

うつ病に関わる新たなタンパク質を発見 ～うつ病の予防・治療に期待～

理学部 臨床生命科学科 橋川直也, 橋川成美

- セールスポイント:
- ① ストレスをかけたマウスでは、脳内の熱ショックタンパク質が減少しており、その発現を増加させるとうつ様症状が改善した。
 - ② 熱ショックタンパク質誘導剤としても知られているテプレノン（胃薬）を飲むことで、副作用性うつ病の発症率が0.62倍に下がることが明らかとなった。
 - ③ 新たなメカニズムによるうつ病の予防、治療への手がかりになることが期待される。

1. 研究目的

熱ショックタンパク質(HSP)は、細胞のホメオスタシスの維持に重要な役割を果たしている。HSPは分子量の違いから様々なファミリーに分類される。脳内に多く発現が見られるのはHSP105であるが、どういった役割を果たしているのかはまだ明らかにされていない。

そこで、本研究ではマウスにストレスを負荷し、海馬におけるHSP105発現とマウスのうつ様行動との関係性について解析を行った。

2. 結果

マウスにストレスを負荷し、海馬のHSP発現量の変化を解析したところ、HSP105発現量の著明な低下が見られた。そこで、HSP誘導剤として広く用いられているテプレノンを経口投与したところ、ストレス負荷によるHSP105の減少が抑えられ、うつ様行動も改善された。

次になぜHSPの増加がうつ様行動の改善に至ったのかを明らかにするため、マウス海馬における神経栄養因子の発現量を調べたところ、テプレノン投与により脳由来神経栄養因子(BDNF)の増加が見られた。HSP105の遺伝子発現を抑制させると、BDNFの量が減少し、うつ様行動の改善が阻害されたことから、テプレノンはHSP105を増加させ、これがBDNFの発現量を促進させることで、うつ様行動の改善を促した事が明らかとなった。

テプレノンは1984年から広く胃薬として使

用されている。動物実験で得られた知見が臨床においても起こり得るのではないかと考え、副作用データベースを用いて、2010-2015年の間にアメリカで起こった医薬品による副作用、約233万件を解析した。その結果、うつ様症状の副作用が起こることが知られているインターフェロン製剤服用者において、テプレノンを共に服用している患者では、うつ様症状の副作用が著明に少なくなっていた。

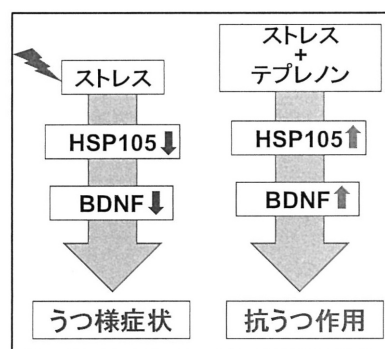


Fig. 1 うつのメカニズム

3. 応用先

以上の結果より、HSP105はうつ様症状に関係する新たな因子であり、胃薬であるテプレノンを経口投与することにより、ストレス負荷によるうつ様症状の改善が認められ、これはHSP105によりBDNFの発現量を増加させているためであると考えられる (Fig. 1)。

本研究は、うつ様症状とHSP105の関係を世界で初めて明らかにした研究であり、うつ病の予防・治療法として新たにHSPがターゲットとなりうる可能性が示唆された。

衝撃緩和構造を有するガーターバネ付き Metal-on-Metal 人工股関節の実用化 (Ⅱ)

技術科学研究所 金枝敏明, 工学研究科 システム工学専攻 趙 薪茗 (清水研究室)

工学部 知能機械工学科 松浦洋司, 帝人ナカシマメディカル (株)

- セールスポイント: ① 他に類を見ない衝撃緩和構造を有する人工股関節
 ② 衝撃緩和には通常使用されないガーターバネを採用
 ③ 詳細なるガーターバネの仕様の調査

1. 研究目的

人工関節の6割を占める人工股関節では、その寿命が現在では15年と言われており、更なる改良で30年を目指す研究がよく実施されている。現在主流の人工股関節では、しゅう動面の組合せ材料が、骨頭側にCo-Cr-Mo合金(以下、コバクロと略す)、カップ側に超高分子量ポリエチレン(以下、UHMEPEと略す)ライナーである。しかしながら、寿命を長期化させるには、摩耗量が少ないと言われている全て金属(コバクロ)からなるメタルオンメタル人工股関節が、一部注目されている。ただ、これでは衝撃を緩和や吸収する能力が乏しく、少々問題がある。そこで、著者等はガーターバネを衝撃緩和材にした人工股関節を考案し、特許を取得した(特許番号5473130,5967873号)。しかしながら、今のところその衝撃緩和特性は、十分に解明されているとはいえない。

今回、その緩和特性を自由落下衝撃試験にて調査し、十分な緩和性能が得られるガーターバネの仕様等を求めようとした。

2. 衝撃緩和型メタルオンメタル人工股関節

Fig.1 に提案している衝撃緩和型メタルオンメタル人工股関節を示す。カップ側を二重構造にし、その間にガーターバネを挿入する。このようにガーターバネを通常の使用形態と異なる形で採用したので、その緩和特性を求める必要がある。

