

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月27日現在

機関番号：13102

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22370048

研究課題名（和文）ガレクチン-3 の細胞表面への結合による正常細胞の増殖抑制の分子メカニズム

研究課題名（英文）Molecular mechanism of the growth inhibition of normal cells with galectin-3

研究代表者

古川 清（FURUKAWA KIYOSHI）

長岡技術科学大学・工学部・教授

研究者番号：10190133

研究成果の概要（和文）：傷が治るモデルとして、シャーレ中で増殖した繊維芽細胞が接触し増殖を停止する現象が挙げられる。本研究ではこの系を用い、細胞密度が高くなると細胞内からガレクチン-3 が細胞外へ分泌され、細胞表面の VCAM-1 という糖タンパク質の糖鎖に結合し、この結合が増殖を制御する細胞内情報伝達系の分子の活性化を阻害する一端を解明した。傷口に発癌物質を塗布すると傷口は盛り上がり、本研究は癌細胞の増殖異常の解明とも絡む。

研究成果の概要（英文）：To understand the mechanism of the wound healing, contact-dependent inhibition of growth has been studied using fibroblast cells. In the present study by employing the above system, we showed several steps are involved in this process; firstly calcium ion whose intracellular concentration increases upon increased cell density stimulates secretion of galectin-3 through exosomes, secondly galectin-3 secreted binds VCAM-1 through its N-glycans at the cell surface, thirdly the galectin-3/VCAM-1 complex inactivates the MAPK pathway, and finally the proliferation of the cells is ceased.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成22年度	7,700,000	2,310,000	10,010,000
平成23年度	3,100,000	930,000	4,030,000
平成24年度	3,100,000	930,000	4,030,000
年度			
年度			
総計	13,900,000	4,170,000	18,070,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・機能生物化学

キーワード：細胞増殖制御、細胞密度依存、ガレクチン-3、VCAM-1、細胞内カルシウム、エクソソーム、ERM タンパク質、細胞内情報

1. 研究開始当初の背景

タンパク質や脂質に結合した糖鎖を合成する酵素（糖転移酵素）をコードする遺伝子はヒトで 200 以上の存在が推定されており、これまでに 64 のノックアウトマウス（KO マウス）が作製されている。欠失する糖鎖により、マウスは胎児あるいは生後すぐに淘汰されたり、臓器形成や機能に異常を伴って生ま

れてきたり、さらに運動機能や学習・記憶といった脳の高次機能に影響を与え、糖鎖は個体として生命を維持する上で必須の分子であることが判明している。しかしながら、生体で作られるタンパク質の多くに糖鎖が結合していることから糖鎖の変異は多岐のタンパク質で起こり、なぜある糖が欠失すると異常が生じるのか、その直接的な原因の解明

は難しい。即ち KO マウスを用いた研究には限界があり、KO マウスで見られた現象を細胞レベルに移し替えた研究を行わないと生体における糖鎖の機能を永遠に解明できない。

我々は細胞間接着に関与する細胞表面糖鎖としてガラクトースに着目し、細胞の増殖分化制御機構の解明を試みている。この背景には、1953年に M. Abercrombie らが発見した正常細胞の接触依存性増殖阻害（増殖した細胞は互いに接触すると増殖を停止する機構）に、細胞表面のタンパク質に結合した N-型糖鎖のガラクトースが関与している報告がある。しかしながら、上記の“コンタクトインヒビション”の分子メカニズムは依然として謎である。「もし N-型糖鎖からガラクトースが欠失したら、細胞は異常に増殖するのだろうか？」我々は共同で β -1, 4-ガラクトース転移酵素 (β 4GalT) の KO マウスを作製・解析し、マウスは生まれてくるものの幾つかの臓器で細胞の増殖や分化に異常を示すことを報告した。また細胞が癌化すると β 4GalT 遺伝子の発現が変化し、変化した遺伝子発現を元に戻すと癌細胞の腫瘍形成が著しく抑制されることから、ガラクトースはまさに細胞の増殖制御の中心に位置すると考えられた。

