

大学院薬学研究科生体機能分子化学分野



研究室紹介

八木清仁*

Laboratory of Bio-functional Molecular Chemistry, Graduate School of Pharmaceutical Sciences

Key Words : Liver Regenerative Medicine, Mesenchymal Stem Cells, Tight Junction Modulator, Claudin, Arsenite Biosensor

1. はじめに

当研究室は発足以来、その名称が薬品製造工学講座、生物機能工学講座、そして現在の生体機能分子化学分野と変遷してきた。発足当時の職員はすべて工学博士で、薬学研究科においては大変ユニークな存在であり、旧称にある「工学」が略称として現在も使われている。現教員は著者を含め近藤昌夫助教授、磯田勝広助手の三名ですべて薬学博士であり、研究も化学工学的な内容から創薬、再生医療を志向したものへとシフトしている。現在、遺伝子組換え技術、細胞生物学的手法を用いて細胞機能を改変することにより、革新的な疾病治療法の開発、および環境問題解決を目指した研究を展開している。本稿では当研究室で行っている4つのテーマについて以下紹介をしたい。

2. 新規肝疾患治療法の開発

細胞移植療法は臓器移植に比べ患者に対する負担が少ないこと、凍結保存した細胞が使用可能であること、また患者自身の細胞も使用できることなど多くの利点を有し、再生医療における有用な手段として期待されている。間葉系幹細胞(MSC)は胚葉を超えた分化能を示し、培養により十分量の細胞を確

保できることから、有力な移植細胞源として注目を集めている。当研究室ではこれまでバイオ人工肝臓開発をはじめとして新規肝疾患治療法に関する研究を行っており、数年前より骨髄由来MSC(BMC)を移植細胞源として肝疾患に適用するための基礎的検討を行っている(図1)。これまでラットBMCを未分化細胞から肝細胞への誘導に最も重要と考えられる肝細胞増殖因子(HGF)を添加して培養し、慢性肝傷害ラットに移植すると肝線維化を有意に抑制することを報告している[J. Hepatol. 44(4), 742-748(2006)]。現在、BMCに肝疾患治療用の遺伝子を導入し細胞医薬品としての機能を付加すること、また移植細胞を標的部位へ効率的に送達させる手段について検討を進めている。MSCには通常のアデノウィルスベクターを用いた場合遺伝子導入効率が極めて低いため、医薬基盤研究所の水口研究室と共同でウィルスファイバーに遺伝的な改変を施した次世代型アデノウィルスベクターに目的遺伝子を搭載し、MSCの細胞医薬品としての育種を試みている。標的指向性、治癒因子分泌能を付与したMSCの投与により最小限の移植細胞数で有効な治療効果が得られることを期待している。

MSCは骨髄をはじめ臍帯血、脂肪組織などに存



* Kiyohito YAGI
1952年11月生
1981年大阪大学大学院薬学研究科応用薬学専攻博士後期課程修了
現在、大阪大学、薬学研究科・生体機能分子化学分野、教授、薬学博士、再生医療、生物工学
TEL 06-6879-8195
FAX 06-6879-8195
E-mail : yagi@phs.osaka-u.ac.jp

