

日本生化学会東北支部
第 86 回例会・シンポジウム
プログラム・講演要旨集

主催：日本生化学会
令和 2 年 5 月 30 日（土）
郡山商工会議所 6 階「ホール」

日本生化学会東北支部第 86 回例会・シンポジウム実行委員会

支 部 長：松 沢 厚（東北大学大学院薬学研究科 教授）
世 話 人：加 藤 靖 正（奥羽大学歯学部 教授）
実行委員：前 田 豊 信（奥羽大学歯学部 准教授）
 鈴木 厚 子（奥羽大学歯学部 講師）
 小林美智代（奥羽大学歯学部 講師）
 大須賀謙二（奥羽大学歯学部 講師）
 古 山 昭（奥羽大学歯学部 講師）
 川 嶋 雅 之（奥羽大学歯学部 助手）
 神 林 直 大（奥羽大学歯学部 助手）

協賛企業

富士フイルム和光純薬株式会社
株式会社千代田テクノル
株式会社マトリクスーム
株式会社ニッピ
株式会社小関秀雄商店
スリービーシステムズ株式会社

講演者、発表者、参加者の皆様へのご案内

- **受付開始：5月30日（土）8:00～（郡山商工会議所 6階ホール前）**
 - ・ 参加される方は、会場での名札着用をお願いします。名札とネームホルダーは、当日受付にてお受け取り下さい。

- **一般口頭発表の方へ**
 - ・ 学生口頭発表は、講演8分質疑応答2分、一般口頭発表は、講演9分質疑応答3分です。スケジュールがタイトですので、発表時間厳守をお願いします。
 - ・ 発表者の方は、各自のPCをご持参ください。プロジェクターには、VGA端子(D-Sub14端子)を介して接続します。変換コネクタが必要な方は、各自でご持参くださいますようお願い申し上げます。
 - ・ セッション前の休憩時間にPCを、スリープ機能等を解除の上、会場前方のスライド係にお渡しください。またこの時間を利用して、簡単な試写をさせていただきます。

- **ポスター発表の方へ**
 - ・ ポスター会場は、講演会場後方のご入場ください。
 - ・ ポスターの掲示スペースは、横100cm×縦170cmになります。
 - ・ ポスター掲示は、10:00までに所定の場所に掲示してください。
 - ・ ポスター発表は、12:40～13:10までが討論時間です。ポスター前にて自由討論をお願いいたします。
 - ・ ポスターの撤去は、発表終了後から16:00までをお願いいたします。時間を過ぎても掲示してあるポスターは、事務局にて撤去いたします。

- **評議委員会に出席される方へ**
 - ・ 評議委員会は5階会議室にて、12:00～12:40の予定で開催されます。出席される方にはお弁当を用意いたします。

- **懇親会へ参加される方へ**
 - ・ 懇親会会場は、姑娘飯店3階です。
 - ・ 懇親会費は、一般6,000円で、学生は無料です。当日受付にてお支払いください。領収書を発行いたします。

会場周辺案内図

J R郡山駅より徒歩約 10 分

郡山駅「中央口（西口）」を出て、駅前大通り（アーケード街）を直進し「郡山駅入り口交差点」まで進んでください。

「郡山駅入り口交差点」以降の経路

経路1)「郡山駅入り口交差点」の歩道橋を渡ってさらに直進(緩い上り坂)して1つ目の信号を左折してください。

経路2)「郡山駅入り口交差点」を左折(歩道橋を渡って左折),安積国造神社前を過ぎて最初の信号機のない交差点を右折.



地図データ ©2020 100 m 

タイムテーブル

		時間	大ホール	小ホール	会議室 (5F)	姑娘 飯店
8:00	受付開始					
8:27	開会のあいさつ	8:27 - 8:30	世話人 加藤靖正	ポ ス タ ー 掲 示 と フ リ ー ビ ュ ー イ ン グ		
8:30	Session 1 座長: 倉田祥一郎	8:30 - 8:40 8:40 - 8:50 8:50 - 9:00 9:00 - 9:10	O-01 大石哲也 O-02 川上耕季 O-03 菅野琴華 O-04 柴田剛明			
9:10	Session 2 座長: 西山賢一	9:10 - 9:20 9:20 - 9:30 9:30 - 9:40 9:40 - 9:50	O-05 平塚寿々音 O-06 根本和也 O-07 上村盛弥 O-08 唐 暢			
9:50	休憩	9:50 - 10:00	休憩			
10:00	Session 3 座長: 涌井秀樹	10:00 - 10:10 10:10 - 10:20 10:20 - 10:30 10:30 - 10:40	O-09 高橋由紀子 O-10 高橋花乃子 O-11 横沢拓海 O-12 見目 悠			
10:40	Session 4 座長: 田中耕三	10:40 - 10:50 10:50 - 11:00 11:00 - 11:10 11:10 - 11:20	O-13 高谷英子 O-14 赤地鈴蘭 O-15 古谷千香子 O-16 中井 琢			
11:20	Session 5 座長: 田口友彦	11:20 - 11:30 11:30 - 11:40 11:40 - 11:50 11:50 - 12:00	O-17 湊 隆文 O-18 櫻井 誠 O-19 井上 綾 O-20 朽津芳彦			
12:00	昼食、役員会	12:00 - 12:40	昼食		役員会	
12:40	ポスター討論	12:40 - 13:10		Discussion		
13:10	Session 6 座長: 伊藤英晃	13:10 - 13:20 13:20 - 13:32 13:32 - 13:44 13:44 - 13:56	O-22 樋野真帆 O-23 宮崎珠子 O-24 池田真教 O-25 斎藤将樹			
13:56	Session 7 座長: 久場敬司	13:56 - 14:08 14:08 - 14:20 14:20 - 14:32 15:32 - 14:44	O-26 松元奈緒美 O-27 山口智和 O-28 川畑伊知郎 O-29 安 健博			
14:44	Session 8 座長: 福田光則	14:44 - 14:56 14:56 - 15:08 15:08 - 15:20 15:20 - 15:32	O-30 堀内 真 O-31 永長一茂 O-32 伊藤 剛 O-33 澤田崇広			
15:32	休憩	15:32 - 15:50	休憩			
15:50	受賞講演 座長: 松沢 厚	15:50 - 16:05 16:05 - 16:20 16:20 - 16:35	受賞講演 1 安田大恭 受賞講演 2 白川龍太郎 受賞講演 3 関根弘樹			
16:35	表彰式・休憩	16:35 - 16:45	表彰式・休憩			
16:55	特別講演 座長: 加藤靖正	16:55 - 17:30 17:30 - 18:05	特別講演 1 平塚佐千枝 特別講演 2 園下将大			
18:05	感謝状贈呈	18:05 - 18:10	感謝状贈呈			
18:10	閉会の辞	18:05 - 18:15	世話人 加藤靖正			
18:40	懇親会	18:40 - 20:40				懇親会

プログラム

8:00 受付開始

8:27 開会の挨拶（世話人 加藤靖正）

8:30 Session 1 座長：倉田祥一郎（東北大学大学院薬学研究科）

O-01 KEAP1 の抑制による NRF2 経路の活性化がもたらす加齢性難聴の予防効果の検討

○大石哲也^{1,2}、松丸大輔³、北村大志¹、本蔵陽平²、香取幸夫²、本橋ほづみ¹
（¹東北大学加齢医学研究所 遺伝子発現制御分野、²東北大学大学院医学系研究科 耳鼻咽喉・頭頸部外科、³岐阜薬科大学 生命薬学大講座 衛生学研究室）

O-02 GPCR キナーゼ(GRK)を介した G タンパク質依存的な β アレスチン制御メカニズムの発見と解析

○川上耕季¹、平塚寿々音¹、青木淳賢^{1,2,3}、井上飛鳥^{1,3}（¹東北大・院薬・分子細胞生化学、²東大・院薬・衛生化学、³AMED-LEAP）

O-03 TatABC と糖脂質 MPIase による TAT (Twin-Arginine Translocation) 膜透過の完全再構成 **最優秀口頭発表賞**

○菅野琴華¹、西川華子²、沢里克宏²、山田美和¹、西山賢一^{1,2}（¹岩手大・農・応用生物化学科、²岩手大院・連合農学研究科）

O-04 ゼブラフィッシュを用いたリン脂質 *snr-1* 位ステアリン酸導入酵素 LPGAT1 の雄性生殖における機能解明

○柴田剛明^{1,2}、川名裕己^{2,3}、青木淳賢^{2,3}（¹東北大院・薬・分子細胞生化学、²東大院・薬・衛生化学、³AMED-LEAP）

9:10 Session 2 座長：西山賢一（岩手大学農学部）

O-05 オピオイド受容体作動薬の副作用発現における分子メカニズムの解析

○平塚寿々音¹、川上耕季¹、吉田美沙紀¹、青木淳賢^{2,3}、井上飛鳥^{1,3}（¹東北大・院薬・分子細胞生化学、²東大・院薬・衛生化学、³AMED-LEAP）

O-06 ショウジョウバエ成虫原基における運命転換現象を制御する新規シグナル伝達経路

○根本和也¹、増子恵太¹、布施直之¹、倉田祥一郎¹（¹東北大院・薬・生命機能解析学分野）

O-07 ヒト全長 Arylhydrocarbon receptor (AhR)の生化学的性質 **優秀口頭発表賞**

○上村盛弥、中島康智、吉田雄毅、松谷 駿、川手慎也、古屋もろこ、池田駿一、Ewa Grave、涌井秀樹、伊藤英晃（秋田大学大学院 理工学研究科 総合理工学専攻生命科学コース）

O-08 ゲノム機能解析による自然免疫の記憶の解明

○唐暢¹、岡森千咲¹、倉田祥一郎¹、布施直之¹（¹東北大・薬・生命機能解析学分野）

9:50 休憩

10:00 Session 3 座長：涌井秀樹（秋田大学大学院・理工・生命科学）

O-09 二機能性融合タンパク質 DahX の tRNA 編集活性

○高橋由紀子¹、中鉢千尋¹、野々山翔太¹、佐藤優花里¹、永田裕二¹（¹東北大・大学院・生命科学研究科）

O-10 リン酸化 STING を認識するモノクローナル抗体の作製とその細胞生物学的応用

○高橋花乃子¹, 湯本瑛亮¹, 高谷英子¹, 進藤瑠璃¹, 高阿田有希¹, 篠島あゆみ¹, 堀口雛¹, 朽津芳彦¹, 植松黎², 向井康治朗¹, 田口友彦^{1,3} (1 東北大院・生命・細胞小器官疾患学, 3AMED-PRIME)

O-11 自然免疫応答における新たな RING 型ユビキチン化酵素 LINCR の機能的役割
優秀口頭発表賞

○横沢拓海, 灘 雄貴, 平田祐介, 野口拓也, 松沢 厚 (東北大・院薬・衛生化学)

O-12 自然免疫分子 STING は trans-Golgi network において下流キナーゼ TBK1 をリクルートする

○見目悠¹, 向井康治朗¹, 田口友彦¹ (1 東北大・生命・細胞小器官疾患学分野)

10:40 Session 4 座長：田中耕三（東北大学加齢医学研究所）

O-13 cGAMP 依存的な STING の多量体形成

○高谷英子¹, 向井康治朗¹, 田口友彦^{1,2} (1 東北大院・生命・細胞小器官疾患学, 2AMED-PRIME)

O-14 スズメ乳酸脱水素酵素 (LDH-B) のアミノ酸配列の解析

○赤地鈴蘭, 東岡陽菜, 小山内清香, 松村洋寿, 尾高雅文, 涌井秀樹 (秋田大院・理工・生命科学)

O-15 結晶性円柱腎症患者に由来する尿中 Bence Jones Protein の構造解析

○古谷千香子, 古川裕介, 中垣尊, 小山内清香, 松村洋寿, 尾高雅文, 涌井秀樹 (秋田大院・理工・生命科学)

O-16 低酸素誘導転写因子 HIF を活性化する薬剤が病態腎の赤血球造血因子産生を再活性化する機序の検討

○中井 琢, 加藤 幸一郎, 鈴木 教郎 (東北大院・医・酸素医学)

11:20 Session 5 座長：田口友彦（東北大学大学院生命科学研究科）

O-17 Identification of B38-CAP as an ACE2-like enzyme to suppress hypertension and cardiac dysfunction in mice **優秀口頭発表賞**

○湊 隆文¹, 佐藤輝紀^{1,2}, 菰澤 悟³, 山口智和¹, 今井由美子⁴, 高橋砂織⁵, 渡邊博之², 久場敬司¹ (1 秋田大・院医・分子機能, 2 秋田大・院医・循内, 3 国際農林水産業研究センター, 4 医薬基盤・健康・栄養研, 5 秋田県総合食品研究センター)

O-18 3T3-L 1 脂肪前駆細胞を用いた東北産食品成分のインスリン感受性増強効果の検討

○櫻井 誠, 会津衣久美, 大庭侑子, 外崎麻莉那, 益見厚子 (青森大・薬・分子薬理学)

O-19 トランス脂肪酸による DNA 損傷誘導性細胞死の促進作用とその分子機構の解明

○井上綾, 平田祐介, 野口拓也, 松沢厚 (東北大・院薬・衛生化学)

O-20 ミクロオートファジーによる自然免疫分子 STING のリソソーム分解

○朽津芳彦¹, 高阿田有希¹, 向井康治朗¹, 田口友彦¹ (1 東北大・生命・細胞小器官疾患学分野)

12:00 昼食、役員会 ポスタービューイング

12:40 ポスターディスカッション

13:10 Session 6 座長：伊藤英晃（秋田大学大学院理工学研究科）

O-21 新規分子 CAMP による分裂期細胞死制御機構の解明

○樋野真帆¹, 家村顕自¹, 田中耕三¹ (¹ 東北大・加齢研・分子腫瘍学分野)

O-22 ウシ尿中黄体形成ホルモンの検出

○宮崎珠子¹, 上野山怜子¹, 山下哲郎¹, 平田統一², 宮崎雅雄¹ (¹ 岩手大・農・応用生物化学、² 岩手大・農・寒冷フィールドサイエンス教育研究センター)

O-23 物性学的視点から捉える細胞周期制御因子 CAMP の機能制御

○池田真教¹, 成田知恕², 清水将裕², 古寺哲幸², 田中耕三¹ (¹ 東北大・加齢研・分子腫瘍、² 金沢大・WPI-NanoLSI)

O-24 一次繊毛の短縮・消失と細胞周期再駆動における MAST4 の役割の解明

○斎藤将樹, 阪路健祐, Sara Ebrahimi Azar, 佐藤岳哉 (東北大学 大学院医学系研究科 分子薬理学分野)

13:56 Session 7 座長：久場敬司（秋田大学大学院医学系研究科）

O-25 大理石病患者由来 V-ATPase a3 アイソフォーム変異が破骨細胞の機能に与える影響

○松元奈緒美¹, 松川令奈¹, 高橋翔平¹, 工藤昂士¹, 和田（孫）戈虹², 和田洋³, 中西（松井）真弓¹ (¹ 岩手医大・薬・機能生化学、² 同志社女大・薬・生化学、阪大・産研)

O-26 圧負荷心不全における CNOT6L 脱アデニル化因子の抗線維化作用の解明

○山口智和¹, 佐藤輝紀^{1,2}, 湊隆文¹, 安健博¹, 星崎みどり³, 渡邊博之², 今井由美子³, 山本雅⁴, 久場敬司¹ (¹ 秋田大院・医・分子機能学・代謝機能学、² 秋田大院・医・循環器内科学呼吸器内科学、³ 医薬基盤・健康・栄養研究所、⁴ 沖縄科学技術大学院大学 細胞シグナルユニット)

O-27 Novel regulatory mechanism of α -Synuclein uptake in dopaminergic pathogenesis by fatty acid-binding protein FABP3

○Ichiro Kawahata¹, Luc Bousset², Ronald Melki², Kohji Fukunaga¹ (¹ Dept. Pharmacol., Grad. Sch. Pharm. Sci., Tohoku Univ., ² Lab. Neurodeg. Dis., CEA, Inst. François Jacob and CNRS)

O-28 MRTF-A はマクロファージ機能を制御して動脈硬化形成に関わる

○安 健博^{1) 2)}, 成瀬妙子²⁾, 日野原邦彦²⁾, 副島友莉恵³⁾, 沢辺元司³⁾, 中川靖章⁴⁾, 桑原宏一郎⁵⁾, 久場敬司¹⁾, 木村彰方²⁾ (¹⁾ 秋田大学大学院医学系研究科 分子機能学・代謝機能学講座, ²⁾ 東京医科歯科大学難治疾患研究所 分子病態分野, ³⁾ 東京医科歯科大学大学院保健衛生学研究科 分子病態検査学分野, ⁴⁾ 京都大学医学部 循環器内科, ⁵⁾ 信州大学医学部 循環器内科)

14:44 Session 8 座長：福田光則（東北大学大学院生命科学研究科）

O-29 Nrf2 の活性化が制御する食道異形成とがんの進展

○堀内真^{1,2}, 田口恵子¹, 土田恒平¹, 鈴木未来子³, 谷山裕亮², 亀井尚², 山本雅之¹ (¹ 東北大院・医・医化学分野, ² 消化器外科学, ³ ラジオアイソトープ)

O-30 食食受容体による癌予防に関する研究

○永長一茂¹, 張敏², 西千恵子³, 中井雄治¹, 白土明子⁴, 中西義信^{2,3}
(¹弘前大学・地域戦略研究所・食料科学研究部門, ²金沢大学・医薬保健学総合研究科・創薬科学専攻, 金沢大学・医薬保健学域・薬学類, ⁴札幌医科大学・医療人育成センター・教養教育部門)

O-31 腫瘍進行における GMN (Giant and / or Multi-Nucleated) 癌細胞の動態解析

○伊藤剛¹, 福士由真², 高金くらら¹, 田中正光¹ (¹秋田大院・医・分子生化学、²秋田大・理・生命科学)

O-32 前立腺がんにおける KLK3 遺伝子発現を担うアンドロゲン誘導性 enhancer RNA 群の性状

澤田崇広^{1,2}, 西村耕一^{1,2}, 森甚一^{1,2,3}, 山下かおり³, 越智満久³, 新村浩明³, ○加藤茂明^{1,2} (¹医療創生大学院 生命理工学研究科, ²公益法人ときわ会先端医学研究センター, ³ときわ会常磐病院)

15:32 休憩

15:50 受賞講演 座長：松沢 厚

奨励賞受賞講演 1

新規プレニル転移酵素 GGT3 の分子機能解析

○白川龍太郎 (東北大学加齢医学研究所基礎加齢研究分野)

奨励賞受賞講演 2

誘導的転写活性化因子群の分子基盤解析

○関根弘樹 (東北大学加齢医学研究所遺伝子発現制御分野)

優秀論文賞受賞講演

Lysophosphatidic acid-induced YAP/TAZ activation promotes developmental angiogenesis by repressing Notch ligand Dll4

○安田大恭 (秋田大学 大学院医学系研究科 生体防御学講座)

16:35 表彰式・休憩

16:55 特別講演 座長：加藤靖正

特別講演 1

血管透過性とがん転移

○平塚佐千枝 (信州大学医学部 バイオメディカル研究所, 分子医化学教室)

特別講演 2

個体レベルの遺伝学に立脚した新規創薬手法

○園下 将大 (北海道大学遺伝子病制御研究所 がん制御学分野)

08:05 感謝状贈呈

18:10 閉会の辞 世話人 加藤靖正

写真撮影後移動

18:40 懇親会 (姑娘飯店)

