

# 内科学第三

## 1 構成員

	平成22年3月31日現在
教授	1人
准教授	0人
講師（うち病院籍）	2人（2人）
助教（うち病院籍）	6人（3人）
助手（うち病院籍）	0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	4人
研修医	0人
特任研究員	0人
大学院学生（うち他講座から）	9人（3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）	10人
合 計	32人

## 2 教員の異動状況

林 秀晴（教授）	（H12. 12. 1～現職）
佐藤 洋（講師）	（H17. 6. 1～現職）
小川 法良（講師）	（H18. 4. 1～現職）
加藤 秀樹（助教）	（H13. 6. 1～19. 3. 31 助手；19. 4. 1～現職）
中村 悟己（助教）	（H16. 6. 1～19. 3. 31 助手；19. 4. 1～現職）
漆田 毅（助教）	（H16. 7. 1～19. 3. 31 助手；19. 4. 1～現職）
重野 一幸（助教）	（H17. 6. 1～19. 3. 31 助手；19. 4. 1～現職）
早乙女雅夫（助教）	（H.19. 11. 1～現職）
齋藤 岳兒（診療助教）	（H.20. 9. 1～現職）

## 3 研究業績

数字は小数2位まで。

	平成21年度
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	17編（4編）
そのインパクトファクターの合計	46.71
(2) 論文形式のプロシーディングズ数	0編
(3) 総説数（うち邦文のもの）	7編（6編）

そのインパクトファクターの合計	3.93
(4) 著書数 (うち邦文のもの)	5編 ( 5編)
(5) 症例報告数 (うち邦文のもの)	2編 ( 2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

1. Asai M, Takeuchi K, Saotome M, Urushida T, Katoh H, Satoh H, Hayashi H, Watanabe H: Extracellular acidosis suppresses endothelial function by inhibiting store-operated  $Ca^{2+}$  entry via non-selective cation channels. *Cardiovasc. Res.* 83: 97-105, 2009.
2. Kawashima H, Satoh H, Saotome M, Urushida T, Katoh H, Hayashi H: Protein phosphatase inhibitor-1 augments a protein kinase A-dependent increase in the  $Ca^{2+}$  loading of the sarcoplasmic reticulum without changing its  $Ca^{2+}$  release. *Circ. J.* 73: 1133-1140, 2009.
3. Saotome M, Katoh H, Yaguchi Y, Tanaka T, Urushida T, Satoh H, Hayashi H: Transient opening of mitochondrial permeability transition pore by reactive oxygen species protects myocardium from ischemia/reperfusion injury. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 296: H1125-H1132, 2009.
4. Satoh H, Matoh F, Shiraki K, Saitoh T, Odagiri K, Saotome M, Usushida T, Katoh H, Takehara Y, Sakahara H, Hayashi H: Delayed enhancement on cardiac magnetic resonance and clinical, morphological and electrocardiographical features in hypertrophic cardiomyopathy. *J. Cardiac. Fail.* 15: 419-427, 2009.
5. Odagiri K, Katoh H, Kawashima H, Tanaka T, Ohtani H, Saotome M, Urushida T, Satoh H, Hayashi H: Local control of mitochondrial membrane potential, permeability transition pore and reactive oxygen species by calcium and calmodulin in rat ventricular myocytes. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 46: 989-997, 2009.
6. 澤田 仁, 木本 理, 鈴木大介, 下山久美子, 小川法良: 難治性関節リウマチ(RA)に対する白血球除去療法(LCAP)の臨床的有用性の検討. *日本臨床免疫学会会誌* 36(6):499-505, 2009.
7. 下山久美子, 小川法良, 澤田 仁, 木本 理, 鈴木大介, 林 秀晴: シェーグレン症候群における口唇唾液腺生検に関する検討. *日本臨床免疫学会会誌* 32(1):53-60, 2009.
8. 鈴木大介, 小川法良, 澤田 仁, 木本 理, 下山久美子, 林 秀晴: ミコフェノール酸モフェチルの全身性エリテマトーデスにおける有用性の検討. *日本臨床免疫学会会誌* 32(4):263-268, 2009.

