

課題番号 : 29指1020

研究課題名 : 細胞内脂質イメージング法によるHIVプロテアーゼ阻害剤による脂質代謝異常の解明
主任研究者名 : 志村まり

キーワード : 細胞内脂質イメージング, HIVプロテアーゼ阻害剤, 脂質代謝異常
研究成果 :

HIV感染者の免疫不全は、抗エイズ療法により改善され、生存率は大幅に増大した。一方、感染者のエイズ治療薬の長期服用は不可欠であるため、副作用報告も存在している。本研究では、プロテアーゼ阻害剤による副作用として考えられている脂質代謝異常に焦点を置いて研究する。具体的には、申請者らが開発した細胞内脂質イメージングおよび質量分析により、現行のプロテアーゼ阻害剤による脂質代謝異常を細胞レベルで解明する。さらに、満屋らの開発している新薬との比較検討を行うことを目的とする。必要性：抗エイズ療法は感染者のウイルス量をコントロールし、エイズ発症を抑制するが、副作用も指摘されている。現行のプロテアーゼ阻害剤は高脂血症、lipodystrophyを誘導し、動脈硬化、循環器障害、脳梗塞などを繰り返すことから、感染者QOLを低下させている。一方、プロテアーゼ阻害剤による脂質代謝異常の機序は未だ不明である。日本のエイズ治療の主要拠点である本センターにおいて、これらの機序解明や新薬開発が期待される。申請者らは、脂肪酸に1原子ラベルを行い、X線顕微鏡を応用することで、世界で初めてミトコンドリアレベルでの細胞内脂肪酸の可視化に成功している。本法により、未知であった細胞内脂質変動のオルガネラレベルでの観察が可能となり、プロテアーゼ阻害剤による代謝異常の解明が期待される。また、満屋先生らが開発されている新規プロテアーゼ阻害剤は、その有効性が格段に高いことが知られている。本法で新薬を解析することで、副作用の少ない新薬の普及に貢献する可能性が期待される。さらに、最先端イメージング技術による、国際的研究により得られた新薬の解析を行うことは、学術的意義も高いと考える。

本年度は、各種抗エイズ薬に対する中性脂質の産生について、培養細胞を用いた評価法を検討した。第一スクリーニングとして、市販の中性脂質染色法をまず行った。この中性脂質染色法は、中性脂質同士がよく吸着する性質を利用しているため、特異性は低いが簡便であるために、第一スクリーニングとしては有用と考える。中性脂質が産生されることが知られているサイクロスポリンを細胞処置し(陽性コントロール)、中性脂質染色を行った。蛍光顕微鏡により観察では、強いシグナルが脂肪滴と思われる箇所のみに見られたが、脂肪滴が形成される過程などは認められなかったことから、シグナルには閾値がありそうである。次に、理化学研究所放射光施設での蛍光X線顕微鏡による、中性脂質の構成脂肪酸の一つであるパルミチン酸の局在と中性脂質染色法による局在について、サイクロスポリン処置細胞を用いて比較検討した。中性脂質染色はパルミチン酸局在のうち、脂肪滴と思われる箇所に限定的に認められた。今後、上記二法について、抗エイズ療法薬の副作用スクリーニングに応用する。

Subject No. : 29a1020

Title : Imaging lipid abnormalities induced by HIV therapies

Researchers : Mari Shimura

Key word : Lipid imaging, HIV protease inhibitors, lipid abnormalities

Abstract : Lipid abnormalities such as cardiovascular disorders are often reported in HIV patients under the anti-retroviral therapy. Previous clinical findings suggested that HIV protease inhibitors might relate to incidence of cardiovascular disorder in HIV patients. Although the main drug effects for viruses is really important to cure the patients, it is also essential to reduce the side effects as lipid abnormalities. In this study, we figure out a screening method for lipid abnormalities using cells. Because even 100 cells are available for imaging, which saves expensive drugs and gives you more information as distribution and location than just biochemical analyses. Neutral lipid in cells has been imaged by staining of neutral lipids labeled with fluorescence probes. Neutral lipid staining probes are commercially available and useful, but less specificity due to their non-specific background. We recently developed scanning x-ray fluorescence microscopy (SXF_M), which can visualize fatty acids and the derivatives in cells. We first compared the images from a neutral lipid staining and SXFM. Cells were treated with an inducer of neutral lipid droplets, Cyclosporine A and with bromine labeled palmitic acid. A neutral lipid staining showed strong signals only at lipid droplets in the cytoplasm. SXFM using bromine labeled palmitic acid detected strong signals both at perinuclear region and lipid droplets. These data validated two methods each other and suggested that a neutral lipid staining showed only high-concentrated neutral lipids region. Therefore, we started to use both imaging methods to evaluate lipid abnormalities by HIV therapies in cells.

