

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 微細形態学
 准教授：岩本 武夫 生化学・生物物理

教育・研究概要

I. 抗体による甲状腺がんの診断

分化型甲状腺乳頭がんの産生する抗原を特異的に認識するモノクローナル抗体の応用開発を進めてきたがサンドイッチ酵素抗体法による測定法が確立したため本学で血液診断の臨床研究を進めることができた。臨床検体を用いた試験が倫理委員会で承認され外科学講座との共同で進行中である。またこの抗原はがん細胞から産生され膜表面に局在するが細胞外にも分泌され血液中に存在する。抗原の一部は糖鎖修飾型のファイブロネクチンであることが判明しており、これまでにこの抗体の蛍光ナノ粒子の修飾によりがんのイメージングや微量定量などの手法が確立されてきているので甲状腺がんの発生病因を調べるために役立てていく。

II. 難聴を伴う行動異常マウスの変異遺伝子の同定

本学で系統確立・維持されている先天性高度難聴マウス (kuru²) について戻し交配法により責任遺伝子を同定した。このマウスは難聴に加えサーリングなどの行動異常を呈し、系統樹から常染色体劣性遺伝を示す単一の遺伝子による原因が示唆されていた。戻し交配を行ったF2マウスのマイクロサテライトマーカーを解析した所、異常の原因となる遺伝子は第11番染色体上にあることが判った。さらに解析を進めて責任遺伝子がmyoXVであることを同定した。本マウスではATP結合部位を含む2446塩基対がゲノムから脱落していて新たなモデルのShaker-2マウスであることを報告した。

III. 新規にデザインした枝分かれ両親媒性ペプチドの自己会合により形成するナノサイズのペプチドベシクル

ペプチドをベースにした包装システムは、より安全な薬物などの運搬システムとして活用できる可能性が大きいものである。ペプチド分枝構造を持つ両親媒性ペプチドの自己会合ナノベシクルは従来の脂質ベースやウイルス送達システムで挙げられている安定性、特異性、炎症性、抗原性と調節能力等の問

題点と比較しても満足いく結果が得られた。

デザインした分子構造物はリン脂質構造を模倣した15~23-アミノ酸残基で構成された分枝構造を持つ両親媒性ペプチドである。これらのペプチドを水に溶かすと超分子自己集合体を形成し、その大きさを透過型電子顕微鏡や動的光散乱法で計測した結果、直径50~200nmの二分子層でできた球体であることを確認した。

弱い疎水引力的相互作用により脂質二分子層は形成されるのに対してペプチドベシクルは疎水の相互作用と水素結合により潜在的に安定化され、臨界ミセル濃度はマイクロモルオーダーを示しかつ高温下でも壊れることなく安定であった。分岐構造をとらない線形ペプチドでは、自己会合的な特性を示さなかった。分枝構造ペプチドで形成されるペプチドベシクルの内側に蛍光色素分子などを封入し、このペプチドベシクルをN/N 1003Aウサギ・レンズ上皮培養細胞に加え細胞内への取り込まれることを確認した。

「点検・評価」

1. 全体点検・評価

本年度の登録者は90人(うち医師・研究者70人)、受託件数は微細形態学研究関連251件、生化学関連14件であった。施設の登録者の数は本年度も増加し学内での利用が広まっている。大学院の講義や実習でも施設を利用して演習が行われているので大学院生をはじめとした若い先生方の利用も増えている。また相談件数も増えており、これまで経験はないがやってみようという研究者には、受託という形でもなくとも試料測定などの支援を積極的に行なっているので、受託件数以上の利用がされている。大型機器も常時稼働するようになり研究ができる設備が整ってきている。大学では研究自体が増加しており、求められる研究支援の質も徐々に高くなってきているので、研究が安心して進められるように今後とも対応していきたい。

2. 個別研究についての点検・評価

抗体による甲状腺がんの診断について、乳頭がんについては他のがんで知られるようないわゆる腫瘍マーカーが存在しないため、この抗体の存在は早期診断やスクリーニングに役に立つ可能性がある。臨床研究が進行中であるが結果が出れば具体的にどのよう役立つかが明らかになってくると思われる。難聴を伴う行動異常マウスの変異遺伝子の同定については本学で確立した独自のモデルマウスが存在するため、難聴の分子生物学的研究を行なっている研

