

III 研究分野の研究教育活動状況

【遺伝子改変動物分野】

1. 研究活動

1-1 研究概要

遺伝子改変動物分野では、発生工学的手法を用いて遺伝子改変マウスを作出するとともに、作出したマウスを用いて遺伝子の生体内での機能の解明及びヒト疾患モデルマウスの開発を行っている。その中でも特に、女性生殖器の疾患、婦人科系癌や不妊、に注目し解析を行っている。また、技術職員と共に、CRISPR/Cas9を用いた遺伝子改変マウスの作出、マウス受精卵の凍結保存や精子の凍結保存、体外受精、受精卵移植などの研究支援を積極的に行っている。

1) 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、不妊症とともにその治療法の改善が求められている疾患のひとつである。癌の研究においては、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。そこで、多くのヒト子宮体癌で遺伝子変異が認められる Pten と p53 を Cre-loxP システムを用いて、マウス子宮全体、子宮上皮特異的、子宮間質特異的に欠損することにより、子宮体癌モデルの作成に取り組んでいる。

2) 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も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、着床する能力をも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、倫理的な問題もあり、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。そのため、子供を産生しないフェノタイプを持つ遺伝子改変マウスを導入、作出し、不妊となるメカニズムの解明を行っている。我々は特に、着床不全がどのようにして起こるか、その原因因子は何であるのかについて明らかにすることを目的として研究を行っている。

1 - 2 研究成果リスト

1) 学術論文

- (1) Fujiwara H, Araki Y, Imakawa K, Saito S, Daikoku T, Shigeta M, Kanzaki H, Mori T. Dual Positive Regulation of Embryo Implantation by Endocrine and Immune System—Step-by Step Maternal Recognition of the Developing Embryo. *Am J. Reprod. Immunol.* 2016 Mar;75(3):281-9.
- (2) Kobayashi R, Terakawa J, Omatsu T, Hengjan Y, Mizutani T, Ohmori Y, Hondo E. The Window of implantation is closed by estrogen via insulin-like growth factor 1 pathway. *J Reprod Infertil.* 2017, 18: 231-241.
- (3) Terakawa J, Rocchi A, Serna VA, Bottinger EP, Graff JM, Kurita T. FGFR2IIIb-MAPK activity is required for epithelial cell fate decision in the lower Müllerian duct. *Molecular Endocrinology.* 2016, 30: 783-95.

2) 学術発表・講演等（共同研究は除く）

- (1) 大黒多希子「マウスモデルを用いた子宮機能および疾患の解析」
金沢大学 がん進展制御研究所 講演 2016年6月16日
- (2) 大黒多希子「マウスモデルを用いた子宮疾患の解析」
第62回日本病理学会 秋季特別総会 シンポジウム3 2016年11月11日
- (3) 大黒多希子「遺伝子改変動物の作製概要と応用～ヒト病態モデル確立への挑戦～」
東京医科大学大学 講演 2017年3月16日
- (4) 寺川純平「ミューラー管上皮細胞の運命決定機構」
第159回日本獣医学会学術集会・解剖分科会サテライトフォーラム「上皮と間葉」を制御する
キーファクター ～発生・癌化の視点から～ 2016年9月6日

3) 研究交流（共同研究）

学内

- (1) 「胚由来の胚着床誘導因子の同定」（医学系・産婦人科 藤原浩先生）
- (2) 「マウスモデルを用いた女性生殖器癌の解析」（医学系・産婦人科）
- (3) 「CRISPR/Cas9 を用いた遺伝子改変マウス作製」
（子どものこころの発達研究センター 東田陽博先生）
- (4) 「CRISPR/Cas9 を用いた遺伝子改変マウス作製」（薬学系 檜井栄一先生）
- (5) 「CRISPR/Cas9 を用いた遺伝子改変マウス作製」（医学系 酒井佳夫先生）

学外

- (1) 「マウスモデルを用いた子宮体癌の解析」（京都大学・産婦人科）
- (2) 「Sox 遺伝子と胚着床」（東京医科歯科大学 実験動物センター）
- (3) 「マウスモデルを用いた注意欠陥多動性障害の解析」

(東京医科大学 健康増進スポーツ医学分野)

(4) 「子宮体癌・卵巣癌における GTP 代謝」(米国・University of Cincinnati)

(5) 「遺伝子改変マウス作製」(大日本住友製薬)

4) 研究費

(1) 大黒多希子(代表), 文科省科研費 基盤研究 B: 子宮選択的 Pten 変異による体癌自然発症マウスを用いた憎悪因子と作用機序の解析, 4,400 千円

(2) 大黒多希子(分担, 藤原浩(代表)), 文科省科研費 基盤研究 B: 胚由来の胚着床誘導因子(胚シグナル)の同定と臨床応用への試み, 500 千円

(3) 大黒多希子(分担, 水本泰成(代表)), 文科省科研費 基盤研究 C: 卵管上皮に対する月経と排卵に伴う液性因子の発がん誘導作用の解析, 100 千円

(4) 大黒多希子(分担, 黒澤裕子(代表)), 文科省科研費 基盤研究 C: 注意欠陥多動性障害はどのように発症するのか: クレアチンを標的とした機序の検討, 50 千円

(5) 大黒多希子(代表), 山口内分泌疾患研究振興財団 研究助成金: 子宮体癌の進行において卵巣ホルモンがどのように影響するか, 新規マウスモデルを用いて検証する, 1,000 千円

(6) 寺川純平(代表), 文科省科研費 研究活動スタート支援: 新規遺伝子編集技術を用いた子宮体癌自然発症モデルの作製と癌発症機序の解明, 1,200 千円

(7) 大黒多希子(代表), 受託研究費 大日本住友製薬, 216 千円

(8) 大黒多希子(代表), 寄付金 ネッパジーン株式会社, 1,260 千円

2. 教育活動

1) 大学院教育

医薬保健学総合研究科修士課程: 動物実験学演習(医科学専攻)

医薬保健学総合研究科博士課程: Up-to-Date セミナー(専攻共通科目),

発生工学基礎技術コース(博士課程共通科目)

2) 学類教育

動物実験と再生医学(医学類医学科, 分担)

MRT 学生受け入れ: 1 名

3) 動物実験基礎講習(新規利用講習): 12 回, 325 名

【ゲノム機能解析分野】

1. 研究活動

1-1 研究概要

ゲノム機能解析分野では、様々な研究分野とかかわり合う学際的な「遺伝子研究」を推進し、マイクロアレイ等による包括的な発現解析や二次元電気泳動装置と質量分析計を用いたプロテオーム解析、バイオインフォマティクス等の先端的な研究技術の全学的な導入・活用支援を進めている。シロイヌナズナやオオムギ、ヒメツリガネゴケ、シャジクモ等の緑色植物において転写因子、キナーゼなどの重要な役割を担う遺伝子の構造と機能を明らかにする事で、病傷害ストレス応答の分子機構、世代交代システムの進化などの解明を目標とした研究を行っている。また、マウス ES 細胞やヒト iPS 細胞を用いた細胞生物学にヒト染色体工学技術を応用し、様々な疾患の発症機序の解明やエピジェネティック制御機構の解明にも取り組んでいる。主な研究テーマは以下のとおりである。

1) 植物の病害抵抗性に関わる遺伝子の機能解明 (西内)

ムギ類赤かび病菌 (*Fusarium graminearum* 等) は、コムギ、オオムギ等のムギ類やトウモロコシの穂などに感染し、これらに甚大な被害を及ぼす難防除性の植物病原糸状菌である。加えて、本菌が産生するトリコテセン系かび毒が食物や飼料に混入すると、ヒトや家畜に免疫抑制や食中毒等の深刻な健康被害を及ぼすことから、世界的に問題になっている。我々は、植物における赤かび病抵抗性の分子機構を明らかにするため、赤かび病菌に罹病性でライフサイクルの短い、シロイヌナズナを用いて、赤かび病に対する侵入・進展抵抗性に関わる遺伝子 (*AtNFXL1*, *Thi2.4*, *RPS27a*, *NMNAT* 等) の解析を進めている。また、オオムギの低かび毒蓄積品種において顕著に高発現をしており、かび毒の解毒に関わると思われる遺伝子 (*HvGST13*, *HvGR2* 等) についても機能解析を進めている。赤かび病に対する侵入・進展抵抗性に関わる遺伝子とかび毒低減化に関わる遺伝子を組み合わせることで、病徴とかび毒蓄積の両方を顕著に低減化できる植物の作出を目指している。

