

Takemori S. Interaction between supramolecular organization of sarcomeric proteins and myowater revealed with heat denaturation. 第120回日本解剖学会総会・全国学術集会／第92回日本生理学会大会合同大会. 神戸, 3月. [J Physiol Sci 2015; 65(Suppl.1) : S189]

- 16) Yamaguchi M, Nakahara N, Kimura M (Kagawa Nutrition Univ), Ohno T, Yamauchi H, Suzuki T, Kurihara T, Takemori S. Structural change of myosin head in skeletal muscle fiber without thin filament. 第120回日本解剖学会総会・全国学術集会／第92回日本生理学会大会合同大会. 神戸, 3月. [J Physiol Sci 2015; 65(Suppl.1) : S133]
- 17) Yamazawa T. Nitric oxide-induced calcium release in central neurons. 第88回日本薬理学会年会. 名古屋, 3月. [J Pharmacol Sci 2015; 128(3 Suppl.): S58]
- 18) Ohno T, Yamazawa T. Spin-spin relaxation of <sup>1</sup>H NMR signals from myosin filaments suspension with or without ATP. 第120回日本解剖学会総会・全国学術集会／第92回日本生理学会大会合同大会. 神戸, 3月. [J Physiol Sci 2015; 65(Suppl.1) : S192]
- 19) Yamazawa T, Mikami Y (Univ of Tokyo). Coffee polyphenol chlorogenic acid protects neurons against glutamate neurotoxicity. 第120回日本解剖学会総会・全国学術集会／第92回日本生理学会大会合同大会. 神戸, 3月. [J Physiol Sci 2015; 65(Suppl.1) : S286]
- 20) Yamaguchi M, Nakahara N, Kimura M (Kagawa Nutrition Univ), Ohno T, Yamauchi H, Suzuki T, Kurihara T, Takemori S. Structural change of myosin head in skeletal muscle fiber without thin filament. 第120回日本解剖学会総会・全国学術集会／第92回日本生理学会大会合同大会. 神戸, 3月. [J Physiol Sci 2015; 65(Suppl.1) : S133]

## 細胞生理学講座

教授：南沢 享 循環生理・病態学  
 准教授：福田 紀男 筋生理学  
 講師：草刈洋一郎 筋病態学

### 教育・研究概要

#### I. 教育概要

2014年度に本講座は以下の課目を担当した。

医学科：基礎医学Ⅱ（循環器ユニット・泌尿器ユニット）、機能系実習（生理学実習）、症候学演習、感染・免疫チュートリアル、研究室配属、英語論文抄読演習、選択実習

看護学科：解剖生理学Ⅲ

看護専門学校（慈恵看護専門学校）：解剖生理学講義

#### II. 研究概要

##### 1. 大血管の発生と機能獲得・維持の機序解明

###### 1) 動脈管閉鎖機序の解明

動脈管は肺動脈から大動脈へ血液をバイパスする胎生期特有の大血管である。我々は動脈管が生後に閉鎖する機序、特に血管の構造変化をきたす分子機序について、ラット胎仔、ニワトリ胚、ヒト標本を用いて検討した。プロスタグランジンEの特異的受容体のひとつEP4を介するシグナルが動脈管弾性線維低形成を起し、動脈管が弾性血管から筋性血管へと構造変化をすることを明らかにした。そのシグナル経路は従来知られていたPKAを介するものではなく、PLCを介して lysyl oxidase (LOX) の蛋白分解を促進することを見出した。また、血管収縮因子 thromboxane A2は動脈管をより選択的に収縮させ、かつ血管リモデリングを促進することを明らかにした。さらに先天的に動脈管閉存症を生じる Brown-Norway ラットの新生児から動脈管組織を抽出し、対照ラット動脈管との網羅的遺伝子解析を行った。その結果、Brown-Norway ラット動脈管に特徴的な70以上の遺伝子を見出すことが出来た。