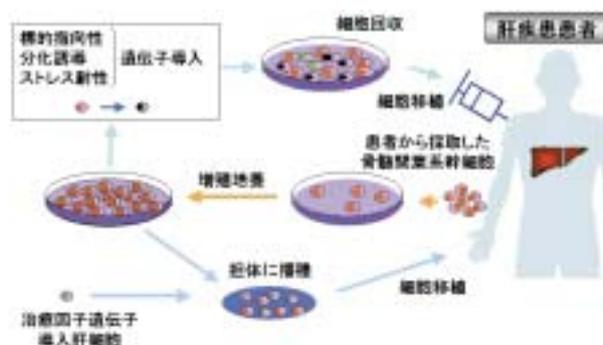


図1 間葉系幹細胞を利用した肝疾患治療



図2 親知らず由来間葉系幹細胞の活用

在し肝細胞への分化能を有することが報告されている。我々は歯の発生の初期段階に存在する歯胚には未分化な細胞が豊富に存在すると考え、産業技術総合研究所の大串、池田らと共同で通常、歯科治療、歯列矯正時に抜歯される第三大臼歯(通称親知らず)の歯胚組織から得られる間葉系幹細胞(DEPC)を細胞治療のソースとして用いることを検討している。図2のレントゲン写真に示すように埋伏している親知らずを歯列矯正のために抜歯した患者より提供を受け、歯乳頭組織を単離した。コラゲナーゼ処理で細胞を分散後、培養を行いFACSを用いてシングルセルクローニングを試みた。シングルセルからコロニーを形成する増殖能の高いDEPCクローンについて多分化能を検討したところ、骨、神経、肝臓への分化が確認された。そこで肝臓への分化に必要な様々な増殖因子、分化因子を添加しDEPCを培養後、肝傷害ラットへの移植実験を行った。その結果BMCと同様の治癒効果が示された。親知らずは歯科治療の際に通常廃棄されていることから、DEPCは移植細胞の有力な候補と考えている。

また肝疾患治療法の一つとして天然由来肝保護物質の探索を行っている。これまでシイタケ菌糸体抽出物 [Biol. Pharm. Bull., 29(8), 1651-1654 (2006)], 藻類由来フコイダンの肝保護効果について報告している。これらの物質は炎症を抑制する効果を有し、C型、B型肝炎患者の持続的な炎症を抑え、肝硬変、肝臓への進行を抑える効果を発揮するものと期待をしている。

3. 細胞間隙経路を介した新規薬物送達法の開発

投与された薬物が標的組織に到達するためには上皮細胞層および血管内皮細胞層を透過する必要がある。これら細胞層の細胞間隙にはタイトジャンクシ

オン(TJ)と呼ばれる密着結合が存在し、物質の透過を著しく制限しておりclaudinと呼ばれる蛋白質がその物質透過制御の本体であることが明らかとなっている(図3)。当研究室においては細胞間隙経路を介した新規薬物送達法の開発を目的としてclaudin modulatorの創製を行っている。claudinのバリア機能を阻害する分子としてウエルシュ菌エンテロトキシンのC末断片(C-CPE)がclaudin-4の機能を阻害することが報告されている。近藤助教は昭和薬科大学在席時にC-CPEが空腸特異的な吸収促進活性を有していることを見出し [Mol. Pharmacol., 67, 749-756 (2005)], さらにC-CPEの機能ドメインの解析の結果C末16アミノ酸中にclaudin-4結合性、吸収促進活性に關与するアミノ酸が存在することを明らかにしている。Claudinは24種類からなるファミリーを構成しており、多種多様なホモおよびヘテロストランドを形成することにより様々な組織において上皮細胞層、内皮細胞層の物質透過を制御している。現在、組織特異的な新規薬物送達系の開発を目的とし、種々のclaudinに対するmodulatorの創製を試みている。

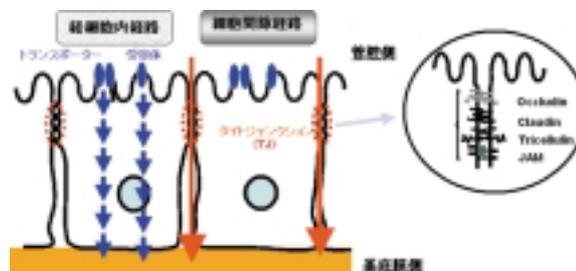


図3 細胞間隙経路を介した薬物送達方法の開発

4. 粘土鉱物による経口タンパクデリバリー

粘土鉱物であるベントナイトは日本薬局法に賦形剤として収載されており安全性の高い物質である。当研究室ではタンパクあるいはペプチド性医薬品の経口タンパクデリバリーの担体としてベントナイトを利用することを検討している。ベントナイトは優れたタンパク吸着能力を有し、胃を通過する際に酸性条件から蛋白質を保護し、小腸まで分解されことなくデリバリーすることができる。現在、インスリン・粘土複合体を糖尿病モデルマウスに経口投与し、その血糖低下作用について検討している。またオボアルブミン・粘土複合体を経口投与することに

