



## 研究課題名 シロアリの社会組織化に関わるシグナル分子伝達機構の解明

北海道大学・大学院地球環境科学研究院・准教授 **みうら とおる**  
**三浦 徹**

研究分野：生物学，基礎生物学，生態・環境

キーワード：社会性，ホルモン，フェロモン，自己組織化，ソシオゲノミクス

### 【研究の背景・目的】

生物の世界では、個が集し秩序ある総体を作り出す現象が様々なレベルで見られ、ここには生命が織りなす基本原理が存在すると考えられる。本研究は、社会性昆虫のシグナル分子の分子機構と進化の仕組みを分子生物学的および分析化学的手法などを用いて解明することを目指す。オオシロアリを主な材料として、環境要因を反映して分業を行うカーストの発生運命を決定するホルモンと、社会行動を制御するフェロモンを主要なシグナル分子として着目し、「個体→超個体」の組織化の仕組みを探る。さらに、シグナル分子の合成・受容に関わる遺伝子群の獲得がいかんして社会進化に貢献したかを考察し、分業や分化機構の獲得と維持に関わるモデルの構築およびシミュレーションを行うことで、社会進化・自己組織化の共通原理に迫る。



図1. 本計画の主な研究対象であるオオシロアリ。

### 【研究の方法】

#### カースト分化に伴う発生プロセスの改変

シロアリのカースト分化では、幼若ホルモンが重要な役割を果たすため、関連遺伝子の発現解析と機能解析を推し進める。あわせて、分化過程でのホルモンの役割についても解析する。

#### カースト特異的外分泌腺因子の網羅的解析

シロアリの個体には、大顎腺や腹板腺などの外分泌腺が存在し、各カーストでの特殊化も見られるため、外分泌腺でカースト特異的に遺伝子発現を解析する。発現に差の認められた遺伝子の中から、フェロモン合成や分泌に関わる分子の候補を見だし、詳細な発現動態及び、機能解析を行う。

### フェロモン分子の機能解析

個体間コミュニケーションにおける分子機能の解析を行うため、グルーミングや栄養交換行動などのアッセイ系を確立し、リポカリンなどのシグナル分子の機能を検証する。また、捕食者や競争者を導入したときのフェロモン分子の動態に関しても追跡する。さらに、これらの分泌フェロモンが他個体のカースト運命の決定に関与する可能性を吟味する。

### カースト分化・社会進化のモデル構築

生物界の中でも最も効率的な自己組織化システムともいえるべき社会性昆虫の分業行動には、様々な個体間相互作用により個体の内部状態が変化し、個体内で発生のゆらぎが生じることで、様々なカーストが分化するとされる。これら個体間相互作用から自己組織化が起こる原理を探るため、前述の計画で同定・分析された様々な因子を用い、社会行動モデルを構築することを試みる。

### 【期待される成果と意義】

本研究では、行動・生態からホルモン・フェロモン・神経生理など、社会性を考える上でのあらゆるレベルでのパラメータを抽出する。生物研究と理論研究とが相互にフィードバックしながら研究を推進する本計画は、これまで見えてこなかった重要な要素を発見することが期待される。内分泌シグナルが環境要因を媒介し発生を改変する仕組みは、社会性昆虫のみならず、環境による発生改変機構への洞察を与えるだろう。さらに、フェロモン解析により、個体間相互作用を担う分子機構が明らかになる公算が高い。この一連の社会制御のメカニズムとその進化過程を明らかにすることにより、社会進化・自己組織化の共通原理探究へと近づけるだろう。

### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Cornette R, et al. (2008) J Insect Physiol: 54: 922-930.
- Miura T (2005) Evol Dev 7: 122-129.
- Miura T, et al. (1999) PNAS 96: 13874-13879.

### 【研究期間と研究経費】

平成21年度－25年度

57,700千円

ホームページ等

<http://noah.ees.hokudai.ac.jp/~miu/>

## 【若手研究(S)】

### 生物系 (生物学)



#### 研究課題名 哺乳類細胞を用いたオートファゴソーム形成機構の解析

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授 **みずしま のぼる**  
**水島 昇**

研究分野：生物学

キーワード：タンパク質分解、細胞構造・機能

#### 【研究の背景・目的】

オートファジーはリソソームを分解の場とする細胞質成分の大規模分解系である(図1)。この分解系はすべての真核生物に備わっており、飢餓時の細胞内アミノ酸プールの維持、恒常的な細胞内浄化、初期胚発生、抗原提示、細胞内微生物除去など多くの生理的重要性をもっている。しかし生理的・病態生理的研究が進む一方で、オートファゴソーム形成の分子機構はまだ不明な点が多い。これまで出芽酵母を用いた解析が精力的に進められてきたが、哺乳類でも全 Atg ホモログの同定やノックアウト・ノックダウン細胞作製など整備が終わり、系統的にオートファゴソーム形成を分子レベルで解剖できる段階に来ている。また、哺乳類細胞には、酵母より大型のオートファゴソームをもつなどの実験上の利点もあり、さらには独自の分子機構が存在する可能性もある。そこで、本研究課題では、哺乳類 Atg 因子の機能阻害変異体などを利用することで、オートファゴソーム形成過程を生化学的・形態学的にさらに解剖し、オートファゴソーム膜の起源や隔離膜伸長の分子機構を明らかにすることを目指す。

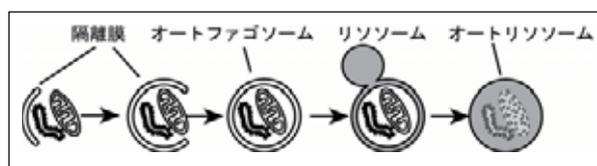


図1. オートファジーの模式図

#### 【研究の方法】

##### 1. オートファゴソーム形成始動に関わる ULK1 複合体の解析

酵母および哺乳類細胞において(m)TOR がオートファジー抑制に重要であることが知られている。最近私たちは、オートファジーに必須な ULK1-Atg13-FIP200 複合体が富栄養条件下で mTORC1 複合体と結合すること、さらに ULK1 が mTOR の新規基質となりうることを見いだした。ULK1-Atg13-FIP200 複合体は約 3 MDa からなる巨大複合体を形成し、その一部は隔離膜に局在する。そこで、この複合体の解析および ULK1 の基質の同定などを通じて哺乳類オートファゴソーム形成初期過程を解析する。

##### 2. オートファゴソーム形成の形態学的および生

#### 化学的 dissection

哺乳類 Atg 因子は5つのモジュールに分類することが可能であり、それぞれのモジュールについて、ノックアウト細胞あるいはノックダウン細胞(オートファジー不能の表現型を確認したもの)が現在解析可能な状況にある。そこで、これらを生化学的および形態学的に解析することによって Atg 因子間の関連を明らかにし、オートファゴソーム形成の素過程への分離を行う。さらに前駆体・中間体の特定とその分子構成の解析を試みる。

