

腸癌細胞株の変異 K-ras を遺伝子標的により特異的に欠失させた独自のシステムを樹立して、変異 K-ras の欠失により癌が抑制されること、即ち、分子標的療法の可能性を世界に先駆けて報告し、このシステムを利用して KRAS シグナルがどのように発癌・悪性化に関与するかの分子メカニズムを多数明らかにしてきた。

しかしながら、変異 KRAS そのものをターゲットにする抗癌剤は未だ開発されず、また、EGFR の阻害剤は、K-ras 変異を持つ癌には効果がないという報告も既に存在し、KRAS 制御分子の *in vivo* における理解とそれに基づく創薬標的の同定は臨床的視点からも重要な課題であると言える。我々は、細胞株を利用した *in vivo* モデルシステムを樹立させ、2次元培養とは明らかに異なる遺伝子群の発現変動を観察している。これらの3次元モデルにより抽出された遺伝子群は生物学的理解に基づいた強力な予後予測因子となりうる可能性があり、癌に関する新たな予後予測因子、治療標的、血中がんマーカーの同定などの研究開発が期待されるが、その達成のためには、臨床各科との連携が今後重要な課題になると考えられる。(医学部講師 角田俊之)

3 . 糖尿病・肥満関連分子 KRAP に関する研究 :

KRAP (K-ras-induced actin-interacting protein) は、前述した大腸癌細胞株において活性化 K-ras により発現が上昇する遺伝子として、我々が同定し報告した分子である。KRAP は、多数の種類で発現が上昇していることより癌関連分子として興味に値すると考えられるが、生理学的機能に関しては全く不明であった。

我々は KRAP 欠損マウスを樹立・解析し、KRAP 欠損マウスが顕著な全身性のエネルギー恒常性異常を呈することを明らかにした。特に、耐糖能の改善、インスリン感受性の亢進、脂肪蓄積の低下、エネルギー消費の亢進、各種血中ホルモン値の変動、糖・脂質代謝関連組織でのトリグリセリド・コレステロール合成酵素群の発現低下という表現型を呈したことは、メタボリックシンドロームの視点からすると、非常に興味深いものがある。これらの結果は、KRAP が個体レベルでのエネルギー恒常性や糖・脂

質代謝の制御に重要な役割を担い、KRAP 関連経路が糖尿病・肥満に対する創薬のターゲットになり得る可能性を示唆している。現在、KRAP と会合するシグナル関連分子を同定し、その相互作用の機能的意義を解明し、産学官連携も視野に入れながら、先駆的治療法開発に繋がる研究へと発展させている段階である。(医学部講師 藤本崇宏)

4 . 自己免疫疾患と転写制御分子 ZFAT に関する研究 :

自己免疫疾患は免疫システムにおける“自己寛容”の破綻した状態として捉えることができる。我々は自己免疫疾患として頻度の高いバセドウ病を含む自己免疫性甲状腺疾患 (Autoimmune Thyroid Disease: AITD) を中心に解析を進めている。これまでに、連鎖解析、SNP 相関解析等のゲノム解析により、AITD 疾患感受性遺伝子として ZFAT を同定・報告してきた。ZFAT は転写因子様タンパクをコードし、魚類よりヒトに至るまで高度に保存された遺伝子であり、末梢血の B 細胞および T 細胞にほぼ特異的に発現していること、さらに、機能的には免疫応答、アポトーシスに深く関与する分子であることを世界に先駆けて明らかにした。現在、ZFAT 遺伝子改変マウスを対象に発生初期における ZFAT の機能解析、および免疫担当細胞の免疫刺激時における ZFAT 転写制御ネットワーク解析を進めているが、ZFAT が細胞システムにおいて中核となるような現象に関与する可能性が示唆されている。新たに始動した FCAM を通じて、ZFAT 機能解析および転写制御ネットワーク解析のさらなる進展が期待され、新たな細胞・生命プログラムの描出、さらには、その理解に基づいた治療法の開発へと繋がることを期待される。(医学部助教 土井佳子)

おわりに

多因子グループはこのように、癌・代謝・免疫という幅広い領域において研究を展開させているが、FCAM 成功の鍵は疾患特異的研究を行っているその他の研究グループとの連携をいかに推進するかにかかっていると考えられ、今後の共同研究の発展に期待したい。

多因子疾患グループ以外の FCAM 構成グループ

(G) には、悪性疾患分子標的 G、循環器・代謝疾患分子標的 G、感染症免疫疾患分子標的 G、トランスレーショナルリサーチ G が存在し、黒木政秀教授、岩本隆宏教授、廣松賢治教授、宮本新吾教授がそれぞれのグループリーダーとして統括され、先駆的、かつ、exciting な研究を展開させている。次号より、各グループの紹介・進捗状況を順に報告していただく予定である。



平成20年度 資源循環・環境制御システム研究所 研究成果発表会 開催報告

資源循環・環境制御システム研究所 研究開発室長
准教授 武 下 俊 宏

平成21年6月12日、平成20年度福岡大学資源循環・環境制御システム研究所の研究成果発表会が北九州市エコタウンセンター別館にて開催された。平成20年6月から樋口所長のもとで新体制の資環研がスタートし、今回はその最初の報告会となった。午前10時、衛藤卓也福岡大学長による主催者挨拶、続いて竹下貞夫氏(北九州市環境局環境科学研究所長)、花嶋正孝先生(福岡県リサイクル総合研究センター長)より来賓挨拶を戴いた後、樋口壮太郎(福岡大学資源循環・環境制御システム研究所長)より開会の挨拶が行われた。引き続き午前に5題、午後に9題、併せて14題の研究成果発表がなされた。発表演題と発表者名は次ページ発表会プログラム、あるいは当日会場で配布した、平成20年度研究成果報告書を参考されたい。