###### 2) 大動脈弾性線維形成・維持の機序解明

大動脈は弾性を有することで、末梢組織まで一定量の血液を送ることが可能であり、弾性線維の劣化は動脈硬化や大動脈瘤などの疾病を生じる。我々は細胞積層化技術を使って、平滑筋細胞層を積層化し、3次元下で弾性線維形成を検討する実験系を確立し

た。この実験系を利用して、さらに大動脈での弾性線維形成・維持に関わる因子を探る予定である。以上は横浜市立大学循環制御医学講座との共同研究の成果である。

## 2. 心筋筋小胞体機能の制御機構の解明

心機能を維持する上で、心筋筋小胞体を介した  $\text{Ca}^{2+}$  調節は中心的な役割を担う。我々は心筋筋小胞体  $\text{Ca}^{2+}$  再取り込みを制御する筋小胞体  $\text{Ca}^{2+}$  ATPase (SERCA2) 活性調節機構を調べることによって、心不全等の病態解明・治療応用を目指している。2014年度は筋小胞体内にあって、phospholamban 相同性があり、SERCA2の抑制作用をもつ sarcolipin の過剰発現マウス（筋小胞体内カルシウム減少モデル）と SERCA2 過剰発現マウス（筋小胞体内カルシウム増加モデル）の2種類のマウスを使って、筋小胞体内カルシウム濃度が筋小胞体からのカルシウムリークに影響を及ぼすか否かを検討した。その結果、2種類のモデルマウスは共に筋小胞体からのカルシウムリークに変化がなく、筋小胞体内カルシウム濃度は筋小胞体からのカルシウムリークに影響を及ぼさないことを明らかにした。本研究は循環器内科、大阪大学との共同研究の成果である。

## 3. 心筋代謝制御機構の解明

心筋はエネルギー代謝の盛んな臓器のひとつであり、他の臓器と異なり70~90%のエネルギー代謝は脂肪酸に依存している。心不全になると脂肪酸代謝が低下し、糖代謝が亢進することが知られている。しかし、心臓にストレスがかかり、どのタイミングでこうした代謝変化が生じるのか、そこに鍵となる代謝物質や酵素などが存在するのか、などに関しては詳しく調べられていなかった。そこで我々はモノクロータリン負荷による肺高血圧モデルラットを使い、経時的な心筋での代謝変化を capillary electrophoresis mass spectrometry (CE-MS) 法を用いて、網羅的に調べた。その結果、心肥大マーカーや心機能が変化する前から、既に代謝変化が生じていることが判明した。今後さらにエネルギー代謝の変化を起こす因子を詳細に解明する予定である。本研究は早稲田大学合田研究室、慶應義塾大学曾我研究室との共同研究の成果である。

## 4. 心臓リモデリング・線維化を促す病態解明

病態心筋において、心筋線維化は心臓の電氣的興奮や収縮に大きな影響を及ぼすことが知られている。これまでの研究で、肺動脈絞扼術による圧負荷右室肥大乳頭筋モデルにて、圧負荷の程度によって、心筋線維化の進展が非常に明瞭に分かれることが判明していた。そこで心筋線維化の有無で網羅的遺伝子

解析を行ったところ、FGF23という増殖因子が線維化群で非常に発現が亢進していることが判明した。今後、FGF23が線維化決定因子・バイオマーカーとなり得るのか、また線維化への役割に関して詳細に検討することを目指している。本研究は小児科循環器グループとの共同研究の成果である。

