

【基盤研究(S)】

生物系 (生物学)



研究課題名 エピゲノム解析とエピ遺伝学による反復配列動態制御機構の解明

国立遺伝学研究所・総合遺伝研究系・教授 かくたに てつじ
角谷 徹仁

研究分野：遺伝、ゲノム動態

キーワード：トランスポゾン、DNA メチル化、クロマチン、進化

【研究の背景・目的】

塩基配列以外の形で遺伝子の ON/OFF 情報が分裂後の細胞に継承される「エピジェネティック」な制御は個体発生、老化、癌形成などの重要な生命現象に関与する。近年この分野が爆発的に進展しているのは、モデル生物を用いた分子遺伝学的方法の貢献が大きい。さらに、エピジェネティックな修飾の実体である DNA のメチル化や染色体蛋白質の変化をゲノムレベルで調べる「エピゲノム」解析の手法が研究を加速している。

一方、私達の結果を含めた最近の知見は、エピジェネティックな制御が、染色体挙動やゲノム進化にも貢献し、反復配列がその主要な標的になりうることを示している。また、反復配列の中には環境条件の変化に応答するものがあるが、この興味深い現象の機構や進化におけるインパクトはほとんど探索されていない。反復配列は、ゲノム構造安定性に対する脅威であるだけでなく、インプリンティングや生殖、個体発生などの高次機能にも関与するため、その生物学的重要性が近年再認識されている。本課題では、シロイヌナズナの分子遺伝学とゲノミクスを用いて、反復配列に DNA メチル化が局限される機構と、ゲノムレベルでの反復配列動態の制御機構を解明する。シロイヌナズナの利点を生かした独自の実験系を用いて、他の生物にまで保存された分子機構を解明する。

【研究の方法】

(1)「全ゲノムレベルでのトランスポゾン動態の理解」タイリングアレイを用いてゲノムレベルでトランスポゾンのコピー数と修飾を調べることにより、環境因子(外来因子)とエピジェネティック制御との関連という未開拓の問題を理解する。全ゲノムレベルで調べることにより、挙動の違うトランスポゾン間の相互作用を探索する。また、シロイヌナズナの種内野生系統や同属近縁種を用いることで、自然集団中でのトランスポゾンの挙動とゲノム進化をエピジェネティック制御の文脈で理解する。さらに、エピジェネティックな因子の突然変異体を用いるこ

とで、その分子機構を遺伝学的に解明する。

(2)「遺伝子から DNA メチル化を排除して反復配列と区別する機構」DNA メチル化はトランスポゾン抑制によってゲノム安定化に貢献する。一方、遺伝子をメチル化しないためには、jmjC 蛋白質である IBM1 が必要である。ただし、この蛋白質がトランスポゾンと遺伝子とを区別する機構は未知である。この機構へのアプローチとして、この経路で正や負にはたらく突然変異体を用いた遺伝解析とエピゲノム解析により情報の流れを知る。

【期待される成果と意義】

トランスポゾンの挙動とゲノム進化の分子機構をエピジェネティック制御の文脈で理解する。また、遺伝子やトランスポゾンに特有のエピジェネティックな修飾パターンができあがる機構を理解する。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

1. Tsukahara S, Kobayashi A, Kawabe A, Mathieu O, Miura A, and Kakutani T (2009) Bursts of retrotransposition reproduced in Arabidopsis. *Nature* 303, 423-426
2. Miura A, Nakamura M, Inagaki S, Kobayashi A, Saze H, and Kakutani T (2009) An Arabidopsis jmjC domain protein protects transcribed genes from DNA methylation at CHG sites. *EMBO J.* 28, 1078-1086
3. Saze H, Shiraishi A, Miura A, and Kakutani T (2008) Control of Genic DNA methylation by a jmjC domain-containing protein in Arabidopsis thaliana. *Science* 319, 462-465

【研究期間と研究経費】

平成22年度－26年度
106,700千円

【ホームページ等】

<http://www.nig.ac.jp/labs/AgrGen/home-j.html>

【基盤研究(S)】

生物系 (生物学)



研究課題名 生殖制御における新規脳内分子機構の解明

早稲田大学・教育総合科学学術院・教授

つつい かずよし
筒井 和義

研究分野：比較内分泌学、神経内分泌学、生殖生物学

キーワード：視床下部ホルモン、下垂体ホルモン、生殖

【研究の背景・目的】

生殖は子孫を残すため最も重要な生命活動の一つである。動物の生殖を制御する脳内分子機構の新しい理解には、まず重要な新規脳ホルモンを同定し、その生理作用、作用機構、発現制御機構などを解明する必要がある。生殖制御の脳機構は古典的脳ホルモンである生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン(gonadotropin-releasing hormone; GnRH)の働きにより説明がなされてきたが、我々が発見した新規脳ホルモンである生殖腺刺激ホルモン放出抑制ホルモン(gonadotropin-inhibitory hormone; GnIH)により、それまでの定説が覆された。我々はGnIHを鳥類から発見したが、ヒトやサルなどの霊長類から魚類に至る全ての脊椎動物にGnIHが存在することを明らかにした。本研究では、動物の生殖を制御する新規脳ホルモンであるGnIHに着目して「生殖制御における新規脳内分子機構の解明」を目的として、GnIH作用の分子機構とGnIH発現の分子制御機構を明らかにする。また、GnIH遺伝子のノックダウン、ノックアウトによりGnIH作用の生理的意義とGnIHの新しい生理作用を明らかにする。さらに、ヒトのGnIHに着目したヒト生殖機能異常の分子基盤を得る。一方、GnIHは無脊椎動物にも存在する可能性があり、本研究では、生物学的観点から動物界におけるGnIHの起源と分子進化を明らかにする。

【研究の方法】

GnIH 生殖抑制作用の分子機構の解明:GnIH 受容体 (GPR147) を同定しており、GnIH 標的細胞におけるGnIHのシグナルカスケードを解析する。

GnIH発現の分子制御機構の解明:生殖抑制作用のあるメラトニンによるGnIH発現の分子制御機構を解析する。また、生殖制御鍵遺伝子DIO2によるGnIH発現制御機構、さらにストレスによるGnIH発現変動機構を解析する。

生殖腺におけるGnIHの局所作用機構の解明:GnIHとGnIH受容体は脳他に生殖腺にも発現しており、GnIHによるステロイドホルモン合成制御機構と生殖細胞の分化・成熟機構を解析する。

GnIHによる生殖行動の発現制御機構:GnIHニューロンは生殖行動を支配する脳幹ニューロンに投射しており、GnIHによる生殖行動の発現制御機構を解析する。

GnIH 遺伝子のノックダウン、ノックアウトによるGnIH作用の生理的意義の解明:GnIH siRNAによるGnIH遺伝子ノックダウンとGnIH遺伝子ノックアウトにより、GnIHの生殖抑制作用の生理的意義とGnIHの新しい生理作用を解析する。

GnIHによるヒト生殖機能異常分子機構の解明:生殖腺刺激ホルモン分泌調節の破綻はヒトの生殖機能障害の原因となる。GnIHはヒトの脳にも存在する。ヒトのGnIH遺伝子とGnIH受容体遺伝子の変異解析と変異GnIHと変異GnIH受容体の機能解析を行い、ヒトの生殖機能障害にGnIHとGnIH受容体が関与することを明らかにする。

動物界におけるGnIHの起源と分子進化の解明:GnIHは脊椎動物に広く存在し、GnIHの起源は無顎類に遡ることを明らかにしている。本研究では、動物界におけるGnIHの起源と分子進化を明らかにするために、原索動物や無脊椎動物からGnIHを同定して、GnIH遺伝子のシクエンシー解析を行う。

【期待される成果と意義】

独自の発想により、研究代表者は生殖機能を抑制する新規脳ホルモンであるGnIHを発見して、生殖制御の脳内機構に新しい概念が生まれた。この発見はそれまでの常識を覆すものであり、現在GnIH研究の進展は世界的に注目されている。本研究の進展により、古典的な理解とは遥かにかけ離れた「生殖制御における新規脳内分子機構」の解明が期待される。また、GnIHによる生殖機能異常の分子機構の解明が期待される。さらに、本研究により、動物界におけるGnIHの起源と構造の分子進化という生物学的に重要な成果が期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

Tsutsui et al. (2000) *BBRC* 275, 661-667
Yoshimura et al. (2003) *Nature* 426, 178-181
Ukena & Tsutsui (2005) *Mass Spectrom Rev* 24, 469-486 (review)
Ubuka et al. (2005) *Proc Natl Acad Sci USA* 102, 3052-3057 *Nat Reviews Highlight*
Kriegsfeld et al. (2006) *Proc Natl Acad Sci USA* 103, 2410-2415
Ubuka et al. (2008) *Endocrinology* 149, 268-278.
Nakao et al. (2008) *Nature* 452, 317-322
Kagami et al. (2008) *Nat Genetics* 40, 237-242
Sekita et al. (2008) *Nat Genetics* 40, 243-248
Ubuka et al. (2009) *PLoS ONE* 4, e8400
Tsutsui (2009) *Prog Neurobiol* 88, 76-88 (review)
Doi et al. (2010) *Nat Medicine* 16, 67-74
Tsutsui et al. (2010) *Front Neuroendocrinol* (review), in press

【研究期間と研究経費】

平成22年度－26年度
167,400千円

【ホームページ等】

<http://www.f.waseda.jp/k-tsutsui/>

【基盤研究(S)】

生物系 (生物学)



研究課題名 ミトコンドリア膜を舞台としたタンパク質の 交通管制機構の解明

名古屋大学・大学院理学研究科・教授

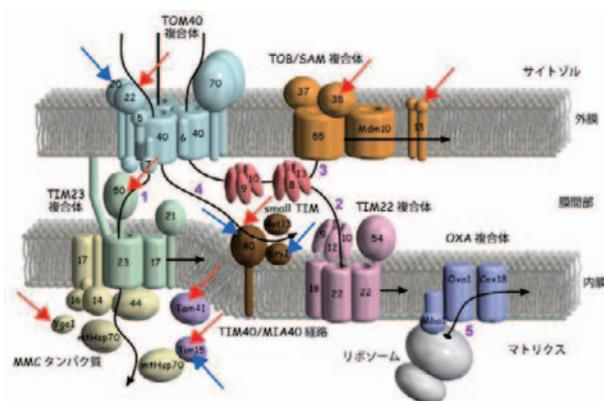
えんどう としや
遠藤 斗志也

研究分野：生物学・生物科学・構造生物化学

キーワード：タンパク質、細胞小器官

【研究の背景・目的】

酵母ミトコンドリアには、1000種類を超えるタンパク質を適切に配送する交通管制システムが存在する。最近、ミトコンドリアの膜構造、レドックス、脂質とミトコンドリアタンパク質の交通に関する新発見等が相次ぎ、ミトコンドリアタンパク質の交通をめぐる概念が大きく書き換えられつつある。こうした背景のもとに、これまでの研究をさらに発展させ、ミトコンドリアの膜構造や脂質、レドックス状態、小胞体など他のオルガネラとの関係などを含む大きなフレームで、交通管制の問題に取り組む。膜を舞台とした壮大なミトコンドリアタンパク質の交通管制システムの全体像を解明することにより、細胞機能と細胞内構造の関係に関わる新たなパラダイムの発見への道を開きたい。



【研究の方法】

(1) 他のオルガネラとの関係として、ミトコンドリア-小胞体テザリング複合体の関連因子の検索と構造決定を目指す。(2) ミトコンドリア内の膜構造として最後まで残った問題、外膜-内膜融合部位(コンタクトサイト)について、構成因子の検索と同定を目指し、(3) トランスロケータと呼吸鎖複合体の相互作用を足がかりとして、内膜上の限界膜-クリステ仕分けという新たな問題に取り組む。(4) 未解決の経路として、外膜 TA (テイルアンカー型) の輸送に関して、Tom22 のアセンブリ過程で *in vivo* 架橋される因子を足がかりに、関与する因子の検索を行う。(5) 脂質と交通というホットな問題に関して、ミトコンドリアのカルジオリピン量と関係するメンテナンス因子 Tam41 の関連因子として発見した Art5 を足がかりとして、小胞

体-ミトコンドリアにまたがる脂質生合成-配送システムの解明に挑む。(6) ミトコンドリア膜間部が新たな酸化的フォールディングの場であることが分かったので、それに関わるレドックス制御システム (Tim40/Mia40-Erv1) の構成因子の構造決定と機能解明を目指す。(7) 従来ほとんど手が着いていなかった、膜貫通因子を含む、トランスロケータというマシナリーの構造決定にチャレンジする。

【期待される成果と意義】

本研究では、1000種類以上のミトコンドリアタンパク質の交通管制の仕組みを、関与するタンパク質(トランスロケータ+可溶性因子)のネットワークに留まらず、脂質、ミトコンドリア内膜構造、レドックス状態、他のオルガネラ(小胞体)との関係等の大きなフレームで解明することを目指している。このことによりミトコンドリアというオルガネラ全体の構築原理の解明への道が開けるとともに、オルガネラタンパク質の交通を自在に操作することにより、オルガネラタンパク質の構成を変え、オルガネラの機能を人為的に改変するなど、「オルガネラ工学」といべき新しい応用分野の創出につながる展開も期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

S. Kawano, K. Yamano, T. Endo et al. (2009)
Structural basis of yeast Tim40 as an oxidative translocator in the mitochondrial intermembrane space. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106, 14403-14407.

