

■2019 年度 研究ブランディング事業年次計画進捗報告書

講座・部門名：薬理学

研究代表者：赤間智也

2019 年度実施項目

1. 研究目標 (提出計画書に基づき記載)

硫酸化糖鎖抗体の作製とその特異性を解析する。またマウスで炎症性疾患発症モデルを確立し、硫酸化糖鎖の有無と疾患発症の重篤度との関連を糖鎖硫酸転移酵素ノックアウトマウスを用いて解析する。

2. 2019 年度研究進捗・成果 (論文、学会発表を含む)

硫酸化糖鎖抗体の作製

昨年度の研究にてケラタン硫酸グリコサミノグリカンの硫酸化酵素遺伝子二種を変異させた二重変異マウスを作成した。このマウスに硫酸化糖鎖を細胞表面に提示している HEK293T 細胞 (同様に昨年度の研究にて樹立) を免疫し、硫酸化糖鎖に対する抗体産生を行った。三回の免疫の後にこのマウスを屠殺し、脾臓からリンパ球を調製してハイブリドーマを作製の後、硫酸化糖鎖を細胞表面に提示している CHO 細胞に対する反応性を指標として抗体産生細胞を同定した。限界希釈によるクローニングを二回行って七種類の抗体産生細胞株を樹立することに成功した。それぞれの細胞株から抗体を調製してその特異性を調べたところ、高硫酸化のケラタン硫酸を認識する抗体が三種、低硫酸化のケラタン硫酸を認識する抗体が三種、特殊な型の硫酸化糖鎖を検出する抗体が一種類あることが分かった。糖鎖抗原がスライドガラス上にスポットしてある糖鎖マイクロアレイを用いて抗原特異性を調べたところ、この特殊な型の硫酸化糖鎖に反応する抗体 (297-11A と命名した) は非還元末端に位置するガラクトース(Gal)の 6 位が硫酸化されている N-アセチルラクトサミン (LacNAc)構造を特異的に認識する抗体であることが明らかとなった。

モノクローナル抗体 297-11A により認識される糖鎖抗原の組織内分布

LacNAc に硫酸修飾が行われている構造はリンパ球がリンパ節に浸潤する際の糖鎖とセレクチンとの相互作用に重要な構造であることから、297-11A 抗体の認識する硫酸化 Gal 構造がリンパ組織と反応するかどうか免疫組織化学により調べたところ、この抗体は正常末梢リンパ節の HEV(high-endothelial venule)を特異的に認識し、これらの組織には上記の硫酸化 Gal 構造が存在することが明らかとなった。更にこの抗体でヒトの病理切片の染色を行ったところ、がんや慢性炎症によって誘導される三次リンパ組織の HEV 様構造が染色されたことから、これらの異所性リンパ組織にも正常な末梢リンパ節と同様に特殊な硫酸化

糖鎖が存在しており、疾患に対する免疫反応としてのリンパ球の遊走に関与している可能性が示された。

発表論文

Tsutsumiuchi, M., Hoshino, H., Kogami, A., Tsutsumiuchi, T., Yokoyama, O., Akama, T.O., M. Kobayashi, M., Preferential expression of sialyl 6'-sulfo N-acetyllactosamine-capped O-glycans on high endothelial venules in human peripheral lymph nodes. *Lab. Invest.* **99**, 1428-1441 (2019)

学会発表

赤間智也、星野瞳、中邨智之、小林基弘、新規硫酸化糖鎖抗体の作製、第92回日本生化学会大会（2019年9月18-20日、パシフィコ横浜）

3. 2019年度ブランディング目標（提出計画書に基づき記載）

本講座で産生された抗体を事業内の他講座にも提供し、研究に役立てる。またその結果を共有してもらい自身の研究推進にも利用する。モデル動物を使った炎症性疾患発症方法の確立とその情報の共有も行う。事業内の他講座とも連帯してヒトの炎症性組織の入手を試みる。

4. 2019年度ブランディング活動進捗・成果（メディア、その他）

本研究の一部は2019年11/16日に本学で開催された関西医科大学第三回学術祭において研究ブランディング事業の活動の一部として発表された。

5. 自己評価（達成度、改善点など）

研究に関しては当初の計画に則して順調に進行していると考えられる。ブランディング活動については学術祭で本研究内容の一部が取り上げられたものの、詳細な研究内容の紹介は出来なかった。本学内の事業参加講座に本講座での研究結果をアピールできなかったことから、抗体の共有や抗体作成技術の提供など学内での共同研究は限定的である。事業の成果を共有する場（合同ミーティングや電子掲示板等の情報交換の場）が必要であるとする。

297-11A