## 5. サルコメア収縮機構の解明

1) 幼若心筋細胞におけるサルコメア長ナノ計測  
心筋の発生張力はサルコメア長に依存して大きく変化する。このため、心筋細胞内においてサルコメア長を高空間・時間分解能で計測する技術を確認することは非常に重要である。本研究において我々は、ラットの幼若心筋細胞のZ線 (*a*アクチニン) に AcGFP を発現させ、興奮収縮連関におけるサルコメアの運動を nm の精度で計測することのできる実験系を構築した。サルコメア長の計測精度は 3 nm であり、これは G アクチンの直径 (~5 nm) よりも小さな値であった。さらに、 $\text{Ca}^{2+}$  濃度も Fluo-4 によって同時に計測した。SL の平均値は、静止時に ~2.00  $\mu\text{m}$  であったが、ピークの収縮時には ~1.80  $\mu\text{m}$  に短縮した。しかしながら、個々のサルコメア長を計測すると、ゆっくりとした収縮の後に素早い伸展が生じるという鋸波状であることが明らかとなった。各鋸波形には時間的なずれが生じ、そのために平滑化されてスムーズな収縮、伸展の波形が得られることが分かった。ところで、心筋の収縮系は、中間活性条件下で自発的に振動することが知られている。本研究において、イオノマイシン ( $\text{Ca}^{2+}$  イオノフォア) 処理した心筋細胞において、周期 1~3 Hz の自励振動 (Cell-SPOC) が観察された。Cell-SPOC 中のサルコメア振動は、ゆっくりとした短縮相と素早い伸展相から成る鋸波であった。さらに、電気刺激を加え、波形解析を試みた。刺激頻度が低い場合 (例えば、1 Hz)、収縮にともなうサルコメア長変化は Cell-SPOC と逆位相であり、素早い短縮相とゆっくりとした伸展相が観察された。ところが、刺激頻度を生理的なレベル (3~5 Hz) に上げると、伸展速度の著しい上昇とともに短縮/伸展の位相が変化し、波形がイオノマイシン処理細胞における Cell-SPOC に類似していた。本研究において開発した幼若心筋細胞の実験系は、心筋興奮収縮連関の解析に幅広く応用可能であると考えられる。本研究は早稲田大学石渡研究室との共同研究の成果である。

## 2) マウス心臓における単一サルコメアの in vivo リアルタイムイメージング

心臓のポンプ機能は、心筋細胞のサルコメア長が

100nm 程度変化しただけでも大きく変化する (Frank-Starling 機構)。本研究において我々は、生体におけるマウス左心室の心筋細胞においてサルコメアの収縮動態をリアルタイムイメージングできる技術を開発することを試みた。その結果、サルコメア動態を、心電図・心臓内圧と同時に計測することに成功した。静止時心筋細胞中のサルコメア長には正規分布にしたがったバラツキがあり、拍動時、(1)サルコメア長はその正規分布の短い領域において変動していること、(2)左心室内圧とサルコメア長の間には直線的な比例関係が存在することが明らかになった。我々が開発した in vivo ナノ計測技術は、従来の研究では不可能であった分子、細胞、臓器・個体の階層をつなぐものであり、正常心筋のみならず病態心筋の機能解析にも有用であると期待される。本研究は早稲田大学石渡研究室との共同研究の成果である。

### 〔点検・評価〕

2014 年度は南沢が講座担当教授として 3 年目となり、教育・研究を安定して運営できる環境になったといえる。2013 年度における経営の「見える化」普及タスクフォースと呼ばれる自己点検の結果、「慈恵の生理学を JIKEI PHYSIOLOGY へ」という講座のスローガンを掲げ、それをスタートする年となった。

#### 1. 教育

医学科・基礎医科学Ⅱ (循環器ユニット・泌尿器ユニット) 及び看護学科・解剖生理学Ⅲにおいて、2013 年の方針を踏襲した。基礎医科学Ⅱにおいては、学生に基本医学英語に早期になじんでもらうことを意図して、講義資料や試験に英語をさらに積極的に取り入れた。試験問題への英語の導入については導入 2 年目ということもあり、学生からの不平は聞かれなかった。また、やはり導入 2 年目である、クリッカーの使用は、学生との双方向的な講義において有意義であるが、講義資料の作成はやや労力を要するため、利用方法の改善を進めてゆくことが望まれる。さらに 2014 年度から e-learning を利用して、試験対策の練習問題を行った。

