

学内グラント 報告書

平成22-23年度 学内グラント終了後報告書

生理活性物質をリード化合物とする構造展開による
多発性骨髄腫の新規分子標的薬の開発

研究代表者 佐川 森彦（総合医療センター 血液内科）

研究分担者 木崎 昌弘^{*}，得平 道英^{*}，根本 朋恵^{*}，富川 武樹^{*}

研究成果リスト

学会発表

1) Sagawa M, Tomikawa T, Nemoto T, Tabayashi T, Watanabe R, Tokuhira M, Misawa T, Ri M, Hashimoto Y, Iida S, Mori S, Kizaki M. A novel derivative of ACA, TM-233, induces cell death in bortezomib-resistant myeloma cells. 第74回日本血液学会学術集会, 平成24年10月, 名古屋

2) Sagawa M, Tomikawa T, Nemoto T, Tabayashi T, Watanabe R, Tokuhira M, Ri M, Hashimoto Y, Iida S, Kizaki M. TM-233, a novel analog of 1'-Acetoxychavicol Acetate (ACA), induces cell death in human myeloma cells by inhibiting both JAK/STAT and NF- κ B pathways: A possible new agent for overcoming bortezomib-resistance. 54th ASH (American Society of Hematology) Annual Meeting and Exposition, December 2012, Atlanta, GA

^{*}総合医療センター 血液内科

学内グラント 報告書

平成22-23年度 学内グラント終了後報告書

関節リウマチにおけるエピジェネティクス制御の異常の解明

研究代表者 荒木 靖人 (大学病院 リウマチ膠原病科)

学会発表

- 1) 荒木靖人, 和田琢, 佐藤浩二郎, 織田弘美, 黒川理樹, 三村俊英. 関節リウマチ滑膜線維芽細胞のIL-6依存性MMP遺伝子転写活性化におけるヒストンメチル化の役割, 第7回日本エピジェネティクス研究会年会, 平成25年5月, 奈良
日本エピジェネティクス学会
- 2) 荒木靖人, 和田琢, 佐藤浩二郎, 横田和浩, 三由文彦, 金潤澤, 織田弘美, 三村俊英. 関節リウマチ滑膜線維芽細胞のIL-6依存性MMP遺伝子転写活性化におけるヒストンメチル化の役割, 第57回日本リウマチ学会総会・学術集会, 平成25年4月, 京都
- 3) Araki Y, Wada T, Sato K, Kurosawa N, Fujimoto K, Suzuki S, Yokota K, Miyoshi F, Kim YT, Oda H, Kurokawa R, Mimura T. Histone methylation is associated with MMPs gene transcriptional activation in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts, The 10th RCGM International Symposium of Academic, Nov 2-3, 2012, Saitama, Japan
- 4) Wada T, Araki Y, Fujimoto K, Suzuki S, Yokota K, Miyoshi F, Kim YT, Sato K, Oda K, Kurokawa R, Mimura T. Histone modifications of IL-6 gene promoter region in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts, The 10th RCGM International Symposium of Academic, Nov 2-3, 2012, Saitama, Japan
- 5) 荒木靖人, 和田琢, 荒井重紀, 横田和浩, 三由文彦,

金潤澤, 佐藤浩二郎, 織田弘美, 黒川理樹, 三村俊英. 関節リウマチ滑膜線維芽細胞のIL-6依存性MMP遺伝子転写活性化におけるヒストン修飾の役割, 第9回RCGMフロンティア国際シンポジウム, 平成23年11月, 埼玉

- 6) 荒木靖人, 横田和浩, 三由文彦, 黒澤奈津子, 荒井重紀, 佐藤浩二郎, 黒川理樹, 三村俊英. 関節リウマチ滑膜炎におけるヒストン修飾の役割, 第8回RCGMフロンティア国際シンポジウム, 平成22年11月, 埼玉

獲得研究費

- 1) 平成25-27年度 日本学術振興会 科学研究費補助金 基盤研究(C). 関節炎疾患特異的なMMP分子による軟骨破壊機序の解明. 研究代表者: 荒木靖人.
- 2) 平成25年度 かなえ医薬振興財団 研究助成金. エピゲノムと転写因子の観点からのCD8陽性T細胞記憶の統合的理解. 研究代表者: 荒木靖人.
- 3) 平成24年度 埼玉医科大学 若手医師育成研究費. 関節炎疾患特異的なMMP分子による軟骨破壊機序の解明. 研究代表者: 荒木靖人.
- 4) 平成23-24年度 第一三共生命科学研究振興財団 研究助成金. CD8陽性T細胞分化及び機能を制御するヒストン修飾関連酵素複合体の解明. 研究代表者: 荒木靖人.
- 5) 平成23-24年度 日本学術振興会 科学研究費補助金 若手研究(B). CD8陽性T細胞におけるヒストン修飾による機能及び分化制御の解明. 研究代表者: 荒木靖人.

学内グラント 報告書

平成22-23年度 学内グラント終了後報告書

インフルエンザウイルス特異的 CTL の誘導を増強する
プラットフォームの開発

研究代表者 川野 雅章 (医学部 免疫学)

研究分担者 松井 政則¹⁾, 禾 泰壽²⁾, 半田 宏³⁾

研究成果リスト

論文

- 1) Kawano M, Matsui M, Handa H. SV40 virus-like particles as an effective delivery system and its application to a vaccine carrier. *Expert Review of Vaccines* 2013;12:199-210.
- 2) 川野雅章, 半田宏. ウイルスコンポーネントを用いた新規DSS担体. *Medical Science Digest* 2012;38:2-3.

-
- 1) 医学部 微生物学
 - 2) 医学部 分子生物学
 - 3) 東京工業大学

- 3) 川野雅章, 松井政則, 禾泰壽, 半田宏. インフルエンザウイルス特異的CTLの誘導を増強するプラットフォームの開発. *埼玉医科大学雑誌* 2012;39:9-13.

