

平成22年度特別経費（プロジェクト分）  
「香川グライコリソース（希少糖・ヒト型糖鎖）を用いたナノ糖質生命科学研究推進事業」  
研究グループ別研究成果報告書

<b>研究組織</b>			
研究グループの組織について記述してください。メンバーは教員ばかりでなく、本研究に携わっている非常勤職員・学生も記載してください。			
研究課題名	ガレクチンファミリーの機能解析および前立腺特異的に発現するフコシル化スフィンゴ糖脂質の構造と機能		
グループリーダー	氏名	所属・職名	連絡先
	西 望	総合生命科学研究センター・准教授	e-mail
			本人 秘書等
			nnishi@med.kagawa-u.ac.jp
メンバー	氏名	所属・職名 (学年)	分担事項・役割等
	伊藤 愛子	総合生命科学研究センター・研究員	組換えタンパク質の発現・精製 ガレクチンの機能解析

## 平成 22 年度研究成果概要

研究成果概要についてわかりやすく記載してください。できるだけ、図を挿入してください。すでに当該年度に外部に発表を行った成果については、研究業績欄の業績番号と対応させてください。なお、本欄は、必要に応じてホームページ上で公開しますので、知的財産に関連する記述等については注意してください。

### ① ガレクチンファミリーの機能解析

ガレクチンファミリーの構造解析 (X 線結晶解析) および機能解析に利用する目的で、新たに 9 種類の組換えタンパク質 (各種変異体とタグの変更を含む) 発現用ベクターを作製し、発現条件を検討した。その結果、GST-tag を付加した安定化 Galectin-8 (GST-G8Null)、GST-tag 付と tag-free の Galectin-3 carbohydrate recognition domain (G3CRD)、Galectin-9 C-terminal CRD の変異体 6 種類 (G9CCRD (-6)~(-12), G9CCRD R221S, G9CCRD D241N) を比較的高い収率で得ることができる発現条件を決定した (図 1)。

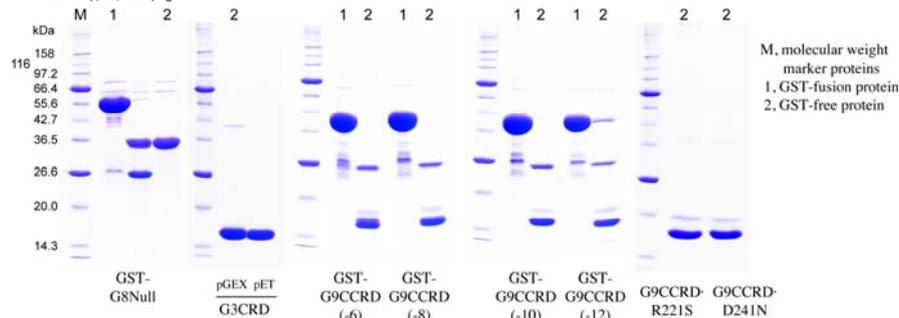


図 1

また、血管内皮細胞におけるガレクチン 9 の機能を調べる過程で、インターフェロンにより誘導されたガレクチン 9 が、様々な小胞体ストレスにより急速に分解されることがわかった。他のガレクチン (ガレクチン 1, 3, 8) の場合、このような分解は観察されないことから、この現象はガレクチン 9 の機能を明らかにする上で重要と考えられる。

### ② 前立腺特異的に発現するフコシル化スフィンゴ糖脂質の構造と機能

*Aleuria aurantia* lectin (AAL) を用いたレクチンブロットにより、ラット前立腺特異的に存在する低分子量の複合糖質 (prostatic fucosylated glycoconjugates, PFGs) を見出した。PFGs の部分精製標品の性質から、PFGs が男性ホルモン依存性に発現するフコシル化スフィンゴ糖脂質の一種であることを明らかにした (図 2, 3)。