2013 年に 3 つの各項目に学生を均等に配置し、効率よく実習が行えるように工夫した生理学実習は、2014 年も同様に行った。3 つの各項目で学生評価が必ずしもバランスが取れているとはいなかった点を改善した。実習書の作成は 2014 年度には間に合わなかったため、2015 年度に実行することにした。

研究室配属は宇宙航空医学研究室との合同指導を取り入れ、12 名の学生を指導した。昨年度同様 6 週間で個々の学生に研究テーマを持たせて取り組ませるとともに、12 名全員の学生に対し、配属開始と終了時に研究プレゼンテーションを行わせた。

南沢、福田、草刈はイラストレイテッド生理学：リップスコットシリーズ (鯉淵典之・栗原 敏監訳、丸善出版) の第Ⅳ編：心血管系の翻訳を行った。この訳書を基礎医学Ⅱの参考書として使用することにした。

#### 2. 研究

上述した研究テーマは、各教員が自ら発案し、小規模な研究グループを形成して、独自性を保ちつつ、研究を推進している。動脈管研究では本基礎研究成果を如何に臨床現場へ役立てるようになるかが課題になる。EP4 に関しては拮抗薬が存在するため、その薬剤の基礎研究の継続を継続しつつ、将来的な臨床応用を視野にいれてゆくことが必要である。教室としてより高いレベルの研究を行うためには、各研究グループが相互連携を図って、協力的・補完的に研究活動を行うこと、本講座以外の本学研究グループ、特に臨床系研究グループとの共同研究を進めることが必要不可欠である。この点は 2012 年に就任以来の課題であり、現時点で十分に解決していない。解決のためのひとつの方策として、学外研究機関との共同研究を活発化させるため、本講座主催の「心血管研究の最前線セミナー」を開催を継続させている。2014 年度には目標としていた年 6 回 (2 月に 1 回) 開催を果たすことが出来た。さらに「JIKEI SYMPOSIUM for Frontier in Cardiovascular Regulation and Regeneration」と題する日米合同シンポジウムを循環器内科教授・吉村道博先生とともに開催をした。本シンポジウムにおいて、本学の研究者 2 名、学外国内研究者 5 名、米国からの招待講演者 8 名によって、心臓再生医療の実現にむけて、その基礎原理の解明と調節機序に関しての最先端研究の発表ならびに討議を行った。

2014 年度においても各教員が文科省科研費などの獲得・継続によって、資金面では比較的安定した研究活動を行うことが出来た。しかし、助成期限の切れる研究費への対応のため、さらに外部資金の獲得を目指してゆく必要がある。

研究活動の成果として、2014 年は原著英文論文 13 編、原著和文論文 2 編、総説 2 編、学会報告 50 編を発信することが出来た。しかし、学会報告の数が論文に反映できていないこと、原著論文をより高いレベルの雑誌に掲載してゆく必要があることなど

が、昨年度と同様に今後の課題として残った。

### 3. その他

受賞：山田祐揮（現・医学部4年生）が研究室配属時に草刈の指導で行った研究が第131回成医学会・成医学会優秀ポスター賞を受賞した。南沢が第50回日本小児循環器学会学術集会において第4回高尾賞を受賞した。

学内活動：医学教育の啓蒙（アウトリーチ）活動においては、2014年に「働き者の心臓を見て、触って、聴いて、知りつくそう」というテーマで文部科学省の事業であるひらめき☆ときめきサイエンスを開催した。また、本学オープンキャンパスにおいて、本講座の教員・大学院生ボランティアがシミュレータや聴診法の体験実習に参加した。南沢は国際交流室の副室長として、海外からの選択実習生の受入に関する支援を行った。