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. Fujie M, Nakamura S, Asai H, Yamashita J, Kiyofuji K, Yamashita M: A novel phospho sugar analogue: synthesis and evaluation of 2,3-dibromo-3-methyl-1-phenylphospholane 1-oxide having potential anti- proliferative effects for human tumors. *Journal of Environmental Biology*. 30: 945-950, 2009.
2. Kitagawa K, Hiramatsu Y, Uchida C, Isobe T, Hattori T, Oda T, Shibata K, Nakamura S, Kikuchi A, Kitagawa M: Fbw7 promotes ubiquitin-dependent degradation of c-Myb-involvement of GSK3-mediated phosphorylation of Thr-572 in mouse c-Myb. *Oncogene*. 28: 2393-2405, 2009.
3. Minakata K, Ohnishi K, Nakamura S, Suzuki M, Suzuki O: Electrospray ionization tandem mass spectrometric determination of monomethylarsonic acid and dimethylarsinic acid after adduct formation with citric acid. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 877: 2624-2629, 2009.
4. Takeshita A, Asai T, Murakami M, Fujihara H, Ishizuka T, Nakai S, Yamada C, Suzumura T, Uchiyama Y, Maekawa M, Shigeno K, Washiyama N, Yamashita K, Unno N, Shinjo K: Effective blood utilization via system for massive blood transfusion, including cardiovascular operation in local areas. *Jpn J Transfusion Cell Therapy*. 55: 63- 67, 2009.
5. Takeshita A, Shinjo K, Yamakage N, Ono T, Hirano I, Matsui H, Shigeno K, Nakamura S, Tobita T, Maekawa M, Ohnishi K, Sugimoto Y, Kiyoi H, Naoe T, Ohno R: CMC-544 (inotuzumab ozogamicin) shows less effect on multidrug resistant cells: analyses in cell lines and cells from patients with B-cell chronic lymphocytic leukaemia and lymphoma. *Br J Haematol*. 146: 34-43, 2009.
6. Takeshita A, Yamakage N, Shinjo K, Ono T, Hirano I, Nakamura S, Shigeno K, Tobita T, Maekawa M, Kiyoi H, Naoe T, Ohnishi K, Sugimoto Y, Ohno R: CMC-544 (inotuzumab ozogamicin) , an anti-CD22 immuno-conjugate of calicheamicin, alters the levels of target molecules of malignant B-cells. *Leukemia*. 23: 1329-1336, 2009.
7. 竹下明裕, 浅井隆善, 村上勝, 藤原晴美, 石塚太三江, 中井さやか, 山田千亜希, 鈴木妙子, 内山幸則, 前川真人, 重野一幸, 鷺山直己, 山下克司, 海野直樹, 新庄香: 地方病院における大量輸血対応体制の構築と血液の有効利用. *日本輸血細胞治療学会誌* 55: 63-67, 2009.

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. Ito S, Yamashita M, Niimi T, Fujie M, Krishna VR, Totsuka H, Haritha B, Kasthuraiah MR, Nakamura S, Asai K, Suyama T, Yamashita J, Iguchi Y, Gang Y, Oshikawa T: Preparation and characterization of phospholenes and phospho sugars as novel anti-cancer agents. heterocyclic communications. 15: 23-30, 2009.
2. Fujita H, Yoshida M, Miura K, Sano T, Kito K, Takahashi M, Shigeno K, Kanda Y, Akiyama N, Hatsumi N, Ohnishi K, Miyawaki S, Naoe T: Management of infection in patients with acute leukemia during chemotherapy in Japan: questionnaire analysis by the Japan Adult Leukemia Study Group. Int J Hematol. 90: 191-198, 2009.

(3) 総 説

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. Satoh H, Matsui S, Hayashi H: Non-genomic effects of aldosterone on intracellular ion regulation and cell function in the heart. *Vascular Disease Prevention* 6: 142-147, 2009.
2. 林 秀晴 (監訳): 特定非営利活動法人マルファン協会: マルファン症候群: 臨床診断と管理. p1-p14. 2009. (Marfan syndrome: clinical diagnosis and management. Eur. J. Hum. Genet. 15: 724-733, 2007)
3. 林 秀晴: 高血圧治療の実際. 合併症を伴う高血圧症の薬物治療. 脳血管障害. 医学と薬学 62: 39-44. 2009.
4. 小川法良: シェーグレン症候群と全身性IgG4関連疾患. 静岡市清水医師会報 299: 12-14, 2009.
5. 小川法良: 関節リウマチと鑑別の困難な疾患. 中部リウマチ 40 (1) :1-7, 2009.
6. 小川法良, 山田雅人, 飯笹泰蔵, 田中泰弘, 三宅信昌, 坪井声示, 澤野 浩, 大橋弘幸, 影山康德, 太田策啓: 静岡リウマチネットワークー診療効率向上と標準治療の普及を目指してー. 臨床リウマチ 21 (4): 427-433, 2009.
7. 重野一幸, 大西一功: 急性前骨髄球性白血病における亜ヒ酸治療の実際. 血液・腫瘍科 58: 713-719, 2009

#### (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. 林 秀晴：冠動脈血栓溶解療法. 循環器疾患最新の治療. 2008-2009. 南江堂. p117-120, 2008
2. 加藤秀樹, 竹下明裕：亜ヒ酸による心毒性の予防と治療. 白血病治療マニュアル改訂第三版 p 222-225, 2009
3. 小川法良：免疫異常. シェーグレン症候群の診断と治療マニュアル. 診断と治療社：pp28-37, 2009.
4. 下山久美子, 小川法良：シェーグレン症候群. 薬局2009年3月増刊号 病気と薬パーフェクトBOOK2009 南山堂 60(4):pp. 678-680, 2009.