2) 天然物を用いたムギ類赤かび病の防除技術の開発 (西内)

オオムギの赤かび病抵抗性品種を用いて、メタボローム解析を行い、化学的防御機構のキーとなる代謝産物を探索・同定し、それらの作用機構を解明することで、コムギ、オオムギ、トウモロコシ等の多様な穀物に実用化可能な植物由来の赤かび病防除剤の開発を行っている。メタボロームの比較解析の結果、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NAD) の前駆体であるニコチンアミドモノヌクレオチド (NMN) がオオムギの罹病性品種に比べて、抵抗性品種で蓄積していることが分かった。赤かび病菌に非常に弱い六条性オオムギの穂に、予め NMN を噴霧処理し、赤かび病菌の分生子を接種すると、コントロールに比べて菌体量及びかび毒の蓄積が顕著に減少した。NMN

処理のみによって、オオムギの複数の防御遺伝子の発現量が増加していたことから、NMN は腐生性のある赤かび病菌にも有効な抵抗性誘導剤として作用することが示唆された。さらに、かび毒抑制効果の高い L-Thr 等の天然物と組み合わせ、圃場試験を実施することで、実用化を目指している。

3) 次世代シーケンサーを活用したゲノム解析(西山)

イルミナ社などの新型シーケンサーでは、数百塩基以下の配列を一回の実験で数千万ないし数億個決定する事ができる。このようなシステムの登場により、従来のモデル生物以外でも、ゲノム解析を行い、各生物固有の問題に取り組む事が可能になることが期待されている。しかし、個々の配列長が短いため従来のシーケンサーとは異なった解析法の開発が必要となる。このシステムを活用してゲノム配列のアセンブリーを行う鍵は、メイトペアライブラリーの調製法であり、十数 kb までのインサートを持つメイトペアライブラリー調製技術を確認し、百万塩基対を越えるスケヤフォールドが得られるようになった。さらに、一方で PacBio RSII という数千ないし一万塩基対以上の長い配列を直接決定することができるシーケンサーが登場した。この、シーケンサーは単独での読み誤り率が高いが特定の偏りはないので繰り返しデータで補正することでかなり正確な配列を得ることができる。こうした技術を用いて、ハワイフトモモノキヤ、フクロユキノシタのゲノム解読に参画した。さらに、Bio-nano, Dovetail など、100 kb を超えるつながりを調べる技術が発展しているが、こういう技術を活用するには 100kb 以上の高分子の DNA を壊さないように抽出する技術が必要であり、高分子 DNA 抽出法の検討を行っている。また、APOBEC などの酵素の作用によって局所的に高頻度で生じるマイナー変異をリード数の多さを活かして検出するシステムの開発も行っている。

4) 陸上植物の世代交代進化の解明 (西山)

陸上植物の祖先は、1 倍体のみが多細胞性の体を持ち、受精して生じた接合子はすぐに減数分裂する緑藻類であり、そこから体細胞分裂をして多細胞性の 2 倍体を作る陸上植物が進化した。この 2 倍体の多細胞性の進化を解明するため、陸上植物に最も近縁なシャジクモ藻類のゲノム解析を推進し、2 倍体の多細胞化に伴ってどのような遺伝子が獲得されたかを特定する研究を行っている。まず、シャジクモ藻類のシャジクモ及びヒメミカツキモのゲノム解読とアノテーションを進めている。

5) 陸上植物最初期の系統関係の解明 (西山)

陸上植物進化の最初期に分岐した植物が何であるかという問題は、陸上植物の体制進化を理解する上で鍵となる問題点である。これまでの葉緑体にコードされているタンパク質のアミノ酸配列の解析ではセン類・タイ類・ツノゴケ類のコケ植物が単系統で維管束植物とわかれたと推定される

一方、核酸レベルでの解析ではコケ植物のうちタイ類が最も基部で分岐しセン類が継いで分岐し、ツノゴケ類が維管束植物の姉妹群であるという見解もある。いずれも、十分に決定的な結果を示せてはいない。そこで、核ゲノムにコードされているタンパク質の配列を多数決定することによって系統関係を解明する研究を行っている。

6) 神経細胞特異的なクロマチンダイナミクスを司る分子の同定 (堀家)

15q11-q13領域はゲノム刷り込み遺伝子がクラスターを形成して存在している領域であり、その刷り込み遺伝子の発現異常によりプラダーウィリ症候群やアンジェルマン症候群を発症する。これまでの研究で、15q11-q13領域における精神発達障害の発症機序の解明に取り組み、15q11-q13領域の遺伝子発現制御には核内における遺伝子の配置が重要な意味を持っていることを見出してきた。近年、細胞核内では転写マシナリーが活性化している領域と不活性化している領域とが存在し、遺伝子が適切な場所に配置されることで、発現が制御されることが明らかになっているが、実際にどのような分子が染色体ゲノムの核内配置や相互作用に関わり、遺伝子発現を制御しているのか明らかにされていない。そこで、ヒト染色体工学技術を用いたゲノム編集により、15q11-q13領域におけるクロマチンダイナミクスを司る分子の制御メカニズムの解明に取り組んでいる。

7) 自閉症患者におけるオキシトシンレセプターのエピゲノム解析 (堀家)

自閉症は、社会適応能力の障害やコミュニケーション障害を主徴とする広汎性神経発達障害であり、その背景には強い遺伝素因があることは明らかであるが、未だその発症機序は明らかにされていない。こうした中、「オキシトシン」と呼ばれるペプチドホルモンが自閉症症状の軽減に有効であるという臨床報告がなされるようになった。オキシトシンは、もともと子宮収縮や乳汁分泌に関与する下垂体後葉ホルモンとして知られていたが、最近の研究で「他人への信頼」が増す効用があることが明らかとなっている。そこで、胎生期の環境因子暴露によりオキシトシンレセプターのプロモーター領域のエピゲノムが変化し、自閉症の発症に繋がっているのではないかという仮説をたて、国立大学法人金沢大学附属病院の自閉症患者におけるオキシトシンレセプターのDNAメチル化解析を行っている。また、オキシトシンレセプターの遺伝子発現制御を司るエンハンサー領域をゲノム編集技術の一つであるCRISPR/Cas9システムを用いて欠損させ、オキシトシンレセプターの遺伝子発現制御メカニズムの解明に取り組んでいる。

8) レット症候群の発症機序の解明 (堀家)

レット症候群(RTT)は自閉症をはじめとする神経発達障害の一つであり、その原因遺伝子としてMeCP2遺伝子が同定されて以来、MeCP2により制御を受ける分子の同定が精力的に試みられてきた。実際、我々もMeCP2により制御を受ける分子としてDLX5遺伝子を同定し、その作用機序の一つとしてクロマチンループ構造を介した転写調節機構を見出してきた。現在では、GABAニュー

ーロンでの MeCP2 の機能不全が RTT の主症状を引き起こすであろうと考えられているが、その分子基盤については未だ不明な点が数多く残っている。一方、我々は思春期特発性側弯症 (AIS) の研究の中で、AIS と強く相関する一塩基多型 (SNP) rs11190870 を含むゲノム領域がクロマチンループ構造を介して約 10 kb 離れた LBX1 遺伝子の発現を制御していることを明らかにし、ゼブラフィッシュを用いた LBX1 の過剰発現実験では AIS とよく似た表現型を呈することを見出した。先に述べたように、我々は MeCP2 の分子機能として、クロマチンループ構造を介した遺伝子発現調節を考えており、LBX1 遺伝子もまた MeCP2 により制御を受ける分子の一つでないかと考え、その分子基盤の解明に取り組んでいる。

