージ浸潤のある微小環境は抗腫瘍性免疫微小環境と深く関連している。M1マクロファージとM2マクロファージが優位な微小領域を膵がん組織内で詳細に観察すると、同一症例であってもがん間質に浸潤するM1とM2の比率や優位性は微小領域により不均一であり、それら不均一なM1、M2優位な領域の総和が全体の微小環境を方向付けると推測された。同一症例の中でM1マクロファージあるいはM2マクロファージ優位な微小環境がどのように形成されているのか、その制御機序を検討する目的で、まずM1マクロファージとM2マクロファージが浸潤する各がん間質の免疫微小環境を特徴付ける遺伝子発現を調べるために、各々の組織を採取して網羅的遺伝子発現解析を実施した。約100例の膵がん症例から同一症例内でM1マクロファージとM2マクロファージの優位な微小領域を比較可能な症例は4症例であり、それらについて同一症例内でのM1・M2マクロファージ優位領域での遺伝子発現比較をし、得られた発現に差のある遺伝子を症例間で検討した。M1とM2優位領

域での遺伝子発現差が5倍以上で、4症例全てで共通して変化の見られる遺伝子数は、M1>M2(M1優位領域でM2優位領域よりも発現の高い遺伝子)が3遺伝子、M2>M1(M2優位領域でM1優位領域よりも発現の高い遺伝子)はなく、4症例の内の3症例に共通して変化の見られた遺伝子数は、M1>M2が32遺伝子、M2>M1が13遺伝子であった。またM1とM2優位領域での遺伝子発現差が2倍以上で、4症例全てで共通して変化の見られる遺伝子数は、M1>M2が53遺伝子、M2>M1が30遺伝子、4症例の内の3症例に共通して変化の見られた遺伝子数は、M1>M2が766遺伝子、M2>M1が766遺伝子であった。

3. 免疫微小環境を特徴付けるサイトカイン遺伝子あるいはサイトカインリセプター遺伝子発現の同定に関する研究

その発現が抗腫瘍性免疫微小環境を特徴付けるIL-12ファミリー遺伝子について、新たな2つの膵がんコホートをを用いて、定量的RT-PCRを用いて遺伝子発現を計測したRNAレベルの検討と遺伝子のコードする分子を発現する免疫細胞浸潤を免疫組織化学により評価した蛋白レベルの検討を各コホートについて実施した。目的サイトカイン遺伝子発現の多い症例群および目的サイトカイン分子発現細胞の浸潤の多い群が、長期の患者生命予後と統計学的に有意に関連し、多変量生存解析により独立した予後因子になることが明らかとなり、最初のコホートでの結果が確認された。

D. 考察

1. 複数の免疫細胞浸潤評価と免疫微小環境の特性に関する研究

複数の免疫細胞浸潤を同時に評価することで、個々の免疫細胞浸潤ではわからなかった免疫微小環境との関係を明らかにすることが出来た。例えば、がん間質に浸潤するCD4⁺T細胞、CD8⁺T細胞はいずれも単独で予後因子になるが、両細胞浸潤の多い場合のみで抗腫瘍性環境となり、どちらか一方のみの浸潤が多い場合は両者の浸潤が少ない場合と同様の免疫寛容状態であることが明らかとなった。両者の多いことはTh1環境を示唆し、ここではTreg浸潤も低い環境になると考えられるが、例えばCD8⁺T細胞のみ高い状況がTh1から別の環境、免疫反応状態から組織再生状態への過渡期の状況を捉えているのかなどについて、免疫細胞浸潤の示す微小環境を理解する上で、今後検討すべき課題である。尚、膵がん間質でTh1環境の存在を同定するために、Interferon- γ 、IL-12、TBX21等の遺伝子発現はこれまでに適切と云える結果を得ていないことから、CD4⁺T細胞、CD8⁺T細胞浸潤を評価することはTh1環境評価にとって重要と考えられる。M1マクロファージとM2マクロファ

ージの関係も、抗腫瘍性環境には前者が多く後者が少ない場合のみであることは、がん間質においてM1とM2の活性型が状況に応じて移行し得ることを考慮すると、微小環境の状態をよく反映する結果と云える。しかし、M1からM2に向かうのか、M2からM1に向かうのかなど、マクロファージ活性制御と微小環境との関係をより正確に量るために、2. の検討に期待がかかる。

2. 膵がん組織のM1マクロファージあるいはM2マクロファージ浸潤が優位な微小領域に特徴的な遺伝子発現に関する研究

本研究により、活性型別のマクロファージ浸潤を生じる免疫微小環境と深く関連する候補遺伝子を得た。今後、多くの症例を用いて定量的RT-PCRにより遺伝子発現を確認し、微小環境形成に関わる可能性の高い遺伝子に絞って、*in vitro* 実験系や動物モデルを用いた解析を通して微小環境形成の分子機序に迫る。

