

# 光量子医学研究センター 光環境医学研究分野

## 1 構 成 員

	平成19年3月31日現在
教授	1人
助教授	0人
講師（うち病院籍）	0人（ 0人）
助手（うち病院籍）	2人（ 0人）
医員	0人
研修医	0人
特別研究員	3人
大学院学生（うち他講座から）	2人（ 2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）	0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（助手）（H14. 7. 1～現職）

大坪 正史（助手）（H17. 8. 1～現職）

## 3 研究業績

数字は小数2位まで。

	平成18年度
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	4編（ 0編）
そのインパクトファクターの合計	11.74
(2) 論文形式のプロシーディングズ数	1編
(3) 総説数（うち邦文のもの）	1編（ 0編）
そのインパクトファクターの合計	3.83
(4) 著書数（うち邦文のもの）	1編（ 1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

(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

1. Ohishi, K., Zhang, X. M., Moriwaki, S., Hiramitsu, T., Matsugo, S.: In the presence of ferritin, visible light induces lipid peroxidation of the porcine photoreceptor outer segment. *Free Radical Research*. 40 (8) 799-807, 2006.

インパクトファクターの小計 [2.32]

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. Suzuki, T., Kazui, T., Yamamoto, S., Washiyama, N., Ohkura, K., Ohishi, K., Bashar, A. H., Yamashita, K., Terada, H., Suzuki, K., Akuzawa, S., Fujie, M.: Effect of prophylactically administered edaravone during antegrade cerebral perfusion in a canine model of old cerebral infarction. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 133(3) 710-716, 2007.

インパクトファクターの小計 [3.73]

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. Kato, M., Haku, T., Hibino, T., Fukada, H., Mishima, Y., Yamashita, I., Minoshima, S., Nagayama, K., Shimizu, N.: Stable minihairpin structures forming at minisatellite DNA isolated from yellow fin sea bream *Acanthopagrus latus*. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B, Biochemistry & Molecular Biology*. 146 (3) 427-437, 2007.
2. Yang, H., Sasaki, T., Minoshima, S., Shimizu, N.: Identification of three novel proteins (SGSM1, 2, 3) which modulate small G protein (RAP and RAB)-mediated signaling pathway. *Genomics*. (in press).

インパクトファクターの小計 [5.69]

## (2) 論文形式のプロシーディングズ

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

1. Ohtsubo M., Kawamura, T., Mitsuyama, S., Shimizu, N., Minoshima, S.: New features of *MutationView*: A module to search for disease-causing genes from protein functional domain, *Genome Informatics 2006*, pP150:1-2, 2006.

## (3) 総 説

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. Shimizu, N., Ohtsubo, M., Minoshima, S.: *MutationView/KMcancerDB*: a database for cancer gene mutations. *Cancer Science*. 98(3):259-267, 2007.

インパクトファクターの小計 [3.83]

## (4) 著 書

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

1. 大坪正史, 清水信義, 蓑島伸生: 「バイオインフォマティクス事典」 第7章 データベース:

ゲノムデータベース (p412), 疾患データベース (p421), 突然変異データベース (p421). 日本バイオインフォマティクス学会 (JSBi学会) 編集 共立出版 2006年.

#### 4 特許等の出願状況

	平成18年度
特許取得数 (出願中含む)	0件

#### 5 医学研究費取得状況

	平成18年度
(1) 文部科学省科学研究費	4件 (2,190万円)
(2) 厚生科学研究費	0件 ( 0万円)
(3) 他政府機関による研究助成	0件 ( 0万円)
(4) 財団助成金	2件 ( 65万円)
(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

蓑島伸生 (代表者) 大石健太郎, 大坪正史, 堀田喜裕, 森脇真一 特定領域研究 (ゲノム医科学) (2)「ゲノム塩基配列の網羅的解析法による疾患遺伝子探索と新規分子生命現象の発掘」1360万円 (計画研究・継続)

蓑島伸生 (代表者) 堀田喜裕, 北川雅敏 基盤研究 (B)「錐体・杆体細胞の培養系確立と網膜疾患の試験管内モデル系構築」410万円 (継続)

蓑島伸生 (代表者) 大石健太郎 萌芽研究「真核生物で高度に保存された新規細胞分裂関連タンパク質YPELファミリーの機能追求」160万円 (継続)