学会発表

- 1) Kawano M, Suda T, Matsushita S, Akatsuka T, Handa H, Matsui M. Chimeric VP1 of Simian Virus 40 induces IL-12 production from DC, facilitating CTL induction! Against an inserted CTL epitope within the VP1, 2012 Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology, December 2012, Kobe

学内グラント 報告書

平成22-23年度 学内グラント終了後報告書

ペプチド表面結合リポソームワクチン用
C型肝炎ウィルス CTL エピトープの同定

研究代表者 高木 徹 (医学部 微生物学)

学会発表

- 1) 高木徹, 堀内大, 小林信春, 守屋修, 赤塚俊隆, 堤武也, 小池和彦, 種市麻衣子, 内田哲也. 低免疫原性 HCV 由来ペプチドと抗 PD-L1 抗体結合リポソームワクチンによる慢性 C 型肝炎モデルマウスの治療効果, 第 16 回日本ワクチン学会, 平成 24 年 11 月, 横浜
- 2) 高木徹, 堀内大, 小林信春, 守屋修, 赤塚俊隆, 堤武也, 小池和彦, 種市麻衣子, 内田哲也. 非免疫原性 HCV 由来ペプチドと抗 PD-L1 抗体結合リポ

ソームワクチンによる慢性 C 型肝炎モデルマウスの免疫治療, 第 60 回日本ウイルス学会学術集会, 平成 24 年 11 月, 大阪

論文

- 1) Takagi A, Kobayashi N, Taneichi M, Uchida T, Akatsuka T. Coupling to the surface of liposomes alter the immunogenicity of hepatitis C virus-derived peptides and confers sterile immunity. *Biochem Biophys Res Commun* 2013 Jan;430:183-9.

学内グラント 報告書

平成22-23年度 学内グラント終了後報告書

Coherent Anti-Stokes Raman Scattering による
無侵襲血糖値モニターの研究

研究代表者 戸井田 昌宏（保健医療学部 医用生体工学科）

本研究でCARSによるグルコースの非侵襲計測およびコヒーレントアンチストークス光測定にS/Nがパルスタイミングに対しても信号強度以上に鋭敏であることが確認できた。この現象はCARS信号のS/Nが非共鳴過程に律速されることを考えると、新たなCARS信号の高S/N計測の可能性を示唆するものとして興味深い。

現在はこの現象を積極的に活用し、CARS信号のS/N増強法と形態情報の同時計測を可能とする、新規なCARS/OCT同時計測技術の研究へ展開を計っている。

本研究グラントの成果として出願した「特願2012-39854」が、科学技術振興機構の出願支援制度の支援決定を受けて、PCT出願された（出願番号 PCT/JP2013/54992 出願日 2013/2/26）。

学内グラント 報告書

平成22-23年度 学内グラント終了後報告書

着床不全に対する新規治療法の開発とその臨床応用

研究代表者 梶原 健 (大学病院 産科婦人科)

研究分担者 板倉 敦夫*

研究成果リスト

論文発表

- 1) Kajihara T, Brosens JJ, Ishihara O. The role of FOXO1 in the decidual transformation of the endometrium and early pregnancy. Med Mol Morphol (in press).

学会発表

- 1) 梶原健, 栃木秀乃, 板倉敦夫, 石原理. ヘパリンは子宮内膜間質細胞の脱落膜化を促進する, 第64回日本産科婦人科学会総会・学術集会, 2012年8月, 神戸
- 2) 梶原健, 栃木秀乃, 岡垣竜吾, 板倉敦夫, 石原理. アンドロゲンにより子宮内膜間質細胞の脱落膜化変化は形態的・機能的に促進される, 第30回日本受精着床学会総会・学術講演会, 2012年8月, 大阪

- 3) 梶原健, 藤田恵子, Japarath Prechapanich, 内野聡美, 田中嘉代子, 松本幸子, 穂田真澄, 永島雅文, 石原理. フィブリンゲル3次元培養システムを用いた子宮内膜症 *in vitro* モデルの確立とその応用, 第44回日本臨床分子形態学会総会・学術集会, 2012年9月, 高知
- 4) 梶原健, 内野聡美, 石原理. フィブリンゲル3次元培養システムを用いた子宮内膜症 *in vitro* モデルの確立とその超微形態学的研究, 第57回日本生殖医学会・学術講演会, 2012年11月, 長崎
- 5) 梶原健. Forkhead 転写因子を中心としたヒト子宮内膜脱落膜化機構の解析, 第44回日本臨床分子形態学会奨励賞受賞講演, 2012年9月, 高知

受賞

梶原健

第44回日本臨床分子形態学会奨励賞

*大学病院 産科婦人科

学内グラント 報告書

平成22-23年度 学内グラント終了後報告書

脳内神経回路オシレーション発生における GABA ニューロンの役割

研究代表者 伊丹 千晶 (医学部 生理学)

研究分担者 村越 隆之*

研究成果リスト

論文

- 1) Adachi N, Numakawa T, Kumamaru E, Itami C, Chiba S, Iijima Y, Richards M, Katoh-Semba R, Kunugi H. Phencyclidine-Induced Decrease of Synaptic Connectivity via Inhibition of BDNF Secretion in Cultured Cortical Neurons. *Cerebral Cortex* 2013;23:847-58.
- 2) Itami C, Kimura F. Developmental switch in the spike-timing dependent plasticity contributes to the initiation of the critical period. *The Journal of Neuroscience* 2012;32:15000-11.

- 2) 中尾啓子, 伊丹千晶, 山田真弓, 木村文隆. 子宮内電気穿孔法により遺伝子導入された大脳皮質体性感覚野抑制性神経細胞の電気生理学的・神経化学的解析, 第35回日本神経科学大会, 2012年9月, 名古屋
- 3) 木村文隆, 伊丹千晶. 発達期バレル皮質2/3層錐体細胞への2つの異なるスパイクタイミング依存性可塑性とその相互, 第35回日本神経科学大会, 2012年9月, 名古屋
- 4) Kimura F, Itami C. Developmental switch in the spike-timing dependent plasticity contributes to the initiation of the critical period in the barrel cortex. The 8th FENS Forum of Neuroscience, July 2012, Spain

学会発表

- 1) Itami C, Kimura F. Cooperative heterosynaptic interaction of spike timing-dependent plasticity in the developing barrel cortex. Society for Neuroscience, 2012, (42th Annual meeting) October 2012, USA