##### 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. 重野一幸, 大西一功：ゼパリン. 西条長宏, 西尾和人編 癌薬物療法update 2010-2011. 中外医学社 pp223-228, 2009.

#### (5) 症例報告

##### 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. 下山久美子, 澤田 仁, 木本 理, 鈴木大介, 小川法良：難治性咽喉頭潰瘍に白血球除去療法が奏功したベーチェット病の1例. 臨床リウマチ 21(2):163-168, 2009.  
インパクトファクターの小計 [0.00]

##### 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. 倉田健太郎, 浅井竜彦, 小出健郎, 朝岡 亮, 小川法良, 大橋弘幸, 堀田喜裕：インフリキシマブが奏効したBehcet病の1例. 臨床眼科 63(6):973-979, 2009.  
インパクトファクターの小計 [0.00]

#### 4 特許等の出願状況

	平成21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21年度
(1) 文部科学省科学研究費	5件 ( 270万円)
(2) 厚生労働科学研究費	1件 ( 30万円)

(3) 他政府機関による研究助成	0件 ( 0万円)
(4) 財団助成金	0件 ( 0万円)
(5) 受託研究または共同研究	6件 (297.65万円)
(6) 奨学寄附金その他 (民間より)	19件 ( 1821万円)

(1) 文部科学省科学研究費

- (ア) 林 秀晴 (代表者) 基盤研究(C) ミトコンドリアと核のクロストーク：イノシトール三リン酸受容体を介するシグナリング
- (イ) 早乙女雅夫 (代表者) 基盤研究(C) インスリン抵抗性心筋細胞における基質代謝変化とトランスポーターの働き
- (ウ) 小川法良 基盤C、ゲノム解析に基づくNSAID潰瘍高リスク群の設定およびその効率的な予防戦略の確立，平成21年4月～平成23年3月，5万円
- (エ) 中村悟己 基盤研究(C) 単糖骨格由来合成化合物の造血器腫瘍治療薬開発に関する研究，182万円
- (オ) 中村悟己 挑戦的萌芽研究 がんの超早期発見・早期治療を可能にする複合機能化MRI造影剤・抗がん剤の基礎研究，50万円

(2) 厚生労働省科学研究費

小川法良 抗好中球細胞質抗体 (ANCA) 「関連血管炎の寛解導入治療の現状とその有効性と安全性に関する観察研究」岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・病態制御科学専攻病態機構学講座・教授・榎野博史，平成20年4月～平成26年3月，研究協力者，30万円

(5) 受託研究または共同研究

林 秀晴：エーザイ (株)	85万円
林 秀晴：第一三共	21.45万円
佐藤 洋：武田薬品工業 (株)	42.9万円
佐藤 洋：大日本住友製薬 (株)	12.8万円
漆田 毅：第一三共	14.3万円
学校心電図判読	121.2万円

## 7 学会活動

	国際学会	国内学会
(1) 特別講演・招待講演回数	0件	0件
(2) シンポジウム発表数	0件	0件
(3) 学会座長回数	0件	5件
(4) 学会開催回数	0件	0件
(5) 学会役員等回数	1件	21件
(6) 一般演題発表数	10件	

(1) 国際学会等開催・参加

5) 一般発表

口頭発表

1. Satoh H, Kawashima H, Saotome M, Urushida T, Katoh H, Hayashi H: Protein Phosphatase Inhibitor-1 can Augment a Protein Kinase A-dependent Increase in the SR Ca<sup>2+</sup> Loading Without Changing the SR Ca<sup>2+</sup> Release. The 26<sup>th</sup> Annual Meeting of the ISHR, 2009/12, Sapporo.
2. Katoh H, Tanaka T, Saotome M, Urushida T, Satoh H, Hayashi H: Modulation Of Mitochondrial Permeability Transition Pore By CaM/CaMKII And GSK3b. The 26<sup>th</sup> Annual Meeting of the ISHR, December, 2009, Sapporo