より経口免疫寛容の誘導を試みている。安全性の高い粘土鉱物を経口タンパクデリバリーの担体として用いることができれば糖尿病や食物アレルギーに対する効果的な治療法開発につながると考えている。

5. 組換えDNA技術を用いたバイオセンサーの開発

微生物バイオセンサーは安価で高感度に微量物質が検出できる点で実用化が期待されている(図4)。組換えDNA技術を利用し、これまでルシフェラー

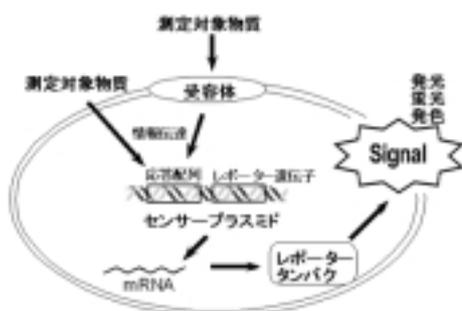


図4 組換えDNA技術を用いた微生物バイオセンサー

ゼ、ガラクトシダーゼ、緑色蛍光タンパクをレポーター遺伝子として様々な物質に反応するバイオセンサーが報告されてきたが、これらのセンサーは検出系として化学発光、蛍光を検知する設備を必要としたり、発色のための煩雑な操作が必要であった。当研究室では光合成細菌のカロテノイド合成系遺伝子をレポーターとし、肉眼で、基質の添加も必要なく、黄色から赤色への色調変化で高感度に微量物質を検知する新規バイオセンサーの開発を進めている。本センサーは大型設備は全く必要とせず、電気の利用できない地域においてもオンサイトモニタリングが可能であり、開発途上国における水質、土壌

汚染の検査に威力を発揮することが期待できる。

我々は光合成細菌の一種で赤色素のスフェロイドノン(SO)を蓄積する*Rhodovulum sulfidophilum*を用いてヒ素応答性微生物バイオセンサーの構築を行っている。まず本菌のスフェロイデン変換酵素(crtA)を欠損させて、黄色を呈する安定な色素変異株を作成した。ヒ素に反応するレギュレータータンパク遺伝子(arsR)とそのプロモーター領域(Pars)をcrtAの上流に連結することによりセンサープラスミドを構築し、色素変異株に導入した。その結果、ヒ素添加に反応しSOの蓄積がみられ、0.006ppmから0.6ppmのヒ素濃度において視覚的判断可能な色調変化が観察できた。また、同族元素であるSbやBiに対しても検討したが、反応性は低く、砒素に対する特異性が高いことが示され、砒素応答性微生物バイオセンサーとして有用であることが実証された[Appl. Microbiol. Biotechnol. 73(29),332-338(2006)]。現在実用化を目指して凍結乾燥標品の活性評価、応答時間の短縮を目的とした検討を進めている。

6. おわりに

当研究室は吹田キャンパスの南西端に位置する薬学研究科本館の4階東側にあり、教員3名、大学院生11名、学部学生5名で研究活動を行いつつ、有能な人材を社会に輩出するべく日夜努力を続けている。また医薬基盤研究所、産業技術総合研究所、本学医学系研究科、及び製薬企業との共同研究により実用化を強く意識した研究を展開しており、基礎研究に止まらず、革新的な疾病の治療法開発を目指し今後も研究を進展させていきたいと考えている。

この記事をお読みにになり、著者の研究室の訪問見学をご希望の方は、当協会事務局へご連絡ください。事務局で著者と日程を調整して、おしらせいたします。

申し込み期限：本誌発行から2か月後の月末日

申し込み先：生産技術振興協会 tel 06-6944-0604 E-mail seisan@maple.ocn.ne.jp

必要事項：お名前、ご所属、希望日時(選択の幅をもたせてください)、複数人の場合はそれぞれのお名前、ご所属、代表者の連絡先

著者の都合でご希望に沿えない場合もありますので、予めご了承ください。