

令和 5 年 5 月 11 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03379

研究課題名(和文)糖鎖を標的とする新規多発性硬化症治療抗体の開発に向けた基盤研究

研究課題名(英文)Fundamental research for the development of a novel anti-glycan antibody drug against multiple sclerosis

研究代表者

川島 博人(KAWASHIMA, Hiroto)

千葉大学・大学院薬学研究院・教授

研究者番号：50260336

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：糖鎖は、発生、免疫、癌化、タンパク質品質管理などにおいて様々な役割を果たし、近年、第三の生命鎖としてその機能と創薬標的としての可能性が注目されている。本研究では、独自の方法論に基づいて新たに開発した抗糖鎖抗体を用いて、多発性硬化症の動物モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎の疾患抑制効果の検討を行い、糖鎖を標的とする新規免疫疾患治療薬の開発に向けた基盤データを取得した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

免疫関連疾患の一種である多発性硬化症に関しては、治療薬が開発されているものの、それらには感染症や徐脈性不整脈等の副作用も知られており、作用機序の異なる新規治療薬の開発が望まれる。本研究では、独自に開発した糖鎖に結合する抗体が、多発性硬化症の新しい治療薬の候補となる可能性を検討し、有望な結果を得た。

研究成果の概要(英文)：Glycans play various physiological roles in development, immunity, canceration, protein quality control, etc. Their functions as the third life chain and their potential as drug discovery targets have recently attracted attention. In this study, we used a newly developed anti-glycan antibody generated by our own methodology to examine its suppressing effects on experimental autoimmune encephalomyelitis, an animal model of multiple sclerosis. We obtained basic data for the development of novel antibody drugs against immune-related diseases.

研究分野：免疫学、生化学

キーワード：リンパ球ホーミング 高内皮細静脈 抗糖鎖抗体 多発性硬化症 免疫疾患



に成功し、もとの SF1 抗体と同様の糖結合特異性を持つことを確認している。そこで本研究では、遺伝子工学的手法により、このヒト化一本鎖抗体の重鎖・軽鎖 V 領域をヒト IgG1 抗体の定常領域と繋いだヒト化 SF1 抗体を作製する。

#### ④ ヒト正常組織および病理組織の免疫組織染色

これまでに我々は、マウス由来の各種正常組織を用いた免疫染色を行い、SF1 抗体はリンパ節 HEV 特異的に染色性を示すという結果を得ているが、本抗体の臨床応用のためにはヒト組織での検討が必要である。そこで、リンパ節を含む各種ヒト正常組織の免疫染色を行い、将来の臨床応用に向けた基盤データを取得する。

### 4. 研究成果

#### ⑤ 硫酸化糖鎖の機能阻害による EAE 発症抑制効果の解析

##### i) 硫酸基転移酵素 DKO マウスにおける EAE 病態進展の解析

野生型 C57BL/6 マウス(WT マウス)および HEV 上の硫酸化糖鎖を欠損する硫酸基転移酵素二重欠損マウス(DKO マウス)の比較の結果、DKO マウスにおいては、発症開始の遅延および抗原感作後 12 日目における発症ピークの病態緩和が認められた。このことから、硫酸基転移酵素によって合成される硫酸化糖鎖である 6-スルホシアリルルイス X が、EAE において治療標的となることが示された。

##### ii) 抗硫酸化糖鎖抗体 SF1 の EAE 発症抑制効果の解析

次に、6-スルホシアリルルイス X 糖鎖特異的な抗糖鎖抗体 SF1 抗体の EAE の病態に及ぼす効果の検討を行った。その結果、SF1 抗体を感作時に投与すると、上記の DKO マウスの結果と同様に EAE の発症と病態進展の両者が顕著に抑制され、疾患抑制作用が確認された。

