

第 24 回分子予防環境医学研究会大会

テーマ：分子科学に立脚した予防医学へのチャレンジ

プログラム

講演要旨集

日時：2025年3月1日(土)～2日(日)

会場：山崎記念館 (熊本大学本荘北地区)

<https://bunka.nii.ac.jp/heritages/detail/136518>

大会長：澤 智裕 (熊本大学大学院生命科学研究部 微生物学講座 教授)



事務局：〒860-8556

熊本市中央区本荘1-1-1

熊本大学大学院 生命科学研究部(医) 微生物学講座

津々木 博康

Tel. 096-373-5320 Fax. 096-362-8362

E-mail. tsutsuki@kumamoto-u.ac.jp

演題送付先 E-mail. jsmpem24@gmail.com

第24回分子予防環境医学研究会大会

テーマ：分子科学に立脚した予防医学へのチャレンジ

日時：2025年3月1日(土)～2日(日)

会場：山崎記念館 (熊本大学本荘北地区)

<https://bunka.nii.ac.jp/heritages/detail/136518>



会場 (山崎記念館)

大会長：澤 智裕 (熊本大学大学院生命科学研究部微生物学講座 教授)

研究会ホームページ：<https://www.microbio-ku.jp/%E7%AC%AC24%E5%9B%9E%E5%88%86%E5%AD%90%E4%BA%88%E9%98%B2%E7%92%B0%E5%A2%83%E5%8C%BB%E5%AD%A6%E7%A0%94%E7%A9%B6%E4%BC%9A/>

参加費：一般 4,000 円
学生・大学院生 1,000 円

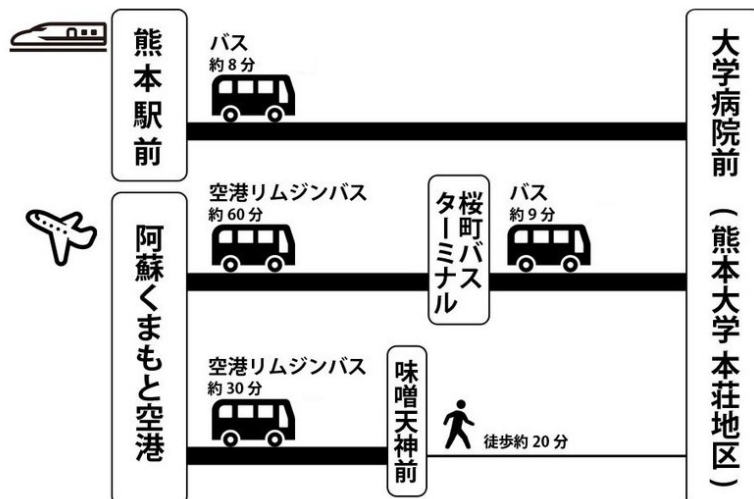
懇親会費：4,000 円

大会当日、受付にてお支払いください。

会場周辺地図



本荘地区(医学部等)への交通アクセス



熊本駅前から

都市バス（6番のりば）

交通機関	行先	経由	番号
都市バス	第一環状線（子飼方面）	大学病院～大江渡鹿	O2-0
	県立劇場（大学病院方面）	大学病院～大江渡鹿	O3-1
	長嶺小学校	大学病院～日赤病院	G1-6
	長峰団地	大学病院～大江渡鹿	H4-1
	県会議事堂	大学病院～県庁	K6-0

桜町バスターミナルから

都市バス・熊本バス（2番のりば）

交通機関	行先	経由	番号
都市バス	八王寺環状（南熊本方面）	大学病院～八王寺	P0-0
	野越団地	大学病院～済生会病院	P2-1

阿蘇くまもと空港から

「桜町バスターミナル」で下車し、都市バス・または熊本バスにお乗り換えください。

交通機関	行先
空港リムジンバス(2番のりば)	熊本市内行き

(熊本大学交通案内、熊本大学病院アクセスマップより抜粋)

<http://www.kumamoto-u.ac.jp/campusjouhou/access>

<https://www.kuh.kumamoto-u.ac.jp/map/access.html>



本荘北地区 (山崎記念館 : 大会・幹事会会場)
 〒860-8556 熊本市中央区本荘1丁目1番地1号

本荘南地区 (楷樹会館 MEDICO : 懇親会会場)
 〒862-0976 熊本市中央区九品寺4丁目24番1号

ご挨拶

第 24 回分子予防環境医学研究会大会

大会長 澤 智裕

(熊本大学大学院生命科学研究部 微生物学講座 教授)

このたび、第 24 回大会長として分子予防環境医学研究会大会を開催させていただくにあたり、ご挨拶申し上げます。熊本での研究会の開催は 2017 年 2 月に加藤貴彦先生が世話人を務められた第 16 回大会以来となります。歴史と伝統のある本研究会を再び熊本で開催できることを大変光栄に思います。熊本大学に就任してから、熊本地震やコロナ禍を経験し、ヒトの健康と環境要因の様々な相互作用を読み解く社会医学の重要性を強く感じておりました。そこで今回のテーマは「分子科学に立脚した予防医学へのチャレンジ」としました。特別講演では、京都大学名誉教授の小泉昭夫先生と順天堂大学客員教授の永瀬浩喜先生にお願いし、「PFAS とはなにか？ どう立ち向かうのか？」と「変異ミトコンドリア特異的マイトファジー誘導による疾患治療、予防の可能性」というタイトルでご講演頂きます。社会医学において重要な有機フッ素化合物やミトコンドリア変異性疾患に関する基礎および臨床研究に関する先駆的なお話が拝聴できると思います。またシンポジウムでは、「生体と金属を毒性学から理解する」と題して、金属がもたらす多彩な生態影響について先端的な研究を行っておられる 4 名の先生にご講演頂きます。ヒトの健康に深く関わる金属分子に関する最新の研究を拝聴できるこの機会が、今後の社会医学研究の発展につながることを期待しています。

研究会は熊本大学山崎記念館で開催いたします。山崎記念館は、熊本大学のキャンパス内にある歴史的な建物で、1931 年（昭和 6 年）に熊本医科大学の初代学長兼教授であった山崎正董博士の功績を記念して建設されました。この記念館は、熊本大学の歴史と医療教育の発展を象徴する重要な文化財として保存されてきました。冬の熊本は海の幸、山の幸とも豊富で美味しく、天草、阿蘇と観光地も多彩であることから、皆様には是非現地にお越し頂きたいと思っております。研究会では活発な議論を行って頂き、新たな出会いと皆様の研究の発展のきっかけとなることを期待しています。どうぞ宜しくお願い申し上げます。

ご参加の皆様へのご案内

【受付】

- ・初日の受付は 12:00 からです。来場されましたら、受付にお越し下さい。
- ・参加費は「一般」 4,000 円、「学生・大学院生」 1,000 円です。当日受付でお支払い下さい。「学生・大学院生」では、大学・研究機関等の教員・職員の身分を兼ねる方は除きます。該当する場合は「一般」参加費をお支払い下さい。
- ・受付ではネームホルダーと名札（学会参加証・参加費領収書付き）をお渡しします。
- ・懇親会に参加される方は受付で参加費（4,000 円の予定）をお支払い下さい。

【シンポジウム・特別講演の講演者の方へ】

- ・講演は液晶プロジェクターを用いて行います。講演者ご自身のパソコンを会場に設置された液晶プロジェクターに接続して映写して頂きます。パソコンの操作はご自身でお願い致します。接続は HDMI のみとなりますので、専用アダプターが必要な方は持参いただくようお願い致します。
- ・講演者はパソコンと発表ファイルの動作確認を前もってお願い致します。試写は、講演開始前、休憩時間に会場の液晶プロジェクターに接続してご確認下さい。

【一般演題・若手発表演題の講演者の方へ】

- ・発表時間は質疑応答、交代を含めて一般演題 15 分（発表 12 分、質疑応答 2 分、交代 1 分）、若手発表演題 12 分（発表 9 分+質疑 2 分+交代 1 分）です。
- ・発表は液晶プロジェクターを用いて行います。講演者ご自身のパソコンを会場に設置された液晶プロジェクターに接続して映写して頂きます。パソコンの操作はご自身でお願い致します。接続は HDMI のみとなりますので、専用アダプターが必要な方は持参いただくようお願い致します。
- ・講演者は各自のセッション開始 20 分前までに会場にお越し頂き、前もってパソコンと発表ファイルの動作確認をお願い致します。
- ・前演者の講演が始まりましたら、次演者席での待機をお願い致します。
- ・ご持参のパソコンのトラブルなどが発生した場合に備えて、ご発表用のファイルをコピーした USB フラッシュメモリーなどをご持参ください。また、ご持参される USB フラッシュメモリーなどは事前に必ずウイルスチェックを行って下さい。
- ・発表の都合上どうしてもご自身のパソコンをご用意できない方は、前日までに事務局へご連絡下さい。個別に対応致します。

【座長の方へ】

- ・各セッションの 10 分前までに会場にお越しください。講演時間の厳守とともに、討論が活発になりますよう司会進行をお願い致します。

【懇親会会場】

- ・懇親会会場は熊本大学 医学部南地区 楷樹会館 MEDICO（メディコ）です。3 月 1 日（土）の特別講演が終了次第、会場へ移動して下さい。

【その他】

- ・会場内では、必ずネームカードをご着用ください。
- ・会場内では、携帯電話等の音を出さないようお願いいたします。
- ・会場内での呼び出しは行いません。
- ・発表・講演中のビデオ・写真撮影、録音（スマートフォンを含む）はご遠慮ください。
- ・クロークはありませんので、各自で荷物の管理をお願いします。
- ・本大会では、優れた研究発表をした若手研究者（2024年12月31日現在で40歳未満）に「若手優秀研究発表賞」（3名の予定）を授与します。

第24回分子予防環境医学研究会大会 日程表（概要）

2025年3月1日(土)	2025年3月2日(日)
12:00～ 開場・受付開始	8:30～ 開場
12:55～ 開会挨拶	9:00～10:00 若手演題1
13:00～13:45 一般演題1	10:10～10:58 若手演題2
13:50～14:50 特別講演1	11:05～12:35 一般演題2
15:00～17:15 シンポジウム	12:35～13:20 総会・休憩（弁当配布）
17:20～18:20 特別講演2	13:20～14:05 一般演題3
18:30～20:30 懇親会	14:10～ 授賞式
	14:30（予定） 閉会挨拶

第24回分子予防環境医学研究会大会 プログラム

1日目(3月1日)

12:00～ 開場・受付開始

12:55～13:00 開会の挨拶

13:00～13:45 一般演題1 (発表12分+質疑応答2分+交代1分: 3演題45分)

(座長) 平工 雄介 (福井大学学術研究院医学系部門 環境保健学分野)

1. メタロ β ラクタマーゼ IMP-1 および VIM-2 の菌体外放出と周囲の細菌に与える影響
福嶋 理香 (熊本大学大学院生命科学研究部 微生物学講座)
2. クロミプラミンによる COVID-19 治療効果のメカニズム解析
加藤 百合 (九州大学大学院薬学研究院 生理学分野)
3. SARS-CoV-2 感染における超硫黄分子の生体防御機構の解明
守田 匡伸 (東北大学大学院医学系研究科 環境医学分野)

(5分休憩) 13:45～13:50

13:50～14:50 特別講演1 (発表+質疑応答60分)

(座長) 赤池 孝章 (東北大学大学院医学系研究科 環境医学分野)

「変異ミトコンドリア特異的マイトファジー誘導による疾患治療、予防の可能性」

永瀬 浩喜 (順天堂大学大学院医学研究科 難治性疾患診断・治療学 難病の診断と治療研究センター 客員教授)

(10分休憩) 14:50～15:00

シンポジウム演題

(座長) 澤 智裕 (熊本大学大学院生命科学研究部 微生物学講座)

15:00～17:15 「生体と金属を毒性学から理解する」 (発表25分+質疑応答4分+交代1分: 4演題120分; Hot topics 発表12分+質疑応答3分)

1. 生体における鉄利用と毒性: in vivo でのフェロトーシス研究から
諸石 寿朗 (熊本大学大学院生命科学研究部 分子薬理学講座、東京科学大学難治疾患研究所 細胞動態学分野)
2. バイオ鉄研究に関する最近の進展
豊國 伸哉 (名古屋大学大学院 医学系研究科 生体反応病理学)

3. メチル水銀毒性に対するセレン/セレノプロテインの機能とその意義—水俣病患者由来試料から得られた新たな知見
斎藤 芳郎 (東北大学大学院薬学研究科 代謝制御薬学分野)
4. 生命金属の超硫黄分子を介した心機能調節
西田 基宏 (九州大学大学院薬学研究院 生理学分野、自然科学研究機構生理学研究所 (生命創成探究センター) 心循環シグナル研究部門)
5. (Hot Topics) Longevity regulation via sulfide:quinone oxidoreductase (SQR)-dependent energy metabolism in yeast
Meg Shieh (Department of Chemistry, Brown University)

