

## 【基盤研究(S)】

### 生物系(総合生物)



## 研究課題名 補体ファミリー分子によるシナプス形成・維持・除去と可塑性制御機構の解明

慶應義塾大学・医学部・教授 **ゆざき みちすけ**  
**柚崎 通介**

研究課題番号: 15H05772 研究者番号: 40365226

研究分野: 神経科学

キーワード: ニューロン、シナプス、神経回路、補体、グルタミン酸受容体

### 【研究の背景・目的】

ヒトの脳を構成するシナプスは発達期に形成されるとともに、神経活動に応じて生涯にわたって改変され続ける。この過程の理解は、脳の作動原理やさまざまな精神・神経疾患の病態を解明するために必須である。

近年、自然免疫系において異物認識と除去のための最初の過程に働く補体 C1q に似た分子が、免疫系のみでなく、糖・脂質代謝を制御することが注目されている。私たちは補体ファミリーに属する Cbln1 や C1ql1 が、神経系においてシナプス形成・維持を行うことを世界に先駆けて発見した。

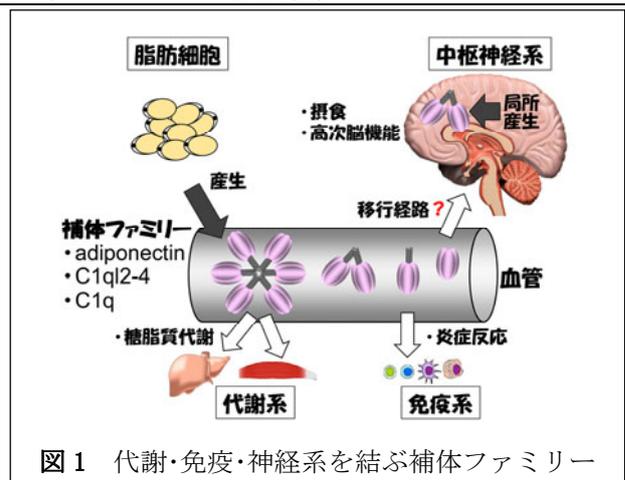
本研究では、小脳・海馬の神経回路において、補体ファミリーがどのようにシナプス形態と機能を制御するのかを明らかにする。またこれらの分子群が神経活動・炎症・代謝経路によってどのように調節されるかを明らかにすることにより、神経系・免疫系・代謝系を結ぶ新しい分子機構の解明を目指す。

### 【研究の方法】

小脳は協調運動や運動に関連する記憶・学習の場であり、2つの主要な入力線維(平行線維と登上線維)がプルキンエ細胞とシナプスを形成する。これらのシナプスではそれぞれ Cbln1, C1ql1 がシナプス形成と機能を制御すると考えられている。一方、海馬はエピソード記憶に必須の部位である。海馬への主要な入力である貫通線維が歯状回顆粒細胞および CA1 錐体細胞と形成する 2 つのシナプスおよび、歯状回顆粒細胞—CA3 錐体細胞シナプスにおいては、Cbln1, Cbln4, C1ql2, C1ql3 が働くと考えられる。これらのシナプスにおいて、補体ファミリー分子がどのような分子機構を介してシナプスの形成・維持とシナプス可塑性を制御するのかを解明する。

補体ファミリー分子は、神経活動に応じて発現や分泌が調節される。さらに補体ファミリー分子のいくつかは脂肪細胞などの末梢臓器からも分泌され脳に到達する。そこで脳・末梢組織における補体ファミリー分子の分泌制御機構を明らかにし、また中枢神経系と末梢臓器における受容体を同定することによって、神経系・免疫系・代謝系などの多系統間の恒常性維持機構の一端を解明する(図1)。

また、補体ファミリーによるシグナル伝達機構を外的に調節できるタンパク質を設計することによって、個体レベルでの神経回路と個体行動を制御することを目指す。



### 【期待される成果と意義】

補体ファミリー分子の作用機序が明らかになることによって、発達時のみでなく、成熟後の脳においてシナプスがどのように形成され、そして維持されたり、失われたりするのかが、また代謝系や免疫系とどのように連動するのか、という根源的な問題の理解が進むことが期待される。したがって本研究の成果は、正常な脳の機能を理解し、精神・神経疾患の新しい治療法の創出に繋が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】

- Kakegawa W, Mitakidis N, Miura E, Abe M, Matsuda K, Takeo YH, Kohda K, Motohashi J, Takahashi A, Nagao S, Muramatsu SI, Watanabe M, Sakimura K, Aricescu AR, Yuzaki M. Anterograde C1ql1 signaling is required in order to determine and maintain a single-winner climbing fiber in the mouse cerebellum. *Neuron*, 85:316-329, 2015.
- Matsuda K, Miura E, Miyzaki T, Kakegawa W, Emi K, Narumi S, Fukazawa Y, Ito-Ishida A, Kondo T, Shigemoto R, Watanabe M, Yuzaki M. Cbln1 is a ligand for an orphan glutamate receptor 82, a bidirectional synapse organizer. *Science*, 328: 363-368, 2010.

### 【研究期間と研究経費】

平成 27 年度—31 年度  
135,800 千円

### 【ホームページ等】

<http://www.yuzaki-lab.org>

## 【基盤研究(S)】

### 生物系 (総合生物)



#### 研究課題名 神経幹細胞の分化運命を決める統合的メカニズムの解明

東京大学・大学院薬学系研究科・教授 ごとう ゆきこ  
後藤 由季子

研究課題番号：15H05773 研究者番号：70252525

研究分野：総合生物、神経科学

キーワード：幹細胞生物学・再生・修復、クロマチン制御

#### 【研究の背景・目的】

脳は、神経幹細胞が非常に様々な種類の細胞を必要な数、必要な場所で産む事で作られる。例えば大脳新皮質の神経幹細胞は、6層にわたる種々の興奮性ニューロンとグリア細胞(アストロサイト等)を必要な数産み出す。しかも、これらの細胞をランダムに生み出すのではなく、脳発生の時間軸に沿って順序良く、まず6層→5層→4層→2/3層のニューロンを産み、次にアストロサイトを産む。産み出される細胞種の時間順序が大脳新皮質における空間配置に反映されるため、「神経幹細胞の中の時間情報」が、「大脳皮質内の空間情報」を理解する鍵となる。では、「時間情報に従って」神経幹細胞の分化運命はいかなるメカニズムで制御されているのだろうか？

我々はこれまでに、ポリコム群タンパク質とHMGAタンパク質が時期依存的な神経幹細胞の運命制御において重要な役割を果たす事を報告した(Hirabayashi et al. *Neuron* 2009; Kishi et al. *Nat. Neurosci.* 2012; Morimoto-Suzuki et al. *Development* 2014)。そこで本研究ではこれらのクロマチン制御因子の「時期依存的」「遺伝子座特異的」な制御機構を明らかにすることで神経幹細胞の運命を司るメカニズムの理解に迫る事を目的(1)とする。

また我々は最近、成体期においてもニューロン産生し続ける神経幹細胞の胎生期における起源細胞群を初めて同定した(Furutachi et al. *Nat. Neurosci.* 2015)。そこでその細胞群を形成・維持するメカニズムを調べ、分化運命制御機構等を他の胎生期神経幹細胞と比較検討することを目的(2)とする。

#### 【研究の方法】

(1)大脳皮質の胎生期神経幹細胞における時期依存的な運命転換メカニズム

i) ポリコム群タンパク質が神経幹細胞において、発生時期依存的かつ遺伝子座特異的にターゲット遺伝子を制御するメカニズムを検討する。ポリコム群タンパク質(PRC1, PRC2)が制御するヒストン修飾のゲノムワイドな解析を行い、また制御因子候補の過剰発現および遺伝子破壊実験を行ってその貢献を検討する。

ii) HMGAタンパク質のゲノムワイドな遺伝子制御機構を検討する。結合部位の同定とその欠損実験を行う。神経幹細胞の発生時期依存的な変化と、神経幹細胞のニューロン分化過程におけるクロマチンの核全体の変化について調べる。

(2)成体神経幹細胞の胎生期「起源細胞」における分化能制御メカニズム

胎生期における「成体神経幹細胞の起源細胞」と、同じ脳領域に存在する他の胎生期神経幹細胞を比較して、「成体神経幹細胞の起源細胞」に特徴的な性質、特に分化能に関わるメカニズムの同定を試みる。既に、「起源細胞」においてはポリコム群タンパク質を構成する因子の発現が異なるという予備的結果を得ているので、その違いが時期依存的な分化運命転換の有無に貢献する可能性を検討する。

#### 【期待される成果と意義】

ES, iPS細胞など様々な幹細胞において、ある系譜への分化が決まるとそれ以外の系譜に関する分化運命遺伝子群の発現は抑制される。この抑制にポリコム群タンパク質が中心的な役割を果たす事が知られているが、いかにしてポリコム群タンパク質が特定の分化遺伝子を選んで抑制するのか、という重大な問題については未だほとんど分かっていない。本研究は「in vivo」で発生段階依存的にポリコム群タンパク質が分化運命遺伝子を抑制する」系として有用な神経幹細胞に焦点をあて、この問題に迫りたい。

#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

Furutachi,S., Miya,H., Watanabe,T., Kawai,H., Yamasaki,N., Harada,Y., Imayoshi,I., Nelson,M., K.I. Nakayama, Hirabayashi,Y. and Gotoh,Y.: Slowly dividing neural progenitors are an embryonic origin of adult neural stem cells. *Nat Neurosci.* 18(5):657-65,2015

Kishi, Y., Fujii, Y., Hirabayashi, Y. and Gotoh, Y.: HMGA proteins regulate global chromatin state and the neurogenic potential in neocortical precursor cells. *Nat. Neurosci.* 15, 1127-1133, 2012.

