

学際科学実験センター ニュース

Advanced Science Research Center
NEWS

2016.2
第13号

◆ CONTENTS ◆

- | | | | |
|--------|---------|--------|---------|
| ◆ 巻頭言 | 1 | ◆ 研究紹介 | 5 |
| ◆ ニュース | 2 | ◆ 事業日誌 | 8 |

巻頭言 実験・機器コンシェルジュのすすめ

医薬保健研究域薬学系長 国嶋 崇隆

私は平成23年度から26年度までの4年間、学際科学実験センターの機器分析研究施設長を兼任していたこともあり、今回、因らずも本センターニュースに寄稿する機会をいただいたこと、幸甚に存ずる次第である。

学際科学実験センターは、4研究分野5施設からなり、本学の自然科学・生命科学研究の支援を担っている。動物実験や遺伝子改変を伴う研究、アイトープ研究、研究機器の使用などに関する様々な講習会を開催し、更にこれらの研究における全学的な安全管理も担当している。薬学系では、創薬科学や生命科学領域における多様な研究が展開されており、ほとんどの教員は、同センターの支援無くしては、研究活動を維持するのは困難ではないかと思われる。私の専門とする有機化学に限って言えば、核磁気共鳴、質量分析、分光分析など、昔ながらの機器が今なお主役であり、一見すると変化の小さな分野であるが、それでも、機器分析技術の進歩には著しいものがあり、機器分析研究施設が開催する講習会やトレーニングが大いに役に立つ。

私は、有機化学を基軸とした境界領域研究にも興味があり、酵素反応論、ホスト-ゲスト化学、界面化学、高分子化学、タンパク質化学などに関する研究に携わってきた。専門外であるということは、その分野の常識にとらわれない斬新な発想（大半は愚かな発想かも知れないが）によって、独創的・革新的な研究成果が期待できる。しかし、実際にいざ異分野の実験をしようと思うと、分からないことばかりである。当然、実験書や学術論文と首っ引きで一からの勉強を余儀なくされ、大変な思いをするわけだが、同時に、自分のサイエンスの幅が広がっていく、その過程が楽しくもある。それでも後で思えば、素人実験による失敗の繰り返しで、効率の良い研究スタイルではなかったことが多い。今の自分が当時へ行行って助言できれば、もっとうまく成果を上げられたらと思う。

こうした経験から、新分野開拓や最先端の研究を効率的に推進するためには、的確な助言が得られるシステムが、特に有用であると思う。目的を達成するための最適な実験の提案から、具体的な技術指導や細かな条件設定まで、あるいは、データ取得のために必要な分析法とそのための機器の紹介、測定のコツやデータ解析など、研究にまつわる様々な相談に的確に対応してくれる「コンシェルジュ」がいれば大変ありがたい。つまり、自然科学、生命科学分野に明るく、最新の実験理論や技術までを広くカバーし、総合的な判断の下に最適な助言ができる、高度な専門性を有するサポートシステムである。研究分野が細分化・複雑化し、次々と新しい実験技術が開発・考案される中で、それらをいち早く取り入れた先端的な研究を展開し、世界をリードするためには、大きな力となり得る。

第3期中期目標期間における国立大学の機能強化の方向性に於いて、予算上、3つの重点配分の枠組みが設定され、本学は、「世界トップの大学と伍する卓越した教育研究大学」を目指すという、重点支援3を選択した。平成26年度に採択されたスーパーグローバル大学創成支援(SGU)の推進において、徹底的な国際化を目指し、教育に重点を置いた様々な改革が本格的に実行されていく状況下、教員はこれまで以上に優れた研究業績を上げることも強く求められることになる。限られた時間の中で、スピーディーな研究を展開するためにも、望ましい制度である。

学内には、学際科学実験センターの他、O-FSIや、設備サポートセンター整備事業によって設立された設備共同利用推進室等の研究支援組織に加えて、豊富な人材が揃っているものの、それらが有機的につながった総合的な支援システムは構築されていない。この際、学際科学実験センターが中心となって、施設や部局横断的な「実験・機器コンシェルジュ」なるものの設置を考えてみてはどうか。

ニュース

平成27年度 小学生・中学生の放射線教室 —ふるさと科学者実験セミナー「おもしろ放射線教室」—

平成27年5月9日(土)、(財)金沢子ども科学財団実験室(金沢大学サテライトプラザ)で、金沢市の小学生や中学生を対象に、ふるさと科学者実験セミナー「おもしろ放射線教室」が開催された。参加者は16名であった。