3. バネの特性測定ならびに衝撃緩和試験

先ず、数種のガーターバネのバネ特性(バネ常数ならびに耐荷重)を調査した。その結果、通常とは異なる荷重負荷方向にも関わらず、出

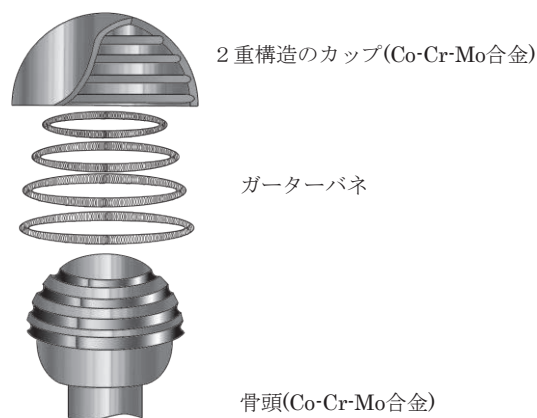


Fig.1 ガーターバネ付衝撃緩和型人工股関節

力特性は線形性が得られ、かつヒトがジャンプした時の荷重である6000N以上の耐荷重を有するものがあることが明らかとなった。

次にガーターバネの仕様(コイル系、線径、素線間隔、本数等)やそれを保持する溝の形状・位置等を求めるため、鋼製錘の自由落下衝撃試験機を自製した。測定には、固有振動数と剛性の高い水晶製圧電型ロードセルを用いた。そして、衝撃試験での最大荷重値(入力6000Nに対しての出力値)と最大荷重到達時間を調査した。この両者で、緩和の程度が把握できる。

これらの実験を行った結果、条件を整えばUHMWPE並みの緩和特性が得られることが明らかとなった。

4. 応用先

「人工股関節」、「ガーターバネが使用できる環境(形状や寸法)にある衝撃緩和装置」

冠動脈ステント留置に対する血管の力学的応答解明のための解析的アプローチ

工学部 機械システム工学科 北川陽菜, 清水一郎, 趙 薪茗 (清水研究室)

技術科学研究所 中谷達行 (株)日本医療機器技研 和田 晃

- セールスポイント: ① 三層構造からなる冠動脈を有限要素モデル化した。
 ② ステント設置による各層内の応力分布を調べた。
 ③ 応力集中を抑制するステントセル形状について検討した。

1. 研究目的

近年、日本人の食生活変化と高齢化により、虚血性心疾患の増加が指摘され、大きな社会問題となっている。心疾患に対して有効な治療法の一つとして、狭くなった血管を押し広げ血流を確保するステント治療が挙げられ、既に20年近い治療実績がある。狭窄部を有する血管とステントの様子を模式的にFig. 1に示す。しかしながら、力学的観点からステント留置過程を詳細に検討した報告は極めて少なく、ステント留置が冠動脈に如何なる影響を及ぼすのか、未だほとんど明らかになっていない。そこで本研究では、ステントを留置した際に冠動脈に生じる力学的応答を、有限要素法解析を用いて定量的に明らかにすることを試みている。

2. 冠動脈の構造と有限要素法解析

血管の構造は、内膜、中膜、外膜の三層構造であり、それぞれ力学的性質が異なる。そこで、実際の冠動脈に対して力学的特性を調べた文献を参考に、各膜の応力 σ -ストレッチ λ 関係を、

$$\sigma = \alpha \cdot \exp \left\{ \beta (\lambda - 1)^2 - 1 \right\} \quad (1)$$

で表現した。ここで、 α , β は層によって異なる定数である。

続いて、血管を軸対称モデル化して有限要素法解析を行った。モデルの一例をFig. 2に示す。この図は三層からなる冠動脈断面を表しており、ステントのセルストラット1個分を血管壁に押付けたときの相当応力分布を示している。この結果から、セルストラットの角部付近が接触する内膜部分に応力集中が生じることがわかる。今後、セル形状の変更に伴う応力分布の変化について調べる予定である。

3. 応用先

冠動脈以外の胆管や末梢血管、その他部位の循環器系に関わるステント治療へ応用可能。

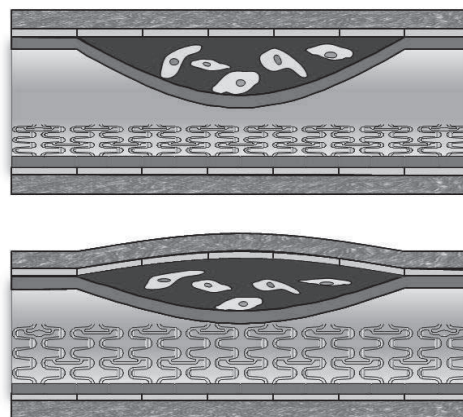


Fig. 1 ステント留置による冠動脈の変形

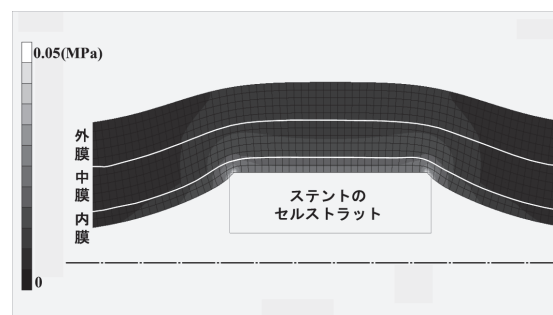


Fig. 2 ステント留置時の冠動脈断面における相当応力分布 (有限要素法解析)

