

## 平成18年度科学研究費補助金（基盤研究（S））研究終了報告書

◆記入に当たっては、「平成18年度科学研究費補助金（基盤研究（S））研究終了報告書記入要領」を参照してください。

ローマ字	TANIGUCHI NAOYUKI					
①研究代表者氏名	谷口 直之		②所属研究機関・部局・職	大阪大学・医学系研究科・教授		
③研究課題名	和文	糖鎖機能の統合的把握：グライコミクス				
	英文	Integrated analyses of sugar functions：Glycomics				
④研究経費 金額単位：千円	平成13年度	平成14年度	平成15年度	平成16年度	平成17年度	総合計
	37,600	19,000	19,000	9,500	9,500	94,600
⑤研究組織（研究代表者及び研究分担者） *平成18年3月31日現在						
氏名	所属研究機関・部局・職	現在の専門	役割分担（研究実施計画に対する分担事項）			
谷口 直之	大阪大学・医学系研究科・教授	生化学	研究の立案と統括			
本家 孝一	高知大学・医学部・教授	生化学	糖鎖改変モデル動物における機能改変分子の同定			
三善 英知	大阪大学・医学系研究科・助教授	生化学	糖鎖改変モデル細胞の機能改変評価システムの開発			
高橋 素子	佐賀大学・医学部・助教授	生化学	糖鎖改変モデル細胞における糖鎖構造改変分子同定			
鄭 文玉 (池田 義孝)	佐賀大学・医学部・教授	生化学	変異型糖鎖遺伝子の導入および特異的阻害剤添加による新しい糖鎖改変モデル細胞作製方法の開発			
⑥当初の研究目的（交付申請書に記載した研究目的を簡潔に記入してください。）						
<p>細胞表面の糖鎖は、細胞間や細胞外基質との相互作用や細胞外との情報交換に深く関わっていることが近年明らかになってきている。真核生物において、生合成されたタンパク質は、細胞内で修飾およびプロセッシングを受けてはじめて機能を発揮するようになる。従って、生命現象を分子レベルで理解するためには、ゲノム研究だけでは不十分で、これを補充する細胞内修飾の研究が今後重要な研究課題となる。ただ糖鎖機能の解明は非常に難易度の高い研究で、人為的に単一の糖鎖合成酵素遺伝子の発現のみを変化させた場合でさえも、特定のタンパク質の糖鎖のみを改変させることは不可能で、表現型の変化は複数の機能分子の機能改変の総和の結果を反映する。しかし、人為的に改変した糖鎖をモニターすることは可能であるので、解析上の複雑性は1対多まで減少し、アプローチ可能となる。そこで、本研究は、多彩な糖鎖機能を解明する突破口として、糖鎖改変モデルにおいて機能変化をきたす分子を網羅的に解析する方法論の確立を目指す。糖鎖の網羅的解析は“グライコミクス”という概念のもとに線虫等の下等モデル動物で展開されはじめているが、我々はこれとは異なったアプローチで、直接哺乳動物における糖鎖機能の解明を目指す。</p>						

**⑦研究成果の概要** (研究目的に対する研究成果を必要に応じて図表等を用いながら、簡潔に記入してください。)

本研究は、組織や細胞における生命活動に必須な糖鎖機能を解明するために、糖鎖遺伝子改変マウスおよび細胞を用いて、糖転移酵素標的分子を臓器レベルあるいは細胞レベルで同定し、その分子の機能発現に糖鎖がどのように関わるかを明らかにすること(機能グライコミクス)を具体的目標としている。以下に、糖転移酵素GnT-III, GnT-V, GnT-IXおよびFut8と癌・疾患との関わりについて、これまで得られた主な成果について記す。

**1)  $\beta$ 1,6 GlcNAc 分枝型糖鎖の生物学的な機能について**

糖転移酵素N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼV (GnT-V)の産物である $\beta$ 1,6 GlcNAc分枝型糖鎖は癌の転移・浸潤との深くかかわりが予測されていたが、その分子メカニズムはまだ不明である。マトリプターゼは、HGFやtPAなどの前駆体を活性化することで浸潤、転移にかかわる酵素である。マトリプターゼがGnT-Vにより修飾されることにより、他のプロテアーゼや、自己による分解に抵抗性になり、恒常的に活性化することが示された。またGnT-Vは本来もつ糖転移酵素の触媒活性とは別の血管新生促進作用を有することを発見した。興味深い事に最近我々がGnT-Vの高発現とneuroblastomaの良好な予後との相関を明らかにした。一方、GnT-Vのホモログである新規な糖転移酵素であるGnT-IXはこれまでに報告された多くの糖転移酵素の中で唯一脳神経系に特異的に発現する酵素であり、新規のM型糖鎖構造を作ることに加え、O-Man型糖鎖上の $\beta$ 1,6 GlcNAc分枝鎖をも作り出す。実際、O-Man型糖鎖上の $\beta$ 1,6 GlcNAc分枝鎖は脳でのみ見られる構造であることから、何らかの脳特異的な機能を担っていることが予想される。