糖鎖が直接生命現象に関与する場合、その受容体の存在が考えられる。そこで密度 100% の増殖を停止した Balb/3T3 細胞の細胞膜からガラクトース受容体を探索し、ガレクチン-3 を見出した。このガレクチン-3 を細胞へ添加するとその増殖が阻害され、MAPK 経路が不活化された。ガレクチン-3 は低密度の細胞では細胞質に存在するが、高密度になるとその一部が細胞外へ分泌され、細胞表面の細胞接着分子 Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1) と結合することを見いだした。即ち、細胞密度が高くなると細胞内からガレクチン-3 が細胞外へ分泌され、細胞表面の VCAM-1 と結合し、その結合が MAPK 経路を不活化して細胞の増殖を阻害するメカニズムが考えられた。本研究は各ステップでこの分子メカニズムを解明するのが目的である。

2. 研究の目的

ガラクトースを発現できないマウスは細胞の増殖や分化に異常を起こし、生存できない。この原因として、細胞表面のガラクトースが細胞の増殖や分化に直接関与していることが考えられた。Balb/3T3 マウス繊維芽細胞を用い、密度が高くなるとガレクチン-3 が細胞外へ分泌され、細胞表面の接着分子である VCAM-1 にその糖鎖を介して結合し、その結果 MAPK 経路が不活化され、細胞の増殖が抑制されることを見いだした [T. Tadokoro *et al.* (2009) *J. Biol. Chem.* 284: 35556-35563]。本研究では、ガレクチン-3 が細胞密

度依存的に分泌される機構、ガレクチン-3 が VCAM-1 と結合することで細胞内情報を惹起する機構、その下流で増殖を抑制するシグナルを伝達する経路を分子レベルで解明することを目的とした。この研究で糖鎖による細胞の増殖制御機構を明らかにし、癌などの増殖異常をベースとする疾病を制御する手段を探る礎とする。

3. 研究の方法

(1) 細胞の培養と遺伝子導入: Balb/3T3 細胞及び SV-T2 細胞は、10% FCS, 50 units/ml ペニシリン, 50 μ g/ml ストレプトマイシンを含む DMEM 培地で、5% CO₂, 37°C で培養した。細胞密度は、顕鏡下で視野における細胞の占める割合から算定した。細胞は 0.05% トリプシンと 0.27 mM EDTA 溶液で 37°C, 2 分間保温し、培養皿から剥がした。ベクター-pcDNA3.1 に EGFP-ガレクチン-3 cDNA あるいは SNAP-ガレクチン-3 cDNA を繋ぎ、これを Balb/3T3 細胞に導入し、遺伝子導入細胞を G418 で選択し、安定発現細胞株を単離した。同様に、ベクター-pcDNA3.1 にマウスの VCAM-1 cDNA を繋ぎ、これを SV-T2 細胞に導入し、遺伝子導入細胞を G418 で選択し、安定発現細胞株を単離した。

(2) Balb/3T3 細胞をガラスボトム培養皿に播種し、密度 10%, 50%, 100% まで細胞を増殖させた。培地を 20 μ M Fluo 4-AM を含む DMEM (150 μ l) に交換し、37°C, 30 分間保温した。その後培地を DMEM に交換し、共焦点レーザー顕微鏡 (ORYMPUS FV1000D) で解析し、得られた画像を NIH-ImageJ (ver. 1.43) により 1 細胞当たりの蛍光強度を数値化した。

