

## 【基盤研究(S)】

### 生物系 (生物学)



#### 研究課題名 維管束幹細胞の発生運命制御機構の解明

東京大学・大学院理学系研究科・教授 福田 裕穂

ふくだ ひろお  
福田 裕穂

研究分野：生物学

キーワード：植物分子機能、幹細胞、細胞内情報伝達

#### 【研究の背景・目的】

植物における組織構築は茎頂、根端、維管束メリステムにより行われる。メリステム内では固有の幹細胞が分裂し、自らを維持しながら、同時に他の細胞へと分化する。この幹細胞における増殖と分化のバランスがメリステムにおける無限の組織構築を支えている。

維管束は篩部、前形成層・形成層、木部からなり、前形成層・形成層細胞は維管束幹細胞として、自ら増殖するとともに、篩部や木部の細胞へと分化する。私たちは、維管束メリステムの解析の過程で、維管束幹細胞の発生運命制御を制御する様々な因子を見いだしてきた。そこで、本研究ではこれらの因子の機能を解析するとともに、それらの相互関係を明らかにすることで、維管束幹細胞の発生運命制御の全体像に迫ることを目的とする。

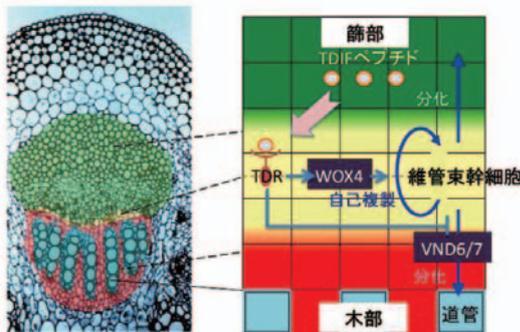


図1：維管束幹細胞の分化・分裂制御

#### 【研究の方法】

これまでの私たちの解析から、図1に示す仮説が考えられた。すなわち、維管束幹細胞の分化と分裂の制御は篩部に由来する小ペプチド TDIF により行われ、分裂の促進は転写因子 WOX4 を介して、道管分化の抑制はマスター遺伝子である VND6/VND7 の抑制を介して起こる。そこで、本研究では、TDIF の受容体である TDR の下流で WOX4、VND6/VND7 に作用する細胞内シグナルの実体を明らかにすることでこの仮説の証明を行う。また、維管束幹細胞形成初期に働く転写因子の解析を通して、維管束幹細胞成立の分子機構を明らかにする。

#### 【期待される成果と意義】

本研究により、維管束幹細胞の発生運命制御の基本構造である、細胞間シグナルネットワーク、細胞内シグナル伝達のネットワーク、発生運命決定のための転写の鍵因子、さらには、各維管束細胞間での様々なシグナルのフィードバックシステムが明らかになると予想される。この研究は、維管束メリステムの組織づくりの仕組みを明らかにするというだけでなく、植物におけるメリステム制御の基本システムの理解を深めると考えられる。一方で、維管束は地上のバイオマスの大部分を占める組織であり、バイオマス増産・修飾に向けた研究が求められている。本研究は、このバイオマス増産・修飾に向けて、極めて高質の基盤情報を提供することになる。

#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

Ito, Y., Nakanomyo, I., Motose, H., Iwamoto, K., Sawa, S., Dohmae, N., and Fukuda, H.: Dodeca-CLE peptides as suppressors of plant stem cell. *Science* 313: 842-845, 2006.  
Hirakawa Y., Shinohara, H., Kondo, Y., Inoue, A., Nakanomyo, I., Ogawa, M., Sawa, S., Ohashi-Ito, K., Matsubayashi, Y. and Fukuda, H.: Non-cell-autonomous control of vascular stem cell fates by a CLE peptide/receptor system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105: 15208-15213, 2008.  
Oda, Y., Iida, Y., Kondo, Y. and Fukuda H.: Wood cell-wall structure requires local 2D-microtubule disassembly by a novel plasma membrane-anchored microtubule-associated protein. *Curr Biol*. 20: 1197-1202, 2010.

#### 【研究期間と研究経費】

平成23年度－27年度  
165,200千円

#### 【ホームページ等】

<http://www.biol.s.u-tokyo.ac.jp/users/seigyolab.html>

【基盤研究(S)】  
生物系(生物学)



研究課題名 桿体と錐体の機能と細胞構築を特徴づける分子基盤

大阪大学・大学院生命機能研究科・教授 かわむら さとる  
河村 悟

研究分野：動物生理・行動  
キーワード：動物生理化学

【研究の背景・目的】

私たちの視覚は「視覚の二元説」として知られるように、2つの要素から成り立っている、すなわち、網膜に存在し、光を検出する細胞である視細胞に2種類有り、薄暗いところ(暗所)で働く桿体と、明るいところ(明所)で働く錐体とがある。桿体と錐体とでは光に対する応答特性に違いがあり(図1参照)、その違いのために暗所と明所とではものの見え方が違う。また、桿体と錐体とでは細胞の形態(図1)や発生、また、エネルギー代謝に違いがある。本研究ではこれら、桿体と錐体とで異なる機能および細胞の構築や機能維持メカニズムの違いがどのような分子基盤に基づくのかを明らかにしようとするものである。

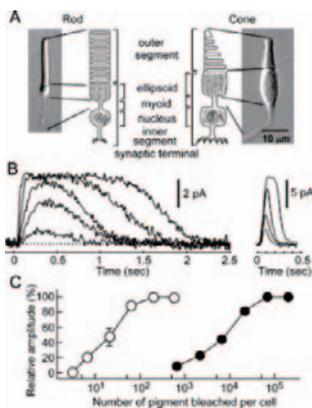


図1 桿体と錐体の違い。(A) コイ桿体(左)と錐体(右)。(B)持続時間数ミリ秒の種々の強度のフラッシュ光に対する光応答の重ね書き。桿体(左)と錐体(右)からの記録。(C) (B)から得た、光刺激強度と応答の振幅の関係。左：桿体、右：錐体。

【研究の方法】

これまで、精製した錐体を大量に得ることが出来なかったが、私達の開発した方法により、コイ網膜を使い、桿体と錐体の比重の違いを利用して錐体を精製することが可能になった(図2)。このような試料を使い、生化学的な方法によって、桿体と錐体とでの光応答の発生メカニズムの違いを比較し、図1に示された光応答の桿体と錐体とでの違いの分子メカニズムを明らかにする。さらに、

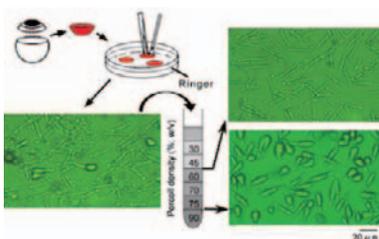


図2 比重の違いを利用したコイ網膜からの桿体(右上)と錐体(右下)の分離精製。

これまでの私たちの研究で明らかになった、錐体特異的に発現している蛋白質について、分子遺伝学的手法や、細胞生物学的な手法を使って、それらの機能を明らかにする。

【期待される成果と意義】

桿体と錐体について、機能上、および、細胞構築上の差異をもたらす分子基盤が明らかになる。このことにより、私たちの視覚の機能メカニズムのうち、視細胞レベルでの理解が格段に深まる。これまでの視細胞の研究はほとんど桿体で行われてきたが、我々の日常生活での視覚感覚はほとんど錐体の活動に依存していることから、その理解が深まり、私たちの日常生活での視覚特性、また、それを支える細胞生物学的基盤の理解も進む。これにより、より実際の医学的応用や工学的な応用が可能になると考えられる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Takemoto, N., Tachibanaki, S., and Kawamura, S. (2009) High cGMP synthetic activity in carp cones. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 106: 11788-11793.
- Miyazono, S., Shimauchi-Matsukawa, Y., Tachibanaki, S., and Kawamura, S. (2008) Highly efficient retinal metabolism in cones. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 105: 16051-16056.
- Tachibanaki, S., Arinobu, D., Shimauchi-Matsukawa, Y., Tsushima, S. and Kawamura, S. (2005) Highly effective phosphorylation by G protein-coupled receptor kinase 7 of light-activated visual pigment in cones. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 102: 9329-9334.

【研究期間と研究経費】

平成23年度-26年度  
67,600千円

【ホームページ等】

<http://www.bio.sci.osaka-u.ac.jp/~kawamura/index2.htm>  
kawamura@fbs.osaka-u.ac.jp



研究課題名 超高速微細ピクセル検出器が拓く構造生物学の新展開

高エネルギー加速器研究機構・物質構造科学研究所・教授 **わかつき そういち**  
**若槻 壮市**

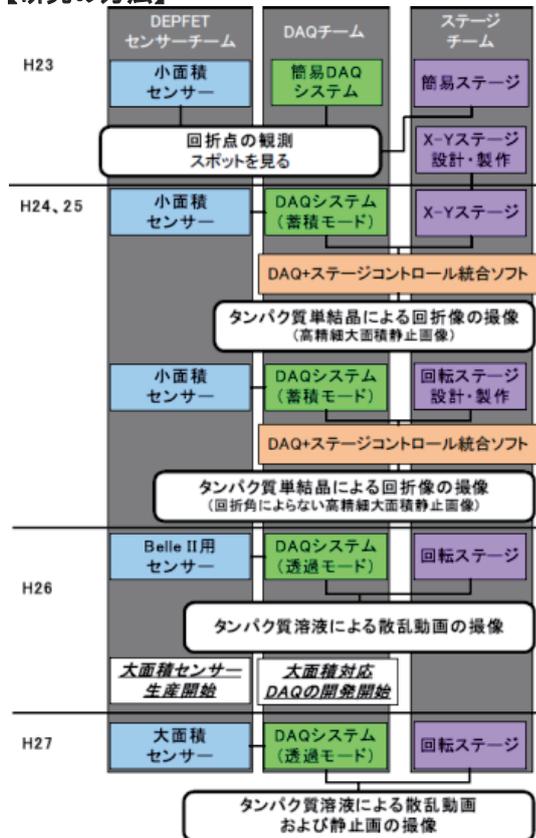
研究分野：構造生物化学

キーワード：X線結晶解析、新型検出器

【研究の背景・目的】

タンパク質の構造解析において詳細な立体構造情報を得るには、X線回折、散乱データを高精度に測定することが不可欠である。そのための重要な要素がX線検出器であり、高い位置測定精度を持ち、しかも高速なヒット情報の取り出しによって動画の撮像も可能なピクセル型検出器が近年注目されている。本研究では、素粒子実験向けに開発された最新のピクセル型検出器(DEFET)に着目し、この検出器をもとにタンパク質の構造解析用に最適化された検出器を開発する。最終的に、既存の検出器を遙かに上回る超高精細高速読み出しの大面積(800万画素)検出器を制作し、高難度タンパク質の構造解析および構造ダイナミクス研究に関する新しい技法を切り拓く。

