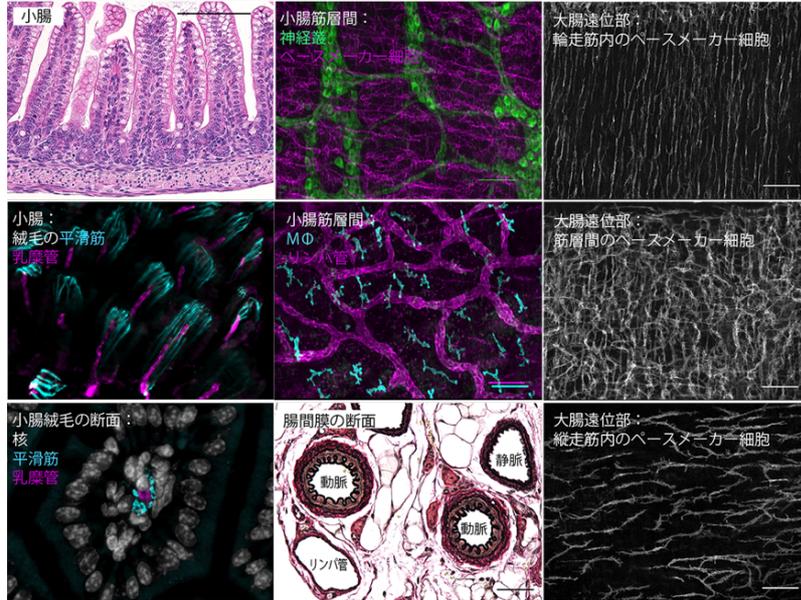


その① ——研究紹介——

2024年1月に、東京大学アイソトープ総合センターに社会連携講座が開設され、特任講師として着任致しました。当講座では放射性医薬品開発とそれを世に送り出すための基礎研究を担っております。講座の説明は講座の主にお任せして。

ここでは、私があたためてきたオリジナル研究、いわゆる私の持ちネタ研究について紹介させて

楽しい顕微鏡観察：からだってすごい！



キーエンス顕微鏡 / Sogawa et al, 2020, 2021 より

頂きます。研究内容は遺伝子変異と病気の関係、希少疾患についての深掘りです。この深掘り、大学3年生の後期(2002年度)に念願叶って希望の研究室に所属し、卒論の研究テーマが決まって以来掘り続けています。掘り続けている…は言い過ぎかな…この研究のことが頭から離れずにずっと考え続けていますが、掘りたくても岩盤にぶつかっては中断することも。ですので“断続的”に気が付けば22年続けています。そんな飽きることのない研究内容とは。

原点は、順遺伝学(フォワードジェネティクス)です。現在では、圧倒的に主流の逆遺伝学(リバースジェネティクス)。リバースジェネティクスは、選択した特定の遺伝子を破壊したり変異を起こさせたりして何が起こるかを解析する、すなわち遺伝子が先で表現型が後、解析過程では想定外の表現型や機能が明らかになることもありますし、この遺伝子って無くても大丈夫なんだ…という衝撃結果になることもあります。

