

18(6): 378-85.

- 2) Narui R, Tokuda M, Matsushima M, Isogai R, Tokutake K, Yokoyama K, Hioki M, Ito K, Tanigawa S, Yamashita S, Inada K, Shibayama K, Matsuo S, Miyayana S, Sugimoto K, Yoshimura M, Yamane T. Incidence and factors associated with the occurrence of pulmonary vein narrowing after cryoballoon ablation. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2017; 10(6): e004588.

Ⅲ. 学会発表

- 1) 関 正康, 藤沼康樹 (家庭医療学開発センター), 松島雅人, 太田貴子, 小此木英男, 常喜達裕, 三浦靖彦, 大野岩男. 家庭医療ブラッシュアッププログラム受講者の学習項目の検証. 第49回日本医学教育学会大会. 札幌, 8月.
- 2) 吉田秀平, 松島雅人, 藤沼康樹 (家庭医療学開発センター). 患者要因が医療者へ与える感情的影響と医療職種間の相違: 患者複雑性と医療者負担に関する前向きコホート研究. 第8回日本プライマリ・ケア連合学会学術大会. 高松, 5月.
- 3) 林 哲郎, 尾藤誠司 (東京医療センター), 松島雅人. 経腸栄養法の差異による身体影響に関する検討. 第8回日本プライマリ・ケア連合学会学術大会. 高松, 5月.
- 4) 金子 惇, 本村和久 (沖縄県立中部病院), 森 英毅 (長崎医療センター), 太田龍一 (雲南市立病院), 松澤廣希 (手稲家庭医療クリニック), 島袋 彰 (沖縄県立宮古病院), 松島雅人. 離島におけるプライマリ・ケア医のゲートキーパー機能: 14 離島での前向きコホート研究. 第8回日本プライマリ・ケア連合学会学術大会. 高松, 5月.

V. その他

- 1) Kaneko M, Ohta R (Unnan City Hosp), Nago N¹⁾, Fukushi M¹⁾ (¹ Musashi Kokubunji Park Clin), Matsushima M. (Systematic Review) Correlation between patients' reasons for encounters/health problems and population density in Japan: a systematic review of observational studies coded by the International Classification of Health Problems in Primary Care (ICHP-PC) and the International Classification of Primary care (ICPC). *BMC Fam Pract* 2017; 18(1): 87.

再生医学研究部

教授: 岡野ジェイムス洋尚 分子神経科学, 再生医学

教育・研究概要

再生医学研究部は、神経変性疾患・虚血性疾患等の難治性疾患に対する新規治療法の開発を目標に、遺伝子改変による疾患モデル動物、疾患 iPS 細胞、タイムラプス細胞イメージング技術、霊長類疾患モデル、非侵襲的生体イメージング技術などを駆使して基礎研究を行っている。

I. HuC 遺伝子改変による軸索変性モデルマウス

Hu タンパク質は、肺小細胞癌に伴う自己免疫性傍腫瘍性脳脊髄症の標的抗原として同定された因子であり、ショウジョウバエ Elav の哺乳類ホモログである。哺乳類には4種類の Hu 遺伝子が存在しており、ニューロンに特異的に発現する HuB, HuC, HuD は総称して nElavl (neuronal Elav like) と呼ばれる。nElavl の発現は、胎生期から成体期に至るまで、中枢および末梢神経系のほぼ全てのニューロンで高く維持されている nElavl は RNA の特定の配列を認識して結合する RNA 結合タンパク質である。核内では、未熟な RNA (hnRNA) に結合することで RNA の選択的スプライシングを制御し、最終産物であるタンパク質の「質の調節」を行っている。一方、細胞質では、成熟した RNA (mRNA) に結合することで RNA の安定性を制御し、タンパク質の「量の調節」を行っている。nElavl は配列特異的に RNA に結合し、GU リッチな配列を持つ RNA が標的となる。現在、少なくとも100個以上の Hu 標的 RNA が確認されているが、興味深いことにその多くはニューロンの軸索や樹状突起の構造・機能に関連する因子であることがわかっていく。nElavl の一つである HuC のノックアウト (KO) マウスは、正常に発育するが生後7ヶ月になると歩行障害などの運動失調症状を呈する。7ヶ月齢の HuC KO マウスの小脳プルキンエ細胞では、細胞体近傍の軸索が球状に肥大した変性像が見られ、投射先である小脳核との連絡が途絶えていることがわかった。電子顕微鏡解析により、球状に膨満した変性軸索の内部にはミトコンドリアや重積した膜オルガネラ、小胞体、時には核が充満し、細胞質に局在すべき細胞内小器官が軸索に流出している所見がみられた。これは軸索起始部 (Axon Initial Seg-

