

○プロジェクト研究 0634-1

研究課題「生体内での物質輸送・代謝過程に関する基盤研究」

○研究代表者 医科学センター 教授 馬場 健
○研究分担者 放射線技術学科 助手 鹿野直人
(4名) 医科学センター 嘱託助手 古矢直己
放射線技術学科 嘱託助手 中島修一

○研究年度 平成18年度
(研究期間) 平成18年度～平成20年度(3年間)

1. 研究目的

生体は、環境の異なる内と外とを細胞膜で仕切ることにより成り立っている。生命維持のためには、細胞膜を越えた物質のやり取りが必須であり、そのため生体は特別な構造を細胞膜内に備えている。たとえば、アミノ酸のような低分子物質は、[トランスポーター]を介して細胞内に輸送され、トランスフェリンに代表される高分子物質は[エンドサイトーシス]により細胞内に取り込まれる。

本プロジェクト研究ではこのような生体内物質輸送・代謝機構の解明にむけて、馬場は[エンドサイトーシス]に急速凍結技法と形態学的手法を用いてアプローチし、鹿野は[トランスポーター]に人工アミノ酸の開発と種々の生化学・分子生物学的手法を用いてアプローチし、さらにアミノ酸代謝系の検討も行う。また、研究期間の後半では、馬場の持つ形態学的研究手法と、鹿野の持つ生化学・分子生物学的研究手法を連携させ、生体内物質輸送・代謝に関するより深い検討を行う予定である。

上記の研究目的を達成するため、平成18年度は以下の二つのサブテーマを設けた。

①「高分子物質のエンドサイトーシスによる細胞内取り込み・輸送過程の形態学検討」

研究代表者の馬場を研究リーダーとし、主に形態学的手法を用いた研究を進める。種々のタンパク質および脂質プローブの細胞内取り込み過程を、急速凍結により固定し、物質輸送とそれに関わる細胞膜関連構造の瞬間像を同時に検討していく。

馬場らはこれまで脂質特異的プローブを用いて細胞膜脂質の2次元分布を解明してきたが、脂質のエンドサイトーシスについては、十分な検討はなされていない。凍結技法を用いた精密な形態学的検討により、これまで解明されていなかった取り込み過程の瞬間像とそれを支える細胞膜裏打ち構造の動的変化の解明を目指す。

②「アミノ酸の輸送・代謝機構に親和性のある人工アミノ酸の開発」

研究分担者の鹿野を研究リーダーとし、神経伝達物質の生合成原料となる芳香族アミノ酸の膜輸送機能の精密で高度な診断法を実現するために、アミノ酸輸送蛋白および代謝酵素に特異的な放射性人工アミノ酸をデザイン・合成し、次世代アミノ酸機能診断薬の開発を目指す。さらにこれまでにクローニングされたアミノ酸輸送蛋白(トランスポーター)の組織・細胞内発現をPCR等で検討していく。

これまで鹿野らは、天然のアミノ酸を修飾してヘテロ性を持たせ、膜輸送と特定の代謝酵素との親和性を反映するように数種の人工アミノ酸を設計し、検討を加えてきた。特定の代謝酵素に選択的親和性を有する人工アミノ酸が、その疾患の状態を探る上で重要な探査子となることから、脳などでの発現が報告されている中性アミノ酸輸送系および代謝酵素とその基質となる人工アミノ酸に注目し、PET・SPECT製剤として応用することを目指す。本研究の成果は、これまで原因や治療法が不明であった精神疾患、神経難病をはじめとする種々の疾患とアミノ酸トランスポーターの特定のアイソフォームとの関連を明らかにする新たな手掛かりを与えるなど、この分野における診断法治療法の研究を促進するものと考えられる。

2. 研究方法：詳細は各サブテーマに記載する。

3. 研究結果：詳細は各サブテーマに記載する。

4. 考察(結論)：詳細は各サブテーマに記載する。

5. 成果の発表（学会・論文等，予定を含む）

- 1) Fujii Y, Ohno N, Li Z, Terada N, Baba T, Ohno S. Morphological and histochemical analyses of living mouse livers by new 'cryobiopsy' technique. *J Electron Microsc (Tokyo)*. 2006. 55:113-122.
- 2) Terada N, Ohno N, Fujii Y, Baba T, Ohno S. Dynamic study of intramembranous particles in human fresh erythrocytes using an "in vitro cryotechnique". *Microsc Res Tech*. 2006;69:291-295.
- 3) Terada N, Ohno N, Li Z, Fujii Y, Baba T, Ohno S. Application of in vivo cryotechnique to the examination of cells and tissues in living animal organs. *Histol Histopathol*. 2006;21:265-72.
- 4) 馬場 健、古矢直己. 免疫学的シナプス形成時における脂質ラフト動態の検討. 日本解剖学会関東支部第94回学術集会（神奈川）2006年10月
- 5) Shikano N, Okada A, Nakajima S, Kotani T, Ogura M, Kubota N, Ishikawa N, Iwamura Y. Membrane transport of radioiodinated 3-iodo-alpha-methyl-L-tyrosine in Chinese hamster ovary cell. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress (Kyoto, Japan) 2006 6.
- 6) Okada A, Iwamura Y, Matsuda H, Suzuki H, Shikano N. Presence of class II HLA gene sequence in animals. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress (Kyoto, Japan) 2006 6.
- 7) 中島修一, 鹿野直人, 小倉正人, 小谷高志, 小林正和, 吉本光喜, 石川演美, 岩村幸雄. 人工アミノ酸の腎への生理的集積低減を目的とした体内動態制御の検討. 第6回放射性医薬品・画像診断薬研究会（京都）2006年9月
- 8) Shikano N, Nakajima S, Kotani T, Ogura M, Yoshimoto M, Nishii R, Flores II LG, Ishikawa N, Kawai K. Radioiodinated 4-iodo-L-meta-tyrosine, A system L selective amino acid transport imaging agent. 9th Congress of the World Federation of Nuclear Medicine and Biology (Seoul, Korea) 2006 10.
- 9) Shikano N, Kotani T, Nakajima S, Ogura M, Yoshimoto M, Nishii R, Flores II LG, Ishikawa N, Kawai K. [I-125]-3-Iodo-alpha-methyl-L-tyrosine uptake in Chinese hamster ovary cells. 9th Congress of the World Federation of Nuclear Medicine and Biology (Seoul, Korea) 2006 10.
- 10) Shikano N, Nakajima S, Kotani T, Ogura M, Yoshimoto M, Nishii R, Flores II LG, Ishikawa N, Kawai K. Transcellular transport of radioioninated [I-125]-3-iodo-alpha-methyl-L-tyrosine across monolayers of kidney epithelial cell line LLC-PK1. 9th Congress of the World Federation of Nuclear Medicine and Biology (Seoul, Korea) 2006 10.
- 11) Shikano N, Nakajima S, Kotani T, Ogura M, Kubota N, Iwamura Y, Ishikawa N, Kawai K. Detection of malate-induced Fanconi syndrome by decreasing accumulation of [I-125]-3-iodo-alpha-methyl-L-tyrosine in the proximal tubule segment-1 region of renal cortex in mice. 9th Congress of the World Federation of Nuclear Medicine and Biology (Seoul, Korea) 2006 10.