#### 【研究期間と研究経費】

平成27年度—平成31年度  
143,000千円

#### 【ホームページ等】

<http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~molbio/>

## 【基盤研究(S)】

### 生物系 (総合生物)



## 研究課題名 TGF-β シグナルによる転写調節とがん悪性化機構

東京大学・大学院医学系研究科・教授

みやぞの こうへい  
宮園 浩平

研究課題番号: 15H05774 研究者番号: 90209908

研究分野: 腫瘍生物学

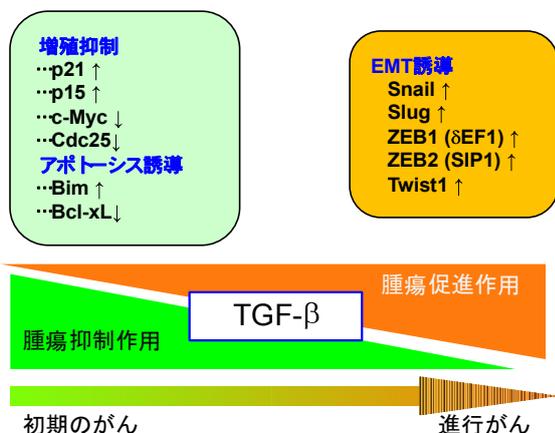
キーワード: 細胞内シグナル伝達、細胞医化学、がん微小環境、がん幹細胞、ゲノム科学

### 【研究の背景・目的】

TGF-β (transforming growth factor-β)は1980年代初頭に軟寒天培地の中で正常線維芽細胞の形質転換を促進する因子として発見された。しかし1985年にTGF-βが上皮細胞など多くの細胞の増殖を抑制することが明らかとなり、TGF-βは腫瘍抑制因子として大きな注目を浴びるようになった。一方で1990年代半ばになってTGF-βが上皮細胞の間葉系細胞への分化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) を促進することが報告され、進行したがんではTGF-βが腫瘍促進因子として働くことが明らかとなり今日に至っている (下図)。

本研究ではTGF-βが腫瘍抑制作用を失い、腫瘍促進因子として作用する分子機構を明らかにし、かつTGF-βの有する多彩な腫瘍促進作用を解明することを目指す。研究遂行にあたっては最近目覚ましい勢いで進歩してきた次世代DNAシーケンス技術を駆使しつつ遂行する。研究は、(課題1) TGF-β-Smadのダイナミックな転写調節機構の解明、(課題2) TGF-βによる上皮間葉転換 (EMT) の調節機構と多彩な表現型の解析、(課題3) がんの浸潤・転移を促進するTGF-βの多彩な作用の解明、の3つの柱で行う。

### TGF-βの作用の二面性



### 【研究の方法】

(課題1) TGF-β-Smadのダイナミックな転写調節機構の解明では、クロマチンのダイナミックな変化に伴うSmad結合パターンの変動、がん遺伝子・がん抑制遺伝子によるSmadの結合パターンの変化

とこれに関与する遺伝子を同定し、その作用を明らかにする。(課題2) TGF-βによるEMTの調節機構と多彩な表現型の解析では、転写因子ZEB1 (δEF1)とSmad2/3のChIP-seqによるEMTの分子機構の研究、スプライシング制御因子ESRPによるEMTの調節機構の研究を行う。(課題3) がんの浸潤・転移を促進するTGF-βの多彩な作用の解明では、RNA結合タンパクやmTORシグナル調節分子などを中心に新規分子の機能を研究し、がんの浸潤・転移との関連を明らかにする。

### 【期待される成果と意義】

本研究は長年にわたって議論となってきたTGF-βが腫瘍抑制作用を失い、腫瘍促進因子として作用する分子機構を明らかにし、かつTGF-βの有する多彩な腫瘍促進作用を解明することを目指す。TGF-βシグナルを標的としたがんの治療はTGF-βファミリーのタンパク質やその受容体を主な標的として研究が進められてきた。TGF-βシグナルのさらなる理解は、これらTGF-βシグナル阻害分子の臨床応用に役立つことが期待される。また、EMTはがんの浸潤・転移に密接に関わっているが、その分子機構は今後も研究が必要と考えられる。本研究でEMT制御分子を明らかにすることで、新たながんの診断・治療法の開発のためのシーズの同定を目指す。

### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Isogaya K, \*Koinuma D, Tsutsumi S, Saito RA, Miyazawa K, Aburatani H, \*Miyazono K. A Smad3 and TTF-1/NKX2-1 complex regulates Smad4-independent gene expression. *Cell Res.* 24 (8): 994-1008, 2014.
- Shirakihara T, Horiguchi K, Miyazawa K, Ehata S, Shibata T, Morita I, \*Miyazono K, \*Saitoh M. TGF-β regulates isoform switching of FGF receptors and epithelial-mesenchymal transition. *EMBO J.* 30 (4): 783-795, 2011.

### 【研究期間と研究経費】

平成27年度-31年度  
153,800千円

### 【ホームページ等】

<http://beta-lab.umin.ac.jp>

## 【基盤研究(S)】

生物系 (生物学)



### 研究課題名 チャネルを中心とした構造生理学的研究

名古屋大学・大学院創薬科学研究科/CeSPI・特任教授 藤吉 よしのり

研究課題番号： 15H05775 研究者番号： 80142298  
研究分野： 生物学  
キーワード： 構造生物学

#### 【研究の背景・目的】

TRP の解析により世界的に注目を浴び始めた単粒子解析法の革命的な進展を受けて、単粒子解析に残された問題点を解決できる IBSA と命名する構造解析法を確立し、電子線結晶学もさらに発展させて、6 種類の膜タンパク質 (ギャップ結合チャネル、アセチルコリン受容体、水チャネル、 $\text{Na}^+$ チャネル、 $\text{H}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase、タイト結合) の動的な機能構造を脂質膜内で解析する。この様にチャネルの構造生理学的研究を進め、チャネルでありながら細胞接着機能を有する Adhennel と名付けた膜タンパク質を中心に複雑な膜タンパク質の動的機能を構造生理学的に理解する研究を遂行する。

結晶学を用いて、LHC (*Nature*, **367**, 614-21, 1994), bR (*Nature*, **389**, 206-11, 1997), AQP (*Nature*, **387**, 624-7, 1997, *Nature*, **407**, 599-605, 2000, *Nature*, **438**, 633-8, 205, *JMB*, **355**, 628-39, 2006 等), AChR (*Nature*, **423**, 949-55, 2003, *JMB*, **422**, 617-34, 2012 等), Cx26 (*PNAS*, **104**, 10034-39, 2007, *Nature*, **458**, 597-602, 2009 等),  $\text{H}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase (*EMBOJ*, **28**, 1637-43, 2009, *Nature C*, **2**, 155pp1-7, 2011, *PNAS*, **109**, 18401-6, 2012 等),  $\text{Na}^+$  チャネル (*Nature*, **409**, 1047-51, 2001, *JMB*, **425**, 4074-88, 2013 等), クローデイン (*Science*, **344**, 304-7, 2014, *Science*, **347**, 775-8, 2015) 等の構造を発表してきた。これを発展させると共に、結晶化なしで解析する新しい構造解析手法を開発して、チャネルを中心とした構造生理学的研究を進めたい。

#### 【研究の方法】

水チャネル AQP4 の構造解析が示す様に、脂質膜が形成する特徴的な Dielectric constant の分布が、短いヘリックスの helical dipole を大きくして、チャネル内の水分子を配向させる。それによって、絶妙に配置されたカルボニル基が水分子と結合して水分子の入りやすい位置を形成する。それゆえ、膜タンパク質の生理機能を理解するには、膜タンパク質は図 1 の様に生理的条件に近い脂質膜の中にある状態で構造解析することが望ましい。

電子線結晶学はそれに適しているもので、これをさらに発展させるとともに、結晶化しなくても構造解析が可能な、単粒子解析に似た方法で、脂質膜内で膜タンパク質の構造を解析することができる IBSA と命名する方法を開発して、チャネルを中心とした膜タンパク質の構造と生理機能の研究を進める。

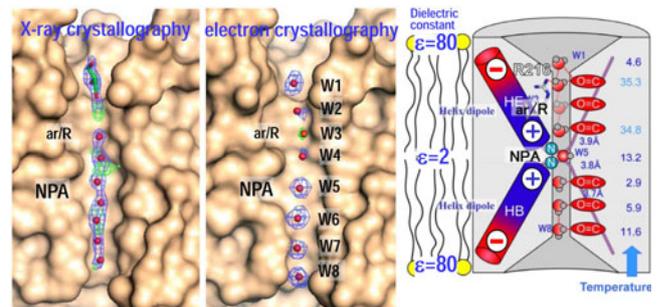


図 1 X線結晶学と電子線結晶学の比較。水分子は脂質膜内で解析しないと分離して観察できない。短いヘリックスが形成する静電場が重要。

#### 【期待される成果と意義】

電子線結晶学をさらに発展させると共に、新しい IBSA 法も活用して、膜タンパク質の動的な機能構造を脂質膜内で解析することで、膜タンパク質の機能を生理学的に詳細に理解できるようになる成果が期待される。

#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- H. Suzuki, T. Nishizawa, K. Tani, Y. Yamazaki, A. Tamura, R. Ishitani, N. Dohmae, S. Tsukita, O. Nureki and Y. Fujiyoshi  
Crystal structure of a Claudin provides insight into the architecture of tight junctions.  
*Science*, **344**, 304-307 (2014).
- Y. Saitoh, H. Suzuki, K. Tani, K. Nishikawa, K. Irie, Y. Ogura, A. Tamura, S. Tsukita, and Y. Fujiyoshi  
Structural insight into tight junction disassembly by *Clostridium perfringens* enterotoxin.  
*Science*, **347**, 775-778 (2015).