#### 【期待される成果と意義】

オートファゴソーム形成の分子機構を明らかにすることによって、近年知られつつあるオートファジーの多様性や基質特異性への理解が深まると考えられる。さらに、オートファジー活性の新しい測定方法や人為的制御方法への開発へとつながることが期待される。また、最近これら Atg 因子が、エンドサイトーシスやウイルス複製などのオートファジー以外の経路でも機能していることが示唆されているため、これらの経路の理解にも貢献すると考えられる。

#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Hosokawa N, Hara T, \*Mizushima N et al. Nutrient-dependent mTORC1 association with the ULK1-Atg13-FIP200 complex required for autophagy. *Mol. Biol. Cell* 20: 1981-1991 (2009)
- Itakura E, Kishi C, Inoue K, Mizushima N. Beclin 1 forms two distinct phosphatidylinositol 3-kinase complexes with mammalian Atg14 and UVRAG. *Mol. Biol. Cell* 19: 5360-5372 (2008)
- Hara T, Takamura A, Kishi C, Iemura S, Natsume T, Guan JL, Mizushima N. FIP200, a ULK-interacting protein, is required for autophagosome formation in mammalian cells. *J. Cell Biol.* 181: 497-510 (2008)

#### 【研究期間と研究経費】

平成21年度－25年度

80,400千円

ホームページ等

<http://www.tmd.ac.jp/med/phy2/phy2-J.html>

## 【若手研究(S)】

### 生物系 (生物学)



#### 研究課題名 多彩な細胞系譜の運命決定・恒常性を制御する 転写因子 Blimp1 の統合的機能解明

京都大学・大学院医学研究科・教授 さいとう みちのり  
齋藤 通紀

研究分野：生物系・生物学・生物科学・発生生物学

キーワード：細胞分化・幹細胞・生殖細胞・エピジェネティクス

#### 【研究の背景・目的】

細胞の運命決定・機能維持機構の解明は、生命科学の中で最も重要な課題の一つである。細胞の運命及び機能はそれぞれの細胞に特異的な転写因子群とそれらの結合部位を規定するエピゲノム状態（クロマチンの後成的修飾状態）により制御される。ところが実際の生体における細胞の運命決定・機能維持過程においてこの両者を高い解像度で解明した研究は極めて少ない。これは、実際の生体における細胞運命決定や機能維持が少数の細胞を起点にして起こる現象で、これまで少数の細胞においてこの両者を定量的に解析する技術が存在しなかったことに起因する。本研究は、少数（ $10^3$ ）の細胞のエピゲノム状態を Chromatin immunoprecipitation-DNA Chip 法（ChIP-Chip 法）もしくは ChIP-Sequence 法により定量的に測定する技術を開発し、その技術を用いて、多彩な細胞の運命決定・恒常性維持に必須の働きをする転写因子 Blimp1 の作用発現機序を生殖細胞系列と B 細胞系列をモデルに解明、統合的に理解することを目的とする。

#### 【研究の方法】

$10^3$ ~ $10^4$  個程度の少数細胞を出発材料とした ChIP 法の技術的制約は以下の 2 点、1) ヒストン等のゲノム中に多数の結合部位を持つタンパク質を対象としており、転写制御因子に適用困難、2) 免疫沈降したゲノム DNA が少量でゲノムワイドな解析に適用困難、に要約される。本研究では、1) を解決するため、個々の転写制御因子に対する抗体による ChIP 法に替えて、タグ付き Blimp1 を発現するノックインマウスを作成し、タグを標的とした少数の細胞からの高効率 ChIP 法のプロトコール確立を目指す。また、2) を解決するため、免疫沈降されたゲノム DNA 断片の網羅的かつ高精度な増幅を、単一細胞 cDNA 増幅法の一部を直接応用することで行う。開発した技術を用いて、生殖細胞系列と B 細胞系列における Blimp1 の作用機序を統合的に解明する。

#### 【期待される成果と意義】

少数細胞におけるゲノムワイドな転写因子の結合部位及びエピゲノム状態の測定技術開発は、本研究の目的達成はもちろんのこと、発生・組織生

物学及び幹細胞生物学における最重要課題の一つであると考えられ、その目的が達成されれば、生体に存在する多彩な細胞群や組織幹細胞のエピゲノム状態を直接測定することが可能となる。この技術開発は、組織幹細胞の機能維持機構の解明や長期培養技術の開発、多能性幹細胞もしくは組織幹細胞から調整された細胞の品質評価にも大きな貢献をすることが期待される。

本研究の目的が達成されれば、Blimp1 による生殖細胞系列及び形質細胞の運命決定・機能維持過程がこれまでにない高精度で描出されることになり、両分野の発展に貢献する。特に始原生殖細胞におけるエピジェネティックリプログラミングの分子機構解明の基盤となる。さらに、Blimp1 はこれら 2 つの細胞系譜以外においても極めて重要な働きをしており、本研究の成果は、細胞運命決定・機能維持機構一般に内在する基盤原理の同定につながると期待される。

#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Ohinata, Y., Ohta, H., Shigeta, M., Yamanaka, K., Wakayama, T., and Saitou, M. (2009). A signaling principle for the specification of the germ cell lineage in mice. *Cell*, 137, 571-584.
- Kurimoto, K., Yabuta, Y., Ohinata, Y., Shigeta, M., Yamanaka, K., and Saitou, M. (2008). Complex genome-wide transcription dynamics orchestrated by Blimp1 for the specification of the germ cell lineage in mice. *Genes & Development*, 22, 1617-1635.