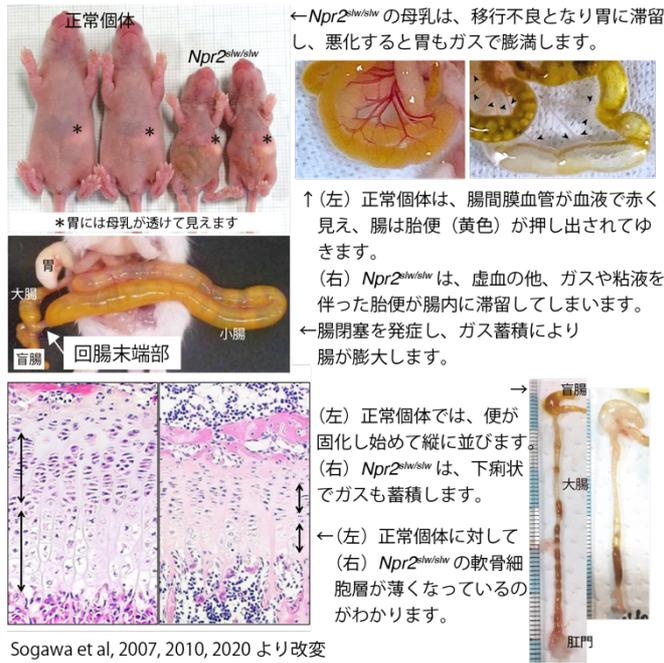
それに対してフォワードジェネティクスは、観察された形質の原因遺伝子を特定してゆく古典的な遺伝学的解析方法です。つまり、表現型が先で遺伝子が後、遺伝病など、どんな症状になるかは分かっているけれど原因遺伝子が不明な場合、その原因遺伝子を特定してゆきます。



写真：Sogawa, 2017 より

2000年前後、当時NHKでは「脅威の小宇宙 人体」全盛期。遺伝子を構成する塩基にたった一つの違いが生じると・・・と、A・T・G・Cや塩基配列の波形が美しいCGで描写され、それを見て「これだ！病気の原因遺伝子を見つける研究がしたい！」と漠然と熱い思いを抱くようになりました。そんな私を待っていてくれたかのように、所属が決定した研究室で偶然発見され確保されていたのが、今もなお、私の心を掴んで離さない Short-limbed dwarfism (SLW) マウスとの出会いです…このSLWという名称、四肢や尾が短いことに由来しておりますが、当時私が Petite limed と命名しようとしたところ、あっさり却下されました。確かに今考えればプチではなくショートですね…。

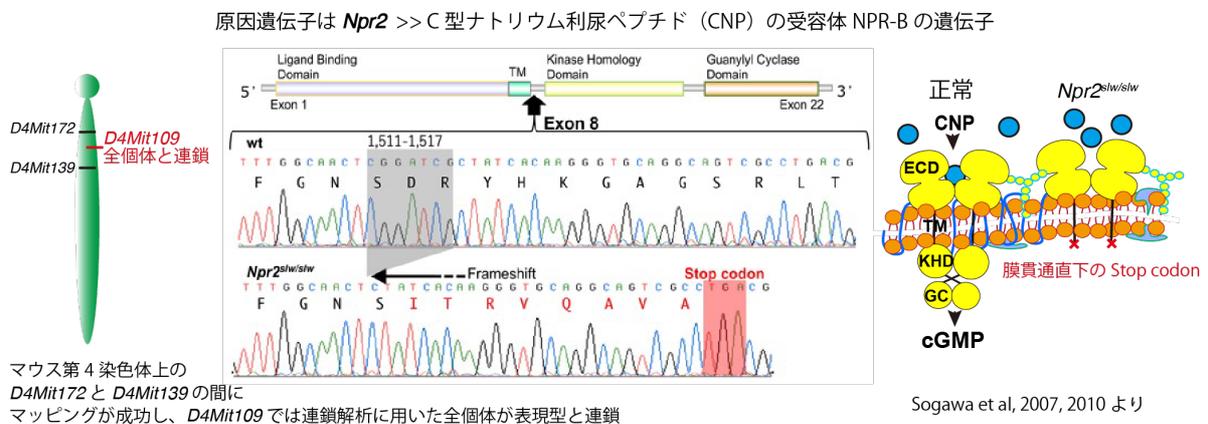
さて、私が大学生の時に会ったこの SLW マウス、四肢や尾が短いだけでなく「お腹の異常」が最たる特徴です。



初めは、博士課程に在籍していた先輩にくっついて歩き、習いながら交配実験をスタートさせました。表現型は、ヘテロ同士の交配でホモになった場合だけ現れ、潜性遺伝することが明らかとなりました。

