

平成23年度 傾斜的研究費（全学分）学長裁量枠 成果報告書

研究費区分	①新規領域創成型				
研究代表者 所属	都市環境学部 分子応用化学コース	フリガナ 研究代表者氏名	カワカミ ヒロヨシ 川上 浩良	職	教授
研究分担者所 属	都市環境学部	研究分担者氏名	朝山 章一郎	職	准教授
	東京都健康長寿医療センター研究所		村山 繁雄		部長
	千葉大学大学院医学研究院		清水 孝彦		客員准教授

研究課題名	予防・治療を目指した老化科学の新展開
研究実績の概要（600～800字で記入。図、グラフ等は記載しないこと。）	
<p>老化とは、加齢に伴い細胞や組織の機能が低下することであり、老化が引き金となり多くの疾患が引き起こされる。老化しない細胞である幹細胞（iPS細胞を含め）の機能制御には、逆に老化因子の解明が役立つと考える。つまり、老化メカニズムの解明は、単なる老年症候群の発症機序の解明だけでなく、病気の発生機序の解明や幹細胞の機能制御などに結びつき、生命活動の核心に迫る重要な研究課題となる。また、老化メカニズムの解明は、ガン、アルツハイマー病等の難治性疾患の予防法や治療法にも繋がり、幹細胞を用いた細胞工学的治療（再生医療や細胞移植等）あるいはエビジェネティクス工学的治療、さらには日本が迎える超高齢社会で起こる様々な問題を解決できる新しい切り札にもなる。以下にH23年度の研究成果を報告する。</p> <p style="text-align: right;"><b>(1) 分子レベルでの老化メカニズムの解明</b></p> <p>in vivo実験において構造が異なる3種類の人工酵素（抗酸化剤）を投与し、分子レベルでの抗酸化機構を検討した。その結果、trans-MnP（2つの触媒活性基をトランス位に配するMnポルフィリン）を投与した心臓/体重比は生理食塩水投与群と比較し有意に低下したことから、拡張型心筋症発症を抑制できることを示唆した。また、心臓のMnP取り込み量ではtrans-MnPの取り込み量は少なかった。しかし、in vitroにおいて、SOD1欠損fibroblast細胞にtrans-MnPを添加すると細胞内のO<sub>2</sub>・は減少しており、trans-MnPは細胞内に取り込まれSOD活性を示したことが示唆された。in vivo, in vitro評価より、trans-MnPは拡張型心筋症を抑制しているにも関わらず、心臓内に取り込まれた量が少ないことから、生体内代謝系により速やかに代謝された可能性が示唆された。</p> <p><b>(2) 人工酵素を包埋した薬物送達キャリアによるSOD欠損マウスのラジカル障害抑制</b></p> <p>調製したMnP/Lipo（リボソームキャリア）の粒径は200nm以下を示し、Tween-80添加MnP/Lipoに関しては血清存在下においても安定に存在していた。さらに、マウスへ投与したTween-80添加MnP/Lipo群は、24時間後においても血中のMn含有量が有意に増加しており、構造安定性の付与によりMnP/Lipoの血中滞留性の向上が認められた。また、脳へのMnP/Lipoの移行が示唆された。</p> <p><b>(3) 細胞工学、エビジェネティクス工学を用いた細胞老化の抑制</b></p> <p>今回調製したCaP（リン酸カルシウム）/DNA/CoA（コエンザイムA）/PLE（ポリグルタミン酸）複合体は直径が約350nm前後であり、ゼータ電位はPLEを添加することにより負の値を示した。負のゼータ電位は添加したPLEは粒子表面に多く存在している可能性を示唆している。粒子調製時に10μgのプラスミドを仕込み、粒子形成後に上澄みのプラスミド量を測定したところ全ての条件で2～3μgであったことから、調製された粒子内に含有されるプラスミド量は7～8μgと一定である事が示唆された。つまり、全ての粒子で同程度のプラスミドを含んだCaP/DNA/CoA/PLE複合体を調製した。CaP/DNA/CoA/PLE複合体へPLEを添加することで高い遺伝子発現を示し、CoAを添加した場合に遺伝子発現の低下が確認された。これらの結果は複合体のエンドソームエスケープが起こり、細胞内へ放出されたCoAによるヒストンの脱アセチル化が促進された事を示唆している。その結果、転写因子の産生が阻害され遺伝子発現の低下が引き起こされたと考えられる。</p>	