#### 【研究期間と研究経費】

平成 21 年度 - 25 年度

76,100 千円

ホームページ等

[http://www.med.kyoto-u.ac.jp/J/grad\\_school/introduction/1103/](http://www.med.kyoto-u.ac.jp/J/grad_school/introduction/1103/)

## 【若手研究(S)】

### 生物系 (農学)



#### 研究課題名 植物生殖細胞の初期発生を制御する遺伝システムの解明

国立遺伝学研究所・実験圃場・准教授 ののむら 野々村 けんいち 賢一

研究分野：生物系・農学・農学・育種学

キーワード：植物育種・遺伝、遺伝子・蛋白質、発生遺伝、生殖

#### 【研究の背景・目的】

生殖は遺伝の根幹を成す生命現象であり、植物にとっては種子生産に直結する重要な過程であるが、特に生殖細胞の初期発生過程を制御する遺伝システムは、そのほとんどが未解明のままである。本課題では、植物の生殖細胞が体細胞から分化して減数分裂に至るまでの過程について、突然変異体などを用いた解析を中心に研究する。

私たちは以前、植物生殖細胞で特異的に機能するアルゴノート蛋白質 (AGO) としては世界で初めてとなる、イネ MEL1 の同定に成功した。AGO は、小さい RNA 分子を介して標的 RNA と結合し、遺伝子発現抑制やクロマチン修飾、外来ウィルスの抑制など、多岐にわたる現象を司ることで知られる。植物では、環境シグナルに応答して誘導されたクロマチン修飾の変化が、動物と同様に、生殖過程でリセットされるゲノム再プログラム過程の存在が示唆されている。また植物の減数分裂期染色体も他の真核生物と同様に、相同な相手を認識するために特殊なクロマチン構造をとる。すなわち、植物生殖細胞の発生過程はダイナミックなクロマチン構造の変化を伴うと予測できる。

そこで本課題は、MEL1 など植物の生殖関連蛋白質の機能解析を軸とし、クロマチン修飾関連遺伝子群の機能解析と併せて、植物生殖細胞の初期発生を促進する制御機構の解明を目的とする。

#### 【研究の方法】

私たちはこれまでに、減数分裂への移行に必須であるイネ新規蛋白質 MEL2 の同定にも成功している (未発表)。イネ幼穂を用いた免疫共沈実験により、MEL1 および MEL2 と結合する RNA あるいは蛋白質を同定する。mel1 変異体では、いくつかのクロマチン修飾関連遺伝子の発現が低下する (図1)。これらの遺伝子の生殖過程における働きについて、遺伝子機能を喪失した植物体を作成するなどして、MEL1 機能との関連性を解析する。また、レーザーマイクロダイセクション法により顕微鏡下で発生途上の生殖細胞を摘出、DNA あるいは RNA を抽出し、生殖に関連する遺伝子の発現や特定のゲノム領域におけるクロマチン修飾などを突然変異体などを利用して解析する。上記の解析から MEL1 および MEL2 の標的候補であると判断し得るその他の遺伝子についても、適宜解析する。

#### 【期待される成果と意義】

(1) イネ AGO 蛋白質 MEL1 と相互作用する RNA/蛋白質の解析から、体細胞と生殖細胞の AGO による遺伝子制御システムの比較が可能になり、植物の生殖細胞の初期発生に必要な遺伝システムの理解が進む。また MEL1 が発現を促進/抑制する遺伝子 (配列) の種類とゲノムマップの作成から、生殖細胞発生の促進に必須の新たなゲノム因子の存在が明らかとなる。(2) 減数分裂の移行を促進する分子メカニズムが明らかになる。(3) 生殖細胞の発生過程で必要なクロマチン修飾のダイナミックな変化の様相の一端が明らかとなる。(4) 生殖細胞の初期発生過程で生じる生殖的隔離やストレス障害など、育種的な諸問題を解決するための重要な糸口を与える意味で、応用的な波及効果が期待できる。

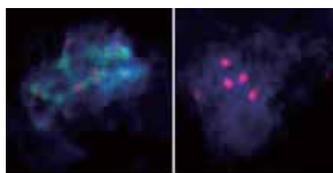


図1 正常型イネの減数分裂細胞 (左) では、動物体 (赤) 周辺ヒストン H3 の9番目のリジン残基が高度にジメチル化されるが (緑)、mel1 変異体 (右) ではジメチル化が低下する。青は染色体。

#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Nonomura, K.I., et al. A germ cell-specific gene of the ARGONAUTE family is essential for the progression of premeiotic mitosis and meiosis during sporogenesis in rice. *Plant Cell* 19: 2583-2594 (2007)
- Nonomura, K.I., Kurata, N., et al. PAIR2 is essential for homologous chromosome synapsis in rice meiosis I. *J. Cell Sci.* 119, 217-225 (2006)

#### 【研究期間と研究経費】

平成21年度－25年度

65,500千円

ホームページ等

<http://www.nig.ac.jp/labs/ExpFarm/jweb/jtop/jlab.html>

## 【若手研究(S)】

### 生物系 (農学)



#### 研究課題名 ナノ構造化糖鎖素子を介した機能糖鎖集密化バイオマテリアルの創出

九州大学・大学院農学研究院・准教授

きたおか たくや  
北岡 卓也

研究分野：農学

キーワード：セルロース

#### 【研究の背景・目的】

近年、ナノ工学とバイオ技術の融合による生体機能材料の研究開発が盛んに行われている。特に、細胞表面を覆う「糖鎖」を介した生理情報伝達系を生体外で機能模倣・材料利用する試みは、再生医用材料分野で大きな注目を集めている。糖鎖の生体機能は、クラスター効果をはじめとするナノスケールでの空間配置や密度が鍵を握っており、その精密制御に向けた技術革新が希求されている。

ところで、植物の細胞壁をなすセルロースは、D-グルコースが  $\beta$ -1,4 結合のみで連なった単純な構造の多糖類でありながら、規則的な分子内・分子鎖間相互作用により、高度に制御されたナノ配列構造を形成する。特に、天然セルロース特有の平行鎖結晶構造は、糖鎖の生理機能を担う非還元性末端基が集密化した状態とみなすことができる。

本研究では、生命現象に直結する糖鎖の構造と機能を模倣したバイオマテリアルの創出を目指す。特に、オリゴ糖アセンブリの人為的な構造構築と材料機能化に、セルロースなどの構造的糖鎖分子を「ナノ構造化素子」として利用するコンセプトを提案する。細胞と直接相互作用する新材料開発を通じて、糖鎖系バイオ材料の新研究領域「グライコナノアーキテクニクス」の研究基盤を築く。

#### 【研究の方法】

本研究では、3つの独自技術である「非水系酵素反応による糖鎖合成技術」、「構造的糖鎖造膜技術」、「金ナノ粒子合成—糖鎖その場修飾技術」の融合・先進化により、生体機能糖鎖を構造的糖鎖でナノ配向集積したバイオインターフェースの開発と、その技術を用いた糖鎖集密化金ナノ粒子によるバイオセンシング等への応用展開を図る。

具体的には、種々の糖加水分解酵素を表面保護した溶媒耐性酵素を用いて、非水系でセロオリゴ糖と生体機能糖とのヘテロ糖を合成する。次に、糖鎖の還元性末端特異的S誘導体化とそれを介した金表面への自己組織化をアミノキシド系溶媒中で行うことで、機能糖鎖のナノ配列構造が精密制御された新規バイオマテリアルの開発を目指す。

