

N-結合型糖鎖によるインテグリンの機能制御

顧 建国

Regulation of Integrin Functions by N-glycans

Jianguo GU

Division of Regulatory Glycobiology, Institute of Molecular Biomembrane and Glycobiology, Tohoku Pharmaceutical University, 4-4-1 Komatsushima, Aoba-ku, Sendai 981-8558, Japan

(Received January 5, 2007)

Integrins are cell surface transmembrane glycoproteins that function as adhesion receptors in cell-ECM interactions and link matrix proteins to the cytoskeleton. Integrins play an important role in cytoskeleton organization and in the transduction of intracellular signals, regulating various processes such as proliferation, differentiation, apoptosis, and cell migration. Although integrin-mediated adhesion is based on the binding of α and β subunits to a defined peptide sequence, the strength of this binding is modulated by various factors including the status of glycosylation of integrin. Glycosylation reactions are catalyzed by the catalytic action of glycosyltransferases, such as N-acetylglucosaminyltransferase III, V and α 1,6 fucosyltransferase, etc., which catalyze the formation of glycosidic bonds. In this talk we will briefly overview the N-glycan structures of integrins, such as α 3 β 1 and α 5 β 1, and their related functions arising from recent studies, which provide insight into some long-standing questions concerning N-glycosylation functions.

Key words—integrin; glycosylation; glycosyltransferase; N-glycan; cell adhesion

1. はじめに

インテグリンは α 鎖と β 鎖からなるヘテロダイマーであり、すべての哺乳動物から海綿のような単純な後生動物類に至る多細胞生物にまで広く存在する細胞外マトリクスの受容体である。インテグリンは様々な生物学のプロセスに深く関わっている。まず最も顕著な作用としては、インテグリンが細胞外マトリクスと細胞骨格との間の物理的なリンクを提供することである。次に、インテグリンは細胞外的情報を増殖、分化、生存などのシグナルに解釈して細胞内へと伝える (outside-in signaling) 役割を示す一方、二次的なシグナルにより細胞外マトリクスのアセンブリなどを細胞の内側からコントロールする (inside-out signaling)。細胞表面に発現するインテグリンはN-結合型糖鎖の主なキャリアー蛋白質の一種である。N-結合型糖鎖の付加はインテグリン α 鎖と β 鎖のアセンブリに不可欠である。イン

テグリンの α 鎖と β 鎖には、それぞれ十数カ所の推定されるN-結合型糖鎖付加部位を持っている。われわれは糖鎖リモデリングというツールを用いてインテグリンの持つ様々な生物学的機能を制御できるかを研究している。ここでは、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 III (GnT-III)、GnT-V 及び α 1,6 フコース転移酵素 (Fut8) の生物機能並びにそれらの糖転移酵素による改変されたN-結合型糖鎖がインテグリン α 3 β 1 及び α 5 β 1 の機能への影響について主にわれわれの成果を紹介する。

2. N-結合型糖鎖の生合成

糖蛋白質は糖鎖と蛋白質が共有結合した生体分子である。蛋白質上の糖鎖の結合様式は一般的には2種類ある。Asn-X-Ser/Thr のAsn-NH₂にC-N結合でGlcNAcを還元末端とする糖鎖が付くN-結合型糖鎖 (Asn結合型糖鎖) とSer又はThrの-OHにGalNAc, Man, Fuc, GluなどがC-O結合で付加するO-結合型糖鎖である。ここでN-結合型糖鎖の生合成について紹介する (Fig. 1)。糖結合ドリコール中間体は小胞体 (ER) 膜で合成される。完成した中間体糖鎖Glc3Man9GlcNAc2は、膜結合型リ

東北薬科大学分子生体膜研究所細胞制御学教室 (〒981-8558 仙台市青葉区小松島4-4-1)

