

8) 野田健太郎, 高橋英吾, 黒坂大太郎, 古谷和裕, 浮地太郎, 吉田 健, 金月 勇, 山田昭夫. マウス膠原ゲン関節炎における Bv8 の発現検討. 第 31 回日本炎症・再生学会, 東京, 8月.

分子細胞生物学研究部

教授: 馬目 佳信 分子細胞生物学・脳神経科学

教育・研究概要

I. 超音波による脳腫瘍局所療法の開発

1. 脳腫瘍への核酸デリバリー

超音波を用いた脳腫瘍, 特にグリオーマに対する新規治療法の開発を行っており, これまでに治療用超音波照射条件を決定してマイクロバブルの存在下で腫瘍を照射部位選択的に破壊する装置を作製してきた。この装置は単独でも生体内でグリオーマ組織を破壊する効果があるが, さらに治療効果を高めるために遺伝子や遺伝子発現を制御する核酸分子のデリバリーとの併用について研究を進めている。実は腫瘍細胞や組織の破壊も核酸分子のデリバリーも超音波の効果としては原理的に同一なもので, これらの作用はキャビテーションによる。すなわちマイクロバブルが超音波の振動で破裂する際のエネルギーによって細胞膜に穿孔をおこす。この際に穿孔した膜部位からさまざまな分子が入り出し, 細胞機能が保たれなくなって組織が障害されたり, 核酸分子が細胞質内に導入されたりする。穿孔された細胞膜はすぐに修復されるが, 修復までに細胞機能が保たれるかどうかは生死の境界となるため, 超音波照射については同じキャビテーション効果でも腫瘍への殺効果と核酸デリバリー効果については異なった条件になる。本年度, 核酸の細胞内へのデリバリーが発生する具体的な照射条件を調べた。

2. RNA 干渉による脳腫瘍細胞増殖シグナルのノックダウン

脳腫瘍では正常の組織と比べて特徴的な細胞内増殖シグナルに関与するカスケード分子の発現が知られており, これらの分子は脳腫瘍の治療のターゲットとして注目されている。本研究部でも脳腫瘍の多くのグリオーマ細胞株で, Gタンパク関連 Rho の下位シグナルである ROCK や上皮増殖因子受容体 EGFR, STAT3 などが発現していることを明らかにし, これらの分子の発現を抑制することで腫瘍の増殖が抑制できることを示してきた。すなわち ROCK や EGFR に対する RNA 干渉用, ショートヘアピン RNA 転写ベクターを作製して細胞内に導入することで有意な腫瘍の抑制が認められた。さらに, これらの導入により腫瘍細胞の細胞周期が変化することも明らかとなり, 特に ROCK のイソ

フォーム1はグリオーマで治療効果が期待できることが示された。これらのRNA干渉現象は直接、腫瘍内にショート干渉RNAを導入しても効果が得られることが期待される。従って超音波による核酸デリバリー法が適用できるため、導入後の細胞に具体的にはどのような変化が生ずるのかを計測していく必要がある。

II. 甲状腺癌特異的抗体を用いた癌抗原の検出

本研究は、東京慈恵会医科大学・外科学講座の武山らが1996年に樹立にした、ヒト甲状腺癌に対する特異抗体(JT95)に対し、高輝度ナノ粒子(QD)を組み合わせた検出系を構築することで、癌抗原の高感度検出、診断への応用に向けた条件の確立を目的としている。本年度は、蛍光ナノ粒子QDとJT95抗体を直接結合させた検出系の開発についての論文発表を行うと共に、IgM抗体であるJT95抗体を酵素分解したフラグメントを用いて癌抗原の検出に成功した。今後は、本研究成果をもとに高感度・高精度化を行い、臨床応用に繋げていきたい。

III. 心筋細胞における POMC の働き

本年度は主にHL-1心筋細胞を用いた proopiomelanocortin (POMC) の心筋細胞での発現・分泌研究を継続して行っている。具体的には、心筋細胞において、POMC 遺伝子を過剰発現させるための plasmid vector の構築を行い、今後 POMC 遺伝子の過剰発現下で ACTH の心筋細胞からの分泌についての検討を行う予定である。さらに糖尿病・代謝・内分泌内科との共同研究で、Ca²⁺ channel blocker の NCI-H295R ヒト副腎癌細胞株を用いて副腎ステロイド合成酵素に対する作用の研究を行っている。

「点検・評価」

1. 研究について

分子細胞生物学研究部では遺伝子発現調節や高分子タンパク測定、分子標的可視化技術など分子生物学的な手法を用いてヒトの生体の構成単位である細胞に焦点を当てて研究を推進している。そのため新規技術の確立は最優先事項となっている。従来あまり取り入れられてこなかった、超音波を利用する音響化学療法の開発や抗体修飾、特にIgM抗体への量子ドット付加等、他にも匂いなどの揮発性の拡散小分子の捕集によるパターン化も行っており、研究や治療に役立つ新しい技術の開発に役立てることができ。これらの技術が確立してきており今後、応用

が可能となっている。

脳腫瘍治療法の開発については昨年度の超音波診断治療用装置の試作完了に続き、本年度さらに効果をあげるため干渉RNA分子など核酸のデリバリー法の開発を進めており具体的に使用する核酸の種類が明らかになってきている。また今後、これまでのセラグノーシスシステムとの技術の組み合わせにより効果の増強が期待できる。