図書

計0件

産業財産権

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

*医学部 生化学

学内グラント 報告書

平成23年度 学内グラント終了後報告書

小児の駆出率の保たれた心不全の病態解明と発症予測への展望

研究代表者 増谷 聡（総合医療センター 小児循環器科）

研究分担者 先崎 秀明*

研究成果リスト

論文

- 1) Seki M, Kurishima C, Saiki H, Masutani S, Arakawa H, Tamura M, Senzaki H. Progressive aortic dilation and aortic stiffness in children with repaired tetralogy of Fallot. *Heart Vessels* 2013.
- 2) Saiki H, Nakagawa R, Ishido H, Masutani S, Senzaki H. Landiolol hydrochloride infusion for treatment of junctional ectopic tachycardia in post-operative paediatric patients with congenital heart defect. *Europace* 2013.
- 3) Chiba H, Masutani S, Toyoshima K, Mori R. Indomethacin for preterm infants with intracranial hemorrhage. *Pediatr Int* 2013;55(1):124-6.
- 4) 増谷聡, 先崎秀明. 小児の駆出率の保たれた心不全の病態解明と発症予測への展望. *埼玉医科大学雑誌* 2012;39(1):46-8.
- 5) Yana A, Masutani S, Kojima T, Saiki H, Taketazu M, Tamura M, Senzaki H. Usefulness of cystatin C in the postoperative management of pediatric patients with congenital heart disease. *Circ J* 2012.
- 6) Tamai A, Kurishima C, Seki M, Masutani S, Taketazu M, Senzaki H. Stent implantation for effective treatment of refractory chylothorax due to superior vena cava obstruction as a complication of congenital cardiac surgery. *Clin Med Insights Cardiol* 2012;6:97-101.
- 7) Sugimoto M, Ishido H, Seki M, Masutani S, Tamai A, Senzaki H. Findings in the pulmonary vascular bed in the remote phase after Kawasaki disease. *Am J Cardiol* 2012;109(8):1219-22.
- 8) Seki M, Kurishima C, Kawasaki H, Masutani S, Senzaki H. Aortic stiffness and aortic dilation in infants and children with tetralogy of Fallot before corrective surgery: evidence for intrinsically abnormal aortic mechanical property. *Eur J Cardiothorac Surg* 2012;41(2):277-82.
- 9) Saiki H, Kojima T, Seki M, Masutani S, Senzaki H. Marked disparity in mechanical wall properties between ascending and descending aorta in patients with tetralogy of Fallot. *Eur J Cardiothorac Surg* 2012;41(3):570-3.
- 10) Masutani S, Taketazu M, Ishido H, Iwamoto Y, Yoshida S, Matsunaga T, Kobayashi T, Senzaki H. Effects of age on hemodynamic changes after transcatheter closure of atrial septal defect: importance of ventricular diastolic function. *Heart Vessels* 2012;27(1):71-8.
- 11) Masutani S, Saiki H, Ishido H, Senzaki H. Stenosis of a reconstructed aorta caused a paradoxical diastolic pressure gradient after norwood operation. *Clin Med Insights Cardiol* 2012;6:141-4.
- 12) Kawasaki H, Seki M, Saiki H, Masutani S, Senzaki H. Noninvasive assessment of left ventricular contractility in pediatric patients using the maximum rate of pressure rise in peripheral arteries. *Heart Vessels* 2012;27(4):384-90.

学会発表

- 1) 栗嶋クララ, 増谷聡, 小島拓朗, 齋木宏文, 葭葉茂樹, 石戸博隆, 他. 心房中隔欠損症に対する閉鎖法の違いによるストレス反応の相違. *日本小児循環器学会雑誌* 2012;28(Suppl):s218. 第48回日本小児循環器学会総会・学術集会, 平成24年7月, 京都
- 2) 栗嶋クララ, 増谷聡, 先崎秀明. 心房中隔欠損症の肺体血流比の決定因子. *日本心臓病学会誌* 2012;7(Suppl D):367. 第60回日本心臓病学会学術集会, 平成24年9月, 金沢
- 3) 犬塚亮, 杉本昌也, 齋木宏文, 増谷聡, 先崎秀明.

*総合医療センター 小児循環器科

Hemodynamic impact of reduced elasticity in the pulmonary trunk in patients with tetralogy of Fallot. 日本小児循環器学会雑誌 2012;28(Suppl):s181. 第48回日本小児循環器学会総会・学術集会, 平成24年7月, 京都

- 4) 増谷聡. 血管障害を評価する-mechanobiologyから考える 体血管障害と心室機能. 日本小児循環器学会雑誌 2012;28(Suppl):s114. 第48回日本小児循環器学会総会・学術集会, 平成24年7月, 京都
- 5) 増谷聡, 栗嶋クララ, 齋木宏文, 石戸博隆, 竹田津未生, 川崎秀徳, 他. LV and arterial dysfunction in Kawasaki Disease with regressed coronary arterial lesions may be due to impaired coronary microcirculation. 日本小児循環器学会雑誌 2012;28(Suppl):s226. 第48回日本小児循環器学会総会・学術集会, 平成24年7月, 京都
- 6) 豊島勝昭, 増谷聡, 川滝元良. 超低出生体重児の

循環管理における左房容積測定 of 臨床的意義. 日本小児循環器学会雑誌 2012;28(Suppl):s220. 第48回日本小児循環器学会総会・学術集会, 平成24年7月, 京都

- 7) 齋木宏文, 栗嶋クララ, 西本彩加, 中川良, 石戸博隆, 増谷聡, 他. フォンタン術前の拡張機能はフォンタン術後の臨床経過に関連する. 日本小児循環器学会雑誌 2012;28(Suppl):s181. 第48回日本小児循環器学会総会・学術集会, 平成24年7月, 京都
- 8) 齋木宏文, 栗嶋クララ, 中川良, 石戸博隆, 増谷聡, 竹田津未生, 他. 血管障害を評価する-mechanobiologyから考える 先天性心疾患における腎機能障害と血管硬度の関連. 日本小児循環器学会雑誌 2012;28(Suppl):s115. 第48回日本小児循環器学会総会・学術集会, 平成24年7月, 京都

学内グラント 報告書

平成24年度 学内グラント終了後報告書

GLUT4 小胞輸送に必須な蛋白同定による糖尿病治療薬の開発

研究代表者 保坂 利男 (大学病院 内分泌内科・糖尿病内科)

緒 言

我が国には現在約740万人以上が糖尿病に罹患していると推測されており、その中の90%以上を2型糖尿病が占めている。2型糖尿病では、インスリン分泌障害と同時にインスリン抵抗性が認められる。インスリン抵抗性とは、インスリンがインスリン感受性臓器である筋肉、脂肪組織において、糖をうまく取り込めない状態であり、その病態の解明には、それらの組織において、インスリン作用（インスリンのインスリンレセプター結合）後の糖取り込みのメカニズムを明らかにする必要がある。その中でも必須な機構は、インスリンによる糖輸送担体 GLUT4 の細胞膜への動員である。今日までこの分野において、世界中で数々の研究がなされてきたにもかかわらず、いまだに解明はされていない。特にインスリン受容体、phosphatidylinositol (PI)3 キナーゼ、Akt2 と続く細胞内情報伝達の次のステップから最終段階の GLUT4 の細胞膜動員のステップの間については全くのブラックボックスの状況である。