時間は午前9時30分～15時の5時間(昼食休憩をはさむ)であった。はじめに、石川県出身の飯盛里安博士の生涯と業績について、ラドン測定器(IM泉効計)の開発や石川県長手島での新たな放射性鉱物(長手石)の発見などについて説明があった。次に、「はかるくん」やGMサーベイメータなど各種放射線測定器を使って、放射線の性質(半減期、遮へい効果、放射線の距離と量の関係)を調べたり、岩石や鉱石の放射能測定、霧箱の観察、ウランガラスの蛍光の観察をしたりして、放射線のいろいろなことを実際に体験した。午後からは、マイクロバスに乗って金沢市内を周り、街中やトンネル内、橋の上、野田山墓地の墓石などの放射線量を測定し、場所によって放射線量が違うことを体験学習した。子供達が放射線について正しく興味を持ってもらうための良い機会になったと思われる。



第14回北陸地域アイソトープ研究フォーラム

平成27年5月12日(火)、北陸地域アイソトープ研究フォーラムを金沢大学十全講堂にて開催した。本フォーラムは、北陸地域の大学・自治体・民間企業の研究者・学生・技術者でアイソトープ研究・教育・安全管理に携わっている人達を中心に、アイソトープの最新技術や研究開発の推進と安全の両面について幅広い視点から理解を深めてもらい、北陸地域におけるアイソトープの有効利用の推進及び安全管理の徹底を目的として、金沢大学と北陸地域アイソトープ研究会の主催で毎年開催している。

今年度の第14回フォーラムでは、演者はアイソトープ総合研究施設長の柴 和弘教授で、演題は「アイソトープ総合研究施設の工事経過および改修後の概要 - In vivo動物実験の充実について」であった。アイソトープ総合研究施設の耐震改修工事における工期延長にいたった経緯や、改修の概要、一般利用再開の日程、各種小動物イメージング装置3台の導入などについて詳細な説明があった。

学内外から約230名の参加者があり、RI利用施設の改修工事の概要や、一般利用再開後における実験機器や実験環境などについて知る良い機会となった。



第50回北陸実験動物研究会

北陸3県の実験動物研究者、技術者、実験動物取扱企業の情報交換の場として年2～3回開催しております北陸実験動物研究会の年次総会及び研究会が、金沢大学十全医学会の後援のもと平成27年7月4日(土)に開催されました。まず、日本チャールス・リバー(株)モニタリングセンターの丸山滋氏により「PCRを活用した新しい微生物モニタリングの紹介」が行われました。その後、理化学研究所・多細胞システム形成研究センター・染色体分配研究チームの北島智也先生による「加齢により卵子が染色体数異常となる原因」と北海道大学・大学院理学研究院・生物科学部門の黒岩麻里先生による「Y染色体を持たない哺乳類の性決定メカニズム」の2題が特別講演として発表されました。それぞれの発表後、学内外から30名を超える参加者を交えて活発な討論が行われ、さまざまな意見交換ができた会となりました。



第28回生命工学トレーニングコース 「遺伝子工学・基礎技術コース」

平成27年7月14日(火)～17日(金)、金沢大学遺伝子研究施設において第28回生命工学トレーニングコース「遺伝子工学・基礎技術コース」が開催されました。本年は、定員を超える応募の中、学内の教員、博士研究員、大学院生を中心に幅広い年代、経歴の方々にお集まりいただき、全4日間にわたり実験・実習を執り行いました。今回の生命工学トレーニングコースでは、遺伝子工学における基礎的な技術に加え、「動物細胞への遺伝子導入法」を利用した2つの先進的遺伝子工学技術(ゲノム編集技術CRISPR/Cas9とタグ付きタンパク質を利用したプ

ルダウンアッセイ)の習得を目的としました。ゲノム編集のトレーニングコースでは、ゲノム編集技術の一つであるCRISPR/Cas9システムのプラスミド構築とCRISPR/Cas9システムにより生じた遺伝子変異の検出方法を中心に概説・実習を行いました。また、プルダウンアッセイのトレーニングコースでは、プロメガ(株)及びびかずさDNA研究所が分配しているHaloTagタンパク質と相互作用するタンパク質をHaloTagリガンドにてプルダウンし、SDS-PAGEで分離する工程を中心に実習を行いました。



平成27年度 石川化学教育研究会, 石川県高等学校文化連盟理科部「高校生のための施設見学会」

平成27年8月22日(土)14時~16時、アイソトープ総合研究施設において、施設見学会が開催された。本会は、石川県内の高校生と中学校、高等学校及び大学の教員を対象として、石川化学教育研究会(主催)と金沢大学学際科学実験センター(共催)で企画された。見学会内容は、「放射線を使って動物の体の中のしくみや働きを見てみよう」と題し、平成27年6月に改修工事が完了したアイソトープ総合研究施設の見学、新たに導入されたU-SPECT/CTを始めとする各種の実験用機器の紹介及び放射線を利用した最先端の研究の紹介を通して、高校生や教員に放射線に関する知識・理解を広げてもらうのが目的であった。