(3) 細胞化学的解析: EGFP-ガレクチン-3 あるいは SNAP-ガレクチン-3 を発現した細胞をガラスボトム培養皿に播種し、目的の密度まで細胞を増殖させた。培地を除き、4% パラホルムアルデヒドを含む PBS (150 μ l) を加え、室温で 10 分、細胞を固定した。次に 20 mM グリシンを含む PBS (150 μ l) で固定を停止させ、0.2% Tween 20 を含む PBS (150 μ l) で室温で 10 分保温し、細胞膜の透過処理を行った。その後 10% ロバ血清を含む PBS (150 μ l) を加え、室温で 60 分保温し、細胞への抗体の非特異的結合を防ぐためのブロッキングを行った。その後、1% ロバ血清含む PBS (150 μ l) に目的の分子に対するマウス抗体を加え、4°C, 18 時間反応させた。試料を十分 1% ロバ血清含む PBS (150 μ l) で洗浄後、Alexa-594 標識抗マウス IgG 抗体を加え、室温で 1 時間保温し、共焦点レーザー顕微鏡で解析した。

(4) 細胞内情報伝達分子の解析: VCAM-1 を発

現させた SV-T2 細胞を播種し、密度 70-80% まで増殖させた。培地を捨て PBS で洗浄後、2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のバナジン酸ナトリウム、5 mM フッ化ナトリウム、protease inhibitor cocktail, 1% SDS を含む 0.5 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 6.8) を 500 μl 加え、細胞を可溶化した。この溶液を遠心 (10,000 x g, 15 分) して得られる上清を回収し、ウェスタンブロット解析を行った。SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行い、分離したタンパク質を polyvinylidene difluoride 膜に転写し、転写膜を 10% BSA を含む PBS 溶液でブロッキング後、MAPK 経路、PI3K/Akt 経路、STAT3 経路に関与する分子及びそのリン酸化分子に対する抗体と保温し、解析を行った。特に低分子量 GTP 結合タンパク質については、GST タグをつけた p21-activated protein kinase の p21 結合ドメインまたは Rhotekin の Rho 結合ドメインを用いたブルダウンアッセイとウェスタンブロット解析を行った。

VCAM-1 に結合している N-型糖鎖の構造解析は、密度 100% の Balb/3T3 細胞を回収し、細胞膜画分を調製、膜タンパク質を可溶化後、調製用の SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行った。CBB でゲルを染色したタンパク質を検出し、分子量 100 K のバンド (VCAM-1 の位置に相当するゲル片) を切り出し、インゲルでプロテアーゼ、PNGase 消化を行い、遊離糖鎖を回収し、常法に従い二次元解析を行った。

4. 研究成果

(1) ガレクチン-3 が密度依存的に細胞外へ分泌されるメカニズムの解明

細胞を固定し細胞外へ分泌されたガレクチン-3 を抗体で検出すると、固定法により細胞内へ抗体が侵入し細胞膜直下のガレクチン-3 を検出し、細胞外へ分泌されたガレクチン-3 と区別できなかつた。そこで市販のキットを用い SNAP-tag を結合させたガレクチン-3 を構築し、これを発現する安定細胞株を単離し、細胞外に分泌された SNAP-ガレクチン-3 を膜透過性のない蛍光標識をした SNAP の基質と結合させ、異なる密度の細胞で細胞外に分泌されてくるガレクチン-3 を解析した。その結果、細胞の密度が 50% 以上になると SNAP 基質の蛍光が検出されることから、ガレクチン-3 は密度が 50% 位になると細胞から分泌されることが判明した。

ガレクチン-3 の細胞外への分泌には、エクソソームが関与していると考えられている。そこで形成されるエクソソームにガレクチン-3 が内包されているかどうかを解析するため、EGFP (蛍光タンパク質) -ガレクチン-3 複合体を発現する安定細胞株を取得し、エクソソームのマーカータンパク質である Rab4 に対する抗体 (蛍光標識) で異なる密度

の細胞を染色し、2 つの蛍光がどのように局在を示すかを解析した。その結果、密度が高くなるとエクソソームの形成が促進されること、特に密度 50% 以上の細胞で 2 つの蛍光は共局在を示し、ガレクチン-3 の一部はエクソソームに内包されることが判明した。