e-mail: jgu@tohoku-pharm.ac.jp

本総説は、日本薬学会第126年会シンポジウムS10で発表したものを中心に記述したものである。

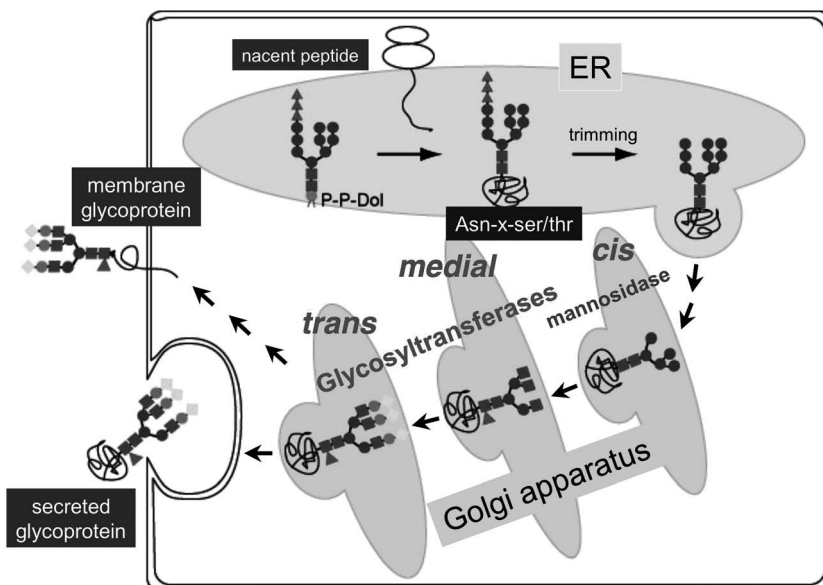


Fig. 1. *N*-glycan Processing in the ER and the Golgi Apparatus

Processing begins in the ER with the removal of the glucose from the oligosaccharide initially transferred to the protein. After trimming with a mannosidase in the ER, the remaining steps occur in the Golgi apparatus, where mannosidase I and glycosyltransferases act sequentially. Finally, the protein carrying a complex oligosaccharide, as a mature form, is secreted to cell surface or outer of cell.

ボソームで翻訳され小胞体内腔に輸送されてくる新生ペプチドの Asn-X-Ser/Thr 配列 (X は Pro 以外の任意のアミノ酸) の Asn に転移される。その後、糖鎖による蛋白質フォールディングの品質管理と密接に関連する 3 つの Glc の除去、糖鎖 Man のトリミングなどのプロセッシングを受け、できた Man5GlcNAc2-Asn がゴルジ体に運ばれる。一方、ゴルジ体において、Man5GlcNAc2-Asn 構造は α -マンノシダーゼ及び様々な糖転移酵素の作用を受け、高マンノース型、混成型、複合型の 3 種の糖鎖構造が合成され、成熟糖蛋白質として細胞膜又は細胞外に運ばれて機能するようになる。本稿では、糖転移酵素 GnT-III, GnT-V 及び Fut8 に注目して紹介する。

3. インテグリンの *N*-結合型糖鎖及びシグナル伝達

細胞表面に発現するインテグリンは *N*-結合型糖鎖の主なキャリアー蛋白質である。 $\alpha 3\beta 1$ 又は $\alpha 5\beta 1$ インテグリンの α と β 鎖には、それぞれ 14 カ所と 12 カ所の推定される *N*-結合型糖鎖付加部位を持っている。インテグリンの発現が微量しかも精製が難しいことで、これまでにインテグリンの糖鎖構造の解析は徒労に終わる危険性がある仕事であると思われる。しかしながら、高橋らのグループは異な

る性質を持つ HPLC カラムを利用した敏感な分析手法を開発し、胎盤からインテグリン $\alpha 5\beta 1$ の精製及び糖鎖構造の解析に成功した。¹⁾ その結果、10 種類の中性糖鎖、6 種類の mono-sialyl, 10 種類の di-sialyl 及び 7 種類の tri-sialyl 糖鎖を合わせて 33 種類のオリゴ糖が同定された。また、含有の比率からみると、中性と酸性の複合糖鎖はそれぞれ 20.8% と 77.7% であったのに対して高マンノース型糖鎖は合計のたった 1.5% しか含まれなかった。一方、質量分析計を用いヒトの尿管上皮がん細胞 (HCV29) から精製したインテグリン $\alpha 3\beta 1$ の糖鎖構造の解析結果は、インテグリン $\alpha 5\beta 1$ の糖鎖構造と同様にわずかの高マンノース型糖鎖を除いて、大部分が 2 本鎖、3 本鎖及び 4 本鎖の複合糖鎖を示し



顧 建国

東北薬科大学教授(分子生体膜研究所・細胞制御学教室) 医博。1987年に中国南通大学医学部卒業。1993年に大阪大学大学院医学系研究科博士課程修了。同年大阪府立母子保健総合医療センター研究所研究員。1997年米国 NIH の博士研究員を経て、1999年大阪大学蛋白質研究所助手、2002年大阪大学大学院医学系研究科助手、学内講師、2004年同大助教授。2006年より現職、現在に至る。現在はがん転移・浸潤、肺気腫などの病理病態における糖鎖の役割に関する研究を行っている。