## 研究業績

### I. 原著論文

- 1) Hsieh YT<sup>1</sup>, Liu NM<sup>1</sup>, Ohmori E<sup>1</sup>, Yokota T<sup>1</sup>, Kajimura I, Akaike T, Ohshima T<sup>1</sup>, Goda N<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Waseda Univ), Minamisawa S. Transcription profiles of the ductus arteriosus in Brown-Norway rat with irregular elastic fiber formation. *Circ J* 2014; 78(5): 1224-33.
- 2) Okabe T<sup>1</sup>, Miyajima T<sup>1</sup>, Nakagawa K<sup>1</sup>, Tsukamoto S, Fujiwara K<sup>1</sup>, Ikeguchi M<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Soka Univ). Effect of non-native helix destabilization on the folding of equine beta-lactoglobulin. *J Biochem* 2014; 156(5): 291-7.
- 3) Okabe T<sup>1</sup>, Tsukamoto S, Fujiwara K (Jchi Medical Univ), Shibayama N<sup>1</sup>, Ikeguchi M<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Soka Univ). Delineation of solution burst-phase protein folding events by encapsulating the proteins in silica gels. *Biochemistry* 2014; 53(23): 3858-66.
- 4) Nakagawa K<sup>1</sup>, Yamada Y (JASRI), Matsumura Y (Kansai Medical Univ), Tsukamoto S, Yamamoto-Ohtomo M<sup>1</sup>, Ohtomo H<sup>1</sup>, Okabe T<sup>1</sup>, Fujiwara K<sup>1</sup>, Ikeguchi M<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Soka Univ). Relationship between chain collapse and secondary structure formation in a partially folded protein. *Biopolymers* 2014; 101(6): 651-8.
- 5) Shintani SA<sup>1</sup>, Oyama K<sup>1</sup>, Kobirumaki-Shimozawa F, Ohki T<sup>1</sup>, Ishiwata S<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Waseda Univ), Fukuda N. Sarcomere length nanometry in rat neonatal cardiomyocytes expressed with alpha-actinin-AcGFP in Z-discs. *J Gen Physiol* 2014; 143(4): 513-24.
- 6) Jiao Q<sup>1</sup>, Sanbe A (Iwate Medical Univ), Zhang X<sup>1</sup>, Liu JP<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Hangzhou Normal Univ), Minamisawa S.  $\alpha$ B-Crystallin R120G variant causes cardiac arrhythmias and alterations in the expression of Ca<sup>2+</sup>-handling proteins and endoplasmic reticulum stress in mice. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2014; 41(8): 589-99.
- 7) Yokota T<sup>1</sup>, Shiraiishi R<sup>1</sup>, Aida T<sup>1</sup>, Iwai K<sup>1</sup>, Liu ML<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Waseda Univ), Yokoyama U (Yokohama City Univ), Minamisawa S. Thromboxane A<sub>2</sub> receptor stimulation promotes closure of the rat ductus arteriosus through enhancing neointima formation. *PLoS ONE* 2014; 9(4): e94895.
- 8) Shintani SA<sup>1</sup>, Oyama K<sup>1</sup>, Fukuda N, Ishiwata S<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Waseda Univ). High-frequency sarcomeric auto-oscillations induced by heating in living neonatal cardiomyocytes of the rat. *Biochem Biophys Res Commun* 2015; 457(2): 165-70.
- 9) Katz MY<sup>1</sup>, Kusakari Y<sup>2</sup>, Aoyagi H<sup>1</sup>, Higa JK<sup>1</sup>, Xiao CY<sup>2</sup>, Abdelkarim AZ<sup>1</sup>, Marh K<sup>1</sup>, Aoyagi T<sup>1</sup>, Rosenzweig A<sup>2</sup>, Lozanoff S<sup>1</sup>, Matsui T<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>Univ of Hawaii, <sup>2</sup>Harvard Medical School). Three-dimensional myocardial scarring along myofibers after coronary ischemia-reperfusion revealed by computerized images of histological assays. *Physiol Rep* 2014; 2(7): e12072.
- 10) Ishiwata R<sup>1</sup>, Yokoyama U<sup>1</sup>, Matsusaki M<sup>2</sup>, Asano Y<sup>3</sup>, Kadowaki K<sup>2</sup>, Ichikawa Y<sup>1</sup>, Umemura M<sup>1</sup>, Fujita T<sup>1</sup>, Minamisawa S, Shimoda H<sup>3</sup> (<sup>3</sup>Hirosaki Univ), Akashi M<sup>2</sup> (<sup>2</sup>Osaka Univ), Ishikawa Y<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Yokohama City Univ). Three-dimensional multilayers of smooth muscle cells as a new experimental model for vascular elastic fiber formation studies. *Atherosclerosis* 2014; 233(2): 590-600.
- 11) Aoki R<sup>1</sup>, Yokoyama U<sup>1</sup>, Ichikawa Y<sup>1</sup>, Taguri M<sup>1</sup>, Kumagaya S<sup>2</sup>, Ishiwata R<sup>2</sup>, Yanai C<sup>1</sup>, Fujita S<sup>1</sup>, Umemura M<sup>2</sup>, Fujita T<sup>2</sup>, Okumura S (Tsurumi Univ), Sato M (Aichi Medical Univ), Minamisawa S, Asou T (Kanagawa Children's Medical Center), Masuda M<sup>1</sup>, Iwasaki S<sup>1</sup>, Nishimaki S<sup>1</sup>, Seki K<sup>1</sup>, Yokota S<sup>1</sup>, Ishikawa Y<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Yokohama City Univ). Decreased serum osmolality promotes ductus arteriosus constriction. *Cardiovasc Res* 2014; 104(2): 326-36.
- 12) Hsieh YT<sup>1</sup>, Liu NM<sup>1</sup>, Ohmori E<sup>1</sup>, Yokota T<sup>1</sup>, Kajimura I, Akaike T, Ohshima T<sup>1</sup>, Goda N<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Waseda Univ), Minamisawa S. Transcription profiles of the ductus arteriosus in Brown-Norway rat with irregular elastic fiber formation. *Circ J* 2014; 78(5): 1224-33.