究者にとっては聴覚のメカニズムの解明に役に立つ。遺伝子の異常を具体的に報告したので学内でも学外でも需要があればマウスの供給を行なっていく。

自己会合により形成される新規にデザインしたペプチドベシクルは、現在の包装システムの限界となる鍵のいくつかを克服できる潜在的薬物送達システムに成りえる可能性がある。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Yokoyama K, Ohkido I, Iwamoto T, Ishida M, Ura-shima M, Hosoya T. Decrease of serum sphingosine-1-phosphate levels in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism treated with cinacalcet. *Clin Nephrol* 2012; 78(1) : 85-6.
- 2) Gudlur S, Sukthankar P, Gao J, Avila LA, Hiromasa Y, Chen J, Iwamoto T, Tomich JM. Peptide nanovesicles formed by the self-assembly of branched amphiphilic peptides. *PLoS ONE* 2012; 7(9) : e45374.
- 3) Watanabe M, Akiyama N, Manome Y, Hasegawa N. Spontaneous mutant ICR Kuru2 might be another Shaker-2 deaf mouse. *In Vivo* 2012; 26(5) : 787-91.
- 4) Kamada M, Ikeda K, Fujioka K, Akiyama N, Akiyoshi K, Inoue Y, Hanada S, Yamamoto K, Tojo Y, Manome Y. Expression of mRNAs of urocortin and corticotropin-releasing factor receptors in malignant glioma cell lines. *Anticancer Res* 2012; 32(12) : 5299-307.
- 5) Fujioka K, Arakawa E, Kita J, Aoyama Y, Manome Y, Ikeda K, Yamamoto K. Detection of aeromonas hydrophila in liquid media by volatile production similarity patterns, using a FF-2A electronic nose. *Sensors (Basel)* 2013; 13(1) : 736-45.
- 6) Fujioka K, Hanada S, Inoue Y, Shiraiishi K, Kanaya F, Manome Y. Evaluation of nanotoxic effects on brain using *in vitro* models. *AATEX* 2012; 17(Suppl.) : 156.
- 7) Maruoka Y, Kanaya F, Hoshino A, Iimura T, Imai H, Otsuka R, Ueha S, Fujioka K, Katsuragawa Y, Shimbo T, Mimori A, Yamazaki T, Manome Y, Moriyama K, Omura K, Matsushima K, Yamamoto K. Study of osteo-/chondropenia caused by impaired chemokine receptor and for progressive/idiopathic condylar resorption. *日顎変形会誌* 2012 ; 22(補冊) : S15-22.

II. 総説

- 1) Ikeda K, Fujioka k, Manome Y, Tojo K. Clinical perspectives of urocortin and related agents for the

treatment of cardiovascular disease. *Int J Endocrinol* 2012; 2012: 198628.

- 2) Ikeda K, Isaka T, Fujioka K, Manome Y, Tojo K. Suppression of aldosterone synthesis and secretion by Ca^{2+} channel antagonists. *Int J Endocrinol* 2012; 2012: 519467.

III. 学会発表

- 1) Ikeda K, Fujioka, Claycomb WC, Manome Y, Tojo K. Anit-oxidative actions of Urocortin on HL-1 cardiomyocytes. 15th International Congress of Endocrinology and 14th European Congress of Endocrinology. Florence, May.
- 2) 藤岡宏樹, 池田恵一, 馬目佳信. ナノ粒子が与える神経幹細胞への影響評価. 第11回CBSM 2012 (11th Conference for BioSignal and Medicine). 志摩, 9月.
- 3) Kamada M, Ikeda K, Akiyoshi K, Fujioka K, Manome Y. Evaluation of the small-molecule release from the central nervous system cells by therapeutic insonation. 第11回CBSM 2012 (11th Conference for BioSignal and Medicine). 志摩, 9月.
- 4) Akiyoshi K, Kamada M, Fujioka K, Ikeda K, Manome Y. Detection of KRAS mutations in colorectal cancer. 第11回CBSM 2012 (11th Conference for BioSignal and Medicine). 志摩, 9月.
- 5) 池田恵一, 藤岡宏樹, 東條克能, 馬目佳信. Urocortin I の心筋細胞における抗酸化作用の検討. 第11回CBSM 2012 (11th Conference for BioSignal and Medicine). 志摩, 9月.
- 6) Manome Y, Akiyoshi K, Kamada M, Fujioka K, Ikeda K, Watanabe M. Deletion of the motor domain of myoXV is responsive for mutant Kuru2 mouse that demonstrates hearing impairment and abnormal behaviors. 第11回CBSM 2012 (11th Conference for BioSignal and Medicine). 志摩, 9月.
- 7) Fujioka K, Hanada S, Inoue Y, Kanaya F, Shiraiishi K, Manome Y. Evaluation of nanotoxic effects using *in vitro* central nerve models. *Nanotoxicology* 2012 (6th International Conference of Nanotoxicology). Beijing, Sept.
- 8) Hori H, Somura H, Manome Y, Ratanakorn P. Analysis of individuals of genus *Nycticebus* in Japanese zoos. *ASZWM (Asian Society for Zoo and Wildlife Medicine)* 2012. Bangkok, Oct.
- 9) Somua H, Manome Y, Hori H. Genetic analysis of individuals of genus *Nycticebus* kept in zoo at Singapore. *ASZWM (Asian Society for Zoo and Wildlife Medicine)* 2012. Bangkok, Oct.
- 10) 中田久美子, 中山順樹, 池上加代子, 中西 彩, 阿