一方、エクソソームの形成はカルシウムイオンにより促進されることが報告されているので、異なる細胞密度で細胞内カルシウムイオン濃度をカルシウム・インジケーター Fluo-4 AM を用いて解析をした。その結果、密度 10% の細胞の細胞内カルシウムイオン濃度を基準とすると、密度 50% の細胞の細胞内カルシウムイオン濃度は約 1.5 倍に増大し、この濃度は密度 100% の細胞までほぼ一定に保たれることが判明した (図 1)。また密度 10%, 50%, 100% の細胞をカルシウムイオノフォアである A23187 で処理をすると、いずれの密度の細胞でも細胞内カルシウムイオン濃度は未処理の密度 10% の細胞の細胞内カルシウムイオン濃度の 2.0-2.3 倍に増大することが判明した (図 1+A23187)。

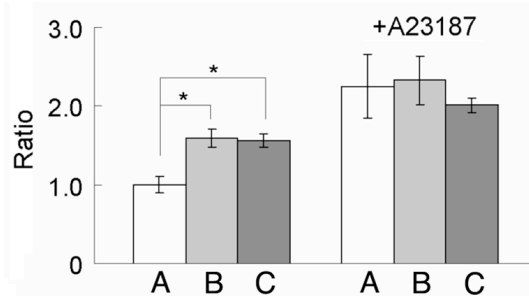


図 1 異なる細胞密度における細胞内カルシウム濃度. A, B, C は密度 10%, 50%, 100% の細胞を示す。+A23187 は各密度の細胞をカルシウムイオノフォア A23187 で処理した細胞を示す。*は $p < 0.01$ の有意差を示す。

次に密度 10% の EGFP-ガレクチン-3 を発現した細胞を A23187 で処理し、細胞内のガレクチン-3 の動態を共焦点レーザー顕微鏡で観察した。その結果、蛍光をもつ多数の小胞の形成が検出され、ガレクチン-3 を内包するエクソソームと考えられた (データ未添付)。

これまでの実験結果から、ガレクチン-3 は細胞の密度が 50% 位になると細胞外へ分泌されることが判明している。もし本研究の仮説が正しければ、密度 50% の細胞をカルシウムイオノフォア A23187 で処理すればガレクチン-3 の細胞外への分泌がさらに促進されることが予想された。そこで SNAP-ガレクチン-3 を発現している細胞を密度 50% まで増殖させ、この細胞を A23187 で処理し、細胞外へ分泌されたガレクチン-3 を解析した。その結果図 2-B で示すように、有意に多量のガレクチン-3 が細胞外へ分泌されることが判明した。しかしながら、密度 100% の細胞を A23187 で処理しても、ガレクチン-3 の細胞外への分

泌は対照と比較してもそれ以上に分泌される傾向は見出せなかった（データ未添付）。

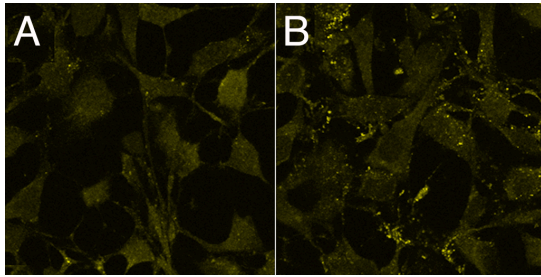


図 2 細胞外へ分泌されたガレクチン-3. SNAP-ガレクチン-3 を発現した密度 50%の細胞を A23187 で処理し (B)、対照 (A) と共に細胞外へ分泌された SNAP-ガレクチン-3 を可視化した。

