

武庫川女子大学
バイオサイエンス研究所年報

第 26 号
(令和3年度)

Annual Report of
Institute for Biosciences

Volume 26
(2021)

Mukogawa Women's University

バイオサイエンス研究所年報 第26号

Annual Report of
Institute for Biosciences Vol. 26 2021

目 次

令和3年度活動概況

所 長 報 告

萩 中 淳 (1)

研究業務報告

• 個体生命解析学部門

籠 田 智 美 (2)

義 澤 克 彦 (4)

• 細胞生命解析学部門

伊勢川 裕 二 (6)

高 明 (8)

蓬 田 健太郎 (10)

• 分子生命解析学部門

中 瀬 朋 夏 (12)

森 山 賢 治 (14)

• 生命化学解析学部門

仁 木 洋 子 (16)

土 生 敏 行 (18)

吉 田 徹 (20)

研究活動の概要

• 公 開 セ ミ ナ ー (22)

• 研 究 成 果 発 表 会 (23)

• 学 会 発 表 (24)

• 誌 上 発 表 (29)

• そ の 他 (33)

バイオサイエンス研究所規程 (34)

所 長 報 告

所 長 萩 中 淳

令和三年度 活動状況

バイオサイエンス研究所は設立後 25 年を迎えました。本年度も新型コロナの第 4～6 波の影響により、事業はコロナ以前のように進めることができませんでした。ひとつめの特別経費事業は、今年度より統一テーマとして、「食物栄養科学・薬学を基盤とするバイオサイエンス研究の新潮流」を掲げ、下記の部門研究員は、研究計画に沿って研究を進めました。専門領域の技術を駆使して分担課題研究を実施し、その研究成果を公開発表会（2022 年 3 月 3 日に、Web で開催）、学術雑誌、専門学会において公表しました。また、公開セミナー事業は、神戸学院大学大学院薬学研究科の水谷健一教授を講師としてお迎えし、「血管新生による組織恒常性の制御機構」と題して、Web でご講演をいただきました。さらに、もう一つの特別経費事業として、「2016 年度私立大学等改革総合支援事業（教育・研究装置）」で採択された『去勢抵抗性前立腺がん (CRPC) の薬物治療、並びにメタボローム解析による CRPC バイオマーカーの探索および予後予測マーカーの探索』事業を、本年度も実施しました。事業の研究機器として設置した、超高分解能質量分析装置（ブルカー・ダルトニクス社、島津株式会社製）は、「共同利用機器管理運営委員会」を設置し、「機器共同利用規程」に従って研究員をはじめ大学内外の研究者により利用されています。バイオサイエンス研究所の研究活動が、本学の研究力の向上、共同研究の推進に寄与できることを期待しています。

本年度の研究所組織を下記に記載します。

所 長 萩中 淳特任教授

研 究 員

個体生命解析学部門 籠田智美教授（薬学部、兼務）、義澤克彦教授（食物栄養科学部、兼務）

細胞生命解析学部門 伊勢川裕二教授（食物栄養科学部、兼務）、高 明教授（薬学部、兼務）、
蓬田健太郎教授（食物栄養科学部、兼務）

分子生命解析学部門 中瀬朋夏教授（薬学部、兼務）、森山賢治教授（薬学部、兼務）、

生命化学解析学部門 吉田 徹教授（食物栄養科学部、兼務）、仁木洋子准教授（薬学部、兼務）、
土生敏行准教授（食物栄養科学部、兼務）

研 究 所 教 員 本田千恵助教、穂久 舞教務助手

運営委員

委 員 長 萩中 淳特任教授

委 員 伊勢川裕二教授、中村一基教授、森山賢治教授、義澤克彦教授

個体生命解析学部門

メタボリックシンドロームにおける血管周囲脂肪組織による 動脈抵抗性調節機能の制御機構

研究員 籠 田 智 美

1. 研究概要

【研究の背景と目的】

我が国の男性2人に1人、女性5人に1人とされるメタボリックシンドローム（MetS）は、内臓脂肪型肥満を基盤とし、糖や脂質代謝の異常や血圧高値が併発する病態であり、非MetSに比べ心血管死のリスクが2～3倍高い^{1,2)}。その原因として、血管機能に及ぼすMetSの諸症状の影響とともに、内臓脂肪の影響が注目されている。実際、体脂肪量の増加は、心血管疾患による死亡リスクを1.67倍高める²⁾。

第3の脂肪“異所性脂肪”である血管周囲脂肪組織（perivascular adipose tissue; PVAT）は、血管のホメオスタシスに寄与しており、その1つにPVATによる血管抵抗性調節がある。1991年、正常動物の胸部大動脈PVATは動脈の収縮を抑制的に制御している³⁾と初めて報告され、その後、New Zealand obeseマウスやspontaneously hypertensive ratの胸部大動脈PVATの収縮抑制効果は加齢に伴い減弱する⁴⁾、ヒトの心臓周囲脂肪組織は冠動脈攣縮やプラーク形成に関与する⁵⁾、食事性肥満モデル動物の冠動脈PVATは収縮抑制効果が減弱している⁶⁾などの報告がされてきた。

我々は、MetSモデルSHRSP.Z-*Lepr^{fa}*/IzmDmcr（SHRSP.ZF）ラットの雄性を用いて、MetS病態の程度や進行度により腸間膜動脈PVATの効果が変動することを見出した⁷⁾。すなわち、動脈拡張性が減弱し始めた時期にはPVATが動脈拡張反応を増大することで代償的に動脈拡張能を補完しているが、臓器機能障害が生じるMetS後期にはPVATの代償効果が消失する。また、雄性ラットを用いた研究で、PVATの効果発現に血管拡張作用を持つadipokineであるアペリン⁸⁾が関与すること、MetSの血管機能障害のkeyとなるレニン-アンジオテンシン（RAS）系がPVAT効果の制御においても関与することを見出している⁹⁾。一方、昨年度の雌雄差に関する検討で、20週齢の雌ラットでは雄ラットと同様に、腸間膜動脈PVATの動脈弛緩増強効果が観察された。そこで本年度は、雌性ラットにおけるPVATの効果が加齢とともに消失するのか、またPVAT効果の発現・消失におけるアペリン及びRAS系の関与について検討した。

【方法】

麻酔下に23週齢（各8匹）及び30週齢（各6匹）の雄性及び雌性SHRSP.ZFラットから腸間膜動脈を摘出し、リング状のPVAT剥離標本及び剥離しない標本作製した。標本にフェニレフリンを添加し収縮させた後、アセチルコリンを累積的に添加し、生じる反応をOrgan Bath法により測定した。PVAT中のangiotensin II type 1 receptor（AT1R）、AT1R-associated protein（ATRAP）及びアペリンのmRNA量をreal-time PCR法により測定した。また、血中アペリン量を既存のELISAキットを用いて測定した。なお実験は、武庫川女子大学動物実験委員会の承認を得た後（承認番号P-12-2021-01-A）、動

物愛護法を遵守し、「武庫川女子大学動物実験規定」に基づいて実施した。

【結果】

23週齢においては、雄性ラットではPVATの効果が消失するのに対し、雌性SHRSP.ZFラットの腸間膜動脈におけるアセチルコリンによる弛緩反応はPVAT存在下では非存在下に比べ有意に増大する、すなわちPVATによる動脈弛緩増強効果が観察された。PVAT中のAT1R mRNA量に雌雄差はなかった。しかしATRAP mRNA量は雄性に比べ雌性で有意に高く、PVATによる血管弛緩増強効果と正に相関した。また、雌性ラットにおけるPVAT中のアペリンmRNA量は雄性に比べ有意に高値を示し、PVATによる血管弛緩増強効果と正に相関した。アペリン血中濃度も雌性で有意に高かった。

一方、30週齢においては、雌性SHRSP.ZFラットのアセチルコリンによる弛緩反応は、雄性ラットと同様に、PVATの有無による差はない、すなわち、PVATの効果が消失した。雌ラットにおいて、23と30週齢を比較した場合、PVAT中のATRAP mRNA量に差はなかったが、AT1R mRNA量は23週齢に比べ30週齢で有意に高かった。またアペリンは、PVAT中mRNA量、血中濃度いずれも23週齢に比べ30週齢で有意に低かった。

【考察と展望】

MetSであるSHRSP.ZFラットの腸間膜動脈におけるPVATによる動脈弛緩増強効果は、雌の方が雄に比べ長期的に維持されるが、加齢に伴い消失することが明らかとなった。また、雌におけるPVATによる効果は脂肪細胞が分泌するアペリン量に依存すること、PVAT機能の消失にはAT1Rの活性を抑制的に制御するATRAP¹⁰⁾の発現が低下することにより生じるAT1Rシグナルの亢進が関与すると考えられた。これらのことは、発症時期は異なるものの、雄と同様の変化であった。今後は、アペリンとAT1Rシグナルの関係性、動脈部位やMetS動物モデルによりPVAT効果に差があるか等を明らかにしていきたい。

【参考文献】

- 1) Takeuchi H., *et al.*, Hypertens Res., **28**, 203 (2005).
- 2) Wilson PWF., *et al.*, Circulation, **112**, 3066 (2005).
- 3) Solitis EE., *et al.*, Clin Exp Hypertens., **13**, 277 (1991).
- 4) Kong LR., *et al.*, Front Physiol., **9**, 400 (2018).
- 5) Lian X., *et al.*, Curr Hypertens Rep., **18**, 82 (2016).
- 6) Owen MK., *et al.*, Circulation, **128**, 9 (2013).
- 7) Kagota S., *et al.*, Metab Syndr Relat Disord., **15**, 233 (2017).
- 8) Mughal A., *et al.*, Pharmacol Ther., **190**, 139 (2018).
- 9) Kagota S., *et al.*, Int J Mol Sci., **20**, 106 (2019).
- 10) Tamura K., *et al.*, Hypertens Res., **45**, 32 (2022).

個体生命解析学部門

N-メチル-*N*-ニトロソ尿素（MNU）誘発白内障モデルにおける プロファイン[®]の病態抑制効果

研究員 義 澤 克 彦
共同研究者 竹之内 明 子

1. 研究概要

【目的】

白内障は水晶体が白濁した状態で、その信仰には水晶体の酸化ストレスが関与する。MNU（*N*-Methyl-*N*-nitrosourea）誘発ラット白内障モデルは治療効果のスクリーニング系として利用させている。このモデルにおける酸化ストレスの関与を明らかにし、抗酸化作用を持つ酒粕由来プロファイン[®]（PF）の病態抑制効果について検証した。

【方法】

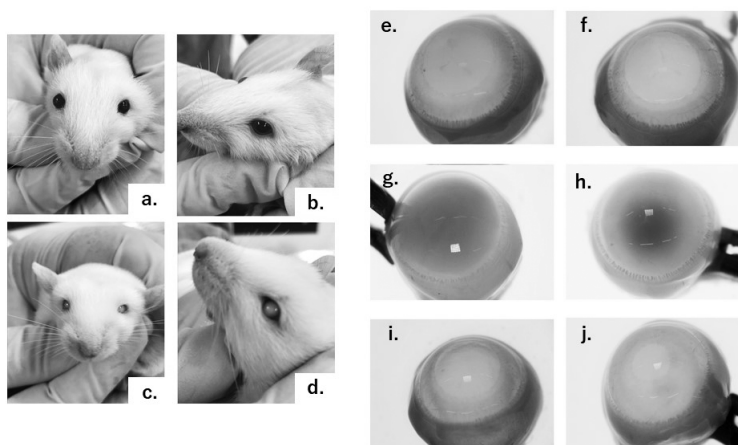
実験① 3週齢時雌SDラットにMNU75mg/kgを単回腹腔内投与し、経時的に7日まで白内障の程度を組織学的に観察した。水晶体における細胞死並びに酸化ストレスマーカーの発現を観察した。さらにdROM（reactive oxygen metabolites）テストを用いて血清酸化ストレス度を群間比較した。