ポスター発表

1. Kimoto O, Sawada J, Suzuki D, Shimoyama K, Nakamura S, Ogawa N : Interferon-inducible gene expression signature in whole peripheral blood of patients with Sjogren's Syndrome. 10<sup>th</sup> International Symposium on Sjogren's Syndrome. 2009/10, Brest, France
2. Ogawa N, Sawada J, Suzuki D, Shimoyama K : A case of secondary Sjogren's Syndrome with rheumatoid arthritis treated with tocilizumab. 10<sup>th</sup> International Symposium on Sjogren's Syndrome. 2009/10, Brest, France
3. Shimoyama K, Sawada J, Kimoto O, Suzuki D, Ogawa N : A case of progressive myocardial disease complicated with Sjogren's syndrome. 10<sup>th</sup> International Symposium on Sjogren's Syndrome. 2009/10, Brest, France Nakamura S, Takemura T, Yokota D, Hirano I, Ono T, Shigeno K, Fujisawa S, Shinjo K, Ohnishi K: Identification of target molecules and anti-leukemic effects of novel phospho sugar derivative, TMPP. 51<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Society of Hematology. December, 2009. New Orleans, LA, USA.
4. Nakamura S, Yamashita M, Yokota D, Hirano I, Ono T, Fujie M, Shigeno K, Shinjo K, Ohnishi K: Development and pharmacologic characterization of deoxybromophospho sugar derivatives with anti-leukemic effects: Inhibition of cell cycle progression through FoxM1 regulation. 100<sup>th</sup> Annual Meeting of American Association for Cancer Research. April, 2009. Denver, Colorado, USA.
5. Satoh H, Matoh F, Shiraki K, Saitoh T, Odagiri K, Saotome M, Urushida T, Katoh H, Hayashi H: Delayed Enhancement on cardiac magnetic resonance and clinical, morphological and ECG features in hypertrophic cardiomyopathy. 17<sup>th</sup> Asian Pacific Congress of Cardiology. 2009/5, Kyoto.

6. Kato H, Tanaka T, Saotome M, Urushida T, Satoh H, Hayashi H: PKA Inhibited The Opening of Mitochondrial Permeability Transition Pore Induced by cytosolic glycogen synthase kinase 3- $\beta$  (GSK3- $\beta$ ). Biophysical Society 53<sup>th</sup> Annual Meeting, February, 2009, Boston, USA
7. Saotome M, Das S, Hayashi H, Hajnoczky H: Bidirectional Ca<sup>2+</sup>-dependent control of mitochondrial dynamics by the mitochondrial RhoGTPase, Miro: Biophysical Society 53<sup>th</sup> Annual Meeting, 2009. 3, Boston
8. Saotome M, Hajnoczky H, Hayashi H: Reactive Oxygen Species (ROS) control mitochondrial motility: ESC congress 2009. 8, Barcelona

(2) 国内学会の開催・参加

4) 座長をした学会名

- 林 秀晴：第73回日本循環器学会総会 2009.3 大阪
- 林 秀晴：第32回心筋代謝研究会 2009.7 大阪
- 小川法良：第37回日本臨床免疫学会総会 東京 2009年11月13-15日.
- 佐藤 洋：第73回日本循環器学会総会 2009.3 大阪
- 佐藤 洋：第133回日本循環器学会東海地方会 2009.6 津

(3) 役職についている国際・国内学会名とその役割

- 林 秀晴：日本循環器学会 評議員
- 林 秀晴：日本内科学会 評議員
- 林 秀晴：国際心臓研究学会日本部会 評議員
- 林 秀晴：The Japan Section Council of the International Academy of Cardiovascular Sciences
- 林 秀晴：日本生理学会 評議員
- 林 秀晴：日本心不全学会 評議員
- 林 秀晴：日本適応医学会 評議員
- 林 秀晴：日本心臓病学会特別正会員 (FJCC)
- 林 秀晴：日本高血圧学会 評議員
- 林 秀晴：心筋代謝研究会 評議員
- 林 秀晴：日本高血圧学会評議員
- 林 秀晴：日本循環器学会東海支部 幹事
- 小川法良：日本リウマチ学会専門医資格認定試験問題作成委員
- 小川法良：日本リウマチ学会評議員
- 小川法良：中部リウマチ学会評議員
- 小川法良：日本臨床免疫学会評議員



小川法良：日本炎症再生医学会評議員  
 小川法良：日本臨床リウマチ学会評議員  
 小川法良：分子リウマチ編集委員  
 佐藤 洋：日本循環器学会 評議員  
 佐藤 洋：日本循環器学会東海地方会 評議員  
 加藤秀樹：日本循環器学会東海地方会 評議員

## 8 学術雑誌の編集への貢献

	国内	外国
学術雑誌編集数（レフリース数は除く）	3件	0件

### (1) 国内の英文雑誌の編集

Associate Editor of Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, Canada.

（インパクトファクター：1.567）

Editorial Board of Experimental and Clinical Cardiology, The Journal of International Academy of Cardiovascular Sciences, Canada.