【研究の方法】



研究計画の概要を上図に示す。DEFET センサーチームはセンサーの開発と製作および KEK での動作確認を行う。DAQ チームは、簡易システムを始めとし、2つの読み出しモードとセンサーの

出力データ帯域の増加に対応しながら DAQ を順次構築する。ステージチームは、大面積化に必要な X-Y ステージと回転ステージを制作する。構造解析チームは、図中白枠で示されるタンパク質試料の作成と放射光実験の遂行および撮像されたデータの解析を担当する。平成 23 年度はタンパク質単結晶の回折点の観測を、平成 24~25 年度は高精細回折像の測定を、平成 26 年度からタンパク質構造解析用の DEFET 検出器の生産を開始し、並行してタンパク質溶液からの時分割X線溶液散乱測定を行う。平成 27 年度は完成した新型 DEFET 検出器を用いて高難度タンパク質の結晶構造解析を行う。

【期待される成果と意義】

本研究は、構造生物分野の研究者が素粒子実験で培われた粒子検出技術を放射光分野で応用する学際的研究であり、その着眼点は極めて独創的である。また DEFET 検出器および読み出しエレクトロニクスの開発は Belle II 実験に向けて確立されているため、センサー開発の初期コストを大幅に削減できるという利点がある。本研究による超高速微細ピクセル検出器と可動ステージ、および広帯域のデータ収集機構により、将来的に超高難度のタンパク質複合体の結晶構造解析を可能にする大型検出器の設計指針が確定できるとともに、これまでよりも2桁高い時間分解能(20マイクロ秒)を持ったタンパク質構造ダイナミクス研究用のプロトタイプ検出器システムを開発して実際の研究に供することができる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- [1] "PILATUS: A single photon counting pixel detector for X-ray applications", B. Henrich et al., Nucl. Instrum. Meth. A, vol 607, p 247,(2009).
- [2]"The DEFET active pixel sensor for vertexing at ILC and Super KEKB", Stefan Rummel et al., Nucl. Instrum. Meth. A, vol 623, p189,(2010).

【研究期間と研究経費】

平成23年度ー27年度  
161,400千円

【ホームページ等】

<http://twiki.hll.mpg.de/twiki/bin/view/DEFET/WebHome>

## 【基盤研究(S)】 生物系 (生物学)



### 研究課題名 生体膜脂肪酸鎖の細胞生物学的機能

東京大学・大学院薬学系研究科・教授 あらい ひろゆき  
新井 洋由

研究分野：脂質生物学

キーワード：生体膜、脂肪酸、リン脂質、アシルトランスフェラーゼ

#### 【研究の背景・目的】

生体膜を構成するリン脂質には、飽和脂肪酸から高度不飽和脂肪酸まで様々な脂肪酸鎖が結合し、生体膜の疎水的環境を形成しているが、その細胞生物学的意義はほとんど解明されていない。申請者は最近、線虫遺伝学の導入により、生体膜リン脂質の脂肪酸鎖を規定する酵素群の同定に成功した。

本研究では、これらの成果をもとに、

1. 膜リン脂質中の特定の脂肪酸鎖環境を必要とする細胞現象の解明、
  2. 膜リン脂質中の特定の脂肪酸鎖環境を必要とする膜蛋白質の同定と感受性ドメインの解明、
  3. 膜リン脂質脂肪酸鎖の恒常性維持の分子機構の解明、
  4. 膜リン脂質脂肪酸鎖の恒常性破綻による病態とその分子機構の解明、
- を目的とする。

#### 【研究の方法】

申請者は、これまで約10年にわたり線虫を用いて生体膜リン脂質の代謝に関わる研究を続けており、脂肪酸鎖に限らずリン脂質の代謝に関わる分子のほとんど全てについて、線虫欠損変異体を樹立している。さらにいくつかの新規分子についてはノックアウトマウスも作製済みである。また、申請者は脂肪酸鎖研究に不可欠である脂質の分析に特化した質量分析計による測定系を独自に立ち上げている。本研究では、膜リン脂質の脂肪酸鎖について、生化学、分子生物学のみでは解決できなかった問題に対して、遺伝学、最新の機器分析等を縦横無尽に駆使しながら、これまで解明されてこなかった生体膜の疎水性環境の生物学的意義をはじめとして包括的に明らかにしていく。

線虫(変異体ライブラリー) ノックアウトマウス 培養細胞(siRNAライブラリー)



【図1】研究戦略の概要

#### 【期待される成果と意義】

生体膜リン脂質は脂肪酸鎖の異なる数百の分子種で構成されており、それを形成するための酵素が同定されることは、Membrane biologyの本質的部分が明らかになることであり、その学問的意義は非常に大きい。さらに、リン脂質の脂肪酸リモデリング反応に関与する分子が同定されると、次に遺伝子操作による膜リン脂質環境の人工的操作が可能となる。この手法を駆使することで、生体膜蛋白質と膜リン脂質脂肪酸鎖環境のクロストークという網羅的かつ総合的な概念を確立できる。

近年、いわゆる「飽和脂肪酸毒性」が糖尿病、動脈硬化症等の生活習慣病の大きな原因として取り上げられている。申請者は、飽和脂肪酸が膜リン脂質脂肪酸鎖の飽和/不飽和バランスの破綻を引き起こし、これが病態発症に繋がるシグナルを発している事を発表している。リン脂質脂肪酸鎖の恒常性維持の分子機構を解明することにより、新たな創薬標的を発掘できる可能性も大いにある。

#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Imae R., Inoue T., Kimura M., Kanamori T., H. Tomioka N., Kage-Nakadai E., Mitani S. and Arai H. "Intracellular PLA1 and Acyltransferase, Which Are Involved in *Caenorhabditis elegans* Stem Cell Divisions, Determine the *sr-1* fatty acyl Chain of Phosphatidylinositol." *Mol. Biol. Cell*, 21, 3114-3124 (2010)
- Ariyama H., Kono N., Matsuda S., Inoue T. and Arai H. "Decrease in membrane phospholipid unsaturation induces unfolded protein response." *J. Biol. Chem.*, 221, 87-95 (2010)
- Lee H. C., Inoue T., Imae R., Kono N., Shirae S., Matsuda S., Gengyo-Ando K., Mitani S. and Arai H. "*C. elegans mboa-7*, a member of the MBOAT family, is required for selective incorporation of polyunsaturated fatty acids into phosphatidylinositol." *Mol. Biol. Cell*, 19, 1174-1184 (2008)

#### 【研究期間と研究経費】

平成23年度－27年度  
165,000千円

#### 【ホームページ等】

<http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~eisei/jp/Home.html>

## 【基盤研究(S)】

### 生物系 (生物学)



## 研究課題名 ホスホイノシタイドによる細胞ダイナミズムの制御

神戸大学・大学院医学研究科・特命教授 たけなわただおみ  
竹縄 忠臣

研究分野：細胞生物学

キーワード：細胞膜、イノシトールリン脂質、膜の形作り、細胞動態

#### 【研究の背景・目的】

細胞膜はホルモンや増殖因子などの外界刺激を受けて、細胞が増殖、分化、運動へと向うシグナルを細胞内へ発生する基地となる。基本的にはリン脂質を2重層とする細胞膜基本構造に様々な蛋白質が相互作用する事により、細胞膜上でシグナルが発生する。細胞膜の成分の中でもイノシトールリン脂質類(ホスホイノシタイド)がその中心的役割を果たし、IP3やジアシルグリセロールといった2次メッセンジャーの産生脂質として働き、それ以外にも、脂質そのものが細胞内情報伝達や膜輸送、細胞骨格制御など様々な機能制御に関与していることが分かってきた。またこれらの脂質代謝の乱れが癌や糖尿病を始めとする、様々な疾病の原因になることも分かり、ホスホイノシタイドの重要性がますます認識されている。

我々はホスホイノシタイドが膜上の基点となり、様々な結合蛋白質を介して細胞運動や細胞の形作りなどを制御している事を明らかにしている。しかしホスホイノシタイドが関与する実際の生命現象(運動、物質取り込み、細胞接着など)において具体的に「どのような分子が膜を変形させ、運動機能発現を引き起こしているのか」はその作用機序を含め全く分かっていない。本研究ではそれらの機能発現に中心的役割を果たすホスホイノシタイド結合蛋白質に絞り、運動機能発現に至るシグナル発生機序を解明する。

#### 【研究の方法】

網羅的にスクリーニングして得たホスホイノシタイド結合蛋白質(400余)の中から膜変形活性、生理活性が興味深いPSTPIP1/2、PIR121/Sra1とSH3YL1という3種の蛋白質を選び、ファゴサイトーシス、マクロピノサイトーシスや細胞間接着への役割とその分子機序を調べ、具体的に「これらのホスホイノシタイド結合蛋白質がどのように細胞膜上で複合体を作り、特異的な膜の形を作ってシグナルを発生させダイナミックな動きを産み出すのか」を明らかにする。

#### 【期待される成果と意義】

本研究では網羅的にホスホイノシタイド結合蛋白質を探し、400にも上がる候補から病気の発生に関与している脂質結合ドメインを有し、膜変形作用が今までの脂質結合ドメインとは異なる3種

の蛋白質をとり上げた。PSTPIP1/2はF-Barドメインという脂質結合領域を持ち、マクロファージの活性化に関与する。その変異は過剰活性化や慢性炎症を起こすことが知られている。PIR121/SraはWAVE2を介してアクチン重合を引き起こし、上皮細胞の細胞間接着を強固にして上皮系組織の特徴を保持する蛋白で、その欠損は細胞間接着を弱め、上皮-間葉系転移を引き起こす。SH3YL1は新たな脂質結合ドメイン、SYLF(SH3 domain containing Ysc84-like 1)を持つ機能不明の蛋白質である。これら3種の新蛋白質の機能解明を通して、ホスホイノシタイド結合蛋白質が膜の形を作り、膜と細胞質蛋白質を結びつけるインターフェースとして働き、細胞のダイナミックな動きを制御するという機序を明らかにできれば癌や炎症など様々な病気の解明に繋がり、治療法の開発にも繋がるインパクト高い研究となる。