実験② 2週齢時雌SDラットにMNU50mg/kgを単回腹腔内投与し、3週齢時から2%、4%、8%PF食を摂食させた。基礎食（CMF食）群、8%PF食群、CMF食+MNU投与群、2%PF食+MNU投与群、4%PF食+MNU投与群、8%PF食+MNU投与群を設定した。4週後に白内障の程度を組織学的に観察した。さらにBAP（biological anti-oxidant potential）テストを用いて血清抗酸化活性を群間比較した。

【結果】

実験① MNU投与群48時間目から水晶体上皮細胞の単細胞壊死7日目に水晶体上皮細胞の消失と水晶体線維の膨化を認めた。酸化ストレスマーカーではMNU投与後48時間から水晶体上皮細胞の核の一部で8-OHdGあるいはTG陽性シグナルがみられた。dROM値は7日目に高値を示した。

実験② 実体顕微鏡での観察で、白内障の発生率がPF濃度依存的に減少した（MNU単独群83%、2%PF併用群40%、4%併用群17%、8%併用群0%）。組織学的変化に基づいた白内障指数でも同様の傾向がみられた。BAP値はMNU単独群に比べて8%PF併用群で高値を示した。



眼球の肉眼写真ならびに実体顕微鏡での観察

a-b. 対照群, c-d. MNU単独群

e. 対照群, f. 8%PF単独群, g. MNU単独群, h. 2%併用群, i. 4%併用群 j. 8%併用群

【考察】

MNU誘発白内障の進行に水晶体での酸化ストレスの発現が関与した。また、PFによる病態抑制効果が認められた。抑制効果はPFの優れた抗酸化作用が関連すると考えられた。

細胞生命解析学部門

大豆成分による抗インフルエンザウイルス効果

研究員 伊勢川 裕 二

1. 研究概要

【目的】

インフルエンザは毎年世界的な流行を引き起こし、高い罹患率や死亡の原因となり、ここ2年はSARS-CoV-2によって変わられているが、公衆衛生において重要な問題となっている。この疾患の原因となるのがインフルエンザウイルスであり、ヒトで流行の原因となるのはA型およびB型である。A型に関しては多様な亜型に分類され、このことから頻繁に変異し、特に大流行の原因となっている。インフルエンザへの対策としては、予防にはワクチン、治療には抗ウイルス薬が用いられているが、低い予防効果や、薬剤耐性株の出現や株間における組換え体の出現が問題となっている。

本研究室では、これまでに大豆におけるインフルエンザウイルスに対する抗ウイルス作用が確認し、その有効成分を検索することを目的とした。

【方法】

1. 細胞及びウイルス

MDCK細胞は7%FBSを含むMEM培地にて培養。インフルエンザウイルスはA/PR/8/34株を用い、通常はMDCK細胞に0.001MOIで添加し、CO₂インキュベーターを用いて、37°C 5%CO₂条件下で1時間吸着させて後、0.4%BSA、2μg/mL acetyltrypsin含有DMEM培地で24時間培養した。

2. サンプルからの熱水抽出及び活性試験

大豆からの熱水抽出および活性試験は永井らの方法に従った¹⁾。

3. ウイルス力価の測定

ウイルス力価測定は森本らの方法に従った²⁾。

4. 抗ウイルス活性を示す物質の精製と同定

抗ウイルス活性を示す物質の大豆熱水抽出物からの精製と同定は永井らの方法に従った³⁾。

5. ウイルス増殖阻害段階の検討 (time-of-addition)

Time-of-addition 分析は永井らの方法に従った¹⁾。

6. ウイルスのエントリーと複製の阻害活性

ウイルスの細胞への結合活性阻害とウイルスの細胞融合活性阻害は永井ら方法¹⁾と森本らの方法²⁾に従った。ウイルスのエンドサイトーシス阻害は花田らの方法に従った⁴⁾。ウイルスRNA合成阻害、タンパク質合成阻害や過酸化脂質の定性・定量は堀尾らの方法に従った^{5,6)}。

【結果・考察】

大豆熱水抽出物の増殖阻害段階の検討したところ、インフルエンザウイルスのエントリー段階を強く阻害することを確認した。ウイルスのエントリー段階には、宿主細胞への吸着 (I)、エンドサイトーシスによる細胞内への取り込み (II)、エンドソームの輸送 (III)、ウイルス膜と細胞膜の膜融合 (IV)、

ウイルス粒子の脱殻 (V)、ウイルスゲノムの核への輸送 (VI) といった6つの過程が行われている。各過程に対する大豆熱水抽出物の影響を検討した結果、ウイルスの宿主細胞への吸着、膜融合の過程に対し、大豆熱水抽出物は阻害効果を示さなかった。そこで次に、インフルエンザウイルスのNPを染色し細胞内へのウイルスの取り込みに対する影響を観察したところ、大豆熱水抽出物はウイルスの細胞内への取り込み、エンドサイトーシスを阻害していることを確認した。さらに、詳細な阻害機構を検討した結果、大豆熱水抽出物はクラスリン依存性エンドサイトーシスの経路を阻害し、カベオラ依存性エンドサイトーシスの経路は阻害しなかった。以上から、大豆熱水抽出物はクラスリン依存性エンドサイトーシスに影響を及ぼし阻害することで、ウイルスの細胞内への取り込みを阻害していることが明らかとなった。

次に、大豆熱水抽出物の成分分析を行い、エントリー段階を阻害する有効成分の探索を行った。その結果、候補としてアカセチンと大豆サポニンIV見つかり、大豆サポニンIVはアグリコンである大豆サポゲノールBを用いて活性確認を行った。アカセチンも大豆サポゲノールBもウイルスエントリーを阻害したが、ウイルスの細胞膜吸着阻害を大豆サポゲノールBは示した。それに対し、アカセチンは大豆熱水抽出物と同様のエンドサイトーシスの阻害を示し、クラスリン依存性エンドサイトーシスの経路を阻害したが、カベオラ依存性エンドサイトーシスの経路は阻害しなかった。この阻害はクラスリンのゴル擬態近傍への蓄積により細胞膜へのリサイクリングが抑制されたためであった。

アカセチンによりウイルスのRNA発現量の減少が確認できたことから、アカセチンはウイルスRNA発現を阻害し、タンパク質合成も抑制することで培養前期における抗ウイルス作用を示すことも明らかとなった。また、オセルタミビル感受性のPR8と比較してオセルタミビル耐性を持つ2種のOsaka株へのアカセチンの抗ウイルス活性は低かったことから、アカセチンの培養後期への抗ウイルス作用は、ノイラミニダーゼ阻害によるものである可能性が示唆された。

【参考文献】

- 1) E. Nagai, M. Iwai, R. Koketsu, R. Sogabe, R. Morimoto, Y. Suzuki, Y. Ohta, Y. Okuno, A. Ohshima, T. Enomoto, Y. Isegawa. (2018) *J Sci Food Agric* **98**:1899-1905. doi: 10.1002/jsfa.8671
- 2) R. Morimoto, K. Yoshioka, M. Nakayama, E. Nagai, Y. Okuno, A. Nakashima, T. Ogawa, K. Suzuki, T. Enomoto, Y. Isegawa. (2021) *Food Sci Nutr* **9**:544-552. doi: 10.1002/fsn3.2023
- 3) E. Nagai, M. Iwai, R. Koketsu, Y. Okuno, Y. Suzuki, R. Morimoto, H. Sumitani, A. Ohshima, T. Enomoto, Y. Isegawa. (2019) *Plant Foods Hum Nutr* **74**:538-543. doi.org/10.1007/s11130-019-00773-3
- 4) A. Hanada, R. Morimoto, Y. Horio, M. Shichiri, A. Nakashima, T. Ogawa, K. Suzuki, H. Sumitani, T. Ogata, Y. Isegawa. (2022) *Food Sci Nutr* in press. doi: 10.1002/fsn3.2725
- 5) Y. Horio, M. Shichiri, Y. Isegawa. (2021) *Viol J* **18**:177. doi: 10.1186/s12985-021-01644-7
- 6) Y. Horio, R. Sogabe, M. Shichiri, N. Ishida, R. Morimoto, A. Ohshima, Y. Isegawa. (2020) *J Clin Biochem Nutr* **66**: 36-42. doi: 10.3164/jcbn.19-70

細胞生命解析学部門

新規天然植物及びその含有成分の生活習慣病に対する予防、治療効果と作用メカニズムの解明

研究員 高 明
共同研究者 林 美 沙

1. 研究概要

【目的】

生活習慣病は脳梗塞などの重篤な疾患のリスクファクターとなる。その中でも、肥満の改善・予防が望まれている。肥満の改善には、運動療法、食事制限、薬物治療が用いられるが、いずれにおいても継続が困難な場合が多く、効果が期待できない。そのため、天然物由来成分を用いた安全で簡便な治療法の開発が期待される。

近年、褐色脂肪は抗肥満のターゲットとして注目されている。褐色脂肪ではUncoupling protein 1 (UCP1) を主とした熱産生因子が発現している。その発現上昇による体重増加抑制効果が認められており、褐色脂肪の活性化及び白色脂肪のベージュ細胞化に関する研究が活発に行われている。

本研究に使用したプラズマローゲン（以下、PIs）は、鶏肉やホヤに含まれるリン脂質の1種である。認知症改善効果を示すなど報告があるが、脂質代謝に関する報告はない。そこで、本研究では、PIsによる褐色脂肪の活性化及び体重増加抑制作用機序について検討を行った。

【方法】

① マウス繊維芽細胞由来3T3-L1におけるUCP1及び関連因子発現に対する作用

定法に基づき、白色または褐色細胞に分化させた3T3-L1に100ng/mL PIsを添加し、24時間培養した。また別に、褐色脂肪に分化させた3T3-L1細胞にSirt1阻害剤（10 μ M EX527）またはPGC-1阻害剤（10 μ M SR-18292）を1時間前処置した後にPIsを添加し、24時間培養した。培養後、それぞれの細胞からtotal RNA及びタンパク質を回収し、リアルタイムPCR法またはウエスタンブロット法を用いて、UCP1及び関連因子の遺伝子及びタンパク質の発現変動を検討した。

② KK-AyマウスにおけるPIsの褐色脂肪の活性化作用とそのメカニズム

1週間馴化を行ったKK-Ayマウスを2群に分け、PIs群には13.6mg/kg body weight/dayのPIs懸濁液を、コントロール群にはPIs群と同量の水道水を8週間経口投与した。投与期間中は、週に1度、摂餌量・飲水量を測定し、4週に1度、採血を行い血中パラメーターの計測を行った。投与期間終了後にイソフルラン麻酔下で心臓より採血を行った後に、組織・臓器の摘出を行った。摘出した褐色脂肪よりtotal RNA及びタンパク質を抽出し、リアルタイムPCRまたはウエスタンブロット法を用いて各種関連因子の発現変動について検討を行った。尚、実験は「武庫川女子大学動物実験規定」に基づいて実施した。

【結果】

① Plsの分化後3T3-L1細胞に対する作用

白色脂肪に分化誘導した3T3-L1細胞では、PlsによるUCP1発現量に変化は認められなかった。一方、褐色脂肪に分化誘導した3T3-L1細胞では、コントロール群と比較してPls群のUCP1遺伝子及びタンパク質の発現量は有意に高値を示し、熱産生因子であるCideaや β 酸化に関与するCPT-1 α 、 β の遺伝子発現量はPls刺激によって有意に増加した。また、UCP1発現に関与する因子であるPGC-1 α 遺伝子とSirt1タンパク質発現はPls刺激により有意に増加した。さらに、PlsのUCP1発現増加作用がSirt1およびPGC-1阻害剤で有意に抑制された。