当日は高校生32名、教員11名の参加があり、参加者は、放射性同位元素の保管、使用、汚染監視などにおける厳しい管理体制や最先端の放射線を利用した動物イメージング装置がアルツハイマー病やがんなど研究に応用されていることに触れ、漠然としたイメージしかなかった放射線について理解を深める良い機会となった。



平成27年度実験動物慰霊祭

学際科学実験センター、医薬保健研究域及びがん進展制御研究所の共催で、平成27年9月16日(水)に実験動物慰霊祭が執り行われました。会場となった学際科学実験センター実験動物研究施設前にある「実験動物の碑」の前には、向理事(総括・改革・研究・財務担当)を始めとする教職員や大学院生、学類生、

動物施設職員合わせて約230名が参列し、動物実験に使用された実験動物へ黙祷を捧げるとともに、参列者全員が献花を行い、教育・研究に供された実験動物への感謝の意を表しました。大黒実験動物研究施設長からの挨拶では、せっかくの機会なので、是非、実験動物を使った研究や手技についてもう一度見直して欲しいとの要望が述べられました。



第29回生命工学トレーニングコース「生命科学・RI利用技術基礎コース」

平成27年9月17日(木)及び18日(金)、アイソトープ総合研究施設において、第29回生命工学トレーニングコースを開催した。今回から内容を一新し、小動物用SPECT-CT装置を用いたマウスの生体機能解析技術の習得を目的とした。当日は学内から6名の参加があり、まずRIの安全取扱いの基礎など法定講習とRIを用いたin vivo動物実験の基本についての講習があった。次に、骨シンチグラフィ用診断剤 ^{99m}Tc HMDPをマウス尾静脈に投与し、組織摘出法にて放射能測定及びデータ解析を行い、経時的体内分布を調べた。 ^{99m}Tc HMDPは、悪性腫瘍の骨転移の診断をはじめ、骨髄炎の診断、骨折の部位診断や経過観察等、種々の骨疾患の診断に使用されている。また、U-SPECT-CTを用いて、 ^{99m}Tc HMDPを尾静脈内投与したマウスのSPECT-CT撮像を行い、収集データからの画像再構成及び画像データ解析を行った。非常に厳しいタイムテーブルではあったが、参加者はin vivo動物イメージング装置を用いた動物実験技術の習得に熱心に取り組んでいた。



第30回生命工学トレーニングコース「発生工学・基礎技術コース」

発生工学・基礎技術コースとしては11回目になる技術研修が、平成27年10月21日(水)から3日間にわたり実験動物研究施設を会場に、学内からの参加者7名を迎えて開催されました。本研修は、マウス胚及び精子操作技術の初心者に対して、発生工学に関する基礎知識の習得、直ちにマウス胚及び精子操作実験に入っていくために必要な基礎技術習得を目的としているため、

マウス胚及び精子のハンドリングの基本操作、保存のための凍結操作、IVF及び受精卵の偽妊娠マウスへの移植を参加者全員が行いました。さらに、適正な動物実験や遺伝子組換え動物の取扱いに対する基礎知識の習熟を図るための講義も行いました。



第6回金沢大学学際科学実験センターシンポジウム

学際科学実験センターでは、隔年に一度シンポジウムを開催しております。今回は、実験動物研究施設主催で、平成27年11月13日(金)に「女性生殖組織の機能と疾患」をテーマに国内の最前線で活躍されている6名の先生方にご講演をいただきました。学内外からの約50名の参加者を含め、卵巣、子宮の機能、近年問題となっている子宮体癌や不妊症などの疾患とその治療法等についての議論が活発に行われました。

プログラム詳細

開会の挨拶 柴 和弘 教授

(金沢大学 学際科学実験センター長)

講演1 「難治性子宮体癌における治療ターゲットの探索」

馬場 長 講師(京都大学 医学部 産婦人科)

講演2 「子宮体癌における分子標的治療法への期待
～RAS/PI3K 経路を中心に～」

織田 克利 准教授(東京大学大学院 医学系研究科 産婦人科講座 生殖腫瘍学分野)

講演3 「卵分泌因子と卵胞発育」

杉浦 幸二 准教授(東京大学大学院 農学生命科学研究 応用動物科学専攻・応用遺伝子学研究室)

講演4 「黄体ホルモンが調節する子宮内膜の胚受容能」

廣田 泰 講師(東京大学 医学部附属病院 女性診療科・産科)

講演5 「内因性のホルモン分泌を活用した、
自然周期排卵・胚移植」

加藤 恵一 院長(加藤レディスクリニック)

講演6 「末梢血循環細胞による胚着床誘導機構」

藤原 浩 教授/科長

(金沢大学 医薬保健研究域医学系)

分子移植学/金沢大学附属病院 産婦人科)

閉会の挨拶 大黒 多希子 教授

(金沢大学 学際科学実験センター)