研究代表者らは、インスリンによる糖輸送機構のインスリンレセプター基質及び下流の PI3-キナーゼアイソフォームを同定して (J Biol Chem 1996;271(10):5317-20, 1997;272(12):7873-82), それぞれの役割を明らかにした。現在インスリンによる糖輸送機構に PI3-キナーゼと Akt2 が必須であると考えられている。いくつかの候補分子もあり、研究代表者らも含めて、国内外で Akt2 の下流タンパクの同定が長年行われてきたが未解決の状態のままである。同様に一般的な小胞輸送関連タンパクを候補に GLUT4 小胞に関与しているかの研究も精力的に行われてきたが、未だに GLUT4 小胞移動とインスリンシグナルを結びつける必須のタンパクは見つからない。以前より、インスリン存在、非存在下において、ラットの脂肪細胞、培養脂肪細胞から GLUT4 小胞構成タンパクは遊離され解析はされてきたが、未だにインスリンシグナルに必須のタンパクは見つ

かっていない。研究者代表者も GLUT4 小胞に存在し、インスリンにより細胞膜に移動するほぼ 100% GLUT4 と同様な動態を示す膜タンパク IRAP をえさに結合タンパク p115 の同定、解析を行った (Mol Biol Cell 2005;16(6):2882-90)。p115 は、インスリン依存性の GLUT4 小胞の細胞内貯蔵部位につなぎ止めておくために必須なタンパクであることがわかった。しかしながらインスリン依存性膜動員関連した蛋白ではなかった。インスリン刺激後に細胞内 GLUT4 小胞は、細胞内貯蔵部位から細胞膜に移動する。現在まで一部明らかとなった小胞関連蛋白だけでは、インスリンの特異性を完全に説明することはできず、新たな細胞内局在関連蛋白（つなぎ止め蛋白など）、細胞膜結合、融合に関連した蛋白の存在が示唆される。小胞のリサイクリングなどで GLUT4 小胞すべてが単離されても、バックグラウンドが影響して、インスリン感受性 GLUT4 小胞における必須タンパクの同定には限界があるものと思われた。そこで本研究では、遺伝子改変培養脂肪細胞（アデノウイルスを使った dominant negative Akt or constitutive Akt 過剰発現細胞株）で GLUT4, IRAP (GLUT4 の小胞に存在し同様の動態を示すタンパク) の細胞内ドメインとの結合する新規タンパク質の同定、解析を行うことで、GLUT4 膜動員に必須のタンパクが同定され、そのタンパクをターゲットとした糖尿病治療薬の開発につながると推測される。

結 果

IRAP(1-109)に結合したタンパクのMS解析

サイトゾル、LDM の SDS-PAGE のバンドを切り出して解析することでタンパクを同定した。今回の数回の実験ではインスリン刺激によって明らかに変化を認める IRAP 結合タンパクは SDS-PAGE では見つけることはできなかった。同定したタンパクの中には、GLUT4 のトランスロケーションへの関与が報告されているタンパクも含まれていた。cytosol 及び LDM のどちらにおいても細胞骨格関連タンパクは認められたが、LDM では、G 蛋白やモーター蛋白等も

同定された。

GLUT 4小胞関連蛋白の解析

GLUT4小胞に直接結合するとの報告はされていない蛋白も数種類見つかっており、その中の1つとして、CSP1 (cysteine string protein 1) について解析した。CSP1はVAMP2とSyn4が発現する膵臓や脂肪細胞などにも発現している事実から、CSP1がGLUT4

小胞の膜結合に関与している可能性を考えた。培養脂肪細胞株 (3T3-L1 細胞) を用いてインスリン依存性 GLUT4 小胞膜輸送におけるCSP1の役割を検討した。その結果、CSP1の過剰発現下で、細胞膜へのGLUT4小胞の発現は低下しなかったが、細胞膜に移動したGLUT4小胞のVAMP2とsyntaxin4の結合低下によりインスリン依存性の糖取り込みが低下した (図1-3)。

