

## 臨床医学研究所

教授：藤瀬 清隆 肝臓病学・消化器病学  
(兼任)  
助教授：保科 定頼 臨床検査医学  
(兼任)  
講師：坪田 昭人 肝臓病学・消化器病学  
講師：成相 孝一 生殖生理学・実験外科学  
(実験動物研究施設より出向)

## 研究概要

### I. 肝疾患と酸化ストレスの関与

1) 慢性肝障害に関与する酸化ストレスの網羅的・包括的遺伝子発現解析：持続的な酸化ストレス状態にある動物モデルにおいて、その肝炎発症・肝炎重症化・劇症化および肝発癌を詳細に検討した。肝組織内に発現した遺伝子を網羅的かつ包括的に解析し、病態を研究中である。

2) 新規抗酸化剤の開発：ベンチャー企業が開発した薬剤を新規抗酸化剤として酸化ストレス状態にある動物モデルに投与し、その効果を検討した。得られた有意な結果を基に特許を出願した。

### II. 排卵における活性酸素の役割

排卵卵巣における酸化ストレスマーカーの免疫組織化学的検出：排卵には活性酸素種 ROS が関わるとされている。我々もこれまでに排卵期の卵巣において ROS の一つであるスーパーオキシドが遊離していることを活性酸素センシングシステムによって確認した。本年度においては排卵卵胞で ROS が発生することの意義を検討するため、酸化ストレスマーカー (8-OHdG, 4-HNE, HEL) の局在を免疫組織化学的に調査したところ、stigma 付近の内英膜・外英膜細胞に特に強い酸化ストレスを観察し、排卵時の卵の放出口である stigma の形成に ROS が関わっていると結論づけた。

### III. 癌治療開発のための基礎的研究

1) 胃癌に対する光選択的 DPD-siRNA 導入 5-FU 化学療法の開発：消化器癌化学療法に対するキードラッグである 5-フルオロウラシル (FU) に対する抵抗性の克服を目指し、5-FU 分解酵素を阻害する siRNA を、光エネルギーを用いて胃癌組織に効率良く導入可能な新たなベクターの開発を行っている。

2) 大腸癌肝転移の分子標的予防を目指した非ウイルス性遺伝子搬送システムにおけるナノパーティ

クル (NP: 微小粒子) の開発：肝細胞増殖因子 (HGF) のアナログである NK-4 は、血管新生および腫瘍転移を抑制する効果をもつが、大腸癌が最も転移しやすい臓器の肝臓内に特異的に集積し、同部で NK-4 を高発現可能なりピッド NP (LNP) の開発を行っている。

3) 磁性 NP による新規癌治療法の開発—固形癌に対する次世代型薬物および遺伝子搬送システム—：磁場による悪性腫瘍への抗癌剤および治療遺伝子の強制送達を目指し、安全性の高い新たな磁性 NP の開発を行っている。

### IV. 薬物の微小粒子化の試み

強制超薄膜粉碎法による難水溶性薬物のナノ粉碎の開発とその評価：強制超薄膜粉碎装置を用いて、有機溶媒を一切使用しないため、環境安全性が高く、LNP の迅速な作製法を考案した。強制超薄膜粉碎法は、通常法に比べ LNP のサイズを厳密に制御することが可能であった。

### V. 肝疾患における肝炎ウイルスの解析

ウイルス性慢性肝疾患に対する病態解析と治療法の確立：現代の国民病とも言われる C 型慢性肝疾患や B 型慢性肝疾患に対する治療効果の向上を目的に、敷地内の附属柏病院の消化器・肝臓内科と共同でウイルスの動態解析や新規プロトコルの治験を行っている。

### 「点検・評価」

平成 18 年度は臨床医学研究所の常勤の教員 3 名、本年度より新たに加わった兼任の教員 1 名のほか、柏病院の消化器・肝臓内科、総合診療部、循環器内科、麻酔科、脳神経外科などに勤務する教員 21 名が一般研究員として登録し、研究を行いました。(但し、本年報には専任の研究員により行われた研究概要ならびに研究業績のみ記載し、一般研究員により行われた研究は各科の報告に譲ります。)

当研究所は平成 18 年度で 7 年目となりました。開所以来、当研究所における研究は常に臨床応用を念頭において行うとする基本的な姿勢は変わっていません。従って、平成 18 年度も難治性疾患の病因解明や診断・治療に結びつく先端的な医学研究を行いました。その一端として、発癌に影響を及ぼす酸化ストレスの解析、東京理科大学理工学部と共同で開発した *in vivo* で測定できるセンサーを用いての生理・病態に関わる活性酸素の役割、抗酸化剤の有用性、など疾患と酸化ストレスの関連についての研究

が行われました。また、胃癌に対する光選択的 RNA 導入化学療法の開発、大腸癌肝転移の分子標的予防を目指した遺伝子搬送システムの開発、磁性微小粒子による新規癌治療法の開発、樹状細胞と癌細胞の融合細胞を用いた癌免疫療法の開発、などがん治療開発のための基礎的研究も行われました。その他、高脂血症や心疾患の病態解明、疼痛関連物質に対する麻酔薬の作用解明、難水溶性薬物の微小粒子化の試み、ウイルス疾患の病態解明、などの研究も行われました。

