



第68回

The 68th Annual Meeting of Society for Free Radical Research JAPAN

日本酸化ストレス学会学術集会

プログラム・抄録集

会期 2015年6月11日(木)・12日(金)

会場 かごしま県民交流センター
〒892-0816 鹿児島県鹿児島市山下町14-50

大会長 馬嶋 秀行 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 教授

第68回日本酸化ストレス学会学術集会ホームページ

<http://sfr68.umin.jp/>

第68回

The 68th Annual Meeting of Society for Free Radical Research JAPAN

日本酸化ストレス学会学術集会

プログラム・抄録集

会期 2015年6月11日(木)・12日(金)

会場 かごしま県民交流センター
〒892-0816 鹿児島県鹿児島市山下町14-50

大会長 馬嶋 秀行 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 教授

第68回日本酸化ストレス学会学術集会ホームページ

<http://sfrr68.umin.jp/>

交通のご案内



かごしま県民交流センターへのアクセス

鹿児島空港より

- 空港連絡バス
鹿児島空港からリムジンバス（高速）……………約40分
金生町下車徒歩7分または天文館下車 徒歩15分
（バスによって停車するバス停が違いますのでご注意ください。）

■ タクシー料金の目安

普通車で鹿児島市内まで…………… 10,000円～11,000円
※道路状況により料金は変わる場合があります。
あらかじめご了承ください。

※10月2日（木）17:00、大会会場（かごしま県民交流センター）から懇親会会場（城山観光ホテル）まで専用シャトルバスを運行いたします。

※乗場は1階大型車駐車場です。（11ページをご参照ください。）

JR 鹿児島中央駅より

- J R [鹿児島本線上り、日豊本線上り]
…………… 鹿児島駅下車 徒歩10分
- 市電 [鹿児島駅行き]
…………… 水族館口下車 徒歩4分
- バス [鹿児島市営バス]
2番線、3番線、6番線、11番線
…………… 水族館口下車 徒歩5分

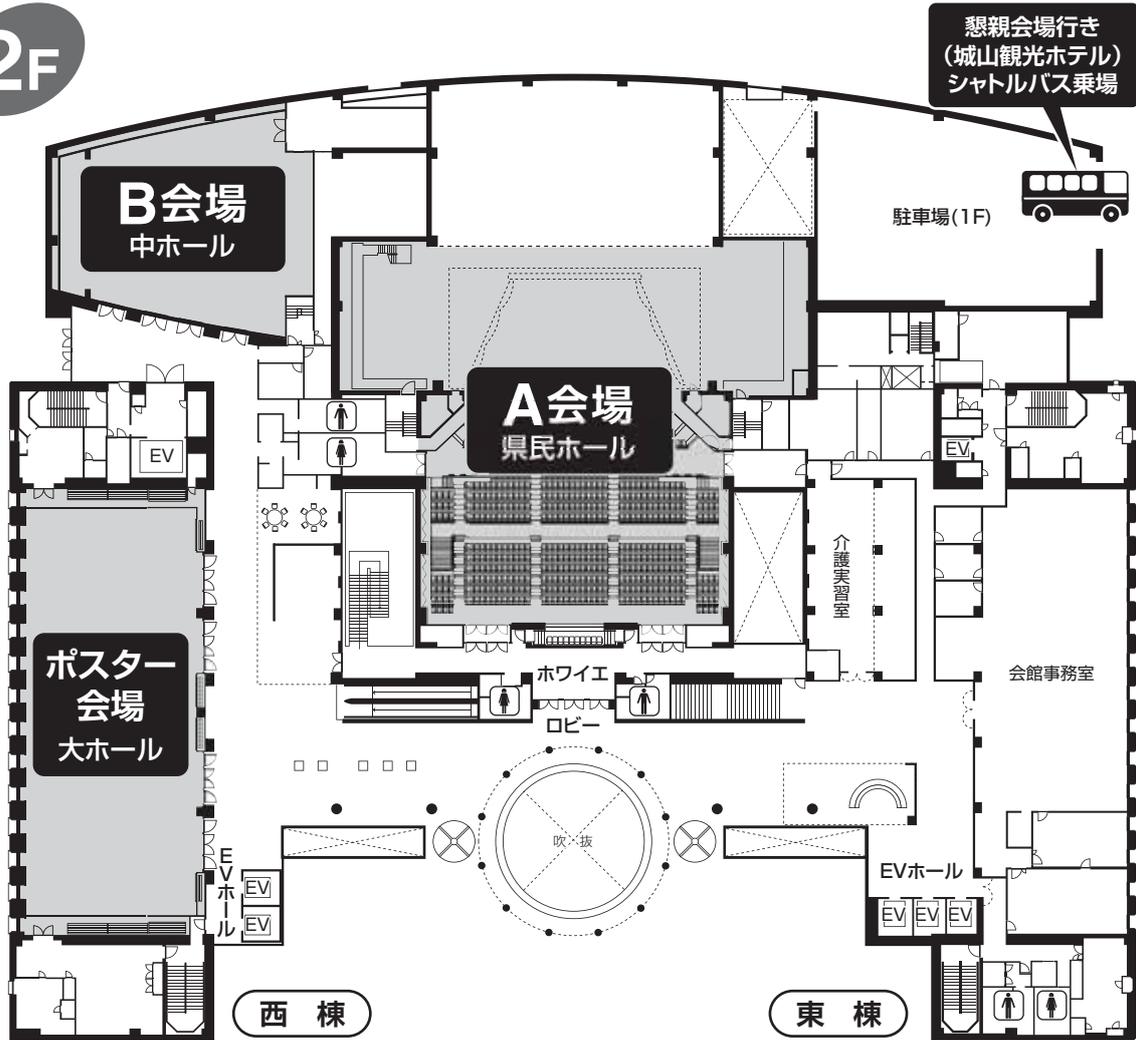
無料シャトルバス時刻表

【かごしま県民交流センター → 城山観光ホテル】

| | | | |
|----|---------------|----|---------------|
| 1便 | 17:00 → 17:10 | 5便 | 18:00 → 18:10 |
| 2便 | 17:15 → 17:25 | 6便 | 18:15 → 18:25 |
| 3便 | 17:30 → 17:40 | 7便 | 18:30 → 18:40 |
| 4便 | 17:45 → 17:55 | 8便 | 18:45 → 18:55 |