#### 【期待される成果と意義】

生命現象に深く関与する細胞表面糖鎖を介した相互作用は、糖鎖材料開発における最重要ファクターである。本研究の手法は、単なるオリゴ糖や分子・基板にグラフトした側鎖糖鎖群とは異なり、その界面が結晶化するほど密に、かつ透明に配向集積させることができ、糖鎖密度制御や数種の糖鎖・頻出官能基との複合化も容易である。また、

酵素と基質の組み合わせ次第で合目的な機能糖鎖を自由に合成でき、ナノ構造化素子のセロオリゴ糖鎖とのコンジュゲートにより、膜・粒子上での配向集積も可能である。これにより、細胞形成・分化・機能と糖鎖ナノ集合構造との関係性の解明を図り、新規な糖鎖系バイオマテリアルの創出と医工学材料分野での新用途開発に寄与するとともに、糖鎖側のインターフェースデザインで細胞応答現象を操作する新しい糖鎖材料化学「グライコナノアーキテクニクス」の開拓が期待される。

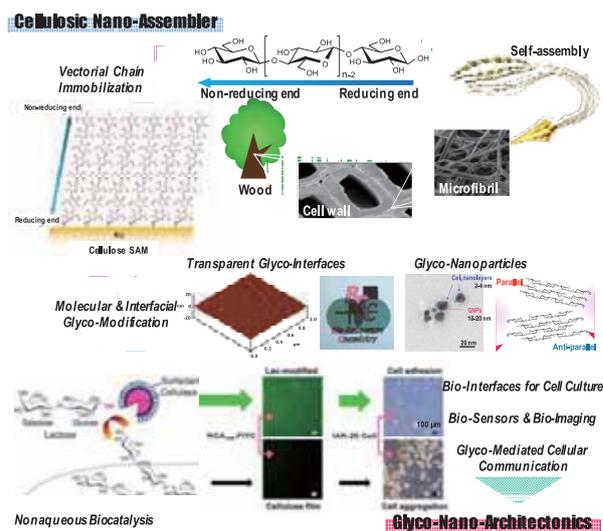


図 ナノ構造化糖鎖素子を介したバイオ材料開発

#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Egusa S., Kitaoka T., Goto M., Wariishi H., "Synthesis of cellulose in vitro by using a cellulase/surfactant complex in a nonaqueous medium", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **46**, 2063-2065 (2007).
- Yokota S., Kitaoka T., Opietnik M., Rosenau T., Wariishi H., "Synthesis of gold nanoparticles for in situ conjugation with structural carbohydrates", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **47**, 9866-9869 (2008).

#### 【研究期間と研究経費】

平成21年度—25年度

77,100千円

ホームページ等

<http://bm.wood.agr.kyushu-u.ac.jp/>

[tkitaoka@agr.kyushu-u.ac.jp](mailto:tkitaoka@agr.kyushu-u.ac.jp)



**研究課題名** 不斉触媒反応開発を基軸とする革新的有機合成  
および医薬候補分子骨格の拡張

東京大学・大学院薬学系研究科・准教授

かない もとむ  
金井 求

研究分野：医歯薬学

キーワード：不斉合成

**【研究の背景・目的】**

標的分子の環境調和性高い自在合成法の確立を基盤として、医薬分子の候補骨格を拡張し、最終的に人類の健康に貢献する医薬の創出を促進することが、本研究の最大の目標である。生命科学と物質科学の橋渡しとして位置し人類の知の総結集ともいべき創薬は、天然資源の乏しい我が国の21世紀の重要な基幹分野の1つである。近年、世界的に新薬が出にくくなっている傾向があるが、その原因として、医薬リードの質が限界に達しつつある点が挙げられる。供給コストを最初から考えて、優れた生物活性が期待される化合物であっても合成が困難な場合にはリードから排除される場合がある。医薬分子の基本となる有機化合物は本来無限の多様性を持っているにもかかわらず、創薬の入り口で候補分子を「つくりやすさ」を基準に極端に限定せざるを得ない点は大きな問題である。本研究課題では、不斉触媒反応の開発を基盤として現状の有機合成化学の限界を克服していくとともに、創薬を推進しうる新骨格医薬リード分子群の一般的合成法の確立を目標とする。

**【研究の方法】**

**1. ソフトメタル共役不斉塩基触媒の特性を活かした元素効率の高い炭素骨格構築反応の開発**

ソフトメタルの $\pi$ 電子親和性を利用したニトリル $\alpha$ 位、アリル位、ベンジル位、プロバルギル位等の官能基選択的脱プロトン化を促進するソフトメタル (Cu, Fe, Mn, or Co) 共役塩基不斉触媒を創出する。反応系内で安定有機分子からの脱プロトン化により触媒的に生成するソフトメタル共役核剤を用いて、新規な直接的触媒的不斉炭素骨格構築反応を開発する。

**2. 不斉触媒反応開発を基盤とする医薬およびそのリード化合物の革新的合成**

独自の不斉触媒反応の特色を活かして、医薬を含めた生物活性化合物の迅速合成法を確立する。特に、抗結核薬 R207910 の短工程合成、無保護の糖をアクセプターとする抗インフルエンザ薬リレンザの簡便合成、および脱対称化によるイノシトール 1,4,5-トリスリン酸の合成法の確立を目標とする。また、反応論開発を基盤とした特色ある医薬リード創製への貢献にも力を注ぐ。例えば、不斉触媒制御の直接的連続的アルドール反応を開

発することにより、不斉四置換炭素含有人工ポリケチドを網羅的に合成し、その医薬リードとしての機能を検討することを計画している。

**【期待される成果と意義】**

ソフトメタル-ハードアニオン共役塩基不斉触媒の炭素骨格構築触媒としての優れた機能は、私たちが世界に先駆けて発見したものである。独自の触媒を元素効率の高い不斉炭素骨格構築反応に展開し、方法論開発を基盤として標的分子の合成を革新的に効率化していく。さらに既知の医薬や生物活性化合物の合成法確立に留まらず、独自の不斉触媒反応の特徴を活かして特色ある医薬候補分子骨格の開拓を目指す。本研究により医薬合成の効率や環境調和性を格段に向上させるとともに、従来は合成がネックとなってアクセスできなかった新規医薬分子の選択が可能となり、潜在的医薬候補品の可能性を質的に向上できるものと期待される。医薬リードの枯渇が世界的に深刻化する前に新たなリード分子群を開拓しておくことは、世界産業や経済にとっても大きな意義を持つ。基礎となる合成方法論の拡充を通して有機合成化学の創造性を拡張し、創薬や機能性分子創製といった分野に貢献していきたい。

**【当該研究課題と関連の深い論文・著書】**

- Tomita, D.; Yamatsugu, K.; Kanai, M.; Shibasaki, M. "Enantioselective Synthesis of SM-130686 Based on the Development of Asymmetric Cu(DF)-Catalysis to Access 2-Oxindoles Containing a Tetrasubstituted Carbon" *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, in press.
- Yamatsugu, K.; Yin, L.; Kamijo, S.; Kimura, Y.; Kanai, M.; Shibasaki, M. "A Synthesis of Tamiflu by Using a Barium-Catalyzed Asymmetric Diels-Alder-Type Reaction" *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, *48*, 1070-1076.

