

メディカルフォトニクス研究センター  
基盤光医学研究部門  
光ゲノム医学研究室

1 構 成 員

	平成 25 年 3 月 31 日現在	
教授	1 人	
准教授	0 人	
講師（うち病院籍）	0 人	(0 人)
助教（うち病院籍）	2 人	(0 人)
特任教員（特任教授、特任准教授、特任助教を含む）	0 人	
医員	0 人	
研修医	0 人	
特任研究員	1 人	
大学院学生（うち他講座から）	2 人	(1 人)
研究生	0 人	
外国人客員研究員	0 人	
技術職員（教務職員を含む）	0 人	
その他（技術補佐員等）	2 人	
合計	8 人	

2 教員の異動状況

蓑島 伸生（教授）（H15. 7. 1～現職）

大石健太郎（助教）（H14. 7. 1～19. 3.31 助手；H19. 4. 1～現職）

大坪 正史（助教）（H17. 8. 1～19. 3.31 助手；H19. 4. 1～現職）

3 研究業績

数字は小数 2 位まで。

	平成 24 年度	
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	3 編	(0 編)
そのインパクトファクターの合計	7.35	
(2) 論文形式のプロシーディングズ及びレター	0 編	
そのインパクトファクターの合計	0.00	
(3) 総説数（うち邦文のもの）	0 編	(0 編)
そのインパクトファクターの合計	0.00	
(4) 著書数（うち邦文のもの）	0 編	(0 編)
(5) 症例報告数（うち邦文のもの）	0 編	(0 編)
そのインパクトファクターの合計	0.00	

(1) 原著論文（当該教室所属の者に下線）

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）

1. Nojima K, Hosono K, Zhao Y, Toshiba T, Hikoya A, Asai T, Kato M, Kondo M, Minoshima S, Hotta Y: Clinical features of a Japanese case with Bothnia dystrophy. *Ophthalmic Genet.* **33**(2):83-88, 2012.

インパクトファクターの小計 [ 0.92 ]

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

1. Gough CA, Homma K, Yamaguchi-Kabata Y, Shimada MK, Chakraborty R, Fujii Y, Iwama H, Minoshima S, Sakamoto S, Sato Y, Suzuki Y, Tada-Umezaki M, Nishikawa K, Imanishi T, Gojobori T: Prediction of protein-destabilizing polymorphisms by manual curation with protein structure. *PLoS One.* **7**(11): e50445, 2012.
2. Izumiya T, Minoshima S, Yoshida T, Shimizu N: A novel big protein TPRBK possessing 25 units of TPR motif is essential for the progress of mitosis and cytokinesis. *Gene.* **511**(2):202-217, 2012.

インパクトファクターの小計 [ 6.43 ]

#### 4 特許等の出願状況

	平成 24 年度
特許取得数（出願中含む）	0 件

#### 5 医学研究費取得状況

（万円未満四捨五入）

	平成 24 年度	
(1) 文部科学省科学研究費	4 件	(420 万円)
(2) 厚生労働科学研究費	0 件	(0 万円)
(3) 他政府機関による研究助成	1 件	(300 万円)
(4) 財団助成金	0 件	(0 万円)
(5) 受託研究または共同研究	0 件	(0 万円)
(6) 奨学寄附金その他（民間より）	0 件	(0 万円)

##### (1) 文部科学省科学研究費

大石健太郎（代表者）細野克博, 尾花明, 堀田喜裕, 蓑島伸生 基盤研究（C）「動物モデルを用いた加齢黄斑変性の罹患感受性候補遺伝子の同定と遺伝子診断への応用」 340 万円（継続・平成 22～24 年度）（24 年度分： 100 万円）

蓑島伸生（代表者）大石健太郎, 大坪正史, Thanseem Ismail, 他 基盤研究（C）「新たな視点からの緑内障発症遺伝子要因の追究：ゲノムコピー数多型（CNV）の解析」 400 万円（継続・平成 23～25 年度）（24 年度分： 150 万円）

蓑島伸生（分担者）, 森則夫（代表者）, 他 基盤研究（B）「自閉症の生物学的超早期診断法の開発に関する研究」（継続・平成 22～24 年度）（24 年度分担当金： 10 万円）

大坪正史（代表者） 基盤研究（C）「筋萎縮性側索硬化症との発症起因の共通性に基づいた緑内障発症機構解析」（新規・平成 24～26 年度）（24 年度分： 160 万円）