3. 免疫微小環境を特徴付けるサイトカイン遺伝子あるいはサイトカインリセプター遺伝子発現の同定に関する研究

本研究により、抗腫瘍性免疫微小環境に深く関連するサイトカイン遺伝子を捉えた。そのサイトカインが単に免疫微小環境の指標となるものか、抗腫瘍性微小環境形成に関わる機能的にも重要な分子であるか、*in vitro* 実験系、動物モデルを用いた検討を実施する。

E. 結論

本研究では、ヒト膵がん間質の免疫微小環境の理解を深めることを目的として、それに関わる形態学的変化、腫瘍間質に浸潤する免疫担当細胞、腫瘍間質で発現される分子について、それらがいかに抗腫瘍性(免疫反応性)と好腫瘍性(免疫寛容)といった免疫微小環境を特徴付けているのかを検討している。本年の研究では、がん組織への複数免疫細胞浸潤評価が、より現実的な免疫微小環境の特徴付けや環境の状態を把握するのに有用であることを明らかにした。またマクロファージ活性型と深く関連する候補遺伝子発現や抗腫瘍性免疫微小環境を特徴付けるサイトカイン遺伝子発現を捉えることが出来た。今後の研究により、得られたサイトカイン遺伝子と微小環境形成機序との関係やマクロファージ活性化と微小環境形成と関係を分子レベルで検討し、さらに免疫微小環境形成に与える詳細な機能とその分子機序に迫っていきたい。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Ino Y, Yamazaki-Itoh R, Shimada K, Iwasaki M, Kosuge T, Kanai Y, Hiraoka N. Immune cell infiltration as an indicator of the immune microenvironment of pancreatic cancer. *Br J Cancer*. 108: 914-23, 2013.

Ino Y, Yamazaki-Itoh R, Oguro S, Shimada K, Kosuge T, Zavada J, Kanai Y, Hiraoka N. Arginase II expressed in cancer-associated fibroblasts indicates tissue hypoxia and predicts poor outcome in patients with pancreatic cancer. *PLoS One*. 8: e55146, 2013.

Kinoshita T, Ishii G, Hiraoka N, Hirayama S, Yamaichi C, Aokage K, Hishida T, Yoshida J, Nagai K, Ochiai A. Foxp3⁺ regulatory T cells coexisting with cancer associated fibroblasts are correlated with a poor outcome in lung adenocarcinoma. *Cancer Sci*. 104: 409-15, 2013.

Oguro S, Shimada K, Ino Y, Esaki M, Nara S, Kishi Y, Kosuge T, Kanai Y, Hiraoka N. Pancreatic intraglandular metastasis predicts poorer outcome in postoperative patients with pancreatic ductal carcinoma. *Am J Surg Pathol*. in press.

Ono H, Hiraoka N, Lee Y-S, Woo SM, Lee WJ, Choi JJ, Saito A, Yanagihara K, Kanai Y, Ohnami S, Shiwaki F, Sasaki H, Sakamoto H, Yoshida T, Saeki N. Prostate Stem cell antigen, a presumable organ-dependent tumor suppressor gene, is down-regulated in gallbladder carcinogenesis. *Gene Chromosome Canc*. 51: 30-41, 2012.

Morofuji N, Ojima H, Onaya H, Okusaka T, Shimada K, Sakamoto Y, Esaki M, Nara S, Kosuge T, Asahina D, Ushigome M, Hiraoka N, Nagino M, Kondo T. Macrophage-capping protein as a tissue biomarker for prediction of response to gemcitabine treatment and prognosis in cholangiocarcinoma. *J Proteomics*. 75: 1577-89, 2012.

2. 学会発表

Hiraoka N, Ino Y, Yamazaki-Itoh R, Shimada K, Iwasaki M, Kosuge T, Kanai Y. Immune cell infiltration as an indicator of the immune microenvironment of pancreatic cancer. An AACR Scientific Conference on Tumor Immunology: Multidisciplinary Science Driving Basic and Clinical Advances. Miami. December 2012.