た.²⁾ これらの結果は、ゴルジ装置を通じてインテグリンに完全な *N*-結合型糖鎖が付加されることが示唆された。一般的に適切な糖鎖の付加は蛋白質の正しいフォールディング（折りたたみ）に必要である。³⁾ 実際、 $\beta 1$ インテグリンに高マンノース型のような不完全な糖鎖が多く付加されると、これらの糖鎖が分解のシグナルとしてユビキチン分解系の複合体に認識されて、分解されてしまう。⁴⁾

インテグリンを介する細胞の接着は、focal adhesion kinase (FAK) を含む様々な細胞内蛋白質のチロシンリン酸化、細胞増殖を制御する mitogen-activated protein (MAP) キナーゼの活性化、細胞生存を制御する PI 3-キナーゼ-Akt 経路の活性化、さらに細胞内骨格系の再編成を制御する Rho ファミリー低分子 G 蛋白質活性化を引き起こす (Fig. 2).⁵⁾ これらの経路は、細胞表面のレセプター型チロシンキナーゼを介するシグナル中にも同様に使われている。実際、インテグリンを介する細胞接着は増殖因子受容体を介するシグナルをも制御する。その根拠としては、インテグリンを集積させた場合のみに増殖因子受容体がインテグリンの複合体に集積することである。⁶⁾ このように両者が物理的に結合することだけではなく、細胞内シグナルの制御にも互いに相乗効果がみられている。例として、extracellular signal-related kinase (ERK)-MAP キナーゼの活性化経路はよく研究されている。⁷⁾ 接着系細

胞が浮遊した状態では増殖因子を添加しても ERK が瞬間的にしかも弱い活性化しか起こらないが、細胞が適当な ECM に接着すると持続的かつ強い ERK の活性化が起こる。一方、増殖因子はインテグリンを介するマトリックス分子のアセンブリや細胞の移動を促進する。

インテグリンを介するシグナル伝達機構の研究は、これまで RGD (Arg-Gly-Asp) 結合型インテグリンの 1 つである $\alpha 5 \beta 1$ とその特異的なリガンドであるフィブロネクチン (FN) との相互作用の解析を中心に進められてきた。その結果、インテグリン $\alpha 5 \beta 1$ は細胞接着・移動だけではなく、細胞の分化生存を制御することが明らかになった。⁸⁾ しかし、リガンドの特異性によって、インテグリンを介するシグナルが異なる。FN に接着した内皮細胞は増殖因子の刺激によって増殖活性を示す。ところが、同様な細胞が LN-1 に接着すると、増殖活性がなくなり、逆に増殖抑制を示す。また、LN-10/11 から基底膜型インテグリン $\alpha 3 \beta 1$ を介するシグナルは、FN から $\alpha 5 \beta 1$ を介するシグナルと異なって、癌細胞の運動を強く促進することや、血清飢餓によるアポトーシスを強く回避する効果を示す。^{9,10)}

4. 糖転移酵素 GnT-III, GnT-V と Fut8 の生物機能及び糖鎖リモデリングによるインテグリンの機能制御

4-1. GnT-V と癌の転移・浸潤 GnT-V の産

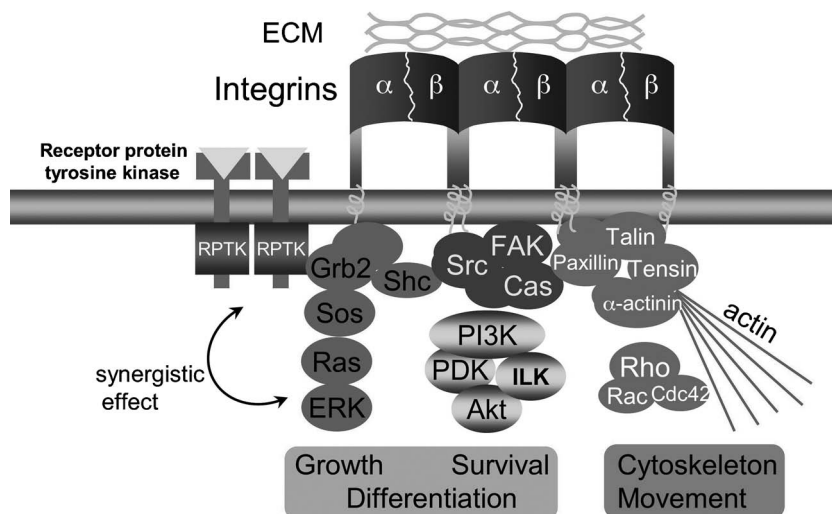


Fig. 2. Integrin-mediated Signaling

The association of integrin and ECM can activate several signaling pathways, and subsequently affect cell shape, migration, proliferation and differentiation. It has been also reported that integrin synergizes with other cell surface receptors such as receptor protein tyrosine kinases (RPTKs) to activate these signaling pathways.

