

## 世界経済危機における金融経済と企業経営に関する研究

グローバル・エコノミー・クライシス研究チーム（課題番号：094003）

研究期間：平成21年4月1日～平成24年3月31日

研究代表者：中塚晴雄 研究員：合力知工、永田裕司、藤本三喜男、榎本啓一郎、伊藤豪、山本和人（平成23年4月1日～）

研究期間の三年間にわたる世界経済情勢は、安定にはほど遠く、不安定が連続する期間となった。研究当初の米国発のサブプライム問題が当初予測されたように早期に収束する兆しはなく、さらに研究初年度にアメリカ金融市場と実体経済全体を揺るがし、いまだに米国経済が金融経済と実体経済に完全なる安定性をもたらすことのない、いわゆる「リーマン・ショック」（2008年9月のリーマン・ブラザーズに端を発する）の激震が続いた。その後、BRICs、すなわちアメリカ圏のブラジル、ヨーロッパ圏のロシア、アジア圏のインドと中国にけん引される新興国（エマージェンシー・カントリー）は急成長を遂げた。その結果、研究期間におけるグローバル・エコノミーは、それまでの先進国のみがその成長をけん引するものではなくなっていった。すなわち伝統的な米国とEUと日本を中心とする先進国経済とBRICsなどを中心とする新興国経済が、グローバル・エコノミーの世界経済を実体経済面からも金融経済面からも先進国と新興国の両輪でけん引する新しい経済体制が出来上がったと考えられた。しかし、昨年来から顕在化している「ギリシャ危機」に端を発するEU経済の「ヨーロッパ債務危機」、そして第二次大戦後に長らくわが国の主力産業であった電機産業各社（ソニー、シャープ、NEC、エルピーダ、ルネサンステクノロジーなど）の極度の経営不振、米国経済の停滞状況にあるにもかかわらず大統領選をまじかに控えた現米国政権の経済政策の「レイム・ダック」化、が先進国経済のダイナミクスに停滞感を与えている。他方、新興国も、高度経済成長率が10年から15年近くにもわたり、好景気のゆがみであるインフレーションに見舞われている。インフレによる物価上昇の結果、新興国の高成長も顕在化してきた。2011年度末においても、いまだ「グローバル・エコノミー」を安定化させる新しい世界的な

スキーム（枠組み）は形成されず、むしろ「グローバル・エコノミー」の不安定と停滞から、世界情勢は経済の不安定化から一歩進んで国際政治の不安定性にまで踏み込んだ観すらある。以上のような研究期間における世界情勢の変遷踏まえて、各研究員は各自のテーマについて研究を進めてきた。

永田委員は、サブプライム金融危機やリーマンショックが、1990年代の日本のバブル崩壊と比較して、その規模が格段に大きく、また従来の金融危機には見られない新たな特徴を持っている点に着目し、証券化やデリバティブなどにどのような変化を及ぼしてきたのかを、従来の研究視座である「機関投資家」の立場から分析を進めた。その結果、米国による金融の規制緩和、グローバル・エコノミーの先進国と新興国の二極化の進展、そしてIT革命のグローバル化とスピード化およびソーシャル化が、グローバル・エコノミーにおける金融市場や金融取引を大きく変貌させていることを明らかにしてきた。その問題意識のもと、グローバル・エコノミー下での金融規制監督の新しい枠組みや金融政策と財政政策との関係についても、明らかにしてきている。

合力研究委員は、グローバル・エコノミーの実体経済を対象に、そのダイナミクスの担い手である「企業経営」に焦点を当てて研究を進めてきた。グローバル・マネジメントを世界経済で展開するにあたって、GRIガイドラインに添ったサステナビリティ・レポートが大きな意味を持っている点に着目し、そのレポートをもとに、投資家や消費者は、企業を選別するために、高めるように努力する点、つまりコーポレート・レピュテーション（企業評価）と呼ばれるが、それが企業経営のグローバル・マネジメントの鍵であることを明らかにした。その研究を受けて、コーポレート・レピュテーション（企業評価）で変化した企業経営が、先進国と新興国との二極化

で不安定化するグローバル・エコノミーにおいてどのような影響を与えたのか、逆にレピュテーション・リスクをできるだけ少なくし、企業のレピュテーション資産をグローバル・エコノミー下で最大限に伸ばすためにはどのような企業経営が考えられるのか、この点について従来企業経営で言われてきた「CSR」(企業の社会的責任)のコンテキストと関連づけて、コーポレート・レピュテーションの果たしてきた役割について研究した。

榎本研究委員は、グローバル・エコノミーの原動力は、先進国経済と新興国経済の両輪立てであり、なかでも新興国経済は、資源を消費する消費国と資源を有する資源国とのあいだで、この三年間の成長と安定の度合に顕著な差があることについて研究した。すなわち、資源国の新興国は、その持てる資源を有効に活用しながら経済を拡大させてきた。その観点から、中東とロシアの原油高がグローバル・エコノミーにどのような影響を与えてきたのか、商社時代に培ったネットワークでの調査をもとに現状分析を進めてきた。この原油高は、新興国にインフレを招き、他方先進国では原料としてではなく原油を先物商品として投機マネーの流入を招いた。この問題についてさらに研究を進め、原油高の問題を、商品市場全般に拡大し、シカゴ商品市場を対象に加えて、商品市場(コモデティ投資)の実体について研究した。

藤本研究委員は、リスク分散の掛け声とは裏腹に、サブプライム問題とリーマンショックおよび欧州債務危機を引き起こし、グローバル・エコノミーの不安定化を招き、リスク拡大を促したIT革命以降の金融技術の進展について研究を進めた。その内実にある金融数学モデルに着目し、その内在する不安定な要素について考察を進めた。さらに、金融経済の対岸にある実体経済に目を向け、企業経営の極度な株価重視策がコーポレートガバナンスの内実をむしばみ、グローバル・エコノミーに影響をもたらしたことについて研究をした。

中塚研究委員は、グローバル・エコノミーの先進国と新興国による二極化は、1920年代から1930年代にかけての戦間期の世界経済、すなわち当時の先進国である英国を中心としたポンド経済と新興国である米国のドル経済に類似した構造を持つとの仮説が

ら、英国のマーチャントバンクと米国の投資銀行、その活躍したロンドン金融市場とニューヨーク金融市場の構造分析と現在のグローバル・エコノミーの研究を進めた。その研究を踏まえて、不安定化する現在の世界経済の原因の一つとして、米国の投資銀行や日本のメガバンクや証券会社、および新興国特に中国のM&A(企業の買収・合併)を1960年代にさかのぼり、M&Aの金融実務がどのように発展していったのかという観点から研究を進めた。



## 水分子のダイナミクスから見た タンパク質の機能発現機構に関する研究

水のダイナミクスと蛋白質の機能チーム（課題番号：095004）

研究期間：平成21年4月1日～平成24年3月31日

研究代表者：山口敏男 研究員：吉田亨次

### 【研究目的】

タンパク質の一種であるリゾチームは乾燥状態では機能を示さないが、リゾチーム1gに対し約0.4g以上の水を吸着させると酵素活性を発現する。すなわち、生体分子の機能発現には水が不可欠で、物質レベルでの生命現象の解明には水分子と生体分子の微視的な相互作用が重要である。