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

グライコームの解析に基づくがんの診断法、治療応答性・転移再発予測法の開発

分担研究者 神奈木 玲児 愛知医科大学・先端医学医療研究拠点・客員教授

研究要旨：従来から癌幹細胞を選択的に増殖させることが知られる培養プロトコルを用いて大腸癌細胞を EGF/FGF2 存在下で培養すると、癌関連性糖鎖であるシアリルルイス_xやシアリルルイス_a糖鎖の発現が強く誘導されることを見いだした。糖鎖発現の増加に伴い、セレクチンを介した細胞接着も有意に亢進していた。この糖鎖発現誘導の背景には、従来から ES 幹細胞に関連した転写因子である c-Myc や、幹細胞関連転写因子である Oct4 とともに初期胚幹細胞の細胞分化に関与することが知られる CDX2 の働きがあることが判明した。また、細胞内ドメインに ITIM モチーフをもち免疫抑制作用を有する糖鎖認識分子シグレックを発現する免疫細胞が大腸正常粘膜に多数存在し、このシグレックの特異的リガンド糖鎖が大腸正常上皮細胞に強く発現することを見いだした。上皮細胞におけるシグレックの特異的リガンド糖鎖は癌化とともに消退・消失し、これにより粘膜中の免疫細胞に対するシグレックの免疫抑制作用が失われ、COX2 の易誘導性などを介して炎症刺激による発癌が促進するに至ると考えられる成績が得られた。

A. 研究目的

癌細胞には正常細胞と大きく異なる糖鎖が発現することは古くから知られ、すでに少なからぬ種類の癌関連性糖鎖が知られている。しかし癌細胞は一樣ではなく、癌病巣は癌幹細胞を含んださまざまな性質を持った癌細胞によって構成されている。癌幹細胞に特異的に発現する糖鎖を検索することは、重要な研究課題であると考えられる。昨年度我々は、癌細胞を幹細胞培地で培養して糖鎖とその合成遺伝子の発現変化を検索するというアプローチを用いてこの問題に取り組み、癌関連性糖鎖であるシアリルルイス_xやシアリルルイス_a糖鎖の著明な発現誘導を検出した。またその背景に、従来から ES 幹細胞に関連した転写因子である c-Myc や、幹細胞関連転写因子である Oct4 とともに初期胚幹細胞の細胞分化に関与することが知られる CDX2 による一連の糖鎖発現遺伝子の転写に対する調節作用があることを見いだした。本年度は、この癌幹細胞関連性の糖鎖変化のメカニズムをいっそう詳しく解明することを研究目標とした。

胎児幹細胞(ES 細胞)の研究分野においては、従来から多能幹細胞に特異的に発現する糖鎖が知られている。マウスの ES 細胞にお

いては SSEA-1 糖鎖、ヒトの ES 細胞においては SSEA-3 および SSEA-4 糖鎖がその代表である。SSEA-3 および SSEA-4 糖鎖は、ヒト iPS 細胞の樹立においても、多能性幹細胞クローンの同定に用いられている。我々は今回、これらの ES 細胞特異的糖鎖のヒト癌での出現とその発現調節機構を解析することをも研究目的に加えた。また、癌幹細胞でのシアリルルイス_xやシアリルルイス_a糖鎖の発現亢進機構と、SSEA-3 および SSEA-4 糖鎖の発現調節機構に何らかの共通のメカニズムがあるかどうかについても検討することとした。

B. 研究方法

従来から癌幹細胞を選択的に増殖させることが知られている培養プロトコルを用いて、大腸癌細胞を EGF/FGF2 存在下で無血清培地にて培養し、糖鎖合成に関与する遺伝子の転写レベルの変動を解析し、さらに、その背景となる転写調節機構を解析した。ヒトの ES 細胞に特異的に発現する SSEA-3 および SSEA-3 および SSEA-4 糖鎖について、ヒト患者癌組織における発現を特異的単クローン抗体を用いて免疫組織学的に検索した。SSEA-3 および SSEA-4 糖鎖に対する市販抗体には、他の糖鎖に対する一定

程度の交差反応性が認められるので、検索にはより特異性の高い自作単クローン抗体を併せて用いた。また、SSEA-3 および SSEA-4 糖鎖の発現の転写調節機構については、幹細胞性を保持し分化能の無いヒト EC 細胞 2102Ep を幹細胞の対照としつつ、分化能を持つ NTERA2 細胞をモデル細胞として用いて検討した。

(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) 幹細胞培地で培養した大腸癌細胞における糖鎖変化の転写調節メカニズムの解析
幹細胞を選択的に増殖させることが知られているプロトコルを用いて大腸癌細胞を培養すると一連の糖鎖合成遺伝子の転写が誘導され、癌関連性糖鎖であるシアリルルイス_xやシアリルルイス_a糖鎖の発現が亢進した。この一連の糖鎖合成遺伝子の転写誘導の背景には c-Myc の活性が増大があった。

これと並行して、シアリルルイス_xやシアリルルイス_a糖鎖の合成経路と共通の合成前駆体を、シアリルルイス_{x/a}以外の糖鎖の合成へと導く一連の糖鎖合成遺伝子の転写には、逆に転写低下が認められた。その代表は FUT2 遺伝子であった。FUT2 の産物は、シアリルルイス_{x/a}の合成経路と共通の合成前駆体を ABO 式血液型物質の合成へと導くことによって、シアリルルイス_{x/a}の合成と拮抗しそれを阻害する作用を持つ。FUT2 をはじめとするこのグループの糖鎖合成遺伝子の転写低下の背後には転写因子 CDX2 の低下があった。