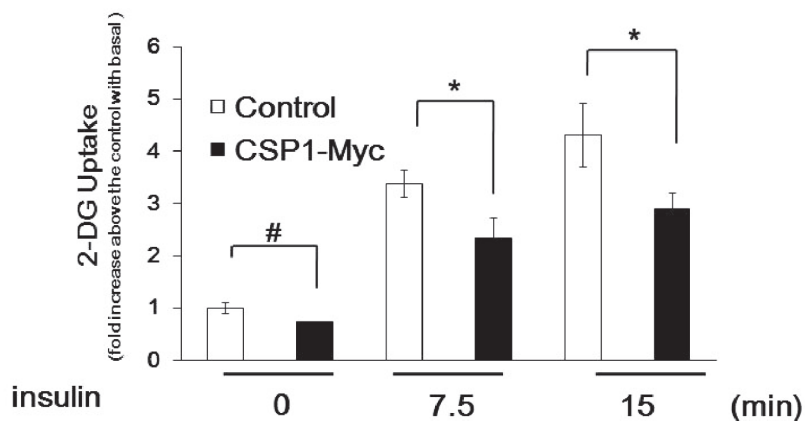


図1. CSP1を過剰発現するとインスリン依存性の糖取り込みが低下する。

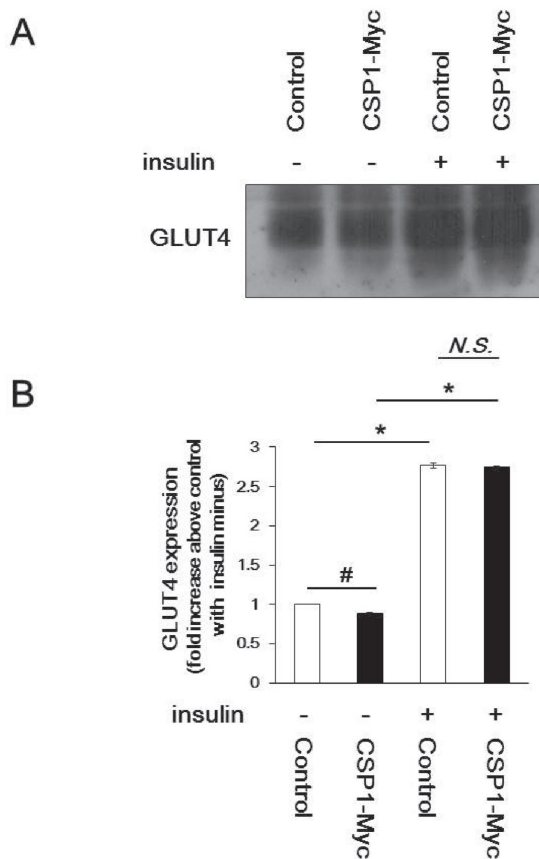


図2. CSP1を過剰発現してもインスリン依存性の細胞膜へのGLUT4のトランスロケーションは低下しない。

対照的に, CSP1のノックダウンはインスリン依存性の糖取り込みを上昇させた(図4). また, 3T3-L1細胞でのCSP1のmRNAおよび蛋白質発現は, 高濃度のパルミチン酸と慢性的インスリン暴露により引き起こされた

インスリン抵抗性状態において上昇した(図5). 以上から脂肪細胞においてCSP1は, 細胞膜でGLUT4小胞の結合阻害によりインスリン抵抗性に関与していることが示唆された.

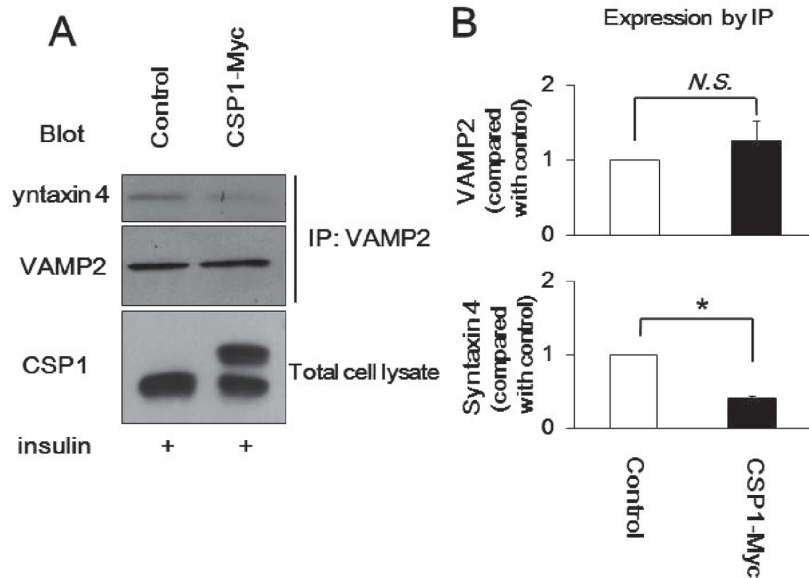


図3. CSP1を過剰発現するとVAMP2とSyntaxin4の結合が低下する (GLTU4の膜融合が低下する).

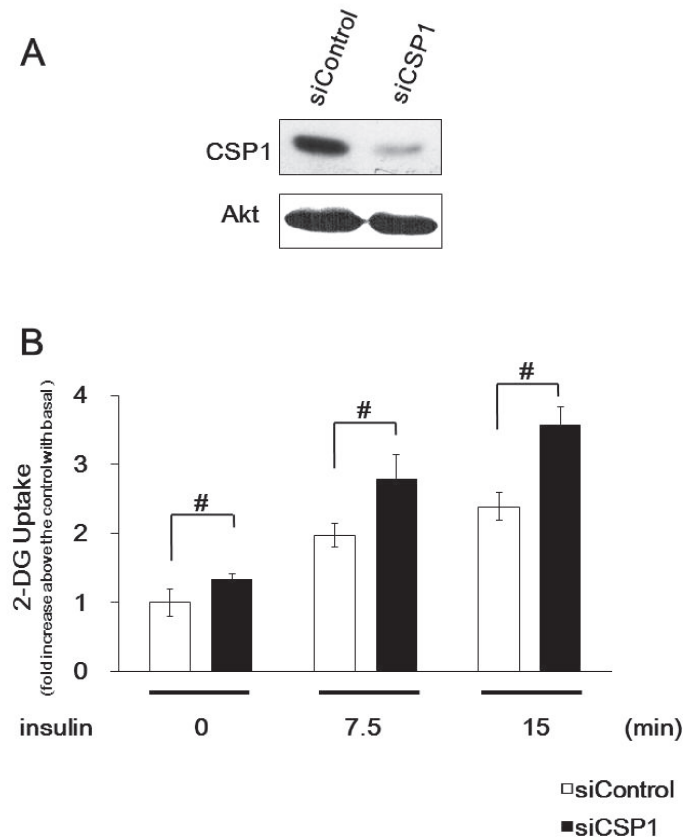


図4. CSP1をノックダウンするとインスリン依存性の糖取り込みが増加する.