1-2 研究成果リスト

1) 学術論文

- (1) Nakata H, Wakayama T, Asano T, Nishiuchi T, Iseki S. (2016) Identification of sperm equatorial segment protein 1 in the acrosome as the primary binding target of peanut agglutinin (PNA) in the mouse testis. *Histochem Cell Biol.* 147(1):27-38
- (2) Adachi E, Sakai K, Nishiuchi T, Imamura R, Sato H, Matsumoto K. (2016) Different growth and metastatic phenotypes associated with a cell-intrinsic change of Met in metastatic melanoma. *Oncotarget.* 7(43):70779-70793
- (3) Ezaki B, Higashi A, Nanba N, Nishiuchi T. (2016) An S-adenosyl Methionine Synthetase (SAMS) Gene from *Andropogon virginicus* L. Confers Aluminum Stress Tolerance and Facilitates Epigenetic Gene Regulation in *Arabidopsis thaliana*. *Front Plant Sci.* 8:1627.
- (4) Harata K, Nishiuchi T, Kubo Y. (2016) Colletotrichum orbiculare WHI2, a Yeast Stress-Response Regulator Homolog, Controls the Biotrophic Stage of Hemibiotrophic Infection Through TOR Signaling. *Mol Plant Microbe Interact* 29:468-483.
- (5) Maeda K, Nakajima Y, Tanahashi Y, Kosaki T, Kitou Y, Kanamaru K, Kobayashi T, Nishiuchi T, Kimura M. (2016) Characterization of the acivicin effects on trichothecene production by *Fusarium graminearum* species complex. *J Gen Appl Microbiol.* 62(5):272-276.
- (6) Maeda K, Tanaka A, Sugiura R, Koshino H, Tokai T, Sato M, Nakajima Y, Tanahashi Y, Kanamaru K, Kobayashi T, Nishiuchi T, Fujimura M, Takahashi-Ando N, Kimura M. (2016) Hydroxylations of trichothecene rings in the biosynthesis of *Fusarium* trichothecenes: evolution of alternative pathways in the nivalenol chemotype. *Environ Microbiol.* 18(11):3798-3811.
- (7) Maida Y, Takakura M, Nishiuchi T, Yoshimoto T, Kyo S. (2016) Exosomal transfer of functional small RNAs mediates cancer-stroma communication in human endometrium. *Cancer Med.* 5: 304-314.
- (8) Kitou Y, Nakajima Y, Maeda K, Jin Q, Nishiuchi T, Kanamaru K, Kobayashi T, Kimura M. (2016) Re-examination of genetic and nutritional factors related to trichothecene biosynthesis in *Fusarium graminearum*. *Biosci. Biotech. and Biochem.* 28:1-4.
- (9) Dunaway K, Islam S, Coulson J, Lopez R, Ciernia AV, Chu R, Yasui D, Pessah I, Lott P, Mordaunt C, Meguro-Horike M, **Horike S**, Korf I, LaSalle JM. (2016) “Cumulative impact of large chromosomal

- duplications and polychlorinated biphenyl exposure on DNA methylation, chromatin, and expression of autism candidate gene” *Cell Reports*, 17(11)3035-3048.
- (10) Murakami K, Nakamura Y, Felizola SJ, Morimoto R, Satoh F, Takanami K, Katakami H, Hirota S, Takeda Y, Meguro-Horike M, **Horike S**, Unno M, Sasano H. (2016) “Pancreatic solitary fibrous tumor causing ectopic adrenocorticotrophic hormone syndrome.” *Mol. Cell Endocrinol.* 436, 268-273.
- (11) Munesue T, Nakamura H, Kikuchi M, Miura Y, Takeuchi N, Anme T, Nanba E, Adachi K, Tsubouchi K, Sai Y, Miyamoto K, **Horike S**, Yokoyama S, Nakatani H, Niida Y, Kosaka H, Minabe Y, Higashida H. (2016) “Oxytocin for male adolescents and adults with autism spectrum disorder and comorbid intellectual disabilities: A randomized pilot study” *Frontiers in Psychiatry*, Jan 21;7:2. eCollection 2016.
- (12) Guo L, Yamashita H, Kou I, Takimoto A, Meguro-Horike M, **Horike S**, Adachi T, Ikegawa S, Hiraki Y, Shukunami C. (2016) “Increased expression of the ladybird homeobox 1 causes scoliosis in zebrafish” *Plos Genetics*, Jan 28;12(1):e1005802. eCollection 2016.
- (13) Kanazawa T, Era A, Minamino N, Shikano Y, Fujimoto M, Uemura T, Nishihama R, Yamato K T, Ishizaki K, Nishiyama T, Kohchi T, Nakano A and Ueda T. (2016) SNARE Molecules in *Marchantia polymorpha*: Unique and Conserved Features of the Membrane Fusion Machinery *Plant & cell physiology* 57:307-324. 10.1093/pcp/pcv076 Feb
- (14) Breuninger H, Thamm A, Streubel S, Sakayama H, Nishiyama T and Dolan L. (2016) Diversification of a Transcription Factor Family Led to the Evolution of Antagonistically Acting Genetic Regulators of Root Hair Growth *Current biology* 26:1622-1628. 10.1016/j.cub.2016.04.060 Jun 20
- (15) Izuno A, Hatakeyama M, Nishiyama T, Tamaki I, Shimizu-Inatsugi R, Sasaki R, Shimizu K K and Isagi Y. (2016) Genome sequencing of *Metrosideros polymorpha* (Myrtaceae), a dominant species in various habitats in the Hawaiian Islands with remarkable phenotypic variations *Journal of plant research* 129:727-736. 10.1007/s10265-016-0822-3 Jul
- (16) Pereman I, Mosquna A, Katz A, Wiedemann G, Lang D, Decker E L, Tamada Y, Ishikawa T, Nishiyama T, Hasebe M, Reski R and Ohad N. (2016) The Polycomb group protein CLF emerges as a specific tri-methylase of H3K27 regulating gene expression and development in *Physcomitrella patens* *Biochimica et biophysica acta* 1859:860-870. 10.1016/j.bbagr.2016.05.004 Jul
- (17) Briskine RV, Paape T, Shimizu-Inatsugi R, Nishiyama T, Akama S, Sese J and Shimizu K K. (2016) Genome assembly and annotation of *Arabidopsis halleri*, a model for heavy metal hyperaccumulation and evolutionary ecology *Molecular ecology resources* 10.1111/1755-0998.12604 Sep 27
- (18) Kondo S, Wakae K, Wakisaka N, Nakanishi Y, Ishikawa K, Komori T, Moriyama-Kita M, Endo K, Muroso S, Wang Z, Kitamura K, Nishiyama T, Yamaguchi K, Shigenobu S, Muramatsu M and Yoshizaki T. (2016) APOBEC3A associates with human papillomavirus genome integration in oropharyngeal cancers *Oncogene* 10.1038/onc.2016.335 Oct 03
- (19) Kasahara M, Suetsugu N, Urano Y, Yamamoto C, Ohmori M, Takada Y, Okuda S, Nishiyama T, Sakayama H, Kohchi T and Takahashi F. (2016) An adenylyl cyclase with a phosphodiesterase domain in basal plants with a motile sperm system *Scientific reports* 6:39232. 10.1038/srep39232 Dec 16

2) 総説・資料・報告書・特許

- (1) 目黒牧子, 堀家慎一「lncRNA によるエピジェネティック制御の作用機序」DOJIN BIOSCIENCE SERIES 25 ノンコーディング RNA, 化学同人, 233-244, 2016年7月15日発行