さあ！ここから未知の原因遺伝子の探索です。手掛かりは表現型(見た目)だけ、他の情報は一切無し。「連鎖解析」という研究手法は、恐らく研究が進化を遂げる昨今では、もうあまり行われ不会再せん。が、この「連鎖解析」と「表現型解析」「系統樹立に向けた交配」、これが卒論のミッションとなりました。フォワードジェネティクスを、ゼロからのスタートです。

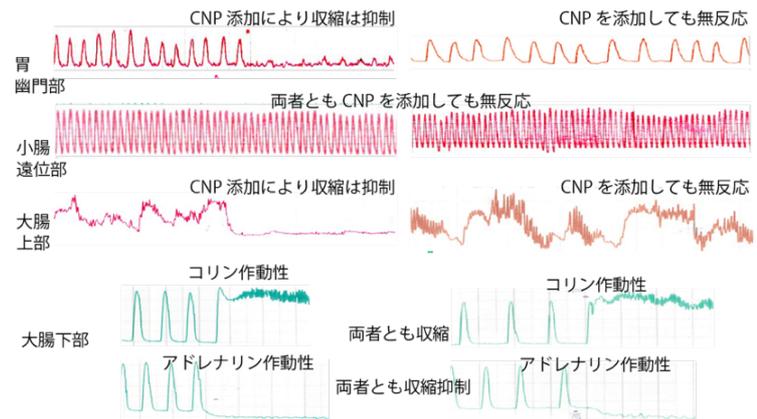
「連鎖解析」では、マイクロサテライトマーカー等の遺伝子マーカーを用いて未知の原因遺伝子が何番染色体にあるのか、そしてその染色体のどの辺りに位置しているのかを特定してゆきます。連鎖解析の結果、原因遺伝子はマウス第 4 染色体上の *DAMit172* と *DAMit139* の間にマッピングされ、*DAMit109* では解析に使用した全個体が表現型と連鎖しました。引き続き修士課程ではポジショナルクローニングをおこない、最終的に一つの原因遺伝子“*Npr2*”の同定に至りました。簡単に思わないで下さい！これは当時、本当に粘って頑張った私なりのすごい研究成果です。原因遺伝子は、ナトリウム利尿ペプチドファミリーの一つ、C 型ナトリウム利尿ペプチド (CNP) の受容体、膜貫通型グアニル酸シクラーゼ B (NPR-B <NPR2, GC-B など複数の名称有り>) の遺伝子 *Npr2* であること、ホモマウス (*Npr2^{slw/slsw}*) の *Npr2* は、NPR-B の膜貫通直下をコードする領域に 7 塩基の欠失とフレームシフト変異を起こしていることを明らかとしました。そしてタンパクの生合成を停止する終止コドンが早期に出現し NPR-B の細胞内ドメインがまるごと喪失していると予想されました。病気の原因遺伝子を見つける研究がしたい…その夢が叶った瞬間でした。



そもそも。偶然にも不思議なマウスが発見されたこと、その最初の 1 匹が交配したこと、表現型を支配する突然変異がジャームラインに乗っていたこと、これらは全て驚くべき奇跡です。そして、そのタイミングに私がそこに入った。そんな運命も奇跡です。奇跡と頑張りの賜なのです。そして、

ジェノタイプング用のプライマーができたことで系統維持が本当に楽になりました！

飼育管理と表現型に対する観察眼は、その後の研究の方向性を左右する重要な要素です。*Npr2^{slw/slw}*は、生後の授乳期に約75%が死亡してしまいますが、飼育管理の過程で「お腹の異常」に気づき、これが研究にのめり込むきっかけとなりました。「お腹の異常」なんで？幽門狭窄症？ヒルシュスプルング病？でも*Npr2*-KOマウスに消化管異常の報告は無い。そこで、遺伝子変異と表現型の関連を証明するために、*ex-vivo*薬理反応実験や*in vivo*投与実験などをおこないました。意外なことに、*Npr2^{slw/slw}*の消化管は活発で規則正しい蠕動を認め、閉塞部位には腸管神経節細胞/ペースメーカー細胞ともに存在、神経伝達物質への反応も正常個体と同様でした。ただ胃と大腸だけは、正常個体がCNPによる弛緩反応を示すのに対して*Npr2^{slw/slw}*では無反応でした（受容体変異ですから当然ですが）。面白いことに、小腸は正常個体でも収縮運動に関しては無反応でした。この様にしてCNPは“運動性”に対して部位特異的に弛緩作用をもつことを証明し、*Npr2^{slw/slw}*ではNPR-Bの機能が喪失したために、弛緩しないことがお腹の異常の一端となっていると特定できました。