#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

Takenawa T. and Suetsugu S. Coordinated regulation of membrane and cytoskeleton by WASP/WAVE family proteins and their binding partners. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 8, 37-48 (2007)

Itoh T., Hasegawa, J., Tsujita, K., Kanaho, Y., and Takenawa, T. The tyrosine kinase Fer is a downstream target of the PLD-PA pathway that regulates cell migration. *Sci Signal.* 2, ra52. (2009)

#### 【研究期間と研究経費】

平成23年度-27年度  
154,900千円

#### 【ホームページ等】

<http://www.med.kobe-u.ac.jp/lipid/>

## 【基盤研究(S)】

### 生物系(生物学)



#### 研究課題名 ATP合成酵素の構造と制御と生理

京都産業大学・総合生命科学部・教授  
よしだ まさすけ  
吉田 賢右

研究分野：生物学・生物科学・機能生物化学

キーワード：生体エネルギー変換・酵素の調節

#### 【研究の背景・目的】

ただ一つの例外もなく、すべての生き物のすべての細胞の中において、ATPはエネルギー通貨として使われている。ADPとリン酸からATPを再び合成するのはATP合成酵素( $F_0F_1$ )で、ミトコンドリア、葉緑体、細菌の膜に存在している。この酵素は、 $H^+$ の流れで回転する $F_0$ モーターと、ATP加水分解で回転する $F_1$ モーターが、共通の回転シャフトで連結し、 $H^+$ の流れと $ATP \rightleftharpoons ADP + \text{リン酸}$ のエネルギーを交換する、他に類例のない機能を持つ酵素である。細胞のATPの消費需要と合成能力とは刻一刻変化している。では、それに応じてATP合成酵素はどのように制御されているか。これがわかっていない。このプロジェクトでは、ヒトを含む動物ミトコンドリアのATP合成酵素を中心に、その制御の分子機構、細胞生理、欠陥個体の病態、を解明する。また、ATP合成酵素の全体構造の結晶解析を行う。

#### 【研究の方法】

##### (1) ATP合成酵素の制御の分子機構

一般に、基本機構は生物種に共通だが、制御は個別的である。しかし私たちの最近の研究で、ATP合成酵素には4つの活性制御のオプションがあり、生物は種によってそれを組み合わせていることがわかってきた。ADP阻害(全生物)、 $\epsilon$ -サブユニット阻害(細菌)、S-S形成による阻害(植物)、タンパク質 $IF_1$ による阻害(ミトコンドリア)、である。私たちはごく最近、2つの強力な実験系を開発した。その1つが、ヒト $F_1$ の大腸菌発現の成功とその回転の1分子観察系である。新しい実験系を武器に、それぞれの阻害の分子機構とその統合を明らかにする。

##### (2) 制御欠陥のある細胞と個体の生理

もう1つの強力な実験系は、今までの100倍の感度と多数の試料検定が可能な培養細胞ミトコンドリアATP合成活性測定法である。ノックダウンをおこなえば、ヒトATP合成酵素の遺伝生化学が始めて広範に実施できる。阻害の失調によって細胞、組織、個体に何が起きるか、明らかにする。予備実験によると、ATP合成酵素の阻害は、その活性の阻害にとどまらず、ATP合成酵素のアッセンブリーやミトコンドリアの形態まで影響をもたらすらしい。逆に今までATP合成酵素と無縁と思われた遺伝子産物がATP合成酵素の活性に影響を持っている可能性も出てきている。ATP合成酵素の阻害因子(阻害化合物)の網羅的な探索をおこなう。また、 $IF_1$ のノックアウトマウスを作製

しつつあるので、その病態を解明する。

##### (3) ATP合成酵素の原子構造の解明

ATP合成酵素の調節の詳細を知るには、その原子構造の知識が必要である。しかし、ATP合成酵素は、私たちを含む世界の多数のグループの構造解明の挑戦を、この15年間ことごとくしりぞけてきた。巨大なモーター膜たんぱく質であり、固定子と回転子のゆるやかな「すべる」結合、停止位置の違いによる回転異性の存在、などが問題である。すべらないように固定したサブユニット融合ATP合成酵素、またモノクローン抗体を結合した酵素の結晶化を行う。

#### 【期待される成果と意義】

ヒトが飢餓に陥れば、ミトコンドリアの呼吸に燃料が提供されず、 $H^+$ の勾配は形成できず、ミトコンドリアのATP合成は停止する。それだけではない。ATP合成酵素が逆反応を開始して、ATPの加水分解を始めるはずである。しかし、実際にはこの事態は生じない。その分子機構が解明できれば、ミトコンドリアのエネルギー代謝の根幹が理解できる。ATP合成酵素を不活性化してしまう変異をもつ個体はそもそも存在しないだろうが、調節に欠陥を持つ個体は細胞のエネルギー代謝に影響が出て、独特の症状を呈すると予想される。ATP合成酵素の全体構造の解明は、その触媒機構と調節機構の理解に役立つ。

#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

Saita E, et al. Activation and stiffness of the inhibited states of  $F_1$ -ATPase probed by single-molecule manipulation. *J Biol Chem.* 2010; 285:11411-7

Masaike T, et al. Cooperative three-step motions in catalytic subunits of  $F_1$ -ATPase correlate with  $80^\circ$  and  $40^\circ$  substep rotations. *Nat Struct Mol Biol.* 2008; 15: 1326-33.

#### 【研究期間と研究経費】

平成23年度－25年度  
81,700千円

#### 【ホームページ等】

<http://www.cc.kyoto-su.ac.jp/~fmotojim/index-j.html>

## 【基盤研究(S)】

生物系(農学)



### 研究課題名 カイコ冬虫夏草由来のマウス海馬修復因子の構造解析とヒトへの応用開発

岩手大学・農学部・教授

すずき こういち  
鈴木 幸一

研究分野: 農学

キーワード: 昆虫利用・機能開発

#### 【研究の背景・目的】

わが国の生物資源であるカイコ冬虫夏草由来する老化マウスの海馬修復因子を構造解析し、その成果をヒトに応用開発するという先駆的なプロジェクトです。研究グループは、カイコ冬虫夏草(ハナサナギタケ、広義の冬虫夏草)から熱水抽出物を経口投与し、老化ネズミの海馬CA3領域に発生したグリオーシス(神経膠症)の完全な消失に成功しました(図1)。そこで、カイコ冬虫夏草由来の生物活性分子を構造解析し、農学分野(岩手大学)、薬学分野(大阪市立大学)、理学分野(大阪大学)、医学分野(岩手医科大学)との学際的なアプローチにより、ヒトの認知症に対応するための新しい機能性食品および医薬品候補物質を提案するものです。

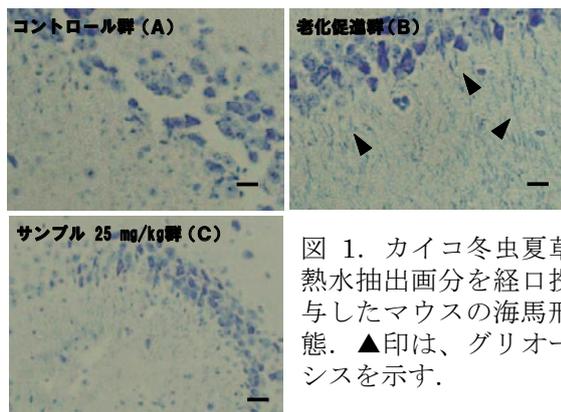


図1. カイコ冬虫夏草熱水抽出画分を経口投与したマウスの海馬形態。▲印は、グリオーシスを示す。

#### 【研究の方法】

フィールドから採取したハナサナギタケ(*Paecilomyces tenuipes*)をカイコ蛹で大量培養し、この試料から老化マウスにおける海馬修復因子を単離精製・構造解析し、修復メカニズムを明らかにすることで、脳機能改善食品を評価提案します(岩手大学、大阪市立大学)。また、海馬修復因子が含有されているカイコ冬虫夏草ハナサナギタケの乾燥粉末および熱水抽出物のカプセル薬剤を使用したヒト試験において、アルツハイマー病評価尺度(ADAS-cog)による認知症検査を実施します。さらに、磁気共鳴法(MRI、MRS、fMRI)によって得られる代謝物質情報や物理化学的情報を加味して、脳内の構造、代謝、機能を統合した評価を行います。その上で、海馬修復因子を医薬品候補物質として評価提案します。

#### 【期待される成果と意義】

わが国におけるカイコ冬虫夏草ハナサナギタケから経口タイプの脳機能改善食品ならびに抗認知症医薬品候補物質を創出することは、機能性農業生産物の新しい生物資源モデルとなります。一方、少子高齢化社会の到来で、現在200万人以上の認知症患者さんが増加し続けており、さらに東日本大震災により認知症の悪化も懸念されています。しかし、現時点では認知症の治療薬はなく進行を遅らせる医薬品の開発が進んでいる中で、本研究成果により、経口タイプの脳機能改善食品と抗認知症医薬品候補物質の提案が期待されます(図2)。



図2. 脳機能改善食品と抗認知症医薬品候補物質のイメージ

#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

1. Tsushima M., Yamamoto K., Goryou M., Suzuki F. and Suzuki K. Howt-water extract of *Paecilomyces tenuipes* from the silkworm pupae improves D-galactose-induced brain aging in mice. *Journal of Insect Biotechnology and Sericulture*, 79, 45-51 (2010)
2. 鈴木幸一, 昆虫テクノロジーの総論-研究開発動向-(昆虫テクノロジー研究とその産業利用, 川崎建次郎・野田博明・木内信監修), シーエムシー出版, 3-12(2005)

#### 【研究期間と研究経費】

平成23年度-27年度  
159,100千円

#### 【ホームページ等】

<http://news7a1.atm.iwate-u.ac.jp/>  
koichi@iwate-u.ac.jp

【基盤研究(S)】  
生物系(農学)



