

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23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)
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	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)(採用)(H15.7.1～現職)

大石健太郎(助教)(採用)(H14.7.1～現職)

大坪 正史(助教)(採用)(H17.8.1～現職)

3 研究業績

数字は小数2位まで。

	平成22年度
(1)原著論文数(うち邦文のもの)	6編 (0編)
そのインパクトファクターの合計	18.21
(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)	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)	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	0.00
-----------------	------

(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. Ohtsubo M, Sato M, Hikoya A, Hosono K, Minoshima S, Hotta Y: Case of Japanese patient with x-linked ocular albinism associated with GPR143 gene mutation. *Jpn J Ophthalmol.* **54**(6):624-6, 2010.

インパクトファクターの小計 [1.27]

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. Nakanishi H, Ohtsubo M, Iwasaki S, Hotta Y, Takizawa Y, Hosono K, Mizuta K, Mineta H, Minoshima S: Mutation analysis of the MYO7A and CDH23 genes in Japanese patients with Usher syndrome type 1. *J Hum Genet.* **55**(12):796-800, 2010.
2. Nakanishi H, Ohtsubo M, Iwasaki S, Hotta Y, Mizuta K, Mineta H, Minoshima S: Hair roots as an mRNA source for mutation analysis of Usher syndrome-causing genes. *J Hum Genet.* **55**(10):701-3, 2010.
3. Hosono K, Noda S, Shimizu A, Nakanishi N, Ohtsubo M, Shimizu N, Minoshima S: YPEL5 protein of the YPEL gene family is involved in the cell cycle progression by interacting with two distinct proteins RanBPM and RanBP10. *Genomics.* **96**(2):102-11, 2010.
4. Sawada M, Sato M, Hikoya A, Wang C, Minoshima S, Azuma N, Hotta Y: A case of aniridia with unilateral Peters anomaly. *J AAPOS.* **15**:104-6, 2011.

インパクトファクターの小計 [10.05]

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. Kawamura T, Ohtsubo M, Mitsuyama S, Ohno-Nakamura S, Shimizu N, Minoshima S: KMeyeDB: a graphical database of mutations in genes that cause eye diseases. *Hum Mutat.* **31**(6):667-74, 2010.

インパクトファクターの小計 [6.89]

(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, Kawaguchi K, Mitsuyama S, Shimizu N, Minoshima S: KMeyeDB: A Comprehensive Mutation Database for Genetic Eye Diseases on the MutationView Platform. *The Proceeding of the 2010 Annual Conference of the Japanese Society for Bioinformatics*, pP074:1-2, 2010.

(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. 蓑島伸生、大坪正史、清水信義：日本臨床 2010 年 8 月増刊号 **68**(8)「遺伝子診療学 遺伝子診断の進歩とゲノム治療の展望」：遺伝子変異データベース、日本臨床社 (大阪)、pp. 150-

4 特許等の出願状況

	平成22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22年度
(1)文部科学省科学研究費	3件 (535万円)
(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	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(新規・平成22～24年度)(22年度分:130万円)。

大坪正史 (代表者) 大石健太郎, 細野克博 基盤研究 (C) 「緑内障の分子機構追究: オプチニューリン結合蛋白の in utero 機能抑制解析」360万円(継続・平成21～23年度)(22年度分:60万円)。

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」(新規・平成22～24年度)(22年度分:345万円)

7 学会活動

	国際学会	国内学会
(1)特別講演・招待講演回数	1件	3件
(2)シンポジウム発表数	0件	1件
(3)学会座長回数	0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	2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: Medical application of photonics in Hamamatsu University School of Medicine : A recent decade and next steps. *The 10th Kyungpook-Hamamatsu Joint Medical Symposium Hamamatsu Meeting*. (Plenary Lecture) 17th Sep., 2010. Hamamatsu.

5) 一般発表

口頭発表

1. Minoshima S: Establishing a mouse cell line from a tumor developed with SV40 Large T antigen driven by a photoreceptor-specific gene promoter. *The 10th Kyungpook-Hamamatsu Joint Medical Symposium Hamamatsu Meeting*. (Satellite Symposium) 17th Sep., 2010. Hamamatsu.
2. Hosono K, Wang CX, Nakanishi N, Hotta Y, and Minoshima S: Fine analysis of the deletions in red/green opsin genes and the upstream locus control region (LCR) found in two Japanese families with blue cone monochromacy (BCM), *ISGEDR2011*. Jan., 2011, Bangalore (India).

