

No	課題 Research theme
1	再発急性白血病におけるPRAME遺伝子発現 PRAME gene expression in relapsed acute leukemia
2	脳動脈瘤破裂によるくも膜下出血の成因の解明 A study for the pathogenesis of subarachnoid hemorrhage due to cerebral aneurysm
3	超高速シークエンサーによる血中遊離型mRNAの高感度網羅的解析による甲状腺癌の診断 Analysis of serum free mRNA in patients with thyroid tumors using massively parallel sequencing
4	MODYの原因遺伝子領域におけるゲノム構造異常の解析 Detection of genomic rearrangements of MODY gene in Japanese patients
5	貧血(赤血球造血障害)の原因となるリボソーム蛋白質の遺伝子変異の研究 Identification of a homozygous microdeletion of chromosome 1 in a patient of Diamond-Blackfan anemia
6	大腸癌の肝転移巣におけるKRAS遺伝子変異についての検討 KRAS mutation of liver metastasis in colorectal cancer
7	<i>Helicobacter pylori</i> (<i>H.pylori</i>) 慢性胃炎における胃癌発生リスクに関する研究 —血清学的所見と内視鏡所見のintegration— Prediction of gastric cancer in chronic gastritis with <i>Helicobacter pylori</i> infection. —Integration of serum results and endoscopic diagnosis—
8	老化に伴う動脈硬化と骨粗鬆症への変化に対する基礎的研究 Correlation between vascular calcification and bone degeneration in aging process
9	細胞の分化に関わる遺伝子の転写因子mafに関する統合的研究 Total research of the functional role of transcriptional factor maf in the cell differentiation and function
10	腎移植後IgA腎症再発に対する扁桃腺摘出のタンパク尿抑制効果についての検討 Proteinuria-reducing effects of tonsillectomy alone in IgA nephropathy recurring after kidney transplantation.
11	慢性腎臓病の進行因子に関する研究 Risk factors for the progression of chronic kidney disease (CKD)
12	毒性金属曝露によるHSP110発現 Toxic metal exposure-induced expression of HSP110
13	神経損傷による神経回路の改編機構の解明 Nerve injury induced remodeling of neural circuit.
14	アトピー性皮膚炎における表皮肥厚のメカニズム Mechanisms of epidermal hypertrophy in pathogenesis of atopic dermatitis.
15	新規再生医療の開発を目指す幹細胞研究 —組織幹細胞の維持に関して— Stem cell research for novel regenerative medicine
16	Alzheimer病早期診断のための正常者脳機能の解明 —頭部FDG-PET画像および神経心理学的所見の解析— The normal brain function; Analysis of brain FDG-PET scans and neuropsychological profiles of normal subjects
17	超早期診断を可能とさせる超高解像度CT開発のネックとなる問題解決のための研究 —ピコ秒パルスX線と連続照射X線による被曝の影響の比較— Study on ultra high resolution CT towards early diagnosis; Comparison between pico-pulsed X-ray irradiation and continuous X-ray irradiation in terms of the effect of X-ray exposure on aqueous solutions.
18	候補遺伝子アプローチによる重症筋無力症の疾患感受性遺伝子検索 Search for single nucleotide polymorphism (SNP) associated with Myasthenia Gravis based on candidate gene approach.
19	関節リウマチのファーマコゲノミクス Pharmacogenetic approach to the treatment of rheumatoid arthritis
20	血管内皮細胞によるアストロサイトを介した神経細胞傷害の制御 Endothelial regulation on neuronal injury via astrocytes
21	記憶障害に及ぼす生薬および漢方処方の検討 Effects of herbal medicines and Kampo medicines on a memory disorder

泉二登志子 Toshiko MOTOJI (血液内科 Department of Hematology)
田中紀奈 Norina TANAKA (血液内科 Department of Hematology)
王艶華 Yan-Hua WANG (血液内科 Department of Hematology)

再発急性白血病におけるPRAME遺伝子発現 PRAME gene expression in relapsed acute leukemia

初発時と再発時の急性白血病細胞におけるPRAME遺伝子 (preferentially expressed antigen of melanoma) の発現量の変化を検討し、白血病細胞株へのsiRNA導入実験によるPRAME遺伝子の機能解析を試みた。初発時には白血病患者の92%でPRAMEが陽性 (RT-PCR法) であった。再発時には初発時に比べ約30%の症例でPRAME遺伝子の発現量が有意に増加していた。K562細胞株に対するPRAME遺伝子のsiRNA導入による発現の抑制により、培養細胞数およびコロニー数の減少が見られ、S期にある細胞比率の減少とG0/G1期比率の増加を認めた。さらにGATA2遺伝子の発現低下、蛋白レベルの低下が認められた。再発時の白血病細胞では初発時細胞に比べて、より未熟な分化段階を示しより高い増殖能を示す細胞にしばしば変化していると考えられる。

PRAME gene expression in leukemic blasts taken at diagnosis and at relapse was examined with 38 acute leukemia (AL). By RT-PCR, PRAME gene was expressed in leukemic blasts in most samples, and the degree of gene expression was significantly increased at relapse when compared to those at diagnosis. This increase was observed in 13 out of 38 cases (30%). siRNA of PRAME gene was induced with K562 leukemic cell line. After siRNA induction, the cell number in liquid culture and the number of leukemic colonies was significantly reduced. This change was associated with reduction of the rate of S phase cells, and increment of the rate of G0/G1 phase cells. The reduction of GATA2 gene expression and protein level was also observed. From these results, it is suggested that inhibition of differentiation stage and increment of proliferation rate is often observed in relapsed AL.

