



国立大学法人岡山大学 自然生命科学研究支援センター
光・放射線情報解析部門 鹿田施設

鹿田施設ニュース

No.3 2008 年 7 月

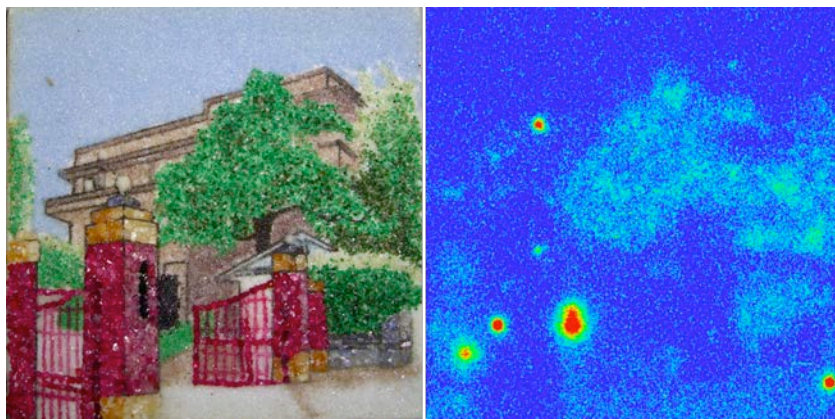
巻頭言

小野俊朗

自然生命科学研究支援センター光・放射線情報解析部門鹿田施設は平成 15 年に組織改組により新たな体制でスタートして 5 年が経過しました。鹿田施設は旧アイソトープ総合センターを引継ぎ、岡山大学の放射性同位元素・放射線利用や放射線安全管理の中核施設としての役割を担って日々の支援活動を行っています。これらの中で、放射線障害防止法に規定された教育訓練は当然のことですが、学内あるいは学外での放射線教育に関しての支援に私どもが積極的に係わっていくことが今後ますます重要になっていくと考えられます。

放射線障害防止法に規定された新規教育訓練については年 6 回行なっております。第 1 日目は講義を、第 2 日目には密封及び非密封放射性同位元素の安全取扱の実習を行なっております。特に私どもは実習の重要性を認識し、当日はスタッフ一丸となって取り組んでおります。さらに、平成 16 年度より日本語がまだよく理解できない留学生に対して英語による教育訓練を開始しました。午前中に講義を行い、午後は日本語によるものと同じ内容で安全取扱の実習を行なっております。5 年目に入り今年度は他大学の留学生の受講も受入れ、この英語による教育訓練も認知され定着してきました。

今後、鹿田施設は一般教養としての放射線教育へ係わっていくことも求められており、私どもは岡山大学にとってますます必要とされる施設でありたいと願っております。



〈ジェムストーン画：イメージングプレートを使うとジルコンなどからの放射線が観察される〉

目次

巻頭言.....	1
話題.....	3
1 鹿田施設 web ページ	3
2 緊急時対応マニュアルの整備について.....	4
3 X線 μ CTの説明会の開催	4
研究紹介.....	5
新実験機器の紹介	9
利用統計.....	10
利用者の推移	10
研究課題数	10
購入核種の推移	10
鹿田施設スタッフおよび委員会委員	11
施設スタッフ	11
委員会委員	11
運営日誌.....	12
あとがき.....	14

話題

1 鹿田施設 web ページ

当施設のホームページは、岡山大学のトップページ（URL <http://www.okayama-u.ac.jp/>）から病院・図書館等のページへアクセスすると自然科学研究支援センターのトップページにつながります。その中の光・放射線情報解析部門 鹿田施設をクリックすると下に示す当施設のトップページにたどりつきます。直接アクセスするには、下記のURLにアクセスするかQRコードにアクセスしてください。