**2) GnT-IIIの機能解析について**

GnT-IIIはバイセクティング(bisecting) GlcNAcを持つユニークな分枝型糖鎖構造形成を触媒する糖転移酵素である。bisecting GlcNAcが付加されるとほかの分枝型糖転移酵素(例えば、GnT-V)が立体障害により、このbisected糖鎖を基質としないため、糖鎖の伸長反応ができなくなる。我々は、GnT-V活性が高く、かつ高転移性の悪性黒色腫細胞にGnT-IIIを導入すると実験的肺転移が著しく抑えられることを見出した。その標的蛋白質としては、接着分子E-カドヘリンやインテグリンであることがわかった。従って、GnT-IIIの高発現による癌転移抑制は、細胞-細胞間の接着の亢進と細胞-細胞外基質間の接着の低下という少なくとも2つのメカニズムによると考えられる。GnT-IIIはGnT-Vのアンタゴニストであると推測している。

**3) Fut8と $\alpha$ 1,6-fucosylationの生物学的機能について**

$\alpha$ 1,6フコースは糖蛋白質のN-結合型糖鎖の根元のN-アセチルグルコサミンに $\alpha$ 1,6フコース転移酵素(Fut8)によって作られる構造である。これまでの研究から、この $\alpha$ 1,6フコースは多くの糖蛋白質の機能制御に大きく関わるということが予想されている。しかし、 $\alpha$ 1,6フコースの生理的機能や標的糖蛋白質への機能制御に関しては、ほとんど明らかになっていない。我々は最近Fut8ノックアウトマウスの作成に成功した。このマウスは7割が生後3日に死に至ることで、 $\alpha$ 1,6フコースが成長発育に必須であることが判明した。面白いことに、生き残ったマウスも発育不全を伴い、およそ1週間で肺気腫を生じる。この分子機構を検討したところ、TGF- $\beta$ 受容体にこの $\alpha$ 1,6フコース糖鎖が付加されないと、受容体とリガンドであるTGF- $\beta$ との結合性が低下し、TGF- $\beta$ 受容体を介してマトリックスメタプロテアーゼの発現抑制が解除される。それによって、肺組織の細胞外マトリックス生合成と分解の均衡が破れ、分解酵素が多量に作られ、肺組織が壊れて肺気腫になることをマウスの実験で確認した。またこの欠損マウスはこのTGF- $\beta$ を大量に投与することにより肺気腫が改善することも確かめた。糖鎖が多くの病気にかかわることは知られていたが、特定の糖タンパク質についているN-結合型糖鎖が病気の原因となるのが初めての例である。一方、EGF受容体やインテグリンにもこの $\alpha$ 1,6フコース糖鎖の付加が必要であることを明らかにした。このような標的タンパク質の同定および糖鎖の機能解析を通じて様々な病態解明や治療法開発への寄与が期待される。

⑧特記事項 (この研究において得られた独創性・新規性を格段に発展させる結果あるいは可能性、新たな知見、当該研究分野及び関連研究分野への影響等、特記すべき事項があれば記入してください。)

これまで、糖転移酵素GnT-Vの産物である $\beta$ 1,6 GlcNAc分枝型糖鎖と癌の転移・浸潤との関係について数多くの報告がなされているが、その分子メカニズムについては不明である。本研究では、マトリプターゼがGnT-Vにより糖鎖修飾を受けることで、自己あるいは他のプロテアーゼによる分解に対して抵抗性を獲得し、恒常的に活性化することを見出した。またさらに、GnT-Vはその糖転移活性には依存しない血管新生促進作用を有することも見出した。このことは、本来ゴルジ装置において糖鎖修飾を担う糖転移酵素が細胞外に分泌され、酵素活性とは全く別の機能を持つことを示す最初の報告で、大変ユニークな発見でもあり、世界中の糖鎖生物学研究者からも注目されている。

上述のGnT-VはN結合型糖鎖の高分岐化とそれに伴う糖鎖の伸長にかかわるが、一方でGnT-IIIはbisecting GlcNAc構造をつくることでGnT-Vの作用に対して抑制的に働く。高いGnT-V活性をもつ悪性黒色腫細胞にGnT-IIIを導入すると、マウスの癌転移モデル実験において肺転移が著しく抑制されることが見出された。また、その標的タンパク質として、接着分子E-カドヘリンやインテグリンが深くかかわることを示した。これらの相反する糖転移酵素の発現・活性をコントロールすることにより、癌転移を効率的に抑える方法の開発に繋がることが期待される。