ポスター発表

- P-01** NMR 法と分子動力学計算による非環状糖鎖成分リビトールのコンホメーション解析
○大野詩歩¹, 真鍋法義¹, 山口芳樹¹ (1 東北医薬大・薬・薬品物理化学)
- P-02** 有機塩素系殺虫剤分解細菌由来 MCE トランスポーターの活性制御に関わるタンパク質間相互作用の解析
○佐藤優花里¹, 尾形拓哉¹, 永田裕二¹ (1 東北大・大学院・生命科学研究科)
- P-03** マクロファージ由来の細胞外小胞エクソソームの TNF- α による変化について
○鍵谷忠慶¹ (1 岩手医大・歯・機能形態学分野)
- P-04** Mon1-Ccz1 非依存的な新規エンドソーム成熟機構の発見
○平城柊¹, 本間悠太¹, 酒巻有里子², 松井貴英¹, 福田光則¹ (1 東北大学・大学院生命科学研究科・膜輸送機構解析分野, 2 東京医科歯科大学・リサーチコアセンター・組織解析ユニット)
- P-05** 真核生物の Cds (CDP ジアシルグリセロールシンターゼ) ファミリーはタンパク質膜挿入に関わる糖脂質 MPIase の生合成能をもつ **優秀ポスター発表賞**
○関谷優晟, 沢里克宏, 西山賢一 (岩手大・農)
- P-06** 光クロスリンク技術を用いた自然免疫分子 STING の結合タンパク質の探索
○進藤瑠璃¹, 樋野展正², 土井健史², 向井康治朗¹, 田口友彦^{1,3} (1 東北大院・生命・細胞小器官疾患学, 2 大阪大院・薬・生命情報解析学, 3 AMED-PRIME)
- P-07** アトピー性皮膚炎に対する新規治療薬 AhR 抑制剤の探索
○枝光智大^{1,2}, 田口恵子¹, 奥山隆平², 山本雅之¹ (1 東北大・医・医化学, 2 信州大・医・皮膚科学)
- P-08** トランス脂肪酸による細胞老化促進作用とその分子機構の解明
○平田祐介, 蘆田諒, 井上綾, 野口拓也, 松沢厚 (東北大・院薬・衛生化学)
- P-09** Effects of NRF2 Activation on Aging Phenotypes of Salivary Glands
○ Sisca Meida Wati, Daisuke Matsumaru, Hozumi Motohashi (Department of Gene Expression Regulation, Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University)
- P-10** シスプラチン誘導性アポトーシスにおける TRAF2 の機能的役割
○島田竜耶¹, 土田芽衣¹, 横沢拓海¹, 平田祐介¹, 野口拓也¹, 松沢厚¹ (1 東北大・院薬・衛生化学)
- P-11** ネコ科動物にマタタビ反応を誘起する活性物質の同定 **最優秀ポスター発表賞**
○上野山怜子¹, 室岡孝信¹, 安立昌篤², 小野田伊吹³, 山下哲郎¹, 西川俊夫³, 宮崎雅雄¹ (1 岩手大院・総合科学・農, 2 東北大・薬, 3 名古屋大院・生命農)
- P-12** ヒスタチンがマトリックスメタロプロテアーゼ分泌に及ぼす影響
○金子良平¹, 山森徹雄^{1,2}, 前田豊信^{1,4}, 鈴木厚子⁴, 内山梨夏¹, 加藤靖正^{3,4} (奥羽大院・歯・1 口腔機能回復学, 3 口腔生理生化学, 奥羽大・歯・2 歯科補綴学, 4 口腔機能分子生物学)
- P-13** シンデカン 4 遺伝子の発現制御機構に関わる主要転写因子の探索
○岡崎 優, 磯 直輝, 岸 承俊, 小野泰誠, 渡邊大輔, 牛抱和也, 那谷耕司, 高橋 巖 (岩手医大・薬・臨床医化学分野)
- P-14** マウス膵臓ランゲルハンス島インスリン産生 β 細胞におけるシンデカン 4 の機能解析
○牛抱和也, 渡邊大輔, 小野泰誠, 岸 承俊, 岡崎 優, 那谷耕司, 高橋 巖 (岩手医大・薬・臨床医化学分野)

- P-15 間質細胞と癌細胞が協調した MMPs 産生と活性化および、癌進展への関与**
○福士由真¹, 伊藤剛², 高金くらら², 田中正光² (1 秋田大・理工・生命科学、² 秋田大院・医・分子生化学)
- P-16 癌幹細胞関連遺伝子 BEX2 の肝臓癌における役割**
○福士大介^{1,2}, 佐藤賢一², 玉井恵一¹ (1 宮城県立がんセンター研究所がん幹細胞研究部、² 東北医科薬科大学消化器内科)
- P-17 加齢に伴う初代線維芽細胞の染色体安定性変化の実態とその分子基盤の解明**
○陳冠¹, 家村顕自², 田中耕三^{1,2} (1 東北大学医学系研究科、² 東北大学加齢医学研究所)
- P-18 アルツハイマー病モデルマウスにおける Nrf2 誘導剤 CDDO-Im の効果**
○門口詩織¹, 齊藤律水^{1,2}, 三枝大輔², 宇留野晃^{1,2}, 山本雅之^{1,2} (1 東北大学・医・化学分野、² 東北大学・東北メディカル・メガバンク機構・ゲノム解析部門)
- P-19 GATA2 変異に起因する遺伝子発現調節異常の網羅的解析**
○竹中佑太¹, 長谷川敦史¹, 清水律子¹ (1 東北大・医・分子血液学分野)
- P-20 ApoER2 スプライシングによるセレノプロテイン P 取込効率制御** **優秀ポスター発表賞**
○水野彩子¹, 堤良平¹, 斎藤芳郎¹ (1 東北大院・薬・代謝制御薬学分野)
- P-21 スフィンゴミエリナーゼ C の酵素反応至適 pH、温度の構造的側面**
○濱名宏章¹, 杉森大助², 村山和隆¹ (1 東北大院・医工・分子構造解析分野、² 福島大院・共生システム理工学)
- P-22 血漿セレン含有タンパク質セレノプロテイン P 発現と脂質代謝**
○市川貴之¹, 堤良平¹, 斎藤芳郎¹ (1 東北大院・薬・代謝制御薬学分野)
- P-23 内分泌細胞の高コレステロール組成分泌顆粒膜に結合するタンパク質群を探索する**
○安達美喜¹, 渡辺剛², 穂坂正博¹ (1 秋田県立大学・生物資源科学研究科、² 旭川医科大学・解剖学講座)
- P-24 ヘム生合成系初発酵素 5-アミノレブリン酸合成酵素 1(ALAS1)遺伝子破壊マウスにおけるグルコース刺激インスリン分泌異常**
○武田和也^{1,2}, Koen van Wijk¹, 木村朋寛¹, 岡野 聡¹, 斎藤真一³, 山口浩明², 児玉 健⁴, 高橋 究⁵, 田中 徹⁵, 中島元夫⁵, 中島 修¹ (1 山形大・医・遺伝子実験セ, ² 山形大院・医・創薬科学, ³ 山形大・医・免疫学, ⁴ ネオファーマージャパン(株), ⁵ SBI ファーマ(株))
- P-25 Establishment of Hmox1-DsRed reporter mouse system**
○Anqi Zhang¹, Saki Adachi¹, Tomonori Hosoya², Ken Itoh², Takafumi Suzuki¹, Masayuki Yamamoto¹ (1 Department of Medical Biochemistry, Tohoku University Graduate School of Medicine, ² Department of Stress Response Science, Hirosaki University Graduate School of Medicine)
- P-26 セフェム系抗菌薬による腎毒性発現機構の解明** **優秀ポスター発表賞**
○鍵 智裕¹, 関口 雄斗¹, 平田 祐介¹, 野口 拓也¹, 松沢 厚¹ (1 東北大・院薬・衛生化学)
- P-27 浄法寺生漆に含まれる HSET 過剰発現分裂酵母株に作用する生物活性物質と構造活性相関**
○小野寺拓夢¹, 栗澤尚瑛¹, 湯川格史^{2,3}, 登田隆^{2,3}, 木村賢一¹ (1 岩手大院・総合科学、² 広島大院・総合生命科学、³ 広島大・健康長寿)

特別講演 1

血管透過性とがん転移

平塚 佐千枝

信州大学医学部 バイオメディカル研究所
分子医化学教室



がん、特に固形がん（癌）の発生や転移について、これまで分かっていること、どのような研究が行われているのかについて述べさせて頂きたいと思います。生体においては多岐にわたる分子が登場しますが、今回はシンプルに“血管”を中心に、“質問と答え”で考えてみたいと思います。

癌（腫瘍）が原発巣で増大する時、あるいは転移する時には、まず既存の血管と連結する必要があります。これが血管新生で、腫瘍血管によって癌組織は栄養され、腫瘍内に血管から浸潤する様々な細胞群が参加して増大していくことが分かっています。良く知られた腫瘍血管新生因子は、血管内皮細胞増殖因子（VEGF）で、癌細胞と癌を構成する間質細胞から分泌され、腫瘍内に血管を急速に発達させていきます。この VEGF は別名血管透過性因子(VPF)とも呼ばれ、腫瘍血管は正常血管と比較して、幼弱である上に血管透過性が亢進した、言い換えると漏れやすい血管になっています。

質問1つ目は一腫瘍血管を枯渇することができれば、原発の癌の増大を止めることができるでしょうか？答えは“完全に腫瘍血管をつぶせば可能なはず”ですが難しいです。これまでに VEGF の阻害剤や、腫瘍に特異的な血管新生阻害剤の試みがなされてきましたが、腫瘍組織内は炎症状態にあり、すでに他の細胞や因子が参加してきてしまっているので、できあがってしまった腫瘍血管を完全に消失させることは困難と捉えられています。しかしながら腫瘍血管を塞栓させる、血管障害により縮小させる、とにかく原発巣を少しでも取り除くことが必要です。

腫瘍血管は組織にもよりますが、原発癌が数 mm の大きさで、癌細胞はすでに血管に入り込んで (intravasation)、全身を循環し始めることが分かっています。しかしこの段階では全ての癌細胞が、転移先の臓器に浸潤する力を持っている訳ではありません。転移先の組織に到達した癌細胞は、血管から組織に浸潤して(extravasation)生着し、増大を始めます。転移です。ここで血管透過性亢進を考える必要が出てきます。

質問の2つ目は一転移先の血管から組織に浸潤する場面をブロックできる方法はないのでしょうか？答えは“原発巣に気づいた段階で、血管透過をブロックできれば転移のリスクは下がる”が難しいです。ここで VEGF を代表として再度考えてみましょう。癌細胞は VEGF

を分泌し、転移先の血管内皮細胞の間隙を開け、透過性を亢進させて転移先の組織に浸潤しようします。理論的には VEGF 阻害剤でブロックすることが望ましいのですが、血管は生体恒常性機能をもっているため、持続的にブロックできずに薬剤の効果が薄れた時間に、反動により透過性亢進がおきる結果が出ています。

原発巣の影響により、癌が転移する前に、遠隔臓器に転移に有利な土壌を作るという興味深い現象が存在します。これが転移前土壌 (Pre-metastatic soil) です。メカニズムでいくつか分類されます。

A 原発巣から、サイトカイン、ケモカイン、エクソソーム、核酸などが分泌され、転移予定組織の血管内皮細胞や、組織常在細胞を刺激して、転移土壌を形成する場合¹⁻³⁾。

B 骨髄からの免疫担当細胞が肺に動員され、この細胞群に後々癌が生着する場合⁴⁾

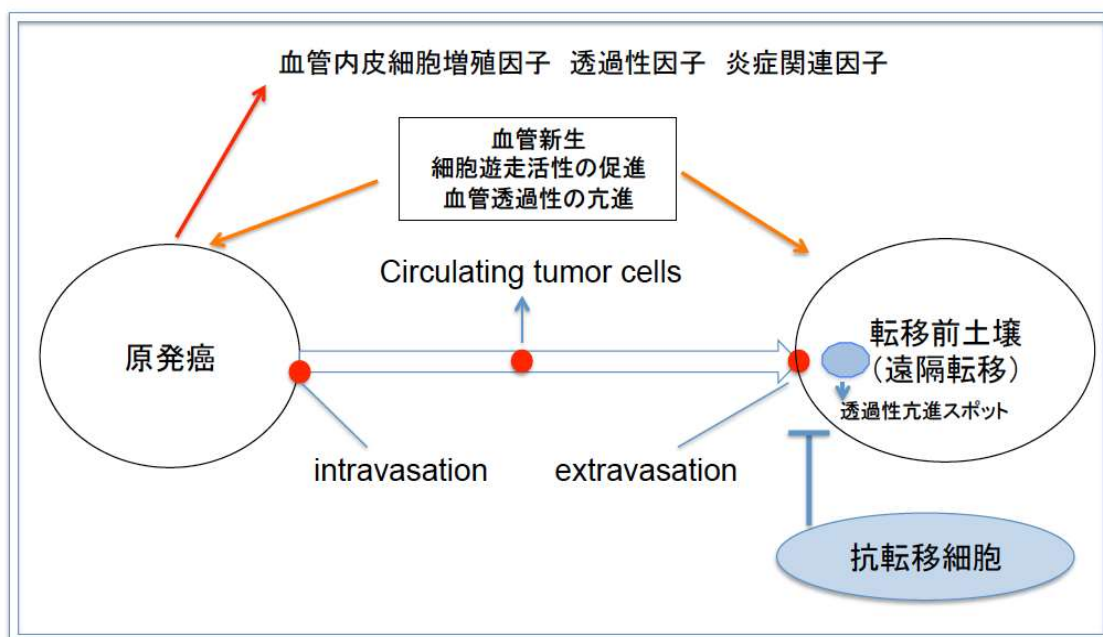
C 原発巣が低酸素状態になり、発現誘導された分子が関与する場合⁶⁾

D 癌に伴う慢性的な炎症状態が、転移予定組織の血管構築を不可逆的に破壊して血管透過性を上昇させる場合⁷⁾

E 転移予定組織の炎症様反応が、可逆的、局所的な透過性亢進を引き起こしている場合⁸⁾

この転移前土壌は多くの研究がなされ、今までに転移を亢進する因子が多数同定されてきました。3つ目の質問—上記の A や E の血管透過性に伴う炎症をブロックすることで、転移を抑えることが可能でしょうか？ 最近になって、転移前の組織の血管炎症を発端とする転移前土壌を消去し、のちに転移してきた癌細胞を迎え撃つことのできる可能性をもった“抗転移細胞”が存在することが分かってきました⁹⁾。

現在, “抗転移細胞” の効果を安定的に発揮できるようなメカニズムの解明と “抗転移細胞” の作製に取り組んでいます。



References

- 1) Hiratsuka, S. et al: *Cancer Cell* **2** : 289-300, 2002.
- 2) Hiratsuka, S. et al : *Nat Cell Biol.* **8** : 1369-1375, 2006.
- 3) Hiratsuka, S. et al : *Nat Cell Biol.* **10** : 1349-1355, 2008.
- 4) Kaplan, RN. et al: *Nature* : **438** : 820-827, 2005.
- 5) Erler JT et al : *Cancer Cell* **15** : 35-44, 2009.
- 7) Huang Y et al : *Cancer Res* **69** : 7529-37, 2009.
- 8) Hiratsuka, S. et al : *Nature Communications* **4**, Article number:1853, 2012.
- 9) Hiratsuka, S. et al: *EMBO Mol. Med.* e8643, doi: 10.15252/emmm.201708643, 2018.

略歴

1991 年 島根大学医学部医学科卒業
1991 年 京都大学医学部付属病院小児科学教室 研修医
1998 年 東京大学大学院医学研究科 病因病理学専攻博士課程修了
1998 年 東京大学医科学研究所腫瘍抑制 教務補佐員
1998 年 東京大学医科学研究所腫瘍抑制 助教
2002 年 東京女子医大薬理学教室 助教
2007 年 Harvard University Massachusetts General Hospital ポスドク
2010 年 東京女子医大薬理学教室 准教授
2011 年 科学技術振興機構「炎症の慢性化機構の解明と制御」さきがけ研究員兼任
2018 年 信州大学バイオメディカル研究所 教授
信州大学医学部分子医化学教室 教授

ホームページです。現在は転移前土壌と膵臓がんの研究に力を注いでいます。共同研究などを始め、多くの先生方のご指導が必要です。よろしくお願いいたします。

http://www.shinshu-u.ac.jp/faculty/medicine/chair/i-seika/index_j.htm

最後になりましたが、日本生化学会東北支部第86回例会に招待講演の機会を下された加藤靖正先生に深謝いたします。

特別講演 2

個体レベルの遺伝学に立脚した 新規創薬手法

園下 将大



北海道大学遺伝子病制御研究所 がん制御学分野

がんは先進国の死因の上位を占めており、極めて大きな福祉問題となっている。これを解決すべくがん治療薬が盛んに開発されているが、高毒性・低効果等の克服がまだまだ容易ではないばかりか、開発に高いコストや長い期間を要するなどの課題も残されている。既存の低分子薬の構造改変による効果増強や毒性低下の実現は迅速な新薬創出の魅力的な戦略だが、改変の明確な論理的基盤が存在しないため、その実現は容易ではない。

そこで我々は、迅速かつ網羅的な遺伝学・薬理学解析が可能なショウジョウバエ(1)を哺乳類実験系と相補的に組み合わせ、キナーゼ阻害薬を改良するための新規方法論の開発に取り組んだ。その結果、「阻害すべき標的」と副作用を招来する「阻害すべきでない標的」を個体レベルで同定し、その均衡を最適化することで既存薬の副作用を大幅に低減する論理的基盤を創出することに成功した(2,3)。安価で迅速な本手法は、様々ながん種はもちろんのこと、他疾患の治療薬の開発への応用も可能と考えられ、創薬手法の新たなパラダイムとなる可能性を秘めている。

References

1. [Sonoshita et al.](#) Curr Top Dev Biol 121, 287-309, 2017.
2. [Sonoshita et al.](#) Nat Chem Biol 14, 291-298, 2018.
3. Ung and [Sonoshita*](#) et al. PLoS Comput Biol 15, e1006878, 2019. (*equal contribution)

略歴

1999 年 東京大学薬学部 卒業
2001 年 東京大学大学院薬学系研究科 修了（薬学修士）
2002 年 日本学術振興会 特別研究員 DC1
2004 年 京都大学大学院医学研究科 早期修了（医学博士）
2004 年 日本学術振興会 特別研究員 PD
2008 年 京都大学大学院医学研究科 助教
2011 年 同 講師

2012 年 同 准教授
2013 年 Icahn School of Medicine at Mount Sinai (NY, USA) 客員研究員
2017 年 同 博士研究員
2018 年 北海道大学遺伝子病制御研究所 教授（現職）
2019 年 文部科学省 学術調査官（兼任）

遺伝学や創薬化学などを駆使し、がんの発生機序の解明と創薬研究に取り組んでいます。がん研究に意欲的に取り組む、志の高い大学院生を募集中ですので、ご興味のある方はご一報ください！

研究室 HP: <https://bmoncology.wixsite.com/mysite>

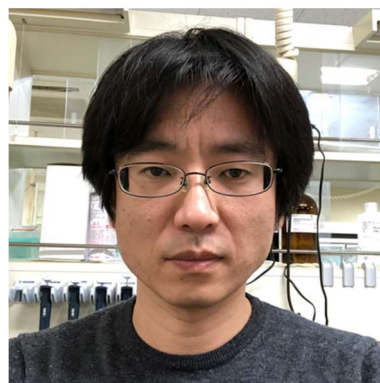
連絡先: msonoshita@igm.hokudai.ac.jp

奨励賞受賞講演 1

新規プレニル転移酵素 GGT3 の分子機能解析

白川龍太郎

東北大学加齢医学研究所基礎加齢研究分野



哺乳類において約 1 % のタンパク質はプレニル脂質(ファルネシル基またはゲラニルゲラニル基)による翻訳後修飾を受ける. タンパク質プレニル化は標的タンパク質の脂質二重膜への局在に必須である. これまで 3 つのプレニル転移酵素, すなわちファルネシル転移酵素(FT), ゲラニルゲラニル転移酵素 1 型(GGT1), ゲラニルゲラニル転移酵素 2 型(GGT2) が知られていた. 本研究では, 機能未知のタンパク質 PTAR1 (prenyltransferase alpha subunit repeat containing 1) が新規ゲラニルゲラニル転移酵素として働くことを見だし (GGT3 と呼ぶ), その基質としてゴルジ体の SNARE タンパク質 Ykt6 を同定した (1). Ykt6 は膜貫通領域を持たない特殊な SNARE であり, FT によりファルネシル化されることが知られていた. 我々は, 生化学的, 構造生物学的解析により GGT3 がファルネシル Ykt6 を基質としてゲラニルゲラニル基を付加し, ゲラニルゲラニル・ファルネシル Ykt6 を生成することを明らかにした. GGT3 欠損細胞では Ykt6 はモノファルネシル化状態に留まり, ゴルジ SNARE 複合体の形成は著しく阻害された. さらに, ゴルジ体の層板構造の消失, ゴルジ内膜輸送の遅延, 糖鎖付加の異常が見られた. これらの結果は GGT3 による Ykt6 のダブルプレニル化が, ゴルジ体の形態, 機能の維持に必須であることを示す. Ykt6 はファルネシル基とゲラニルゲラニル基により二重に修飾されるタンパク質の初めての例であり, GGT3 の発見は新しいタイプのタンパク質プレニル化とその細胞機能における重要性を明らかにするものである.