#### ⑥ 硫酸化糖鎖の機能阻害による EAE 発症抑制メカニズムの解析

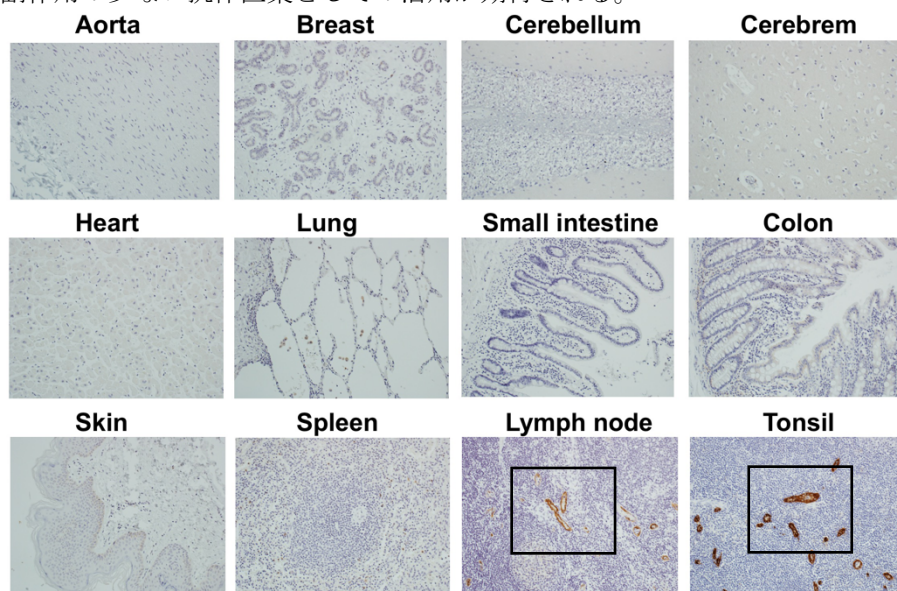
PBS 投与マウス群および SF1 抗体投与マウス群のフローサイトメトリーによる比較解析の結果、抗原感作 5 日目の時点において、SF1 抗体投与群において、所属リンパ節における Th17 細胞の有意な減少が認められた。同様に抗原感作 5 日目の時点の所属リンパ節の RNA-seq 解析においても、SF1 抗体投与群において IL-17 の有意な発現減少が認められた。また、病態がピークに達する抗原感作 12 日目の時点における Th17 細胞の脊髄への浸潤が、SF1 抗体によって有意に抑制された。以上より、SF1 抗体によって、所属リンパ節における Th17 免疫応答が抑制され、EAE の発症抑制に繋がった可能性が示唆された。

#### ⑦ ヒト化抗硫酸化糖鎖抗体の作製とその活性評価

ヒト化 SF1 重鎖可変部配列をヒト抗体重鎖 IgG1 定常部と連結し、ヒト化 SF1 重鎖全長アミノ酸配列を設計した。同様に、ヒト化 SF1 軽鎖可変部配列に関してもヒト抗体軽鎖である  $\kappa$  鎖定常部と連結し、ヒト化 SF1 軽鎖全長アミノ酸配列を設計した。これらのヒト化 SF1 重鎖全長アミノ酸配列およびヒト化 SF1 軽鎖全長アミノ酸配列をコードする遺伝子を、HEK293T 細胞に導入し、ヒト化 SF1 抗体を作製した。次に、ヒト化 SF1 抗体を用いてマウスリンパ節の蛍光免疫染色を行ったところ、ヒト化 SF1 抗体は、WT マウスの高内皮細静脈に特異的に結合し、6-スルホシアリルルイス X の硫酸基を欠損する GlcNAc6ST-1/2 DKO マウス及びフコースを欠損する Fut4/Fut7 DKO マウスとは全く反応しなかった。以上より、SF1 抗体の重鎖および軽鎖可変部の超可変部アミノ酸配列を持つヒト化抗体は、マウス SF1 抗体と同様に 6-スルホシアリルルイス X に対する特異的な糖結合特異性を保持していることが確認された。