## II. 総 説

- 1) Kobirumaki-Shimozawa F, Inoue T, Shintani SA<sup>1)</sup>, Oyama K<sup>1)</sup>, Terui T, Minamisawa S, Ishiwata S<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>Waseda Univ), Fukuda N. Cardiac thin filament regulation and the Frank-Starling mechanism. *J Physiol Sci* 2014; 64(4) : 221-32.

## III. 学会発表

- 1) 山田祐揮, 草刈洋一郎, 池上 拓, 工藤由佳, 南沢 享. 活性型ビタミンB1投与による虚血再灌流時の心収縮保護効果. 第120回日本解剖学会総会・全国学術集/第92回日本生理学会大会合同集会. 神戸, 3月. [*J Physiol Sci* 2015; 65(Suppl.1) : S166]
- 2) 藤井輝之, 新谷 A 正嶺 (早稲田大), 塚本精一, 福田紀男, 南沢 享. ストレスファイバー様構造を形成したラット幼若心筋細胞のサルコメア動態の解析. 第120回日本解剖学会総会・全国学術集/第92回日本生理学会大会合同集会. 神戸, 3月. [*J Physiol Sci* 2015; 65(Suppl.1) : S191]
- 3) 櫛田康晴, 広川恵里沙, 大山廣太郎<sup>1)</sup>, 照井貴子, 小比類巻-下澤 生, 下澤東吾<sup>1)</sup>, 石渡信一<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>早稲田大), 福田紀男. In vivo マウス心臓におけるリアルタイム細胞内カルシウムイメージング. 第120回日本解剖学会総会・全国学術集/第92回日本生理学会大会合同集会. 神戸, 3月. [*J Physiol Sci* 2015; 65(Suppl.1) : S207]
- 4) 赤池 徹, 梶村いちげ, 南沢 享. シクロオキシゲナーゼの阻害は鳥類の動脈管を閉鎖する. 第120回日本解剖学会総会・全国学術集/第92回日本生理学会大会合同集会. 神戸, 3月. [*J Physiol Sci* 2015; 65(Suppl.1) : S209]
- 5) 梶村いちげ, 赤池 徹, 南沢 享. 炎症によりラット動脈管は再開通される. 第120回日本解剖学会総会・全国学術集/第92回日本生理学会大会合同集会. 神戸, 3月. [*J Physiol Sci* 2015; 65(Suppl.1) : S214]
- 6) 小比類巻-下澤 生, 福田紀男. マウス in vivo 心臓におけるサルコメア動態のイメージング. 第120回日本解剖学会総会・全国学術集/第92回日本生理学会大会合同集会. 神戸, 3月. [*J Physiol Sci* 2015; 65(Suppl.1) : S90]
- 7) Hirasaki Y, Minamisawa S, Okabe M. The elasmobranch heart does not twist: a speckle-tracking echocardiography study. *American Physiological Society Intersociety Meeting: Comparative Approaches to Grand Challenges in Physiology*. San Diego, Oct.
- 8) 志村大輔<sup>1)</sup>, 草刈洋一郎, 合田亘人<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>早稲田大), 南沢 享. 高濃度乳酸負荷が心房と心室の収縮性に及ぼす影響の違い. 心血管膜輸送研究会 2014. 岡崎, 9月.