研究課題名 炭素-窒素結合切断および合成酵素群の統括的機能解明と  
応用開発

筑波大学・大学院生命環境科学研究科・教授 小林 達彦  
こばやしみちひこ

研究分野：応用生物化学，応用微生物学

キーワード：酵素，反応

【研究の背景・目的】

プロテアーゼが作用するペプチド結合以外の炭素-窒素(C-N)結合を切断する酵素や合成する酵素について、反応機構を始めとする生化学的解析はプロテアーゼほど精力的に行われていないのが現状である中、我々はこれまで、特にC-N三重結合[C≡N]を切断する酵素やC-N単結合[O=C-NH]を切断する酵素を対象としタンパク質・遺伝子レベルから解析してきている。その過程で、同じ反応を触媒しながら相同性を示さない酵素の発見およびそれらの活性アミノ酸残基の相違など多くの興味深い発見を行った。これらの知見は(従来の反応機構とは異なる)未だ発見されていない種々のタイプのC-N結合切断酵素群が自然界に存在する可能性を示唆するものである。

本研究では、①本申請者らが取得することに成功しているオリジナルなC-N結合切断酵素類、②活性中心が従来とは異なる種々のタイプの新規C-N結合切断酵素、及び、③C-N結合合成酵素を対象とし、構造機能(反応機構を含)を生化学的に明らかにすることを目的とする。さらに本研究では、得られる情報を基に(その触媒機能を利用し)有用物質生産系の基盤を構築することを目的とする。

【研究の方法】

既存のC-N結合切断酵素・C-N結合合成酵素(Aldoxime dehydratase、Isonitrile hydratase、N-Substitute formamide deformylaseなど)だけでなく、従来知られていないタイプの酵素も対象とし、酵素および遺伝子レベルで詳細に解析する。酵素の反応速度論的解析や分光学的解析により諸性質や機能を解明するだけでなく、立体構造や反応機構の観点からも詳細に比較解析を行う。

いずれの酵素においても、構造情報の利用や変異酵素の作製を通して、高機能化した酵素を作製するとともに、触媒機能(正反応)・逆反応・(本来の酵素反応とは異なる)酵素反応の多様性を利用した有用物質生産系開発を行う。

【期待される成果と意義】

C-N結合切断酵素に属するプロテアーゼについては、これまで膨大な量の生化学的解析データが蓄積されているが、(本研究で扱う酵素を含め、いずれも生理的に重要な役割を持つ)プロテアーゼ以外のC-N結合切断酵素に関する生化学的解析データの蓄積量は多くない。本研究を遂行することは、(プロテアーゼとは異なり)手つかずの重要なC-N結合切断酵素および合成酵素群の反応機構の分野を新たに開拓するものである。

環境に優しい化学工業技術の一つである酵素を用いた物質生産は、温和な条件下で行え、ホワイトバイオテクノロジーとして注目されている。本研究で新規に解析する酵素の機能や触媒機構の解明は基礎科学の観点から意義深いのみならず、それらの基礎的知見を利用した有用物質生産検討は応用的にもフィードバックし得るものと期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- 1) Abe, T., Hashimoto, Y., Hosaka, H., Tomita-Yokotani, K & Kobayashi, M. "Discovery of amide (peptide) bond synthetic activity in acyl-CoA synthetase" *J. Biol. Chem.*, **283**, 11312-11321 (2008)
- 2) Konishi, K., Ohta, T., Oinuma, K-I., Hashimoto, Y., Kitagawa, T. & Kobayashi, M. "Discovery of a reaction intermediate of aliphatic aldoxime dehydratase involving heme as an active center" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 564-568 (2006)
- 3) Goda, M., Hashimoto, Y., Shimizu, S. & Kobayashi, M. "Discovery of a novel enzyme, isonitrile hydratase, involved in nitrogen-carbon triple bond cleavage" *J. Biol. Chem.*, **276**, 23480-23485 (2001)

【研究期間と研究経費】

平成23年度-27年度  
148,500千円

【ホームページ等】

<http://dpas.agbi.tsukuba.ac.jp/~seikinou/>

【基盤研究(S)】  
生物系(農学)



研究課題名 ミトコンドリア機能による老化調節機構の解明と  
抗老化食物質の探索

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授 田之倉 優

たのくら まさる

田之倉 優

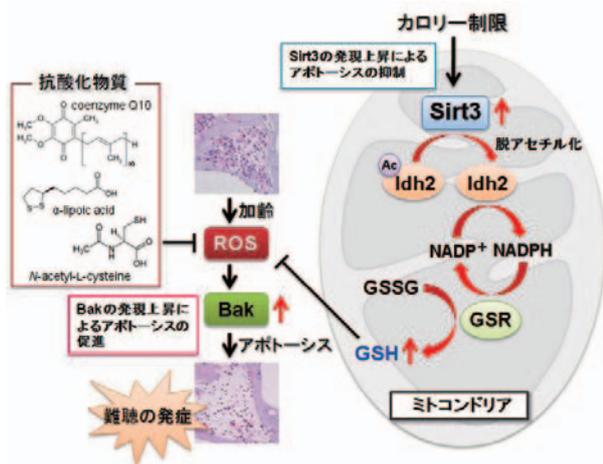
研究分野：農学、食品科学

キーワード：老化調節機構、ミトコンドリア、抗老化食物質

【研究の背景・目的】

哺乳類の加齢と関係する典型的な症状に加齢性難聴がある。これは、老化という複雑な生命システムをより単純化して研究するための優れたモデルシステムの1つである。研究代表者らは、1) ミトコンドリアのアポトーシス促進因子 Bak により聴覚細胞のアポトーシスが引き起こされ、加齢性難聴が発症すること、2) 加齢性難聴は酸化ストレスにより促進され、抗酸化物質により抑制されること、3) 老化の遅延効果を示すカロリー制限が、ミトコンドリアで機能する脱アセチル化酵素 Sirt3 を介して加齢性難聴の発症を遅延させること、を明らかにした。

本研究では、聴覚の老化過程において Bak 及び Sirt3 が関わるアポトーシスの調節に焦点を当て、その分子機構の解明を目的とする。さらに、この分子機構で中心的にはたらく Sirt3 や他の調節因子を標的とした機能性食物質の探索を行い、機能性食物質の老化遅延効果と作用点を評価するとともに、標的因子に対する作用機序を明らかにすることを目的とする。



【研究の方法】

1) ミトコンドリアを介した老化調節機構の解明  
各種ノックアウトマウスの聴力解析、組織学的解析、遺伝子発現解析、分子間相互作用解析を駆使し、Sirt3 から Bak に至るまでの経路で働く因子および Bak を中心としたミトコンドリア局在のアポトーシス関連因子の分子ネットワークを解析する。これにより、ミトコンドリアを介した内耳組織の老化調節機構を明らかにする。また、同定した老化調節因子を構造生物学的・生化学的手法

により解析し、その分子機能の詳細を明らかにする。

2) 抗老化食物質の探索と作用機序の解明

老化調節因子と食物質の *in silico* スクリーニングおよび相互作用スクリーニングにより、抗老化食物質の候補となる機能性食物質を探索する。同定した機能性食物質について、標的因子ノックアウトマウスの加齢性難聴を指標に老化遅延効果と作用点を明らかにする。また、構造学的手法を駆使し、標的因子に対する機能性食物質の作用機序を解明する。

【期待される成果と意義】

本研究は内耳組織をモデルとした老化機構の全貌を明らかにするものであり、老化機構とカロリー制限を介した抗老化機構の明確なモデルを提案するものである。本研究で得られる成果は、感覚神経系をはじめとする他の組織の老化機構を理解することに大きく貢献し、老化調節研究に新たな着眼点を提供することが期待される。また、加齢性難聴は65歳以上の国民の4人に1人が発症する加齢性疾患の代表例であり、本研究成果により同定される抗老化食物質の利用は、加齢性難聴の発症リスク低減につながるものと期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Someya, S., Tanokura, M., et al. Age-related hearing loss in C57BL/6J mice is mediated by Bak-dependent mitochondrial apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 106, 19432-19437 (2009).
- Someya, S., Tanokura, M., et al. Sirt3 mediates reduction of oxidative damage and prevention of age-related hearing loss under caloric restriction. *Cell* 143, 802-812 (2010).

【研究期間と研究経費】

平成23年度－27年度  
166,300千円

【ホームページ等】

<http://fesb.ch.a.u-tokyo.ac.jp/>

【基盤研究(S)】  
生物系(農学)



研究課題名 脳内成長因子の生理作用と病態に関する研究

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授 にしはら ますぎ  
西原 真杉

研究分野: 農学

キーワード: 生理、病態

【研究の背景・目的】

我々は性ステロイド依存的に周生期の脳で発現し、脳の性分化を誘導する分子として、成長因子の一種であるプログラニュリンを同定した。さらに最近、プログラニュリンが成体脳における神経新生に関わる因子であることを見出すとともに、プログラニュリン遺伝子を欠損したマウスを世界で初めて作出し、性行動、攻撃行動、不安傾向などに変化が生じることを明らかにした。この間、プログラニュリンの遺伝子変異がアルツハイマー病に次いで頻度の高い神経変性疾患である前頭側頭葉変性症の一因であることが報告され、改めて脳内における成長因子と病態の関係が大きな注目を集めている。研究分担者の長谷川らは、前頭側頭葉変性症や筋萎縮性側索硬化症では、スプライシング関連因子である TDP-43 が異常リン酸化され、変性神経細胞に蓄積していることを見出した。これらの発見は、プログラニュリン遺伝子の変異により TDP-43 が細胞内に蓄積し、神経細胞が変性するというメカニズムの存在を示唆している。本研究は、脳内における成長因子の生理作用に関する基礎的研究と、その遺伝子変異による神経変性疾患に関する神経病理学的な研究を融合させ、神経細胞の生存や変性に関わる成長因子の作用機構を明らかにするとともに、神経変性疾患の発症機序の解明に資することを目的としている。

【研究の方法】

本研究においては成長因子プログラニュリンに焦点を当て、1) 成長因子の脳内における生物学的作用とその作用機序、2) 成長因子の異常による異常タンパク質の蓄積と神経変性の機序、の2点の解明を目指す。

1) については、我々が作出したプログラニュリン遺伝子欠損マウス等の各種動物モデルを用いて、神経回路形成過程の組織学的解析や、成熟期、老齢期における行動学的解析を行い、神経細胞の各種細胞生物学的現象の制御におけるプログラニュリンの役割を詳細に検討する。また、実験的脳障害や脳虚血を誘導した場合の回復過程や神経新生に対する成長因子の役割についても明らかにする。さらに、神経前駆細胞を培養してプログラニュリンをはじめとする成長因子の細胞内情報伝達機構やそれらにより誘導される遺伝子、タンパク質を解析し、細胞レベルでの成長因子の作用及びその作用機序を解明する。

2) については、成長因子と TDP-43 との関係に焦点を当て、各種の神経変性疾患罹患脳について

組織学的解析を行うとともに、TDP-43 の構造やリン酸化部位に関する詳細な生化学的解析を行う。さらに、プログラニュリン遺伝子欠損マウス、TDP-43 トランスジェニックマウス等の各種動物モデル及び細胞モデルを用いて、プログラニュリンの減少による異常リン酸化 TDP-43 の蓄積機構やその細胞障害機構等について解析し、脳内成長因子の異常により誘導される神経変性の分子メカニズムを明らかにする。

【期待される成果と意義】

本研究では、プログラニュリン遺伝子欠損マウスや培養神経前駆細胞を用いた解析により、成長因子の中枢神経系における生物学的役割や細胞内情報伝達系の解明が期待できる。さらに、各種神経変性疾患の神経病理学的解析や TDP-43 を発現する動物モデル、細胞モデルを用いた解析により、脳内成長因子の減少による異常リン酸化 TDP-43 の蓄積機序及び神経変性機序の解明を目指す。プログラニュリンの低下から異常タンパク質の蓄積を経て神経変性に至るカスケードが解明されれば、各種の神経変性疾患の病態解明に対する波及効果は極めて大きく、動物やヒトにおける神経変性疾患一般の予防や治療に関する新たな方法論の確立が期待できる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

Nedachi T, Nishihara M et al. Progranulin enhances neural progenitor cell proliferation through glycogen synthase kinase 3 $\beta$  phosphorylation. *Neuroscience* 185, 106-115, 2011.