Y. Tamura, Y. Harada, T. Endo et al. (2009)
Tim23-Tim50 pair coordinates functions of translocators and motor proteins in mitochondrial protein import. *J. Cell Biol.* 184, 129-141 (2009)

【研究期間と研究経費】

平成22年度-26年度
162,000千円

【ホームページ等】

<http://biochem.chem.nagoya-u.ac.jp/>

【基盤研究(S)】

生物系 (生物学)



研究課題名 電子線結晶学を用いた膜タンパク質の構造と機能研究

京都大学・大学院理学研究科・教授

ふじよし よしのり
藤吉 好則

研究分野：総合領域

キーワード：分子・細胞神経科学

【研究の背景・目的】

遠い目標は、ヒトの能力や個性が形成される機構を原子レベルの分解能で構造的に理解することである。それに向かって、電子線結晶学を用いて、水チャネル、イオンチャネル、ギャップ結合チャネル、アセチルコリン受容体、 H^+ , K^+ -ATPase などの膜タンパク質の構造を、生理的な環境に近い脂質膜の中にある条件で解析すること、そして、それらの生理機能を構造生物学的視点から理解することを目的とする。そのために、これまで独自に開発してきた極低温電子顕微鏡システムを柱として、変異導入、遺伝子改変マウス作製、多様な電子顕微鏡技術、高分解能光学顕微鏡法、パッチクランプなど多様な手法を駆使することで、膜タンパク質の生理機能を構造生物学的に理解することを目指す。

【研究の方法】

本課題では、水チャネル、イオンチャネル、ギャップ結合チャネル、アセチルコリン受容体、 H^+ , K^+ -ATPase などの膜タンパク質の構造を、生理的な環境に近い脂質膜の中にある条件で解析することを目指して、これまで独自に開発してきた極低温電子顕微鏡システムなどを活用する。特に、高分解能の構造解析から脂質分子や水分子を観察できて、スプレー法と急速凍結法を用いるとリガンド結合などの中間状態 (ダイナミクス) を研究できる電子線結晶学を柱とする研究手法を用いる。中でも、脳での発現が見られる水チャネル AQP4 の構造を電子線結晶学を用いて解析することによって、水チャネルでありながら、細胞接着性の機能を有することを発見して、“Adhennel” ファミリーと命名した。さらに、細胞接着性の機能とチャネル機能を併せ持つことがわかっているギャップ結合チャネルの構造を解析して、新しいプラグと名づけた密度を観察した。この電子線結晶学の結果と X 線結晶学の高分解能の解析に基づいて、プラグゲーティングモデルを提案した。しかし、このチャネルのゲーティング機構は複雑であり、特に細胞質側の構造を自然な状態で解析する必要がある。そのために、電子線結晶学を用いた構造解析を進めている。また、傾斜機構付きヘリウムステージを搭載した極低温電子顕微鏡を開発している。この極低温電子顕微鏡と電子線トモグラフィ法を用いて、ギャップ結合構造などを、脂質

2重膜を分離して観察できるような分解能で解析する。その他に、膜タンパク質の生理機能を理解するために、変異導入、遺伝子改変マウス作製、多様な電子顕微鏡技術、高分解能光学顕微鏡法、パッチクランプなど多様な手法を総合的に活用する。

【期待される成果と意義】

電子線結晶学を用いて、各種チャネルの構造を解析することによって、それらの機能を分子レベルから深く理解できるようになる。構造に基づいた遺伝子改変マウスなどの解析から、構造と機能の関係を個体において確認できることも期待される。さらに、電子線トモグラフィ用極低温電子顕微鏡も開発したので、分解能が向上し、脂質2重膜を分離して観察できると共に、大きい膜タンパク質を直接観察できるようになってきている。さらに、高分解能光学顕微鏡 (ShinyaScope) をはじめ各種光学顕微鏡や、電気生理学的技術、構造に基づく遺伝子改変マウス作製など、幅広い技術を用いて研究している。膜タンパク質の高分解能の構造解析とそれらの機能研究とが密接に結びついた研究を進めることによって、構造生理学と名づける分野の発展を目指す。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- ・ S. Maeda, S. Nakagawa, M. Suga, E. Yamashita, A. Oshima, Y. Fujiyoshi and T. Tsukihara; “Structure of the connexin-26 gap junction channel at 3.5 Å resolution.” *Nature*, **458**, 597-602 (2009).
- ・ K. Tani, T. Mitsuma, Y. Hiroaki, A. Kamegawa, K. Nishikawa, Y. Tanimura and Y. Fujiyoshi; “Mechanism of Aquaporin-4’s Fast and Highly Selective Water Conduction and Proton Exclusion.” *J. Mol. Biol.*, **389**, 694-706 (2009).

【研究期間と研究経費】

平成22年度－26年度
167, 100千円

【ホームページ等】

<http://em.biophys.kyoto-u.ac.jp/>
yoshi@em.biophys.kyoto-u.ac.jp

【基盤研究(S)】

生物系 (生物学)



研究課題名 生物運動の制御基盤；化学力学フィードバックループ

早稲田大学・理工学術院・教授

いしわた しんいち
石渡 信一

研究分野：生物物理学

キーワード：生体分子モーター、筋収縮系の自励振動 (SPOC)、細胞分裂機構

【研究の背景・目的】

我々は長年に亘って、階層性に着目した生物運動機能の研究を進めてきた。その過程で、1分子モーター (キネシン、ミオシン V、VI) の歩行運動における内部応力と酵素活性機能とのメカノケミカルカップリング (分子内シンクロ) の存在を明らかにした。本課題では、生物運動の典型例として細胞内物質輸送、筋収縮系自励振動、細胞分裂 (染色体分裂) に着目し、分子モーターや細胞骨格が生み出す力そのものが、**輸送・振動・分裂という要素運動の制御に重要な役割を担っていることを明らかにする。**すなわち、モータータンパク質系自身が生み出す力によるタンパク質 (集合体) の歪みや、酵素反応ナノ空間の変動を自らの酵素活性にフィードバックして活用するという**化学力学フィードバックループ (CMF loop)**が、生物運動系の自律的制御機構として各階層ごとに存在すること、そして階層を貫く共通原理として存在することを示し、その多様な様態とメカニズムを解明する。また力に限らず、目に見えない物理的因子 (とくに熱と温度) の役割を明らかにする。

【研究の方法】

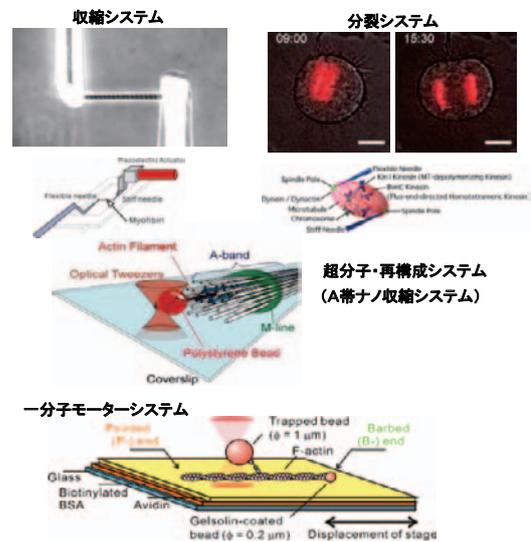
1分子モーター系について、各種 Myosin や制御タンパク質とアクチン、そしてキネシン (MCAK など) と微小管との結合力や結合様式を、多様なアミノ酸変異体を用いて1分子顕微計測し、歩行運動、脱重合・切断作用における分子内・分子間 CMF loop の役割を調べる。筋 (原) 線維系については、自励振動 (SPOC) 現象の分子機構を理論構築と併せて検討する。とくに心筋を用いた SPOC の解析を進める。細胞分裂については、染色体分裂機構における力のバランスの意義に着目し、分裂期にある細胞に対する外力の作用を検討する。こうして、1分子から細胞に至る生物運動階層構造に固有の CMF loop の存在とその分子様式を明らかにする。

【期待される成果と意義】

生体運動系における1分子から分子集合体、そして高次構造体、細胞・組織という階層構造に特徴的な CMF loop (右上に示すような順方向の制御に加えて、逆方向の制御からなるループ) の存在を、具体的に分子レベルで示すこと。

そのことは、生体運動機能の仕組み (共通の制御方式) を解明することを意味し、生物物理学研究の成果の典型例の一つとなるだろう。

CMFループ <酵素活性> → 能動的分子構造変化 → 力発生 → 収縮 → 受動的分子変形・分子集合体 / 枠組み変形 → 酵素機能変調 >



【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- "Robust processivity of myosin V under off-axis loads." Y. Oguchi, S. V. Mikhailenko, T. Ohki, A. O. Olivares, E. M. De La Cruz & S. Ishiwata (2010). *Nature Chem. Biol.* **6**, 300-305.
- "Inter-sarcomere coordination in muscle revealed through individual sarcomere response to quick stretch." Y. Shimamoto, M. Suzuki, S. V. Mikhailenko, K. Yasuda & S. Ishiwata (2009). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **106**, 11954-11959.
- "Probing the mechanical architecture of the vertebrate meiotic spindle." T. Itabashi, J. Takagi, Y. Shimamoto, H. Onoe, K. Kuwana, I. Shimoyama, J. Gaetz, T. M. Kapoor & S. Ishiwata (2009). *Nature Methods* **6**, 167-172.

