

令和 2 年 9 月 8 日現在

機関番号：32676

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K08342

研究課題名(和文) ウイルス感染病態の進行におけるヘパラン硫酸とヘパラーゼ

研究課題名(英文) Heparan sulfate and heparanase are involved in viral pathological processes

研究代表者

東 伸昭 (Higashi, Nobuaki)

星薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：40302616

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：インフルエンザウイルスの感染の成立過程において、ヘパラン硫酸とヘパラーゼが感染効率、組織炎症、上皮細胞の生存を様々な形で制御することを見出した。具体的には、シンデカン-1の欠損が感染効率を上昇させることを見出した。本研究課題の支援によって新規合成したheparastatin(SF4)が組織炎症の抑制に有効であること、さらに高硫酸化コンドロイチン硫酸など新規の内在性阻害物質を見出した。ヘパラーゼを分泌顆粒内に蓄えるマスト細胞のヘパラーゼ取り込み過程にシンデカン-4が関与すること、ヘパラーゼとヘパラン硫酸断片に反応して上皮細胞の生存が増強されることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題の実施により、インフルエンザウイルス感染時におけるヘパラーゼとヘパラン硫酸の役割の一端を示すことができた。ウイルスの感染過程とともに、これに伴って生じる個体内の炎症や組織破壊についても、ヘパラーゼとヘパラン硫酸は病態を調節する上で重要な因子であった。このことはヘパラーゼによるヘパラン硫酸分解の制御方法の開発が重要であることを改めて示すものであり、阻害剤を開発する上での動機付けを高めた。新型コロナウイルス感染症でも示されたように、感染防御とともに、これに随伴して生じる局所性もしくは全身性の炎症症状に対して、その制御方法を見出すことは極めて重要な課題である。

研究成果の概要(英文)：Heparan sulfate and a sole degrading enzyme heparanase are involved in infectious and subsequent pathological processes of influenza virus. Lack of syndecan-1 expression in lung epithelial cells increased infection efficiency of influenza virus. Heparastatin (SF4) and another novel heparanase inhibitor as an endogenous molecule (chondroitin sulfates) have been identified and examined for suppression of infection-associated inflammation. A cell surface molecule syndecan-4 is involved in the incorporation process of extracellular heparanase into mast cells. Survival of epithelial cells is enhanced via heparanase- and cleaved heparan sulfate-mediated stimuli in which an NF-kappaB-dependent intracellular signal is partly involved. The present research project demonstrates potential availability of heparanase inhibitors as a drug candidate to suppress pathological disorders induced by influenza virus infection.

研究分野：生物系薬学

キーワード：微生物・感染症学 細胞外マトリックス 炎症 インフルエンザウイルス ヘパラーゼ 上皮細胞 組織修復 ヘパラン硫酸

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

## 1. 研究開始当初の背景

様々な感染症のパンデミックが危惧されている。インフルエンザウイルスの場合、ウイルス粒子構成蛋白質の抗原性の変化によるワクチンの無力化、抗インフルエンザ薬に対する耐性株の出現などが懸念されている。感染症に対する治療法としては、複数の手段を確保しておくことが望ましい。従来とは異なる視点として、ウイルス感染後に生じる上皮細胞死と炎症細胞の浸潤の本質を見極め、過度の炎症への進行を阻止する試みが注目され始めた。一方、この局所炎症は組織修復や獲得免疫の成立に必要な応答であるとも考えられる。感染症の治療に関わる研究を展開する上で、破壊阻止・炎症抑制・獲得免疫の効率化など複数の視点で介在因子を同定することが重要である。

感染の成立、炎症、獲得免疫の作動の各過程で、硫酸化糖鎖ヘパラン硫酸とその切断酵素であるヘパラーゼの果たす役割が注目されつつある。ヘパラン硫酸・ヘパリンは、グルコサミンとグルクロン酸の2糖繰り返し構造が部分的に硫酸修飾を受けたもので、生体内で最も強い陰電荷を有する多糖高分子である。ヘパラン硫酸は上皮細胞層に高密度に発現し、複数種の病原性微生物・ウイルスの侵入を補助する。炎症時における上皮細胞層の傷害・炎症細胞の血管外浸潤の際には、基底膜構成成分であるヘパラン硫酸の分解が生じるものと想定される。ヘパラン硫酸は細胞外マトリックス分子以外にも正電荷をもつサイトカイン・ケモカイン類、Danger Associated Molecular Pattern (DAMP)タンパク質等と会合し、これらの生理活性物質の調節に関わる可能性がある。

