

共用研究施設

教授：馬目 佳信 分子細胞生物学・脳神経科学
 准教授：佐々木博之 細胞生物学・形態学
 准教授：岩本 武夫 生化学

教育・研究概要

I. 抗体による甲状腺がんのバイオイメージングと微量計測

本学で開発された甲状腺がんに対するモノクローナル抗体は分化型甲状腺乳頭がんに特異的に発現する抗原を認識する。この抗体の甲状腺がん血清診断等への応用のため、抗体を用いた微量抗原定量法を開発した。抗体に標識化合物を結合させる技術は近年進んでいるが、標識効率はまだ十分とは言えず、単純な酵素抗体法を用いた手技では感度が必ずしも高くない。我々は抗体と検出系との結合様式を変えることによって臨床利用可能な技術を目指している。昨年度、蛍光ナノ粒子の結合により抗原抗体反応の検出感度の鋭敏化を行ったが、本年度、通常のペルオキシダーゼによる酵素標識でもサンドイッチを行う方法を工夫することにより高感度を実現することができた。血液中の微量抗原も定量が可能となったため本学での臨床研究を開始した。

II. 形態学的手法を中心とした細胞生物学

1. 重層扁平上皮組織におけるタイトジャンクションの機能解析のため、ヒト三次元培養皮膚を用いて、タイトジャンクションと細胞間バリアおよびタイトジャンクションと細胞極性形成の関連性について検討を行っている。

2. 新学術領域研究「次世代多階層生体機能シミュレーション基盤構築と実証研究」の分担研究として、生体シミュレーションのための組織・細胞・分子レベルの光学顕微鏡的および電子顕微鏡的データベース構築を行っている。今年度は心筋細胞介在板の三次元超微構造構築の試みを行った。併せて、ストア作動性カルシウム流入の制御に関わるstromal interaction molecule 1 (STM1)の強制発現系細胞を用いた4次元動態を観察した。

3. 学内電子顕微鏡受託の技術向上を目指して、酢酸ウラン代替染色法および新たな走査電子顕微鏡用試料乾燥法の開発を行っている。

III. 生体分子相互作用解析法を用いた黄色ブドウ球菌性表皮剥脱素とガングリオシド GM1 との相互作用解析

これまで細胞表面に存在する種々のガングリオシドは、細菌が産生する菌体外毒素の受容体として作動していることが証明されている。しかし、黄色ブドウ球菌性表皮剥脱素受容体の存在とその機能は不明であった。今回、ガングリオシド GM1 と黄色ブドウ球菌性表皮剥脱素血清型 A (sETA) との結合性を、ガングリオシド解析の新たな手法として、生体分子相互作用解析法の一つとして注目されている表面プラズモン共鳴 (Surface plasmon resonance (SPR) technology) を用い、また新産マウスによる表皮剥脱活性の不活性化の検定、電気泳動度の変化 (polyacrylamide gel mobility shift assay) などにより sETA への GM1 の結合能を解析した。

「点検・評価」

1. 全体点検・評価

本年度の登録者は 69 人、受託件数は微細形態学研究関連 104 件、生化学関連 161 件であった。施設の登録者の数は増加しており、学内で施設があることは広く知られるようになってきた。大学院の講義や実習などでも実際に施設を利用した演習が行われているため、大学院生をはじめとして特に若い先生方の利用も盛んとなっている。相談件数も増えており大型機器の整備とともに研究ができる設備が整ってきている。ホームページも充実しているので、学内の支援体制はほぼ確立したと思われる。大学では大型の研究が次々に計画されているので、研究が安心して進められるように今後とも十分に対応できるよう点検していきたい。

2. 個別研究についての点検・評価

1) バイオイメージングと微量計測については、施設では細胞の動きを時間とともに蛍光発現等で計測する方法が広く用いられており、細胞外基質が細胞の遊走等に与える影響について詳しく調べられるようになったため、抗体の抗原に与える影響の解明に役立っている。微量計測では、量子ドットなどの利用によって従来の抗原抗体反応検出系より鋭敏な計測ができるようになってきた。また抗原抗体反応については感度を増感させる技術の開発を本研究部で行なっているので成果を大学全体で共用できるようなシステムを創っていきたい。

2) 細胞間接着は、炎症反応抑制、がんの転移抑制あるいは皮膚生体防御機構においても一定の重要な役割を果たしている。タイトジャンクションを含

めた細胞間接着の制御機構の理解は、炎症やがんの予防、診断、治療方法の開発や創薬、あるいは皮膚を対象とした機能的化粧品素材の探索にもつながると考えている。これらの応用的な研究は、産学協同のプロジェクトとして幾つかの企業との共同で遂行しつつあり、今後も継続していきたいと考える。