【研究期間と研究経費】

平成22年度 - 26年度
167,500千円

【ホームページ等】

<http://www.ishiwata.phys.waseda.ac.jp/>

【基盤研究(S)】

生物系 (生物学)



研究課題名 RNA 修飾が支配する遺伝子発現調節機構の探究と高次生命現象

東京大学・大学院工学系研究科・教授

すずき つとむ
鈴木 勉

研究分野：生物学

キーワード：RNA 修飾、RNA エディティング、mRNA、non-coding RNA

【研究の背景・目的】

生命の発生や細胞の分化、疾患などに代表される高次生命現象は、遺伝子発現の微調節によって生じるものである。したがって、遺伝子発現の調節機構を解明することは、生命を理解する上で最も重要な課題の一つである。転写制御はその根幹を担うことが知られているが、近年のトランスクリプトームやプロテオームなどの網羅的な解析から、mRNA とタンパク質の発現プロファイルが必ずしも一致しないという事実や、マイクロ RNA やアンチセンス RNA などの non-coding RNA (ncRNA) による様々な発現調節機構の発見、また選択的スプライシングが多様な遺伝子発現の調節に関与するなど、転写後における調節機構の存在が遺伝子発現において、重要な役割を担っていることが明らかになりつつある。本研究は転写後の遺伝子発現調節機構に着目し、ncRNA や mRNA が有する質的な側面、特に RNA の転写後修飾に着目し、RNA が関与する遺伝子発現調節機構の探究と高次生命現象との関係について理解を深めることを本プロジェクトの研究課題とする。具体的には以下の3つのサブテーマから構成される。(1) RNA 修飾の網羅的探索と機能解析、(2) 低分子 RNA の末端修飾の解析と選択的安定化機構の解明、(3) RNA 修飾遺伝子の解析と修飾異常に起因する疾患の探究

【研究の方法】

高感度質量分析技術を微量 RNA の測定に応用した RNA マススペクトロメトリー(RNA-MS)を駆使することで新規 RNA 修飾の構造決定や、新規修飾部位の同定を行う。また、修飾酵素の探索や RNA 修飾の試験管内再構成を行い、修飾形成の分子機構について理解を深める。さらに、生化学、分子遺伝学、構造解析的な手法を用いることで RNA 修飾が関与する遺伝子発現調節機構を探究する。

【期待される成果と意義】

新規 RNA 修飾を同定することで、これまでに知られていなかった遺伝子発現における調節機構が明らかになると期待される。また、修飾酵素とその遺伝子を同定することで、RNA 修飾の遺伝学的な解析が可能になり、RNA 修飾と生命現象の関わりを知るための手がかりになるであろう。さらに、試験管内において RNA 修飾反応を再構成さ

せることで、細胞内で RNA 修飾が形成される詳細な分子機構が解明される。また、mRNA におけるイノシン化部位の網羅的な同定を行うことで、疾患によって変動するイノシン化修飾を解析することが可能になり、疾患のプロファイリングおよび発症機構の理解にもつながるであろう。最終的には、本プロジェクト研究を通じて、RNA 修飾が関与する新規遺伝子発現制御機構の探究と高次複合形質の発現との関係を明らかにすることを目標とする。

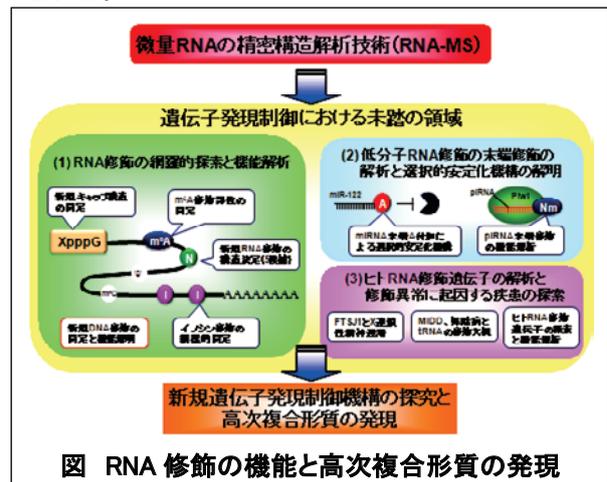


図 RNA 修飾の機能と高次複合形質の発現

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Ikeuchi et al. Agmatine-conjugated cytidine in tRNA anticodon essential for AUA decoding in archaea. *Nat Chem Biol.*, 6, 277-282 (2010)
- Katoh et al. Selective stabilization of mammalian microRNAs by 3'-adenylation mediated by the cytoplasmic poly(A) polymerase GLD-2. *Genes Dev.*, 23, 433-438 (2009)
- Ohara et al. The 3'-termini of mouse piwi-interacting RNAs are 2'-O-methylated *Nat Struct Mol Biol.*, 14, 349-350 (2007)

【研究期間と研究経費】

平成22年度－26年度
167,300千円

【ホームページ等】

http://rna.chem.t.u-tokyo.ac.jp/index_j.html
ts@chembio.t.u-tokyo.ac.jp

【基盤研究(S)】
生物系(農学)



研究課題名 エネルギー消費代謝を制御する褐色脂肪細胞の
発生機構と生理的役割の解明

京都大学・大学院農学研究科・教授 かわだ てるお
河田 照雄

研究分野: 農学

キーワード: 食品機能、代謝生理、栄養生化学

【研究の背景・目的】

体脂肪を構成する白色脂肪細胞とは異なり、褐色脂肪細胞(褐色脂肪)は、熱産生を専門に営むヒト体内で唯一の細胞である(図)。褐色脂肪は、活発に脂肪を消費する。褐色脂肪の減少や機能低下は、肥満やそれに伴う糖尿病などの生活習慣病を引き起こすことが明らかとなってきた。

本研究は、組織学的に異なる褐色脂肪の分化・増殖機構と生理的役割を解明するために、発生工学的手法、蛍光ならびに磁気共鳴(MRI)イメージング法を駆使した動物個体レベルでの新しい検出系、評価系を開発するとともに、ヒト由来多能性幹細胞を活用して詳細な分子機構を解析することを目的としている。

これにより、ヒトが生まれながらに有する細胞の熱産生能力を活用した新しい肥満是正の解決策を見出し、糖尿病やメタボリック症候群などの疾患の予防・改善に役立てることを目指す。

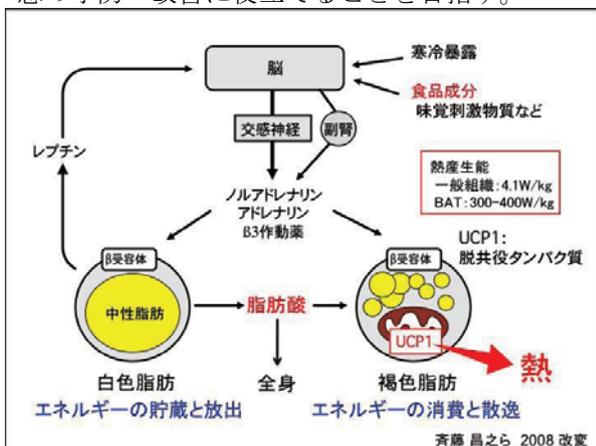


図 褐色脂肪における熱産生機構の概念図

【研究の方法】

本研究は、代表者らのこれまでの研究成果を進展させ、熱産生機能を持つ組織型褐色脂肪および非組織型褐色脂肪の発生・発達機構を個体および細胞レベルで解析し、それらの細胞の生理的役割の解明と有用特性を活用するための基盤研究の確立を目指すことにある。そのために、(1)褐色脂肪特異的蛍光タンパク質レポータートランスジェニックマウスの作製、(2)リジンリッチタンパク質レポータートランスジェニックマウスの作製を行い、(3)蛍光ならびに磁気共鳴(MRI)イメージングの手法を用いた新たな個体レベルでの褐色脂肪の検出方法、機能評価法の開発を図る。さらに、(4)世界

初のヒト褐色脂肪細胞株を用いて詳細な細胞分化、増殖の分子機構の解明を行う。

【期待される成果と意義】

白色脂肪の分化、発生機構や生理的意義については、すでに多くの知見が蓄積しているが、褐色脂肪については、特に発生機構や白色脂肪との違いを決定づける機構について不明な点が多い。代表者らは、以前から独自に特徴的な褐色脂肪発生現象やその誘導因子を見出してきた。本研究の期待される第一の成果は、このような褐色脂肪の発生機構や誘導因子を解析する、蛍光ならびに磁気共鳴イメージングの手法を駆使した極めて高感度で解像度の高い個体レベルの評価系が開発できる点であり、独創性が高い。第二の成果は、従来なかったヒト多能性幹細胞由来褐色脂肪細胞を活用することにより、褐色脂肪細胞の分化・増殖、機能発現の分子機構が解明でき、応用研究のための基盤が整備できる点である。

本研究により、未解明な点が多い褐色脂肪の分化・発生決定機構と生理的役割が明らかとなり、ヒトが生まれながらに有する細胞の熱産生能力を活用した肥満是正の新規な解決策が見出せる可能性がある。さらには、糖尿病やメタボリック症候群などの生活習慣病の予防・改善に役立てることが出来き、社会的意義が大きい。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- ・肥満と脂肪エネルギー代謝:メタボリックシンドロームへの戦略(河田照雄、斉藤昌之、小川正 編)建帛社 2008
- ・Nagase I, Yoshida T, Kumamoto K, Umekawa T, Sakane N, Nikami H, Kawada T, Saito M. Expression of uncoupling protein in skeletal muscle and white fat of obese mice treated with thermogenic beta 3-adrenergic agonist. *J Clin Invest.* 97:2898-2904 (1994)

【研究期間と研究経費】

平成22年度-26年度
151,600千円

【ホームページ等】

<http://www.foodfunc.kais.kyoto-u.ac.jp/>

【基盤研究(S)】
生物系(農学)



研究課題名 分子疫学とケミカルバイオロジーを駆動力とする
食品因子感知システムの解明

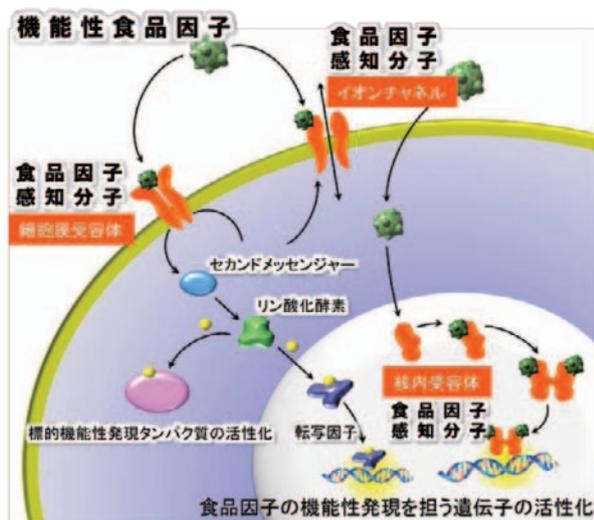
九州大学・大学院農学研究院・准教授 たちばな ひろふみ
立花 宏文

研究分野: 食品科学

キーワード: 食品因子、分子疫学、感知分子、ケミカルバイオロジー

【研究の背景・目的】

我々の体は、さまざまな生体外シグナルに適切に応答しながら生体の恒常性を維持しており、病原細菌の侵入といった生体外シグナルは Toll 様受容体などの細胞表面受容体によって分子認識され、自然免疫系が発動する。これに倣えば、機能性食品因子も生体内の標的分子に相互作用することで、生体恒常性の維持に影響を及ぼす生体シグナル因子と捉えることができる。研究代表者らは代表的な機能性食品因子であるエピガロカテキンガレートと結合し、その多彩な生理作用を仲介する細胞膜受容体とそのシグナル伝達経路の存在を世界に先駆けて明らかにした。本研究では、機能性食品因子を生体調節シグナル因子として捉え、その生体内における感知システムを明らかにすることで食品因子の保健作用のメカニズムを明らかにすることを目的とする。



【研究の方法】

1) 機能性食品因子の感知メカニズムの解明

機能性食品因子の生体内標的分子とその関連分子(機能性食品因子感知分子)を同定し、感知分子を介した食品因子の機能性発現機構を明らかにする。

2) 機能性食品因子の生理機能発現の生体内イメージング

機能性食品因子がその感知分子にどのように分子認識されるのか、また、いかにしてその作用が

伝達されるのかを、細胞や生体組織においてリアルタイムで可視化する技術を開発する。

3) 機能性食品因子のメタボロミクスと感知メカニズムの統合解析

機能性食品因子とその代謝物の時間・空間的な存在状態を明らかにするとともに食品因子感知分子の発現状態との関係を解明する。

4) 機能性食品因子感知システムの分子疫学的検証

機能性食品因子感知分子の発現と、その発現に対する緑茶摂取や生活習慣の影響を介入試験やコホート調査において明らかにする。

【期待される成果と意義】

機能性食品因子に対する感知システム情報は、食品因子に対する個人の適合性を判断する上で重要な指標となり、その人の体質に適応した食品(テラーメイド食品)の開発や食品因子の機能性を最大限に享受するための食べ合わせの解明を可能とし、食品による個別化健康管理の実現に資するものと考えられる。ケミカルバイオロジーと分子疫学の融合研究は、食品機能学の分野に革新的な視点をもたらすことが期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Tachibana, H., et al. A receptor for green tea polyphenol EGCG. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 11, 380-381 (2004).
- Umeda, D., Tachibana, H. et al. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate signaling pathway through 67-kDa laminin receptor. *J. Biol. Chem.*, 283, 3050-3058 (2008).
- Byun, E.H., Tachibana, H. et al. TLR 4 signaling inhibitory pathway induced by green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate through 67-kDa laminin receptor. *J. Immunol.*, in press.