② PlsのKK-Ayマウスに対する作用

摂餌量および飲水量は、2群間に差は認められなかったが、体重の経時的変化では、Pls群はコントロール群と比較して7週目より有意に増加が抑制された。また、8週目の褐色脂肪でのUCP1遺伝子及びタンパク質発現量はPls群において有意に高値を示した。さらに、上記①と同様に熱産生因子及び β 酸化関与因子の有意な増加が認められた。加えて、Pls投与群ではUCP1発現に関与する各種因子(PGC-1 α 、PRDM16、FGF-21、Abrd3、P-AMPK、P-LKB1)がいずれも有意な高値を示した。

【考察】

本研究により、Plsは褐色脂肪を活性化、すなわち褐色脂肪でのUCP1発現量を増加することが示唆された。その結果、肥満・糖尿病モデル動物において、体重増加を抑制したと考えられる。しかし、Plsには白色脂肪をベージュ細胞化する働きはないことが示唆された。褐色細胞活性化のメカニズムとしては、Abrd3/LKB1/AMPK/PRDM16/PGC-1 α /UCP1経路を介したものと示唆されるが、3T3-L1細胞とマウスにおけるUCP1発現経路が異なるため、詳細な検討が必要である。

以上のことから、Plsが新たな肥満治療の1つとして機能し得る可能性を示した。

細胞生命解析学部門

微弱振動磁界付加急速凍結法による凍結組織標本のタンパク質の構造と機能の維持効果

研究員 蓬 田 健太郎

1. 研究概要

【背景】

凍結保存法は、食品の長期保存法として広く利用されているだけでなく、生命科学分野における細胞や組織の保存法としても広く利用されている。しかし、凍結時の氷晶形成に伴う細胞・組織内の微細構造の破壊や構成分子の立体構造変化等による品質劣化や変性が解決すべき問題となってきた。当研究室では、以前より微弱振動磁界が凍結に及ぼす影響についての解明を目指しており、昨年度までに、新鮮魚介類の凍結保存後の解凍標本において、微弱振動磁界の付加が氷晶形成による組織損傷を抑制することを報告した（昨年度誌上発表済み）。しかし、そのメカニズムについてはいまだ不明のままである。

【目的】

本年度は、微弱振動磁界が氷晶形成に与える作用を直接解明することを目的に、迅速病理診断等で用いられる凍結切片法に着目し、凍結時の氷晶形成の抑制効果と構成タンパク質の構造について評価することとした。

【方法】

材料として成体8週齢前後のマウスの下腿筋を用いることとした。屠殺後、直ちに筋組織を採取し、0℃のPBS中で冷却し、凍結切片作成用の包埋剤に入れ、-50℃に設定した凍結装置にて凍結標本を作製した。この際、微弱振動磁界の付加した群と付加しなかった群に分け、それぞれクライオスタットで薄切標本とし、乾燥後ヘマトキシリンエオジン染色、免疫染色、酵素染色に供した。

【結果】

1. 微弱振動磁界の氷晶形成抑制効果

- ① 通常、凍結切片法では組織内の氷晶形成を避けるために、標本サイズをできるだけ小さくし、-80℃以下の急速凍結によるガラス化凍結を行うが、本研究では、凍結温度を-50℃とすることで組織内に氷晶形成がおこることを確認した。
- ② 同条件で、微弱振動磁界を付加して凍結した標本では、筋線維内の氷晶サイズが小さくなり、単位面積当たりの氷晶数が増加したことから、氷晶自体は形成されるが、その成長が抑制されていることが明らかとなった。

2. 微弱振動直による凍結時間短縮効果

前年度、新鮮魚介の組織塊（半身）の凍結時間が微弱振動磁界により短縮する傾向が確認されてい

る。今回の凍結条件において、氷晶成長抑制効果がみられたことから、氷晶形成に必要とされる潜熱の発生量が低下することが予想され、その分凍結時間も短縮することが期待される。そこで、同じ条件での包埋剤の凍結速度を比較したいところ、予想通り微弱振動磁界付加により凍結時間の短縮傾向が確認された。

3. 微弱振動磁界によるタンパク質構造維持効果

そこで、それぞれの凍結標本について、免疫染色と酵素染色を行い、構成タンパク質の構造ならびに機能の比較を行った。筋膜タンパク質複合体の構成要素であるジストロフィン¹⁾は、筋ジストロフィー症の原因遺伝子であり、凍結切片法での診断が重要となるが、標本作成時に氷晶形成を抑制することが重要とされている。今回、-50℃凍結でのジストロフィンの免疫染色では、予想通りジストロフィンの局在が不鮮明となり、構造が壊れていることが示唆された。一方、微弱振動磁界下凍結では、筋線維膜構造とジストロフィンの局在が良く保たれていることが確認された。次に、ATP分解酵素の活性をかくにんするためにNADH染色を行ったところ、同様に微弱振動磁界付加により酵素活性が良く保たれることが確認された。

【考察並びに今後の展望】

本研究により、微弱振動磁界が凍結時に氷晶の成長を抑制することを直接確認することができた。さらに、タンパク質の構造や機能が保たれていたことから、タンパク質の構造を保つために必要となる結合水が氷晶形成に使われていないことが示唆された。このことは、微弱振動磁界は、凍結時の結合水の安定化に寄与することを意味する。これらの成果については、現在投稿中である。

次の段階として、マウス組織の凍結保存における組織中の細胞生存率についての検討を開始している。また、長期保存における同一組織の揭示変化についても追跡している。次年度も微弱振動磁界による氷晶形成による組織損傷抑制効果のさらなる解明とその応用について、継続して取り組んでいきたい。

分子生命解析学部門

トランスポーターから迫る乳がん悪性化機構の解明と 新治療戦略の創出

研究員 中 瀬 朋 夏

1. 研究概要

【目的】

現在、世界中の女性において、最も罹患数が多い悪性疾患は乳がんであり、日本でも、毎年9万人以上が乳がんにより罹患し、1万人以上が死亡している¹⁾。乳がんの約80%はエストロゲン受容体の発現が陽性であるため、その治療には抗エストロゲン薬をはじめとする内分泌療法が選択される。しかし、内分泌療法中に、薬効の減弱・薬剤抵抗性を頻繁に生じ、内分泌療法が奏功しない予後が極めて悪い症例が20%もあることから、根治できる確実な初期治療の開発が強く求められている²⁻⁴⁾。

これまで、エストロゲン受容体陽性乳がんの内分泌療法に対する効果発現には、アポトーシス抑制機能を有する細胞死制御分子Bcl-2が鍵を握ることが報告され、Bcl-2の機能阻害は新たな乳がん治療戦略の1つとして注目されている⁵⁾。これまでに開発されたBcl-2阻害剤の中でもYC137は、Bcl-2特異性とがん選択性が他のBcl-2阻害剤と比較して高いことが示されてきた⁶⁾。しかし、YC137のエストロゲン受容体陽性乳がん細胞に対する反応性や制御機構の詳細は不明で、治療応用には、さらなる基礎的なデータの分析が喫緊の課題である。

近年、亜鉛トランスポーターによって輸送される亜鉛イオン (Zn^{2+}) は、標的分子を選択的に調節できることが示され、当研究室においても、この亜鉛シグナルが、乳がんの悪性化に関わる低酸素適応性や乳がん幹細胞の維持を制御することを明らかにしてきた⁷⁾。これは、 Zn^{2+} が、これまで隠れていた乳がん悪性化プロセスと密接に関連していることを示しており、さらなる亜鉛トランスポーターに支配される Zn^{2+} の役割解明は、乳がんの新たな分子標的治療法開発の有望なアプローチとして期待できる。

本研究では、 Zn^{2+} を利用した新規乳がん治療戦略を開発するため、エストロゲン受容体陽性乳がんに対するYC137や抗エストロゲン薬Tamoxifenの効果発現における Zn^{2+} と亜鉛トランスポーターの役割について検討した。

【方法】

エストロゲン受容体陽性ヒト乳がん細胞MCF-7の細胞内外の亜鉛濃度を変化させて、YC137またはTamoxifenを処置し、細胞毒性と細胞死のタイプを評価した。亜鉛トランスポーターの機能解明にはノックダウン法を用いた。

【結果】

YC137のMCF-7に対する細胞毒性は、併用処置した Zn^{2+} 濃度に依存して著しく促進することを明らかにし、MCF-7におけるYC137の抗がん活性を、 Zn^{2+} を利用して制御することに成功した。この Zn^{2+}

とYC137の併用効果は、 Zn^{2+} 特異的キレート剤の処置により消失し、MCF-7で細胞外から中への Zn^{2+} 輸送に重要な役割を果たしている亜鉛トランスポーターZIP6のノックダウン細胞においても、減弱した。よって、 Zn^{2+} とYC137の併用効果には、細胞内への Zn^{2+} の供給が必要で、その供給には、ZIP6を必要とすることを明らかにした。 Zn^{2+} 併用によるYC137の抗がん効果増大の機序としては、 Zn^{2+} によるオートファジーの誘導と、アポトーシス型から非アポトーシス型への細胞死の変調が必要であった。さらに、 Zn^{2+} とYC137の併用処置は、正常細胞に障害を与えることなく、MCF-7選択的に細胞毒性作用を増強できることを明らかにした。Tamoxifenの抗がん活性も、 Zn^{2+} 併用により操ることが可能であった。以上より、ZIP6による Zn^{2+} 輸送活性が抗がん効果を制御できることを初めて示し、 Zn^{2+} は、ER陽性乳がん治療戦略の強力なツールとして期待できる。

【考察】

本研究では、 Zn^{2+} とYC137あるいはTamoxifenの併用により、抗がん活性を簡便・安全・効果的に制御でき、その機序には、過剰なオートファジーの誘導を必要とした。これまで、細胞外への Zn^{2+} の添加や細胞内 Zn^{2+} の増加は、オートファジーを誘導することが報告されており、本研究においても一致する見解が得られた⁷⁾。さらに、 Zn^{2+} とYC137あるいはTamoxifenとを併用することで、オートファジーが細胞死の起因となるほどのレベルで誘導され、抗がん活性を効率よく増大させる要因であった。オートファジー誘導にはまた、ZIP6を介した Zn^{2+} の輸送活性を必要とした。これまで、我々は、乳がん細胞におけるZIP6発現の抑制は、乳がんの悪性化を促進することを示してきた⁷⁾。そのため、 Zn^{2+} とYC137あるいはTamoxifenの併用による治療応用は、ZIP6の発現が高い初期の乳がんを対象として、薬剤耐性を生じない確実な初期治療に対して有効な手段になり得ると考える。さらには、Bcl-2が規定する薬剤耐性をも克服する手段に応用できる可能性がある。早期実用化を目指して、 Zn^{2+} 標的分子の同定や、*in vivo*実験においても、抗がん剤の効果と副作用の発現を Zn^{2+} による制御が可能性が否か、検証が待たれる。

【参考文献】

- 1) がん研究振興財団, *がんの統計* 2021 (2021)
- 2) Davies C. et al., *Lancet*, **378**, 771–784 (2011)
- 3) Musgrove EA. et al., *Nat Rev Cancer*, **9**, 631–643 (2009)
- 4) Davies C. et al., *Lancet*, **381**, 805–816 (2013)
- 5) Souers AJ. et al., *Nature Medicine*, **19**, 202–208 (2013)
- 6) Real PJ. et al., *Cancer Res.*, **64**, 7947–7953 (2004)
- 7) Takatani-Nakase T. et al., *Metallomics Res.*, in press (2022)