当施設の活動報告
現場の写真を豊富に盛り込みながら行っております。

日本語教育訓練
日程、プログラムなどを掲載しています。その他講習会テキストのダウンロードも可能です。（学内限定）

英語教育訓練
外国人留学生を対象に英語の教育訓練を行っています。短期留学等で日本語が全くできない学生には心強い味方です。

サービス・料金等
利用手続きの手順やご利用料金や行事カレンダーからアイソトープの注文方法に至るまで各種サービスの充実が心がけています。

リンク
岡山大学Topページ、自然科学研究支援センターTopページ等からの相互リンクを行っています。

当施設の活動報告を是非ごらんください。
<http://hikari2.med.okayama-u.ac.jp/>

The screenshot shows the homepage of the Shikata Lab, part of the Department of Radiation Research at Okayama University. The page features a navigation menu with categories like 'Education and Training', 'Services and Fees', 'New Equipment', and 'Links'. A prominent 'New Education Training' banner is visible. Callouts from the surrounding text boxes point to specific elements on the page: '当施設の活動報告' points to the 'What's New' section; '日本語教育訓練' points to the 'Education and Training' section; '英語教育訓練' points to the 'English Course' section; 'サービス・料金等' points to the 'Services and Fees' section; 'リンク' points to the 'Links' section; '放射線関連規程等' points to the 'Radiation Safety Procedures' section; '施設職員' points to the 'Staff' section; 'アクセスマップ' points to the 'Access Map' section; and '主要機器類' points to the 'Main Equipment' section.

放射線関連規程等
岡山大学の全放射線施設の放射線障害予防規程のページへリンクしています。（学内限定）

施設職員
研究業績等も掲載しております。

アクセスマップ
岡山大学の当施設へご来館予定の方は、このページをご覧ください。バスの路線から運賃まで掲載しております。

停電情報
当施設に影響のある停電情報をリアルタイムで掲載しております。随時チェックし計画的な実験をお願いします。

主要機器類
新規購入機器や更新機器をご紹介しますとともに、簡単な取扱マニュアルなどを掲載しています。



鹿田施設QRコード

2 緊急時対応マニュアルの整備について

緊急時の適切な対応は RI を取り扱う施設においては特に重要です。大学等放射線施設協議会では緊急時の対応のためのモデルマニュアルを作製しました。鹿田施設でもこれを基に、鹿田施設の緊急時対応マニュアルの作製を行っています。あまり詳細なマニュアルはかえって役に立たないとの考えから、火災、地震、被曝、輸送中の事故等の事例ごとに A4 版 1 枚程度になる予定です。緊急時の対応については予防規定に定められていますので、マニュアルはその補足資料と位置づけられます。今後、各方面との調整の後、出入り口、構内電話付近に常備する予定です。

3 X線 μ CTの説明会の開催

平成19年9月10、11日、50名を超える参加者によるマイクロX線CT(リガク)の説明会が開催されました。新しい μ CTは**従来装置で数十分かかっていたCT撮影をわずか17秒に短縮でき、スライス画像表示の他、3D画像表示、X線透視表示、血管造影機能など多彩な用途に対応できる**ようです。利用者からの導入の要望も多く鹿田施設としても早急に導入できればと考えています。