物である $\beta 1,6$ GlcNAc 分枝型糖鎖 (Fig. 3) は木幡ら, Dennis らにより転移性の癌細胞に発現することから, 転移との係わりが予測されていた.^{11,12)} また, Ets-1 などの Proto-oncogene により GnT-V の発現が高まること;¹³⁾ GnT-V の欠損マウスでは癌転移が強く抑制されること;¹⁴⁾ さらに非転移性の癌細胞に GnT-V 遺伝子を導入すると癌転移が著しく高まることから,¹⁵⁾ GnT-V は癌転移と深く係わることが明らかとなった. しかしながらこの分子メカニズムやどのような蛋白質が GnT-V によって修飾されることで癌転移が促進するのかは不明であった.

接着分子であるインテグリンを介する細胞接着・遊走は癌の浸潤・転移の過程に必須である. したがって, インテグリンの質的, 量的な変化は細胞接着の異常を通して, 癌の浸潤・転移に重要な役割を果たすことが想定されてきた. 上記のように, $\alpha 3\beta 1$ 又は $\alpha 5\beta 1$ インテグリンでは, 26 ヲ所の N-結合型糖鎖付加部位がある. N-結合型糖鎖の付加はインテグリン α 鎖と β 鎖のアセンブリに不可欠である.¹⁶⁾ 精製したインテグリン $\alpha 5\beta 1$ から N-glycosidase F で糖鎖を切り出すと, α 鎖と β 鎖が解離される.¹⁷⁾ ヒト繊維芽細胞の培地に α -mannosidase II のインヒビターである 1-deoxymannojirimycin を添加すると, 未成熟インテグリン $\alpha 5\beta 1$ が細胞表面に多く発現し, したがって細胞の FN への接着が著しく

阻害された.¹⁸⁾ 面白いことに, 野生型の NIH3T3 細胞に比べ, 癌遺伝子 Ras で形質転換した NIH3T3 細胞の $\alpha 5\beta 1$ インテグリンには, $\beta 1,6$ GlcNAc を持つ 3 本鎖及び 4 本鎖が顕著に増加していた.¹⁹⁾ 同様に, 転移性を持たない癌細胞と比較して, 転移性癌細胞から精製された $\alpha 3\beta 1$ インテグリンには $\beta 1,6$ GlcNAc 分枝型糖鎖構造が多くみられた.²⁰⁾ $\beta 1,6$ GlcNAc 分枝型糖鎖の発現と癌転移性の亢進との相関性における分子メカニズムを調べるため, Guo らは, $\beta 1,6$ GlcNAc 分枝型糖鎖構造を作る GnT-V を HT1080 細胞に導入した. 導入された細胞では, FN によるインテグリン $\alpha 5\beta 1$ の過剰な集積や微小繊維へのアクチン重合が抑制され, したがって細胞の遊走・浸潤が促進されることが明らかとなった.²¹⁾ このことは, インテグリンを介する ECM への細胞接着が細胞の遊走・浸潤に極めて重要であり, さらに中程度の接着は細胞の移動にとって最適な条件という仮説を強く裏付けることになった.²²⁾ N-結合型糖鎖はインテグリンの活性化を制御する一種の regulator とも考えられる.¹⁶⁾

一方, 谷口らは, この分枝型糖鎖が細胞外マトリックスを分解する活性を持つ金属依存性のセリンプロテアーゼであるマトリプターゼを標的とすることを明らかにした. 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, 転移に係わ