平成 23 年度 傾斜的研究費（全学分）学長裁量枠 成果報告書

学会発表（発表題目、発表大会名、年月を記入）					
<p>(1) 朝山章一郎, 埴 知真, 春山貴幸, 早川なつみ, 清水孝彦, 川上浩良, 抗酸化治療のためのMnポルフィリン錯体の機能化, 第1回ポルフィリン-ALA学会年会, G0-11 (2011年5月)</p> <p>(2) 窪田 陸, 春山貴幸, 清水孝彦, 朝山章一郎, 川上浩良, ミトコンドリア指向性Mnポルフィリン錯体の分子設計及び神経細胞保護効果, 第1回ポルフィリン-ALA学会年会, S0-12 (2011年5月)</p> <p>(3) Shoichiro Asayama, Sigeru Owada, and Hiroyoshi Kawakami, Protective Effects of the Complex between Manganese Porphyrins and Catalase-Poly(ethylene glycol) Conjugates against Hepatic Ischemia/Reperfusion Injury in Vivo, IVth International Symposium Nutrition, Oxygen Biology, and Medicine, Abstracts, P75 (June, 2011)</p> <p>(4) Shoichiro Asayama, and Hiroyoshi Kawakami, Highly Amphiphilic Manganese Porphyrin for the Mitochondrial Targeting Antioxidant, 5th Biennial Meeting of Society for Free Radical Research-Asia, 8th Conference of Asian Society for Mitochondrial Research and Medicin, 11th Conference of Japanese Society of Mitochondrial Research and Medicine, Abstracts, p.195 (September, 2011)</p> <p>(5) 浅羽祐太郎, 朝山章一郎, 小山浩史, 清水孝彦, 川上浩良, 新しい遺伝子操作を目指したエピジェネティクス工学, 第60回高分子討論会, Polymer Preprints, Japan, Vol. 60, No. 2, p. 4781 (2011年9月)</p> <p>(6) 碓 健一, 朝山章一郎, 川上浩良, エピジェネティクス工学を用いたヒストンアセチル化制御, 第60回高分子討論会, Polymer Preprints, Japan, Vol. 60, No. 2, p. 5099 (2011年9月)</p> <p>(7) 碓 健一, 朝山章一郎, 川上浩良, 新しい遺伝子治療を目指したエピジェネティクス工学の確立, 第33回日本バイオマテリアル学会大会, 予稿集, p. 295 (2011年11月)</p> <p>(8) 米田祥浩, 朝山章一郎, 増井 大, 清水孝彦, 川上浩良, ミトコンドリア機能不全に対するMnポルフィリンダイマー含有リボソームのin vivo抗酸化評価, 第20回ポリマー材料フォーラム, 講演予稿集, p. 158 (2011年11月)</p> <p>(9) 山口翔平, 増井 大, 朝山章一郎, 川上浩良, 金属キレート能を有する新規Mnポルフィリン錯体の合成とその抗酸化活性評価, 日本薬学会第132年会, 申込済 (2012年3月)</p> <p>(10) 増井 大, 今村真也, 窪田 陸, 朝山章一郎, 川上浩良, Mnポルフィリンダイマーの構造解析とCatalase活性評価, 日本薬学会第132年会, 申込済 (2012年3月)</p> <p>(11) 窪田 陸, 早川なつみ, 野田義博, 清水孝彦, 朝山章一郎, 川上浩良, 新規カチオン性Mn-ポルフィリン錯体を用いたin vivo抗酸化評価, 日本薬学会第132年会, 申込済 (2012年3月)</p>					
論文発表又は著書発行（発表題目、著者、発表誌又は出版社、年月を記入）					
<p>(1) S. Asayama, S. Nishinohara, and H. Kawakami, Zinc-Chelated Poly(1-vinylimidazole) and a Carbohydrate Ligand Polycation Form DNA Ternary Complexes for Gene Delivery, Bioconjugate Chemistry, 22, 1864-1868 (2011).</p> <p>(2) S. Asayama, T. Nakajima, and H. Kawakami, New Water-Soluble Mn-Porphyrin with Catalytic Activity for Superoxide Dismutation and Peroxynitrite Decomposition, Metallomics, 3, 744-748 (2011).</p> <p>(3) S. Asayama, S. Nishinohara, and H. Kawakami, Zinc-Chelated Imidazole Groups for DNA Polyion Complex Formation, Metallomics, 3, 680-682 (2011).</p> <p>(4) H. Hiruma, S. Asayama, and H. Kawakami, Control of Cell Morphology on the Polyimide Surface Patterned by Rubbing and Ion-irradiation, Polymers for Advanced Technologies, 22, 1311-1314 (2011).</p>					
科学研究費補助金への応募状況、採択状況					
<p>(1) 朝山章一郎（代表）：平成24年度 基盤研究(B)（一般）：生理活性イオン配位超高分子による生体へ積極的に機能するナノキャリアの創製：1890万円（応募中）</p> <p>(2) 朝山章一郎（代表）：平成24年度 挑戦的萌芽研究：核内事象を制御する四元遺伝子複合体の創製による細胞分化誘導：500万円（応募中）</p> <p>なお、研究代表者の川上は既に、基盤Bと挑戦的萌芽が採択されており、今年度は科研費への申請はできない</p>					
国等の提案公募型研究費、企業からの受託研究費・共同研究費の獲得状況					
<p>先端的低炭素化技術開発（JST）H23年度採択：機能性ナノファイバーから構成される革新的デバイス開発（研究代表者：川上） 共同研究費：3件（研究代表者：川上）</p>					
その他社会貢献 [公的審議会・委員会等の公的貢献、生涯学習支援・普及啓発、国際貢献・国際交流等]					
<p>研究代表者の川上のみ記載 (1) 委員会等：高分子学会関東支部理事、燃料電池材料研究会委員長、日本人工臓器学会評議委員、日本酸化ストレス学会評議委員、日本膜学会組織委員 等 (2) Editor: Polymer International, Applied Membrane Science &amp; Technology, Porphyrin, Membrane 等 (3) 国際貢献・国際交流等：国内外の学会を8件企画、運営</p>					
研究成果による特許等の工業所有権の出願・取得状況					
工業所有権の名称	発明者	権利者	工業所有権の種類・番号	出願年月日	取得年月日
エピジェネティクスに関する特許を複数出願予定				2012年3月に 出願予定	
新規人工酵素に関する特許を出願予定				2012年3月に 出願予定	

平成23年度 傾斜的研究費（全学分）学長裁量枠 成果報告書

研究分担額		
研究代表者・分担者名	所属	金額（円）
研究代表者・川上浩良	都市環境学部 分子応用化学コース	16,100,000円