Reference

4. Shirakawa, R. et al. A SNARE geranylgeranyltransferase essential for the organization of the Golgi apparatus. *EMBO J*, 39(8), 2020

略歴

2001 年 京都大学農学部卒業
2003 年 京都大学大学院医学研究科修士課程修了
2007 年 京都大学大学院医学研究科博士課程修了 博士 (医学)
2007 年 学術振興会特別研究員 PD
2010 年 東北大学加齢医学研究所基礎加齢研究分野助教
私たちの研究室では大学院生, 博士研究員を募集中です.

奨励賞受賞講演 2

誘導的転写活性化因子群の分子基盤解析

関根弘樹

東北大学加齢医学研究所遺伝子発現制御分野



転写因子は細胞の運命決定をする重要な鍵分子であり、様々な細胞外からの刺激である化学物質、低酸素、酸化ストレスなどに対して応答し、生体の恒常性維持のために必須の働きをする。私はこれまで、恒常性維持に働く転写因子群の分子機能解析を行ってきた(1,2)。

なかでも転写因子 NRF1 はプロテアソームのサブユニット遺伝子群を統括的に活性化することで、抗がん剤として使用されるプロテアソーム阻害剤に対する耐性獲得をもたらすと考えられている。すなわちがん細胞における NRF1 の活性制御機構を解明し、その機能阻害ができれば、プロテアソーム阻害剤の適用範囲が広がると考えられる。そこで NRF1 の複合体解析を行った結果、NRF1 活性が O-GlcNAc 修飾という糖鎖修飾により制御されることを明らかにした(3)。また O-GlcNAc 修飾を施す酵素 OGT の阻害は、固形腫瘍モデルにおいてプロテソーム阻害剤の抗がん作用を増強した。本研究によりグルコース代謝・アミノ酸代謝により制御される O-GlcNAc 修飾が、NRF1 の活性化を介して、プロテアソーム活性を増強するという、代謝とタンパク質品質管理の新たな関係性が明らかとなった。このような代謝の変化がもたらすタンパク質品質管理への影響は、がんの薬剤耐性の理解にとどまらず、寿命制御や神経変性疾患、日周性制御など幅広い生理現象の理解において、考慮すべき重要な要因であると考えられる。

References

5. Sekine H, et al. Molecular and Cellular Biology 29(24), 6391-6400, 2009.
6. Sekine H, et al. Molecular and Cellular Biology 36(3), 407-420, 2016.
7. Sekine H, et al. Molecular and Cellular Biology 38(17), e00252-18, 2018.

略歴

平成 13 年 東北大学理学部化学科卒業

平成 19 年 筑波大学大学院人間総合科学研究科博士課程修了(医学博士)

平成 24 年 東北大学大学院医学系研究科 医化学分野 助教

平成 27 年 東北大学加齢医学研究所 遺伝子発現制御分野 助教

優秀論文賞受賞講演

Lysophosphatidic acid-induced YAP/TAZ activation promotes developmental angiogenesis by repressing Notch ligand Dll4



安田大恭

秋田大学 大学院医学系研究科 生体防御学講座

受賞論文：Yasuda, D., Kobayashi, D., Akahoshi, N., Ohto-Nakanishi, T., Mizuno, S., Takahashi, S., and Ishii, S., *J. Clin. Invest.*, 130, 4332-4349, 2019.

リゾホスファチジン酸 (LPA) は 6 種の G タンパク質共役型受容体 (GPCR) を介して多彩な機能を発揮する生理活性脂質である。これまで LPA が発生期の血管新生に必須であることは知られていたが、この際に LPA が作用する受容体は、その細胞内シグナルとともに未解明のままであった。我々はまず、LPA の第 4 受容体 (LPA4) と第 6 受容体 (LPA6) の二重欠損マウスが胎生期の血管形成不全が原因で胎生 11.5 日までに致死となることを見出した。また、血管内皮細胞 (EC) 特異的 LPA4/LPA6 二重欠損マウスは、コントロールマウスと比較して網膜の血管新生が損なわれていた。さらに、ヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) に発現する LPA4 と LPA6 が協調して、三量体 G タンパク質 G12/13, 低分子量 G タンパク質 Rho, 転写共役因子 YAP/TAZ の核内移行 (活性化) を順に引き起こし、Notch 経路の血管制御因子 DLL4 の遺伝子発現を抑制すること、そしてこの細胞内シグナルが EC の増殖と血管萌出に重要であることを明らかにした。以上の結果から、血管内皮細胞の LPA-LPA4/LPA6 シグナルは YAP/TAZ の核内移行を促し、DLL4 遺伝子の発現を抑制することにより正常な血管新生に寄与することが示唆された。この発見は、従来から知られていた YAP/TAZ が制御する血管新生の分子機構を部分的に説明できるものであり、また、GPCR により活性化された YAP/TAZ の新たな生理機能を提示するものである。

略歴

2004 年 3 月 京都薬科大学 薬学部 製薬学科 卒業

2006 年 3 月 京都薬科大学 大学院薬学系研究科 製薬学専攻 修了

2010 年 3 月 東京大学 大学院医学系研究科 分子細胞生物学専攻 修了, 博士 (医学)

2010 年 4 月 東京大学 大学院医学系研究科 細胞情報学講座, 特任研究員

2010 年 7 月 秋田大学 大学院医学系研究科 生体防御学講座, 助教

一般口頭発表

O-01

KEAP1 の抑制による NRF2 経路の活性化がもたらす加齢性難聴の予防効果の検討

○大石哲也^{1,2}, 松丸大輔³, 北村大志¹, 本蔵陽平², 香取幸夫², 本橋ほづみ¹

¹ 東北大学加齢医学研究所 遺伝子発現制御分野、² 東北大学大学院医学系研究科 耳鼻咽喉・頭頸部外科、³ 岐阜薬科大学 生命薬学大講座 衛生学研究室

加齢性難聴は、高齢者が有する進行性の難聴であり、その病態に酸化ストレスが関わるということが明らかにされてきている。NRF2 は、生体の酸化ストレスに対して、抗酸化酵素や解毒酵素を誘導する転写因子である。NRF2 は、定常状態では KEAP1 との結合を介してプロテアソーム系で分解される。本研究では、この NRF2 経路が全身性に活性化した *Keap1* ノックダウンマウス (*Keap1^{FA/FA}* マウス) を用いて、12 ヶ月齢の *Keap1^{FA/FA}* マウスと野生型マウスの内耳の形態と機能を比較した。組織解析では、*Keap1^{FA/FA}* マウスの内耳ラセン神経節、ラセン靱帯、外有毛細胞の加齢性変性が有意に抑制されており、聴力解析でも、*Keap1^{FA/FA}* マウスの加齢性の聴力低下が有意に抑制されていた。免疫組織染色による、酸化ストレスマーカーの 4-HNE、8-OHdG の評価も行い、*Keap1^{FA/FA}* マウスの内耳で酸化ストレスの蓄積が低下している傾向であった。以上の結果から、NRF2 経路の活性化が、加齢に伴う内耳の酸化ストレス障害を軽減し、加齢性難聴の進行予防に効果的である可能性が示唆された。

O-02

GPCR キナーゼ(GRK)を介した G タンパク質依存的な β アレスチン制御メカニズムの発見と解析

○川上耕季¹、平塚寿々音¹、青木淳賢^{1,2,3}、井上飛鳥^{1,3}

¹東北大・院薬・分子細胞生化学, ²東大・院薬・衛生化学, ³AMED-LEAP,

G タンパク質共役型受容体キナーゼ (GPCR キナーゼ, GRK) は, 活性化 GPCR をリン酸化し, リン酸化 GPCR が β アレスチンを活性化しシグナルを伝達する. 近年 β アレスチンシグナルが薬物の作用に関与する例が報告されてきており, β アレスチンの制御分子としての GRK の理解は, 薬物の多様な作用を説明付ける上で重要な情報となりうる.

我々は, タンパク質間相互作用の測定、さらには複数の GRK を欠損した HEK293 細胞を用い β アレスチンの機能解析を行った. アンジオテンシンII受容体 1(AT1R)に対し, アンジオテンシンII(AngII)刺激時には主に GRK2/3 により, TRV027 刺激時には GRK5/6 を介し, AT1R に β アレスチンがリクルートされることを示した. GRK の選択性は G タンパク質の 1 種である Gq を活性化するかどうかにより影響を受け, また異なる GRK により活性化された β アレスチンは質的に異なるシグナルを伝達することも明らかにした.

O-03 最優秀口頭発表賞

TatABC と糖脂質 MPIase による TAT (Twin-Arginine Translocation) 膜透過の完全再構成

○菅野琴華¹, 西川華子², 沢里克宏², 山田美和¹, 西山賢一^{1,2}

¹岩手大・農・応用生物化学科, ²岩手大院・連合農学研究科

TAT 経路は分泌タンパク質膜透過経路の一つであり, 細胞質内で既に高次構造を形成した分泌タンパク質の膜透過がプロトン駆動力を利用して進行する. 膜透過チャネルを構成する TatABC 複合体は, バクテリア以外にも古細菌や植物の葉緑体に保存されている. 当研究室では, タンパク質膜挿入反応に必須の糖脂質 MPIase (Membrane Protein Integrase) を同定している. MPIase 枯渇株で TAT 基質 TorA, SufI, TorA-GFP の膜透過反応を調べたところ, これらの膜透過が顕著に阻害されていた. すなわち, MPIase が TAT 膜透過にも関与することを発見した. TAT 経路発見から 20 年以上経過しても TAT 経路の再構成が成功していない理由の一つは、従来の再構成系では MPIase が不足していたためであると考えられる. TatABC 過剰発現株由来膜画分を可溶化し, F₀F₁-ATPase を添加してプロテオリポソームを調製した. MPIase 存在下において膜透過活性が確認された. 続いて, 個々に精製した TatA, TatB, TatC と F₀F₁-ATPase, MPIase を再構成したプロテオリポソームを調製したところ, SufI の膜透過活性が確認された. これらの結果は, TAT 膜透過は TatABC と MPIase により完全再構成できることを示している.

O-04

ゼブラフィッシュを用いたリン脂質 *sn*-1 位ステアリン酸導入酵素 LPGAT1 の雄性生殖における機能解明

○柴田剛明^{1,2}, 川名裕己^{2,3}, 青木淳賢^{2,3}

¹東北大院・薬・分子細胞生化学、²東大院・薬・衛生化学、³AMED-LEAP

生体膜の主要構成成分であるリン脂質は千分子種以上存在し、組織や細胞種ごとに多彩に組み合わせり様々な細胞機能に寄与している。この多様性は主にリゾリン脂質アシル基転移酵素 (LPLAT) により形成されるが、その詳細な分子機構については未だ不明点が多い。最近我々はリン脂質グリセロール骨格 *sn*-1 位にステアリン酸 (18:0) を導入する新規 *sn*-1 型 LPLAT として LPGAT1 を同定した。本研究では、リン脂質組成や LPLAT が哺乳類との間で高度に保存されているゼブラフィッシュを用いて LPGAT1 の生理機能の解析を行った。CRISPR/Cas9 法で LPGAT1 欠損個体 (KO) を作製した。ヘテロ欠損個体 (HT) 同士を交配させると、KO はメンデルの法則から予想される割合よりはるかに少ない割合で出現し、性成熟手前の生後 2 ヶ月までに致死となった。また、オスの HT を交配に用いると一部受精が正常に完了しない卵が出現した。そこで精子を採取したところ、野生型と比べて運動能が低く、LC-MS 解析で 18:0 を含有する一部の PE 分子種が顕著に減少するとわかった。また、走査型電子顕微鏡解析の結果、形態にも異常が生じていた。これらの結果から、LPGAT1 は発生、成長、精子形成過程で重要な役割を持つと考えられることが明らかとなった。

O-05

オピオイド受容体作動薬の副作用発現における分子メカニズムの解析

○平塚寿々音¹, 川上耕季¹, 吉田美沙紀¹, 青木淳賢^{2,3}, 井上飛鳥^{1,3}

¹東北大・院薬・分子細胞生化学, ²東大・院薬・衛生化学, ³AMED-LEAP

ミューオピオイド受容体は G タンパク質共役型受容体の 1 つであり, モルヒネに代表されるリガンドにより, G タンパク質シグナルを介して強力な鎮痛作用を示す. しかし一方で, 同時に活性化される β アレスチンシグナルにより, 呼吸抑制や耐性形成など多様な副作用を生じるとされる. 近年, G タンパク質シグナルのみを活性化する TRV130 というオピオイド薬が開発されたものの, 臨床試験において副作用を発現することが明らかとなった.

私達は GRK 欠損細胞を樹立し, この細胞を用い各 GRK の活性化を評価したところ, TRV130 は依然として GRK3 を介した β アレスチンの作用が残存していることを明らかにした. また, これは, 三量体 G タンパク質の構成因子である $G\alpha_z$, $G\beta_5$ の活性化により, この作用が生じていることが示唆された. この結果から, 上記の G タンパク質シグナルを伝達しないよう設計された化合物は, さらに副作用の少ない理想的なオピオイド薬となる可能性が示唆される。

O-06

ショウジョウバエ成虫原基における運命転換現象を制御する新規シグナル伝達経路

○根本和也¹, 増子恵太¹, 布施直之¹, 倉田祥一郎¹

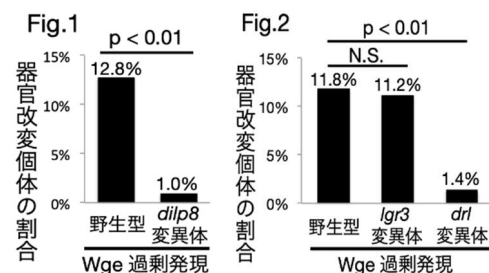
¹東北大院・薬・生命機能解析学分野

iPS 細胞の発見などから、体細胞を運命転換させて作製した多能性細胞を用いて、人工的に器官を再生できる可能性が示唆されている。しかし、運命転換した細胞を集団として統合し、複雑な3次元構造を持つ器官を作製することはできていない。この課題に迫るため、我々は「ショウジョウバエ成虫原基の器官改変現象」に注目している。成虫原基とはショウジョウバエ幼虫の器官の一つであり、成虫の各器官（複眼・ハネなど）の元となる。損傷再生時など特殊な状況下では、ある頻度で成虫原基細胞の一部が別の細胞運命へ転換し、成虫原基が異なる器官に分化することが知られている。この「器官改変」は、運命転換した細胞集団が3次元構造をもつ器官を構築する機構を解析するための有用なモデルとなる。

当研究室では、成虫の複眼の元となる複眼原基で過剰発現することで、複眼からハネへの器官改変を誘導する遺伝子“winged eye (*wge*)”を同定している。我々はこれまでに、*drosophila insulin like peptide 8* (*dilp8*) が *wge* の過剰発現に伴い発現上昇することを見出している (Masuko et al., 2018)。*dilp8* はインシュリン様ペプチドの一種であるが、器官改変における機能は明らかでない。そのため、*dilp8* の器官改変への関与を検討した。

まず始めに、*dilp8* 変異の影響を調べた。その結果、*dilp8* 変異体では *wge* による器官改変が有意に抑制された (Fig.1)。*dilp8* 変異は、通常の複眼やハネの形成に異常を示さないことから、器官形成そのものではなく、器官改変に *dilp8* が必要と考えられた。続いて、*Dilp8* が作用する受容体について検討した。既知の *Dilp8* 受容体である *Lgr3* の変異は器官改変を阻害しなかったことから、*Dilp8* は未知の受容体を介して器官改変を制御すると考えられた (Fig.2)。先行研究の *in vitro* の解析から、*Dilp8* と結合しうる6つの膜受容体が報告されている (Garelli et al., 2015)。よって、これらを *Dilp8* 受容体の候補と位置づけ、器官改変への関与を検討した。その結果、*Derailed* (*Drl*) の変異が *Dilp8* 変異と同様に器官改変を有意に抑制することを見出し (Fig.2)、*Drl* が器官改変における *Dilp8* の受容体である可能性が示唆された。

以上の結果は、*Dilp8* が新規シグナル伝達経路により器官改変を制御することを示唆している。*Dilp8* や *Drl* は哺乳類にも保存されており、この知見から再生医療への応用に繋がる可能性も考えられる。



O-07 優秀口頭発表賞

ヒト全長 Arylhydrocarbon receptor (AhR) の生化学的性質

○上村盛弥, 中島康智, 吉田雄毅, 松谷 駿, 川手慎也, 古屋もゑこ, 池田駿一, Ewa Grave,
涌井秀樹, 伊藤英晃

秋田大学大学院 理工学研究科 総合理工学専攻生命科学コース

Arylhydrocarbon receptor (AhR) は受容体型転写因子であり, 分子シャペロン HSP90, コシヤペロン p23, XAP2 と複合体を形成し, 細胞質中に存在する. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzodioxin (TCDD) をはじめとするリガンドに結合した後, 核内へ移行, 転写因子として機能し, 異物代謝酵素を誘導する. AhR は不安定タンパク質であり, 全長 AhR の *in vitro* での発現は困難であった. 我々は GST-AhR 融合タンパク質として低温発現誘導を行い, 大腸菌発現系で初めてヒト全長 AhR を発現・精製した. プロテアーゼで GST を除去後, 全長 AhR を完全精製し, 生化学的性質を解析した結果, リガンド結合能, 分子シャペロン複合体形成能を有することを確認した. AhR の構造変化を CD スペクトルにより解析した結果, リガンド存在下において β -シートが減少し, α -ヘリックスが増加することが判明した. 低酸素誘導因子 HIF2a PAS-B ドメインを鋳型として用いたリガンド結合シミュレーションにおいて, リガンドは主として β -シートに結合することが示された. リガンドが β -シートに結合することで AhR の構造変化が起こり, α -ヘリックスが形成されるものと考えられる. 我々が開発した簡便なヒト全長 AhR の精製方法は, 今後 AhR 立体構造や新規リガンド等の新たな知見を得ることにつながるだろう. *J. Biochemistry* (in press).

O-08

ゲノム機能解析による自然免疫の記憶の解明

○唐暢¹, 岡森千咲¹, 倉田祥一郎¹, 布施直之¹

¹ 東北大・薬・生命機能解析学分野

哺乳類などで発達した獲得免疫は、感染した病原体を特異的に記憶し、二度目の感染時に増強された免疫応答を誘導することができる。一方、多細胞生物全般が有する自然免疫は、獲得免疫のような記憶の仕組みが無いと考えられてきたが、近年、「自然免疫の記憶」を示唆するデータが蓄積している。しかし、そのメカニズムは未だ不明な点が多い。

当研究室は、ショウジョウバエに病原性が低い菌 (*M. luteus*) を感染させ訓練すると、その後の病原性が高い菌 (*S. aureus*) の本感染に対する生存率が明確に上昇することを見出した。本研究は、この実験系を用いてゲノムワイド関連解析 (GWAS) を行い、自然免疫の記憶に関わる遺伝子をゲノム網羅的に同定することを目的とした。予備実験として、ゲノム配列が決定されている系統ライブラリーの内 55 系統について、訓練の有無における本感染後の生存率を測定した。その結果、系統毎に訓練効果に大きな差があり、各系統の訓練の有無における本感染後の生存率は、必ずしも相関しないことがわかった。この結果は、免疫記憶は、通常の免疫応答とは異なるメカニズムで制御されていることを示唆している。今後、訓練効果の GWAS を進め、関連する遺伝子の同定を目指す。

O-09

二機能性融合タンパク質 DahX の tRNA 編集活性

○高橋由紀子¹, 中鉢千尋¹, 野々山翔太¹, 佐藤優花里¹, 永田裕二¹

¹ 東北大・大学院・生命科学研究科

Haloalkane dehalogenase (HLD) は, α/β hydrolase superfamily に属する有機ハロゲン化合物をアルコールへ変換する酵素である. 当研究室では PCB 分解細菌 *Acidovorax* sp. KKS102 株のゲノムより N 末端領域 (1-153 a.a.) が cytidine deaminase superfamily (CDA) と, C 末端領域 (165-463 a.a.) が HLD と相同性を示す融合タンパク質 DahX を同定した (図 1). DahX 及び DahX(165-463) は 15 種類以上の有機ハロゲン化合物に対して HLD 活性を示した. 一方, N 末端領域は大腸菌の生育に必須な tRNA 編集酵素 TadA と最も高い相同性 (52%) を示した. そこで本研究は DahX の tRNA 編集活性について検討した.