#### 【研究期間と研究経費】

平成 27 年度 - 31 年度  
138,500 千円

#### 【ホームページ等】

<http://www.cespi.nagoya-u.ac.jp/>

## 【基盤研究(S)】

### 生物系 (生物学)

#### 研究課題名 細胞内膜系動態が支える植物の環境応答能力



京都大学・大学院理学研究科・教授 にしむら 西村 いくこ

研究課題番号： 15H05776 研究者番号：00241232

研究分野： 生物学、基礎生物学、植物分子生物、生理学

キーワード： 環境応答、オルガネラ、植物微生物相互作用、植物分子機能

#### 【研究の背景・目的】

植物の環境応答や感染防御応答に関する知見は多いが、細胞内膜系の動態から迫ろうとする研究は少ない。私達の小胞体流動の発見、小胞体由来の防御オルガネラ (ER ボディ) の発見、外敵の種類に応じた液胞依存的防御系の発見はこの分野の研究の流れを変えた。本研究では、細胞内膜系と細胞内運動系に焦点をあてて、(1) 植物の環境応答と (2) 虫害防御応答の解明を目指す。環境応答研究は、Actin-Myosin XII 細胞骨格系が器官屈曲のブレーキとして働いているという私達の最近の発見を端緒としている。この現象 (Straightening と呼ぶ) の実体を解明し、植物の器官屈曲を感知する感覚と基本的な成長原理に迫る。一方、虫害防御応答研究は、アブラナ科植物が異なる忌避物質生産系 (ER ボディ系とミロシン細胞系) をもつという発見が端緒となっている。小胞体の柔軟性を支える機構を明らかにして上で、小胞体由来 ER ボディ形成と防御機能を解明し、次いで、維管束周辺のみロシン細胞系との連携防御機構の解明を目指す。

#### 【研究の方法】

上記の課題 (1) については、Straightening の定量方法の確立、Straightening 不全変異体の取得、Straightening 司令塔細胞の Actin-Myosin XI 系のライブセルイメージング解析、機械刺激センサー候補遺伝子の解析を行う。課題 (2) については、植食性昆虫による食害実験系の確立、メタボローム解析による忌避物質の同定を行う。ER ボディ系については新規の防御機構としての働きを明らかにする。ミロシン細胞系については気孔と共通の分化マスター遺伝子をもつことから、正逆遺伝学的解析によりこれらの異型細胞の分化機構の解明も行う。

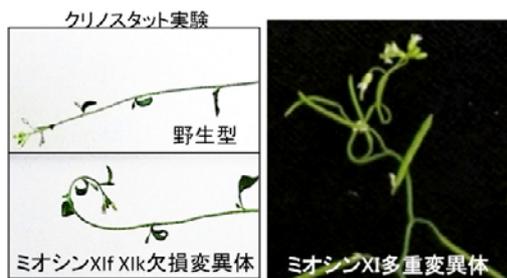


図1. 環境応答調節を担うStraightening機構  
Straightening機構はActin-MyosinXI細胞骨格により制御されている

#### 【期待される成果と意義】

「植物の器官が真直ぐに伸びる」という概念は古くからあるがその実体は未知である。本研究は、240年前前に発見されて以来の謎である植物細胞の原形質流動の生理学的意義に迫るという意味から学術的な意義は大きい。ER ボディ忌避物質生産系の研究は、小胞体由来の植物の防御システムとして新たな分野を切り拓くと期待している。



図2. 虫害防御応答能力を支える2つの忌避物質生産系

#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Okamoto, K, Ueda, H, Shimada, T, Tamura, K, Kato, T., Tasaka, M., Morita, M.T., & Hara-Nishimura, I. (2015) Regulation of organ straightening and plant posture by an actin-myosin XI cytoskeleton. *Nature Plants* 1: 15031: DOI: 10.1038.
- Ueda H, Yokota E, Kutsuna N, Shimada T, Tamura K, Shimmen T, Hasezawa S, Dolja VV, Hara-Nishimura I. (2010) Myosin-dependent endoplasmic reticulum motility and F-actin organization in plant cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 107:6894-9.

#### 【研究期間と研究経費】

平成 27 年度 - 31 年度  
153,800 千円

#### 【ホームページ等】

<http://www.bot.kyoto-u.ac.jp/j/index.html>  
ihnishi@gr.bot.kyoto-u.ac.jp



研究課題名 非視覚の光受容におけるオプシンの分子特性と機能の関係

大阪市立大学・大学院理学研究科・教授

てらきた あきひさ  
寺北 明久

研究課題番号： 15H05777 研究者番号： 30212062

研究分野： 動物生理・行動

キーワード： 動物生理化学、光生物学、光受容、オプシン

【研究の背景・目的】

多くの動物はオプシンと呼ばれる光受容タンパク質により光を受容し、その光情報を形や色を見る視覚や生体リズムの調節などの視覚以外の機能（非視覚）に利用している。オプシンは光受容の入口で機能するので、その分子の性質は細胞や生体レベルでの光受容能と密接に関係していると考えられる。私たちは、オプシンの性質が光受容機能の特性にどの程度の貢献をしているのかに興味を持ってきた。本研究では、最も発達した眼外の非視覚の光受容器である下等脊椎動物の脳に存在する松果体と呼ばれる器官に注目する。

下等脊椎動物の松果体は、光受容能を持ち、明暗だけでなく紫外光と可視光の比率（いわゆる“色”）を検出する。その“色”検出に関わるオプシンは、視覚の色識別に関わるオプシンと別物であり、分子の性質も全く異なることを既に明らかにしている。また、これらのオプシン1つ（紫外光感受性）は、魚類において手綱核（脳の一部）の発生過程での非対称性形成に不可欠である副松果体にも発現している。

本研究では、視覚以外で行われる波長識別（“色”識別）がどのような生体機能に関わり、副松果体でキャッチされる紫外光がどのような機能に関係するのかを解明するとともに、オプシンの分子特性がそれらの機能にどのように関わるのかを明らかにすることを目的とする。

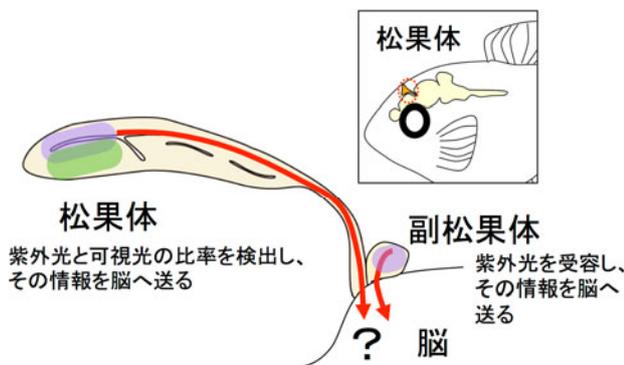


図1 松果体および副松果体とそれらの光感受性

【研究の方法】

本研究では、申請者らが作製してきたトランスジェニックゼブファフィッシュに加えて、松果体オプシン遺伝子を破壊した変異体や松果体オプシンを他

のオプシンに置換した変異体を作製し、解析に用いる。具体的には、松果体の“色”情報が、脳のどの部位にどのような情報として伝えられるのかを、カルシウム感受性の蛍光色素を脳内に発現するゼブフィッシュを用いた蛍光イメージングにより解析する。さらに、その結果に基づき、オプシン遺伝子破壊変異体の行動学的な解析を行い、色情報が関わる機能を明らかにする。また、オプシン置換変異体を解析し、オプシンの持つ分子特性が機能にどのように重要であるのかを解析する。

また、副松果体で受容された紫外光情報が、手綱核にどのように伝えられるのかを蛍光イメージングにより解析するとともに、オプシン遺伝子破壊個体やオプシン置換変異体を組織化学的に解析し、副松果体の紫外光情報が、どのように手綱核の非対称性形成に関わるのかを明らかにすることを目指す。

【期待される成果と意義】

特別なオプシンによりなされる非視覚の光受容機能における“色”情報の生物学的意義の理解に加えて、人を含む哺乳類も視覚以外で機能する紫外光感受性のオプシンを持つので、視覚以外での紫外光情報の重要性の理解につながると期待される。

さらに、眼外の副松果体で受容される紫外光情報が脳の発生に関与するという光と発生との関連という新しい概念を提唱できると期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- ・M. Koyanagi, E. Kawano, Y. Kinugawa, T. Oishi, Y. Shichida, S. Tamotsu and A. Terakita\*: Bistable UV pigment in the lamprey pineal. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101, 6687-6691 (2004).
- ・T. Nagata, M. Koyanagi, H. Tsukamoto, S. Saeki, K. Isono, Y. Shichida, F. Tokunaga, M. Kinoshita, K. Arikawa and A. Terakita: Depth perception from image defocus in a jumping spider. Science 335, 469-471 (2012)

【研究期間と研究経費】

平成 27 年度－31 年度  
134,400 千円

【ホームページ等】

<http://www.sci.osaka-cu.ac.jp/biol/mphys/>

## 【基盤研究(S)】

### 生物系 (生物学)



## 研究課題名 スーパージーンが制御する擬態紋様形成機構の解明

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・教授

ふじわら はるひこ  
藤原 晴彦

研究課題番号： 15H05778 研究者番号： 40183933

研究分野： 基礎生物学：進化生物学

キーワード： 進化遺伝、形態進化、比較ゲノム

### 【研究の背景・目的】

体表の紋様や体色により捕食者を攪乱する擬態は広範な生物に認められるが、その形成メカニズムはよくわかっていない。擬態のような複雑な適応形質は染色体上の隣接遺伝子群「超遺伝子 (supergene)」が制御しているという仮説がある。しかし、これまでにその分子の実体が明らかになったものはほとんどない。沖縄などに生息するシロオビアゲハは雌のみが毒蝶ベニモンアゲハに紋様や行動を似せる (図1)。我々はこのベイツ型擬態の原因が 130kb の染色体領域にあり、染色体逆位によって固定されていることを発見した。この領域には性分化を制御する *dsx* 遺伝子以外に 2 つの遺伝子が含まれ、これらが supergene として働いている可能性が示唆された。そこで、本研究では主にアゲハチョウを用いて、① supergene の構造と機能、② supergene ユニットの出現と安定化機構、③ 近縁種での supergene の進化プロセスを解明するとともに、④ 遺伝子多重化や転移因子に起因する幼虫斑紋や蛹保護色の形成機構も明らかにし、ゲノム再編成による擬態紋様形成機構を体系的に解明する。



図1 シロオビアゲハのベイツ型擬態

### 【研究の方法】

シロオビアゲハのベイツ型擬態の責任領域 (130kb) (図2) に着目し、以下の3点を解明する。

(1) *dsx* と 2 つの遺伝子が supergene として働いているかを、当グループが開発した遺伝子機能解析法 (EMST 法) により調べ、個々の遺伝子の発現制御と遺伝子機能を解明する。

(2) 擬態型 25 番染色体と非擬態型 25 番染色体の逆位領域の詳細な構造を解明し、他の鱗翅目昆虫の染色体構造と比較して supergene 創出と安定化機構を明らかにする。(3) 雌に限定されたベイツ型擬態をする

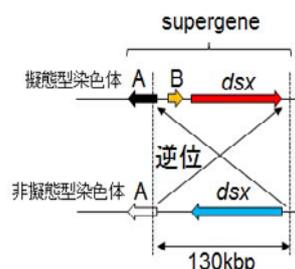


図2 supergeneと染色体逆位

シロオビアゲハの近縁種の *dsx* 及び周辺領域の遺伝子構造を解明するとともに、機能解析によって supergene ユニットを同定し、ベイツ型擬態の進化プロセスを明らかにする。

さらに、(4) アゲハ蛹の保護色形成に関わる BBP (ピリン結合タンパク質) 多重遺伝子群の発現制御機構、(5) 鱗翅目幼虫の斑紋形成遺伝子のシス制御領域の構造と機能を解明し、遺伝子多重化や転移因子によるゲノム再編成が擬態紋様形成にどのように関与するかを調べ、supergene が創出されるメカニズムを推定する。

### 【期待される成果と意義】

supergene は 100 年近く前から提唱される概念で、昆虫以外に、植物、魚類、鳥類、哺乳類など多岐に渡る複雑な適応形質に関与していると報告されてきた。本研究はアゲハチョウの擬態を対象に、遺伝学で長年未解明の supergene の構造と機能を明らかにしようとするもので、世界的にも注目される。近年当グループは、遺伝子のノックダウンと強制発現により擬態紋様を詳細に解析できるシステムを完成した。この新規技術により、supergene に含まれる全候補遺伝子の機能を全て解明することが可能になった。本研究の進展は、supergene や染色体逆位など、ゲノム再編成が複雑な適応形質の創出と安定化に関与している可能性を検証するとともに、進化発生学や進化遺伝学など進化研究全般に大きなインパクトを与えると期待される。

### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Nishikawa, H., Iijima, T. et al.: A genetic mechanism for female-limited Batesian mimicry in *Papilio polytes*. *Nature Genetics*, 47, 405-409 (2015).
- Yamaguchi, J., Banno, Y., Mita, K., Yamamoto, K., Ando, T. & Fujiwara, H.: Periodic Wnt1 expression in response to ecdysteroid generates twin-spot markings on caterpillars. *Nature Communications*. 4, 1857 (2013).