以上の結果から、細胞が増殖し密度が 50%程度になると細胞内のカルシウムイオン濃度が増大し、この増大したカルシウムイオンが細胞内の一部のガレクチン-3 を内包したエクソゾームの形成を促進し、この経路 (excretion) でガレクチン-3 は細胞外へ分泌されると考えられた。しかしながら、どのようなメカニズムで細胞の密度が増大すると細胞内のカルシウムイオン濃度が高くなるのかは不明であり、今後の課題である。このためカルシウムと結合するとその蛍光を CFP から YFP へシフトするカメレオン・タンパク質を発現させた細胞を作製し、どのような刺激 (原因) でカルシウムが流入するかを特定する計画である。

密度 100%の細胞から細胞膜タンパク質を調製し、これを分析用の SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行い、分子量 100 K のバンド (VCAM-1) を切り出し、このゲルを碎片後 PNGase で徹底消化し、遊離糖鎖の還元末端をピリジルアミンで標識し、二次元マッピング法で解析し、その糖鎖構造を推定した。その結果、VCAM-1 に結合している N-型糖鎖は一連の高マンノース型糖鎖、複合型二本鎖、三本鎖、四本鎖をもつことが推定された。特に複合型三本鎖や四本鎖の割合が高いことから、VCAM-1 は正常細胞において高分岐化糖鎖をもつ数少ないタンパク質の一つであると考えられた。

(2) VCAM-1 と結合する細胞内分子の解析

VCAM-1 の細胞質領域にはリン酸化部位がないので、VCAM-1 は直接情報を伝達することはできない。このことから、VCAM-1 は何らかの細胞内のアダプター分子と相互作用をすることで、シグナル伝達を制御していることが推測された。細胞膜分子と細胞内骨格を結びつけるアダプター分子としてエズリン、ラデキシン、モエシン (ERM タンパク質) が知られている。そこで密度依存的な細胞の増殖が抑制され始める密度 70%の Balb/3T3 細胞を

固定し、抗 VCAM-1 抗体で染色し、続いて細胞膜を Tween 20 で透過処理を行い、抗モエシン抗体や抗エズリン抗体で細胞内のアダプター分子を染色すると、2つの異なる蛍光が共局在を示した (図 3C)。

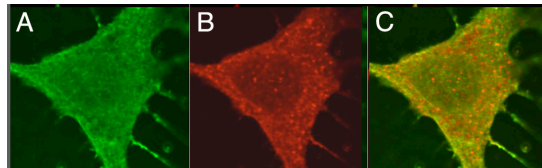


図 3 Balb/3T3 細胞における VCAM-1 と細胞内アダプター分子モエシンの局在. 密度 50%の細胞をガレクチン-3 と保温後固定し、抗 VCAM-1 で染色、その後細胞膜の透過処理を行い抗モエシン抗体で染色。パネル A は細胞を抗 VCAM-1 で染色、パネル B は抗モエシン抗体で染色、パネル C は抗 VCAM-1 で染色した像と抗モエシン抗体で染色した像を重ね合わせた像を示す。

この結果から、VCAM-1 は細胞膜直下で ERM タンパク質と相互作用をすることで、ガレクチン-3 と結合したシグナル (多分にガレクチン-3 による VCAM-1 分子の格子形成などによることを想定) を伝達することが予想された。現在、の細胞外への分泌が見られない低密度の細胞では VCAM-1 と ERM タンパク質が解離しているかどうかを解析しているが、低密度の細胞では VCAM-1 の発現量が低く、明確な結果が得られていない。この知見に関して、細胞密度と VCAM-1 の細胞膜における発現量との関係を解析すると、密度 50%以上になると VCAM-1 の発現量が增大することが判明し、密度依存的な VCAM-1 の発現も細胞の増殖停止機構に関与している可能性が示された。さらにこの細胞化学的な解析結果を確かめるため、細胞膜を調製し、タンパク質を可溶化後、抗 VCAM-1 抗体と Dynabeads Protein G を用いて免疫沈降を行ない、VCAM-1 と結合している分子をウエスタンブロット法で解析している。

