

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04105

研究課題名(和文) 機能性一本鎖抗体の創製と終末糖化産物による疾患メカニズムの解明

研究課題名(英文) Developments of functional single-chain antibodies and unraveling of mechanisms of diseases associated with advanced glycation end-products

研究代表者

森岡 弘志 (MORIOKA, Hiroshi)

熊本大学・大学院生命科学研究部(薬)・教授

研究者番号：20230097

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：終末糖化産物の一種であるGA-pyridine (GAP) を特異的に認識する一本鎖抗体に、グルカン認識タンパク質 (GRP) を結合させた新規機能性融合タンパク質を創製した。これを用いて血中GAP修飾タンパク質の濃縮を行い、質量分析法によるプロテオーム解析を進めたところ、炎症性疾患マーカーであるC反応性タンパク質 (CRP) のGAP修飾体 (GAP-CRP) が同定された。すなわち、GAP-CRPの血中濃度が腎機能低下の早期予測マーカーとなる可能性を見出した。今後、さらなる解析を進め、腎臓疾患の早期診断に有効なバイオマーカーの探索とその臨床応用を目指す。

研究成果の学術的意義や社会的意義

既存の免疫沈降法では、血液中存在する内在性の抗体も回収するので、標的抗原に対するモノクローン性を保証することはできない。これに対して、本研究で開発された新規一本鎖抗体融合タンパク質とカードランビーズを用いる方法は、非特異的結合が極めて少なく、モノクローン性が保証された優れた方法である。本研究の進展により、腎臓疾患の早期予測すなわち予防につながる。透析患者のおよそ4割は糖尿病性腎症が原因であり、透析患者数を減らすことができれば医療費の削減につながる。糖尿病合併症とAGEsとの関連解明を進めることは、腎臓病、糖尿病のみならず、認知症やガンに対する疾患予防にもつながる。

研究成果の概要(英文)：We have produced a novel functional fusion protein composed of a α -glucan recognition protein (GRP) and a single-chain antibody that specifically recognizes one of the advanced glycation end products, GA-pyridine (GAP). The GAP-modified protein in blood was concentrated by use of this fusion protein, and the proteome analysis by mass spectrometry was carried out. As a result, GAP-modified protein of C-reactive protein (CRP), which is a marker for inflammatory diseases, was identified, and it was found that the blood level of GAP-CRP could be an early predictive marker for renal impairment. In the near future, we would like to pursue further analysis and aim to search for biomarkers effective for early diagnosis of renal diseases and their clinical application.

研究分野：タンパク質工学・生化学・分子生物学

キーワード：一本鎖抗体 終末糖化産物 プロテオーム解析 バイオマーカー 糖尿病性腎症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

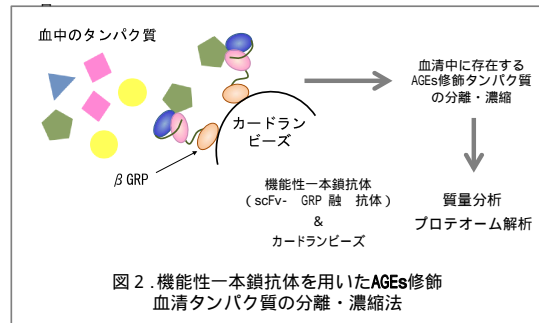
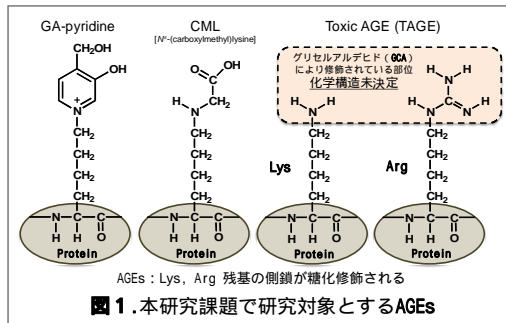
1. 研究開始当初の背景

生体内のタンパク質に非酵素的な糖化修飾が起こると、終末糖化産物 (Advanced Glycation End-products; AGEs) と呼ばれる多種多様な化合物が生じる。加齢や高血糖状態の持続による AGEs の蓄積は、糖尿病合併症や動脈硬化症などの疾患と強く関連している。糖尿病三大合併症 (腎症、網膜症、神経障害) では共通して血管障害が起こり、AGEs が加速度的に生成し、組織内に蓄積されることが原因であると推定されている。AGEs の細胞表面受容体の一つである RAGE (Receptor for AGEs) は、マルチリガンド受容体として AGEs と結合し、糖尿病以外にも様々な病態への関与が示唆されている。