### 【研究期間と研究経費】

平成 27 年度 - 31 年度  
153,800 千円

### 【ホームページ等】

<http://www.idensystem.k.u-tokyo.ac.jp/index.html>  
haruh@k.u-tokyo.ac.jp

研究課題名 イネーいもち病相互作用の分子機構の解明



(公財)岩手生物工学研究センター・ゲノム育種研究部・部長 寺内 良平 (てらうち りょうへい)

研究課題番号: 15H05779 研究者番号: 50236981

研究分野: 遺伝育種

キーワード: 育種学、植物病理学、宿主、病原菌、共進化

【研究の背景・目的】

イネいもち病は、子囊菌イネいもち病菌 (*Magnaporthe oryzae*) によるイネの最重要病害であり、世界作物の7最重要病害の一つである(Pennisi, E. 2010, Science)。いもち病防除は、環境負荷およびコストを最小にする上で、抵抗性品種の育種と利用が最も効果的である。

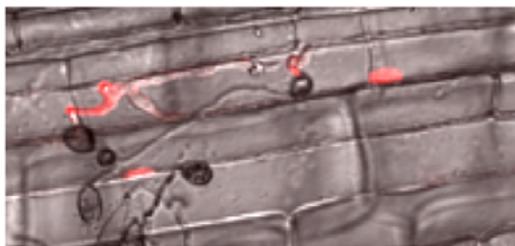


図1 イネに侵入しているいもち病菌

いもち病菌は、イネに侵入する際に、エフェクターと呼ばれる多種類のタンパク質を分泌して、イネの抵抗性反応や代謝をかく乱することにより、感染効率を上げると考えられている。しかし、いもち病菌エフェクターの種類や機能についてはよく分かっていない。いもち病菌エフェクターの一部は、イネの真性抵抗性タンパク質(R-protein)に認識されて、強い抵抗性を導く。R-proteinによって認識されるような病原菌エフェクターを、非病原力(avirulence)エフェクター(AVR)と呼ぶ。課題担当者らは、いもち病菌全ゲノムの連関解析により、3種類のAVR遺伝子、AVR-Pia、AVR-Pii、AVR-Pikの単離同定に成功した。さらにこれらのAVRを認識するイネ抵抗性タンパク質遺伝子(R-gene)、Pia、Piiの単離同定にも成功した。Pikは、Ashikawaらによって単離同定された(Ashikawa et al. 2008, Genetics)。3種類のR-geneは、各々強く連鎖した一対のNucleotide Binding Site-Leucine Rich Repeat受容体タンパク質(NLR)の遺伝子(Paired R-gene)から構成されることも判明している。

本課題では、同定された3種類のいもち病菌エフェクターの構造と機能、エフェクターとイネ抵抗性タンパク質の相互作用、Paired R-geneの機能を分子レベルで解明し、イネのいもち病菌抵抗性育種に寄与することを目指す。

【研究の方法】

現在までに単離同定した3種類のいもち病菌エフェクターAVR-Pia、AVR-Pii、AVR-Pikの分子構造を明らかにする。さらにこれらのAVRが作用するイネの標的因子を同定して、エフェクター機能を明らかにする。イネの抵抗性タンパク質PikによるAVR-Pikの認識機構、PiaによるAVR-Piaの認識機構、PiiによるAVR-Piiの認識機構を明らかにする。対になって働く抵抗性遺伝子(Paired R-gene)の機能を解明する。さらにいもち病菌およびイネのゲノム解析から、未同定のいもち病菌エフェクターの単離同定、エフェクターの作用するイネ標的因子の同定と機能解明を実施する。

【期待される成果と意義】

本研究により、いもち病菌の3種類のエフェクターとイネの3種類の真性抵抗性タンパク質の分子間相互作用が明らかとなり、その共通性が明らかとなる。いもち病菌エフェクターが作用するイネ標的因子が同定され、それらの分子間相互作用が明らかになることにより、エフェクターが効かないような因子を保有するイネを選抜し、抵抗性品種を育成する事が可能となる。病原菌エフェクター、宿主のエフェクター標的因子、R-protein 3者の分子間相互作用による病原菌-宿主共進化過程が明らかになる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Yoshida, K., Saitoh, H. et al. (2009) Association genetics reveals three novel avirulence genes from the rice blast fungal pathogen *Magnaporthe oryzae*. *Plant Cell* 21:1573-1591.
- Okuyama, Y., Kanzaki, H. et al. (2010) A multifaceted genomics approach allows the isolation of the rice *Pia*-blast resistance gene consisting of two adjacent NBS-LRR protein genes. *Plant J.* 66:467-479.

【研究期間と研究経費】

平成27年度-31年度  
151,500千円

【ホームページ等】

<http://genome.ibrc.or.jp/home>

## 【基盤研究(S)】

生物系 (農学)



### 研究課題名 植物病原菌の感染戦略における宿主認識と形態形成の分子基盤

京都府立大学・大学院生命環境科学研究科・教授

くぼ やすゆき  
久保 康之

研究課題番号： 15H05780 研究者番号： 80183797

研究分野： 植物病理学

キーワード： 植物病原糸状菌

#### 【研究の背景・目的】

炭疽病菌をモデルとして、病原糸状菌は植物への感染時に植物表層を認識し、表層環境に応じたダイナミックな応答を行い感染器官の形態分化を行うこと、また、侵入後の病原菌と植物細胞とのインターフェイスを介して、エフェクター機能に基づく宿主免疫抑制および活物寄生関係を構築し、感染定着することを明らかにしてきた。本研究は病原糸状菌の感染戦略における宿主認識と感染器官の形態形成の分子機構研究をウリ類炭疽病菌を用いて行い、病原糸状菌の感染適応戦略を分子レベルで理解することを目的としている。とくに、本菌のゲノム情報をベースにした解析と分子細胞学的解析を組み合わせ、統括的な研究を進めることにより、植物病原糸状菌の植物への感染適応戦略の分子モデルを構築し、創薬の新規有効ターゲットになる病原菌の代謝経路の解明を進め、病害防除における基盤的な成果を得ることを目的とする。

#### 【研究の方法】

植物病原糸状菌である炭疽病菌は70以上の種から構成され、多様な農作物に感染し、深刻な被害を与えている。また、炭疽病菌は病原糸状菌の感染適応戦略理解のモデル系としての特徴を備えている。炭疽病菌は、植物への感染過程で感染器官の分化を行い、宿主との相互作用を経て感染を成立させる。これまで、ウリ類炭疽病菌の病原性、侵入器官の形態形成に関与する遺伝子の同定と機能解析を進め、シグナル伝達、細胞極性制御、メラニン合成系、ペルオキシソーム機能、細胞壁構成制御、エフェクター機能などに関わる遺伝子が植物への感染に重要な役割を担っていることを明らかにしてきた。

本研究はその独創的発見を起点とし、現象理解を深めることにより病害防除の基盤的技術開発を確立することをミッションとして位置付けている。その内容は、感染過程のフェーズに基づき2つに大別できる。第一に、病原菌の侵入前の段階における「植物表層環境の複合認識と侵入器官形成を制御するシグナル受容・伝達系」の存在であり、第二に、侵入後の「活物寄生ステージにおけるエフェクター蓄積と宿主-病原菌間のインターフェイス機能」の存在である(図1)。本研究ではこの二つのフェーズに立脚して現象理解を進める。

#### 【期待される成果と意義】

本研究は病原糸状菌の侵入前、侵入後の病原菌感

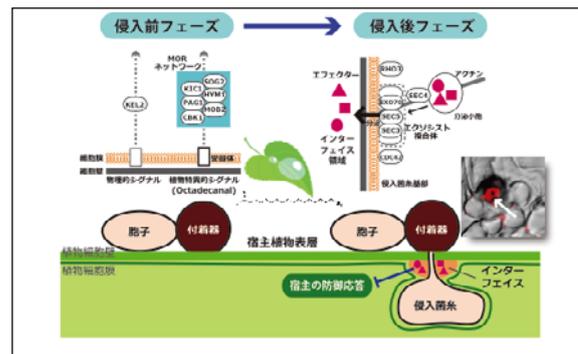


図1 感染モデル

染機構を統合的に解明する研究であり、病原菌の侵入器官形成を誘導する植物表層分子の同定、さらに特異的に関わる細胞内シグナル伝達機構については先行研究がない。また、エフェクターが集積するインターフェイスの発見を発表している。このように本研究の基盤となる先行研究はいずれも独創性、先駆性の高いものである。

本研究の推進により、重要植物病原糸状菌の感染機構の理解を進め、新規の防除薬剤ターゲットの提示や病原菌によるシグナル受容を回避した耐病性植物の育種など、革新的植物保護技術開発の基盤を構築する。さらに、学術的には植物、微生物科学分野における生物間相互作用、形態分化制御機構の基本概念構築に寄与したい。

#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Kubo, Y. and Takano, Y. (2013) Dynamics of infection-related morphogenesis and pathogenesis in *Colletotrichum orbiculare*. *Journal of General Plant Pathology* 79: 233-242.
- Kubo, Y. (2011) Appressorium Function in *Colletotrichum orbiculare* and Prospect for Genome Based Analysis. In *Morphogenesis and Pathogenicity in Fungi Series: Topics in Current Genetics*, Vol. 22 Pérez-Martín, José and Di Pietro, Antonio (Eds.) 1st Edition., pp115-131.