抗エイズ療法による脂質代謝の副作用評価 (国際医療開発費29a1020)

薬剤副作用スクリーニング総合評価



HIVプロテアーゼ阻害剤による飽和および不飽和脂肪酸イメージング



飽和および不飽和脂肪酸の細胞内イメージング法の確立 (2018~2019)

細胞内不飽和脂肪酸イメージング準備(現在)

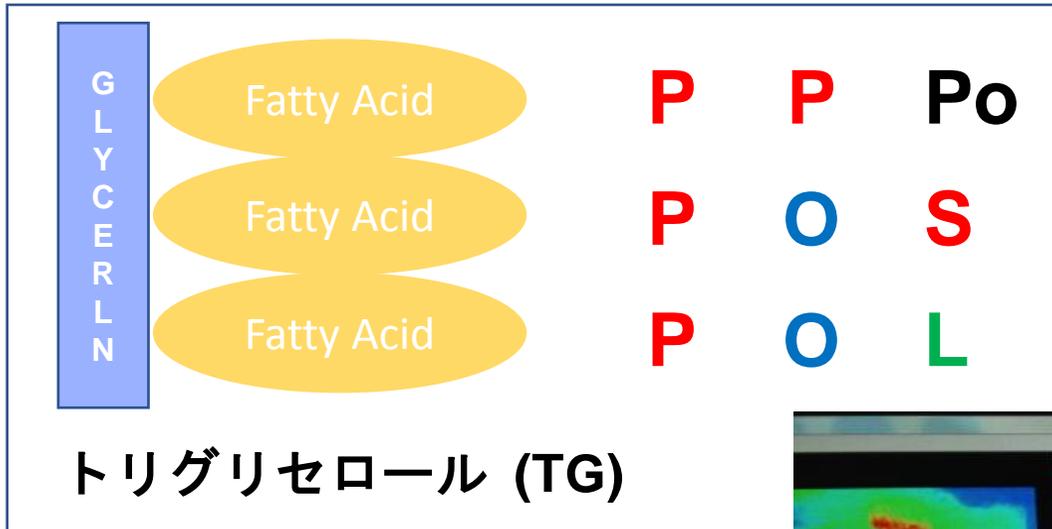


HIVプロテアーゼ阻害剤による飽和脂肪酸の可視化 (Oct, Dec, 2017~)