ヘパラーゼは、この硫酸化糖鎖を切断するほ乳類では唯一のエンド型酵素であり、ヘパラン硫酸・ヘパリンの重要な調節因子である。ヘパラーゼは基底膜など細胞外マトリックス中のヘパラン硫酸、顆粒内のヘパリン等の硫酸化糖鎖を基質として切断することにより、複数の生理活性物質の動態に影響を及ぼすと予想される。ウイルス感染調節については、このヘパラーゼが宿主のヘパラン硫酸とウイルス粒子を切り離すことで HSV-1 ウイルスの感染後の放出を補助すると報告された(Nature Commun 6: 6985(2015))。この系では上皮細胞がウイルス感染に応答することによりヘパラーゼ発現を上昇させる。

以上のようにヘパラン硫酸・ヘパリンとその制御因子であるヘパラーゼは、ウイルス感染の成立とそれに伴う組織学的応答において多面的に関与する可能性が高いと考えられた。

## 2. 研究の目的

ヘパラーゼは、ウイルスに接する上皮細胞自身が発現し基底膜分解・ウイルス放出に関与する分子と予想されること、炎症時の免疫細胞が放出し組織浸潤・基底膜分解に関与すること、炎症細胞が放出して上皮細胞を刺激し上皮細胞のマトリックス分解を誘導する可能性のあること、などから、インフルエンザウイルスの感染の際に生じる病態を進行させる鍵分子であると考えた。

本研究では以下3点の解明を目的とする。

- (1) ウイルス感染時における上皮細胞のヘパラン硫酸とヘパラーゼの関与
- (2) 炎症細胞の組織浸潤・上皮細胞を裏打ちする基底膜分解に対する炎症細胞ヘパラーゼの関与
- (3) 炎症細胞が蓄積・放出するヘパラーゼの上皮細胞に対する効果

## 3. 研究の方法

### (1) ウイルス感染時における上皮細胞のヘパラン硫酸とヘパラーゼの関与

A549細胞に対するインフルエンザウイルス PR8 株の定量的な感染実験系を確立している。ヘパラン硫酸の発現を、生合成酵素 Ext1 の RNAi による発現抑制により低下させ、感染効率の変化を検討した。ヘパラン硫酸を提示するコアタンパク質としてシンデカンに着目した。syndecan-1,-2 遺伝子の標的配列のアンチセンスとガイド RNA、Cas9 を発現する px458 ベクターを A549 細胞に導入することにより、該当遺伝子の発現を欠く「ノックアウト細胞」の取得を行い、感染実験を行った。

### (2) 炎症細胞の組織浸潤・上皮細胞を裏打ちする基底膜分解に対する炎症細胞ヘパラーゼの関与

感染に伴って生じる炎症を模倣する系として、背部空気嚢内に微生物由来成分(ホルミル化ペプチド fMLP) もしくはカラギーナン投与による局所炎症モデルを用いた。ヘパラーゼ阻害物質投与と群と対照

群において、炎症局所や各臓器における単球・顆粒球の浸潤と炎症性サイトカイン・ケモカインの産生を定量するとともに、基底膜分解に関与するヘパラーゼの産生とその活性を検討した。ヘパラーゼ阻害物質として、本研究課題の研究支援により heparastatin(SF4)を新たに調製することが可能となった。これを用いるとともに、ヘパラン硫酸分解活性を阻害する新規物質の探索を行った。

### (3) 炎症細胞が蓄積・放出するヘパラーゼの上皮細胞に対する効果

メディアータの取り込み現象をマスト細胞の炎症増強能を調節する新たな調節機構と考え、この機構を *in vitro* で検証した。培養マスト細胞 MST とマウス個体から調製したマスト細胞を用い、細胞表面のヘパラン硫酸を介してヘパラーゼが分泌顆粒内に蓄積される系を構築した。マスト細胞内のヘパラーゼ分子の輸送に関わるヘパラン硫酸コア蛋白質の候補を、候補分子の遺伝子を shRNA でノックダウンすることにより推定した。ヘパラーゼ自身が上皮細胞に与える機能を解析するため、本研究課題の研究支援により調製された heparastatin(SF4)を用いて上皮細胞に対する影響を検討した。また、ヘパラーゼによるケモカイン、マトリックス分解酵素の産生増強を検討するとともに、それらの上流に位置する NF-kappaB 活性化の有無を検討した。