(3) VCAM-1 を介した増殖制御シグナルの伝達経路の解明

Balb/3T3 細胞において VCAM-1 を介した密度依存的な増殖制御のメカニズムを解明するにあたり、密度 10%と 70%の細胞を用いて細胞の増殖を制御する MAPK 経路の分子の活性化状態を解析したが、増殖停止のシグナルがいつ (どの細胞密度で) どの分子で最大限に誘導されるかなどが明確ではなく、分子の活性化レベルに有意な差を見出せなかった。我々は Balb/3T3 細胞を SV40 ウィルスでトランスフォームした SV-T2 細胞において、VCAM-1 の発現がほぼ消失していることを偶然に見出した。そしてこの SV-T2 細胞に VCAM-1 遺伝子を導入発現させると、癌細胞に

固有の足場非依存的な増殖能が著しく低下することを見出した。そこで SV-T2 細胞と VCAM-1 遺伝子を発現させた SV-T2 細胞の間で増殖に関するシグナル分子を解析することで、VCAM-1 が関与する細胞内情報伝達経路を解析した。その結果、SV-T2 細胞に VCAM-1 遺伝子を導入発現させると、1) 細胞の増殖制御に関与する Ras-MAPK 経路の c-Raf, ERK1, 2 のリン酸化が抑制され、2) 細胞骨格の再編成に関わる PI3K/Akt 経路の PTEN の活性化と、それに続く PDK1, Akt, mTOR の抑制が見られ、3) さらにその下流の p70S6K や STAT3 が抑制されることが判明した。一方、インテグリンを介して細胞接着のシグナルを伝達する FAK のリン酸化は変化せず、また細胞の増殖分化を促進する PKC のリン酸化（活性化）や細胞周期を制御する GSK3b のリン酸化が抑制（活性化）されることを見出した。以上の結果から、SV-T2 細胞に VCAM-1 を発現させると PI3K/Akt 経路、STAT3 経路、MAPK 経路が阻害され、癌細胞の性質である足場非依存的な細胞増殖能が抑制される一方、自身が癌細胞であることから細胞の移動や増殖を促進しようと、FAK, PKC, GSK3b が活性化される（空回りする）ことが判明した。即ち、Balb/3T3 細胞でも VCAM-1 は MAPK 経路、PI3K/Akt 経路、STAT3 経路を制御していることが考えられ、この知見を基に密度依存的な増殖阻害が起こる細胞で上記の情報伝達経路を解析する計画である。

(4) 国内外における位置づけとインパクト

本研究では、密度依存的に細胞外へ分泌されるガレクチン-3 が VCAM-1 と結合し、その結果 MAPK 経路等を不活化し、細胞の増殖を抑制する分子メカニズムの一端を明らかにすることができたと思う。この研究の着想は KO マウスの異常を基に、細胞レベルで糖鎖機能の解析を始めたことに独創性があり、本メカニズムをベースに癌などの細胞増殖の異常を制御することも視野にできる。実際、我々は細胞が癌化するとタンパク質の N-型糖鎖のガラクトシル化に関与する β 4GalT2 遺伝子の発現が減少すると同時に、糖脂質のガラクトシル化に関与する β 4GalT5 遺伝子の発現が増大することを報告しており、細胞が癌化すると細胞表面糖鎖のガラクトシル化が著しく変化する。興味深いことに、癌細胞で β 4GalT2 遺伝子の発現を増大、あるいは β 4GalT5 遺伝子の発現を減少させると、これらの癌細胞のマウス皮下における造腫瘍能や転移能が著しく低下することを見出しており（論文 2 報投稿中）、細胞表面に発現するガラクトースの環境が細胞の増殖制御に重要であることを物語っている。こうした研究は国内外でほとんど実施されておらず、独創性が高く継続した研究が必要である。