(2) 国内学会の開催・参加

2) 学会における特別講演・招待講演

1. 大石健太郎：ラット網膜光障害感受性の責任遺伝子探索、*鳥取大学医学部生命科学科創立20周年記念講演会*、2010.10.16 米子
2. 大石健太郎：ラット網膜光障害の感受性遺伝子検索のための遺伝学的アプローチ：網膜変性疾患の発症機序解明に向けて、*第1回 聖隷眼科勉強会*、2011.1.8 浜松
3. 蓑島伸生、大石健太郎、森圭介、吉村長久、尾花明：パネルディスカッション＜黄斑変性＞（パネラー）、*第1回 聖隷眼科勉強会*、2011.1.8 浜松

3) シンポジウム発表

1. 蓑島伸生：世界最初の22番染色体解読の現状と細胞分裂制御遺伝子群の発見、*第33回日本分子生物学会年会（ワークショップ4W18-p）*（指定演者）、2010.12 神戸

4) 座長をした学会名

1. 蓑島伸生：ヒトゲノム解析は終わっていない：予期せぬ新たな発見とゲノムの神髄を求めて、*第33回日本分子生物学会年会（ワークショップ4W18-p）*（オーガナイザー・座長）、2010.12 神戸
2. 蓑島伸生：がんの遺伝子診断、*第17回日本遺伝子診療学会（一般演題セッション）*、2010.8 津

(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 編集委員

8 学術雑誌の編集への貢献

	国内	外国
学術雑誌編集数(レフリー数は除く)	0件	0件

(3) 国内外の英文雑誌のレフリー

1. 蓑島伸生：Human Mutation（米国） 2回

2. 蓑島伸生：Molecular Vision（米国） 2回

9 共同研究の実施状況

	平成22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	3件

(2) 国内共同研究

- 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
- 清水信義（慶應義塾大学 先端研 GSP センター）：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／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／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
- 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
- 加藤幹男（大阪府立大学 理学部 生物科学科）：DNA 三重鎖結合蛋白の解析
- 産業技術総合研究所：大量 cDNA 塩基配列情報の体系的解析によるヒトゲノムからの知識発見

(3) 学内共同研究

- 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）
- 耳鼻咽喉科：難聴関連疾患の原因遺伝子追究と突然変異の解析
- 精神科：CNV マイクロアレイ解析（自閉症遺伝子探索）

12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

1. 緑内障発症機序および新規原因遺伝子の追究

緑内障原因遺伝子のひとつであるオプチニューリン（OPTN）に関して以下のように研究を進めた。

(1) OPTN によるタンパク品質管理系制御の可能性の検討（SLC4A2 変異の検討）：

培養細胞への OPTN との共遺伝子導入により空胞様異常構造（Vacuole）形成を誘導するタンパクとして SLC4A2 を見出している。また、この遺伝子について、緑内障原因遺伝子候補領域のマッピングに用いた家系検体を用いて、アミノ酸置換を伴う塩基変化（G26E）を同定している。本年度は、この塩基変化のタンパクに対する影響を検討した。G26E を持つ SLC4A2 は野生型と異なり、OPTN との共導入に伴い、部分分解を受けることを見出した。関与する分解系についても検討している。

（大坪正史）

(2) **NEMO** と **OPTN** の比較解析：

OPTN と、機能およびアミノ酸配列の相同性を有する NEMO タンパクとの比較検討を試みた。それぞれを相同性で規定した領域を欠如する 4 種類の OPTN 変異体 Lc1st ~ 4th を作製した。

[発現と局在の確認]：培養細胞へ導入した結果、OPTN にのみ存在する領域を欠く変異体 Lc2nd のみ、正常型の細胞質に加え、核にも局在することを見出した。核輸送機構、拡散的局在変化について検討している。

[NFκB 活性]：ルシフェラーゼの活性を指標としたレポーター遺伝子アッセイを行い、NFκB の転写因子活性を検出した。TNFα 刺激による NFκB 活性化を、野生型および Lc1st ~ 3rd は抑制した。C 末端側の第 4 領域を欠如する Lc4th は抑制能が損われていた。同領域は、ユビキチン結合領域を含み、IKK 複合体との結合を介して NFκB 活性化を担う、NEMO と最も相同性が高い領域である。競合的な阻害能が損なわれたことによると考えられた。

(高 潔*、大坪正史) *大学院生

(3) **OPTN** と核内タンパク (**NRL**) の結合部位の確認：

OPTN 結合タンパクとして、視細胞の分化に関する核内タンパク (NRL) を同定している。本年度は、OPTN-NRL の結合に関して、培養細胞への共遺伝子導入および細胞質/核の分画後の共免疫沈殿の結果から、核内で結合していること、OPTN の UBD ドメインを含む第 4 領域と NRL の bZIP ドメインを含む後半領域を介して結合していることを見出した。