ミトコンドリア生合成シグナル検出のためのレポーターアッセイ系の確立

工学部 生体医工学科 中山琴絵(神吉研究室), 神吉けい太

- セールスポイント: ①ミトコンドリア生合成シグナルを定量的に測定
 ②ルシフェラーゼを利用した高感度な測定
 ③細胞分化研究への応用

1. 研究目的

幹細胞から機能的体細胞への分化誘導にはいまだ課題が多く、より高い機能を持つ細胞を作成するために細胞分化を促進させることが有効である。分化した細胞は発達したミトコンドリアを多く持つことから、ミトコンドリアを増加させることによって、細胞分化促進、機能向上が期待できる。今回、ミトコンドリア生合成シグナルを検出するためのルシフェラーゼレポーターを作成し、肝臓由来細胞を用いて、ミトコンドリア生合成を促進させる刺激条件を検討した。

2. レポーターアッセイ

ミトコンドリア生合成に重要な働きをするミトコンドリア転写因子 TFAM プロモーターを利用して、ルシフェラーゼレポーターを構築し、細胞に導入してミトコンドリア生合成がどのような刺激条件によって誘導されるのか検討した。ミトコンドリア生合成刺激として知られるレスベラトロールによる刺激をおこなったところ、対照群 (DMSO) に比べレスベラトロール 20 μ M 以上で TFAM プロモーターの活性化が認められた (Fig. 1)。また、同様にミトコンドリア生合成刺激として知られる低グルコース刺激の場合、グルコース 0.1mg/ml のとき TFAM プロモーターの活性化が認められた (Fig. 2)。これらの結果から、本レポーターアッセイシステムがミトコンドリア生合成シグナルの定量に有用であることが示された。

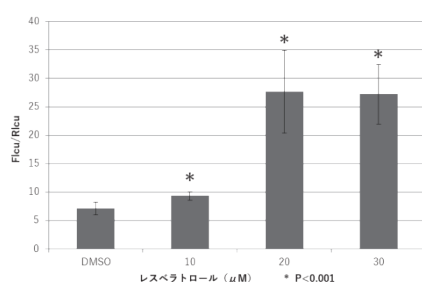


Fig. 1 レスベラトロール刺激の検討結果

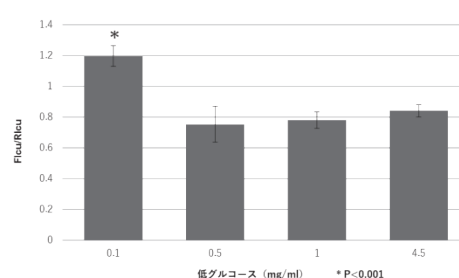


Fig. 2 低グルコース刺激の検討結果

3. 応用先

一般的に細胞分化過程ではミトコンドリアが増加し、分化細胞に必要なエネルギーを供給すると考えられている。本システムを用いて検討した培養条件によりミトコンドリア生合成を増加させると、幹細胞から高機能な細胞への短期間での分化誘導が期待できる。

肝小葉構造構築に向けた管状組織体の作製

工学部 生体医工学科 福島竜弥、大東拓弥（神吉研究室）、神吉けい太
技術科学研究所 岩井良輔

- セールスポイント： ① 肝組織を模した複数の細胞の共培養組織体である。
② 培養液の灌流が可能な構造である。
③ 血管構造を備えることで、さらに大きな組織を作製可能。

1. 研究目的

肝細胞の凝集体（スフェロイド）の再生医療や創薬試験への応用が期待されているが、肝細胞のみからなるスフェロイドでは生体肝組織の機能には遠く及ばないことや、栄養血管が存在しないため作製できるスフェロイドのサイズに限界がある。肝組織を成す複数の細胞から構成され、さらに類洞毛細血管、門脈導管や、胆管構造を有する生体模倣肝組織の作製が望まれている。

本研究では、細胞の自己集合化を誘導する表面コーティング剤（CAT）を用いた細胞自己集合化技術を応用し生体模倣肝組織の構築のために、毛細血管構造を有するリング形の肝小葉様構造体を作製することを目的した。

2. 作製したリング形の肝小葉様構造体

組織の作製方法は、円形（直径 8 mm）に切りぬいたシリコンシートを培養皿に貼り、シリコン円板（直径 2 mm）を円中心部に貼り培養モールド（幅 6 mm）を作製した。そこに CAT をコーティングし、ヒト肝癌細胞株、ラット間葉系幹細胞とウシ血管内皮細胞を 2 : 2 : 1 の割合で混合し播種し、集合化させ組織を作製した（Fig. 1, Bar 1mm）。作製した組織をパラフィンで包埋し、組織切片を作製した（Fig. 2, 100 μ m）。パラフィンで包埋した組織から免疫染色を行った。（Fig3）