図 1. DahX のドメインマップ

C 末端に His-tag を付与した DahX を大腸菌で大量発現させ, HisTrap HP (GE Healthcare) を用いて精製した. DahX と *in vitro* 転写系で合成した KKS102 株の tRNA^{Arg}_{A34}CG を反応させ, 反応産物から合成した cDNA の塩基配列をサンガーシーケンス法により決定した. 本実験系では tRNA 編集活性により 34 位のアデニンがイノシンへ変換されるとグアニンとして読まれる. 0.19 pmol の DahX を加えると 34 位のアデニンはほぼグアニンに変換された (図 2). 一方, C 末端側の HLD 領域をほぼ欠損した DahX(1-168) を 0.80 pmol 加えても 34 位の変換率は低かった (図 2). 以上, DahX は HLD 活性と tRNA 編集活性を有する二機能性融合タンパク質であることを明示すると共に, tRNA 編集活性に HLD 領域も関与する可能性を示した.

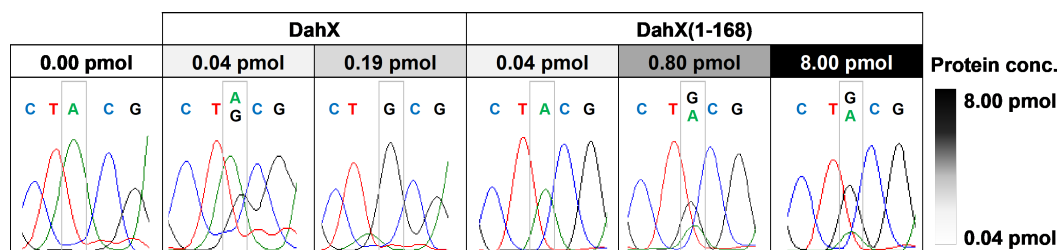


図 2. DahX による A-to-I (G) 編集反応. 34 位のヌクレオチドを水色の四角で囲んだ.

O-10

リン酸化 STING を認識するモノクローナル抗体の作製とその細胞生物学的応用

○高橋花乃子¹, 湯本瑛亮¹, 高谷英子¹, 進藤瑠璃¹, 高阿田有希¹, 篠島あゆみ¹, 堀口雛¹, 朽津芳彦¹, 植松黎², 向井康治朗¹, 田口友彦^{1,3}

¹東北大院・生命・細胞小器官疾患学, ²AMED-PRIME

自然免疫は, 侵入してきた病原体や異常になった自己の細胞をいち早く感知して排除する仕組みであり, 生体防御の最前線に位置している. 最近, DNA ウイルスの感染などにより細胞質に持ち込まれるウイルス DNA に応答し, 自然免疫応答を惹起する小胞体局在性膜タンパク質 STING が同定された. STING は DNA 刺激に応じて小胞体から脱出し活性化するが, STING がどのオルガネラで活性化しているかについては不明なことが多い.

今回我々は, 刺激依存的な STING の翻訳後修飾を検出することで, 活性化状態の STING の細胞内局在を明らかにすることを目指した. FLAG タグ付きマウス STING をレスキューした STING 欠損マウス胎児線維芽細胞を STING アゴニストで刺激し, FLAG 抗体による免疫沈降物を質量分析で解析した. その結果, STING の S354, S357, S365 のリン酸化ペプチドが検出された. そこで STING の S354A, S357A, S365A 変異体を STING 欠損マウス胎児線維芽細胞にレスキューしたところ, S365A 変異体において下流転写因子 IRF3 のリン酸化が顕著に阻害されていた. これらの結果から, S365 のリン酸化は STING の活性化状態を反映するリン酸化であると考え, S366 (ヒト STING でマウス STING S365 に対応) のリン酸化部位に対するマウスモノクローナル抗体を作製した. S366 リン酸化ペプチドを免疫したマウスを用いて作成したハイブリドーマ上清を ELISA によって一次スクリーニングし, ポジティブクローンに関して細胞染色による二次スクリーニングを行った. その結果, S366 がリン酸化されたヒト STING を特異的に認識できるモノクローナル抗体を得た. この抗体を用いて STING アゴニスト刺激時の細胞染色を行ったところ, S366 がリン酸化された STING はゴルジ体の中でも trans-Golgi network 内に点状に観察された. この局在性は, STING により活性化された TBK1 (リン酸化 TBK1) の局在 (文献 1, 2) と酷似しており, STING による下流シグナルの活性化の場合は trans-Golgi network 上の一部の領域に局限していることが強く示唆された.

文献

1. K. Mukai et al., Nat Commun 7, 11932 (2016).
2. A. L. Hansen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 115, E7768-E7775 (2018).

O-11 優秀口頭発表賞

自然免疫応答における新たな RING 型ユビキチン化酵素 LINCR の機能的役割

○横沢 拓海, 灘 雄貴, 平田 祐介, 野口 拓也, 松沢 厚

東北大・院薬・衛生化学

パターン認識受容体 TLR4 は, グラム陰性菌外膜成分 LPS を認識し, 下流シグナル経路を活性化して, 感染の初期防御に働く自然免疫応答を誘導するが, その活性化調節機構には未だ不明な点が多い. 本研究では, TLR4 下流で発現誘導される LINCR というユビキチンリガーゼに着目して解析を行った.

その結果, TLR4 下流では, LINCR が MAP キナーゼの抑制因子のユビキチン化・分解を介してその経路を活性化し, 自然免疫応答を強力に誘導することを新たに見出した. さらに, TLR4 シグナルは LINCR を発現誘導するだけでなく, タンパク質レベルでも LINCR を安定化することが判明した. 興味深いことに, この安定化は, 自然免疫応答で中心的役割を果たすキナーゼ TAK1 の活性に依存しており, TAK1 による LINCR の安定化が TLR4 シグナルの持続時間や強度を増強し, 感染初期の自然免疫応答を迅速かつ効率的に誘導できる仕組みを初めて明らかにした.

O-12

自然免疫分子 STING は trans-Golgi network において下流キナーゼ TBK1 をリクルートする

○見目悠¹, 向井康治朗¹, 田口友彦¹

¹東北大・生命・細胞小器官疾患学分野

自然免疫は、侵入してきた病原体や異常になった自己の細胞をいち早く感知し、それを排除する仕組みであり、生体防御の最前線に位置している免疫応答である。最近、DNA ウイルスの感染などにより細胞質に持ち込まれるウイルス DNA に応答し、自然免疫応答を惹起するタンパク質 STING が同定された。STING は小胞体に局在する 4 回膜貫通タンパク質であるが、興味深いことに細胞質 DNA の出現に応じて核近傍のオルガネラに輸送される。これまでに我々は、STING の活性化が細胞質 DNA の刺激を受容する小胞体ではなく、小胞体から脱出して輸送された先のゴルジ体で起こっていることを明らかにしてきた（文献 1-3）。

STING は、TBK1 (TANK-binding kinase 1) を細胞質からリクルートし、TBK1 の自己リン酸化を促す足場タンパク質である。しかしながら小胞体からゴルジ体へ STING が移行するどのステップで TBK1 がリクルートされてくるかは明らかでない。今回、ノコダゾール処理によりゴルジ体を断片化し、シス・トランスの極性を保持したミニゴルジ体にした状態で、STING と TBK1 を同時イメージングした。その結果、STING はシス・トランス両方に局在するのにもかかわらず、TBK1 はトランス側にのみ局在するミニゴルジ体を多数認めた。このことから、STING はトランスゴルジネットワークにおいて TBK1 を細胞質からリクルートし、TBK1 を活性化していることが示唆された。

文献：[1] K. Mukai *et al.*, *Nat Commun* **7**, 11932 (2016); [2] Ogawa, *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **503**, 138-145 (2018); [3] Hansen *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* **115**, E7768-E7775 (2018).

O-13

cGAMP 依存的な STING の多量体形成

○高谷英子¹、向井康治朗¹、田口友彦^{1,2}

¹東北大院・生命・細胞小器官疾患学

²AMED-PRIME

自然免疫は先天的に備わっている異物に対する応答機構であり、感染初期の生体防御において重要な役割を果たしている。近年、DNA ウイルス感染時に宿主の細胞質に持ち込まれるウイルスの DNA に結合して活性化する酵素 cyclic GMP-AMP synthase (cGAS)、および cGAS によって産生されるセカンドメッセンジャー cyclic GMP-AMP (cGAMP) に結合する STING が相次いで同定された。STING は細胞質 DNA により活性化しその局在を小胞体からゴルジ体へと移行させる。この際、TBK1 キナーゼを活性化し、ついで活性化した TBK1 が IRF3 や NF- κ B などのインターフェロン応答および炎症応答に関与する転写因子を活性化する。リコンビナントタンパク質を用いた構造解析から、STING は cGAMP の有無に関わらず二量体で存在しているが、cGAMP が結合することによって STING 二量体構造が変化し、さらに多量体化などを通じて TBK1 をリクルートしやすくなるのであらうと予想されている（文献 1-3）。しかしながら、細胞内で実際にこのような構造変化や多量体化が起きていることを示す証拠は得られていない。

今回、我々は STING の二量体または二量体以上の複合体を検出することを目的として、異なるタグを付与した2種類の STING (mClover3-STING および FLAG-mRuby3-STING) を安定発現する細胞を樹立した。この細胞を cGAMP 刺激したところ、刺激依存的に STING が小胞体からゴルジ体へ局在移行したことから、タグの付与によって STING の機能が損なわれていないことを確認した。次に細胞を 1% Triton 溶液で可溶化し、FLAG 抗体で免疫沈降を行い、mClover に対する抗体でプロットを行なったところ、cGAMP 刺激依存的に mClover3-STING が共沈降することが明らかになった。この結果は、cGAMP 刺激により STING は二量体以上の複合体を形成すること、一方、刺激前は、STING は単量体または界面活性剤感受性を有する二量体（多量体）で存在していることを示唆している。

文献：[1] Zhang *et al.*, *Nature* 575, 385–389(2019); [2] Shang *et al.*, *Nature* 567, 389-393 (2019); [3] Zhao *et al.*, *Nature* 569, 718–722 (2019) .

O-14

スズメ乳酸脱水素酵素 (LDH-B) のアミノ酸配列の解析

○赤地鈴蘭, 東岡陽菜, 小山内清香, 松村洋寿, 尾高雅文, 涌井秀樹

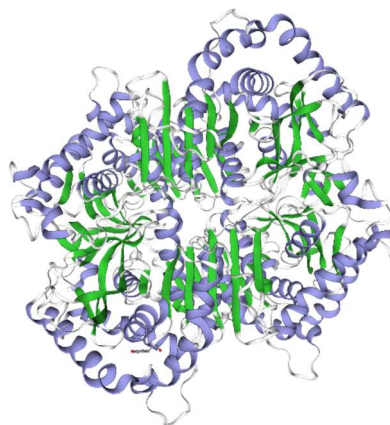
秋田大院・理工・生命科学

【緒言】乳酸脱水素酵素 (LDH) は, 乳酸とピルビン酸との相互変換を触媒する酵素であり, 嫌気的環境下における ATP 産生に寄与する. LDH は四量体酵素であり, 骨格筋型 (LDH-A) と心筋型 (LDH-B) の二種類のサブユニットがある. 鳥類には酸素分圧の低い高度を飛躍する種が存在し, LDH の構造と機能を比較することは興味深い. ニワトリやハトの LDH の全アミノ酸配列は明らかになっているが, スズメなどの野生の鳥類の LDH については不明のものも多い. スズメ LDH-A の部分アミノ酸配列については, 2019 年の日本生化学会大会で報告した. 本研究では, スズメ LDH-B の全アミノ酸配列を同定することを目的とした.

【方法】本研究は, 環境省東北地方環境事務所の許可を得て行った. スズメ心臓から全 RNA を抽出し, cDNA を作製した. ハトとニワトリの既知の配列から設計したプライマーを用いて cDNA クローニングを行い, スズメ LDH-B の部分配列を解析した. 3'RACE 法による 3'末端側の解析と, 5'RACE 法による 5'末端側の解析を行った. SWISS-MODEL によって (モデル元 PDB ID: 5K0Z), スズメ LDH-B の全アミノ酸配列から立体構造を予測した.

【結果】スズメ LDH-B の完全長 cDNA クローニングの結果から, 333 残基の全アミノ酸配列を同定した. 図に示す SWISS-MODEL では, スズメ LDH-B は 10 個の α ヘリックス (青色) と 14 個の β ストランド (緑色) から形成されると予測された. また, ホモ四量体の構造は, 図のように予測された.

【考察】スズメ LDH-B のアミノ酸配列には, ニワトリと比較して, 全アミノ酸 333 残基中 39 個の異なるアミノ酸 (11.7%) を認めた. サブユニット結合に関わる部位に 2 箇所, NAD 結合部位に 1 箇所異なるアミノ酸があり, 基質結合部位には異なるアミノ酸は見られなかった. これらのアミノ酸の違いが, 酵素反応に影響を及ぼす可能性があると考えられる. スズメ LDH-B の SWISS-MODEL では, ニワトリ LDH-B と比べて大きく異なる箇所は見られなかった. スズメ LDH-B の酵素学的特徴を詳細に解析するために, スズメ LDH-B の組み換え体蛋白質の発現系を構築し, 構造と機能に関する特性を検討する予定である.



O-15

結晶性円柱腎症患者に由来する尿中 Bence Jones Protein の構造解析

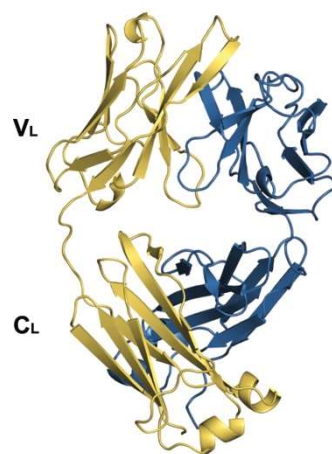
○古谷千香子, 古川裕介, 中垣尊, 小山内清香, 松村洋寿, 尾高雅文, 涌井秀樹

秋田大院・理工・生命科学

【目的】多発性骨髄腫は、骨髄で形質細胞が単クローン性に増殖する疾患であり、腎障害を合併することが多い。円柱性腎症は代表的な急性腎合併症であり、糸球体から濾過された単クローン性の免疫グロブリン遊離軽鎖（Bence Jones Protein: BJP）の一部が、腎尿細管内で円柱を形成することで惹起される。通常の円柱の形態は無構造で、稀に結晶構造を呈する。2000年以降の結晶性円柱腎症の報告例は9例であり、原因となったBJPの構造解析例は、一次構造を解析した1例のみである。本研究は、 λ 型結晶性円柱腎症患者由来のBJP- λ の詳細な構造解析を目的とした。

【方法】尿と骨髄血を用いた解析は、患者の同意と倫理委員会の承認を得て行った。患者尿からのBJP- λ の精製は、硫酸分画と2種類のカラムクロマトグラフィーを用いて行った。BJP- λ のN末端アミノ酸一次配列の同定後、骨髄血から完全長cDNAをクローニングした。ハンギングドロップ法でBJP- λ を結晶化し、X線結晶構造解析を行った。

【結果】精製したBJP- λ の分子量は55.3 kDaであり、S-S結合により二量体を形成していた。cDNAクローニングの結果、BJP- λ は233残基のアミノ酸から成り、20残基のシグナルペプチドを有していた。BJP- λ の可変（variable: VL）領域と連結（joining: J）領域は、IGLVサブグループ3遺伝子とJ λ 3遺伝子の由来であり、9個のアミノ酸変異を認めた。多くは相補性決定領域にみられ、蛋白質の表面荷電に影響しうる変異であった。BJP- λ の結晶構造は、Greek key foldsをとる単量体が向き合うように二量体を形成していた（右図）。二量体の境界面は、疎水性に富んでいた。結晶充填の解析結果から、隣接する二量体のCL間に、複数の水素結合を形成していた。



【結論】結晶性円柱腎症の原因となったBJPの結晶構造解析は、本研究が最初の報告例である。我々の症例では、BJP- λ が安定した二量体構造を形成し、隣接した二量体間の水素結合により結晶性円柱を形成したものと考えられる。以上の特徴は、構造安定性の低いBJPはアミロイド線維化しやすいとの知見（*Chem Commun* 2018;54:10664-74）とは対照的であり、今後の症例の蓄積が期待される。

O-16

低酸素誘導転写因子 HIF を活性化する薬剤が病態腎の赤血球造血因子産生を再活性化する 機序の検討

○中井 琢, 加藤 幸一郎, 鈴木 教郎

東北大院・医・酸素医学

エリスロポエチン (Epo) は腎臓間質に存在する線維芽細胞 (renal Epo producing [REP]細胞) から産生される赤血球造血因子であり, Epo 産生は転写因子 HIF (hypoxia-inducible factor) によって低酸素誘導性に制御されている. 慢性腎臓病では, REP 細胞が筋線維芽細胞へ形質転換し, Epo 産生能を喪失するため, 腎性貧血が発症する. 腎性貧血治療には Epo 製剤が用いられてきたが, 2019 年から HIF 活性化剤の使用が開始された. しかし, 病態腎で HIF 活性化剤が効果を発揮する機序は不明である. そこで, マウスおよびラットに腎障害を施し, HIF 活性化剤の効果を組織学的に検討した. その結果, 腹腔内注射により投与した HIF 活性化剤は, 病態腎の全域に到達したものの, 障害が軽度な部位に限定して Epo 産生を誘導することがわかった. この成果により, 新規貧血治療薬である HIF 活性化剤による Epo 産生誘導機序の一端が解明され, REP 細胞の HIF 活性化剤応答性は筋線維芽細胞への形質転換に伴って低下することが明らかになった.

O-17 優秀口頭発表賞

Identification of B38-CAP as an ACE2-like enzyme to suppress hypertension and cardiac dysfunction in mice.