(5分休憩) 17:15~17:20

17:20~18:20 特別講演2 (発表+質疑応答: 60分)

(座長): 松島 綱治 (東京理科大学 生命医科学研究所 炎症・免疫難病制御部門)

「PFASとはなにか? どう立ち向かうのか?」

小泉 昭夫 (公益社団法人 京都保健会 社会健康医学福祉研究所、京都大学名誉教授)

18:20~懇親会会場へ移動

18:30~20:30 懇親会 (医学部南地区 楷樹会館 MEDICO)

2日目 (3月2日)

8:30~ 開場

9:00~10:00 若手発表演題1: 腫瘍・炎症 (発表9分+質疑2分+交代1分: 5演題 60分)

(座長) 居原 秀 (大阪公立大学大学院 理学研究科 生物化学専攻)

及川 伸二 (三重大学大学院医学系研究科 環境分子医学)

1. 膠芽腫の境界部における画像診断学的・病理学的・分子学的評価の関連
井上 博貴 (東京大学衛生学/熊本大学脳神経外科)
2. 単一細胞解像度で考える悪性胸膜中皮腫の腫瘍内不均一性
末吉 国誉 (東京大学大学院医学系研究科 衛生学教室)
3. 腹膜中皮細胞に対する抗炎症性サイトカインの影響の検証
伊藤 智哉 (九州大学大学院薬学研究院 生理学分野)

4. Attempts to induce in vitro neutrophils characteristic of SLE, focusing on BAFF expression patterns and neutrophil extracellular traps (NETs) formation

Zirui Zeng (曾子芮) (University of Occupational and Environmental Health, Japan)

5. ケモカイン受容体制御分子 FROUNT 阻害剤ジスルフィラムの吸入製剤 FN-01 は特発性肺線維症の新規治療薬になりうる

田邊 尚亮 (東京理科大学生命医科学研究所 炎症・免疫難病制御部門)

(10分休憩) 10:00~10:10

- 10:10~10:58 若手発表演題 2 : 生理活性物質・超硫黄分子 (発表 9 分+質疑 2 分+交代 1 分 : 4 演題 48 分)** (座長) 西田 基宏 (九州大学大学院薬学研究院 生理学分野)

酒井 敏行 (京都府立医科大学創薬センター)

6. 2-オキソカルノシンのカルノシン分解酵素に対する分解抵抗性とその血中安定性および抗酸化活性への寄与

小前 奏明 (大阪公立大学大学院理学研究科 生物化学専攻)

7. 呼気・空間オミックスによる超硫黄代謝変動解析

緒方 星陵 (東北大学大学院 医学系研究科 環境医学分野)

8. 超硫黄触媒酵素アルコールデヒドロゲナーゼ 5 による NO シグナル制御機構

JUNG Minkyung (東北大学大学院医学系研究科 環境医学分野)

9. The function of sulfite oxidase in mitochondrial supersulfide metabolism

潘 玥璇 (Pan Yuexuan) (Dept. Environ. Med. Mol. Toxicol., Tohoku Univ. Grad. Sch. Med.)

(7分休憩) 10:58~11:05

- 11:05~12:35 一般演題 2 抗炎症・超硫黄分子 (発表 12 分+質疑応答 2 分+交代 1 分 : 6 演題 90 分)**

(座長) 斎藤 芳郎 (東北大学大学院薬学研究院 代謝制御薬学分野)

守田 匡伸 (東北大学大学院医学系研究科 環境医学分野)

4. ポリスルフィド化ジスルフィラムの合成と抗炎症作用

新留 琢郎 (熊本大学大学院先端科学研究部 医工学部門)

5. Pharyngeal aspiration of multi-walled carbon nanotubes induces acute pulmonary inflammation in wild-type but not Nrf2 null mice

市原 学 (東京理科大学薬学部 環境労働衛生学)

6. NLRP3 タンパク質超硫黄化による環境刺激応答
張 田力 (秋田大学感染統括制御・疫学・分子病態研究センター)
7. 環化超硫黄分子の生体内大量生成とミトコンドリアエネルギー代謝機能の解明
松永 哲郎 (秋田大学感染統括制御・疫学・分子病態研究センター)
8. 超硫黄およびセレン修飾タンパク質のプロテオーム解析法の開発
高田 剛 (東北大学大学院医学系研究科 環境医学分野)
9. 超硫黄分子による出芽酵母の寿命制御
吉武 淳 (東北大学大学院医学系研究科 環境医学分野)

12:35~13:20 総会・昼食 (弁当配布)

13:20~14:05 一般演題3 DNA損傷・腫瘍 (発表12分+質疑応答2分+交代1分: 3演題45分)

(座長) 石川 俊平 (東京大学 大学院医学系研究科 衛生学分野)

10. 天然ポリフェノール Salvianolic acid B による DNA 損傷機構
小林 果 (三重大学大学院医学系研究科 環境分子医学)
11. セルベーススクリーニングを用いた新規がん予防標的 GGCT 阻害剤としての plumbagin の同定
谷口 恵香 (京都府立医科大学大学院医学研究科 創薬医学)
12. CRP/CD64 が腫瘍関連マクロファージ (TAM) の腫瘍促進性を誘導する作用により腎細胞がんの進行に寄与する
潘 程 (熊本大学大学院生命科学研究部 細胞病理学講座)

(5分休憩・授賞式準備) **14:05~14:10**

14:10~14:30 授賞式

14:30~ 閉会の挨拶

特別講演 1

「変異ミトコンドリア特異的マイトファジー誘導による疾患治療、 予防の可能性」

（座長）赤池 孝章（東北大学大学院医学系研究科 環境医学分野）

（演者）永瀬 浩喜（順天堂大学大学院医学研究科 難治性疾患診断・治療学 難病の診断
と治療研究センター 客員教授）

特別講演 1

「変異ミトコンドリア特異的マイトファジー誘導による疾患治療、予防の可能性」

永瀬 浩喜

順天堂大学大学院医学研究科 難治性疾患診断・治療学

ミトコンドリアは真核細胞生物が、リケッチアのような細菌、原核生物を取り込んだことに由来し、呼吸鎖複合体による ATP 産生を司る細胞内エネルギー工場である。ミトコンドリアはエネルギー工場の機能に加え、活性酸素種 (ROS) 発生源、感染防御システム制御、細胞死制御、Ca などの金属元素の貯蔵、ヘムの合成、代謝調節、炎症など様々な生体機構にも関与している。近年、疾患の発症、進展、増悪因子としてのミトコンドリアの異常がクローズアップされてきている。これはミトコンドリア DNA (mtDNA) が高頻度に変異を起こすことにも起因する。

mtDNA に変異が生じると主にクオリティコントロール (QC) 機構であるマイトファジー (mtΦ) などによってその変異は除去され品質が管理される。ミトコンドリア病などの疾患に関与する mtDNA の変異は何らかの理由でこの mtΦ を回避し、残存できると考えられ、変異 mtDNA のコピー数が増えることで疾患の発症に関与すると考えられる。つまり変異 mtDNA を再認識させ、除去できればミトコンドリア関連疾患を治療できる可能性が考えられる。我々は、変異ミトコンドリア DNA に特異的に結合するピロールイミダゾールポリアミド化合物 (PIP) を合成し、脂溶性カチオンである triphenylphosphonium (TPP) と縮合させた化合物 PIP-TPP を合成したところ、興味深いことに変異 mtDNA を有する細胞に PIP-TPP を投与したところ mtΦ の誘導が確認された。mtΦ についてはミトコンドリア膜蛋白のユビキチン化やレセプターにより誘導される機序が解明されているものの、どのように変異 mtDNA を認識して mtΦ を生じさせるのかは不明な点が多く、この PIP-TPP による mtΦ の機序も解明できていない。いずれにしても、QC 機構が活性化され変異 mtDNA が除去できるのであれば、ミトコンドリア病などの根治治療につながると考え、ミトコンドリア病 MELAS の m.3243A>G 変異に特異的に結合する PIP-TPP、CCC-018-TPP を作成した。CCC-018-TPP は、ミトコンドリア病患者線維芽細胞で変異 mtDNA のコピー数を減少させ、酸素消費速度 (OCR) の改善を誘導した。簡易毒性試験においても問題がなく、臨床試験に向け開発研究を進めている。また進行性がんを高頻度に認められるホモプラスミー変異を標的にした CCC h-560-TPP についても抗がん治療薬として開発に取り組んでいる。 本会では我々の研究とミトコンドリア標的治療の開発の現状について報告する。

演者略歴

永瀬 浩喜

順天堂大学 客員教授、株式会社新日本科学 理事



長崎県対馬市に生まれ

- 1981年3月 福岡県立筑紫丘高校卒業
- 1987年3月 熊本大学医学部卒業
- 1987年4月 熊本大学医学部附属病院 第二外科 研修医
- 1988年6月 熊本市民病院 研修医
- 1989年6月 熊本大学医学部附属病院 第二外科 医員
- 1992年11月 財団法人癌研究会癌研究所 生化学部 嘱託研究員
- 1993年10月 英国 Beatson 癌研究所 Molecular Oncology 研究員
- 1997年2月 米国 ONYX Pharmaceuticals株式会社 Cancer Genomics プロジェクトリーダー
- 1999年2月 カリフォルニア大学サンフランシスコ校癌研究所分子腫瘍 学外教授
- 1999年10月 東京大学医科学研究所ヒト疾患モデル研究センター遺伝子機能研究分野 助手
- 2000年4月 理化学研究所筑波研究所分子腫瘍学研究室 協力研究員
- 2001年 6月 米国 North Carolina State University Toxicology 准教授
- 2001年10月 米国 Roswell Park Cancer Institute Department of Genetics 準メンバー
- 2001年10月 ニューヨーク州立大学バッファロー校 細胞分子生物学講座 准教授
- 2005年4月 日本大学大学院総合科学研究科生命科学専攻 教授
- 2005年4月 日本大学医学部先端医学系癌遺伝学分野 教授
- 2010年4月 千葉県がんセンター研究局 研究局長
- 2013年4月 千葉県がんセンター研究所 研究所長
- 2022年4月 順天堂大学大学院 医学研究科難治性疾患診断・治療学講座
難病の診断と治療研究センター 客員教授
- 2022年5月 新日本科学株式会社 理事特命担当
- 2024年11月 株式会社 永寿サイエンス 取締役社長

特別講演 2

「PFAS とはなにか？ どう立ち向かうのか？」

（座長）松島 綱治（東京理科大学 生命医科学研究所 炎症・免疫難病制御部門）

（演者）小泉 昭夫（公益社団法人 京都保健会 社会健康医学福祉研究所、京都大学名誉教授）

特別講演 2

PFAS とはなにか？ どう立ち向かうのか？

小泉 昭夫

公益社団法人 京都保健会 社会健康医学福祉研究所

京都大学名誉教授

PFASs (Per- and polyfluoroalkyl substances)は、1940年代から製造されている合成化学物質の一種である。PFAS は、機械、電子、水性フィルム形成発泡体 (AFFF) から一般消費者向け製品まで、幅広い用途に使用されている。PFAS は非常に分解されにくいいため、PFAS は地球環境に偏在するようになった。PFAS への暴露は、免疫毒性、脂質代謝障害、胎児や子供の成長阻害、腎臓がんなどの病気を含み、健康への悪影響と関連することが示されている。PFAS のひとつである PFOA (パーフルオロオクタン酸) は、2023年に IARC によってヒト発がん性物質グループ 1 に分類された。一方もう一つの古典的 PFAS の一つである PFOS(パーフロロスルホン酸)は、同様の健康影響を有するがヒトに発がん性を有する可能性が指摘されている。

2000年の初頭、東京都の多摩川流域で PFOS、大阪府の淀川水系で高濃度の PFOA 汚染が発見された。前者の汚染原因は横田基地からの泡消火剤によるものであることが判明し、沖縄をはじめとする国内の米軍基地、自衛隊基地で相次いで汚染が見いだされ今日に至っている。また PFOA に関しては、汚染源は大阪府摂津市のダイキン工業が、十分な処理もせずに相川下水処理場から放流し、阪神間の約 600 万人の飲料水を汚染することが明らかになった。一方国際的にも、PFAS への毒性が注目され、米国では飲料水基準として PFOS, PFOA とも 4ng/L 未満という厳しい基準が 2024 年に導入された。

また、リスク管理の厳格化の背景として、近年 PFAS による健康影響の疫学および実験医学的なエビデンスが報告されてきたことがある。我が国と世界の PFAS に関する環境研究、健康影響評価、現在のリスク評価および産業保健の取り組みの一端を紹介させていただきたい。