Ahmed Z, Nishihara M et al. Accelerated lipofuscinosis and ubiquitination in granulin knockout mice suggests a role for progranulin in successful aging. *Am J Pathol* 177, 311-324, 2010.

【研究期間と研究経費】

平成23年度 - 27年度  
155,800千円

【ホームページ等】

<http://www.vm.a.u-tokyo.ac.jp/seiri/>

## 【基盤研究(S)】

### 生物系(医歯薬学I)



#### 研究課題名 新奇Gサイクルの起動制御と新たな存在様式・作動原理の統合的解析

東京大学・大学院薬学系研究科・教授 **かただ としあき**  
**堅田 利明**

研究分野：生物系薬学、機能生物科学

キーワード：生化学、細胞情報伝達機構

#### 【研究の背景・目的】

細胞の広範なシグナル伝達経路において、G蛋白質は分子スイッチとして機能しており、その活性はGDP結合型からGTP結合型へのコンホメーション転換(Gサイクル)によって調節される。これまでにG蛋白質は、1) 蛋白質合成過程に介在する翻訳因子群、2) 受容体刺激のシグナルを伝達する $\alpha\beta\gamma$ ヘテロ三量体、そして3) 遺伝子発現を介して細胞の増殖・分化を制御するRasや細胞の運動や輸送・分泌に介在するRho、Rab、Arfなどの低分子量G蛋白質ファミリーに分類されてきた。しかし、Ras型のG蛋白質が、RhoあるいはRab様機能である細胞接着・伸展や小胞輸送系にも介在する例が多数見出され、これまでの一次構造に基づく分類に再評価の必要が生じた。さらに本グループは、既存のG蛋白質ファミリーがもつ生化学的性状や構造とは異なる新奇のG蛋白質を多数同定しており、G蛋白質の新しい調節機構と機能は大きな広がりを見せている。

本研究では、これまでに解析の進んだ既知タイプとは異なるG蛋白質、1) 従来の刺激依存性GDP-GTP交換によるコンホメーション転換型とは異なるGTP結合待機型G蛋白質(Arf、Rasファミリーに属するArl8、Di-Ras)、2) 既知のGドメインに加えて別の機能領域も有するユニークなマルチドメイン型G蛋白質(Rab、Arfファミリーに属するRab45、Arl13b)、さらに、3) 栄養感知からmTORへのシグナル伝達に介在するヘテロ二量体のG蛋白質Ragなどを対象とした。新奇Gサイクルの起動制御と新たな存在様式・作動原理を解析し、G蛋白質分類の再評価を含めたGサイクルの統合的理解を目指す。

#### 【研究の方法】

本研究では、GTP結合待機型とマルチドメイン型という、新奇Gサイクルの時空的起動制御と新たな存在様式・作動原理の解明に向けて、精製蛋白質標品を用いた生化学的解析、遺伝子導入やノックダウンによる細胞レベルでの分子生物学・細胞生物学的解析、さらにモデル生物(線虫・マウス)の遺伝子破壊による個体レベルでの分子遺伝学的解析等により、統合的に諸種の階層で研究を進める。特に、Gサイクルの存在様式、G蛋白質相互作用因子群の探索・同定に向けては、組織・細胞内でのインタクナ存在状態が反映されるよう、生体試料からの精製・生化学的バイオアッセイ法を進め、さらに個体レベルでの解析では、Gファミリーメンバーの数が比較的少ない線虫の遺伝学的スクリーニングを利用

する。

#### 【期待される成果と意義】

1) 従来型と新奇型という存在様式と作動原理が異なるGサイクルを可能とする分子基盤と生理的・合目的性、2) Gサイクルの始動(GDP-GTP交換反応またはGTP加水分解反応か)と標的効果器を駆動させる実態(GTP結合型量またはGサイクル回転か)の解析から、Gサイクルの統合的理解と新たな再評価が可能となる。また、対象とした新奇Gサイクルの多くは、細胞内オルガネラ形成での機能が期待されており、存在様式と作動原理に基づいて特異性が発揮される複雑・巧妙なオルガネラ形成機構の深い理解にも貢献する。さらに、対象としたGサイクルのいくつかは繊毛病やリソソーム病とも密接に関連しており、病態の解明と診断・治療に向けても貢献できる。

#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

1. Saito K, Yamashiro K, Ichikawa Y, Erlmann P, Kontani K, Malhotra V, Katada T. cTAGE5 mediates collagen secretion through interaction with TANGO1 at endoplasmic reticulum exit sites. *Mol. Biol. Cell.* 2011 Apr 27 [Epub ahead of print]
2. Nakae I, Fujino T, Kobayashi T, Sasaki A, Kikko Y, Fukuyama M, Gengyo-Ando K, Mitani S, Kontani K, Katada T. The Arf-like GTPase Arl8 mediates delivery of endocytosed macromolecules to lysosomes in *Caenorhabditis elegans*. *Mol. Biol. Cell* 21: 2434-2442 (2010)
3. Cevik S, Hori Y, Kaplan OI, Kida K, Toivenon T, Foley-Fisher C, Cottell D, Katada T, Kontani K, Blacque OE. Joubert syndrome Arl13b functions at ciliary membranes and stabilizes protein transport in *Caenorhabditis elegans*. *J. Cell Biol.* 188: 953-969 (2010)

#### 【研究期間と研究経費】

平成23年度-27年度  
173,700千円

#### 【ホームページ等】

<http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~seiri/katada@mol.f.u-tokyo.ac.jp>

## 【基盤研究(S)】

### 生物系(医歯薬学I)



#### 研究課題名 発生頑強性を規定する細胞死シグナルの解明

東京大学・大学院薬学系研究科・教授 みうら まさゆき  
**三浦 正幸**

研究分野：発生遺伝学

キーワード：発生、頑強性、カスパーゼ、ストレス、遺伝生化学、イメージング

#### 【研究の背景・目的】

発生過程は、全能性を有する細胞が時間軸に沿って細胞分裂とともに刻々と変化し、特殊化しつつ、あるパターンを作っていくという実にダイナミックなプロセスである。そして同時に、様々な環境におかれた場合においても正常に発生は進行する驚くべき頑強な生命現象である。体外で発生する受精卵は、直接外界と接することによって、温度変化をはじめとする環境変化を受けるにもかかわらず正常に発生する。子宮の中で発生するほ乳類は、胎児をとりまく環境ということでは体外で発生する動物よりも保護されているように見えるが、母体の状態(摂取する栄養やストレス)によってその胎児環境は変動する。それにもかかわらず正しく個体発生を完了する。発生の安定性を保持する本質とは、胚の内外で生じるストレス刺激へダイナミックに応答することにあると考えられるが、本研究では、ショウジョウバエ遺伝学、生体イメージング、遺伝生化学を駆使して、発生の頑強性に関わる細胞死シグナル分子の同定を行い、その知見をふまえ、マウスの発生における細胞死シグナルを用いた発生頑強性の研究を進める。

#### 【研究の方法】

ショウジョウバエ外感覚器における外感覚器前駆体細胞(SOP)形成の揺らぎと、マウス神経発生における細胞死シグナルの動態解析、及び、ショウジョウバエ成虫原基の発生・再生能の安定性に関するカスパーゼの役割を中心に、遺伝生化学、生体イメージングを用いて解析を進める。

#### 【期待される成果と意義】

この研究によって、発生が内的外的なストレス環境に対して頑強であることの分子機構を提示する。本研究の成果は、発生生物学の根源的な疑問に迫ることとともに、先天性奇形の発生機序、診断、治療、さらには生物の再生現象の理解に関しても非常に有益な知見をもたらすと確信する。

#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

Nakajima, Y-I, Kuranaga, E., Sugimura, K., Miyawaki, A., and Miura, M.: Non-autonomous apoptosis is triggered by local cell cycle progression during epithelial replacement in *Drosophila*. *Mol. Cell Biol.*, 31 2499-2512, 2011  
Koto, A., Kuranaga, E., and Miura, M.: Apoptosis ensures spacing pattern formation of *Drosophila* sensory organs. *Current Biol.* 21, 278-287, 2011  
Ohsawa, S., Hamada, S., Kuida, K., Yoshida, H., Igaki, T., and Miura, M.: Maturation of the olfactory sensory neurons by Apaf-1/caspase-9-mediated caspase activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 107, 13366-13371, 2010  
Kondo, S., Senoo-Matsuda, N., Hiromi, Y., and Miura, M.: Dronc coordinates cell death and compensatory proliferation. *Mol. Cell Biol.* 26, 7258-7268, 2006.  
Kuranaga, E., Kanuka, H., Tonoki, A., Takemoto, K., Tomioka, T., Kobayashi, M., Hayashi, S., and Miura, M.: *Drosophila* IKK-related kinase regulates nonapoptotic function of caspases via degradation of IAPs. *Cell* 126, 583-596, 2006  
Kanuka, H., Kuranaga, E., Takemoto, K., Hiratou, T., Okano, H., and Miura, M.: *Drosophila* caspase transduces Shaggy/GSK-3b kinase activity in neural precursor development. *EMBO J.* 24, 3793-3806, 2005