本研究の代表者は、低分子抗体の一種である一本鎖抗体 (scFv) をもとにした機能性タンパク質の創製研究を進めている。これまで、標的抗原として 2 種の AGEs [GA-pyridine (GAP) およびカルボキシメチルリジン (CML)] に着目し、これらに特異的な scFv の調製し、抗原認識機構の解析を行った。一方、本研究の分担者である竹内は、解糖中間体であるグリセルアルデヒド (GCA) より生成される AGEs が、RAGE を介して糖尿病血管合併症の発症・進展に深く関わっていることを明らかにし、Toxic AGEs (TAGE) と命名した。このような背景のもと、一本鎖抗体創製技術を活用して、() 3 種の AGEs、TAGE、GAP、CML それぞれに特異的な機能性 scFv 分子を創製し、() 臨床検体から AGEs 修飾された血中タンパク質の分離・濃縮を行い、() これらのタンパク質試料をもとに質量分析法によるプロテオーム解析を進め、() AGEs 関連疾患の診断・予防に有用なバイオマーカーを探索するという着想に至った。

2. 研究の目的

本研究では、3 種の AGEs (TAGE、GAP、CML) 構造 (図 1) それぞれを特異的に識別する scFv に グルカン認識タンパク質 (GRP) を結合させた機能性 scFv 融合タンパク質を創製し、血液に存在する AGEs 修飾されたタンパク質の選択的分離・濃縮を行う。次に濃縮されたタンパク質を質量分析法によるプロテオーム解析によって同定し、AGEs 関連疾患の診断・予防に有用なバイオマーカーの探索を行う (図 2)。さらに、AGEs による細胞応答・細胞障害作用の解析ならびに AGEs と RAGE との分子間相互作用の物理化学的解析を行うことで、AGEs-RAGE 系により引き起こされる疾患発症・進展メカニズムの解明を目指す。なお、TAGE に関しては、数種類のモノクローナル抗体は樹立されているが、その化学構造は未だ明らかにされていない。質量分析法によるプロテオーム解析を行うため、TAGE 構造の解析を進める。



3. 研究の方法

本研究では、その目的の達成のため下記 (1)~(9)の研究を行った。

(1) GAP ならびに CML に特異的な機能性 scFv 融合タンパク質とカドランビーズを用いて、臨床検体 [健康人の血清、および、糖尿病性腎症患者の血清および血漿] から、AGEs 修飾されたタンパク質を分離・濃縮を行った。

(2) SDS-PAGE で濃縮が確認された試料を質量分析し、AGEs 修飾されたタンパク質を同定した。GAP、および、CML は構造既知なので修飾部位の特定を試みた。

(3) AGEs 修飾タンパク質の定量解析を Western Blotting 法によって行った。

(4) ペプチド合成用試薬であるベンジルオキシカルボニルリジン (Z-Lys) を原料にして、グリコールアルデヒド (GA) を反応させ、GAP を含む AGEs 混合物を得た。逆相 HPLC による分離を行い、AGEs 混合物の中から GAP 修飾された Z-Lys (Z-Lys/GAP) を調製した。

(5) Z-Lys を原料にして、GCA を反応させ、TAGE を含む AGEs 混合物を得た。逆相 HPLC による分離を行い、TAGE 特異的抗体を用いた競合 ELISA によって、AGEs 混合物の中から TAGE 分子の精製を試みた。

(6) 2 種類の TAGE 特異的抗体の可変領域 (VH、および、VL) 遺伝子のクローニングを行った。

(7) ファージディスプレイ法によって CML 特異的 scFv 抗体の抗原結合活性の改善を試みた。

(8) TAGE 修飾された Z-Lys 混合物を用いて、ヒト培養細胞 [膵腺癌由来細胞 (MIA-PaCa-2)、膵管癌由来細胞 (PANC-1) および、神経芽細胞腫 (SH-SY5Y)] に対する細胞障害作用を調べた。

(9) 遺伝子組換え型ヒト RAGE のリガンド結合領域 (VC1 ドメイン、および、その変異体) を大腸菌発現系により調製し、それらの三次構造を確認後、蛍光測定法により Z-Lys/GAP との相互作用を解析した。

4. 研究成果

(1) 大腸菌を用いた遺伝子発現システムで、GAP、および、CML にそれぞれ特異的な機能性 scFv 融合タンパク質 GAP(73MuL9)scFv-GRP、GAP(73MuH19)scFv-GRP、および、CMLscFv-GRP を調製した。これらの融合抗体とカードランビーズを用いたアフィニティシステムを構築した。健康人の血清試料を用いて実験を進めたところ、この免疫沈降法は非特異的吸着が極めて少ないことが示され、様々なタンパク質が濃縮されているがわかった。それらの濃縮液を Western blotting によって解析した結果、GAP、および、CML 修飾タンパク質が特異的に濃縮されていることが確認できた。特に、GAP(73MuL9)scFv-GRP 融合抗体を用いた実験から、LC-MS/MS 測定後、UniProt human proteome database により 107 種類のタンパク質が同定された。