演者略歴

小泉 昭夫

1978年 東北大学医学部医学科卒業 医学部衛生学教室 助手

1983年 医学博士の学位取得 米国留学

1987年 秋田大学医学部衛生学教室 助教授

1993年 秋田大学医学部衛生学教室 教授

2000年 京都大学医学研究科 社会健康医学 環境衛生学分野教授

2018年 同退職 公益社団法人 京都保健会 社会健康医学福祉研究所長

活動： 日本衛生学会理事長（2016-2018）、環境省 環境研究推進委員会 安全確保部会評価委員
藤原記念財団理事長

シンポジウム

「生体と金属を毒性学から理解する」

「Hot topics」

(座長) 澤 智裕 (熊本大学大学院生命科学研究部 微生物学講座)

(演者)

1. 生体における鉄利用と毒性: *in vivo* でのフェロトーシス研究から

諸石 寿朗 (熊本大学大学院生命科学研究部 分子薬理学講座、東京科学大学難治疾患研究所 細胞動態学分野)

2. バイオ鉄研究に関する最近の進展

豊國 伸哉 (名古屋大学大学院 医学系研究科 生体反応病理学)

3. メチル水銀毒性に対するセレン/セレノプロテインの機能とその意義—水俣病患者由来試料から得られた新たな知見

斎藤 芳郎 (東北大学大学院薬学研究科 代謝制御薬学分野)

4. 生命金属の超硫黄分子を介した心機能調節

西田 基宏 (九州大学大学院薬学研究院 生理学分野、自然科学研究機構生理学研究所 (生命創成探究センター) 心循環シグナル研究部門)

5. Longevity regulation via sulfide:quinone oxidoreductase (SQR)-dependent energy metabolism in yeast

Meg Shieh (Department of Chemistry, Brown University)

シンポジウム1

生体における鉄利用と毒性：in vivoでのフェロトーシス研究から

○諸石 寿朗^{1, 2}

- 1) 熊本大学大学院生命科学研究部 分子薬理学講座
- 2) 東京科学大学難治疾患研究所 細胞動態学分野

鉄は電子を容易に授受しやすい化学的特性から様々な酸化還元反応の基盤となり、生命活動に必須の役割を果たす。一方、その過剰は酸化傷害を誘導し、毒性を引き起こす可能性がある。近年、鉄が駆動する細胞死「フェロトーシス」が発見され、また、細胞内鉄動態が細胞増殖や細胞分化を積極的に制御する例が報告されるなど、鉄は単なる酵素の補因子としてだけでなく、様々な細胞機能の調節を通じて多様な生命機能を発揮することが明らかになってきた。多種多様な細胞から構成される多細胞生物においてこのような鉄の重要性をさらに探求するためには、生体内で動的に変化する鉄を単一細胞レベルで捉え、操作する技術の開発が重要だと考えられる。

われわれはこれまでの研究において、鉄と直接結合し細胞内の鉄センサーとして機能するユビキチンリガーゼ FBXL5 に注目し、鉄代謝の厳密な制御が胎児発生や組織の恒常性維持、がんの進展に重要な役割を果たすことを明らかにしてきた。FBXL5 は鉄欠乏時には不安定であるが、鉄過剰時には自身の鉄結合ドメインへの鉄の配位によって安定化し、RNA 結合タンパク質である IRP1 および IRP2 を分解することで、フェリチンやトランスフェリン受容体などの鉄代謝関連タンパク質の発現量を調節し、細胞内の遊離鉄を減少させる役割を果たす。肝臓において FBXL5 を欠損するマウスは、通常飼育では正常に発育するが、鉄の負荷により数時間で肝臓に広範なフェロトーシスが誘導され、死に至る。本演題では、このような FBXL5 の特性を利用して、生体内の鉄動態を可視化・操作する方法について議論し、肝臓におけるフェロトーシスの誘導とその組織応答についてわれわれが得た知見を紹介したい。

シンポジウム 2

バイオ鉄研究に関する最近の進展

○豊國 ^{とよくに} 伸哉 ^{しんや}¹

1) 名古屋大学大学院医学系研究科 生体反応病理学

鉄の生命系における最大の役割は、地殻の中心に多量に存在することで **Magnetocore** を形成して太陽からの強力なプラズマを反発して、地球の大気圏を維持していることである。しかし、鉄なしで生存できる生命体はいないことからわかるように、鉄はありとあらゆる生命現象で重要な役割を果たしており、鉄・硫黄・酸素の相対的な意味づけがわかってきた。2012年にはフェロトーシスという新たな鉄関連制御性壊死のコンセプトが出され、現在も論文数が指数関数的に増えている。私たちは、過剰鉄が発がんにも果たす役割を30年以上に渡り研究してきたが、発がんは **Iron addiction with ferroptosis-resistance** ではないかと考えている。**Brca1** 変異ラットでは、**C-Myc** 増幅を介した鉄発がんの促進を認めた。一方、フェロトーシスの際に発生する脂質過酸化物の解析から **4-hydroxy-2-nonenal** に注目し、そのマイケル付加体に対する抗体 (**HNEJ-1**) を開発することで生理的なフェロトーシスも明らかにした。その他の鉄代謝に関する新事実として注目しているのは、細胞基質には **PCBP1/2** という鉄シャペロンが存在することと、細胞内で余分な鉄はフェリチンに蓄積されるのみならず、鉄搭載フェリチンを含む **CD63** 陽性エクソソームで分泌されることである。最近、私たちはアスベスト繊維による中皮腫発がんにおいて、アスベストを貪食したマクロファージから放出される **CD63** 陽性エクソソームが中皮細胞の酸化的 DNA 傷害に寄与することを明らかにした。がん細胞特異的にフェロトーシスを起こす方法として、私たちは低温プラズマの直接・間接照射に注目している。興味あることに、この分子機構は多様であるが、がん細胞特有の細胞内鉄代謝、オートファジー、**iNOS** 誘導などがわかってきている。

【参考文献】 Stockwell et al. *Cell* 2017 (ferroptosis); Toyokuni et al. *Cancer Sci* 2020 (ferroptosis); Zheng et al. *Redox Biol* 2021 (physiological ferroptosis); Ito F et al. *Redox Biol* 2021 (CD63+ exosome and mesothelioma); Yanatori et al. *Blood* 2021 (CD63+ exosome and ferritin); Jiang L et al. *Redox Biol* 2021 (low-temperature plasma); Toyokuni et al. *J Clin Biochem Nutr* 2022 (iron metabolism); Kong et al. *Redox Biol* 2022 (Brca1); Toyokuni S et al. *Arch Biochem Biophys* 2023 (iron metabolism); Jiang et al. *Free Radic Biol Med* 2024 (low-temperature plasma); Sato et al. *Oral Dis* 2024 (low-temperature plasma); Dai et al. *Nat Cell Biol* 2024 (ferroptosis); Qiu et al. *Nat Commun* 2024 (ferroptosis in COVID19).

シンポジウム 3

メチル水銀毒性に対するセレン/セレノプロテインの機能とその意義

—水俣病患者由来試料から得られた新たな知見

○^{さいとう}斎藤 ^{よしろう}芳郎

東北大学大学院薬学研究科 代謝制御薬学分野

【背景と目的】 必須微量元素であるセレンは、システインの硫黄がセレンに置き換わった“セレノシステイン”という形でタンパク質中に存在している。セレノシステインを含むタンパク質は、セレノプロテインと総称され、活性酸素種 ROS の除去やレドックス制御といったセレンの生理機能を担っている。血漿中に存在する“セレノプロテイン P (SeP)”は、分子内に 10 残基のセレノシステインを持つユニークなタンパク質であり、過酸化脂質の還元無毒化や細胞に効率よくセレンを運搬する機能など、多機能タンパク質として知られる。最近、血漿中のメチル水銀のほとんどが SeP に結合していることが明らかとなったが、その機構は不明であった。セレンは、メチル水銀の毒性を抑制することが知られており、SeP はメチル水銀を結合することで、その毒性を緩和する可能性が考えられる。

水俣病の原因物質として知られる“メチル水銀”は、環境中に普遍的に存在しており、生物濃縮を介してマグロなどの大型魚類に蓄積し、魚食などを介してヒトにも曝露される。水俣病患者の脳内を含む各臓器において、高濃度のセレンが検出されることが知られており、その原因物質が特定されていない時期には、セレンが水俣病原因物質の候補として検証されていた。しかしながら、何故水俣病患者で高濃度のセレンが検出されるのか、またメチル水銀毒性との関連性については、十分理解されていなかった。

【方法】 SeP は、ヒト血漿から精製したタンパク質を用いて解析に用いた。水俣病患者由来の各臓器サンプルおよび当時水俣湾で採取された魚介類の解析は、国立水俣病総合研究センター 坂本峰至先生との共同研究として実施した。

【結果・考察】 セレンとメチル水銀との結合について、セレノシステインを固相化したビーズを用いて検証した結果、メチル水銀はセレノール基 (SeH) に結合し、安定な付加体を形成した。また、システインのチオール基 (SH) に結合したメチル水銀は、トランス水銀化を介してセレノール基に結合し、Se-Hg 結合はチオール基では解離しない結合であることが明らかとなった。これらより、メチル水銀はセレノール基と安定な複合体を形成するため、血漿中で SeP に集積すると考えられる。SeP に結合したメチル水銀は、SeP のセレン運搬作用を抑制したが、代償的にその毒性を消失することも分かった。セレンとメチル水銀がお互いの生体影響を打ち消し合うことが知られているが、SeP とメチル水銀の関係性でも類似の関係性が見て取れる。以上、本発表では、SeP に対するメチル水銀の集積機構とその生体影響について議論する。一方、最近、我々の研究グループは、水俣病患者由来の各臓器サンプルおよび当時の水俣湾で採取された魚介類の解析から、水銀だけで無くセレンも高濃度で検出されることを認めた。両者の比率を再解析した結果、水銀とセレンのモル比は 1 を超えており、メチル水銀がセレンの作用を超えて毒性を発揮していると考えられた。即ち、高濃度で検出されたセレンは、その生体影響をメチル水銀によって打ち消されていたと考えられる (M Sakamoto et al., *Environ Int.*195.109242, 2025)。以上、本発表では、水俣病における水銀/セレンの比率とその環境毒性評価における防御因子の重要性について議論したい。

シンポジウム 4

生命金属の超硫黄分子を介した心機能調節

にしだもとひろ
○西田基宏^{1,2}

- 1) 九州大学大学院薬学研究院生理学分野
- 2) 自然科学研究機構生理学研究所（生命創成探究センター）心循環シグナル研究部門

生物の身体に含まれる微量の金属元素（生命金属）は、そのユニークな化学特性を介して生体内のレドックス恒常性維持に大きく貢献している。ただその一方で、過剰な生命金属の摂取や欠乏は、レドックス恒常性の破綻を招き、様々な病態・疾患を引き起こす原因にもなる。我々は心臓のストレス抵抗性（頑健性）維持における生命金属の役割に着目した研究を行ってきた。

例えば、水俣病の原因として知られる有機水銀は中枢神経障害を引き起こす毒として有名であるが、神経毒性を誘発しない微量の有機水銀曝露がヒトにおいて心筋梗塞の発症リスクを2倍以上高くすることが報告されている。我々は、神経障害を誘発しない微量のメチル水銀（MeHg）を含んだ水を1週間自由引水させたマウスに横行大動脈狭窄を行い、圧負荷誘発性の心不全を惹起させた。その結果、MeHg曝露マウスでは圧負荷後の突然死発症率が劇的に増加し、生き残ったマウスの心機能も有意に低下することを見出した。心筋組織を電子顕微鏡で詳細に観察したところ、MeHg水銀曝露マウス心筋ではミトコンドリアが小さく分裂していることがわかった。さらに、ミトコンドリア分裂促進GTP結合タンパク質 Drp1 のGTPase活性も有意に増大していた。Drp1タンパク質の活性はC末端のCys644のSH基のポリ硫黄化（超硫黄化）によって負に制御されており、MeHgはCys644の超硫黄鎖を脱硫黄化することでDrp1活性を増加し、ミトコンドリアの過剰分裂を誘導することが明らかになった。

一方、細胞外からの微量な亜鉛イオン（Zn²⁺）流入が心臓の圧受容反射に対する陽性変力作用（収縮力の増加）の増強に寄与することも見出している。この機構として、受容体作動性のtransient receptor potential canonical (TRPC) 6チャンネルが交感神経刺激によって開口活性化し、微量なZn²⁺流入を惹起することでβアドレナリン受容体を介する心筋の収縮応答性を高めることを明らかにした。TRPC6チャンネル活性化薬PPZ2を心不全マウスに投与したところ、急性心不全のみならず、慢性期の心機能及び予後まで改善することが明らかとなり、その機序として、心筋の硫黄代謝改善（超硫黄分子の形成）を介したレドックスバランスの回復が関与する可能性も見出している。

以上の結果は、超硫黄分子が生命金属による心筋細胞内シグナル応答を仲介する鍵因子となることを強く示唆している。

シンポジウム 5

Longevity regulation via sulfide:quinone oxidoreductase (SQR)-dependent energy metabolism in yeast

Meg Shieh¹, Xia Yingchi², Akira Nishimura³, Tomoaki Ida², Masanobu Morita², Tetsuro Matsunaga^{2,4}, Jon Fukuto⁵, Hozumi Motohashi⁶, Takaaki Akaike²

¹Department of Chemistry, Brown University

²Department of Environmental Medicine and Molecular Toxicology, Tohoku University Graduate School of Medicine

³Graduate School of Biological Sciences, Nara Institute of Science and Technology

⁴Center for Integrated Control, Epidemiology and Molecular Pathophysiology of Infectious Diseases, Akita University

⁵Department of Chemistry, Sonoma State University

⁶Department of Medical Biochemistry, Tohoku University Graduate School of Medicine

【目的】 Sulfide:quinone oxidoreductase (SQR), a highly conserved enzyme among various organisms, was first identified in eukaryotes in the fission yeast (*Schizosaccharomyces pombe*) as a detoxifying enzyme for cadmium (Cd). We recently found that SQR is involved in an oxygen-independent novel energy metabolism, sulfur respiration. We established SQR-deficient yeast (*hmt2Δ*) to be used for the Cd-cytotoxicity assay and to investigate SQR function in vivo.