#### 【研究期間と研究経費】

平成23年度-27年度  
165,200千円

#### 【ホームページ等】

<http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~genetics/index.html>

## 【基盤研究(S)】

生物系 (医歯薬学 I)



### 研究課題名 個体での組織構築・恒常性における Rho-mDia 経路の役割

京都大学・大学院医学研究科・教授 なるみや しゅう  
成宮 周

研究分野：細胞医科学

キーワード：Rho、mDia、アクチン細胞骨格、細胞運動、細胞接着

#### 【研究の背景・目的】

細胞骨格、とりわけ actin 細胞骨格は、細胞の形態、接着、移動、増殖に大きな役割を果たしている。ここ 20 年の研究で、actin 細胞骨格の形成が、細胞の中でどのように制御され、上記過程に働くのかの大略が明らかになって来た。しかし、これらの解析は、殆どが培養系でなされたもので、培養細胞で明らかになった原理が、個体の組織でどのように働いているかは、不明な点が多い。そこで本研究では、低分子量 GTP 結合蛋白質 Rho の下流で actin 重合因子として働いている mDia (mammalian homolog of Diaphanous) を対象として、哺乳類細胞で発現している 3 種の mDia isoform の遺伝子欠損マウスを用い、それらの組織構築、組織恒常性、組織可塑性における働きを明らかにし、組織でのアクチン細胞骨格機能の原理を発見することを目的としている。

#### 【研究の方法】

mDia の各種 isoform 欠損マウスを用い、Rho-mDia 経路の、神経幹細胞制御、軸索ガイダンス、神経可塑性などの神経系の恒常性での役割、骨髄幹細胞制御や分裂、脱核など主に骨髄恒常性での役割、さらに、DMBA/TPA 投与による皮膚発ガンモデルや毛色などの皮膚恒常性での役割を解析する。これらすべてについて個体での in vivo の解析と培養細胞を用いた in vitro の解析を組み合わせ、個体での異常が細胞でのどのような分子機構に基づいているかを明らかにする。また、遺伝子欠損マウスでの解析を補完するものとして、in utero electroporation による遺伝子発現、RNAi を併用するほか、これら KO マウスが Cre-LoxP で作られている利点を生かして、適宜、組織・時期特異的な KO を作成する。

#### 【期待される成果と意義】

本研究の遂行で期待される主なる成果は、以下の 3 点である。

##### 1. 幹細胞の増殖と分化の調節機構の解明：

神経幹細胞および骨髄細胞の増殖異常の解析をおこなうことにより、幹細胞の増殖を制御する共通のアクチン依存性機構を明らかにすることが期待される。また、この知見を基盤とし、先天性の脳神経系発生異常や小児脳神経腫瘍の成り立ちを明らかにできるかもしれない。さらに、神経幹細胞は極性を有しているが、mDia-欠損マウスでは、

この極性が破綻しており、これを解析することで、組織での極性形成機構が明らかになることが期待できる。

##### 2. 神経可塑性における Rho-mDia を介したアクチン細胞骨格の意義：

mDia 欠損マウスを、コカインなどの薬物依存や慢性ストレスによる抑うつモデルに供することにより、これらにおける神経可塑性での mDia の関与とアクチン細胞骨格の機能を解析する。これにより薬物依存やうつ病の病態発現機構の一半を明らかにすることが期待される。

##### 3. 皮膚恒常性における Rho-mDia 経路の役割：

多くのがんで、Rho の過剰発現が報告されており、また、p53 に続く頻度の多いがん抑制遺伝子 DLC-1 が RhoGAP であることが報告されているが、Rho のがん化における役割は、はっきりしていない。DMBA/TPA による皮膚発ガンでの mDia の関与と役割を解析することで、Rho のがん化での寄与と機構を解明できると期待される。

以上を通じて、これまで、培養細胞での解析により見出された Rho シグナリングが個体の中でどのように働いているかを明らかにする。

#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

Narumiya, S., Tanji, M. & Ishizaki, T. (2009) Rho signaling, ROCK and mDia1, in transformation, metastasis and invasion. *Cancer Metastasis Rev.*, 28, 65-76.

Sakamoto, S et al. Liprin- $\alpha$  controls stress fiber formation by binding to mDia and regulating its membrane localization *J. Cell Sci.*, in press

#### 【研究期間と研究経費】

平成 23 年度 - 25 年度  
126,000 千円

#### 【ホームページ等】

<http://www5.mfour.med.kyoto-u.ac.jp/snaru@mfour.med.kyoto-u.ac.jp>

## 【基盤研究(S)】

### 生物系(医歯薬学I)



## 研究課題名 顎顔面免疫と生殖器免疫のクロストーク

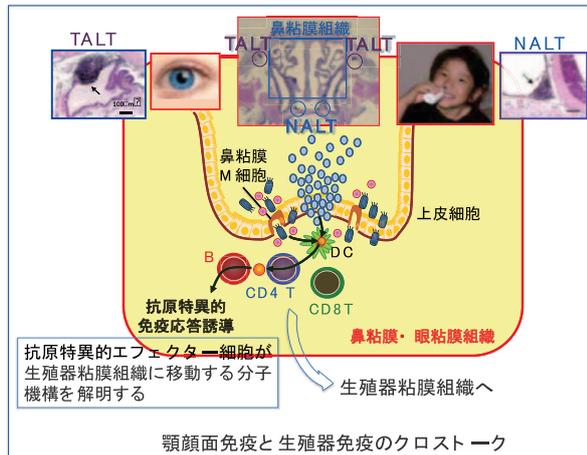
東京大学・医科学研究所・教授 きよの ひろし  
清野 宏

研究分野: 医歯薬学

キーワード: 粘膜免疫

### 【研究の背景・目的】

一個所の粘膜関連リンパ組織に抗原投与することで遠隔の粘膜面に抗原特異的免疫応答が誘導されることは現象論として知られているものの、その分子・細胞機構については不明であった。近年、パイエル板において誘導される抗原特異的免疫担当細胞の腸管粘膜指向性決定分子群が同定されたが、経鼻免疫および経眼免疫によって誘導される抗原特異的免疫担当細胞の腔粘膜組織指向性を決定する分子機構については未だ不明である。そこで、当研究室で同定しその組織形成分子・細胞機構を明らかにしてきた鼻咽頭関連リンパ組織(NALT)と涙道関連リンパ組織(TALT)を介して、抗原の経鼻免疫および経眼免疫によって遠隔の腔粘膜において抗原特異的免疫応答が誘導される分子・細胞機構を明らかにすることを目的とし、腔粘膜感染防御に必須であるエフェクターメモリーCD4<sup>+</sup>T/CD8<sup>+</sup>T細胞および抗原特異的IgA<sup>+</sup>B細胞の誘導組織から腔粘膜組織への移動および局在の制御機構について解析する。そしてそれらの知見を利用した性感染症に対する新世代粘膜ワクチンの開発への基盤研究遂行を目指す。



### 【研究の方法】

本研究では、抗原の経鼻・経眼免疫により誘導される抗原特異的IgA産生細胞およびエフェクターT細胞の腔粘膜組織指向性獲得分子機構について解明する。特に、1)マクロ蛍光イメージング法による投与された抗原の局在解析 2)抗原特異的IgA産生細胞およびエフェクターT細胞の細胞移動制御分子の同定 3)DNAマイクロアレイ法および培養上清のFPLC解析による樹状細胞が発現していると予測される腔粘膜組織指向性誘

導・制御分子の同定 4)NALT欠損マウスを用いたNALT非依存的鼻粘膜M細胞を介した抗原取り込みとM細胞直下の粘膜組織に局在する樹状細胞による抗原提示の腔粘膜指向性獲得機構における重要性についての解析を遂行する。

### 【期待される成果と意義】

子宮頸癌の原因となるヒトパピローマウイルスのワクチンは、高い予防効果が実証されているが、HSV-2やHIVによる性感染症に対する予防ワクチンは存在せず、抗原特異的抗体産生応答と細胞性免疫応答の両方を効率的に誘導するワクチンの開発が望まれている。経鼻・経眼投与された抗原に対する抗原特異的免疫応答が遠隔の粘膜組織である腔粘膜組織において誘導されるが、その誘導機構については不明である。本研究課題では、経鼻・経眼投与された抗原に対する各種特異的エフェクター細胞が、どのような分子機構によって腔粘膜指向性を獲得するのか、その誘導機構や誘導組織の解析も含めて詳細な研究を遂行する。本研究は、世界的に存在が認められているが現象論にとどまっている粘膜免疫循環帰巢経路の分子機構の解明という学問的な課題として意義があり、さらに現時点では予防法がない現状が問題となっているウイルス感染による性感染症に対する効果的なワクチンを開発する基盤研究としても期待され、社会医学的に貢献度の高い研究と位置付けられる。

### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

Fukuyama S, Hiroi T, Yokota Y *et al.* Initiation of NALT organogenesis is independent of the IL-7R, LTbetaR, and NIK signaling pathways but requires the Id2 gene and CD3(-)CD4(+)CD45(+) cells. *Immunity*. 17(1):31-40. 2002

Nagatake T, Fukuyama S, Kim DY *et al.* Id2-, RORgammaT-, and LTbetaR-independent initiation of lymphoid organogenesis in ocular immunity. *J Exp Med*. 206(11):2351-64. 2009

### 【研究期間と研究経費】

平成23年度-27年度  
165,200千円

### 【ホームページ等】

[http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/EnMen/index\\_j.html](http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/EnMen/index_j.html)

## 【基盤研究(S)】

生物系 (医歯薬学 I)



### 研究課題名 NKT 細胞系列決定・機能発現メカニズム

独立行政法人理化学研究所・免疫制御研究グループ  
グループディレクター

たにぐち まさる  
谷口 克

研究分野: 医歯薬学

キーワード: NKT 細胞、クローンマウス、初期分化、前駆細胞、NKT 細胞-GFP マウス

#### 【研究の背景・目的】

申請者らが発見したナチュラルキラーT (NKT) 細胞は、NKT 細胞を欠損したマウスと NKT 細胞リガンドである  $\alpha$ -ガラクトシルセラミドの発見によって、その性状と免疫系に於ける役割と機能を明らかにでき、進行肺がんの臨床研究で NKT 細胞の有用性が明らかにされている。