ment: AIS) に存在する細胞質／軸索拡散障壁の破綻を示唆している。また軸索輸送されることが知られる APP や NF-L も貯留していることから軸索輸送の障害も示唆された。7ヶ月齢の個体では、ブルキンエ細胞から小脳核への投射線維のほとんどが失われていたが、生後1ヶ月齢では、軸索は正常に投射しており、軸索の形態にも異常は認められなかった。このことから、小脳神経回路が正常に形成されたのちに遅発性にシナプス脱落を伴った軸索変性が起こり、失調症状が出現することがわかった (Ogawa Y, et al. Sci Rep 2018)。

II. RNA 結合タンパク質による軸索の恒常性維持機構

我々は、nElavl の標的 RNA であり、かつ軸索の変性に関連し得る因子として AnkyrinG に着目している。AnkyrinG はニューロンの軸索起始部 (AIS) に特異的に局在し、細胞体と軸索の境界にバリア機構を形成する重要な因子である。AIS は特有の分子群が集積した構造をもち、活動電位の発生のあると同時に、細胞体・軸索間の拡散障壁としての働きを持つ。マウスのニューロンにおいて拡散障壁は生後9日目までに完成するが、発生段階では軸索伸長に必要な構造タンパク質を大量に輸送する必要があるため拡散障壁がないほうが有利である。一方、成熟したニューロンにおいては軸索輸送障害の原因となり得る不必要な大型タンパク質の軸索への拡散を防ぐ必要がある。そのため拡散障壁の形成時期は、厳格にニューロン分化・成熟のタイムテーブルに従って制御されている。我々は障壁完成時期に一致して AIS の構造及び機能に必要な不可欠な足場タンパク質 AnkyrinG のスプライシングパターンが劇的に変化することを発見した。また HuC がエクソン 34 の選択的スプライシングを制御し、HuC KO マウスにおいてエクソン 34 の選択に異常が生じていることを明らかにした。AnkyrinG の発現量が低下したニューロンでは、バリア機構の機能低下により複数の細胞体タンパク質が軸索へ流出し、異常をきたすことが知られている。HuC KO マウスではこの機構が正常に働かなくなり、細胞内小器官が軸索へ流出し、軸索の変性が引き起こされたと考えられる。このように nElavl の機能解析から、AnkyrinG の選択的スプライシング制御機能および AnkyrinG の機能転換による拡散障壁形成の時間制御機構の一端が明らかになった (Ogawa Y, et al. Neurosci Res 2018)。

ヒトの変性疾患と同様に高年齢になってから発症

する HuC KO マウスはヒトの病態を研究する上で極めてユニークかつ有用な小脳変性モデル動物であり、軸索の変性および恒常性維持のメカニズムに関する多くの分子生物学的知見を与え、加齢に伴う軸索変性プロセスの分子機構の解明に貢献するだろう。

III. PARK17 由来 iPS 細胞を用いたパーキンソン病の病態解析

パーキンソン病は、振戦、筋固縮、無動、姿勢反射障害の四大運動症状を特徴とする難病である。神経変性疾患ではアルツハイマー型認知症に次ぎ多く、国内患者総数は14万人を超える。社会の高齢化に伴い患者総数は指数関数的に増加しており、根本的治療薬開発が強く求められている。常染色体優勢遺伝の形式をとる PARK17 はレトロマーの構成因子である VPS35 遺伝子変異を原因とする家族性パーキンソン病である。家族性の中では0.1%と比較的希だが、欧米諸国に比べると我が国では頻度が高い。PARK17 由来ヒト iPS 細胞はレトロマー機能障害モデルとして極めて重要なツールであるが、患者由来 iPS 細胞を用いた研究は我が国でまだ報告がなく世界でも2報のみである。我々は PARK17 家系の2症例から患者由来 iPS 細胞を樹立し病態研究を行ってきた。既存の方法を改変した手法でドパミン (DA) ニューロンを分化誘導し、DA ニューロンの陽性率を測定したところ、疾患群で優位に DA ニューロン (TH) 陽性率が優位に低下していた。これは患者由来 DA ニューロンが他の系統ニューロンよりも脆弱な可能性を示し、臨床、病理所見と合致した。さらに我々が開発した、レトロマーの動態を生細胞で評価できるイメージング系を用いて、レトロマーと Early endosome が近傍で接して一緒に動く様子が観察された。患者由来細胞においては Early endosome の細胞内移動速度が低下する現象が観察された。これらの結果から PARK17 患者細胞ではレトロマーの機能低下による細胞内物質輸送障害が起こっている可能性が極めて高いことがわかった。