(2) TAGE に特異的な抗体の可変領域 (VH、および、VL) のアミノ酸配列を決定した。

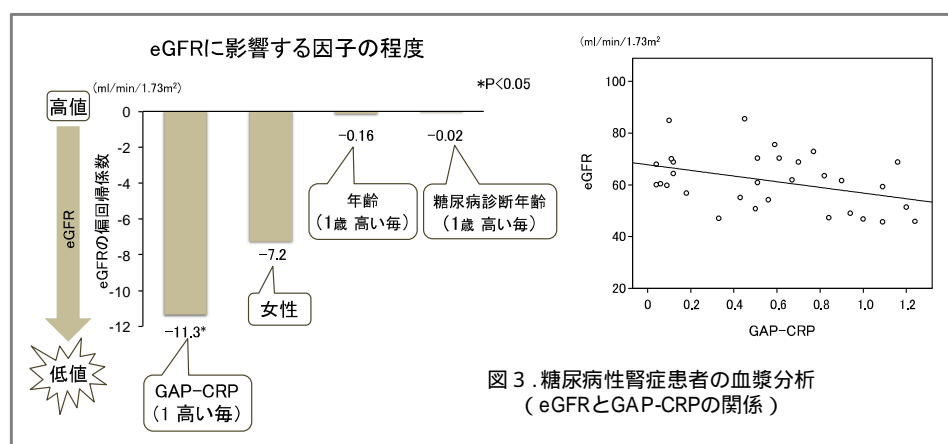
(3) ペプチド合成用試薬である Z-Lys を原料にして、GCA を反応させ、TAGE を含む AGEs 混合物を得た。リン酸緩衝液中で作製された混合物では、ヒト培養細胞 [神経芽細胞腫 (SH-SY5Y)] で細胞障害作用がみられた。逆相 HPLC によって分離・分析を試みたところ、いずれもブロードな 2 つのピークが現れた。TAGE 特異的な抗体を用いた競合 ELISA により、TAGE の生成はどちらのピークにも観察されたが、化学構造を決定できるまで高純度に精製することができなかった。

(4) CML を含む合成ペプチドは依頼合成により得た。CMLscFv-GRP の抗原結合能が低いことが判明したので、ファージディスプレイ法によるランダム変異導入を行い、抗原結合性の高いクローンの探索を試みた。しかしながら、本研究に適用可能なクローンを得ることはできなかった。

(5) 当初、標的とする AGEs は、TAGE、GAP、および、CML の 3 種類であったが、() TAGE の化学構造の決定が非常に困難であったこと、ならびに、() 抗原結合能が高い CMLscFv-GRP を得ることができなかったことから、本研究目的を達成するために、TAGE 構造の解析作業を継続するとともに、GAP 修飾された血中タンパク質に関する解析を重点的に進めることにした。

(6) GAP に特異的な 2 種類の scFv-GRP 融合抗体 [GAP(73MuL9)scFv-GRP、および、GAP(73MuH19)scFv-GRP] を用いて、糖尿病性腎症患者の血清および血漿試料から、カードランビーズを用いた免疫沈降法による GAP 修飾タンパク質の濃縮・分離を行った。質量分析法により、数種類の GAP 修飾タンパク質が同定された。それらタンパク質のうち、補体系タンパク質 (C1r) と炎症性疾患に関わるタンパク質 [C 反応性タンパク質 (CRP)] が Western blotting 解析により再確認され (修飾部位の未決定)、これらを選択し解析を進めることにした。

(7) 34 名の糖尿病性腎症患者の血漿試料に対して、GAP 特異的な機能性融合タンパク質 GAP(73MuH19)scFv-GRP を用いて、C 反応性タンパク質 (CRP) の GAP 修飾体 (GAP-CRP) を免疫沈降法により回収し、抗 CRP 抗体を用いた Western Blotting により GAP-CRP の定量解析を行った。その結果、推算糸球体濾過量 (eGFR) が 45 以上の患者 (31 名) において、GAP-CRP 値が性別、年齢、糖尿病診断年齢と独立して eGFR 低値に有意に相関しており、GAP-CRP が早期の腎機能低下予測に有用である可能性が示唆された (図 3)。今後、さらなる解析を進め、腎臓疾患の早期診断に有効なバイオマーカーの探索とその臨床応用を目指す。



(8) 遺伝子組換え型 RAGE タンパク質のリガンド結合部位を調製し、Z-Lys/GAP との分子間相互作用を解析したところ、Z-Lys/GAP は RAGE 二量体の resting form の V ドメイン間相互作用部位の反対側に結合し、その結合により resting form の不安定化を引き起こして acting form へ構造変化させる可能性が示唆された。今後、さらに解析を進め、AGEs-RAGE 系により引き起こされる疾患発症・進展メカニズムの解明を目指した研究を行う。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 16件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 12件）