(5) 今後の展望

ガレクチン-3 を介した細胞の増殖阻害は、イヌの腎臓の上皮細胞（MDCK）でも見られている。本研究で解明をめざした細胞の増殖制御機構の普遍性をさらに検討するため（コンタクトインヒビションの生体内モデルは創傷治癒であるといわれている）、マウス（4-6 週齢）の皮膚に真皮に至らない傷をつけ、この創傷治癒過程でガレクチン-3 と VCAM-1 の発現動態を組織化学的に解析し、真に糖鎖情報が生体でも働いていることを明らかにすることも重要である。本研究がモデルとなり、糖鎖機能の分子メカニズムを解明する研究が多く生まれてくることが期待され、究極的には糖鎖を介した生命の基本原理が理解される。さらに、これは糖鎖生合成の異常により生じる多くのヒト疾患の治療や、糖鎖機能を利用した感染症対策等（薬剤や病原菌捕集器の開発）への足がかりとなるであろう。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 9 件）

- ① Furukawa, K., Clausen, H., and Sato, T. : β 4-Galactosyltransferases 2, 3, 4, 5, 6 and 7. Handbook of Glycosyltransferases and Related Genes (2nd Version) (N.Taniguchi et al., eds.), Springer, Tokyo, in press. ISBN:978-4-431-70311-2. (査読有り)
- ② Sato, T., and Furukawa, K. : Regulation of human β -1, 4-galactosyltransferase V gene expression in cancer cells. *Yakugaku Zasshi* 132: 691-697 (2012). PMID: 22687727. (査読有り)
- ③ Furukawa, K., Tadokoro, T., Sato, M., and Yamada, E. : Preparation of filter paper conjugated with high mannose-type glycans. *Transact. on GIGAKU*, 1: 1-5 (2012) <http://voice.nagaokaut.ac.jp/transactions-on-gigaku/volume-1.html> (査読有り)
- ④ Komatsu, S., Kuji, R., Nanjo, Y., Hiraga, S., and Furukawa, K. : Comprehensive analysis of endoplasmic reticulum-enriched fraction in root tips of soybean under flooding stress using proteomics techniques. *J. Proteomics* 77: 531-560 (2012). DOI:10.1016/jprot.2012.09.032. (査読有り)
- ⑤ Paschinger, K., Razzazi-Fazeli, E., Furukawa, K., and Wilson, I. B. H. : Presence of galactosylated core fucose on N-glycans in the planaria *Dugesia japonica* *J. Mass Spectrometry* 46: 561-567 (2011). DOI:10.1002/jms.1925. (査読有り)
- ⑥ Komatsu, S., Yamamoto, A., Nakamura, T.,