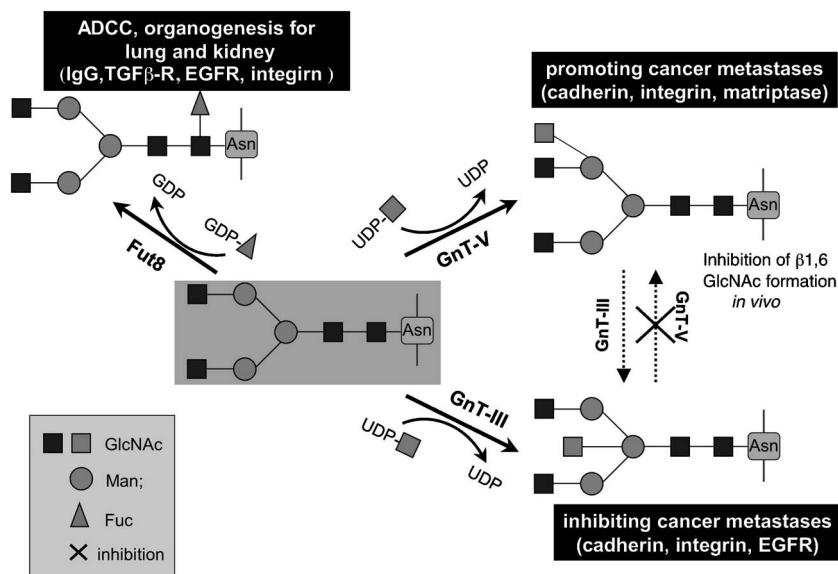


Fig. 3. Reaction Pathways for GnT-III, GnT-V and Fut8, and Their Biological Functions

The three glycosyltransferases, which are involved in the synthesis of branching N-linked sugar chains in glycoproteins. GnT-III is generally regarded to be a key glycosyltransferase in the N-glycan biosynthetic pathway, since *in vitro* the introduction of the bisecting GlcNAc results in the suppression of further processing and the elongation of N-glycans as the result of catalysis by other glycosyltransferases, which are unable to use the bisected oligosaccharide as a substrate.

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、ほかのプロテアーゼや、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。¹⁵⁾ さらに GnT-V は本来持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。この作用は、GnT-V の持つヘパリン結合ドメインによる作用であることが分かった。²³⁾ また最近 Dennis らは、この糖鎖の付加による細胞表面受容体の turn over の制御機構を明らかにした。すなわち、 β 1,6 GlcNAc 分枝型糖鎖上の polylectosamine がガレクチン-3 と結合することにより EGF, PDGF, IGF などの受容体の endocytosis が抑制され、細胞表面でのリテンション時間が長くなるため、癌細胞増殖・転移に positive に働くと考えられた。²⁴⁾ 上述のように、GnT-V は癌細胞の増殖・浸潤・転移に深く係わっているマトリックスプロテアーゼ、接着分子及び増殖因子の受容体などの機能制御に大きな影響を及ぼすことが示唆された。

4-2. GnT-III と癌転移の抑制 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 (Fig. 3)。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。谷口らは、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。²⁵⁾ 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分かった。特に E-カドヘリンに bisecting GlcNAc 糖鎖が付加されると、細胞表面上の E-カドヘリンの turn over が遅延し、また EGF 受容体を介した裏打ち蛋白である β -カテニンのリン酸化が阻止され、E-カドヘリンと β -カテニンの複合体の安定化が促され細胞間の接着が強まる。よって、癌細胞同士の離脱が抑えられ、癌転移が抑制される。^{26,27)} われわれは、最近 E-カドヘリンを介する細胞間接着で GnT-III とその産物である bisected *N*-結合型糖鎖が顕著に誘導されることを見出した。²⁸⁾ これらの結果から GnT-III と E-カドヘリンは互いに positive feedback 作用することが示唆された。一方、bisecting GlcNAc が導入されたインテグリン α 5 β 1 はリガンドとの親和性が低下し、ま

た、細胞接着・移動や細胞内シグナル伝達が抑制されることが明らかになった (Fig. 4)。²⁹⁾ したがって、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 (Fig. 5)。最近、筆者らは、GnT-III が GnT-V のアンタゴニストであることを明らかにした。³⁰⁾

一方、増殖因子受容体分子も糖鎖を持つものが多いが、その正しい機能に糖鎖が必要であることが明らかとなった。GnT-III を強発現した細胞では、細胞表面の EGF 受容体に bisecting GlcNAc 糖鎖が付加されると、受容体とリガンドとの親和性が著しく低下し、EGF 受容体を介する下流のシグナルが抑制され、細胞の増殖や分化が阻害されることが分かった。^{31,32)} 興味深いことに、EGF 受容体の *N*-結合型糖鎖付加部位のうちの 1 ヶ所の糖鎖 (Asn 420) を欠如すると、2 量体形成が強く促進されることも分かった。³³⁾

4-3. Fut8 と α 1,6 Fucosylation の生物学的機能 α 1,6 フコースは糖蛋白質の *N*-結合型糖鎖の根元の GlcNAc に Fut8 によって作られる構造である (Fig. 3)。この α 1,6 フコースは fucosylated AFP (α -フェトプロテイン) で有名である。臨床では、抗体と RCA レクチンを組み合わせることにより fuco-