【方法】 The SQR-deficient yeast showed enhanced susceptibility to Cd toxicity. To further examine the involvement of SQR in the mitochondrial energy metabolism, we compared yeast growth on different carbon sources. Yeasts of both genotypes similarly grew well on glucose, suggesting that SQR is dispensable to glycolytic energy production. When glycerol was supplied as a sole carbon source, the growth of SQR-deficient yeasts was attenuated remarkably, as compared with that of wild-type yeasts, indicative of an essential role of SQR for in the mitochondrial energy metabolism. Importantly, the increase in mitochondrial membrane potential, as well as ATP production, was diminished at the stationary phase in SQR-deficient yeasts. Moreover, the chronological lifespan of SQR-deficient yeasts was significantly shorter than that of the wild-type cells.

【結果・考察】 These data suggest that SQR is not merely a Cd-detoxification enzyme but truly contributes to the mitochondrial bioenergetics in yeast, which is likely to be advantageous for lifespan extension in yeast.

一般演題

一般演題 1

メタロβラクタマーゼ IMP-1 および VIM-2 の菌体外放出と周囲の細菌に与える影響

○^{ふくしまりか}福嶋理香¹、豊元柁弥¹、上釜綾夏¹、津々木博康¹、澤智裕¹

1) 熊本大学大学院 生命科学研究部 微生物学講座

【目的】近年薬剤耐性菌の増加が問題となっており、院内感染だけでなく家畜や農作物といった環境への伝播が懸念されている。その中でもグラム陰性桿菌に対しカルバペネムを含む多くのβラクタム系抗菌薬の耐性をもたらすことから、特にメタロβラクタマーゼ (MBL) が着目されている。MBL の一種である NDM-1 は膜親和性ドメインを有し、菌体外に外膜小胞を介して放出され、菌体外でβラクタムを分解することが報告された。しかし膜親和性ドメインを有さない IMP-1 と VIM-2 については菌体外に放出されるか不明である。本研究では、IMP-1 および VIM-2 が外膜小胞を介さず直接菌体外に放出される可能性および菌体外へ放出された IMP-1 が周囲に与える影響について検討した。

【方法】組み換え IMP-1 及び組み換え VIM-2 を作成し、ウサギに免疫することで各抗血清を得た。この抗血清を用いて、臨床分離カルバペネム耐性緑膿菌 23 株の菌体内および培養上清中 (菌体外) の IMP-1 または VIM-2 の検出をウェスタンブロッティング (WB) で行った。さらに、野生型大腸菌を IMP-1 含有培養液及び抗 IMP-1 抗血清と混合し、薬剤感受性の変化を確認した。

【結果・考察】IMP-1 発現緑膿菌 18 株、VIM-2 発現 1 株の培養上清中にそれら MBL タンパク質が検出された。これら MBL は超遠心後にも上清に認められたことから、外膜小胞ではなく直接菌体外に放出されていることが示唆された。さらに、この培養上清を野生型大腸菌に添加するとβラクタム系抗菌薬の感受性が著しく低下した。また抗 IMP-1 抗血清を添加すると感受性は回復したことから、感受性の低下は培養上清中の IMP-1 によるものであることが示唆された。上記より IMP-1 および VIM-2 は外膜小胞を介さず直接菌体外に放出され、周辺の細菌の薬剤感受性を低下させる可能性が明らかとなった。

一般演題 2

クロミプラミンによる COVID-19 治療効果のメカニズム解析

○加藤百合¹、石井志奈¹、伊藤智哉¹、Mi Xinya¹、西村明幸²、今井由美子³、日下部亘宏⁴、諫田泰成⁵、西田基宏^{1,2}

- 1) 九州大学大学院薬学研究院生理学分野
- 2) 生理研研究所・心循環シグナル研究部門
- 3) 医薬基盤・健康・栄養研究所 ワクチン・アジュバント研究センター
- 4) 九州大学大学院農学研究院資源生物科学部門
- 5) 国立医薬品食品衛生研究所 薬理部

【目的】 -----

新型コロナウイルス (COVID-19) 感染症は、主な感染経路として SARS-CoV-2 ウイルス表面にある Spike タンパク質が宿主細胞膜上の ACE2 タンパク質と結合し、細胞内に取り込まれる。ワクチン接種が進んでいる一方で、継続的に感染が流行し、新たな問題として COVID-19 罹患後症状 (Long COVID) が報告されている。これらに対して、いまだ有効な治療薬は確立されておらず、原因となる発症機構の解明や治療法の確立が喫緊の課題である。我々は、Spike タンパク質の ACE2 を介した内在化に着目し、既承認薬の中から ACE2 内在化を抑制する化合物を探索して、三環系抗うつ薬クロミプラミンを同定した。他の三環系抗うつ薬では同様の効果が得られなかったことから、クロミプラミン固有の薬理作用があることを想定した。本研究では、心筋のレドックス・硫黄代謝の視点から、クロミプラミンの COVID-19 治療効果との関連について解析した。

【方法】 -----

SARS-CoV-2 由来の精製 Spike タンパク質を ACE2-EGFP 安定発現 HEK293 細胞株に曝露することで引き起こされる ACE2 の内在化 (in vitro 疑似感染モデル) を抑制する既承認薬を探索した。同定したクロミプラミンの阻害様式を明らかにするために、Spike タンパク質、クロミプラミンの濃度を変え、内在化抑制率を測定した。さらに、VeroE 細胞を用いて SARS-CoV-2 感染抑制効果を検証した。SARS-CoV-2 感染重症化や mRNA ワクチンの副作用では心臓における表現型が報告されていたことから心臓に着目し、Spike タンパク質を投与したマウスの心臓でのレドックス状態をクロミプラミン投与の有無で比較した。

【結果・考察】 -----

Spike タンパク質曝露による ACE2 内在化を強く抑制するクロミプラミンを同定した。その阻害様式は非競合阻害であり、ACE2 本来の酵素活性を阻害しなかった。また、クロミプラミンは、ヒト iPS 細胞由来心筋細胞への SARS-CoV-2 感染と心筋代謝機能障害を強く抑制した。Spike タンパク質を投与したマウスでは血中 IL-6 量が増加したが、クロミプラミンを投与するとこれが抑制された。興味深いことに、Spike タンパク質とクロミプラミンを投与したマウスでは複数の超硫黄分子産生酵素の mRNA 発現レベルが上昇しており、実際に硫黄分子検出プローブによる蛍光イメージングにおいても、心臓組織中の超硫黄分子量の上昇が見られた。これまでに心不全時の心臓内の超硫黄分子の減少や超硫黄分子投与による心機能改善、超硫黄分子における炎症制御が報告されており、クロミプラミンにより増加した超硫黄分子が心臓において抗炎症効果を示している可能性がある。これらを明らかにすることで、COVID-19 感染重症化や Long COVID に対する新たな治療メカニズムを提供できることが期待される。

一般演題 3

SARS-CoV-2 感染における超硫黄分子の生体防御機構の解明

○^{もりたまきのが}守田匡伸¹、松永哲郎^{1,2}、緒方星陵¹、Jung Minkyung¹、井田智章¹、本橋ほづみ³、赤池孝章¹

- 1) 東北大学大学院 医学系研究科 環境医学分野
- 2) 秋田大学感染統括制御・疫学・分子病態研究センター
- 3) 東北大学大学院 医学系研究科 医化学分野

【目的】システインパースルフィドなどの硫黄原子が連結（カテナーション）した超硫黄分子が、ミトコンドリア型のシステイニル tRNA 合成酵素（CARS2）によって生体内で豊富に生成され、ミトコンドリアのエネルギー代謝、免疫制御活性など様々な生理活性を有することが明らかになってきた。最近我々は、超硫黄分子がウイルス感染および慢性肺疾患において強力な保護活性を有することを見出した。本研究では、超硫黄分子による新型コロナウイルス感染症（COVID-19）に対する生体防御機構について解析を行った。

【方法】CARS2 の超硫黄分子産生活性変異マウス（*Cars2*^{AINK/+}）およびヒトアンジオテンシン変換酵素 2 を発現するマウス（ACE2-Tg）を交配することで *Cars2*^{AINK/+}::ACE2-Tg を作製し、新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）を気管内感染させ解析した結果、AINK 変異によって、感染マウスの体重と生存率が減少し、感染肺ウイルス量が有意に増加した。加えて、シリアンハムスター感染モデルを用いて解析した結果、GSSSG の気管内・腹腔内投与により、感染ハムスターの体重減少が減弱し、感染肺の病変面積が減少し、ウイルス量が有意に減少した。

【結果・考察】超硫黄分子が、SARS-CoV-2 に対して抗ウイルス効果を有することを明らかにした。超硫黄分子の強力な炎症・免疫制御活性を利用して、COVID-19 重症（劇症）肺炎の病態とされるサイトカインストーム、および、その合併症あるいは後遺症（合併症）として重要視されている間質性肺炎・肺線維症などの難治性疾病の発生予防を行うことで、単純な抗ウイルス療法にとどまらない統合的な抗 COVID-19 治療戦略の構築が期待される。

一般演題 4

ポリスルフィド化ジスルフィラムの合成と抗炎症作用

○新留 琢郎¹、徐 薇¹、菰原 義弘²、澤 智裕³

- 1) 熊本大学 大学院先端科学研究部 医工学部門
- 2) 熊本大学 大学院生命科学研究部 細胞病理学講座
- 3) 熊本大学 大学院先端科学研究部 微生物学講座

【目的】ポリスルフィド（超硫黄）化合物はその抗酸化作用を起点に、抗炎症、抗腫瘍、抗菌といった様々な生理活性を有する。一方、ジスルフィラム（DSF）は抗酒癖剤として上市されている含硫黄化合物で、この代謝物は、NF- κ B が関わる炎症誘導を阻害し¹⁾、また、腫瘍関連マクロファージの FROUNT を阻害し、がん免疫を賦活化する²⁾。ジスルフィラムはその分子内にジスルフィド構造を有し、そこをポリスルフィド化することが可能である。本研究では、ジスルフィラムのポリスルフィド体を合成し（図 1）、その抗炎症活性を評価した。

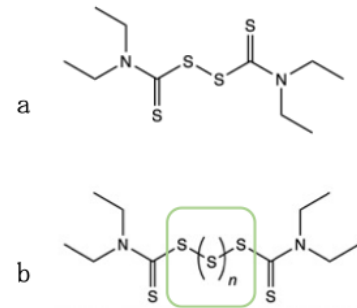


図 1、ジスルフィラム (a) およびそのポリスルフィド体 (b)

【方法】N,N-ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム水溶液に亜硝酸ナトリウムを添加し、ニトロソ化した後、硫化水素ナトリウムを添加することで、ジスルフィラムのポリスルフィド体 ($n = 1 \sim 7$) を得た。HPLC によりジスルフィラムポリスルフィド ($n = 2$; DSF-S2) を精製した。DSF-S2 を RAW264.7 細胞に添加し、細胞内の活性硫黄種を LC-MS/MS によって定量し、硫黄ドナー活性とした。抗炎症活性については、LPS で刺激した RAW264.7 細胞からの TNF- α の産生を ELISA で、NO の産生を Griess 法により定量し、これらの産生抑制効果で評価した。DSF-S2 含有 PLGA (ポリ乳酸-グリコール酸共重合体) ナノ粒子はマイクロ流路法で調製した。

【結果・考察】DSF-S2 を RAW264.7 細胞に添加することによる細胞内活性硫黄種の変化を評価した。その結果、システインの超硫黄体 (CysSSH、CysSSSH) やグルタチオンの超硫黄体 (GSSH、GSSSH) が増加した。DSF ではこのような細胞内超硫黄体の増加は見られず、DSF-S2 のポリスルフィド構造が超硫黄ドナーとして機能することがわかった。TNF- α および NO 産生阻害を指標に抗炎症効果を評価した結果、DSF-S2 は DSF に比べより強くこれら炎症応答を抑制することがわかった。さらに、NF- κ B の活性化により不死化しているリンパ腫細胞に対しても DSF-S2 は強い細胞傷害性を示した。DSF-S2 の超硫黄とその代謝物が相乗的あるいは相加的に採用し、抗炎症効果を示したものと考えられる。さらに、DSF-S2 を PLGA ナノ粒子に内包させた結果、マクロファージに選択的に取り込まれ、抗炎症効果を示した。このように、DSF-S2 の疎水性を活かした薬物送達システムも構築した。

【参考文献】

- 1) Allensworth et al., *Mol. Oncol.* **9** (2015) 1155–1168.
- 2) Terashima et al., *Nat. Commun.* **11** (2020) 609.