**【研究期間と研究経費】**

平成21年度-25年度

86,100千円

ホームページ等

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

## 【若手研究(S)】

### 生物系 (医歯薬学 I)



#### 研究課題名 オートファジーの破綻によるヒト病態発症機序の解明

財団法人東京都医学研究機構・東京都臨床医学総合研究所・副参事研究員

こまつ まさあき  
小松 雅明

研究分野：病態医化学

キーワード：オートファジー、p62、Nbr1、凝集体、ユビキチン

#### 【研究の背景・目的】

オートファジーは、オルガネラを含む細胞質成分のバルクな自己分解経路であり、栄養飢餓に対応した自己代謝によるアミノ酸供給や恒常的な自己成分の新陳代謝が主要な働きであると考えられてきた。重要なことに、この分解系は、老化に伴いその活性が減弱することが明らかにされつつある。実際、マウス遺伝学を駆使した我々の発生工学的研究から、オートファジーの破綻が様々な老人性ヒト疾病の発症原因となることが判明した。さらに、ごく最近申請者らは、オートファジーの破綻による病態発症は、細胞内に特異的なタンパク質・オルガネラの蓄積(肝機能不全における p62 や Nbr1 の蓄積、神経変性疾患における Alfy やミトコンドリアなどの変形オルガネラの蓄積)に起因することを見出した。興味深いことに、「p62 および Nbr1 はアルコール性肝炎や肝細胞がんなどの肝疾患、p62 および Alfy はアルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患において顕著に蓄積・凝集化する」こと、「p62 の欠損が糖尿病や骨パジェット病を、Alfy 変異体の過剰発現が神経変性を引き起こすこと」が判明した。このことから、オートファジー選択的基質のレベルを監視することは病態の状態を見極める上で重要である。

#### 【研究の方法】

本研究では、オートファジー選択的基質群のモニター系を確立することにより、高カロリー食下、高アルコール摂取下、加齢など様々な環境での基質の挙動を *in vivo* で観察する。さらに、オートファジー不能マウスや神経変性疾患モデルマウスおよびヒト肝細胞癌組織における基質タンパク質群の蓄積、その結果として起こる代謝物の変化や、細胞内タンパク質代謝変動を明らかにし、肝機能障害、癌、神経変性疾患の病態発症機序の解明を目指す。

#### 【期待される成果と意義】

我々は、世界に先駆けてオートファジーがユビキチン・プロテアソーム系と共にタンパク質品質管理機構に貢献し、その破綻が神経変性疾患や肝

障害を引き起こすことを見だし、さらに、一般に非選択的分解機構と考えられてきたオートファジーに病態発症に関与する選択基質があることを見出した。これらの事実に基づいて提案された本研究課題を円滑に遂行することにより、選択的オートファジーによる新しい細胞内制御機構の発見が期待されるだけでなく、オートファジーによる p62、Alfy、Nbr1 や異常オルガネラの代謝を促進もしくは抑制する化合物の同定ができれば、神経変性疾患、肝障害、癌、糖尿病等の難治疾患の発症を予防あるいは防止できる新たな創薬に結びつくと考えられる。

#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

1. Komatsu M et al., *Nature*, 441, 880-884, 2006
2. Komatsu M et al., *Cell*, 131, 1149-63, 2007

#### 【研究期間と研究経費】

平成21年度－25年度

83,000千円

ホームページ等

<http://www.rinshoken.or.jp/MO/index.html>

【若手研究(S)】  
生物系 (医歯薬学 I)



研究課題名 レクチン受容体による生体の危機管理機構の解明

九州大学・生体防御医学研究所・教授 やまさき しょう  
山崎 晶

研究分野: 医歯薬学

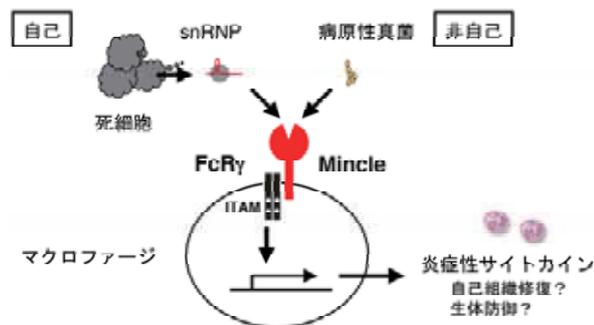
キーワード: 抗原認識、免疫監視

【研究の背景・目的】

生体は、絶えず自己(組織損傷)、非自己(病原体感染)双方に起因する「危機」に曝されている。一方で生体は組織修復・再生、また生体防御反応といった適切な応答を惹起する事でこれらに対処し、恒常性を維持している。ところが、「危機」を感知し、こうした応答の誘導を司る受容体はこれまで不明であった。

我々は近年、ストレスに伴ってマクロファージなどに誘導されるレクチン受容体、Mincleが、損傷自己、非自己病原体の双方を感知し、炎症を惹起する分子であることを見出した。

本研究では、これらレクチン受容体が生体の「危機」を感知して惹起する生体応答の詳細とその生理的意義を明らかにすること、さらに、その制御の破綻と疾患との因果関係を明らかにすることを目的とする。



自己/非自己の危機を感知するレクチン受容体

【研究の方法】

・レクチン受容体を介した「危機」の認識に伴って起こる応答の生理的意義を、遺伝子改変マウスにおける個体レベル解析(組織修復応答、感染応答)により明らかにする。

・Mincleを恒常的に発現するマウスが致死性疾患を発症することを見出している。この疾患マウスの病因、発症の分子メカニズムを病理学的、遺伝学的手法を用いて明らかにする。

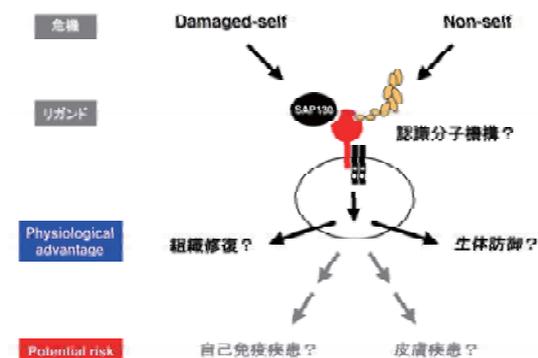
・レクチンによる「変異自己」「非自己」の認識の分子機構を、リガンド、受容体双方の構造生物学的解析を通して明らかにする。