(3) 他政府機関による研究助成

蓑島伸生 (分担者), 大泉 康 (代表者), 他 農林水産省<研究種目: 柑橘類果皮を利用した抗認知症機能性食品の開発に向けた基盤技術の開発>「長寿にともなう失明疾患から日本人を守る遺伝子と神経保護作用を有する機能性食品の効果の追究」(継続・平成23~25年度)(24年度交付額: 300万円)

6 新学術研究などの大型プロジェクトの代表, 総括

- 1. 文部科学省 国立大学運営費交付金特別経費 (プロジェクト分)「光技術を活用した『がん』克服への新たなアプローチによる健康長寿社会の実現」(代表: 蓑島伸生)、平成23~26年度、自己分担額111万円 (平成24年度総額3,285万円)

7 学会活動

Table with 3 columns: Activity, International Association, Domestic Association. Rows include: (1) Special Lecture/Invited Lecture, (2) Symposium Publications, (3) Association Chair, (4) Association Organization, (5) Association Staff, (6) General Topic Publications.

(1) 国際学会等開催・参加

(2) 国内学会の開催・参加

4) 座長をした学会名

- 1. 蓑島伸生: 日本遺伝子診療学会 第19回大会. 一般演題(口演)「単因子病の遺伝子診断(2)」平成24年7月、千葉
2. 蓑島伸生: 日本人類遺伝学会 第57回大会. 教育講演「バイオインフォマティクス: データベース統合化によるアプローチ」(演者: 坊農秀雄) 平成24年10月、東京

(3) 役職についている国際・国内学会名とその役割

- 1. 蓑島伸生: 日本遺伝子診療学会 理事
2. 蓑島伸生: 日本人類遺伝学会 評議員、編集委員
3. 蓑島伸生: 第17回 静岡健康・長寿学術フォーラム 企画運営委員

8 学術雑誌の編集への貢献

Table with 3 columns: Contribution, Domestic, Foreign. Row: Academic Journal Editing (excluding Referee). Domestic: 1, Foreign: 0.

(1) 国内の英文雑誌等の編集

- 1. 蓑島伸生: Journal of Human Genetics (日本人類遺伝学会)、編集委員、PubMed/Medline 登録「有」、インパクトファクター「有」

(3) 国内外の英文雑誌のレフリー (reviewer)

1. 蓑島伸生: *Clinical Genetics* 1回 (米国)

## 9 共同研究の実施状況

	平成 24 年度
(1) 国際共同研究	0 件
(2) 国内共同研究	3 件
(3) 学内共同研究	3 件

(1) 国際共同研究

(2) 国内共同研究

1. 尾花明 (聖隷浜松病院・眼科): 動物モデルを用いた加齢黄斑変性の罹患感受性候補遺伝子の同定と遺伝子診断への応用
2. 清水信義 (慶應義塾大学 先端研 GSP センター)、摂南大ほか: ヒト疾患関連遺伝子の原因変異及び関連多型に関する総合知識ベース *MutationView* の構築
3. 静岡県立大学ほかコンソーシアム: 柑橘果皮由来成分の緑内障に関する基礎的研究

(3) 学内共同研究

1. 眼科: 動物モデルを用いた加齢黄斑変性の罹患感受性候補遺伝子の同定と遺伝子診断への応用/眼科遺伝性疾患の原因遺伝子追究と突然変異の解析 (網膜色素変性症)
2. 脳神経外科、実験実習機器センター: 突然変異の解析 (グリオブラストーマ)
3. 精神科: CNV マイクロアレイ解析 (自閉症遺伝子探索)

## 10 産学共同研究

	平成 24 年度
産学共同研究	0 件

## 12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

### 1. 加齢黄斑変性症責任遺伝子の探求

加齢黄斑変性 (AMD) の易罹患性に寄与する遺伝子は複数報告されてきたが、AMD 発症機序の詳細は未だ不明である。一方、AMD 発症の危険因子として長期の太陽光曝露が報告されている。現に、ラットに強い可視光線を照射することで、AMD に類似の症状 (網膜光障害) が見られる。このため、同障害が AMD の動物実験モデルとして使われている。我々はこのモデルに着目し、その感受性の系統差に関わる責任遺伝子を追究している。

#### (1) 動物モデルを用いた加齢黄斑変性の罹患感受性候補遺伝子の同定

ラットの網膜光障害には系統差により発症しやすさに違いが認められる。前年度までに、我々は、光障害感受性と耐性系統のラットを利用した遺伝学的手法 (連続戻し交配) を行うことで、光刺激により引き起こされる網膜変性への感受性に関与する遺伝子領域を 1 領域 (約 4 Mb) にまで限局