1. 著者名 Liu Chenjiang, Kobashigawa Yoshihiro, Yamauchi Soichiro, Fukuda Natsuki, Sato Takashi, Masuda Takeshi, Ohtsuki Sumio, Morioka Hiroshi	4. 巻 168
2. 論文標題 Convenient method of producing cyclic single-chain Fv antibodies by split-intein-mediated protein ligation and chaperone co-expression	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvaa042	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Alam Mohammad Mamun, Kuwata Takeo, Tanaka Kazuki, Alam Muntasir, Takahama Shokichi, Shimura Kazuya, Matsuoka Masao, Fukuda Natsuki, Morioka Hiroshi, Tamamura Hirokazu, Matsushita Shuzo	4. 巻 20
2. 論文標題 Synergistic inhibition of cell-to-cell HIV-1 infection by combinations of single chain variable fragments and fusion inhibitors	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemistry and Biophysics Reports	6. 最初と最後の頁 100687 ~ 100687
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrep.2019.100687	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Liu Chenjiang, Kobashigawa Yoshihiro, Yamauchi Soichiro, Toyota Yuya, Teramoto Manaka, Ikeguchi Yuka, Fukuda Natsuki, Sato Takashi, Sato Yuko, Kimura Hiroshi, Morioka Hiroshi	4. 巻 166
2. 論文標題 Preparation of single-chain Fv antibodies in the cytoplasm of Escherichia coli by simplified and systematic chaperone optimization	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 455 ~ 462
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvz059	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yamauchi Soichiro, Kobashigawa Yoshihiro, Fukuda Natsuki, Teramoto Manaka, Toyota Yuya, Liu Chenjiang, Ikeguchi Yuka, Sato Takashi, Sato Yuko, Kimura Hiroshi, Masuda Takeshi, Ohtsuki Sumio, Noi Kentaro, Ogura Teru, Morioka Hiroshi	4. 巻 24
2. 論文標題 Cyclization of Single-Chain Fv Antibodies Markedly Suppressed Their Characteristic Aggregation Mediated by Inter-Chain VH-VL Interactions	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 2620 ~ 2620
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules24142620	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sasao, A., Takaki, M., Jeong, H. J., Yonemitsu, K., Ohtsu, Y., Tsutsumi, H., Furukawa, S., Morioka, H., Ueda, H. and Nishitani, Y.	4. 巻 11
2. 論文標題 Development of a fluvoxamine detection system using a Quenchbody, a novel fluorescent biosensor.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Drug Test. Anal.	6. 最初と最後の頁 601 ~ 609
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/dta.2520.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sakasai-Sakai Akiko, Takata Takanobu, Suzuki Hirokazu, Maruyama Ikuro, Motomiya Yoshihiro, Takeuchi Masayoshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Immunological evidence for in?vivo production of novel advanced glycation end-products from 1,5-anhydro-D-fructose, a glycogen metabolite	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 10194 ~ 10194
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-46333-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takata Takanobu, Sakasai-Sakai Akiko, Ueda Tadashi, Takeuchi Masayoshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Intracellular toxic advanced glycation end-products in cardiomyocytes may cause cardiovascular disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 2121 ~ 2121
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-39202-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takata Takanobu, Sakasai-Sakai Akiko, Takino Jun-ichi, Takeuchi Masayoshi	4. 巻 11
2. 論文標題 Evidence for Toxic Advanced Glycation End-Products Generated in the Normal Rat Liver	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 1612 ~ 1612
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu11071612	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sakasai-Sakai Akiko, Takata Takanobu, Takino Jun-ichi, Takeuchi Masayoshi	4. 巻 11
2. 論文標題 The Relevance of Toxic AGEs (TAGE) Cytotoxicity to NASH Pathogenesis: A Mini-Review	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 462 ~ 462