糖転移酵素FUT8のノックアウトマウスは、 $\alpha$ 1,6フコースの消失とともに重度の成長障害を示した。また、このマウスの肺ではTGF- $\beta$ のシグナル低下による肺気腫様の症状がみられた。これはTGF- $\beta$ 受容体に $\alpha$ 1,6フコースが付加されないことにより、TGF- $\beta$ の結合性が低下したことが原因であることがわかった。さらに、このマウスにTGF- $\beta$ を腹腔内投与することにより肺気腫様症状の回復がみられた。この結果は、糖転移酵素遺伝子の欠損による表現型の異常がある特定の糖タンパク質上のN結合型糖鎖の異常によることを初めて示したものであり、さらにひとつの標的分子で特異的にレスキューできたという点で、大変意義があると思われる。肺気腫の主要な環境因子として喫煙があげられるが、実際には喫煙者の15-20%にしか肺気腫はみられない。喫煙者の肺におけるFut8遺伝子の発現や活性の変化が、その罹病性にかかわっているかどうかについても大変興味深い点であり、現在検討を行っている。一方、この $\alpha$ 1,6フコースによる糖鎖修飾は、EGF受容体やインテグリンの機能においても必要であることを見出しており、今後こうした糖転移酵素の標的分子の同定や糖鎖の機能解析を通じて、種々の病態解明や治療法開発への寄与が期待される。

⑨研究成果の発表状況 (この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文(掲載が確定しているものを含む。)の全著者名、論文名、学協会誌名、巻(号)、最初と最後のページ、発表年(西暦)、及び国際会議、学会、特許等の発表状況について記入してください。なお、代表的な論文3件に○を、また研究代表者に下線を付してください。)

1. Sakata, N, Uesugi, N, Takebayashi, S, Nagai, R, Jono, T, Horiuchi, S, Takeya, M, Itabe, H, Takano, T, Myint, and Taniguchi N. Glycooxidation and lipid peroxidation of low-density lipoprotein can synergistically enhance atherogenesis. **Cardiovasc. Res.**, 49, 466-475, (2001)
2. Chakraborty, AK, Pawelek, J, Ikeda, Y, Miyoshi, E, Kolesnikova N, Funasaka Y, Ichihashi M and Taniguchi N., Fusion hybrids with macrophage and melanoma cells up-regulate N-acetylglucosaminyltransferase V,  $\beta$ 1-6 branching and metastasis. **Cell Growth Differ.**, 12,623-630,( 2001)
3. Wang, W, Li, W, Ikeda, Y, Miyagawa, J, Taniguchi, M, Miyoshi, E, Sheng, Y, Ekuni, A, Ko, JH, Yamamoto, Y, Sugimoto, T, Yamashita, S, Matsuzawa, Y, Grabowski, GA, Honke, K, and Taniguchi N., Ectopic expression of  $\alpha$ 1-6 fucosyltransferase in mice causes steatosis in the liver and kidney accompanied by a modification of lysosomal acid lipase. **Glycobiology**, 11, 165-174, (2001)
4. Ito, Y, Miyoshi, E, Sakon, M, Takeda, T, Noda, K, Tsujimoto, M, Ito S, Honda, H, Takemura, F, Wakasa, K, Monden, M, Matsuura, N and Taniguchi, N. Elevated expression of UDP-N-acetylglucosamine:  $\alpha$ -mannoside  $\beta$ 1,6 N-acetylglucosaminyltransferase is an early event in hepatocarcinogenesis., **Int. J. Cancer**, 91, 631-637(2001)
5. Sasai, K., Ikeda, Y., Tsuda, T., Ihara, H., Korekane, H., Shiota, K. and Taniguchi, N.: The critical role of the stem region as a functional domain responsible for the oligomerization and Golgi localization of N-acetylglucosaminyltransferase V: The involvement of a domain homophilic interaction. **J. Biol. Chem.** 276, 759-765 (2001)
6. Kitada, T., Miyoshi, E., Noda, K., Higashiyama, S., Ihara, H., Matsuura, N., Hayashi, N., Kawata, S., Matsuzawa, Y. and Taniguchi, N.: The addition of bisecting N-acetylglucosamine residues to E-cadherin downregulates the tyrosine phosphorylation of  $\beta$ -catenin. **J. Biol. Chem.** 276, 475-480 (2001)
7. Honke, K., Tsuda, M., Koyota, S., Wada, Y., Iida-Tanaka, N., Ishizuka, I., Nakayama, J. and Taniguchi, N.: Molecular cloning and characterization of a human  $\beta$ -Gal 3'-sulfotransferase which acts on both type 1 and type 2 (Gal $\beta$ 1,3/1,4GlcNAc-R) oligosaccharides. **J. Biol. Chem.** 276, 267-274 (2001)
8. Sato, Y., Takahashi, M., Shibukawa, Y., Jain, S. K., Hamaoka, R., Miyagawa, J., Yaginuma, Y., Honke, K., Ishikawa, M. and Taniguchi, N.: Overexpression of N-acetylglucosaminyltransferase III enhances the EGF-induced phosphorylation of ERK in HeLaS3 cells by upregulation of the internalization rate of the receptors. **J. Biol. Chem.** 276, 11956-11962 (2001)
9. Saito, T, Kinoshita, A, Yoshiura, K, Makita, Y, Wakui, K, Honke, K, Niikawa, N, and Taniguchi, N. Domain-specific mutations of a transforming growth factor(TGF)- $\beta$ 1 latency-associated peptide cause camurati-engelmann disease because of the formation of a constitutively active form of TGF- $\beta$ 1., **J. Biol.Chem.**, 276, 11469-11472,(2001)
10. Koyota, S, Ikeda, Y, Miyagawa S, Ihara, H, Koma, M, Honke, K, Shirakura, R, and Taniguchi, N. Down-regulation of the  $\alpha$ -Gal epitope expression in N-acetylglucosaminyltransferase III gene. Modulation of the biosynthesis of terminal structures by a bisecting GlcNAc. **J. Biol.Chem.**, 276, 32867-32874,(2001)
11. Miyagawa, S, Murakami, H, Takahagi Y, Nagai R, Yamada, M, Murase, A, Koyota, S, Koma M, Matsunami K, Fukuta, D, Fujimura, T, Shigehisa, T, Okabe, M, Naagashima, H, Shirakura, R, and Taniguchi N. Remodeling of the major pig xenoantigen by N-acetylglucosaminyltransferase III in transgenic pig. **J. Biol.Chem.**, 276, 39310-39319, (2001)
12. Shuvaev, VV, Laffont, I, Serot, JM, Fujii, J, Taniguchi, N and Siest G., Increased protein glycation in cerebrospinal fluid of Alzheimer's patients: A new risk factor(2). **Neurobiol. Aging**, 22, 397-402, (2001)