(左) 正常個体、(右) *Npr2^{slw/slw}*, Sogawa et al, 2010, 2020 より

この様にこれまで「腸閉塞」に着目し、腸管神経系をはじめとする腸の形態や運動性、神経伝達物質に対する薬理反応を中心に研究を行ってきましたが、未だ発症機序については決定的な結論を得られておりません。要するに、まだNPR-Bの消化管での役割の“全容”を特定できていないのです。内容物の状態から胎便性イレウスに着目していますが、胎便性イレウスは、CFTRに変異を有する嚢胞性線維症の新生児に頻発する病気で、*Npr2^{slw/slw}*とは原因遺伝子が全く異なります。ただ、キーは“cGMP”。CFTRはNPR-Bとは異なる腸のグアニル酸シクラーゼ経路の活性が作用します。例えば便秘処方薬の一つ「リナクロチド（リンゼス）」というお薬はその作用を応用しています。ここにヒントを見出して、引き続き、*Npr2^{slw/slw}*の胎便性イレウスに似た腸閉塞発症機序と、CNP/NPR-Bの消化管での役割を明らかにしてゆきたいと思っています。CNPは、アナログ製剤が軟骨無形成症の治療薬として認証されるなど実際に病気の治療に役立っています。しかし*Npr2^{slw/slw}*の様に受容体が壊れている場合は効きませんから、そこにも目を向けたいと思っています。他にも、不妊や白色脂肪の減少など面白い表現型を伴っており、まだまだ興味が尽きることはなさそうです。

・・・卒業時、私は博士後期課程には進学出来ないため、別の誰かの博士論文にでもなってしまうのかな…？と、やりきれない思いがどっと溢れたものでした。なぜなら、周囲から沢山そう言われたものでして、悔しくて大切なパラフィンブロックをゴミ箱に投げ捨てたこともありました(汗)。でも実際は、指導教官はそんなことをせず、私が就職してからも待って下さいました。働きながら（仕事研究をしながら）、この気持ちに理解を示して下さいました上司、学振PDでは見ず知らずの私を受入れて下さった獣医薬理学教室、完全なる異分野出身の私に沢山の新しい視点を学ばせて下さいましたクロマチン構造機能研究室をはじめ、色々な出会いに感謝しながら…また続きを掘り始めたいと思います。もちろん、放射線の研究を進めながら。

Publication

25. Mitsuhiro Shinada, Hisashi Suzuki, Masayuki Hanyu, Chika Igarashi, Hiroki Matsumoto, Masashi Takayuki, Fukiko Hihara, Tomoko Tachibana, Chizuru Sogawa, Ming-Rong Zhang, Tatsuya Higashi, Hidemitsu Sato, Hiroaki Kurihara, Yukie Yoshii, Yoshihiro Doi: Trace Metal Impurities Effects on the Formation of [⁶⁴Cu] Cu-diacetyl-bis(*N*⁴-methylthiosemicarbazone) ([⁶⁴Cu]Cu-ATSM), *Pharmaceuticals*, 2023. PMID: 38275997

24. Kayo Nozawa, Yoshimasa Takizawa, Leonidas Pierrakeas, Chizuru Sogawa-Fujiwara, Kazumi Saikusa, Satoko Akashi, Ed Luk and Hitoshi Kurumizaka: Cryo-electron microscopy structure of the H3-H4 octasome a nucleosome-like particle without histones H2A and H2B, *PNAS*, 8;119(45): e2206542119, 2022. PMID: 36322721