分子生命解析学部門

炎症性疾患におけるエネルギー代謝の分子生物学的検討 ～消耗性疾患におけるエネルギー代謝～

研究員 森 山 賢 治
共同研究者 光 谷 真 奈

1. 研究概要

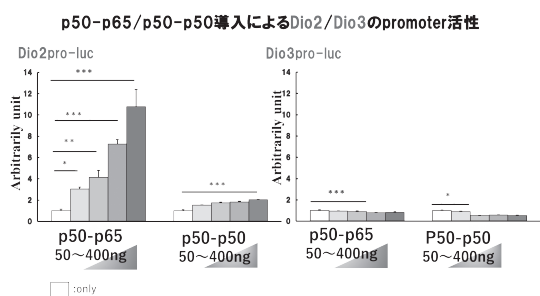
【目的】

がんによる体重減少などの症状は「悪液質、cachexia」と呼ばれている。その病態は、脂肪組織や骨格筋を中心とした組織が代謝の亢進を来して消耗していると理解されている¹⁾。この病態を呈した患者の体重は、10～20%減少することもある。疫学的には多くの病態で発生しうが、特に肺がんや胃がんでは、著明な悪液質を引き起こす可能性が高い。また男性は女性と比べて重度となる傾向がある。悪液質を発症させる主な病因としては、腫瘍細胞および組織腫瘍中の宿主細胞によって産生されるサイトカイン類、特に腫瘍壊死因子(TNF α)、IL-1 β 、IL-6などが発症と重症化に関与していることは確実とされる。このような病態下では、低栄養時には抑制されるはずのエネルギー代謝が抑制されない。それどころか逆にエネルギー代謝の亢進が慢性的に持続していることが消耗につながる主因とされている。

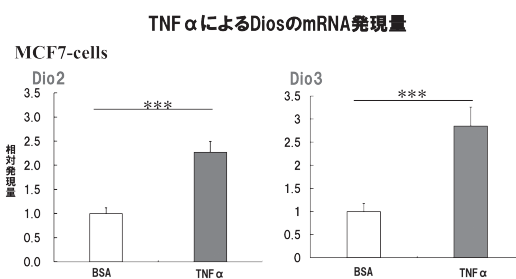
甲状腺ホルモン作用には代謝を高める働きがあることから、がんと甲状腺ホルモンには何らかの関わりがあるのではないかと考えた。血中の甲状腺ホルモンは活性の乏しいThyroxine (T4) が大部分を占める。このT4が活性を発揮するためには、細胞内で代謝されてTriiodothyronine (T3) に変換される必要がある²⁾。この代謝経路には2つの酵素が関与している。1つは、T4を代謝して活性化する酵素Deiodinase2 (2型脱ヨード酵素、Dio2)、もう1つは生理活性のないホルモン(reverse T3, rT3)へと代謝する酵素Deiodinase3 (3型脱ヨード酵素、Dio3)である。今回、この2つの酵素の発現に注目し、これらのプロモーター領域を用いて、TNF α の受容体結合以降の下流化にある転写因子NF- κ B (Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) との相互作用について影響を検討した。

【方法】

結合実験とプロモーター領域の解析のため、ヒトDio2、Dio3のプロモーター領域をそれぞれluciferase発現ベクターに組み込んだレポーターコンストラクトを構築した。序で、In vitro実験として、NF- κ Bの構成タンパク質p50、ならびにp65の発現プラスミドは購入した。p50のホモ二量体、p50-p65のヘテロ二量体のDiosのプロモーターに対する転写活性を検討するため、ヒト胎児腎細胞(HEK293由来TSA201細胞)に上



記2種のレポータープラスミド何れかに加え、内在性コントロールプラスミドと共に遺伝子導入し、ルシフェラーゼアッセイを行った。p50、p65の発現プラスミドの導入量は既報に従った。TNF α の影響を見るために、MCF-7細胞にTNF α 添加後、mRNAを抽出し逆転写でcDNAを合成後、RT-PCR法でmRNAの発現量を評価した。統計は、一元配置分散分析を用いて解析し、Bonferroniによる多重比較を行った。



【結果】

p50のホモ二量体を添加した場合、Dio2は転写活性を上昇させたが、Dio3では僅かではあるものの抑制した。p50-p65のヘテロ二量体を形成する設定では、Dio2では転写活性を上昇させた。Dio3では僅かに抑制した（上図）。次いで結合について検討するためにプロモーター上のコンセンサス配列を検討した。Dio2上では、TSSから-114bpにはヘテロ二量体の結合する可能性のある結合siteの存在が示唆された。Dio3では、-272～-72bpにおいて結合siteの存在の可能性が示唆された。MCF-7細胞を用いてTNF α を添加したところ、Dio2, Dio3いずれも有意差をもってmRNAの発現は上昇した（上図）。

【考察】

これまでに得られた結果より、炎症性サイトカインであるTNF α はNF- κ Bを介してDio2及びDio3の転写活性に関与していることが示唆された。レポーターアッセイの結果とMCF-7細胞での結果は一致していない。これは、MCF-7細胞がtriple positiveでtreatableなadenocarcinomaに由来する細胞であることに関係していると推察している。Dio2、3プロモーター上にはNF- κ Bをはじめ複数の転写因子が結合するコンセンサス配列が存在することが示唆されている。これとは別に、症状の改善のためには、コルチコステロイドや女性ホルモンが使用可能であることから、両者はグルコルチコイド受容体やプロゲステロン受容体を介してDio2、3に何らかの影響を及ぼしている可能性を推察している。今後、甲状腺ホルモン代謝のメカニズムを通じて悪液質の病態に関わる分子基盤を解明したいと考えている。

【参考文献】

- 1) MSDマニュアルプロフェッショナル版、2022 Merck Sharp & Dohme Corp., a subsidiary of Merck & Co., Inc., Kenilworth, NJ, USA
- 2) 甲状腺疾患診断マニュアル各論編 p14（改訂第3版 2020年07月31日発行）

生命化学解析学部門

酸化ダメージによる毛髪タンパク質のカルボニル化と化粧品素材による抑制効果

研究員 仁 木 洋 子
共同研究者 吉 田 萌 生

1. 研究概要

【背景】

毛髪はブリーチやパーマなどの化学処理、ドライヤーやヘアアイロンなどの熱、紫外線（UV）など様々な外的要因によって、ダメージを受ける¹⁾。毛髪が酸化ダメージを受けると毛髪タンパク質中のアルギニンやリジン残基のアミノ基が活性酸素種により酸化修飾をうけ、カルボニル化が生じる²⁾（図1）。

γ -ドコサラクトン（INCI名：GAMMA-DOCOSALACTONE）は、ナタネの種子から得られるエルカ酸（cis-13-ドコセン酸）から誘導した γ -ラクトン誘導体で、ヘアケア化粧品原料として使用されている。 γ -ドコサラクトンは、ヘアアイロンやドライヤーなどの熱により毛髪タンパク質中のアミノ基に共有結合して脂質を毛髪表面に付与する（図2）。これにより毛髪ダメージを補修し、毛髪のうねりなどを改善してツヤを回復させる³⁾。上述のように、カルボニル化はアミノ基で生じるため、 γ -ドコサラクトンによってアミノ基をブロックすることでその後の酸化ダメージによるカルボニル化が抑制されると推察し、検討を行った。



図1. カルボニル化の反応機構

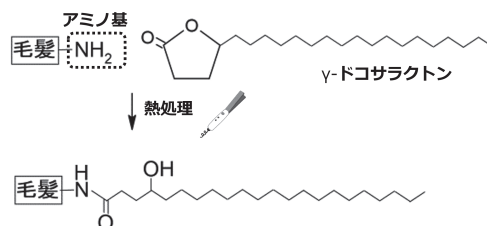


図2. γ -ドコサラクトンのアミノ基への結合

【方法】

黒髪人毛（ビューラックス社製）0.5 gの毛束に、UVBランプ（312 nm BLX UV tubes, コスモバイオ株式会社）を用いてUV照射を行った。カルボニル化タンパク質（Carbonylated proteins ; CPs）の検出は、カルボニル基に特異的に結合する蛍光色素フルオレセイン5-チオセミカルバジド（FTSC）による染色によって行った。FTSC染色した毛髪を蛍光顕微鏡で観察し、取得画像から蛍光輝度を計測し、CPsレベルの指標とした。日常のヘアケアを想定して、 γ -ドコサラクトンはミスト処方にして毛髪に塗布した。

【結果・考察】

UVB300 J/cm²照射は、毛髪のCPsレベルを上昇させ、 γ -ドコサラクトン含有ミストの前処理は、CPsの増加を有意に抑制した。これらの結果から、 γ -ドコサラクトンは、これまで報告されている毛髪表面に脂質を付加するだけではなく、アミノ基保護によって、酸化ダメージカルボニル化を予防する、新たなコンセプトのヘアケア素材である可能性が示された。

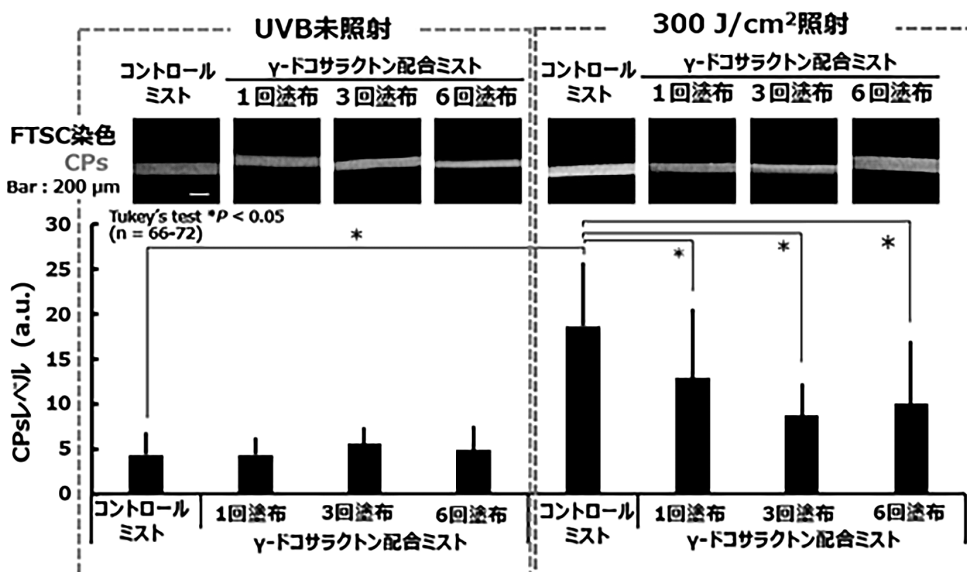


図3. UVBによる毛髪表面のCPsレベルの変化と γ -ドコサラクトンによる抑制効果

【今後の展望】

皮膚研究では、CPsは酸化ダメージマーカーとなるだけではなく、皮膚機能に広範囲な影響を及ぼすことが複数報告されている。例えば、カルボニル化は皮膚最外層である角層でも生じ、角層を不透明に白濁させ、美しい肌の条件の1つである透明感を低下させる⁴⁾。一方、カルボニル化が毛髪の健全性に与える影響は明らかではない。CPsが毛髪健全性に及ぼす影響を調べることは、今後の課題である。

【参考文献】

- 1) Inoue S., *J. Surf. Sci. Soc. Jpn.*, **32**, 287-293 (2011)
- 2) Murakoshi N., *J. Soc. Cosmet. Chem. Jpa.*, **49**, 87-94 (2015)
- 3) Katsumata Y., Hashimoto A., Tominaga H., *Fragrance Journal*, **39**, 57-60 (2011)
- 4) Iwatani I., Kuwahara T., Hirao T., *J. Soc. Cosmet. Chem. Jpa.*, **42**, 16-21 (2008)