平成20年度の成果報告の内訳について見ると、最終処分に関する発表が全14題中11題あり、約8割を占めていた。そのうち、埋立廃棄物の安定化技術に関する発表が5題、廃棄物の再資源化に関する発表が3題、埋立処分場の構造に関する発表が2題、海外の廃棄物管理事例調査に関する発表が1題であっ

た。この他の発表については、資環研の年次活動報告、汚染水の高度処理技術、未利用バイオマスの資源化技術について各1題ずつの発表が行われた。また、今回発表の行われた14題中の8題が研究助成等の外部資金を得て産学連携によって行われた研究成果の発表であった。

記録によると当日の来場者数はのべ104人で、用意した85座席は満席となったため臨時席を会場に配置することとなった。発表15分、質疑応答5分の一般的な口頭発表であったが、活発な質疑応答がおこなわれ時間超過となる場面もしばしば見られた。しかし、午後の司会をお願いした松田晋太郎氏、為田一雄氏の司会進行によりほぼ定刻に全ての発表を終えることができた。午後4時10分、樋口所長の閉会の挨拶をもって、予定していた研究成果発表会の全てのプログラムは無事終了した。



H20年度福大資環研研究成果発表会プログラム

日 時：平成21年 6月12日(金) 10:00～16:10

場 所：北九州市エコタウンセンター別館

9:30		受付開始
10:00		開会 司会 武下 俊宏
	主催者挨拶	福岡大学長 衛藤 卓也
10:10	来賓挨拶	北九州市環境局環境科学研究所 所長 竹下 貞夫氏
10:15	開会の挨拶	福岡大学資源循環・環境制御システム研究所 所長 樋口 壯太郎
10:20		発表会
10:20 10:40	1	資環研平成20年度活動報告と21年度展望 福岡大学資源循環・環境制御システム研究所 樋口 壯太郎
10:40 11:00	2	洗浄処理による廃プラスチック類のリサイクル技術開発 (有)ジェーハック 為、田 一雄氏
11:00 11:20	3	新土質系遮水工法ナチュラルブランケットの開発 西武建設(株) 成島 誠一氏
11:20 11:40	4	中国(蘇州・無錫地区)における廃棄物管理に関する調査研究 環境テクノス(株) 松田 晋太郎氏
11:40 12:00	5	最終処分場からの資源採掘と保管機能化～福岡大学理系研究室と経済学部との文理融合の取り組み～ 福岡大学(学) 坂本 晋太郎
12:00～13:00		昼 休 み
		司会 松田 晋太郎氏
13:00 13:20	6	強制的好気性工法による生活環境修復早期安定化システム(エアロビック・バイオ・メカニカル工法)の研究開発 (有)グローバル環境システム研究所 元永 優一氏
13:20 13:40	7	最終処分場早期安定化技術の開発および安定化指標としての細菌叢解析の適用 (株)クボタ 吉崎 耕大氏
13:40 14:00	8	FASTシステム最終処分場の実証研究 (株)フジタ 矢島 聡氏
14:00 14:20	9	最終処分場浸出水処理施設から発生する塩類の有効利用システムの構築 NPO 法人環境技術支援ネットワーク 加藤 隆也氏
14:20 14:40	10	埋立地における焼却灰中の炭素量と安定化に関する研究 太平洋セメント(株) 石田 泰之氏
14:40～14:50		休 憩
		司会 為、田 一雄氏
14:50 15:10	11	ドライフォグ状オゾン水注入による最終処分場の早期安定化技術の開発 (有)ジェイ環境 米村 孝介氏
15:10 15:30	12	廃棄物最終処分場等における高機能土構造物構築方法の実用化研究 旭化成ジオテック(株) 安藤 彰宣氏
15:30 15:50	13	グリーンラスト/フェライト循環処理法によるセレン汚染水の高度処理技術 三菱マテリアル中央研究所 林 浩志氏
15:50 16:10	14	副生アルカリ塩を用いた植物油からのバイオディーゼル燃料製造とグリセリン廃液の資源化技術開発 福岡大学資源循環・環境制御システム研究所 武下 俊宏
		閉会

Crocin アナログを用いた神経細胞保護化合物の最適化研究

高機能物質研究所 薬学部教授 金城 順 英
薬学部助教 中野 大 輔

1. はじめに

グルコース（ブドウ糖）などを有す植物成分、配糖体は天然に広く分布し、水（お湯）で容易に抽出されることから、生薬（含む漢方薬）や天然薬物の代表的有効成分としてよく知られている。ところが、配糖体を口から（経口）摂取した場合、配糖体糖鎖が腸内細菌の栄養源となり代謝分解され、非糖部（アグリコン）のみ腸管から吸収される。そのため、従来、真の有効成分として、糖鎖部は不要と考えられてきた。

一方、添田らは配糖体でもあるサフランの有効成分 crocin の神経細胞保護作用に関する研究において、非糖部（crocetin）単独では全く活性を示さず、糖鎖部分が重要な役割を果たすことを動物実験（経口）において明らかとした¹⁾。すなわち、ある種のパラダイムシフト的知見が得られたことになる。そこで、われわれは、このような糖鎖のもつ生体内現象を分子レベルで解明するため、crocin 糖部の化学的変換と神経細胞保護作用の関連（構造活性相関）に着目し、実験をスタートした。

2. 研究概要

Crocin は crocetin に gentiobiose (glucosyl-1,6-glucose) が2つ結合した構造を有す（図1）。

それゆえ、ストラテジーとして、A) 糖部の必然性、B) 非糖部の必然性、C) 両者(糖部+非糖部)