## 4. 研究成果

### (1) ウイルス感染時における上皮細胞のヘパラン硫酸とヘパラーゼの関与

肺上皮細胞におけるヘパラン硫酸とそのコアタンパク質の発現を検討し、シンデカン-1、-2、-4 の発現を認めた。

このうち、シンデカン-1、-2 分子を欠損する細胞の構築を試みた。研究分担者・山本博士と共同して、crispr-Cas9 の系を利用した遺伝子ノックアウト細胞の取得を試みた。px458 ベクターを導入した細胞集団から GFP 発現を指標にクローンを複数確立し、ここから両アレルに変異をもちシンデカン-1 遺伝子の発現を欠くノックアウト細胞 1 クローンを樹立した。この細胞は細胞表面におけるシンデカン-1 タンパク質の発現を消失していた。PR8 株を用いてインフルエンザウイルスの感染効率を検討したところ、ノックアウト細胞では感染効率が增大するという結果を得た。

siRNA による実験では、ヘパラン硫酸の細胞表面における発現が減少する(ヘパラン硫酸合成酵素 EXT1 の発現抑制による)と感染効率が減少するというデータを得ていたため、シンデカン-1 の欠損による感染効率の増大は予想に反していた。シンデカン-1 以外の分子の発現変化によってヘパラン硫酸の発現が代償的に上昇した可能性、シンデカン-1 分子の膜表面からのシェディングが感染効率を下げる可能性などが考えられた。

シンデカン-1 以外の分子としてグリコサミノグリカンを示す testican-2/SPOCK2 の発現が感染時に増強され、感染に対して保護的に作用することが近年報告された(*J. Virol.* 93:e00662-19, 2019)。シンデカン-1 にも同様の保護作用があると仮定すると、シンデカン-1 分子の発現をレスキューする実験、シェディングを起こさないシンデカン-1 を遺伝子導入するなどが必要と考えられ、実験材料を揃えていた。また個体レベルの感染実験についても準備していたが、期間内に成果を上げるには至らなかった。

本途中経過については学会発表(御子神他「インフルエンザウイルス感染における細胞表層ヘパラン硫酸の関与」第 20 回 Pharmaco-Hematology シンポジウム)などで報告を行った。

### (2) 炎症細胞の組織浸潤・上皮細胞を裏打ちする基底膜分解に対する炎症細胞ヘパラーゼの関与

ヘパラーゼは基底膜ヘパラン硫酸プロテオグリカンの糖鎖部分を基質としてこれを切断することから、炎症細胞が基底膜を越えて炎症部位に浸潤する際の鍵酵素と予想された。マウス背部炎症モデルの炎症局所に直接ヘパラーゼ阻害物質を投与する薬理学アプローチによって、炎症細胞の浸潤におけるヘパラーゼの関与を検討した。

研究分担者・安達博士によって調製されたヘパラーゼ阻害物質 heparastatin(SF4)を投与した群では、炎症部位に浸潤した単球・顆粒球の細胞数がともに有意に低下した。空気嚢炎症モデルにおいて嚢内局所に産生されたケモカイン量を検討したところ、好中球を標的とするケモカイン KC、MIP-2 については阻害剤投与による抑制は観察されなかった。一方、炎症性サイトカイン TNF $\alpha$ 、単球を標的とするケモカイ

ン MCP-1 の産生量は有意に低かった。少なくとも好中球については、heparastatin(SF4)がケモカイン産生の抑制ではなく、浸潤過程を直接抑制している可能性が高いと考えた。さらに好中球の基底膜を通り抜ける浸潤が heparastatin(SF4)処理で抑制されることを確認した(*Int Immunopharmacol*, 35: 15-21, 2016)。

ヘパラーゼ阻害物質の生体内での効果をより持続させるため、新しいヘパラーゼ阻害物質の探索を同時に進めた。内在性糖鎖の一つであるコンドロイチン硫酸のうち、高硫酸型である E-ユニットを含む糖鎖がヘパラーゼのヘパラン硫酸切断活性を始め、生物作用を広く阻害することを見出した。ヘパラーゼ阻害物質についての検討例は多いが、内在性物質による生理的な活性制御の検討はほとんどなされていない。この視点から新しい研究展開が可能になるものと考えている。本成果は論文(*Biochem Biophys Res Commun*, 520(1):152-158, 2019)で報告するとともに、多数の学会発表を行った。