23. Chizuru Sogawa-Fujiwara, Yasuhiro Fujiwara, Atsuki Hanagata, Qunhui Yang, Taiki Mihara, Noriyuki Kaji, Tetsuo Kunieda, and Masatoshi Hori: *Npr2* mutant mice show vasodilation and undeveloped adipocytes in mesentery, *BMC Research Note*, 14:438, 2021. PMID: 34838130

22. Chizuru Sogawa-Fujiwara, Atsuki Hanagata, Yasuhiro Fujiwara, Yukisato Ishida, Tetsuo Kunieda, Hirofumi Nakatomi and Masatoshi Hori: Defective development and microcirculation of intestine in *Npr2* mutant mice, *Scientific Reports*. Sep 8;10(1):14761. 2020. PMID: 32901096

(日本語ミニレビュー)

曾川千鶴: CNP/NPR-B と平滑、*The Journal of Animal Genetics*, 45: 9-18, 2017

21. Yukie Yoshii, Takako Furukawa, Atsuo Waki, Hiroaki Okuyama, Masahiro Inoue, Manabu Itoh, Ming-Rong Zhang, Hidekatsu Wakizaka, Chizuru Sogawa, Yasushi Kiyono, Hiroshi Yoshii, Yasuhisa Fujibayashi, Tsuneo Saga: High-throughput screening with nanoimprinting 3D culture for efficient drug development by mimicking the tumor environment. *Biomaterials*. 51: 278-279. 2015. PMID: 25771018

20. Christelle Biemann, Stephan Rignault-Clerc, Lucas Liaudet, Feng Li, Tetsuo Kunieda, Chizuru Sogawa, Tamara Zehnder, Bernad Waeber, Francois Feihl, Nathalie Rosenblatt-Velin: Brain natriuretic peptide is able to stimulate cardiac progenitor cell proliferation and differentiation in mice hearts after birth. *Basic Res Cardiol*. Jan;110 (1) 455. 2015. PMID: 25449896

19. Chizuru Sogawa, Yasuhiro Fujiwara, Satoshi Tsukamoto, Yuka Ishida, Yukie Yoshii, Takako Furukawa, Tetsuo Kunieda, and Tsuneo Saga: Mutant phenotype analysis suggests potential roles for C-type natriuretic peptide receptor (NPR-B) in male mouse fertility. *Reproductive Biology and Endocrinology*. Jul 10;12:64. 2014. PMID: 25012822

18. Yukie Yoshii, Hiroki Matsumoto, Mitsuyoshi Yoshimoto, Takako Furukawa, Yukie Morokoshi, Chizuru Sogawa, Ming-Rong Zhang, Hidekatsu Wakizaka, Hiroshi Yoshii, Yasuhisa Fujibayashi, Tsuneo Saga: Controlled Administration of Penicillamine Reduces Radiation Exposure in Critical Organs during (⁶⁴) Cu-ATSM Internal Radiotherapy: A Novel Strategy for Liver Protection. *PLoS One*. 2014 Jan 22;9(1): e86996. 2014. PMID: 24466309

17. Zhao-Hui Jin, Takako Furukawa, Chizuru Sogawa, Michael Claron, Winn Aung, Atsushi B. Tsuji, Hidekatsu Wakizaka, Ming-Rong Zhang, Didier Boturyn, Pascal Dumy, Yasuhisa Fujibayashi, Tsuneo Saga: PET imaging and biodistribution analysis of the effects of succinylated gelatin combined with l-lysine on renal uptake and retention of ⁶⁴Cu-cyclam-RAFT-c(-RGDfK-)4in vivo. *Eur J Pharm Biopharm*. S0939-6411(13)00378-0. PMID: 24316338