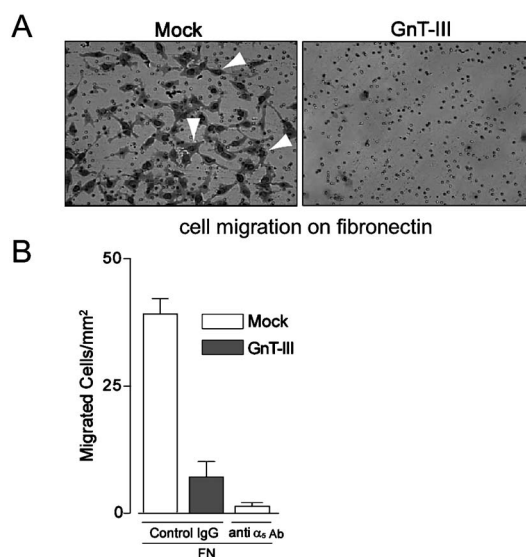


Fig. 4. Overexpression of GnT-III Inhibited Cell Migration on Fibronectin

Cell migration was determined using the Transwell assay. A: Representative fields were photographed using a phase-contrast microscope. Arrowheads indicate migrated cells. B: The number of migrated cells was quantified and cell migration was completely blocked by the presence of an anti- α 5 β 1 neutralizing antibody.

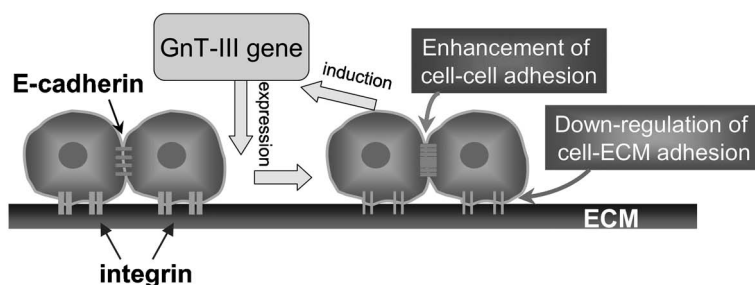


Fig. 5. Possible Mechanisms for the Suppression of Cancer Metastasis by GnT-III

One is an enhancement in cell-cell adhesion by an increase in the stability of E-cadherin on the cell surface and the suppression of the phosphorylation of β -catenin; and the other is the down-regulation of integrin-mediated cell-ECM adhesion. On the other hand, E-cadherin-mediated cell adhesion concomitantly up-regulates GnT-III expression.

sylated AFP を検出することで、肝癌の診断に用いられている。最近非ホジキンリンパ腫、乳癌を始め、多くの悪性腫瘍などで用いられている抗体療法の主役は抗体依存性細胞傷害活性 (ADCC) によると考えられている。抗体療法とは、癌細胞の持つ抗原に対するキメラ抗体及びヒト化抗体を用いる治療で、ADCC 活性とは、抗体の Fc 部分がナチュラルキラー (NK) 細胞などにある Fc γ IIa 受容体と結合し、NK 細胞を活性化し、癌細胞を破壊することである。抗体の Fc 部分には N-結合型糖鎖が付加されているが、この糖鎖の α 1,6 フコースを欠損させると ADCC が 50—100 倍に高まることが明らかになっており、^{34,35)} 癌の抗体療法として画期的な進展が期待されている。

α 1,6 フコースの付加は、細胞接着・浸潤又は癌化などの過程において変化することが報告されている。³⁶⁾ これまでの研究から、このフコースは多くの糖蛋白質の機能制御に大きく係わることが予想されている。しかし、 α 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。われわれは Fut8 ノックアウトマウスの作成に成功した。^{37,38)} このマウスは 7 割が生後 3 日に死に至ることで、 α 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。われわれは、Fut8 欠損マウスの肺における肺気腫の関連遺伝子の発現を解析した結果、エラスチンを含む結合組織を分解し、慢性の肺気腫に関与するとされている Mco1 B, MMP-9, MMP-12 や MMP-13 が顕著に誘導されていることが明らかとなった。この分子機構を検討したところ、TGF- β のシグナルが著しく低下し、本来 TGF- β に