生命化学解析学部門

モヤモヤ病感受性因子RNF213の機能解析

研究員 土 生 敏 行

1. 研究概要

【目的】

モヤモヤ病は日本など東アジアに多い脳血管疾患で、脳内頸動脈における狭窄・閉塞によって、虚血を原因とする虚血発作や脳梗塞として発症する疾患である。頭蓋内にもやもやとした煙上の毛細血管が見られ、これの破裂が脳出血を引き起こし、症状を更に悪化させることがある。重篤で発症予後が悪い疾患で、発見から60年以上が経つ現在も原因不明であり、根治療法が未確立であることから指定難病とされている。我々の研究グループは遺伝的解析により、その感受性因子としてRNF213遺伝子（RING Finger213）を同定してきた。そのR4810K多型によりモヤモヤ病の発症率は100倍以上上昇すると予測されている。我々の研究室では、RNF213がユビキチン鎖結合酵素E3リガーゼであること、及びユビキチンポリペプチドの63番目リシン残基を介したユビキチン鎖結合酵素であることを見出し、RNF213はユビキチン化を介したシグナル伝達に関与することを報告している。また、ユビキチン化を介したシグナル伝達は、細胞の遊走性や血管内皮細胞における細胞運動性に影響を与えており、RNF213分子機能の解明とモヤモヤ病の分子病態理解を進めている。

血管新生において、伸長している血管の先端に局在する内皮細胞は血管新生因子に応答し、遊走方向にフィロポディアを形成しているという報告が多数なされている。フィロポディアは直線状アクチン線維束で構成された突起状の構造体で、血管先端で細胞外基質と接着し遊走における足場を形成する重要な役割をもつ。このことよりアクチンネットワーク制御解析は血管新生の理解につながると考えられる。

本研究では、アクチン形成への着目によるRNF213因子と細胞運動性の関連性の明確化をはじめとした細胞生物学的解析により、RNF213因子が関与する細胞内現象の把握、及びターゲット因子の特定を目指すことを目的とした。

【方法・結果】

生理的条件を考慮し、RNF213 ノックアウト (KO) マウス (Rnf213^{-/-}) 及びRNF213 ノックイン (KI) マウス (Rnf213R4757K/R4757K (ヒトR4810K相同))、野生型 (WT) マウスの妊娠13日胎児胚より、胎児線維芽細胞 (MEF) を樹立した。安定な分裂細胞を分離後、遺伝型を決定し細胞実験に用いた。

樹立したMEFを用い増殖因子による刺激・非刺激下でのアクチン染色解析実験、蛍光標識リガンド (EGF・トランスフェリン) を用いた細胞内取り込み実験及び非標識PDGF、FGFを用いた細胞内取り込み実験、各エンドサイトーシスの段階特異的なタンパク質 (Rabタンパク質) の免疫蛍光染色及びタンパク質定量的解析を行った。

RNF213 KO及びKI細胞において、増殖刺激に対するアクチンフィラメント形成における異常が観察された。アクチンフィラメント形成を制御する因子として、EGFやPDGF等の増殖因子によるシグナル伝達機構が知られており、増殖因子の活性化の経時変化に異常が観察された。この結果と同様に

増殖因子の細胞内取り込み状態もWTと比較してKO及びKI各々で動的変化の異常が確認された。その標的であるRhoファミリー因子の活性化（リン酸化）状態を調査し、その状態変化から、ターゲット因子の特定に向け更なる解析を進めている。

【考察】

モヤモヤ病は脳内頸動脈周辺部の異常な毛細血管網の発達を特徴とする。毛細血管は平滑筋細胞等を構成要素として含む他の血管とは異なり内皮細胞のみから成る。本研究解析からアクチンネットワーク異常および増殖因子に呼応した増殖因子の活性化やその下流のメディエーターRhoの活性化状態の変化を見出した。このことは細胞のアクチン制御の脱制御が細胞の運動性の低下を導いていると想定することが可能である。我々の発表した研究では、KI遺伝子を持つ血管内皮細胞の運動性の低下を観察していることから、このアクチン制御の変化が血管内皮細胞の運動性の変化と関連していると考えることが可能である。今後、血管内皮細胞におけるアクチンや増殖因子に対する変化やメディエーターの変化を観察していくことで、MMDにおけるKI多型の機能を見出す助けになるものと考えている。

生命化学解析学部門

食品ロス軽減に役立つガラス化保存技術のモデル研究

研究員 吉 田 徹

1. 研究概要

【背景及び目的】

世界の主な食糧生産の場と食糧消費の場は、必ずしも均質な分布ではなく、食糧過多で飽食肥満の地域もあれば、食糧不足で栄養不良に悩まされている地域が存在し、現代世界は貧富の大きな差を抱えたまま分断されていると言っても過言ではない。こうした歪な社会構造の原因の1つとして、生活の利便性を最優先する考え方に基づくことは疑いなく、私たちは持続可能な社会の構築に向けて、真剣に向き合わなければならない時代を生きていると言える。例えば、先進諸国において、食糧生産量の実に1/3が廃棄されており、廃棄される食品のうち、まだ食べられるにも関わらず捨てられる食品ロスの問題はその典型的な事例であろう。こうした食糧資源分布のアンバランスを見直すためには、一般に、資源を作り出すサイエンスの創出だけでなく、作り出した資源を保存するサイエンスが必要になると考えられる。本研究は、持続可能な社会を構築するためのサイエンスとして、食品ロスを軽減できる高品質な食品保存法の開発を目指している。

当研究室では、食品ロスの問題と取り組むために、その現状をより深く理解するため、西宮市環境局と共同調査研究を実施し、西宮市民を対象とした食品ロスの意識や行動の調査研究を本年度から開始した。さらに、食品ロスを軽減するための新しい食糧資源保存法の確立していくために、この分野では全く新しい手法となる常温ガラス化保存技術に着目した。従来の食品保存法には、冷蔵、冷凍、乾燥、塩蔵、糖蔵、燻製など様々な方法があるが、これらはいずれも生の食品素材、すなわち細胞組織を著しく破壊してしまい、味や栄養素の損失だけでなく、長期保存法としては自ずと限界がある。食品の品質を保持したまま長期間保存できる方法の開発は、生産された食品の保存や流通の在庫調整などの局面で非常に重要であると考えられ、常温ガラス化保存技術は、細胞や組織をガラスマトリックスの形で保護するため、インタクトな状態のまま長期間保存することが可能であり、昨今、生物資源保存の分野のみならず、再生医学の分野においても注目を集めている。

高品質な食品保存法の開発にあたっては、いくつかのフェーズに分けて、常温ガラス化を達成する条件を検討していく予定であるが、本年度は、過去に本研究室で実施したアガロースゲルモデルによるガラス転移を参考にしながら、小型節足動物甲殻類であるアルテミアをモデルとし、食品素材となる生体組織がいったいどのような条件によって、常温で実際にガラス化するかどうかを突き止めるエントリーフェーズの研究を行なったので報告する。

【方法】

アガロースゲルモデルによるガラス転移実験では、低融点アガロースに種々の糖質を添加して固化させたものを減圧真空乾燥させ、示差走査熱量測定によって熱分析を行い、ガラス転移温度を求めた。また、同時に微量水分計によって正確な含水量を計測した。アルテミアの乾燥耐久卵は、シードスプーンにより220個程度の卵を計量し、0～1時間程度、海水中で水和させた後、シリカゲル送風乾燥機

によって、3日間常温乾燥させた後、示差走査熱量測定によって熱分析を行い、ガラス転移温度を求めた。アルテミアの乾燥卵は、水和によって、内在性トレハラーゼによる分解を受けて、トレハロース量が減少することから、水和時間を調整することによって、胚内部に存在するトレハロース量を調整することが可能であり、胚内部のトレハロース量と水分量が異なる一連の試料を作り出すことができる。なお、ガラス化による生体組織のダメージは、アルテミアの孵化率によって正確なバイオアッセイが可能であることを既に報告している¹⁾。内在性のトレハロース量は、HPLC及び特定の指紋領域に現れるFTIRのピーク波長によって定量し、胚内部の水分量は、ppmオーダーで測定可能な超微量水分計によって正確な計測を行なった。得られたデータは、それぞれSPSS (IBM SPSS Statistics) およびPRISM8 (GraphPad Software) によって統計処理を行った。

【結果及び考察】

アガロースゲルモデルによるガラス転移点は、含有させる糖質の有無によって大きな変化が認められ、無添加アガロースゲルはすべて融解してしまったのに比べ、糖質添加のアガロースゲルでは、含まれる糖質によって、ガラス転移点に違いが認められた。特に0.3M以上の濃度でトレハロースを添加したアガロースゲルでは、ガラス化傾向が顕著に現れた。この成果を受けて、アルテミア乾燥卵を海水で一定時間水和後、3日間のシリカゲル送風乾燥を行って、胚内部のトレハロース量と水分量に応じたガラス化傾向を調べた。その結果、水和3時間程度を境界に、孵化率の劇的な減少が認められたため、この水和時間前後で、胚内部のガラス化状態が解消されたのではないかと想定している。実際に、水和0時間や水和1時間のアルテミア卵を熱分析したところ、典型的なガラス転移点が認められ、この条件下において胚内部は確かにガラス化状態にあることが確かめられた。今後は、様々な水和時間ごとのトレハロース量と水分量を調べることによって、アルテミアの胚組織がいったいどの発生段階までガラス化状態を維持できているのかについて、調べていく方針である。また、こうしたモデル研究から得られたデータをもとに、生体組織の常温ガラス化条件を探り出し、将来的に複雑な食品素材の保存法へと応用していきたいと考えている。

参考文献

- 1) 吉田徹 アルテミアのストレス耐性とバイオアッセイ法 冷凍 92, 16-20 (2017)

武庫川女子大学
バイオサイエンス研究所公開セミナー

会場

武庫川女子大学 中央キャンパス
公江記念館 地下1階 大講義室 (KM109)

現在のところ対面開催を予定していますが、今後の新型コロナウイルス感染状況によってはハイブリッドあるいはWEB開催に変更する場合があります。バイオサイエンス研究所ホームページでご確認下さい。

URL : <https://www.mukogawa-u.ac.jp/~bsk/>

QRコード：



「血管新生による組織恒常性の制御機構」

神戸学院大学 大学院 薬学研究科
特命教授

水谷 健一 先生

車両運行のご案内

往路:薬学部発 13:00

復路: 中央キャンパス発 終了後

多数でのご利用の場合は、下記までご連絡ください。



主催：武庫川女子大学 バイオサイエンス研究所

Email : hondac@mukogawa-u.ac.jp
ダイヤルイン : 0798-45-9941
内線 : 72-444、449 (本田)

バイオサイエンス研究所 研究成果発表会

令和3年度 バイオサイエンス研究所 研究成果発表会を下記のとおり開催いたします。
多数ご参加くださいますよう、お願い申し上げます。

日時：2022年3月3日(木) 13:30～16:30

場所：オンライン配信 (Zoom)

プログラム

発表順、発表時間 8分、質疑応答時間 5分

■ 個体生命解析学部門

籠田 智美：メタボリックシンドロームにおける血管周囲脂肪組織による動脈抵抗性調節機能の制御機構

義澤 克彦：N-メチル-N-ニトロソ尿素(MNU)誘発白内障モデルにおけるプロファイン®の病態抑制効果

■ 細胞生命解析学部門

伊勢川 裕二：大豆成分による抗インフルエンザウイルス効果

高 明：新規天然薬用植物及びその含有成分の生活習慣病に対する予防、治療効果と作用メカニズムの解明

蓬田 健太郎：微弱振動磁界付加急速凍結法による凍結組織標本のタンパク質の構造と機能の維持効果

■ 分子生命解析学部門

中瀬 朋夏：トランスポーターから迫る乳がん悪性化機構の解明と新治療戦略の創出

森山 賢治：炎症性疾患におけるエネルギー代謝の分子生物学的検討～消耗性疾患におけるエネルギー代謝～

■ 生命化学解析学部門

仁木 洋子：酸化ダメージによる毛髪タンパク質のカルボニル化と化粧品素材による抑制効果

土生 敏行：モヤモヤ病感受性因子 RNF213 の機能

吉田 徹：食品ロス軽減に役立つガラス化保存技術のモデル研究

■ 総括 萩中 淳

*参加を希望される方は、件名に「研究成果発表会参加申込」、本文に「ご所属」、「お名前」をご記入の上、事前に本田 (ib10@mwu.jp) 宛てにメールをお送りください。

主催：武庫川女子大学 バイオサイエンス研究所

お問合せ先：武庫川女子大学 バイオサイエンス研究所

ダイヤルイン：0798-45-9941 内線：72-444、449

学 会 発 表

ベンゾジアゼピン及び非ベンゾジアゼピン系薬の動脈に対する直接的な拡張作用

籠田智美, 森川花菜, 石田裕丈, 地本純子, 麓加菜, 山田静雄, 篠塚和正

第94回日本薬理学会年会, 札幌 (ハイブリッド), 2021.3.8-10.