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu11020462	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sasao Ako, Takaki Michiyo, Ohtsu Yuki, Mishima Satoko, Yonemitsu Kosei, Morioka Hiroshi, Nishitani Yoko	4. 巻 35
2. 論文標題 Development of an immunoassay for fluvoxamine detection using a recombinant single-chain variable fragment antibody	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Forensic Toxicology	6. 最初と最後の頁 301 ~ 308
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi:10.1007/s11419-017-0358-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fukuda N, Noi K, Weng LD, Kobashigawa Y, Miyazaki H, Wakeyama Y, Takaki M, Nakahara Y, Tatsuno Y, Uchida-Kamekura M, Suwa Y, Sato T, Ichikawa-Tomikawa N, Nomizu M, Fujiwara Y, Ohsaka F, Saitoh T, Maenaka K, Kumeta H, Shinya S, Kojima C, Ogura T, Morioka H	4. 巻 22
2. 論文標題 Production of Single-Chain Fv Antibodies Specific for GA-Pyridine, an Advanced Glycation End-Product (AGE), with Reduced Inter-Domain Motion	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 1695 ~ 1695
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi:10.3390/molecules22101695	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sakasai-Sakai Akiko, Takata Takanobu, Takino Jun-ichi, Takeuchi Masayoshi	4. 巻 7
2. 論文標題 Impact of intracellular glyceraldehyde-derived advanced glycation end-products on human hepatocyte cell death	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 14282 ~ 14282
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-14711-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takata Takanobu, Ueda Tadashi, Sakasai-Sakai Akiko, Takeuchi Masayoshi	4. 巻 23
2. 論文標題 Generation of glyceraldehyde-derived advanced glycation end-products in pancreatic cancer cells and the potential of tumor promotion	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 World Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 4910 ~ 4910
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3748/wjg.v23.i27.4910	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計63件(うち招待講演 9件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 劉 宸江, 豊田湧也, 福田夏希, 佐藤卓史, 小橋川敬博, 森岡弘志
2. 発表標題 一本鎖抗体の効率的試料調製法に関する研究
3. 学会等名 平成30年度日本生化学会九州支部例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森岡弘志, 山内聡一郎, 福田夏希, 寺本真香, 劉 宸江, 豊田湧也, 池口友佳, 佐藤卓史, 小橋川敬博
2. 発表標題 環状一本鎖抗体を実用化する
3. 学会等名 第22回生命化学研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山内聡一郎, 豊田湧也, 寺本真香, 福田夏希, 佐藤卓史, 小橋川敬博, 野井健太郎, 小椋 光, 森岡弘志
2. 発表標題 環状一本鎖抗体の創製とその凝集安定性の評価
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会・第71回日本細胞生物学会大会 合同年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 劉 宸江, 豊田湧也, 福田夏希, 佐藤卓史, 小橋川敬博, 森岡弘志
2. 発表標題 一本鎖抗体の効率的な調製手法の開発
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会・第71回日本細胞生物学会大会 合同年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 劉 宸江, 豊田湧也, 福田夏希, 佐藤卓史, 小橋川敬博, 森岡弘志
2. 発表標題 分子シャペロンおよび細胞内インテイン反応を介した環状一本鎖抗体調製システムの構築
3. 学会等名 第19回次世代創薬研究者養成塾
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 胡 艶萍, 佐藤卓史, 山内聡一郎, 福田夏希, 小橋川敬博, 堀内正隆, 増田 豪, 大槻純男, 森岡弘志
2. 発表標題 前処理不要で非特異的吸着がない汎用性の高い免疫沈降システムの開発
3. 学会等名 第19回次世代創薬研究者養成塾
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福田夏希, 佐藤卓史, 北崎雅也, 胡 艶萍, 小橋川敬博, 坂本優季, 鬼木健太郎, 猿渡淳二, 森岡弘志
2. 発表標題 機能性一本鎖抗体を用いた血中AGE修飾タンパク質の解析法の開発
3. 学会等名 第59回日本臨床化学会年次学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森岡弘志
2. 発表標題 実用化を目指した新規低分子抗体
3. 学会等名 BioJAPAN 2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡崎 匡, 山内聡一郎, 劉 宸江, 大原隼也, 福田夏希, 佐藤卓史, 小橋川敬博, 森岡弘志
2. 発表標題 ダイオキシン誘導体を識別する一本鎖抗体の抗原認識機構に関する分子動力学法による解析
3. 学会等名 第36回日本薬学会九州支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹内正義
2. 発表標題 TAGEの最新知見とコラーゲントリペプチド
3. 学会等名 ゼライス研究セミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹内正義
2. 発表標題 Toxic AGEs (TAGE)を防いで生活習慣病予防 ~NASH、食後高血糖、心血管疾患から不妊症まで~
3. 学会等名 東北フレイル研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹内正義、瀧野純一、逆井(坂井)亜紀子、高田尊信
2. 発表標題 非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) の発症・進展におけるToxic AGEs (TAGE) の関与
3. 学会等名 第73回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高田尊信、逆井-坂井亜紀子、竹内正義
2. 発表標題 Toxic AGEs (TAGE) 生成・蓄積が引き起こす心筋細胞障害