本研究では、タンパク質近傍の水ならびにタンパク質自身のダイナミクスを明らかにする。また、タンパク質のモデル物質として、細孔界面の疎水性親水性を併せ持つ有機無機ハイブリッドメソ多孔性物質や生体に近いバイオゲルもタンパク質同様に研究対象とする。水を吸着させたタンパク質、およびモデル物質について、室温から過冷却温度まで、非弾性中性子散乱（スピンエコー法および飛行時間法）および非弾性X線散乱によりダイナミクスを測定する。これら複数の測定手法は観測される空間スケール（数から数十）と時間スケール（ピコ秒からナノ秒）が大きく異なっており、これらの手法から得られた結果を組み合わせることにより、タンパク質を構成する原子や水分子のダイナミクスのモードを詳細に分離して議論することが可能になる。

### 【研究成果】

#### 有機無機ハイブリッドメソ多孔性物質中に閉じ込められた水の構造とダイナミクス

フェニル基（Ph基）をシリカマトリクス中に取り込んだ有機無機ハイブリッドメソ多孔性材料Ph-PMO中に吸着した水のダイナミクスと構造を中性子準弾性散乱とX線回折測定により明らかにした。細孔比表面積は $735\text{m}^2/\text{g}$ 、細孔体積 $0.54\text{cm}^3/\text{g}$ 、細孔径30Åである。中性子準弾性散乱データから、細孔中の水分子の並進拡散係数、平均滞在時間、緩

和時間のArrheniusプロットにより、活性化エネルギーを求めた。これらをバルク水、MCM 41 C14シリカ中の水の値と比較検討した。細孔に閉じ込められた水はバルク水に比べ、小さなエネルギーで拡散し、疎水性界面の割合が増すほど拡散係数と滞在時間の活性化エネルギーが小さいことが明らかとなった。Ph-PMO細孔中に閉じ込められた水のX線動径分布関数をバルク水、MCM 41 C14中の水と比較検討した。細孔中では水の四面体構造が歪んでいること、MCM 41 C14中に比べ、Ph-PMO中に閉じ込められた水は四面体構造の歪みが大きいことが明らかとなった。

#### バイオゲル Sephadex G - 15中に閉じ込められた水の構造とダイナミクス

柔軟性界面をもち、生体膜に近いデキストラン高分子ゲル Sephadex G 15中に閉じ込めた水の示差走査熱量測定により、水和率（乾燥ゲル1g当たりの吸着水の質量g）0.3以下では、細孔水が過冷却状態をとることが明らかになった。X線回折測定から、制限空間やゲル界面との相互作用により、バルクに比べてG15ゲル細孔水の水素結合構造は大きく歪んでいる。低温になるにつれて、第一近傍のO-O原子間距離は短くなり、細孔水の水素結合性が高まった。中性子スピンエコー測定から、低温になるにつれて中間散乱関数の緩和が小さくなり、細孔水の運動性が低下した。320Kでの細孔水の自己拡散係数はバルクよりも30倍遅くなることが明らかになった。320Kより低温では緩和時間に対する $Q$ 依存性はなく、緩和時間の温度依存性からは、非アレニウス型のfragile液体の挙動が見られた。

## X線非弾性散乱測定による水和タンパク質の集団ダイナミクス

水を吸着させた  $\beta$ -lactoglobulin ( $\beta$ -LG) 粉末 (水和率0.5) および  $\beta$ -LG 水溶液の高分解能 X線非弾性散乱測定を室温で行い、集団ダイナミクスを観測した。比較のために乾燥  $\beta$ -LG 粉末についても同様の測定を行った。静的構造因子  $S(Q)$  で規格化した動的構造因子  $S(Q, \omega)$  を Damped Harmonic Oscillator (DHO) モデルで解析した。水吸着の試料、水溶液の試料ともに、DHO 励起エネルギーと  $Q$  の分散関係から動的音速が  $2900 \text{ ms}^{-1}$  と見積もられた。この値がバルクの水の値 (約  $3000 \text{ ms}^{-1}$ ) に近いことと、水和率を変化させても動的音速が変化しないことから、タンパク質の集団ダイナミクスが水の集団ダイナミクスと非常に似ていることが示された。一方、乾燥  $\beta$ -LG 粉末では、そのような集団ダイナミクスのモードが見られないことから、水和によりタンパク質のダイナミクスが大きく変化していることが示唆された。また、DHO 緩和因子は  $Q$  の二乗に比例し、バルク水の場合 ( $Q$  に比例する) と異なっている。タンパク質周りの水和水がバルク水のような三次元ネットワーク構造を形成していないことがダイナミクスの観点から示された。

## $\beta$ ラクトグロブリンの会合状態に対するアルコールの添加効果

$\beta$  ラクトグロブリン ( $\beta$ -LG) は、熱・圧力・アルコール添加により変性し、ゲル化することが知られている。 $\beta$ -LG の構造とダイナミクスに対するアルコール濃度依存性を粘度測定、中性子小角散乱 (SANS)、中性子スピンエコー (NSE)、中性子準弾性散乱 (QENS)、動的散乱 (DLS) によって明らかにした。pH = 2 では、アルコール添加後、数分以内に透明もしくは半透明のゲルが形成された。SANS データの解析から、エタノール濃度が20体積%までは  $\beta$ -LG は二量体で存在しているが、ゲル化が生じる30体積%を超えると拡散律速クラスター間凝集モデルで表わされることが示された。このエタノール組成は、円二色性スペクトルから調べられたアルコール-水混合溶媒中で  $\beta$ -LG の二次構造が  $\alpha$  ヘリックスを多く含んだ構造に変化する組成と一致した。DLS 測定によると、熱変性によるゲル化

と同様にゲル化点では散乱強度の急激な増大 (非エルゴード成分の出現) が顕著に見られ、熱揺らぎ (動的揺らぎ) と、構造の不均一性に伴う静的揺らぎが生じていることがわかった。時分割 DLS 測定から、アルコール変性ゲルのゲル化時間は  $\beta$ -LG の濃度、アルコールの疎水基の大きさ (=ヘリックス構造の安定化効果の大きさ) および、アルコール濃度に大きく影響を受けることが示された。熱変性ゲルに比べて、ほとんどのアルコール変性ゲルは短時間で低い  $\beta$ -LG 濃度で形成されることが明らかになった。NSE ならびに QENS 測定では、 $\beta$ -LG の会合やゲル化が生じるよりも低いアルコール濃度でも、 $\beta$ -LG の原子運動は遅くなっていることが見出された。

## 【研究業績】

1. S. Kittaka, K. Sou, T. Yamaguchi, K. Tozaki, Thermodynamic and FTIR studies of supercooled water confined to exterior and interior of mesoporous MCM-41, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **11**, 8538-8545 (2009).
2. K. Yoshida, S. Hosokawa, A.Q. Baron, T. Yamaguchi, Collective dynamics of hydrated  $\beta$ -lactoglobulin by inelastic X-ray scattering, *J. Chem. Phys.*, **133**, 134501 (2010).
3. K. Yoshida, T. Yamaguchi, N. Osaka, H. Endo, M. Shibayama, A study of alcohol-induced gelation of  $\beta$ -lactoglobulin with small-angle neutron scattering, neutron spin echo, and dynamic light scattering measurements, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **12**, 3260-3269 (2010).
4. S. Kittaka, Y. Ueda, F. Fujisaki, T. Iiyama, T. Yamaguchi, Mechanism of freezing of water in contact with mesoporous silicas MCM-41, SBA-15 and SBA-16: role of boundary water of pore outlets in freezing, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **13**, 17222-17233 (2011).
5. 山口敏男, 吉田亨次, 伊藤華苗, 橘高茂治, 高原周一, メソポーラス物質 MCM 41中に閉じ込めた低温水の熱挙動, 構造とダイナミクス, 分析化学, 60(2), 115 - 130 (2011).