Direct vasorelaxant effects of 22 benzodiazepines and 2 non-benzodiazepines hypnotics

Kagota S, Maruyama-Fumoto K, Morikawa K, Ishida H, Chimoto J, Yamada S, Shinozuka K.

2021 the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences (CSPS), the Pharmaceutical Society of Japan (PSJ), and the Canadian Chapter of Controlled Release Society (CC-CRS) Symposium, Web開催, 2021.6.1-4.

薬剤のムスカリン性受容体結合活性の評価による抗コリン負荷のスコア化

山田静雄, 地本純子, 望月正栄, 黄倉崇, 森川花菜, 籠田智美, 篠塚和正, 海野由里子, 鈴木真由美, 速水慎介

第32回日本老年学会総会・第63回日本老年医学学会学術集会, Web開催, 2021.6.11-27.

薬剤のムスカリン性受容体結合活性に基づく日本版抗コリン負荷スコアの開発

山田静雄, 地本純子, 望月正栄, 黄倉崇, 森川花菜, 籠田智美, 篠塚和正, 海野由里子, 鈴木真由美, 速水慎介

第28回日本排尿機能学会, 松本, 2021.9.9-11.

Comparison of modulation of renal arterial tone by perivascular adipose tissue between two animal models of metabolic syndrome

Kagota S, Maruyama-Fumoto K, Morikawa K, Shinozuka K.

Hypertension Scientific Sessions 2021, Web 開催, 2021.9.27-29.

Gender/sex and arterial site differences in modulation on vasodilator function by perivascular adipose tissue in metabolic syndrome

Kagota S, Maruyama-Fumoto K, Morikawa K, Shinozuka K.

The 19th International Symposium on Atherosclerosis, Kyoto (ハイブリッド), 2021.10.24-27.

キトサンオリゴ糖を用いたラット乳癌モデルにおける病態抑制効果

吉岡正浩, 竹之内明子, 茶谷桃花, 又間梨央, 三好真由, 佐藤花平, 木下勇一, 玖貴司, 岡本芳晴, 義澤克彦

第29回乳癌基礎研究会 (Web開催) 2021.8.29.

DMBA誘発乳癌モデルにおけるミード酸の抑制効果

木下勇一, 吉岡正浩, 榎本祐子, 竹之内明子, 浜崎景, 義澤克彦

第37回日本毒性病理学会学術集会 (Web開催) 2021.1.28.

酒粕由来プロファインを用いたラット急性肝障害モデルにおける病態抑制効果

竹之内明子, 吉岡正浩, 井口隆文, 山下和彦, 岡本芳晴, 義澤克彦

第37回日本毒性病理学会学術集会 (Web開催) 2021.1.28.

ワークショップー毒性病理のレギュラトリーサイエンスーINHAND及びSENDの動向とJSTP国際用語委員会の活動紹介

義澤克彦

第37回日本毒性病理学会学術集会 (Web開催) 2021.1.28.

INHAND: International harmonization of nomenclature and diagnostic criteria for lesions -

An Update – 2021

S Hayashi, CM Keenan, Bradley A, Goodman DG, T Harada, Herbert R, Hijiri Iwata, Jacobsen M, Kellner R, Mahler B, Meseck E, Nolte T, S Rittinghausen, Vahle J, K Yoshizawa.

The 37th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology, Kobe, 2021.1.28.

ハチミツの抗インフルエンザ作用について

松岡沙緒里, 藩涼風, 永井栄美子, 伊勢川裕二, 滝埜昌彦, 榎本俊樹

日本栄養・食糧学会第75回大会, 東京, 2021.7.3-4.

ダイゼインの抗インフルエンザウイルス作用機構の解明およびウイルス RNA ポリメラーゼ活性の新規測定法の開発

堀尾侑加, 七里元督, 伊勢川裕二

日本栄養・食糧学会第75回大会, 東京, 2021.7.3-4.

KK-AyマウスにおけるAmycnoneの体重増加抑制効果とその作用機序について

工藤麻耶, 林美沙, 孫伯菊, 高明

日本薬学会第141年会, 広島, 2021.3.26-29.

プラズマローゲンによる体重増加抑制効果について

林美沙, 工藤麻耶, 孫伯菊, 高明

日本薬学会第141年会, 広島, 2021.3.26-29.

3T3-L1細胞におけるマテ熱水抽出物の脂質代謝改善効果と作用機序について

工藤麻耶, 林美沙, 小林夕希子, 嶋田典基, 楊金緯, 高明

第67回日本生薬学会, 東京, 2021.9.19-20.

微弱振動磁界付加急速凍結法による凍結組織標本のタンパク質の構造と機能の維持効果、 Suppression of protein structure disruption in frozen sections cut from specimens rapidly frozen under a weak oscillating magnetic field.

國谷かおり, 奥田華奈, 河内愛子, 石井美憂,

蓬田健太郎, 第44回日本分子生物学会, 横浜, 2021.12.1-3.

サボリン毒素を基盤とした細胞膜透過ペプチドの開発と薬物送達評価

小吹桃子, 片山未来, 野口公輔, Zuppone S, 山名真由, 中瀬朋夏, 上田真史, Vago R, 二木史朗, Jones AT, 中瀬生彦

第94回日本生化学会大会, オンライン開催, 2021.11.3.

シスチントランスポーターを利用した抗がん剤活性の制御とトリプルネガティブ乳がん治療の新戦略 優秀発表賞受賞

松井千紘, 生島千菜美, 稲垣寧音, 緒方魅優, 後藤栞利, 赤沢真夢, 伊吹綾香, 大西杏奈, 野中愛子, 湯谷玲子, 崎谷愛未, 中瀬生彦, 中瀬朋夏

第1回トランスポーター研究会関西部会, オンライン開催, 2021.10.30.

Bcl-2阻害剤YC137の乳がんに対する抗がん活性を制御する亜鉛と亜鉛トランスポーター

崎谷愛未, 田中杏, 中瀬友梨香, 錦見佳苗, 藤原知里, 中瀬生彦, 中瀬朋夏

第1回トランスポーター研究会関西部会, オンライン開催, 2021.10.30.

サボリン毒素の細胞膜透過機序の解明と膜透過ペプチドの開発 優秀発表賞受賞

小吹桃子, 片山未来, 野口公輔, Zuppone S, 山名真由, 中瀬朋夏, 上田真史, Vago R, 二木史朗, Jones AT, 中瀬生彦

第42回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム, オンライン開催, 2021.10.28.

Saporin toxin-derived cell-penetrating peptide for intracellular delivery of biofunctional molecules

Obuki M, Katayama M, Noguchi K, Zuppone S, Yamana M, Takatani-Nakase T, Ueda M, Vago R,

Futaki S, Jones AT, Nakase I.

第58回ペプチド討論会，オンライン開催，
2021.10.20.

Biofunctional peptide-modified exosomes with encapsulation of boron compounds for boron neutron capture therapy (BNCT)

Hirase S, Aoki A, Morimoto K, Noguchi K, Takatani-Nakase T, Futaki S, Hattori Y, Kirihata M, Nakase I.

第58回ペプチド討論会，オンライン開催，
2021.10.21.

**機能性ペプチド修飾型エクソソームを利用した
ホウ素中性子捕捉療法技術の開発**

平瀬詩織，青木絢子，野口公輔，森本健太，中瀬朋夏，二木史朗，服部能英，切畑光統，中瀬生彦

第8回日本細胞外小胞学会，オンライン開催，
2021.10.18.

**サボリン毒素由来の細胞膜透過性ペプチドの開発
と薬物送達応用**

小吹桃子，片山未来，野口公輔，Zuppone S，山名真由，中瀬朋夏，上田真史，Vago R，二木史朗，Jones AT，中瀬生彦

第71回日本薬学会 関西支部総会・大会，オンライン開催，2021.10.9.

**機能性ペプチド修飾型エクソソームを基盤とした
ホウ素中性子捕捉療法技術の開発**

平瀬詩織，青木絢子，野口公輔，森本健太，中瀬朋夏，二木史朗，服部能英，切畑光統，中瀬生彦

第71回日本薬学会 関西支部総会・大会，オンライン開催，2021.10.9.

**ホウ素中性子捕捉療法を指向したオンデマンド
抗体結合型ホウ素薬剤の創製**

中瀬生彦，青木絢子，堺有里子，平瀬詩織，石村美樹，中瀬朋夏，服部能英，切畑光統

第17回日本中性子捕捉療法学会学術大会，オンライン開催，2021.7.10.

サボリン毒素の細胞膜透過配列の探索と薬物導入への応用

小吹桃子，片山未来，野口公輔，Zuppone S，山名真由，中瀬朋夏，上田真史，Vago R，二木史朗，Jones AT，中瀬生彦

日本核酸医薬学会第6回年会，オンライン開催，
2021.6.28.

サボリン毒素の細胞膜透過配列の探索と薬物導入への応用

小吹桃子，片山未来，野口公輔，Zuppone S，山名真由，中瀬朋夏，上田真史，Vago R，二木史朗，Jones AT，中瀬生彦

第67回日本生化学会近畿支部例会，オンライン開催，2021.5.29.

ホウ素中性子捕捉療法を指向した膜透過性ペプチド修飾型エクソソームの効果的利用

平瀬詩織，青木絢子，野口公輔，森本健太，中瀬朋夏，二木史朗，服部能英，切畑光統，中瀬生彦

第67回日本生化学会近畿支部例会，オンライン開催，2021.5.29.

乳がん幹細胞様細胞の維持制御における亜鉛トランスポートの役割

中瀬朋夏，鳥井栄貴，松井千紘，湯谷玲子，中瀬生彦

日本薬剤学会年会第36年会，オンライン開催，
2021.5.13-15.

既存医薬品による難治性トリプルネガティブ乳がんを標的とした酸化ストレス耐性の減弱と抗がん効果

松井千紘，生畠千菜美，湯谷玲子，鳥井栄貴，中瀬生彦，中瀬朋夏

日本薬剤学会年会第36年会，オンライン開催，
2021.5.13-15.

ホウ素中性子捕捉療法を指向した機能性ペプチド修飾型ホウ素薬剤の開発

平瀬詩織, 青木絢子, 堺有里子, 石村美紀, 野口公輔, 森本健太, 中瀬朋夏, 服部能英, 切畑光統, 中瀬生彦

日本薬学会第141年会, オンライン開催, 2021.3.27-29.