### (3) 炎症細胞が蓄積・放出するヘパラーゼの上皮細胞に対する効果

マスト由来の顆粒が、感染を受けた上皮細胞に向けて送り込まれ、細胞死を誘導するケースが報告された(*Immunity* 5:1258-1269, 2016)。感染が成立した上皮細胞に対するマスト細胞の作用に、またこのマスト細胞の顆粒内に含まれるヘパラーゼの機能に興味を持たれた。

マスト細胞は、外因性のヘパラーゼを取り込んでこれを分泌顆粒内にソートするが、この輸送機構を解析した。取り込み過程は細胞側の硫酸化糖鎖に依存することが示唆された。取り込みに関わる候補分子としてシンデカンに着目した。MST と骨髄由来マスト細胞、腹腔由来マスト細胞にはシンデカン-1、-3、-4 遺伝子を発現していたが、このうちタンパク質の発現はシンデカン-3 と-4 で認められ、さらに細胞表面における発現はシンデカン-4 のみで確認された。pcPURU6 による shRNA 発現系 (産業技術総合研究所宮岸博士より恵与) を用い、シンデカン-4 遺伝子のノックダウンを行った。この結果、細胞表面におけるヘパラン硫酸の発現が減弱すること、ヘパラーゼの取り込みが減弱することが示され、シンデカン-4 などの提示するヘパラン硫酸鎖がマスト細胞のヘパラーゼの取り込みに関与することが示された。シンデカン-3 については、細胞内に特徴的な斑点状の染色像を認めるが、この分子をノックダウンした shRNA 発現クローンを得ることができなかった。本成果は論文(*Biochem Biophys Res Commun*, 503(4):3235-3241, 2018)で報告するとともに、多数の学会発表を行った。

ヘパラーゼの上皮細胞に対する効果を推定するため、研究分担者・安達博士によって調製されたヘパラーゼ阻害物質 heparastatin(SF4)を大腸上皮に由来する細胞 colon 26 に与え、in vitro の細胞増殖に対する効果を検討した。その結果、特に低血清濃度において細胞増殖の顕著な抑制を見出した。すなわち、内在性のヘパラーゼは上皮細胞の生存を維持する向きに作用するものと考えられた。一方、組換え体ヘパラーゼタンパク質を細胞に直接加えることで、ケモカインやマトリックスメタロプロテアーゼの産生が促進されることを見出した(*Biochem Biophys Res Commun*, 469(4):878- 883, 2016)ので、この場面で炎症性シグナルである NF- $\kappa$ B の発現変化を生じるか検討した。NF- $\kappa$ B 応答エレメントの下流にルシフェラーゼ遺伝子を発現するベクター (星薬科大学 奥博士より恵与) を colon 26 細胞に導入し、リポ多糖による刺激に反応して強い発光を示す細胞を樹立した。この細胞にヘパラーゼを作用させたところ、6-24 時間にかけて有意な発光の増大を認めた。期間内に成果をまとめ上げるには至らなかったが、ヘパラーゼが介在する上皮細胞のシグナル伝達機構の一端を検出するに至った。

本研究を通じ、ヘパラン硫酸とヘパラーゼがインフルエンザウイルスの感染過程を様々な形で制御していることを、主に in vitro の解析結果より示した。ヘパラーゼは、感染その他のモデル炎症において増悪因子であるが、これを抑制するための阻害物質として heparastatin(SF4)を初め、いくつかの物質を見出した。ヘパラーゼを細胞内に蓄えるマスト細胞において、ヘパラーゼを細胞内に取り込む経路にシンデカン-4 が関与することを示した。ヘパラーゼに反応する上皮細胞の細胞内変化を見出した。