しかし、NKT 細胞が固有の細胞系列なのか不明である。本研究では、iPS 細胞、単一細胞 PCR、エピジェネティクス解析を行い NKT 細胞分化・機能決定に重要な遺伝子を同定し、特定機能の NKT 細胞を量産する基本技術開発を目的とする。

#### 【研究の方法】

1) NKT細胞系列決定遺伝子群の同定と機能遺伝子の発現制御: 定説とは異なるDN4ステージに発見した“プレNKT細胞”は、細胞表面にV $\alpha$ 14J $\alpha$ 18受容体発現はないが、遺伝子再構成は終了した細胞である。この細胞を単一細胞遺伝子解析し、系列決定や機能に関与する転写因子を同定する。CD1d欠損マウスDN4分画から単一細胞分離後、high throughput qPCRを行い、系列決定遺伝子を同定。候補遺伝子のshRNAをiPSに遺伝子導入し、NKT細胞分化、機能発現を解析する。またCAGE法を行い、時系列的遺伝子発現動態を解析する。

2) エピゲノム解析: iPS から分化するプレ NKT 細胞/NKT細胞の遺伝子発現とエピゲノム解析により、サイトカイン産生、アジュバント活性、増殖能などの機能予測検証を行う。

3) 人工 NKT 細胞の創成: エピゲノムプロファイリングの予測システムを用いて iPS 細胞に遺伝子セットを導入し、人工 NKT 細胞を作製する。

#### 【期待される成果と意義】

- 1)NKT 細胞系列を決定する遺伝子を同定する。
- 2)NKT 細胞分化各ステージの遺伝子発現とエピゲノムデータ構築する。
- 3)NKT 細胞特異的遺伝子発現の時系列的解析およびクロマチン修飾状態を明らかにする。
- 4)任意の機能を持つ NKT 細胞を大量生産する基本技術開発を可能にする。

#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Watarai H, Rybouchkin A, Nagata Y, Hongo N, Sakata S, Sekine E, Dashtsoodol N, Tashiro T, Fujii S, Shimizu K, Mori K, Kawamoto H, Koseki H, **Taniguchi M**. Generation of functional NKT cells in vitro from embryonic stem cells bearing rearranged invariant V $\alpha$ 14-J $\alpha$ 18 TCR gene. *Blood* 115, 230-237, 2010.
- Watarai H, Fujii SI, Yamada D, Rybouchkin A, Sakata S, Nagata Y, Iida-Kobayashi M, Sekine-Kondo E, Shimizu K, Shozaki Y, Sharif J, Matsuda M, Mochiduki S, Hasegawa T, Kitahara G, Endo TA, Toyoda T, Ohara O, Harigaya KI, Koseki H, **Taniguchi M**. Murine induced pluripotent stem cells can be derived from and differentiate into natural killer T cells. *J Clin Invest*. 120: 2610-2618, 2010

#### 【研究期間と研究経費】

平成23年度-27年度  
82,600千円

#### 【ホームページ等】

<http://web.rcai.riken.jp/en/labo/regulation/index.html>

## 【基盤研究(S)】

### 生物系 (医歯薬学Ⅱ)



## 研究課題名 新規の心筋解糖系シグナロソームの発見とインスリン抵抗性心不全病態のエネルギー代謝

京都府立医科大学・大学院医学研究科・教授 まつばらひろあき  
松原 弘明

研究分野: 医歯薬学

キーワード: 分子心臓病学

### 【研究の背景・目的】

心不全は、種々の心疾患の終末像であり、人口の高齢化に伴い心不全患者の総数は増加している。糖尿病患者数も同様に増加しており、糖尿病患者の心不全発症率も増加していることより、心不全の原因として糖尿病性心筋症が注目されている。心不全患者の予後は、薬物療法の進歩にもかかわらず不良であり、予後を改善する新たな治療法が求められている。

心臓は、脂肪酸の酸化と糖の分解によりエネルギーを産生している。不全心では、解糖系に異常が生じエネルギー産生が低下するが、心不全の進展には、インスリン抵抗性から始まるエネルギー代謝障害、ミトコンドリア障害、酸化ストレスと、それらによる細胞死が大きく寄与しており、心不全では糖尿病の有無にかかわらず「インスリン抵抗性心臓病」と称すべき病態が生じていることに我々は注目した。我々はこれまでに癌抑制因子 p53 と SCO2 (synthesis of cytochrome oxidase 2), TIGAR (TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator) が、心筋のエネルギー代謝を制御することを明らかにし、また我々が発見した ARIA (apoptosis regulator through modulating IAP expression) と MURC (muscle-restricted coiled-coil protein) が、インスリンシグナルに作用し解糖系シグナロソームを介して心筋細胞死を制御することを示唆する結果を得ている。しかし、p53, SCO2, TIGAR, ARIA, MURC のインスリン抵抗性心臓病における役割は未だ明らかでない。

本研究では、p53, SCO2, TIGAR と、ARIA, MURC の関係に着目し、下記の研究計画を遂行することにより、不全心の病態をインスリン抵抗性とエネルギー代謝、細胞死の観点から解明し、心不全に対する新たな治療戦略を確立することを目的とする。

- 1). TIGAR, SCO2を介したエネルギー代謝と細胞死の制御メカニズムの解明
- 2). MURC/カベオラ系を介するエネルギー代謝と細胞死の制御メカニズムの解明
- 3). ARIAによる心筋インスリン感受性と細胞死の制御機構の解明
- 4). 心筋エネルギー代謝と細胞死の統合制御による心不全治療開発

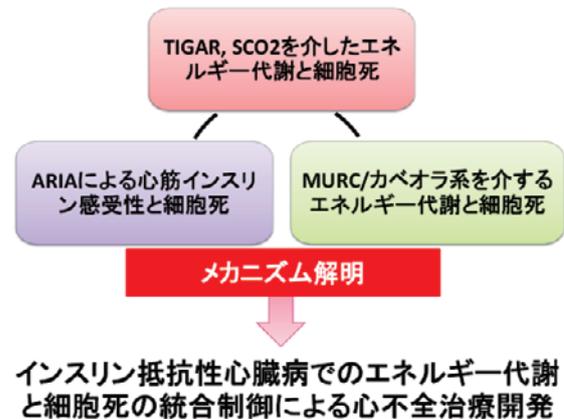
### 【研究の方法】

本研究では、培養心筋細胞と遺伝子改変動物や疾患モデル動物を用い、分子生物学的、細胞生物学的、組織学的、生理生化学的な解析を行うこと

により、上記の研究計画を遂行する。

### 【期待される成果と意義】

増加の一途をたどるインスリン抵抗性を示す糖尿病やメタボリックシンドロームを合併する難治性心不全を治療標的としたインスリン抵抗性、心臓エネルギー代謝および細胞死の解析は、新規の心不全治療薬の開発と最新の循環器病学の発展に大きく寄与することが期待される。



### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

1. Ikeda K, Matsubara H et al. Identification of ARIA regulating endothelial apoptosis and angiogenesis by modulating proteasomal degradation of cIAP-1 and cIAP-2. *Proc Natl Acad Sci USA* 106: 8227-8232, 2009
2. Ogata T, Matsubara H et al. MURC, a muscle-restricted coiled-coil protein that modulates the Rho/ROCK pathway, induces cardiac dysfunction and conduction disturbance. *Mol Cell Biol* 28: 3424-3436, 2008
3. Matoba S et al. p53 regulates mitochondrial respiration. *Science* 312: 1650-1653, 2006

### 【研究期間と研究経費】

平成23年度－27年度  
165,800千円

### 【ホームページ等】

<http://www.f.kpu-m.ac.jp/k/med2/index.html>

## 【基盤研究(S)】

生物系 (医歯薬学Ⅱ)



### 研究課題名 関節リウマチを対象としたヒト免疫学の確立

東京大学・医学部附属病院・教授

やまもとかずひこ  
山本 一彦

研究分野：医歯薬学

キーワード：リウマチ学 臨床免疫学 膠原病学

#### 【研究の背景・目的】

関節リウマチは関節を中心に自己の抗原に対する免疫応答が起こり、その結果、持続的な炎症が起きる病気です。炎症が続くと骨や軟骨が壊され、日常生活に大きな支障を生じます。約0.5%の人が発症し、日本では約70万人前後の患者さんがおられます。

関節リウマチの原因はまだ分かっていません。免疫応答の標的となる自己の抗原が何か、どうしてそれに対して免疫応答が生じるのかなどが分かっていないのです。しかし、炎症が起きる場合には、炎症性サイトカインという炎症を引き起こすタンパクが働いていることが分かり、この炎症性サイトカインを抑える生物学的製剤と呼ばれる薬が開発されています。生物学的製剤は関節リウマチに大きな効果があり、約半分くらいの患者さんは日常生活にあまり支障が無くなります。しかし約半分の患者さんでは効果が十分でなく、効果があった患者さんでも長期に治療を続ける必要があります。そこで関節リウマチの病態をさらに明らかにして、より良い治療法を開発することが重要です。これまでの免疫や炎症の研究では、マウスを用いて関節炎の仕組みが解明されてきましたが、最近ではヒトとマウスの違いが研究を進める上で大きな壁になってきています。

そこでこの研究では、マウスの情報を適切に用いながらヒトの細胞や遺伝子を重点的に解析することで、関節リウマチの仕組みを明らかにすることが目的です。

#### 【研究の方法】

関節リウマチ患者さんの遺伝子を、健康な人の遺伝子と精密に比較することで、関節リウマチ発症に関連する遺伝子を突き止めることができます。私達のグループではそのような遺伝子として、タンパクのシトルリン化酵素の PADI4 など突き止めました。そこでこれらの遺伝子の関節リウマチ発症との関わりを、さまざまな実験モデルにより解析します。

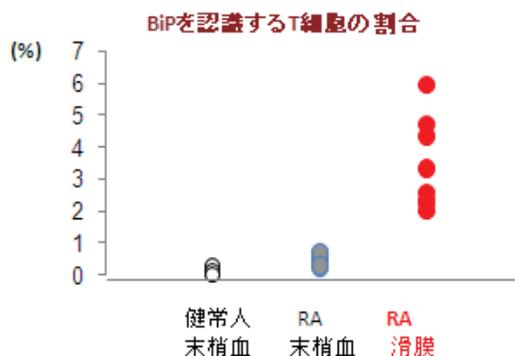
また私達のグループは、関節リウマチ患者さんの T 細胞というリンパ球が、ヒトの体由来の BiP というタンパクの特定の部分に反応し、関節炎を悪化させる性質のある炎症性サイトカイン IL-17 をつくることを突き止めました。この BiP に反応する T 細胞がどのようにして誘導されるのかを解明し、関節炎を引き起こす T 細胞が誘導されない