「点検・評価」

再生医学研究部の構成員は教授1名、助教3名、大学院生8名（血管外科、神経内科、腎臓・高血圧内科、耳鼻咽喉科・頭頸部外科、小児科、聖マリアンナ医科大耳鼻咽喉科からの再派遣）、研究補助員3名である。皮膚科学講座、内科学講座、外科学講座、小児科学講座、耳鼻咽喉科学講座をはじめとす

る学内臨床講座のみならず、慶應義塾大学、星薬科大学、東京大学農学部、京都大学霊長類研究所、順天堂大学、放射線医学総合研究所、実験動物中央研究所、理化学研究所、産業技術総合研究所、Mayo Clinic、Rockefeller 大学、Monash 大等の研究機関と積極的に共同研究を行っており、専門科を越えた多角的研究を展開している。これらの共同研究の成果を原著論文として発表した (Ogawa Y, et al. Sci Rep 2018, Ogawa Y, et al. Neurosci Res 2018, Kurihara S, et al. J Vis Exp 2018, Yamanaka S, et al. Nat Commun 2017)。

再生医学研究部では、京都大学霊長類研究所、東京大学農学部と共同で霊長類における痛みの表情解析による他覚的疼痛測定系の構築を行っている。また慶應義塾大学と共同で、小型霊長類マーモセットを用いた感覚難聴モデルの作成、内耳への薬剤投与を目的とした手術法の開発 (Kurihara S, et al. J Vis Exp 2018)、有毛細胞再生を目指した薬剤投与実験を行っており、関連する2件の特許を取得した。また学内では、患者細胞の解析やiPS細胞の作成を積極的に行っており、内科学講座（神経内科）と共同で遺伝的背景が極めて強いパーキンソン病患者のiPS細胞を作製し、誘導した神経系細胞を用いた細胞生物学的解析を行った。

再生医学は多くの臨床分野への応用が可能であるため、本学における臨床・基礎橋渡し研究の発展に貢献していきたいと考えている。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Yamanaka S, Tajiri S, Fujimoto T, Matsumoto K, Fukunaga S, Kim BS, Okano HJ, Yokoo T. Generation of interspecies limited chimeric nephrons using a conditional nephron progenitor cell replacement system. Nat Commun 2017; 8(1): 1719.
- 2) Kurihara S, Fujioka M¹⁾, Yoshida T, Koizumi M, Ogawa K¹⁾ (¹ Keio Univ), Kojima H, Okano HJ. A surgical procedure for the administration of drugs to the inner ear in a non-human primate common marmoset (*Callithrix jacchus*). J Vis Exp. 2018; 132.
- 3) Ogawa Y, Kakumoto K¹⁾, Yoshida T¹⁾, Kuwako K¹⁾, Miyazaki T²⁾, Yamaguchi J³⁾, Konno A⁴⁾, Uchiyama Y³⁾ (³ Juntendo Univ), Hirai H⁴⁾ (⁴ Gunma Univ), Watanabe M²⁾ (² Hokkaido Univ), Darnell RB (Rockefeller Univ), Okano H¹⁾ (¹ Keio Univ), Okano HJ. Elavl3 is essential for the maintenance of Purkinje neuron axons. Sci Rep 2018; 8(1): 2722.
- 4) Ogawa Y, Yamaguchi J¹⁾, Yano M (Niigata Univ), Uchiyama Y¹⁾ (¹ Juntendo Univ), Okano HJ. Elavl3 regulates neuronal polarity through the alternative splicing of an embryo-specific exon in AnkyrinG. Neurosci Res 2018 Mar 31. [Epub ahead of print]

II. 総説

- 1) 藤岡正人¹⁾, 正島啓吾¹⁾, 岡野ジェイムス洋尚, 若林健一郎¹⁾, 山田雅之 (藤田保健大), 大石直樹¹⁾, 畑 純一¹⁾, 小川 郁¹⁾ (¹ 慶應義塾大). 小型霊長類コモンマーモセットの側頭骨局所解剖に関する画像解析. Otol Jpn 2017; 27(5): 680-8.

IV. 著書

- 1) 小川優樹, 岡野ジェイムス洋尚, Hu (nElavl) タンパク質. 脳内環境辞典. 高橋良輔 (京都大), 山中宏二 (名古屋大), 樋口真人 (量子科学技術研究開発機構), 漆谷 真 (滋賀医科大) 編. 大阪: メディカルドゥ, 2017. p.112-3.