本課題のインフルエンザウイルス感染に留まらず、感染症とこれに伴って生じる局所性、全身性の炎症において、ヘパラン硫酸・ヘパリンの調節機構に着目するとともに、薬学的アプローチとしてその制御法について今後も注視したい。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Higashi N, Maeda R, Sesoko N, Isono M, Ishikawa S, Tani Y, Takahashi K, Oku T, Higashi K, Onishi S, Nakajima M, Irimura T.	4. 巻 520
2. 論文標題 Chondroitin sulfate E blocks enzymatic action of heparanase and heparanase-induced cellular responses.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochem. Biophys. Res. Commun.	6. 最初と最後の頁 152- 158
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1016/j.bbrc.2019.09.126.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Higashi N, Waki M, Sudo Y, Suzuki S, Oku T, Tsuiji M, Tsuji T, Miyagishi M, Takahashi K, Nakajima M and Irimura T.	4. 巻 503
2. 論文標題 Incorporation, intracellular trafficking and processing of extracellular heparanase by mast cells: involvement of syndecan 4-dependent pathway.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochem. Biophys. Res. Commun.	6. 最初と最後の頁 3235-3241
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1016/j.bbrc.2018.08.132.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tateishi K, Fujihashi K, Yamamoto N, Hasegawa H, Ainai A, Sato K, Iho S, Yamamoto S, Maeyama JI, Odagiri T, Asanuma H.	4. 巻 37
2. 論文標題 CpG ODN G9.1 as a novel nasal ODN adjuvant elicits complete protection from influenza virus infection without causing inflammatory immune responses.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Vaccine	6. 最初と最後の頁 5382-5389
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1016/j.vaccine.2019.07.032.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nakamura K, Harada Y, Takahashi H, Trusheim H, Bernhard R, Hamamoto I, Hirata-Saito A, Ogane T, Mizuta K, Konomi N, Konomi Y, Asanuma H, Odagiri T, Tashiro M, Yamamoto N.	4. 巻 37
2. 論文標題 Systematic evaluation of suspension MDCK cells, adherent MDCK cells, and LLC-MK2 cells for preparing influenza vaccine seed virus.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Vaccine	6. 最初と最後の頁 6526-6534
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1016/j.vaccine.2019.08.064.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Harada Y, Takahashi H, Trusheim H, Bernhard R, Hirata-Saito A, Ogane T, Mizuta K, Odagiri T, Tashiro M, Yamamoto N.	4. 巻 14
2. 論文標題 Comparison of suspension MDCK cells, adherent MDCK cells, and LLC-MK2 cells for selective isolation of influenza viruses to be used as vaccine seeds.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Influenza and other respiratory viruses	6. 最初と最後の頁 irv.12694
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1111/irv.12694	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Tsuji R, Yamamoto N, Yamada S, Fujii T, Yamamoto N, Kanauchi O.	4. 巻 160
2. 論文標題 Induction of anti-viral genes mediated by humoral factors upon stimulation with Lactococcus lactis strain plasma results in repression of dengue virus replication in vitro.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Antiviral Res.	6. 最初と最後の頁 101-108
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1016/j.antiviral.2018.10.020.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki H, Tsuji R, Sugamata M, Yamamoto N, Yamamoto N, Kanauchi O.	4. 巻 43