【研究期間と研究経費】

平成22年度-26年度
143,300千円

【ホームページ等】

<http://www.agr.kyushu-u.ac.jp/biosci-biotech/syokuryo/>

【基盤研究(S)】

生物系 (農学)



研究課題名 食品リスク認知とリスクコミュニケーション、食農倫理とプロフェッションの確立

京都大学・大学院農学研究科・教授 にいやま ようこ
新山 陽子

研究分野：農業経済学

キーワード：リスク認知、リスクコミュニケーション、フードコミュニケーション、食品企業倫理

【研究の背景・目的】

世界的に人畜共通感染症や病原微生物による食中毒、化学物質汚染を予防する食品安全確保が社会的課題となっている。科学的データを基礎とする措置が求められ、Codex委員会が各国政府に対して、リスク管理、リスク評価、リスクコミュニケーションによりリスク低減をはかるリスクアナリシスの枠組みを提示し（WHO/FAO 2006,2007）、各国は定着に総力をあげている。このような食品安全行政には研究者からの系統的な支援が必要とされ、レギュラトリーサイエンスの確立が課題となっている。本研究はその一翼を担うものである。

食品安全のためのリスクアナリシスの重要要素とされるリスクコミュニケーションに着目し、コミュニケーション・ギャップの解消に向け、国際調査研究により関係者のリスク知覚構造等を解明し、リスク評価とリスク管理に関するコミュニケーション実験を実施し、知見を提示する。リスク知覚の基礎となる消費者の食品・農業・環境認識と情報提供による変化を実験経済学手法により解明し、フードコミュニケーション・テキストを作成する。農業・食品事業者、食品衛生管理者に要請される職業倫理を探求し、テキストを構想するとともに、そのプロフェッション（専門職業）の確立と運用制度・教育システムを検討し提言する。

【研究の方法】

本研究には、食品衛生学、獣医学、公衆衛生学、認知科学を基礎とした実験経済学、心理学、社会学、法学、哲学などの自然科学・人文社会科学各分野の研究者が学際的チームを組織してあたる。

①リスク認知構造等解明、②リスクコミュニケーション実験、③消費者の食品等認識と食育テキスト作成、④職業倫理探求、⑤プロフェッションの確立の5課題を小チームに分け、連携・推進する。

①では、国際的な心理学的調査、リスク情報理解の影響要因の実験心理学的解明、②では、国際的なリスク評価等提供情報収集、コミュニケーション手法の分析結果を受けて、モデルを構築し、リスクコミュニケーション実験を行う。③では、実験経済学手法を用いた市民の食品、農業理解レベルの解明、国際的な食育テキストの収集・分析、④では、食品企業倫理コードの国際比較分析、食品安全問題に関わる意思決定事例の収集分析などを行う。⑤では、専門職業制度に関する基礎的な国際調査・比較研究を実施する。

【期待される成果と意義】

期待される成果は、①では市民のリスク認知特性（ゆがみ）とその原因の一部の解明、情報理解要因の解明、②ではリスク管理措置の費用効果分析、双方向リスクコミュニケーションモデルの提示、③では、市民の食品、農業理解レベルの解明、リスクコミュニケーションテキストの作成、④では食品企業倫理コードにおける不確実性、複雑性への対応の文化・伝統など制度論的国際モデルの提示、食品衛生技術者の倫理的意思決定を支えるテキスト構想の提示、⑤では日本の専門職業制度の構想の提示である。これらにより、リスクコミュニケーション、食品企業倫理、専門職業の確立に寄与する。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

1. 新山陽子「科学を基礎にした食品安全行政とレギュラトリーサイエンス」『食の安全を求めてー食の安全と科学』学術会議叢書 16、(財)日本学術協力財団、2010年1月
2. 新山陽子「国内農業の存続と食品企業の社会的責任ー生鮮食品の価格設定行動」『農業と経済』第74巻第8号、2008年7月
3. 新山陽子「日米韓の消費者の食品リスク認知に関する予備的比較分析」日本リスク研究学会第20回研究発表会講演論文集、2007年11月
4. 新山陽子編著『食品安全システムの実践理論』昭和堂、2004年3月
5. Toshiyuki Tsutsui and Fumiko Kasuga: Assessment of impact of cattle testing strategies on human exposure to BSE agents in Japan, International Journal of Food Microbiology, 2006, 107
6. 平山 るみ・楠見 孝 (2009). 健康食品の効能とリスク判断に及ぼすサンプルサイズ情報の効果 日本リスク研究学会誌, 19(1)
7. 栗山浩一. 「表明選好法におけるバイアスの経済分析」、『環境経済・政策研究』、1(2)、51-63、2008年
8. 細野ひろみ 「消費者の食品選択行動ー消費者は生産物やフードシステムをどう認識し、何を求めているか」『農業と経済』Vol. 75 (11)、2009年9月

【研究期間と研究経費】

平成22年度ー26年度
83,100千円

【ホームページ等】

<http://www.agribusiness.kais.kyoto-u.ac.jp/>

【基盤研究(S)】
生物系(農学)



研究課題名 次世代シーケンサーを用いた生殖系列のエピゲノム修飾とトランスクリプトーム解析

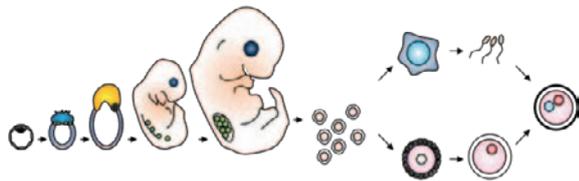
東京農業大学・応用生物科学部・教授 こうの ともひろ
河野 友宏

研究分野: 農学

キーワード: 生殖系列、エピゲノム、トランスクリプトーム、DNAメチル化

【研究の背景・目的】

哺乳類の生殖細胞における機能獲得機構の解明は、動物生産学、生殖医科学あるいは発生生物学の根幹をなす普遍的な重要研究課題に位置づけられる。雌雄生殖細胞である精子および卵子のゲノムが正常に機能して個体形成を達成するには、卵子および精子に特異的なDNAメチル化修飾をはじめとするエピゲノム情報の獲得が不可欠である。本研究では、マウス生殖系列におけるエピゲノム情報のリプログラミングの全貌解明を目指し、生殖系列細胞(始原生殖細胞→精子および卵子、胚ならびに胎仔)における網羅的なDNAメチル化解析およびトランスクリプトーム解析を実施する。



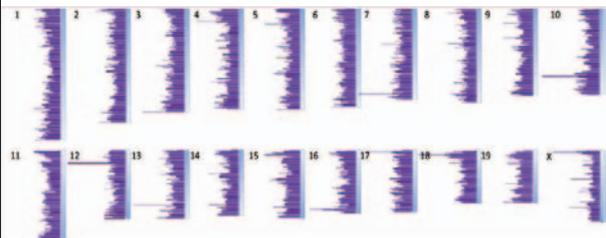
生殖系列細胞における網羅的なメチロームおよびトランスクリプトーム解析の実施

【研究の方法】

1) 始原生殖細胞、前精原細胞、非成長期卵母細胞、精子および卵子に由来するDNAの非メチル化シトシンのウラシルへの変換処置した後、次世代シーケンサーを用いてDNA断片の大量シーケンス解析を実施する。2) データ解析システムを用いたシーケンスデータのマウスゲノム配列へのマッピングおよびリード配列の集計を行い、染色体ごとのメチル化および非メチル化領域の頻度情報解析を実施する。3) さらに、1)の生殖系列細胞で転写されている全mRNAのシーケンスにより遺伝子の発現レベルを直接コピー数として定量解析し、DNAメチル化による制御との関連を調べる。4) 専用解析ソフトによるそれらの情報のデータベースを構築して公開する。

【期待される成果と意義】

本研究の推進により、雌雄生殖系列におけるDNAメチル化が全ゲノムレベルかつ高解像度(single CpG)で俯瞰でき、ダイナミックなリプログラミングの実態が初めて明らかにされる。その成果は細胞の分化・増殖・個体形成研究、幹細胞研究、生殖生理学研究、生殖医科学研究などの推進に、間違いなく貢献する。特に、動物応用科学分野では、生殖細胞の体外生産、クローン動物作出、胚の体外作出、個体発生ならびにそれらの正常性評価系の確立など基礎研究から応用研究までその応用価値は高い。さらに得られた膨大なデータをデータベース化して公開すれば、この分野および関連領域の発展に大きく寄与する。



染色体のDNAメチル化マップ

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Kobayashi H, Kono T. et al. Identification of the mouse paternally expressed imprinted gene *Zdbf2* on chromosome 1 and its imprinted human homolog *ZDBF2* on chromosome 2. *Genomics* 93. 461-472, 2009.
- Hiura H, Kono T. et al. Oocyte growth-dependent progression of maternal imprinting in mice. *Genes to Cells* 11. 353-361, 2006.
- Kono T, Obata Y. et al. Birth of parthenogenetic mice that can develop to adulthood. *Nature* 428. 860-864, 2004.

【研究期間と研究経費】

平成22年度-26年度
167,400千円

【ホームページ等】

<http://www.liaison-net.com/ridb/ridb?ucode=189&usno=101221>

【基盤研究(S)】 生物系(農学)



研究課題名 モノネガウイルス感染による宿主細胞応答ネットワークの解析

東京大学・医科学研究所・教授

かい ちえこ
甲斐 知恵子

研究分野: 農学

キーワード: 病原微生物

【研究の背景・目的】

マイナス一本鎖 RNA ウイルス(モノネガウイルス目)は全身性の強い病態を引き起こし、高い致死率を示すものが多い。病原性発現はウイルスと宿主応答のせめぎ合いの結果起こる現象である。その全体像は、我々を含むこれまでの数多くの精力的な研究にも関わらず、未だにほとんどわかっていない。我々は、これまでモノネガウイルスに属する3種のモービリウイルス属ウイルスや近縁のニパウイルスを対象として、様々な病原性発現の機序を解明する研究を行ってきた。その中で、同種のウイルスでも株の相違や感染細胞の種類によって、感染後に誘発される遺伝子発現動態に大きな違いが生ずることを見いだしている。本研究では、牛痘ウイルスを中心としたモービリウイルスとニパウイルスについて、感染に起因する宿主細胞応答の転写制御ネットワークおよび蛋白相互作用を、転写制御解析の新技術を用いて体系的に明らかにする。さらに、我々が確立した遺伝子から感染性ウイルスを合成する技術や動物モデルでの解析もあわせ、ウイルスの病原性への宿主細胞内応答の関与を明らかにすることも目的とする。

【研究の方法】

モービリウイルスの、上皮系細胞および血球系細胞への感染後に誘発される転写産物の全容をCAGE法、次世代高速シーケンサーを用いて網羅的に明らかにし、情報統計学的解析により細胞種特異的な制御ネットワークを明らかにする。このネットワークのkeyとなる転写因子を標的とするウイルス側因子を組換えウイルス作出などにより同定する。

モービリウイルス感染後にウイルス蛋白と相互作用する宿主蛋白についてもトランスクリプトームやプロテオミクス新技術により探索し、得られた候補蛋白の機能を解明する。

また、ニパウイルスにおいても同様の手法を用いて転写制御ネットワークの全容を明らかにする。

【期待される成果と意義】

本研究は、モノネガウイルスにおいて細胞種特異的な宿主応答ネットワークの全貌を初めて明らかにするもので、得られる研究成果は、これまで不明であったウイルスの体内伝播戦略や異なる臓器を標的とした病原性発現、免疫抑制、持続感染成立などの機序を理解するために大きく貢献する。モノネガウイルス目にはエマージングウイルスも多く、それ以外でも個々の動物や人に致死率の高い重要な疾患が多い。本研究ではエマージングウイルスであるニパウイルスも研究対象としており、実際の激しい病態発現における宿主因子細胞応答の関与を明らかにできる。本研究で得られる成果は、広くウイルス感染症において、宿主応答因子を標的とした予防・治療や創薬に新しい領域を開く波及効果をもたらすと期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

Sato, H. and Kai, C. et al., Measles virus induced cell-type specific changes in gene expression. *Virology*, 321-330, 2008.