以上から、現在までに得られている情報からは、癌幹細胞の転写パターンの特徴は、c-Myc の活性増大と CDX2 の低下であると考えられる。この転写パターンの形成に関与する可能性のある microRNA についてさらに検索を行った。その結果、癌幹細胞を選択的に増殖させるプロトコルを用いて大腸癌細胞を培養すると miR-9 が増加し、miR-24 が減少することが判明し、その結果

miR-9/miR-24 比が大きく増加した。miR-24 が c-Myc の転写を抑制すること、miR-9 が CDX2 の転写を抑制すること、および c-Myc が miR-9 を誘導することを考え合わせると、この microRNA の変化は c-Myc の活性増大と CDX2 の低下に連動した変化であると考えられた。

2) ES 細胞の糖鎖の発現についての検討

特異的単クローン抗体を用いて ES 細胞特異的糖鎖である SSEA-3 および SSEA-4 のヒト癌組織における発現を免疫組織学的に検索したところ、膵癌症例における高頻度の出現が検出された。

また、分化能を持つヒト EC 細胞 NTERA2 の分化に伴う糖鎖合成遺伝子の変動を解析して、多能幹細胞における SSEA-3 および SSEA-4 糖鎖の特異的発現に関するものを検索したところ、一連の糖鎖合成遺伝子が SSEA-3 および SSEA-4 糖鎖の発現に関与していることが判明した。その一部には、大腸癌細胞の幹細胞培地での培養に伴うシアリルルイス_xやシアリルルイス_a糖鎖の発現誘導に関与する糖鎖遺伝子と、同じ遺伝子が含まれていた。また、FUT2 遺伝子産物が、SSEA-3/4 糖鎖の合成経路と共通の合成前駆体を ABO 式血液型物質の合成へと導くことによって、SSEA-3/4 の合成と拮抗する作用を持つ点も、大腸癌細胞の幹細胞培地での培養に伴うシアリルルイス_xやシアリルルイス_a糖鎖の発現誘導と類似していた。

ES 細胞の多能性維持における c-Myc の重要性は以前から知られているが、NTERA2 細胞の分化に伴い CDX2 が著明に誘導されたことから、多能性幹細胞の転写パターンの特徴は、c-Myc の活性増大と CDX2 の低下であると推定され、癌幹細胞の場合と類似していた。NTERA2 細胞と 2102Ep 細胞を用いてこの転写パターンの形成に関与する可能性のある microRNA についてさらに検索を行ったところ、分化に伴う多能性の喪失に伴って miR-24 の増加と著明な miR-9 の減少が検出され、その結果 miR-9/miR-24 比が大きく減少した。幹細胞性 miR-9/miR-24 比の高値とのあいだに相関が見られる点で、

大腸癌幹細胞について我々が得た知見と類似していた。

D. 考察

本年度の結果からは、癌幹細胞の転写パターンの特徴は c-Myc の活性増大と CDX2 の低下であると推定できる。この転写パターンは、幹細胞における miR-9/miR-24 比の高値と連動していると考えられた。この転写パターンが、多様な糖鎖合成酵素遺伝子に影響を及ぼし、その結果として、大腸癌細胞の幹細胞培地での培養に際してシアリルルイスxやシアリルルイスa糖鎖の発現が誘導されるものと考えられる。一方、これときわめて類似する転写のパターンが、ES 細胞や iPS 細胞においては、胎児性糖鎖である SSEA-3 および SSEA-4 の多能幹細胞に選択的な発現に関与していると考えられる。

従来、シアリルルイスx/aと SSEA-3/-4 は、まったく異なる糖鎖と考えられてきた。糖鎖はその基幹構造によって分類されるので、シアリルルイスx/a糖鎖はネオラクトシ리즈属に分類され、SSEA-3/-4はグロボシ리즈属に分類され、その合成代謝系は独立した別々のものと考えられてきた。しかし今回の結果は、シアリルルイスx/aと SSEA-3/-4 の合成発現を促進するような糖鎖合成遺伝子は c-Myc で誘導される転写クラスターに属するものが多く、逆にシアリルルイスx/aや SSEA-3/-4 の合成と共通の基質を競合して他の成熟型糖鎖に導くような糖鎖合成遺伝子のうち少なからぬメンバーが、CDX2 で誘導される転写クラスターに属することを示唆していると考えられる。