3) 学術発表

- (1) 深田史美, 西内巧, 久保康之「炭疽病菌およびいもち病菌において RabGAP Bub2は細胞周期および隔壁形成を制御し植物感染に関与する」平成28年度植物病理学会関西支部会, 2016年9月, 静岡市
- (2) 中嶋佑一, 塩原拓也, 前田一行, 棚橋義和, 金丸京子, 小林哲夫, 西内巧, 木村真「かび毒産生抑制技術の開発を目指したトリコテセン生合成制御機構の解析」日本マイコトキシン学会第79回学術講演会, 2016年7月, つくば市
- (3) 深田史美, 西内巧, 久保康之「RabGAP Bub2 は炭疽病菌およびいもち病菌の付着器分化過程における細胞周期および隔壁形成を制御する」第16回糸状菌分子生物学コンファレンス, 2016年11月, 京都市
- (4) 長田暢洋, 原田賢, 西内巧, 久保康之「アブラナ科炭疽病菌のストレス応答制御因子 ChWHI2 は病原性に必須であり, 宿主のカロース形成や ROS 産生に関与する」第16回糸状菌分子生物学コンファレンス, 2016年11月, 京都市
- (5) 玉置大介, 加藤智朗, 西内巧「コハク酸がシロイヌナズナ芽生えの側根形成と成長に与える影響」植物化学調節学会第51回大会, 2016年10月, 高知市
- (6) 西内巧, 澤田有司, 平井優美, 中島祐一, 佐藤和広, 木村真「植物由来の代謝物を用いた赤かび病防除及びかび毒低減化技術の開発」2017年3月, 松山市
- (7) 堀家慎一「エピジェネティクス制御と生命機能, 畜産への応用」第31回東日本家畜受精卵移植技術研究会大会, 石川県立音楽堂「邦楽ホール」, 2016年2月4~5日
- (8) 堀家慎一「ジェネティクスとエピジェネティクス」高教研大会化学部会, 富山中部高校講義室, 2016年9月27日
- (9) 目黒牧子, 堀家慎一「脱凝集クロマチンを介した long non-coding RNA, SNORD116HG による遺伝子発現制御メカニズムの解明」第10回日本エピジェネティクス研究会, 千里ライフサイエンスセンター, 大阪, 2016年5月19~20日
- (10) 阿部幸一郎, 布村聡, 三木智代, 羅智靖, 堀家慎一, 田嶋敦「自己炎症性症候群モデルマウスにおけるマスト細胞活性化経路の包括的遺伝子発現解析」第63回日本実験動物学会総会, 川崎, 2016年5月18~20日
- (11) 堀家慎一, Yasui DH, LaSalle JM, 目黒牧子「The SNORD116 Host-Gene transcript is essential for the high order chromatin dynamics of the NDN & MAGEL2 genes locus over long distance」RNA 2016, Kyoto, 2016年6月28日~7月2日
- (12) 堀家慎一, 目黒牧子, 沼田紗弥, 本田俊哉, 岡田源作, 横山茂, 東田陽博「オキシトシンレセプター遺伝子の発現制御機構の解明」日本遺伝学会第88回大会, 三島, 2016年9月7~10日
- (13) 堀家慎一「オキシトシンレセプター遺伝子のエンハンサー領域の同定」第3回北陸エピジ

エネティクス研究会, 福井, 2016年11月21~22日

- (14) 西村建徳, 中田飛鳥, 堀家慎一, 齋藤香織, 加藤啓子, 五十嵐香織, 河野晋, 高橋智聡, 曾我朋義, 東條有伸, 後藤典子「新規分子標的, ミトコンドリア内代謝酵素 MTHFD2の機能解析」第39回日本分子生物学会年会, 横浜, 2016年11月30日~12月2日
- (15) T.Nishimura, A.Nakata, S.Horike, K.Saitoh, K.Kato, K.Igarashi, S.Kohno, C.Takahashi, T.Soga, A.Tojo, N.Gotoh “Dependence on the mitochondrial MTHFD2-mediated purine synthetic pathway in lung cancer” The 39th Annual meeting of the Molecular Biology Society of Japan, Yokohama, 2016年11月30日~12月2日
- (16) 堀家慎一, 目黒牧子, 沼田紗弥, 本田俊哉, 岡田源作, 横山茂, 東田陽博「オキシトシンレセプター遺伝子の発現制御機構の解明」第39回日本分子生物学会年会, 横浜, 2016年11月30日~12月2日
- (17) “Genome sequencing charophyceans, liverworts, and hornworts: making model systems” Tomoaki Nishiyama. EMBO workshop: New model systems for early land plant evolution. 22 - 24 June 2016. Vienna, Austria (招待講演)
- (18) “Evolutionary analyses on ecological differentiation of a cosmopolitan freshwater alga *Chara braunii* (Charales, Streptophyta)” Hidetoshi Sakayama, Daisuke Miyata, Syou Kato and Tomoaki Nishiyama. EMBO workshop: New model systems for early land plant evolution. 22 - 24 June 2016. Vienna, Austria
- (19) “Genomes of Bryophytes and Charophyceans.” Tomoaki Nishiyama, Hidetoshi Sakayama, Keiko Sakakibara. ICAR 2016. 29 June ~ 3 July, 2016. Gyeongju, Korea (招待講演)
- (20) 「シャジクモの発生遺伝子の発現プロファイリングに関する研究」渡邊みゆき, 西山智明, 鈴木穰, 坂山英俊 日本植物学会第80回大会, 2016年9月 宜野湾市
- (21) 「速度変型ミオシン XI 導入による単子葉植物ブラキポディウムの成長促進」原口武士, 木下佳菜, 玉那覇正典, 坂山英俊, 西山智明, 富永基樹, 伊藤光二 日本植物学会第80回大会, 2016年9月 宜野湾市
- (22) 「生物界最速ミオシンである *Chara braunii* (シャジクモ) のミオシン XI の機能解析」玉那覇正典, 原口武士, 木下佳菜, 坂山英俊, 西山智明, 富永基樹, 伊藤光二 日本植物学会第80回大会, 2016年9月 宜野湾市
- (23) 「藻類・陸上植物の細胞壁空間に ROS を 産生する酵素 Rboh の分子進化」板橋武, 橋本研志, 坂山英俊, 西山智明, 北畑信隆, Bonnot Clemence, Hetherington Sandy, Dolan Liam4, 朽津和幸日本植物学会第80回大会, 2016年9月 宜野湾市
- (24) 「ヒメツリガネゴケ葉細胞のリプログラミング過程における1細胞遺伝子発現解析」久保稔, 西山智明, 佐野亮輔, ラングダニエル, 玉田洋介, 出村拓, レスキーラルフ, 長谷部光泰 日本植物学会第80回大会, 2016年9月 宜野湾市
- (25) 「シャジクモ藻類ヒメミカヅキモの性決定機構の解析」関本弘之, 小宮あゆみ, 西山智明日本植物学会第80回大会, 2016年9月 宜野湾市
- (26) 「シャジクモの生殖器官のトランスクリプトーム解析」西山智明, 坂山英俊日本植物学会第80回大会, 2016年9月 宜野湾市

- (27) 「PacBio RSII シーケンサーによる *Vigna* 属野生種 10 種の全ゲノム解読とゲノムアノテーション」坂井寛章, 内藤 健, 佐藤万仁, 照屋邦子, 小木曾映里, 加賀秋人, 柴田朋子, 重信秀治, 西山智明, 長谷部光泰, 伊藤 剛, 平野 隆, 友 岡憲彦 日本育種学会第130回講演会 2016年9月 鳥取市
- (28) Kousho Wakae, Que Lusheng, Kouichi Kitamura, Takashi Izuka, Mitsuhiro Nakamura, Hiroshi Fujiwara, Satoru Kondo, Tomokazu Yoshizaki, Tomoaki Nishiyama, and Masamichi Muramatsu “ APOBEC3 hypermutates mitochondrial DNA in differentiating dysplastic keratinocytes” The 13th Conference of Asian Society for Mitochondrial Research and Medicine / The 16th Conference of Japanese Society of Mitochondrial Research and Medicine, 2016.10.30-11.1, TKP 品川ガーデンシティ
- (29) 「APOBEC3はHPV16感染細胞のミトコンドリア DNA に hypermutation を導入する」若江 亨祥, Que Lusheng, 喜多村晃一, 飯塚 崇, 中村充弘, 藤原 浩, 近藤 悟, 吉崎智一, 柊元 巖, 西山智明, 村松正道 第39回日本分子生物学会年会, 2016.11.30-12.2, パシフィコ横浜
- (30) De novo sequencing of *Chara braunii* and construction of genetic map. Tomoaki Nishiyama, Advanced Genome Science International Symposium. The Start of New Genomics. Ito Hall, ITO international research center, the University of Tokyo 20170110 招待講演
- (31) Genetic map construction with low depth segregant sequencing in *Chara braunii* Tomoaki Nishiyama, Hiroaki Kamada, Daisuke Miyata, Katsushi Yamaguchi, Shuji Shigenobu, Hidetoshi Sakayama, Masahiro Kasahara 第58回日本植物生理学会年会 鹿児島大学2017年3月
- (32) Cooccurrence of adenylyl cyclase with phosphodiesterase domain to basal plants with motile sperm system. Masahiro Kasahara, Noriyuki Suetsugu, Yuuki Urano, Chiaki Yamamoto, Mikiya Ohmori, Yuki Takada, Shujiro Okuda, Tomoaki Nishiyama, Hidetoshi Sakayama, Takayuki Kohchi, Fumio Takahashi 第58回日本植物生理学会年会 鹿児島大学 2017年3月
- (33) CRISPR/Cas9システムを利用したヒメミカヅキモのマイナス型細胞特異的受容体型タンパク質 CpRLP1 の機能解析 Naho Kanda, Tomoaki Nishiyama, Yuki Tsuchikane, Hiroyuki Sekimoto 第58回日本植物生理学会年会 鹿児島大学 2017年3月
- (34) Reverse genetics of *CpMinus1*, presented only in mating-type minus genome of heterothallic *Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex. Natsumi Tsuyuki, Naho Kanda, Ayumi Komiya, Junko Kawai, Yuki Tsuchikane, Tomoaki Nishiyama, Hiroyuki Sekimoto 第58回日本植物生理学会年会 鹿児島大学 2017年3月