会場案内図

2F



3F



日 程 表

1日目 6月11日(木)

| A 会 場 県民ホール | | B 会 場 中ホール | ポスター会場 大ホール |
|---------------------------|--|--|--|
| 8:45 | 8:45~9:00 開会の辞 | | |
| 9:00 | 9:00~10:30 学術奨励賞候補講演 Y-1~6 座長：河野 雅弘・赤池 孝章 | 9:00~10:36 一般講演 1 「疾患」 O-01~08 座長：市川 寛・半田 修 | |
| 10:00 | | | 10:00~13:30 |
| 11:00 | 10:45~11:33 一般講演 2 「抗酸化物質」 O-09~12 座長：安西 和紀 | 11:00~11:48 一般講演 3 「活性酸素・活性窒素計測」 「フリーラジカル計測：ESR」 O-13~16 座長：山田 健一 | ポスター 貼 付 |
| 12:00 | 12:00~13:00 評議員会 (大研修室 第2) | 12:00~13:00 ランチョンセミナー 1 座長：米井 嘉一 姜 文一 ヒューマン・メタボローム・テクノロジーズ(株) 酸化ストレスによる代謝リプログラミングの メタボロミクスを用いた解析と応用 共催：ヒューマン・メタボローム・テクノロジーズ株式会社 | |
| 13:00 | 13:05~13:25 総 会 | | |
| 14:00 | 13:30~14:00 学会受賞講演 座長：熊谷 嘉人 赤池 孝章 東北大学 | | 13:30~17:30 |
| 15:00 | 14:15~14:45 特別講演 1 座長：市川 寛 米井 嘉一 同志社大学 | 14:00~15:00 一般講演 4 「酸化ストレスマーカの計測」 「酸化ストレスの評価」 O-17~21 座長：松本 謙一郎・中西 郁夫 | ポスター 閲 覧 |
| 16:00 | 15:00~15:36 一般講演 5 「脂 質」 O-22~24 座長：板部 洋之 | 15:00~16:24 一般講演 6 「炎症」 「食 品」 「シグナル伝達」 O-25~31 座長：寺尾 純二・南山 幸子 | |
| 17:00 | 16:30~17:00 招待講演 1 座長：豊國 伸哉 Des R. Richardson University of Sydney | | |
| 18:00 | 17:00~17:30 招待講演 2 座長：馬嶋 秀行 北 潔 東京大学 | | 17:30~18:10 ポスター討論(奇数番号) 18:10~18:50 ポスター討論(偶数番号) |
| 19:00 | | 懇親会場へ移動 | |
| 19:30~ 懇 親 会 (会場：城山観光ホテル) | | | |

2日目 6月12日(金)

| A 会場 県民ホール | | B 会場 中ホール | |
|---------------|--|--------------|---|
| 8:30 | | 8:30~9:20 | JCBN 編集委員会 (中研修室 第2) |
| 9:00 | 9:00~10:30 ワークショップ W-1~5 ミトコンドリアが関与する神経障害 座長：米田 誠/高嶋 博 米田 誠 福井県立大学 服部 信孝 順天堂大学 高嶋 博 鹿児島大学 前田 憲吾 東近江総合医療センター 亀山 正樹 鹿児島大学 | 9:30~10:18 | 一般講演 7 「蛋白質」「その他」 O-32~35 座長：藤井 順逸 |
| 10:00 | | 10:30~11:18 | 一般講演 8 「一酸化窒素:NO」 O-36~39 座長：松井 裕史 |
| 11:00 | 10:30~12:00 シンポジウム 1 S1-1~4 プラズマ医療科学の創成と進展 座長：豊國 伸哉 池原 譲 産総研 田中 宏昌 名古屋大学 伊藤 昌文 名城大学 白谷 正治 九州大学 | 12:00~13:00 | ランチョンセミナー 2 座長：犬童 寛子 菱川 良夫 一般財団法人メディポリス医学研究財団 メディポリス国際陽子線治療センター 陽子線治療：指宿でのチャレンジ 共催：一般財団法人メディポリス医学研究財団 メディポリス国際陽子線治療センター |
| 12:00 | | 13:00~14:00 | シンポジウム 2 S2-1~3 臨床ストレス応答学会シンポジウム 座長：鳥越 俊彦 鳥越 俊彦 札幌医科大学 田村 保明 北海道大学 鶴殿平一郎 岡山大学大学院 |
| 13:00 | 13:00~14:00 特別講演 2 座長：馬嶋 秀行 康 東天 九州大学 中別府 雄作 九州大学 | 14:00~15:00 | |
| 14:00 | 14:00~15:00 学術賞受賞講演 座長：内藤 裕二 加藤 陽二 兵庫県立大学 中川 秀彦 名古屋市立大学 | 15:00~15:30 | 優秀賞発表/閉会の辞 |
| 15:00 | | | |
| 16:00 | | | |
| 17:00 | | | |