化した。

本年度は、連続戻し交配を続け、一部では戻し交配第 10 世代(BC10)にまで達した。さらに、別系統のラットの網膜光障害感受性の表現型を実験で解析し、公共データベースより得られる当該各系統の 1 塩基多型情報を比較検討することにより、遺伝子領域を約 1 Mb に絞り込んだ。

(大石健太郎)

## (2) 加齢黄斑変性患者および健常者からの血液検体の収集

網膜光障害の感受性を支配する遺伝子のヒト相同遺伝子と AMD の関連を調べる目的で、前年度に引き続いて、書面でインフォームドコンセントが得られた同疾患患者および健常者の血液検体の収集を行った。

(大石健太郎)

## (3) シトラレンの網膜光障害に対する神経保護効果の検討

漢方生薬陳皮の成分シトラレン（仮称）（STR と略記）は、動物実験レベルにおいて、脳に対して神経保護効果（抗痴呆作用）を有することが報告されている。この効果に着目し、同じく中枢神経系に属する網膜への神経保護効果の検討について、ラット網膜光障害実験モデルを用いて行った。

(大石健太郎)

## 2. 緑内障原因遺伝子OPTNの機能解析

### (1) 相互作用蛋白との共遺伝子導入で形成される空胞および顆粒の機序解析

OPTNの緑内障原因変異のうち症状が重篤であるE50K変異体は、培養細胞で発現させた場合、その一部が凝集体（顆粒）として存在する。また、独自に見出したSLC4A2と共発現させた場合の空胞形成について検討し、極めて顕著に形成を亢進するという結果を得た（この際、顆粒は空胞周囲へ局在し、SLC4A2もこれと共在した）。これら2種の現象（空胞および顆粒形成）は、異常タンパクの蓄積と関連するものであり、緑内障発症機序として期待しうると考えている。本年度は、これらの現象に対して検討を加え、以下の結果を得た。

#### ・シトラレンによる空胞および顆粒形成の抑制

STR処理によって、この空胞の形成は、顕著に抑制され、顆粒形成も減少した。HeLaS3細胞の他、神経由来細胞Neuro2Aなどにおいても、同傾向が見られた。

シグナル伝達関連蛋白について検討を加えたところ、OPTNの正常型及びE50K変異体での差異は認められなかったが、STRによる空胞形成の低下の際に、ERストレス関連シグナルタンパクであるリン酸化PERKの低下とWFS1発現の上昇、さらにオートファジーマーカータンパクであるLC3発現の上昇を認めた。

(大坪正史)

#### ・オートファジー惹起によるレスキューの確認

前項の薬剤STRの効果オートファジー惹起によるものか、すなわちオートファジーを惹起することが当該構造形成を抑制し得るか否かを検討したところ、mTOR阻害剤ラパマイシンによるオ

オートファジー誘導で同様の結果を得た。また、オートファジー阻害剤3-MAの処理によりSTRの効果は抑制された。

(大坪正史)

#### ・緑内障変異とALS変異の違いの検討

緑内障原因変異H26D、E50K、M98K、H486RおよびALS原因変異Q314L、Q454E、E478G、K557T等を持つFLAGタグ付加OPTN発現プラスミドを作製した。これらをHAタグ付加SLC4A2と共に細胞に導入し、タグ抗体による免疫蛍光法で、細胞内顆粒および空胞を観察した。1) 顆粒は、既報告があるE50K以外のH486Rなど緑内障変異でも、顕著に観察された。また、空胞形成についても、緑内障変異に顕著な亢進が見られた。2) 一方、ALS変異では、Q314Lなど一部の變異で顆粒形成が見られたが、ほとんどの變異は顆粒形成を示さず、空胞についても、A481Vに微細なものが見られるのみで、形成は観察されなかった。

(大坪正史)

#### (2) OPTNの高次蛋白複合体の解析

本年度は、緑内障発症機序の解明のために、酸化ストレスによる共有結合性OPTN三量体(cOPTN3)形成における各種OPTN変異の影響について検討した。HeLaS3あるいはNIH3T3培養細胞に、緑内障原因変異であるH26D、E50K、M98K、H486RやR545Q、そしてLcUBD(Ub結合領域欠失体)およびUb結合に必須である残基の改変体D474NのOPTNプラスミドを遺伝子導入し、以下の結果を得た。1) cOPTN3は、野生型および全ての点変異体において、過酸化水素刺激で形成された。2) E50Kだけが過酸化水素刺激なしでcOPTN3を形成した。3) LcUBDは刺激の有無に係わらずcOPTN3を形成しなかった。4) TNF $\alpha$ はcOPTN3形成を誘導しなかった。