【期待される成果と意義】

・自己/非自己の危機の感知に伴う炎症が、組織修復に寄与している可能性を検証できる。生体に備わる組織再生メカニズムの解明は、再生医療の観点からも重要な課題である。

・レクチン受容体の発現制御の破綻に伴う過剰な炎症反応が、様々な疾患発症の原因となっていることを実証できる可能性があり、新たな疾患治療ターゲットとしてのアプローチが可能となる。

・自己/非自己識別能が、進化的に抗原受容体以前のレクチン受容体にも備わっているという新しい概念を提唱できる可能性がある。



生体の危機管理機構とその破綻に伴う疾患

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- ・ Yamasaki, S., et al. Mincle is an ITAM-coupled activating receptor that senses damaged cells. *Nat. Immunol.* 9: 1179-1188, 2008.
- ・ Yamasaki, S., et al. C-type lectin Mincle is an activating receptor for pathogenic fungus, *Malassezia*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 106:1897-1902, 2009

【研究期間と研究経費】

平成21年度-25年度

49,800千円

ホームページ等

<http://www.bioreg.kyushu-u.ac.jp>



研究課題名 人工幹細胞ニッチ：造血ニッチ複合体の再構成による幹細胞増幅

慶應義塾大学・医学部・講師

あらい ふみお  
新井 文用

研究分野：生物系 (医歯薬学)

キーワード：血液内科学

【研究の背景・目的】

造血幹細胞は骨髄内の内骨膜、および血管性ニッチと相互作用することにより、自己複製 (self-renewal)、分化、さらに細胞周期の静止状態 (quiescence) のバランスを維持している。我々は、内骨膜ニッチ細胞が均質な集団ではなく、間葉系前駆細胞や骨芽細胞系細胞などからなるニッチ複合体 (Niche Complex) として、各細胞が協調的に造血幹細胞の維持に貢献している可能性を見出した。また、造血幹細胞は骨髄造血の成熟に伴い、細胞周期が回転する状態から静止状態に移行することを見だし、骨髄造血の成熟過程で、造血幹細胞のニッチ制御機構が変化していると考えられた。

そこで本研究では、造血幹細胞のニッチ制御機構について、骨髄造血の発達段階特異的なニッチ複合体・ニッチ分子の特性、および幹細胞制御機構を明らかにする。さらに、その成果を応用して、ニッチ分子の改変による造血幹細胞の *in vivo* 操作、また、造血ニッチを再現した Biomimetic Scaffold による人工幹細胞ニッチの構築を目指し、造血幹細胞の自己複製を誘導する系の確立を試みる。

【研究の方法】

1. ニッチ複合体の機能解析

内骨膜領域から、間葉系前駆細胞、骨芽細胞前駆細胞、成熟骨芽細胞を分離し、それぞれの分画の細胞について single cell level での遺伝子発現解析を行う。さらに成体と幼若骨髄を比較することにより、骨髄造血の成熟に伴うニッチ制御の変化について解析する。

さらに、Angiopoietin-1 や Thrombopoietin など、ニッチ分子の刺激により造血幹細胞で誘導される分子について、各シグナルに共通して造血幹細胞の静止期維持に働く分子を同定する。また、ニッチシグナルの抑制により、放射線非照射条件下での骨髄移植が成立するかを検討し、造血幹細胞-ニッチの相互作用の操作技術の確立を目指す。

2. 人工幹細胞ニッチの構築

Biomimetic な骨髄構造を作製することで、ニッチの再構築系 (人工幹細胞ニッチ) を確立し、造血幹細胞の培養条件の最適化を図る。また、造血幹

細胞を標識することにより、人工幹細胞ニッチ内での造血幹細胞とニッチ細胞の接着状態の変化などについて、生細胞の状態でリアルタイムに解析する。

さらに、人工ニッチを用い、生体内に近い条件下で造血幹細胞のニッチ分子による刺激を加え、シグナルの解析を行い、造血幹細胞の自己複製の機構を解析する。

【期待される成果と意義】

骨髄造血の成熟過程における造血幹細胞のニッチを明らかにすることにより、幹細胞の自己複製と静止期維持の制御機構の解明に迫ることができると考えられる。その成果は、ニッチ制御機構の操作による再生医療の確立、人工幹細胞ニッチの構築に応用できるものと期待される。

また、人工幹細胞ニッチの構築が実現できれば、造血幹細胞の *ex vivo* 増幅のみならず、生体内の状況を再現し、幹細胞を生細胞の状態で観察することができ、造血幹細胞研究において革新的な手法の1つとなり得ると考えられる。さらには、人工幹細胞ニッチ研究は、より詳細な造血幹細胞ニッチ複合体の機能解析や白血病幹細胞の制御機構を解析する上でも、極めて有用なものとなり得ると考えられる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Arai F, Hirao A, Ohmura M, Sato H, Matsuoka S, Ito K, Takubo K, Koh GY and Suda T. Tie2/Angiopoietin-1 signaling regulates hematopoietic stem cell quiescence in the bone marrow niche. *Cell* 118: 149-161, 2004.
- Yoshihara H, Arai F, Hosokawa K, et al. Thrombopoietin/Mpl signaling regulates hematopoietic stem cell quiescence and interaction with the osteoblastic niche. *Cell Stem Cell*. 1: 685-697, 2007.