他15報

## ヒューマンコミュニケーションにおける話者の対話参加 態度の自動的な判別に関する研究

ヒューマンコミュニケーション研究チーム（課題番号：095009）

研究期間：平成21年4月1日～平成24年3月31日

研究代表者：森元 逞 研究員：鶴田直之、高橋伸弥、前田佐嘉志

### 【研究背景】

音声は、将来のコンピュータと人間とのコミュニケーション手段として、極めて有用な手段になるものと考えられる。なぜなら、特別な訓練をすることなく誰でもが使用でき、自然であり、また両手が塞がっていても利用ができる、などの利点があるためである。しかし現状の音声認識システムでは、発話された単語列（言語情報）を取り出すことに主眼がおかれ、言語外の情報、例えば、話者の感情や、対話に対する話者の関心の強さなどの抽出・判別に関する研究はまだ初歩的な段階にある。このうち、話者の対話に対する参加態度を判断することは、システムが次にどのような応答を返すべきかを決定するために極めて重要である（例えば、相手が聞いていないようであれば応答を大きな声で繰り返す、相手があまり関心がないようであれば、次の話題に移る、など）。

そこで本研究では、より自然な発話文を認識するためのアルゴリズムを検討するとともに、言語情報以外にも、音調（声の強さ（パワー）や声の韻律（語尾下げ、語尾上げ）、顔や瞳の向き、などの複数の情報を総合的に利用して、話者の対話への参加態度（中立・関心あり・関心なし、肯定・否定・疑問、など）を自動的に判断するためのアルゴリズムについて検討を行った。

### 【研究成果】

#### 1．言語モデルの動的サーチによる音声認識

音声認識システムは、認識対象となる単語の接続情報を定義した言語モデルを用いて入力音声と最も一致する単語列を計算する。近年広く利用されている大規模連続音声認識においては、この言語モデルとして、2単語もしくは3単語の接続確率を大規模

コーパスから学習した統計的言語モデルが利用されることが多いが、長い単位での接続は考慮されていないため、十分な認識精度を得ることが難しい。この問題に対し、例文パターン内の単語接続情報をグラフ表現した有限オートマトン（FSA）言語モデルが用いられている。このFSA言語モデルは小～中規模の例文から自動的に作成することができるが、学習コーパス内に出現しない単語接続は認識できないという問題があった。そこで、認識が失敗した場合には、認識候補とは別の経路内に存在する適切な認識再開ポイントを求めて、そのポイントから認識を続行し、最終的に得られた部分認識結果をつなぎ合わせて、全体の認識結果とする手法を検討した。実験の結果、従来法では認識不可能であった学習コーパス外の入力文に対して、認識率を25.1%向上することが示された。

#### 2．Web文書の統計情報に基づく連語 Ngram 言語モデルの検討

より自然な発話文の認識精度を向上することを目的として、長単位での単語接続情報を音声認識アルゴリズムに組み込むことを検討した。具体的には、Web文書の統計情報を用いて2～7単語からなる高頻度形態素連鎖語（連語）の出現頻度確率を求めたのち、高頻度のものは形態素に切らずにそのまま辞書に登録し、それらの接続確率を用いて音声認識を行った。比較的自然的な発話が多く含まれているテレビ音声（約30分）に対して、音声認識実験を行ったところ、連語を用いない既存の言語モデルを用いた場合と比べ、単語正解率を約30%改善することができた。

### 3. 自由発話の認識

従来の音声認識では文法的に正しい文のみを対象としているため、「あのー」「えーと」などの不要語が含まれた自由発話の認識が難しいという問題点がある。そこで、まずはこれらの不要語を言語モデル上で静的に定義しておき、この言語モデルを用いて認識する方法について検討した。旅行用会話例文1000文に不要語を人手で追加した学習コーパスからFSA言語モデルを作成し、これを用いて100文の音声認識実験を行ったところ、不要語を除いた元の文認識率が67.0%、単語正解率が89.7%となった。

次に、CRFと呼ばれる確率的アプローチを用いて、不要語を含んだ学習コーパスから不要語の出現位置を学習し、不要語の予測を行う手法について検討した。実験の結果、学習コーパスと類似したドメインではある程度正しく予測できるものの、異なるドメインにおいては著しく予測性能が低下することが判明した。

### 4. 韻律情報を利用した発話意図の判別

従来の音声認識では言語情報のみを扱うため、認識結果の字面だけでは疑問文なのか肯定文なのかの判断がつかない。そこで、発話音声から抽出した韻律情報から語尾の上がり下がり判定し、疑問文か肯定文かを判断する手法について検討した。まず韻律情報を示す基本周波数(ピッチ)を発話文末から抽出し、最小二乗法によって線形近似する手法を試みたところ、1本の近似直線では十分な精度が得られないことが分かった。そこで次に、ハフ変換を用いた、複数の直線によって近似する手法を試みた。被験者3名、計180サンプルに対する実験の結果、肯定文および疑問文の判別成功率はそれぞれ86.7%、72.2%となり、これまでの手法よりも大幅に改善することができた。

### 5. 顔画像処理を組み込んだ音声対話システムの構築

#### 5.1 話者の注視方向の検出

顔のうち、目、鼻、唇などの特徴点を求め、これらの特徴点の空間的な位置関係から、顔の向きを判断し、さらに目の中の瞳の位置から、話者の注視方向を抽出する手法について検討した。OpenCVの

Haar-like特徴を用いて顔検出を行った結果、顔方向推定精度は約8割となった。

#### 5.2 顔画像処理によるユーザの状態推定

- 音声対話システムに顔画像検出処理を組み込み、
- 1) ユーザがシステムの視野に入りシステムの方を向いた場合、もしくは席を立ち視野から外れた場合に挨拶をする。
  - 2) ユーザが横を向いていたら呼びかけるといった機能を実現した。

#### 5.3 複数話者の発話検出

複数の話者が対話システムを利用するようなケースでは、どの話者が誰に対して話しているのかが問題となる。そこで画像処理を用いて話者の注視方向を検出したのち、唇の動き情報と音声入力の有無を組み合わせ、話者がシステムに対して話しているのか他の参加者に対して話しかけているのかを判別することを試みた。全18発話(約4000フレーム)の音声対話映像に対する実験の結果、全ての発話で発話対象を正しく推定することができた。

#### 【研究業績】

- 1) 高橋伸弥, 森元暉: 字幕文字列自動対応付けのための連語 Ngram 音声認識に関する検討, 第10回情報科学技術フォーラム講演論文集, 2011年9月.
- 2) 高橋伸弥, 森元暉: Web 文書の統計情報に基づく連語 Ngram 音声認識に関する検討, 電気関係学会九州支部連合大会講演論文集, 2011年9月.
- 3) S. Takahashi, T. Morimoto: Development of Small-size and Low-priced Speaker Detection Device Using Micro-controller with DSP Functions, Proc. of The Int. Multi-Conf. of Engineers and Computer Scientists, pp.259-263, 2011年3月.
- 4) T. Morimoto, S. Takahashi: Speech Recognizer with Dynamic Alternative Path Search and Its Performance Evaluation, Intelligent Automation and Computer Engineering (Lecture Notes in Elec. Eng., Vol.52), Springer, pp.361-371, 2010年4月.