招待講演 プログラム

第1日目 6月11日(金)

開会の辞

会長 馬嶋 秀行 (鹿児島大学医歯学総合研究科 教授)

A会場(県民ホール) 8:45~9:00

学術奨励賞候補講演

A会場(県民ホール) 9:00~10:30

座長: 河野 雅弘・赤池 孝章

Y-1 各種アミノ酸と活性酸素種との反応について

○松村 有里子¹⁾、西岡 孝訓²⁾、岩澤 篤郎¹⁾、東 和生³⁾、吉田 達也⁴⁾、小林 智裕⁵⁾、川野 浩明⁵⁾、伊藤 典彦³⁾、岡本 芳晴³⁾、河野 雅弘¹⁾、沖野 晃俊⁵⁾、庭野 吉己⁶⁾、小澤 俊彦⁷⁾、蒲池 利章¹⁾

- 1) 東京工業大学大学院 生命理工学研究科、
- 2) 大阪市立大学大学院 理学研究科、
- 3) 鳥取大学 農学部附属動物医療センター、
- 4) 株式会社島津製作所、
- 5) 東京工業大学大学院 総合理工学研究科、
- 6) 東北大学大学院 歯学研究科、
- 7) 昭和薬科大学 酸化ストレス研究センター

Y-2 Redox Nanotherapeutics for Colitis-associated Colon Cancer

○Vong Binh Long¹⁾、吉富 徹¹⁾、松井 裕史²⁾³⁾、長崎 幸夫¹⁾²⁾⁴⁾

- 1) University of Tsukuba, Department of Materials Science、
- 2) University of Tsukuba, Master's School of Medical Sciences、
- 3) University of Tsukuba, Division of Gastroenterology、
- 4) University of Tsukuba, WPI-MANA, NIMS

Y-3 抗酸化酵素 PHGPx による線虫の寿命制御に関する研究

○坂本 太郎、前林 花那、今井 浩孝
北里大学 薬学部 衛生化学教室

Y-4 生体動的核偏極 (in vivo DNP)-MRI を用いたフリーラジカル中間体の可視化

○兵藤 文紀、伊藤 慎治、江藤 比奈子、中路 睦子、内海 英雄
九州大学

Y-5 亜鉛シグナルを介した酸化型 / 還元型マクロファージの形質分化制御は腸管炎症の増悪に寄与する

○東村 泰希¹⁾²⁾、内藤 裕二²⁾、高木 智久²⁾、水島 かつら²⁾、吉川 敏一¹⁾
1) 京都府立医科大学 大学院医学研究科 生体食品機能学講座、
2) 京都府立医科大学 大学院医学研究科 消化器内科学

Y-6 過酸化 DAG による肝星細胞活性化作用の解析

○北谷 佳那恵¹⁾、山本 順寛²⁾、竹腰 進¹⁾
1) 東海大学 医学部 基礎医学系 生体防御学、2) 東京工科大学 応用生物学部 応用生物学科

評議員会

(大研修室 第2) 12:00~13:00

招待講演 1

座長：豊國 伸哉

Anti-Cancer Agents with a Double Punch: Combining Redox Activity and Metal Chelation to Generate Potent and Selective Anti-Tumour Compounds

Des R. Richardson (B.Sc., M.Sc., Ph.D., D.Sc., (U.W.A.), F.F.Sc., FRCPath (UK))

招待講演 2

座長：馬嶋 秀行

低酸素ストレス下におけるミトコンドリアの役割 — 寄生虫からがん細胞まで —

北 潔 (東京大学大学院医学系研究科 国際保健学専攻 生物医化学教室)

特別講演 1

座長：市川 寛

酸化ストレスと糖化ストレス ～食品機能性から違いを考える～

米井 嘉一 (同志社大学大学院 生命医科学研究科)

特別講演 2

座長：馬嶋 秀行

TFAM と p32 の機能から考えるミトコンドリアの維持と疾患

康 東天 (九州大学大学院医学研究院)

アルツハイマー病脳における遺伝子発現の変化と酸化ストレス

中別府 雄作 (九州大学 生体防御医学研究所 脳機能制御学分野)



Anti-Cancer Agents with a Double Punch: Combining Redox Activity and Metal Chelation to Generate Potent and Selective Anti-Tumour Compounds

Des R. Richardson

B.Sc., M.Sc., Ph.D., D.Sc., (U.W.A.), F.F.Sc., FRCPATH (UK)

Novel chemotherapeutics with marked and selective antitumor activity are essential to develop, particularly those that can overcome resistance to established therapies. Iron (Fe) is critical for cell-cycle progression and DNA synthesis and potentially represents a novel molecular target for the design of new anticancer agents.

Our studies over the last 30 years have led to the development of a new class of Fe chelators for cancer therapy. These compounds have recently been commercialised to enable their entrance into clinical trials resulting in the companies, Oncochel Therapeutics LLC (San Francisco, USA) and Oncochel Therapeutics Pty Ltd (Australia).

These agents show broad antitumor activity and could overcome resistance to established antitumor agents. The *in vivo* efficacy of the most effective chelator identified, di-2-pyridylketone-4,4-dimethyl-3-thiosemicarbazone (Dp44mT), was assessed by using a panel of human xenografts in nude mice. After 7 weeks, net growth of a melanoma xenograft in Dp44mT-treated mice was only 8% of that in mice treated with vehicle. In addition, no differences in these latter animals were found in hematological indices between Dp44mT-treated mice and controls. No marked systemic Fe depletion was observed comparing Dp44mT- and vehicle-treated mice, probably because of the very low doses required to induce anticancer activity.