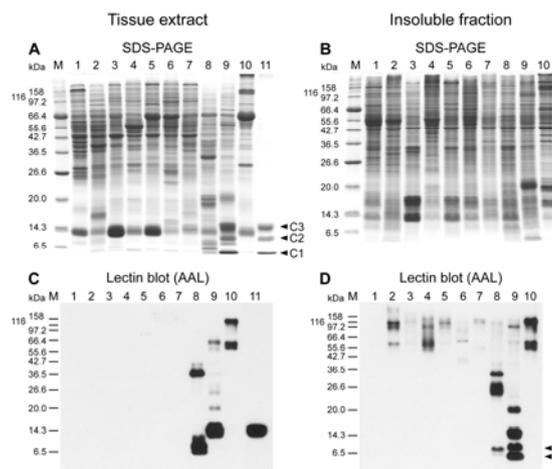


図 2

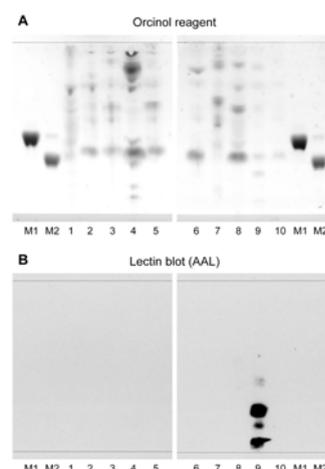


図 3

図 2 ラット組織抽出液と不溶性画分の SDS-PAGE (A & B, CBB-R250 染色)およびレクチンブロット分析(C & D)

図 3 ラット不溶性画分のクロロホルム-メタノール抽出物の TLC 分析 (A)と AAL をプローブとした TLC ブロット分析 (B)

## 今後の研究計画

平成 22 年度に得られた研究成果を踏まえ、今後の研究計画について具体的に記載してください。図を挿入してもかまいません。

血管内皮細胞におけるガレクチン 9 の分解と小胞体ストレスの関係を調べ、分解誘導のメカニズムを明らかにするとともに、ガレクチン 9 の免疫調節機能と血管内皮細胞におけるその役割の関連を検討する予定である。

ラットにおいて、前立腺特異的に存在する PFGs (フコシル化スフィンゴ糖脂質) を精製し、その構造決定を進める。また、PFGs の男性ホルモン依存的発現に関わる因子 (合成酵素、分解酵素等) を同定し、PFGs の発現調節機構を検討する予定である。

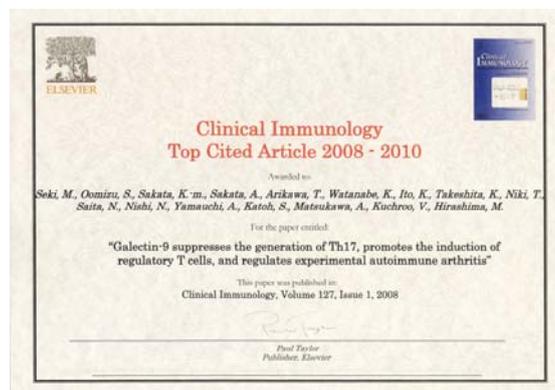
PFGs あるいはその類似物質がヒト前立腺においても発現している可能性がある。この点を明らかにするために、ヒト前立腺試料 (前立腺肥大症組織) を用いてレクチンブロット分析を行い、PFGs の検出を試みる。

## 特記すべき事項

本研究に関する受賞 (学生対象の賞も含む) ・プレスリリース ・大型外部資金獲得につながった等、特記すべき事項があれば記述してください (ささいなことでもかまいません)。本欄は必須ではありませんので、「該当なし。」でも可ですが、できるだけ記載してください。

本研究に関連して *Clinical Immunology* 誌に掲載された下記の論文 (2008 年出版) が、*Clinical Immunology* Top Cited Article 2008 - 2010 に選出された。

Seki, M., Oomizu, S., Sakata, K. M., Sakata, A., Arikawa, T., Watanabe, K., Ito, K., Takeshita, K., Niki, T., Saita, N., Nishi, N., Yamauchi, A., Katoh, S., Matsukawa, A., Kuchroo, V. & Hirashima, M. (2008). Galectin-9 suppresses the generation of Th17, promotes the induction of regulatory T cells, and regulates experimental autoimmune arthritis. *Clin Immunol* **127**, 78-88.