4) 研究交流(共同研究)

学内

相手部局	研究課題
医薬保健研究域医学系	EBV 関連血球貪食症候群における EBV 感染 T 細胞の解析
	統合失調症の病態生理におけるカンナビノイドの重要性についての研究
	神経細胞死における活性化アストロサイトの役割
	脳脊髄液中の A β オリゴマー化抑制物質の検討

	次世代シーケンサーによるウイルス変異の検出解析
医薬保健研究域薬学系	アポトーシスイメージング薬剤の開発と評価
	遺伝情報維持の分子メカニズムに関する解析
がん進展制御研究所	がん抑制遺伝子 Rb によるがん幹細胞化抑制の分子機構の解明
	細胞死と炎症のクロストークに関与する因子の探索
	ヒストンのメチル化制御に関わる因子の機能解析
	<i>in vitro</i> がん幹細胞モデルの解析
理工研究域自然システム学系	カイコガの性フェロモン情報を伝達・処理する神経回路の同定と解析（他関連2課題）
	シアノバクテリアの紫外線吸収物質の化学構造解析（他関連2課題）
	鉄制限下で発現する植物プランクトン膜タンパク質の解析
	枯草菌及び緑色硫黄細菌 ferredoxin-NADP+酸化還元酵素の反応機構解析
	ヒメツリガネゴケにおける GRAS 遺伝子の解析
環日本海域環境研究センター	魚のウロコを骨モデルとして用いた磁場・重力・ホルモン応答に関する研究
学際科学実験センター	エピジェネティクス制御因子の発生過程での機能解析

国内

相手機関	研究課題
理化学研究所	オオムギの赤かび病抵抗性に関わる代謝産物の探索
京都大学大学院農学研究科	シロイヌナズナの炭疽病菌に対する感染応答遺伝子の探索
名古屋大学大学院農学研究科	ムギ類赤かび病菌の病原性因子の機能解析
京都府立大学生命環境科学研究科	植物病原糸状菌の遺伝子発現解析
千葉大学大学院融合科学研究科	植物 RNA サイレンシングの研究
岡山大学資源植物科学研究所	シロイヌナズナで解明された赤かび病抵抗性遺伝子のオオムギへの応用展開
石川県立大学	かび毒分解酵素の解析
富山大学大学院地球生命環境科学専攻	シロイヌナズナの生活環における重力の影響の解明
日環科学(株)	好熱菌発酵産物の経口投与が齧歯類の消化器系の遺伝子発現に与える影響評価
基礎生物学研究所	ヒメツリガネゴケの転写産物解析・遺伝学的地図の作成
	フクロユキノシタのゲノム解読
	1分子シーケンサーのデータ解析
神戸大学	陸上植物の系統解析, シャジクモのゲノム解析
遺伝学研究所	シャジクモの RNA-seq 解析
石川県農林総合研究センター農業試験場	フリージアの花に斑を生じる病的症状の解析
日本女子大学	ヒメミカヅキモのゲノム解析

国外

相手機関	研究課題
リーズ大学, フライブルグ大学	ヒメツリガネゴケの詳細な遺伝学的地図の作成
フライブルク大学	単一細胞トランスクリプトーム解析法の開発
チューリヒ大学	ハワイフトモモノキ他のゲノム解析

5) 研究費

- (1) 西内巧 (代表), 文科省科学研究費, 基盤研究 C, 「植物の抵抗性システムのスタッキングによるかび毒産生に対する防除戦略の確立」, 1,000 千円
- (2) 西内巧 (分担), 文科省科学研究費, 基盤研究 S, 「植物病原菌の感染戦略における宿主認識と形態形成の分子基盤」, 1,700 千円
- (3) 西内巧 (分担), 受託研究 (農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業 シーズ創出ステージ), 「天然素材を活用した穀類のかび毒汚染低減化技術の創成」, 4,500 千円
- (4) 西内巧 (代表), 共同研究 (株)フローラ, 「天然植物活力液の作用機構の解析」, 6,620 千円
- (5) 西内巧 (代表), 大学間連携事業経費, 「平成 28 年度金沢大学と石川県立大学との教育研究活動支援」, 50 千円
- (6) 西山智明 (代表), 文科省科学研究費, 基盤研究 B, 「シャジクモ藻綱全目ゲノム解読にもとづく陸上植物への進化解明」, 3,000 千円
- (7) 西山智明 (分担), 文科省科学研究費, 基盤研究 A, 「ゲノム比較解析で解き明かす多細胞化と雌雄性の進化」, 900 千円
- (8) 西山智明 (分担), 文科省科学研究費, 基盤研究 B, 「ヒメミカヅキモの性染色体領域解析による生殖様式進化の解明」, 600 千円
- (9) 西山智明 (分担), 文科省科学研究費, 基盤研究 B, 「コマチゴケとナンジャモンジャゴケのゲノム情報を基盤とした総合的研究」, 1000 千円
- (10) 西山智明 (分担), 文科省科学研究費, 基盤研究 B, 「東アジアを中心としたシャジクモの分布様式と多様性の成立過程解明と適応遺伝子の探索」, 150 千円
- (11) 堀家慎一 (代表), 文科省科学研究費, 基盤研究 C, 「LINE1 配列のストランド特異的分布と MAR を介したクロマチン制御機構の解明」, 800 千円
- (12) 堀家慎一 (代表), 共同研究 石川県, 「ウシ多精子受精の評価法の確立」, 420 千円
- (13) 堀家慎一 (代表), 受託事業 日本学術振興会, 研究成果の社会還元・普及事業「命をつなぐ染色体～遺伝子の運び屋である染色体を観察しよう～」, 352 千円
- (14) 堀家慎一 (代表), 文部省科学研究費, 新学術領域研究「ノンコーディング RNA ネオタクソノミ」, 「核内足場クロマチン構造を介した ncRNA, *IPW* の作動機序の解明」, 3,400 千円
- (15) 堀家慎一 (分担)AMED 再生医療実現拠点ネットワークプログラム, 「Primed 型ヒト iPS 細胞の Naïve 化/腫瘍化/分化指向性を規定するエピゲノムネットワークの解析」, 4,000 千円

2 教育活動

1) 大学院教育

授業科目

大学院自然科学研究科生命科学専攻（後期課程）：「ゲノム機能学」，「植物分子生物学」（西内巧）

大学院自然科学研究科生物科学専攻（前期課程）：「環境生命システム学」（分担，西内巧）

大学院医薬保健学総合研究科（後期課程）：「遺伝子工学基礎技術コース」（西内巧，堀家慎一，西山智明）

医薬保健学総合研究科修士課程：「動物実験学演習」（分担，堀家慎一）

大阪大学・金沢大学・浜松医科大学・千葉大学・福井大学連合小児発達学研究科：「運動生体管理学」（分担，堀家慎一），「協調運動障害特論」（分担，堀家慎一），「認知行動生物学演習」（分担，堀家慎一）