遺伝子改変動物分野)



平成27年度 放射線安全取扱部会年次大会 市民公開シンポジウム・講演会

平成27年11月26日(木)金沢市文化ホールで、(公社)日本アイソトープ協会放射線安全取扱部会の主催により開催された平成27年度 放射線安全取扱部会年次大会(柴 和弘大会長)において、学際科学実験センター共催で市民公開シンポジウム・講演会を開き、約400名の参加があった。本シンポジウムは、放射性同位元素を用いた画像診断や治療の最先端について、放射線取扱主任者だけでなく、一般市民にも分かりやすい言葉で紹介するというコンセプトのもとで行われた。講師は岡村信行先生(東北大学准教授)、中嶋憲一先生(金沢大学准教授)及び絹谷清剛先生(金沢大学教授)で、それぞれアルツハイマー病の最新診断法、心臓疾患の最新診断法及び最新がん治療法について講演していただき、その後、会場を交えて総合討論を行った。放射線取扱主任者及び一般市民の双方にとって、「アルツハイマー病」、「心臓疾患」、「がん」という身近な疾患の臨床現場での放射性医薬品の利用について勉強する良い機会になった。続いて、山出 保氏(前金沢市長)により、「歴史と文化のまちづくり」と題して特別講演があり、金沢という伝統都市の魅力とまちづくりについて紹介があった。



第4回学際科学実験センター外部評価発表会

平成27年12月25日(金)、アイソトープ総合研究施設会議室において、第4回学際科学実験センター外部評価発表会が開催された。外部評価は、学際科学実験センターの中期目標・計画に沿って3年毎に開催され、共同教育研究施設としての各施設の運営・活動に対して、更に教育者・研究者としての個人に対して、第三者視点からの評価と指摘、助言を求める場である。今回は久下裕司先生(北海道大学教授)、三好一郎先生(東北大学教授)、南森隆司先生(神戸大学教授)、小野恭史先生(富山大学准教授)の4人の外部の先生に評価委員を依頼した。当日は学際科学実験センターの全教員が出席し、施設活動(各15分)と教員活動(各15分)について順次発表した。最後に評価委員の各先生による講評を受けた。各施設・各教員は現在における評価を真摯に受け止め、今後の運営・活動に活かして各々が学際科学実験センターの発展に貢献できるよう改善していきたい。



研究紹介

腫瘍イメージング用アミノ酸PET画像診断薬

金沢大学 医薬保健研究域保健学系 量子医療技術学 教授 川井 恵一

がんは我が国の死因の第一位を占め、がんを早期に検出・得る画像診断法の確立が強く望まれています。本邦では ^{18}F -FDG-PET検査ががん診断法として保険適用され、普及していますが、一方で正常組織への生理的集積などの問題点も指摘されており、FDG-PETでは検出できないがんに対するポストFDG腫瘍診断薬の探索が急務となっています。本研究室では、ポストFDG腫瘍診断薬の開発において、確かな根拠と系統的な設計戦略を構築するために、実験に用いているヒト培養がん細胞の遺伝子発現レベルを解析し、あらかじめがん細胞に高発現していることを確認した機能性分子安定発現系を分子プローブのスクリーニングに利用してきました。まず、DNAチップを用いて、ヒト培養がん細胞におけるトランスポートなどの機能性分子の遺伝子発現レベルを網羅的に測定し、得られた解析結果をリファレンスRNAの遺伝子発現量を用いて標準化して、特定機能分子の遺伝子発現プロファイリングを可能にしました。さらに、がん細胞に高発現するがん関連アミノ酸トランスポート(表1)発現量に関しては、リアルタイムPCR (qPCR)による絶対定量解析を実施してきました。最近では、がん細胞での高発現を確認したトランスポートの安定発現系を用いて、ヒトがん細胞で特異的に高発現が認められるトランスポートに親和性を示す標識アミノ酸をポストFDG製剤の有効候補として評価しています。

また、臨床使用されている $[S\text{-methyl-}^{11}\text{C}]\text{-L-methionine}$ (^{11}C -L-Met, 図1) と光学異性体 ^{11}C -D-Metの細胞集積機序を検討した結果、L-体はがん関連アミノ酸輸送系system L、D-体ではsystem ASC(表1)の寄与も大きく、細胞集積率はqPCRにより絶対定量したアミノ酸トランスポート発現量と良い相関を示しました¹⁾。一方、本研究室でがん細胞集積機序を検討してきた人工アミノ酸 α - $[N\text{-methyl-}^{11}\text{C}]\text{-methyl-aminoisobutyric acid}$ (^{11}C -MeAIB, 図1) もsystem A特異的PET薬剤として本邦初の臨床応用が開始されました²⁾。