#### ⑧ ヒト正常組織および病理組織の免疫組織染色

SF1 抗体による正常ヒト組織の免疫組織染色を行ったところ、大動脈、乳腺、小脳、大脳、心臓、肺、小腸、大腸、皮膚、脾臓には染色が見られなかったが、リンパ節および扁桃の高内皮細静脈 HEV に特異的に結合することが分かった(下図)。SF1 抗体は非常に組織特異性が高いことから、副作用の少ない抗体医薬としての活用が期待される。



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 7件 / うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Sultana MF, Abo H and Kawashima H.	4. 巻 13
2. 論文標題 Human and mouse angiogenins: Emerging insights and potential opportunities.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Front. Microbiol.,	6. 最初と最後の頁 1022945
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmicb.2022.1022945.	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 Arai T, Kokubo T, Tang R, Abo H, Terui A, Hirakawa J, Akita H, Kawashima H, Hisaka A, Hatakeyama H.	4. 巻 10
2. 論文標題 Tumor-associated neutrophils and macrophages exacerbate antidrug IgG-mediated anaphylactic reaction against an immune checkpoint inhibitor.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J. Immunother. Cancer	6. 最初と最後の頁 e005657
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/jitc-2022-005657.	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 Umezawa F, Natsume M, Fukusada S, Nakajima K, Yamasaki F, Kawashima H, Kuo CW, Khoo KH, Shimura T, Yagi H, Kato K.	4. 巻 23
2. 論文標題 Cancer Malignancy Is Correlated with Upregulation of PCYT2-Mediated Glycerol Phosphate Modification of -Dystroglycan.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Int. J. Mol. Sci	6. 最初と最後の頁 6662
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23126662.	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 Nakashima K, Sakai Y, Hoshino H, Umeda Y, Kawashima H, Sekido Y, Ishizuka T, Kobayashi M.	4. 巻 200
2. 論文標題 Sulfated Glycans Recognized by S1 Monoclonal Antibody can Serve as a Diagnostic Marker for Malignant Pleural Mesothelioma.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Lung	6. 最初と最後の頁 339-346
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00408-022-00531-4.	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 Sultana MF, Suzuki M, Yamasaki F, Kubota W, Takahashi K, Abo H and Kawashima H.	4. 巻 13
2. 論文標題 Identification of crucial amino acid residues for antimicrobial activity of angiogenin 4 and its modulation of gut microbiota in mice.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Front. Microbiol.	6. 最初と最後の頁 900948
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmicb.2022.900948.	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 Kobayashi D, Hiono T, Ichii O, Nishihara S, Takase-Yoden S, Yamamoto K, Kawashima H, Isoda N, and Sakoda Y.	4. 巻 315
2. 論文標題 Turkeys possess diverse Sia 2-3Gal glycans that facilitate their dual susceptibility to avian influenza viruses isolated from ducks and chickens.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Virus Res.	6. 最初と最後の頁 198771
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.virusres.2022.198771	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 Sawada J, Hiraoka N, Qi R, Jiang L, Fournier-Goss AE, Yoshida M, Kawashima H, and Komatsu M.	4. 巻 10
2. 論文標題 Transcriptome Analysis of Tumor Vasculature Identifies Molecular Signature of Tumor-Associated High Endothelial Venules that Predicts Breast Cancer Survival.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Immunol Res.,	6. 最初と最後の頁 468-481,
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/2326-6066.CIR-21-0369.	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 該当する

1. 著者名 Ichimiya T, Okamatsu M, Kinoshita T, Kobayashi D, Ichii O, Yamamoto N, Sakoda Y, Kida H, Kawashima H, Yamamoto K, Takase-Yoden S, and Nishihara S	4. 巻 562
2. 論文標題 Sulfated glycans containing NeuAc 2-3Gal facilitate the propagation of human H1N1 influenza A viruses in eggs.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Virology	6. 最初と最後の頁 29-39
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.virol.2021.06.008	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 Xiong W, Liu W, Nishida S, Komiyama D, Liu W, Hirakawa J and Kawashima H	4. 巻 22
2. 論文標題 Therapeutic effects of an anti-sialyl Lewis X antibody in a murine model of allergic asthma.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int. J. Mol. Sci.	6. 最初と最後の頁 9961
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22189961	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 Yamasaki F, Umezawa F, Sensui T, Anzo M, Abo H, Kuo C-W, Khoo K-H, Kato K, Yagi H and Kawashima H	4. 巻 579
2. 論文標題 Establishment of a novel monoclonal antibody against truncated glycoforms of $\alpha$ -dystroglycan lacking matriglycans.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochem. Biophys. Res. Commun.	6. 最初と最後の頁 8-14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.09.043	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 該当する