の必然性を明らかにする必要がある。そこで、まず、糖部（gentiobiose）を合成を試みた。

1) Gentiobiose の合成

Glucose よりドナー、アクセプターを合成し、それらをベータ選択的に結合させることにより gentiobiose 供与体化を行った（図2）。まず、glucose を無水酢酸・DMAP/ピリジン溶液中で反応させ、アセチル化体とした。続いて、塩化メチレン中でチオクレゾール・3フッ化ホウ素エーテル錯体存在下、反応を行い、糖ドナーであるチオグリコシドを合成した。一方、DMF 中で glucose をベンジルプロミド・NaH と反応させベンジル化を行い、その後、塩化亜鉛を触媒とし、無水酢酸：酢酸（5：1）混液中で反応し、6位の選択的アセチル化体を得た。さらに、メタノール溶液中でナトリウムメトキサイドを用い脱アセチル化を行い、6位以外を選択的に保護した糖アクセプターを調製した。これを、塩化メチレン中で先ほど調製したチオグリコシド（糖ドナー）と NIS・TMSOTf を用いて反応させ1,6ベータ結合のジサッカライドを調製後、Pd/C・水素を用い脱ベンジル化を行い、さらに無水酢酸・DMAP でアセチル化した。最後にヒドラジンアセテートを DMF 中で反応させ1位の脱アセチル化体を得た。

2) Hexadecanedioic acid とのカップリング

アグリコンである crocetin との結合方法の基礎的検討のため、ほぼ同じ鎖長をもつ、hexadecanedioic

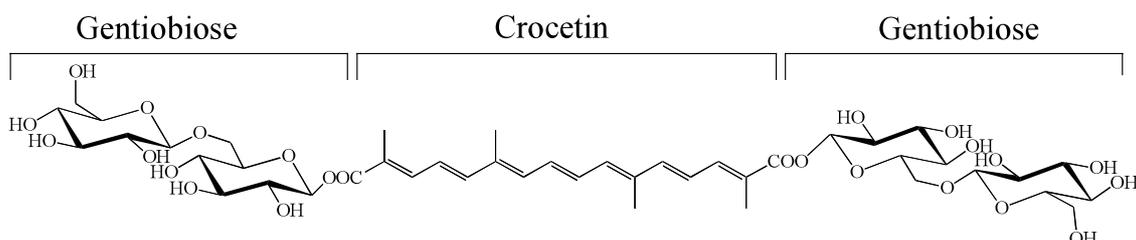


図1

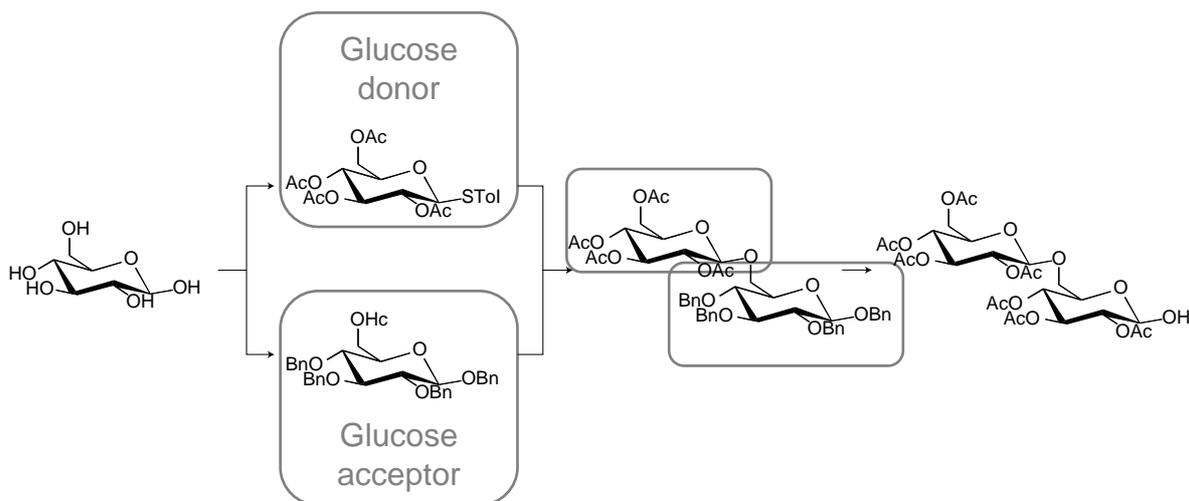


図 2

acid とのカップリングを行った (図 3)。

Gentiobiose 誘 導 体 と hexadecanedioic acid を WSC・DMAP を加え塩化メチレン中反応を行った。その後、ナトリウムメトキサイドをメタノール中で反応させることにより目的の化合物 (Hexadecanedioic acid di-gentiobioside) を得た。しかし、収率は低く、特に、モノゲンチオビシドの段階で反応が終了しているものが多く、反応条件の再検討が必要と考えられた。また、最終的に糖鎖部分の脱保護を行う際、エステル系の保護基を用いているため、糖鎖 アグリコン結合まで切れてしまい、最終生成物の収率がさらに減少しているものと考えられる。今後、エーテル系保護基での反応を検討する予定である。

現在、本化合物を用い、神経細胞保護作用の測定を企図している。

3. おわりに

糖は水酸基を多数有するため、配糖体の合成は有機合成の中でも最難関のテーマの一つである。今回の実験において、収率等において十分な結果が得られたとはいえないものの、少なくとも糖鎖部 (gentiobiose) の合成には成功した。今後、各種の単糖を用い、図 4 のような種々糖鎖を合成する予定である。

これらを crocetin とカップリングさせ、活性を測定することにより、glucose の 6 位水酸基あるいは、1-6 結合の必要性が判明するものと期待される。

糖鎖は核酸、タンパク質に次ぐ『第 3 の生命鎖』とも呼ばれ、ポストゲノム時代を担う重要課題と位置づけられている。生体内において糖鎖は、脂質やタンパク質など他の生体分子と結合し、糖脂質や糖タンパク質などの複合糖鎖として存在している。糖鎖生物学の進歩により、免疫、炎症、悪性腫瘍、細