3. 学会等名 第34回日本糖尿病合併症学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高田尊信、逆井(坂井)亜紀子、竹内正義
2. 発表標題 心筋細胞内毒性終末糖化産物(toxic AGEs, TAGE)が心血管疾患を発症させる
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山内聡一郎、福田夏希、寺本真香、佐藤卓史、小橋川敬博、野井健太郎、小椋 光、森岡弘志
2. 発表標題 実用化に向けた安定な一本鎖抗体の創製
3. 学会等名 第18回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 豊田湧也, 大原隼也, 森田光佑, 有森貴夫, 佐藤卓史, 小橋川敬博, 中村照也, 山縣ゆり子, 高木淳一, 森岡弘志
2. 発表標題 GA-pyridineを認識する抗体の抗原認識機構に関する研究
3. 学会等名 第18回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 劉 宸江, 豊田湧也, 福田夏希, 佐藤卓史, 小橋川敬博, 森岡弘志
2. 発表標題 大腸菌発現系を用いた一本鎖抗体の効率的試料調製法に関する研究
3. 学会等名 平成30年度日本生化学会九州支部例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山内聡一郎, 福田夏希, 寺本真香, 佐藤卓史, 小橋川敬博, 野井健太郎, 小椋 光, 森岡弘志
2. 発表標題 実用化へ向けた安定な一本鎖抗体の創製
3. 学会等名 第42回蛋白質と酵素の構造と機能に関する九州シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 豊田湧也, 大原隼也, 森田光佑, 有森貴夫, 佐藤卓史, 小橋川敬博, 小谷俊介, 中島 誠, 中村照也, 山縣ゆり子, 高木淳一, 森岡弘志
2. 発表標題 GA-pyridineを認識する抗体の抗原認識機構に関するケミカルバイオロジー的解析および構造生物学的解析
3. 学会等名 第42回蛋白質と酵素の構造と機能に関する九州シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 劉 宸江, 豊田湧也, 福田夏希, 佐藤卓史, 小橋川敬博, 森岡弘志
2. 発表標題 一本鎖抗体の効率的発現系の構築に向けた大腸菌発現系の検討
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山内聡一郎, 豊田湧也, 寺本真香, 福田夏希, 佐藤卓史, 小橋川敬博, 野井健太郎, 小椋 光, 森岡弘志
2. 発表標題 実用化を目指した安定な一本鎖抗体の創製
3. 学会等名 第35回日本薬学会九州支部大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 劉 宸江, 豊田湧也, 福田夏希, 佐藤卓史, 小橋川敬博, 森岡弘志
2. 発表標題 効率的な一本鎖抗体発現系の構築を目的とした大腸菌シャペロン共発現の検討
3. 学会等名 第35回日本薬学会九州支部大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 翁 力棟, 劉 宸江, 豊田湧也, 林田大輝, 福田夏希, 佐藤卓史, 小橋川敬博, 久米田博之, 新家粧子, 児嶋長次郎, 森岡弘志
2. 発表標題 終末糖化産物の一種であるGA-pyridineに特異的な一本鎖抗体 (scFv) 変異体間の認識機構の違い
3. 学会等名 第35回日本薬学会九州支部大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森岡弘志, 山内聡一郎, 豊田湧也, 寺本真香, 福田夏希, 佐藤卓史, 小橋川敬博
2. 発表標題 環状一本鎖抗体の作製と評価
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 竹内正義
2. 発表標題 生活習慣病の発症・進展における新規ターゲットToxic AGEs (TAGE) ~メタボ、糖尿病から合併症まで~
3. 学会等名 第18回日本抗加齢医学会総会シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 竹内正義
2. 発表標題 Toxic AGEs (TAGE) と生活習慣病 ~NASH、食後高血糖、心血管疾患から不妊症まで~
3. 学会等名 第59回日本人間ドック学会学術大会ランチョンセミナー(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 竹内正義、逆井亜紀子、高田尊信
2. 発表標題 生活習慣病の発症・進展における新規バイオマーカー Toxic AGEs (TAGE)
3. 学会等名 第72回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 逆井(坂井)亜紀子、高田尊信、瀧野純一、堤 幹宏、竹内正義
2. 発表標題 NAFLD/ALDの発症・進展におけるToxic AGEs (TAGE) の関与
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高田尊信、逆井亜紀子、瀧野純一、堤 幹宏、竹内正義
2. 発表標題 非アルコール性及びアルコール性肝疾患の発症・進展に共通する新規ターゲット分子Toxic AGEs (TAGE)
3. 学会等名 第18回日本抗加齢医学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高田尊信、逆井(坂井)亜紀子、竹内正義
2. 発表標題 膵癌細胞内におけるグリセルアルデヒド由来終末糖化産物の生成・蓄積と膵癌促進の可能性
3. 学会等名 第28回日本メイラード学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 逆井(坂井)亜紀子、高田尊信、竹内正義
2. 発表標題 肝実質細胞死におけるグリセルアルデヒド由来終末糖化産物の関与
3. 学会等名 第28回日本メイラード学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 竹内正義、瀧野純一、逆井(坂井)亜紀子、高田尊信
2. 発表標題 NASHの発症・進展における新規ターゲットToxic AGEs (TAGE)
3. 学会等名 第33回日本糖尿病合併症学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 竹内正義、高田尊信、逆井(逆井)亜紀子
2. 発表標題 Toxic AGEs (TAGE) は生活習慣病の新規バイオマーカーである
3. 学会等名 第25回日本未病システム学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 竹内正義
2. 発表標題 生活習慣病における新規ターゲットToxic AGEs (TAGE) ~NASH、糖尿病、心血管疾患から不妊症まで~
3. 学会等名 第53回日本成人病(生活習慣病)学会学術集会シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹内正義、逆井亜紀子、高田尊信
2. 発表標題 血中Toxic AGEs (TAGE) は生活習慣病予防および健康寿命延伸における新規バイオマーカー
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 豊田湧也, 大原隼也, 森田光佑, 有森貴夫, 佐藤卓史, 小橋川敬博, 小谷俊介, 中島 誠, 中村照也, 山縣ゆり子, 高木淳一, 森岡弘志
2. 発表標題 構造生物学ならびにケミカルバイオロジーの手法を用いたGA-pyridineを認識する抗体の特異性・抗原認識機構の解明
3. 学会等名 第6回生命分子科学研究会 Biomolecular Science Meeting
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 劉 宸江, 豊田湧也, 福田夏希, 佐藤卓史, 小橋川敬博, 森岡弘志
2. 発表標題 実用化に向けたscFvの効率的な調製手法の開発
3. 学会等名 第6回生命分子科学研究会 Biomolecular Science Meeting
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山内聡一郎, 豊田湧也, 寺本真香, 福田夏希, 佐藤卓史, 小橋川敬博, 野井健太郎, 小椋 光, 森岡弘志
2. 発表標題 環状一本鎖抗体の創製とその凝集安定性の評価
3. 学会等名 第6回生命分子科学研究会 Biomolecular Science Meeting
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福田夏希, 山内聡一郎, 佐藤卓史, 小橋川敬博, 堀内正隆, 増田 豪, 大槻純男, 森岡弘志