X線 μ CT全体像

研究紹介

マクロファージによる酸化 LDL 取り込みに及ぼす酸化 LDL 抗体の作用と 抗リン脂質抗体症候群でみられる自己抗体の作用の比較

細胞化学 小林和子 松浦栄次

抗リン脂質抗体症候群 (Antiphospholipid syndrome; APS) とは、免疫学的検査あるいは凝固学的検査によって抗カルジオリピン抗体やループスアンチコアグラントなど、いわゆる抗リン脂質抗体が検出され、動静脈血栓症または妊娠合併症を生ずる、難治性の自己免疫疾患である。抗リン脂質抗体は実際にはリン脂質上のリン脂質結合蛋白を認識しており、その代表的なものが β_2 -グリコプロテイン I (β_2 GPI) である。 β_2 GPI は、血漿中に $200 \mu\text{g/ml}$ と比較的高濃度に存在する、分子量約 50 kDa の糖蛋白であり、陰性荷電リン脂質に結合して、プロトンビナーゼ活性の抑制、血小板凝集の抑制などさまざまな生理活性を示す。抗リン脂質抗体が標的とするエピトープは β_2 GPI がリン脂質に結合して立体構造が変化することによって初めて表出すると考えられる。抗リン脂質抗体が血栓症を引き起こす原因としては、凝固異常の他に、動脈硬化の促進や血管内皮細胞の活性化などが考えられている。APS 患者の中に、他のリスクファクターが無く若年性の動脈硬化を呈する例が有ることから、我々は、抗 β_2 GPI 自己抗体の動脈硬化発症との関わりについて研究を行ってきた。

粥状動脈硬化は慢性的な血管の炎症で、その病巣には単球由来のマクロファージや T 細胞が集簇している。血管内皮下腔において、酸化変性 LDL はマクロファージに取り込まれ、その泡沫化を引き起こし、粥状動脈硬化の引き金になると考えられている。我々は、酸化 LDL と β_2 GPI が特異的脂質リガンドを介して複合体を形成することを報告し、APS でみられる主要自己抗体が、この酸化 LDL と β_2 GPI の複合体を認識しており、APS における動脈血栓形成に血液凝固異常のみならず抗体依存的な動脈硬化が関与している可能性があることをこれまでに示した¹⁻⁵。一方、高脂血症モデルマウス *Apoe*^{-/-} では、酸化 LDL を標的とする IgM 型の自然抗体が出現する⁶。また、心血管疾患患者において酸化 LDL 抗体価が上昇していることが報告されている。

我々は、これまで詳しい報告のなかった、 β_2 GPI のマクロファージへの直接および酸化 LDL を介した相互作用を解析するとともに、APS モデルマウス由来の抗 β_2 GPI 自己抗体、および動脈硬化モデルマウスに現れる抗酸化 LDL 自然抗体の特異性を比較し、マクロファージによる酸化 LDL の取り込みに及ぼすこれらの抗体の影響を¹²⁵I を用いて解析したのでその一部を紹介する。

材料と方法

1. モノクローナル抗体: WB-CAL-1 抗体は、APS の動物疾患モデル (NZW x BXS) F1 (WB F1) マウスから樹立したモノクローナル抗 β_2 GPI 自己抗体 (IgG2a) で、 β_2 GPI が陰性荷電表面に結合したときに露出する cryptic な構造を認識する。EO6 は、*Apoe*^{-/-} マウスの非感作脾細胞とマウスミエローマ細胞との融合により樹立された、酸化 LDL を認識するモノクローナル自然抗体 (IgM) である。

2. 酸化 LDL の調製および oxLDL/ β_2 GPI 複合体の調製: LDL ($d=1.019-1.063$) は、健常人血漿から超遠心法で調製した。LDL の酸化は、蛋白濃度 $100 \mu\text{g/ml}$ で $5 \mu\text{M}$ CuSO_4 存在下、 37°C 、12 時間インキュベートして行った。その後 oxLDL (終濃度 $100 \mu\text{g/ml}$) と β_2 GPI (終濃度 $100 \mu\text{g/ml}$) を 37°C で 16 時間インキュベートし、oxLDL/ β_2 GPI 複合体を調製した

3. 酸化 LDL および β_2 GPI の ¹²⁵I 標識: Iodogen プレコートチューブ (Pierce Chemical

Co.) にトリスヨードラベル用バッファー (TIB, 25mM Tris-HCl pH7.5 0.4M NaCl) 100 μ l、Na¹²⁵I (IMS-30, Amersham Biosciences Co, (Piscataway NJ)) 1.0mCi を加え、6 分間ヨウ化物を活性化した後これを β_2 GPI、あるいは酸化 LDL 溶液に加え、室温で 9 分間反応させた後、スカベンジングバッファー (10mg/ml チロシンを含む TIB) 50 μ l を加え混和し反応を停止した。その後、脱塩カラム (Sephadex G-25) にこれを通し、¹²⁵I-タンパク質画分を集め、これを 4 $^{\circ}$ C で保存し 2 週間以内に実験に用いた。