大石健太郎 (代表者) 若手研究 (B)「加齢黄斑変性症責任遺伝子の探求:動物モデルにおける網膜光傷害重篤度の系統差の利用」260万円 (新規)

##### (4) 財団助成金

大石健太郎 (代表者) 蓑島伸生 平成18年度上期 第21回 金原一郎記念医学医療振興財団 基礎医学医療研究助成金 「網膜において鉄により発現制御を受ける遺伝子の網羅的クローニング -加齢黄斑変性症発症機序の解明に向けて-」45万円 (新規)

王 春霞 (代表者) 公益信託三島済一記念眼科研究国際交流基金「遺伝性眼疾患に関与する原因遺伝子の探索及び変異・機能解析」20万円 (新規)

#### 7 学会活動

	国際学会	国内学会
(1) 特別講演・招待講演回数	2件	0件
(2) シンポジウム発表数	0件	1件

(3) 学会座長回数	1件	2件
(4) 学会開催回数	0件	0件
(5) 学会役員等回数	0件	2件
(6) 一般演題発表数	6件	

(1) 国際学会等開催・参加

2) 国際学会・会議等における基調講演・招待講演

1. Minoshima, S.: Human genomics and disease mutation database. *JSPS COLLOQUIUM on Frontiers of Genome Science and Challenges to Medical Application*, Stockholm (Sweden) Aug. 2006.
2. Hosono, K.: Novel YPEL family proteins associated with cell division. *JSPS COLLOQUIUM on Frontiers of Genome Science and Challenges to Medical Application*. Stockholm (Sweden) Aug. 2006.

4) 国際学会・会議等での座長

1. Minoshima, S.: JSPS Coloquium on Frontiers of Genome Science and Challenges to Medical Application, Karolinska Institute, Stockholm (Sweden) Aug. 2006.

5) 一般発表

口頭発表

1. Shimizu, N., Ohtsubo, M., Mitsuyama, S., Kawamura, T., Minoshima, S.: *MutationView* with various new features. *Human Genome Variation Society 2006 Scientific Meeting*. Oct. 2006, New Orleans (USA).
2. Ohishi, K., Matsugo, S., Minoshima, S., Hiramitsu, T.: Chemical and genetical studies focused on the role of iron in retinal photic injury: approaches to the mechanism of age-related macular degeneration. *The 6th Kyungpook-Hamamatsu Joint Medical Symposium (KHJMS) Hamamatsu Meeting*. Oct. 2006, Hamamatsu (Japan).

ポスター発表

1. Ohtsubo, M., Moriwaki, S., Wang, C. X., Hotta, Y., Horisawa, T., Shimizu, N., Terao, T., Minoshima, S.: *SYMPHONIE*: A knowledge-base to hierarchically classify symptoms associated with gene-related diseases. *The 11th International Congress of Human Genetics*. Aug. 2006, Brisbane (Australia)
2. Ohtsubo, M., Kawamura, T., Mitsuyama, S., Shimizu, N., Minoshima, S.: New Features of *MutationView*: A module to search for disease-causing genes from protein functional domain. *GIW 2006 The 17th International Conference on Genome Informatics*. Dec. 2006, Yokohama (Japan)
3. Ohtsubo, M., Kawamura, T., Mitsuyama, S., Shimizu, N., Minoshima, S.: *MutationView*: An integrated database of mutations in human disease genes. *20th IUBMB International*

Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress. Jun. 2006, Kyoto (Japan)

4. Nakanishi, H., Iwasaki, S., Mizuta, K.: The prevalence of hearing loss-retinitis pigmentosa association syndrome. *First International Symposium on Usher Syndrome and Related Disorders*. Oct. 2006, Omaha, Nebraska (USA).