2. 発表標題 機能性一本鎖抗体を用いた血清AGE修飾タンパク質の解析法の開発
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 劉 宸江, 豊田湧也, 福田夏希, 佐藤卓史, 小橋川敬博, 森岡弘志
2. 発表標題 大腸菌シャペロン共発現システムによる一本鎖抗体の効率的発現法の検討
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山内聡一郎, 豊田湧也, 寺本真香, 福田夏希, 佐藤卓史, 小橋川敬博, 野井健太郎, 小椋 光, 森岡弘志
2. 発表標題 凝集性改善を目的とした環状一本鎖抗体の作製と機能評価,
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山内聡一郎, 福田夏希, 佐藤卓史, 増田 豪, 堀内正隆, 小橋川敬博, 大槻純男, 森岡弘志
2. 発表標題 一本鎖抗体を用いたAGEs修飾タンパク質の分離・濃縮法の開発
3. 学会等名 第12回日本ケミカルバイオロジー学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 森岡弘志
2. 発表標題 高品質な一本鎖抗体の創製に向けた物理化学的手法による評価
3. 学会等名 第3回蛋白質工学研究会ワークショップ(招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 森岡弘志
2. 発表標題 高品質な一本鎖抗体の創製と血清AGE修飾タンパク質の解析，第49回若手ペプチド夏の勉強会
3. 学会等名 第49回若手ペプチド夏の勉強会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 翁 力棟，宮崎広海，分山結加里，中原悠介，福田夏希，佐藤卓史，小橋川敬博，森岡弘志
2. 発表標題 NMR解析に向けた終末糖化産物の1種であるGA-pyridineに対する一本鎖抗体（scFv）の創製
3. 学会等名 第41回蛋白質と酵素の構造と機能に関する九州シンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 森田光佑，小谷俊介，中島 誠，福田夏希，佐藤卓史，小橋川敬博，森岡弘志
2. 発表標題 終末糖化産物GA-pyridineに対する一本鎖抗体の抗原特異性と親和性の評価
3. 学会等名 2017年度 生命科学系学会合同年次大会（第40回日本分子生物学会年会、第90回日本生化学会大会）ConBio2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 福田夏希，山内聡一郎，早野 翼，佐藤卓史，増田 豪，堀内正隆，小橋川敬博，大槻純男，森岡弘志
2. 発表標題 一本鎖抗体融合分子を用いた血清AGEs修飾タンパク質の分離・濃縮法の開発
3. 学会等名 2017年度 生命科学系学会合同年次大会（第40回日本分子生物学会年会、第90回日本生化学会大会）ConBio2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 竹内正義
2. 発表標題 生活習慣病の発症・進展における新規原因物質Toxic AGEs (TAGE)について学ぶ
3. 学会等名 第6回 眼と全身疾患セミナー（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 逆井（坂井）亜紀子、高田尊信、瀧野純一、竹内正義
2. 発表標題 糖尿病の発症・進展におけるToxic AGEs (TAGE) の関与 - 新たな予防概念 -
3. 学会等名 第60回日本糖尿病学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 高田尊信、逆井（坂井）亜紀子、瀧野純一、竹内正義
2. 発表標題 生活習慣病の発症・進展におけるToxic AGEs (TAGE) の関与 - 新たな予防概念 -
3. 学会等名 第17回日本抗加齢医学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 逆井（坂井）亜紀子、高田尊信、竹内正義
2. 発表標題 糖尿病の発症・進展におけるTAGEの関与 - 新たな予防概念 -
3. 学会等名 日本糖尿病学会第91回中部地方会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 高田尊信、逆井（坂井）亜紀子、竹内正義
2. 発表標題 ヒト株化膵管上皮癌培養細胞におけるTAGE生成 / 蓄積と膵癌促進の可能性
3. 学会等名 日本糖尿病学会第91回中部地方会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 高田尊信、逆井（坂井）亜紀子、竹内正義
2. 発表標題 生活習慣病の発症・進展における新規バイオマーカーとしてのToxic AGEs (TAGE)
3. 学会等名 第24回日本未病システム学会学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 逆井（坂井）亜紀子、竹内正義、瀧野純一、高田尊信、堤 幹宏
2. 発表標題 NAFLDとALDの発症・進展におけるToxic AGEs (TAGE) の関与
3. 学会等名 第24回日本未病システム学会学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 逆井（坂井）亜紀子、高田尊信、竹内正義
2. 発表標題 肝実質細胞死におけるグリセルアルデヒド由来終末糖化産物の関与
3. 学会等名 第40回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 竹内正義
2. 発表標題 生活習慣病の発症・進展における新規原因物質Toxic AGEs (TAGE) ~ 糖尿病、NASH、癌から不妊まで ~
3. 学会等名 東京都医学総合研究所セミナー (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 翁 力棟, 宮崎広海, 分山結加里, 中原悠介, 福田夏希, 佐藤卓史, 小橋川敬博, 野井健太郎, 小椋 光, 久米田博之, 前仲勝実, 森岡弘志
2. 発表標題 NMR解析に向けた終末糖化産物の1種であるGA-pyridinelに対する一本鎖抗体 (scFv) の創製
3. 学会等名 第5回生命分子科学研究会 Biomolecular Science Meeting
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 寺本真香, 池口友佳, 福田夏希, 佐藤卓史, 小橋川敬博, 木村 宏, 森岡弘志
2. 発表標題 ヒストン翻訳語修飾体を標的とする一本鎖抗体の機能評価
3. 学会等名 第5回生命分子科学研究会 Biomolecular Science Meeting
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 豊田湧也, 大原隼也, 森田光佑, 有森貴夫, 佐藤卓史, 小橋川敬博, 中村照也, 山縣ゆり子, 高木淳一, 森岡弘志
2. 発表標題 GA-pyridineを認識するフラグメント抗体 (Fv-clasp) の結晶構造解析及び抗原認識機構の物理化学的解析
3. 学会等名 第5回生命分子科学研究会 Biomolecular Science Meeting
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山内聡一郎, 福田夏希, 寺本真香, 佐藤卓史, 小橋川敬博, 野井健太郎, 小椋 光, 森岡弘志
2. 発表標題 実用化に向けた安定な一本鎖抗体の創製
3. 学会等名 第5回生命分子科学研究会 Biomolecular Science Meeting
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 劉 宸江, 豊田湧也, 福田夏希, 佐藤卓史, 小橋川敬博, 森岡弘志
2. 発表標題 大腸菌発現系を用いた一本鎖抗体の効率的試料調製法に関する研究
3. 学会等名 第5回生命分子科学研究会 Biomolecular Science Meeting
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 竹内正義, 逆井亜紀子, 高田尊信, 瀧野純一, 堤幹宏
2. 発表標題 NAFLD/ALDの発症・進展におけるToxic AGEs (TAGE) 病因説
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高田尊信, 逆井(坂井)亜紀子, 竹内正義
2. 発表標題 ヒト株化膵管上皮癌培養細胞におけるTAGE生成 / 蓄積と膵癌促進の可能性
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計3件