糟谷英俊 Hidetoshi KASUYA
(東医療センター 脳神経外科 Department of Neurosurgery, Medical Center East)

脳動脈瘤破裂によるくも膜下出血の成因の解明 A study for the pathogenesis of subarachnoid hemorrhage due to cerebral aneurysm

①脳動脈瘤の原因は喫煙などの環境因子と遺伝因子による。我々は約1000人の脳動脈瘤患者および脳動脈瘤がないことがわかっているコントロールサンプルを保有している。これまで、候補遺伝子がいくつか報告されてきたが、有力な脳動脈瘤候補遺伝子の配列解析を行い脳動脈瘤との関連を検証した。
②脳動脈瘤破裂 (くも膜下出血発症) は前触れなく突然に発症する。これには感染が関与するという報告がある。発症時と退院時に患者血清中核酸を抽出し、より感度の高いRDA (representational difference analysis) 法を用いて、発症時に多く含まれる感染因子の検索を行っている。

①Cerebral aneurysms are caused by both environmental and genetic factors. We screened several candidate genes related to cerebral aneurysms by direct sequencing using samples from patients with cerebral aneurysm and controls without aneurysms.
②Subarachnoid hemorrhage (SAH) occurs suddenly. We are interested in the hypothesis that infection induces the occurrence. We tried to find infection factors by sensitive RDA (representational difference analysis) method by comparing sera of SAH patients at onset and at discharge.

03

磯崎 収 Osamu ISOZAKI (第二内科学 Department of Medicine II)
 尾身葉子 Yoko OMI (第一病理学 Department of Pathology)
 石垣沙織 Saori ISHIGAKI (第二内科学 Department of Medicine II)
 岡本高宏 Takahiro OKAMOTO (内分泌外科 Endocrine Surgery)
 小林慎夫 Makio KOBAYASHI (第一病理学 Department of Pathology)
 古川 徹 Toru FURUKAWA (IREIIMS)
 高野加寿恵 Kazue TAKANO (第二内科学 Department of Medicine II)

超高速シーケンサーによる血中遊離型mRNAの高感度網羅的解析による甲状腺癌の診断 Analysis of serum free mRNA in patients with thyroid tumors using massively parallel sequencing

甲状腺腫瘍においては時として細胞の形態から悪性の診断を行なうことは困難であるばかりでなく、甲状腺癌の発症や再発を反映する良好な腫瘍マーカーもなく、臨床的な大きな課題である。本研究では次世代型シーケンサーを用いて血中遊離型RNAを高感度に網羅的に測定し、その発現パターンの解析より腫瘍の悪性度や再発を診断可能とする方法を確立することを目的とした。血清より遊離型RNAの抽出と混入DNAの除去を行い、オリゴdTおよびランダムプライマーにて逆転写後にSAGE解析およびwhole transcriptome解析のために多数検体をSOLiDで同時にシーケンスし、情報を処理することが可能となるように検体の作成を行なった。

It is sometimes difficult to make an accurate diagnosis of malignant tumors of thyroids even by histological examinations. Recently, quantitative analyses of the whole transcriptome become feasible, and bioinformatics analysis has provided us with useful information about cancer biology. We therefore proposed a new strategy for detecting circulating serum free mRNAs specific for thyroid cancer, for early detection and accurate diagnosis of thyroid cancer. We extracted mRNA from serum and established new methods of preparing cDNA samples for analysis using massively parallel sequencing by the SOLiD system.

04

滝澤美保 Miho TAKIZAWA (糖尿病センター内科 Diabetes Center)

MODYの原因遺伝子領域におけるゲノム構造異常の解析 Detection of genomic rearrangements of MODY gene in Japanese patients

単一遺伝子疾患であるmaturity-onset diabetes of the young (MODY) のゲノム構造異常について、通常のシーケンスでMODY1, 2, 3, 5の各遺伝子における異常が同定されなかったMODY 273例について検索した。上記4遺伝子領域のmultiplex ligation-dependent probe amplification assay (MLPA) にて3例のMODY5遺伝子全エクソンのhemizygous deletionを認め、Human genome CGH micro-arrayにて17q12の約1.4 Mbの欠失を確認した。これらの症例はMODY5の臨床像に一致しており、またこのうち1例はde novo変異であることが確認された。さらに1家系で同範囲の重複をMLPA, array-CGHで確認した。またカスタムarray-CGHを作成しMODY5, MODY2遺伝子にエクソン単位の微細なゲノム構造異常を確認した。

Maturity-onset diabetes of the young (MODY) is characterized by autosomal dominant inheritance and onset before 25 years of age. We have studied the genetic cause in a group of Japanese patients with a clinical diagnosis of MODY (n=273), who do not have any substitutions in their PCR-based direct sequence in MODY1, MODY2, MODY3 and MODY5 genes. We performed multiplex ligation-dependent probe amplification assay (MLPA) and microarray-based comparative genome hybridization (array-CGH) to identify any deletions and duplications in these MODY genes. We found that three patients had a large *de novo* 1.4 Mb deletion in chromosome band 17q12 and were hemizygous for *HNF1B* (MODY5) and other genes in the deleted region. They had clinical features corresponding to those with MODY5. One patient had a duplication of the same 1.4 Mb region and thus, had three copies of *HNF1B*. We also found patients with duplications of individual exons (exon copy number variation) in *HNF1B* and *GCK* (MODY2). Thus, we have identified genomic rearrangements of MODY genes in Japanese subjects.

05

菅野 仁 Hitoshi KANNO (輸血・細胞プロセッシング科 Department of Transfusion Medicine and Cell Processing)
 藤井寿一 Hisaichi FUJII (輸血・細胞プロセッシング科 Department of Transfusion Medicine and Cell Processing)
 槍澤大樹 Taiju UTSUGISAWA (輸血・細胞プロセッシング科 Department of Transfusion Medicine and Cell Processing)
 山本俊至 Toshiyuki YAMAMOTO (IREIIMS)

貧血(赤血球造血障害)の原因となるリボソーム蛋白質の遺伝子変異の研究 Identification of a homozygous microdeletion of chromosome 1 in a patient of Diamond-Blackfan anemia

リボソーム機能不全はDiamond-Blackfan貧血 (DBA)や骨髄異形成症候群など種々の貧血の病因となる。DBAは先天性赤血球造血障害の一型で、我が国では約25%の症例にリボソーム蛋白質 (RP) S19遺伝子変異が同定されるが、約70%の症例には原因遺伝子が不明である。今回RP遺伝子変異を同定出来ないDBA5症例を対象にアレイCGH法を用いて微細染色体構造変化を検索した。その結果、1番染色体における微細欠失領域のホモ接合体を1例同定した。約46kbの欠失領域には2つの遺伝子座があり、そのうちの1つはRNA結合蛋白をコードする遺伝子であった。他症例を対象に変異解析を実施し、別の1例に三塩基(単一アミノ酸)欠失を同定したことから、この遺伝子が新規のDBA原因遺伝子であることが示唆された。

A novel microdeletion of chromosome 1 has been identified in a patient with Diamond-Blackfan anemia (DBA). The deletion spans to approximately 46-kb, and there are two functional genes in this region. One is known to act as the RNA-binding protein. We examined the coding region of the gene, and found that another DBA patient has a 3-bp deletion. Taken together, we speculate that mutations of the RNA-binding protein are likely to account for DBA, and functional studies are now in progress.