## 昆虫の社会行動に関わる脳機能の解析

昆虫微小脳研究チーム（課題番号：096001）

研究期間：平成21年4月1日～平成24年3月31日

研究代表者：藍 浩之 研究員：横張文男、伊東綱男、西川道子

昆虫微小脳研究チームは、昆虫の社会行動に関わる脳機能を明らかにすることを目的に、神経解剖学的、神経生理学的、行動学的な解析を進め、以下の成果を得ることができた。

### 1. 社会性昆虫クロオオアリにおける嗅覚処理系

クロオオアリの働きアリは、巣仲間と非巣仲間を区別することができる。巣によってその巣に所属するアリの体表炭化水素の組成が異なり、その体表炭化水素を触角にある錐状感覚子で受容する。働きアリの触角の感覚子の分布および各感覚子の受容ニューロン数を網羅的に調べた結果、おおまかに感覚子は7種類に分類することができた。そのうち錐状感覚子は働きアリと女王アリの遺伝的雌アリにしかなく、雄アリには分布しなかった。この感覚子の構造はかなり特異的で、感覚子先端付近の背面にのみ嗅孔が分布し、他の部分には分布しない。内部構造を調べると1本の感覚子に150本程度の受容ニューロンがあるが、それらの受容ニューロンの感覚繊毛（樹状突起外節部）のうち感覚子先端付近まで伸びているものはわずかだった。一方、体表炭化水素は常温では不揮発性であるために、この感覚子の応答特性はこれらの炭化水素をガラス管に入れて接触させて調べた生理学的実験で明らかになったものである。行動実験においてもアリ同士が触角で互いに触れることで巣仲間と非巣仲間を区別しており、基本的には行動実験の結果と生理学的実験の結果はよく符合している。しかしながら、働きアリが非巣仲間のアリに触れずに攻撃行動を開始することも観察されており、非揮発性物質だけではなく揮発性物質も巣仲間と非巣仲間の区別に関与していることが示唆されている。今後の研究課題の1つである。

またクロオオアリ脳では、触角感覚細胞軸索が投射する嗅覚一次中枢の触角葉において、メスのおよ

そ480の系球体は7グループに、オスのおよそ280の系球体は6グループに分けられる。メス特有の錐状感覚子からの感覚細胞軸索が投射するT6系球体グループは130以上の系球体からなり、オスには存在しない。触角葉の局所介在ニューロンは触角葉内の系球体にのみ神経突起を伸ばし、系球体での応答調節、匂いのコーディングに寄与する。クロオオアリ働きアリの触角葉系球体は、局所介在ニューロンによって2つのカテゴリーに分けられる。1つは体表炭化水素受容に関わるT6系球体グループ、もう1つはそれ以外のグループの系球体である。それぞれのカテゴリーの局所介在ニューロンはお互いに独立し、同じ系球体に重複して分枝を持つことはない。すなわち、2つのカテゴリーの系球体における感覚情報は独立に処理されることが示唆される。触角葉で処理された嗅覚情報を高次中枢である前大脳へ運ぶ投射ニューロンも大きく2つのタイプに分けられる。先に述べた2つのカテゴリーの系球体にそれぞれ樹状突起をもつ単一系球体投射ニューロンの軸索は、キノコ体傘部と側角でも明確に分離した終末領域を持つ。T6系球体からの単一系球体投射ニューロンの軸索は内側触角脳神経路を經由して、キノコ体傘部の嗅覚情報の入力部位である唇部の外側と側角の腹側後方に終末する。一方、T6以外の系球体からの単一系球体投射ニューロン軸索は内側および外側触角脳神経路を經由して側角の腹側前方とキノコ体傘部の唇部内側に終末する。すなわちT6系球体とそれ以外の系球体からの情報は、嗅覚二次中枢のキノコ体傘部と側角でも独立して処理されることが示唆される。

以上の結果から、クロオオアリにおけるメス特異的な触角錐状感覚子からの情報は、コロニー維持という社会性昆虫特有の職役に関わると考えられ、その情報処理系は他の嗅覚情報とは独立して存在する

ことが明らかになった。

## 2. 社会性昆虫ミツバチの学習した匂いにより誘発される歩行パターンの解析

セイヨウミツバチ (*Apis mellifera*) は、採餌や巣内コミュニケーションを通じて、花の匂いを学習する。本研究では、匂い学習がミツバチの匂い刺激によって誘発される歩行様式にどのような変化をもたらすのかを調べた。まず屋外で特定の匂いに誘引した個体が、歩行によってその匂い源に到達できるのかを調べるため、Y字迷路内での行動観察を行った。その結果、88%の個体が屋外で誘引された匂いと同一匂いを入れた給餌器に歩行により到達できることが分かった。さらに吻伸展反応を用いた古典的弁別条件付けが成立した個体の、匂い刺激により誘発される歩行を、トラックボールを用いた歩行記録装置で記録し、その特徴を調べた。その結果、報酬組み合わせ匂い条件刺激 (CS+) により、匂い刺激を受けた場所を局所的に歩行する個体が顕著に見られ、一方報酬非組み合わせ匂い条件刺激 (CS-) により、匂いを受けた場所とは無関係に広い範囲を歩行する個体が顕著に見られた。CS+ により誘発される歩行の範囲は、CS- により誘発される歩行の範囲に比べ有意に狭いことが分かった。弁別条件付けには4種の植物由来の匂いを様々な組み合わせで用いたが、いずれの組み合わせでも上記歩行範囲の違いは生じた。さらに、CS+ により誘発された歩行の前進距離は、CS- により誘発された歩行の前進距離よりも有意に小さい。これらの歩行の体軸変化と左右移動距離の解析から、CS+ により体軸を左右交互に180°以下で切り換えながら左右移動を伴うパターンが顕著に誘発されることが分かった。この歩行パターンをジグザグ歩行と呼ぶ。一方CS- ではジグザグ歩行に加え、体軸を左右いずれかの方向へ180°以上回転するとともに、体軸と同じ方向に移動するループや、左右移動は伴わず左右いずれかの方向へ180°以上回転するローテーションが顕著に誘発されることが分かった。CS- により上記の様々な動きのパターンが不規則に生じることから、これをランダム歩行と呼ぶ。CS+ とCS- によるジグザグ歩行出現率を調べた結果、本研究で用いたすべての匂い組み合わせで、CS+ によるジグザグ歩