#### 【研究期間と研究経費】

平成 27 年度 - 31 年度  
98,500 千円

#### 【ホームページ等】

<http://ykubo.blog.eonet.jp/>

## 【基盤研究(S)】

生物系 (農学)



### 研究課題名 摂食シグナル胆汁酸の分子栄養学的機能解析と食品成分による摂食応答制御

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授 さとう りゅういちろう  
佐藤 隆一郎

研究課題番号: 15H05781 研究者番号: 50187259

研究分野: 農芸化学、食品科学

キーワード: 胆汁酸、摂食シグナル、TGR5、FGF15/19

#### 【研究の背景・目的】

ヒトの生理的代謝において最も劇的な変動を引き起こす現象は、絶食ならびにその後の摂食である。特に摂食刺激に対して、血糖値の上昇を認識し、インスリン分泌が亢進する。メタボリックシンドロームを中心とする複数の疾患では、インスリン分泌が恒常的に亢進し、その結果として、インスリン受容体の感受性が低下する「インスリン抵抗性」が主たる発症原因と考えられている。しかし同時に、肝臓ではインスリン抵抗性状況下にもかかわらず、インスリン応答の下流で生じる脂肪酸・トリグリセリド合成は亢進状態が維持され、脂肪肝、脂質代謝異常の原因となっている。つまり、インスリンを起点とする摂食シグナル応答制御に破たんが生じ、複数の生活習慣病が増悪化する。一方、最近の研究結果により、摂食刺激に対し、胆嚢より胆汁が分泌され、そこに含まれる胆汁酸が発信するシグナルが、インスリンと並行して摂食応答を制御する複数の因子として作動していることが次第に明らかにされている(図1)。従って、肥満、過栄養などが引き金となり暴走するインスリンを介した摂食応答を、同時に作動する胆汁酸を介した摂食応答系により適正化することが望まれ、胆汁酸機能を介した応答系の分子基盤を深く理解することが必要となっている。この分子基盤を明らかにすることにより、食品成分による摂食応答適正化による代謝改善が可能となる。胆汁酸摂食シグナル機構を明らかにし、新たな概念の提示をすると同時に、食品成分の新規な標的として胆汁酸摂食シグナル経路の重要性を示す。

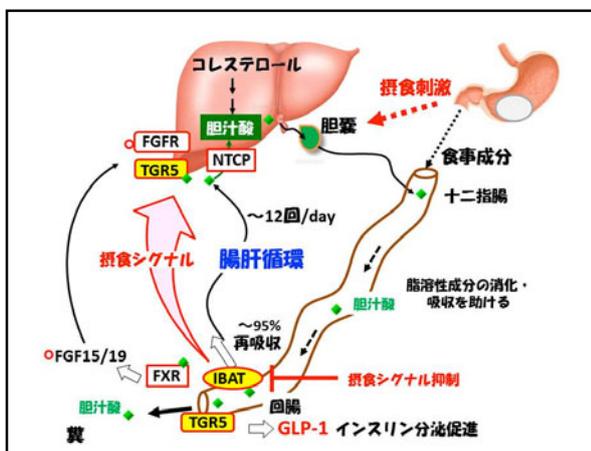


図1 摂食シグナルとしての胆汁酸とその応答分子

#### 【研究の方法】

小腸トランスポーターを介した胆汁酸吸収の阻害による、摂食シグナル減少と摂食応答変動の分子機構を複数の手法で解析する。さらに胆汁酸を吸着、あるいはトランスポーター輸送活性を直接抑制する食品成分について、その作用機序、摂食応答制御について分子レベルの解析を行う。この様な解析から胆汁酸の摂食シグナル作用の全容を理解する。

小腸、大腸、肝臓における胆汁酸受容体TGR5活性化を介した、摂食応答の制御機構について、*in vitro*、*in vivo* の解析を行う。同時に、胆汁酸シグナルのメディエーターとして機能するFGF15/19の肝臓における作用機序をFGF受容体の機能と並行して分子レベルで解析する。

以上の解析より、胆汁酸摂食シグナル軽減による、摂食応答改善効果の分子機構を分子栄養学的に明らかにし、応答改善効果を有する機能性食品を見出す食品科学研究へと結びつける。

#### 【期待される成果と意義】

コレステロール異化産物として認識される胆汁酸の潜在化した機能として、摂食シグナルとしての役割を分子栄養学的に明らかにすることは、摂食応答の混乱を解消する意義を明らかにする事に貢献する。さらに、摂食シグナル応答を軽減する事で代謝改善効果を達成することを検証することにより、食事成分にその様な効果を見出す方向性の拠り所となる。摂食シグナル応答を軽減させる機能性食品探索、創製により、イノベーション展開へと繋がる。

#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Shimizu M, Li J, Maruyama R, Inoue J, and Sato R (2013) FGF19 (fibroblast growth factor 19) as a novel target gene for activating transcription factor 4 in response to endoplasmic reticulum stress. *Biochem. J.* 450, 221-229.
- Irisawa M, Inoue J, Ozawa N, Mori K, and Sato R (2009) The sterol-sensing ER membrane protein TRC8 hampers ER-to-Golgi transport of SREBP-2/SCAP and reduces SREBP-2 cleavage. *J. Biol. Chem.* 284, 28995-29004.

#### 【研究期間と研究経費】

平成 27 年度 - 31 年度  
147,700 千円

#### 【ホームページ等】

[http://webpark1213.sakura.ne.jp/](http://webpark1213.sakura.ne.jp)  
[aroysato@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp](mailto:aroysato@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp)

【基盤研究(S)】  
生物系(農学)



研究課題名 雄牛フェロモンの同定と実用化に関する研究

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

まえだ けいいちろう  
前多 敬一郎

研究課題番号: 15H05782 研究者番号: 30181580  
研究分野: 動物生産科学  
キーワード: 繁殖

【研究の背景・目的】

牛の受胎率低下の克服は、わが国のみならず世界の畜産業にとって古くからの重要課題である。とくに乳牛では、関係者の長年にわたる取り組みにも関わらず、受胎率は低下の一途を辿っている。受胎率の低下が酪農業にもたらす損害は甚大で、年間一千億円に達するとの試算もある。

本研究は、フェロモンの活用という新たな発想から受胎率低下の克服に取り組もうとするものである。牛と近縁の反芻家畜であるヤギやヒツジでは、フェロモンによる強力な性腺刺激現象の存在が科学的に立証されており、「雄効果 Male Effect」呼ばれている。一方、牛のフェロモンに関する研究は遅れているものの、雄牛フェロモンの存在については巻牛(雌の群れに少数の雄を放つ飼養形態)により繁殖効率が著しく改善されることから経験的に推測されており、フィールド研究からも示唆されている。したがって雌牛は雄牛フェロモンに日常的に暴露されることにより、性腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)、性腺刺激ホルモン分泌を正常に維持していると考えられる。しかしながら乳用牛や肉用牛の雌は雄と出会うことのない「まれな」家畜である。これらの雌牛では、雄牛フェロモンに曝されないことによって、発情の微弱化や繁殖障害を多発していることが強く予想される。

本研究は雄牛から分泌される「雄牛フェロモン」を単離・同定し、同フェロモンを用いて、乳用牛や肉用牛の雌における繁殖障害を改善しようとするものである(図1)。

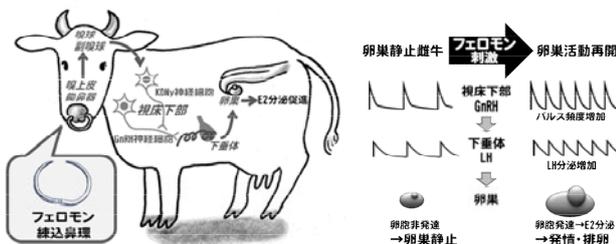


図1 フェロモンを利用した雌牛の性腺機能賦活の概念図

【左図】雄牛フェロモンを練り込んだ鼻環を装着すると、フェロモン受容器で感知される。フェロモン情報は、視床下部弓状核の神経細胞を刺激し、さらに性腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)の分泌を促し、下垂体からの性腺刺激ホルモンの分泌を介して卵巣に働きかけ、エストロジオール(E2)の分泌促進を引き起こされる。  
【右図】卵巣静止の雌牛では、GnRHの puls 分泌はゆっくりで(図中左側)、卵巣からのE2分泌も抑制されているが、フェロモン提示により puls 頻度は上昇し、卵巣機能が刺激されてE2分泌が高まり、発情と排卵が惹起される(図中右側)。

【研究の方法】

フェロモンを同定していく上で、バイオアッセイ系の構築はもっとも重要なステップである。本研究では、牛鋤鼻器細胞の不活化細胞、あるいはフェロモン受容体強制発現細胞を樹立し、in vitro でフェロモン活性を検定する。さらに、in vivo では、雌牛のLHパルスおよび視床下部の多ニューロン発火活動をを用いた検定法を併用しつつ、フェロモン活性を検定する。

雄牛からの被毛あるいは尿などのサンプル採取は、さまざまな機関との連携が必須である。ホルスタインや黒毛和種について、家畜改良センターおよび岐阜県畜産研究所飛騨牛研究部の協力を得て、サンプルを採取している。

【期待される成果と意義】

雄牛フェロモンが同定されれば、ヤギに次いで哺乳類では2番目のプライマーフェロモンの発見となる。近縁な種に特異的なフェロモンが鋤鼻器の受容体とどのような関係にあるかは、学術的にも重要な課題である。

また、合成フェロモンにより、牛の繁殖障害を防止し、受胎率を向上させることができれば、畜産業にとって革命的な技術の開発となる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Maeda, K.I., Ohkura, S., Uenoyama, Y., Wakabayashi, Y., Oka, Y., Tsukamura, H., Okamura, H. (2010) Neurobiological mechanisms underlying GnRH pulse generation by the hypothalamus. *Brain Research* 1364:103-115.
- Murata K., Tamogami S., Ito M., Ohkubo Y., Wakabayashi Y., Watanabe H., Okamura H., Takeuchi Y., Mori Y. (2014) Identification of an olfactory signal molecule that activates the central regulator of reproduction in goats. *Current Biology* 24: 681-686.