Yoneda, M. and Kai, C. et al., Establishment of a Nipah virus rescue system. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 103(44), 16508-16513, 2006.

【研究期間と研究経費】

平成22年度-26年度

167,400千円

【ホームページ等】

<http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/jikkendoubutsu/index.htm>

【基盤研究(S)】 生物系(農学)



研究課題名 地球環境保全を目指した海洋生物における石灰化の制御機構の解明

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

ながさわ ひろみち
長澤 寛道

研究分野：農学、境界農学、環境農学

キーワード：環境分析

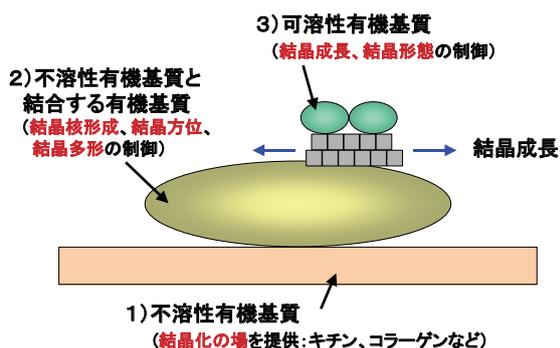
【研究の背景・目的】

地球温暖化の主要因とされている二酸化炭素の生物による固定反応は、有機物への固定反応である光合成と炭酸カルシウムという無機物への固定(石灰化)に大別される。後者は前者と比較するとその固定量は30分の1程度で少ないが、固体への固定という理由で長期間にわたる炭素循環に組み込まれるという特徴を持つため、量的には少なくとも光合成より重要と考えられる。石灰化反応は有殻生物が登場した5億年以上前から主に海洋生物によって行われ、現在の地球上においてはその遺体が石灰岩として堆積しており、地球上の炭素の約90%を占めるに至っている。しかし、この海洋生物による石灰化反応の機構はほとんどわかっていない。本研究は、主要な石灰化海洋生物を対象にして石灰化の機構を解明することによって地球環境の保全に資することを目的としている。

【研究の方法】

石灰化組織に含まれる有機基質が石灰化反応を制御していると考えられるため、その化学構造と機能の関係を調べる。対象とする生物種は、海洋において主要な二酸化炭素固定者である、円石藻、軟体動物、サンゴ、甲殻類を対象とする。それぞれはまったく異なる生物群に属すること、および研究の進展段階が異なっていることから、それぞれの実情に合わせた課題設定を行う。また、方法としては、天然物有機化学、分子生物学、結晶鉱物学的手法を駆使し、上記の目的の達成を目指す。

円石藻のココリスに関しては、ココリスの基盤に結合してその形成を制御していると考えられるタンパク質の同定およびその機能を解明するための遺伝子導入法の確立に焦点を絞る。



サンゴの骨格形成の関与している有機基質はまだ1つも同定されていない。以前に単離し、クローニングした遺伝子の産物が骨格形成に関わっているかを調べるとともに新規有機基質を探索する。

軟体動物の貝殻形成については、重要な有機基質を同定してきたが、それらの構造と機能の関係を精査する。合わせて新規タンパク質を探索する。

甲殻類の外骨格および胃石中の炭酸カルシウムが非晶質である原因を有機基質の中に探索する。

上記の研究を通して、さまざまな生物間における石灰化の共通点・相違点を明らかにする。図に推定される共通の有機基質の役割を示す。

【期待される成果と意義】

これまでバイオミネラリゼーションにおける有機基質の研究は単なる成分研究に近かったが、機能を解明することに主眼をおいて研究することによって、石灰化を中心とした新しい生命像を描くとともに、石灰化という反応の共通性を明らかにし、よって地球環境保全に役立てる。特に、サンゴ骨格の石灰化の制御についてはほとんど研究例がないことから、結果が期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

1. L. Addadi & S. Weiner: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82, 4110 (1985).
2. H. A. Lowenstam & S. Weiner: On Biomineralization, Oxford Univ. Press (1989).
3. K. Simkiss & K. M. Wilbur: Biomineralization- cell biology and mineral deposition, Academic Press (1989)
4. N. Tsutsui et al.: Zool. Sci., 16, 619 (1999).
5. H. Inoue et al.: Biosci. Biotechnol. Biochem., 65, 1840 (2001).
6. M. Suzuki et al.: Biochem. J., 382, 205 (2004).
7. N. Ozaki et al.: Biochem. Biophys. Res. Commun., 357, 1172 (2007).
8. M. Suzuki et al.: Science, 325, 1388 (2009).

【研究期間と研究経費】

平成22年度-24年度
117,500千円

【ホームページ等】

準備中

メールアドレス: anagahi@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

【基盤研究(S)】

生物系 (医歯薬学 I)



研究課題名 MEND で拓く 遺伝子治療への道：遺伝子の運び屋から ナノマシンへ

北海道大学・大学院薬学研究院・教授 **原島 秀吉** (はらしま ひでよし)

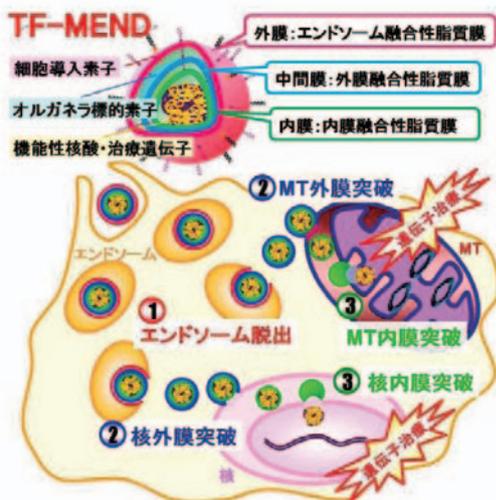
研究分野：医歯薬学

キーワード：ドラッグデリバリー

【研究の背景・目的】

本研究は、「遺伝子の運び屋」という従来の遺伝子デリバリーの守備範囲を超えて、細胞内オルガネラに到達し、さらに、遺伝子発現あるいは遺伝子修復という高度な機能を発現できるシステム、いわば「ナノマシン」とも言うべき革新的ナノデバイスを構築し、次世代医薬として期待される核酸医薬を先導する基盤技術を創製することを目的とする。

本研究は、TF-MEND(Triple Fusion-Multifunctional Envelope-type Nano Device)の構築及び機能性核酸の設計・評価によりナノマシンの原型を構築し(中間評価まで)、後半は核とミトコンドリア(MT)へ特化したナノマシンへと機能拡張を図る。5年間で核内およびMT内へ効率的・選択的に機能性核酸を送達し、かつ、遺伝子発現・遺伝子修復を可能とする日本発で世界初の革新的技術を確立する。



【研究の方法】

本研究は、1) TF-MEND の構築、2) 機能性核酸の設計・評価、3) 核内コミュニティ形成型ナノマシンの創製、及び4) 変異MTを治療するナノマシンの創製、からなる。平成 22 年度は、TF-MEND の構築について、革新的 packaging 法の確立、核送達の最適化、MT 送達の最適化、を並行して進める。平成 23 年度には機能性核酸の設計と評価を行い、中間評価の目標を「機能性核酸搭載型 TF-MEND の構築」に設定する。後半は、核内コミュニティ形成型ナノマシンの創製及び変異

MT を治療するナノマシンの創製を平行して推進する。

【期待される成果と意義】

本研究で構築するトリプルフュージョン型 MEND (TF-MEND) は、これまで我々が開発してきた MEND、T-MEND あるいは MITO-Porter などが有する律速段階を克服し、細胞内交通を制御するシステムとして世界最高性能の革新的技術である。さらに、本研究では、TF-MEND に遺伝子発現の制御機能あるいは遺伝子修復能を付与することで、「遺伝子の運び屋」の枠を超えて細胞の機能を制御しうるナノマシンへと進化させる点に高い独創性と革新性がある。また、MT への遺伝子デリバリーは世界的に見ても未踏の領域であり、我々がリーダーシップを取っている点に大きな意義がある。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

1. H. Akita, A. Kudo, A. Minoura, M. Yamaguchi, I. A Khalil, R. Moriguchi, T. Masuda, R. Danev, K. Nagayama, K. Kogure and H. Harashima. Multi-layered nano particles for penetrating the endosome and nuclear membrane via a step-wise membrane fusion process. *Biomaterials* 30(15): 2940-9 (2009).
2. Y. Yamada, H. Akita, H. Kamiya, K. Kogure, T. Yamamoto, Y. Shinohara, K. Yamashita, H. Kobayashi, H. Kikuchi, H. Harashima. MITO-Porter: A liposome-based carrier system for delivery of macromolecules into mitochondria via membrane fusion. *Biochim. Biophys. Acta* 1778(2): 423-32 (2008).

【研究期間と研究経費】

平成 22 年度 - 26 年度
166,700千円

【ホームページ等】

<http://www.pharm.hokudai.ac.jp/yakusetu/index.html>

【基盤研究(S)】

生物系(医歯薬学I)



研究課題名 新しく発見したオートファジー機構の包括的理解とその「オートファジー病」への応用

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・教授 しみず しげおみ
清水 重臣

研究分野：細胞生物学、生化学

キーワード：オートファジー、細胞死

【研究の背景・目的】

オートファジーとは、自己構成成分を大規模に分解する細胞機能であり、生体を構成する全ての細胞が保有している。この細胞機能は、新陳代謝や細胞のリモデリング、細胞浄化などに寄与しており、その破綻は神経変性疾患や癌など、多くの疾患の温床となりうる。従来、オートファジーを実行する分子機構は単一の経路によって支配されているものと信じられ、その理解のもとに、オートファジーの生理的、病理的役割が論じられてきた。しかしながら、我々が新たなオートファジー分子機構を発見したことにより、オートファジーを理解する為には、2経路のオートファジーを包括的に解析する必要が生じている(図1)。

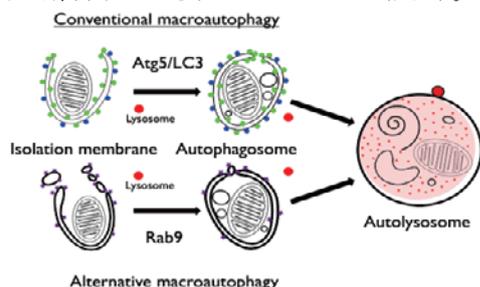


図1 哺乳動物細胞の有する二つのオートファジー実行機構

本研究では、このようなオートファジー研究の現状を踏まえて、両経路のオートファジーの生理機能を把握するとともに、それらの変調によって生じる一連の疾患群の病態機序を解析する。また、これらの知見を基盤として、新たな疾患治療の糸口をつかむことを目的とする。

【研究の方法】

上記目的を達成する為、以下の研究を行う。

1) 新規オートファジー機構の解析

新規オートファジー機構に関わる分子を同定し、実行機構の素過程を解明する。具体的には、ケミカルバイオロジーや網羅的リン酸化マスマスペクトルを用いた解析を行う。

2) オートファジーの生理機能解析

新規オートファジーが誘導されないマウスを作製して、新規オートファジーあるいは総体としてのオートファジーの役割を、マウスの個体レベルで解析する。

3) 『オートファジー病』の基本原理解析

オートファジーの変調に関連する疾患群を明

らかにするとともに、オートファジーの破綻から疾患発症に至る病態メカニズムを解析する。

4) 『オートファジー病』の治療法開発

オートファジーを選択的に誘導できる低分子化合物を同定し、種々の疾患モデルマウスに応用し、その治療効果を判定する。

【期待される成果と意義】

本研究は申請者自らが発見した新規オートファジーの解析を基に、オートファジー機構の全容を解明するという、先駆的な研究である。また本研究では、オートファジーの変調が多様な疾患の病因となっている事に着目し、『オートファジー病』という新たな概念を提示した。多様な疾患を、共通の病態メカニズムから捉え、新たな治療法開発に結びつけたいと考えている。