2. 論文標題 Administration of plasmacytoid dendritic cell-stimulative lactic acid bacteria is effective against dengue virus infection in mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Mol Med.	6. 最初と最後の頁 426-434
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.3892/ijmm.2018.3955.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Adachi H, Nakae K, Sakamoto S, Nosaka C, Atsumi S, Shibuya M, Higashi N, Nakajima M, Irimura T, Nishimura Y.	4. 巻 71
2. 論文標題 Microbial metabolites and derivatives targeted at inflammation and bone diseases therapy: chemistry, biological activity and pharmacology.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Antibiot (Tokyo).	6. 最初と最後の頁 60-71
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1038/ja.2017.138.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Wada Y, Nithichanon A, Nobusawa E, Moise L, Martin WD, Yamamoto N, Terahara K, Hagiwara H, Odagiri T, Tashiro M, Lertmemongkolchai G, Takeyama H, Groot AS, Ato M, Takahashi Y.	4. 巻 7
2. 論文標題 A humanized mouse model identifies key amino acids for low immunogenicity of H7N9 vaccines.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports.	6. 最初と最後の頁 1283
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1038/s41598-017-01372-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Fujii T, Jounai K, Horie A, Takahashi H, Suzuki H, Ohshio K, Fujiwara D, Yamamoto N	4. 巻 35
2. 論文標題 Effects of heat-killed <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> JCM 5805 on mucosal and systemic immune parameters, and antiviral reactions to influenza virus in healthy adults; a randomized controlled double-blind study.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Functional Foods	6. 最初と最後の頁 513-521
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 東 伸昭	4. 巻 37
2. 論文標題 上皮細胞の恒常性維持におけるヘパラン硫酸とヘパラナーゼの役割	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 アレルギーの臨床	6. 最初と最後の頁 300-302
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 東 伸昭	4. 巻 39
2. 論文標題 生体内の糖鎖断片による炎症調節作用の二面性	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 アレルギーの臨床	6. 最初と最後の頁 1084-1086
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計40件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 東 伸昭、谷 祐里菜、石川壮大、前田理乃、高橋勝彦、東 恭平、戸井田敏彦、中島元夫、入村達郎
2. 発表標題 ヘパラーゼと過硫酸化コンドロイチン硫酸との相互作用
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 生田駿乃介、大熊晴香、鈴木聖也、金田 碧、福田明々人、福村修示、史 佳、高橋勝彦、安達勇光、西村吉雄、中島元夫、入村達郎、東伸昭
2. 発表標題 ヘパラーゼ阻害物質heparastatin(SF4)の結腸癌細胞増殖抑制機構
3. 学会等名 第20回Pharmaco-Hematologyシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小原凜弥、金田 碧、福田明々人、彼ノ矢陸、梅田尊弘、高橋勝彦、安達勇光、西村吉雄、中島元夫、入村達郎、東 伸昭
2. 発表標題 腫瘍塊からの突起伸長とヘパラーゼ
3. 学会等名 第20回Pharmaco-Hematologyシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 原口美千歌、築地 信、近藤大輝、高橋勝彦、中島元夫、入村達郎、東 伸昭
2. 発表標題 結腸がん細胞表面のヘパラーゼ結合タンパク質探索を目的とするヘパラーゼ融合タンパク質の作製
3. 学会等名 第20回Pharmaco-Hematologyシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木明日美、玉田 裕、山下諒子、古市紗都、高橋勝彦、中島元夫、入村達郎、東 伸昭
2. 発表標題 リンパ節高転移性を示す卵巣癌細胞におけるヘパラーゼとリンパ節転移関連分子の発現解析
3. 学会等名 第20回Pharmaco-Hematologyシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川並史也、宮川尚子、須藤勲輝、鈴木沙奈、岩崎文香、津田晴菜、高橋勝彦、築地 信、奥 輝明、安達勇光、西村吉雄、中島元夫、入村達郎、東 伸昭
2. 発表標題 マスト細胞が前駆体ヘパラーゼを優先して取り込む機構の解析
3. 学会等名 第20回Pharmaco-Hematologyシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 前田理乃、瀬底 央、磯野桃子、石川壮大、谷祐里菜、高橋勝彦、奥 輝明、中島元夫、入村達郎、東 伸昭
2. 発表標題 マウス骨髄細胞由来マスト細胞グリコサミノグリカンのヘパラーゼに対する阻害作用