産業財産権の名称 終末糖化産物に対する抗体およびその使用	発明者 竹内 正義、山本 哲 郎、土田 仁美、森岡 弘志、山内 聡一郎	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特開2019 - 041668	出願年 2017年	国内・外国の別 国内
産業財産権の名称 環状一本鎖抗体	発明者 森岡 弘志、小橋川 敬博、佐藤 卓史、福 田 夏希、山内 聡一	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018 - 130203	出願年 2018年	国内・外国の別 国内
産業財産権の名称 環状一本鎖抗体	発明者 森岡 弘志、小橋川 敬博、佐藤 卓史、福 田 夏希、山内 聡一	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、WO 2020/013126	出願年 2019年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔その他〕

<p>熊本大学 大学院生命科学研究部 生命分析化学分野 http://seimeibunseki.org</p>
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	竹内 正義 (TAKEUCHI Masayoshi) (20154982)	金沢医科大学・総合医学研究所・教授 (33303)	
研究分担者	小橋川 敬博 (KOBASHIGAWA Yoshihiro) (90455600)	熊本大学・大学院生命科学研究部(薬)・准教授 (17401)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	佐藤 卓史 (SATO Takashi) (70555755)	熊本大学・大学院生命科学研究部（薬）・助教 (17401)	
研究 協力者	福田 夏希 (FUKUDA Natsuki)	熊本大学・大学院生命科学研究部（薬）・博士研究員	
連携 研究者	前仲 勝実 (MAENAKA Katsumi) (10322752)	北海道大学・薬学研究科（研究院）・教授 (10101)	
連携 研究者	大槻 純男 (OHTSUKI Sumio) (60323036)	熊本大学・大学院生命科学研究部（薬）・教授 (17401)	