今回我々が得た結果は、シアリルルイスx/aや SSEA-3/-4 糖鎖が、ともに幹細胞に特有な転写パターンである「高 c-Myc/低 CDX2 状態」ないしは「miR-9/miR-24 比の高値」を反映するものであることを示唆する。同じ転写因子のパターンが、大腸癌と ES 細胞とではそれぞれ異なる糖鎖の発現に反映されるのは、直接の合成遺伝子以外に、基幹構造の合成に関わる遺伝子の組織特異性や、基質の availability などの諸因子が、細胞系統や組織・器官に依存して変動するためと考えられ

る。

また、癌細胞に高頻度に出現するため、従来から癌関連性糖鎖と見なされてきた一連の糖鎖のうちにも、こうした転写調節の観点から考察すると、性質の異なる糖鎖が含まれていることが判明した。たとえばルイスy糖鎖は従来から癌関連性糖鎖として知られるが、その合成には FUT2 遺伝子が必要であり、大腸癌細胞の幹細胞培地での培養に際しては、シアリルルイスxやシアリルルイスa糖鎖の発現が亢進するのに対して、ルイスy糖鎖の発現は消退する。この成績から、ルイスy糖鎖は、癌関連性糖鎖ではあるが、癌幹細胞との関連性は強くないと推定される。SSEA-3/-4 系統の糖鎖においては、乳癌関連性糖鎖として知られる Globo-H 糖鎖が、合成に FUT2 遺伝子が必要であることから、ルイスy糖鎖に類似した意義を持つと推定される。従来から癌関連性糖鎖として知られる一連の糖鎖は、実は異なる病態的意義を持つグループから成る可能性がある。

E. 結論

癌化に伴って細胞表面の糖鎖が大きく変化し、癌細胞に特有の糖鎖は癌マーカーとして役立つことはすでによく知られている。しかし、糖鎖の変化が細胞の stemness(幹細胞性)とどのように関わっているかについての情報はこれまで少なかった。今回我々が得た結果は、シアリルルイスx/aや SSEA-3/-4 糖鎖が、ともに幹細胞の高 c-Myc/低 CDX2 状態ないし miR-9/miR-24 比の高値を反映するものであることを示唆した。今後こうした検討を継続することにより、癌幹細胞を選択的に検出できるマーカー糖鎖について有用な情報が得られると考えられる。

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

Sakuma, K., Chen, G. Y., Aoki, M., and Kannagi, R.: Induction of 6-sulfated

glycans with cell adhesion activity via T-bet and GATA-3 in human helper T cells. *Biochim. Biophys. Acta*, 1820: 841-848, 2012.

Sakuma, K., Furuhashi, T., Kondo, S., Yabe, U., Ohmori, K., Ito, H., Aoki, M., Morita, A., and Kannagi, R.: Sialic acid cyclization of human Th homing receptor glycan associated with recurrent exacerbations of atopic dermatitis. *J. Dermatol. Sci.*, 68: 187-193, 2012.

Tanaka, K., Tamiya-Koizumi, K., Hagiwara, K., Ito, H., Takagi, A., Kojima, T., Suzuki, M., Iwaki, S., Fujii, S., Nakamura, M., Banno, Y., Kannagi, R., Tsurumi, T., Kyogashima, M., and Murate, T.: Role of down-regulated neutral ceramidase during all-trans retinoic acid induced neuronal differentiation in SH-SY5Y neuroblastoma cells. *J. Biochem.*, 151: 611-620, 2012.

Patnode, M. L., Yu, S. Y., Cheng, C. W., Ho, M. Y., Tegesjo, L., Sakuma, K., Uchimura, K., Khoo, K. H., Kannagi, R., and Rosen, S. D.: KSGal6ST generates galactose-6-O-sulfate in high endothelial venules but does not contribute to L-selectin-dependent lymphocyte homing. *Glycobiology*, 23: 381-394, 2013.

Kannagi, R., Sakuma, K., and Ohmori, K. Cell-surface glycoconjugates controlling human T-lymphocyte homing: Implications for bronchial asthma and atopic dermatitis. In M. Shibasaki, M. Iino, and H. Osada (eds.), *Chembiomolecular Science: At the Frontier of Chemistry and Biology*, Tokyo: Springer Japan, pp. 167-176. 2013.

1.学会発表

清水嘉文, 小泉恵子, 神奈木玲児, 田中広治, 山下純, 田中保, 曹科, 鈴木元, 村手隆, H.知的財産権の出願・登録状況

岩城壮一郎, 藤井聡, 徳村彰: ヒト大腸がん細胞における低酸素条件下でのリゾリン脂質およびエーテル型リン脂質の増加. 第54回日本脂質生化学会, 福岡, 6月7日-8日, 2012.