【研究期間と研究経費】

平成27年度-31年度  
144,200千円

【ホームページ等】

[http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/ikushu/Group\\_of\\_Neuroendocrine/homu.html](http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/ikushu/Group_of_Neuroendocrine/homu.html)

## 【基盤研究(S)】

### 生物系 (医歯薬学)



#### 研究課題名 治療効果を指向した新規抗菌薬の創出

東京大学・大学院薬学系研究科・教授

せきみず かずひさ

関水 和久

研究課題番号： 15H05783 研究者番号： 90126095

研究分野： 環境・衛生系薬学

キーワード： 微生物・感染症学、病原性

#### 【研究の背景・目的】

多剤耐性菌に対抗するために、治療効果を示す新規感染症治療薬の開発が必要とされている。一方、従来の試験管内での探索は限界を迎えており、近年、新しいメカニズムをもつ抗菌薬の上市は極めて限られてきている。その原因の一つとして、病原性細菌の振る舞いが、試験管内と宿主内では全く異なることが挙げられる。そこで本研究では、新たな抗菌薬の標的として、宿主内での生存、及び病原性の発揮に必要な遺伝子産物を着目する。そのために、我々が確立した手法により、宿主環境下で病原性細菌の増殖や病原性の発揮に必要な遺伝子を同定する。これらの結果を基に、阻害薬の探索系を構築し、実際に新しいメカニズムに基づく新規抗菌薬の創出法を確立することで、これまで試験管内での評価が中心であった感染症治療薬の開発手法の革新を目指す。また、これらの解析により病原性細菌の発揮機構を明らかにすると共に、新規標的に対する抗菌薬の開発することを目的とする。

#### 【研究の方法】

##### 1. カイコを用いた病原性遺伝子の探索

研究代表者がこれまで確立してきた、カイコの細菌感染モデルを用いて、病原性細菌の機能未知遺伝子の破壊株の病原性を探索する。この探索によって同定されて遺伝子に加え、宿主内における病原性細菌の網羅的遺伝子発現解析手法により、発現量が試験管内とは異なっている遺伝子にも着目し、マウスモデルにおける病原性の評価を実施する。

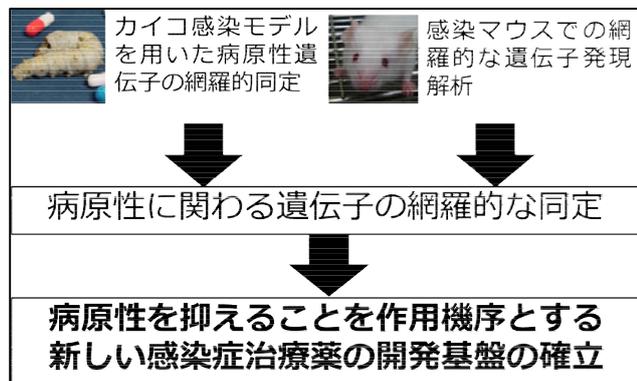


図1 本研究のスキーム

##### 2. 新規抗菌薬の探索法の確立

1で同定された新規病原性遺伝子に対して、生化学的なアッセイ法を確立し、その機能を理解する。また、確立したアッセイ系を利用して、阻害剤の探索を実施する。

#### 【期待される成果と意義】

##### 1. 病原性発揮機構の理解

本研究課題で遂行する網羅的な解析により、新規病原性遺伝子の同定ができる。また、同定した新規病原性遺伝子について機能解析の生化学的な解析による理解や、病原性遺伝子発現ネットワークの理解が進むことにより、病原性細菌の宿主に対する病原性の発揮機構を明らかにすることができる。

##### 2. 新しい抗菌薬への応用

本研究の遂行で明らかになった、宿主での生存に必要な新規病原性遺伝子産物が創薬の標的として提案できる。また、得られた阻害薬については抗菌薬のシード化合物として有用である。

#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Hamamoto H, Urai M, Ishii K, Yasukawa J, Paudel A, Murai M, Kaji T, Kuranaga T, Hamase K, Katsu T, Su J, Adachi T, Uchida R, Tomoda H, Yamada M, Souma M, Kurihara H, Inoue M, Sekimizu K: *Nat Chem Biol*, 11, 127-133, 2015
- Kaito C, Saito Y, Ikuo M, Omae Y, Mao H, Nagano G, Fujiyuki T, Numata S, Han X, Obata K, Hasegawa S, Yamaguchi H, Inokuchi K, Ito T, Hiramatsu K, Sekimizu K: *PLoS Pathog*, 9, e1003269, 2013
- Kaito C, Kurokawa K, Matsumoto Y, Terao Y, Kawabata S, Hamada S, Sekimizu K: *Mol Microbiol*, 56, 934-944, 2005

#### 【研究期間と研究経費】

平成 27 年度 - 31 年度  
154,500 千円

#### 【ホームページ等】

<http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~bisei/>

## 【基盤研究(S)】

生物系 (医歯薬学)



### 研究課題名 AID の RNA 編集機構による抗体の多様化と ゲノム不安定化の制御機構

京都大学・大学院医学研究科・客員教授 ほんじよ たすく  
本席 佐

研究課題番号： 15H05784 研究者番号： 80090504

研究分野： 医歯薬学

キーワード： DNA 切断、組換え、獲得免疫、免疫記憶

#### 【研究の背景・目的】

AID は、ワクチンの有効性を保証する獲得免疫における抗体多様化とその記憶形成の中心酵素である。AID は、Top1 を介して抗体遺伝子の体細胞突然異とクラススイッチを行う一方、ミスターゲットによるゲノム不安定性を誘発する。本研究においては AID が cofactor hnRNP K 依存的に miRNA の RNA 編集により Top1 の翻訳制御を行うメカニズムと Top1 が抗体遺伝子特異的に DNA 切断を行う仕組みを明らかにする。さらに AID が cofactor hnRNP L 依存的に mRNA 編集を行い、産生されるタンパク質を同定し、その機能を解明する。AID は高親和性 IgA の腸内細菌制御を通して、代謝制御に関わると共に Top1 制御異常による遺伝子変異が様々な遺伝性神経疾患の原因になる。従って本研究は獲得免疫の根幹メカニズムの解明に止まらず、免疫異常による代謝制御や複製非依存性転写依存性ゲノム不安定化の背景を明らかにする。

#### 【研究の方法】

AID による Top1 mRNA の翻訳制御機構について新たに発見した hnRNP K を用いた AID との複合体の免疫沈降により、結合 miRNA の前駆体を同定する。その上で RNA 編集の検定ならびに Top1 mRNA における Ago2 結合部位との相関を確認する。Top1 がゲノム上で特異的なターゲットを切断するメカニズムを明らかにするために全ゲノム中の Non-B DNA の形成を psoralen 結合法により H3K4me3 の修飾、Top1、FACT の集積をそれぞれ ChIP-Seq 法でゲノムワイドに検定し、その総合としての特異性決定の可能性を検証する。さらに Top1 をターゲットにリクルー

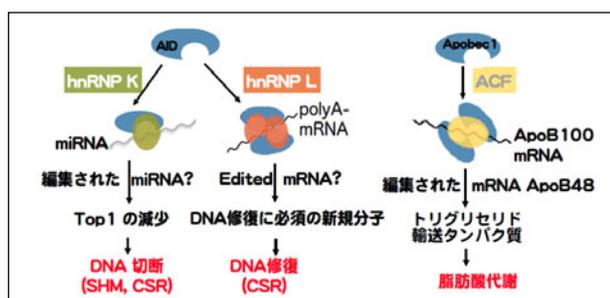


図 1. AID は hnRNP K と HnRNP L を共役因子とする

トするタンパク群を免疫沈降法、また S 領域中に LexA 結合配列の挿入株を用いた免疫沈降法で同定し、siRNA、ChIP 法で機能の解明を行う。また切断後の DNA 修復と組換え制御に関しては新たに発見し、hnRNP L と AID との複合体に結合する mRNA を免疫沈降物の全シーケンス法により同定し生じるタンパク質の役割を Brd4 による二つの断端を接合させる機能と合わせて解明するために 3C 法や Chip 法を用いる。さらに DNA 断端に結合した Top1 プロセシングのメカニズムを siRNA、免疫沈降法により解明する。

#### 【期待される成果と意義】

本研究では獲得免疫の根幹メカニズムを解明するのでワクチン開発などの基本戦略に応用されるが、多くの hnRNP の機能は不明でその解明が重要であり、AID による発癌の仕組みの解明に貢献する。Top1 は転写依存性ゲノム不安定化機構の DNA 切断酵素であり、各種神経疾患やがんなどの病因解明につながる。ヒトの Top1、hnRNP K、hnRNP L の低機能性変異体は発がんや免疫不全症等の多因子遺伝病の病因解明につながる。

#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Muramatsu, M. et al. *Cell* **102** 553-563 (2000)
- Kobayashi, M. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **106**, 22375-22380 (2009)
- Kobayashi, M. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **108**, 19305-19310 (2011)
- Stanlie, A. et al. *Mol. Cell* **55**, 97-110 (2014)
- Hu, W. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **112** 5791-5796 (2015)

#### 【研究期間と研究経費】

平成 27 年度 - 30 年度  
153,500 千円

#### 【ホームページ等】

<http://www2.mfour.med.kyoto-u.ac.jp/>



**研究課題名** マクロファージによるアポトーシス細胞の貪食と細胞膜の非対称性

大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・教授

ながた しげかず  
長田 重一

研究課題番号： 15H05785 研究者番号： 70114428

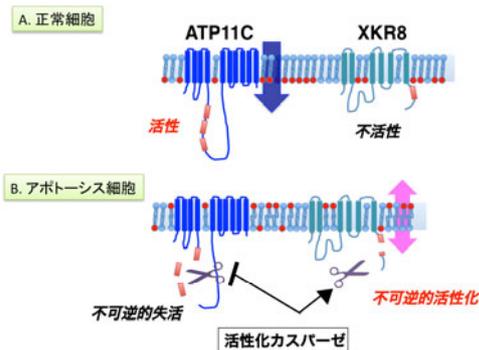
研究分野： 生化学、分子生物学

キーワード： アポトーシス、マクロファージ、ホスファチジルセリン、フリッパーゼ、スクランブラーゼ

【研究の背景・目的】

マクロファージは MFG-E8、Tim-4、Mer・Protein S などのフォスファチジルセリン(PtdSer)に結合する分子を用いてアポトーシス細胞を貪食する。この貪食過程が進行しないと自己免疫疾患などの重篤な疾患を引き起こす。動物の細胞膜は2層から成り立ち、PtdSerは生きている細胞では内膜に存在し、アポトーシスがおこると表面に暴露される。私達は PtdSer を外膜から内膜へ移動させる分子 (フリッパーゼ: ATP11C と CDC50A)、アポトーシス時に PtdSer を内外の膜の間でスクランブルさせる分子 (スクランブラーゼ: Xkr8) を同定した。アポトーシス時、ATP11C はカスパーゼによって失活し Xkr8 は活性化される。