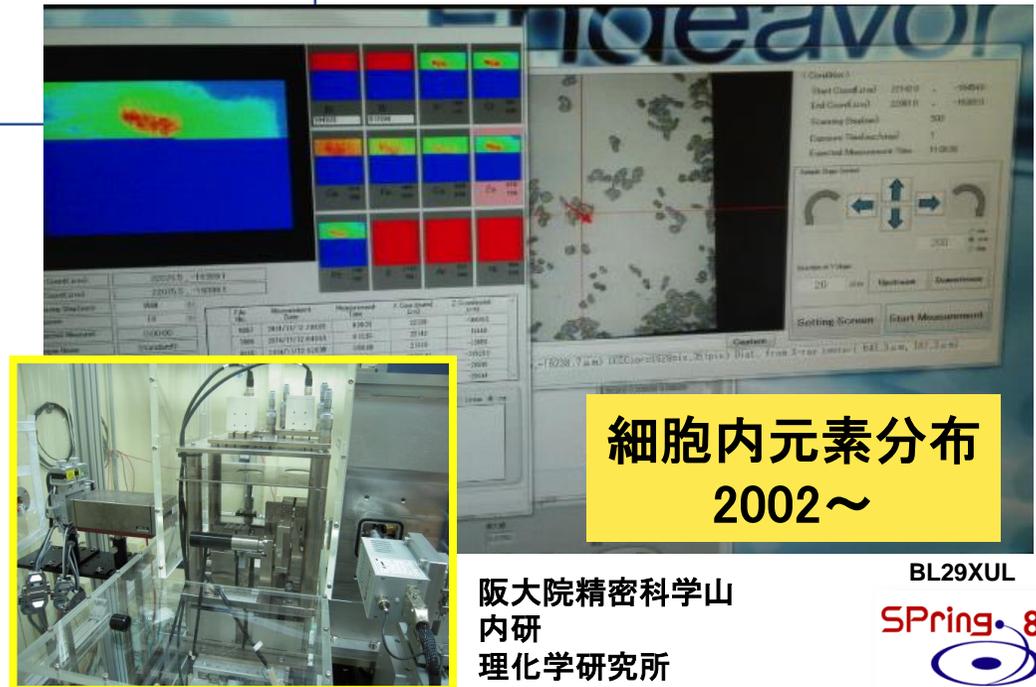
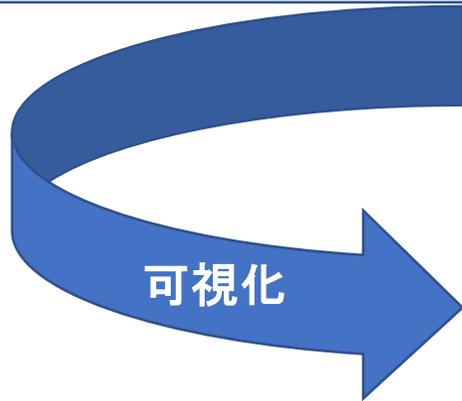
細胞脂質染色法による薬剤副作用スクリーニングの検討 (April, 2017~)

細胞内飽和脂肪酸の可視化成功 (世界初 2016~)

中性脂質を構成する脂肪酸の可視化



P: パルミチン酸
O: オレイン酸
S: ステアリン酸
L: リノール酸
Po: パルミトオレイン酸



阪大院精密科学山
内研
理化学研究所



研究発表及び特許取得報告について

課題番号：29a1020

研究課題名：細胞内脂質イメージング法によるHIVプロテアーゼ阻害剤による脂質代謝異常の解明

主任研究者名：志村まり

論文発表

論文タイトル	著者	掲載誌	掲載号	年
Visualization of intracellular elements using scanning X-ray fluorescence microscopy	Shimura M, Szyrwiel L, Matsuyama S and Yamauchi K	Chapter 3, Metallomics, Recent analytical techniques and applications, Springer	pp63-92	2017

学会発表

タイトル	発表者	学会名	場所	年月
X線によりわかること-医学・生物応用-	志村まり	第25回Spring-8/SACLA 施設公開	播磨	4月、2017
蛍光X線顕微鏡による細胞内元素の高分解イメージングの試み	志村まり	第27回金属の関与する生体関連反応シンポジウム, 招待講演	東京	6月、2017
Imaging of Intracellular Fatty Acids by a Single Element Labeling	Mari Shimura	Metallomics 2017	Vienna	8月、2017
X線顕微鏡で観る-医学生物応用, 特別公演II	志村まり	第28回日本臨床口腔病理学会総会	川越	9月、2017
走査型蛍光X線顕微鏡を用いた基礎医学研究	志村まり	第9回放射光基礎講習会日本放射光学会, 東京大学	東京	9月、2017
X線によりわかること-医学・生物応用-	志村まり	JASIS, 幕張メッセ	幕張	9月、2017
Visualization of Intracellular Elements by Scanning X-ray Fluorescence Microscopy-Application for Cell Biology and Medicine.	Mari Shimura	APWC 2017	Shimane	11月、2017
Application in Cell Biology and Medicine using X-ray.	Mari Shimura	APWC post conference, Tokyo Univ.	Tokyo	11月、2017

その他発表(雑誌、テレビ、ラジオ等)

タイトル	発表者	発表先	場所	年月日
該当なし				

特許取得状況について ※出願申請中のものは()記載のこと。

発明名称	登録番号	特許権者(申請者) (共願は全記載)	登録日(申請日)	出願国
該当なし				

※該当がない項目の欄には「該当なし」と記載のこと。
 ※主任研究者が班全員分の内容を記載のこと。