^{18}F -FDGデリバリーの普及に伴い、運搬や保存に適する ^{18}F 標識人工アミノ酸に注目が集まっています。中でも $trans\text{-}1\text{-amino-}3\text{-}^{18}\text{F}\text{-fluorocyclobutanecarboxylic acid}$ (^{18}F -FACBC, 図1) は、従来 Na^+ 非依存性アミノ酸トランスポートであるsystem Lにより細胞に取り込まれると考えられてきましたが、前立腺腫瘍ではその大部分がsystem ASCにより輸送されていることを明らかにしました³⁾。

前立腺がん検体で高発現を示した Na^+ 依存性がん関連アミノ酸トランスポートの単一発現細胞を作成して集積阻害を検討し

た結果、 ^{18}F -FACBCはASCT2に高い親和性を示しました⁴⁾。加えて ^{18}F -FACBCのがん細胞への集積に関与するアミノ酸トランスポートの薬剤誘導発現量との相関や細胞・炎症間の相異を比較検討しました[脳腫瘍⁵⁾、アンドロゲン誘導前立腺がん⁶⁾、去勢抵抗性前立腺がん⁷⁾、炎症との比較⁸⁾]。さらに、ホウ素中性子捕捉療法の個別化効果予測に応用されている4-borono-2- ^{18}F -fluorophenylalanineのがん細胞集積機序とアミノ酸トランスポート発現量との相関を比較検討しました⁹⁾。

このように、 ^{18}F -FDG-PETとは異なり、アミノ酸トランスポート発現の正常組織・腫瘍細胞間での質的・量的相違を反映するアミノ酸PET薬剤による腫瘍イメージングは、腫瘍の鑑別診断に重要な情報を与えるものと期待されます。

- 1) Kobayashi M, Hashimoto F, Ohe K, Nadamura T, Nishi K, Shikano N, Kawai K, *et al.*: Nucl. Med. Biol., 39: 1213-1218, 2012.
- 2) Nishii R, Higashi T, Kagawa S, Kishibe Y, Takahashi M, Yamauchi H, Kawai K, *et al.*: Ann. Nucl. Med., 27: 808-821, 2013.
- 3) Okudaira H, Shikano N, Nishii R, Miyagi T, Yoshimoto M, Kobayashi M, Kawai K, *et al.*: J. Nucl. Med., 52: 822-829, 2011.
- 4) Okudaira H, Nakanishi T, Oka S, Kobayashi M, Tamagami H, Schuster DM, Kawai K, *et al.*: Nucl. Med. Biol., 40: 670-675, 2013.
- 5) Ono M, Oka S, Okudaira H, Schuster DM, Goodman MM, Kawai K, Shirakami Y: Brain Res., 1535: 24-37, 2013.
- 6) Okudaira H, Oka S, Ono M, Nakanishi T, Schuster DM, Kawai K, *et al.*: Mol. Imaging Biol., 16: 756-764, 2014.
- 7) Ono M, Oka S, Okudaira H, Nakanishi T, Mizokami A, Kobayashi M, Kawai K, *et al.*: Nucl. Med. Biol., 42: 887-892, 2015.
- 8) Oka S, Okudaira H, Ono M, Schuster DM, Goodman MM, Kawai K, Shirakami Y: Mol. Imaging Biol., 16: 322-329, 2014.
- 9) Yoshimoto M, Kurihara H, Honda N, Kawai K, Ohe K, Fujii H, Itami J, Arai Y: Nucl. Med. Biol., 40: 625-629, 2013.

表1 主ながん関連アミノ酸輸送系及びトランスポート

輸送基質	Na^+ 依存性		Na^+ 非依存性	
	輸送系	トランスポート	輸送系	トランスポート
中性アミノ酸	A	ATA1	L	LAT1
		ATA2		LAT2
		ATA3		LAT3
	ASC	ASCT1		LAT4
	N	ASCT1		
		SN1		
塩基性	B^{0+}	ATB $^{0+}$		
酸性			x c	xCT

赤字：がん関連アミノ酸輸送系/トランスポート

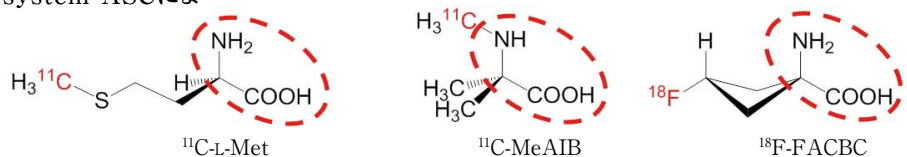


図1 Post-FDGとして期待されるアミノ酸PET薬剤

研究紹介

ヒト表現型多様性の成立基盤の理解に向けて

金沢大学 医薬保健研究域医学系 革新ゲノム情報学分野 教授 田嶋 敦

私たちの分野は2014年9月に新設されました。今回、学際科学実験センターニュースで研究紹介のスペースをいただきましたので、分野として取り組んでいる研究の一端を紹介させていただきます。