4. マウスマクロファージ J 774 細胞への ¹²⁵I-酸化 LDL あるいは ¹²⁵I- β_2 GPI の結合 : 24 穴培養プレートに 2.5 x 10⁵/well で J774 細胞を播種し、37 $^{\circ}$ C で 2 日間培養した後、無血清 RPMI 培地で洗浄しマクロファージ用無血清培地に交換してさらに 2 時間培養した。各種条件下で ¹²⁵I-酸化 LDL、または ¹²⁵I- β_2 GPI を各ウェルに加えて 4 $^{\circ}$ C で 2 時間静置した後、PBS でウェルを洗浄し、0.1N NaOH を加えて細胞を溶解し、細胞に結合した放射能を γ カウンター (Aloka ARC2000) にて測定した。

結果と考察

まず、 β_2 GPI の J774 マクロファージとの相互作用を解析するために、¹²⁵I- β_2 GPI を J774 細胞培養液に添加し、細胞への結合量を測定した。図 1A に示すように ¹²⁵I- β_2 GPI のみを添加した場合から、¹²⁵I- β_2 GPI と過剰量の非標識 β_2 GPI の混液を添加した場合を差し引いたものを、特異的な結合量とした。 β_2 GPI 単独ではマクロファージへの特異的結合は低いことがわかった。しかし、 β_2 GPI と酸化 LDL の混液を添加すると、図 1B に示すように、酸化 LDL 濃度依存的に ¹²⁵I- β_2 GPI のマクロファージへの結合が増加した。酸化されていない LDL と β_2 GPI を混和して添加しても結合増加は見られなかった。

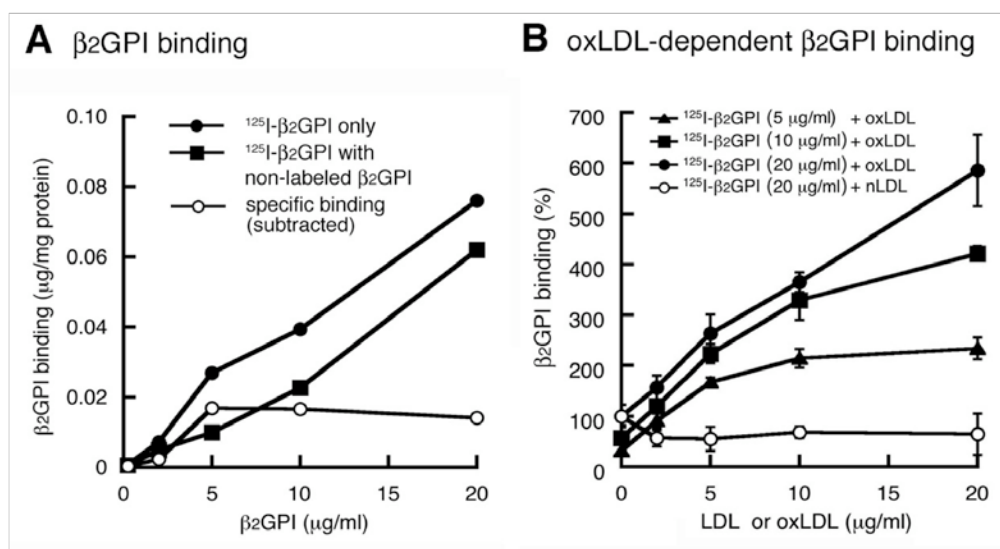


図 1. ¹²⁵I- β_2 GPI のマクロファージへの結合に及ぼす酸化 LDL の影響
oxLDL ; 酸化 LDL、nLDL ; 未処理 LDL

次に、酸化 LDL の側を標識してそのマクロファージへの結合特性を解析した。図 2A に示すように、¹²⁵I-酸化 LDL のマクロファージへの結合は濃度依存的で、 β_2 GPI の共存により部分的に抑制された。未処理 LDL は結合親和性が非常に低かった。この結果を