サボリン毒素の細胞膜透過機序の解明と薬物導入への応用

小吹桃子, 片山未来, 野口公輔, Zuppone S, 山名真由, 中瀬朋夏, 上田真史, Vago R, 二本木朗, Jones AT, 中瀬生彦

日本薬学会第141年会, オンライン開催, 2021.3.27-29.

低酸素環境適応性乳がん細胞の生存能力に対する亜鉛と亜鉛トランスポーターの役割

松井千紘, 生島千菜美, 稲垣寧音, 緒方魅優, 後藤茉莉, 大塚晴香, 中瀬生彦, 中瀬朋夏

日本薬学会第141年会, オンライン開催, 2021.3.27-29.

難治性乳がんの酸化ストレス防御機構を標的としたドラッグリポジショニングによる治療戦略の開発

生島千菜美, 稲垣寧音, 緒方魅優, 後藤茉莉, 松井千紘, 湯谷玲子, 大塚晴香, 鳥井栄貴, 中瀬生彦, 中瀬朋夏

日本薬学会第141年会, オンライン開催, 2021.3.27-29.

亜鉛と亜鉛トランスポーターによる乳がん幹細胞様細胞の維持機構 奨励賞受賞

鳥井栄貴, 生島千菜美, 大塚晴香, 松井千紘, 稲垣寧音, 緒方魅優, 後藤茉莉, 湯谷玲子, 中瀬生彦, 中瀬朋夏

第21回日本亜鉛栄養治療研究会, オンライン開催, 2021.2.6.

コレステロール代謝におけるGATAの機能

光谷真奈, 松下翠, 増田奈菜子, 梶谷美佳, 二若久美, 田上哲也, 森山賢治

日本薬学会141年会, 広島, 2021.3.26-29.

成長ホルモンによるSTATを介したGATA転写因子群の発現調節の基礎的検討

増田奈菜子, 光谷真奈, 松下翠, 梶谷美佳, 二若久美, 田上哲也, 森山賢治

日本薬学会141年会, 広島, 2021.3.26-29.

エネルギー代謝におけるGATAの機能の基礎的検討

光谷真奈, 松下翠, 増田奈菜子, 梶谷美佳, 二若久美, 田上哲也, 森山賢治

第94回日本内分泌学会学術総会, 群馬, 2021.4.22-24.

GHの標的遺伝子としてのGATAs

増田奈菜子, 光谷真奈, 松下翠, 梶谷美佳, 二若久美, 田上哲也, 森山賢治

第94回日本内分泌学会学術総会, 群馬, 2021.4.22-24.

バセドウ病に亜急性甲状腺炎を合併したと考えられる2症例

垣田真以子, 坂根依利子, 須川琢, 森山賢治, 田上哲也, 須川秀夫

第47回日本乳腺甲状腺超音波医学会, web開催, 2021.10.9-10.

甲状腺穿刺吸引細胞診にて異型細胞を疑われた4症例

坂根依利子, 垣田真以子, 森山賢治, 須川秀夫
第47回日本乳腺甲状腺超音波医学会, web開催, 2021.10.9-10.

甲状腺ホルモンと成長ホルモンの相補性の結節点に関する考察

光谷真奈, 松下翠, 増田奈菜子, 松尾葵, 梶谷美佳, 横山明似, 田上哲也, 森山賢治

第64回日本甲状腺学会学術集会, 東京,

2021.11.18-20.

甲状腺ホルモンと成長ホルモンの相補性の結節点に関する考察

横山明似, 光谷真奈, 松下翠, 増田奈菜子, 松尾葵, 梶谷美佳, 田上哲也, 森山賢治
第64回日本甲状腺学会学術集会, 東京, 2021.11.18-20.

カミソリ剃毛の皮膚バリア機能に及ぼす影響

萩原穂香, 木部龍太, 原和暢, 小林甫, 塩谷俊介, 仁木洋子, 平尾哲二
日本化粧品学会, オンライン, 2021.6.25-26.

Phosphatidylinositol-rich liposomes prevent oxidative stress induced by diesel particulate matter through suppression of activation of aryl hydrocarbon receptor

Niki Y, Onouchi H, Kotera T, Ohashi H.
IFSCC 2021 Conference Cancun (online), 2021.10.18-28.

ホスファチジルイノシトール高配合リポソームは、芳香族炭化水素受容体 (AhR) の活性化を抑制し、ディーゼル排気微粒子によって誘発される酸化ストレスを抑制する

仁木洋子, 小野内裕美, 小寺啓貴, 大橋幸浩
IFSCC 2021カンクーン中間大会 国内報告会, オンライン, 2021.12.3.

女子大学生の食品ロスへの意識と行動に関する実態調査～新型コロナウイルスによる影響

諸井美樹, 吉田徹
日本栄養改善学会近畿支部第19回学術総会, 園田 (オンライン), 2021.3.7-13. (日本栄養改善学会近畿支部若手奨励賞受賞)

アルテミア耐久卵の胚組織内部におけるガラス化状態の検討

佐古つかさ, 諸井美樹, 吉田徹
極限環境生物学会第22回大会, 筑波 (オンライ

ン), 2021.11.20-21.

ヒト血清中アビラテロン代謝物のLC/MS分析における未知ピークの構造解析

神路浩美, 堀山志朱代, 葉山登, 萩中淳
第69回質量分析討論会, 2021.5.21.

Preparation of monodisperse molecularly-imprinted polymers and their application to pharmaceutical and biomedical analysis

Haginaka J.
31st International Symposium on Pharmaceutical and Biomedical Analysis (PBA 2021), Kyoto, 2021.8.29. (招待講演)

Quantification of abiraterone and its metabolites in human serum using LC/Q-TOF MS

Horiyama S, Kanji H, Kimachi T, Hayama N, Haginaka J.
31st International Symposium on Pharmaceutical and Biomedical Analysis (PBA 2021), Kyoto, 2021.8.30.

液体クロマトグラフィー用高機能充填剤の開発と応用

萩中淳
第33回バイオメディカル分析化学シンポジウム, 京都, 2021.9.1. (招待講演)

カルバマゼピンおよびその置換体に対する分子インプリントポリマーの調製と応用

神路浩美, 葉山登, 本田千恵, 萩中淳
第33回バイオメディカル分析化学シンポジウム, 京都, 2021.9.2.

カルバマゼピン誘導体の合成研究と分子インプリントポリマーの調製への応用

葉山登, 神路浩美, 矢田麻奈衣, 米山弘樹, 本田千恵, 萩中淳, 宇佐美吉英
第50回複素環化学討論会, 静岡, 2021.10.7-9.

誌 上 発 表

Activation of protease-activated receptor 2 is associated with blood pressure regulation and proteinuria reduction in metabolic syndrome

Maruyama-Fumoto K, McGuire JJ, Fairlie DP, Shinozuka K, Kagota S.

Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, **48**, 211-220 (2021)

腎臓のプロテアーゼ活性化型受容体-2の活性化は、メタボリックシンドロームにおける血圧と尿中蛋白排泄の維持に関与していることを示唆した。

Vasorelaxant effects of benzodiazepines, non-benzodiazepines sedative-hypnotics, and tandospirone on isolated rat arteries

Kagota S, Morikawa K, Ishida H, Chimoto J, Maruyama-Fumoto K, Yamada S, Shinozuka K.

European Journal of Pharmacology, **892**, 173744 (2021)

睡眠薬や抗不安薬として汎用されるベンゾジアゼピン系及び非ベンゾジアゼピン系薬剤、タンドスピロンは直接的な血管拡張作用を持つことを見出し、この作用が筋弛緩作用とともにめまいやふらつき等の副作用に寄与することを示唆した。

A sodium glucose cotransporter 2 inhibitor fails to improve perivascular adipose tissue-mediated modulation of vasodilation and cardiac function in rats with metabolic syndrome

Kagota S, Maruyama-Fumoto K, McGuire JJ, Shinozuka K.

Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics, **26**, 480-489 (2021)

SGLT2阻害薬は、メタボリックシンドロームに生じる血管周囲脂肪組織による血管拡張増強効果の消失を防ぐ効果は期待できないことを示した。

Muscarinic receptor binding activity in rat tissues by vibegron and its receptor occupancy predicted in the human bladder

Yamada S, Chimoto J, Shiho M, Okura T, Morikawa M, Kagota S, Shinozuka K.

International Journal of Urology, **28**, 1298-1303 (2021)

ビベクロンは、ラット膀胱平滑筋M₂受容体に高い親和性を持つことを明らかにし、この作用が過活動膀胱の症状改善に寄与することを示唆した。

Suppressive effects of mead acid supplementation on acute liver damage derived from green tea extract

Kinoshita Y, Takenouchi A, Chatani M, Yoshioka M, Emoto Y, Hamazaki K, Tsubura A, Yoshizawa K.

Journal of Lipid Nutrition **30**, 1-13 (2021)

緑茶抽出物誘発の雄ラット急性肝障害モデルでのミード酸食による病態抑制効果を明らかにし、そのMOAを解明した。食品由来物質による急性肝障害抑制効果の応用例である。

Exercise performance upregulatory effect of R- α -lipoic acid with γ -cyclodextrin

Hashimoto Y, Yoshizawa K, Kaido Y, Takenouchi A, Terao K, Yasui H, Yoshikawa Y.

Nutrients **14**, 21 (2022)

CD/RALA複合体サプリメントの抗酸化活性と高強度運動中のパフォーマンスへの影響を検討した。

Juice of *Citrullus lanatus* var. *citroides* (wild watermelon) inhibits the entry and propagation of influenza viruses in vitro and in vivo

Morimoto R, Yoshioka K, Nakayama M, Nagai E, Okuno Y, Nakashima A, Ogawa T, Suzuki K, Enomoto T, Isegawa Y.

Food Science & Nutrition **9**, 544-552 (2021)

野生のスイカ・ジュース（WWMJ）はインフルエンザウイルス複製を妨げました。WWMJは複数の抗インフルエンザウイルス成分を含んでいた。WWMJはウイルスのエンドサイトーシスを抑制することが見出された。WWMJ溶液を鼻音等に添加することによりインフルエンザ感染マウスの生存を大幅に向上させた。

Development of a method to evaluate influenza virus RNA-dependent RNA polymerase activity through real-time reverse transcription polymerase chain reaction

Horio Y, Shichiri M, Isegawa Y.

Virology Journal **18**, 177 (2021)

インフルエンザウイルスのRNA合成に対する阻害物質を同定するために開発したRNA依存RNAポリメラーゼ活性測定法の確立

Antiviral activity and underlying action mechanism of Euglena extract against influenza virus

Nakashima A, Horio Y, Suzuki K, Isegawa Y.

Nutrients **13**: 3911 (2021)

Euglena抽出物によるInfluenza virus増殖抑制機構とその抑制に関与する物質Znの同定とその作用機構の予測

Influenza virus entry and replication inhibited by 8- prenynaringenin from Citrullus lanatus var. citroides (wild watermelon)

Hanada A, Morimoto R, Horio Y, Shichiri M, Nakashima A, Ogawa T, Suzuki K, Sumitani H, Ogata T, Isegawa Y.

Food Science & Nutrition in press (2021)

原種の野生のメロンジュース中の測定可能なものの中で植物エストロゲンの成分、8-プレニルナリンゲニン（8-PN）が最高の抗ウイルス活性を示した。8-PNの作用機構を調べたところ、ウイルスのエンドサイトーシスに対する強い阻害を示すと同時にノイラミニダーを阻害する可能性が示された。

Madecassoside inhibit body weight gain via modulating SIRT1-AMPK signaling pathway and activating genes related to thermogenesis

Sun B, Hayashi M, Kudo M, Wu L, Qin L, Gao M, Liu T.