○湊 隆文¹、佐藤 輝紀^{1,2}、蕨澤 悟³、山口 智和¹、今井 由美子⁴、高橋 砂織⁵、渡邊 博之²、久場 敬司¹

¹秋田大・院医・分子機能、²秋田大・院医・循内、³国際農林水産業研究センター、⁴医薬基盤・健康・栄養研、⁵秋田県総合食品研究センター

アンジオテンシン変換酵素 2 (ACE2) はレニン-アンジオテンシン系における負の調節因子として、循環器疾患などの病態改善に寄与する。今回私達は *Paenibacillus* sp. B38 由来のカルボキシペプチダーゼ B38-CAP が ACE2 と同様の活性をもつことを見出した。立体構造解析により、B38-CAP ホモログが配列同一性なしに哺乳類 ACE2 と構造的類似性を持つことを明らかにした。In vitro において組換え B38-CAP はヒト ACE2 と同じ酵素活性でアンジオテンシン II をアンジオテンシン 1-7 に変換することを認めた。アンジオテンシン II 投与マウスあるいは TAC 心不全マウスにおいて、B38-CAP は血漿アンジオテンシン II 濃度を減少させ、循環器病態を改善することを明らかにした。さらに、B38-CAP 投与による肝臓や腎臓に対する毒性も認めないことを示した。私達の結果は微生物由来の ACE2 様酵素 B38-CAP が in vitro、in vivo において ACE2 と同様の機能を持つことを明らかにした。微生物工学は高血圧や心不全に対するタンパク質医薬品の設計に有効である可能性が示唆された。

O-18

3T3-L1 脂肪前駆細胞を用いた東北産食品成分のインスリン感受性増強効果の検討

○櫻井 誠、会津衣久美、大庭侑子、外崎麻莉那、益見厚子

青森大・薬・分子薬理学

[目的、方法]東北産の食品成分であるタカキビ抽出物またはapple polyphenol (AP)の生活習慣病に及ぼす効果を検討するため、3T3-L1脂肪前駆細胞の脂肪細胞分化に対する影響とその作用メカニズムについて検討した。

[結果、考察] タカキビ抽出物およびAPは、3T3-L1脂肪細胞分化の過程においてそれぞれの単独処理では脂肪滴蓄積に影響はなかったが、チアゾリジン系薬物 (TZDs) 併用による脂肪滴増加を有意に増強した。よってこれら食品成分は薬物によるインスリン感受性の改善を増強する効果があると考えられた。そこで脂肪細胞分化に関わる遺伝子についてreal-time PCRで検討したところ、タカキビ抽出物処理ではPPAR γ 、アディポネクチンおよびレジスチンの発現の有意な抑制が認められたが、AP処理ではこれらの発現にほとんど変動を与えなかった。これらの食品成分はTZDs併用による脂肪滴増加を増強するという点では同じであるが、その分子メカニズムは異なっていた。

O-19

トランス脂肪酸による DNA 損傷誘導性細胞死の促進作用とその分子機構の解明

○井上綾, 平田祐介, 野口拓也, 松沢厚

東北大・院薬・衛生化学

トランス脂肪酸は、トランス型の炭素間二重結合を持つ脂肪酸の総称で、含有食品の摂取と動脈硬化症や認知症等の重要な疾患発症との疫学的関連が示され、世界的に注目されている。しかし、トランス脂肪酸の具体的な生体作用は未解明で、詳細な疾患発症機序は不明である。

そこで本研究では、上記疾患の病態と直接関わる細胞死（アポトーシス）に着目し、エライジン酸等のトランス脂肪酸を前処置後に、紫外線や抗がん剤等で DNA 損傷を誘導したところ、無処置ではほぼ誘導されない細胞死が著しく亢進した。さらにトランス脂肪酸は、DNA 損傷時のストレス応答性 MAP キナーゼである JNK の活性化と、その後に連続して起こる、ミトコンドリア外膜に局在する JNK アダプター分子 Sab を介したミトコンドリアからの活性酸素産生を協調的に増強させて、細胞死を強く促進することが分かり、本研究では、これまで不明であったトランス脂肪酸の分子病態基盤を初めて明らかにした（Scientific Reports, 10(1): 2743, 2020）。

O-20

ミクロオートファジーによる自然免疫分子 STING のリソソーム分解

○朽津芳彦¹, 高阿田有希¹, 向井康治朗¹, 田口友彦¹

¹ 東北大・生命・細胞小器官疾患学分野

細胞質成分をリソソームへと輸送し分解する営みはオートファジーと呼ばれ、隔離膜を必要とするマクロオートファジーと、リソソームが細胞質を直接食食するミクロオートファジーに大別される。マクロオートファジーは *atg* 遺伝子の発見を皮切りに、その分子機構や生理的な意義の理解が進んでいる。一方ミクロオートファジーについては酵母においてその存在が知られているが、動物細胞における存在・機能については、ほとんど明らかになっていない。

自然免疫分子 STING は小胞体に局在する膜タンパク質である。細胞質 DNA により活性化し、ゴルジ体に運搬されて I 型インターフェロン産生などに至る自然免疫シグナル経路を活性化する。STING 依存的な自然免疫応答は数時間で収束するが、そのメカニズムはほとんど不明のままである。今回私たちは、STING がゴルジ体で活性化後リソソームへ運搬されてミクロオートファジーのプロセスによって分解され、STING 依存的な自然免疫応答が収束することを見出した。超解像度ライブセルイメージングにより STING の輸送過程を観察すると、DNA 刺激後 3 時間後に STING を含むエンドソーム小胞がリソソームに直接包み込まれ、最終的に分解される瞬間を多数捉えた。続いて、ミクロオートファジーの分子機構を明らかにするために、リソソームへの輸送に関わる既知の遺伝子のノックダウン・ノックアウト実験を行った。その結果、隔離膜を介するマクロオートファジーに必須な遺伝子 (*Atg5*, *Fip200*, *Atg13*) の欠損では STING の分解に影響がなかった。一方で、multi-vesicular body 形成に必要とされる ESCRT 複合体 (*VPS37*, *Chmp2*, *VPS4A/B*) の欠損によって、STING の分解が顕著に抑制されるが、その状況下で STING はリソソーム内に取り込まれていなかった。また、ESCRT 複合体の欠損によって、STING 依存的な自然免疫応答が持続することがわかった。以上、自然免疫分子 STING の輸送の観察の結果、小胞体→ゴルジ体→エンドソーム→リソソームという物質輸送経路が哺乳細胞で存在することが明らかになった。また、ESCRT 依存的なミクロオートファジーにより STING がリソソームで分解をうけることで自然免疫応答シグナルが収束することが明らかになった。

O-21

新規分子 CAMP による分裂期細胞死制御機構の解明

Regulatory mechanism of mitotic cell death by a novel protein, CAMP

○樋野真帆¹, 家村顕自¹, 田中耕三¹

¹ 東北大・加齢研・分子腫瘍学分野

ビンカアルカロイドなどの微小管を標的とする抗癌剤は、微小管の重合・脱重合を阻害し、紡錘体チェックポイントを活性化することで細胞分裂期の進行を長期にわたり停止させ、結果的に細胞死を誘発する。しかし、細胞死に至る前に分裂期の停止から抜け出してしまう **mitotic slippage** と呼ばれる現象が存在し、これが抗癌剤耐性の一因となる可能性が示唆されている。したがって、分裂期細胞死を早期に誘発し、**mitotic slippage** を抑制する方法の開発は、抗癌剤耐性の克服につながることを期待される。

CAMP (Chromosome Alignment-Maintaining Phosphoprotein) は、正確な染色体分配に必要な分子として、当研究室で独自に同定した分子である。CAMP 発現抑制細胞は、動原体と微小管の結合が維持できず、最終的に細胞死に陥る。我々は、微小管阻害剤で処理した CAMP 発現抑制細胞では、分裂期停止後早期に細胞死が引き起こされ、**mitotic slippage** が抑制されることを見出した。また、分裂期細胞死への関与が報告されている Bcl-2 ファミリーの発現を CAMP 発現抑制細胞で確認したところ、アポトーシス抑制因子である Mcl-1 のタンパク質発現量、mRNA 発現量が共に減少していた。したがって、CAMP 発現抑制で早期分裂期細胞死が引き起こされることが示唆された。

本学会では、CAMP が転写調節機能をもつ可能性を考察するとともに、抗癌剤耐性克服ターゲットとしての CAMP の有用性について議論したい。

O-22

ウシ尿中黄体形成ホルモンの検出

○宮崎珠子¹, 上野山怜子¹, 山下哲郎¹, 平田統一², 宮崎雅雄¹

¹岩手大・農・応用生物化学、²岩手大・農・寒冷フィールドサイエンス教育研究センター

黄体形成ホルモン (Luteinizing Hormone : LH) が一過性に放出される現象を LH サージといい、排卵を引き起こす。雌ウシでは、血中 LH の上昇に伴い、他個体の乗駕許容や外陰部からの粘液の流出などの発情兆候がみられ、人工授精適期が決定されてきた。しかし最近の畜産現場では、飼養管理の変化に伴い、発情兆候が発見されにくいウシが増え、人工授精適期の決定が難しくなっている。そこで本研究では、雌ウシの LH サージを、非侵襲的に採取できる尿で検出できるか検証した。黒毛和種経産牛 6 頭を用いて、発情を同期化する目的で、試験 3 日前に卵巣の超音波検査により黄体を確認し、黄体を退行させ卵胞を发育させるためにプロスタグランジン F2 α 製剤としてジノプロスト 5mg を投与した。試験当日は、LH サージを促すために性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) 製剤として酢酸フェルチレリン 100 μ g を投与した。GnRH 投与前および投与後 48 時間まで血液と尿を経時的に採材した。GnRH 投与後 48 時間に卵巣の超音波検査にて排卵を確認した。ELISA を用いて血中および尿中 LH の測定を行った。GnRH 投与前は、血中 LH が $16.75 \pm 8.26 \text{ ng/ml}$ だったのに対し、2 時間後には $467.62 \pm 149.03 \text{ ng/ml}$ と有意に高く ($p < 0.05$)、試験期間中最高値を示した。尿中 LH は、投与前 $0.19 \pm 0.14 \text{ ng/ml}$ だったのに対し、投与後 4 時間に $5.13 \pm 1.75 \text{ ng/ml}$ と有意に高く ($p < 0.05$)、試験期間中最高値を示した。血液、尿ともに 24 時間後までに投与前の LH 値に戻った。以上の結果より、ウシの尿中 LH は、血中 LH 最高値の 2 時間後に最高値を示すことが分かり、尿中 LH を検出することにより排卵予知できる可能性が示唆された。

O-23

物性学的視点から捉える細胞周期制御因子 CAMP の機能制御

○池田真教¹, 成田知恕², 清水将裕², 古寺哲幸², 田中耕三¹

¹東北大・加齢研・分子腫瘍, ²金沢大・WPI-NanoLSI

細胞内ではタンパク質や核酸が流動的な多量体を形成することで,溶液中で区分された液滴領域を構築し(生物学的相分離),非膜系細胞内小器官の形成や,酵素などの局所的反応場として機能することが急速に明らかになってきた.最近我々は独自に生物学的相分離を引き起こす分子として細胞周期制御因子 CAMP を同定した.CAMP は分裂期に多重リン酸化を受け,染色体分配に必須の機能を果たす一方,間期ではヘテロクロマチン上に局在し,DNA 損傷修復関連因子(HP1,POGZ,Rev7)とともに DNA 二重鎖切断の修復に関与する.しかし,細胞周期を通じて CAMP がどのように異なるクロマチン領域に局在し,これらの機能を使い分けているのかは不明である.現在我々は構造学的および物性学的アプローチによりその機構の解明に取り組んでいる.本学会ではリン酸化や種々の因子との相互作用に伴う CAMP の状態変化について紹介し,その機能との関連について議論したい.

O-24

一次繊毛の短縮・消失と細胞周期再駆動における MAST4 の役割の解明

○斎藤将樹, 阪路健祐, Sara Ebrahimi Azar, 佐藤岳哉

東北大学 大学院医学系研究科 分子薬理学分野

一次繊毛は、多くの細胞種において 1 つの細胞につき 1 本形成される不動性繊毛であり、凹状膜構造であるシリアポケット (CiPo) に包まれている。一次繊毛はまた、細胞周期に依存して形成と短縮・消失を繰り返す。すなわち、G₀/G₁ 期に形成され、特異的な増殖因子刺激を受容すると短縮・消失して細胞周期を G₁/S 期に再駆動する。しかし、一次繊毛研究が活気を帯びて 15 年くらいが経つにもかかわらず、短縮・消失の分子制御機構には不明の点が多く残されている。Tctex-1 は細胞質ダイニン軽鎖の一種であり、Thr94 がリン酸化されると細胞質ダイニン複合体から遊離してダイニン非依存的な役割を果たす。我々はこれまで、(1) 一次繊毛がインスリン様成長因子-1 で刺激されると、一次繊毛基底部にリン酸化-(Thr94)Tctex-1 が集積すること、(2) リン酸化-(Thr94)Tctex-1 は低分子量 G タンパク質 Cdc42 を活性化し分枝状アクチンを再構築すること、さらに引き続いて (3) クラスリン依存的な CiPo 膜のエンドサイトーシスが誘導されること、という一連の制御機構が、一次繊毛短縮・消失と細胞周期再駆動に必須であることを見出してきた。しかし、Tctex-1 が Cdc42 を活性化する分子機構は不明であり、本研究ではヒト網膜色素上皮細胞株 (RPE-1 細胞) を用いて検討した。まず、一次繊毛の短縮・消失時に Tctex-1 と結合するタンパク質を質量分析法にて探索したところ、機能未知キナーゼの微小管結合性セリン/スレオニンキナーゼ 4 (MAST4) を同定した。MAST4 を RPE-1 細胞内でノックダウンすると、一次繊毛短縮・消失が抑制された。またその抑制は、恒常的 Cdc42 活性化変異体 (Cdc42-G12V) の過剰発現によってレスキューされた。活性型 Cdc42 量は MAST4 のノックダウンによって減少したことより、MAST4 の下流で Cdc42 が活性化することが示された。さらに、CiPo 膜のエンドサイトーシスは MAST4 のノックダウンによって抑制された。一方、恒常的 Tctex-1 リン酸化変異体 (Tctex-1-T94E) の過剰発現によって促進された一次繊毛短縮・消失は、MAST4 のノックダウンによって抑制されたことから、Tctex-1 の下流で MAST4 が働くことが示唆された。以上の結果より、Tctex-1 が MAST4 を介して Cdc42 を活性化する機構が、一次繊毛短縮・消失には重要であることが考えられた。

O-25

大理石病患者由来 V-ATPase $\alpha 3$ アイソフォーム変異が破骨細胞の機能に与える影響

○松元奈緒美¹, 松川令奈¹, 高橋翔平¹, 工藤昂士¹, 和田(孫) 戈虹², 和田洋³, 中西(松井) 真弓¹

¹岩手医大・薬・機能生化学、²同志社女大・薬・生化学、阪大・産研

破骨細胞が骨吸収するためには、リソソームが形質膜へ向かって移動して膜融合し、リソソームのプロトンポンプ V-ATPase が形質膜に運ばれて細胞外を酸性化する必要がある。骨吸収の不全は大理石病を引き起こす。V-ATPase の $\alpha 3$ サブユニットは大理石病の病因遺伝子として知られ、90 種類以上の劣性変異が報告されている。しかし、こうした変異が大理石病を引き起こすのかは、ほとんど検討されていない。我々は、 $\alpha 3$ を欠損した破骨細胞の解析により、 $\alpha 3$ が小胞輸送因子である Rab7 とともにリソソームの輸送を担うことを明らかにした。そこで、4 種類の $\alpha 3$ 変異に注目し、 $\alpha 3$ 欠損破骨細胞にこれらの変異体を発現させて影響を調べた。4 種類のうち 2 種の変異体は、10 個程度のアミノ酸を欠失したものであるが、これらは発現量が低く、リソソームが輸送されず、骨吸収活性がなかった。さらに、V-ATPase の形成や Rab7 との結合にも影響を与えた。このことから、これらの変異は大理石病の原因となることが示された。残り 2 種の変異体はミスセンス変異体であるが、発現量や V-ATPase の形成、Rab7 との結合に変化はなく、骨吸収活性も正常であった。大理石病の原因となるには、第二の変異が必要であると考えられる。

O-26

圧負荷心不全における CNOT6L 脱アデニル化因子の抗線維化作用の解明

○山口智和¹, 佐藤輝紀^{1,2}, 湊隆文¹, 安健博¹, 星崎みどり³, 渡邊博之², 今井由美子³, 山本雅⁴, 久場敬司¹

¹秋田大院・医・分子機能学・代謝機能学、²秋田大院・医・循環器内科学呼吸器内科学、

³医薬基盤・健康・栄養研究所、⁴沖縄科学技術大学院大学 細胞シグナルユニット

心不全発症において肥大や線維化といった心臓リモデリングが重要なプロセスであるが、その詳細な機序は未だ不明な点が多い。CCR4-NOT 複合体は mRNA poly(A)鎖の分解（脱アデニル化）による mRNA 発現抑制の実行因子であるが、心機能制御における生理的意義は不明であった。我々はこれまでに、同複合体の scaffold である CNOT1, 及び CNOT3 が心機能調節に不可欠な役割を担っていることを明らかにしてきた (*Cell* 2010, *Sci Signal* 2018)。一方、poly(A)鎖の分解活性を担う脱アデニル化因子(CNOT6/6L, CNOT7/8)の心臓リモデリングにおける役割はわかっていない。そこで、マウス圧負荷心肥大モデル(TAC)により、心臓リモデリングに伴う CCR4-NOT 複合体タンパク質の発現変化を解析した。その結果、いずれの複合体因子も心機能が保持された代償期に発現が上昇するのに対し、心機能が低下する非代償期においては発現が低下していることが分かった。このことから、CCR4-NOT が圧負荷心肥大のリモデリングプロセスに関与することが示唆された。そこで、心臓特異的 CNOT1 ヘテロ欠損マウスを作製し、TAC による心肥大を誘導したところ、通常代償期にあたる TAC 後 14 日時点において有意な心機能の低下を認めた。さらに脱アデニル化因子のそれぞれの遺伝子欠損マウスを作製し、同様の実験を行ったところ、CNOT1 ヘテロ欠損同様に TAC 後 14 日目で有意に心機能が低下していた。脱アデニル化因子の一つである CNOT6L 欠損マウスについて、心臓の RNA-seq 解析を行ったところ、各種の炎症性サイトカインに加え、心臓リモデリングとの関連が知られる geneX の発現上昇を見出した。さらに、CNOT6L 欠損マウスと geneX 欠損マウスとの掛け合わせにより、CNOT6L 欠損による心臓リモデリングが改善された。以上の結果から、CCR4-NOT 複合体の脱アデニル化活性は心不全代償期においてサイトカインなどの標的 mRNA の発現を抑制することにより、病的な心肥大・リモデリングの阻止に寄与すると考えられる。

O-27

Novel regulatory mechanism of α -Synuclein uptake in dopaminergic pathogenesis by fatty acid-binding protein FABP3

○Ichiro Kawahata¹, Luc Bousset², Ronald Melki², Kohji Fukunaga¹

¹Dept. Pharmacol., Grad. Sch. Pharm. Sci., Tohoku Univ., ² Lab. Neurodeg. Dis., CEA, Inst. François Jacob and CNRS

α -Synuclein is an abundant neuronal protein that accumulates in insoluble inclusions in Parkinson's disease and other synucleinopathies. Fatty acids partially regulate α -Synuclein accumulation, and mesencephalic dopaminergic neurons highly express fatty acid-binding protein 3 (FABP3). We previously demonstrated that FABP3 knockout mice show decreased α -Synuclein oligomerization and neuronal degeneration of midbrain tyrosine hydroxylase (TH)-positive neurons, which biosynthesize dopamine. Here, we newly investigated the importance of FABP3 in α -Synuclein uptake, 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP⁺)-induced axodendritic retraction, and mitochondrial dysfunction. To disclose the issues, we employed cultured mesencephalic neurons derived from wild type or FABP3^{-/-} C57BL6 mice and performed immunocytochemical analysis.

We demonstrated that TH⁺ neurons from FABP3^{+/+} mice take up ATTO-550-labeled α -Synuclein monomers while FABP3^{-/-} TH⁺ neurons do not. The formation of filamentous α -Synuclein inclusions following treatment with MPP⁺ was observed only in FABP3^{+/+}, and not in FABP3^{-/-} neurons. Notably, the detailed morphological analysis revealed that FABP^{-/-} neurons did not exhibit MPP⁺-induced axodendritic retraction. Moreover, FABP3 was critical for MPP⁺-induced reduction of mitochondrial activity and the production of reactive oxygen species. We further disclosed the endocytosis-coupled FABP3 physiological functions and developed FABP3-targeted therapeutics. These data indicate that FABP3 is critical for α -Synuclein uptake and mitochondrial functions in dopaminergic pathogenesis, thereby preventing synucleinopathies, including Parkinson's disease.