(大坪正史)

(4) **OPTN** と相互作用する核内タンパクの結合の可視化の検討：

前項の検出は *in vitro* の系である。別途、OPTN と相互作用するタンパク質の細胞内 (核内) での結合について、顕微鏡による可視化をおこなうことを試みた。可視化には、PLA (Proximity Ligation Assay) 法を用いた。PLA 法では、ふたつのタンパクが近接 (約 40 nm 以内) した場合のみ、ポジティブシグナルが得られる。共遺伝子導入した細胞における OPTN-NRL の結合は、ポジティブシグナルとして核内で特異的に検出された。

(大坪正史)

2. 加齢黄斑変性責任遺伝子の探求：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

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 (網膜光障害実験モデル)。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。前年度までに、我々は光障害感受性系統と耐性系統を交配し、F-1 ラットを作製し、光障害感受性が耐性に対して常染色体優性遺伝形質であることを明らかにした。そして、F-1 と劣性系統 (耐性) を戻し交配して作製した戻し交配第 1 世代 (BC-1) ラット群から感受性 BC-1 個体を選出し、さらに戻し交配するサイクルによる「連続戻し交配」を行っている。感受性表現型判定には、成熟戻し交配ラットに対して必要量の光を照射した

のちに、モリス水迷路により視機能査定を実施している。感受性 BC-*n* ラットによる連続戻し交配は、現在も引き続き実施中である。

本年度は、感受性系統、耐性系統、F-1、BC-1、BC-4 ラットの網膜変性の病理組織学的な解析もおこなった。各個体から眼球を摘出後、凍結包埋し、保管しておいた凍結ブロックから凍結切片を切り出し、ヘマトキシリン-エオシン染色による病理標本を作製した。得られた切片のうち、矢状面かつ視神経乳頭部を含むものを観察した。視細胞や色素上皮細胞の変性・消失していた領域の長さの網膜全体の長さに対する割合を計測し、水迷路実験の泳ぎの所要時間との関係について検討した。また、前年度、網膜光障害感受性に関わる責任染色体領域のマッピングにより、2 染色体のそれぞれ 10 Mb ほどの 2 領域にまで絞り込んでいたので、責任遺伝子領域の DNA 多型との関連についても検討した。

(大石健太郎)

3. 遺伝性・先天性眼疾患の遺伝子解析

網膜色素変性症 (**Retinitis Pigmentosa, RP**)

本学眼科を受診した孤発例と常染色体劣性 (ar) の RP 患者より末梢血を収集し、DNA の抽出を行った。近年他国の arRP 家系で頻度が高いと報告されている原因遺伝子 USH2A 遺伝子について変異解析を行う。本年度は日本人のアッシャー症候群症例を用いた検討で変異が存在した 11 種類のエキソンを優先的に変異検索を行った。

(趙 洋*, 細野克博、堀田喜裕) * 眼科大学院生

4. 本邦におけるアッシャー症候群患者の遺伝子解析

アッシャー症候群は、感音難聴に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。難聴に視覚障害を合併する疾患は約 40 種類知られているが、本疾患は全患者数の約半数を占める最多の疾患である。現在までに、アッシャー症候群の原因遺伝子として 9 種類の遺伝子が報告されており、欧米では本疾患患者の遺伝子解析が進んでいるが、日本人症例ではあまり遺伝子解析が進んでいない。

本年度は、5 人の患者においてアッシャー症候群タイプ 1 の原因遺伝子である MYO7A と CDH23 の遺伝子解析を行った。5 人中 4 人の患者において、MYO7A に 3 種、CDH23 に 2 種の疾患原因と考えられる変異を同定した。その中で、MYO7A の 1 種 (p.Ala771Ser)、CDH23 の 1 種 (p.Tyr1942SerfsX23) は新規であった。p.Tyr1942SerfsX23 は、CDH23 のエキソン 44 ~ 46 を含む 5078 塩基が欠失する巨大欠失変異であった。(Nakanishi, H., *et al. J Hum Genet.*, **55**(12):796-800, 2010)。

(中西啓) 耳鼻咽喉科医員

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。現在の総

計データは、933 疾患、425 遺伝子、31,016 件の変異データ（5621 報の文献から構築）である。本学独自の Disease Server のデータ増補もおこない、昨年度までの、眼底白点症、色素性乾皮症、トリコチオジストロフィ、白内障など皮膚疾患、眼疾患に加え、今年度は、てんかん原因遺伝子（EPM2A、EPM2B、KCNQ2）の追加をおこない、32 遺伝子、67 疾患に達した（URL は、<http://hama-mutv.mpb.hama-med.ac.jp/>）。

（大坪正史）