一般演題 5

Pharyngeal aspiration of multi-walled carbon nanotubes induces acute pulmonary inflammation in wild type but not Nrf2 null mice

Wenting Wu^{1,2}, O Gaku Ichihara,^{1,3} Akihiko Ikegami⁴, Yuka Suzuki², Kiyora Izuoka², Saleh Ahmed³, Cai Zong³, Ken Itoh⁵, Masayuki Yamamoto⁶, Sahoko Ichihara^{2,4}

1) Department of Occupational and Environmental Health, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya

2) Graduate School of Regional Innovation Studies, Mie University, Tsu

3) Department of Occupational and Environmental Health, Tokyo University of Science, Noda

4) Department of Environmental and Preventive Medicine, Jichi Medical University School of Medicine, Shimotsuke

5) Department of Stress Response Science, Biomedical Research Center, Hirosaki University Graduate School of Medicine, Hirosaki

6) Tohoku Medical Megabank, Tohoku University, Sendai

【Aim】 Multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) are used to reinforce plastics, but recent studies have demonstrated that exposure to MWCNTs via inhalation or intratracheal instillation induced lung carcinoma in rats. The present study was designed to determine the role of nuclear factor erythroid 2-related factor (Nrf2) in MWCNT-induced inflammatory response in the lung of mice.

【Method】 Anesthetized male Nrf2 null mice and age-matched wild-type mice were exposed once to MWCNTs at either 0, 10, or 20 $\mu\text{g}/\text{mouse}$ by pharyngeal aspiration. Bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and lung tissues were collected after one week to evaluate pulmonary inflammation.

【Results • Discussion】 Exposure to MWCNTs significantly increased BALF total cell counts and total protein level in wild-type mice, but not in Nrf2 null mice. Exposure to MWCNTs significantly increased the numbers of BALF lymphocytes, neutrophils, and eosinophils in wild-type mice. MWCNT-exposed wild-type mice showed the significant increases in interleukin (IL)-1 β , IL-6, and keratinocyte-derived chemokines (KC) levels in BALF, but these were not seen in BALF of Nrf2 null mice. Exposure to MWCNTs also increased the levels of IL-1 β and caspase-1 only in the lungs of wild-type mice. Our results demonstrate that MWCNT-induced pulmonary inflammation is dependent on Nrf2 and further suggest that inflammasome activation is involved in the Nrf2-dependent inflammation.

一般演題 6

NLRP3 タンパク質超硫黄化による環境刺激応答

○張 田力¹、西村 明幸²、津々木 博康³、門出 和精³、松永 哲郎¹、
西田 基宏^{2,4}、赤池 孝章⁵、澤 智裕³

- 1) 秋田大学・感染統括制御・疫学・分子病態研究センター
- 2) 生理学研究所・心循環シグナル研究部門
- 3) 熊本大学・大学院・生命科学研究部・微生物学講座
- 4) 九州大学・大学院・薬学研究員・生理学分野
- 5) 東北大学・大学院・医学系研究科・環境医学分野

【目的】 -----

超硫黄分子とは、チオール基 (-SH) に過剰な硫黄原子 (S) がカテナーションしたパースルフィド (RSSH) やポリスルフィド (R[S]_nH, n>2) の総称である。これまでの研究から、超硫黄分子が生体レベルで豊富に存在し、抗酸化性、エネルギー代謝や酸化還元依存的シグナル伝達などにおいて重要な機能を発揮することが分かってきた。我々は、NLRP3 インフラマソームの活性化機構における細胞内超硫黄分子の役割を調べることを目的とした。

【方法】 -----

酸化型 N-アセチル-L-システイン (NAC) を基本骨格として硫黄原子を安定化させた超硫黄ドナー (NAC-S₂) を合成した。さらに、細胞内の低分子型超硫黄分子およびその代謝物の変動を評価するため、質量分析装置を用いた定量解析を行った。NLRP3 インフラマソームを活性化するために、マクロファージをリポ多糖、ATP で刺激した。その後、タンパク質の超硫黄化は Iodoacetyl-PEG₂-Biotin を用いて解析した。

【結果・考察】 -----

マクロファージにリポ多糖を単独で処理すると、NLRP3 タンパク質の超硫黄化が顕著に増加した。さらに、リポ多糖と ATP で刺激した条件では、NLRP3 インフラマソーム依存的に IL-1 β が産生された。このとき、細胞内カリウムと低分子超硫黄であるグルタチオンポリスルフィドが細胞外に排出されることを見出した (Redox Biol 2021)。この条件において、NLRP3 タンパク質の超硫黄化が著しく減少することがわかった。以上のことから細胞内超硫黄分子が NLRP3 インフラマソームの活性化の制御に密接にかかっていることが明らかとなった。本研究は、NLRP3 インフラマソームが関与する炎症疾患に対する新しい治療法の構築に寄与することが期待される。

一般演題 7

環化超硫黄分子の生体内大量生成とミトコンドリアエネルギー代謝機能の解明

○^{マツナガテツロウ}松永哲郎^{1, 2}、Uladimir Barayeu^{2, 3}、Minkyung Jung²、緒方星陵²、高田剛²、守田匡伸²、吉沢道人⁴、本橋ほづみ⁵、赤池孝章²

- 1) 秋田大学感染統括制御・疫学・分子病態研究センター
- 2) 東北大学大学院医学系研究科 環境医学分野
- 3) ドイツ・マックスプランク ポリマー研究所
- 4) 東京科学大学科学技術創成研究院 化学生命科学研究所
- 5) 東北大学大学院医学系研究科 医化学分野

【目的】硫黄は多彩な同素体として自然環境、食物、生体に豊富に存在しており、生命の起源より生体エネルギー産生に関する生命素子として注目されている。一方で、生体内の硫黄の枯渇は酸化ストレスを誘導する他に、硫化水素は高濃度で環境汚染物質として有毒性を持つことが知られている。これまで我々は、生体内において硫黄原子が連結・伸長（カテナーション）した超硫黄分子（ $R-SS_n-R$; $R = \text{Cys, GSH, protein, H, or cyclized form}$; $n > 1$ ）が、豊富に産生されていることを明らかにした。その代謝経路を解析するなかで、超硫黄産生酵素としてミトコンドリア型システイニル tRNA 合成酵素 (CARS2) を同定し、超硫黄分子が真核生物・哺乳類のミトコンドリアにおいてエネルギー代謝・硫黄呼吸を営むことを発見した。最近、硫黄原子が伸長・環状化した環化超硫黄分子（*cyclo*-octasulfur, S_8 ）が生体内の細胞および組織において当初の想定を超える高濃度で蓄積し、これが、レドックスシグナルの真の担い手として多彩な生理機能を発揮していることを示唆する知見を得た。しかしながら、硫黄呼吸を司る代謝経路やエネルギー産生メカニズムには不明な点が多く残されている。本研究では、ミトコンドリア膜電位形成を指標として、超硫黄分子による生体内のエネルギー代謝機構の詳細について解析を行った。

【方法・結果】単離ミトコンドリアを用いた硫黄呼吸の可視化・定量解析法を開発し、CARS2 による超硫黄に依存した膜電位形成を精度よく定量分析した。その結果、マウス胎児線維芽細胞 (MEF) の単離ミトコンドリアにおける膜電位形成が、硫黄ドナー (NaHS および Na_2S_2) の添加により増加し、硫黄酸化酵素である sulfide:quinone oxidoreductase (SQR) 依存的であることが示された。一方、超硫黄 S_8 を効率良く捕捉する分子カプセルを用いた定量的な質量分析により、硫黄細菌 *Rhodobacter capsulatus* において S_8 が検出され、MEF およびヒト胎児腎細胞 (HEK293T) のミトコンドリアにおいても同様の高濃度レベルの S_8 生成が認められた。さらに、シングルミトコンドリア解析により、分子カプセルを添加した直後に HEK293T のミトコンドリア膜電位が著しく消失し、超硫黄ドナーの添加によりその消失が抑制された。

【考察】本研究において、超硫黄分子に依存したミトコンドリアの膜電位形成を高精度に定量分析することで、超硫黄分子 S_8 によるミトコンドリア機能の制御機構を明らかにし、真核生物の酸素呼吸が、実際には、超硫黄分子と酸素分子によるハイブリッド型のエネルギー代謝であることが示唆された。

一般演題 8

超硫黄およびセレン修飾タンパク質のプロテオーム解析法の開発

○高田剛¹、緒方星陵¹、井田智章¹、JUNG Minkyung¹、吉武淳¹、守田匡伸¹、松永哲郎^{1,2}、赤池孝章¹

- 1) 東北大学大学院医学系研究科環境医学分野
- 2) 秋田大学感染統括制御・疫学・分子病態研究センター

【目的】

超硫黄分子は、複数の硫黄原子が連結したポリスルフィド構造を持ち、エネルギー代謝やレドックスシグナル、酸化ストレス制御など様々な生理機能に重要な役割を果たす。さらに、超硫黄分子は代謝物としてだけでなく、タンパク質修飾としても存在し、タンパク質の機能制御に寄与している。必須微量元素セレンは、硫黄と同じ周期表第 16 属元素で、原子核が大きく電子軌道が広がっているため、超硫黄分子と同様に高い反応性を示す。セレンの過剰摂取は酸化ストレスを増加させ、タンパク質の変性や機能障害を引き起こし、細胞に損傷を与えることが知られている。最近の研究では、超硫黄分子とセレンが互いに相互作用することが明らかになっており、これらが共同で細胞内での機能に重要な役割を果たしていると考えられている。タンパク質中の硫黄やセレンの修飾を定量的に評価することは、新たなレドックスおよびエネルギー代謝制御機構の解明のために重要である。本研究では、タンパク質中の超硫黄修飾とセレン修飾を定量的に評価する手法を開発し、これらの修飾が細胞機能に与える影響を明らかにすることを旨とする。

【方法】

タンパク質中の超硫黄修飾およびセレン修飾を高精度で定量するために、プロテオーム解析に基づく新しい前処理法と質量分析を組み合わせた解析手法を確立した。本手法では、まずサンプルをアルキル化およびトリプシン消化し、システイン残基における超硫黄化およびセレン化の修飾割合を測定する。その後、サンプルを還元処理した後にアルキル化およびトリプシン消化を再度行い、修飾を除去した状態でプロテオーム解析を実施する。このチオール基の測定値を総量として各修飾量に対して補正をかけることにより、各修飾割合を定量的に算出することが可能となる。

【結果・考察】

本手法を用いることにより、チオール基の総量を基準にして各修飾量を補正する方法を確立した。タンパク質中のシステイン残基 (CysSH) における超硫黄修飾 (CysS-SH、CysS-SSH など) の割合を算出することに成功し、特定のシステイン残基における超硫黄修飾の割合が、そのタンパク質の機能制御に重要であることが明らかになった。さらに、超硫黄化とグルタチオン化 (CysS-SG、CysS-SSG など)、および超硫黄化とセレン化 (CysS-SeH、CysS-SeSeH など) の組み合わせがタンパク質中に多様な形態で共存していることが明らかになり、これらの修飾が細胞の機能に深く関与していることが示唆された。今後、本手法に加え、これまで確立されてきた超硫黄分子の解析法である超硫黄メタボローム解析などを組み合わせた解析を実施することにより、これらのタンパク質修飾が果たす生理的役割の解明が期待される。

一般演題9

超硫黄分子による出芽酵母の寿命制御

○吉武淳¹、西村 明²、井田智章¹、守田匡伸¹、松永哲郎³、高田剛¹、ジョンミンギョン¹、緒方星陵¹、本橋ほづみ⁴、赤池孝章¹

- 1) 東北大学・院医・環境医学分野
- 2) 奈良先端大・先端科学技術・ストレス微生物
- 3) 秋田大学・感染統括制御・疫学・分子病態研究センター
- 4) 東北大学・院医・医化学分野