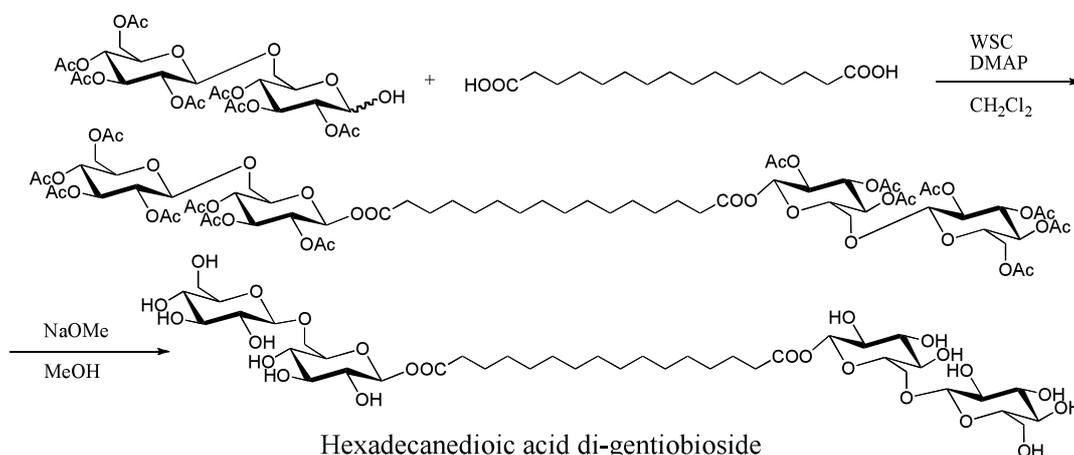


図 3

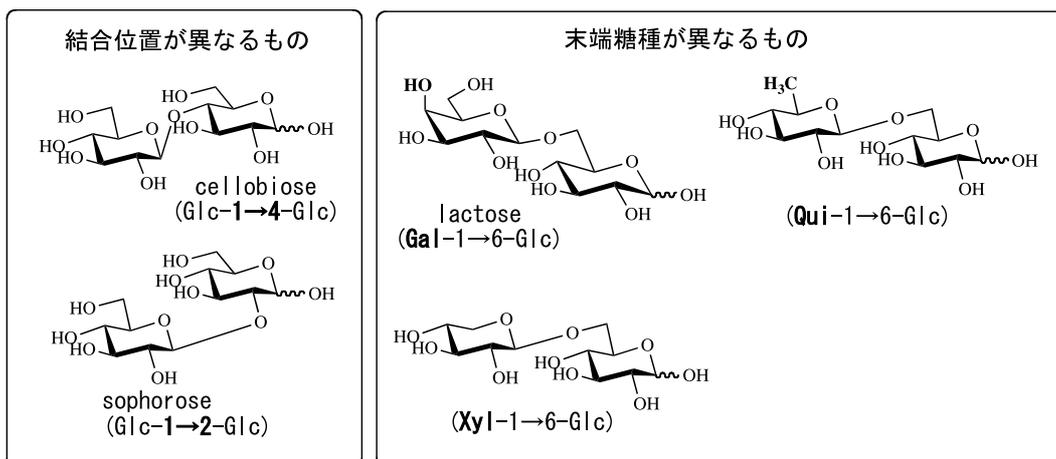


図 4

胞間認識など様々な生命現象に糖鎖が深く関わっていることが明らかにされてきているが、微量かつ多種にわたるため全容解明にはほど遠い状況である。しかし、化学合成で十分な糖鎖の供給が可能となった場合、糖鎖生物学は飛躍的な発展を遂げるものと期待され、本研究はその端緒となりうるものと自負している。

4. 文 献

- 1) Ochiai T., Shimeno H., Syoyama Y., Soeda S. *et al*, Protective effects of carotenoids from saffron on neuronal injury invitro and in vivo., *Biochemica et Biophysica Acta* (2007) 578-584



平成21年度の事業予定

- 安全工学に関する研究の実施 -

工学部化学システム工学科助教 加藤 勝美
教授 中野 勝之
助教 東 英子

1. はじめに

本研究所は、学内外の知的資源の有機的集結・連携により現代社会が直面している環境問題に関する理工学的諸課題の解決の方策を提示するとともに、環境に関する科学・技術の高度化、総合化に資することを目的として、共同研究や技術相談などを行っています。

前回の報告では、光触媒に関する諸技術の応用展開を目的とした、(株)ヤスカワ、東洋造船鉄鋼、あいもり(株)との共同研究や本学創立75周年記念事業の一環として行った環境未来国際公開講座シリーズに関して述べました。

本年度からは、光触媒に関連する技術開発や研究に加え、環境を総合的、広義に捉え、「安全工学」に関する研究も新たに展開することを予定しています。本報告では、主として、本年度実施予定の安全工学に関連する共同研究に関して報告したいと思います。また、本年度採択された、文部科学省「教育研究高度化のための支援体制整備事業」に関する報告も報告します。

2. 安全工学に関して

安全工学という言葉にあまり馴染みがないと思いますので、安全工学に関して簡単に説明したいと思います。

現在、非常に多様な産業活動が行われていますが、たとえば、化学物質などの製造過程や運搬、貯蔵、消費過程などにおいては、化学物質が持つ潜在的な危険性が存在します。製造中に予期しない有害な化学物質が発生する、あるいは、爆発が起きるといった現象はその一例です。安全工学は、このような危険性を極小化することを目的とした学問領域を指し

ます。安全工学は全ての産業分野で考える必要がありますので、各分野に横串を刺すような学問領域であると考えられるかと思えます。

本研究所の基幹研究である光触媒を中心とする諸研究に加えて、この安全工学に関する研究を本研究所のもう一つの柱とするべく、後述する共同研究などを通じて、研究を推進したいと考えています。