「遺伝子改変動物学特論」（分担，堀家慎一）

主任指導

大学院自然科学研究科生命科学専攻（後期課程）3名（西内巧）

2) 学部教育

理工研究域自然システム学系「生理学1」（分担，西内巧，西山智明）

理工研究域自然システム学系「機能植物科学」（分担，西山智明）

共通教育科目 生物学実験（分担，西内巧，西山智明）

医学類「MRTプログラム」1名受入（堀家慎一）

医学類「動物実験と再生医学」（分担，堀家慎一）

福井県立大学「生物学II」（分担，西内巧）

3) 講習会・説明会・実習等

第31回生命工学トレーニングコース「遺伝子工学・基礎技術」

参加者計12名

【トレーサー情報解析分野】

1. 研究活動

1-1 研究概要

トレーサー情報解析分野では、様々な生体内分子を標的とした分子イメージング剤を新規に開発し、疾患・障害における客観的で正確な画像診断法の確立を目的として研究を行っている。具体的には、1) アルツハイマー病や自閉症、ストレス性精神疾患などの高次脳機能疾患における脳神経機能変化、2) がんに関連する様々な生体分子の分布と変化を PET (ポジトロン断層法; Positron Emission Tomography) や SPECT (単一光子放射断層撮影; Single Photon Emission Computed Tomography) を用いて可視化することにより、高次脳機能疾患やがんの早期診断法や重症度診断法、治療効果判定法を確立することを目指している。PET や SPECT 撮像は、生体内の生理・代謝機能等についての情報が得られるという特長を有するが、その発展は PET/SPECT 用イメージング剤の開発に大きく依存する。PET/SPECT 用イメージング剤は、「標的に対する高親和性・高選択性」や「放射性核種で標識可能」、「撮像に適した集積・代謝時間」などの条件を満たすことが必須であり、更に脳を標的にする場合は「血液脳関門 (BBB) 通過が可能」であることも要求され、その分子構造や化学的・物理的性質に制限がかかる。以上をベースとした平成 28 年度における我々の研究成果を以下に記述する。

1) コリン作動性神経系の可視化によるアルツハイマー病の早期診断

アルツハイマー病 (AD) 患者の脳内においては、コリン作動性神経系の機能低下という特徴が見られる。特に前シナプスの変化が顕著であり、前シナプスに存在する小胞アセチルコリントランスporter (VACHT) やコリンアセチルトランスフェラーゼ (ChAT) が減少する。即ち、これらの神経化学的な変化のイメージングは、AD の症状を視覚的に確認することを可能にすることから、AD 早期診断だけではなく、治療効果のモニタリングにも応用可能と推測している。我々は vesamicol が VACHT に親和性を示すことに着目し、VACHT をイメージングの標的として定めた。

これまでに我々は、vesamicol を基本骨格とする PET 用 VACHT イメージング剤(-)-[¹¹C]o-methyl-*trans*-decalinvesamicol ((-)-[¹¹C]OMDV), 及び SPECT 用 VACHT イメージング剤(-)-o-[¹²³I]iodo-*trans*-decalinvesamicol ((-)-[¹²³I]OIDV)を開発し、いずれもラット生体脳内において高い VACHT 親和性・選択性を示すことを明らかにしてきた。

今年度は、(-)-[¹²³I]OIDV の脳内集積性を抑制する因子の探索を行った。P 糖蛋白 (P-gp) 阻害剤 cyclosporin A (25 mg/kg) を SD ラット(雄性, 8 週齢)に投与した 30 分後, [¹²⁵I]OIDV (185 kBq) を投与した。RI 投与 30 分後, P-gp 阻害ラット脳内には control ラットの 2 倍以上の RI 集積が確認できたことから、(-)-[¹²³I]OIDV 集積は P-gp により影響を受けている可能性が大きく

なった。

今後、VACHT イメージングによる新たなアルツハイマー病画像診断としての臨床応用に向け、更に構造の最適化に取り組んでいきたいと考えている。

2) ストレス性精神疾患の可視化

不安、恐れ、葛藤、失望、怒りなどの様々な精神的ストレスを受ける環境にある現代社会では、うつ病や不安神経症などのストレス性疾患が年々増加している。ストレス性疾患を重症化する前に客観的に早期診断を行うことは重要なことである。これまでの研究において、 σ -1 受容体が小胞体ストレスの緩和などに深く関与し、細胞の障害の軽減やアポトーシスの抑制をもたらすとされている。さらに異常蛋白の蓄積が原因と考えられる神経変性疾患において、異常蛋白の小胞体関連分解システムが盛ん働いている箇所の σ 受容体密度が高いことが報告されている。

σ -1 受容体の変化を視覚化することで、身体的兆候段階での多くのストレス性疾患の早期治療につながる早期診断法の確立が可能になると考え、我々は脳内 σ -1 受容体イメージング剤の開発研究を行っている。今年度は、5 員環及びオルト位に Br を有する vesamicol 類縁体 OB5V が σ -1 受容体に高い親和性と選択性を示すことを見出した。臨床応用候補としてはヨードの方が汎用性は高いため、今後 OB5V をヨード体に変更するなど、更なる構造変換を行っていく予定である。

3) 自閉症の発症の原因探索及び早期診断・治療法の開発

自閉症はコミュニケーション障害や固執した反復的・常同的行動様式等の症状を呈する先天性の脳の機能障害と考えられているが、その症状の程度はさまざまである。この障害には高い遺伝性が認められるが、未だ原因遺伝子の解明には至っていない。一方、自閉症患者における脳神経系の変化についても研究されており、これまでに、セロトニントランスポーター (SERT) に有意な変化があることが報告されている。

我々は、ヒト染色体 15q11-13 重複マウス (patDp/+) を自閉症モデルマウスとして用い、自閉症の病態メカニズム解明に取り組んでいる。今年度は、自閉症モデルマウスと野生型マウスにオキシトシンを7日間鼻腔内投与し、*in vitro* 受容体オートラジオグラフィにより、脳内 σ -1 受容体密度の変化を調べた。その結果、線条体・大脳皮質・海馬における自閉症モデルマウスの σ -1 受容体密度は元来、野生型マウスの値よりも小さいことが分かった。また、オキシトシン投与によって線条体・大脳皮質・海馬における自閉症モデルマウスの σ -1 受容体密度が増加することも明らかになった。今後、オキシトシン投与による σ -1 受容体密度増加の自閉症モデル動物への影響を、自閉症状以外にも学習・記憶機能や運動機能についての行動解析を行い確認していきたいと考えている。

4) 放射性金属-ポルフィリン誘導体の腫瘍診断薬としての開発

ポルフィリンは腫瘍集積性および金属との結合性を有することが知られている。本研究では、金

属との結合が非常に速い八臭素化ポルフィリン誘導体に着目し、新規「放射性金属－八臭素化ポルフィリン錯体」を開発し、腫瘍診断薬への応用の可能性を明らかにすることを目的として検討を行った。八臭素化ポルフィリン誘導体の一つである octabromotetrakis (4-carboxyphenyl)porphine (OBTCPP) が、マイクロ波合成装置を用いることで、SPECT 用放射性金属である ^{111}In と 5 分間の反応で、放射化学的純度 95%以上で標識可能であること、さらに、 ^{111}In -OBTCPP が colon26 細胞 (マウス直腸癌由来細胞株)、B16/BL6 細胞 (マウスメラノーマ由来細胞株)、または、KLN205 細胞 (マウス肺癌由来細胞株) を移植した担癌マウスに集積性を示すことを見出してきた。そこで、colon26 細胞を移植した BALB/c マウスで SPECT-CT 撮像実験を行ったところ、腫瘍細胞への集積が認められた。以上の結果は、 ^{111}In -OBTCPP が腫瘍の検診用診断薬となり得る可能性を有していることを示唆している。