2. Kannagi R.: Glycan ligands for siglecs and immune homeostasis in intestinal mucosal membrane. SialoGlyco 2012 the 9th international conference on sialic acid (Chaired by Wong CH), Taipei, September 9-12, 2012. [Invited Speaker]
3. Sakuma K, Furuhashi T, Kondo S, Yabe U, Ohmori K, Ito H, Aoki M, Morita A, Kannagi R.: Sialic acid cyclization of human Th2 homing receptor glycan associated with recurrent exacerbations of atopic dermatitis. SialoGlyco 2012 the 9th international conference on sialic acid (Chaired by Wong CH), Taipei, September 9-12, 2012.
4. 佐久間圭一朗, 神奈木玲児, 青木正博: c-MycとCDX2はEMTを起こした大腸がん細胞におけるE-セレクトインリガンド糖鎖の発現を媒介する. 第71回日本癌学会総会, 札幌, 9月19日-21日, 2012.
5. 清水嘉文, 小泉恵子, 岸野恵理佳, 神奈木玲児, 田中広治, 山下純, 田中保, 鈴木元, 村手隆, 岩城壮一郎, 藤井聡, 徳村彰: ヒト大腸がん細胞でのリゾリン脂質代謝に対する低酸素の影響. 第85回日本生化学会大会, 福岡, 12月14日-16日, 2012.
6. 小泉恵子, 清水嘉文, 神奈木玲児, 田中広治, 山下純, 田中保, 鈴木元, 村手隆, 岩城壮一郎, 藤井聡, 徳村彰: ヒト大腸がん細胞において低酸素下で誘導されるエーテル型リン脂質の著しい増加とそのメカニズム. 第85回日本生化学会大会, 福岡, 12月14日-16日, 2012.
7. 家治翔平, 中川直樹, 神奈木玲児, 浅野雅秀, 吉原亨, 岡昌吾: 神経系に発現する Lewis X糖鎖抗原に関する研究/ Analysys of Lewis X epitope in the nervous system. 第85回日本生化学会大会, 福岡, 12月14日-16日, 2012.

H. 知的財産権の出願・登録状況
特にありません

Ⅲ 研究成果に関する一覧

○研究成果の刊行に関する一覧表

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
Nishijima N, Ishii G, Nagai K, Atsumi N, Aokage K, Tokunaga Y, Ichinokawa H, Ohe Y, Ochiai A.	Cancer-initiating cell marker-positive cells generate metastatic tumors that recapitulate the histology of the primary tumors.	Pathol Int.		1111/pin.12039	2013
Shiozawa T, Ishii G, Goto K, Nagai K, Mimaki S, Ono S, Niho S, Fujii S, Ohe Y, Tsuchihara K, Ochiai A.	Clinicopathological characteristics of EGFR mutated adenocarcinoma of the lung.	Pathol Int.	63(2)	77-84	2013
Inagaki M, Akechi T, Okuyama T, Sugawara Y, Kinoshita H, Shima Y, Terao K, Mitsunaga S, Ochiai A, Uchitomi Y.	Associations of interleukin-6 with vegetative but not affective depressive symptoms in terminally ill cancer patients.	Support Care Cancer.		[Epub ahead of print]	2013
Aizawa M, Nagatsuma AK, Kitada K, Kuwata T, Fujii S, Kinoshita T, Ochiai A.	Evaluation of HER2-based biology in 1,006 cases of gastric cancer in a Japanese population.	Gastric Cancer.		[Epub ahead of print]	2013
Kanomata N, Hasebe T, Moriya T, Ochiai A.	Simultaneous demonstration of gelatinolytic activity, morphology, and immunohistochemical reaction using zymography film.	Med Mol Morphol.		[Epub ahead of print]	2013
Ishii G, Hashimoto H, Atsumi N, Hoshino A, Ochiai A.	Morphophenotype of floating colonies derived from a single cancer cell has a critical impact on tumor-forming activity.	Pathol Int.	63(1)	29-36	2013
Kinoshita T, Ishii G, Hiraoka N, Hirayama S, Yamauchi C, Aokage K, Hishida T, Yoshida J, Nagai K, Ochiai A	Forkhead box P3 regulatory T cells coexisting with cancer associated fibroblasts are correlated with a poor outcome in lung adenocarcinoma.	Cancer Sci.	104(4)	409-15.	2013
Kojima M, Yokota M, Saito N, Nomura S, Ochiai A.	Elastic laminal invasion in colon cancer: diagnostic utility and histological features.	Front Oncol.	2	179	2012
Makinoshima H, Ishii G, Kojima M, Fujii S, Higuchi Y, Kuwata T, Ochiai A.	PTPRZ1 regulates calmodulin phosphorylation and tumor progression in small-cell lung carcinoma.	BMC Cancer.	12	537	2012
Hirayama S, Ishii G, Nagai K, Ono S, Kojima M, Yamauchi C, Aokage K, Hishida T, Yoshida J, Suzuki K, Ochiai A.	Prognostic impact of CD204-positive macrophages in lung squamous cell carcinoma: possible contribution of Cd204-positive macrophages to the tumor-promoting microenvironment.	J Thorac Oncol.	7(12)	1790-7	2012
Ono S, Ishii G, Nagai K, Takuwa T, Yoshida J, Nishimura M, Hishida T, Aokage K, Fujii S, Ikeda N, Ochiai A.	Podoplanin-positive cancer-associated fibroblasts could have prognostic value independent of cancer cell phenotype in stage I lung squamous cell carcinoma: usefulness of combining analysis of both cancer cell phenotype and cancer-associated fibroblast phenotype.	Chest.	143(4)	963-70	2012
Yoshikawa K, Mitsunaga S, Kinoshita T, Konishi M, Takahashi S, Gotohda N, Kato Y, Aizawa M, Ochiai A.	Impact of tumor-associated macrophages on invasive ductal carcinoma of the pancreas head.	Cancer Sci.	103(11)	2012-20	2012