Front. Endocrinol., 627950 (2021)

Madecassosideは自然発症肥満・糖尿病モデルKK-Ayマウスの脂質代謝改善及び褐色脂肪化誘導を介して、体重増加抑制効果を示した。

L-citrulline inhibits body weight gain and hepatic fat accumulation by improving lipid metabolism in a rat nonalcoholic fatty liver disease model

Kudo M, Yamagishi Y, Suguro S, Yoshitomi H, Hayashi M, Gao M.

Food Sci. & Nutrition, **9**, 1-12 (2021)

L-シトルリンは脂質代謝を改善することにより、非アルコール性脂肪肝モデルラットでの体重増加及び肝臓内脂肪の蓄積を抑制することを示唆した。

Macropinocytosis inducible extracellular vesicles modified with antimicrobial protein CAP18 derived cell- penetrating peptides for efficient intracellular delivery

Noguchi K, Obuki M, Sumi H, Klusmann M, Morimoto K, Nakai S, Hashimoto T, Fujiwara D, Fujii I, Yuba E, Takatani-Nakase T, Neundorff I, Nakase I.

Molecular Pharmaceutics, **18**, 3290-3301 (2021)

抗菌タンパク質に由来する細胞膜透過性ペプチドsC18を修飾した細胞外小胞は、それ自体が効果的なマクロピノサイトーシスを誘導し、エクソソームを基盤とした薬物送達技術の開発に貢献する成果を発表した。

Exosomes: breast cancer-derived extracellular vesicles; recent key findings and technologies in disease progression, diagnostics, and cancer targeting

Nakase I, Takatani-Nakase T.

Drug Metabolism and Pharmacokinetics, 100435 (2021)

乳がんの悪性化機構における細胞外小胞エクソソームの役割を概説し、エクソソームを利用した乳がん標的治療戦略開発の可能性について迫った。

Potentiating the membrane interaction of an attenuated cationic amphiphilic lytic peptide for intracellular protein delivery by anchoring with pyrene moiety

Sakamoto K, Michibata J, Hirai Y, Ide A, Ikito H, Takatani-Nakase T, Futaki S.

Bioconjugate Chemistry, **32**, 950-957 (2021)

両親媒性ペプチドは、細胞膜と相互作用して膜の脂質パッキングを緩めることができ、細胞内へ効率よく抗体を運搬するのに機能性ペプチドとして利用できることを明らかにした。

Environmental pH stress influences cellular secretion and uptake of extracellular vesicles

Nakase I, Ueno N, Matsuzawa M, Noguchi K, Hirano M, Omura M, Takenaka T, Sugiyama A, Bailey Kobayashi N, Hashimoto T, Takatani-Nakase T, Yuba E, Fujii I, Futaki S, Yoshida T.

FEBS Open Bio, **11**, 753-767 (2021)

酸性度pHによる環境変化は、エクソソームの細胞分泌と細胞内移行に大きく影響することを明らかにした。

Tranexamic Acid Improves the Disrupted Formation of Collagen and Fibrillin-1 Fibers Produced by Fibroblasts Repetitively Irradiated with UVA

Endo K, Niki Y, Ohashi Y, Masaki H,

Biol Pharm. Bull., **44**, 225-231 (2021)

トラネキサム酸は、UVAを反復照射した繊維芽細胞のコラーゲン、及びフィブリン-1繊維の破壊を改善する。

Dynein intermediate chain 2c (DNCI2c) complex

is essential for exiting Mad2-dependent spindle assembly checkpoint

Habu T, Kim J.

Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research 1868, 119120 (2021)

RNF213が関わる分裂期制御に関して、中核となるMad2タンパク質の制御機構の解明を行い、新規制御因子を見出し、その機能を明らかにした。

UBC13 is an RNF213-associated E2 ubiquitin-conjugating enzyme, and Lysine 63-linked ubiquitination by the RNF213-UBC13 axis is responsible for angiogenic activity.

Habu T, Harada K. H.

FASEB BioAdvances, **3**, 243-258 (2021)

RNF213はUBC13依存的なE3リガーゼであり、その活性が血管内皮細胞での運動性に関わっていることを示した。

RNF213-Associated Ubiquitin Signaling with UBC13

Kim J, Habu T.

Der Pharmacia Lettre, **13**, 1-2 (2021)

RNF213はUBC13依存的なE3リガーゼとそのリン残基を通じた修飾機能にかんして示した。

RNF213 as a Susceptibility Gene for Moyamoya Disease has Multifunctional Roles in Biological Processes

Kobayashi H, Harada K. H, Habu T, Nakamura Y, Kim J, Koizumi A.

Kuroda S. Ed. Moyamoya Disease: Current Knowledge and Future Perspectives, Springer, (2021)

MMD感受性因子RNF213に関する総説である

Enantioseparation of warfarin derivatives on molecularly imprinted polymers for (S)- and (R)-chlorowarfarin

Kubo A, Kimachi T, Haginaka J.

J. Chromatogr. A, **1641**, 461995 (2021)

(S)-および(R)-chlorowarfarinに対する分子インプリントポリマーを調製し、warfarin誘導体の光学分離に適用した。

Retention and molecular-recognition mechanisms of molecularly imprinted polymers for warfarin derivatives and their application for the determination of warfarin in human serum

Haginaka J, Kubo A, Kimachi T, Kobayashi Y.
Talanta, **232**, 122419 (2021)

Warfarin誘導体の分子インプリントポリマーを調製し、その保持および分子認識機構を明らかにした。また、ヒト血清中のwarfarinの分析に適用した。

Revisiting chiral recognition mechanism on chicken alpha 1-acid glycoprotein: Location of chiral binding sites and insight into chiral binding mechanism

Haginaka J, Yamashita T, Tsujino H, Arisawa M.
Separations, **8**, 73 (2021)

ニワトリalpha 1酸性糖たんぱく質における光学認識機構を分子モデルおよび分子ドッキング法を用いて明らかにした。

Synthesis of molecularly imprinted polymers by two-step swelling and polymerization

Haginaka J.

Martín-Esteban A. ed. *Molecularly Imprinted Polymers: Methods and Protocols*, 1-9, Springer, 2021

二段階膨潤重合法による分子インプリントポリマー調製法とその応用に関して解説した。

Novel bone microenvironment model of castration resistant prostate cancer with chitosan fiber matrix and osteoblasts

Samoto M, Matsuyama H, Matsumoto H, Hirata H, Ueno K, Ozawa S, Mori J, Inoue R, Yano S, Yamamoto Y, Haginaka J, Horiyama S, Ogawa T,

Tamada K.

Oncology Lett., **22**, 689 (2021)

キトサンファイバーマトリックスと骨芽細胞を用いて、去勢抵抗性前立腺がんの新規な骨微小環境モデルの作成に成功した。前立腺がんの骨転移のメカニズムの解明への寄与が期待される。

Molecularly imprinted polymers for arbutin and rutin by modified precipitation polymerization and their application for selective extraction of rutin in nutritional supplements

Masumoto S, Nakamura Y, Haginaka J.

J. Pharm. Biomed. Anal., **205**, 114294 (2021)

アルブチンおよびルチンに対する分子インプリントポリマーを修正沈殿重合法により調製し、その分子認識機構を明らかにした。また、サプリメント中のルチンの選択的抽出に適用した。

Determination of abiraterone and its metabolites in human serum by LC-ESI-TOF/MS using solid-phase extraction

Kanji H, Horiyama S, Kimachi T, Haginaka J.

Anal. Sci., **37**, 1281-1287 (2021)

固相抽出法を用いたLC-ESI-TOF/MSによる、ヒト血清中のアビラテロンおよびその代謝物の定量法を開発した。

そ の 他

新型コロナウイルスの予防の意義とワクチンの 可能

蓬田健太郎

伊勢神宮神道青年研修会，遠隔開催，2021.6.4

大阪府立大学第6回 創薬科学研究所セミナー， 第112回 生物科学フロンティアセミナーにおけ る依頼講演

「トランスポーターから紐解く乳がん悪性化機
構と新治療戦略の開発」

中瀬朋夏

2021.5.25.

第1回トランスポーター研究会関西西部会におけ る依頼講演

「亜鉛トランスポーターから紐解く乳がん悪性
化機構と新治療戦略」

中瀬朋夏

2021.10.30.

セミナー

仁木洋子

「美しい肌色のための皮膚科学」

セミナー 日本骨格メイク協会員 約20人

2021.1.16.

中高SSH高大連携授業

仁木洋子

「皮膚の老化はなぜ起こる？」

講義 武庫川女子大学付属高校 約40人

2021.11.22.

武庫川女子大学バイオサイエンス研究所規程

(設置)

第1条 武庫川女子大学（以下「本学」という。）に武庫川女子大学バイオサイエンス研究所（以下「研究所」という。）を置く。

(目的)

第2条 研究所は、天然資源の保全、太陽と緑のエネルギーの循環再利用並びに新しい医薬品・食品等の開発、生産を計るために、動物や植物等の生命活動の仕組みを取り入れて、基礎的並びに人間生活に直接役立つ応用的な研究を行い、本学の先端科学教育の振興に寄与することを目的とする。

(所掌業務)

第3条 研究所は、前条の目的を達成するため、次の業務を行う。

- 1 生命科学分野における基礎的な研究と調査
- 2 応用的な研究による成果の公表と利用
- 3 研究及び調査の受託並びに嘱託研究員の受け入れ
- 4 その他第2条に定める目的達成のために必要な事項

(組織)

第4条 研究所は、所掌業務を達成するため、研究分野別の研究部門を置くことができる。

(所長)

第5条 研究所に所長を置く。

- 2 所長は、理事長が教授のうちから任命する。ただし、非常勤教員をもって充てることもできる。
- 3 所長の任期は2年とし、再任を妨げない。
- 4 所長は、学長の命を受け、所掌の業務を処理し所属職員を指導監督する。

(研究員)

第6条 研究所に所要の研究員を置く。

- 2 研究員は、教授、准教授又は講師をもって充てる。
- 3 研究員は、所長の指導監督の下に研究業務に従事する。

(嘱託研究員)

第7条 研究所には、嘱託研究員を置くことができる。

- 2 嘱託研究員は、必要により所長が推薦し学長が委嘱する。
- 3 嘱託研究員は、特定又は共同研究の業務に従事する。

(助手)

第8条 研究所には、所要の助教若しくは助手を置く。

- 2 助手は、研究員の命を受け、その業務を助ける。

(事務職員)

第9条 研究所に所要の事務職員を置くことができる。

2 事務職員は、事務局長の指揮監督のもと、所長の指示を受けて研究所の事務を処理する。

(運営委員会)

第10条 研究所の運営に関する具体的業務を審議するため、本学に「武庫川女子大学バイオサイエンス研究所運営委員会」(以下「運営委員会」という。)を置く。

2 運営委員は若干名とし、学長が委嘱する。

3 委員長は、所長をもって充てる。

4 委員の任期は2年とし、再任を妨げない。ただし、欠員が生じた場合の委員の任期は前任者の残任期間とする。

5 運営委員会に関する細則は別に定める。

(補則)

第11条 この規程に定めるもののほか、研究所の管理運営に関し必要な事項は、所長が別に定める。

附 則

この規程は平成8年4月1日から施行する。

武庫川女子大学バイオサイエンス研究所年報
第 26 号（令和 3 年度）

編 集	武庫川女子大学バイオサイエンス研究所
発 行 者	学校法人 武庫川学院 〒 663－8558 兵庫県西宮市池開町 6 番 46 号 PHONE 0798－47－1212（代表）
発 行 日	2022 年 3 月 31 日
印 刷	大和出版印刷株式会社