1. 著者名 Brulois Kevin, Rajaraman Anusha, Szade Agata, Nordling Sofia, Bogoslawski Ania, Dermadi Denis, Rahman Milladur, Kiefel Helena, O'Hara Edward, Koning Jasper J., Kawashima Hiroto, Zhou Bin, Vestweber Dietmar, Red-Horse Kristy, Mebius Reina E., Adams Ralf H., Kubes Paul, Pan Junliang, Butcher Eugene C.	4. 巻 11
2. 論文標題 A molecular map of murine lymph node blood vascular endothelium at single cell resolution	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-17291-5	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 Tatsuma Shoji, Akiko Takaya, Yoko Kusuya, Hiroki Takahashi, Hiroto Kawashima	4. 巻 6
2. 論文標題 Ribosome Profiling in Streptococcus pneumoniae Reveals the Role of Methylation of 23S rRNA Nucleotide G748 on Ribosome Stalling	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Genetics & Genomic Sciences	6. 最初と最後の頁 1~16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.24966/GGS-2485/100024	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 -

〔学会発表〕 計23件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Hiroto Kawashima
2. 発表標題 Development of a novel anti-glycan monoclonal antibody applicable for the treatment of immune-related diseases.
3. 学会等名 SLDDDRS Webinar Series 2021-2023 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kanae Ohishi, Shogo Nshida, Asaki Ishikura, Hirohito Abo, Hiroko Nakatsukasa, Hiroto Kawashima.
2. 発表標題 Expression and function of sialyl Lewis X glycans on mouse regulatoly T cells
3. 学会等名 第51回日本免疫学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kanae Ohishi, Shogo Nshida, Asaki Ishikura, Hirohito Abo, Hiroto Kawashima.
2. 発表標題 Expression and function of sialyl Lewis X glycans on mouse regulatoly T cells.
3. 学会等名 Sialoglyco 2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大石かなえ、西田匠吾、石倉晨規、安保博仁、中司寛子、川島博人
2. 発表標題 制御性T細胞表面シアリルLewis X糖鎖抗原の炎症における役割の解明
3. 学会等名 第21回ファーマ・バイオフィォーラム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鈴木太郎、込山大智、竹添智宏、松村龍志、関根成隆、西田匠吾、平川城太郎、川島博人
2. 発表標題 マウスB細胞における糖鎖抗原シアリルルイスXの発現機構の解明
3. 学会等名 第22回 Pharmaco-Hematology シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鈴木太郎、込山大智、竹添智宏、松村龍志、関根成隆、西田匠吾、平川城太郎、川島博人
2. 発表標題 マウスB細胞の組織環境依存的なシアリルルイスX発現機構の解明
3. 学会等名 2022年度日本生化学会関東支部例会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 川島博人
2. 発表標題 抗糖鎖抗体を用いた間質-細胞相互作用の解析
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 川島博人
2. 発表標題 リンパ球ホーミングと糖鎖
3. 学会等名 第1回Glycotext講演会（招待講演）
4. 発表年 2021年