行出現率がCS- によるそれよりも高いことが分かった。これらの結果は、報酬と関連づけられた匂いがジグザグ歩行の誘発を促進することを示唆している。さらに、尻振りダンスの際に生じる振動がこれらのジグザグ歩行に影響を与えることが行動実験でわかりつつあり、さらに検証を行っている。

## 3. ミツバチコロニーにおける働きバチパイピングの発信解析

観察巣箱コロニーで記録されたパイピングの発信周波数は196~532Hzで、シグナル長(発信持続時間)は0.02~3.87秒であった。シグナル長については、既報の最長値である2.2秒を大きく上回るものが記録された。シグナル長が300ms以下のほとんどの場合、発信開始とともに最大約60Hzの下向きの周波数変調が見られ、発信時に任意の個体への頭突き様の動きを伴う。シグナル長がそれ以上になると、変調がほとんど見られない例や、開始後に最大約80Hzの上向きの変調を伴う例、また発信開始直後の最大約60Hzの下向きの変調の後、再び同程度の上向き変調を伴う例が見られた。これらの場合、特定の個体への突進は見られず、周囲の複数個体に対して発信されている。シグナル長による発信対象の違いから、コロニーに及ぼす影響も異なることが示唆される。コロニー全体でのパイピング発信数の経時推移を見ると、午後1時~2時の間に発信ピークを迎えた後、活動終期に向け漸減する。これを発信持続時間の長短区分別に見ると、500msec以下のパイピングは終日発信されているのに対して、2秒以上のパイピングは午後0時~1時の間に主に発信されており、それぞれ異なる発信要因をもつ可能性がある。標識外勤個体の終日個別追跡によると、採餌個体では、中盤の帰巣区間での発信(4個体)や最終の採餌からの帰巣後の発信(2個体)が見られ、非採餌個体では、活動終盤の複数の区間での発信(1個体)や終日にわたる震身を伴う発信(1個体)が見られ、同一気象条件下でも、個体の違いや個体の活動状況によって発信パターンが異なることが分かった。一方、コロニーでのパイピングシグナルの受信個体の行動追跡や抽出個体に対する振動刺激の影響の検証でも、特定の行動型の発現は確認できなかった。パイピングに対する受信者側の変化につい



ては、今後、非特異的な生理状態の遅延的な変化も含めた検証が必要である。

#### 4 . ワモンゴキブリ触角葉の糸球体構成

ワモンゴキブリの触角葉の構成については、かなり前から研究をしてきたが、ようやく触角葉糸球体構成が明確にすることができた。触角葉は雌雄とも約205個の糸球体から構成されていた。雄では大糸球体複合体があるが、雌にも小型ながらこれに対応する糸球体があった。触角には2本の触角神経があるが、これらの触角神経は触角葉に入る際に10本の触角神経束に別れ、それぞれの神経束に含まれる軸索が投射する糸球体が異なるため、これに基づいて糸球体を10個の糸球体群にわけることができた。この成果は、各感覚子の糸球体への投射様式を調べる際の形態学的基盤になるもので、今後の研究において標準脳を構築し、触角感覚子それぞれに含まれる受容ニューロンの投射マップを作成することを計画している。

#### 論文発表 (査読有)

- 1 . Watanabe, H., Haupt, S., Nishino, H., Nishikawa, M., and Yokohari, F. (2012). Sensillum-specific, topographic projection patterns of olfactory receptor neurons in the antennal lobe of the cockroach *Periplaneta americana*. *J. Comp. Neurol.* 520(8):1687-1701
- 2 . Nishikawa, M., Watanabe, H., and Yokohari, F. (2012). Higher brain centers for social tasks in worker ants, *Camponotus japonicus*. *J. Comp. Neurol.* 520:1584-1598
- 3 . Sakurai, T., Mitsuno, H., Haupt, S.S., Uchino, K., Yokohari, F., et al. (2011). A Single Sex Pheromone Receptor Determines Chemical Response Specificity of Sexual Behavior in the Silkworm *Bombyx mori*. *PLoS Genet* 7(6):e 1002115. doi:10.1371/journal.pgen.1002115.
- 4 . Watanabe, H., Nishino, H., Nishikawa, M., Mizunami, M., and Yokohari, F. (2010). Complete mapping of glomeruli based on sensory nerve branching pattern in the primary olfactory center of the cockroach *Periplaneta americana*. *J. Comp. Neurol.* 518:3907-3930.
- 5 . Nakanishi, A., Nishino, H., Watanabe, H., Yokohari, F., and Nishikawa, M.(2010). Sex-specific antennal sensory system in the ant *Camponotus japonicus*: glomerular organizations of antennal lobes. *J. Comp. Neurol.* 518:2186-2201.
- 6 . Yanagawa, A., Yoshimura, T., Yanagawa, T., Yokohari, F.(2010). Detection of a humidity difference by antennae in the termite *Coptoermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae) *Sociobiology*, 56/1, 255-269.
- 7 . Nakanishi, A., Nishino, H., Watanabe, H., Yokohari, F., and Nishikawa, M.(2009). Sex-specific antennal sensory system in the ant *Camponotus japonicus*: structure and distribution of sensilla on the flagellum. *Cell Tissue Res.* 338:79-97.
- 8 . Nishino, H., Nishikawa, M., Mizunami, M., and Yokohari, F. (2009). Functional and topographic segregation of glomeruli revealed by local staining of antennal sensory neurons in the honeybee *Apis mellifera*. *J. Comp. Neurol.* 515:161-180
- 9 . Wada-Katsumata, A., Ozaki, M., Yokohari, F., Nishikawa, M., and Nishida, R.(2009). Behavioral and electrophysiological studies on the sexually biased synergism between oligosaccharides and phospholipids in gustatory perception of nuptial secretion by the German cockroach. *J. Insect Physiol.* 55: 742-750
- 10 . Yanagawa, A., Shimizu, S., Noma, K., Nishikawa, M., Ogino, K., and Yokohari, F.(2009). Classification and distribution of antennal sensilla of the termite *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Sociobiol.*54:327-349
- 11 . M Sumiوشي, S Sato, Y Takeda, K Sumida, K, Koga, T Itoh., H Nakagawa, Y Shimohigashi, M Shimohigashi,(2011). A Circadian Neuropeptide PDF in the Honeybee, *Apis mellifera*: cDNA Cloning and Expression of mRNA. *Zool. Sci.* 28(12):897-909.
- 12 . Ai, H. and Itoh, T.(2011) The Auditory System of the Honeybee. In “*Honeybee Neurobiology and Behaviors*. (Eds.: Eisenhardt, D., Galizia, C. G. and Giurfa, M.)” Chapter 4.3,2<sup>nd</sup> ed. Springer Verlag. Berlin Heidelberg. Germany.