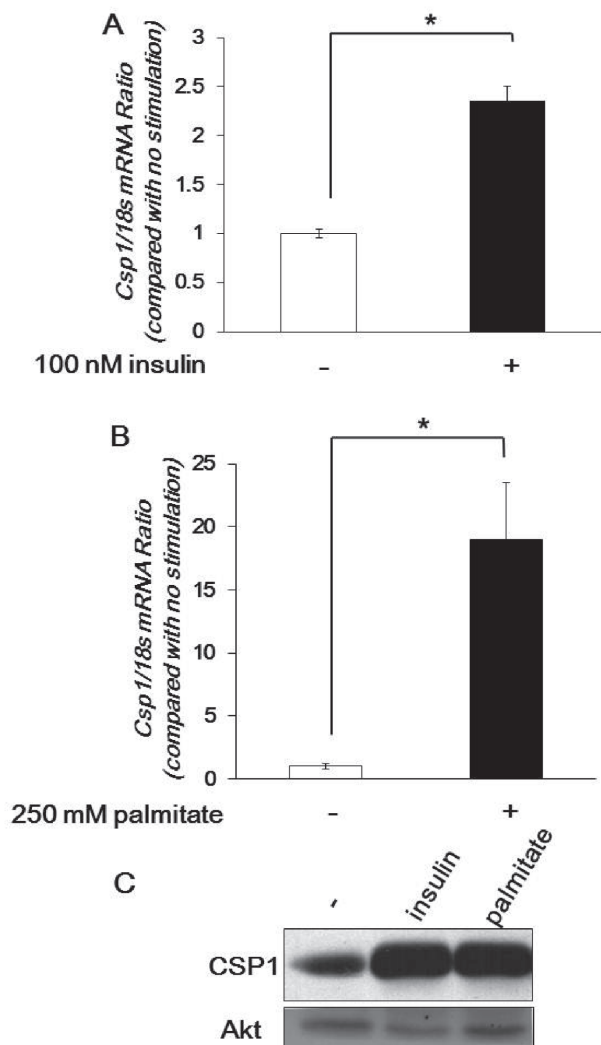


図 5. インスリン抵抗状態（高インスリン血症，高 FFA）で CSP1 の mRNA，タンパク発現量が増加する。

考 察

今回のアプローチからさらに CSP1 に結合する新規の GLUT4 小胞に結合する脂肪酸結合蛋白も同定しており，現在機能解析およびノックアウトマウスの解析を共同研究で開始している（詳細非表示）．また，現在同定した機能不明のタンパクや今後見つかるであろう IRAP，GLUT4 小胞結合タンパクの中には，今後の糖尿病治療薬開発につながる可能性を秘めているものもあると考えられ更なる解析は継続している．

研究成果リスト

論文

- 1) Li Q, Hosaka T, Harada N, Nakaya Y, Funaki M. Activation of Akt through 5-HT_{2A} receptor ameliorates serotonin-induced degradation of insulin receptor substrate-1 in adipocytes. *Mol Cell Endocrinol* 2013 Jan 5;365(1):25-35.
- 2) Jambaldorj B, Terada E, Hosaka T, Kishuku Y, Tomioka Y, Iwashima K, Hirata Y, Teshigawara K, Le CT, Nakagawa T, Harada N, Sakai T, Sakaue H, Matsumoto T, Funaki M, Takahashi A and Nakaya Y. CSP1 modulates insulin sensitivity by attenuating GLUT4 vesicle docking with the plasma membrane. *J Med Invest* 2013 (in press).

学会発表

- 1) Iuchi T, Hosaka T, Inukai K, Sumita T, Imai K, Ono H, Ishida H, Awata T. Hypothalamic liver kinase B1(LKB1) regulates energy homeostasis via AMPK modification, 5th international congress on prediabetes and the metabolic syndrome, April 2013, Vienna, Austria

特許出願

該当なし

学内グラント 報告書

平成23年度 学内グラント終了後報告書

新規消化管ホルモン IBCAP を標的にした
膵β細胞再生の分子基盤の解明

研究代表者 横尾 友隆 (ゲノム医学研究センター)

研究分担者 豊島 秀男*

研究成果リスト

学会発表

- 1) Yokoo T, Watanabe K, Iida KT, Suzuki H, Shimano H, Kawakami M, Yamada N, Okazaki Y, Toyoshima H. Expression of IBCAP (intestine-derived beta-cell augmenting promoter), an intestine specific secretory factor, induces insulin positive cells in the liver, 48th EASD Annual Meeting, 2012/10/2, Berlin, Germany
- 2) 豊島秀男, 横尾友隆, 鈴木浩明, 島野仁, 石川三衛, 川上正舒, 山田信博, 岡崎康司. 消化管ホルモン IBCAPによる膵β細胞分化増殖に与える影響の

解析, 第86回日本内分泌学会学術総会, 2013年4月25日, 仙台

- 3) 横尾友隆, 渡邊和寿, 飯田薫子, 鈴木浩明, 島野仁, 菅原泉, 石川三衛, 川上正舒, 山田信博, 岡崎康司, 豊島秀男. 新規消化管ホルモンIBCAPによる膵β細胞分化・増殖作用の解析, 第56回日本糖尿病学会年次学術集会, 2013年5月16日, 熊本

特許出願

名称 : 膵臓内分泌細胞の生産方法
出願番号 : 特願2012-120281
出願日 : 平成24年5月25日
発明者 : 豊島秀男, 岡崎康司, 横尾友隆, 菅原泉

*ゲノム医学研究センター

© 2013 The Medical Society of Saitama Medical University

<http://www.saitama-med.ac.jp/jsms/>

学内グラント 報告書

平成23年度 学内グラント終了後報告書

次世代シーケンサーによる高速な既知の
疾患遺伝子スクリーニング系の開発

研究代表者 神田 将和（ゲノム医学研究センター）

緒 言

近年出現した高出力シーケンサーによる高速なゲノム解析に基づいた診断支援の可能性がよく議論されている。本研究ではミトコンドリア呼吸鎖異常症（MRCD）をモデル疾患としてプロトタイプの開発を行った。対象とした理由は、従来法では確定診断に労力と時間を要し、また小児において重篤な表現型を呈する、100以上の多岐に渡る原因遺伝子を背景にもつからである。今回は高出力シーケンサーを用いた系が短時間・広範囲・高精度でスクリーニングできる能力があるかを評価することを目的とした。結果として、キャプチャーシーケンス系における現状の性能、またMRCDで見られるヘテロプラスミーに対して実用可能であること、を明らかにできた。

材料と方法

MRCD 原因遺伝子を抽出するためのカスタムキャプチャー：ミトコンドリアDNA全周およびターゲットとした特定遺伝子のエキソン部位とのみハイブリダイゼーションする合成オリゴを設計した。これを用いてゲノム医学研究センターに設置してある高速シーケンサーによりデータを取得、同じく現有設備であるクラスタマシンに高速シーケンサーのデータ解析環境を整備して解析した。

結 果

対象とした遺伝子のエキソン領域とミトコンドリアゲノム全域を、効率良く選択的にシーケンスしていることが確認できた。前者は対象とした約100万塩基の97%を10回以上の冗長度でシーケンスできていた。後者のミトコンドリアゲノムについては全長の99.92%を1000回以上の冗長度で取得できた。一部の検体からはミトコンドリアゲノムにある有害変異も検出した。

考 察

今回の実験は遺伝子100個のエキソン領域90%程度をカバーし、そこにある変異を網羅的に検出できる系を目指した。結果として97%をカバーできており、変異検出に関しても優れた性能を持つことが明らかにでき、当初の目的は達成できた。

うまくいかない一部の領域だが、この原因についてはGCリッチな配列によるPCR増幅の効率低下が予想される。当時は良い対策がなかったが、最近になってPCR-freeライブラリによる改善の可能性がでてきている。