16. Winn Aung, Zhao-Hut Jin, Takako Furukawa, Michael Ciaron, Didier Boturyn, Chizuru Sogawa, Atsushi B. Tsuji, Hidekatsu Wakizaka, Toshimitsu Fukumura, Yasuhisa Fujibayashi, Pascal Dumy, and Tsuneo Saga: Micro-Positron Emission Tomography/Contrast-Enhanced Computed Tomography Imaging of Orthotopic Pancreatic Tumor Bearing Mice Using the $\alpha\beta$ 3 Integrin Tracer ⁶⁴Cu-Labeled Cyclam-RAFT-c(-RGDfK-)4. *Mol Imaging*. 12(6): 376-87. 2013. PMID: 23981783

15. Yukie Yoshii, Takako Furukawa, Nobuyuki Oyama, Yoko Hasegawa, Yasushi Kiyono, Ryuichi

Nishii, Atsuo Waki, Atsushi B. Tsuji, Chizuru Sogawa, Hidekatsu Wakizaka, Toshimitsu Fukumura, Hiroshi Yoshii, Yasuhisa Fujibayashi, Jason S. Lewis, Tsuneo Saga: Fatty Acid synthase is a key target in multiple essential tumor function of prostate cancer: uptake of radiolabeled acetate as a predictor of the targeted therapy outcome. *PLoS One*. 8(5): e64570. 2013. PMID: **23741342**

14. Chizuru Sogawa, Hidekatsu Wakizaka, Winn Aung, Zhao-hui Jin, Atsushi B. Tsuji, Takako Furukawa, Tetsuo Kunieda, and Tsuneo Saga: C-Type Natriuretic Peptide Specifically Acts on the Pylorus and Large Intestine in Mouse Gastrointestinal Tract. *The American Journal of Pathology*, 182(1), 172-9. 2013. PMID: **23127564**

13. Zhao-Hui Jin*, Chizuru Sogawa*, Takako Furukawa, Yuriko Saito, Winn Aung, Yasuhisa Fujibayashi, Tsuneo Saga: Basic studies on radioimmunotargeting of cancer stem cells. *Mol Imaging*. 11(6): 445-50, 2012. PMID: **23084245**

12. Chizuru Sogawa, Atsushi Tsuji, Chisato Yoshida, Masayuki Inubushi, Takako Furukawa, Mitsuru Koizumi, Akahori Y, Ukai Y, Gene Kurosawa, Kurosawa Y, Tsuneo Saga: Novel human monoclonal antibody against epidermal growth factor receptor as an imaging probe for hepatocellular carcinoma. *Nuclear medicine communications*. 33(7): 719-25. 2012. PMID: 22453549

11. Aung U Winn, Chizuru Sogawa, Takako Furukawa, Tsuneo Saga: Anticancer effect of Dihydroartemisinin (DHA) in a pancreatic tumor model evaluated by conventional methods and optical imaging. *Anticancer Res*. 31(5): 1549-58. 2011. PMID: 21617209

10. Hitomi Sudou, Atsushi Tsuji, Aya Sugyou, Chizuru Sogawa, Chisato Yoshida, Yoshinobu Harada, Okio Hino, Tsuneo Saga: Knockdown of COPA, Identified by Loss-of-Function Screen, Induces Apoptosis and Suppresses Tumor Growth in Mesothelioma Mouse Model, *Genomics*, 95(4), 210-216, 2010. PMID: 20153416

9. Chisato Yoshida, Atsushi Tsuji, Hitomi Sudou, Aya Sugyou, Chizuru Sogawa, Masayuki Inubushi, Tomoya Uehara, Toshimitsu Fukumura, Mitsuru Koizumi, Yasushi Arano, Tsuneo Saga: Development of Positron Emission Tomography Probe of ⁶⁴Cu-labeled Anti-c-kit 12A8 Fab to Measure Protooncogene C-kit Expression, *Nuclear Medicine and Biology*, *Nucl Med Biol*. 38(3):331-7. 2011. PMID: 21492781