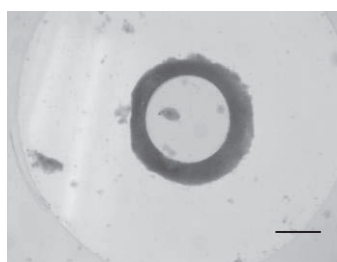


Fig.1 作製した組織

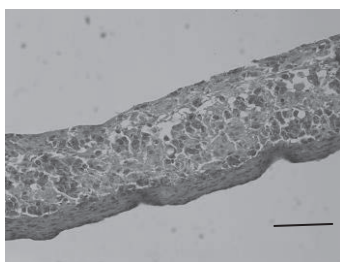
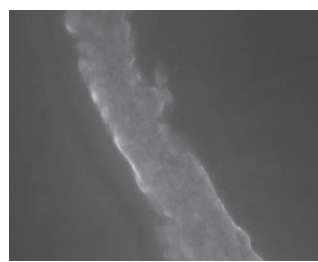


Fig.2 HE 染色



青 : DAPI
緑 : vVF

Fig.3 免疫染色

3. 結論、応用先

CATを用いた細胞の自己集合化技術により、肝癌細胞と間葉系幹細胞と血管構成細胞の混合液を播種することで、リング形の組織体を作ることができた。また、血管構成細胞により毛細血管を有する組織体を得られる可能性がある。リング形組織の積層により門脈構造を再現したチューブ状の生体模倣肝組織の作製が可能になると考えられる。

低酸素応答シグナルに対するデュアルレポーターシステムの構築

工学部 生体医工学科 藤井爽平(神吉研究室), 神吉けい太

- セールスポイント： ① 細胞の低酸素応答シグナルを定量的に検出できる。
 ② 低酸素状態の細胞を蛍光により観察可能
 ③ 平面培養だけでなく立体組織培養でも利用可能。

1. 研究目的

細胞を培養する際、平面培養は観察しやすく測定も行いやすい。しかし組織としての複雑な機能を観測するためには、立体培養のほうが望ましい。立体培養では組織内部が低酸素になり、低酸素状態が細胞分化を抑制することが知られている。したがって、細胞分化への影響を予測するため、組織内部がどの程度の低酸素に晒されているかを知る必要がある。今回、細胞の酸素濃度応答性を利用して、平面および立体培養での酸素状態を検出するレポーターシステムを構築した。

2. 方法と結果

細胞の酸素環境を発光と蛍光により検出する方法として、低酸素応答シグナルの働きを利用したレポーターベクターを作成した。低酸素応答ルシフェラーゼ・レポーターに、細胞内切断配列 T2A と緑色蛍光タンパク EGFP を連結したレポーターを作成した。このレポーターベクターを細胞に導入し、常酸素下(20%)と低酸素下(1%)に置き観察した。ルシフェラーゼアッセイを行った結果、発光量による低酸素レベルの検出が可能であった (Fig. 1)。組織内部が低酸素環境になっているか検討するため、低酸素レポーターをトランスフェクションし平面培養と立体培養をした。その結果、立体組織における低酸素シグナルを蛍光によって検出可能であった (Fig. 2)。

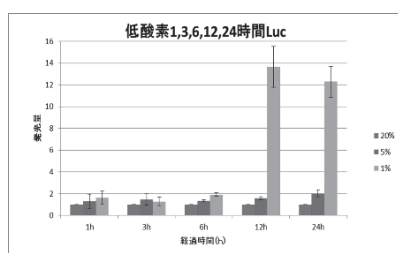


Fig.1 低酸素処理時間によるルシフェラーゼ活性の変化

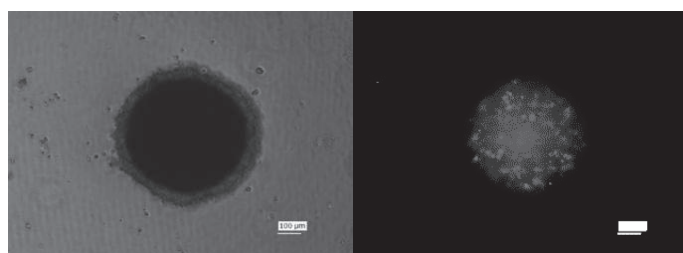


Fig.2 スフェロイド培養における低酸素シグナルの蛍光検出 (左：明視野、右：蛍光)

3. 応用先

細胞の低酸素応答シグナルを利用し、低酸素環境の有無を定量的に、または生きたまま観察することが可能になった。立体組織中の低酸素レベルをモニターすることで、立体培養における細胞分化や細胞生存の効率を最適化するための情報が得られる。