また本学のスーパー特区事業も分担しているが中枢神経系で虚血時の炎症を担う小膠細胞の発現する遺伝子の同定を行った。この研究でも超音波を治療道具に用いている。中枢神経系はヒトの精神活動や言語、四肢の運動や感覚をつかさどる重要な組織であり治療には厳密な安全性が要求される。超音波照射でどのような遺伝子の変動が起こるのかを知ることにより治療の安全性の検証に役立つと思われる。

2. 教育について

教育において学部および大学院教育を積極的に進めている。学部では免疫学、ウイルス学などの講義や臨床基礎医学の実習を担当し、その他、症候学演習や研究室配属などの参加演習型の教育を行っている。大学院では形態学やバイオインフォマティクスなど共通カリキュラムに加え本年度は選択カリキュラムを充実させた。共通カリキュラムでは共用研究施設や他の総合医科学研究センターのメンバーと一体となって独自のプログラムを作成して分かりやすい教育を目指している。大学院生からのフィードバックも良好で、本研究部は総合医科学研究センターの研究部門に位置するが、研究を行うだけではなく成果を教育など大学全体や社会へ還元することも使命の一つであるとの認識の上に立って教育にも力を注いでいる。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Watanabe M, Fujioka K, Akiyama N, Takeyama H, Manabe N¹⁾, Yamamoto K¹⁾ (¹National Center for Global Health and Medicine), Manome Y. Conjugation of quantum dots and JT95 IgM monoclonal antibody for thyroid carcinoma without abolishing the specificity and activity of antibody. *IEEE Trans Nanobioscience* 2011; 10(1): 30-5.
- 2) Hoshino A, Iimura T, Ueh S, Hanada S, Maruoka Y, Mayahara M, Suzuki K, Imai T, Ito M, Manome Y, Yasuhara M, Kirino T, Yamaguchi A, Matsushima K, Yamamoto K. Deficiency of chemokine receptor CCR1 causes defective bone remodeling due to im-

paired osteoclasts and osteoblasts. *J Biol Chem* 2010; 285(37): 28826-37.

- 3) Inaba N, Ishizawa S, Kimura M, Fujioka K, Watanabe M, Shibasaki T, Manome Y. Effect of inhibition of the ROCK isoform on RT2 malignant glioma cells. *Anticancer Res* 2010; 30(9): 3509-14.
- 4) Shirasu M, Fujioka K, Kakishima S, Nagai S, Tomizawa Y, Tsukaya H, Murata J, Manome Y, Touhara K. Chemical identity of a rotting animal-like odor emitted from the inflorescence of the titan arum (*Amorphophallus titanum*). *Biosci Biotechnol Biochem* 2010; 74(12): 2550-4.
- 5) 藤岡宏樹, 富澤康子, 山本健二, 馬目佳信. 冷凍食品の匂いの絶対値化と温度変化による影響. 日味と匂い誌 2010; 17(3): 533-5.

Ⅲ. 学会発表

- 1) 藤岡宏樹, 富澤康子, 山本健二, 馬目佳信. 冷凍食品の匂いの絶対値化と温度変化による影響. 日本味と匂い学会第44回大会. 北九州, 9月.
- 2) 藤岡宏樹, 富澤康子, 山本健二, 馬目佳信. 冷凍食品の「匂い」を絶対値で記録し, 品質管理に活用する研究. 日本食品科学工学会第57回大会. 東京, 9月.
- 3) 藤岡宏樹, 山本健二, 馬目佳信. 「人工鼻」は, 酵母菌の匂いから, どんな情報を与えてくれるのか? *Cell Biology Summer Meeting 2010*. 箱根, 7月.
- 4) Somura H, Hori H, Manome Y. Sequence analysis of mitochondrial COX1 region in Slow lorises (Genus *Nycticebus*) for identifications of individual species. 2010 SEAZA (South East Asian Zoos Association) 18th Annual conference. Bali, Nov.
- 5) Hori H, Somura H, Wirdateti, Watanabe M, Hayakawa T, Perwitasari-Farajalla D, Wijayanto H, Manome Y, Manangsan J. Determination of mitochondrial COX1 DNA sequences of native Slow lorises (Genus *Nycticebus*) in Indonesia. 2010 SEAZA (South East Asian Zoos Association) 18th Annual conference. Bali, Nov.
- 6) 藤岡宏樹, 真鍋法義, 野村真弓, 渡辺美智子, 花田三四郎, 星野昭芳, 山本健二, 馬目佳信, 武山 浩. 甲状腺がん特異的抗体JT95と, 蛍光ナノ粒子QDによる新規検出法の開発. 第53回日本甲状腺学会学術集会. 長崎, 11月.
- 7) Manome Y, Watanabe M, Takeyama H, Fujioka K. Localization of thyroid carcinoma-related antigen recognized by JT-95 monoclonal antibody. The 17th International Microscopy Congress (IMC17). Rio de Janeiro, Sept.
- 8) Fujioka K, Saito H, Yamada Y, Manome Y. High-

resolution images of resin structure in agarwood. The 17th International Microscopy Congress (IMC17). Rio de Janeiro, Sept.

- 9) Somura H, Hori H, Fujioka K, Manome Y. Sequences of COX1 in slow lorises (*Nycticebus*) and identification of individual species. International symposium on biodiversity sciences 2010 (ISBS2010). Nagoya, July.
- 10) 池田恵一, 坂本昌也, 井坂 剛, 坂本敬子, 東條克能. 2型糖尿病合併高血圧患者におけるアゼルニジピンの効果: 他のCa²⁺チャネル拮抗薬からの変更例での検討. 第33回日本高血圧学会総会. 福岡, 10月.