【目的】生体内に多量に存在するシステインパーサルフィド (CysSSH) をはじめとした超硫黄分子は、強力な抗酸化活性や親電子シグナルの制御など多彩な生理機能を発揮することが示唆されている。我々はこれまで翻訳のマスター酵素であるcysteinyI-tRNA synthetase (CARS) が、システインからピリドキサーールリン酸 (PLP) 依存的にCysSSHを合成し、またその合成経路は種横断的に保存されていることを見出した。しかしながら、超硫黄分子の生理機能については不明な点が多く残っている。そこで本研究では、真核生物のモデル生物として酵母を用い、超硫黄分子の生理機能の解明を試みた。

【方法】出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) の CARS の酵母オルソログである CRS1 に変異 (PLP 結合部位のリジンをアラニンに置換) を導入し、細胞内 CysSSH 量が低下した変異株を作製した。

【結果・考察】変異株の表現型解析の結果、酵母の寿命が顕著に低下し、その原因として超硫黄分子が小胞体内の protein disulfide isomerase (PDI) 活性発現に必須であり、タンパク質品質管理に関与することが示された。さらに超硫黄分子はミトコンドリアのエネルギー代謝にも関与し、超硫黄ドナーの添加によって変異株の寿命延長が認められた。以上の結果から、超硫黄分子は生体内においてタンパク質の品質管理およびミトコンドリアのエネルギー代謝を介して寿命制御因子として機能することが示唆された。

一般演題 10

天然ポリフェノール Salvianolic acid B による DNA 損傷機構

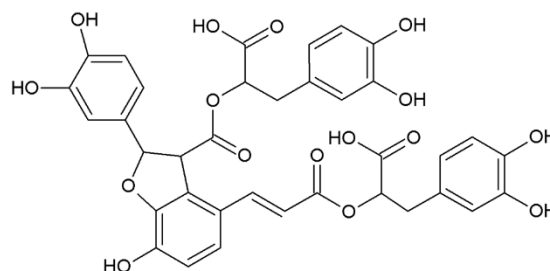
こばやしはたす
○小林 果¹、平生祐一郎^{1,2}、福原潔³、大野彰子⁴、森有利絵¹、川西正祐⁵、村田真理子^{1,6}、及川伸二¹

- 1) 三重大学大学院 医学系研究科 環境分子医学
- 2) 三重県立看護大学 看護学部
- 3) 昭和医科大学 薬学部
- 4) 国立医薬品食品衛生研究所 ゲノム安全科学部
- 5) 鈴鹿医療科学大学 薬学部
- 6) 鈴鹿医療科学大学 大学院医療科学研究科

【目的】天然ポリフェノールである Salvianolic acid B (Sal B) (図) は抗酸化、抗アポトーシス、抗炎症等の作用が知られており、薬剤やサプリメントとしての利用が期待されている。一方で、活性酸素を生成するとの報告もあり、pro-oxidant 作用への懸念がある。本研究では、Sal B の酸化的 DNA 損傷能およびその機序を明らかにすることを目的とする。

【方法】Sal B 処理したヒト白血病細胞株 (HL-60 および HP100) を用いて 8-oxodG (DNA 酸化損傷マーカー) 量を、電気化学検出器付 HPLC により測定した。さらに、Cu(II)存在下で、Sal B による牛胸腺 DNA 中の 8-oxodG 生成を検討した。またヒトがん関連遺伝子から得た DNA 断片を ³²P でラベルし、Sal B による DNA 損傷性および塩基特異性を解析し、スカベンジャー実験により関与する活性種を推定した。また、分子軌道計算により Sal B 中の HOMO (最高被占軌道) の分布について解析した。

【結果・考察】Sal B は HL-60 細胞内の 8-oxodG を有意に増加させたが、H₂O₂ 耐性株 HP100 細胞では増加を認めなかった。また、牛胸腺 DNA においては、Sal B は Cu(II)存在下で有意な 8-oxodG 生成を誘導し、興味深いことに内在性還元剤 NADH の添加により 8-oxodG 生成は顕著に増強した。したがって、Sal B は銅依存的な酸化還元反応を通じて酸化的 DNA 損傷を引き起こすことが示唆された。詳細な機序を明らかにするため、³²P ラベル単離 DNA を用いて Sal B による DNA 損傷を検討した。Sal B は Cu(II) および NADH 存在下で DNA 鎖切断に加え塩基修飾も引き起こすことが明らかとなり、塩基特異性の解析から主にチミン、次いでシトシンが損傷されていることが示された。スカベンジャー実験では・OH 以外の活性種、H₂O₂ および Cu(I)の関与が示唆された。さらに、分子軌道計算から SalB 中のカテコール基の一つに HOMO が分布することが示され、電子放出が起こりやすいと考えられた。以上より、Sal B の Cu(II)存在下での自動酸化に伴い生成した Cu(I)および H₂O₂ から銅-酸素錯体 (Cu(I)OOH) が形成され、酸化的 DNA 損傷を引き起こすと推測される。NADH は酸化された Sal B を還元することで酸化還元サイクルを形成して損傷を増強すると考えられる。Sal B は銅や NADH 存在下で DNA 酸化損傷を引き起こす可能性があり、慎重な安全性評価の必要性が示唆された。



Salvianolic acid B (Sal B)

一般演題 11

セルベーススクリーニングを用いた新規がん予防標的 GGCT 阻害剤としての plumbagin の同定

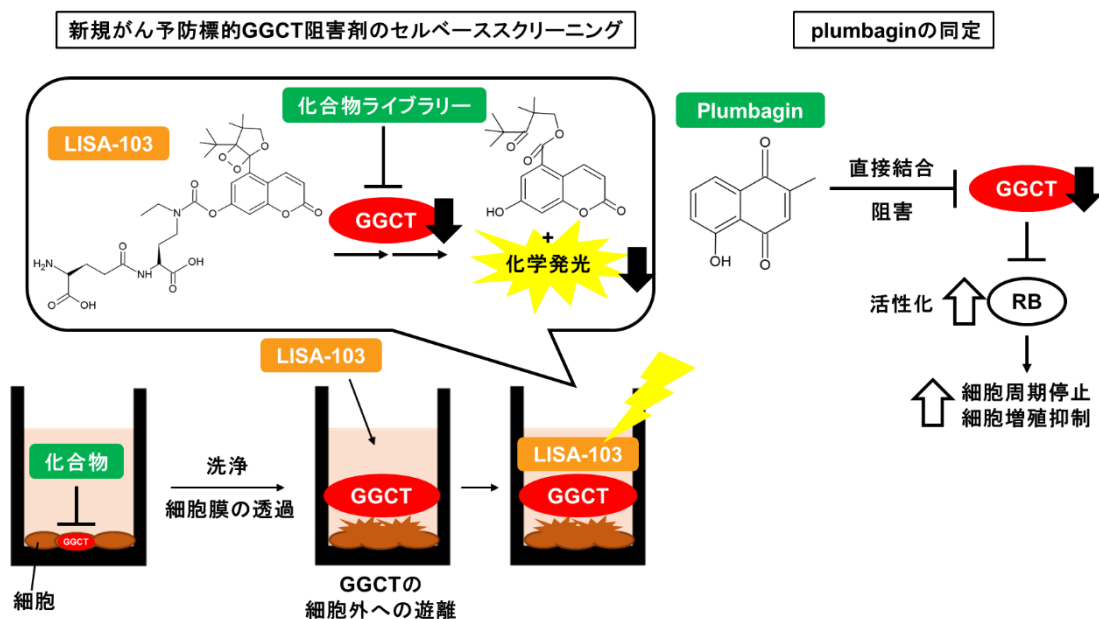
○谷口 恵香¹、野原 由江²、堀中 真野¹、飯居 宏美³、中田 晋³、吉矢 拓²、酒井 敏行¹

- 1) 京都府立医科大学大学院医学研究科創薬医学
- 2) 株式会社ペプチド研究所
- 3) 京都薬科大学大学院薬学研究科臨床腫瘍学

【背景・目的】 γ -グルタミルシクロトランスフェラーゼ (GGCT) はグルタチオンの合成、および活性酸素の除去に関与する酵素である。正常組織と比較して様々ながん組織で高発現しており、その発現抑制および阻害は *in vitro* および *in vivo* でがんの生長を抑制する。近年、GGCT のノックアウトがマウス肺がんを抑制することが報告されたため、GGCT はがん治療標的としてだけでなく、予防標的としても有望であると考えられた。そこで、GGCT を標的とした新規がん予防法を開発するために、GGCT 阻害剤のセルベーススクリーニングを実施した。

【方法】 753 種の天然化合物を含むライブラリーに対し、化学発光プローブ LISA-103 を用いて肺がん SW1573 細胞中の GGCT 活性を定量することにより、その阻害活性を調査した。ヒット化合物を結合させた磁気ビーズと GGCT リコンビナントタンパク質を反応させ、GGCT との結合を確認した。CCK-8 法を用いてヒット化合物のがん細胞に対する増殖抑制効果を、FACS を用いて細胞周期停止効果を解析した。最後に、ヒット化合物処理時の RB リン酸化状態をウェスタンブロット法で評価した。

【結果・考察】 ルリマツリ属 (*Plumbago*) の植物から単離された天然化合物である plumbagin が、がん細胞内の GGCT 活性を有意に抑制することを発見し、plumbagin が GGCT に直接結合することを確認した。plumbagin は乳がん MCF7 および大腸がん HCT116 細胞において、発がん予防に重要な役割を果たすがん抑制遺伝子 RB をタンパク質レベルで活性化し、細胞増殖抑制、細胞周期停止を誘導することを示した。本研究では、新規 GGCT 阻害剤を探索すべく、独自の化学発光プローブ LISA-103 を用いたセルベーススクリーニング法を確立した。本法で見出された plumbagin は、GGCT 阻害剤候補としてがんの予防および治療に有用であると考えられた。



一般演題 12

CRP/CD64 が腫瘍関連マクロファージ (TAM) の腫瘍促進性を誘導する作用により腎細胞がんの進行に寄与する

○^{ほん}潘 ^{てい}程¹、^菰原 義弘¹、^藤原 章雄¹、^矢野 浩夢²

- 1) 熊本大学大学院生命科学研究部細胞病理学講座
- 2) 熊本大学大学院生命科学研究部腫瘍病理解析学講座

【目的】 淡明細胞型腎細胞がん (ccRCC) における CRP が腫瘍関連マクロファージ (TAM) に及ぼす影響を検討し、CRP の ccRCC に対する作用を明らかにする。

【方法】 本研究では、まず、CRP で刺激したマクロファージの培養上清を用いて ccRCC 細胞を刺激し、ccRCC 細胞の増殖と STAT3 の活性化を調べた。次に、CRP で刺激したマクロファージの遺伝子発現変化を RNA シークエンスで探索した。CRP で刺激したマクロファージの PD-L1 及び IL-6 の発現も測定した。それから、TCGA のデータをを用い腫瘍組織における CD64 mRNA 発現と予後の関連性を調べた。さらに、免疫組織化学を使用し、ccRCC 組織における CD64 の発現と予後の関連性を調べた。

【結果・考察】 CRP 刺激マクロファージは IL-6 を分泌し、STAT3 の活性化を介して ccRCC の増殖を誘導することが示された。CRP によるマクロファージの IL-6 の分泌は、CD64 遮断抗体によって抑制された。また、CRP は CD64-STAT1 シグナル伝達経路を介してマクロファージにおける抗腫瘍免疫を抑制する PD-L1 の発現を上昇させることを明らかにした。TCGA データの解析から、CD64 mRNA の増加は予後不良に関連していた。さらに、免疫組織化学によって、ccRCC 組織中の CD64 の発現が ccRCC の悪性度、予後不良、血清 CRP 値の上昇と相関することが明らかにされた。故に、CRP-CD64 シグナルは TAMs の腫瘍促進性に関連しており、ccRCC における抗腫瘍免疫療法の有望な標的になりうる。

若手発表演題

(若手優秀研究発表賞審査対象演題)

若手発表演題 1

膠芽腫の境界部における画像診断学的・病理学的・分子学的評価の関連

いのうえひろたか
○井上博貴^{1,2}、垣内美和子²、野村昌志³、田中一仁⁴、越智三枝子²、坪坂歩²、佐野恭平²、末吉博之¹、藤本健二¹、山本隆広¹、黒田順一郎¹、竹島裕貴¹、松崎啓亮¹、吉井大貴⁵、上谷浩之⁶、河村大輔²、加藤洋人⁷、三上芳喜⁴、平井俊範⁶、武笠晃丈¹、石川俊平²

- 1) 熊本大学病院 脳神経外科
- 2) 東京大学 医学部・大学院医学系研究科 衛生学教室
- 3) 東京大学 医学部 脳神経外科
- 4) 熊本大学病院 病理診断科
- 5) 熊本赤十字病院 病理診断科
- 6) 熊本大学病院 画像診断・治療科
- 7) 国立がん研究センター 先端医療開発センター 臨床腫瘍病理分野