またPCRアンプリコンを用いるような簡便な実験系では精度・感度が低くなるケースについても今回の系は優れた性能を持つ反面、やはり高コストであることがいえない。

今後はいくつかの選択肢が選べる状況になると考えられるが、今回得られた知見を踏まえて、適切なアプローチによるゲノム情報による診断支援を行える可能性を考えていく。

研究成果リスト（論文、学会発表、特許出願等）

*本研究における研究成果の学会や出版物への発表はまだなされていない。

謝 辞

本研究を行うにあたり、カスタムキャプチャー用オリゴライブラリの設計において本学ゲノム医学研究センター・トランスレーショナルリサーチ部門・仲地豊助教とゲノム科学部門・森山陽介特任研究員に、高出力シーケンサーの実験と混合サンプルの条件設定においてはトランスレーショナルリサーチ部門・平田智子技術員・岡崎康司教授に多大な協力を頂きました。深く感謝いたします。

学内グラント 報告書

平成23年度 学内グラント終了後報告書

神経ペプチドを利用した多能性幹細胞から
膵β細胞の分化・再生誘導と糖尿病の再生医療

研究代表者 松本 征仁 (医学部 分子生物学)

研究分担者 犬飼 浩一¹⁾, 平崎 正孝²⁾, Wylie Vale³⁾, Mark Hüising³⁾

研究成果リスト

論文

- 1) Kato N, Matsumoto M, Kogawa M, Fujikawa T, Oda H, Ogata M. Critical role of p38 MAPK for regeneration of the sciatic nerve following crush injury in vivo. *J Neuroinflammation* 2013;10:1.
- 2) Yamashita-Sugahara Y, Tokuzawa Y, Nakachi Y, Kanesaki-Yatsuka Y, Matsumoto M, Mizuno Y, Okazaki Y. Family with sequence similarity 57, member B (Fam57b), a novel peroxisome proliferator-activated receptor γ target gene that regulates adipogenesis through ceramide synthesis. *J Biol Chem* 2013;288:4522-37.
- 3) Kogawa M, Hisatake K, Atkins GJ, Findlay DM, Enoki Y, Sato T, Gray P, Wada S, Kato N, Fukuda A, Katayama S, Tsujimoto M, Yoda T, Suda T, Okazaki Y and Matsumoto M. The Paired-box domain transcription factor binds to the upstream region of the *TRAP* gene promoter and suppresses RANKL-induced osteoclast differentiation. in revision.
- 4) Matsumoto M, Hüising M, Nogi Y, Vale W and Okazaki Y. Integration between Notch and EGF family signaling is critical for development of pancreatic endocrine cells from endocrine progenitors *via* epigenetic control, The 10th RCGM International Academic Frontier ※ Poster Award 2012
- 5) 松本征仁. ストレスホルモンと膵内分泌細胞, 第35回日本分子生物学会年会 ワークショップ口頭発表, 平成24年12月, 福岡
- 6) Sato T, Enoki Y, Matsumoto M, Okubo M, Kokabu S, Suda T, Yoda T. Involvement of acetylcholinesterase in osteoclast differentiation, The 2nd IBMS-JSBMR Joint Meeting, 平成25年5月, 神戸

学会発表

- 1) Matsumoto M, Hüising M, van der Meulen T, Hirasaki M, Vale W. Notch-mediated epigenetic regulation is critical for maintenance of pancreatic endocrine progenitors via possible integration with HB-EGF and CRF-family, 第85回日本組織培養学会, 平成24年5月, 京都
- 2) Kogawa M, Akiyama N, Kato N, Sato T, Hisatake K,

1) 大学病院 内分泌内科・糖尿病内科

2) 医学部 分子生物学

3) ソーク研究所

特許出願

- 1) Matsumoto M, Hüising M, Vale W. Methods for increasing insulin secretion by co-stimulation of corticotropin-releasing factor receptors. United States application or PCT international on Oct 24, 2012.

学内グラント 報告書

平成23年度 学内グラント終了後報告書

次世代シーケンサーを活用した乳がんの新規診断・治療法の開発

研究代表者 伊地知 暢広 (ゲノム医学研究センター)

研究分担者 堀江 公仁子¹⁾, 佐伯 俊昭²⁾, 大崎 昭彦²⁾

研究成果リスト

論文

- 1) Shigekawa T, Ijichi N, Ikeda K, Horie-Inoue K, Shimizu C, Saji S, Aogi K, Tsuda H, Osaki A, Saeki T, Inoue S. FOXP1, an estrogen-inducible transcription factor, modulates cell proliferation in breast cancer cells and 5-year recurrence-free survival of patients with tamoxifen-treated breast cancer. *Horm Cancer* 2011;2:286-97.
- 2) Abe Y, Ijichi N, Ikeda K, Kayano H, Horie-Inoue K, Takeda S, Inoue S. Forkhead box transcription factor, forkhead box A1, shows negative association with lymph node status in endometrial cancer, and represses cell proliferation and migration of endometrial cancer cells. *Cancer Sci* 2012;103:806-12.
- 3) Ijichi N, Shigekawa T, Ikeda K, Horie-Inoue K, Shimizu C, Saji S, Aogi K, Tsuda H, Osaki A, Saeki T, Inoue S. Association of double-positive FOXA1 and FOXP1 immunoreactivities with favorable prognosis of tamoxifen-treated breast cancer patients. *Horm Cancer* 2012;3:147-59.
- 4) Ijichi N, Ikeda K, Horie-Inoue K, Inoue S. Roles of estrogen-related receptors in adipocyte differentiation: short communication, adipocytes: biology, regulation and health impact. New York: Nova Science Publishers(in press).
- 5) Ijichi N, Ikeda K, Horie-Inoue K, Inoue S. FOXP1 and estrogen signaling in breast cancer: chapter 6, *Hormones and Breast Cancer*. Elsevier(in press).
- 堀江公仁子, 茅野秀一, 津田均, 大崎昭彦, 竹田省, 佐伯俊昭, 井上聡. 乳がんならびに子宮内膜がんにおけるフォークヘッド転写因子FOXA1の機能と臨床的意義, 第19回日本ステロイドホルモン学会, 2011年11月26日, 福岡市
- 2) Shigekawa T, Ijichi N, Ikeda K, Horie-Inoue K, Shimizu C, Saji S, Aogi K, Tsuda H, Osaki A, Saeki T, Inoue S. An estrogen-inducible transcription factor FOXP1 promotes estrogen-dependent cell proliferation of breast cancer cells and is associated with 5-year disease-free survival in patients with tamoxifen-treated breast cancer, 34th San Antonio Breast Cancer Symposium, 2011/12/6-10, San Antonio, Texas, USA
- 3) 重川崇, 伊地知暢広, 池田和博, 堀江公仁子, 清水千佳子, 佐治重衡, 青儀健二郎, 津田均, 大崎昭彦, 佐伯俊昭, 井上聡. ER陽性乳癌におけるフォークヘッド転写因子FOXP1の役割, 第12回関東ホルモンと癌研究会, 2012年1月21日, 文京区
- 4) 堀江公仁子, 高山賢一, 伊地知暢広, 池田和博, 井上聡. ホルモン療法抵抗性前立腺がん細胞におけるエネルギー代謝関連核内受容体作用の検討, 脳心血管抗加齢研究会2012, 2012年11月17-18日, 大阪
- 5) 伊地知暢広, 堀江公仁子, 池田和博, 大石貴史, 井上聡. フォークヘッド転写因子FOXP1の全ゲノムにおける結合部位同定によるERシグナル調節機構の解析, 第20回日本ステロイドホルモン学会, 2012年11月18日, 石川市
- 6) Shigekawa T, Ijichi N, Ikeda K, Miyazaki T, Horie-Inoue K, Shimizu C, Saji S, Aogi K, Tsuda H, Osaki A, Saeki T, Inoue S. EBAG9 immunoreactivity is a potential prognostic factor for poor outcome of breast cancer patients with adjuvant tamoxifen therapy, 35th San Antonio Breast Cancer Symposium, 2012/12/4-8, San Antonio, Texas, USA