Dp44mT caused up-regulation of the Fe-responsive tumor growth and metastasis suppressor Ndrgl in the tumor but not in the liver, indicating a potential mechanism of selective anticancer activity (Richardson et al. *PNAS USA* 2006; 103: 14901-6). The potent and selective anti-metastatic activity of Dp44mT in animal models have been independently verified by others (*EMBO Mol. Med.* 2012; 4: 93-108).

Collectively, these results indicate that the novel Fe chelators have potent and broad antitumor activity and can overcome resistance to established chemotherapeutics because of their unique mechanism of action. Moreover, they can inhibit metastasis through up-regulation of NDRG1. This latter effect is crucial, as 90% of deaths due to cancer are because of metastasis to vital organs.

学会賞受賞講演

座長：熊谷 嘉人

活性酸素のシグナル伝達機構の解明

赤池 孝章（東北大学大学院医学系研究科）

学術賞受賞講演

座長：内藤 裕二

酸化ストレスマーカーの研究と応用の可能性

加藤 陽二（兵庫県立大学環境人間学部）

光で制御する一酸化窒素・活性酸素投与方法の開発と応用

中川 秀彦（名古屋市立大学大学院薬学研究科）



活性酸素のシグナル伝達機構の解明

あかいけ たかあき

赤池 孝章

東北大学大学院医学系研究科

近年、活性酸素が酸化ストレス応答の重要なメディエーターであるとともに、細胞の増殖、分化、適応応答など多彩なシグナル制御に関わることが明らかになってきた。しかしながら、活性酸素のような不安定な分子が細胞内でどのように精密なシグナル制御を司るのかは不明な点が多く残されていた。我々は、これまで、酸化ストレス応答における、レドックスシグナル経路の解明に取り組んできた。一方、我々は、感染・炎症病態において、過剰に生成する活性酸素とNOによる核酸ヌクレオチドのニトロ化修飾物質の同定と生理学的意義を明らかにしてきた。特に、ケミカルバイオロジーを基盤とした最先端解析技法を用いて、活性酸素・NOの安定な二次シグナル分子として、新規環状ヌクレオチドであるグアノシン3',5'-環状1リン酸(cGMP)のニトロ化誘導体：8-ニトロ-cGMPを発見した(Nature Chem. Biol., 2007)。さらに、このユニークなシグナル分子の生成機構、下流シグナル経路の探索、代謝・分解の制御メカニズムの解明に取り組んできた。すなわち、8-ニトロ-cGMPによる新規タンパク質翻訳後修飾である protein S-guanylation (タンパク質S-グアニル化)を同定して、そのプロテオーム解析法を確立した。この手法を用いて、標的タンパク質を探索するなかで、8-ニトロ-cGMPの司る細胞の多彩なシグナル制御として、抗酸化ストレス応答(Nature Chem. Biol., 2007; J. Immunol., 2009; JBC, 2010; Plant Cell, 2013; Biochem. J., 2014)、細胞老化(Nature Chem. Biol., 2012)、ミトコンドリア機能制御(Biochem. J., 2012; Antioxid. Redox Signal., 2014)に密接に関わることを明らかにした。さらに最近、8-ニトロ-cGMPが、オートファジーを誘導する内因性の強力なりガンドであることを世界に先駆けて報告した(PNAS, 2012; Mol. Cell, 2013)。加えて、8-ニトロ-cGMPおよび活性酸素・親電子シグナルの制御因子として、システインパースルフィドをはじめとする活性イオウ分子種によるタンパク質のポリチオール化という全く新規の翻訳後修飾を介するレドックスシグナル制御機構を発見した(PNAS, 2014)。本講演では、このような新規レドックスシグナル伝達機構と、これまでのチオールバイオロジーの定説を覆す、活性イオウ分子種の極めてユニークな化学的反応性により制御される酸化ストレス応答機構について、我々の最新の知見を紹介することで議論する。酸化ストレス応答

シンポジウム1

座長：豊國 伸哉

プラズマ医療科学の創成と進展

池原 謙(産業技術総合研究所 生命工学領域 創薬基盤研究部門
バイオセラピューティック研究グループ)

田中 宏昌(名古屋大学 未来社会創造機構)

伊藤 昌文(名城大学 理工学部&プラズマバイオ科学技術研究センター)

白谷 正治(九州大学)



プラズマ技術利用した膵臓がんの治療技術開発とその実用化

いけはら ゆずる

池原 譲

産業技術総合研究所 生命工学領域

創薬基盤研究部門 バイオセラピューティック研究グループ

「プラズマの発生・制御技術」は、日本に強みのある「ものづくり技術」であり、半導体・電子機器、ナノデバイス、生活用品の加工製造に欠かせないものである。このため、「プラズマの発生・制御技術」が医療科学分野へ展開されれば、医療現場のニーズを解決するイノベーションを実現すると期待されてきた。2012年8月にスタートした名古屋大学工学部堀勝教授を領域代表とする文部科学省・科研費・新学術領域研究「プラズマ医療科学の創成」は、期待に違わない成果を挙げつつあると思うところである。