○研究成果の刊行に関する一覧表

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
Takuwa T, Ishii G, Nagai K, Yoshida J, Nishimura M, Hishida T, Neri S, Hasegawa S, Ochiai A.	Characteristic immunophenotype of solid subtype component in lung adenocarcinoma.	Ann Surg Oncol.	19(12)	3943-52.	2012
Neri S, Ishii G, Taira T, Hishida T, Yoshida J, Nishimura M, Nagai K, Ochiai A.	Recruitment of podoplanin positive cancer-associated fibroblasts in metastatic lymph nodes predicts poor prognosis in pathological N2 stage III lung adenocarcinoma.	Ann Surg Oncol.	19(12)	3953-62.	2012
Ito S, Ishii G, Hoshino A, Hashimoto H, Neri S, Kuwata T, Higashi M, Nagai K, Ochiai A.	Tumor promoting effect of podoplanin-positive fibroblasts is mediated by enhanced RhoA activity.	Biochem Biophys Res Commun.	422(1)	194-9	2012
Imoto A, Mitsunaga S, Inagaki M, Aoyagi K, Sasaki H, Ikeda M, Nakachi K, Higuchi K, Ochiai A.	Neural invasion induces cachexia via astrocytic activation of neural route in pancreatic cancer.	Int J Cancer.	131(12)	2795-807	2012
Aizawa M, Kojima M, Gotohda N, Fujii S, Katoh Y, Kinoshita T, Takahashi S, Konishi M, Kinoshita T, Ochiai A.	Geminin expression in pancreatic neuroendocrine tumors: possible new marker of malignancy.	Pancreas.	41(4)	512-7	2012
Matsumura Y, Ishii G, Aokage K, Kuwata T, Hishida T, Yoshida J, Nishimura M, Nagai K, Ochiai A.	Morphophenotypic characteristics of intralymphatic cancer and stromal cells susceptible to lymphogenic metastasis.	Cancer Sci.	103(7)	1342-7	2012
Nishizawa Y, Fujii S, Saito N, Ito M, Nakajima K, Ochiai A, Sugito M, Kobayashi A, Nishizawa Y.	Differences in tissue degeneration between preoperative chemotherapy and preoperative chemoradiotherapy for colorectal cancer.	Int J Colorectal Dis.	27(8)	1047-53	2012
Ito M, Ishii G, Nagai K, Maeda R, Nakano Y, Ochiai A.	Prognostic impact of cancer-associated stromal cells in patients with stage I lung adenocarcinoma.	Chest.	142(1)	151-8.	2012
Fujii S, Fukamachi K, Tsuda H, Ito K, Ito Y, Ochiai A.	RAS oncogenic signal upregulates EZH2 in pancreatic cancer.	Biochem Biophys Res Commun.	417(3)	1074-9	2012
Maeda R, Ishii G, Ito M, Hishida T, Yoshida J, Nishimura M, Haga H, Nagai K, Ochiai A.	Number of circulating endothelial progenitor cells and intratumoral microvessel density in non-small cell lung cancer patients: differences in angiogenic status between adenocarcinoma histologic subtypes.	J Thorac Oncol.	7(3)	503-11	2012
Taira T, Ishii G, Nagai K, Yoh K, Takahashi Y, Matsumura Y, Kojima M, Ohmatsu H, Goto K, Niho S, Takashima H, Inoue H, Ohe Y, Ochiai A.	Characterization of the immunophenotype of the tumor budding and its prognostic implications in squamous cell carcinoma of the lung.	Lung Cancer.	76(3)	423-30	2012