(2) 国内学会の開催・参加

3) シンポジウム発表

1. 王 春霞, 堀田喜裕, 佐藤美保, 中村 誠, 寺崎浩子, 三宅養三, 大坪正史, 中西伸夫, 清水信義, 蓑島伸生: 小児眼科診療に役立つ遺伝子診断-遺伝性眼疾患研究へのバイオインフォマティクスの活用とデータベース構築. *第62回 日本弱視斜視学会総会・第31回 日本小児眼科学会総会合同学会*. 平成18年6月 (浜松)

4) 座長をした学会名

1. 蓑島伸生: 第13回 日本遺伝子診療学会大会. 一般演題「遺伝子情報解析(1)」平成18年7月 (東京)
2. 蓑島伸生: 第51回 日本人類遺伝学会大会. 一般演題「動物モデルシステム」平成18年10月 (米子)

(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: 日本人類遺伝学会 評議員, 編集委員
2. 蓑島伸生: 日本遺伝子診療学会 理事, 情報委員長

## 8 学術雑誌の編集への貢献

	国内	外国
学術雑誌編集数 (レフリー数は除く)	0件	0件

(3) 国内外の英文雑誌のレフリー

Investigative Ophthalmology & Visual Science (米国) 1回

Japanese Journal of Ophthalmology (日本) 1回

## 9 共同研究の実施状況

	平成18年度
(1) 国際共同研究	1件
(2) 国内共同研究	6件
(3) 学内共同研究	5件

(1) 国際共同研究

1. Mary K. Wirtz博士: オレゴン州キャセイ眼研究所 (米国) : 緑内障原因遺伝子: 7番染色体責任領域にマップされる2新規候補遺伝子についての変異検索. (期間, 患者DNAの供給を受

けた; 研究実施中) 科学研究費補助金 特定領域研究 (ゲノム医科学)

## (2) 国内共同研究

1. 清水信義 (慶應義塾大学 医学部 分子生物学教室): 真核生物で高度に保存された新規細胞分裂関連タンパク質YPELファミリーの機能追究
2. 清水信義 (慶應義塾大学 医学部 分子生物学教室): 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の構築
3. 森脇真一 (大阪医科大学 皮膚科学講座): 遺伝性光線過敏症の原因遺伝子追究とデータベース構築
4. 産業技術総合研究所生物情報解析研究センター: 完全長ヒトcDNAのアノテーションとそれに基づくヒト遺伝子データベースの構築 (H-invitational Disease Edition)
5. 加藤幹男 (大阪府立大学 理学部 生物科学科): DNA, クロマチンおよび染色体の構造解析研究
6. 松郷誠一 (金沢大学大学院 自然科学研究科): 可視光線によるフェリチンからの鉄イオン遊離機序の解明

## (3) 学内共同研究

1. 眼科: 眼科遺伝性疾患の原因遺伝子追究と突然変異の解析
2. 耳鼻咽喉科: 難聴関連疾患の原因遺伝子追求と突然変異の解析
3. 光量子医学研究センター (細胞イメージング研究分野): 錐体・杆体細胞の培養系確立と網膜疾患の試験管内モデル系構築
4. 光量子医学研究センター (ゲノムバイオフォトンクス研究分野): 錐体・杆体細胞の培養系確立と網膜疾患の試験管内モデル系構築
5. 光量子医学研究センター (光化学治療寄付研究部門): 錐体細胞における視物質遺伝子の排他的発現機構の分子遺伝学的解析

## 10 産学共同研究

	平成18年度
産学共同研究	0件

## 11 受賞

### (3) 国内での受賞

1. 細野克博: 慶應義塾大学COE21世紀プログラムCertificate. 平成18年8月.

## 12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

### 1. 緑内障の原因遺伝子探究

- (1) 緑内障の新規遺伝子同定に利用するために, 同疾患の家系の収集と末梢血B細胞の株化樹立を継続した。現在までに, 日本人69家系 (患者163人) の情報を収集し, 89例 (患者86人, 非発

症者3人)から採血しDNAを抽出した。また、全例について、B細胞株樹立に成功した。

(王 春霞<sup>1</sup>, 大坪正史)<sup>1</sup>本学眼科学講座大学院生

(2) 酵母2ハイブリッド (Y2H) 法を中核とする「拡張候補遺伝子アプローチ」により、緑内障の新規原因遺伝子同定を以下のように進めた。

A. OPTNの相互作用タンパク: OPTNの全長cDNAをベイトとし、ヒト網膜RNAより構築したcDNAをプレイとしてY2H法を施行した。得られたクローンの性状解析を行った結果、構造や遺伝子座等に特徴がある以下の遺伝子を得た。

①遺伝子座が緑内障候補領域中に存在する: 2遺伝子, ②眼, 神経等に特異的な発現を示す: 7遺伝子, ③アポトーシス関連タンパク: 2遺伝子, ④ゴルジ輸送関連: 2遺伝子, ⑤ユビキチン関連: 3遺伝子