ご存知のように、「次世代シーケンサー」と呼ばれる超並列DNAシーケンシング技術を活用して、世界中の研究室で日々大量のゲノムデータ(DNA塩基配列データ)が産出されています。私たちの分野の興味は「ゲノム情報」にあり、主に遺伝子型-表現型連関の観点から、ゲノムデータの持つ意味(ゲノム情報)を解明することに取り組んでいます。これ以外にも、ゲノム情報の使われ方(エピジェネティクス)や、ゲノム情報の多様性と継承(ジェネティクス)に関わる研究などを展開しています。生体分子についてのビッグデータ(例えば、ゲノム、エピゲノム、トランスクリプトームといったオミックスデータ)に基づく研究が私たちの分野の基本スタイルとなりますが、解析対象を適切に選択することで幅広い応用が可能です。ヒト、モデル動物・細胞など、研究目的に応じて対象を適宜選択し、自由な発想のもと研究を行うことを心がけております。また、従来にない分析手法の開発が新発見につながる事例が多く知られておりますが、この研究分野も例外ではありません。データ産出から解析までの過程で利用可能な新技術・システムの開発にも積極的に取り組んでいます。現在は、日本学術振興会や日本医療研究開発機構などからの支援を受けて、自己非自己の認識に関わるHLA (Human Leukocyte Antigen)やKIR (Killer immunoglobulin-like receptor)ハプロタイプの新規解析手法の開発や、体毛分布などヒト形質の個人差に関わる遺伝要因の探索、男性不妊症、稀少・未診断疾患のゲノム研究など、多種多様な研究課題に取り組んでいます。この中から、男性不妊症・男性生殖関連形質に関する研究の一部をご紹介します。

拳児を希望するカップルにおいて不妊症は10-15%の頻度で認められ、男性側及び女性側の要因によるものが、それぞれ半数を占めるといわれています。男性不妊症患者の大多数(9割)では、精子形成不全などの造精機能障害を認めます。これらの機能障害には遺伝、環境因子がともに関与することが示唆されておりますが、ヒトY染色体長腕に位置する無精子症候補領域AZF (azoospermia factor)の欠失と高度に関連する場合(男性不妊症患者の1割程度)を除き、その病因の全容は明らかではありません。

私たちの研究グループは、これまでに、日本の無精子症患者者からの生検精巣組織を用いた網羅的遺伝子発現解析とゲ

ノムDNAを用いた症例-対照関連解析との組み合わせから、非閉塞性無精子症(精子形成不全を伴う男性不妊症)の発症リスクに関わる遺伝要因としてART3 (ADP-ribosyltransferase 3)遺伝子を報告しました(1)。ART3の機能は不明ですが、精巣内では精母細胞特異的に発現し、造精機能に関わることが予想される遺伝子です。その後、チェコ(2)、中国(3)の不妊症患者においても疾患関連の追試がなされ、日本人以外の集団においてもART3が発病に関わる可能性が示されました。他方、中国の研究グループにより行われたゲノム全域症例-対照関連解析からは、非閉塞性無精子症の発症リスクに関わるART3以外の遺伝子座が報告されております(4-7)。

また、国内外の研究機関と共同で、エストロゲン過剰を伴う精子形成不全マウスと非閉塞性無精子症患者とを用いた統合解析から、エストロゲン受容体シグナルを介して活性化された精巣内マクロファージがライディッヒ細胞(精巣におけるテストステロン産生細胞)を特異的に貪食することを見出しました(8)。この貪食によりテストステロンの濃度低下・欠乏が引き起こされ、結果、精子形成不全となると考えられ、生殖機能の維持・破綻に関わる新たな病態生理機構の存在を明らかにしたといえます。

これらの研究に加えまして、一般男性の生殖関連形質の個人差、すなわち、精液検査値(精子数、精子濃度、精子運動率など)や血中性ホルモン・性腺刺激ホルモン濃度の個人差に関わる遺伝要因の探索も行っております(9)。また、泌尿器科の並木幹夫先生、飯島将司先生と共同で、特発性男性不妊症の発症原因となる新生突然(de novo)変異を同定する研究も着手しております。

駆け足の分野紹介となりましたが、今後も国内外の研究グループとの共同研究を通じて、ヒト表現型の多様性の基盤となる要因(遺伝、環境)解明に貢献していきたいと考えております。

文献

- (1) Okada H, Tajima A et al., PLoS Genet 4(2):e26, 2008.
- (2) Norambuena PA et al., Neuro Endocrinol Lett 33(1):48-52, 2012.
- (3) Lin F et al., Int J Clin Exp Med 8(5):7944-7950, 2015.
- (4) Hu Z, Xia Y, Guo X et al., Nat Genet 44(2):183-186, 2011.
- (5) Zhao H, Xu J, Zhang H, Sun J, Sun Y et al., Am J Hum Genet 90(5):900-906, 2012.
- (6) Hu Z, Li Z, Yu J, Tong C, Lin Y, Guo X et al., Nat Commun 23:5:3857, 2014.
- (7) Sato Y, Jinam T et al., Biol Reprod 88(4):87, 2013.
- (8) Yu W et al., J Clin Invest 124(6):2709-2721, 2014.
- (9) Sato Y, Tajima A et al., Hum Reprod 30(6):1505-1509, 2015.