Scatchard plot したものが図 2B であり、 β_2 GPI が酸化 LDL に結合すると酸化 LDL のマクロファージへの親和性および最大結合量が減少することが示された。

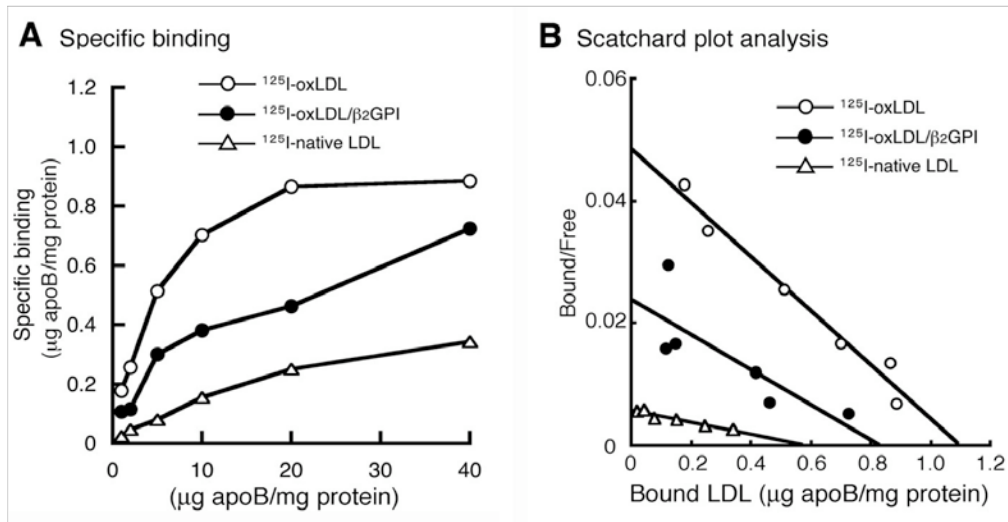


図 2. ^{125}I -酸化 LDL のマクロファージへの結合に及ぼす β_2 GPI の影響

酸化 LDL はスカベンジャー受容体を介してマクロファージに盛んに取り込まれる。その際、 β_2 GPI と複合体を形成していると、スカベンジャー受容体との結合が立体障害的に一部阻害されるものと考えられる。また、 β_2 GPI は単独ではマクロファージとの相互作用は弱い、酸化 LDL と複合体を形成することによって、酸化 LDL 依存的にマクロファージに取り込まれると考えられる。

この系に、APS モデルマウス由来自己抗体 WB-CAL-1 あるいは *ApoE*^{-/-}マウス由来抗酸化 LDL 抗体 EO6 を加えて β_2 GPI 存在下での酸化 LDL のマクロファージへの結合に及ぼす影響を調べた。図 3A に示すように、抗酸化 LDL 抗体 EO6 は β_2 GPI の有無に関わらず酸化 LDL のマクロファージへの結合を部分的に抑制した。この結果は、Binder らの報告と一致している。一方、抗 β_2 GPI 抗体 WB-CAL-1 は酸化 LDL、 β_2 GPI と共存するとマクロファージへの結合を促進した。この傾向はあらかじめ形成しておいた酸化 LDL/ β_2 GPI 複合体と WB-CAL-1 を添加した場合においても同様であった(図 3B)。また、WB-CAL-1 によるこのような酸化 LDL 結合の促進は、熱変性 IgG によってほぼ完全に阻害されたことから⁷、この結合促進は Fc γ 受容体を介していることが推定された。

以上の結果より、*ApoE*^{-/-}マウス由来の IgM 抗酸化 LDL 抗体は酸化 LDL のマクロファージへの取り込みに対し抑制的に働き、反対に APS モデルマウス由来の抗 β_2 GPI 自己抗体は、酸化 LDL/ β_2 GPI 複合体のマクロファージへの取り込みを促進し、動脈硬化促進的に働くことが示され、APS において、自己抗体の関与する動脈硬化促進の可能性が示された。