我々のグループは、プラズマによるタンパク凝集作用を手術用エネルギーデバイスへと展開する研究に携わってきた。同領域での実用化を見据えた基礎研究を通じ、我々の技術が手術の侵襲性改善に寄与するであろうことを明らかにしてきた。事実、プラズマによる止血は、生成した血液凝固物が出血点を閉塞することによるため、焼灼損傷を生じない。結果、術後の炎症・瘢痕形成を軽減するので、膵臓がんの予後改善に貢献できる可能性を有すると考えている。

日本では膵臓がんにより、28,829人が2011年の1年間に死亡している。5年生存率は5-7%で、過去30年以上にわたって改善していない。特筆すべきは、「初期に発見されて手術を受けた膵臓がん患者」の5年生存率と、「末期に発見されて手術適応がなかった乳がん患者」の5年生存率がほぼ同じという結果である。がんの生物学的悪性度の違いというより、現在の治療アプローチの見直し必要であろうと考える方が良い可能性を示唆すると思う。例えば手術における止血処置を原因に生じた瘢痕部は、再発腫瘍の範囲決定を難しくしているので、重粒子線等は言うに及ばず位置追跡放射線治療技術でさえ、適応となる症例は少ないと思う。「初期に発見されて手術を受けた膵臓がんの患者」の5年生存率改善に期待するのは難しい状況と言わざるを得ない。

我々は、視野確保目的の「止血で生じる焼灼とその後の線維化」を解決するプラズマデバイスの実用化は、膵臓がんの5年生存率改善する可能性を有すると考えている。これと並行して、膵臓がんの高リスク群をエンリッチできる糖鎖などのバイオマーカー開発、ターゲット PET プローブの開発を進めて、膵臓がんに対する的確な存在診断の実現、そして光通信用途の新規材料半導体を利用した「蛍光物質の使用を必要としない近赤外イメージング技術」の開発を実施し、その臨床的効果を最大にするべく取り組んでいる。加えて、我々

シンポジウム2

座長：鳥越 俊彦

臨床ストレス応答学会シンポジウム

鳥越 俊彦(札幌医科大学医学部病理学第一講座)

田村 保明(北海道大学 フード&メディカルイノベーション推進本部)

鵜殿 平一郎(岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 免疫学分野)



酸化ストレスはヒストン修飾を介して 肺がん幹細胞を誘導する

とりごえ としひこ
○鳥越 俊彦、西條 浩、廣橋 良彦、佐藤 昇志
札幌医科大学医学部病理学第一講座

がん幹細胞は、幹細胞様形質を備えた少数のポピュレーションで、がんの化学療法抵抗性、再発、転移の根幹細胞であると考えられている。我々はこれまで、肺がんを含めた様々なヒト固形腫瘍細胞からがん幹細胞を分離し、分子病理学的特性について解析してきた。その過程で、がん細胞は可塑性に富んだ細胞であることが判明してきた。すなわち、分化がん細胞にある種の細胞ストレスを加えると脱分化し、幹細胞様形質を発現することを見出した。本講演では肺がん細胞の可塑性メカニズムについて報告する。

肺がん細胞株 LHK2細胞に酸化ストレスを加えると、幹細胞遺伝子 SOX2 の発現増加、シスプラチン抵抗性の獲得および Side Population (SP) の増加など、幹細胞様形質を発現する。SOX2 プロモーターに結合する転写調節因子を解析した結果、HOXA5 が酸化ストレスによって発現することが判明した。HOXA5 をノックダウンすると酸化ストレス応答はキャンセルされた。興味深いことに、HOXA5 の発現はヒストンアセチル化を介しており、ヒストン脱アセチル化阻害剤 TSA によっても HOXA5 および幹細胞遺伝子 SOX2、Oct3/4 の発現が誘導され、がん幹細胞様形質への脱分化が観察された。

このようなストレス誘導性のがん幹細胞可塑性は、他の肺がん細胞および腎がん細胞においても観察されたが、大腸がん細胞では観察されなかった。大腸がん細胞株 SW480細胞から分化がん細胞とがん幹細胞を分離し解析した結果、これらの分化・脱分化はヒストン修飾ではなく、遺伝子メチル化によって制御されていることが判明した。

がん幹細胞は、正常幹細胞と比較して極めて可塑性の高い細胞であり、その可塑性はエピジェネティック機序によって制御されていること、また酸化ストレスのような細胞ストレスは、細胞のエピゲノムに影響することによってがん細胞の脱分化を誘導しうるということが明らかとなった。このことは、中途半端な化学療法や放射線治療が逆にがん細胞の脱分化を促進し、転移を誘発する危険性があることを示唆しており、脱分化を抑制する治療薬の開発が望まれる。

ワークショップ

座長：米田 誠・高嶋 博

ミトコンドリアが関与する神経障害

米田 誠 (福井県立大学 看護福祉学部・研究科)

服部 信孝 (順天堂大学医学部脳神経内科)

高嶋 博 (鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 神経内科・老年病学)

前田 憲吾 (国立病院機構 東近江総合医療センター神経内科)

亀山 正樹 (鹿児島大学医歯学域医学系神経筋生理学)