- Nouri, M.-Z., Nanjo, Y., Nishizawa, K., and Furukawa, K.: A comprehensive analysis of proteins and metabolites in roots and hypocotyls of soybean under flooding stress using proteomics and metabolomics techniques. *J. Proteome Res.*, 10, 3993-4004 (2011) DOI: 10.1021/pr2001918. (査読有り)
- ⑦ Kumagai, T., Sato, T., Natsuka, S., Kobayashi, Y., Zhou, D., Shinkai, T., Hayakawa, S., and Furukawa, K.: Involvement of murine β -1,4-galactosyltransferase V in lactosylceramide biosynthesis. *Glycoconj. J.* 27, 685-695. DOI:10.1007/s10719-010-9313-2. (査読有り)
- ⑧ Miyazaki, T., Sato, T., Furukawa, K., and Ajisaka, K.: Enzymatic synthesis of lacto-*N*-difucohexaose I which binds to *Helicobacter pylori*. *Methods Enzymol.* 48, 511-524 (2010). DOI:10.1016/S0076-6879-(10)80023-0. (査読有り)
- [学会発表] (計 65 件)
- ① 古塩元幸、中谷竜之介、古川清: マウス繊維芽細胞の増殖制御におけるガレクチン-3 の分泌機構の解析。第 85 回日本生化学会大会, 2012, 12. 14, 福岡。
- ② 久慈諒、山本明史、田所友美、孫月、古川清: マウス繊維芽細胞の増殖を制御する VCAM-1 分子の細胞質領域と相互作用をする分子の探索。第 85 回日本生化学会大会, 2012, 12. 14, 福岡。
- ③ 古川清、垂柳ちえみ、久慈諒、佐藤武史、白根克則: β -1,4-ガラクトース転移酵素遺伝子の発現制御による癌の増殖制御。第 6 回東北糖鎖研究会, 2012. 10. 12, 弘前。
- ④ 佐藤武史、古川清: 転写因子 Sp1 の発現制御による β -1,4-ガラクトース転移酵素 I 遺伝子発現の変化。第 31 回日本糖質学会年会, 2012. 9. 18, 鹿児島。
- ⑤ 山本明史、田所友美、孫月、古川清: 形質転換した SV-T2 マウス線維芽細胞の足場非依存的な細胞増殖における VCAM-1 の役割。第 34 回日本分子生物学会年会, 2011. 12. 14, 横浜。
- ⑥ 佐藤武史、古川清: 転写因子 Sp1 の発現制御によるヒト肺癌細胞の増殖抑制機構の解明。第 34 回日本分子生物学会年会, 2011. 12. 14, 横浜。
- ⑦ 熊谷忠弘、佐藤武史、古川清: β -1,4-GalT V 欠損マウス胎児由来繊維芽細胞の細胞接着能の解析。第 84 回日本生化学会大会, 2011. 9. 22, 京都。
- ⑧ K Furukawa, T Tadokoro, R Nakatani: Requirement of calcium for cell

- density-dependent secretion of galectin 3 from mouse Balb/3T3 cells. The 31st Naito Conference on Glycan Expression and Regulation II: Metabolites, Stress Response, Microdomains, and Beyond. 2011. 9. 15, Sapporo, Japan.
- ⑨ K Furukawa, T Kumagai, T Sato, R Kanno: Embryonic lethality of β -1,4-galactosyltransferase V-deficient mice. The XXI Intern. Symp. On Glycoconj., 2011. 8. 21, Vienna, Austria.
- ⑩ 佐藤武史、古川清: 転写因子 Sp1 の発現制御による N-型糖鎖修飾の変化と細胞運動能の低下。第 31 回日本糖質学会年会, 2011. 7. 12, 長岡。
- ⑪ R. Nakatani, K. Furukawa: Effect of intracellular calcium on growth-dependent secretion of galectin-3 in mouse Balb/3T3 cells. Intern. Sympo. on Global Multidisciplinary Engineer. 2011. 1. 24, Nagaoka, Japan.
- ⑫ 田所友美、山本明史、孫月、古川清: 形質転換したマウス繊維芽細胞 SV-T2 細胞における VCAM-1 による足場非依存的な増殖の抑制メカニズム。第 33 回日本分子生物学会・第 83 回日本生化学会, 2010. 12. 8, 神戸。
- ⑬ 許斐雅裕、古川清: マウス繊維芽細胞における細胞周期依存的なタンパク質の糖鎖修飾の解析。第 33 回日本分子生物学会・第 83 回日本生化学会, 2010. 12. 8, 神戸。
- ⑭ 中谷竜之介、田所友美、佐藤武史、古川清: マウス線維芽細胞における細胞密度依存的なガレクチン-3 の局在性の変化。平成 22 年度日本生化学会関東支部例会・第 51 回新潟生化学懇話会, 2010. 5. 28, 長岡。

[その他]

ホームページ等

<http://www.bio.nagaokaut.ac.jp/~furukawa-1/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

古川 清 (FURUKAWA KIYOSHI)
長岡技術科学大学・工学部・教授
研究者番号: 10190133

(2) 研究分担者

佐藤 武史 (SATO TAKESHI)
長岡技術科学大学・工学部・准教授
研究者番号: 30291131