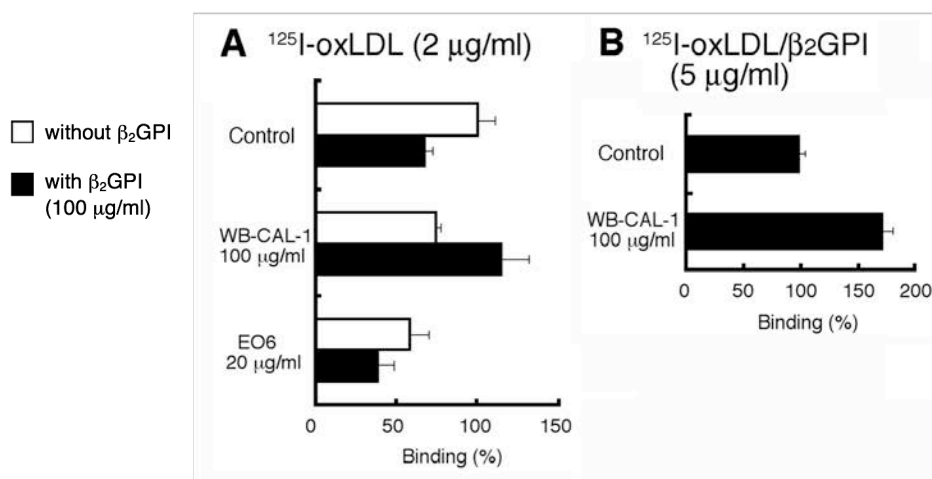


図 3. 酸化 LDL のマクロファージへの結合に及ぼす APS 由来自己抗体、および抗酸化 LDL 抗体の影響

A: ¹²⁵I-酸化 LDL 2 µg/ml を β₂GPI の存在下 (100 µg/ml) または非存在下で上記の各抗体と混和してマクロファージの培養液に添加し、4°C、2 時間後の細胞への結合量を測定した。

B: ¹²⁵I-酸化 LDL/β₂GPI 複合体(酸化 LDL 蛋白濃度として 5 µg/ml)に WB-CAL-1 を混和してマクロファージの培養液に添加し、4°C、2 時間後の細胞への結合量を、抗体を加えない対照と比較した。

文献

1. Kobayashi K, Matsuura E, Liu Q, *et al.* A specific ligand for β₂-glycoprotein I mediates autoantibody-dependent uptake of oxidized low density lipoprotein by macrophages. *J Lipid Res* 2001;42:697-709.
2. Liu Q, Kobayashi K, Furukawa J, *et al.* Omega-carboxyl variants of 7-ketocholesteryl esters are ligands for β₂-glycoprotein I and mediate antibody-dependent uptake of oxidized LDL by macrophages. *J Lipid Res* 2002;43:1486-1495.
3. Kobayashi K, Kishi M, Atsumi T, *et al.* Circulating oxidized LDL forms complexes with β₂-glycoprotein I: implication as an atherogenic autoantigen. *J Lipid Res* 2003;44:716-726.
4. Matsuura E, Kobayashi K, Tabuchi M and Lopez LR: Roles of interaction between β₂-glycoprotein I and plasma lipoproteins in atherosclerosis. *Prog Lipid Res* 2006;45:466-486.
5. Kobayashi K, Lopez LR and Matsuura E. Atherogenic antiphospholipid antibodies in antiphospholipid syndrome. *Ann N Y Acad Sci* 2007;1108:489-496.
6. Binder CJ, Horkko S, Dewan A, *et al.* Pneumococcal vaccination decreases atherosclerotic lesion formation: molecular mimicry between *Streptococcus pneumoniae* and oxidized LDL. *Nat Med* 2003;9:736-743.
7. Kobayashi K, Tada K, Itabe H, *et al.* Distinguished effects of antiphospholipid antibodies and anti-oxidized LDL antibodies on oxidized LDL uptake by macrophages. *Lupus* 2007; 16:929-938.