本研究は、(1) Mer、およびそれと相似した Tyro3、Axl と、そのリガンド Protein S、Gas6 との相互作用、死細胞貪食能を明らかにする。(2) MER のキナーゼ活性に対する Tim-4 の影響を解析し、MER の標的を同定する。(3) Xkr8 以外にスクランブラーゼとして作用する Xkr 4、Xkr 9 の生理作用を明らかにする。(4) ATP11C が属する P4-ATPase family の発現分布、フリッパーゼ活性を明らかにする。



【研究の方法】

(1) 腹腔マクロファージは死細胞の集束過程に Tim-4、貪食には MER を用いる。MER が属する TAM family は 3 個のメンバー (MER、Axl、Tyro3) からなり、Protein S、Gas6 が死細胞と TAM を仲立ちする。MER、Axl、あるいは Tyro3 のみを発現する細胞を用いて、これら分子の貪食能を明らかにする。これら分子の細胞外領域を調製し、Protein S、Gas6 や PtdSer との相互作用を解析する。(2) Tim-4、MER に対する抗体を用いた免疫沈降法で Tim-4 と MER が結合するかどうか検討する。死細胞の貪食の際、リン酸化される MER のリン酸化部位を Phos-Select

Ion Affinity 法、LC-MS/MS 解析により同定する。(3) 脳で発現している Xkr 4 の発現細胞 (神経細胞あるいはマイクログリア) を同定する。Xkr4、Xkr8 のノックアウトマウスを作製し、アポトーシス細胞の貪食に異常があるかどうか明らかにする。(4) 14 個の P4-タイプ ATPase を GFP と融合させた後、ATP11C 欠損細胞内で発現させ、細胞内局在部位を決定するとともに、フリッパーゼ活性が存在するかどうか、アポトーシス時に切断されるかどうか明らかにする。

【期待される成果と意義】

本研究は、申請者がこれまでの成果をもとに着想したものでありその独創性は揺るぎない。本研究の成果は細胞死の分野で残された課題のひとつ、「死細胞の貪食・分解」の分子機構・生理作用を明らかにするであろう。また、本研究の成果は、2層から成り立つ細胞膜の非対称性の維持という細胞生物学の根本的命題の分子機構解明に役立つであろう。また、私達は死細胞が速やかに貪食されることがなければ、自己免疫疾患を発症すること、活性化された血小板で PtdSer が暴露されなければ血友病を発症することを見いだしている。今回計画しているフリッパーゼやスクランブラーゼのノックアウトマウスの解析は自己免疫疾患や血友病などヒトの病気の原因解明にも貢献するであろう。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Segawa, K. et al. (2014) Caspase-mediated cleavage of phospholipid flippase for apoptotic phosphatidylserine exposure. Science 344: 1164-1168.
- Suzuki, J. et al. (2013) Xkr-related protein 8 and CED-8 promote phosphatidylserine exposure in apoptotic cells. Science 341: 403-406.

【研究期間と研究経費】

平成 27 年度 - 31 年度  
118,100 千円

【ホームページ等】

<http://biochemi.ifrec.osaka-u.ac.jp/>  
[snagata@ifrec.osaka-u.ac.jp](mailto:snagata@ifrec.osaka-u.ac.jp)

## 【基盤研究(S)】

### 生物系 (医歯薬学)



## 研究課題名 これまで見逃されていた好塩基球の存在意義と病態形成における役割

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授

からすやま はじめ  
鳥山 一

研究課題番号： 15H05786 研究者番号： 60195013

研究分野： 実験病理学・免疫学

キーワード： 炎症、アレルギー・免疫関連疾患、感染免疫、疾患モデル動物

### 【研究の背景・目的】

顆粒球のひとつである好塩基球は、数が極端に少ない上に末梢組織常在のマスト(肥満)細胞と類似の特徴を有するため、血中循環型のマスト細胞垂系あるいはマスト細胞前駆細胞であると誤解され、生体内での存在意義が長い間疑問視されていた。最近、私たちは世界に先駆けて好塩基球機能解析ツールを独自に開発し、好塩基球が寄生虫感染防御、アレルギー反応、炎症反応の誘導と終焉においてマスト細胞とは異なる固有かつ重要な役割を果たしていることを明らかにした。これにより、これまで日陰者であった好塩基球が一躍脚光を浴びるようになったが、いったいどのような分子メカニズムによって生体反応に寄与しているのかに関しては、まだよくわかっていない。そこで本研究では、新規解析ツールを駆使して生理的条件下ならびに疾患病態における好塩基球の動態、活性化、エフェクター機能に関わる分子機構を明らかにし、それに基づき好塩基球ならびにその産物を標的とした炎症性疾患や感染症の人為的制御の可能性を探索する。

### 【研究の方法】

#### (1) 好塩基球による炎症惹起・制御機構の解明

ごく少数の好塩基球がどのようにして強烈な炎症反応をひきおこすのかを明らかにするために、好塩基球が産生・分泌する液性因子の標的細胞・分子とその作用機序を解析し、炎症性疾患の治療への応用を検討する。

#### (2) 好塩基球による生体防御機構の解明

好塩基球が産生・分泌する液性因子のいずれかが寄生虫攻撃に重要であるのかを遺伝子改変マウスなどを用いて解析し、その作用機序を明らかにすることで、寄生虫ワクチン開発への応用を検討する。

#### (3) 好塩基球の遊走・組織浸潤機構の解明

好塩基球がどのようにして血中から末梢組織に遊走・浸潤して炎症巣や寄生虫感染部位に集積するか、そのメカニズムを明らかにし、遊走惹起分子を標的とした炎症制御の可能性についても検討する。

#### (4) 好塩基球の活性化機構の解明

好塩基球とマスト細胞に選択的に発現する活性化型受容体 CD200R3 のリガンドを同定するとともに、CD200R3 を介した好塩基球活性化に関わるシグナル伝達経路を明らかにし、好塩基球活性化分子を標的とした炎症制御の可能性を検討する。

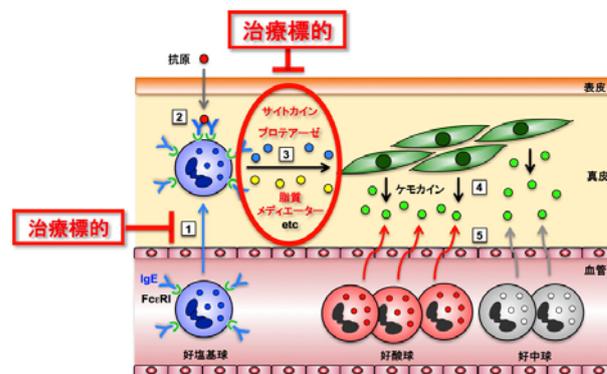


図1. 好塩基球を標的とした創薬の可能性

### 【期待される成果と意義】

日本を含む先進諸国では人口の3割近くがアレルギー疾患に罹患し、一方、開発途上国ではいまだに多くの寄生虫感染症が蔓延しており、医療上のみならず経済面からも大きな社会問題となっている。本研究において生体内における好塩基球の動態、活性化、エフェクター機能に関わる分子機構を明らかにすることで、新たな抗アレルギー薬の開発ならびに寄生虫に対するワクチンの開発が促進され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. Karasuyama, H., and Yamanishi, Y.: Basophils have emerged as a key player in immunity. *Curr. Opin. Immunol.* 31: 1-7, 2014.
2. Egawa, M., Mukai, K., Yoshikawa, S., Iki, M., Mukaida, N., Kawano, Y., and Minegishi, Y., and Karasuyama, H.: Inflammatory monocytes recruited to allergic skin acquire an anti-inflammatory M2 phenotype via basophil-derived interleukin-4. *Immunity* 38: 570-580, 2013.

### 【研究期間と研究経費】

平成 27 年度－30 年度  
154,000 千円

### 【ホームページ等】

<http://immune-regulation.org>

## 【基盤研究(S)】

### 生物系 (医歯薬学)



## 研究課題名 免疫系の制御による生体恒常性維持システムの解明と疾患の予防・治療基盤の確立

東京大学・生産技術研究所・特任教授 たにくち ただつぐ  
谷口 維紹

研究課題番号： 15H05787 研究者番号： 50133616

研究分野： 炎症・免疫制御学

キーワード： 免疫シグナル伝達、恒常性維持、自然免疫、炎症

### 【研究の背景・目的】

本研究の目的は自然免疫系を基軸として適応免疫系をも視野に入れつつ、生体の恒常性維持のメカニズムを解明し、その変容や破綻がもたらす各種疾患の予防・治療法に向けた分子基盤を確立することにある。特に、(1) 自己由来免疫制御分子、(2) 独自に取得した免疫系を干渉する低分子化合物、の二つからのアプローチを主軸に据え、自己由来分子による自然免疫応答系の制御機構に焦点を当てることで、恒常性の維持における免疫系の役割について理解を深め、その破綻による疾患の予防・治療に向けた新たな基盤形成を目指す。

本研究の概略を図1に示す。本研究では次の4項目を設定し、プロジェクトを遂行することで、自己由来分子による新たな免疫系の制御機構を解明する。

(1) 死細胞放出分子による炎症・免疫系の制御機構の解明

(2) 自然免疫受容体による自己の生細胞認識とその生体恒常性維持及び破綻機構の解明

(3) 腸管における外来性分子と内在性分子の相互作用による恒常性維持及び破綻機構の解明

(4) 免疫系を調節する新規自己由来分子の同定とそのシグナル伝達経路と病態発症機構の解明

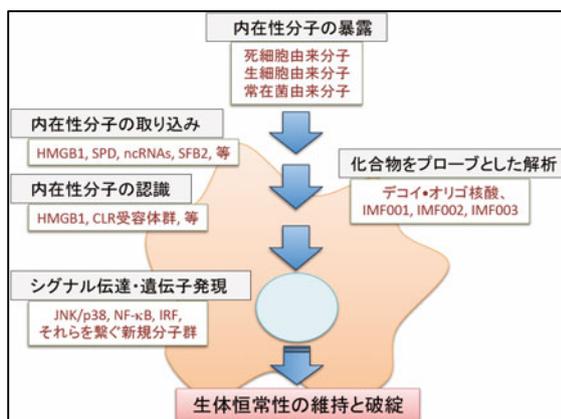


図1 研究構想の概略

### 【研究の方法】

自己由来免疫制御因子による自然免疫系の制御機構の解明を主軸とし、生体恒常性維持及びその変容・破綻による疾患発症機構について解析を進め、予防・治療法に向けた基盤の提供を目指す。そのため、新たに同定した自己由来分子の解析とともに、独自に取得した低分子化合物をプローブとして新たな制御分子の同定と機能解析をも推進する。