1. 発表者名 安保博仁、川島博人
2. 発表標題 ムチン硫酸化による生体防御
3. 学会等名 日本薬学会関東支部会第14回若手シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Wei Xiong, Shogo Nishida, Jotaro Hirakawa, Hiroto Kawashima
2. 発表標題 Therapeutic effects of anti-sialyl Lewis X antibody in a murine model of allergic asthma.
3. 学会等名 第50回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山崎郁弥、梅澤英美子、安藏匡史、安保博仁、加藤晃一、矢木宏和、川島博人
2. 発表標題 マトリグリカン欠損ジストログリカンに対する新規モノクローナル抗体の樹立
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 梅澤英美子、矢木宏和、山崎郁弥、志村貴也、中嶋和紀、川島博人、加藤晃一
2. 発表標題 真核生物のグリセロールリン酸修飾に必要なCDP-グリセロールを合成する酵素の同定
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高瀬明、一宮智美、岡松正敏、木下貴明、小林大樹、市居修、山本直樹、迫田義博、喜田宏、川島博人、山本一夫、西原祥子
2. 発表標題 ヒトH1N1インフルエンザAウイルスは発育鶏卵の羊膜・尿膜に発現する 2,3結合シアル酸を含む硫酸化糖鎖分子をレセプターとして利用する
3. 学会等名 第68回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大石かなえ、西田匠吾、石倉晨規、安保博仁、川島博人
2. 発表標題 制御性T細胞表面シアリルルイスX糖鎖抗原の炎症における役割
3. 学会等名 第21回 Pharmaco-Hematology シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 込山大智、竹添智宏、関根成隆、西田匠吾、川島博人
2. 発表標題 マウスB細胞における糖鎖抗原シアリルルイスXの発現機構の解明
3. 学会等名 第21回 Pharmaco-Hematology シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大石かなえ、西田匠吾、石倉晨規、安保博仁、川島博人
2. 発表標題 シアリルルイスX糖鎖抗原を発現する制御性T細胞の体内動態と機能
3. 学会等名 GlycoTOKYO2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西田匠吾、竹添知宏、関根成隆、込山大智、安保博仁、川島博人
2. 発表標題 制御性T細胞表面シアリルルイスX糖鎖抗原の炎症に伴う発現変化
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 川島博人
2. 発表標題 オートファジーと硫酸化ムチンによる大腸炎防御
3. 学会等名 第64回日本薬学会関東支部大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 込山 大智、竹添 智宏、松村 龍志、関根 成隆、西田 匠吾、平川 城太郎、川島 博人
2. 発表標題 マウスB細胞におけるフコシル化糖鎖抗原シアリルルイスXの発現解析
3. 学会等名 第39回日本糖質学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西田匠吾、竹添知宏、関根成隆、込山大智、安保博仁、川島博人
2. 発表標題 制御性T細胞表面シアリルルイスX糖鎖抗原の炎症に伴う発現変化と機能の解析
3. 学会等名 第39回日本糖質学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 熊偉、Liu wenxin、劉偉、平川城太郎、川島博人
2. 発表標題 抗糖鎖抗体のマウス気管支喘息治療効果の検討
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Liu Wenxin、熊 偉、安保 博仁、川島 博人
2. 発表標題 LPS誘発性急性肺損傷における抗シアリルルイスX糖鎖抗体の治療効果の解析
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 込山 大智、竹添 智宏、松村 龍志、関根 成隆、西田 匠吾、平川 城太郎、川島 博人
2. 発表標題 マウスB細胞における糖鎖抗原シアリルルイスXの発現機構の解明
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 新規抗糖鎖抗体及びその用途	発明者 Hiroto KAWASHIMA	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2021/036893	出願年 2021年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔その他〕

千葉大学大学院薬学研究院・免疫微生物学研究室  
<https://www.p.chiba-u.jp/lab/bisei/index.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	小林 基弘  (KOBAYASHI Motohiro)  (00362137)	福井大学・学術研究院医学系部門・教授   (13401)	
研究分担者	安保 博仁  (ABO Hirohito)  (80868050)	千葉大学・大学院薬学研究院・助教   (12501)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
その他の国・地域(台湾)	Khoo K-H	台湾Academia Sinica	
その他の国・地域(台湾)	Kuo C-W	台湾Academia Sinica	