3. 安全工学に関する技術課題

現在実施している、あるいは、実施予定の共同研究を以下に述べます。

(1) 5団体による硝酸エステル類の貯蔵安定性に関する共同研究

現在、旭化成ケミカルズ(株)、東京大学環境安全研究センター、(独)産業技術総合研究所安全科学研究部門、日油(株)、および福岡大学の5団体が連携し、硝酸エステルの発火・爆発に対する安全化を目的とした研究会を本年度5月に発足しました。本研究会で検討する研究は、本年度10月からの開始を予定している同5団体による共同研究の枠組みの中で実施することを計画しています。

本共同研究で対象とする硝酸エステルは、1964年に東京都品川区で起きた硝酸エステルを原料とする塗料の自然発火事故に象徴されるように、過去に幾度も発火事故が起きている物質です。しかしながら、現在においてもなお、その分解・発火メカニズムが明らかになっていないなど、その現象においても不明確な点が多く学術的にも、化学プロセスにおける取り扱いといった実際的な問題としても課題の残る物質であるといえます。実際の実験においては、暴走反応熱量計 ARC (Accelerating Rate Calorimeter) と呼ばれる大型の熱量計を共同研究先である東京大

学環境安全研究センターから本研究所へ移設し、実験を実施する予定です。

本共同研究においては、産官学および企業間の垣根を取払い、相互に情報交換することにより、化学物質の安全化に係る研究の高度化および合理化を図り、この命題に取り組んでいきたいと考えています。

(2) 独産業技術総合研究所との共同研究

本年度8月から実施している本共同研究は、化学分野における産業の安全を研究課題としています。具体的な研究課題としては大きく分けて2つあります。

1つは、前述の共同研究でも取り上げたような危険性を有する物質の安全化に資する研究課題であり、ここでは主としてバイオマスエネルギーとして注目されているエタノールおよび *tert*-ブチルエチルエーテルの酸化反応に係る危険性評価およびその反応解析を実施する予定です。

もう1つは、過去に起きた事象事例を分析することにより、ヒューマンファクタなどに関連する作業面や教育・訓練などの管理面も含めた安全化方法を提案することを目的とした研究です。

産業の安全を考える上では、反応制御などの技術的側面からのアプローチに加え、管理面からの研究も重要であると言えます。仮にある安全技術が確立されていたとしても、作業者がそれを使わない、あるいは、使いにくいというような場合には、その技術は簡単に無にされてしまいます。このため、本共同研究では、技術面と管理面の双方からの安全化方法を提案することを目的として研究を実施して行きたいと思えます。

(3) ワンキャンパス集積型総合大学の教育研究高度推進支援プロジェクト

本学では、文部科学省の教育研究高度化のための支援体制整備事業に採択され、「ワンキャンパス集積型総合大学の教育研究高度推進支援プロジェクト」が実施されます。本研究所では、その細分テーマである、「北部九州とアジア・環太平洋地域の連携による学融合環境教育研究の高度化」および「地域に応える防災技術と安全システムに関する総合的な教育研究」の一部を担当することになりました。

前者は、北部九州での東アジアとの結びつきを深める動きが活発化しているなかで、中国、韓国など東アジア出身の教員を結集し、数多くの留学生と日本人学生の交流を深めながら、実践的な学融合教育研究により博士課程後期の学生支援を重点的に行い、「持続可能なアジア」を創るリーダーを育成するプロジェクトです。

後者は、災害の発生の原因とそのメカニズムの解明、診断技術と予防保全技術、そして安全システムの構築と総合対策を広い分野の研究者が結集して、その教育研究体制の整備を検討するというものです。本研究所ではこの枠組みの中で、化学の観点からの安全工学的なアプローチを試みる予定です。

4. まとめに代えて

最近、化学分野の安全に関する管理や意識は、企業 > > 研究所 > 大学であるという話をよく耳にします。恐らく、それは、高度にオートメーション化され、取り扱う化学物質も限られている化学プラントと比較して、大学では人の技量に依存する手作業が多く、かつ、取り扱う化学物質も多様である一方で、十分な安全教育や安全管理がなされていないことに由来するものであると解釈しています。事実、学生の保護具の着用などの状況を見ると、学生に対する組織的な安全教育、管理の必要性を切に感じます。本研究所で実施する安全工学に関する研究では、研究としてのアウトプットだけを求めるのではなく、学生の安全教育の一環ともなるように実施して行きたいと考えています。折しも今年度採択された「ワンキャンパス集積型総合大学の教育研究高度推進支援プロジェクト」では、教育に主眼をおいた研究という位置づけですので、このプロジェクトの中で、本学における安全教育の枠組みが構築できるよう微力ながら邁進して行きたいと考える次第です。



染色体微小欠失によるてんかん

愛知県コロン中心身障害コロン中央病院小児神経科 倉橋 宏 和
医学部小児科学教授 廣瀬 伸 一

はじめに

てんかんは、「種々の病因によってもたらされる慢性の脳疾患で、大脳ニューロンの過剰な発射から由来する反復性の発作を主徴とする」疾患の総称である。このため、その中には発症年齢・発作症状とその頻度・予後などの全く異なる多くの病型・症候群が含まれる。

その病因は遺伝的素因から中枢感染症・外傷・低酸素性虚血性脳症などの外因まで幅広いが、はっきりした原因がみあたらない特発性てんかんの中には、未知の遺伝子変異により発症した症例が多数含まれていると考えられる(1-6)。

てんかん分子病態研究センターは、主に特発性てんかんを対象とした遺伝子解析とその機能解析を行い、また同時に、変異遺伝子を持つ遺伝子改変動物の作出と、作出された動物の表現型と神経薬理学的な検定を行うことによって、てんかんの分子病態解明を進めている(7-31)。