## 研究業績

### I. 原著論文

- 1) Ren F<sup>1)</sup>, Tsubota A, Hirokawa T<sup>1)</sup>, Kumada H (Toranomon Hosp), Yang Z (University College London), Tanaka H<sup>1)</sup> (Tokyo Med and Dental Univ). A unique amino acid substitution, T126I, in human genotype C of hepatitis B virus S gene and its possible influence on antigenic structural change. *Gene* 2006; 383: 43-51.
- 2) Tsubota A. How do naturally occurring YMDD-motif mutants influence the clinical course of lamivudine-naïve patients with chronic hepatitis B virus infection? *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 1769-71.
- 3) Koyama T, Tsubota A, Nariai K, Yoshikawa T, Mitsunaga M, Sumi M, Nimura H, Yanaga K, Yumoto Y, Mabashi Y, Takahashi H. Detection of sentinel nodes by a novel red-fluorescent dye, ATX-S10Na (II), in an orthotopic xenograft rat model of human gastric carcinoma. *Lasers Surg Med* 2007; 39: 76-82.
- 4) Mitsunaga M, Tsubota A, Nariai K, Namiki Y, Sumi M, Yoshikawa T, Fujise K. Early apoptosis and cell death induced by ATX-S10Na (II)-mediated photodynamic therapy are Bax- and p53-dependent in human colon cancer cells. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 692-8.
- 5) Nariai K, Uchiyama H<sup>1)</sup>, Sato K<sup>1)</sup>, Tsumagari S<sup>1)</sup>, Kanayama K<sup>1)</sup> (Nihon Univ). The TUNEL observation of murine follicular oocyte cleaving with repeated superovulation. *Reprod Immunol Biol* 2006; 21: 1-5.
- 6) Nariai K, Uchiyama H<sup>1)</sup>, Sato K<sup>1)</sup>, Suzuki K<sup>1)</sup>, Asano R<sup>1)</sup>, Yukawa M<sup>1)</sup>, Tsumagari S<sup>1)</sup>, Kanayama K<sup>1)</sup> (Nihon Univ). Experimental induction of immunotolerance to gonadotropin in mice. *Reprod Immunol Biol* 2006; 21: 53-7.

### III. 学会発表

- 1) 坪田昭人, 成相孝一, 松本健治<sup>1)</sup>, 藤瀬清隆, 斉藤博久<sup>1)</sup> (成育医療センター), 保科定頼. 肝腫瘍原性に影響を及ぼす酸化ストレスの解析: 網羅的遺伝子発現解析からの検討. 第13回遺伝子診療学会大会. 東京, 7月.
- 2) 成相孝一. 医学・生物学領域における活性酸素センサーの応用. 第10回多目的酸素電極装置研究会. 東京, 9月.
- 3) 並木禎尚, 並木 珠, 吉田 博, 八代正和 (大阪市立大), 松本邦夫<sup>1)</sup>, 中村敏一<sup>1)</sup> (大阪大), 柳原五吉 (がんセンター), 多田紀夫, 藤瀬清隆. Preclinical study of a "tailor-made" combination of NK4-expressing gene therapy and gefitinib for disseminated peritoneal scirrhus gastric cancer. 第65回日本癌学会総会. 横浜, 9月. [日癌会65回総会記 2006: 509]
- 4) 成相孝一, 坪田昭人, 石川満寿英<sup>1)</sup>, 江口勝哉<sup>1)</sup>, 豊田裕次郎<sup>1)</sup>, 設楽正樹<sup>1)</sup>, 小柳津研一<sup>1)</sup>, 湯浅 真<sup>1)</sup> (東京理大), 藤瀬清隆. 排卵期の卵胞におけるスーパーオキシドの役割. 第123回成医会総会. 東京, 10月. [慈恵医大誌 2006; 121(6): 267-8]
- 5) 並木禎尚, 大腸癌肝転移の分子標的予防を目指した非ウイルス性遺伝子デリバリーシステムにおけるリビッドナノパーティクルの開発. 2006年度土屋文化振興財団研究助成金贈呈式. 千葉, 10月.
- 6) 坪田昭人, 成相孝一, 保科定頼, 藤瀬清隆. Wilson病ラットモデルにおけるラクトフェリンの効果と作用機序の検討. 第2回ラクトフェリンフォーラム. 東京, 11月.
- 7) 並木禎尚, 並木 珠, 吉田 博, 保科定頼, 多田紀夫, 藤瀬清隆. 固形がんを標的とした次世代ナノパーティクルの開発. 第35回成医会柏支部例会. 柏, 12月. [慈恵医大誌 2007; 122(2): 80]
- 8) 成相孝一, 坪田昭人, 藤瀬清隆, 金山喜一 (日大), 石川満寿英<sup>1)</sup>, 江口勝哉<sup>1)</sup>, 豊田裕次郎<sup>1)</sup>, 設楽正樹<sup>1)</sup>, 小柳津研一<sup>1)</sup>, 湯浅 真<sup>1)</sup> (東京理大). 排卵期の家兎卵巣における酸化ストレスマーカーの免疫組織化学的検出. 第21回日本生殖免疫学会. 東京, 12月.