Editorial Board of Circulation Journal, Japan. （インパクトファクター：2.692）

### (3) 国内外の英文雑誌のレフリース

中村悟己：Journal: Cancer Science（Japan） 1回

中村悟己：Human Gene Therapy（USA） 1回

佐藤 洋：Heart and Vessels（Japan） 1回

## 9 共同研究の実施状況

	平成21年度
(1) 国際共同研究	0件
(2) 国内共同研究	5件
(3) 学内共同研究	2件

### (2) 国内共同研究

1. 小川法良 抗セントロメア抗体陽性シェーグレン症候群の診断・治療法確立のための前方視的登録と追跡調査（金沢大学との共同研究）
2. 小川法良 血管炎を中心とした自己免疫疾患の病因解明（聖マリアンナ医大との共同研究）
3. 小川法良 北米血管炎グループ（VCRC）との共同研究による全身性血管炎における疾患特異的マーカーの検出：抗血管内皮細胞抗体の対応抗原からのアプローチ（聖マリアンナ医大との共同研究）
4. 山下光司（静岡大学創造科学技術大学院）合成化合物による新規抗癌剤開発
5. 曾我朋義（慶応義塾大学先端生命科学研究所） 細胞のメタボローム解析

### (3) 学内共同研究

1. 小川法良 ゲノム解析による個別化治療の推進（消化器内科との共同研究）
2. 中村悟己：北川雅敏（生化学第一）リンパ系腫瘍の分化・増殖機構の解明，平成21年4月から平成22年3月，研究の補助

## 10 産学共同研究

	平成21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. 造血器腫瘍における新規分子標的治療薬の開発

我々は初めて糖のヘミアセタール環内酸素残基をリン残基で置き換えたリン糖誘導体を化学合成し、約500種類の非天然化合物の中から優位に白血病細胞増殖を抑制したTMPP; 2,3,4-tribromo-3-methyl-1-phenyl phospholane 1-oxideとDMPP; 2,3-bibromo-3-methyl-1-phenyl phospholane 1-oxideの生理活性を明らかにしました。これらの化合物は（1）白血病細胞において10~50 $\mu$ Mの濃度で細胞増殖抑制効果を示しました。（2）白血病細胞にアポトーシスを高率に誘導しました。

（3）正常単核球に対する細胞毒性は軽度でした。また、標的蛋白質との立体構造上での結合能をコンピューター上でシミュレーションを行い、細胞周期蛋白質であるAurora kinase B、細胞生存に関与するSurvivinとの優位な結合が示されました。

### 2. 慢性骨髄性白血病におけるBcr-Ablキメラ蛋白質の新規制御タンパク質の解析

(1) Aktの脱リン酸化酵素として同定されたPHLPP1と2はリン酸化Aktの脱リン酸化を介してAktの細胞増殖シグナルを抑制しているが、CML細胞でのPHLPP1,2の機能は不明である。我々は、CML細胞におけるPHLPP1,2発現とAktのリン酸化、CML細胞増殖への影響を検討した。CML細胞ではAblキナーゼ阻害剤処理やBcr-AblのノックダウンによりPHLPP1,2mRNAと蛋白質の発現増加が認められた。

また、PHLPP1の発現に伴いp-Ser473 Akt2,3の減少が、PHLPP2の発現に伴いp-Ser473 Akt1,3の減少が認められた。Ablキナーゼ阻害剤はPHLPP1,2を発現誘導し、p-Ser473 Akt isoformsを減少させた。PHLPP1,2のノックダウンによりAblキナーゼ阻害剤処理による細胞増殖抑制効果は減弱した。Bcr-Abl陽性造血前駆細胞でもBcr-AblノックダウンやAblキナーゼ阻害剤処理によりPHLPP1,2の発現が亢進し、コロニー形成も抑制された。以上より、PHLPP1,2の発現誘導がCML細胞の増殖制御に有効であると考えられた。また、Bcr-Abl陽性前駆細胞においてもPHLPP1,2の発現誘導が細胞増殖制御の標的になる可能性が示唆された。（Hirano I, et al: J Biol Chem. 284 (33): 22155-22165, 2009.）

(2) RKIP (Raf kinase inhibitor protein) はRaf-1を阻害することにより、細胞増殖、アポトーシス、細胞周期制御し、その発現低下が腫瘍細胞の増殖を促進させるが、白血病細胞におけるその機能は不明である。CML細胞ではRKIPの発現抑制が認められ、Ablキナーゼ阻害剤処理やBcr-Ablのノックダウンにより、RKIP mRNAの発現増加が認められた。また、RKIPノックダウンにより

Ablキナーゼ阻害剤によるCML細胞増殖抑制効果は減弱し、Erk1/2の持続的なリン酸化が認められた。逆にRKIP過剰発現によりp27, p21の蓄積とG1 停止が認められ、Erk1/2のリン酸化の減少、CML細胞増殖が抑制された。CML由来造血前駆細胞でもBcr-AblノックダウンやAblキナーゼ阻害剤処理によりRKIP mRNAの発現が亢進し、コロニー形成も抑制された。CML細胞において、Bcr-AblはRKIPの発現を抑制することによりRaf-1による細胞周期促進、細胞増殖シグナルが亢進していることが示唆された。また、RKIPの発現誘導がCML由来造血前駆細胞の増殖制御にも有効であると考えられた。(Takemura T, et al: J Biol Chem. 285(9):6585-6594, 2010.)