- 9) 草刈洋一郎. 心筋線維化における興奮収縮連関の多階層形態機能解析. 新学術領域研究「統合的多階層生体機能学領域の確立とその応用」第9回(平成26年度第1回)領域全体会議・研究報告会. 秋田, 8月.
- 10) Minamisawa S, Akaike T, Kajimura I, Omori E (Waseda Univ). Endogenous prostaglandin E2 signaling plays a role in remodeling of extracellular matrix in the chicken ductus arteriosus. *Pharmacology & Physiology International Science Congress 2014*. Kuala Lumpur, Aug.
- 11) 赤池 徹, 大森衣里子<sup>1)</sup>, 梶村いちげ, 宮川-富田幸子 (東京女子医科大), 合田亘人<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>早稲田大), 南沢 享. 鳥類の動脈管閉鎖時に弾性線維構造が断裂・減弱する. 第50回日本小児循環器学会総会・学術総会. 岡山, 7月.
- 12) 福田紀男. 生体内ナノ分子計測を利用した心疾患病態の解析. 新学術領域研究「ナノメディシン分子科学」第7回全体会議. 東京, 7月.
- 13) Shimura D<sup>1)</sup>, Kusakari Y, Goda N<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>Waseda Univ), Minamisawa S. Different reaction to lactate between the atrial and the ventricular muscle in excitation-contraction coupling. *BCVS 2014 (Basic Cardiovascular Sciences Scientific Sessions 2014)*. Las Vegas, June.
- 14) 小比類巻生, 大山廣太郎, 下澤東吾, 照井貴子, 南沢 享, 石渡信一, 福田紀男. ナノスケール高速ライブイメージングによる in vivo サルコメア計測. ナノ学会第12回大会. 宇治, 5月.
- 15) 福田紀男. 高精度分子イメージングを用いた心臓拍動メカニズムの解析. 新学術領域ナノメディシン分子科学シンポジウム: 革新的分子イメージングで拓く医学新領域. 東京, 4月.
- 16) 櫛田康晴, 高橋正勝<sup>1)</sup>, 菅井俊郎<sup>1)</sup>, 中野賢太郎<sup>1)</sup>, 沼田 治<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>筑波大). 共焦点レーザー顕微鏡を用いた繊毛虫の微小管細胞骨格のマイクロ構造解析. ナノ学会第12回大会. 宇治, 5月.
- 17) Omori E<sup>1)</sup>, Akaike T, Kajimura I, Minamisawa S, Goda N<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>Waseda Univ). Less intimal thickening and impaired elastic fiber formation in the chicken ductus arteriosus. *EB (Experimental Biology) 2014*. San Diego, Apr.
- 18) Kajimura I, Yokoyama U<sup>1)</sup>, Ishikawa Y<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>Yokohama City Univ), Akaike T, Minamisawa S. Nuclear factor kappa B inhibition promotes closure of the rat ductus arteriosus. *EB (Experimental Biology) 2014*. San Diego, Apr.