【研究期間と研究経費】

平成21年度-25年度  
80,200千円

ホームページ等

<http://web.sc.itc.keio.ac.jp/celldiff/>



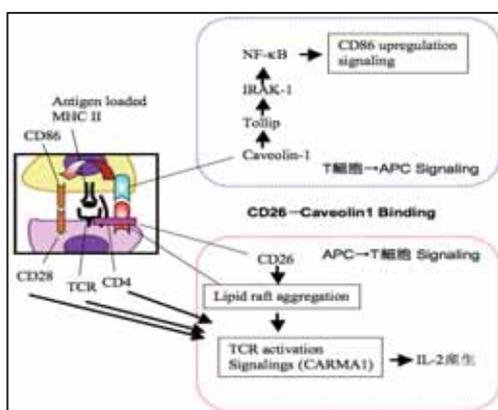
研究課題名 ヒトT細胞共刺激分子CD26-カベオリン系を  
標的とした移植免疫寛容誘導の基盤研究

東京大学・医科学研究所・助教 おおぬま けい  
大沼 圭

研究分野: 医歯薬学  
キーワード: 小児血液学

【研究の背景・目的】

CD26 分子は 110kDa の膜糖蛋白でヒトメモリー T 細胞に選択的に発現し、抗原提示細胞 (APC) 上の caveolin-1 (cav-1) を介したメモリー T 細胞の増殖や炎症性サイトカインの産生に深く関わっている T 細胞分子である。



造血幹細胞移植は難治性の白血病や再生不良性貧血などの血液疾患や代謝異常症を治癒に至らしめる治療法として確立しているが、同種免疫反応の GVHD (graft-versus-host disease, 移植片対宿主病) は依然重要な合併症であり、一方で、GVHD 予防・治療薬の免疫抑制剤による日和見感染症は極めて重篤である。これら疾患の治療成績の向上は移植後免疫異常症の抑制とともに易感染性の排除であるが、いまだ最良のコントロールは得られていない。また、HLA 不一致臍帯血移植は移植ドナーの拡大をもたらしたが、GVHD はやはり重大な合併症となっている。そこで、本研究では、新たな T 細胞共刺激系 CD26-カベオリン系という新規分子基盤に基づき、免疫異常症、特に、GVHD などの先端治療開発を目的とした分子標的療法の確立を目指した基礎研究を行うことを目標とした。

【研究の方法】

ヒト T 細胞がエフェクターとして働き異種 GVHD (x-GVHD) を発症するマウス (hu-PBL-SCID) を用いて、GVHD におけるヒト T 細胞 CD26 分子の機能解析と、抗原特異的免疫における cav-1-Ig 融合タンパクによる CD26-カベオリン系のブロックによる免疫寛容誘導の可能性を検討する。すなわち、[1] CD26 と caveolin-1 の相互作用をトリガーとする T 細胞の活性化機構の解明。  
[2] CD26 と caveolin-1 の相互作用を標的とした分子特異的 T 細胞抑制療法の開発。

[3] 移植免疫寛容誘導における CD26 と caveolin-1 の分子生物学的解析。

【期待される成果と意義】

本研究により CD26 の共刺激リガンドの性状や臨床的意義が初めて明らかにでき、CD28/CD80/CD86 とは別経路の T 細胞共刺激分子の活性化経路の解明が期待される。本研究は CD26 の機能及び構造解析をさらに進め、炎症のエフェクター機能発現に key となる CD26 陽性 T 細胞の特異的制御及びメモリー T 細胞の抗原特異免疫反応の制御を可能にする非常に独創的かつ先駆的な研究と言え、これらの結果を踏まえて、トランスレーショナルリサーチとして臨床現場への応用へと発展させる予定である。造血幹細胞移植における拒絶反応や GVHD などの免疫異常症における治療の最終目標は、感染症に対する生体防御反応を妨げることなく異常炎症反応を特異的に抑制することである。本研究は、CD26 陽性 T 細胞がメモリー抗原提示細胞の cav-1 と相互作用する新しい分子基盤に基づいており、これらの相互作用を標的とした新規免疫抑制治療は、日和見感染を惹起することなくヒト免疫異常症を抑制するという、画期的な治療法である抗原特異的免疫寛容誘導療法につながる事が期待できる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Ohnuma K, Dang NH, Morimoto C. Revisiting an old acquaintance: CD26 and its molecular mechanisms in T cell function. *Trends Immunol.* 2008;29:295-301.
- Ohnuma K, Uchiyama M, et al. Caveolin-1 triggers T-cell activation via CD26 in association with CARMA1. *J Biol Chem.* 2007;282:10117-31.

【研究期間と研究経費】

平成 21 年度 - 25 年度  
49,500 千円  
ホームページ等  
<http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/cimmuno/index.html>



## 研究課題名 マイクロ RNA を介した消化器癌転移カスケードの解明

九州大学・生体防御医学研究所・助教 **みもり こおし**  
**三森 功士**

研究分野：医歯薬学 外科系臨床医学 外科学一般

キーワード：マイクロ RNA pathway, EMT, 癌幹細胞、骨髄、末梢血液

## 【研究の背景・目的】

消化器癌・乳癌をはじめとする固形癌症例では根治術後の再発や、術後長期経過後の再発を経験するが、これは同定不可能な微量な癌細胞が根治術にも拘わらず存在することを示唆している。したがって癌転移・再発特異的予測マーカーの同定あるいは予防法の確立は癌の難治性克服の端緒となる。

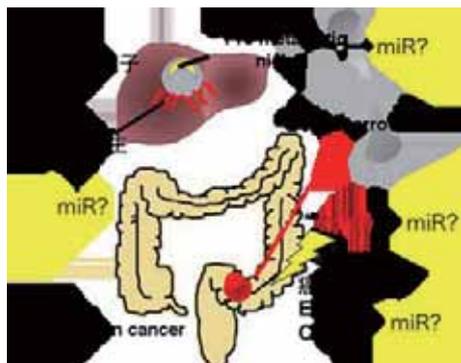
今日までの解析の結果、特に胃癌では癌細胞の存在診断のみでは臨床病期とは無関係であり、転移再発を規定する癌細胞に加え宿主側因子の重要性について臨床検体で明らかにしてきた。すなわち消化器癌の転移・再発の成立においては、癌側因子と宿主側因子とが転移形成に必須の新たな「転移巣社会」を形成すると推察された。従って両面から俯瞰的研究により転移再発機構を解明し、診断・治療の標的を定めることが重要である。

ごく最近、MIT の Weinberg らのグループは、乳癌原発巣における miR10b による RHOC 蛋白を制御して転移を促進することを明らかにした (Karnoub AE, et al Nature 2007)。この様に癌進展の様々な局面における micro RNA pathway 解析が注目されてきた。本助成により癌側因子と宿主側因子の両面から捉えた、消化器癌において転移・再発を制御する真の microRNA- 遺伝子 pathway を明らかにする。

## 【研究の方法】

消化器癌 (胃癌、大腸癌) の転移・再発機構を制御する上で miR は重要な役割を担うことが想定される。本研究では下記の 3 つの項目について明らかにする。

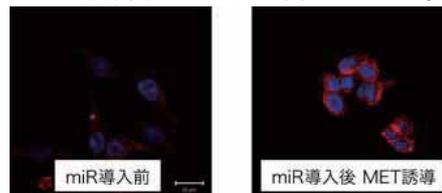
1) (1) EMT 誘導機構、(2) 細胞周期制御機構・癌幹細胞制御機構 (3) 血管新生機構に着目して、それぞれにおいて重要な役割の miR- 遺伝子 pathway をスクリーニング法にて同定する。