06

林 和彦 Kazuhiko HAYASHI (消化器外科 Department of Surgery, Institute of Gastroenterology)

大腸癌の肝転移巣におけるKRAS遺伝子変異についての検討 KRAS mutation of liver metastasis in colorectal cancer

大腸癌の新規分子標的薬であるCetuximabはEGFRに対するモノクローナル抗体であるが、近年、EGFRシグナル伝達系の下流に存在するKRAS変異の有無がCetuximab投与患者の奏効率および生命予後と相関するという報告がなされており、テーラーメード治療への応用が期待されている。大腸癌は進行すると高率に肝転移をきたすが、これまでに原発巣と再発・転移巣のKRAS変異の相同性についての報告はほとんどない。今回我々は教室で過去10年間に切除した大腸癌同時性・異時性肝転移症例のうち、原発巣および肝転移巣の手術標本が得られた130例のパラフィン包埋標本からDNAを抽出し、DNAシーケンサーにてKRAS変異の有無とその相同性を検討した。現在順次データ処理を進めており、学会および論文発表を行う予定である。

Cetuximab is a chimeric monoclonal antibody, an epidermal growth factor receptor (EGFR) inhibitor, given by intravenous infusion for treatment of colorectal cancer. Recent Studies have indicated that detection of KRAS gene mutations helps to identify patients that are unlikely to respond to treatment with cetuximab, but so far there are few reports which refer to genetic homology between the primary lesion and metastatic lesion. We performed DNA direct sequencing of surgical specimens from 130 patients, who had undergone surgery in our department in the last decade, to confirm whether there were genetic alterations of KRAS between the primary lesion and liver metastasis.

中村真一 Shinichi NAKAMURA
 (消化器内科学 Department of internal medicine, Institute of Gastroenterology)
 春山浩美 Hiromi HARUYAMA
 (消化器内科学 Department of internal medicine, Institute of Gastroenterology)
 白鳥敬子 Keiko SHIRATORI
 (消化器内科学 Department of internal medicine, Institute of Gastroenterology)

Helicobacter pylori (*H. pylori*) 慢性胃炎における胃癌発生リスクに関する研究—血清学的所見と内視鏡所見のintegration—
 Prediction of gastric cancer in chronic gastritis with *Helicobacter pylori* infection—Integration of serum results and endoscopic diagnosis—

胃癌の効率的な発見には、まずハイリスク群の選別が必要であり、*H. pylori*感染とそれに伴う慢性萎縮性胃炎の進行が重要な因子である。血中*H. pylori*抗体、血清pepsinogen値(PG1、PG2、PG1/2比)と内視鏡所見(萎縮性胃炎の程度、胃潰瘍の有無)とを対比した。2007年6月～2009年2月に上部消化管内視鏡検査を受診した118例(男性43例、女性75例、平均年齢57.4歳)を対象とした。血中*H. pylori*抗体陽性群76例、陰性群42例に分け検討した。PG2値(平均)は陽性群14.4μg/L vs.陰性群6.2μg/Lと陽性群で有意に高く(P<0.05)、PG1/2比は陽性群3.9 vs.陰性群5.8と陽性群で有意に低かった(P<0.05)。内視鏡所見で萎縮性変化は陽性群76例中50例が中等度ないしは高度であった。陰性群42例中40例は萎縮性変化を認めなかった。胃潰瘍は7例に認められたが、いずれも陽性群に含まれた。血中*H. pylori*抗体と血清pepsinogen値は胃粘膜の性状、胃病変の有無を予測するのに有用であり、効率のよい胃癌発見に寄与するものと考えられる。

The association between *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection and gastric cancer has been firmly established. The grade of atrophic gastritis is associated with development of gastric cancer. Serum *H. pylori*-antibody and pepsinogen were analyzed and compared with endoscopic views in 118 patients. The endoscopic grade of gastritis could be predicted by the presence of the serum *H. pylori*-antibody and pepsinogen. Serum examination contributes to the detection of gastric cancer.

宇都健太 Kenta UTO (第二病理学 Department of Pathology)
 金井佐恵子 Saeko KANAI (循環器内科 Department of Cardiology)
 青木千春 Chiharu AOKI (第二病理学 Department of Pathology)
 小田秀明 Hideaki ODA (第二病理学 Department of Pathology)

老化に伴う動脈硬化と骨粗鬆症への変化に対する基礎的研究
 Correlation between vascular calcification and bone degeneration in the aging process

糖尿病患者、透析患者および高齢者では、特徴的な中膜の血管石灰化がみられ、骨粗鬆症の合併が認められる。基礎研究では血管石灰化での骨代謝類似のメカニズムの関与が、臨床研究では血管病変と骨病変の重症度の関連性が報告されている。我々は血管石灰化と骨粗鬆症の代謝関連に注目し、分子病理学的手法を用いた統合的解析を進めている。これまでにラットモデルでの血管石灰化が、ω3不飽和脂肪酸であるイコサペンタエン酸により予防できることを明らかにした。現在腎不全モデルラットを用いて、血管石灰化と骨粗鬆症を同時に生じさせ、血管と骨代謝関連の解析を進めている段階である。

The metabolic correlation between bone and artery is obscure. To elucidate these mechanisms, we investigated the occurrence in rodent models of vascular calcification and osteoporosis. In immunohistochemical analyses, osteogenic proteins were recognized in the calcified aortic media of the rats. Interestingly, eicosapentaenoic acid attenuated those vascular calcifications. In the bone of the rats, immunohistochemistry revealed the bone resorption and fibrosis. In the rodent models, arterial medial calcification initiates from the osteogenic process, and simultaneously correlates with bone destruction.