- 13 . Ai, H.(2010): Vibration processing interneurons in the honeybee brain. *Frontiers Sys. Neurosci.*,3,19, doi:10.3389/neuro.06.019.2009.
- 14 . Ai. H., Yoshida, A. and Yokohari, F.(2010): Vibration receptive sensilla on the wing margins of the silkworm moth *Bombyx mori*. *J. Insect Physiol.*, 56, 236-246
- 15 . Ai, H., Rybak, J., Menzel, R. and Itoh, T.(2009): Response characteristics of vibration-sensitive interneurons related to Johnston's organ in the Honeybee, *Apis mellifera*. *J. Comp. Neurol.* 515:145-160.
- 16 . 藍浩之( 2011 ) : 昆虫は振動をどのように利用しているのか? 日本神経回路学会誌 18巻 No 273 - 84
- 17 . 藍浩之( 2009 ): 通信 会話はボディランゲージで 動物の多様な生き方 共立出版 pp 201 - 221
- 18 . 藍浩之( 2009 ) : ミツバチの聴覚器官と一次聴神経感覚野の構造 . 分子昆虫学 ポストゲノムの昆虫研究 共立出版 pp 219 - 224



## HB-EGF 発現制御機構に関する研究

癌治療における標的分子探索研究チーム（課題番号：096004）

研究期間：平成21年4月1日～平成24年3月31日

研究代表者：四元房典 研究員：堀内新司（平成21年4月1日～平成23年3月31日）、城田京子（平成23年4月1日～平成24年3月31日）

### 【研究成果】

1) 背景と目的：申請者らは癌増殖に中心的な役割を果たしている上皮性増殖因子の一つである Heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor (HB-EGF) が特異的に高発現し、その発現を抑制することが種々の悪性腫瘍においてより有効な治療になることを明らかにしてきた。平成16年より文部科学省がんトランスレーショナル・リサーチ事業の業務委託を受け、卵巣癌においてHB-EGFの特異的抑制剤である CRM197の医師主導治験を進め、平成19年12月より「治癒不能な進行・再発卵巣癌を対象としたBK-UM (CRM197) の臨床試験」を本邦初の医師主導型治験として開始し、現時点では第I相臨床試験まで終了しており、CRM197は期待どおりの抗癌効果を示している。しかしながら、HB-EGFの発現が特異的に亢進してくる分子機構は解明されていない。そこで本研究では、卵巣癌同様HB-EGFとの関連の強い乳癌に着目し、HB-EGF発現に関与する因子を同定しその分子機構の解明とともに新規癌標的分子を探索することが目的である。

### 1) 成果：

#### (1) HB-EGF 発現に関連する遺伝子群のスクリーニング

まず、特定の細胞機能に関連する遺伝子を網羅的にスクリーニングする方法として注目されている short hairpin RNA (shRNA) 発現ライブラリーを用いた。HB-EGF 高発現乳癌細胞株である MDA-MB-231、Hs578T に shRNA 発現ライブラリーを導入し、CRM197を細胞上清に加えた後の生存細胞から RNA を抽出し、shRNA 特異的配列を増幅させた後、Affymetrix 社の Gene Chip を用いて解析を行った。

次に HB-EGF 低発現乳癌細胞株である HCC1937、BT20に HB-EGF を発現亢進させる HER 2 を遺伝子導入し、遺伝子未導入群との比較で通常の DNA 発現マイクロアレイ発現解析を行った。

及び の条件で共通に抽出された127遺伝子について MDA-MB-231、Hs578T、HCC1937、BT20 を用いて mRNA の発現量を Real-Time PCR 法で確認したところ、HCC1937、BT20と比較して MDA-MB-231、Hs578T において2倍以上発現が亢進している115遺伝子を同定した。

#### (2) ヒト乳癌における HB-EGF 発現に関連する遺伝子の同定

HB-EGF の発現が高いヒト乳癌組織30例と低いヒト乳癌組織17例を用いて前述の115遺伝子の発現量を解析したところ、HB-EGF の発現量と相関する遺伝子として複数の血管新生因子が同定された。

MDA-MB-231、Hs578T 細胞を用いて siRNA 法による HB-EGF、遺伝子 X 及び Y、そして他の血管新生関連因子の発現量を抑制したときに mRNA の発現変化量を解析すると、HB-EGF の発現を抑制した場合、遺伝子 X 及び Y の発現が低下するが、遺伝子 X 及び Y の発現を抑制した場合、HB-EGF の発現量に変化は認めなかった。また、他の血管新生関連因子は HB-EGF の発現量に変化を与えなかった。

#### (3) HB-EGF が発現制御する血管新生因子の標的分子としての妥当性

HB-EGF、遺伝子 X 及び Y の発現が恒常的に抑制された MDA-MB-231、Hs578T 細胞を作製し、*in vivo* での造腫瘍能抑制効果を検討したところ、コ

ントロールの細胞と比較して遺伝子 X 及び Y の発現が抑制された細胞では造腫瘍能は抑制された。さらに、遺伝子 X 及び Y と比較して HB-EGF の発現を抑制した細胞では造腫瘍能は抑制された。ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を用いて HB-EGF、遺伝子 X 及び Y のリコンビナントタンパクによる管腔形成能、増殖能、血管透過性を評価すると、コントロールの細胞と比較して HB-EGF、遺伝子 X 及び Y はいずれも亢進した。リコンビナントタンパクの濃度を10分の1量にすると HB-EGF のみ亢進を認めた。

以上の結果より HB-EGF は乳癌において造腫瘍性に関与するとともに乳癌の悪性度に関与する血管新生においても複数の血管新生因子の発現を制御することが明らかとなった。さらに HB-EGF が発現を制御する血管新生因子が乳癌において新たな標的分子となることが示唆された。

#### 【研究業績】

- 1 . Yagi H\*, Yotsumoto F\*, Sonoda K, Kuroki M, Mekada E, Miyamoto S. Synergistic antitumor effect of paclitaxel with CRM 197,an inhibitor of HB-EGF, in ovarian cancer. *Int J Cancer* 2009,124:1429-1439.\*Equally contributed.
- 2 . Inoue Y, Miyamoto S, Fukami T, Shirota K, Yotsumoto F, Kawarabayashi T. Amphiregulin is much more abundantly expressed than transforming growth factor-alpha and epidermal growth factor in human follicular fluid obtained from patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 2009,91:1035-1041.
- 3 . Yotsumoto F, Fukami T, Yagi H, Funakoshi A, Yoshizato T, Kuroki M and Miyamoto S. Amphiregulin Regulates the Activation of ERK and Akt through EGFR and HER 3 Signals Involved in the Progression of Pancreatic Cancer. *Cancer Sci* 2010,101:2351-2360.
- 4 . Yotsumoto F, Oki E, Tokunaga E, Maehara Y, Kuroki M and Miyamoto S. HB-EGF Orchestrates the Complex Signals Involved in Triple-negative and Trastuzumab-resistant Breast Cancer. *Int J Cancer* 2010,127:2707-2717.
- 5 . Sanui A\*, Yotsumoto F\*, Tsujioka H, Fukami T, Horiuchi S, Shirota K, Yoshizato T, Kawarabayashi T, Kuroki M, Miyamoto S. HB-EGF inhibition in combination with various anticancer agents enhances its antitumor effects in gastric cancer. *Anti-cancer Res* 2010,30:3143-3149. \*Equally contributed.
- 6 . Hikita S\*, Yotsumoto F\*, Fumaki T, Horiuchi S, Sanui A, Miyata K, Nam SO, Tsujioka H, Ueda T, Shirota K, Yoshizato T, Maeda K, Ishikawa T, Okuno Y, Kuroki M, Mekada E, Miyamoto S. Assessment of HB-EGF levels in peritoneal fluid and serum of ovarian cancer patients using ELISA. *Anti-cancer Res* 2011,31:2553-2559. \*Equally contributed.