## IV. 著 書

- 1) 草刈洋一郎訳. 第4編: 心血管系 20. 心血管系調

- 節, 21. 特殊循環系, 鯉淵典之 (群馬大), 栗原 敏監  
 訳. イラストレイテッド生理学: リッピンコットシ  
 リーズ, 東京: 丸善出版, 2014. p.275-306.
- 2) 南沢 享訳, 第IV編: 心血管系 19. 血液と血管系,  
 鯉淵典之 (群馬大), 栗原 敏監訳. イラストレイテ  
 ッド生理学: リッピンコットシリーズ, 東京: 丸善出版,  
 2014. p.255-74.
- 3) 福田紀男訳, 第IV編: 心血管系 17. 心臓の興奮,  
 18. 心臓力学, 鯉淵典之 (群馬大), 栗原 敏監訳. イ  
 ラストレイテッド生理学: リッピンコットシリーズ,  
 東京: 丸善出版, 2014. p.227-54.

## 生 化 学 講 座

教 授: 吉田 清嗣 分子腫瘍学, 病態医化学  
 准教授: 朝倉 正 がんの生化学, 病態医化学

### 教育・研究概要

#### I. 乳癌幹細胞の発生・維持に機能する新規制御因子の探索

癌幹細胞は, 自身が持つ分化能・造腫瘍能, 薬剤耐性能により, しばしば癌の再発の原因となることから, 癌の根治には, この癌幹細胞を根絶することが重要である。2003年に乳癌における癌幹細胞の存在が明らかとなったが, この乳癌幹細胞が腫瘍内でどのようにして発生・維持されているかについては未だ解明には至っていない。

我々は, 乳癌の中でも従来の治療標的分子であるホルモン受容体や HER2 を発現せず, 進行・転移が早く予後不良とされるトリプルネガティブ乳癌に着目した。本年は, 当該細胞株を用いて, 乳癌幹細胞の発生・維持に機能する新規制御因子を探索することを試みた。癌幹細胞と非癌幹細胞間の網羅的遺伝子発現解析を行うため, まず初めに主要乳癌幹細胞マーカー (CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>, ALDH 活性陽性) を用いて, トリプルネガティブ乳癌細胞株6種における癌幹細胞の割合を調べた。その結果, 各細胞株において CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>細胞集団と ALDH 活性陽性の割合に著しく相違が見られ, マーカー間での相関関係は全く認められなかった。そこで, 癌幹細胞を培養・増殖できる *in vitro* スフェア培養条件下で6種細胞株を培養し, スフェア (癌幹細胞集団) を作製する。その後, 一定サイズ以上のスフェアのみを単離した後, マイクロアレイにより網羅的遺伝子発現解析を行う予定である。

加えて現在, DYRK2 が上皮間葉転換および乳癌幹細胞の存在に影響を及ぼすという実験結果を元に, DYRK2 による乳癌幹細胞の制御に焦点をあて, 癌幹細胞の発生の分子機構の解明に取り組んでいる。DYRK2 低発現の乳癌細胞では転写因子 KLF4 の発現が上昇し CD44<sup>high</sup>/CD24<sup>low</sup> で標識される癌幹細胞の割合が増加した。また DYRK2 の発現量に依存してスフェア形成能・ヌードマウスにおける腫瘍形成能がともに変化した。今後は臨床検体におけるこれらの相関性の検討を進めていく。

#### II. 乳癌幹細胞株 iCSCL10A の転移機構の解析

iCSCL10A 細胞は, 梁 明秀教授 (横浜市立大学)