3) GM1 は sETA と結合し sETA の病原性を抑制することが明らかとなった。また sETA は、GM1 の末端糖配列 Gal β 1-3GalNAcGal を認識するものと推定できる。Ganglioside GD1b, GT1c は GM1 と相同な末端糖配列をもつことから、これらの gangliosides についても現在解析を進めている。なお、silica gel 薄層 chromatography で、sETA に感受性のある新産マウスの表皮から多量の GM3 が検出され、その他の ganglioside は殆ど検出されなかった。一方、sETA に不感受性の生後 10 日目のマウスからは微量の GM3 のみが検出された。このことからマウスの sETA への感受性は GM3 が左右するものと考えられ、SPR 法により sETA との相互作用を検討中である。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Kurasawa M¹⁾, Maeda T¹⁾, Oba A¹⁾, Yamamoto T¹⁾ (¹Pola Chem. Indst.), Sasaki H. Tight junction regulates epidermal calcium ion gradient and differentiation. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 406(4): 506-11.
- 2) Hiratsuka K¹⁾, Momose A²⁾, Takagi N²⁾, Sasaki H, Yin SA¹⁾, Fujita M²⁾, Ohtomo T²⁾, Tanonaka K²⁾, Toyoda H²⁾, Suzuki H¹⁾, Kurosawa T¹⁾ (¹Meiji Seika), Yamada J²⁾ (²Tokyo Univ. Pharm. Life Sci.). Neuronal expression, cytosolic localization, and developmental regulation of the organic solute carrier partner 1 in the mouse brain. *Histochem Cell Biol* 2011; 135(3): 229-38.
- 3) Takeyama H, Kyoda S, Okamoto T, Manome Y, Watanabe M, Kinoshita S, Uchida K, Sakamoto A, Morikawa T. The expression of sialic fibronectin correlates with lymph node metastasis of thyroid malignant neoplasms. *Anticancer Res* 2011; 31(4): 1395-8.
- 4) Watanabe M, Fujioka K, Akiyama N, Takeyama H, Manabe N, Yamamoto K, Manome Y. Conjugation of quantum dots and JT95 IgM monoclonal antibody for thyroid carcinoma without abolishing the specificity and activity of the antibody. *IEEE Trans Nanobioscience* 2011; 10(1): 30-5.
- 5) Takahara A, Koido S, Ito M, Nagasaki E, Sagawa Y, Iwamoto T, Komita H, Ochi T, Fujiwara H, Yasukawa M, Mineno J, Shiku H, Nishida S, Sugiyama H, Tajiri H, Homma S. Gemcitabine enhances Wilms' tumor gene WT1 expression and sensitizes human pancreatic cancer cells with WT1-specific T-cell-mediated antitumor immune response. *Cancer Immunol Immunother* 2011; 60(9): 1289-97.
- 6) Inaba N, Kimura M, Fujioka K, Ikeda K, Somura H, Akiyoshi K, Inoue Y, Nomura M, Saito Y, Saito H, Manome Y. The effect of PTEN on proliferation and drug-, and radiosensitivity in malignant glioma cells. *Anticancer Res* 2011; 31(5): 1653-8.
- 7) Inaba N, Fujioka K, Saito H, Kimura M, Ikeda K, Inoue Y, Ishizawa S, Manome Y. Down-regulation of EGFR prolonged cell growth of glioma but did not increase the sensitivity to temozolomide. *Anticancer Res* 2011; 31(10): 3253-7.
- 8) Takeyama H, Shimada T, Manome Y, Uchida K, Morikawa T. Detection of micrometastatic cells in peripheral blood and bone marrow fluid of stage I-III Japanese breast cancer patients and transition following anti-cancer drug treatment. *Breast J* 2011; 18(1): 85-7.
- 9) Sato K, Yokosuka S, Takigami Y, Hirakuri K, Fujioka K, Manome Y, Sukegawa H, Iwai H, Fukata N. Size-tunable silicon/iron oxide hybrid nanoparticles with fluorescence, superparamagnetism and biocompatibility. *J Am Chem Soc* 2011; 133(46): 18626-33.
- 10) Funamizu N, Kamata Y, Misawa T, Uwagawa T, Lacy CR, Yanaga K, Manome Y. Hydroxyurea decreases gemcitabine resistance in pancreatic carcinoma cells with highly expressed ribonucleotide reductase. *Pancreas* 2012; 41(1): 107-13.
- 11) Fujioka K, Shirasu M, Manome Y, Ito N, Kakishima S, Minami T, Tominaga T, Shimozone F, Iwamoto T, Ikeda K, Yamamoto K, Murata J, Tomizawa Y. Objective display and discrimination of floral odors from *Amorpha phalloides* titanium, bloomed on different dates and at different locations, using an electronic nose. *Sensors (Basel)* 2012; 12(2): 2152-61.
- 12) Sakurai S, Iwamoto T. Study of the interaction between sETA and ganglioside GM1 using surface plasmon resonance. *Archives and Bulletin of Kohno Clinical Medicine Research Institute* 2011; 27: 1-9.
- 13) Fujioka K, Hanada S, Kanaya F, Hoshino A, Sato K, Yokosuka S, Takigami Y, Hirakuri K, Shiohara A, Tilley RD, Manabe N, Yamamoto K, Manome Y. Toxicity test: Fluorescent silicon nanoparticles. *Journal*

of Physics : Conference Series 2011 ; 304 : 012042.