より抑制されるはずの MMP の発現が Fut8 欠損マウスにおいては増強していた。実際、野生型細胞の TGF- β 受容体には α 1,6 フコースが付加されているが、Fut8 欠損細胞の TGF- β 受容体には α 1,6 fucosylation がなくなっていた。さらに、Fut8 欠損マウスに TGF- β 1 を投与すると肺気腫が改善され、正常の肺組織像に変わった。これらの研究結果は、 α 1,6 フコースが TGF- β 受容体の機能に必須であることを示している。実際、肺気腫患者の肺において、Fut8 の活性が低下しているかについて興味を持たれる。ごく最近、筆者らは、この α 1,6 fucosylation が α 3 β 1 インテグリンの機能を制御し、腎臓などの形成に大事な役割を果たしていることを見出した。³⁹⁾

5. おわりに

上記のように、糖鎖リモデリングは、インテグリンの持つ細胞伸展・遊走、また細胞内シグナル伝達などの様々な生物学的な機能を制御できる。インテグリンの α と β 鎖には、多数 N-結合型糖鎖付加サイトを持っているゆえ、インテグリン上のどのサイトが糖鎖で修飾されるか、どの糖鎖が重要であるか、⁴⁰⁾ 又は特定の糖鎖を持つインテグリンがどの分子と結合するかを同定することが必要である。したがって、このようなインテグリンの N-結合型糖鎖の機能解析は、生理的な分子間相互作用を含め細胞内シグナリングの調節、⁴¹⁾ また炎症、感染、癌、さらに癌転移などの病理的な過程において糖鎖の役割をよりよく理解するのにって不可欠と言える。

REFERENCES

- 1) Nakagawa H., Zheng M., Hakomori S., Tsukamoto Y., Kawamura Y., Takahashi N.,