【背景・目的】膠芽腫は最も致死性の高い脳腫瘍であり、生存期間中央値は約 15 ヶ月である。腫瘍細胞の多様性と正常脳組織への高度な浸潤性により、外科的完全切除は不可能である。この浸潤性は MRI で、主に腫瘍細胞で構成される造影増強 (CE) 領域と、正常細胞と浸潤腫瘍細胞が混在する CE 領域周囲の fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR) 高信号領域として描出される。外科的切除による予後延長の試みとして、CE 領域を超えた FLAIR 高信号領域までの摘出が良好な転帰に繋がるとする報告が近年増えてきた。しかし CE 境界領域の性状は同一腫瘍内であっても heterogeneity に富んでいるため、拡大切除範囲の決定には画像所見と膠芽腫の浸潤性の関連における理解を深める必要がある。我々は CE 境界領域を画像診断学的、病理学的、分子学的に統合的に評価する研究を計画した。

【方法】2024 年 4 月 1 日から 12 月 31 日にかけて、熊本大学病院脳神経外科で開頭腫瘍摘出術を行った初発膠芽腫症例を対象とした。術前の CE と FLAIR を脳神経外科医 2 名と画像診断医 1 名で評価した。性状の異なる CE 境界領域をそれぞれ分けて採取し、病理医 3 名による定性的病理学的評価を行った。また、tumor density を指標に計算病理学的評価を行い、定性的な病理学的評価を補強した。続いて、CE 境界領域の性状が異なる検体が同一腫瘍から採取された症例について、CosMx SMI による空間トランスクリプトーム解析を行い、腫瘍細胞の状態に違いがあるのか検討した。

【結果・考察】10 症例から 16 か所、周辺の正常脳組織を含んだ CE 境界領域が採取された。画像診断学的な評価は病理学的な評価と概ね一致していた。特に、境界内側の性状が嚢胞である検体は最も境界明瞭と評価され、浸潤性が低い境界部である可能性があった。嚢胞領域を伴う膠芽腫の 2 例に空間トランスクリプトーム解析を追加したところ、嚢胞部と比較して境界不明瞭部の腫瘍細胞には、浸潤に関わる遺伝子発現プログラムの上昇が確認された。これまで腫瘍の中心部と境界部の腫瘍細胞状態を比較した研究は複数存在するが、性状の異なる境界部間で腫瘍細胞状態を空間トランスクリプトーム解析によって比較した研究は渉猟した限りでは存在しない。結論として、CE 境界領域の画像上の性状の違いは病理学的にも境界明瞭さの違いとして検出され、そこには腫瘍細胞の分子学的な浸潤性の違いが関連している可能性がある。CE 境界領域の画像上の heterogeneity を説明しうる分子的な機序が明らかとなれば、摘出における戦略にも変化が生まれるだろう。

若手発表演題 2

単一細胞解像度で考える悪性胸膜中皮腫の腫瘍内不均一性

○末吉国誉^{1,3}、垣内美和子¹、河村大輔¹、加藤洋人^{1,3}、石橋洋則²、大久保憲一²、石川俊平^{1,3}

- 1) 東京大学大学院 医学系研究科 衛生学教室
- 2) 東京科学大学病院 呼吸器外科
- 3) 国立がん研究センター 先端医療開発センター 臨床腫瘍病理分野

【目的】悪性胸膜中皮腫 (MPM) は、アスベスト暴露に伴う慢性炎症を背景として胸膜中皮細胞から発生する、難治性の腫瘍である。高度な腫瘍内不均一性を示し、腫瘍細胞はときに反応性の間質細胞の形態に類似する。治療戦略を考えるためには腫瘍亜集団の特徴を把握することが重要だが、bulk RNA-seq に基づく古典的な分析方法では、間質細胞の分画を区別して解析することが困難であった。

【方法】病理学的に上皮型 MPM と診断された 10 症例の腫瘍サンプルについて、全ゲノムシーケンス (WGS) および単一細胞 RNA シーケンス (scRNA-seq) を実施した。

【結果】 scRNA-seq 解析では、上皮型マーカー遺伝子 (CALB2、MSLN) を発現する腫瘍クラスター (MPM-E) と、相対的に線維芽細胞様の特徴 (VIM、Collagens) を示す腫瘍クラスター (MPM-F) が存在しており、MPM-F 細胞は 10 例中 7 例に 5%以上の割合で含まれていた。WGS から算出したコピー数変化 (CNA) と両腫瘍クラスターの発現データに基づく推定 CNA は強く相関していたことから、MPM-F は MPM-E と同一の起源を持つ、上皮型中皮腫内で分化した亜集団であることが分かった。上流転写因子を推定する解析を行うと、TWIST1 などの上皮間葉転換で中心的な役割を担う分子が、MPM-F の発現パターンを促進する因子として最上位に挙げられた。また MPM-F は KRT8/18/19 などの simple epithelial keratins を発現しており、線維芽細胞とは区別可能であった。

MPM-F が腫瘍内で担う役割について調べるため、細胞間相互作用を推定する解析を行った。すると、MPM-F は細胞外マトリックス関連シグナルを介して筋線維芽細胞に影響していると予想された。免疫組織学的にも MPM-F 様細胞は線維性領域に局在しており、腫瘍の不均一な表現型の発現に寄与すると考えられた。さいごに、MPM-F で発現して MPM-E や他の間質細胞では発現しない遺伝子セットを MPM-F 特異的遺伝子シグネチャーとして定義したところ、外部データセット (TCGA) において、同シグネチャーを高発現する MPM 症例は予後不良であった。

【考察】本研究を通して、より線維芽細胞様の表現型を持つ細胞集団が上皮型中皮腫内に存在することが明らかになり、線維性組織の維持に関わっていると予想された。我々は、MPM-F が腫瘍内多様性の形成に寄与し、腫瘍の悪性度もしくは治療抵抗性に関与するという仮説を立てている。今後の研究で、この腫瘍亜集団に関する生物学的および臨床的意義を、評価検証していく予定である。

若手発表演題 3

腹膜中皮細胞に対する抗炎症性サイトカインの影響の検証

○伊藤 智哉^{1,2}、西田 基宏^{1,3}

- 1) 九州大学・大学院薬学研究院・生理学分野
- 2) ロンドン大学クイーンメアリー校・ウィリアムハーヴェイ研究所
- 3) 自然科学研究機構・生理学研究所・心循環シグナル研究部門

【目的】

中皮細胞は、胸膜や心膜、腹膜などの体腔表面に存在する上皮細胞で、体腔液の調整や組織表面を保護する役割を担っている。一方で、炎症環境下や組織傷害後では、バリア機能の破壊と間葉表現型の獲得を特徴とする中皮間葉移行を起こし、傷害を受けた組織の修復やリモデリングに寄与する。中皮間葉移行は術後癒着などの慢性腹膜疾患にも関与することから、治療標的として研究されている。様々な炎症性メディエーターが中皮間葉移行を亢進させることが明らかになっているが、抗炎症性サイトカインに対する中皮細胞の応答については、よくわかっていない。本研究では、培養条件下の自発的な中皮間葉移行における抗炎症性サイトカインの影響を検証した。

【方法】

C57BL/6 マウスの腹膜から中皮細胞を単離し、ある抗炎症性サイトカイン存在下で長期培養した。中皮細胞の表現型解析には、フローサイトメトリーと免疫染色法を用いた。また、大規模な遺伝子発現変動への影響は、バルク RNA シーケンス解析を行った。培養した中皮細胞の組織修復能の検証には、腹膜傷害モデルマウスを作製し、移植することで検証した。具体的には、GFP マウスから単離・培養した腹膜中皮細胞を野生型 C57BL/6 マウスに移植することで、腹膜への修復能を評価した。統計解析は、一元配置分散分析もしくは2標本 t 検定を用いた。

【結果・考察】

抗炎症性サイトカイン存在下の培養中皮細胞は、長期間に渡り中皮細胞の形態を維持していた。また、バルク RNA シーケンス解析の結果、中皮細胞特有の遺伝子発現を維持していることも明らかとなった。興味深いことに、腹膜傷害マウスに培養中皮細胞を移植した結果、抗炎症性サイトカイン条件下で培養した中皮細胞を移植すると腹膜表面の修復を促進し、術後癒着の形成を抑制することを見出した。本研究は、中皮間葉移行における抗炎症性サイトカインの役割について明らかにすると共に、術後癒着形成に対する中皮細胞移植治療への応用の可能性を示すものである。

若手発表演題 4

Attempts to induce in vitro neutrophils characteristic of SLE, focusing on BAFF expression patterns and neutrophil extracellular traps (NETs) formation

○Zirui Zeng, Yasuhiro Yoshida, Koshiro Sonomoto, Yoshiya Tanaka

University of Occupational and Environmental Health, Japan.

【Purpose】 One of the characteristics of neutrophils is the formation of neutrophil extracellular traps (NETs). This is a phenomenon that leads to the contribution of self-components, i.e., autoantigens. They are also known to be an important source of B cell-activating factor (BAFF), which is important for the maturation and activation of B cells. Therefore, neutrophils may play an important role in patients with autoimmune diseases such as systemic lupus erythematosus (SLE). However, the specific phenotypes of BAFF-producing neutrophils and antigen-presenting neutrophils remain unclear, including whether they are identical. In this study, we investigated the relationship between the induction of BAFF expression and the ability to form NETs using healthy human peripheral blood and human promyelocytic leukemia cells (HL-60 cells) that can differentiate into neutrophils.

【Methods】 The effects of PAMPs, and cytokines (IFN α , IL-1 α , IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-12, IL-17, IL-27, or TGF- β) on BAFF induction and NET formation were examined in both healthy human peripheral blood and HL-60 cells. Peripheral blood was layered on a two-layer density gradient. Cells from the upper layer, consisting mainly of lymphocytes and monocytes, and the lower layer, enriched with granulocytes, were collected. In addition, HL-60 cells were differentiated into neutrophil-like cells using DMSO (1.3%) and all-trans retinoic acid (ATRA).

【Results and discussion】 First, primary cultured cells were examined for BAFF expression and NETs formation. Among the cytokines tested, IFN- α most dramatically upregulated BAFF mRNA expression in neutrophils, whereas other cytokines did not. On the other hand, PMA induced NETs, but IFN- α did not induce NETs formation in neutrophils. In contrast, it did not induce NETs formation in PBMCs, show the differences between neutrophils and PBMCs. Similarly, in HL-60 cells, Type I IFNs most effectively upregulated BAFF expression among the cytokines tested but failed to induce NETs formation. In addition, DMSO and ATRA successfully upregulated CD11b, a surface marker commonly used to define neutrophils, but did not affect BAFF expression. These results suggest that BAFF-induced neutrophils and neutrophils that contribute antigens through NETs formation may exhibit distinct phenotypes or properties.

Observations from primary neutrophils of healthy donors suggest the presence of a heterogeneous population. The HL-60 experiments further imply that BAFF-expressing neutrophils and NETs-forming neutrophils may represent distinct phenotypes. Using HL-60 cells, we will be able to investigate in more detail the neutrophil phenotypes characteristic of SLE and the mechanism of BAFF/NETs formation. As a result, blood tests focusing on surface markers and characteristic protein levels may be useful for identifying SLE at an early stage and contribute to preventive medicine.