## 研究業績

本研究に関連した，[1] 査読がある原著論文（Corresponding Author には\*印を付す。），[2] 著書，[3] 招待講演，[4] 学会発表（発表者には○印），[5] 産業財産権（特許等），[6] その他（プロシーディング，査読がない論文，投稿記事等）を通し番号を付して記入してください。本事業の参加者にはアンダーラインを引いてください。記入欄が足りない場合は，用紙を追加してください。なお，本欄は，必要に応じてホームページ上で公開します。

### [1] 査読がある原著論文

1. Yoshida, H., Teraoka, M., Nishi, N., Nakakita, S., Nakamura, T., Hirashima, M. & Kamitori, S.\* (2010) X-ray structures of human galectin-9 C-terminal domain in complexes with a biantennary oligosaccharide and sialyllactose. *J. Biol. Chem.*, **285**, 36969-36976.
2. Miyanaka, H., Nakamura, T. & Nishi, N.\* (2010) Tissue-specific expression of fucosylated glycosphingolipid species in rat prostate. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **74**, 1261-1266.
3. Dardalhon, V., Anderson, A. C., Karman, J., Apetoh, L., Chandwaskar, R., Lee, D. H., Cornejo, M., Nishi, N., Yamauchi, A., Quintana, F. J., Sobel, R. A., Hirashima, M. & Kuchroo, V. K.\* (2010). Tim-3/galectin-9 pathway: regulation of Th1 immunity through promotion of CD11b+Ly-6G+ myeloid cells. *J Immunol.* **185**, 1383-1392.
4. Katoh, S.\*, Nobumoto, A., Matsumoto, N., Matsumoto, K., Ehara, N., Niki, T., Inada, H., Nishi, N., Yamauchi, A., Fukushima, K. & Hirashima, M. (2010). Involvement of Galectin-9 in Lung Eosinophilia in Patients with Eosinophilic Pneumonia. *Int Arch Allergy Immunol.*, **153**, 294-302.

### [2] 著書

該当なし

### [3] 招待講演

該当なし

### [4]

1. 宮中宏, 伊藤愛子, 中村隆範, ○西 望 「前立腺におけるフコシル化スフィンゴ糖脂質の組織特異的発現」第 33 回日本分子生物学会年会, 第 83 回日本生化学会大会合同大会, 2010 年 12 月 (神戸)
2. ○小川崇, 東海林博樹, 西 望, 中村隆範, 「消化管におけるガレクチンファミリーの発現解析」第 33 回日本分子生物学会年会, 第 83 回日本生化学会大会合同大会, 2010 年 12 月 (神戸)
3. ○野中康宏, 小川崇, 西 望, 中村隆範, 「NMR によるガレクチン 9 の糖鎖認識メカニズムについての解析」第 33 回日本分子生物学会年会, 第 83 回日本生化学会大会合同大会, 2010 年 12 月 (神戸)
4. ○東海林博樹, 島村英理子, 石垣靖人, 西 望, 中村隆範, 島田ひろき, 八田稔久 「胎盤栄養膜幹細胞におけるガレクチンファミリーの発現」第 33 回日本分子生物学会年会, 第 83 回日本生化学会大会合同大会, 2010 年 12 月 (神戸)
5. 吉田裕美, 寺岡美沙, 西 望, 中北慎一, 中村隆範, 平島光臣, ○神鳥成弘 「X 線構造に基づくガレクチン 9 のシアル化糖鎖認識機構の解明」第 60 回日本結晶学会, 2010 年 12 月 (大阪)

### [5] 産業財産権（特許等）

該当なし

### [6] その他（プロシーディング，査読がない論文，投稿記事等）

該当なし