近年、乳児重症ミオクロニーてんかん(SMEI)において、従来解析されてきた点変異だけでなく、染色体の微小ヘテロ欠失が発症に結びつくことが明らかになった(25)。

われわれは、他のてんかん病型において同時に二つのてんかん遺伝子の微小ヘテロ欠失を同定した。症例は一方のてんかん遺伝子による新生児期のてんかん発作を呈したものの、もう一方のてんかん遺伝子による小児～成人期の夜間のてんかん発作を認めなかった。これにより、遺伝子変異によるてんかん発症にも多様なメカニズムが関与することが改めて示された。その内容をごく簡単に報告する。

背 景

良性家族性新生児けいれん(BFNS)は、生後数時間から数日の間の新生児にけいれんが発症する、

常染色体優性遺伝形式をとるてんかんである。けいれんは1～3分と短い群発する傾向をもつ。けいれんはその後乳児期に自然消退するので良性の名を持つ(8,27)。

一部の症例で脳内のK⁺チャンネル構成するKCNQ2とKCNQ3サブユニットの遺伝子異常が発見されている。KCNQ2とKCNQ3は脳内でK⁺チャンネルを形成し、M-currentと呼ばれる抑制系の電流の産生に関与している。遺伝子変異がK⁺チャンネルの機能低下すなわち抑制系電流の低下につながり、その結果ニューロンの興奮性が高まり、けいれんが誘発されるものと思われる(24,27,31)。

BFNS患者で従来報告されてきた変異は、一塩基変異がアミノ酸変異を起こすミスセンス変異、一塩基変異や塩基単位の挿入・欠失により配列の途中でストップコドンが形成され、アミノ酸の合成が不完全となるナンセンス変異であったが、近年、KCNQ2遺伝子の一部のエクソンに限局した微小ヘテロ欠失が報告された。

そこで、われわれは当施設で過去に直接シーケンス法を用いて解析を行ったBFNS症例に、染色体の微小ヘテロ欠失が含まれていないかの調査を行った。

対象と方法

過去6年間に当施設に解析依頼のあったBFNS症例22例(男児10例、女児12例)を対象とした。目的遺伝子はKCNQ2、KCNQ3遺伝子とし、染色体の微小欠失または重複を検出するためmultiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA)法を用いた。実際の解析はMRC-Holland社の、SALSA MLPA KIT P166 KCNQ2、SALSA MLPA KIT P197 KCNQ3、とABI310を用いて行った。染色体の微小欠失を認めた場合はエクソン2-3またはエクソ

ン11 - 12に設計したプローブを用いた *Fluorescein situ hybridization* (FISH) を用いて欠失を顕微鏡下に確認した。さらに、欠失例は Affymetrix Genome-Wide Human SNP Array5.0を用いた Array-based comparative genome hybridization analysis (CGH) を実施し、染色体欠失の範囲を同定した。

結 果

22例中4例に *KCNQ2* 遺伝子の欠失を認めた。その4例について家系調査と、協力を得られた同胞の遺伝子検査を行ったところ、発端者と同様の欠失が家系内の BFNS の既往のある同胞にも同定され、遺伝性が証明された。欠失範囲の内訳はエクソン1 - 4、3 - 15、3 - 17、全17エクソンがそれぞれ1例ずつであった。さらに、エクソン17が欠失した2例では、隣接する *CHRNA4* 遺伝子の全エクソンの欠失も同定された。*CHRNA4* 遺伝子は常染色体優性夜間前頭葉てんかん (ADNFLE) の原因遺伝子であり、神経ニコチン性アセチルコリン受容体 (nACh-R) を構成する α サブユニットをコードしている。nACh-R は Ach により開閉するイオンチャネルであり、ADNFLE ではミスセンス変異は同定されているが、ナンセンス変異と微小ヘテロ欠失は報告されていない。今回 *CHRNA4* 遺伝子のヘテロ欠失が同定された家系について、ADNFLE の症状の有無を調査した。ADNFLE は、睡眠中のけいれん発作を特徴とし、寝ぼけや、睡眠障害による驚愕などと誤られているケースも多い(7, 9)。これらの症状も含め詳細に検索したが、ADNFLE の症状を呈する症例は認めなかった。*KCNQ3* 遺伝子の欠失、重複は認めなかった。

考 察

今回われわれは、BFNS 症例に *KCNQ2* 遺伝子の微小ヘテロ欠失を同定した。その割合は4 / 22 (18%) であった。以前に報告された *KCNQ2* 遺伝子の欠失は一部のエクソンのみを含んだものであったが、今回初めて全エクソンの欠失症例が発見された。BFNS で報告されている *KCNQ2* 遺伝子変異にはナンセンス変異が多く含まれること、細胞を用いた機能解析では変異遺伝子はチャネルの機能低下を招くことから haploinsufficiency が BFNS 発症の病態

と考えられていたが、全エクソンの欠失症例はその仮説をより強固にするものである。

また、2家系において *CHRNA4* 遺伝子の欠失も同定された。*CHRNA4* 遺伝子のミスセンス変異が ADNFLE 症例の一部で報告されているが、この2家系には、ADNFLE の症状を認めなかった。細胞を用いた機能解析では、変異 *CHRNA4* 遺伝子を組み込んだ nACh-R は、ACh に対する感受性が上がる以外には共通の特徴がなく、どのようなメカニズムで ADNFLE を発症するかについては議論の余地がある。今回の発見で、*CHRNA4* 遺伝子の欠失のみでは ADNFLE を発症しない、つまり、haploinsufficiency は ADNFLE の発症メカニズムではない可能性が示唆された。

SMEI に続いて、BFNS でも染色体微小欠失例が同定されたことにより、他のてんかん遺伝子においても、遺伝子の数的異常を検索する必要性はさらに高まったと考えられる。今後は ADNFLE など他のてんかん病型でも、重複を含めた遺伝子の数的異常がないか調査する予定である。