若手発表演題 5

ケモカイン受容体制御分子 FROUNT 阻害剤ジスルフィラムの吸入製剤 FN-01 は特発性肺線維症の新規治療薬になりうる

○^{たなべなおあき}田邊尚亮¹、岡田真優²、遠田悦子³、遠藤恆平²、漆山博和⁴、松島綱治¹、寺島裕也^{1,4}

- 1) 東京理科大学 生命医科学研究所 難病・炎症制御部門
- 2) 東京理科大学 理学研究科化学専攻 有機化学研究室
- 3) 日本医科大学 形態解析・解析人体病理学
- 4) 東京大学 医学部附属病院 呼吸器内科学

【目的】 -----

特発性肺線維症(IPF)は進行性かつ不可逆的な線維化を呈し、致死的であるのにもかかわらず、発症・悪化のメカニズムに未解明な点が多く、現状の治療では効果が限定的である。本研究ではケモカイン受容体制御分子である FROUNT タンパクが IPF の進行に関与しており、治療薬候補として FROUNT 阻害薬酒薬ジスルフィラム (DSF) を肺への局所送達が可能吸入製剤 FN-01 を開発したことを報告する。

【方法】 -----

IPF と FROUNT の関与を検証するために、IPF モデルマウスおよび IPF 患者のシングルセル RNA シークエンス解析を用いて、発症に伴う FROUNT 発現細胞の解析を行った。次に、FROUNT が病態に与える影響を調べるため、ブレオマイシン(BLM)により肺線維症を誘導した FROUNT 欠損マウスにおける線維化の評価を行った。さらに、シクロデキストリンを用いて FROUNT 阻害剤である DSF の吸入製剤への剤型改良を行い、BLM 肺線維症モデルマウスに吸入投与し薬効を評価した。また、今回開発した DSF 吸入製剤 FN-01 を用いてジスルフィラム様作用の有無などの安全性についても評価した。

【結果・考察】 -----

マウスでは IPF 発症に伴いマクロファージ特異的に FROUNT 発現が上昇し、IPF 患者で新たに生じるマクロファージクラスターに FROUNT が高発現していた。FROUNT 欠損マウスは肺線維化部位におけるマクロファージ浸潤および肺線維化が低下した。また、今回開発した FROUNT 阻害薬 DSF のナノカプセル化吸入製剤 FN-01 は、DSF の臨床用量の 400 分の 1 用量で IPF マウスのマクロファージ浸潤、コラーゲン産生や線維化を減少し、ALDH 阻害による有害事象も抑制された。本研究は、FROUNT は肺線維症の標的分子として有望であり、DSF 吸入製剤 FN-01 は有効性及び安全性に優れた IPF 治療薬の候補であることを示す。

若手発表演題 6

2-オキソカルノシンのカルノシン分解酵素に対する分解抵抗性と その血中安定性および抗酸化活性への寄与

○小前 奏明¹、大原 海紅¹、森次 圭¹、笠松 真吾¹、内田 浩二²、居原 秀¹

- 1) 大阪公立大学大学院 理学研究科 生物化学専攻
- 2) 東京大学大学院 農学生命科学研究科 応用生命化学専攻

【目的】カルノシンやアンセリンなどのイミダゾールジペプチド (IDPs) は、多くの脊椎動物種の骨格筋や脳において産生され、抗酸化活性をはじめとした様々な生理活性を示すことが報告されている。しかし、*in vitro* の試験において、グルタチオンなどの他の内因性抗酸化物質と比較すると、IDPs の抗酸化活性は著しく低く、その詳細な分子機構は明らかになっていない。また、カルノシンはヒト血中において、特異的な分解酵素であるカルノシナーゼ 1 (CN1) によって速やかに分解されるため、生物学的利用率が制限されている。我々は近年、IDPs の酸化修飾体である 2-オキソカルノシンなどの 2-オキソ IDPs が、様々な脊椎動物種の骨格筋などで内因的に産生されていることを発見した。さらに、2-オキソ IDPs が IDPs よりも著しく高い抗酸化活性を示すことを明らかにし、IDPs の抗酸化活性の本体が 2-オキソ IDPs である可能性を見出した。しかし、2-オキソ IDPs と CN1 の関連については明らかになっていない。本研究では、組換えヒト CN1 を用いた反応速度論的解析を行った後、ヒト血清を用いて 2-オキソ IDPs の血中安定性を評価した。さらに、マウスとシリアンハムスターへの投与試験を行い、2-オキソ IDPs の血漿内濃度変化、および血漿抗酸化活性の変化について解析した。

【方法】カルノシン、アンセリン、2-オキソカルノシンを組換えヒト CN1 またはヒト血清と反応させたのち、質量分析装置を用いた、多重反応モニタリング法・安定同位体希釈法により残存量を定量した。また、分解により生成される β -アラニンをアミノ酸標識試薬で誘導体化したのち定量した。投与試験では、マウスおよびハムスターに、カルノシン、2-オキソカルノシンを経口投与し、経時的に採血を行ったのち、上述した手法を用いて血漿濃度を測定した。血漿抗酸化活性は、oxygen radical absorbance capacity 法により評価した。

【結果・考察】各基質に対するヒト CN1 の分解活性を評価したところ、カルノシンに対する活性よりも、2-オキソカルノシンに対する活性は約 10 倍低いことが分かった。また、他の 2-オキソ IDPs も同様に、ヒト CN1 に対する分解抵抗性を示すことが明らかになった。反応速度論的解析の結果から、2-オキソカルノシンは CN1 に対する親和性が低下しており、最大反応速度もカルノシンと比較して 10 倍ほど低下していることが示された。次に、ヒト血清、およびヒトと同様に血中カルノシン分解活性を示すハムスターの血清を用いた解析において、カルノシンは速やかに分解された一方で、2-オキソ IDPs は分解抵抗性を示すことが分かった。最後に、経口投与試験を行ったところ、CN1 を持たないマウスにおいてはカルノシン、2-オキソカルノシンともに血中濃度の上昇が確認されたが、ハムスターでは、カルノシンは血中では検出されず、2-オキソカルノシンは血中濃度が上昇した。この結果から、ハムスター血中に存在する CN1 によってカルノシンは速やかに分解された一方で、2-オキソカルノシンは分解抵抗性を示すことで、カルノシンよりも高い安定性を発揮したことが示唆された。さらに、マウスにおいて、カルノシン投与群では血漿抗酸化活性の変化はみられなかったが、2-オキソカルノシン投与群では投与後に血漿抗酸化活性の有意な上昇がみられた。以上の結果から、2-オキソカルノシンの CN1 抵抗性は自身の血中安定性を向上させ、その抗酸化活性によって血中抗酸化活性の上昇に寄与する可能性が示唆された。

若手発表演題 7

呼気・空間オミックスによる超硫黄代謝変動解析

○緒方 星陵¹、松永 哲郎^{1, 2}、Jung Minkyung¹、守田 匡伸¹、魏 范研³、本橋 ほづみ⁴、赤池 孝章¹

- 1) 東北大学大学院医学系研究科環境医学分野
- 2) 秋田大学感染統括制御・疫学・分子病態研究センター
- 3) 東北大学加齢医学研究所モドミクス医学分野
- 4) 東北大学大学院医学系研究科医化学分野

【背景・目的】呼気は生体試料の中で、無接触・無侵襲に採取が可能であり、呼気凝縮液を対象とした解析「呼気オミックス」は新規疾患診断法として注目されている。我々はこれまでに、呼気エアロゾルを急速冷却することで得られる呼気凝縮液には超硫黄分子が放出されており、その濃度は慢性呼吸器疾患を有する患者において有意に変動することを明らかにしている。そこで本研究では、呼気エアロゾルにより感染することが知られている COVID-19 に着目し、COVID-19 患者および新型コロナウイルス感染動物モデルの呼気オミックスにより本感染症の病態解析を行った。

【方法・結果】軽症・中等症の COVID-19 患者を対象に呼気凝縮液を採取し硫黄代謝物解析を行った結果、健常者と比較して二硫化水素(HS₂H)や三硫化水素(HS₃H)などの硫黄代謝物濃度の有意な増加が見られた。また、実験動物の呼気解析システムを確立するため、シリアンハムスターの飼育ケージ内の空気を吸引し、ハムスター呼気エアロゾルを急速冷却装置により効率良く回収する方法を構築した。これにより、新型コロナウイルス感染ハムスターから呼気凝縮液を回収し、ウイルスタンパク質を標的とした qPCR およびプロテオーム解析を実施した。その結果、新型コロナウイルスの接種後 1-4 日目にかけて、qPCR とプロテオーム解析の両方でウイルスが検出された。また、呼気中の硫黄代謝物解析を行った結果、COVID-19 患者と同様に、HS₂H や HS₃H などの硫黄代謝物濃度が感染の重症度に応じて変動していることが示された。さらに、当該呼気オミックスを COVID-19 以外の様々な疾病においても応用展開することで、各疾患特異的な呼気硫黄代謝プロファイルを得られることが分かってきた。また、呼気オミックス解析の応用として、空間からのエアロゾルの回収・解析を実施し、ウイルスの検出と硫黄代謝物変動のモニタリングにも成功している。

【結論】本研究から、呼気オミックスは、COVID-19 の無侵襲なモニタリング法として有用であること示された。今後、呼気オミックスが COVID-19 のみならず、その他の様々な感染症や疾病の病態および生体情報解析や診断法の新たな技術開発に繋がることが期待される。

若手発表演題 8

超硫黄触媒酵素アルコールデヒドロゲナーゼ 5 による NO シグナル制御機構

○JUNG Minkyung¹、ジョン ミンギョン 守田匡伸¹、松永哲郎^{1,2}、笠松真吾³、緒方星陵¹、Uladzimir Barayeu¹、Md. Morshedul Alam⁴、西村明⁵、下田翔⁶、西田基宏⁶、本橋ほづみ⁴、赤池孝章¹

- 1) 東北大学大学院 医学系研究科 環境医学分野
- 2) 秋田大学感染統括制御・疫学・分子病態研究センター
- 3) 大阪公大学大学院 理学研究科 生物化学専攻 分子生物学分野
- 4) 東北大学大学院 医学系研究科 医化学分野
- 5) 奈良先端科学技術大学院 研究推進機構
- 6) 九州大学大学院 薬学研究院 生理学分野

【目的】アルコールデヒドロゲナーゼ 5 (ADH5) は S-ニトロソグルタチオン (GSNO) 還元活性 (GSNOR) およびホルムアルデヒド脱水素酵素 (FDH) 活性を持つ酵素であるが、酵素反応機構の詳細や内因性ホルムアルデヒドの解毒・NO の代謝シグナル制御における役割はまだ不明な点が残っている。我々はこれまで、超硫黄分子の生体内産生と多彩な生理機能を明らかにしてきた。また、超硫黄はタンパク質中のシステイン残基においても普遍的に存在してタンパク質の構造・機能維持と品質管理に重要であることを見出した。本研究では、ADH5 の超硫黄化を介したホルムアルデヒド代謝及び NO シグナル制御機構の解明を行った。

【方法・結果】ADH5 活性中心の亜鉛イオン (Zn^{2+}) 配位子であるシステイン変異体 (C174S) を作製し、酵素活性を測定したところ、FDH 活性は保持したまま GSNOR 活性が著しく減少した。加えて、C174 は高度に超硫黄化されており、GSNOR 活性に必須であることが示された。このような超硫黄触媒は、大腸菌・酵母・マウス・ヒトの全ての種において確認された。さらに、ADH5 の C174S 変異 (GSNOR 活性選択的欠損) マウスを作製して超硫黄による心機能制御について解析した結果、超硫黄代謝が ADH5 のホルムアルデヒド解毒反応と連動することで、心機能を効果的に制御することを明らかにした。また、C174 の近傍に位置する C170 についても解析したところ、C170 が C174 の超硫黄化を安定化することで ADH5 の超硫黄触媒反応に深く関わることを示された。

【総括】ADH5 活性中心における超硫黄触媒反応により、内因性ホルムアルデヒド解毒代謝および NO シグナル伝達が制御されることが明らかとなった。このことは、ADH5 を標的とした超硫黄創薬開発が気管支喘息、心血管疾患、神経変性疾患等、NO が関与する病態の治療戦略につながることを期待される。

若手発表演題 9

The function of sulfite oxidase in mitochondrial supersulfide metabolism

○潘 珮璇¹, Xia Yingchi¹, 守田 匡伸¹, 緒方 星陵¹, 松永 哲郎^{1,2}, Uladzimir Barayeu¹, Jung Minkyung¹, Naim Hassan¹, 高田 剛¹, 本橋 ほづみ³, 赤池 孝章¹

- 1) 東北大学大学院医学研究科環境医学分野
- 2) 秋田大学感染統括制御・疫学・分子病態研究センター
- 3) 東北大学大学院医学研究科医化学分野

【目的】 Sulfite oxidase (Suox) deficiency, an inherited disorder, causes to severe neurological complications in newborns and frequently leads to early mortality. It is biochemically characterized by the accumulation of sulfite, thiosulfate, and S-sulfocysteine in tissues, as well as their elevated excretion in urine. Supersulfides that contained catenated sulfur moieties of each molecular structure serve as electron acceptors in mitochondrial respiration, indicative of their conservation across all organisms. The role of Suox in supersulfide metabolism is considered significant, however, it remains largely unknown. Here, we generated Suox knockout mice to investigate the role of Suox for supersulfide metabolism in mitochondria.

【方法】 We generated Suox^{-/-} (Suox KO) mice with CRISPR-Cas9 system. The Suox KO mice showed mendelian distribution at the birth, however, Suox KO mice died within 10 days after birth with growth arrest. Various tissues from Suox KO mice were investigated for pathological analysis and supersulfide metabolome analysis. For supersulfide metabolome analysis, the tissues were subjected to liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS).

【結果・考察】 Suox KO mice showed abnormal morphologies in various tissues and displayed a markedly altered supersulfide metabolome compared to wild type, including significant elevations of sulfite and thiosulfate. This study indicates that Suox plays crucial roles in supersulfide metabolism and tissue homeostasis. Furthermore, while genetic disorders of Suox are known, it is expected that the analysis of these Suox KO mice will further contribute to better understanding of supersulfide metabolism.