新実験機器の紹介

純水製造装置 2 ミリポア Elix2UV23,2Simplicity2UV : Elix2UV はイオン交換樹脂再生不要の EDI モジュールを搭載した純水製造装置です。RO 膜と EDI の組合せにより純水装置として高純度の $3M\Omega \cdot cm$ 以上の純水を製造できます。殺菌用 UV ランプで雑菌の繁殖を抑制し、ランニングコストも大幅に削減できます。超純水製造装置 Simplicity2UV との組合せで超純水の最適な使用環境を構築します。408 号室に設置されています。ご利用ください。2



Elix2UV2 2 22 2 2 2 2 2 Simplicity2UV2

2

製氷機 2 HOSHIZAKI 2 全自動製氷機 2 FM120F : 旧機種 of 老朽化のため小型の新機種 FM120F を導入しました。新機種は日割り利用の部屋 312 号室に設置されています (旧機種も 4 階で、まだ稼働しています)。フレークタイプの氷が得られますので、チューブ等の氷の上での安定性は改善されています。ご利用ください。2

2



FM120F

2

利用統計

全般的な利用者数、研究課題数の減少傾向は昨年同様ですが、そろそろ峠を超えたようです。RIでしかできない実験を行うヘビーユーザーや、鹿田施設の利便性を意識して利用するユーザーが最近目立ちます。

利用者の推移

＜放射線業務従事者人数＞

平成17年度 206名

平成18年度 196名

平成19年度 168名

研究課題数

平成17年度 55件

平成18年度 52件

平成19年度 50件

購入核種の推移

最近3年の核種毎の入庫数量 (kBq)

核種	平成17年度	平成18年度	平成19年度
P-32	1,421,600	987,700	1,372,100
S-35	190,955	19,400	0
H-3	535,800	329,000	192,900
C-14	0	0	40,400
Cr-51	1,896,500	397,800	495,300
I-125	376,800	166,700	156,200
In-111	555,300	733,100	533,000
Tc-99m	185	333,000	0
Rb-86	0	42,900	0
Ca-45	0	40,300	25,400
Co-57	0	5,529	0

鹿田施設スタッフおよび委員会委員

施設スタッフ

施設長	山 田 雅 夫
准教授	小 野 俊 朗
助教	花 房 直 志
技術専門職員	金 野 郁 雄
技術専門職員	永 松 知 洋
事務補佐員	中 村 梢

委員会委員

自然生命科学研究支援センター 光・放射線情報解析部門鹿田施設運営会議

	施設長	山 田 雅 夫
医学部	教授	竹 田 芳 弘
歯学部	教授	北 山 滋 雄
大学院医歯薬学総合研究科	教授	金 澤 右
自然生命科学研究支援センター	助手	蜂 谷 欽 司
自然生命科学研究支援センター	准教授	小 野 俊 朗

自然生命科学研究支援センター光・放射線情報解析部門
鹿田施設放射線障害防止委員会委員

	施設長	山 田 雅 夫
自然生命科学研究支援センター	准教授	小 野 俊 朗
自然生命科学研究支援センター	助教	花 房 直 志
自然生命科学研究支援センター	技術専門職員	永 松 知 洋
教育学部	教授	伊 藤 武 彦
理学部	准教授	富 永 晃
医学部	助教	花 元 克 巳
歯学部	助教	十 川 千 春
薬学部	准教授	檜 垣 和 孝
工学部	教授	酒 井 裕
環境理工学部	教授	笹 岡 英 二

農学部	准教授	田村隆
大学院医歯薬学総合研究科	助教	百田龍輔
資源生物科学研究所	教授	坂本亘
自然生命科学研究支援センター	助教	鑛山宗利
自然生命科学研究支援センター	准教授	大塚正人