⑨研究成果の発表状況(続き) (この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文(掲載が確定しているものを含む。)の全著者名、論文名、学協会誌名、巻(号)、最初と最後のページ、発表年(西暦)、及び国際会議、学会、特許等の発表状況について記入してください。なお、代表的な論文3件に○を、また研究代表者に下線を付してください。)

13. Taniguchi N, Ekuni, A, Ko, JH, Miyoshi, E, Ikeda, Y, Ihara, Y, Nishikawa, A, Honke, K, and Takahashi, M., A glycomic approach to the identification and characterization of glycoprotein function in cells transfected with glycosyltransferase genes. **Proteomics**, 1, 239-247, (2001)

14. Miyagawa S, Murakami, H, Murase, A, Nakai, R, Koma, M, Koyota, S, Matsunami K, Takahagi, Y, Fujimura, T, Shigehisa, T, Nagashima, H, Shirakura, R and Taniguchi N. Transgenic pigs with human N-acetylglucosaminyltransferase III. **Transplant Proc.**, 33, 742-743, (2001)

15. Ikeda, N., Eguchi, H., Nishihara, S., Narimatsu, H., Kannagi, R., Irimura, T., Ohta, M., Matsuda, H., Taniguchi, N. and Honke, K.: A remodeling system of the 3'-sulfo Lewis a and 3'-sulfo Lewis x epitopes. **J. Biol. Chem.** 276, 38588-38594 (2001)

16. Koyota, S., Ikeda, Y., Miyagawa, S., Ihara, H., Koma, M., Honke, K., Shirakura, R. and Taniguchi, N. : Down-regulation of the  $\alpha$ -Gal epitope expression in N-glycans of swine endothelial cells by transfection with the N-acetylglucosaminyltransferase III gene. Modulation of the biosynthesis of terminal structures by a bisecting GlcNAc. **J. Biol. Chem.** 276, 32867-32874 (2001)

17. Koh, YH, Che, W, Higashiyama, S, Takahashi, M, Miyamoto, Y, Suzuki, K, and Taniguchi, N. Osmotic stress induces HB-EGF gene expression via Ca<sup>2+</sup>/Pyk2/JNK signal cascades in rat aortic smooth muscle cells. **J. Biochem.**(Tokyo), 130, 351-358 (2001)

18. Hasuike, Y, Nakanishi, T, Otaki, Y, Nanami, M, Tanimoto, T, Taniguchi N, and Takamitsu, Y, Plasma 3-deoxyglucosone elevation in chronic renal failure is associated with increased aldose reductase in erythrocytes. **Am. J. Kidney Dis.**, 40, 464-471 (2002)

19. Noda, K, Miyoshi, E, Nakahara, S, Ihara, H, Gao, CX, Honke, K, Yanagidani, S, Sasaki, Y, Kasahara, A, Hori, M, Hayashi, N and Taniguchi N, An enzymatic method of analysis for GDP-L fucose in biological samples, involving highperformance liquid chromatography. **Anal. Biochem.**, 310, 100-106,(2002)

20. Ihara, H., Ikeda, Y., Koyota, S., Endo, T., Honke, K. and Taniguchi, N.: A catalytically inactive  $\beta$ 1,4-N-acetylglucosaminyltransferase III (GnT-III) behaves as a dominant negative GnT-III inhibitor. **Eur. J. Biochem.** 269, 193-201 (2002)

21. Sasai, K, Ikeda, Y, Eguchi, H, Tsuda, T, Honke, K and Taniguchi, N, The action of N-acetylglucosaminyltransferase-V is prevented by the bisecting GlcNAc residue at the catalytic step. **FEBS Lett.**, 522, 151-155, (2002)

22. Ekuni, A, Miyoshi, E, Ko, JH, Noda, K, Kitada, T, Ihara, S, Endo, T, Hino, A, Honke, K, and Taniguchi, N, A glycomic approach to hepatic tumors in N-acetylglucosaminyltransferase III(GnT-III) transgenic mice induced by diethylnitrosamine (DEN): Identification of haptoglobin as a target molecule of GnT-III. **Free Radic. Res.**, 36, 827-833,(2002)