土谷 健 Ken TSUCHIYA (第四内科 Department of Medicine IV)
 土谷まり子 Mariko TSUCHIYA (成人医学センター Institute of Geriatrics)
 杉浦秀和 Hidekazu SUGIURA (第四内科 Department of Medicine IV)
 寺岡敦子 Atsuko TERAOKA (第四内科 Department of Medicine IV)
 潮平俊治 Shunji SHIOHIRA (第四内科 Department of Medicine IV)

細胞の分化に関わる遺伝子の転写因子mafに関する統合的研究
 Total research of the functional role of transcriptional factor maf in the cell differentiation and function

Maf familyは、leucine zipper構造を持つ典型的な転写因子である。本研究では、生体におけるその働きを統合的に検討することを企図した。Familyの一つのMafAは膵β細胞の分化因子であるが、今回、このmafAが膵細胞と脂肪前駆細胞の共用の転写因子である可能性が高く、特に脂肪細胞ではその発現を調節する可能性が判明した。また、腎臓ではmafBが糸球体の、c-mafが尿細管間質の形態形成、機能分化に関わり、さらにmafBが腎臓でのlipocalin familyの誘導作用を有することを示した。このようにmafは各組織、臓器で独自の作用を発揮しながら、生体ではnetworkを形成し、相互のcross-talkにより機能を発揮しているものと考えられている。

The large Maf proteins are a family of transcription factors characterized by a typical bZip structure, which is a motif for protein dimerization and DNA binding, and they have been reported to regulate several distinct developmental processes, cell differentiation, and the establishment of cell functions. One of the large Mafs, MafA protein, is a strong transactivator of insulin in pancreatic β cells, and adipocytes are closely related to insulin action and glucose metabolism as well as lipid metabolism, and they are another candidate for Maf-related cells. The results in this project suggested a possible role of the transcriptional factor MafA in regulation of adipocyte function and differentiation in accordance with β cell function. On the other hand, previously, we have shown that the Mafs play important roles in the kidney, namely, mafB in the glomerulus, and c-maf in the renal tubules. In addition, lipocalin 2, Ngal, which is abundantly expressed in the kidney, has been reported to have multi-potentiality, such as induction of renal development, protection of tissue damage, promotion of insulin resistance, whose expression is likely to be regulated by mafB. Taken together, it is speculated that maf is likely to make up network or mediate cross-talk among multiple organs in the immune reaction, inflammation, development, and regeneration to trigger a change in the direction mediating altered gene profiling with a quick response.

剣木崇文 Takafumi KENNOKI (泌尿器科学 Department of Urology)

腎移植後IgA腎症再発に対する扁桃腺摘出のタンパク尿抑制効果についての検討
 Proteinuria-reducing effects of tonsillectomy alone in IgA nephropathy recurring after kidney transplantation

当科で腎移植を施行された405例のうち、63例がIgA腎症の再発と診断された。このうち内服治療にもかかわらず300mg以上の尿タンパクが持続していた28例を今回の研究対象とし、扁桃腺を摘出した群(16例)およびしなかった群(12例)の2群に分けて、尿タンパク量、血圧、移植腎機能について後ろ向き検討を加えた。扁桃腺の摘出群では摘出しなかった群に比べて明らかな尿タンパクの減少効果を認めた。血圧、尿潜血および移植腎機能では変化はなかった。病理学的に悪化しているほど同治療の反応は不良であった。腎移植後にIgA腎症を再発した患者ではステロイド治療をせずして扁桃腺摘出の単独治療のみでタンパク尿の軽減効果が期待できると考えられた。

Very few studies have been conducted to determine the efficacy of tonsillectomy in suppressing IgA nephropathy recurring after kidney transplantation. Our subjects in this study were 28 patients who were confirmed to have had a recurrence of IgA nephropathy by histopathology examination, and who had persistent urinary protein excretion levels of over 300 mg/day despite medical treatments. Sixteen patients (Group 1) underwent tonsillectomy alone, whilst the remaining 12 patients (Group 2) did not receive tonsillectomy. The degree of proteinuria, kidney graft function, and blood pressure were analyzed retrospectively in the two patient groups. The urinary protein excretion decreased dramatically after the tonsillectomy in all of the 16 patients of Group 1, but in none of Group 2. These results suggest that in patients receiving oral immunosuppressive therapy for recurrence of IgA nephropathy after kidney transplantation, reduction of the urinary protein excretion can be expected with tonsillectomy alone, without accompanying pulsed steroid therapy.

慢性腎臓病の進行因子に関する研究

Risk factors for the progression of chronic kidney disease (CKD)

早期 (stage 1 と stage 2) のCKD485例における登録時と5年後のGFRの低下率 (Δ GFR) を規定する因子の解析をした。蛋白尿、喫煙、低HDL血症および高血圧の存在が危険因子であった¹⁾。また、サブ解析では、L型のカルシウム拮抗薬 (CCB) を使用している群で Δ GFR が大きく、T型あるいはN型のCCBを使用している群で Δ GFR が小さいという結果を報告した²⁾。

一方、CKD stage5D、すなわち透析療法を行っている症例の予後解析を施行し、MDCTで評価した大動脈弓部の血管石灰化が強い症例の予後が悪いことが判明した。そこで、石灰化を胸部X線から半定量する方法を考案した。適正体重の設定のため、月に1回の頻度で撮影する胸部X線の大動脈弓部に新しく作成したスケールを用いて、石灰化の割合 (AoACS) を算出した。MDCTで評価した石灰化体積 (AoACV) との相関性が高いことを報告した³⁾。血管石灰化の進行に関与する因子を解析したところ、少量の活性型ビタミンDを服用している群では、石灰化の程度が軽いことが判明した⁴⁾。

We designed a retrospective cohort study of patients with early stage CKD to identify the risk factors influencing the annualized slope of the estimated GFR (eGFR). Proteinuria, smoking habits, low serum HDL and hypertension were significantly related to the eGFR slope. In addition, multiregression analyses indicated that the use of T-type and N-type CCBs was associated with a good outcome in terms of the eGFR slope.