研究紹介

遺伝子改変マウスを用いた子宮機能の解析

金沢大学 学際科学実験センター 遺伝子改変動物分野 教授 大黒 多希子

子宮は恒常的に遺伝子/タンパク質の発現状態と細胞形態を変化させる非常にユニークな組織である。この変化は、卵巣ホルモンにより制御されているが、特に興味深いのは、子宮を構成する3つのパーツ、上皮、間質、筋層が、卵巣ホルモンにより個々別々に経時的に制御されるが、その後、この3つのパーツが相互的に作用することによって正常機能を保持することである。つまり、この精密で複雑な機構が少しでもずれると正常な機能が損なわれ、不妊や痛などの疾患を引き起こす。私は、特にどのような“ずれ”がこのような疾患を引き起こすのかということについて、正常マウスと疾患マウスを比較することにより解明してきた。

1.不妊症克服に向けて～着床に必須な分子の探索～

正常な妊娠の誘導と維持はダイナミックな分子機構を持つ多様な過程により制御されている。その過程のうちで、子宮への胚盤胞の着床は正常な妊娠に不可欠な過程であり、着床する能力を持つ胚盤胞とそれを受け入れることのできる子宮との相互作用がなければ成立しない。女性の不妊症において卵側に問題がある場合、IVFによる治療で解決することが可能であるが、子宮側の問題の場合、原因の解明が難しく、治療法を定めることが難しい。また、倫理的問題もあり、妊娠期間中にヒト子宮のサンプルを収集することは不可能であるため、妊娠や不妊に関わる子宮での分子機構の研究は非常に難しいものとなっている。このような現状の中で、私はこれまで、着床不全のフェノタイプを持つノックアウトマウスと正常マウスのタンパク質や遺伝子の発現を2Dゲルアッセイやマイクロアレイで比較解析することにより、新たに着床に関わる分子(Msx1, FKBP52など)を見出すことに成功している(1, 2)。

2.子宮体癌克服に向けて～モデル動物の作製～

子宮体癌は、西洋諸国で最も発生率の高い婦人科系の癌である。また、近年、日本でもその発症率が上昇しており、その治療法の改善が求められている。癌研究においては、多くの場合、細胞株を用いたin vitroの実験が行われるが、その発生、進行のメカニズムの解明には動物モデル、特に癌を自然発症するものが必須である。しかしながら、子宮体癌の場合、適正な動物モデルが存在しなかったためにその研究は他の癌と比較し、それほど進んでいなかった。ヒト子宮体癌では、約80%でPten遺伝子変異が認められ、癌発生との関連が高いと考えられている。しかしながら、Ptenホモ欠損マウスは胎生致死となり、子宮への影響を観察することはできなかった。そこで私は、組織特

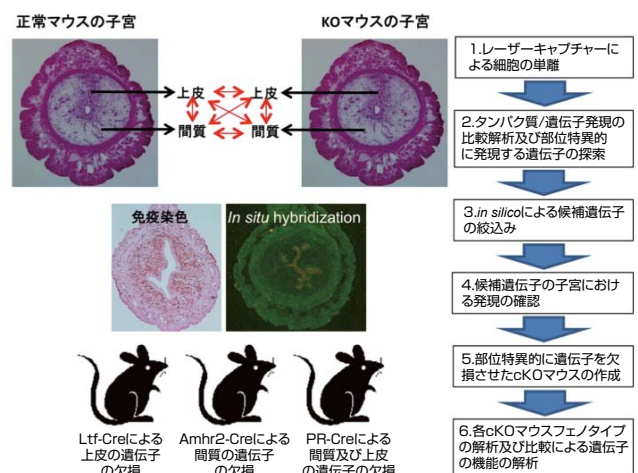
異的に遺伝子を欠損させるCre-loxPシステムに注目し、新たなマウスモデルの作製を行った。子宮のみで遺伝子を欠損させるプロゲステロン受容体(PR)-creマウスとPten floxマウスを交配し、子宮全体でPtenを欠損させたところ(Pten-PRcre)、遺伝子欠損時から30日で100%のマウスで子宮体癌が発症するモデルの確立に成功した(3)。さらにこのモデルを用いて、新たな治療ターゲットとなる分子を見出した(4)。