23. Sasai, K, Ikeda, Y, Fujii, T, Tsuda, T and Taniguchi, N, UDP-GlcNAc concentration is an important factor in the biosynthesis of  $\beta$ 1,6-branched oligosaccharides: regulation based on the kinetics properties of N-acetylglucosaminyltransferase V., **Glycobiology**, 12, 119-127, (2002)

24. Eguchi, H, Ikeda, Y, Koyota, S, Honke, K, Suzuki, K, Gutteridge, JM and Taniguchi, N, Oxidative damage due to copper ion and hydrogen peroxide induces GlcNAc-specific cleavage of an asn-linked oligosaccharide. **J. Biochem.**(Tokyo), 131, 477-484,(2002)

25. Koma, M, Miyagawa, S, Honke, K, Nakai, R, Miyoshi, S, Ohta M, Matsuda, H, Shirakura R and Taniguchi, N. The possibility of reducing xenoantigen levels with a novel Gal 3'-sulfotransferase (GP3ST). **J. Biochem.**(Tokyo), 131, 517-522, (2002)

⑨研究成果の発表状況（続き）（この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文（掲載が確定しているものを含む。）の全著者名、論文名、学協会誌名、巻（号）、最初と最後のページ、発表年（西暦）、及び国際会議、学会、特許等の発表状況について記入してください。なお、代表的な論文3件に○を、また研究代表者に下線を付してください。）

26. Honke, K., Hirahara, Y., Dupree, J., Suzuki, K., Popko, B., Fukushima, K., Fukushima, J., Nagasawa, T., Yoshida, N., Wada, Y. and Taniguchi, N.: Paranodal junction formation and spermatogenesis require sulfolipids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99, 4227-4232 (2002)

27. Saito, T., Miyoshi, E., Sasai, K., Nakano, N., Eguchi, H., Honke, K. and Taniguchi, N.: A secreted type of  $\beta$  1,6-N-acetylglucosaminyltransferase V (GnT-V) induces tumor angiogenesis without mediation of glycosylation. A novel function of GnT-V distinct from the original glycosyltransferase activity. *J. Biol. Chem.* 277, 17002-17008 (2002)

28. Ihara, S., Miyoshi, E., Ko, J. H., Murata, K., Nakahara, S., Honke, K., Dickson, R. B., Lin, C. Y. and Taniguchi, N.: Prometastatic effect of N-acetylglucosaminyltransferase V is due to modification and stabilization of active matrix metalloproteinase by adding  $\beta$ 1-6 GlcNAc branching. *J. Biol. Chem.* 277, 16960-16967 (2002)

29. Honke, K. and Taniguchi, N., Sulfotransferases and sulfated oligosaccharides., *Med. Res. Rev.*, 22, 637-654, (2002)

30. Noda, K., Miyoshi, E., Kitada, T., Nakahara, S., Ihara, H., Gao, CX, Honke, K., Shiratori, Y., Moriwaki, H., Sasaki, Y., Kasahara, A., Hori, M., Hayashi, N and Taniguchi, N., The enzymatic basis for the conversion of nonfucosylated to fucosylated  $\alpha$ -fetoprotein by acyclic retinoid treatment in human hepatoma cells: activation of  $\alpha$ 1,6 fucosyltransferase. *Tumour Biology*, 23, 202-211 (2002)

31. Sakuda, S., Tamura, S., Yamada, A., Miyagawa, JI, Yamamoto, K, Kiso, S, Ito N, Higashiyama, S, Taniguchi, N., Kawata, S, and Matsuzawa Y. NF-kappaB activation in non-parenchymal liver cells after partial hepatectomy in rats: possible involvement in expression of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor. *J. Hepatol.*, 36, 527-533 (2002)

32. Shibukawa, Y., Takahashi, M., Laffont, I., Honke, K. and Taniguchi, N. : Down-regulation of hydrogen peroxide-induced PKC $\delta$  activation in N-acetylglucosaminyltransferase III transfected HeLaS3 cells. *J. Biol. Chem.*, 278, 3197-3203, (2003)

33. K. Sasai, Y. Ikeda, H. Ihara, K. Honke and N. Taniguchi. : Caveolin-1 regulates the functional localization of N-acetylglucosaminyltransferase-III within the Golgi apparatus. *J. Biol. Chem.* 278, 25295-301 (2003)

34. Noda, K., Miyoshi, E., Gu, J., Gao, C. X., Nakahara, S., Kitada, T., Honke, K., Suzuki, K., Yoshihara, H., Yoshikawa, K., Kawano, K., Tonetti, M., Kasahara, A., Hori, M., Hayashi, N., Taniguchi, N.: Relationship between elevated FX expression and increased production of GDP-L-fucose, a common donor substrate for fucosylation in human hepatocellular carcinoma and hepatoma cell lines, *Cancer Res*, 63, 6282-9 (2003)