On the other hand, aortic arch calcification (AoAC) is thought to be a risk factor for poor prognosis in hemodialysis (HD) patients. We reported a simple evaluation method for AoAC using a plain chest X-ray. The use of small doses of oral vitamin D was associated with a good prognosis in HD patients with AoAC.

参考文献

- 1) Yoshida T, *et al.* Intern Med 47: 1859-1864 (2008).
- 2) Omae K, *et al.* Heart Vessels 24: 301-307 (2009).
- 3) Ogawa T, *et al.* Hemodial Int 13: 301-306 (2009).
- 4) Ogawa T, *et al.* Int Urol Nephrol (in press).

毒性金属曝露によるHSP110発現

Toxic metal exposure-induced expression of HSP110

分子シャペロンである熱ショック蛋白質 (heat shock proteins; HSPs) の合成は、様々な環境ストレスにより誘導される。しかしながら、金属曝露による高分子量熱ショック蛋白質であるHSP110/SSE (HSP105) 発現については不明である。本研究では、代表的な環境汚染金属カドミウムの曝露がHSP110の発現に及ぼす影響について検討した。その結果、NIH3T3細胞において、塩化カドミウム (CdCl₂) 曝露3時間後よりHSP70と共にHSP110蛋白質の蓄積を認めた。また、両熱ショック蛋白質のmRNAレベルの増加も認められた。毒性金属化合物の塩化第2水銀の曝露でもHSP70とHSP110発現は誘導されたが、塩化マンガン、塩化亜鉛、塩化鉛の曝露では誘導されなかった。以上の結果から、HSP110は、毒性金属曝露により誘導されるストレス応答蛋白質であることが明らかとなった。

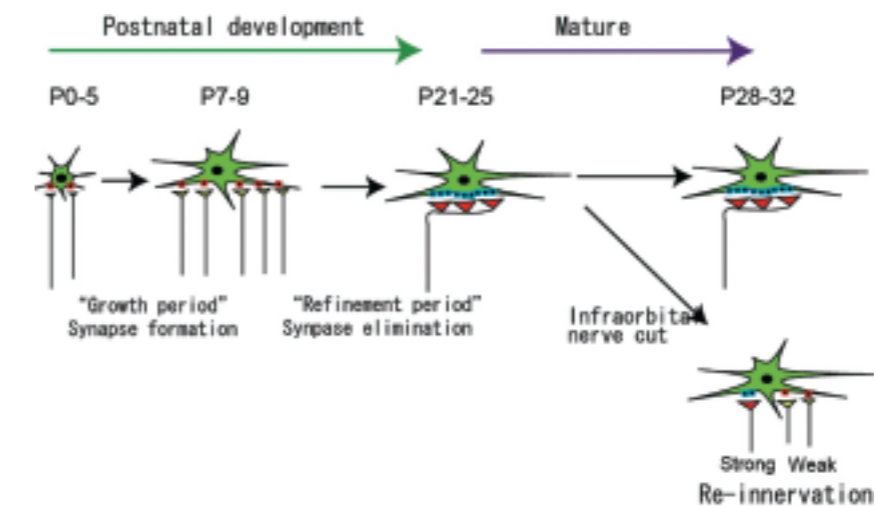
Heat shock proteins (HSPs) expression is induced by various environmental stresses. However, little is known about the expression of high molecular weight chaperone HSP110/SSE (HSP105) in response to metal exposure. In this study, the effects of cadmium exposure on the expression of HSP110 were examined in NIH3T3 cells. Following exposure to cadmium chloride, the levels of HSP110 and HSP70 proteins increased after 3 hr. Similarly, their mRNA levels increased markedly in response to cadmium exposure. Treatment with mercury chloride, another toxic metal compound, also induced the expression of HSP110; however, HSP110 expression was not induced in cells exposed to manganese chloride, zinc chloride, or lead chloride. These results indicate that HSP110 is one of the stress response proteins whose expression is induced by toxic metal exposure.

神経損傷による神経回路の改編機構の解明

Nerve injury induced remodeling of neural circuits

神経損傷モデルマウスを用いて、上位中枢視床VPM核での神経回路の改編機構を電気生理学的に解析した。視床VPM核は体性感覚の中継核であり、その求心性線維である内側毛帯線維は、三叉神経核を起始核とし、齧歯類では主に髭の感覚情報を運んでいる。申請者は、VPM細胞への内側毛帯支配様式が、生後21日目までに内側毛帯線維が一本支配に完成されることを明らかにした (Takeuchi T, Imoto K and Miyata M Neurosci. Res. Suppl. 2008)。さらに、生後21日目以降で、マウス髭の感覚神経 (眼窩下神経: 三叉神経第二枝) を切断すると、わずか一週間であたかも発達過程を逆行したかのごとく、VPM細胞が複数の内側毛帯線維に支配されるようになる再多重化現象を発見した (図)。また、新しくシナプスを形成したと思われる弱いシナプスは、そのシナプス電流の振幅が小さく、シナプス後膜側にグルタミン酸受容体であるAMPA受容体のGluR2 (+) が出現してくる一方で、NMDA受容体は変化しない事を突き止めた。

Lesion of peripheral sensory nerve induces reorganization of the receptive field in the somatosensory thalamus (VPM). However, it still remains unknown what functional changes of the individual lemniscal synapse, which is the primary somatosensory input to VPM, underlie this phenomenon. Our electrophysiological demonstrated that the thalamic relay neuron starts to receive a single lemniscal fiber by postnatal day 21 (P21) after developmental synapse elimination in the rodent VPM. In addition, we showed that the transection of an infraorbital nerve at P21 altered the wiring of this synapse. After 1 week from the surgery, multiple steps of lemniscal EPSCs were observed, implying the additional recruitment of lemniscal fibers. Multiple innervated relay neurons occasionally contained silent synapses, which should be absent in intact animals. These results indicate the lesion-induced rewiring of lemniscal fibers in the trigeminal thalamus.



アトピー性皮膚炎における表皮肥厚のメカニズム

Mechanisms of epidermal hypertrophy in pathogenesis of atopic dermatitis.