- 2) 新規転移関連遺伝子を同定し、これを制御する microRNA pathway を明らかにする。
- 3) 原発巣→末血骨髄中→転移巣の癌細胞プロファイルを包括的統一的に解析して転移 cascade を明らかにする。

## 【期待される成果と意義】

われわれは大腸癌株化細胞において TGF $\beta$  の下流に存在し CD133+細胞においても造腫瘍能および増殖能喪失、血中 anoikis 環境下で生存し細胞間接着を失い浸潤能を増す EMT 誘導遺伝子を同定した。一方、同 miR- 遺伝子導入により細胞間接着と E-Cad の発現を確認し、同 miR が機能的にも EMT を制御することを確認した(図)。



同様に、1) 既知の機能を制御する miR、2) 新規 miR- 遺伝子 pathway について数多く特許登録を取得し、診断マーカー・創薬へとつながる研究を進めたい。3) 転移巣-骨髄・末血-原発巣の遺伝子-miR 発現 profile の結果から新たな消化器癌転移カスケードを明らかにしたい。臨床的意義としては外科的に根治術を受けた癌患者の転移・再発を治療あるいは予防法の確立を実現したい。

## 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- ・ Mimori K, et al.: Hematogenous metastasis in gastric cancer requires isolated tumor cells and expression of vascular endothelial growth factor receptor-1. *Clin Cancer Res* 14: 2609-16, 2008
- ・ Yokobori T, Mimori K.etal.: p53-altered FBXW7 expression determines poor prognosis in gastric cancer cases. *Cancer Res* 2009
- ・ Mimori K. et al. Important matters to identify robust markers for metastasis and recurrence in solid cancer. *Ann Surg Oncol* 2009

## 【研究期間と研究経費】

平成 21 年度 - 25 年度

79,000 千円

ホームページ等

kmimori@beppu.kyushu-u.ac.jp

## 【若手研究(S)】

### 生物系 (医歯薬学Ⅱ)



#### 研究課題名 骨を中心としたネットワーク医学の統合的理解

慶応義塾大学・医学部・特別研究准教授 **たけだ しゅう**  
**竹田 秀**

研究分野：医歯薬学

キーワード：骨、脳・神経

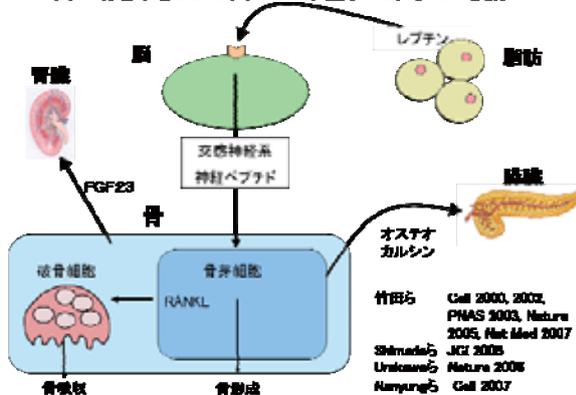
#### 【研究の背景・目的】

我が国において骨粗鬆症の患者数は 1100 万人余りに至るが、その病態には不明な点が多い。我々は、世界に先駆けてレプチン—交感神経系による骨代謝の調節機構を見出し、骨代謝調節における新たなパラダイム「神経と骨のネットワーク」を提唱してきた。さらに最近では、骨は FGF23 やオステオカルシンなどの液性因子を分泌し、腎臓や膵臓の代謝を調節することが示された。こうして、骨と骨外臓器は独立して代謝を営んでいるわけではなく、ネットワークを形成し、互いの代謝を調節していることが明らかとなった。本研究ではこの概念をさらに発展させ、骨以外の臓器による骨代謝調節機構、また骨から脳への情報伝達機構を、種々の遺伝子改変マウスを用いて、分子生物学的、組織学的、細胞生物学的な手法を駆使し検討する。さらに、骨由来因子による骨以外の臓器の代謝の調節に注目し、新規の代謝調節因子の同定を試みる。これらの検討により、骨を中心としたネットワーク医学の包括的理解を目指す。

#### 【研究の方法】

①骨から脳へのフィードバックシグナルの解明  
骨代謝の恒常性維持には、脳による骨代謝制御機構に対応して、骨から脳へのフィードバック機構の存在が必須と考えられる。我々は骨から分泌

図1 骨を中心としたネットワーク医学 これまでの検討



される液性因子や骨由来する神経系のシグナル伝達経路が障害されている遺伝子変異マウスに着目し、その骨代謝動態を詳細に解析し、骨から脳へのフィードバック機構の分子機構を明らかにする。

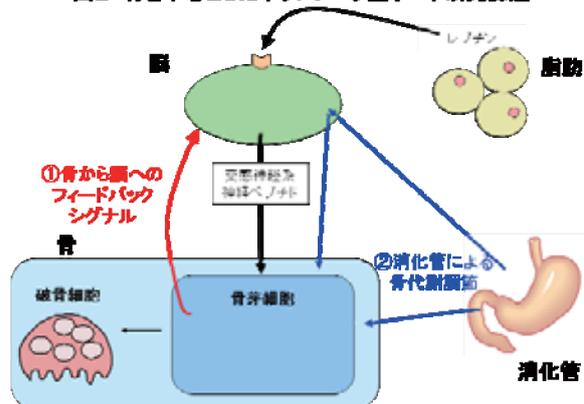
②消化管による骨代謝調節シグナルの解明

消化管切除術後には骨粗鬆症が発症することが知られている。我々は消化管由来の液性因子に着目し、その受容体の変異マウスの骨代謝動態を詳細に解析し、骨から脳へのフィードバック機構の分子機構を明らかにする。

#### 【期待される成果と意義】

本研究を通じて骨を中心とした脂肪組織、脳、消化管との多臓器間の代謝コミュニケーションをネットワークとして捉え、その統合的理解が得られることが期待される。臨床的には既存のアプローチでは同定不能な未知の創薬ターゲットの同定も期待される。

図2 骨を中心としたネットワーク医学 本研究課題



#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Takeda, S. et. al. Leptin regulates bone formation via the sympathetic nervous system. Cell 2002; 111: 305-17
- Elefteriou, F., Takeda, S. et. al. Leptin regulation of bone resorption by the sympathetic nervous system and CART. Nature 2005; 434: 514-20.
- Sato, S., Takeda, S. et. al. Central control of bone remodeling by neuromedin U. Nat Med 2007; 13: 1234-40

#### 【研究期間と研究経費】

平成21年度—25年度

80,400千円

ホームページ等

<http://www.keio-emn.jp/donation/index.html>