- Eur. J. Biochem.*, **237**, 76–85 (1996).
- 2) Litynska A., Pochee E., Hoja-Lukowicz D., Kremser E., Laidler P., Amoresano A., Monti C., *Acta Biochim. Pol.*, **49**, 491–500 (2002).
 - 3) Wormald M. R., Dwek R. A., *Struct. Fold. Des.*, **7**, R155–160 (1999).
 - 4) Yoshida Y., Chiba T., Tokunaga F., Kawasaki H., Iwai K., Suzuki T., Ito Y., Matsuoka K., Yoshida M., Tanaka K., Tai T., *Nature*, **418**, 438–442 (2002).
 - 5) Giancotti F. G., Ruoslahti E., *Science*, **285**, 1028–1032 (1999).
 - 6) Yamada K. M., Even-Ram S., *Nat. Cell. Biol.*, **4**, E75–76 (2002).
 - 7) Renshaw M. W., Ren X. D., Schwartz M. A., *EMBO J.*, **16**, 5592–5599 (1997).
 - 8) Frisch S. M., Ruoslahti E., *Curr. Opin. Cell Biol.*, **9**, 701–706 (1997).
 - 9) Gu J., Fujibayashi A., Yamada K. M., Sekiguchi K., *J. Biol. Chem.*, **277**, 19922–19928 (2002).
 - 10) Gu J., Sumida Y., Sanzen N., Sekiguchi K., *J. Biol. Chem.*, **276**, 27090–27097 (2001).
 - 11) Kobata A., *Glycoconj. J.*, **17**, 443–464 (2000).
 - 12) Dennis J. W., Pawling J., Cheung P., Partridge E., Demetriou M., *Biochim. Biophys. Acta*, **19**, 414–422 (2002).
 - 13) Ko J. H., Miyoshi E., Noda K., Ekuni A., Kang R., Ikeda Y., Taniguchi N., *J. Biol. Chem.*, **274**, 22941–22948 (1999).
 - 14) Granovsky M., Fata J., Pawling J., Muller W. J., Khokha R., Dennis J. W., *Nat. Med.*, **6**, 306–312 (2000).
 - 15) Ihara S., Miyoshi E., Ko J. H., Murata K., Nakahara S., Honke K., Dickson R. B., Lin C. Y., Taniguchi N., *J. Biol. Chem.*, **277**, 16960–16967 (2002).
 - 16) Gu J., Taniguchi N., *Glycoconj. J.*, **21**, 9–15 (2004).
 - 17) Zheng M., Fang H., Hakomori S., *J. Biol. Chem.*, **269**, 12325–12331 (1994).
 - 18) Akiyama S. K., Yamada S. S., Yamada K. M., *J. Biol. Chem.*, **264**, 18011–18018 (1989).
 - 19) Asada M., Furukawa K., Segawa K., Endo T., Kobata A., *Cancer Res.*, **57**, 1073–1080 (1997).
 - 20) Pochee E., Litynska A., Amoresano A., Casbarra A., *Biochim. Biophys. Acta*, **7**, 1–3 (2003).
 - 21) Guo H. B., Lee I., Kamar M., Akiyama S. K., Pierce M., *Cancer Res.*, **62**, 6837–6845 (2002).
 - 22) Palecek S. P., Loftus J. C., Ginsberg M. H., Lauffenburger D. A., Horwitz A. F., *Nature*, **385**, 537–540 (1997).
 - 23) Saito T., Miyoshi E., Sasai K., Nakano N., Eguchi H., Honke K., Taniguchi N., *J. Biol. Chem.*, **277**, 17002–17008 (2002).
 - 24) Partridge E. A., Le Roy C., Di Guglielmo G. M., Pawling J., Cheung P., Granovsky M., Nabi I. R., Wrana J. L., Dennis J. W., *Science*, **306**, 120–124 (2004).
 - 25) Yoshimura M., Nishikawa A., Ihara Y., Taniguchi S., Taniguchi N., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **92**, 8754–8758 (1995).
 - 26) Kitada T., Miyoshi E., Noda K., Higashiyama S., Ihara H., Matsuura N., Hayashi N., Kawata S., Matsuzawa Y., Taniguchi N., *J. Biol. Chem.*, **276**, 475–480 (2001).
 - 27) Yoshimura M., Ihara Y., Matsuzawa Y., Taniguchi N., *J. Biol. Chem.*, **271**, 13811–13815 (1996).
 - 28) Iijima J., Zhao Y., Isaji T., Kameyama A., Nakaya S., Wang X., Ihara H., Cheng X., Nakagawa T., Miyoshi E., Kondo A., Narimatsu H., Taniguchi N., Gu J., *J. Biol. Chem.*, **281**, 13038–13046 (2006).
 - 29) Isaji T., Gu J., Nishiuchi R., Zhao Y., Takahashi M., Miyoshi E., Honke K., Sekiguchi K., Taniguchi N., *J. Biol. Chem.*, **279**, 19747–19754 (2004).
 - 30) Zhao Y., Nakagawa T., Itoh S., Inamori K., Isaji T., Kariya Y., Kondo A., Miyoshi E., Miyazaki K., Kawasaki N., Taniguchi N., Gu J., *J. Biol. Chem.*, **281**, 32122–32130 (2006).
 - 31) Rebbaa A., Yamamoto H., Saito T., Meillet E., Kim P., Kersey D. S., Bremer E. G., Taniguchi N., Moskal J. R., *J. Biol. Chem.*, **272**, 9275–9279 (1997).
 - 32) Gu J., Zhao Y., Isaji T., Shibukawa Y., Ihara H., Takahashi M., Ikeda Y., Miyoshi E., Honke K., Taniguchi N., *Glycobiology*, **14**, 177–186 (2004).
 - 33) Tsuda T., Ikeda Y., Taniguchi N., *J. Biol. Chem.*, **275**, 21988–21994 (2000).
 - 34) Shields R. L., Lai J., Keck R., O’Connell L. Y., Hong K., Meng Y. G., Weikert, S. H.,

- Presta L. G., *J. Biol. Chem.*, **277**, 26733–26740 (2002).
- 35) Shinkawa T., Nakamura K., Yamane N., Shoji-Hosaka E., Kanda Y., Sakurada M., Uchida K., Anazawa H., Satoh M., Yamasaki M., Hanai N., Shitara K., *J. Biol. Chem.*, **278**, 3466–3473 (2003).
- 36) Miyoshi E., Noda K., Yamaguchi Y., Inoue S., Ikeda Y., Wang W., Ko J. H., Uozumi N., Li W., Taniguchi N., *Biochim. Biophys. Acta*, **6**, 9–20 (1999).
- 37) Wang X., Gu J., Ihara H., Miyoshi E., Honke K., Taniguchi N., *J. Biol. Chem.*, **281**, 2572–2577 (2006).
- 38) 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., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **102**, 15791–15796 (2005).
- 39) Zhao Y., Itoh S., Wang X., Isaji T., Miyoshi E., Kariya Y., Miyazaki K., Kawasaki N., Taniguchi N., Gu J., *J. Biol. Chem.*, **281**, 38343–38350 (2006).
- 40) Isaji T., Sato Y., Zhao Y., Miyoshi E., Wada Y., Taniguchi N., Gu J., *J. Biol. Chem.*, **281**, 33258–33267 (2006).
- 41) Hakomori Si S. I., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **99**, 225–232 (2002).