### 3. がん幹細胞におけるメタボローム解析と代謝阻害剤の開発

キャピラリー電気泳動質量分析装置によるメタボローム解析により細胞内でのエネルギー代謝を網羅的に解析する技術が確立され、癌細胞におけるメタボローム解析から代謝経路を阻害する治療剤が開発が今後行われていくことが予想される。白血病細胞における治療標的として、Bcr-Ablに代表される、白血病細胞における増殖シグナル制御因子、表面抗原、転写因子などを標的とした治療薬の開発が盛んにおこなわれている。我々は白血病幹細胞を特異的な標的とし、副作用の少ない治療薬の開発を目指している。これまで行われていない、白血病幹細胞のエネルギー代謝をメタボロミクス解析技術により解析し、エネルギー代謝から白血病幹細胞特異的な代謝経路を同定し、新たな治療標的、治療薬剤の開発を行うことを目的とする。

### 4. 造血器腫瘍における細胞周期制御機構の解明

がん遺伝子c-Mybは造血と造血器悪性腫瘍の両者に深く関与している。その発現は転写制御のみならずユビキチン-プロテアソーム経路により制御されているが、詳細は不明である。この研究で、Fボックス蛋白質であるFbw7がc-Mybと結合し、ユビキチン化と分解を促進することを見出しました。また、c-MybのThr-572のリン酸化がFbw7によるユビキチン化に必須であることも明らかにしました。

これらの結果から、Fbw7ユビキチンリガーゼはc-Myb蛋白質のリン酸化依存的な分解を制御していることが明らかになりました。(Kitagawa K, et al: Oncogene 28(25):2393-405, 2009.)

#### 1. 心筋細胞内Ca<sup>2+</sup>ホメオスタシス機構の画像解析

心不全における心臓の収縮・拡張機能障害の原因として、心筋細胞のCa<sup>2+</sup>代謝の異常が提唱されている。不全心筋では、(1) SR Ca<sup>2+</sup> ATPase (SERCA) によるCa<sup>2+</sup>取込みの低下、(2) SR Ca<sup>2+</sup>放出channelからのFK506-binding protein (FKBP) の解離によるCa<sup>2+</sup>漏出の増加、及び(3) Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup>交換を介するCa<sup>2+</sup>排出の代償的増加が示されている。最近、SERCAの活性化薬であるMCC-135が心筋の収縮・拡張能を改善すること (Sato, 2001) が報告された。また、Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup>交換の不完全抑制が心不全細胞のCa<sup>2+</sup>代謝を改善すること (Hobai, 2004) も報告され、最近のKB-R7943, SEA0400, SN-6など、Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup>交換に特異的な阻害薬の開発とあわせて、心不全治療への応用が期待される。

正常ラット心筋細胞において、SERCA活性化薬であるMCC-135の細胞内Ca<sup>2+</sup> transientと収縮に及ぼす効果を検討したが、残念ながら期待した陽性変力作用は認められなかった。一方、SN-

6はモルモット心筋細胞において特異的に $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換の $\text{Ca}^{2+}$ 流入モードを阻害して、 $\text{Ca}^{2+}$ 過負荷の予防に有用であることが示された。また、他の $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換阻害薬であるSEA0400は、ラット虚血/再灌流心において、収縮力、エネルギー代謝の回復を促進させる効果が認められた。MCC-135にかわる治療として、最近、蛋白脱リン酸化酵素の阻害薬であるInhibitor-I, Inhibitor-IIがSERCAにおけるphospholambanのリン酸化を介してSR  $\text{Ca}^{2+}$ 取り込みを選択的に活性化することが報告されている。サポニンにて処理したスキンド心筋細胞を使用し、Inhibitor-Iがprotein kinase A投与時のSERCAによるSR  $\text{Ca}^{2+}$ 取り込みを増大させるが、 $\text{Ca}^{2+}$  sparkにより評価されるSRからの $\text{Ca}^{2+}$ 放出を促進せず、結果としてSR  $\text{Ca}^{2+}$ 含量を増加させることを示した。

今回の研究により、心不全細胞における $\text{Ca}^{2+}$ 代謝異常に対して、 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換阻害薬および蛋白脱リン酸化酵素阻害薬が有効である可能性が示された。今後は、より生理的な条件でこれらの阻害薬を試み、臨床応用への可能性を検討する予定である。