35. Korekane, H., Taguchi, T., Sakamoto, Y., Honke, K., Dohmae, N., Salminen, H., Toivonen, S., Helin, J., Takio, K., Renkonen, O., Taniguchi, N. Purification and cDNA cloning of UDP-GlcNAc: GlcNAc $\beta$ 1-3Gal $\beta$ 1-4Glc(NAc)-R [GlcNAc to Gal] $\beta$ 1,6N-acetylglucosaminyltransferase from rat small intestine: a major carrier of dIGnT activity in rat small intestine, *Glycobiology*, 13, 387-400 (2003)

36. Ito, Y., Miyauchi, A., Yoshida, H., Uruno, T., Nakano, K., Takamura, Y., Miya, A., Kobayashi, K., Yokozawa, T., Matsuzuka, F., Taniguchi, N., Matsuura, N., Kuma, K., Miyoshi, E. Expression of alpha1,6-fucosyltransferase (FUT8) in papillary carcinoma of the thyroid: its linkage to biological aggressiveness and anaplastic transformation, *Cancer Lett*, 200, 167-72 (2003)

37. Takamiya, R, Takahashi, M, Theingi, M, Park, YS, Miyazawa, N, Endo, T, Fujiwara, N, Sakiyama, H, Misonou, Y, Miyamoto, Y, Fujii, J and Taniguchi, N. Glycation proceeds faster in mutated Cu,Zn-superoxide dismutases related to familiar amyotrophic lateral sclerosis. *FASEB J.* 17, 938-940 (2003)

38. Park, YS, Koh, YH, Takahashi, M, Miyamoto, Y, Suzuki, K, Dohmae N, Takio K, Honke, K and Taniguchi, N. Identification of the binding site of methylglyoxal on glutathione peroxidase: methylglyoxal inhibits glutathione peroxidase activity via binding to glutathione binding sites arg184 and 185. *Free Radic. Res.*, 37, 205-211 (2003)

⑨研究成果の発表状況(続き) (この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文(掲載が確定しているものを含む。)の全著者名、論文名、学協会誌名、巻(号)、最初と最後のページ、発表年(西暦)、及び国際会議、学会、特許等の発表状況について記入してください。なお、代表的な論文3件に○を、また研究代表者に下線を付してください。)

39. Inamori, K., Endo, T., Ide, Y., Fujii, S., Gu, J., Honke, K., Taniguchi, N., Molecular cloning and characterization of human GnT-IX, a novel beta1,6-N-acetylglucosaminyltransferase that is specifically expressed in the brain, **J. Biol. Chem.**, 278, 43102-9 (2003)
40. Honke, K., Ikeda, N., Taniguchi, N. Differences in recognition of sulfated and sialylated carbohydrate chains, **Methods Enzymol**, 363, 222-9 (2003)
41. Gao, C. X., Honke, K., Taniguchi, N. Carbohydrate binding activity of annexin V toward a bisecting N-acetylglucosamine, **Methods Enzymol**, 363, 34-47 (2003)
42. Nakahara, S., Miyoshi, E., Noda, K., Ihara, S., Gu, J., Honke, K., Inohara, H., Kubo, T., Taniguchi, N., Involvement of oligosaccharide changes in alpha5beta1 integrin in a cisplatin-resistant human squamous cell carcinoma cell line, **Mol Cancer Ther**, 2, 1207-14 (2003)
43. Ihara, S., Miyoshi, E., Nakahara, S., Sakiyama, H., Ihara, H., Akinaga, A., Honke, K., Dickson, R. B., Lin, C. Y., Taniguchi, N. Addition of beta1-6 GlcNAc branching to the oligosaccharide attached to Asn 772 in the serine protease domain of matriptase plays a pivotal role in its stability and resistance against trypsin, **Glycobiology**, 14, 139-46 (2004)
44. Gu, J., Zhao, Y., Isaji, T., Shibukawa, Y., Ihara, H., Takahashi, M., Ikeda, Y., Miyoshi, E., Honke, K., Taniguchi, N. Beta1,4-N-Acetylglucosaminyltransferase III down-regulates neurite outgrowth induced by costimulation of epidermal growth factor and integrins through the Ras/ERK signaling pathway in PC12 cells, **Glycobiology**, 14, 177-86 (2004)
45. Inamori, K., Endo, T., Gu, J., Matsuo, I., Ito, Y., Fujii, S., Iwasaki, H., Narimatsu, H., Miyoshi, E., Honke, K., Taniguchi, N. N-Acetylglucosaminyltransferase IX acts on the GlcNAc beta 1,2-Man alpha 1-Ser/Thr moiety, forming a 2,6-branched structure in brain O-mannosyl glycan, **J. Biol. Chem.**, 279, 2337-40 (2004)
46. Isaji, T., Gu, J., Nishiuchi, R., Zhao, Y., Takahashi, M., Miyoshi, E., Honke, K., Sekiguchi, K., Taniguchi, N. Introduction of bisecting GlcNAc into integrin alpha5beta1 reduces ligand binding and down-regulates cell adhesion and cell migration, **J. Biol. Chem.**, 279, 19747-54 (2004)
47. Dosaka-Akita, H., Miyoshi, E., Suzuki, O., Itoh, T., Katoh, H., Taniguchi, N. Expression of N-acetylglucosaminyltransferase v is associated with prognosis and histology in non-small cell lung cancers **Clin Cancer Res**, 10, 1773-9 (2004)
48. Takahashi, M., Tsuda, T., Ikeda, Y., Honke, K., Taniguchi, N. Role of N-glycans in growth factor signaling, **Glycoconj J**, 20, 207-12 (2004)
49. Zhong Wu, X., Honke, K., Long Zhang, Y., Liang Zha, X., Taniguchi, N., Lactosylsulfatide expression in hepatocellular carcinoma cells enhances cell adhesion to vitronectin and intrahepatic metastasis in nude mice, **Int J Cancer**, 110, 504-10 (2004)
50. Gu, J., Taniguchi, N. Regulation of integrin functions by N-glycans, **Glycoconj J**, 21, 9-15 (2004)
51. Honke, K., Zhang, Y., Cheng, X., Kotani, N., Taniguchi, N., Biological roles of sulfoglycolipids and pathophysiology of their deficiency, **Glycoconj J**, 21, 59-62 (2004)
52. Taniguchi, N., Gu, J, Takahashi, M and Miyoshi, E. Functional glycomics and evidence for gain- and loss-of-functions of target proteins for glycosyltransferases involved in N-glycan biosynthesis: their pivotal roles in growth and development, cancer metastasis and antibody therapy against cancer. **Proc.Jpn.Acad.Ser.B**, 80, 82-91(2004)
53. Nakano, N, Higashiyama, S, Ohmoto, H, Ishiguro, H, Taniguchi, N and Wada, Y. The N-terminal region of NTAk/neuregulin-2 isoforms has an inhibitory activity on angiogenesis. **J. Biol. Chem.**, 279, 11465-11470 (2004)