神経疾患の酸化ストレス PET 脳イメージング

よねだ まこと
米田 誠

福井県立大学 看護福祉学部・研究科

生体内のミトコンドリア機能不全は、好氣的エネルギー産生低下と共に活性酸素種 (ROS) の漏出を引き起こします。ROS の漏出は酸化ストレスを引き起こし、神経細胞を含めた脳組織を損傷します。この酸化ストレスは、従来の動物実験や剖検脳の病理などの基礎的研究から、ミトコンドリア遺伝子変異による脳筋症はもとより、パーキンソン病 (PD) や筋萎縮性側索硬化症 (ALS)、アルツハイマー病 (AD) などの神経変性疾患の病態に深く関与すると考えられています。近年、演者らは、患者生体脳における酸化ストレスのモニタリングとして、放射線プローブ Cu-ATSM を用いた PET イメージングを開発しました。Cu-ATSM は、ミトコンドリア呼吸鎖傷害による電子の停滞 (過還元状態) 部位で選択的に取り込まれることを *in vitro* ですでに検証しています (NMB 2012)。まず、この Cu-ATSM PET を用いて、ミトコンドリア脳筋症の MELAS において、脳病巣での酸化ストレスの増大を捉えています (Mitochondrion 2009)。また、孤発性 PD 患者の脳の線条体でも酸化ストレスの増大を見出し、酸化ストレスの増大と臨床重症度に相関があることも明らかにしています (NMB 2011)。一方、近年、遺伝性 PD の病因である *Parkin* 遺伝子や *PINK1* 遺伝子がミトコンドリア品質管理 (ミトファジー) に重要な役割を有することの報告が相次いでいます。演者らの PET 研究により *Parkin* 遺伝子変異を有する複数の患者において酸化ストレスの増大を認めています。さらに、孤発性 ALS 患者においても、運動野を含む大脳皮質での酸化ストレスの増大と臨床重症度との相関を見出しています (Neurology 2015)。このような酸化ストレス PET イメージングは、神経疾患の病態の解明につながるばかりでなく、患者の病状・病期の把握、診断マーカーとしての利用や抗酸化薬の効果のモニタリングなどへの応用が期待されます。本講演では、神経疾患における酸化ストレス脳機能イメージングについて最近の演者らの研究を紹介したいと思います。

ランチョンセミナー1

座長：米井 嘉一

酸化ストレスによる代謝リプログラミングの メタボロミクスを用いた解析と応用

姜 文一(ヒューマン・メタボローム・テクノロジーズ株式会社)

共催：ヒューマン・メタボローム・テクノロジーズ株式会社

ランチョンセミナー2

座長：犬童 寛子

陽子線治療：指宿でのチャレンジ

菱川 良夫(一般財団法人メディポリス医学研究財団 メディポリス国際陽子線治療センター)

共催：一般財団法人メディポリス医学研究財団 メディポリス国際陽子線治療センター



酸化ストレスによる代謝再編成の メタボロミクスを用いた解析と応用

かん むんいる
姜 文一

ヒューマン・メタボローム・テクノロジーズ株式会社

代謝物質はこれまで生体がストレス環境でも恒常性を維持するために構成している一連の生体反応機構の最終産物と一般的には考えられてきた。特に酸化ストレスを含む体外からの様々な刺激は、遺伝子またはたんぱく発現の変動を伴う一連のシグナルの変化を引き起こす一方、体内の中間代謝物などは遺伝子転写後の修正などの結果として単純に細胞増殖に必要な栄養分を提供する要素と意識されてきた。しかし、近年では特定の代謝またその代謝物質により転写レベルあるいはたんぱく質の変動に与える影響が大きいことが明らかになり、代謝物質は細胞増殖の調節にも重要な役割を担っているとも考えられる。このことから創薬研究においても代謝物質は疾患治療のターゲットとなってきている。

酸化ストレスは生体内で多くのシグナル伝達に変化を与えている上に、多様な細胞死の調節にも密接に関わっていることが知られている。特にミトコンドリアは、その異常により疾患の原因になるだけでなく、様々な細胞死を決定するキーマンとしての役割から神経変性疾患、癌などに幅広く関連していると考えられている。細胞死制御には酸化ストレス環境というのが鍵であり、代謝異常を伴うミトコンドリアの機能喪失は抗酸化反応の転写活性に関わるのではないかと予想されている。細胞が直面する環境、正常状態あるいはストレス状態によりそれぞれ違う栄養産物へのアクセスや酵素活性に必要な代謝経路の再編成が要求されることから、酸化ストレスによりどのように代謝経路が調節されるかに関心が高まっている。代謝物質による変化や代謝経路の再編成への理解は、疾患の原因究明や治療に大きく貢献できると考えられる。

メタボロミクスは代謝物質の構成やその濃度を網羅的に解析することで生体反応の変化やメカニズムを究明する分野であり、代謝プロファイルを調べることで遺伝子型と表現型間の相関関係を説明できる最新的手法である。また、メカニズム解明のターゲット解析をはじめ化合物のスクリーニングなどのプロファイリングや診断や創薬マーカー探索など網羅的な解析から定量的な同定まで幅広く応用できる。本セミナーでは基本的なメタボロミクスの流れの紹介と、酸化ストレス影響による代謝プロファイル変化を調べた様々な研究解析の例を紹介する予定である。

學術獎勵賞候補講演

Y-1

各種アミノ酸と活性酸素種との反応について

○松村 有里子¹⁾、西岡 孝訓²⁾、岩澤 篤郎¹⁾、
東 和生³⁾、吉田 達也⁴⁾、小林 智裕⁵⁾、
川野 浩明⁵⁾、伊藤 典彦³⁾、岡本 芳晴³⁾、
河野 雅弘¹⁾、沖野 晃俊⁵⁾、庭野 吉己⁶⁾、
小澤 俊彦⁷⁾、蒲池 利章¹⁾

- 1) 東京工業大学大学院 生命理工学研究科、
- 2) 大阪市立大学大学院 理学研究科、
- 3) 鳥取大学 農学部附属動物医療センター、
- 4) 株式会社島津製作所、
- 5) 東京工業大学大学院 総合理工学研究科、
- 6) 東北大学大学院 歯学研究科、
- 7) 昭和薬科大学 酸化ストレス研究センター