O-28

MRTF-A はマクロファージ機能を制御して動脈硬化形成に関わる

○安 健博^{1) 2)}、成瀬 妙子²⁾、日野原 邦彦²⁾、副島 友莉恵³⁾、沢辺 元司³⁾、中川 靖章⁴⁾、桑原 宏一郎⁵⁾、久場 敬司¹⁾、木村 彰方²⁾

- 1) 秋田大学大学院医学系研究科 分子機能学・代謝機能学講座
- 2) 東京医科歯科大学難治疾患研究所 分子病態分野
- 3) 東京医科歯科大学大学院保健衛生学研究科 分子病態検査学分野
- 4) 京都大学医学部 循環器内科
- 5) 信州大学医学部 循環器内科

心筋梗塞をはじめとする冠動脈疾患は先進国における主な死因となっており，その病態形成機構に関しては不明な点が残されている．私達は網羅的マイクロサテライト関連解析によって，新たな冠動脈疾患感受性遺伝子座を同定し，その領域内にあるMRTF-A遺伝子（MKL1）の発現制御領域の多型が冠動脈疾患と関連すること、当該多型はMKL1の高発現をもたらすことを以前明らかにした．一方、冠動脈疾患の主な病因として冠動脈硬化症が知られているが，MRTF-A欠損マウスでは動脈硬化が軽減することを報告した．しかしながら，MRTF-Aがいかなる分子機序で動脈硬化症の病態形成に関わるかは不明であった．

動脈硬化症の発症・進展において，動脈硬化巣局所に蓄積したマクロファージが重要な役割を持つことが知られている．本研究において，私達は，MRTF-Aがヒト動脈硬化プラークに浸潤したマクロファージに強く発現していることを見出した．ついで，動脈硬化モデル動物であるApoE欠損マウス（ApoE^{-/-}）にマクロファージ特異的にMRTF-Aを高発現するMRTF-A^{tg/+}マウスをかけ合わせて，通常食餌環境下における動脈硬化症の病態を検討したところ，ApoE^{-/-}マウスに比して，ApoE^{-/-}/MRTF-A^{tg/+}マウスでは動脈硬化が重症化し，また動脈硬化巣により多くのマクロファージが集積していることを見出した．そして，MRTF-Aの高発現は，マクロファージの増殖亢進とアポトーシスの抑制をもたらすこと，さらにはCDKI（cyclin-dependent kinase inhibitor）遺伝子の発現抑制をもたらすことを、細胞および組織レベルで明らかにした．以上の結果から，MRTF-A は動脈硬化性マクロファージの増殖・生存機能を制御することで動脈硬化巣におけるマクロファージが蓄積し，動脈硬化症の発症・進展に寄与すると考えられた．

O-29

Nrf2 の活性化が制御する食道異形成とがんの進展

○堀内真^{1,2}, 田口恵子¹, 土田恒平¹, 鈴木未来子³, 谷山裕亮², 亀井尚², 山本雅之¹

¹東北大院・医・医化学分野, ²消化器外科学, ³ラジオアイソトープ

転写因子 Nrf2 は酸化ストレスや親電子性物質に応答して細胞保護的に働くが, がんに対しては発がん抑制と悪性化促進の両側面に貢献する. 本研究では、Nrf2 の抑制因子である Keap1 を成獣の時点で誘導的に欠失する Keratin5-CreERT2::Keap1^{flx/flx} マウスを用いて, 4-ニトロキノリン-1-オキサイド (4NQO) による食道の化学発がんモデルにおいて Nrf2 がどのように貢献するかを検証した. タモキシフェン投与により Keap1 欠失を誘導すると, 食道上皮の基底層において Nrf2 が活性化した異型細胞が斑らに出現し, 異形成を呈した. γ H2A.X の免疫染色から, Keap1 欠失により Keap1 陽性細胞に DNA 障害が誘導されることが明らかとなった. 予め Keap1 を欠失させた後に 4NQO を投与すると, 発がんが促進されたが, ほぼすべての腫瘍は Keap1 を発現している細胞集団であった. 以上より, 様々なクローンが存在する扁平上皮組織内において, Nrf2 の活性状態が食道の組織構築と発がんの進展に影響を与えることが示された.

O-30

食食受容体による癌予防に関する研究

○永長一茂¹, 張敏², 西千恵子³, 中井雄治¹, 白土明子⁴, 中西義信^{2,3}

¹弘前大学・地域戦略研究所・食料科学研究部門, ²金沢大学・医薬保健学総合研究科・創薬科学専攻, 金沢大学・医薬保健学域・薬学類, ⁴札幌医科大学・医療人育成センター・教養教育部門

ショウジョウバエにおいて, 食食受容体遺伝子の *drpr* および *Itgbr* を欠いた個体はアポトーシス細胞や侵入した細菌の食食は著しく抑えられるものの正常に発生するため, 生理学的役割の解析に有用である. 本会では癌における食食受容体の役割を調べたので報告する.

まずは細胞周期チェックポイント阻害により癌様細胞を誘発させるショウジョウバエを用い, 食食受容体の癌への関与を調べた. この動物の食食受容体遺伝子を欠損させたところ癌様表現型を示す個体の割合が増加したことから, 食食受容体は癌の抑制に働くことがわかった. 癌細胞と正常細胞との間では細胞競合が起こり, 癌細胞が周囲の正常細胞を除去して癌組織拡大を促すとの報告がある. そこで, 食食受容体による細胞競合抑制の有無を検討した. 正常細胞がリボソームタンパク質遺伝子変異細胞を混在させると細胞競合によって変異細胞が除去される. このモザイク動物の全細胞で食食受容体遺伝子の発現を抑えると変異細胞の除去が促進したことから, 食食受容体は細胞競合を抑制することがわかった. 以上より, 「食食受容体が細胞競合を抑えることで癌の拡大を防ぐ」仕組みが存在すると予想された.

O-31

腫瘍進行における GMN (Giant and / or Multi-Nucleated) 癌細胞の動態解析

○伊藤剛¹, 福士由真², 高金くらら¹, 田中正光¹

¹秋田大院・医・分子生化学、²秋田大・理・生命科学

化学治療後の癌患部では、多核や巨核である GMN 癌細胞が高い頻度で観察される。GMN 癌細胞は高いゲノム異常を持ち、癌悪性化を導く多様性がある。本研究は GMN 癌細胞と間質細胞の関連、癌悪性化との関係を検討した。近年、間質細胞は癌細胞の増殖・運動を誘導し、癌促進に働くことがわかってきた。

実験モデルとして、口腔扁平上皮癌の SAS 細胞をノコタゾール処理し、多核・巨核とした。この GMN-SAS は同薬剤の除去後に細胞分裂し、ヌードマウス皮下へ移植後も腫瘍の増大が観察された。GMN-SAS は間質の癌関連線維芽細胞(CAF)との共培養により増殖が活性化され、両者の連動したゲル内への浸潤も亢進した。また、GMN-SAS は親株癌細胞に比較して CAF の増殖や腫瘍部への侵入をより促進し、そのフィードバックによる癌細胞の間葉転換の感受性が高い事が観察された。マウス生体内への移植実験では GMN 癌細胞の出現率が特定の臓器で高く、腫瘍の増大や浸潤による悪性化に及ぼす影響が考えられた。

O-32

前立腺がんにおける KLK3 遺伝子発現を担うアンドロゲン誘導性 enhancer RNA 群の性状

澤田崇広^{1,2}、西村耕一^{1,2}、森甚一^{1,2,3}、山下かおり³、越智満久³、新村浩明³、○加藤茂明^{1,2}

¹医療創生大学院 生命理工学研究科、²公益法人ときわ会先端医学研究センター、
³ときわ会常磐病院

新規の non-coding RNA クラスの一つである enhancer RNA (eRNA) は super enhancer (SE) 領域上から転写される短鎖 non-coding RNA であり、染色体 loop 構造の安定化により標的 mRNA 遺伝子の転写を促進する。更に SE から転写される eRNA の役割は、SE 上に液相一液相分離 (LLPS) した転写因子・共役因子巨大複合体の形成への関与が指摘された。我々は、アンドロゲン (DHT) の標的 mRNA 遺伝子であり、前立腺がんのマーカー PSA (KLK3) 遺伝子発現を担う eRNA 群の性状解析を試みた。ゲノムワイドな in silico 解析を行い、KLK3 遺伝子座周辺の新規 eRNAs (KLK3N eRNAs) 候補を見出し、LNCaP 細胞で DHT による KLK3 誘導への関与を確認した。更に ChIP-qPCR 法と LLPS 形成阻害剤の効果から、KLK3 SE 上には、DHT 依存的な eRNA/AR/FOXA1 巨大複合体の形成が推測された。しかしながら前立腺がん腫瘍部位では、eRNAs と KLK3 との発現は必ずしも相関は見られず、また個体間でも発現量に大きな差異見られた。

ポスター発表

P-01

NMR 法と分子動力学計算による非環状糖鎖成分リビトールのコンホメーション解析

○大野詩歩¹, 真鍋法義¹, 山口芳樹¹

¹東北医薬大・薬・薬品物理化学

リビトール ($C_5H_{12}O_5$) は非環状の糖アルコールであり, グラム陽性菌のタイコ酸の構成成分として知られている. 近年ヒトの糖タンパク質中にも見出されたことで, その構造機能相関に興味を持たれている. 本研究はリビトールのコンホメーションを NMR 法および分子動力学(MD)計算により明らかとすることを目的とした. NMR スペクトルの解析によりカップリング定数を算出した結果, リビトール主鎖は複数のコンホメーション間を遷移していることが示唆された. また軽水中において水酸基プロトンの NMR 信号が明瞭に観測されたことから, リビトール分子内での水素結合の形成が考えられた. 一方 MD 計算において, リビトールは複数の安定な二面角 (180° および $\pm 60^\circ$) を遷移しつつ伸長型のコンホメーションを優先的に占有していた. 以上より, リビトールは環状糖よりも自由度が高いものの, 分子内水素結合により伸長型のコンホメーションを優先的に占有していると考察した.

P-02

有機塩素系殺虫剤分解細菌由来 MCE トランスポーターの活性制御に関わる タンパク質間相互作用の解析

○佐藤優花里¹, 尾形拓哉¹, 永田裕二¹

¹東北大・大学院・生命科学研究科

MCE タイプ ABC トランスポーター (MCE トランスポーター) は植物から細菌まで広く分布するが, その詳細な分子機構は不明である. 有機塩素系殺虫剤分解細菌 *Sphingobium japonicum* UT26 株の当該物質資化に必須な因子として同定された MCE トランスポーターは LinK, LinL, LinM, LinN の 4 つのサブユニットから構成される. 本研究は, MCE トランスポーターの作用機構を LinKLMN 複合体の立体構造と生化学的特徴に基づいて分子レベルで解明することを目的とした. 大腸菌を用いて発現・精製した MCE タンパク質 LinM はホモオリゴマーを形成し, 薄層クロマトグラフィー解析により脂質の結合が示された (尾形, 日本生化学会東北支部 第 85 回例会). 大腸菌の MCE トランスポーターでは, MCE タンパク質からリポタンパク質への脂質の輸送にはキャリアタンパク質 MlaC が必要であるが, UT26 株のゲノムには MlaC ホモログが見出されなかった. そこでゲルろ過クロマトグラフィーを用いて LinM とリポタンパク質 LinN を精製したところ, これらのタンパク質は複合体を形成し, 直接相互作用することが示唆された.

P-03

マクロファージ由来の細胞外小胞エクソソームの TNF- α による変化について

○鍵谷忠慶¹

¹ 岩手医大・歯・機能形態学分野

本研究では、炎症反応で重要な TNF- α に注目し、マクロファージ由来の細胞外小胞へ与える影響について解析した。分泌された細胞外小胞の平均粒子径は、TNF- α 非存在下で 133nm, TNF- α 存在下で 136nm であった。粒子数については、それぞれ 2.99×10^8 個/mL, 4.07×10^8 個/mL であった。解析した表面抗原 CD63, CD81, FL0T1, ICAM, ALIX, EpCAM, ANXA5, TSG101 のうち、TNF- α によって CD63 陽性が増える傾向が認められた。また内部の microRNA については、解析した 1,222 種類のうち、100 種類が 2 倍以上の発現変動を示した。特に、miR-146a, miR-378, let-7b, miR-16, miR-21, および miR-670 については、TNF- α 刺激で有意に発現が上昇した。以上より、TNF- α はマクロファージの細胞外小胞の分泌を促進させて、その表面抗原や内部の microRNA 発現を変化させる可能性が示唆された。

P-04

Mon1-Ccz1 非依存的な新規エンドソーム成熟機構の発見

○平城柊¹, 本間悠太¹, 酒巻有里子², 松井貴英¹, 福田光則¹

¹東北大学・大学院生命科学研究科・膜輸送機構解析分野, ²東京医科歯科大学・リサーチコアセンター・組織解析ユニット

エンドソームは細胞膜からのエンドサイトーシスにより生じるオルガネラで, 成熟することで最終的にリソソームへと変化する. エンドソームの成熟は, エンドソーム上に局在する低分子量 G 蛋白質 Rab を中心とした Rab5 → Mon1-Ccz1 複合体 (Rab5 エフェクター/Rab7 活性化因子) → Rab7 というカスケードにより制御されていることが広く信じられている. 実際, Rab5 の欠損によりエンドソームやリソソームの数が減少する. しかし最近我々は, エンドソームの成熟に必須と考えられていた Mon1 のノックアウト細胞 (Mon1-Ccz1 複合体が機能しない) を作製したところ, この細胞ではエンドソームの成熟が部分的に阻害されてはいるものの, 正常な機能を持つリソソームが形成されることを見出した. つまり, Rab5 の下流には Mon1-Ccz1 複合体に非依存的なエンドソームの成熟機構が存在する可能性が強く示唆された. 本発表で, これまでに得られている知見と新規エンドソーム成熟機構に関する今後の展望を報告する.

P-05

優秀ポスター発表賞

真核生物の Cds (CDP ジアシルグリセロールシンターゼ) ファミリーはタンパク質膜挿入に関わる糖脂質 MPIase の生合成能をもつ

○関谷優晟, 沢里克宏, 西山賢一

岩手大・農

MPIase は大腸菌のタンパク質膜挿入に必須の糖脂質である。その生合成の律速酵素, CdsA は, 各種リン脂質の前駆体の CDP-DAG の合成と, CDP-DAG から MPIase の前駆体 (GlcNAc-PP-DAG; compound I) を合成する反応を触媒する。本研究では, 真核生物の Cds ファミリーに compound I 生合成能があるか調べた。酵母, ヒトの小胞体に存在する Cds ファミリーを大腸菌 *cdsA* 欠損株で発現させたところ、これらを単独で発現させた際は生育が回復しなかったが, ミトコンドリアの CDP-DAG 合成酵素 Tam41 を共発現させると生育が回復した。シロイヌナズナの葉緑体に存在する Cds ファミリーの場合は単独の発現で生育が回復した。これらの Cds ファミリーを発現させた株では, 生育の回復の有無に関係なく MPIase が発現していた。このことは, 真核生物の Cds ファミリーが compound I 生合成能をもつことを示し, 真核生物にも MPIase ホモログが存在する可能性を強く示唆している。

P-06

光クロスリンク技術を用いた自然免疫分子 STING の結合タンパク質の探索

○進藤瑠璃¹, 樋野展正², 土井健史², 向井康治朗¹, 田口友彦^{1,3}

¹東北大院・生命・細胞小器官疾患学, ²大阪大院・薬・生命情報解析学, ³AMED-PRIME

自然免疫は先天的に備わっている異物に対する応答機構として知られ, 感染初期の生体防御に重要である. 自然免疫分子の一つである STING は, 定常状態では小胞体に局在しているが, 細胞質に露出した DNA に応答して小胞体からゴルジ体へと移行し, I 型インターフェロンを誘導することが知られている. STING には遺伝性自己炎症性疾患 [STING-associated vasculopathy with onset in infancy (SAVI)] という遺伝病が知られている. SAVI となる STING の変異は 6 つ報告されており, そのうち 3 つの変異 (V147L, N154S, V155M) は STING の二量体化に関わる領域に存在する. 一方, 残りの 3 つの変異 (C206Y, R281Q, R284G) も立体構造的に近接した領域にまとまっているものの, この領域がどのような機能を持つかは明らかにされていない. SAVI 型の STING は小胞体局在を失い, ゴルジ体局在性を示すようになるので, SAVI 変異 (C206Y, R281Q, R284G) を含む周辺領域で, 野生型 STING はその小胞体局在維持に必要なタンパク質と相互作用するのではないかと仮説を立てた.

本研究では, 部位特異的に相互作用するタンパク質を探索するために, 細胞内光クロスリンク技術を用いた. この技術ではタンパク質の目的の部位に pBpa というアミノ酸を導入し UV を照射することで, pBpa と近くのタンパク質との間に共有結合を形成させることができる. STING の SAVI を引き起こす点変異 (C206Y, R281Q, R284G) 領域の近傍アミノ酸残基を pBpa に置換した STING は, 野生型 STING と同様に, cGAMP 刺激依存的に IRF3 のリン酸化を引き起こした. すなわち, pBpa を導入したことによって STING の機能が損なわれていないことを確認した. 次に UV 照射して近傍タンパク質とクロスリンクを行ったところ, 60kDa, 35kDa, 20kDa 付近のタンパク質が pBpa-STING とクロスリンクされることがわかった. これらのタンパク質と相互作用することで, STING の小胞体局在性が保たれていると示唆される. 現在, 質量分析によってこれらのタンパク質の同定を進めている.

P-07

アトピー性皮膚炎に対する新規治療薬 AhR 抑制剤の探索

○枝光智大^{1,2}, 田口恵子¹, 奥山隆平², 山本雅之¹

¹東北大・医・医化学、²信州大・医・皮膚科学

芳香族炭化水素受容体 (AhR) を表皮で過剰に活性化させたマウスはアトピー性皮膚炎様の症状を発症する. アトピー性皮膚炎患者の表皮でも AhR 標的遺伝子 *CYP1A1* の発現が亢進しており, AhR はアトピー性皮膚炎の新しい治療標的分子になると考えられる. そこで, 本研究では東北大学薬学部が保有する化合物ライブラリー (約 6,000 種) を用いて新規 AhR 抑制剤を探索した. 初めに, ルシフェラーゼレポーター安定発現細胞株として *Cyp1-Luc-HaCaT* 細胞を樹立した. AhR アゴニストである 3-メチルコランスレン (3-MC) によるルシフェラーゼの発現誘導を抑制する化合物をハイスループットスクリーニングにより探索した. 次に, 候補化合物の中からリアルタイム PCR 法で 3-MC による *CYP1A1* の発現亢進を抑制する化合物を同定した. その結果, 10 nM の低濃度から抑制効果を示す環状デプシペプチドを新規 AhR 抑制剤として得た. 今後, 本化合物を用いてアトピー性皮膚炎マウスモデルにおける治癒効果を調べる予定である.

P-08

トランス脂肪酸による細胞老化促進作用とその分子機構の解明

○平田祐介，蘆田諒，井上綾，野口拓也，松沢厚

東北大・院薬・衛生化学

トランス脂肪酸は、炭素原子間にトランス型の二重結合を有する脂肪酸の総称で、含有食品摂取に伴う動脈硬化症や認知症などの加齢性疾患発症との疫学的関連が示唆されているが、具体的な疾患発症機序は不明である。

そこで本研究では、上記関連疾患の発症や病態進行と密接に関連する DNA 損傷に着目し、トランス脂肪酸と DNA 損傷に伴って誘導される細胞老化の関連性について検証を行った。ヒト骨肉腫 U2OS 細胞に DNA 損傷誘導剤（シスプラチン）を処置して細胞老化を誘導したところ、エライジン酸（食品中含有量が最も多いトランス脂肪酸）の前処置条件下では、細胞老化随伴分泌現象（SASP）因子である IL-6 や IL-8 などの炎症性サイトカイン mRNA レベルの上昇に伴って、老化マーカー SA- β -Gal の陽性細胞数が著しく増加した。以上の結果から、エライジン酸をはじめとしたトランス脂肪酸は、DNA 損傷時の細胞老化や炎症を促進することで、関連疾患発症に寄与することが示唆された。

P-09

Effects of NRF2 Activation on Aging Phenotypes of Salivary Glands

O Sisca Meida Wati, Daisuke Matsumaru, Hozumi Motohashi

Department of Gene Expression Regulation, Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University.