運営日誌

平成 19 年

平成 19 年 4 月 1 日～平成 20 年 1 月 31 日

	保健学科放射線技術科学専攻の 3 年生 35 名
	放射線計測学実験Ⅱ・放射線安全管理学実験
4 月 25 日	第 4 回英語による新規教育訓練（鹿田地区） 受講者数 3 名
4 月 23 日・26 日	第 83 回全学一括新規教育訓練（鹿田地区） 受講者数 67 名
	第 71 回光・放射線情報解析部門鹿田施設新規教育訓練 受講者数 38 名
4 月 25 日・28 日	第 83 回新規教育訓練安全取扱実習（鹿田地区） 受講者数 31 名
5 月 15 日	医学科 2 年生基礎放射線学実習 44 名
5 月 22 日	医学科 2 年生基礎放射線学実習 51 名
6 月 8 日	国立大学アイソトープ総合センター長会議
6 月 25 日	第 84 回全学一括新規教育訓練（鹿田地区） 受講者数 25 名
6 月 25 日	第 72 回光・放射線情報解析部門鹿田施設新規教育訓練 受講者数 15 名
6 月 26 日	第 84 回新規教育訓練安全取扱実習（鹿田地区） 受講者数 12 名
8 月 2 日	第 1 回第 1 種作業環境測定士連絡会
8 月 28 日	大学等放射線施設協議会
9 月 6 日	第 85 回全学一括新規教育訓練（鹿田地区） 受講者数 12 名
	第 73 回光・放射線情報解析部門鹿田施設新規教育訓練 受講者数 8 名
9 月 7 日	第 85 回新規教育訓練安全取扱実習（鹿田地区） 受講者数 4 名
平成 19 年 10 月 1 日 ～平成 20 年 1 月 31 日	保健学科放射線技術科学専攻の 2 年生 43 名 放射化学実験

11月8日	放射性廃棄物処理 可燃物 12 本、難燃物 38 本、不燃物 5 本、動物 19 本、 焼却型フィルタ 654 リットル 通常型フィルタ 394 リットル
11月12日	第86回全学一括新規教育訓練（鹿田地区） 受講者数 5 名 第74回光・放射線情報解析部門鹿田施設新規教育訓練 受講者数 4 名
11月13日	第86回新規教育訓練安全取扱実習（鹿田地区） 受講者数 4 名
11月29日	岡山理科大学生物化学科学生 施設見学 40 名
平成 20 年	
1月17日	第回全学一括新規教育訓練（鹿田地区） 受講者数 14 名 第回光・放射線情報解析部門鹿田施設新規教育訓練 受講者数 0 名
1月18日	第回新規教育訓練安全取扱実習（鹿田地区） 受講者数 13 名
2月19日	第2回第1種作業環境測定士連絡会
3月3日	平成19年度放射線業務従事者再教育訓練 受講者数 113 名 講演 大阪大学ラジオアイソトープ総合センター 斎藤 直 教授 「大学における放射線管理と利用」
3月5日	平成19年度放射線業務従事者再教育訓練 受講者数 80 名 講演 光・放射線情報解析部門鹿田施設 小野 俊朗 「放射性同位元素等による事故の事例と安全取扱」
3月7日～31日	平成19年度放射線業務従事者再教育訓練（ビデオ講習） 受講者数 74 名

あしがき

鹿田施設ニュース第3号をお届けします。鹿田施設ニュースの記事にもありますが、web ページでの情報発信は安価でかつ速報性があり、有効性は紙媒体に比べ格段に優れています。一方、情報の保存性ではいまだに紙媒体の方が優れているようです。紙は100年先でも確実に保存できますが、web ページは今後どうなるかわかりません。鹿田施設では紙媒体としてのニュースの必要性を再検討していますが、記録としての保存性を重用視するとしても、それも pdf 化で十分かもしれません。皆さまのご意見をお聞かせください。