ようにする治療法を開発を試みます。

一方、免疫を抑える働きのある T 細胞を制御性 T 細胞と呼びますが、私達はこれまで見つかっていなかった新しい制御性 T 細胞を同定しました。関節リウマチでこの細胞の働きが弱くなっていないか調べ、この細胞を用いた関節リウマチの治療法を開発を目指します。

#### 【期待される成果と意義】

この研究により関節リウマチの発症の仕組みがより明らかになると期待されます。実際に関節リウマチの発症に関わっている遺伝子の解析、関節リウマチ患者さんで活性化している T 細胞の活性化の仕組みの解析により、関節における免疫反応と炎症のアクセラに当たる部分について、マウスの研究では分からなかったことが明らかになると予想されます。また免疫反応のブレーキである制御性 T 細胞の解析を進め、アクセラに当たる仕組みとまとめて理解することで、より副作用の少ない治療法が開発につながることを期待されます。



#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

Kochi Y, Suzuki A, Yamada R, Yamamoto K. Ethnogenetic heterogeneity of rheumatoid arthritis-implications for pathogenesis. Nat Rev Rheumatol 6:290-295, 2010

Fujio K, Okamura T, Yamamoto K. The family of IL-10-secreting CD4+ T cells. Adv Immunol 105:99-130, 2010

#### 【研究期間と研究経費】

平成23年度－27年度  
165,200千円

## 【基盤研究(S)】

### 生物系(医歯薬学Ⅱ)



## 研究課題名 神経障害性疼痛におけるグリア機能の解明

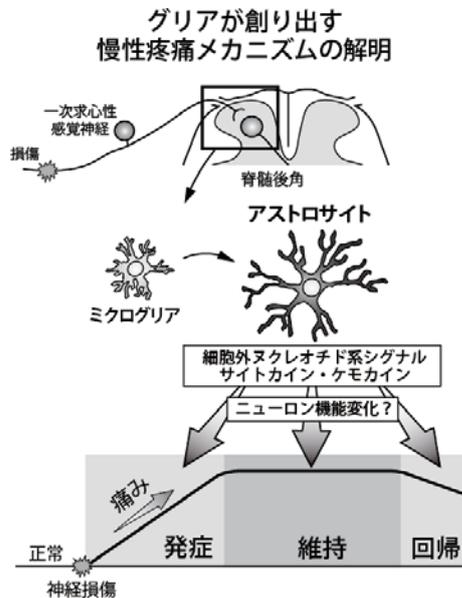
九州大学・大学院薬学研究院・教授 いのうえかずひで  
井上 和秀

研究分野：神経化学・神経薬理学

キーワード：神経伝達物質・受容体、グリア細胞、中枢・末梢神経薬理学、神経障害性疼痛

### 【研究の背景・目的】

神経障害性疼痛は発症機序が不明のために根本的な治療法が無く、世界で 2200 万人の患者が存在し、臨床上の重大問題となっている。我々は現在までに損傷神経由来の各種因子がミクログリアを活性化し、そこに特有の疼痛関連タンパクを過剰に発現させることが神経障害性疼痛発症に重要であることを突き止めた(Nature2003; 2005) が、神経損傷後のアストロサイト活性化の役割とミクログリアとの関係性についてはほとんど分かっていない。そこで、本研究の目的はその発症メカニズムを明らかにするために、アストロサイトの活性化メカニズムと神経障害性疼痛における役割解明を基軸に据え、ミクログリアとの相互関係を横軸にして、本疼痛の発症維持回復過程におけるグリア機能を明確な時系列で解明することである。



### 【研究の方法】

本研究の目的達成のために研究期間内に次の研究を行う。

- ①発症・維持・正常回帰プロセスの時間軸トランスクリプトーム解析により、アストロサイト特異的に活性化する分子群を同定する。
- ②それらの中から特に神経障害性疼痛と深く関与する分子や転写因子を行動薬理的に厳選し、機能を解析する。
- ③厳選された分子群あるいは転写因子について、ミクログリア活性化との関連性を時系列で解析し、神経障害性疼痛との関係を明確にする。
- ④神経障害性疼痛に関与するヌクレオチドの放出に重要な

小胞型ヌクレオチドトランスポーター (VNUT) の発現パターン解析、アストロサイト VNUT の機能と神経障害性疼痛への関与を解析する。⑤各種分子欠損動物から得た標本を用いて、厳選された疼痛関連分子について痛み神経シナプス伝達における役割を電気生理的手法及び二光子イメージング技術により解明する。⑥上記研究で特段に重要性が浮かび上がったターゲットに関しては、脊髄後角 Lamina 各層特異的ターゲット分子欠損動物を作製し、それを用いてターゲット分子の機能変化とアロディニア発症 (*in vivo*) の相関を時系列で解明する。

### 【期待される成果と意義】

本研究により、神経障害性疼痛発症におけるアストロサイトの活性化メカニズムと役割解明、ミクログリアとの相互関係が明らかになり、本疼痛の発症維持回復過程におけるグリア機能を明確な時系列で解明することができる。そして、新成長戦略でのライフ・イノベーションにもあるグリアを標的とした独創的かつ画期的な難治性疼痛治療薬を創出できる可能性がある。

### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

1. Tsuda M, Shigemoto-Mogami Y, Koizumi S, Mizokoshi A, Kohsaka S, Salter MW, Inoue K: P2X4 receptors induced in spinal microglia gate tactile allodynia after nerve injury. *Nature* 424: 778-783, 2003
2. Koizumi S, Shigemoto-Mogami Y, Nasu-Tada K, Shinozaki Y, Ohsawa K, Tsuda M, Joshi BV, Jacobson KA, Kohsaka S, Inoue K. UDP acting at P2Y6 receptors is a mediator of microglial phagocytosis. *Nature* 446, 1091-1095, 2007

### 【研究期間と研究経費】

平成23年度－27年度  
149,600千円

### 【ホームページ等】

<http://yakkou.phar.kyushu-u.ac.jp/>

## 【基盤研究(S)】

### 生物系 (医歯薬学Ⅱ)



#### 研究課題名 内耳発生メカニズムの解明と再生医療への応用

京都大学・大学院医学研究科・教授 伊藤 壽一 (いとう じゅいち)

研究分野: 医歯薬学

キーワード: 耳科学

#### 【研究の背景・目的】

現在わが国で600万人以上が苦しむ難聴は、外耳、中耳に障害がある伝音難聴と内耳、神経に障害がある感音難聴とに分類される。感音難聴には、薬剤性難聴、老人性難聴、突発性難聴、先天性難聴などが含まれる。感音難聴のほとんどは、音の受容を司る内耳感覚上皮が傷害されて起こる。ところが哺乳類の内耳感覚上皮細胞は極度に分化した細胞で、発生後半にすでに細胞分裂を停止し、生後は傷害後に再生しないため、いまだに年間3万5千人が罹患する突発性難聴や、高齢者の半数が苦しむ老人性難聴などの感音難聴の根本的治療法はない。

内耳感覚上皮の再生を実現し、感音難聴の根本的な治療を確立する一つの方法として、内耳感覚上皮の発生を再現する方法が考えられるが、その発生過程が詳細に解析されている網膜などと異なり、内耳感覚上皮の発生についてこれまでに得られている知識はごくわずかなものである。

本研究では、内耳感覚上皮の発生過程を分子レベルで完全に解明することにより、これまで困難とされてきた内耳感覚上皮の再生を実現することを目的とする。

#### 【研究の方法】

##### 1. 内耳発生過程の解明

本研究では2つのストラテジーを用いて、内耳発生過程を分子レベルで明らかにする。

1つは、マウスの内耳発生各段階の単一細胞レベルでの網羅的な遺伝子発現プロファイル作成である。異なったプロファイルの細胞種間での遺伝子発現を比較し、各細胞種で作動する遺伝子を同定する。また、特定の遺伝子に注目し複数の段階にわたっての発現レベルの変動を時間軸に沿って解析する。これらによって、内耳発生に重要な役割を果たす遺伝子を同定する。

もう1つは、内耳の発生異常をきたしている先天性高度難聴患者、とくに形態学的に内耳奇形を呈している患者のDNAを採取し、原因遺伝子の探索を行う。現在までに、同定されていない原因遺伝子の同定を目標とする。

##### 2. 同定遺伝子の空間的・時間的発現パターンおよび機能の検索

発現部位、時期の解析を行い、重要な遺伝子であると予想される場合、マウスを用いて該当遺伝子の機能欠失実験を行い、その機能を同定する。

##### 3. 内耳感覚上皮再生医療の確立

内耳発生過程における重要な役割を確認した遺伝子の操作(過剰発現あるいは阻害)により新たな内耳感覚上皮再生手法の確立をおこなう。その対象として、A. ES細胞あるいはiPS細胞、B. 生後哺乳類蝸牛の器官培養、C. 哺乳類成体内耳、の3つがあり、それぞれに、遺伝子強制発現、RNAiや薬剤を用いた遺伝子機能阻害などをおこなう。特に、ヒトiPS細胞への操作は、直接臨床応用可能な手法の開発を実現できる。

#### 【期待される成果と意義】

本研究によりこれまで断片的な情報しか得られていなかった内耳の発生メカニズムが解き明かされる。その知識を再生医療に応用することにより、これまで多くの人を苦しめてきたにもかかわらず、根本的治療が困難であった感音難聴の新たな治療方法が確立されることとなる。

#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

Ono K, Nakagawa T, Kojima K, Matsumoto M, Kawachi T, Hoshino M, Ito J. Silencing p27 reverses post-mitotic state of supporting cells in neonatal mouse cochleae. *Mol Cell Neurosci* 42(4):391-8, 2009

Takebayashi S, Yamamoto N, Yabe D, Fukuda H, Kojima K, Ito J, Honjo T. Multiple roles of Notch signaling in cochlear development. *Dev Biol.* 1:307(1):165-78, 2007

#### 【研究期間と研究経費】

平成23年度-27年度  
151,000千円

#### 【ホームページ等】

<http://www.kuhp.kyoto-u.ac.jp/~ent/InnerearRegeneration/InnerEarRegenerationTop.html>