## 2. 心室筋細胞におけるミトコンドリア機能の画像的解析

ミトコンドリア内 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度 ( $[\text{Ca}^{2+}]_m$ ) は、ミトコンドリア機能の調節だけでなく、細胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 動態や細胞のhomeostasisの調節においても重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。一方、ミトコンドリア内膜に存在するpermeability transition pore (mPTP) の開口は、内膜の透過性を一過性に亢進させることにより、細胞のapoptosisやnecrosisと関連していることが報告され、虚血・再灌流障害時の細胞障害の機構としても重用である。 $[\text{Ca}^{2+}]_m$ はmPTPの開口促進因子として知られており、病態生理時における $[\text{Ca}^{2+}]_m$ の役割の一つとして注目されている。これまでの $[\text{Ca}^{2+}]_m$ に関する研究の多くは、単離ミトコンドリアを用いた生化学的手法によって $[\text{Ca}^{2+}]_m$ の測定を行ったものであるが、より生理的な条件で $[\text{Ca}^{2+}]_m$ 動態を観察するためには、細胞レベルでの $[\text{Ca}^{2+}]_m$ の測定法を確立する必要がある。我々は、カルシウム感受性蛍光色素であるrhod-2をラット心室筋細胞に負荷した後に、細胞膜をサポニンにより化学的に除去(permeabilize)してミトコンドリアを選択的にloadingし、共焦点レーザー顕微鏡を用いて蛍光強度を測定することにより $[\text{Ca}^{2+}]_m$ の測定方法を確立した。また、我々は心筋細胞において、蛍光色素のcalceinを用いてmPTPの開口を画像法で評価する方法を報告しており、この方法をskinned myocyteに応用することで、ミトコンドリア内膜の膜電位、 $[\text{Ca}^{2+}]_m$ とmPTPとの関係について報告した。この研究により、 $[\text{Ca}^{2+}]_m$ の動態とその調節機構について細胞レベルでの解析が可能となり、さらに $[\text{Ca}^{2+}]_m$ とmPTPとの関係を明らかにした。これらの研究は世界で始めて可能となったものである。

その他、培養血管内皮細胞の $\text{Ca}^{2+}$ 調節機構における細胞内情報伝達系や、気管平滑筋における収縮と $\text{Ca}^{2+}$ 調節機構に関する研究において成果を挙げている。

## 3. 心室筋細胞におけるナトリウム濃度、 $\text{Na}/\text{Ca}$ 電流の解析と、病態生理学的役割の研究

i)  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換機構 (NCX) は、細胞膜の両方向性のイオン輸送蛋白であり、細胞膜内外の $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度勾配および膜電位により輸送様式が変化する。心筋細胞の興奮収縮連関においてNCXは、生理的には主に $\text{Ca}^{2+}$ 排出に働くが、虚血/再灌流などの病態においては、NCXを介する $\text{Ca}^{2+}$ 流入の増加が $\text{Ca}^{2+}$ 過負荷をきたす原因となる。近年、ベンジルオキシフェニール構造

を有するNCXの選択的阻害薬が数種類開発されたが、我々はNCXに最も選択性が強いとされるSEA0400を用いて、虚血/再灌流心モデルにおける機能的および代謝的保護効果を検討した。その結果、(1) SEA0400が、心筋の活動電位に影響することなく、NCX電流を両方向性に抑制する、(2) SEA0400は、基礎心機能には影響しないが、虚血/再灌流後の心機能およびエネルギー代謝の回復を改善し、これらの回復には相関がある、(3) SEA0400は、再灌流時のみの投与でも心機能とエネルギー代謝の改善に有効である、(4) SEA0400の前投与は、再灌流不整脈を増加させる可能性がある。以上より、SEA0400を含むNCXの選択的阻害薬は、虚血/再灌流後の心機能とエネルギー代謝の改善に有効である。しかし、頻拍性再灌流不整脈を増加させる可能性を考慮する必要がある。

- ii) アルドステロンの作用には、レセプターと結合して核内に移動し、DNAと結合して情報伝達計の蛋白合成を行うゲノム作用と、蛋白合成を介さない迅速な反応を引き起こす非ゲノム作用がある。我々は、蛍光色素と共焦点レーザー顕微鏡を用いた研究で、ラット心室筋細胞において、(1) アルドステロンが5分以内の短時間で $[Na^+]_i$ を増加させる（非ゲノム作用）、(2) その経路として $Na^+/K^+/2Cl^-$ 共輸送機構と $Na^+/H^+$ 交換機構が関与する、(3) アルドステロンによる $[Na^+]_i$ の上昇が、 $Ca^{2+}$  transientの上昇或いは収縮力増強をきたさず、むしろ細胞容積を増大させ細胞腫大と関係する、という結果を得ている。