⑨研究成果の発表状況(続き) (この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文(掲載が確定しているものを含む。)の全著者名、論文名、学協会誌名、巻(号)、最初と最後のページ、発表年(西暦)、及び国際会議、学会、特許等の発表状況について記入してください。なお、代表的な論文3件に○を、また研究代表者に下線を付してください。)

54. Ogawa, D, Shikata, K, Honke, K, Sato, S, Matsuda, M, Nagase, R, Tone, A, Okada, S, Usui, H, Wada, J, Miyasaka, M, Kawashima, H, Suzuki, Y, Suzuki, T, Taniguchi, N, Hirahara, Y, Tadano-Aritomi, K, Ishizuka, I, Tedder, TF, and Makino H. Cerebroside sulfotransferase deficiency ameliorates L-selectin-dependent monocyte infiltration in the kidney after ureteral obstruction. **J. Biol. Chem.**, 279, 2085-2090 (2004)
55. Murata, K, Miyoshi, E, Ihara, S, Noura, S, Kameyama, M, Ishikawa, O, Doki, Y, Yamada, T, Ohigashi, H, Sasaki, Y, Higashiyama, M, Tarui, T, Takada, Y, Kannagi, R, Taniguchi, N and Imaoka, S. Attachment of human colon cancer cells to vascular endothelium is enhanced by N-acetylglucosaminyltransferase V. **Oncology**, 66, 492-501 (2004)
56. Zhang, Y., Hayashi, Y., Cheng, X., Watanabe, T., Wang, X., Taniguchi, N., Honke, K. Testis-specific sulfoglycolipid, seminolipid, is essential for germ cell function in spermatogenesis, **Glycobiology**, 15, 649-54 (2005)
57. Cheng, X., Zhang, Y., Kotani, N., Watanabe, T., Lee, S., Wang, X., Kawashima, I., Tai, T., Taniguchi, N., Honke, K. Production of a recombinant single-chain variable-fragment (scFv) antibody against sulfoglycolipid, **J Biochem (Tokyo)**, 137, 415-21 (2005)
58. Gao, C. X., Miyoshi, E., Uozumi, N., Takamiya, R., Wang, X., Noda, K., Gu, J., Honke, K., Wada, Y., Taniguchi, N. Bisecting GlcNAc mediates the binding of annexin V to Hsp47, **Glycobiology**, 15, 1067-75 (2005)
59. Eguchi, H., Ikeda, Y., Ookawara, T., Koyota, S., Fujiwara, N., Honke, K., Wang, P. G., Taniguchi, N., Suzuki, K. Modification of oligosaccharides by reactive oxygen species decreases sialyl lewis x-mediated cell adhesion, **Glycobiology**, 15, 1094-101 (2005)
60. Wang, X., Inoue, S., Gu, J., Miyoshi, E., Noda, K., Li, W., Mizuno-Horikawa, Y., Nakano, M., Asahi, M., Takahashi, M., Uozumi, N., Ihara, S., Lee, S. H., Ikeda, Y., Yamaguchi, Y., Aze, Y., Tomiyama, Y., Fujii, J., Suzuki, K., Kondo, A., Shapiro, S. D., Lopez-Otin, C., Kuwaki, T., Okabe, M., Honke, K., Taniguchi, N. Dysregulation of TGF-beta1 receptor activation leads to abnormal lung development and emphysema-like phenotype in core fucose-deficient mice, **Proc Natl Acad Sci U S A**, 102, 15791-6 (2005)
61. Ishibashi, Y., Dosaka-Akita, H., Miyoshi, E., Shindoh, M., Miyamoto, M., Kinoshita, I., Miyazaki, H., Itoh, T., Kondo, S., Nishimura, M., Taniguchi, N. Expression of N-acetylglucosaminyltransferase V in the development of human esophageal cancers: immunohistochemical data from carcinomas and nearby noncancerous lesions, **Oncology**, 69, 301-10 (2005)
62. Tomiie, M, Isaka, S, Miyoshi, E, Taniguchi, N, Kimura, T, Ogita, K, Tsutsui, T, Shimoya, K, Nakagawa, T, Kondo, A, Koyama, M and Murata, Y. Elevated expression of N-acetylglucosaminyltransferase V in the first trimester human placenta. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 330, 999-1004 (2005)
63. Kitazume, S, Nakagawa, K, Oka, R, Tachida, Y, Ogawa, K, Luo, Y, Citron, M, Shitara, H, Taya, C, Yonekawa, H, Paulson, JC, Miyoshi, E, Taniguchi, N., and Hashimoto, Y. In vivo cleavage of  $\alpha$ 2,6-sialyltransferase by alzheimer  $\beta$ -secretase. **J. Biol. Chem.**, 280, 8589-8595 (2005)
64. Wang, X., Gu, J., Ihara, H., Miyoshi, E., Honke, K., Taniguchi, N. Core Fucosylation Regulates Epidermal Growth Factor Receptor-mediated Intracellular Signaling, **J Biol Chem**, 281, 2572-7 (2006)
65. Ihara, H., Ikeda, Y., Taniguchi, N. Reaction Mechanism and Substrate Specificity for Nucleotide-Sugar of Mammalian  $\{\alpha\}1,6$ -Fucosyltransferase, **Glycobiology**, in press(2006).
66. Okuyama, N., Ide, Y., Nakano, M., Nakagawa, T., Yamanaka, K., Moriwaki, K., Murata, K., Ohigashi, H., Yokoyama, S., Eguchi, H., Ishikawa, O., Ito, T., Kato, M., Kasahara, A., Kawano, S., Gu, J., Taniguchi, N., Miyoshi, E. Fucosylated haptoglobin is a novel marker for pancreatic cancer: A detailed analysis of the oligosaccharide structure and a possible mechanism for fucosylation, **Int J Cancer**, in press (2006).