## 非定型抗精神病薬オランザピンのエネルギー代謝異常発現機序

抗精神病薬による代謝異常研究チーム（課題番号：096013）

研究期間：平成21年4月1日～平成24年3月31日

研究代表者：山内淳史 研究員：勢島 英、角 典子（平成22年3月31日まで）

### 【研究概要】

非定型抗精神病薬は、統合失調症の陽性症状だけでなく従来の定型抗精神病薬では治療困難な陰性症状にも効果を示す。さらに抗ドパミン作用に起因する錐体外路症状が少ないことが特徴で、統合失調症治療は非定型抗精神病薬を中心に据える治療へと変化しつつある。しかし非定型抗精神病薬は、有効性、治療継続性、錐体外路症状の発現低減の点で優れているが、体重増加、糖代謝および脂質代謝異常といったエネルギー代謝の副作用発現率が高い。すなわち非定型抗精神病薬の治療の成否は、エネルギー代謝異常の副作用管理が鍵となる。代謝異常の危険因子として、糖尿病既往あるいは家族歴、肥満などが挙げられているが、発現機序は全く不明である。

AMPK（AMP 活性化プロテインキナーゼ）は“fuel gauge”と呼ばれ、細胞内のエネルギー代謝を調節するセンサーとして機能することが明らかとなってきた。AMPK は細胞内 AMP/ATP 比を監視し、エネルギー低下状態で活性化して下流のエネルギー産生系のシグナルを増強する。末梢においては、糖取り込み亢進、解糖系・脂肪酸酸化の促進によるエネルギー産生、視床下部摂食中枢においては、食欲増進を惹起する。これらの機能は糖尿病や脂質代謝異常の成因として注目を集めており、創薬の標的分子の1つとなっている。

そこで申請者は、非定型抗精神病薬が AMPK を中心としたエネルギー代謝機能分子に及ぼす影響を明らかにし、新たなエネルギー代謝異常成立機構を提案することで、副作用回避・軽減策の構築を目指すことを企図した。

### 【研究成果】

本研究では、非定型抗精神病薬オランザピン（OLA）を対象とし、以下の研究を行った。

### ラット摂食量・体重および視床下部 AMPK タンパク質量に及ぼす影響

6週齢の Sprague Dawley 系雌性ラットに、2 mg/kg の OLA（OLA 群）または蒸留水（control 群）を2週間連続して経口投与した。ラット摂食量および体重ともに Control 群と比較して OLA 群は有意に増加した（図1A-D）。このときのラット視床下部リン酸化 AMPK 量は、OLA 群で有意に上昇していた（図2）。

### 視床下部細胞 GT1-7 を用いた摂食関連神経ペプチド mRNA 発現量に及ぼす影響

GT1-7 cell（マウス視床下部由来の不死化神経培養細胞）を用い、任意の濃度の OLA を10min、30min、60min、24hr、48hr 処理（OLA 処理群）後、AMPK および摂食関連ペプチドを測定した。OLA 処理群のリン酸化 AMPK タンパク質量は、対照群と比較して、24hr、48hr で有意に増加した。また OLA 処理48時間では、摂食亢進ペプチド AgRP 遺伝子発現量が増加し、摂食抑制ペプチド POMC 遺伝子発

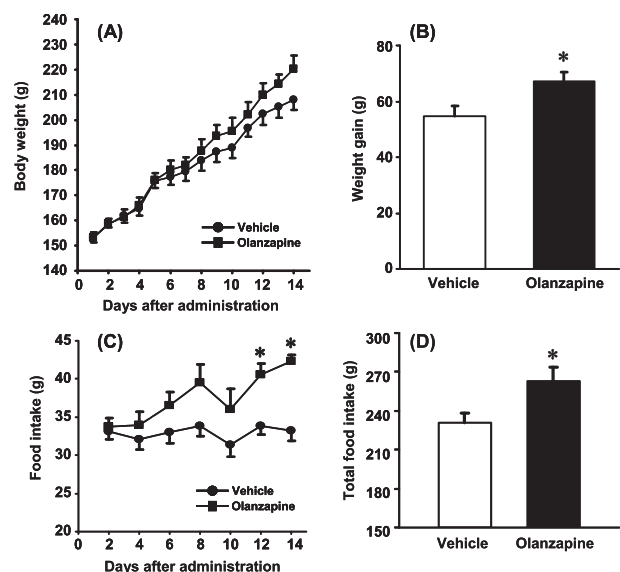


図1 ラット体重および摂食量に及ぼす OLA の影響

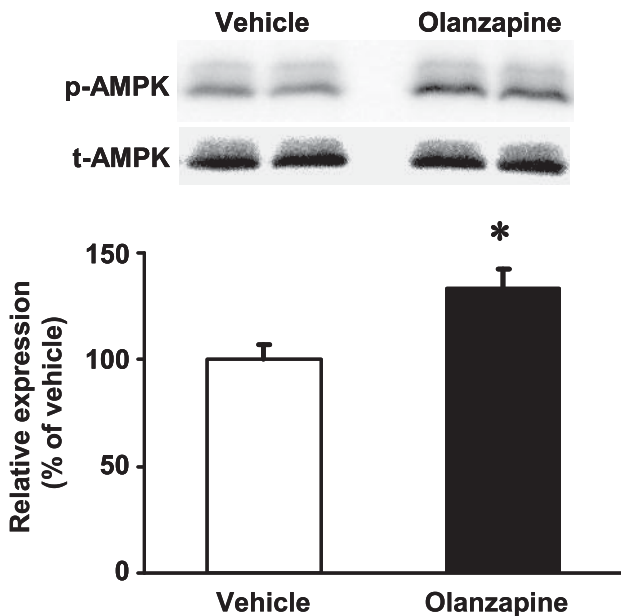


図2 視床下部リン酸化 AMPK 量に及ぼす影響

現量が減少していた。

#### 肝細胞 HepG 2 のグリコーゲン代謝に及ぼす影響

HepG 2 に OLA を任意の濃度で 5 時間処理した際の細胞内グリコーゲン量は control 群と比較して用量依存的に減少した。グリコーゲン合成量は control 群と比較して insulin 処理により有意に増加した。この insulin 依存的グリコーゲン合成は、OLA 処理により有意に抑制された。また OLA 単独処置では control 群と比較して差は認められなかった。

#### 肝脂質代謝に及ぼす影響

HepG 2 に OLA を任意の濃度で 48 時間処理した際の細胞内脂質の量は control 群と比較して OLA 25  $\mu$ M において有意に増加した。AMPK のリン酸化タンパクは control 群と比較して OLA 処理において有意に減少した。また SREBP-1c タンパクは control 群と比較して有意に増加した。

以上、OLA は中枢で AMPK 活性上昇による摂食促進を、また末梢では AMPK 抑制による脂質蓄積を惹起していることが示唆された。OLA の作用が臓器特異的である点は、今後の検討課題である。本研究では、OLA 誘発代謝異常の責任分子として AMPK の関与を明らかにし、今後の副作用対策を構築する上で重要な実験証拠を提出した点において意義深いものである。

## 【研究業績】

### 原著論文

1. Ei Sejima, Atsushi Yamauchi et al. A role for hypothalamic AMP-activated protein kinase in the mediation of hyperphagia and weight gain induced by chronic treatment with olanzapine in female rats. *Cell Mol Neurobiol.* 2011 Oct;31(7):985-9.