タンパク質導入法を使った細胞機能の人工制御技術開発

工学部 生体医工学科 福澤怜於、中野智貴（二見研究室）、二見 翠

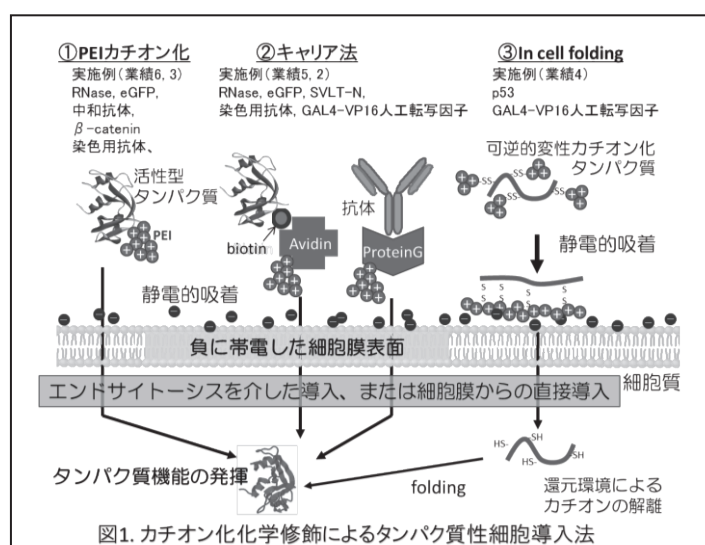
- セールスポイント： ① タンパク質を生きた細胞に導入して、中から細胞の働きを制御
 ② 宿主ゲノムに影響を与えず、一過的な制御が可能
 ③ 体外での細胞供給技術に応用できる

1. 研究目的

タンパク質を化学修飾でカチオン化することで負の電荷を持つ細胞表面に静電的に吸着させ、細胞内にタンパク質を導入することを我々研究グループは発見した。現在この方法を活用した細胞の働きの人工制御技術を立証するため、様々な細胞の働きを制御するタンパク質を導入し、その導入効果を検証している。

2. タンパク質カチオン化による細胞導入技術

カチオン化技術の概要を図1にまとめた。タンパク質は DNA の情報に従ってアミノ酸が繋がり、さらに各々特有の3次元構造を取ることで活性を発揮する。本技術では活性構造を保持したタンパク質を直接(①)または間接的(②)にカチオン化する方法、さらにカチオン化により不溶性の変性タンパク質を可溶性に物性を変えた上で



細胞に導入し細胞質内で活性構造を取らせる方法(③In cell folding 法)を提案している。導入目的タンパク質の物性に合わせて最適なものを選択することで高い導入効果が得られる。特に In cell folding 法は遺伝子の発現の制御から細胞機能を司る転写因子の導入に最適と考え注目している。転写因子は細胞機能の人工制御を目的としたタンパク質導入では重要な標的となるが、核内で複合体を形成して機能する転写因子の多くは単独では不安定で凝集しやすく、活性構造を保持した状態での生産・精製が難しい。In cell folding 法では変性状態で生産・精製を行うため、ここでの条件検討を行う大きい手間を省略できる。

3. 応用先

現在実用化に向かって発展している再生医療産業では移植臓器に適した機能を持つ細胞を大量にかつ安全に供給する技術が欠かせない。タンパク質導入法は、直接的に細胞ゲノムを改変することはなく、一時的な細胞機能の人工制御が可能である。細胞の機能制御を担う細胞内タンパク質を導入することで、必要な時だけ増殖させる、機能を向上させることができ、また遺伝子導入技術と異なり、移植後導入タンパク質の影響がない。現在は肝臓細胞の体外供給技術への発展を目指し、肝臓細胞の機能を向上させる転写因子タンパク質の細胞導入と細胞機能制御の証明に取り組んでいる。

タンパク質をリガンドとして固定化した血液(血漿)吸着器の開発

工学研究科 生体医工学専攻 原田雄作（二見研究室）、二見 翠

- セールスポイント： ① タンパク質をリガンドとしたこれまでにない血液吸着器
 ② リガンドをタンパク質とすることで、特異性が向上
 ③ ポリクローナルの自己抗体もまとめて吸着可能

1. 研究目的

私たちの研究室では血液浄化に用いるタンパク質固定化型吸着剤の開発を行っている。血液浄化の治療では患者血液を体外に循環させ、その過程で病因物質を吸着する担体を充填したカラムを通すことで、病因物質を含まない血液を患者に返し、病態を改善させる。これまでに多数の血液吸着または血漿吸着器が実用化されているが、すべて合成高分子担体、またはその上に病因物質を吸着する低分子リガンドを固定化したものである。

2. タンパク質固定化型血液浄化吸着剤

タンパク質固定化型血液吸着器は海外で商品化の例はあるが日本では承認されていない。その障害の1つとして滅菌の問題があり、現在使われているEOG、オートクレーブ、 γ 線滅菌の3つ方法はタンパク質を変性させる。この事がタンパク質を医療材料全般で応用する上での障壁になる。

