

血管内皮細胞接着分子のシアリル化に依存した機能発現

Sialylation-dependent endothelial cell adhesion molecule function

代表研究者 理化学研究所 北爪しのぶ RIKEN Institute, Shinobu Kitazume

Antiangiogenesis therapies are now part of the standard repertoire of cancer therapies, but the mechanisms for the proliferation and survival of endothelial cells are not fully understood. In this study, we show that α 2,6-sialic acid is necessary for the cell-surface residency of platelet endothelial cell adhesion molecule (PECAM), a member of the immunoglobulin superfamily that plays multiple roles in cell adhesion, mechanical stress sensing, antiapoptosis and angiogenesis. As a possible underlying mechanism, we found that the homophilic interactions of PECAM in endothelial cells were dependent on α 2,6-sialic acid. The present findings open up a new possibility that modulation of glycosylation could be one of the promising strategies for regulating angiogenesis.

研究目的

我々は血管内皮細胞に高発現している α 2, 6-シアル酸の生理的意義を調べている過程で、接着分子 PECAM には通常は α 2, 6-シアル酸が結合しているが、 α

2,6-シアル酸の欠損した血管内皮細胞において PECAM の細胞表面の局在量が減少していること、更に興味深いことに、 $\alpha 2,6$ -シアル酸の欠損した血管内皮細胞は PECAM 欠損細胞と同様に血管新生の変化が観察された。そのため、我々は PECAM がシアル酸依存的に動的な高次機能複合体を形成する、いわば新規のシアル酸認識分子ではないか、との仮説を立てた。本研究においてはその分子機構の詳細を明らかにすることを目的として研究を行った。

研究経過

この仮説を証明するために $\alpha 2,6$ -シアル酸の形生成を担うシアル酸転移酵素 ST6Gal I (図1 構造図参照) を遺伝的に欠損させたノックアウトマウス ($\alpha 2,6$ -シアル酸欠損マウス) と、コントロールマウス (野生型マウス) の比較解析を行った。両マウスの肝臓から血管内皮細胞を単離し、解析した結果、 $\alpha 2,6$ -シアル酸欠損細胞では、血管内皮細胞の主要な接着分子である PECAM の局在に変化が起きていることが分かった。また、PECAM は $\alpha 2,6$ -シアル酸特異的な SSA レクチンと反応することから、PECAM 自体に $\alpha 2,6$ -シアル酸が結合していることも明らかにした。通常、PECAM は細胞表面、中でも細胞間接着部位に多く存在して PECAM 同士が相互作用しているのに対し、 $\alpha 2,6$ -シアル酸欠損状態では PECAM が細胞表面にとどまることができず、細胞内のエンドソームに取り込まれていた。この分子的背景として、PECAM がシアル酸依存的にホモフィリックな相互作用をしていることを *in vitro* の実験系で明らかにした。PECAM は、ミトコンドリア依存的なアポトーシス刺激に応じて細胞内の ITIM (Immunoreceptor tyrosine inhibitory motif) 領域がリン酸化される結果、脱リン酸化酵素 (SHP2) を呼び寄せ、多数のシグナル分子の脱リン酸化を通じて細胞死を抑制する働きを持つ。しかし、 $\alpha 2,6$ -シアル酸欠損細胞では PECAM のリン酸化や SHP2 のリクルート量