Saliva plays an essential role in preserving oral health. Secretion and composition of saliva are known to be altered during aging process. A previous report described that unstimulated salivary flow rate was decreased with age. Another study described that aging causes significant decrease in the antioxidant capacity of saliva. In response to oxidative stress, cells upregulate antioxidant pathways that are mainly mediated by a transcription factor NRF2 (Nuclear Factor Erythroid-derived 2-like 2; NFE2L2). In the unstressed condition, NRF2 activity is suppressed by a negative regulator KEAP1. When cells are exposed to oxidative stress, NRF2 is activated and induces a battery of cytoprotective genes, leading to the increase in the anti-oxidant and detoxification capacities. Although NRF2 activation has been suggested to be advantageous in the prevention of aging related diseases, its role in the process of physiological aging has not been well understood. To investigate a contribution of NRF2 to the aging of salivary gland, we conducted histological and gene analysis of submandibular glands of young and aged WT and *Keap1*-knockdown (*KEAP1^{fa/fa}*) mice in which NRF2 is persistently activated. Submandibular glands of young mice did not show any apparent differences among the two genotypes, whereas, in aged mice, clear differences were observed. Aged salivary glands exhibited domination of depositions of iron and collagen, immune cell infiltration, and DNA damage leading to apoptosis. These aging phenotypes were obvious in *Nrf2*-deficient salivary glands and were mostly absent in *Keap1*-knockdown salivary glands, suggesting that NRF2 activation has anti-aging effects on salivary gland integrity. We propose that appropriate activation of NRF2 is effective for the maintenance of healthy condition of salivary glands and for the prevention of dry mouth in the elderly.

Keywords: Salivary gland, aging, NRF2, dry mouth, hyposalivation

P-10

シスプラチン誘導性アポトーシスにおける TRAF2 の機能的役割

○島田 竜耶¹, 土田 芽衣¹, 横沢 拓海¹, 平田 祐介¹, 野口 拓也¹, 松沢 厚¹

¹ 東北大・院薬・衛生化学

DNA 損傷誘導剤であるシスプラチンは優れた抗癌効果を示すことから、固形癌化学療法における重要な薬剤である。しかし現状では、癌細胞のシスプラチンに対する自然耐性や獲得耐性が障壁となり、十分な治療効果が得られておらず、シスプラチン耐性メカニズムの解明は喫緊の課題である。本研究では、幾つかの癌組織において機能欠損変異や発現量低下が報告されているシグナルアダプター分子 TRAF2 に着目し、シスプラチン誘導性細胞死における TRAF2 の役割を解析した。その結果、興味深いことに、TRAF2 は細胞死誘導キナーゼ JNK の活性化を介して p53 の安定化を促進し、DNA 損傷依存的な p53 誘導性アポトーシスを強く亢進させることが初めて明らかとなった。DNA 損傷時での TRAF2 の役割については、これまで報告が無い。従って、癌組織で頻繁に認められる TRAF2 の発現量や活性の低下が、これまで不明であったシスプラチン耐性発現メカニズムの一つであることを今回我々は新たに見出した。

O-11

最優秀ポスター発表賞

ネコ科動物にマタタビ反応を誘起する活性物質の同定

○上野山怜子¹, 室岡孝信¹, 安立昌篤², 小野田伊吹³, 山下哲郎¹, 西川俊夫³, 宮崎雅雄¹
¹岩手大院・総合科学・農, ²東北大・薬, ³名古屋大院・生命農

イエネコを始めとしたネコ科動物は、マタタビを嗅ぐと葉に頬を擦り付け転げ回る。この反応は、江戸時代から知られるほど有名だが、なぜネコはマタタビを大好物とするのか、この素朴な疑問に答えられたものはいない。マタタビ反応の意義を解明するには、必要最小限の神経回路を単一活性物質で刺激して反応を誘起するアッセイ系の構築が肝要となる。既に過去の研究で複数のマタタビ活性物質が同定されていたが、その単離過程には天然物質が化学修飾・分解されうる酸処理やアルカリ加熱処理が含まれていた。そこで本研究では、ネコへの活性物質をマタタビから再探索した。まず、順相クロマトグラフィーでマタタビ葉抽出物を分画すると、ネコは既知活性物質含量が低い画分に強いマタタビ反応を示した。そこでこの画分を順相や逆相 HPLC で更に分画しネコへの活性を指標に精製した。最終精製画分を GC/MS で分析すると、ネペタラクトールが同定された。ネペタラクトール合成標品は、イエネコに加え、ジャガーやヒョウなど大型ネコ科動物にも強い活性を示した。以上の結果より、ネペタラクトールはマタタビ葉のネコへの活性に大きく寄与する物質であり、信頼性と再現性の極めて高いアッセイ系構築に利用できると結論付けた。本研究はネコ科動物のマタタビ反応の生物学的意義解明へ大きな一歩になると期待される。

P-12

ヒスタチンがマトリックスメタロプロテアーゼ分泌に及ぼす影響

○金子良平¹, 山森徹雄^{1,2}, 前田豊信^{1,4}, 鈴木厚子⁴, 内山梨夏¹、加藤靖正^{3,4}

奥羽大院・歯・¹口腔機能回復学, ³口腔生理生化学, 奥羽大・歯・²歯科補綴学, ⁴口腔機能分子生物学

ヒスタチン(HTN)は唾液に多く含まれるヒスチジンに富むカチオン性ペプチドで、現在 12 種類の HTN アイソフォーム (7~38 アミノ酸残基(AA)) があり、抗菌活性や創傷治癒促進活性が知られている。唾液腺では *HTN1* と *HTN3* を発現しており、プロセッシングにより HTN1 の C 末側 27AA から成る HTN2 や HTN3 の N 末側 24AA から成る HTN5 等が生じる。HTN には *C. albicans* に対する強い抗菌活性が知られているが、その本態は HTN5 であり、活性領域 12AA (P-113) が同定されている。HTN1, HTN2 および HTN3 では、創傷治癒促進活性がみられるが、HTN5 には見られない。一方、当研究室では創傷治癒やがんの転移に重要な matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) の合成が酸性細胞外 pH (pH_e) により誘導されることを報告しているが、本研究ではこの誘導機構に対するヒスタチンの役割について検討した。マウス B16-BL6 メラノーマ細胞に HTN3 や HTN5 をコードする領域を強制発現したところ、酸性 pH_e に誘導される MMP-9 の分泌、mRNA のレベルともに低下した。P-113 や HTN1 をコードする領域を強制発現してもこの抑制効果は見られなかった。*HTN5* を強制発現させると、酸性 pH_e により誘導される *Mmp9* プロモーター活性は低下しなかったが、mRNA の安定化を促進する分子をコードする遺伝子 (*Elavl1*, *Tia1*) の発現が抑制された。これらのことから、HTN5 において、抗菌活性とは異なる領域に *Mmp9* mRNA の安定性を正に調節する領域が存在することが示唆された。

O-13

シンデカン 4 遺伝子の発現制御機構に関わる主要転写因子の探索

○岡崎 優, 磯 直輝, 岸 承俊, 小野泰誠, 渡邊大輔, 牛抱和也, 那谷耕司, 高橋 巖

岩手医大・薬・臨床医化学分野

膵 β 細胞に発現しているヘパラン硫酸プロテオグリカンのコアタンパク質シンデカン 4(Sdc4)は, 膵 β 細胞のブドウ糖刺激インスリン分泌に関与している. 従って, *Sdc4* 遺伝子の発現を制御することでインスリン分泌機能をコントロールできる可能性がある. 本研究では, *Sdc4* 遺伝子の発現を制御している転写因子を検索した. *Sdc4* 遺伝子の発現を上昇させる Trichostatin-A(TSA)を投与した MIN6 細胞の核抽出液を用いたゲルシフトアッセイ(EMSA)では, TSA の濃度依存的に *Sdc4* プロモーターの-77 から-64 までの領域を含む DNA と転写因子の複合体を示すシグナルの増強が認められた. また, タンパク質合成阻害剤を用いた実験から, TSA による *Sdc4* 遺伝子発現上昇は, *Sdc4* プロモーターへの直接的な作用と他の遺伝子を経由する間接的な作用によることが判明した. さらに, *Sdc4* プロモーターに結合することが予測される転写因子に対する抗体を用いた EMSA やそれら転写因子の遺伝子発現解析から, Egr や Klf などの転写因子が *Sdc4* 遺伝子の発現に関与している可能性が推測された.

P-14

マウス膵臓ランゲルハンス島インスリン産生 β 細胞におけるシンデカン4の機能解析

○牛抱和也, 渡邊大輔, 小野泰誠, 岸 承俊, 岡崎 優, 那谷耕司, 高橋 巖

岩手医大・薬・臨床医化学分野

膵 β 細胞に発現しているヘパラン硫酸とそのコアタンパク質であるシンデカン4(Sdc4)は、インスリン分泌に関与している。Sdc4 をノックアウト(KO)した C57BL6J 系統の 8 週齢雄マウスでは、インスリン分泌障害による耐糖能異常が生じる。本研究では、この耐糖能異常の系統間における差を確認した。8 週齢雄の ICR 系統 Sdc4KO では耐糖能異常は確認されなかったが、膵 β 細胞を選択的に障害するストレプトゾトシン(STZ)を投与したところ、投与 2 週後の ICR 系統 Sdc4KO マウスでは対照群と比べて著しい随時血糖値の上昇が認められた。このマウスではインスリン分泌が低下しており、ランゲルハンス島(ラ島)の減少やラ島における β 細胞の割合が減少していたことから、ICR 系統の Sdc4KO マウスでは STZ による膵 β 細胞の障害が野生型に比べてより高度であることが確認された。以上の結果から、系統間で差異があるものの、Sdc4 がマウス生体においても膵 β 細胞機能に関与していることが明らかとなった。

P-15

間質細胞と癌細胞が協調した MMPs 産生と活性化および、癌進展への関与

○福士由真¹, 伊藤剛², 高金くらら², 田中正光²

¹秋田大・理工・生命科学、²秋田大院・医・分子生化学

癌組織において CAF(癌関連線維芽細胞)・マクロファージ・癌細胞は近接している。これら間質細胞は癌細胞に刺激され、癌浸潤に有利ながん微小環境を作り出す。本研究は、癌病態を想定した RAW264.7 (マウスマクロファージ)、CAF、SAS (口腔扁平上皮癌株) の 3 者の相互作用による MMPs の産生と活性化を検討し、癌浸潤との関連を検討した。CAF 培養上清で刺激後、RAW264.7 では NFκB 経路を介した MMP9 の発現誘導が認められ、MMP9 は CAF や SAS 由来の因子で活性化された。CAF は RAW264.7 と SAS の浸潤を先導した。活性型 MMP9 は CAF リード型浸潤を促進し、RAW264.7 と SAS の浸潤を亢進することで癌浸潤を進展させた。マウス皮下に RAW264.7 と SAS を移植し、腫瘍組織を免疫組織染色により観察した。RAW264.7 は CAF マーカー陽性の線維芽細胞に接着し、MMP9 発現が認められた。現在、ヒト癌病理切片の免疫組織染色により、類似の間質反応の探索と癌進行度との相関を調べている。

P-16

癌幹細胞関連遺伝子 BEX2 の肝臓癌における役割

○福士大介^{1,2}, 佐藤賢一², 玉井恵一¹

¹宮城県立がんセンター研究所がん幹細胞研究部, ²東北医科薬科大学消化器内科

【目的】癌幹細胞は、ヘテロな癌細胞組織中の亜集団であり、高い造腫瘍能や抗癌剤耐性を持つことから、治療抵抗性の主因である。しかし、特に固形癌においてはその維持機構は不明な点が多い。私たちは、胆管癌において癌幹細胞関連遺伝子 BEX2 (brain-expressed X-linked gene 2) をみいだした。しかし、BEX2 の他癌種における機能は不明な点が多い。本研究では、肝細胞癌における BEX2 の機能解析を行った。【方法】ヒト肝細胞癌手術検体における BEX2 の発現を免疫組織染色で検討した。また、肝細胞癌株 HepG2・Huh7 を siRNA を用いて BEX2 をノックダウンし、機能解析を行った。【結果】肝細胞癌手術検体において、BEX2 は 13/43 の症例で発現を認めた。その一部の症例では、BEX2 と増殖マーカーである Ki67 の発現分布が排他的であった。肝細胞癌細胞株の BEX2 をノックダウンすると、複数の幹細胞形質（静止期優位・シスプラチン耐性・in vivo 腫瘍生着能・スフェア形成能）が減弱した。また、BEX2 はシスプラチン刺激時およびスフェア形成時に増加した。【結論】BEX2 は肝細胞癌において癌幹細胞の維持に必要な分子だと考えられた。

P-17

加齢に伴う初代線維芽細胞の染色体安定性変化の実態とその分子基盤の解明

○陳冠¹, 家村顕自², 田中耕三^{1,2}

¹ 東北大学医学系研究科、² 東北大学加齢医学研究所

染色体の不均等な分配が高頻度にかかる状態、いわゆる染色体不安定性はがん細胞の特徴の一つとして古くから認識されているが、このような異常は、がん細胞のみならず、正常な体細胞においても加齢とともにその頻度が増加することが報告されている。また、早老症患者の体細胞には、ヘテロクロマチンの減少など間期核内構造に関連する共通の変化が知られている。しかし、その詳細についてはまだ本質的な理解には至っていない。本研究では、さまざまな月齢の野生型マウスより単離した線維芽細胞を用い、酸素分圧の異なる条件において、長時間の生細胞観察による染色体の異常分配と、機械学習による間期核内構造の変化の評価を行った。その結果、老化マウスより単離した細胞では、軽度な染色体不安定性が見られることがわかった。また、若齢マウスから高齢マウスにかけて、核構造に変化が生じることがわかった。本大会では、これらの解析結果を提示し、加齢に伴う染色体不安定性の発生要因について議論したい。

P-18

アルツハイマー病モデルマウスにおける Nrf2 誘導剤 CDDO-Im の効果

○門口 詩織¹, 齊藤 律水^{1,2}, 三枝 大輔², 宇留野 晃^{1,2}, 山本 雅之^{1,2}

¹ 東北大学・医・医化学分野, ² 東北大学・東北メディカル・メガバンク機構・ゲノム解析部門

アルツハイマー病 (AD) は脳内におけるアミロイド β の沈着や、それに伴う神経炎症や酸化ストレスによって症状が進行すると考えられている。転写因子 Nrf2 は酸化ストレスに応答し、抗酸化酵素の発現を誘導して酸化ストレスに対する保護効果を発揮するが、さらに炎症を抑制する。先行研究により、AD モデルマウスである *App*^{NL-G-F/NL-G-F} (*App*^{NLGF}) ノックインマウスにおける遺伝子変異 Nrf2 活性化が抗酸化分子である還元型グルタチオン (GSH) 増加作用や神経炎症抑制作用により、認知機能障害を抑制することが報告された。そこで本研究では、強力な Nrf2 誘導剤である 1-(2-Cyano-3,12,28-trioxooleana-1,9(11)-dien-28-yl)-1H-imidazole (CDDO-Im) による GSH 増加や神経炎症抑制作用について検討を行った。

野生型マウスに CDDO-Im を投与し、脳内薬物分布を解析した。さらに *App*^{NLGF} マウスに CDDO-Im を投与し、脳内 GSH 濃度および神経炎症マーカー発現を解析した。

野生型マウス (6 週齢, オス) に CDDO-Im (100 mg/kg) を腹腔投与し、30 分後に脳を摘出し、液体クロマトグラフィー質量分析 (LC-MS) で CDDO-Im 濃度を測定した。大脳皮質では 0.442 ± 0.241 pmol/mg (平均値 $\pm$ 標準偏差), 海馬では 0.406 ± 0.153 pmol/mg の CDDO-Im が検出された。さらに野生型マウスに CDDO-Im (16.3 mg/kg) を経口投与し、24 時間後の脳を解析したところ、Nrf2 標的遺伝子である *Nqo1* mRNA の発現が誘導された。引き続き、*App*^{NLGF} マウス (12 ヶ月齢, オス) に CDDO-Im (16.3 mg/kg) を週 3 回, 2 週間経口投与し、脳内 GSH 濃度および遺伝子発現を検討した。LC-MS により脳内 GSH を解析したところ、コントロール群で GSH 濃度が 1.52 ± 0.125 nmol/mg であったのに対し、CDDO-Im 投与群では 2.07 ± 0.136 nmol/mg と増加していた。CDDO-Im 投与は、脳内の神経炎症マーカーである *Iba1* および *Cst7* の mRNA 発現を低下させた。

以上の結果から、Nrf2 誘導剤である CDDO-Im は脳内移行し、脳で GSH を増加させることが明らかとなった。さらに、神経炎症も抑制する効果があることが解明された。

P-19

GATA2 変異に起因する遺伝子発現調節異常の網羅的解析

○竹中佑太¹, 長谷川敦史¹, 清水律子¹

¹ 東北大・医・分子血液学分野

〈背景・目的〉

GATA ファミリー転写因子群に属する GATA2 は造血幹細胞の産生と維持に必須の転写因子である。近年, B 細胞, NK 細胞, 樹状細胞, 単球系列の特異的な産生異常を呈する DCML 欠損症患者における常染色体優性形質で伝播する *GATA2* 遺伝子変異の同定と, 患者由来 *Gata2* 変異導入マウスを用いた解析より, これまで未知であったリンパ球系列を含む系列選択的な免疫細胞分化制御への GATA2 の寄与が示唆されている。また患者由来 *GATA2*^{R398W} 変異では, 2つの GATA 結合配列が連続した Tandem-GATA 配列におけるドミナントネガティブ変異体としての特性が見いだされ, 特異的な遺伝子発現制御異常を惹起していることが推察されるが, その実態は未だ明らかでない。本研究では GATA2 変異体発現細胞を用いた網羅的遺伝子発現解析により, 血球分化制御・疾患形成の分子機序解明につながるシス配列特異的発現制御機構の解析を目的とする。

〈方法〉

GATA2^{WT} および *GATA2*^{R398W} 発現構築を導入したヒト慢性骨髄性白血病由来細胞株 (K562) を用いてマイクロアレイ解析を実施し, *GATA2* 発現亢進に応答する標的遺伝子と *GATA2*^{R398W} 変異体発現時に特異的な発現変動を示す標的遺伝子を同定した。

〈結果・考察〉

外来性の *GATA2*^{WT} または *GATA2*^{R398W} 発現に応答した 1543 遺伝子のうち, 転写開始地点より±100kbp の範囲に Tandem-GATA 配列を有する遺伝子が 49 個抽出された。ADAM19 等を含む 16 遺伝子では *GATA2*^{WT} 発現細胞と *GATA2*^{R398W} 発現細胞との間で 1.5 倍以上の発現差が認められた。これらの遺伝子では発現制御における Tandem-GATA 配列の貢献と *GATA2*^{R398W} 変異による制御異常の強い影響が示唆される。加えて, *GATA2*^{R398W} 発現細胞全体の遺伝子発現特性として, 細胞周期制御に関わる遺伝子群の有意な発現変動が GSEA 解析より明らかとなり, 疾患症例に認められる悪性化機序に迫り得る知見が得られた。

P-20

優秀ポスター発表賞

ApoER2 スプライシングによるセレノプロテイン P 取込効率制御

○水野彩子¹, 堤良平¹, 斉藤芳郎¹

¹ 東北大院・薬・代謝制御薬学分野

必須微量元素セレンは生体内で主にセレノシステインとしてタンパク質中に存在する。セレノプロテイン P (SeP) はセレノシステイン含有血漿タンパク質であり、全身の細胞にセレンを供給する。

ヒト横紋筋肉腫由来 RD 細胞とヒト T リンパ球腫由来 Jurkat 細胞では共に細胞膜受容体 ApoER2 依存的に SeP を取り込むが Jurkat 細胞でより高い取込効率を示す。しかしその詳細は不明であった。そこで本研究では SeP 取込効率への ApoER2 構造の寄与を検討した。

ApoER2 の cDNA 配列を解析した結果、両細胞で異なる転写産物が同定され RD 細胞で主に発現するバリエントでは糖鎖修飾を受けるエキソン 15 の欠失が見られた。両細胞由来 ApoER2 を HEK293T 細胞に異所性発現させ、精製 SeP の取込効率を比較した結果、Jurkat 細胞由来 ApoER2 を発現した細胞でより高い取込効率が見られた。以上の検討から細胞間での SeP 取込効率の違いには ApoER2 のスプライシング及び糖鎖修飾の違いが重要であることが示唆された。