○研究成果の刊行に関する一覧表

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
Mochizuki S., Soejima K., Shimoda M., Abe H., Sasaki A., Okano H.J., Okano H. and Okada Y.	Effect of ADAM28 on carcinoma cell metastasis by cleavage of E-cadherin	J Natl Cancer Inst	104	906-922	2012
Shirotake S., Miyajima A., Kosaka T., Tanaka N., Kikuchi E., Mikami S., Okada Y. and Oya M.	Regulation of monocyte- chemoattractant protein-1 through angiotensin II type 1 receptor in prostate cancer.	Am J Pathol	180	1008-1016	2012
Mochizuki S. and Okada Y.	ADAM28.	Handbook of Proteolytic Enzymes. Ed by Rawlings N.D. 16th ed. Elsevier, Amsterdam, 2013		1136-1139	2013
Effendi K, Yamazaki K, Mori T, Masugi Y, Makino S, Sakamoto M	Involvement of hepatocellular carcinoma biomarker, cyclase-associated protein 2 in zebrafish body development and cancer progression.	Exp Cell Res	319	35-44	2013
Fukuma M, Tanese K, Effendi K, Yamazaki K, Masugi Y, Suda M, Sakamoto M	Leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor 5 regulates epithelial cell phenotype and survival of hepatocellular carcinoma cells.	Exp Cell Res	319	113-121	2013
Itoh F et al.	Smad2/Smad3 in endothelium is indispensable for vascular stability via S1PR1 and N-cadherin expressions	Blood	119	5320-5328	2012
Miyamoto T, Kitamura N, Ono M, Nakamura Y, Yoshida M, Kamino H, Murai R, Yamada T, Arakawa H.	Identification of 14-3-3gamma as a MIEAP-interacting protein and its role in mitochondrial quality control	Scientific Reports	2	379	2012
Ino Y, Hiraoka N, et al.	Immune cell infiltration as an indicator of the immune microenvironment of pancreatic cancer.	Br J Cancer	108	914-23	2013
Ino Y, Hiraoka N, et al.	Arginase II expressed in cancer-associated fibroblasts indicates tissue hypoxia and predicts poor outcome in patients with pancreatic cancer.	PLoS One	8	e55146	2013
Kinoshita T, Hiraoka N, Ochiai A, et al.	Forkhead box P3 regulatory T cells coexisting with cancer associated fibroblasts are correlated with a poor outcome in lung adenocarcinoma.	Cancer Sci	104	409-15	2013
Oguro S, Hiraoka N, et al.	Pancreatic intraglandular metastasis predicts poorer outcome in postoperative patients with pancreatic ductal carcinoma.	Am J Surg Pathol.			in press
Ono H, Hiraoka N, et al.	Prostate stem cell antigen, a presumable organ-dependent tumor suppressor gene, is down-regulated in gallbladder carcinogenesis.	Genes Chromosomes Cancer	51	30-41	2012
Morofuji N, Hiraoka N, et al.	Macrophage-capping protein as a tissue biomarker for prediction of response to gemcitabine treatment and prognosis in cholangiocarcinoma.	J Proteomics	16	1577-89	2012

○研究成果の刊行に関する一覧表

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
Sakuma, K., Chen, G. Y., Aoki, M., and Kannagi, R.	Induction of 6-sulfated glycans with cell adhesion activity via T-bet and GATA-3 in human helper T cells.	Biochim. Biophys. Acta	1820	841-848	2012
Sakuma, K., Furuhashi, T., Kondo, S., Yabe, U., Ohmori, K., Ito, H., Aoki, M., Morita, A., and Kannagi, R.	Sialic acid cyclization of human Th homing receptor glycan associated with recurrent exacerbations of atopic dermatitis	J. Dermatol. Sci.	68	187-193	2012
Tanaka, K., Tamiya-Koizumi, K., Hagiwara, K., Ito, H., Takagi, A., Kojima, T., Suzuki, M., Iwaki, S., Fujii, S., Nakamura, M., Banno, Y., Kannagi, R., Tsurumi, T., Kyogashima, M., and Murate, T	Role of down-regulated neutral ceramidase during all-trans retinoic acid induced neuronal differentiation in SH-SY5Y neuroblastoma cells.	J. Biochem.	151	611-620	2012
Patnode, M. L., Yu, S. Y., Cheng, C. W., Ho, M. Y., Tegesjo, L., Sakuma, K., Uchimura, K., Khoo, K. H., Kannagi, R., and Rosen, S. D.	KSGal6ST generates galactose-6-O-sulfate in high endothelial venules but does not contribute to L-selectin-dependent lymphocyte homing.	Glycobiology	23	381-394	2013
Kannagi, R., Sakuma, K., and Ohmori, K.	Cell-surface glycoconjugates controlling human T-lymphocyte homing: Implications for bronchial asthma and atopic dermatitis.	Chembiomolecular Science: At the Frontier of Chemistry and Biology	Springer	167-176	2013