このうち、①の2遺伝子 (OPTNA7-1とOPTNA7-2) は、前記GLC1F領域内に存在していた。これらの遺伝子の翻訳領域全長のcDNAをクローニングし、培養細胞でOPTNと共発現させて、タグ抗体で共免疫沈殿して免疫ブロットで確認したところ、両遺伝子ともにOPTNタンパクとの結合が確認できた。これらが新たな緑内障原因遺伝子である可能性を検証するために、GLC1F領域を報告した研究者 (米国オレゴン州キャセイ眼研究所のM. K. Wirtz博士) との共同研究で患者DNA検体を得た。一方、②には網膜色素変性の原因遺伝子として知られるNRL (Neural Retina Leucine zipper) が含まれていた。

B. MYOCの相互作用タンパク: MYOCの全長をベイトとし、同様にY2H法を行った。それらのうち、緑内障候補領域にマップされる候補遺伝子は以下の9種類であった。

①GLC3B (1p36) : 1遺伝子, ② GLC1B (2cen-q13) : 1遺伝子, ③GLC1L (3p21-p22) : 1遺伝子, ④GLC1M (5q) : 3遺伝子, ⑤GLC1F (7q35-q36) : 2遺伝子, ⑥ GLC3C (14q24.3-q31.1) : 1遺伝子

(大坪正史, 細野克博, 王 春霞<sup>1</sup>, Thanseem Ismail)<sup>1</sup>本学眼科学講座大学院生

## 2. OPTNタンパク質とNRLタンパク質の相互作用の解析

前項で記したOPTNとNRLの結合を検討した。両遺伝子をタグ付きタンパクとして発現させるベクターを構築し、HeLaS3細胞に共発現して共免疫沈殿とウェスタンブロットで解析したところ、両者は同細胞内で結合することが証明できた。生体組織での相互作用の解析や両者の細胞内局在解析、結合ドメインの解析等、種々の検討を行っている。

(王 春霞<sup>1</sup>, 大坪正史, 細野克博, 大石健太郎)<sup>1</sup>本学眼科学講座大学院生

## 3. 緑内障原因遺伝子候補領域を対象とした領域内遺伝子の網羅的同定による緑内障原因遺伝子の絞り込みと新規機能遺伝子同定

既報告の遺伝性緑内障原因遺伝子候補領域のうち、GLC1F領域4 Mb (7q35-q36) とGLC1C領域8 Mb (3q22-q23) をゲノム悉皆解析法で解析した。その結果、機能未知cDNA/ESTを含めて何らかの転写物と高い相同性を示す遺伝子または推定遺伝子をGLC1F領域に73個同定した。それ

らの一部は実験により転写物の存在を確認しており、新規のZnフィンガー様タンパク遺伝子や公共データベースに登録のないプライミングバリエーションも含まれている。同様にGLC1C領域には60個の遺伝子を同定した。

(大坪正史, 細野克博)

#### 4. 錐体・杆体細胞の培養系確立と網膜疾患の試験管内モデル系構築

遺伝子変異による視細胞の直接障害で発症する疾患、すなわち網膜色素変性症とその関連疾患（錐体ジストロフィ、錐体杆体ジストロフィ、スターガルト病、色覚異常等）に焦点をあて、これらの疾患の試験管内モデル系として利用できる視細胞の培養系の確立を目指している。そこで、錐体に特異的発現を示す遺伝子のプロモーターをSV40 Large T抗原遺伝子上流に連結したプラスミドをマウス200胚にマイクロインジェクションし、トランスジェニックマウス（Tgマウス）を作成した。その結果、34匹のTgマウスが得られ、更にそのうち5匹においてSV40 Large T抗原遺伝子が導入されていた。現在、Tgマウスの眼やその他臓器におけるSV40 Large T抗原の発現の確認や表現型の変化を観察している。

(細野克博, 大石健太郎)