II. 総 説

- 1) Mariano C¹⁾, Sasaki H, Brites D¹⁾, Brito MA¹⁾ (¹Univ. Lisbon). A look at tricellulin and its role in tight junction formation and maintenance. Eur J Cell Biol 2011; 90(10) : 787-96.

III. 学会発表

- 1) Zhang Y¹⁾, Hiromasa Y¹⁾, Iwamoto T, Tomich J¹⁾, Conrad G¹⁾ (¹Kansas State Univ.). Profiling of alfa-crystallin distribution in cornea by MALDI mass spectrometry. 59th ASMS (American Society for Mass Spectrometry) Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics. Denver, June.
- 2) 池上加代子¹⁾, 中山順樹¹⁾, 中西 彩¹⁾, 漆間悠太¹⁾, 中田久美子¹⁾, 井上太綏 (北里バイオファルマ), 岩本武夫, 山下直樹¹⁾ (¹山下湘南夢クリニック). 再凍結再融解胚に含まれる凍結保護剤残存量の定量解析. 第29回日本受精着床学会総会・学術講演会. 東京, 9月.
- 3) 漆間悠太¹⁾, 中山順樹¹⁾, 池上加代子¹⁾, 中西 彩¹⁾, 中田久美子¹⁾, 井上太綏 (北里バイオファルマ), 岩本武夫, 山下直樹¹⁾ (¹山下湘南夢クリニック). 凍結融解胚盤胞に含まれる凍結保護剤残存量の定量解析. 第29回日本受精着床学会総会・学術講演会. 東京, 9月.
- 4) 中山順樹¹⁾, 池上加代子¹⁾, 中西 彩¹⁾, 漆間悠太¹⁾, 中田久美子¹⁾, 井上太綏 (北里バイオファルマ), 岩本武夫, 山下直樹¹⁾ (¹山下湘南夢クリニック). 凍結融解卵子に含まれる凍結保護剤残存量の定量解析. 第29回日本受精着床学会総会・学術講演会. 東京, 9月.
- 5) Fujioka K, Hanada S, Sato K, Hirakuri K, Shiohara A, Tilley RD, Manome Y, Kanaya F, Inoue Y, Yamamoto K. Silicon nanocrystal' potential effective mechanisms on cells. International Conference on Biological Responses to Nanoscale Particles. Essen, Sept.
- 6) Somura H, Manome Y, Nakamura M, Hori H. Identification by Sequence analysis of mitochondrial DNAs of cytochrome oxidase subunit 1 (COI) regions in Slow Lorises (Genus Nycticebus) in zoos. 19th SEAZA (South East Asian Zoos Association) Annual Conference. Pattaya, Sept.
- 7) Marunoka Y, Kanaya F, Hoshino A, Iimura T, Imai H, Otsuka R, Uehas S, Fujioka K, Katsuragawa Y, Shimbo T, Mimori A, Yamazaki T, Manome Y, Omura K, Moriyama K, Matsushima K, Yamamoto K (Research Group for the Establishment of Diagnostic Criteria and Standardized Effective Treatment Guidelines for Progressive Condylar Resorption). Study of the relations between progressive/idiopathic condylar resorption and impaired bone/cartilage metabolism caused by chemokine receptor disorder. 20th International Conference on Oral and Maxillofacial Surgery. Santiago, Nov.
- 8) 池田恵一, 中尾一和, 馬目佳信, 東條克能. 心筋細胞における proopiomelanocortin の発現についての検討. 第15回日本心血管内分泌代謝学会学術総会. 大阪, 11月.
- 9) 藤岡宏樹, 池田恵一, 武山 浩, 馬目佳信. 甲状腺癌細胞株の糖鎖構造の解析. 第54回日本甲状腺学会学術集会. 大阪, 11月.
- 10) 北山信介, 馬目佳信, 船水尚武. 光触媒による微生物および真菌殺菌能力の検討. 第47回日本実験動物環境研究会. 東京, 12月.
- 11) 池田恵一, 藤岡宏樹, 馬目佳信, 東條克能. Urocortin の心筋細胞における抗酸化作用の作用機序に関する検討. 第23回間脳・下垂体・副腎系研究会. 東京, 3月.
- 12) 横須賀忍, 佐藤慶介, 藤岡宏樹, 馬目佳信, 深田直樹, 平栗健二, 加藤佳祐. ウェットプロセスにより作製したシリコンナノ粒子の生体適合性評価. 第59回応用物理学関係連合講演会. 東京, 3月.