すなわち、生理的条件下で存在する非共有結合性オリゴマーが酸化条件下で、(UBD領域依存的に)部分的に共有結合を受け、cOPTN3が形成されることが示唆される。また、E50Kの場合はおそらく細胞内に酸化ストレスを誘導することで同様の応答を恒常的に誘導する。このことはE50K変異での緑内障の症状の重篤さと関わるものが推測される。

(高 潔\*) \*大学院生

#### 3. 日本人の原発性開放隅角緑内障 (POAG) 発症におけるコピー数多型 (CNV) の検討

昨年度選定した14家系30個体のうち、DNAの品質等を考慮して13家系、23個体のDNA検体について、ゲノムワイドヒトCNV解析を実施した。22検体はQC値からデータ信頼性に問題ないと判断した。このうち、今年度は、解析対象のうち最大である1家系について解析した。

発症者6名中3名(それぞれPOAG、正常眼圧緑内障 (NTG)、高眼圧症)で共通に<遺伝子A>の片側アレルに全く同じ1,872 bpの欠失が見られた。残り3名の発症者(2名はPOAG、1名はNTG)、及び同家系内の非発症者3名には同<遺伝子A>欠失は見られなかった。さらに、同家系では、2名の患者で<遺伝子B>領域に10~14 kbp、別の2名の患者で<遺伝子C>領域に470~513 kbpの欠失が片側アレルに検出された。これらの欠失も、同家系内の非発症者には見られなかった。1名の患者は、これら3座位を全て欠失していたが、別の1名の患者は<遺伝子A>と<遺伝子B>をともに欠失していた。<遺伝子C>のみ、及び<遺伝子A>のみを欠失している患者も各1名見られた。

(Thanseem Ismail\*) \*当研究室および精神医学講座特任研究員

#### 4. 遺伝性・先天性眼疾患の遺伝子解析

##### 非症候群性の常染色体劣性網膜色素変性の日本人患者におけるUSH2A遺伝子の変異解析

網膜色素変性 (RP) は、視細胞と網膜色素上皮の機能をびまん性に障害する遺伝性、進行性の疾患である。RPの頻度は、4000～8000人に1人と言われ、夜盲が初期症状のことが多く、進行すると求心性に視野が狭窄し、最終的に失明に至ることが多い眼科領域で最も重篤な疾患である。RPは、常染色体優性 (autosomal dominant, ad) 遺伝、常染色体劣性 (autosomal recessive, ar) 遺伝、X連鎖性遺伝形式が知られ、これまでに56個の原因遺伝子が同定され、遺伝的異質性が知られている。またRPは、Usher症候群や、Bardet-Biedl症候群といった症候群の1所見としても知られており、症候群性のRPの原因遺伝子も明らかにされはじめている。RPに対する有効な治療法の開発のためには、遺伝子レベルでの病因解明が重要である。本研究では、神戸市立医療センター中央市民病院、先端医療センター病院、名古屋大学、浜松医科大学の4施設を受診したarRP患者を対象としてUSH2A (Usher syndrome 2A) 遺伝子の変異解析を行い、日本人arRP患者におけるUSH2A遺伝子変異の頻度を検討し、日本人におけるUSH2A遺伝子の変異と臨床像の対応関係についての基礎データを創出することを試みた。

(趙 洋\*1、細野克博\*2、堀田喜裕\*2) \*1 眼科大学院生、\*2 眼科学講座

#### 5. 遺伝子疾患変異データベースの構築と公開

##### *MutationView Hamamatsu* : 遺伝子変異データベースのデータの増補と公開

慶應義塾大学医学部分子生物学教室との共同研究で以前から構築してきた遺伝子変異データベース *MutationView* に関して、本学独自の疾患サーバーを構築している。本疾患サーバーのデータは、*MutationView Hamamatsu* として本学のウェブサイト内からも独立に閲覧できる (URL <http://hama-mutv.mpb.hama-med.ac.jp/>)。本学独自のデータ収集も順次おこなっており、現在の公開中の総データ数は、996 疾患、455 遺伝子、33,282 件の変異データ (5883 報の文献から構築) である。

(大坪正史)