本研究によって、以下の成果が期待される。①各種オートファジー並びに総体としてのオートファジーの生理的、病理的役割が解明される。②オートファジーが関連する疾患の選定、診断法開発、治療法開発に資する。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Nishida, Y., Arakawa, S., Fujitani, K., Yamaguchi, H., Mizuta, T., Kanaseki, T., Komatsu, M., Otsu, K., Tsujimoto, Y. and Shimizu, S. Discovery of Atg5/Atg7-independent alternative macroautophagy. *Nature* 461, 654-658 (2009)
- Shimizu, S., Kanaseki, T., Mizushima, N., Mizuta, K., Arakawa-Kobayashi, S., Thompson, C.B. and Tsujimoto, Y. Role of Bcl-2 family proteins in a non-apoptotic programmed cell death dependent on autophagy genes. *Nature Cell Biol.* 6, 1221-1228 (2004)

【研究期間と研究経費】

平成22年度-26年度
167,200千円

【ホームページ等】

<http://www.tmd.ac.jp/mri/pcb/index.html>

【基盤研究(S)】

生物系 (医歯薬学 I)



研究課題名 クロトーフファミリーの分子機能解明を基盤とした代謝の臓器相関に関する研究

(財) 先端医療振興財団・先端医療センター・センター長 なべしま よういち
鍋島 陽一

研究分野: 医歯薬学

キーワード: 生体分子医学、加齢医学、分子病態学、クロトーフ、FGF19 subfamily

【研究の背景・目的】

α -Klotho、 β -Klotho、FGF19 subfamilyの発見は代謝制御を統合的に担う新たなシステムを浮き彫りにした。この新規システムは電解質代謝、脂質代謝、糖代謝、エネルギー代謝の制御に及んでおり、まさに動物個体の生存と機能維持を統合的に担うものである。

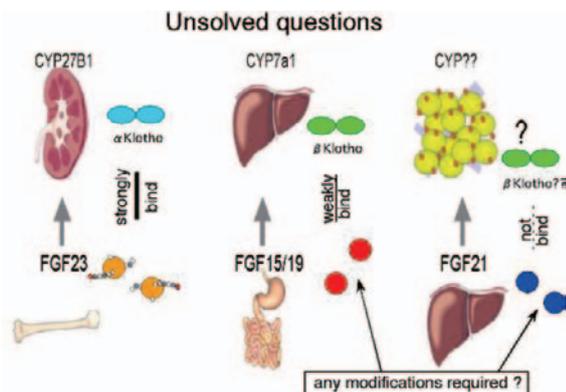
本研究課題では α -Klotho、 β -Klotho、FGF19 subfamily等、関連分子間の特異的認識機構を解明し、これらの分子の分子機能、生理機能解明の分子基盤とする。本目的達成のため、以下の4課題を推進する。

課題1: α -Klotho、 β -KlothoがFGF23、FGF19を特異的に認識し、組織特異的にシグナルを伝達する機構の解明。

課題2: FGF21の組織特異的シグナル伝達に機能する第3の因子の同定、複合体形成の分子機構、代謝制御に於ける役割の解析。

課題3: α -Klotho・Na⁺、K⁺ATPase複合体形成の分子機構の解明。

課題4: β -Klothoの脂質代謝、コレステロール代謝制御における機能の解明



【研究の方法】

課題1: FGF23、FGF19

どの糖鎖が α -Klotho、 β -Klothoとの複合体形成に寄与するかを決定し、該当する糖鎖構造を決定する。 α -Klotho、 β -Klothoの酵素活性中心周辺の立体構造を決定し、どのようにFGF23、FGF19の糖鎖配列を分別して認識し、結合するかを解析する。

課題2: 血清、肝細胞より真の活性型 FGF21 を同定する。活性型 FGF21/FGFR/新規因子からなる複合体を精製し、新規因子を同定する。FGF21の翻訳後修飾を解析し、新規因子との結合、複合体形成における役割を解析する。FGF21のシグナ

ル伝達機構、代謝制御における役割を解析する。

課題3: Na⁺、K⁺ATPaseの細胞膜へのリクルートは α -Klothoに依存している。 α -KlothoとNa⁺、K⁺ATPaseが特異的に複合体を形成する構造上の特徴を解析する。

課題4: β -Klotho結合因子を同定する。ついて、アミノ酸、インスリン、脂肪酸、胆汁酸などの投与、高脂肪餌摂取、絶食などがこれらの複合体の機能に与える影響を調べる。また、同定された結合因子のノックアウトマウス、高発現マウスなどの解析を進め、脂質代謝、コレステロール代謝における β -Klotho複合体の役割を解明する。

【期待される成果と意義】

動物個体が生体内外の変化に応答してその恒常性を保つシステム、加齢に伴う生体応答能の低下と加齢疾患の発症や病態との関連については膨大な研究が積み重ねられてきたが、 α -Klotho、 β -Klotho、FGF19 subfamilyの発見とその後の進展により代謝制御を統合的に担う新たなシステムの存在を浮き彫りにした。この新規システムは電解質代謝、脂質代謝、糖代謝、エネルギー代謝の制御に及んでおり、まさに動物個体の生存と機能維持を統合的に担うものであり、同時に骨粗鬆症、動脈硬化、糖尿病などの加齢疾患の発症、並びに老化機構に深く関わっている。よって、本課題は生命現象の根幹に関わる研究であると同時に迫り来る高齢化社会の要請に応える学際的研究領域を切り開くものであり、その重要性は極めて高い。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

1. Tomiyama K. Maeda R. Imura A. Nabeshima Y. et al. Relevant use of Klotho in FGF19 subfamily signaling system *in vivo*. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 107; 1666-1671 (2010)
2. Imura A. Tsuji J. Murata M. Nabeshima Y. et al. α -Klotho as a regulator of Calcium homeostasis. **Science** 316, 1615-1618 (2007)
3. Ito S. Fujimori T. Nabeshima Y. et al. Impaired negative feedback suppression of bile acid synthesis in mice lacking β -Klotho. **J. Clin. Invest.** 115, 2202-2208 (2005)
4. Kuro-o M. Mutation of the mouse *Klotho* gene leads to a syndrome resembling ageing. **Nature** 390, 45-51 (1997)

【研究期間と研究経費】

平成22年度－26年度
167,300千円

【ホームページ等】

<http://www.ibri-kobe.org>

【基盤研究(S)】

生物系 (医歯薬学 I)



研究課題名 新たに発見した“ナチュラルヘルパー細胞”の機能 解明

慶應義塾大学・医学部・教授 小安 重夫

研究分野：免疫学

キーワード：サイトカイン、リンパ球、自然免疫、アレルギー・免疫関連疾患

【研究の背景・目的】

我々は、腹腔内の脂肪組織、特に腸間膜にリンパ節とは異なるリンパ球の集積を見だし、fat-associated lymphoid cluster (FALC)と名付け、FALCに存在し、c-Kit、IL-2受容体、IL-7受容体、IL-33受容体などを発現する、これまでに報告のない新しいリンパ球を発見し、「ナチュラルヘルパー(NH)細胞」と名付けた。NH細胞はSCFやIL-7によって生存が維持され、IL-2によって増殖し、IL-33刺激によってIL-5やIL-13などのTh2サイトカインを高発現することから、自然免疫系で寄生虫感染防御やアレルギーの病態に関わることが予想される。本研究では、NH細胞の分化経路、感染やアレルギーにおける機能を明らかにすることを旨とする。

【研究の方法】

NH細胞の分化経路に関しては、IL-7やIL-7受容体、c-Kitやc-KitのリガンドであるSCFの変異マウス、IL-7受容体やc-Kitの中和抗体、c-Kitの阻害剤、などを駆使してIL-7受容体経路とc-Kit経路の機能を明らかにする。また、骨髄におけるNH細胞の前駆細胞の同定やその移動経路、脂肪組織由来のサイトカインの機能などに注目し、なぜ脂肪組織にNH細胞が集積するかなどを明らかにする。NH細胞の機能に関しては、獲得免疫系とNH細胞の相互作用に注目する。様々なサイトカインがNH細胞に働きかけてTh2サイトカインを誘導するが、なかでもIL-33は強力にTh2サイトカインを誘導する。同様にIL-2とIL-25は相乗的に作用してIL-33と同程度の強力なサイトカイン誘導能を示す。IL-2やIL-2受容体の欠損マウス(これらのマウスはTregの欠損により炎症を誘起することから、それを避けるためにRag2との2重欠損マウスとして用いる)、IL-33受容体欠損マウス、などを用い、これらのマウス由来のNH細胞の機能を検討することでそれぞれのサイトカインを介したNH細胞の機能を明らかにする。獲得免疫系のT細胞やB細胞のみならず、自然免疫系のNK細胞も持たない $\gamma_c^{-/-}$ Rag2 $^{-/-}$ マウスはNH細胞も欠損する。そこでこのマウスをレシピエントとし、T細胞やNH細胞を含む様々な細胞を移植したのちに寄生虫感染やアレルギー反応を誘

導することでNH細胞と他の細胞系譜との機能的関係を明らかにする。

【期待される成果と意義】

これまでの研究から、寄生虫感染初期の自然免疫反応の時期に速やかにTh2サイトカインが産生されることは知られていたが、それがどのような細胞によるかは不明であった。我々の研究は、このTh2サイトカイン産生細胞がNH細胞であることを強く示唆する。本研究を遂行することで、寄生虫感染防御機構における自然免疫系と獲得免疫系の役割分担が明らかになると期待される。また、Th2サイトカインはアレルギー反応においても重要であり、IL-13による杯細胞の過形成を介したムチン産生は喘息においても見られ、またIL-5による好酸球の増多は多くのアレルギー反応において観察される。本研究からは、アレルギー疾患における自然免疫系の機能に関しても新たな知見が得られると期待している。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

Moro, K., Yamada, T., Tanabe, M., Takeuchi, T., Ikawa, T., Kawamoto, H., Furusawa, J.-I., Ohtani, M., Fujii, H. and Koyasu, S. (2010) Innate production of Th2 cytokines by adipose tissue-associated c-Kit⁺Sca-1⁺ lymphoid cells. *Nature* 463:540-544.