3. 学会等名 第20回Pharmaco-Hematologyシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 御子神拓樹、臼井麻琴、阿部史弥、渡辺マコ、築地 信、山本典生、東 伸昭
2. 発表標題 インフルエンザウイルス感染における細胞表層ヘパラン硫酸の関与
3. 学会等名 第20回Pharmaco-Hematologyシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 龍腰ほのか、高橋勝彦、山本みな美、石井健太郎、米山ゆい、東 伸昭
2. 発表標題 ヒト絨毛がん細胞株BeWoのシンデカン発現の検討
3. 学会等名 第20回Pharmaco-Hematologyシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小高聡美、高橋勝彦、石井健太郎、藤田絢哉、山本みな美、津吹政可、東 伸昭
2. 発表標題 カフェ酸誘導体によるアポトーシス細胞死の機序の解析
3. 学会等名 第20回Pharmaco-Hematologyシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 石井健太郎、高橋勝彦、紺澤咲乃、細屋 泉、高橋典子、東 伸昭
2. 発表標題 メチオニンコリン欠乏食誘発NASHモデルマウスに対するレチノイン酸の効果
3. 学会等名 第20回Pharmaco-Hematologyシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤田絢哉、高橋勝彦、小高聡美、石井健太郎、植松優希、紺澤咲乃、東 伸昭
2. 発表標題 肝臓の脂質ラフトにおけるリン酸化タンパク質異性化酵素・Pin1
3. 学会等名 第20回Pharmaco-Hematologyシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 東 伸昭、前田理乃、瀬底 央、磯野桃子、石川壮大、谷祐里菜、高橋勝彦、奥 輝明、中島元夫、入村達郎
2. 発表標題 グリコサミノグリカンによるヘパラーゼの生物作用の抑制
3. 学会等名 第38回日本糖質学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮川尚子、川並史也、須藤勲輝、鈴木沙奈、岩崎文香、津田晴菜、高橋勝彦、築地 信、奥 輝明、安達勇光、西村吉雄、中島元夫、入村達郎、東 伸昭
2. 発表標題 マスト細胞によるヘパラーゼの取り込み選別機構の解析
3. 学会等名 第63回日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 東 伸昭、前田理乃、瀬底 央、磯野桃子、石川壮大、谷祐里菜、高橋勝彦、奥 輝明、中島元夫、入村達郎
2. 発表標題 コンドロイチン硫酸によるヘパラーゼの生物作用の抑制
3. 学会等名 第63回日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 彼ノ矢陸、小原凜弥、金田 碧、福田明々人、梅田尊弘、高橋勝彦、安達勇光、西村吉雄、中島元夫、入村達郎、東 伸昭
2. 発表標題 結腸癌細胞株が形成するスフェロイドからの突起伸長とヘパラーゼ
3. 学会等名 第63回日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nobuaki Higashi, Rino Maeda, Nakaba Sesoko, Momoko Isono, Katsuhiko Takahashi, Teruaki Oku, Motowo Nakajima, Tatsuro Irimura.
2. 発表標題 Chondroitin sulfate E blocks enzymatic action of heparanase and heparanase-induced cellular responses.
3. 学会等名 Proteoglycans 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋勝彦、山本みな美、前田理乃、石井健太郎、龍腰ほのか、米山ゆい、中島元夫、入村達郎、東 伸昭
2. 発表標題 絨毛膜細胞の合胞化誘導に伴うヘパラーゼ発現亢進
3. 学会等名 第37回日本絨毛性疾患研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 東 伸昭、玉田 裕、山下諒子、高橋勝彦、中島元夫、入村達郎
2. 発表標題 リンパ節高転移性を示す卵巣癌細胞はヘパラーゼを発現する
3. 学会等名 第27回日本がん転移学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 東 伸昭
2. 発表標題 マスト細胞の機能を調節する新たな着眼点としてのヘパラーゼとプロテオグリカン
3. 学会等名 第19回Pharmaco-Hematologyシンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 東 伸昭、脇 紀彦、須藤勸耀、鈴木沙奈、奥 輝明、辻 勉、高橋勝彦、中島元夫、入村達郎
2. 発表標題 顆粒内糖鎖切断酵素ヘパラーゼのmast細胞への取り込みにおけるシンデカン-4の関与
3. 学会等名 第37回日本糖質学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 米山ゆい、龍腰ほのか、高橋勝彦、東 伸昭
2. 発表標題 p57Kip2発現がヒト絨毛がん細胞株BeWoのSyncytinに及ぼす影響
3. 学会等名 第62回日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大熊晴香、金田 碧、鈴木聖也、福田明々人、安達勇光、西村吉雄、中島元夫、入村達郎、高橋勝彦、東 伸昭
2. 発表標題 ヘパラーゼ阻害物質heparastatin(SF4)は結腸癌細胞の増殖を抑制する
3. 学会等名 第62回日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 東 伸昭
2. 発表標題 ヘパラーゼの局在と機能を調節するmast細胞の糖鎖
3. 学会等名 第5回糖鎖免疫研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 須藤勸耀、鈴木沙奈、川並史也、宮川尚子、宮岸 真、中島元夫、入村達郎、高橋勝彦、東 伸昭
2. 発表標題 細胞外へバラナーゼはシンデカンを介してマスト細胞分泌顆粒内に蓄積する
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Koichiro Tateishi, Kayoko Sato, Eita Sasaki, Takuo Mizukami, Junichi Maeyama, Sumiko Iho, Saburo Yamamoto, Norio Yamamoto, Kohtaro Fujihashi, Hideki Asanuma
2. 発表標題 Assessment of G9.1-induced innate immune responses for the development of safe nasal influenza vaccines
3. 学会等名 第47回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 前田謹友、平松啓一、切替照雄、山本典生