本研究では熱分解されない低分子ビオチンに結合するタンパク質と病因物質吸着タンパク質を融合させて作成し、ビオチンを表面に持つ担体に固定化させる方法、または熱耐性の高いビオチン結合タンパク質自身をまず担体に固定化し、その上にビオチン化した病因物質吸着タンパク質を固定化する、という2種類の方法を試すことで、滅菌状態の吸着担体を作製した。

3. タンパク質固定型吸着器の応用先

我々が提案するタンパク質をリガンドとした吸着剤は従来の低分子化合物をリガンドとした吸着剤と比較していくつか利点がある。1つ目は吸着性能として除去対象物質を捕捉する力が強いこと、2つ目は結合特異性が高く除去対象のみを除き血液に必要な成分を残すことができる点である(図1)。さらに3つ目として自己免疫疾患で問題となる患者内のポリクローナルな自己抗体をまとめて吸着除去できる点がある(図2)。自己抗体は一つの抗原分子に対するものであっても患者によって自己抗体が認識する抗原部位が異なること、また一人の患者内で発生する自己抗体もすべて同一のものではなく認識する抗原部位が異なる自己抗体の混合物であることが知られている。このことからより多くの患者で強い効果を発揮すると期待している。

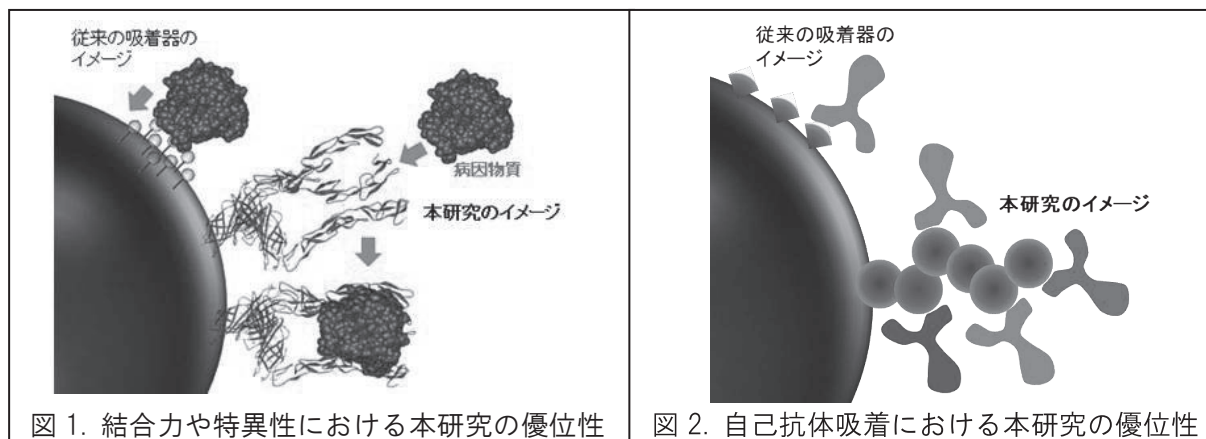


図1. 結合力や特異性における本研究の優位性

図2. 自己抗体吸着における本研究の優位性

人工関節用材料 Crosslinked-UHMWPE の耐摩耗性要因の検討

工学部 知能機械工学科 宗藤真央 (松浦研究室)、松浦洋司

技術科学研究所 金枝敏明

帝人ナカシマメディカル (株)

- セールスポイント: ① 架橋度と耐摩耗性の関係が明らかとなる
 ② 機械的性質 (疲労強度) と耐摩耗性の関係が明らかとなる
 ③ 電子線照射量の耐摩耗性への影響の解明につながる

1. 研究目的

現在の人工股関節の多くは、骨頭部品に Co-Cr 合金、寛骨臼部品に超高分子量ポリエチレン(UHMWPE)が使用されており、これらにより関節摺動面が形成される。摺動時、寛骨臼部品の UHMWPE から摩耗粉が発生し、それによる生体反応によって骨溶解が引き起こされ、人工股関節(ステム部)と大腿骨との間で弛みを引き起こす。UHMWPE の摩耗を減らす方法として、電子線照射によるクロスリンクの形成が行われる。これまで、使用期間 20 年に相当する 2 千万回までの摩耗量について調査し、照射量による影響が確認された。本研究では、照射線量による影響の要因を解明の為、摩耗試験片を切り出し、架橋度、酸化度、ESR (電子スピン共鳴装置) 測定を行い、摩耗試験前後でのそれぞれ違いを比較する。

2. 股関節シミュレータ

耐摩耗試験機である股関節シミュレータ (図 1) は寛骨臼の内外転、伸展・屈曲及び大腿骨の内外旋の角度変位と油圧ポンプによる垂直荷重の変動を発生させ、股関節での歩行中の動作をプログラムによって再現するものである。これにより通常の摩耗試験機などでは再現できない関節の複雑な動作が可能であり、より実際の歩行に近い状況での摩耗量を測定できる。