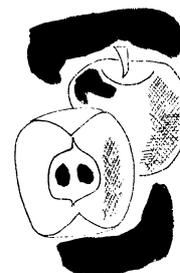
付記：内容の詳細は2009年「Neurology」に掲載予定。(32)

- 1 . Hirose S. A new paradigm of channelopathy in epilepsy syndromes: intracellular trafficking abnormality of channel molecules. *Epilepsy Res* 2006; 70 Suppl 1: S 206-217.
- 2 . Hirose S, Mitsudome A, Okada M, Kaneko S. Genetics of idiopathic epilepsies. *Epilepsia* 2005; 46 Suppl 1: 38-43.
- 3 . Hirose S, Mohny RP, Okada M, Kaneko S, Mitsudome A. The genetics of febrile seizures and related epilepsy syndromes. *Brain Dev* 2003; 25: 304-312.
- 4 . Hirose S, Okada M, Kaneko S, Mitsudome A. Are some idiopathic epilepsies disorders of ion channels?: A working hypothesis. *Epilepsy Res* 2000; 41: 191-204.
- 5 . Hirose S, Okada M, Kaneko S, Mitsudome A. Molecular genetics of human familial epilepsy syndrome. *Epilepsia* 2002; 43: 21-25.
- 6 . Hirose S, Okada M, Yamakawa K, et al. Genetics abnormalities underlying familial epilepsy syn-

- dromes. *Brain Dev* 2002; 24: 211-222.
- 7 . Hirose S, Iwata H, Akiyoshi H, et al. A novel mutation of *CHRNA 4* responsible for autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Neurology* 1999; 53: 1749-1753.
 - 8 . Hirose S, Zenri F, Akiyoshi H, et al. A novel mutation of *KCNQ 3*(c. 925 T>C) in a Japanese family with benign familial neonatal convulsions (BFNC 2). *Ann Neurol* 2000; 47: 822-826.
 - 9 . Ito M, Kobayashi K, Fujii T, et al. Electroclinical picture of autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy in a Japanese family. *Epilepsia* 2000; 41: 52-58.
 - 10 . Sugawara T, Mazaki-Miyazaki E, Ito M, et al. *Nav1.1* mutations cause febrile seizures associated with afebrile partial seizures. *Neurology* 2001; 57: 703-705.
 - 11 . Sugawara T, Tsurubuchi Y, Agarwala KL, et al. A missense mutation of the Na⁺ channel α II subunit gene *Nav1.2* in a patient with febrile and afebrile seizures causes channel dysfunction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 6384-6389.
 - 12 . Ito M, Nagafuji H, Okazawa H, et al. Autosomal dominant epilepsy with febrile seizures plus with missense mutations of the Na⁺-channel α 1 subunit gene, *SCN 1 A*. *Epilepsy Res* 2002; 48: 15-23.
 - 13 . Matsushima N, Hirose S, Iwata H, et al. Mutation (Ser 284 Leu) of neuronal nicotinic acetylcholine receptor α 4 subunit associated with frontal lobe epilepsy causes faster desensitization of the rat receptor expressed in oocytes. *Epilepsy Res* 2002; 48: 181-186.
 - 14 . Okada M, Zhu G, Hirose S, et al. Age-dependent modulation of hippocampal excitability by KCNQ-channels. *Epilepsy Res* 2003; 53: 81-94.
 - 15 . Fukuma G, Oguni H, Shirasaka Y, et al. Mutations of neuronal voltage-gated Na⁺ channel α 1 subunit gene *SCN 1 A* in core severe myoclonic epilepsy in infancy (SMEI) and in borderline SMEI (SMEB). *Epilepsia* 2004; 45: 140-148.
 - 16 . Ito M, Shirasaka Y, Hirose S, Sugawara T, Yamakawa K. Seizure phenotypes of a family with missense mutations in *SCN 2 A*. *Pediatr Neurol* 2004; 31: 150-152.
 - 17 . Kanai K, Hirose S, Oguni H, et al. Effect of localization of missense mutations in *SCN 1 A* on epilepsy phenotype severity. *Neurology* 2004; 63: 329-334.
 - 18 . Oguni H, Hayashi K, Osawa M, et al. Severe myoclonic epilepsy in infancy: clinical analysis and relation to *SCN 1 A* mutations in a Japanese cohort. *Adv Neurol* 2005; 95: 103-117.
 - 19 . Ito M, Yamakawa K, Sugawara T, Hirose S, Fukuma G, Kaneko S. Phenotypes and genotypes in epilepsy with febrile seizures plus. *Epilepsy Res* 2006; 70 Suppl 1: S 199-205.
 - 20 . Kanaumi T, Hirose S, Goto Y, Naitou E, Mitsudome A. An infant with a mitochondrial A 3243 G mutation demonstrating the MELAS phenotype. *Pediatr Neurol* 2006; 34: 235-238.
 - 21 . Kanaumi T, Takashima S, Iwasaki H, Mitsudome A, Hirose S. Developmental changes in the expression of GABA_A receptor α 1 and γ 2 subunits in human temporal lobe, hippocampus and basal ganglia: an implication for consideration on age-related epilepsy. *Epilepsy Res* 2006; 71: 47-53.
 - 22 . Huang MC, Okada M, Nakatsu F, et al. Mutation screening of *AP 3 M 2* in Japanese epilepsy patients. *Brain Dev* 2007; 29: 462-467.
 - 23 . Okumura A, Kurahashi H, Hirose S, Okawa N, Watanabe K. Focal epilepsy resulting from a de novo *SCN 1 A* mutation. *Neuropediatrics* 2007; 38: 253-256.
 - 24 . Uehara A, Nakamura Y, Shioya T, Hirose S, Yasukochi M, Uehara K. Altered KCNQ 3 potassium channel function caused by the W 309 R pore-helix mutation found in human epilepsy. *J Membr Biol* 2008; 222: 55-63.
 - 25 . Wang JW, Kurahashi H, Ishii A, et al. Microchromosomal deletions involving *SCN 1 A* and adjacent genes in severe myoclonic epilepsy in infancy. *Epilepsia* 2008; 49: 1528-1534.
 - 26 . Zhu G, Okada M, Yoshida S, et al. Rats harboring S 284 L *Chrna 4* mutation show attenuation of synap-

tic and extrasynaptic GABAergic transmission and exhibit the nocturnal frontal lobe epilepsy phenotype. *J Neurosci* 2008; 28: 12465-12476.