### 学会発表

1. 江口清子, 植松大智, 勢島英, 大島優, 首藤英樹, 山内淳史, 片岡泰文. AMPK-SREBP 経路を介した抗精神病薬オランザピンの肝細胞脂質代謝への影響. 第84回日本薬理学会年会 2011年3月22日 横浜
2. 三根真悟, 植松大智, 中釜健吾, 勢島英, 西奥剛, 首藤英樹, 山内淳史, 片岡泰文. 視床下部由来神経細胞 GT 1-7 の摂食関連神経ペプチドに対するオランザピンの影響. 第84回日本薬理学会年会 2011年3月23日 横浜
3. A Yamauchi et al. Effect of Olanzapine on Glucose Transport System in 3T3-L1 Adipocytes. アジア神経精神薬理学会 (AsCNP) 2009年11月13日 京都
4. 藤本景一, 山内淳史 他 HepG 2 細胞のグリコーゲン代謝に及ぼすオランザピンの影響第83回日本薬理学会年会2010年3月17日大阪
5. 中釜健吾, 山内淳史 他オランザピンによる体重・摂食量増加作用における視床下部 AMPK 活性の役割 第83回日本薬理学会年会2010年3月18日 大阪



## 関節リウマチの炎症・骨破壊におけるシクロフィリン A - CD147 シグナル分子病態機構

関節リウマチの新規病態分子機構研究チーム（課題番号：116007）

研究期間：平成23年4月1日～平成24年3月31日

研究代表者：西奥 剛 研究員：首藤英樹、渡辺拓也

### 【研究成果】

関節リウマチは関節炎を病変の主座とし、骨・軟骨破壊を必発する自己免疫疾患である。関節リウマチの治療において、生物学的製剤による分子標的治療の導入は、疾患活動性と関節破壊の制御を可能とし、治療目標を「痛みの制御」から「寛解導入」へとシフトさせ、関節リウマチ治療に新展開をもたらした。しかし、生物学的製剤は、その優れた有効性の反面、安全性や投与経路の問題ならびに高額な治療費のため寛解導入率は3割にすぎない。そのため、生物学的製剤と同等の有効性を示し、経口投与可能かつ安価な新規抗リウマチ薬の開発が重要課題となっている。

CypAはイムノフィリンファミリーのひとつで、シクロスポリンA（免疫抑制薬）の結合タンパク質である。CypAは細胞質に存在するタンパク質であるが、炎症病態時には細胞外へ遊離される。この細胞外CypAの受容体として同定された分子がCD147であり、EMMPRIN（細胞外マトリックスメタロプロテアーゼ誘導因子）としても知られ、がん細胞の浸潤転移の大役を担っている。これまでの研究により、CypAとCD147は、マトリックスメタロプロテアーゼの誘導だけでなく、血管新生、細胞の接着や遊走など多面的機能を有することが示唆されている。関節リウマチにおいても細胞外CypAとCD147の発現上昇が認められ、CD147は主に単球や好中球に発現することが報告されている。しかし、関節リウマチ病態の発症・進展における細胞外CypAならびにCD147の役割についてその詳細は不明である。本研究では、関節リウマチの炎症・骨破壊進展におけるCypAならびにCD147の役割について検討した。

関節リウマチのモデル動物であるコラーゲン誘導

関節炎（CIA）マウスを作製し、その肢関節におけるCypAとCD147の発現変化をウエスタンブロットティングならびに免疫染色にて検討した。CypAとCD147の発現は、対照群と比較してCIAマウスにおいて著明に増加していた。また発現増加したCD147はマクロファージ（CD11b陽性細胞）に局在していることが明らかとなった。次に、CIAマウスより滑膜線維芽細胞を単離、培養し、その培養上清を用いてCypAの細胞外遊離について検討した。CIAマウスより単離した滑膜線維芽細胞の培養上清中においてCypAが検出され、CypAが増殖した滑膜線維芽細胞から遊離されていることが判った。また、この滑膜線維芽細胞からのCypAの遊離はLPS刺激により有意に増加した。また、骨髄由来マクロファージを用いて、細胞外CypAによるCD147の発現変化について検討したところ、CypA刺激によりマクロファージにおけるCD147の発現が有意に増加した。

以上の結果より、関節リウマチ病態下において発現増加するCypAは、増殖した滑膜線維芽細胞から遊離され、TLR4の刺激によりその遊離が増大することが示唆された。また浸潤したマクロファージのCD147発現は、細胞外CypAにより増大することが明らかになった。現在、骨破壊におけるCypA-CD147シグナルの役割について検討中である。以上、関節リウマチの炎症・骨破壊進展におけるCypA-CD147シグナルの分子病態機構を明らかにすることにより、本症の治療戦略ならびに抗リウマチ薬の開発に寄与できるものと期待している。

### 【研究業績】

1. Takata F, Dohgu S, Matsumoto J, Takahashi H, Machida T, Wakigawa T, Harada E, Miyaji H, Koga M,

- Nishioku T, Yamauchi A, Kataoka Y. Brain pericytes among cells constituting the blood-brain barrier are highly sensitive to tumor necrosis factor- $\alpha$ , releasing matrix metalloproteinase-9 and migrating in vitro. *J Neuroinflammation.*,8:106.(2011)
- 2 . Sejima E, Yamauchi A, Nishioku T, Koga M, Nakagama K, Dohgu S, Futagami K, Kataoka Y. A role for hypothalamic AMP-activated protein kinase in the mediation of hyperphagia and weight gain induced by chronic treatment with olanzapine in female rats. *Cell Mol Neurobiol.*,31(7):985-9.(2011)
  - 3 . Nishioku T, Furusho K, Tomita A, Ohishi H, Dohgu S, Shuto H, Yamauchi A, Kataoka Y. Potential role for S 100 A 4 in the disruption of the blood-brain barrier in collagen-induced arthritic mice, an animal model of rheumatoid arthritis. *Neuroscience.*189: 286-92.(2011)
  - 4 . Watanabe T, Yasutaka Y, Nishioku T, Kusakabe S, Futagami K, Yamauchi A, Kataoka Y. Involvement of the cellular prion protein in the migration of brain microvascular endothelial cells. *Neurosci Lett.*496 (2):121-4.(2011)
  - 5 . Yamauchi A, Dohgu S, Takata F, Watanabe T, Nishioku T, Matsumoto J, Ohkubo Y, Shuto H, Kataoka Y. Partial hepatectomy aggravates cyclosporin A-induced neurotoxicity by lowering the function of the blood-brain barrier in mice. *Life Sci.*,88(11-12): 529-34.(2011)
  - 6 . Dohgu S, Takata F, Matsumoto J, Oda M, Harada E, Watanabe T, Nishioku T, Shuto H, Yamauchi A, Kataoka Y. Autocrine and paracrine up-regulation of blood-brain barrier function by plasminogen activator inhibitor-1. *Microvasc Res.*,81(1):103-7.(2011)