図 1 股関節シミュレータ

3. 実験方法及び結果

3-1 耐摩耗試験

本試験は ISO14242 (全置換人工股関節の摩耗) に基づき実験を行い、試験片はより体内環境に近づけるため 37℃の牛血清溶液で満たす。試験片は UHMWPE の粉末に Vitamin E を 0.3wt%混合し、真空直接圧縮成形にて成形した。初めは 50 万回、それ以降は 100 万回ごとに重量測定を行う。図 2 に 2 千万回までの結果を示す。縦軸は摩耗量[mm³]、横軸はサイクル数を表す。これより、120kGy では 800 万回から摩耗量が他の線量のものとは比べ増加し始め、1.5 千万回以降では摩耗量は急激に増加し続けている。また、150kGy では 1.7 千万回から摩耗量が増加している。一方 210, 300kGy では 2 千万回まで摩耗は確認されなかった。

3-2 耐摩耗性要因の特定

架橋密度の測定では、ゲル分率の測定に加え、動的粘弾性測定から推定する。また、酸化度及び ESR によるフリーラジカルを測定する。

4. 応用の可能性

ISO で規定されている 500 万回までは線量による摩耗の違いは見られなかったが、それ以降、照射量による違いが顕著に現れた。摩耗試験前後のサンプルの架橋度、酸化度、フリーラジカルなどを比較することにより適切な電子線照射量の決定につなげていけると考える。

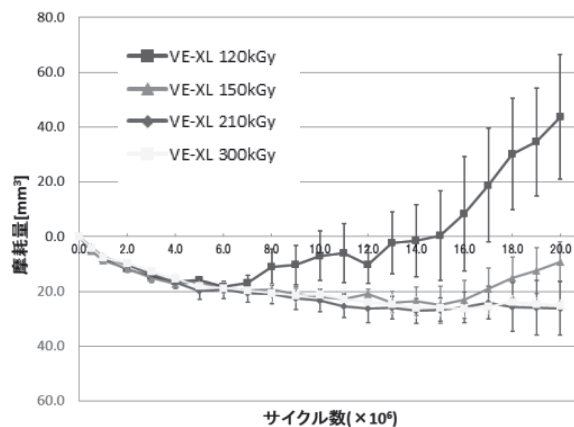


図 2 摩耗試験結果

フラグメント分子軌道計算による新しいインシリコ創薬

工学部 電気電子システム学科 矢城陽一朗
甲南化工株式会社, FMO 創薬コンソーシアム

- セールスポイント: ① 計算値と実験値の相関が明らかになった
② 計算値から薬剤効果の予測が可能になる
③ 新しい薬剤の設計に大きく貢献できる

1. FMO 創薬コンソーシアムの設立

FMO 創薬 (FMO drug design: FMOOD) コンソーシアム」は、フラグメント分子軌道 (Fragment Molecular Orbital: FMO) 法によるインシリコ創薬を、実用的な技術として発展させるために、産官学連携の組織として 2014 年 11 月に設立された (図 1)。日本発の理論手法である FMO 法は、電子状態計算に基づいて医薬品候補化合物と標的タンパク質との詳細な相互作用 (Interfragment Interaction Energy: IFIE) 情報が得られることから、精度の高い信頼性と有効性をもった論理的創薬に繋がることが期待されている。現在、FMOOD コンソーシアムでは、研究課題「HPCI を活用した FMO 創薬プラットフォームの構築」が、平成 27 年度から引き続き、平成 29 年度「京」を含む HPCI (High Performance Computing Infrastructure) の産業利用枠に採択されたことから、標的タンパク質が異なる 4 つのワーキンググループ (WG) に分かれて、スーパーコンピュータ「京」による阻害剤との相互作用計算を進めている。

2. 組織

◆製薬・化学企業 16 社、IT 企業 3 社、研究機関 11 機関が参加しています。代表: 福澤 薫 (星薬科大学)、副代表: 本間光貴 (理化学研究所)、鶴田宏樹 (神戸大学)、世話人: 田中成典 (神戸大学)、矢城陽一朗 (岡山理科大学)、渡邊千鶴 (理化学研究所)、沖山佳生 (国立医薬品食品衛生研究所)

◆WG とグループリーダー

- (1) プロテアーゼ WG: 矢城陽一朗 (2) キナーゼ WG: 田中成典 (3) 核内受容体 WG: 栗田典之 (豊橋技術科学大学) (4) タンパク質-タンパク質相互作用 (PPI) WG: 高木達也 (大阪大学)、川下理日人 (近畿大学) (5) 開発 WG: 本間光貴

3. WG の研究内容の例 (プロテアーゼ WG)

- 標的タンパク質: ヒトタンパク質レニン
腎臓で生成され、血圧上昇にかかわる酵素
・レニンと阻害剤の複合体 (図 2) に対する FMO2-MP2/6-31G* 計算
・レニンと阻害剤の相互作用 (IFIE) 解析
・IFIE と IC_{50} などの臨床値との比較・検討

FMOODコンソーシアム

製薬・化学企業 16社 IT企業 3社
アカデミア 11機関

- ◆ 創薬標的タンパク質の選定
- ◆ タンパク質-化合物複合体の FMO2-MP2/6-31G* 計算
- ◆ IFIE (相互作用エネルギー) 解析
- ◆ IFIE データベースの構築
- 距離情報に相互作用情報を加える
- ◆ PIEDA 解析
- IFIE を各エネルギー成分に分解する