【研究期間と研究経費】

平成22年度-26年度
166,800千円

【ホームページ等】

ホームページ：<http://www.koyasu.umin.ne.jp>
電子メール：koyasu@sc.itc.keio.ac.jp

【基盤研究(S)】

生物系 (医歯薬学Ⅱ)



研究課題名 独自の培養技術を用いた大腸上皮細胞機能解析と臨床応用技術開発

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授

わたなべ まもる
渡辺 守

研究分野：医歯薬学

キーワード：下部消化管学 (小腸、大腸)

【研究の背景・目的】

腸管上皮再生機構を解明し、新しい上皮再生治療へ応用することが期待されている。しかしながら腸管上皮を体外で維持し、操作し、解析することが困難であったこと、すなわち正常腸管上皮細胞培養技術が未確立であったことが本研究領域の進展の障壁となってきた。本研究では我々が独自に開発した正常大腸上皮培養技術を応用し、上皮幹細胞の性状解析や上皮による生体防御機能解明を目指した「大腸上皮細胞機能解析」をおこなうこと、およびヒト大腸疾患の診断・治療ツールとなすべく「培養大腸上皮の臨床応用技術開発」をおこなうことを目的とする。

【研究の方法】

われわれは独自の単離技術、細胞外基質、および蛋白因子添加培地の組み合わせにより、マウス大腸上皮細胞がきわめて純度の高いまま数ヶ月にわたり、しかも無血清培地中で培養可能であることをすでに見出した。本申請研究ではこれら細胞を用いて以下の解析をおこなう。

1) 大腸上皮細胞機能解析

a) 幹細胞単離・培養技術の確立と性状解析

- ・大腸上皮幹細胞のみを選択的に増やす培養技術開発
- ・大腸上皮幹細胞の増殖促進・抑制因子および分化誘導因子の探索とその作用の解明

b) 大腸上皮による生体防御機構解析

- ・大腸上皮におけるオートファジー機能の解析
- ・サイトカイン産生能・抗原提示機能の解析
- ・微生物・食餌成分に対する正常大腸上皮細胞の免疫応答機能解析

2) 培養大腸上皮細胞の臨床応用技術開発

a) 培養大腸上皮細胞を用いた細胞治療の基礎検討

EGFP トランスジェニックマウス大腸上皮を培養し、これを腸炎モデルマウスへ移入し、レシピエント腸管への生着、生存、増殖能を評価する。細胞移入経路、量、回数、時期、腸炎改善効果などによる移植効率を解析する。

b) ヒト大腸上皮細胞培養技術確立

内視鏡検体よりヒト大腸上皮細胞を長期培養しう

る条件を明らかにする。血清など動物由来因子の排除を最優先し、低分子化合物の添加を中心とした培養条件を探索する。

c) バイオマテリアルとしての応用技術

- ・上皮シート作成技術の開発と物質輸送 (吸収・排出) 評価システムの構築

d) 診断・治療ツールとしての応用技術

- ・上皮機能障害評価システムの構築
- ・薬剤感受性試験への利用

【期待される成果と意義】

本研究で得られる成果は、これまで不可能であった大腸上皮幹細胞の *in vitro* 操作を可能とし、正常大腸上皮の増殖・分化機構の解明に寄与するとともに、ヒト疾患における上皮障害機構にも大きな知見を提供するであろう。さらに培養大腸上皮細胞を移植治療のリソースとして利用する技術、あるいは異なる個人から得られる培養細胞を利用し薬剤感受性試験や腸管上皮機能を個別に評価する技術開発が見込まれ、ヒト消化管疾患領域における再生医療およびオーダーメイド医療の進展にも大きなインパクトを与えるであろう。本研究は、新しく確立した大腸上皮細胞培養技術を加える独創的かつ先駆的研究であり、申請者のグループのみ遂行可能で、ヒト消化管疾患の診断・治療への臨床応用にも高い意義を有する成果が期待されるものと考えている。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

1) Okamoto R, Yajima T, Yamazaki M, Kanai T, Mukai M, Okamoto S, Ikeda Y, Hibi T, Inazawa J, Watanabe M: Damaged epithelia regenerated by bone marrow-derived cells in the human gastrointestinal tract. *Nature Med.* 8: 1011-1017, 2002.

2) Tsuchiya K, Nakamura T, Okamoto R, Kanai T, Watanabe M: Reciprocal targeting of *Hath1* and β -catenin by *Wnt*-glycogen synthase kinase 3 β in human colon cancer. *Gastroenterology.* 132: 208-220, 2007.

【研究期間と研究経費】

平成22年度－26年度

166,900千円

【ホームページ等】

【基盤研究(S)】

生物系 (医歯薬学Ⅱ)



研究課題名 KLF 転写因子による生活習慣病・癌の病態分子機構解明と治療応用

東京大学・医学部附属病院・教授

ながい りょうぞう
永井 良三

研究分野：医歯薬学

キーワード：分子血管病態学

【研究の背景・目的】

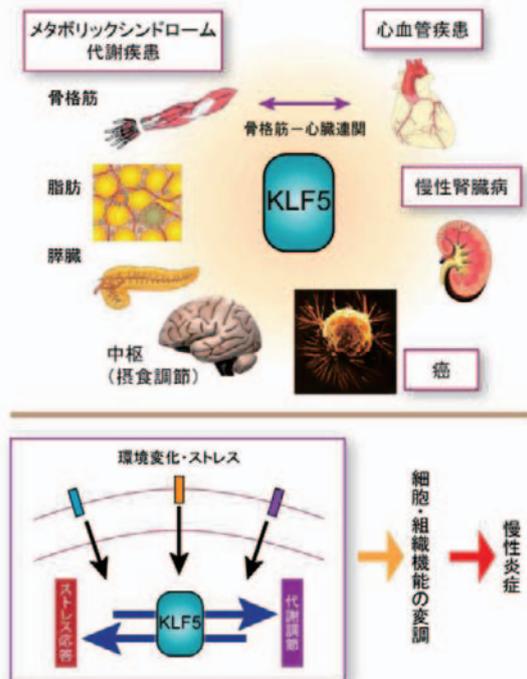
Krüppel-like factor (KLF)ファミリーは zinc フィンガー型転写因子であり、現在 17 種類が知られている。KLF は発生・分化や幹細胞機能の制御に重要なだけでなく、多様な疾患においても重大な機能を有することが次々と報告されている。また、KLF4 は iPS 細胞の誘導因子の一つである。

我々はこれまでに KLF5 を心血管病とメタボリックシンドロームの発症進展に重要な鍵分子の一つであることを明らかとしてきた。さらに、KLF5 は慢性腎臓病にも重要であることを示唆する結果を得ている。一方、KLF 転写因子メンバーは相互に関連しながら細胞の機能を制御していることが示唆されている。

本研究計画では、転写因子 KLF5 に注目して、心血管・腎・代謝疾患と癌の分子機構を解析するとともに、これら多様な疾患の背景にある共通した分子機序を明らかにすることを目的とする。また、新規治療法開発に必要な基盤的研究を行う。

【研究の方法】

本研究では、生活習慣病と癌における転写因子 KLF5 の機能を組織特異的遺伝子改変マウス等を用いて明らかにするとともに、その背景に共通する分子機構を解明する。特に、心肥大・心不全、慢性腎臓病、代謝疾患と癌に注目して解析を進める。



【期待される成果と意義】

本研究は、KLF という転写因子ファミリー、中でも特に KLF5 に着目して、多様な生活習慣病と癌の分子メカニズムを解析することに大きな特徴がある。各々の生活習慣病や癌においては、一見全く異なるメカニズムが機能しているように見えるが、KLF5 はストレス応答と細胞内代謝を制御することにより、多様な細胞において病態の基盤となる分子機構を制御している可能性が高い。従って、KLF5 の解析を進めることによって、生活習慣病と癌に共通した分子機構を解明できると考えられる。さらに、病態の分子機構を直接的な標的とする新たな治療法の基盤を構築する。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Takeda N, Manabe I, Uchino Y, Eguchi K, Matsumoto S, Nishimura S, Shindo T, Sano M, Otsu K, Snider P, Conway SJ, Nagai R. Cardiac fibroblasts are essential for the adaptive response of the murine heart to pressure overload. *J Clin Invest* 120:254-265, 2010.
- Nishimura S, Manabe I, Nagasaki M, Eto K, Yamashita H, Ohsugi M, Otsu M, Hara K, Ueki K, Sugiura S, Yoshimura K, Kadowaki T, Nagai R. CD8+ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nat Med* 15:914-920, 2009.
- Oishi Y, Manabe I, Tobe K, Ohsugi M, Kubota T, Fujiu K, Maemura K, Kubota N, Kadowaki T, Nagai R. SUMOylation of Kruppel-like transcription factor 5 acts as a molecular switch in transcriptional programs of lipid metabolism involving PPAR-[delta]. *Nat Med* 14:656-666, 2008.

【研究期間と研究経費】

平成 22 年度 - 26 年度
167,400 千円

【ホームページ等】

<http://plaza.umin.ac.jp/nagai>

【基盤研究(S)】

生物系 (医歯薬学Ⅱ)



研究課題名 統合的心筋梗塞治療に向けた新たな分子レベルでの基礎研究

奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・教授

さとう なるとく
佐藤 匠徳

研究分野：医歯薬学

キーワード：分子心臓病態学

【研究の背景・目的】

心臓の機能障害は現代社会で最も多い疾患の一つであり、それを引き起こす原因の一つが「心筋梗塞」である。心筋梗塞は、心臓の冠動脈と呼ばれる大きな血管が動脈硬化などにより詰まり、心臓に酸素および栄養が運ばれなくなって心臓の筋肉（心筋）が死に、心機能が衰える病気である。

この治療法として、現在おもに三つの方法が考えられている。一つは、死んだ心筋を再生させる方法（心筋再生治療）。二つ目は、詰まった血管を補うために新しい血管を心臓につくる方法（心血管再生治療）。そして三つ目が、心臓の「線維化」をある程度抑制するという方法である（線維化抑制治療）。なお線維化とは、死んだ心筋細胞のあとを埋めふさぐようにできる瘡蓋（かさぶた）のことで、これによってさらに心臓が機能しにくくなるほか、心筋や心血管の再生も邪魔されるという、きわめて厄介な存在である。

現在、ここにあげた三つの方法は個々に数多く研究されているが、三つすべてをターゲットとして統合的に制御できる段階にはない。

そこで我々は、これら三つを統合した、次世代の心筋梗塞治療法の開発に直接つながる基礎研究を下記の二つの具体的な目的達成を目指して遂行する。

- 心筋細胞死、血管形成、線維化が心筋梗塞においてどのような関連性で密接につながっているかの解明。
- 心筋再生、心血管再生、線維化をすべて統合的に制御した心筋梗塞治療法の開発。

【研究の方法】

生化学的手法、培養細胞の実験系、マウスの心筋梗塞モデル、ゼブラフィッシュの心筋再生モデルを用い、心筋梗塞における心筋細胞死・血管形成・線維化の密接な関連性を解明する。また、これらの研究手法および実験動物モデルを用いて、次世代の心筋梗塞治療に結びつく遺伝子治療法の開発、小化合物スクリーニング、新たな分子治療ターゲットの同定を行う。

【期待される成果と意義】

心筋再生・心血管再生・線維化をひとまとめに制御して心筋梗塞を治療するという、従来にない次世代の医療技術の開発・確立に一步近づくこと

が期待される（図1）。これは日本や米国など多くの国で三大疾患の一つとされている心臓疾患の克服を飛躍的に前進させる、健康立国の実現に向けた不可欠なステップである。

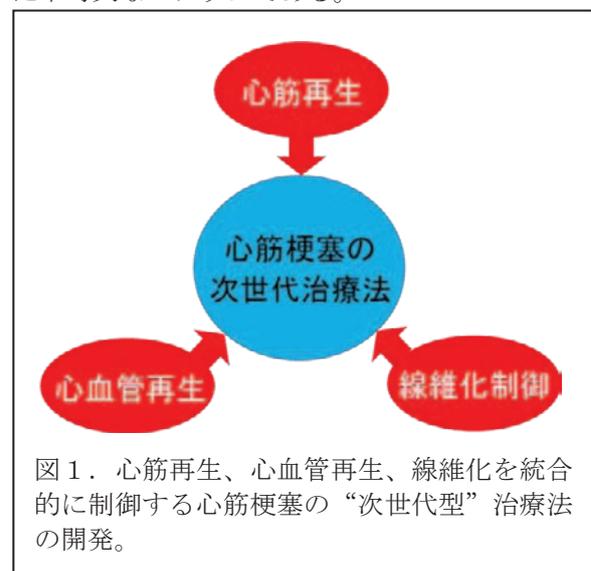


図1. 心筋再生、心血管再生、線維化を統合的に制御する心筋梗塞の“次世代型”治療法の開発。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- K. Kobayashi, M. Luo, Y. Zhang, D.C. Wilkes, G. Ge, T. Grieskamp, C. Yamada, T-C. Liu, G. Huang, C.T. Basson, A. Kispert, D.S. Greenspan, T.N. Sato (2009) Secreted Frizzled related protein 2 is a procollagen C-proteinase enhancer with a key role in fibrosis associated with myocardial infarction. *Nature Cell Biol.* 11:46-55.
- R.P. Visconti, C.D. Richardson and T.N. Sato (2002). Orchestration of angiogenesis and arteriovenous contribution by angiopoietins and vascular endothelial growth factor (VEGF). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 8219-8224.