アトピー性皮膚炎における皮膚病態悪化機構を明らかにするにあたり、表皮ケラチノサイトの初代培養系を樹立した。その表皮ケラチノサイトと、アレルギー疾患で増加する機能型Th2細胞の*in vitro*共培養を行い、分子レベルで表皮ケラチノサイトの性状解析を行った。その結果、機能型Th2細胞が産生するサイトカインや細胞間接着は、表皮ケラチノサイトにおける機能発現や分化・増殖を調節することが明らかとなった。今後は、機能型Th2細胞を中心として、表皮ケラチノサイトの肥厚を誘導あるいは制御する分子ネットワークについてさらなる研究を進める予定である。

To investigate mechanisms that cause epidermal hypertrophy in pathogenesis of atopic dermatitis, we have developed a primary culture of murine keratinocytes. For functional analysis in keratinocytes, we have done a co-culture of cultured keratinocytes with effector Th2 cells that expand during allergic diseases. As a result, we found that Th2-mediated cytokines and the cell attachment could modify functional features, differentiation, and proliferation in keratinocytes. We will further investigate an underlying molecular network that would induce and/or regulate epidermal hypertrophy.

新規再生医療の開発を目指す幹細胞研究—組織幹細胞の維持に関して—
Stem cell research for novel regenerative medicine

近年の再生医療の発展につれて、その細胞ソースとして期待される幹細胞の研究も最も注目を集めている分野の一つである。近年、我々はウサギ角膜上皮幹細胞（輪部side population細胞）とマウス骨髄造血幹細胞においてCD61 (integrin $\beta 3$) が共通に高発現していることを見出した。本研究では、CD61-/-マウス、及びCD61機能不全マウス等を用い、CD61が造血幹細胞の機能に与える影響を検討したところ、CD61は造血幹細胞において、Thrombopoietinに対する反応性に重要であることを見出した。

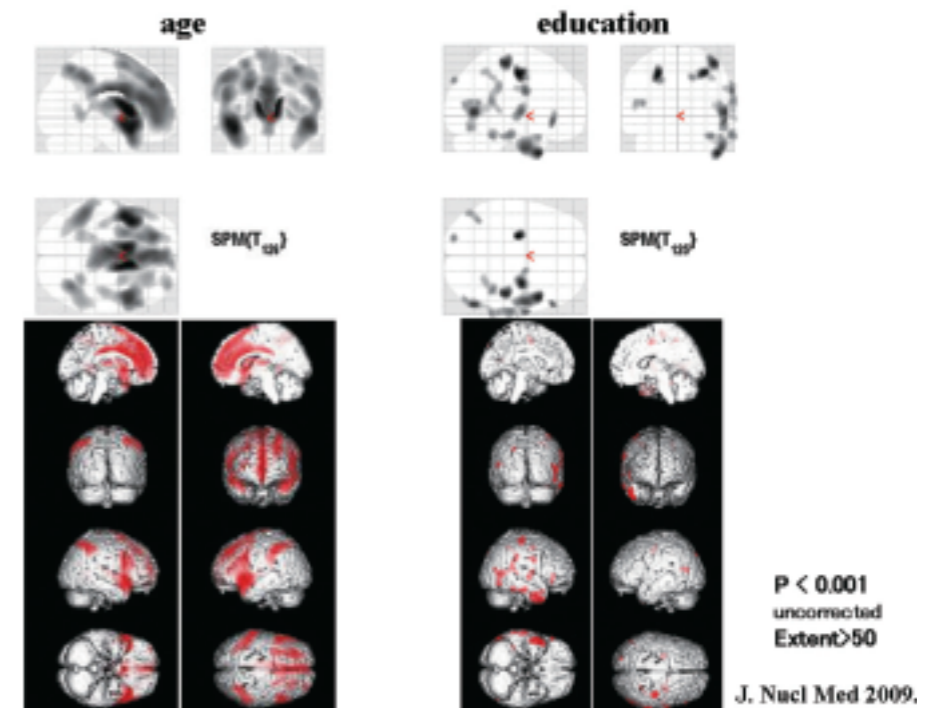
With the development of regenerative medicine, stem cell biology has become one of the most-attractive fields for many researchers. Recently, we reported that high expression of CD61 (integrin $\beta 3$) was commonly observed in both stem cell populations derived from rabbit limbal epithelium and mouse bone marrow. Therefore, the present study examined the role of CD61 in mouse hematopoietic stem cells, demonstrating that CD61 was essential for the response to thrombopoietin.

Alzheimer病早期診断のための正常者脳機能の解明—頭部FDG-PET画像および神経心理学的所見の解析—
The normal brain function; Analysis of brain FDG-PET scans and neuropsychological profiles of normal subjects

認知症の早期診断のために各種画像診断、神経心理学的検査が必要とされるが、正確な診断のためには基礎となる正常者脳機能の解明が不可欠である。そこで今回164名を対象とし、正常者脳機能の多面的評価を試みた。頭部 ^{18}F -FDG-PETの統計画像解析を用い年齢、教育歴と相関する部位ならびに性差、神経心理検査結果と相関する脳部位を評価した。年齢が高いほど前方領域の糖代謝が低く、教育歴が高いほど右半球の糖代謝が高かった(図)。性差では女性が男性よりも前頭葉内側面、前頭葉上部、頭頂葉の糖代謝が高かった。また神経心理・脳糖代謝の相関解析の結果、被験者の認知機能の特性により脳糖代謝の違いがみられた。以上の結果より健康者の年齢、性別、教育歴、認知機能の個人差により脳糖代謝は異なることが示された。認知機能の評価として神経心理検査や脳機能画像検査を行うにあたり基礎となる重要な知見と考えられた。

It remains controversial where the brain function declines according to normal aging, and whether there is a gender difference in glucose metabolism of cerebral cortex. We investigated ^{18}F -FDG PET scan in normal subjects to clarify the

aging effect, the educational effect and the gender difference. We also investigated the relationship between brain glucose metabolism and the scores of neuropsychological tests. We enrolled normal subjects, who have no previous neurological disorders with no malignancy and no brain CT abnormality. Their general intellectual function, memory function, and attentional function were all normal. To clarify the effect of aging, years of education, and gender difference, we used the statistical parametric mapping methods. The results show that significant correlation areas between aging and brain metabolism were the anterior portion in both hemispheres. Years of education gave significant regions including the right hemisphere. The gender difference of metabolism was detected in the medial frontal lobe, the superior frontal gyrus, and the parietal lobe. We confirmed that specific cognitive functions were correlated to the focal brain metabolism by the correlation analysis. These results are considered to be the essential data for diagnosing the dementia including Alzheimer's disease.