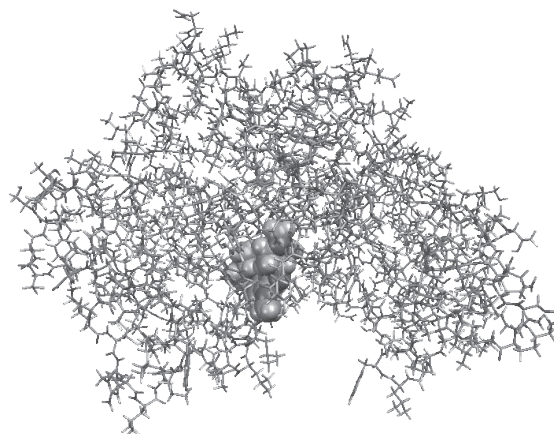


図 1 FMO 創薬コンソーシアムの研究活動

図 2 レニンと阻害剤の複合体

臓器チップの開発に向けた細胞の 2D-3D 連結構造体 “立体細胞回路” の作製

技術科学研究所 岩井良輔、工学研究科 生体医工学専攻 長島 諒（岩井研究室）

- セールスポイント： ① 任意の場所を自動的に 3 次元化できる世界初の細胞操作技術
② 動物実験を代替する培養試験系 “臓器チップ” の開発に応用できる

1. 研究目的

動物実験に代わり、全身の薬物動態である吸収 (A)、分布 (D)、代謝 (M) と排泄 (E) (ADME) を評価し得る培養系「生体/臓器チップ」の概念が次世代の創薬スクリーニング評価系として提唱され盛んに研究が行われている。その実現には、ADME の役割を担う細胞を生体内の環境に近い薬剤反応性を発揮できるように、細胞種に応じて 2 次元 (2D) 単層、あるいは 3 次元 (3D) 組織の形態に作り分け、培養表面の決められた位置に固定化する必要があるが、そのような細胞操作技術はほとんど開発されていない。本研究では、我々が独自に開発した 2D 接着細胞の自動 3D 組織化技術を用いて、生体/臓器チップ構築のための細胞の 2D-3D 連結構造体 “立体細胞回路” を作製することを目的とした。

2. 方法と結果

シリコン板 (厚さ: 1 mm) を切り抜き培養皿の表面に貼付することで、長方形線形溝 (長さ: 20~40 mm, 幅: 1~2 mm; 2D 培養ユニット) の中央部に正方形溝 (一辺長: 3~4 mm; 3D 組織化ユニット) を有する培養鋳型を作製した。3D 組織化ユニットにのみ細胞自己集合化誘導剤 (CAT) を塗布し乾燥させた後、間葉系細胞を播種すると、播種 1 時間以内に細胞は 2D 培養ユニットと 3D 組織化ユニットのいずれの培養表面にも接着して隙間のない細胞単層を形成したが、約 8 時間後に 3D 組織化ユニットの細胞のみが 2D 培養ユニットの細胞単層との細胞間接着を維持した状態で自己集合・3D 組織化することで 2D 細胞単層と 3D 細胞組織体が連結した 2D-3D 連結細胞構造体が形成した。3D 組織化ユニットの形状を円形や長方形に変えることで、それぞれ球形や細長い棒形の 3D 組織体が形成し、2D 細胞単層で固定化することもできた (Fig. 1)。

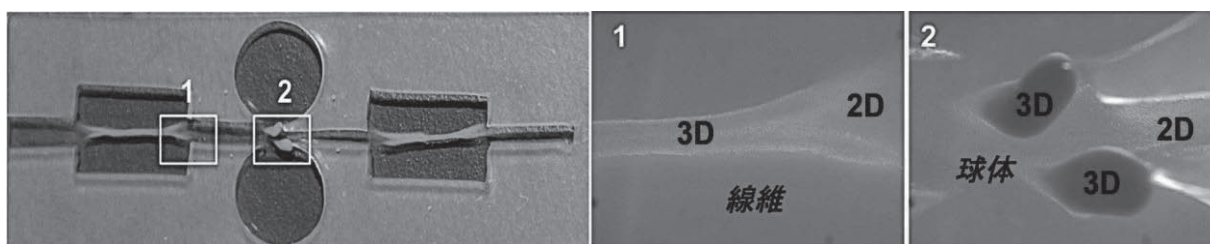


Fig. 1 世界初、細胞の” 2D-3D連結構造体”

3. 結論と応用先

CATを用いた接着細胞の自己集合化技術を利用することで、細胞を任意の形状で自動的に3D凝集化させ、2Dの接着細胞層と連結して固定化することに世界で初めて成功した。モールドの形状設計により、3D凝集体の形状が制御できることから、シリコンの微細加工技術との組み合わせによって複雑な臓器の形状も再現できる可能性があると考えている。Body on a Chipを実現するための基盤技術としての応用が期待される。