⑨研究成果の発表状況（続き）（この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文（掲載が確定しているものを含む。）の全著者名、論文名、学協会誌名、巻（号）、最初と最後のページ、発表年（西暦）、及び国際会議、学会、特許等の発表状況について記入してください。なお、代表的な論文3件に○を、また研究代表者に下線を付してください。）

67. Inamori, K. I., Mita, S., Gu, J., Mizuno-Horikawa, Y., Miyoshi, E., Dennis, J. W., Taniguchi, N. Demonstration of the expression and the enzymatic activity of N-acetylglucosaminyltransferase IX in the mouse brain, ***Biochim Biophys Acta***, in press (2006)
68. Lee SH., Takahashi M, Honke, K, Miyoshi E, Osumi D, Sakiyama H, Ekuni A, Wang X, Inoue S, Gu J, Kadomatsu K, and Taniguchi N. Loss of core fucosylation of low-density lipoprotein receptor-related protein-1 impairs its function, leading to the upregulation of serum levels of insulin-like growth factor-binding protein 3 in Fut8<sup>-/-</sup> mice. ***J. Biochem***, **139**, 351-8 (2006).
69. Ide Y, Miyoshi E, Nakagawa T, Gu J, Tanemura M, Nishida T, Ito T, Yamamoto H, Kozutsumi Y and Taniguchi N Aberrant expression of N-Acetylglucosaminyltransferase-IVa and IVb (GnT-IVa and b) in pancreatic cancer. ***Biochem Biophys Res Commun***. **341(2)**, 478-82 (2006).
70. Inamori K, Gu J, Ohira M, Kawasaki A, Nakamura Y, Nakagawa T, Kondo A, Miyoshi E, Nakagawara A, and Taniguchi N. High expression of N-acetylglucosaminyltransferase V in favorable neuroblastomas: Involvement of its effect on apoptosis. ***FEBS Letters*** **580**, 627-632 (2006).
71. Watanabe T, Ihara H, Miyoshi E, Honke K, Taniguchi N, and Taguchi T. A specific detection of GlcNAc beta1-6 Man alpha1-branches in N-linked glycoproteins based on the N-acetylglucosaminyltransferase VI. ***Glycobiology*** in press (2006).
72. Ito Y, Akinaga A, Yamanaka K, Nakagawa T, Kondo A, Dickson R B, Lin C-Y, Miyauchi A, Taniguchi N, Miyoshi E. Co-expression of matryptase and N-acetylglucosaminyltransferase V in thyroid cancer tissues; its possible role in prolonged stability *in vivo* by aberrant glycosylation. ***Glycobiology*** in press (2006).