学会発表

- 1) 伊地知暢広, 重川崇, 阿部弥生, 池田和博,

1) ゲノム医学研究センター

2) 国際医療センター 乳腺腫瘍科

学内グラント 報告書

平成23年度 学内グラント終了後報告書

ペルオキシソーム局在プロテアーゼ Tysnd1 の脳神経系での役割

研究代表者 水野 由美 (ゲノム医学研究センター)

研究分担者 穂田 真澄*

研究成果リスト

論文

- 1) Mizuno Y, Ninomiya Y, Nakachi Y, Iseki M, Iwasa H, Akita M, Tsukui T, Shimozawa N, Ito C, Toshimori K, Nishimukai M, Hara H, Maeba R, Okazaki T, Alodaib AN, Al Amoudi M, Jacob M, Alkuraya FS, Horai Y, Watanabe M, Motegi H, Wakana S, Noda T, Kurochkin IV, Mizuno Y, Schönbach C, Okazaki Y. Tysnd1 deficiency in mice interferes with the peroxisomal localization of PTS2 enzymes, causing lipid metabolic abnormalities and male infertility. PLoS Genet 2013;9:e1003286.

学会発表

- 1) Mizuno Y, Ninomiya Y, Iseki M, Iwasa H, Nakachi Y, Akita M, Tsukui T, Shimozawa N, Ito C, Toshimori K,

Nishimukai M, Hara H, Maeba R, Okazaki T, Alodaib AN, Al Amoudi M, Jacob M, Alkuraya FS, Horai Y, Watanabe M, Motegi H, Wakana S, Noda T, Kurochkin IV, Mizuno Y, Schönbach C, Okazaki Y. The pathogenic mechanism of abnormal peroxisome lipid metabolism in Tysnd1 deficient mice, 第35回日本分子生物学会年会, 2P-0315, 2012/12/12, 福岡市

- 2) Mizuno Y, Ninomiya Y, Iseki M, Iwasa H, Nakachi Y, Akita M, Tsukui T, Shimozawa N, Ito C, Toshimori K, Nishimukai M, Hara H, Maeba R, Okazaki T, Alodaib AN, Al Amoudi M, Jacob M, Alkuraya FS, Horai Y, Watanabe M, Motegi H, Wakana S, Noda T, Kurochkin IV, Mizuno Y, Schönbach C, Okazaki Y. Tysnd1 deficient mice cause abnormal peroxisome lipid metabolism, The 10th RCGM International Symposium of Academic Frontier, 1-8, P32, 2012/11/2-3, Saitama

*中央研究施設 形態部門

© 2013 The Medical Society of Saitama Medical University

<http://www.saitama-med.ac.jp/jsms/>

学内グラント 報告書

平成23年度 学内グラント終了後報告書

皮膚扁平上皮癌におけるエストロゲンの役割

研究代表者 阿部 佳子 (総合医療センター 病理部)

研究分担者 新井 栄一*

研究成果リスト

論文

- 1) Inoue T, Miki Y, Abe K, et al. Sex steroid synthesis in human skin in situ: the roles of aromatase and steroidogenic acute regulatory protein in the homeostasis of human skin. *Mol Cell Endocrinol* 2012;15:362(1-2):19-28.
- 2) Hirofuji A, Takiguchi K, Nakamura K, Kuramochi A, Tsuchida T, Arai E, Shimizu M. Superficial type of multiple Basal cell carcinomas: detailed comparative study of its dermoscopic and histopathological

findings. *J Skin Cancer* 2011;2011:385465. Doi: 10.1155/2011/385465.

- 3) 新井康介, 江田二葉, 橋本学, 中村晃一郎, 倉持朗, 新井栄一, 土田哲也. [脂漏部位の皮膚病] <臨床例> 頬部脂腺癌. *皮膚病診療* 2012;34(3):293-6.
- 4) 上原慶一郎, 市村隆也, 金鈴, 新井栄一, 村田晋一, 他. 色素性類上皮黒色腫 (pigmented epithelioid melanocytoma) の1症例. *診断病理* 2012;29(2):105-7.
- 5) 宮野恭平, 難波純英, 新井康介, 田嶋沙織, 土屋沙緒, 新井栄一, 他. 脊髄損傷患者の遷延する褥瘡・瘻孔部位より生じた有棘細胞癌の1例. *Skin Cancer* 2012;27(1):67-71.

*総合医療センター 病理部

学内グラント 報告書

平成23年度 学内グラント終了後報告書

小型尿路上皮癌細胞が持つ癌幹細胞的性格について

研究代表者 周東 真代（保健医療学部 健康医療科学科）

研究成果リスト

論文

1) Shuto M, Warigaya K, Watanabe H, Shimizu M,

Fukuda T, Murata S. Correlation analysis of nuclear morphology, cytokeratin and Ki-67 expression of urothelial carcinoma cells. Pathology International 2013 (in press).