P-21

スフィンゴミエリナーゼ C の酵素反応至適 pH、温度の構造的側面

○濱名宏章¹, 杉森大助², 村山和隆¹

¹東北大院・医工・分子構造解析分野、²福島大院・共生システム理工学

スフィンゴミエリナーゼ C (SMC)はホスホリパーゼ C の一種として、スフィンゴミエリンをセラミドとホスホコリンに分解する酵素である。我々は先に放線菌の一種である *Streptomyces griseocarneus* (Sg)から SMC を同定・クローニングし、酵素タンパク質の発現精製、性質の分析を進めてきた。しかしながら、本酵素の分子機構は不明な点が多く、分子機構の解明のため結晶構造解析を行った。

SMC の構造はこれまでにいくつか報告例があり、今回解析された Sg-SMC についても高い立体構造の類似性が確認された。しかしながら活性部位周りを構成するアミノ酸にはいくつか特徴的な違いがあり、これが Sg-SMC の相対的に高い至適 pH の原因であると示唆された。また、外部のループ構造においても既知構造の SMC との違いがみられ、これらが Sg-SMC の反応至適温度に関わっていると考えられた。

P-22

血漿セレン含有タンパク質セレノプロテイン P 発現と脂質代謝

○市川 貴之¹, 堤 良平¹, 斎藤 芳郎¹

¹東北大院・薬・代謝制御薬学分野

必須微量元素セレンをセレノシステイン残基として主鎖に含むタンパク質はセレノプロテインと呼ばれ、ヒトでは 25 種類存在する。血漿中に存在するセレノプロテイン P (SeP) はセレン運搬作用と過酸化リン脂質還元作用を持つ。これまで、マウスモデル解析やヒト疫学から高カロリー食による肝脂質蓄積に SeP の過剰発現誘導が寄与していることが示唆された。しかしながらその詳細な機構は不明である。本研究では肝臓における SeP 発現と肝脂質代謝との関連性について検討した。

通常食飼育 SeP 欠損マウスの肝臓では、野生型と比較してトリグリセリド量は変化しなかった一方で、コレステロール量は 1.6 倍の高値を示した ($p=0.01$, $n=5$)。高脂肪・高シヨ糖食飼育マウスでは SeP 欠損により肝トリグリセリド並びにコレステロール量が減少したことから (Cell Metabolism 2010), SeP 発現が脂質代謝に多様な関わりを持つことが示唆される。今後、通常食・高カロリー食両条件での肝脂質代謝の変化と SeP 発現との関連性について分子レベルでの解明を目指している。

P-23

内分泌細胞の高コレステロール組成分泌顆粒膜に結合するタンパク質群を探索する

○安達美喜¹, 渡辺剛², 穂坂正博¹

¹秋田県立大学・生物資源科学研究科, ²旭川医科大学・解剖学講座

内分泌細胞の分泌顆粒は、トランスゴルジネットワーク(TGN)からペプチドホルモン前駆体(神経ペプチドを含む)を貯蔵しながら形成される。分泌顆粒には、ホルモンの他、プロセッシング酵素群とグラニントタンパク質が含まれる。我々の研究グループは、これまで TGN からホルモンを顆粒に運ぶ分子群を検証し、そのホルモン選択輸送能を明らかにするとともに、分泌顆粒膜に高濃度に集積するコレステロールが顆粒構成タンパク質の局在に不可欠である、といった知見を得た。

本研究は、この発見を発展させ『高コレステロール組成分泌顆粒に集積するコレステロールに結合して顆粒の形成・維持に係るタンパク質群を網羅的に解明する』ことを目的とした。まずマウス内分泌細胞株 (AtT-20 細胞: ACTH を分泌する; MIN6 細胞: インスリンを分泌する)、および内分泌組織 (マウス脳下垂体) から細胞抽出液を作製し、この抽出液と分泌顆粒膜タイプの高コレステロール組成リポソームと反応し、超遠心で上清と沈殿物に分離した。超遠心後の沈殿物を SDS-PAGE で展開してマスマスペクトル法で解析を試みたところ、 Ca^{2+} 存在下で内分泌組織/細胞株から高コレステロール組成のリポソームと結合するタンパク質群を得た。本会ではその手法と得られたタンパク質群について報告する。

P-24

ヘム生合成系初発酵素 5-アミノレブリン酸合成酵素 1(ALAS1)遺伝子破壊マウスにおけるグルコース刺激インスリン分泌異常

○武田 和也^{1,2}, Koen van Wijk¹, 木村 朋寛¹, 岡野 聡¹, 斉藤 真一³, 山口 浩明², 児玉 健⁴, 高橋 究⁵, 田中 徹⁵, 中島 元夫⁵, 中島 修¹

¹山形大・医・遺伝子実験セ, ²山形大院・医・創薬科学, ³山形大・医・免疫学, ⁴ネオファーマジャパン (株), ⁵SBI ファーマ (株)

高等脊椎動物におけるヘム生合成の第一段階及び律速段階は, 5-アミノレブリン酸合成酵素(ALAS) によって合成される 5-アミノレブリン酸(ALA)の産生である. ALAS1 遺伝子は, 組織非特異的に発現するアイソザイムである. 20週齢を超えたALAS1ヘテロ接合(A1 +/−)加齢マウスは, ミトコンドリア機能障害, 耐糖能障害およびインスリン抵抗性(IR)を示すものの, 血清インスリンレベルが亢進していないことを我々は観察している.

2型糖尿病の多く場合, インスリン作用の異常は糖尿病の発症に先行するが, 初期段階では, インスリン分泌の増加により IR が代償されるため, β 細胞が, IR に応じて, 容積・分泌増加できる限りは, 糖尿病は発症しない. このため, IR を発症する A1 +/−加齢マウスが野生型マウスと同等の血清インスリンレベルしか示さないのは異常な状態である可能性がある. 本研究では A1+/−加齢マウスのインスリン合成・分泌に異常があるかどうかを検討した.

電子顕微鏡および組織学的解析から, 加齢 A1 +/− マウスの, β 細胞の細胞質に占める分泌顆粒の面積比および, 膵臓断面積に占める膵島の面積比は, それぞれ野生型マウスの面積比と比較して, それぞれ増大していることが観察された. しかしながら, 加齢 A1+/− マウスから採取した分離膵島のインスリン含有量は, 野生型マウスのものと同程度であった. 一方, 分離膵島の 16.7 mM グルコース刺激によるインスリン分泌 (GSIS) は野生型マウスと比較して減少したが, 25 mM グルコース刺激による GSIS は加齢 A1 +/− マウスで増加し, 加齢 A1 +/− マウスでは, GSIS 制御に異常があることが示唆された.

本研究により, *in vivo* での ALA/ヘム欠乏がグルコース刺激インスリン分泌制御に異常をもたらす可能性が示された.

P-25

Establishment of Hmox1-DsRed reporter mouse system

○ Anqi Zhang¹, Saki Adachi¹, Tomonori Hosoya², Ken Itoh², Takafumi Suzuki¹, Masayuki Yamamoto¹

¹Department of Medical Biochemistry, Tohoku University Graduate School of Medicine.

²Department of Stress Response Science, Hirosaki University Graduate School of Medicine.

Heme oxygenase is essential enzyme in heme catabolism. Expression of *Hmox1* (heme oxygenase 1) gene is induced by various stress stimuli. Monitoring of *Hmox1* gene expression is useful for study of stress response. However, live-cell imaging system of Hmox1 has not been established. To generate *in vivo* monitoring system of *Hmox1* gene expression, we developed Hmox1-DsRed knock-in reporter mice. Utilizing conditional Hmox1 gene knockout mice, in which Hmox1 gene is floxed by the loxP sites with insertion of DsRed gene into the 3' region, *Hmox1^{fllox/flox}::LysMCre* mice were generated to delete Hmox1 gene and express DsRed in myeloid lineage cells. In thioglycollate-elicited peritoneal macrophages from *Hmox1^{fllox/flox}::LysMCre* mice, expressions of Hmox1 mRNA and protein were diminished and instead DsRed fluorescence was detected, indicating that fusion protein of N-terminus of Hmox1 and DsRed is successfully generated by Cre-mediated recombination. *Hmox1^{DsRed/+}* mice were generated by mating *Hmox1^{fllox/+}* mice with *Ayul-Cre* mice. We found that Hmox1-DsRed fluorescence of macrophages from *Hmox1^{DsRed/+}* mice was induced in response to CDDO-Im treatment in dose- and time-dependent manner. The CDDO-Im-mediated induction of Hmox1-DsRed fluorescence was markedly diminished in *Nrf2^{-/-}::Hmox1^{DsRed/+}* mice, indicating that CDDO-Im-mediated induction of Hmox1-DsRed fluorescence is dependent on transcription factor Nrf2. In addition, The CDDO-Im-mediated induction of Hmox1-DsRed fluorescence was suppressed in *Keap1^{C151S/C151S}::Hmox1^{DsRed/+}* mice in the case of low dose of CDDO-Im treatment but not in the case of high dose of CDDO-Im, suggesting that Keap1-Cys151 is main sensor but other cysteine residues of Keap1 could act as sensor for high dose of CDDO-Im. FACS analysis revealed that oral administration of CDDO-Im induced Hmox1-DsRed fluorescence in splenic myeloid cells. In this study, we successfully established a new *in vivo* monitoring system that enables us to execute elaborate analysis on the regulation of *Hmox1* gene expression.

P-26

優秀ポスター発表賞

セフェム系抗菌薬による腎毒性発現機構の解明

○鍵 智裕¹, 関口 雄斗¹, 平田 祐介¹, 野口 拓也¹, 松沢 厚¹

¹東北大・院薬・衛生化学

セフェム系抗菌薬は、重篤な副作用として急性尿細管壊死（ATN）を引き起こすが、その発症機序は不明である。我々は最近、セフェム系抗菌薬 cefotaxime が、活性酸素種（ROS）依存的に ALIS と呼ばれるユビキチン化タンパク質凝集体を核内に蓄積させることで細胞毒性を発揮していることを突き止めた。そこで我々は、ALIS が ATN の発症に関与していると想定し、多種類のセフェム系抗菌薬を用い、尿細管上皮細胞における細胞毒性誘導機構を網羅的に解析した。その結果、興味深いことに、細胞毒性を有するセフェム系抗菌薬のみが ROS 産生を引き起こし、ALIS の核内蓄積を顕著に亢進させることが判明した。即ち、ALIS の核内蓄積が ATN の発症に寄与する可能性が強く示唆された。さらに我々は、ALIS 核内蓄積の分子メカニズムの詳細な解析結果に基づいて、このセフェム系抗菌薬が惹起する ALIS 形成を強く阻害する新たな薬剤を見出しており、本研究は世界初となる ATN の治療法開発に繋がると考えている。

P-27

浄法寺生漆に含まれる HSET 過剰発現分裂酵母株に作用する生物活性物質と構造活性相関

○小野寺拓夢¹, 栗澤尚瑛¹, 湯川格史^{2, 3}, 登田隆^{2, 3}, 木村賢一¹

¹岩手大院・総合科学、²広島大院・総合生命科学、³広島大・健康長寿

がんの分子標的薬は、現在世界で 106 種の薬剤が利用、あるいは臨床試験中であるが、細胞分裂時の微小管モータータンパク質であるヒトキネシン-14 の HSET を標的とするものは無い¹⁾。この HSET はある種のがん細胞で高発現しており、がん細胞の生き残り戦略である中心体クラスタリングの実行分子で、ノックダウンを行うとがん細胞は淘汰されるが、正常細胞の細胞分裂には影響を与えない。私たちは、既に分裂酵母で HSET を過剰発現させて生育できなくした遺伝子変異酵母 TY-27 株の生育回復活性を指標とする系²⁾を利用し、セイタカアワダチソウからヒト乳がん細胞 MDA-MB-231 細胞の中心体クラスタリングを阻害する kolavenic acid analog (KAA) (1)を見出した³⁾。本研究では、さらに岩手県天然資源である浄法寺生漆から、HSET 阻害剤の単離精製と構造活性相関研究を行なうこととした。

市販の岩手県産浄法寺生漆をメタノール抽出、酢酸エチル抽出、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製を行い、最終的に逆相 HPLC で単離し、1 とは全く構造が異なるアルキルカテコールのウルシオールと総称される 2 (C₂₁H₃₂O₃) と 3 (C₂₁H₃₀O₂) とを同定した。化合物 2 と 3 は、いずれも濃度依存的に 6.25 ng/spot まで生育回復活性を示したが、それは 1 の 1/100 の活性であった。

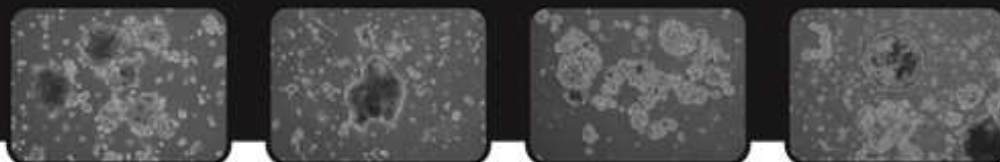
そこで、構造活性相関を調べるために、2 と 3 と同じアルキルフェノール誘導体のイチョウ葉の成分で、SUMO 化阻害剤でもある ginkgolig acid (4)⁴⁾、並びに糸状菌から α -glucosidase 阻害活性で単離した SNF-4794-9(5)⁵⁾ を調べたところ、1~4 は TY-27 株で生育回復活性を示したが、5 は活性を示さなかった。このことから、分子内のベンゼン環のオルト位に -OH 基または -COOH 基が結合していることが生育回復活性に重要であることが示唆された。一方で、MDA-MB-231 細胞に対し 2, 3, 5 の細胞毒性は IC₅₀>200 μ M であったが、4 は 1 (IC₅₀=81.6 μ M) よりも強い活性を示した (IC₅₀=48.9 μ M)。

1) JAMTTC News Letter, No.23-2, 5-8 (2019), 2) M. Yukawa, *et al.*, Fungal Genet. Biol., **116**, 33-41 (2018), 3) N. Kurisawa, *et al.*, Bioorg. Med. Chem., **28**, 115154 (2020), 4) I. Fukuda, *et al.*, Chem. Biol., **16**, 133-140 (2009), 5) Y. Esumi, *et al.*, J. Antibiot., **56**, 169-172 (2003)

F-PDO® を用いた 抗がん剤の薬効解析受託サービス



その細胞で大丈夫ですか？



F-PDO® は通常の細胞と比べ、より臨床検体に近い細胞です。

F-PDO® の特徴

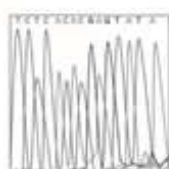
遺伝子発現



遺伝子発現プロファイル

元のがん組織との比較

ゲノム



ゲノム解析

がん特異的遺伝子変異の同定

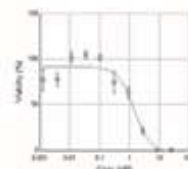
病理



形態観察

元のがん組織との比較

薬剤感受性



細胞増殖阻害試験

既存細胞株との比較

- 網羅的遺伝子発現解析、ゲノム解析、病理学的解析により、元のがん組織の特徴を維持していることを確認
- 従来の細胞株を用いた評価方法と比べ、より臨床検体に近い状態で抗がん剤の評価が可能
- 樹立系統数 82 種 (※2019 年 7 月時点)
- 臨床検体や遺伝子情報などのデータも確認可能

F-PDO® のライセンス販売も可能です！

創薬研究でドロップアウトのリスクを少しでも減らしたい方、より臨床検体に近い細胞株で試験されたい方、
F-PDO® のライセンス購入をご検討される方は下記までお問い合わせください。

低エンドトキシンコラーゲン



ブタ真皮からペプシンにより抽出した未変性のコラーゲンで、独自の製法によりエンドトキシンを大幅に低減させております。(100EU/g以下)

製造工程中にウイルス不活化工程及びフィルター濾過工程を含むため、in vivo研究用途に適しています。本製品は研究用ですが、臨床用途につきましてもご相談可能です。お気軽にご相談ください。

特長

- 原料はSPF豚から採取したブタ真皮を原料としています
- ペプシンによりアテロ化したアテロコラーゲンです
- 低エンドトキシン (100EU/g 以下)
- ウイルスクリアランス試験を実施済みです
- 0.45 μ mフィルターで最終濾過済みです
- 液状品以外にも、特注にて粉末状、線維シートでの提供も可能です

用途

- エンドトキシンが影響する実験系における足場材として
- 細胞の2D・3D培養用基材として
- ドラッグデリバリー基材の研究用途として



研究試薬用
コラーゲン (液状品)

コラーゲン線維シート 体内にほぼ近い密度の線維

特長

- 高度に精製したコラーゲン(純度95%以上)を原料とする。
- 生体と同等の線維構造を保持。
- 生体と同等の高密度(膨潤後で約20%の濃度)。
- 従来の凍結乾燥品と比較して強度が高い。

製品概要

原料由来: ブタ真皮由来ペプシン可溶性コラーゲン
コラーゲン量: 20mg/cm²
サイズ: 直径5.4cm、厚み0.2mm (膨潤後1.0mm)
その他: 電子線照射済

その他のサイズ(大きさ、厚み)、原料等につきましても、お気軽にご相談ください。

凍結乾燥品との比較



製品説明

生体中のコラーゲンは、分子同士が会合して存在し、湿重量当たり、15~30%という高密度で線維を構成しています。コラーゲンを応用する場合、通常はスポンジやフィルム状に加工して用いますが、多くはコラーゲンの溶液のまま加工しており線維を形成していません。本品は、独自の技術を用いて、コラーゲンを生体内と同等の線維構造を保持したまま、高密度に圧縮したシートです。

低エンドトキシンゼラチン

低エンドトキシン 10EU/g 以下



【用途】

注射用安定剤
ドラッグデリバリー基剤
再生医療など

従来にない高品質で医療用に最適 メディゼラチン (HMG-BP) の特長

- 豚皮由来
 - 皮内反応試験陰性/抗原性試験陰性
 - 日本薬局方「精製ゼラチン」適合
 - 原薬等登録原簿(マスターファイル)に登録済み(228MF40025)
 - 高ゼリー強度(250g以上)
 - 無菌試験適合
 - ウイルス不活化
 - エンドトキシンと強く反応する免疫系に対して不活性です。
 - 本製品は研究用ですが、臨床用途につきましても対応可能です。
- お気軽にご相談ください。



株式会社 **ニッピ** バイオ・ケミカル事業部

〒120-8601 東京都足立区千住緑町1-1-1 TEL 03-3888-5184 <https://www.nippi-inc.co.jp/inquiry/pe.html>

iMatrix 細胞培養基質

ラミニンE8断片の高純度精製品



iMatrix-511

【iMatrix-511の特徴】

- ・細胞外マトリックスタンパク質であるラミニンで細胞を接着
- ・ラミニンの細胞接着部位を含む”E8領域”の断片
- ・播種した細胞は速やかに接着し、生存と増殖が促進される
- ・シングルセルでの取扱が可能
- ・培養できる細胞の一例（ES/iPS cell, Neuronal cell, Retinal pigment epithelial cell, Corneal epithelial cell, etc...）
- ・iPS細胞を用いた正確なゲノム編集法（MhAX法）で利用可能

【コーティング法の手順】



iMatrix-511(ラミニン-511E8断片)をコーティング
(コーティング条件 ⇒ 37℃: 1時間, 室温: 3時間, 冷蔵: 一晚)



細胞播種



細胞培養



株式会社 マトリクソーム

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘3番2号 大阪大学蛋白質研究所共同研究拠点棟
TEL. 06-6877-0222 E-mail: info@matrixome.co.jp <http://www.matrixome.co.jp>

無料サンプル
ございます!!

(1研究室につき1回限り)



放射線の安全利用をトータルサポート



営 業 品 目

臨床試薬 医薬品 化学薬品 輸入試薬 工業薬品
一般試薬 食品添加物 水道用薬品
高度管理医療機器 医療機器修理業 医療器材
理化学器械 水处理装置 計測器 バイオ関連機械

株式会社 小 関 秀 雄 商 店

本 社 ：福島県福島市北中央三丁目85-1
TEL 024-935-1351 FAX 024-531-3578
営 業 所 ：福島県郡山市備前館一丁目127番地
TEL 024-932-8534 FAX 024-933-5494
出 張 所 ：福島県いわき市北白土字宮田8番地
TEL 0246-35-6630 FAX 0246-35-6631