- 27 . Ishii A, Fukuma G, Uehara A, et al. A de novo *KCNQ 2* mutation detected in non-familial benign neonatal convulsions. *Brain Dev* 2009; 31: 27-33.
- 28 . Kanai K, Yoshida S, Hirose S, et al. Physicochemical property changes of amino acid residue accompanied with missense mutations in *SCN 1 A* affect the epilepsy phenotype severity. *J Med Genet* 2009.
- 29 . Kumakura A, Ito M, Hata D, et al. Novel de novo splice-site mutation of *SCN 1 A* in a patient with partial epilepsy with febrile seizures plus. *Brain Dev* 2009; 31: 179-182.
- 30 . Sakakibara T, Nakagawa E, Saito Y, et al. Hemiconvulsion-hemiplegia syndrome in a patient with severe myoclonic epilepsy in infancy. *Epilepsia* 2009.
- 31 . Sugiura Y, Nakatsu F, Hiroyasu K, et al. Lack of potassium current in W 309 R mutant *KCNQ 3* channel causing benign familial neonatal convulsions (BFNC). *Epilepsy Res* 2009; 84: 82-85.
- 32 . Kurahashi H, Wang JW, Ishii A, et al. Deletions involving both *KCNQ 2* and *CHRNA 4* present with benign familial neonatal seizures. *Neurology* 2009 in press



そのほか残気量分析装置、血管内皮機能測定装置、生体情報モニター、多用途筋機能評価運動装置、リアルタイムシーケンサーを設置した。

主な研究プロジェクト

身体活動量と生活習慣病に関するコホート研究：身体活動量と疾病の関係に関して日本人のコホート研究が皆無に等しい。また客観的に身体活動量を測定した研究は全くない。そこで生活習慣病を有しない41歳から55歳の男性約1000人を対象にした前向きコホート研究を行う。加速度計で2週間の活動量を測定し4年後まで追跡し、生活習慣病発症に関する身体活動量、有酸素能の意義を明らかにする。

運動適応に関する無作為化比較研究：メタボリックシンドローム、生活習慣病に対する運動、食事制限の無作為化比較による介入研究は国際的にも限られ、また日本人を対象にしたものはごくわずか少数データしかない。本研究では大規模介入する。本研究では運動適応機序を探るためにトレーニング前後の血液と極力骨格筋の採集を行う。基礎研究として動物実験も行う。

生活習慣病の予防と治療、介護予防・抗加齢のための実用的な運動プログラムの開発研究：安全で効果的な運動処方を簡易にできる装置を開発し、それに基づく実用的な運動療法プログラムの検証を行う。

研究成果の一端

本研究所が開設して間もないがメタボリックシンドロームにスポットをあてた研究が進展したのでその結果を紹介する。メタボリックシンドロームは腹部脂肪とりわけ内臓脂肪の蓄積過多でアディポサイトカインの異常分泌を原因とする代謝疾患とされている。数あるアディポネクチンの中でも善玉であるアディポネクチンはインスリンの感受性を高め、動脈硬化を抑制する作用があり、内臓脂肪蓄積によりアディポネクチンの分泌低下が起こることがメタボリックシンドロームの主たる原因と考えられている。しかしわれわれは内臓脂肪ばかりでなく不活動にともなう骨格筋の変性がメタボリックシンドロームの原因の一つと考えていて運動と食事制限、あるいは両併用を比較する研究を進めている。例数は十分ではないが食事、運動、運動+食事併用の3群で介入

し、その効果を比較した予備的研究結果を紹介する。

いずれの群も内臓脂肪が有意に減少し、その減少は体重の変化量と密接な関係があった。一部で期待されているように運動で特異的に内臓脂肪が減るわけではなく、食事制限でも運動でもよく、エネルギー出納バランスを負にすることに尽きることを示唆する研究結果である。

ところで肝心のアディポネクチン濃度は食事群で増加傾向を示したにすぎず、運動群では内臓脂肪が減少したにもかかわらず、逆に有意に低下するという極めて興味深い結果を得た。すでにわれわれは健康人を対象に減量を伴わない運動トレーニングでインスリン感受性が増加するがアディポネクチンは逆に低下すること、またトレーニングを中断するとインスリン感受性がトレーニング前にもどるが、アディポネクチンも増加しトレーニング前値に戻るとの結果を得ている。その先行研究を支持する結果がメタボリックシンドロームの対象者で得られたことになる。現在信じられている内臓脂肪が蓄積し血中アディポネクチン濃度が低下するためインスリン感受性が低下するとの仮説とは全く逆の結果である。運動によりインスリン感受性が高まり、内臓脂肪も減少したにもかかわらず血中アディポネクチン濃度がさらに低下したのである。未知の機序に運動が特異的に改善効果をもたらすものと考えられる。いったいどのような機序であるのだろうか？未知への探検の始まりである。

終りに

現時点では少数例であり、さらに症例を集める必要があるため随時ボランティアを募集している。3ヶ月間は比較研究のため無作為に4群（運動、食事、併用、観察）に分けられるが、その後3～6ヶ月でメタボリックシンドローム脱却を目指す。そのために研究所が一丸となって支援する。すでに50名程終了したが6ヶ月後には平均して10kgの減量に成功している。メタボリックシンドロームの職員の方、ボランティアとして、是非、ご協力いただきたい。