3.子宮機能の全容を解明に向けて～将来の展望～

以上述べてきたように、私は子宮機能及び子宮疾患発症の解明を行ってきたが、全容を把握できたわけではない。特に、今後、子宮の機能の解析で重要になるのは、上皮と間質を分離して解析することであると考えている。そのために、疾患マウスと正常マウスからレーザーキャプチャーによって上皮と間質をそれぞれ単離し比較解析を行い、in silicoにより候補遺伝子/タンパク質をピックアップしたのち、PR-Cre(子宮全体で遺伝子を欠損)、type II anti-Mullerian hormone receptor-Cre(子宮筋層で遺伝子を欠損)と我々が新たに作製したLactoferrin-Creマウス(子宮上皮で遺伝子を欠損)(5)を用いて上皮と間質それぞれにおいて、遺伝子/タンパク質がどのような機能を担っているか解析を行うことにより、子宮機能の全容を解き明かしていきたいと考えている(図)。

参考文献

- 1.Daikoku T. et. al. (2011) Dev Cell. 21:1014-1025.
- 2.Daikoku T. et. al. (2005) Mol Endocrinol. 19:683-697.
- 3.Daikoku T. et. al. (2008) Cancer Res. 68:5619-5627.
- 4.Daikoku T. et. al. (2014) Am J Pathol. 184:2390-2402.
- 5.Daikoku T. et. al. (2014) Endocrinology. 155:2718-2724.



平成27年事業日誌

平成27年 1月 6日(火)	予算・点検評価専門委員会	7月 14日(火) ～ 17日(金)	第28回生命工学トレーニングコース 「遺伝子工学・基礎技術コース」
1月 15日(木)	審査委員会	7月 15日(水)	人事委員会・審査委員会
1月 19日(月)	第150回学際科学実験センター教員会議	9月 16日(水)	実験動物慰霊祭
2月 12日(木)	審査委員会	9月 17日(木) ～ 18日(金)	第29回生命工学トレーニングコース 「生命科学・RI利用技術基礎コース」
2月 16日(月)	第151回学際科学実験センター教員会議	9月 24日(木)	第157回学際科学実験センター教員会議
3月 11日(水)	審査委員会・人事委員会	10月 15日(木)	第158回学際科学実験センター教員会議
3月 17日(火)	第152回学際科学実験センター教員会議	10月 21日(水) ～ 23日(金)	第30回生命工学トレーニングコース 「発生工学・技術基礎コース」
4月 23日(木)	第153回学際科学実験センター教員会議、 予算・点検評価専門委員会	10月 30日(金)	審査委員会・人事委員会
5月 12日(火)	第14回北陸地域アイソトープ研究フォーラム	11月 13日(金)	第6回学際科学実験センターシンポジウム
5月 27日(水)	第154回学際科学実験センター教員会議	11月 19日(木)	第159回学際科学実験センター教員会議
6月 18日(木)	第155回学際科学実験センター教員会議、 予算・点検評価専門委員会	12月 17日(木)	第160回学際科学実験センター教員会議、 予算・点検評価専門委員会
7月 4日(土)	第50回北陸実験動物研究会	12月 25日(金)	第4回学際科学実験センター外部評価会
7月 7日(木)	第156回学際科学実験センター教員会議		

※青字はニュースの項目として記載

編集後記

研究領域を超えた知識・技術の融合による科学の発達・進歩が近年めまぐるしく、一研究室で全ての実験・解析を行うということが難しくなっており、専門領域に精通している研究者とのコラボレーションが必要となってきました。その中で、生命科学・自然科学系の研究において需要の高い、ラジオアイソトープを利用した解析、動物を利用した解析、遺伝子解析、精密分析機器を利用した解析を専門とする研究者らによって構成されている当センターは、それぞれが持つ専門知識や設備を常時最新のものに対応させ、これまで以上にそのノウハウを大学内外に提供することによって研究と教育の支援をする努力をしていかなければと考えております。その一部として、今年度はアイソトープ総合研究施設の改修工事が無事終了し、新しく動物イメージ

ングシステムを導入し再開しました。また、実験動物研究施設角間分室では、飼育ケージを自動給水システムに更新することによって、飽和状態であった飼育環境を改善しました。さらに、実験動物研究施設では、今春に遺伝子改変動物作製のサービス提供再開に向けて準備を進めております。しかしながら、利用者の皆様に最善の研究環境を提供するためには、これに引き続き、実験動物研究施設及び遺伝子研究施設の改修やさらなるサービスの提供も必要であると考えております。皆様からの忌憚ないご意見やご要望をいただき、施設運営とサービス提供に反映したく思っておりますので、今後とも各施設をご利用いただいている皆様にはご理解とご支援をお願い申し上げます。(T.D.)