5) がんの増殖能診断を目的とした σ -2 受容体イメージング研究

がん克服には早期発見・早期治療が極めて重要であり、PET や SPECT を用いた画像診断法は、体への負担が少なく (非侵襲的)、小さな早期がん細胞でも見つけることが出来る。一方、シグマ (σ)-2 受容体は、乳がんや膵がんなど多種の固形腫瘍細胞において発現が見られ、特に増殖期では静止期と比べ、最大 10 倍の σ -2 受容体が過剰発現していることが明らかにされている。即ち、 σ -2 受容体は増殖期の固形腫瘍細胞の重要なバイオマーカーであり、 σ -2 受容体イメージングは、がんの早期発見や増殖能診断に有効な手段となる可能性を意味している。

我々は昨年度までに、新規 vesamicol 類縁体 *p*-iodo-*trans*-decalinvesamicol (PIDV) を放射性ヨウ素 [^{125}I] 標識した [^{125}I] P I D V が、乳腺癌細胞 MCF-7、及びヒト悪性黒色腫細胞 A375 を用いた *in vitro* 及び *in vivo* 実験において、高い σ -2 受容体親和性・選択性を有することを明らかにした。今年度、担癌ヌードマウス (雌性、4 週齢、MCF-7 移植 3 週間後) に SPECT 用核種 [^{123}I] で標識した [^{123}I] PIDV を静脈内投与して、投与 4 時間後に SPECT-CT 撮像実験を行った。その結果、腫瘍細胞へのトレーサー集積が認められ、 [^{123}I] PIDV の σ -2 受容体イメージング剤としての可能性が示されたと考えている。

1 - 2 研究成果リスト

1) 学術論文

- (1) Oshima N, Akizawa H, Kawashima H, Zhao S, Zhao Y, Nishijima KI, Kitamura Y, Arano Y, Kuge Y, Ohkura K. "Redesign of negatively charged ^{111}In -DTPA-octreotide derivative to reduce renal radioactivity." *Nucl. Med. Biol.* **2017**, *48*, 16-25.

2) 総説・資料・報告書

3) 著書

- (1) パートナー分析化学 I 改定第 3 版 南江堂 2017 年 3 月 25 日：萩中 淳，能田 均，山口政俊，北村陽二，他 14 名共著，担当：第 10 章 実際試料の分析（萩中 淳，北村陽二）
- (2) パートナー分析化学 I I 改定第 3 版 南江堂 2017 年 3 月 30 日：能田 均，萩中 淳，山口政俊，北村陽二，他 28 名共著，担当：第 2 章 構造解析 2.赤外吸収スペクトル測定法およびラマンスペクトル，第 5 章 その他の分析 1.屈折率，粘度，比重と密度（北村陽二）

4) 学会発表，講演等

- (1) 小阪孝史，「有機合成化学を基盤とした分子イメージング研究」，平成 28 年度北信越若手有機合成化学若手研究会（四高記念文化交流館，金沢），2016 年 4 月 2 日，口頭発表。
- (2) Azim MA, Kozaka T, Uno I, Miwa D, Kitamura Y, Shiba K, 「*In vitro* evaluation meta-bromobenzovesamicol as PET VACHT imaging Probe」, The 2nd Asian Nuclear Medicine Academic Forum 2016 (Shanghai, China), 2016 年 5 月 5-8 日，ポスター発表。
- (3) 北村陽二，小川数馬，小阪孝史，茂野泰貴，北嶋祥太郎，石山史奈，中島美由紀，御船正樹，川井恵一，絹谷 清剛，斎藤 寛，柴 和弘，「¹¹¹In 標識八臭素化ポルフィリン誘導体の腫瘍イメージング剤としての開発研究」，第 11 回日本分子イメージング学会総会・学術集会（神戸国際会議場），2016 年 5 月 29 日，ポスター発表。
- (4) Mizuno Y, Makino A, Masuda R, Kozaka T, Kitamura Y, Kiyono Y, Shiba K, Odani A, 「Development of a radiobromine-labeled compound as a sigma receptor ligand for tumor imaging」, 2016SNMMI 63th annual meeting (Baltimore Convention Center, Sangiego, USA), 2016 年 6 月 11-15 日，ポスター発表。
- (5) 小阪孝史，緩詰沙耶，茂野泰貴，北村陽二，小川数馬，川井恵一，絹谷清剛，柴 和弘，「SPECT 用 σ -2 受容体イメージング剤 [¹²³I]PIDV の開発研究」，第 56 回日本核医学会学術総会（名古屋国際会議場，名古屋），2016 年 11 月 3-5 日，口頭発表。
- (6) 北嶋祥太郎，小澤 梓，北村陽二，小阪孝史，茂野泰貴，小川数馬，柴 和弘，「ヒト染色体 15 番長腕重複モデルマウスのストレス負荷によるドーパミン受容体への影響」，日本薬学会第 137 年会（仙台国際センター，仙台），2017 年 3 月 25-27 日，ポスター発表。
- (7) 茂野泰貴，小阪孝史，北村陽二，石山史奈，小川数馬，柴 和弘，「5 員環を有する vesamicol 類縁体のシグマ-1 受容体イメージング剤としての基礎的評価」，日本薬学会 第 137 年会（仙台国際センター，仙台），2017 年 3 月 25-27 日，ポスター発表。
- (8) 石山史奈，小阪孝史，高橋茉衣夏，北村陽二，茂野泰貴，小川数馬，柴 和弘，「環サイズの異なる vesamicol 類縁体の小胞アセチルコリントランスポーター及びシグマ受容体との構造活性相関」，日本薬学会 第 137 年会（仙台国際センター，仙台），2017 年 3 月 25-27 日，ポスター発表。
- (9) 北村陽二，佐藤恭子，小川数馬，小阪孝史，中島美由紀，茂野泰貴，高橋茉衣夏，小澤 梓，斎藤 寛，柴 和弘，「食品添加物確認試験の赤外スペクトル測定における ATR 法の適用に関する検討」，日本薬学会 第 137 年会（仙台国際センター，仙台），2017 年 3 月 25-27 日，ポスター発表。

一発表.

5) 共同研究

学内

相手部局	研究課題
医学系・バイオトレーサー診療学	心筋間質の病態変化の画像化
保健学系・量子医療技術学	ストレス性精神疾患の進行・治療指針予測用分子イメージング法の開発
薬学系・臨床分析学 医学系・バイオトレーサー診療学	核医学癌診断・放射線内用療法を目的とした RI 標識 σ リガンドの評価
薬学系・臨床分析学	抗体の新規レニウム標識法の開発研究
保健学系・量子医療技術学	脳神経機能分子イメージング剤の開発研究
医学系・システム生物学	病態形成へパトカインの体内動態解析

国内

相手部局	研究課題
放射線医学総合研究所	アセチルコリントランスポータイメージング剤のポジトロン標識合成研究
理化学研究所	分子イメージングプローブの開発
千葉大学	新規ペプチド放射性医薬品の開発
北海道医療大学	腎集積を低減したペプチド放射性医薬品の開発
京都大学	新規画像診断薬としてのポルフィリン誘導体の開発
岡山大学	糖尿病治療薬としての新規ジチオセミカルバゾン誘導体の開発

6) 研究費

- (1) 柴 和弘 (代表), 科学研究費補助金 基盤研究 (B): 「アルツハイマー病の早期診断用シナプス前コリン作動性神経分子イメージング剤の開発」 3,100 千円
- (2) 柴 和弘 (分担), 科学研究費補助金 基盤研究 (C): 「虚血心筋障害, リモデリングにおける心筋間質の病態と血管新生の画像化に関する研究」 100 千円
- (3) 北村陽二 (代表), 科学研究費補助金 基盤研究 (C): 「腫瘍イメージング剤としての放射性金属-八臭素化ポルフィリンの開発研究」 1,500 千円
- (4) 北村陽二 (分担), 厚生労働科研費 (食品の安全確保推進): 「食品添加物の規格の向上と使用実態の把握等に関する研究」 1,000 千円
- (5) 北村陽二 (分担), 科学研究費補助金 基盤研究 (B): 「アルツハイマー病の早期診断用シナプス前コリン作動性神経分子イメージング剤の開発」 100 千円
- (6) 小阪孝史 (代表), 科学研究費補助金 若手研究 (B): 「固形腫瘍の早期発見・増殖能診断を目的とした σ -2 受容体イメージング剤の開発研究」 900 千円
- (7) 小阪孝史 (分担), 科学研究費補助金 基盤研究 (B): 「アルツハイマー病の早期診断用シナ