#### 4. 心筋症の鑑別、重症度評価における心臓核磁器共鳴 (MRI) の有用性

肥大型心筋症 (HCM) は種々な形態、機能、臨床像をきたす疾患群である。HCMの中で、左室の拡張と収縮障害をきたす拡張相HCMは、組織障害が強く、心不全や致死的不整脈を合併して予後不良である。また、拡張相HCMの臨床像および形態は拡張型心筋症 (DCM) と類似しているため、鑑別が困難であることが多い。遅延造影磁気共鳴画像 (DE: delayed enhancement - MRI) により心筋病変を詳細かつ非侵襲的に描出することが可能となり、種々の心疾患に応用されている。我々は、(1) HCMではDCMに比較してDEを生じた症例が多く、DEが生じた部位としては左室前壁中隔領域が多い、(2) HCMにおいては、左室機能低下例でDE量が大きく、DE量と左室の拡大、収縮能低下に有意な相関がある、(3) DEがHCMにおける将来の左室機能低下の予測に有用であることを示した。DE-MRIは、HCMの心機能評価、拡張相HCMへの進行度評価、および拡張相HCMとDCMの鑑別に有用である。今後、HCMおよびDCMの心事故りスクの階層化への応用が期待される。

### 13 この期間中の特筆すべき業績、新技術の開発

#### 1. 造血管腫瘍における新規分子標的治療薬の開発

初めて糖のヘミアセタール環内酸素残基をリン残基で置き換えたリン糖誘導体を化学合成し、その合成方法により既に特許を取得しています。この技術により新しい化合物の合成も進んでいます。

#### 2. 慢性骨髄性白血病におけるBcr-Ablキメラ蛋白質の新規制御タンパク質の解析

慢性骨髄性白血病細胞におけるBcr-Ablキメラタンパク質が、細胞内においてどのようなシグナ

ル経路に影響を与えているかをマイクロアレイから、候補遺伝子を抽出し、各々について機能解析を行っています。その成果はJBCへ2編acceptされています。

### 3. がん幹細胞におけるメタボローム解析と代謝阻害剤の開発

白血病幹細胞における自己複製と細胞生存の制御に重要な代謝経路の同定をメタボロミクス技術を用いて解析しています。

## 14 研究の独創性、国際性、継続性、応用性

1. 共焦点レーザー顕微鏡により、心筋細胞内の微小なCa信号 (Ca spark), Na信号, 細胞容積とミトコンドリアの膜電位の測定ができるようになり, 細胞機能への筋小胞体やミトコンドリアの関与が明らかになった。また, 生きた細胞を用いてのミトコンドリア内のCa<sup>2+</sup>濃度の測定を世界で初めて可能とした。また, ミトコンドリアのpermeability transition poreの画像化も確立したため, 細胞障害におけるミトコンドリア内Ca濃度, 細胞内代謝レベルとアポトーシスの関係も検討中である。この研究は世界でも始めて可能となったものである。
2. 造血器腫瘍における新規分子標的治療薬の開発
3. 国内および国外を含めて我々の合成技術により合成される化合物の報告はなく, 様々な化合物合成に応用が可能であり, 今後臨床応用へ向けた化合物合成, 生成を進めていきます。
4. 慢性骨髄性白血病におけるBcr-Ablキメラ蛋白質の新規制御タンパク質の解析
5. Bcr-Ablキメラタンパク質は多くの細胞増殖シグナルに影響を及ぼしていることが推測されている。我々はこれまでに報告のない, Bcr-Ablキメラタンパク質の下流で発現の増減が認められる遺伝子やタンパク質の機能解析を行っている。このことは病態解明の上で重要であり, 新しい標的分子や治療法の発展に寄与すると考えられます。
6. がん幹細胞におけるメタボローム解析と代謝阻害剤の開発
7. 癌細胞におけるワーバグ効果 (好氣的環境下でも酸化的リン酸化より解糖系依存的に代謝を行う現象) については造血器腫瘍のリンパ腫を含む様々な固形腫瘍で研究がされているが, 白血病幹細胞, 前駆細胞におけるエネルギー代謝についてはまだ報告はない。エネルギー代謝からみた白血病幹細胞のメタボローム解析は新しい治療への局面を開く可能性があると考えられる。

## 15 新聞、雑誌等による報道

1. 小川法良：リウマチテーマ 7月に公開講座 中区. 静岡新聞 (朝刊) 2009年 5月21日.
2. 小川法良：静岡リウマチネットワーク 市民公開講座. 静岡新聞 びぶれ浜松 2009年 6月11日.
3. 小川法良：リウマチ公開講座 来月4日最新治療法を講演 中区. 静岡新聞 (朝刊) 2009年 6月13日.
4. 最新のリウマチ治療法を紹介 中區で公開講座 静岡新聞 (朝刊) 2009年 7月7日.