超早期診断を可能とさせる超高解像度CT開発のネックとなる問題解決のための研究

—ピコ秒パルスX線と連続照射X線による被曝の影響の比較—

Study on ultra high resolution CT towards early diagnosis; Comparison between pico-pulsed X-ray irradiation and continuous X-ray irradiation in terms of the effect of X-ray exposure on aqueous solutions

医用 CTの解像度では蝸牛の微細構造は全く観察できないが(図1a)、筆者らの開発中の超高解像度CTでは、临床上重要とされる厚さ10 μ mのライスネル膜の解像に初めて成功している(図1b)[1]。臨床応用可能とさせるには、従来の連続X線源(CX)に替え高輝度パルスX線源(PX)を用いる必要性、更には被曝の影響の低減化が不可欠である。被曝は主として生体水分子の解離による \cdot OHラジカルが非特異的に生体分子を攻撃する事による。そこで、同線質、同線量のピコ秒PX及びCX照射を水溶液系に行い、各々の生成物を蛍光スペクトル解析したところ、常識に反し、著しい質的・量的差が認められた(図2)。従って、生体に与える影響をPXに於て低減化できる可能性が強く示唆された。今後、生体系での実験と被曝の低減化法開拓を目指す。

謝辞 東北大院理の梶本真司助教・箕輪佐知子氏・松島進一氏・福村裕史教授、東女医大松本寿美子氏・高山幹子教授・岩本安彦教授、京大塩田浩平副学長に御礼申し上げます。

It is difficult to observe the fine structure of the cochlear with the resolution obtained by conventional medical CT (Fig. 1a [1]). We, however, have succeeded in visualization of Reissner membrane (10 micro-meter thick) for the first time by developing a novel ultra-high resolution CT (Fig. 1b [1]). For clinical use, it is necessary to reduce the harmful effects of X-ray exposure and to use a brightness pulse X-ray source (PX) instead of a conventional continuous X-ray source (CW). Radiation exposure results in harmful reactions in which biological molecules are harmed by the hydroxyl radical generated from biological water. We measured this harmful effect by fluorescence spectrum analysis on aqueous solutions. Unexpectedly, remarkable qualitative and quantitative differences between the two different sources were observed for the first time (Fig. 2). This advocates the use of PX rather than CW.

The author thanks S. Kajimoto, S. Minowa, S. Matsushima, and H. Fukumura at Tohoku Univ., S. Matsumoto, M. Takayama and Y. Iwamoto at TWUMU, K. Shiota at Kyoto Univ.

[1] T. Shibata *et al.*, American Journal of Otolaryngology 30 (2009) 112-120.

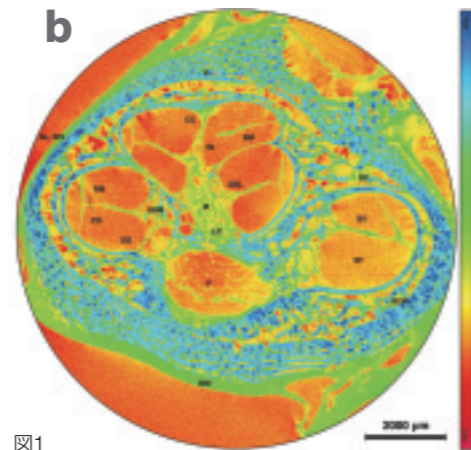
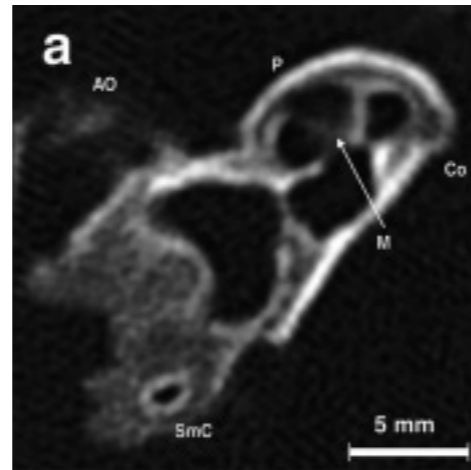


図1

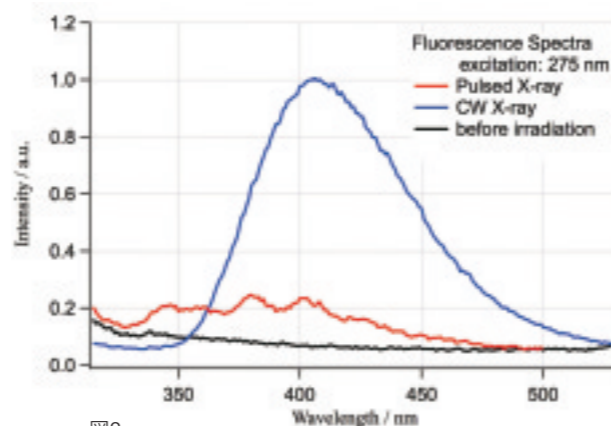


図2

候補遺伝子アプローチによる重症筋無力症の疾患感受性遺伝子検索

Search for single nucleotide polymorphism (SNP) associated with Myasthenia Gravis based on candidate gene approach.