部 睦, 渡邊ひとみ, 池澤有加, 岩本武夫, 山下直樹.
胚培養における新発見-胚盤胞培養液中からノルエピ
ネフリンが検出される. 第57回日本生殖医学会学術
講演会・総会. 長崎, 11月.

- 11) Fujioka K, Hanada S, Inoue Y, Kanaya F, Shiraishi K, Manome Y. Highly concentrated silica nanoparticles affect the activities of neural stem cell line. Nano-safe 2012. Grenoble, Nov.
- 12) 藤岡宏樹, 池田恵一, 武山 浩, 馬目佳信. 蛍光を使った甲状腺癌細胞検出法の開発と応用. 第55回日本甲状腺学会学術集会. 福岡, 11月.
- 13) 藤岡宏樹, 花田三四郎, 井上由理子, 白石貢一, 叶谷文秀, 馬目佳信. ナノマテリアルが脳に与える影響評価法の開発. 日本動物実験代替法学会第25回大会. 東京, 12月.
- 14) 高槻七生, 釘崎愛理, 栗山千秋, 藤岡宏樹, 鎌田美乃里, 池田恵一, 馬目佳信. 香料成分が与える皮膚細胞のマトリックスメタロプロテアーゼ調節効果. 日本食品科学工学会平成25年度関東支部大会. 東京, 3月.
- 15) 栗山千秋, 釘崎愛理, 高槻七生, 鎌田美乃里, 池田恵一, 馬目佳信, 藤岡宏樹. 匂い装置によるコーヒーの気相成分プロファイリングの試み. 日本食品科学工学会平成25年度関東支部大会. 東京, 3月.

遺 伝 病 研 究 講 座

教 授： 衛藤 義勝 小児科学・先天代謝異常学
客員教授：奥山 虎之 小児科学・臨床遺伝学

教育・研究概要

I. ライソゾーム病患者のスクリーニング法の検討

乾燥濾紙血を用いて, 全国患者からのファブリ病, ポンペ病, ムコ多糖症Ⅰ型, Ⅱ型の患者スクリーニングを施行し, ポンペ病, ファブリ病など患者を見出している。スクリーニングの対象としては,

1. 腎透析センターでの慢性透析患者を, スクリーニング陽性患者を見出している。今後更に全国からの透析施設からの依頼を受けファブリ病患者のハイリスクスクリーニングを継続検討している。

2. 東北地方でのファブリ病, ポンペ病, ムコ多糖症Ⅵのハイリスクスクリーニングを施行し, ファブリ病患者陽性例4名を検討中である。

3. 全国医療施設からの診断要請を行い, ファブリ病, ポンペ病, 先天性ムコ多糖症など十数名を白血球で診断している。全国の未治療患者を診断し, 酵素治療, 或いは低分子製剤での治療を開始する。

4. 脂肪肝患者の濾紙血を用いて酸性リパーゼ欠損症患者の診断を開始した。

II. ライソゾーム病の患者病態の検討

特にゴーシェ病, ファブリ病, ポンペ病, ムコ多糖症Ⅱ型患者での酵素補充療法での臨床効果, 臨床症状の特徴を検討し, 副作用, 尿中GL-3, 血清抗体価の推移と治療効果との関係などを臨床的に検討した。

III. ライソゾーム病の治療に関する研究

1. 酵素補充療法の中樞神経系に関する効果

特にムコ多糖症マウスに対する酵素投与を髄注で投与し, 酵素が肝臓, 脾臓などに取り込まれることを明らかにしている。

2. ライソゾーム病の治療効果と酵素抗体との関係を検討

特にファブリ病では血清抗体価の高い患者では尿中GL-3の排泄が低下しないことを見出した。

3. 遺伝子・細胞治療法の開発

ポンペ病, ファブリ病, MPSVⅡ型などのモデルマウスを用いてレンチウイルスベクター, AAVベクターでの基礎研究をこの数年行い, ヒトへの実現を目指している。