【研究期間と研究経費】

平成22年度－26年度
127,400千円

【ホームページ等】

<http://bsw3.naist.jp/tns/>

【基盤研究(S)】

生物系 (医歯薬学Ⅱ)



研究課題名 視神経脊髄炎の新たなアストロサイトパチーの疾患概念の確立と病態、治療に関する研究

国立精神・神経医療研究センター病院・院長 いとやま やすと
糸山 泰人

研究分野：医歯薬学

キーワード：神経病態免疫学

【研究の背景・目的】

視神経脊髄炎(Neuromyelitis Optica, NMO)は重症の視神経炎と横断性脊髄炎を繰り返す神経難病である。従来より日本ではNMOは多発性硬化症(MS)の一病型と考えられ、視神経脊髄型MSと呼称され、診断や治療に混乱を来たしてきた。

しかし、私共とMayo Clinicの共同研究によりNMOに特異的なアクアポリン4(AQP4)抗体が発見され、NMOがMSと異なる疾患の可能性を示唆してきた。私共はさらにNMOの病巣においてAQP4の免疫組織学的欠損を明らかにし、本疾患が免疫介在性アストロサイトパチーという新たな疾患概念であることを提唱している。この疾患概念確立と共に免疫病態を明らかにし、NMOの予防及び新規治療法を開発することが研究目的である。

【研究の方法】

1. 新たなNMOの疾患概念の確立～免疫介在性アストロサイトパチー

(1)NMOの臨床的疾患概念の構築：当科で集積している700例以上のAQP4抗体陽性症例の臨床及び検査所見を解析する。

(2)NMOのMRI脳病変の分類と解析：NMOの脳病変をパターン分類し、NMOの臨床症候、頻度や脊髄病変との関連を調べるとともに、MS病変との比較を行う。

2. NMOの病態解明～AQP4を標的とするアストロサイトパチーの機序の解明～

(1)神経病理学的検討：NMOの剖検の脳脊髄を用いて、NMO病巣の特徴であるアストロサイト傷害と病変形成を光学顕微鏡及び電子顕微鏡を用いて明らかにする。

(2)髄液の解析：NMOにおいてglial fibrillar acidic protein, S-100等のアストロサイト関連タンパク濃度をmyelin basic protein、neurofilamentと比較し、アストロサイト障害をミエリンやニューロンの傷害と比較し、特異性と経過を分析する。

(3)実験的研究(in vitro)：AQP4抗体の培養アストロサイトへの細胞障害性を検討する。またB細胞マーカーの解析やin vitroでAQP4抗体産生実験等を行う。

(4)実験的研究(in vivo)：実験的自己免疫性脳

脊髄炎にAQP4抗体を各種の条件で投与しNMO様病変形成における役割を解析する。

3. NMOの発症予防の研究と治療法の確立

(1)AQP4抗体がなぜ産生されるのか、またどのようにして血液脳関門を突破して発症するのかも不明である。ウイルス感染やAQP4の共通抗原検索を行い抗体産生の機序を明らかにする。

(2)診断、治療体制の構築～治療プロトコルの作成：AQP4抗体測定を含めたNMOの早期診断を進める。また副腎皮質ステロイドの少量投与による再発抑制をはじめとした治療法の開発を行い、QOLの評価を行いその改善を計る。

【期待される成果と意義】

わが国では従来NMOはMSの一亜型と考えられ、診断や治療に混乱をきたしてきた。私どもはNMOに特異的なAQP4抗体の存在やアストロサイトパチーの病態を明らかにするなかでNMOがMSと異なる疾患であることを明らかにしてきた。このNMOの新たな疾患概念の確立は本疾患の病態解明研究を飛躍的に進め、発症予防や新たな治療法開発に結びつける大きな意義がある。また本邦をはじめアジアでは欧米諸国よりもNMO患者の割合が高く、その発症予防や有効な治療法開発は患者・家族から切望されている。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Misu T, Fujihara K, Kakita A, et al. Loss of aquaporin-4 in lesions of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *Brain*, 130:1224-1234, 2007.
- Takahashi T, Fujihara K, Nakashima I, et al. Anti-aquaporin-4 antibody is involved in the pathogenesis of NMO: a study on antibody titer. *Brain*, 130:1235-1243, 2007.

【研究期間と研究経費】

平成22年度～26年度
150,600千円

【ホームページ等】

<http://www.ms.med.tohoku.ac.jp/index.html>



研究課題名 エピゲノム変化による肥満・インスリン抵抗性の解明

東京大学・先端科学技術研究センター・教授

さかい じゅろう
酒井 寿郎

研究分野：医歯薬学

キーワード：メタボリックシンドローム

【研究の背景・目的】

メタボリックシンドロームや動脈硬化など多因子疾患の解明は21世紀の生物医学の大きな課題となっている。ヒトゲノム解読から、ヒストンのメチル化などを介するエピジェネティックな遺伝子発現の制御(後天的遺伝子修飾)が、細胞分裂を越えて保存され、一個体の間の細胞の記憶システムを形成していることが推定されている。

エピゲノムとは、DNA塩基配列以外のDNAのメチル化とヒストン修飾で維持・伝達される遺伝情報である。生活習慣はエピゲノムに記憶され、生活習慣病・脂質代謝異常症発症の鍵となることが示唆されつつある。我々はヒストンH3K9の脱メチル化異常が肥満を起こすことを明らかとした。本研究ではこれを深め、ヒストンのメチル化を介する糖および脂質代謝のエピジェネティックな制御のメカニズムを明らかにし、新規の生活習慣病の治療法をめざす。

【研究の方法】

生活習慣病は遺伝的素因とともに環境因子が関与する



外部環境の変化を感知してゲノムの修飾がおこる

エピゲノム解析から生活習慣病を明らかにする

H3K9のメチル化酵素・脱メチル化酵素抗体でクロマチン免疫沈降をし、DNA断片を増幅、標識し、高速シーケンサーによるマッピング(ChIP-seq)による遺伝子局在解析とエピゲノム解析を行う。質量分析を用いてのプロテオーム解析、遺伝子発現解析など細胞レベルでの要素技術を駆使し、エピゲノム変化に伴うフェノタイプの変化(脂肪細胞分化・肥満)を解析する。脂肪細胞分化に伴うダイナミックなエピゲノム変化は、3T3-L1脂肪細胞をモデルに各種ヒストンメチル化抗体でのChIP-seqや質量分析器による包括的ヒストン修飾プロセッシングファイリング解析を行う。H3K9脱メチル化異常による肥満マウスの

肥満解析にはMEFや脂肪組織などで、H3K9などのChIP-seqから標的を探索し、クロマチン構造の変化とフェノタイプの情報と結びつける。

【期待される成果と意義】

期待される成果 (1)H3K9のメチル化脱メチル化が生活習慣の変化でどのように制御されているかが明らかにされる。(2)それらのエピジェネティックな変化を担う遺伝子群、特にメチル化酵素、脱メチル化酵素が系統的に明らかにされる。(3)それら酵素の活性、蛋白複合体と標的遺伝視座が明らかにされる。(4)それらの酵素の結晶化・阻害剤の開発を行い、生活習慣病の画期的な新規治療法を確立する。

意義：生活習慣がどのように代謝を変化させているかのメカニズムが明らかとなり、生活習慣病への新たな理解が促される。

エピゲノム変化は遺伝子配列と異なり、可逆的であるので、治療薬物の開発として有力な標的であり、今後画期的な新規治療法を開発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. Wakabayashi K, Okamura M, Tsutsumi S, et al. (2009) The peroxisome proliferator-activated receptor γ /retinoid X receptor α heterodimer targets the histone modification enzyme PR-Set7/Setd8 gene and regulates adipogenesis through a positive feedback loop. *Mol Cell Biol*, 29, 3544-3555.
2. Inagaki T, Tachibana M, Magoori K, et al (2009) Obesity and Metabolic Syndrome in Histone Demethylase JHDM2a Deficient Mice. *Genes to Cells*, 14, 991-1001.
3. Okamura M, Kudo H, Wakabayashi K, et al (2009) COUP-TFII acts downstream of Wnt/ β -catenin signal to silence PPAR γ gene expression and repress adipogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 10, 5819-5824.

【研究期間と研究経費】

平成22年度-26年度
159,900千円

【ホームページ等】

<http://mm.rcast.u-tokyo.ac.jp>
<http://www.lsbm.org/staff/sakai.html>

【基盤研究(S)】

生物系 (医歯薬学Ⅱ)



研究課題名 ニッチによる幹細胞の運命制御

慶應義塾大学・医学部・教授

すだ としお
須田 年生

研究分野：医歯薬学

キーワード：造血幹細胞、ニッチ、自己複製能、活性酸素、低酸素

【研究の背景・目的】

幹細胞は、多方向に分化すると同時に、未分化性を維持することのできる細胞である。造血幹細胞の増殖・分化は自律的に決定されるだけでなく、周囲の細胞や分子（ニッチ）によって制御されている。

このニッチが幹細胞の運命にどのように関わるかを知ることは、幹細胞を制御する上でもきわめて重要である。本研究では、骨髄における造血幹細胞ニッチの構造を組織学的に再解析し、周辺細胞がいかなる分子機構で幹細胞を制御しているかを明らかにする。また、幹細胞はどのような機構で分裂を停止し、静止期を維持しているかを、低酸素性の幹細胞代謝を通して検討する。さらに、単細胞における遺伝子発現解析により幹細胞の分裂様式を解析し、幹細胞の属性である自己複製とその制御機構の解明に迫る。さらに、多分化能の獲得や自己複製の維持に関わる分子を多能性幹細胞(iPS)を通して同定し、候補遺伝子の機能を造血幹細胞で検討する、さらにこれらの遺伝子発現に関わるニッチ因子を解析する、これらの研究を通して、造血幹細胞の運命決定機構を明らかにする。

【研究の方法】

A) 造血幹細胞ニッチの解析

骨髄造血ニッチの組織学構築を免疫染色や超微細形態観察を中心に解析する。ことに血管新生、造骨・破骨との関係で明らかにする。ニッチ細胞を分離し、幹細胞に作用するニッチ因子を同定し、その機能を解析する。また、低酸素性ニッチにある幹細胞の代謝学的特性を明らかにし、幹細胞がどのようにして未分化性を維持しているかを解明する。

B) 幹細胞ニッチの構築と制御

上記の研究成果をもとに、ニッチ操作によって、幹細胞の静止期・分裂期を制御し、より効果的な骨髄移植技術を開発する。また一方、単離した幹細胞の分裂様式をmicrofluidicsを用いたSingle cell gene expressionなどにより解析し、ニッチが自己複製過程をいかに制御しているかを解明する。

【期待される成果と意義】

本研究においては、造血幹細胞ニッチを特定し、制御の分子機構を解明し、生体内・外において幹細胞の自己複製・分化を操作することを目的とする。具体的には、以下の5点に集中して研究を行う。最終的には、造血幹細胞をニッチ制御により、操作できるようになる。

- 1) 骨髄における造血幹細胞ニッチの組織学的構造が明らかになる。
- 2) ニッチ分子の同定とそのシグナル解析を行い、造血幹細胞の自己複製と静止状態を制御する系が確立される。
- 3) 低酸素性ニッチにある幹細胞の代謝学的研究が進む。
- 4) 幹細胞分裂様式を解析し、自己複製現象を再現する。
- 5) 自己複製に関わる転写因子を同定し、その発現制御が分かる。

幹細胞研究のなかでも最も解析の進んでいる造血幹細胞において、幹細胞の自己複製・分化決定の分子機構を明らかにし、他の幹細胞研究に対しても、基盤技術となりうる成果を上げることを目指す。

【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, Takubo K, Ito K, Koh GY, Suda T: Tie2/Angiopoietin-1 signaling regulates hematopoietic stem cell quiescence in the bone marrow niche. *Cell*, 118: 149-161, 2004

Ito K, Hirao A, Arai F, Matsuoka S, Takubo K, Nakagata N, Ikeda Y, Tak W. Mak, Suda T: Regulation of oxidative stress by ATM is required for self-renewal of haematopoietic stem cells. *Nature*, 431: 997-1002, 2004

【研究期間と研究経費】

平成22年度－26年度
167,400千円

【ホームページ等】

<http://web.sc.itc.keio.ac.jp/celldiff/index.html>
sudato@sc.itc.keio.ac.jp