2. 教育活動

1) 大学院教育

授業科目

- (1) 連合大学院小児発達学研究科（小児発達学専攻）：
行動・情動神経科学，認知行動生物学演習，機能画像解析学（分担）
- (2) 大学院医学系研究科：
学際医学セミナー，トレーサー実験法，トレーサー実験法実習（初期総合プログラム）
- (3) 大学院自然科学研究科（生命科学専攻）（後期）：
放射活性物質機能解析学，放射活性物質情報解析学，病態生理機能分析学，
生体機能分子分析学

2) 学類教育

授業科目

- ・ 臨床化学特論（医薬保健学域 保健学類 分担）
- ・ 放射性同位元素検査技術学演習（医薬保健学域 保健学類 分担）
- ・ 放射線衛生管理学実験（医薬保健学域 保健学類 分担）
- ・ 放射線計測学実験Ⅱ（医薬保健学域 保健学類 分担）
- ・ 放射化学実験（医薬保健学域 保健学類 分担）

卒業論文指導

「Vesamicol 類縁体の環サイズと小胞アセチルコリントランスポーター (VACht) およびシグマ (σ -1, -2) 受容体親和性との構造活性相関」

石山 史奈（医薬保健学域 保健学類 検査技術科学専攻）

「15q 重複自閉症モデルマウスのストレスによるドーパミン受容体の影響」

北嶋 祥太郎（医薬保健学域 保健学類 検査技術科学専攻）

3) 新規・継続登録者安全講習会

- ・ 新規登録者安全講習会 14 回（詳細は「IV 研究施設の活動状況」を参照）
- ・ 継続登録者安全講習会 10 回（詳細は「IV 研究施設の活動状況」を参照）

4) R I 取扱基礎講習会

- ・ R I 安全取扱基礎講習会（実習） 4 回（詳細は「IV 研究施設の活動状況」を参照）

【機器分析分野】

1. 研究活動

1-1 研究概要

機器分析分野（関連部局である薬学系においては内山研究グループ）では、専任教員の専門分野である有機合成化学分野の研究を行っている。平成 28 年度は、教員 1 名と博士前期課程 1 年生 2 名、これに 12 月途中から創薬科学類 3 年生（仮配属）2 名が加わり計 5 名で、金属触媒を活用した効率的な新規合成手法の開発研究を行った。

主な研究テーマは以下の通りである。

1) モノケトン型基質の Conia-ene 反応を効率化する新規触媒系の開発

分子内の適当な位置にアルキンやアルケン部分を持つ、エノール化が可能なカルボニル化合物の熱的ペリ環状 ene 反応は、Conia-ene 反応として知られている。従来、本反応の進行には非常に高い反応温度が必要であったが、近年、 π -酸性金属 Lewis 酸触媒によって反応基質のアルキン部分を活性化することで、非常に穏和な条件下で反応を行うことが可能となった。本反応に用いられる金属触媒として、 π -酸性の高い金(I)や銀(I)、水銀(II)など様々なものが知られているが、コストや毒性の点で問題があるため、我々は反応性・コスト・毒性のバランスが最も良くとれていると思われる銅(I)に着目し、これを用いた触媒的 Conia-ene 反応について研究を行ってきた。その結果、活性メチン部にペンチニル基を持つ β -ケトエステル型基質の Conia-ene 反応において、ともに触媒量のトリフルオロメタンスルホン酸銅(I)とトリフルオロメタンスルホン酸ガリウム(III)を共存させることで、2種類の金属 Lewis 酸触媒の協働作用が起こり、室温でほぼ中性といった穏和な条件下で反応が非常に速やかに進行することをこれまでに見出している。

また今年度からは、Conia-ene 反応における未解決課題として認識されている「エノール化を促進するような電子求引基を持たないケトン型基質の反応」をターゲットに、これをより穏和な条件下で効率良く進行させる触媒系の開発に着手している。 β -ケトエステルや 1,3-ジケトンなど、ケトンの α -位に電子求引性基を持つ化合物は比較的エノール化しやすく、これらを反応基質とする触媒的 Conia-ene 反応の報告は多いものの、 α -位に電子求引基を持たないケトンに適用可能な触媒系の報告は非常に少ないことから、より優れた新たな触媒系の開発が非常に望まれている。このような背景のもと、我々のこれまでの研究から得られた知見を基にして、銅(I)の特性を活かした新規触媒系の開発に鋭意取り組んでいるところである。

2) ヒドロキシエンイン類、アルコキシアミノエンイン類のタンデム型環化を用いた中員環構築法の開発

アリル位（3位）にヒドロキシル基を有する 1,6-あるいは 1,7-エンイン化合物、およびヒドロキ

シル基の代わりにアルコキシアミノ基を有する 1,6-あるいは 1,7-エンイン化合物を反応基質として用い、金属 Lewis 酸触媒によってアルキン部への分子内ヒドロアルコキシレーション、ヒドロアミネーションを行えば、アリルビニルエーテル構造、あるいはアリルビニルアミン構造が反応系内で生成する。これら生成物は Claisen 転位反応の前駆体であるため、用いる金属 Lewis 酸触媒を工夫することで、これら 2 段階の反応が連続的に進行し、7 員環あるいは 8 員環骨格が一挙に構築出来るものと考えられる。実際、このような考えに基づいたタンデム型反応として、金(I)触媒を用いた報告例があるが、反応基質はヒドロキシル基をメチル化したメチルエーテル体であり、我々が金(I)を用いて検討したところ、ヒドロキシル体のままでは反応がうまく進行しないことが確認された。この結果は、金(I)の特性に起因するものと推測される。すなわち、金(I)は π -酸性が強いものの、Claisen 転位反応で重要だと思われる σ -酸性が弱いため、目的とするタンデム型反応がうまく進行しないものと考えられた。そこで我々は、 π -酸性と σ -酸性のバランスがとれている金属触媒 (dual-mode Lewis acid) を用いることで、メチル化せずともヒドロキシ体をそのまま反応基質として使用出来るのではないかと考えた。予想どおりに反応が進行すれば、高価な金(I)触媒を用いず、しかも基質合成の工程数を 1 つ減らすことが可能となるため、より効率的な中員環構築法を提供できる。また反応基質として、ヒドロキシル基の代わりにアルコキシアミノ基を持つ化合物を用いた場合、dual-mode Lewis acid で反応を行えば、1) 分子内ヒドロアミネーション、2) Claisen 転位、3) Beckmann 転位から成る 3 連続型反応によって中員環ラクタムが一挙に構築できるものと期待される。現在、これら作業仮説に基づいて詳細な検討を行っているところである。

2. 教育活動

1) 大学院教育

講義科目

大学院有機化学 V (医薬保健学総合研究科創薬科学専攻・博士前期課程)

修士論文指導

「モノケトン型化合物の Conia-ene 反応を効率化する新規触媒系の開発」

村上幸浩 (医薬保健総合研究科創薬科学専攻)

「ヒドロキシエンイン類のタンデム型環化による中員環構築法の開発」

高橋涼太 (医薬保健総合研究科創薬科学専攻)

2) 学類教育

講義科目

有機化学 IV (医薬保健学域・薬学類／創薬科学類 2 年, 必修)

有機化学演習 IV (医薬保健学域・薬学類／創薬科学類 2 年, 必修)

有機機器分析（医薬保健学域・薬学類／創薬科学類 3 年，薬学類必修，創薬科学類選択）

有機化合物の扱い方を学ぶ（医薬保健学域・薬学類／創薬科学類 2 年，必修，分担）

その他の教育活動

薬学系 1～3 年生 8 名，および博士前期課程 1～2 年生 2 名のアドバイス教員担当（年 2 回の個人面談を実施）

薬学系 FD 研修会への参加

薬学共用試験（OSCE および CBT）関連活動