2. 発表標題 Cyclosporin A誘導体によるインフルエンザウイルス増殖抑制効果の解析
3. 学会等名 第92回日本感染症学会学術講演会・第66回日本化学療法学会総会 合同学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤井敏雄、山本典生
2. 発表標題 Lactococcus lactis JCM 5805含有食品摂取が免疫因子およびウイルス反応性に与える影響
3. 学会等名 第92回日本感染症学会学術講演会・第66回日本化学療法学会総会 合同学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Koichiro Tateishi, Kayoko Sato, Eita Sasaki, Takuo Mizukami, Junichi Maeyama, Sumiko Iho, Saburo Yamamoto, Norio Yamamoto, Kohtaro Fujihashi, Hideki Asanuma
2. 発表標題 Evaluation of effectiveness and safety of CpG-ODN G9.1 as mucosal adjuvant for nasal influenza vaccines
3. 学会等名 第12回次世代アジュバント研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 東 伸昭、西村吉雄、安達勇光、川田学、中島元夫、入村達郎
2. 発表標題 顆粒内糖鎖切断酵素ヘパラーゼのmast細胞への取り込み機構
3. 学会等名 第36回日本糖質学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 鈴木沙奈、須藤勸耀、西村吉雄、安達勇光、川田学、奥輝明、築地信、辻勉、中島元夫、入村達郎、高橋勝彦、東伸昭
2. 発表標題 mast細胞顆粒内ヘパリンの切断酵素ヘパラーゼの細胞内輸送
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hideki Asanuma, Koichiro Tateishi, Kayoko Sato, Hideki Hasegawa, Junichi Maeyama, Sumiko Iho, Saburo Yamamoto, Kohtaro Fujihashi, Norio Yamamoto
2. 発表標題 Essential roles for protective SIgA Abs induced by nasal G9.1 combined influenza VLP vaccine.
3. 学会等名 第46回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 立石恒一郎、山本典生、佐藤佳代子、長谷川秀樹、前山順一、伊保澄子、山本三郎、小田切孝人、藤橋浩太郎、浅沼秀樹
2. 発表標題 2つの感染モデルを用いたCpG-ODN G9.1添加経鼻インフルエンザワクチンの有効性
3. 学会等名 第21回日本ワクチン学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hideki Asanuma, Koichiro Tateishi, Hideki Hasegawa, Norio Yamamoto, Kayoko Sato, Junichi Maeyama, Sumiko Iho, Saburo Yamamoto, Takato Odagiri, Kohtarō Fujihashi
2. 発表標題 Enhancement of protective mucosal immunity against influenza virus infection by a combination of Influenza antigen plus G9.1 (CpG ODN) as nasal adjuvant
3. 学会等名 18th International congress of mucosal immunology (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Nobuaki Higashi, Mayumi Sue, Hiroaki Shida, Yusuke Kogane, Yoshio Nishimura, Hayamitsu Adachi, Elzbieta Kolaczowska, Magdalena Kepka, Motowo Nakajima, Tatsuro Irimura
2. 発表標題 An Iminosugar-based heparanase inhibitor heparastatin (SF4) suppresses infiltration of neutrophils and monocytes into inflamed dorsal air pouches.
3. 学会等名 The 24th International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 東 伸昭、中島元夫、入村達郎
2. 発表標題 ヘパラーゼは大腸癌細胞のケモカイン産生を増強する
3. 学会等名 第25回日本がん転移学会学術集会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 東 伸昭、須江真由美、志田拓顕、小金裕介、西村吉雄、安達勇光、Elzbieta Kolaczowska、Magdalena Kepka、中島元夫、入村達郎
2. 発表標題 ヘパラーゼ阻害物質heparastatin(SF4) は炎症細胞の浸潤と基底膜ヘパラン硫酸分解を抑制する
3. 学会等名 第35回日本糖質学会年会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 東 伸昭
2. 発表標題 ヘパラーゼによる硫酸化糖鎖の切断と免疫細胞の機能調節
3. 学会等名 GlycoTokyo2016 (招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 東 伸昭
2. 発表標題 マスト細胞が分泌顆粒内に保持する硫酸化糖鎖とヘパラーゼ
3. 学会等名 Glycoimmunology 2017 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 東 伸昭、中島元夫、入村達郎
2. 発表標題 顆粒内糖鎖ヘパリンの切断酵素ヘパラーゼはマスト細胞に取り込まれて機能する
3. 学会等名 日本薬学会第137年会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<http://polaris.hoshi.ac.jp/kyoshitsu/seika/aboutus.html>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	安達 勇光  (Adachi Hayamitsu)  (00250051)	公益財団法人微生物化学研究会・微生物化学研究所 沼津支所・主席研究員   (72801)	
研究分担者	山本 典生  (Yamamoto Norio)  (40323703)	順天堂大学・医学部・准教授   (32620)	