重症筋無力症は神経筋接合部後のシナプスに存在するアセチルコリン受容体に対する自己抗体により筋力低下をきたす代表的な自己免疫性神経疾患である。その病因は不明であるが、遺伝要因を有する個体に環境要因が作用することで発症すると考えられている。一方、近年マウス実験モデルやヒト疾患のゲノム解析から、自己免疫性疾患の発症に共通の自己免疫遺伝子("Autogene")が関与する可能性が示唆されている。本研究では関節リウマチや全身性エリテマトーデス、I型糖尿病などに共通する遺伝子の多型解析を行い(FcRL3、CD244など)、“Autogene”が自己免疫性神経疾患において果たす役割について検討した。

Myasthenia Gravis (MG) is an autoimmune disease characterized by fluctuating muscle weakness and fatigability, in which weakness is mediated by autoantibodies that block acetylcholine receptors at the post-synaptic neuromuscular junction. MG is thought to develop in genetically susceptible individuals due to environmental factors. Recently, it is postulated that common genetic polymorphisms of the "autogene", including FCRL3 and CD244 *et al.*, may be involved in several autoimmune diseases, such as RA, SLE and type I diabetes. In the present study we investigated whether the "autogene" can also be involved in the pathogenesis of MG.

関節リウマチのファーマコゲノミクス

Pharmacogenetic approach to the treatment of rheumatoid arthritis

関節リウマチの治療の主体は抗リウマチ薬である。なかでもメトトレキサート(MTX)やスルファサラジン(SSZ)がよく用いられる。しかし、これらの薬物は有効性・副作用の発現に個体差が大きい。このような薬効の個体差を予測する手段の開発をめざして、我々は薬理遺伝学的検討を行っている。MTXについては、葉酸代謝の中心的な酵素であるmethylenetetrahydrofolate reductaseの遺伝子多型に注目し、C677T多型が副作用発現に、A1298C多型が有効性に関与することを見出した。SSZについてはN-acetyltransferase 2遺伝子のディプロタイプ形が副作用と関連することを明らかにした。現在、これらの結果をもとに臨床実地でのオーダーメイド医療を進めている。

Anti-rheumatic drugs are essential in the treatment of rheumatoid arthritis (RA). However, it is difficult to predict individual responses to anti-rheumatic drugs. We investigated the association between responses to anti-rheumatic drugs and genetic polymorphisms of some enzymes. We found that polymorphisms in the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase gene were associated with responses to methotrexate. We also indicated that the adverse events caused by sulfasalazine could be predicted by diplotype configurations of the N-acetyltransferase 2 gene. These data suggest that the pharmacogenetic approach is useful for the individualized treatment of RA.

20

竹宮孝子 Takako TAKEMIYA
(総合研究所・研究部 Medical Research Institute)

血管内皮細胞によるアストロサイトを介した神経細胞傷害の制御 Endothelial regulation on neuronal injury via astrocytes

マウス海馬内にカイニン酸 (KA) を微量注入すると、けいれん発作が誘発され、その後の海馬血管内皮細胞では、遅発性にシクロオキシゲナーゼ-2 (COX-2) と誘導型PGE₂合成酵素 (mPGES-1) が誘導されPGE₂産生が増えた。また、けいれん発作後には海馬の神経細胞が傷害を受けるが、COX-2ノックアウトマウスやmPGES-1ノックアウトマウスでは、その神経細胞傷害が同等に軽減されていた。これより、血管内皮細胞が神経細胞傷害の制御に関わることがわかった。また、同様のKAけいれん後のアストロサイトではPGE₂レセプターサブタイプのEP3が誘導された。以上の結果から、血管内皮細胞のPGE₂はEP3を介してアストロサイトを活性化し、それが神経細胞傷害の増強につながるというメカニズムが示唆された。

Focal microinjection of kainic acid (KA) induced seizures and stimulated the co-expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) and microsomal prostaglandin E synthase-1 (mPGES-1) in the hippocampal endothelial cells to produce prostaglandin E₂ (PGE₂). In general, hippocampal neurons are injured after seizure, whereas, the neuronal damage was reduced equally in both COX-2 deficient mice and mPGES-1 deficient mice. This suggests that endothelial cells regulate neuronal injury. Moreover, PGE₂ receptor subtype EP3 was induced on astrocytes after KA-induced seizures. Therefore, endothelial PGE₂ may activate astrocytes via EP3, leading to neuronal injury.

21

石田和之 Kazuyuki ISHIDA
(東洋医学研究所 Institute of Oriental Medicine)
竹宮孝子 Takako TAKEMIYA
(総合研究所・研究部 Medical Research Institute)
佐藤 弘 Hiroshi SATO
(東洋医学研究所 Institute of Oriental Medicine)

記憶障害に及ぼす生薬および漢方処方の検討 Effects of herbal medicines and Kampo medicines on a memory disorder

[目的] 生薬『遠志』『石菖蒲』の認知能改善効果を検討。
[方法] 野生型C57BL/6Jマウスに生薬を投与し水迷路で解析。実験1: 煎じ薬を連日投与。投与1週後から行動解析。実験2: 生薬混入餌で生後5週から8週間飼育し行動解析。水迷路は①訓練セッション (ES): 水面下の足場 (ゴール) に泳ぎ着く時間を測定。②プローブセッション (PS): ESの後、ゴールを撤去したプールで泳がせ、ゴール領域 (GA) への滞在時間を測定。
[結果] ES: 実験1・2とも生薬群の学習が早い傾向で、各々3日目、4日目に有意差あり。PS: GAへの滞在時間は生薬群が長い傾向であるが、個体差のため有意差はなかった。
[考察] 遠志と石菖蒲の認知改善作用にはレスポonder・ノンレスポonderが存在するのではないかと推察された。

We investigated the effects of traditional herbal medicines (Acorus and Polygala) on learning and memory in the Morris water maze task. The medicinal herbs were administered to wild-type C57BL/6J mice: experiment 1, a decoction of the medicinal herbs was administered to 12-week-old mice for 1 week; experiment 2, food containing the medicinal herbs was fed to mice for 8 consecutive weeks from 5 weeks of age. In the water maze test, the treated mice were trained to find a platform in a fixed position for 7 days; they then underwent a 60-second probe trial in which the platform was removed from the pool on the day after the last trial with the platform. Both the experiments showed that the herbal medicines had a tendency to improve learning and memory in wild-type mice. However, the results of the probe trials were not statistically significant because of the considerable differences between individual mice. These results showed presence of responder and non-responder to the herbal medicines as to improving effects on learning and memory of the medicines.