8. Chisato Yoshida, Chizuru Sogawa, Atsushi Tsuji, Hitomi Sudou, Aya Sugyou, Tomoya Uehara, Okio Hino, Yukie Yoshii, Yasuhisa Fujibayashi, Toshimitsu Fukumura, Mitsuru Koizumi, Yasushi Arano, Tsuneo Saga: Development of positron emission tomography imaging by ⁶⁴Cu-labeled Fab for detecting ERC/mesothelin in a mesothelioma mouse model, *Nuclear medicine communications*, 2010, 31(5):380-8. PMID: 20072072

7. Chizuru Sogawa, Asaki Abe, Takehito Tsuji, Mitsuru Koizumi, Tsuneo Saga, Tetsuo Kunieda: Gastrointestinal Tract Disorder in Natriuretic Peptide Receptor B Gene Mutant Mice, *The American Journal of Pathology*, 177(2), 822-828, 2010. PMID: 20616347

6. Aung U Winn, Sumitaka Hasegawa, Michiko Koshikawa, Atsushi Tsuji, Chizuru Sogawa, Hitomi Sudou, Aya Sugyou, Mitsuru Koizumi, Takako Furukawa, Tsuneo Saga: Noninvasive assessment of regulable transferred-p53 gene expression and evaluation of therapeutic response with FDG-PET in tumor model. *Gene Therapy*, 17(9), 1142-1151, 2010. PMID: 20445579

5. Chizuru Sogawa, Atsushi Tsuji, Hitomi Sudou, Aya Sugyou, Chisato Yoshida, Kenichi Odaka, Tomoya Uehara, Yasushi Arano, Mitsuru Koizumi, Tsuneo Saga: C-kit-targeted imaging of gastrointestinal stromal tumor using radiolabeled anti-c-kit monoclonal antibody in a mouse tumor model, *Nuclear Medicine and Biology*, 37(2), 179-187, 2010. PMID: 20152717

4. Atsushi Tsuji, Chizuru Sogawa, Aya Sugyou, Hitomi Sudou, Mitsuru Koizumi, Okio Hino, Yoshinobu Harada, Takako Furukawa, Kazutoshi Suzuki, Tsuneo Saga: Comparison of Conventional and Novel PET Tracers for Imaging Mesothelioma in Nude Mice with Subcutaneous and Intrapleural Xenografts, *Nuclear Medicine and Biology*, 36(4), 379-388, 2009. PMID: 19423005

3. Atsushi Tsuji, **Chizuru Sogawa**, Hitomi Sudou, Aya Sugyou, Mitsuru Koizumi, Tsuneo Saga: 18F-FDG PET for Semiquantitative Evaluation of Acute Allograft Rejection and Immunosuppressive Therapy Efficacy in Rat Models of Liver Transplantation, *Journal of Nuclear Medicine*, 50(5), 827-830, 2009. PMID: 19372488
2. **Chizuru Sogawa**, Takehito Tsuji, Yusuke Shinkai, Kentaro Katayama, Tetsuo Kunieda: Short-Limbed Dwarfism: slw Is a New Allele of Npr2 Causing Chondrodysplasia, *Journal of Heredity*, 98, 575-580, 2007. PMID: 17728275
1. 辻 岳人、清須千代、**曾川千鶴**、国枝哲夫: 長管骨の成長に関わる遺伝子の探索、*The Journal of Animal Genetics*, 32: 133-140, 2005

これまでに獲得した研究費

資金制度名: 日本学術振興会科学研究費補助金 (挑戦的萌芽研究)

題目: 消化管間質腫瘍特異的画像診断のための抗 c-kit 抗体プローブ開発の試み

期間: 2008 年度~2010 年度

資金制度名: 日本学術振興会特別研究員 (PD)

題目: CNP/NPR-B シグナル欠損による新規消化管運動不全症発生機序の解明

期間: 2017 年度~2019 年度