#### 5. 加齢黄斑変性症責任遺伝子の探求：動物モデルにおける網膜光傷害重篤度の系統差の利用

ラットに過度の光を照射すると視細胞や網膜色素上皮細胞のアポトーシスを伴う網膜変性が起こる（網膜光傷害モデル）。この網膜変性は系統差により発症しやすさに違いが認められる。我々は光傷害感受性系統と耐性系統を交配させ、F1ラットを作り、このF1ラットに過度の光を照射した後、視機能が維持されているかについて調べることで、網膜光傷害の責任遺伝子の遺伝形質について調べている。今後、さらに戻し交配を行い、生まれたラットの表現型を調べ、Simple Sequence Length Polymorphism（SSLP）解析による責任遺伝子のマッピングを行う予定である。

(大石健太郎)

#### 6. 目の発生に寄与する遺伝子群の同定と相互作用の解析

感覚器官の形態形成には、多種多様な遺伝子群が絡み合い、一つの遺伝子に注目しても発現時期、部位によって異なる機能を担うことが多々あり、さらに複雑さが増す。我々が着目している"目"もまた例外ではなく、この点を踏まえて眼形態形成プロセスをリアルに観察でき、かつ遺伝子群の相互作用を容易に解析することが可能であると期待し、モデル生物“メダカ”を研究材料に選択した。

現在、ヒトの猫目症候群原因候補遺伝子のメダカ相同遺伝子を数個単離に成功した。その中には、全くの新規遺伝子も含まれていた。このような未知の遺伝子機能を解析していくうえで、メダカ研究が有用であることを実証し、かつ他の組織研究分野にも応用できるような研究プロセスを確立する計画である。

(中西伸夫)

## 7. 真核生物で高度に保存された新規細胞分裂関連タンパク質YPELファミリーの機能追究

ゲノム悉皆解析を用いて同定した新規YPEL遺伝子ファミリー（YPEL1～YPEL5）は極めて広範な真核生物に存在し生命維持に重要な働きを持つ遺伝子であることが推測された。同ファミリー遺伝子のゲノム構造等に関しては平成16年度報告した（Hosono *et al.*, *Gene* 340:31-43, 2004）が、平成18年度はその性状・機能解析を行っている。同ファミリーのタンパク質は、中心体や紡錘糸に局在し、細胞分裂に関連する機能を担うことが推定できた。

（細野克博，清水信義<sup>1</sup>）<sup>1</sup>慶應義塾大学医学部分子生物学教室

## 8. アッシャー症候群日本人患者の遺伝子変異解析

アッシャー症候群は、感音難聴と網膜色素変性症を合併する常染色体劣性遺伝性疾患である。感音難聴と視覚障害を合併する疾患は約40種類あるが、その半数を占める最多の疾患である。原因遺伝子は現在までに8種類報告されており、欧米を中心に患者での変異解析がなされているが、日本人症例では未だ報告がない。本研究は、日本人のアッシャー症候群患者で遺伝子変異解析を行い、遺伝子型と臨床型の関連を調べるとともに、今後の診断・治療に結びつけることが研究目標である。

当研究期間中に、アッシャー症候群の患者様4名の遺伝子解析を行い、3名で遺伝子変異を同定した。さらに、遺伝子変異の評価を行うために、正常対照の検体を採取した。今後、正常対照と比較し、遺伝子変異の評価を進める予定である。また、日本人特有の変異の存在の有無についても検討する計画である。

（中西 啓<sup>1</sup>，大坪正史）<sup>1</sup>本学耳鼻咽喉科学講座大学院生

## 9. 疾患遺伝子変異・症状データベース構築

(1) 遺伝的要素を伴う疾患の症状を分類・統合し、ゲノム情報等と関連づけるデータベース *SYMPHONIE* (*SYMP*tomics *H*amamatsu *O*Ntology for *I*nvestigative *E*tiology) の構築を継続した。医師による症状と疾患の記述を、オントロジーエディターProtege-OWLを用いてオントロジー化した。さらにJenaライブラリーを用いてデータアクセスモジュールも作成した。現在までに、眼科領域、皮膚科領域の疾患のデータについて、オントロジー化まで到達し、耳鼻咽喉科領域については、症状の記述を開始した。

（大坪正史，王 春霞<sup>1</sup>，中西 啓<sup>2</sup>）<sup>1</sup>眼科学講座大学院生，<sup>2</sup>耳鼻咽喉科学講座大学院生

(2) 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*Mutation View*に関して、本学独自のDisease Serverのデータ増補もおこなった。現在までに、590疾患，324遺伝子，17,685件の変異データを2,491報の文献から構築した。

（大坪正史）