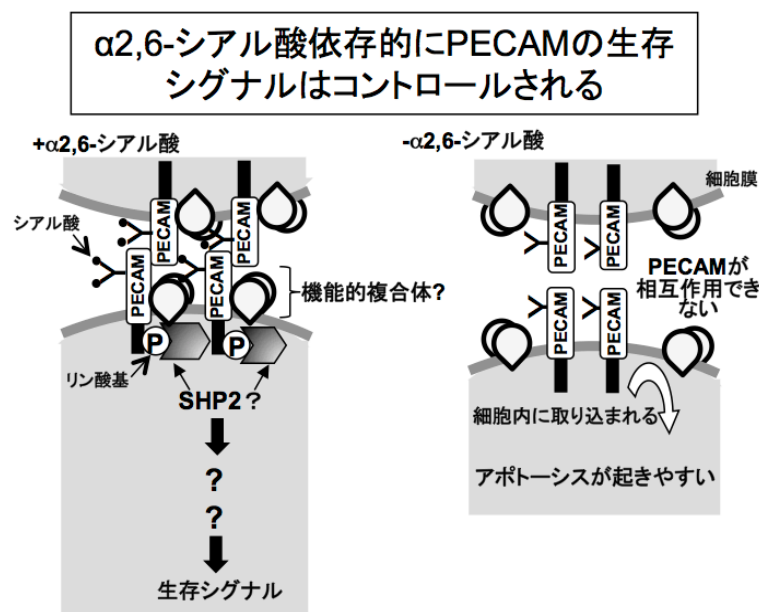


図1 Anti-apoptotic PECAM signal is dependent on $\alpha 2,6$ -Sialic acid. $\alpha 2,6$ -シアル酸依存的に PECAM の生存シグナルはコントロールされる

が減少していた。そして、 α 2,6-シアル酸を欠損した血管内皮細胞は、スタウロスポリンによるアポトーシス誘導刺激でより多くの細胞死を誘導していることが明らかになった。(*J. Biol. Chem.* 285, 6515-6521 (2010))

考察

現在、抗がん治療で使用されている抗血管新生阻害剤は、血管内皮細胞増殖因子((VEGF)) を標的としているものが主流である。しかし、最近の動物実験の結果、これらの抗がん剤は、当初効果を発揮奏功するものの、その後は侵襲的ながんの増殖を促進し、場合によっては転移発生率が高くなるといった問題点が指摘されている。本研究成果によって α 2,6-シアル酸が、血管内皮細胞の細胞死をコントロール制御していることを解明することができたことから、 α 2,6-シアル酸などの糖鎖を標的とした新たなタイプの抗血管新生阻害剤の開発の可能性が高まったと考えている。

研究発表

口頭発表

1. S. Kitazume, R. Imamaki, K. Ogawa, Y. Komi, S. Futakawa, S. Kojima, Y. Hashimoto, J. D. Marth, J. C. Paulson, and N. Taniguchi, α 2,6-Sialic Acid on Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule (PECAM) Regulates Its Homophilic Interactions and Downstream Antiapoptotic Signaling, ICS2010, Chiba, Aug. 8, 2010
2. Shinobu Kitazume, Sialic acid-based homophilic PECAM interactions regulate pathological angiogenesis, 第32回日本分子生物学会シンポジウム口頭発表、2009年12月10日(横浜)
3. 北爪しのぶ、今牧理恵、小川加寿子、小見悠介、小嶋聡一、橋本康弘、Jamey D. Marth、谷口直之「血管新生における α 2,6-シアル酸の役割」第29回日本糖質学会口頭発表、2009年9月9日(飛騨)

誌上発表

1. S. Kitazume, R. Imamaki, K. Ogawa, Y. Komi, S. Futakawa, S. Kojima, Y. Hashimoto, J. D. Marth, J. C. Paulson, and N. Taniguchi (2010) α 2,6-Sialic Acid on Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule (PECAM) Regulates Its Homophilic Interactions and Downstream Antiapoptotic Signaling *J. Biol. Chem.* **285**, 6515-6521. (This is featured by Research Highlight in Functional Glycomics Gateway (2010) doi:10.1038/fg.2010.8)
2. K. Nakajima, S. Kitazume, T. Angata, R. Fujinawa, E. Miyoshi, and N. Taniguchi

(2010) Simultaneous determination of nucleotide sugars involved in glycosylation with ion-pair reversed-phase HPLC, *Glycobiology* **20**, 865-871.

3. **S. Kitazume**[#], R. Oka, K. Ogawa, S. Futakawa, Y. Hagiwara, H. Takigawa, M. Kato, A. Kasahara, E. Miyoshi, N. Taniguchi, and Y. Hashimoto (2009) Molecular insights into β -galactoside α 2,6-sialyltransferase secretion in vivo *Glycobiology* **19**, 479-487.
4. S. Futakawa, **S. Kitazume**, R. Oka, K. Ogawa, Y. A. Kinoshita, K. Miyashita and Y. Hashimoto. (2009) Development of sandwich enzyme-linked immunosorbent assay systems for plasma β -galactoside α 2,6-sialyltransferase, a possible hepatic disease biomarker *Analytica Chimica Acta* **531**, 116-120.