【目的】 活性酸素種 (ROSs) は生体分子に非特異的な化学損傷をもたらす毒性因子としての役割だけでなく、精密に制御されたシグナル伝達機構において重要な役割を果たすものとして注目されてきている。しかし、ROS が何にどの程度作用するか、またその作用機序についてはほとんど明らかにされていない。本研究ではタンパク質の構成成分であるアミノ酸に着目して、ROSs とアミノ酸との反応について詳細に検討する事とした。

【方法】 過酸化水素水への光照射によりヒドロキシルラジカルを、メチレンブルーへの光照射により一重項酸素を、キサントン/キサントンオキシダーゼ系を用いてスーパーオキシドアニオンラジカルを生成させた。活性酸素濃度は ESR-スピントラッピング法により算出した。スピントラップ剤には DMPO または TPC を用いた。アミノ酸濃度は SHIMADZU アミノ酸分析システムを用いて求めた。酸化生成物の構造は ¹HNMR 測定により同定した。

【結果・考察】 各アミノ酸の活性酸素消去能について活性酸素消去率と残存アミノ酸濃度から検討したところ、芳香環または複素環を持つアミノ酸および硫黄を含むアミノ酸に対して一重項酸素消去能とヒドロキシルラジカル消去能が顕著に高いのに対し、スーパーオキシドアニオンラジカル消去能はシステインが顕著に高いことがわかった。発表では抗酸化能の高いアミノ酸の酸化生成物の構造についても報告する。

Y-2

Redox Nanotherapeutics for Colitis-associated Colon Cancer

○ Vong Binh Long¹⁾、吉富 徹¹⁾、松井 裕史²⁾³⁾、
長崎 幸夫¹⁾²⁾⁴⁾

- 1) University of Tsukuba, Department of Materials Science,
- 2) University of Tsukuba, Master's School of Medical Sciences,
- 3) University of Tsukuba, Division of Gastroenterology,
- 4) University of Tsukuba, WPI-MANA, NIMS

In patients with inflammatory bowel disease, overproduction of reactive oxygen species (ROS) causes oxidative damage, leading to development of colon cancer. In addition, increased ROS in tumor tissues contributes to chemoresistance. The limitations of low molecular weight antioxidants are instability in gastrointestinal (GI) tract, non-specific distribution, and strong adverse effects. We developed novel redox nanoparticles (RNP) for treating colon cancer via oral delivery. After oral administration, RNP was stable in GI tract, and accumulated in colonic cancer tissue, but not in normal tissue, due to the nanostructure of RNP. RNP effectively scavenged overproduced ROS in colon, increasing anticancer effect of Irinotecan (Iri) and suppressing GI toxicities-induced by Iri. In the long-term treatment, no noticeable toxicities were observed in mice. RNP is a promising nanotherapeutics for cancer therapies.

一般講演

O-01

中皮細胞傷害と発がん性はトレモライトに強く、アンソフィライトに弱い

○岡崎 泰昌¹⁾、周 珊瑚¹⁾、酒井 晃太¹⁾、
Dilnur Arken¹⁾、王 越¹⁾、永井 裕崇¹⁾、
三澤 伸明¹⁾、神山 宣彦²⁾、豊國 伸哉¹⁾

1)名古屋大学大学院 医学系研究科 生体反応病理学、
2)東洋大学大学院 経済学研究科 経済学専攻

【目的】 アスベスト繊維は高い耐久性から建築用資材として広範に使用されてきたが、肺がん・中皮腫といった健康被害を生じることが明らかになったため、現在では原則的に使用禁止である。アスベストによる中皮腫の発症は今後も本邦で増加することが懸念されているため、商業的にあまり使用されていないものの、アンソフィライトやトレモライトを用い、中皮腫の発がん研究を行った。

【方法】 不死化ヒト中皮細胞 (MeT5A)、マウス由来マクロファージ様細胞 (Raw264.7) を用いて、培養細胞に対するアスベスト繊維の傷害性を検討した。雌雄の6週齢の F1 hybrid rat (Brown-Norway/F344) に 1mg のアスベスト繊維 (アンソフィライト、トレモライト) を腹腔内投与し 35 日後に安楽死にする短期実験を行い、アスベスト繊維 (10 or 1 mg) を腹腔内投与し、550 日間の長期発がん実験を行った。

【結果】 培養細胞を用いた実験では、トレモライトは投与量依存性に細胞傷害作用が見られたが、アンソフィライトに細胞傷害性は認めなかった。短期実験では、トレモライトに腹膜表面の線維化が強く、アンソフィライトに線維化は乏しく散在性に肉芽腫の形成を認めるのみであった。トレモライト 10mg を投与した雌雄ラットには中皮腫の発症が全例見られた。アンソフィライト 10mg、1mg を投与した雌雄ラットに中皮腫の発症は認めなかった。慢性炎症を誘発する作用が強いアスベスト線維は、発がん性が強いことが示唆された。

O-02

Nd-(5-hydro-5-methyl-4-imidazolone-2-yl)-ornithine (MG-H1) の測定を指標とした糖代謝異常で進行する蛋白変性機構の解析

○畑野 孝太

東海大学農学部 バイオサイエンス学科
食品生体調節学研究室

【背景】 メチルグリオキサール (MG) は解糖系においてトリオースリン酸の分解より生成、生体蛋白と迅速に反応し、蛋白の構造・機能変化に関与する。MG は蛋白上のリジン・アルギニン残基と反応し Advanced Glycation Endproducts (AGEs) を生成する。リジンから Nε-(carboxyethyl) lysine (CEL)、アルギニンから MG-hydroimidazolone (MG-H1)、Argpyrimidine などが生成される。CEL は強酸中で安定なため加水分解が容易で以前から定量がなされてきたが、MG-H1 は強酸中にて不安定なため正確な測定が困難とされてきた AGEs の一つである。

【方法】 MG-H1 結合蛋白を抗原とし、モノクローナル抗 MG-H1 抗体を作製した。抗体を用いて、生理的濃度の MG を修飾したウシ血清アルブミンとの反応性を直接法 ELISA で検討した。また競合法 ELISA にて血中 MG-H1 含量測定を行い、質量分析装置 (LC-MS/MS) との測定結果の比較を行った。

【結果】 本抗体は、生理的 MG 濃度 (~10 μM) で修飾した BSA とも反応性を示した。MG 修飾蛋白における ELISA 法及び LC-MS/MS での測定結果は高い相関性を示した。また抗体によるヒト血中 MG-H1 含量測定では、腎症患者において顕著に高値を示した。

【考察】 今回世界初の MG-H1 に対する特異的なモノクローナル抗体が得られた。本抗体及び LC-MS/MS による測定結果の両者に高い相関性が示されたため、抗体による簡便な MG-H1 の測定が可能である事が示された。今後、様々な疾患と糖質代謝異常の関与が検討可能となる。

ポスター演題

P-01

皮膚から放出されるヒドロキシルラジカルに与える発汗の影響

○神野 直哉¹⁾²⁾、蔡 徳七³⁾、下内 章人¹⁾

- 1) 国立循環器病研究センター、
- 2) 日本学術振興会特別研究員、
- 3) 大阪大学大学院理学研究科

【目的】 生体内で生成されるヒドロキシルラジカルは、反応性が極めて高く、様々な病態機序の核心となることが知られている。我々は、このヒドロキシルラジカルが皮膚から放出されることを明らかにしており、大気圧化学イオン化質量分析法 (APCI-MS) を用いて直接計測することに成功している。また、皮膚から放出されるヒドロキシルラジカルは水クラスターと結合していることが予測できている。本研究では、APCI-MS を用いた皮膚ガス中ヒドロキシルラジカル測定により、皮膚からの発汗量が与える影響について調べた。

【方法】 試料として掌から放出されるガスを用いた。皮膚ガスは、APCI-MS に接続したチャンバーによって採取し、直接計測した。APCI-MS による皮膚ガス測定および掌からの発汗量を同時に測定し、測定中の一定時間発汗を促すストレスを与え、ヒドロキシルラジカルに関連した m/z のピーク強度の経時変化および発汗量の経時変化をそれぞれ調べた。

【結果】 マススペクトル上のヒドロキシルラジカルに関連するピークの強度は、発汗量の増加に伴って増加する傾向が得られており、特に水クラスターと結合したヒドロキシルラジカルのピーク強度が顕著に増加する傾向が得られた。

【総括】 皮膚から放出されるヒドロキシルラジカルは水クラスターと結合し、発汗に伴って放出されていることが示唆された。

P-02

LC-MS/MS を用いたコラーゲン特異的な酸化依存性 AGEs である CMA の検出と定量

○品川 雅敏、市川 寛子、白河 潤一、永井 竜児

東海大学 農学部 農学研究科

【背景】 近年、加齢や生活習慣の悪化によって糖尿病合併症や動脈硬化等の生活習慣病患者の増加が社会問題となっている。しかし、個体の老化の進行を正確に評価することは困難である。そこで老化関連疾患の指標としてメイラード反応後期生成物である Advanced Glycation End-products (AGEs) が注目されている。今回、コラーゲンに特異的に生成し、また酸化依存性 AGEs である $N\omega$ -(carboxymethyl) arginine (CMA) について、タンデム質量解析装置 (LC-MS/MS) による生体 CMA の定量を行った。また、測定系の検討として、分子量カットフィルターによる血液中の遊離 CMA の測定および、塩酸加水分解とアルカリ処理を用いてタンパク質上の CMA の測定を試みた。

【方法】 LC-MS/MS の測定に必要な CMA の標準品及び内部標準品を合成した。次に、腎症患者および健康者の血清を用いて分子量 3000 カットフィルターで単離した血清の低分子画分中 CMA の定量を行った。さらに、塩酸加水分解とアルカリ加熱処理を用いて動脈硬化層の総 CMA 量測定も試みた。

【結果・考察】 CMA の測定は内部標準の利用によって LC-MS/MS で正確な定量が可能となった。その結果、健康者と比べて腎症患者血清中で有意に CMA の増加が確認された。また動脈硬化層の加水分解物中 CMA の定量も可能となり、今後老化関連疾患と CMA の関与が評価可能となった。

第68回日本酸化ストレス学会学術集会 プログラム・抄録集

発行日：平成27年5月29日

編集・発行：第68回日本酸化ストレス学会学術集会 事務局
鹿児島大学大学院医歯学総合研究科内
〒890-8544 鹿児島市桜ヶ丘8-35-1
TEL：099-275-6272 FAX：099-275-6278
E-mail：mitochondrion@dent.kagoshima-u.ac.jp

出版： 学術集会専門出版社
株式会社セカンド
〒862-0950 熊本市中央区水前寺4-39-11 ヤマウチビル1F
TEL：096-382-7793 FAX：096-386-2025