### 【期待される成果と意義】

本研究は自己由来分子に対して免疫系が如何なる仕組みで応答するのか、それが生体の恒常性維持機構及びその変容や破綻においてどのような意義があるのか、といった基本的命題に新しい知見をもたらす、免疫系以外の他の生命システムの正常と病理の理解にも発展する可能性が高い。また、我々は免疫病態を抑制する低分子化合物、デコイオリゴ等を独自に取得しており、これらの作用機序等の研究を更に発展させることによって、多くの関連疾患の制御に新しい展開をもたらす、医学への応用に重要な基盤を提供する可能性がある。このように本研究は恒常性維持機構を理解する分子基盤、及び、新規治療標的分子を提示し、学術、応用の両側面から関連学術領域の発展に貢献することが予想される。

### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

1. Chiba, S. et al., Recognition of tumor cells by Dectin-1 orchestrates innate immune cells for anti-tumor responses. *Elife* e04177 2014.
2. Yanai, H. et al., Conditional ablation of HMGB1 in mice reveals its protective function against endotoxemia and bacterial infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 110: 20699-20704, 2013.
3. Negishi, H. et al., Cross-interference of RLR and TLR signaling pathways modulates antibacterial T cell responses. *Nat. Immunol.* 13: 659-666, 2012.
4. Yanai, H. et al., Suppression of immune responses by nonimmunogenic oligodeoxynucleotides with high affinity for high-mobility group box proteins (HMGBs). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108: 11542-11547, 2011.

### 【研究期間と研究経費】

平成 27 年度－31 年度  
132,300 千円

### 【ホームページ等】

<http://www.iis.u-tokyo.ac.jp/~mol-immu/mputc@iis.u-tokyo.ac.jp>



**研究課題名** 生活習慣病の高血圧／臓器障害における  
糖質・鉱質コルチコイドの役割と新規治療探索

東京大学・先端科学技術研究センター・名誉教授/特任研究員

ふじた としろう  
藤田 敏郎

研究課題番号： 15H05788 研究者番号：10114125

研究分野： 医歯薬学

キーワード： 腎臓学、高血圧学

**【研究の背景・目的】**

わたしたちはこれまで、生活習慣病にともなう臓器障害について様々な観点から研究をしてきた。副腎皮質ホルモンのアルドステロンとコルチゾールが過剰に分泌されると高血圧と腎障害を引き起こす。古典的には、ホルモンの血中濃度が障害の程度を規定すると考えられていた。しかし、わたしたちは、その受容体の MR と GR の活性化が、ホルモンの血中濃度とは独立して重要な役割を果たすことを明らかにしてきた。低分子 GTP 結合タンパク質 Rac1 は MR の活性化を介して(1)、またヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)8 の低下は GR の活性化を介して(2)、高血圧と腎障害の発症に関わることを示した。

本研究では、これまで得られた結果に基づき MR・GR 活性化機構の解明を以下の3点について進め、高血圧・腎障害に対する新規治療開発を目指す。① Rac1-MR 系の病態における役割解明を進める。腎臓の Rac1-MR 系の活性化により、糸球体障害と高血圧がみられるが、その原因となっている責任部位を明らかにする。また、心臓拡張機能障害での Rac1-MR 系の役割について解明を進める。②新たな MR・GR 下流分子を解明する。腎臓特異的 MR・GR 欠損マウスに高血圧・腎障害を惹起し、野生型と比較して MR・GR に制御される新たな疾患責任遺伝子を同定する。③部位特異的な MR・GR 活性化に関わる機構を、②で同定される下流遺伝子発現を標的に、受容体修飾・エピジェネティックな観点から解明する。

**【研究の方法】**

腎臓 Rac1-MR 系の検討は組織内(糸球体、尿細管)特異的遺伝子改変マウスを作成して行い、心臓 Rac1-MR 系の病的意義は心臓特異的 Rac1 ヘテロ欠損および MR 欠損マウスを用いて解析する。新たな血圧調節因子 Pendrin の病的役割と MR による活性化調節機構を遺伝子改変動物を用いて明らかにする。

さらに新規 MR・GR 標的遺伝子を、部位特異的 MR および GR 欠損マウスを用いて明らかにする。得られた新規 MR・GR 標的遺伝子について、ChIP sequencing などの手法を用いてプロモーター領域の MR・GR、転写因子、クロマチン状態変化の情報獲得を進めて、MR・GR 活性化のスイッチ機構を明らかにする。動物で得られた成果について腎生検サンプルを用いてヒトでの証明を行う。具体的には以下の項目の検討を行う。

1. 腎臓内組織特異的 Rac1-MR 活性化の病的意義の検討

2. Rac1-MR 活性化の心臓での病的意義の検討
3. 新規 MR 下流分子 Pendrin の病的意義解明
4. 新規 MR・GR 標的遺伝子の探索
5. MR・GR 活性化のスイッチ機構の解明
6. ヒト腎臓での MR・GR 活性化の証明

**【期待される成果と意義】**

本研究により新たな MR・GR 活性化機構ならびに標的遺伝子を同定する。本研究で解明される分子は Rac1 とともに新たな治療ターゲットとなる。エピジェネティック機構の関与を明らかにできれば、不可逆性の病態を予防あるいはリバースする治療の開発に結び付く。現在我が国では多種多様な降圧薬、血糖低下薬の頻用にもかかわらず、高齢化、肥満、CKD の増加により末期腎不全と心不全患者は増加の一途を辿っている。本研究による新たな治療ターゲットの解明は、喫緊の課題である新たな腎臓保護薬および高血圧・心不全改善薬の開発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】**

- 1) Shibata S, Nagase M, Yoshida S, Kawarazaki W, Kurihara H, Tanaka H, Miyoshi J, Takai Y, Fujita T. Modification of mineralocorticoid receptor function by Rac1 GTPase: implication in proteinuric kidney disease. Nat Med. 2008;14:1370-6
- 2) Mu S, Shimosawa T, Ogura S, Wang H, Uetake Y, Kawakami-Mori F, Marumo T, Yatomi Y, Geller DS, Tanaka H, Fujita T. Epigenetic modulation of the renal  $\beta$ -adrenergic-WNK4 pathway in salt-sensitive hypertension. Nat Med. 2011;17:573-80
- 3) Fujita T. Mechanism of Salt-Sensitive Hypertension: Focus on Adrenal and Sympathetic Nervous Systems. J Am Soc Nephrol. 2014;25:1148-55

**【研究期間と研究経費】**

平成 27 年度－31 年度  
153,800 千円

**【ホームページ等】**

<http://www.c-epi.rcast.u-tokyo.ac.jp/index.html>

## 【基盤研究(S)】

生物系 (医歯薬学)



### 研究課題名 骨格筋を中心とする臓器間ネットワークによる老化調節機構解明と画期的抗加齢療法開発

東京大学・大学院医学系研究科・特任教授

うえき こうじろう  
植木 浩二郎

研究課題番号：15H05789 研究者番号：00396714

研究分野：糖尿病代謝内科学

キーワード：老化、シグナル伝達、糖尿病

#### 【研究の背景・目的】

急激な高齢化を迎えている我が国が今後も継続的に発展していくためには、高齢者における生活習慣病などの疾病を予防し良好な ADL を維持する健康長寿法の確立が急務である。一方、我が国をはじめとするアジア諸国では欧米と異なり、糖尿病・心血管疾患などの生活習慣病は、軽度肥満の状態や非肥満でも発症し加齢によるリスク上昇の影響も大きい。実際、加齢に伴って骨格筋の質的・量的な劣化（サルコペニア）がおき、肥満が軽度ないしは非肥満であっても、インスリン抵抗性や身体活動度の低下などを引き起こし、生活習慣病をはじめとする様々な疾患を惹起し高齢者の社会的自立を著しく阻害する。

本研究では、加齢によるサルコペニア・フレイルが生じる要因を、骨格筋のインスリンシグナルの低下による骨格筋の老化とさらには骨格筋を中心とする臓器間ネットワークの破綻と捉えて、そのメカニズムを解明し画期的な健康長寿法の開発を目指す。

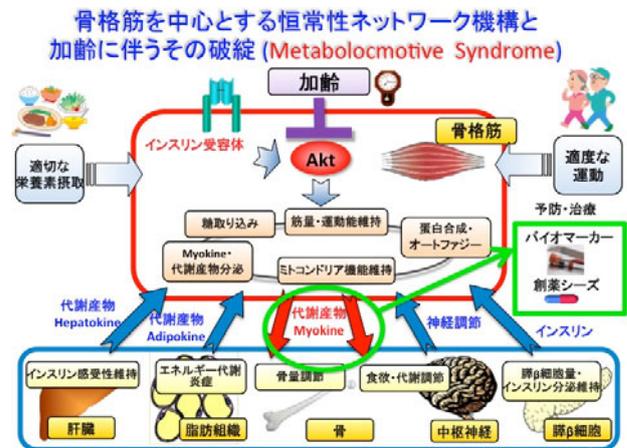
#### 【研究の方法】

疫学研究や動物モデルの解析から、我々は加齢により骨格筋のインスリン作用・Akt 活性が低下し、サルコペニアを生じさせることでさらに骨格筋のインスリン作用が低下し、サルコペニアが一層進行するという仮説を立てた。これを検証するため、Akt の主要な 2 つのアイソフォームである Akt1 および Akt2 を骨格筋特異的にノックアウトしたマウス (mAktDKO マウス) を作成した。実際このマウスは、若年性のサルコペニアや骨量の低下などの表現型を呈しており、骨格筋を中心とする臓器間ネットワーク機構を検証する優れたツールと考えられる。

野生型加齢マウスや mAktDKO マウスの骨格筋の網羅的発現解析・メタボローム解析・シグナル解析、さらには FoxO や TSC2 の遺伝子改変マウスと mAktDKO マウスの交配により、Akt 下流のどのようなシグナル伝達経路が、あるいはどのような因子がサルコペニアや老化を引き起こしているのかを明らかにする。また、野生型加齢マウスや mAktDKO マウスにおける認知機能、種々の臓器における老化マーカー、寿命などを比較検討することなどにより、骨格筋を中心とする生体恒常性や若さの維持機構を解明する。さらに、野生型加齢マウスや mAktDKO マウスの栄養素・運動への介入によるサルコペニアの予防効果とその分子メカニズムを検討する。これらを通じて、サルコペニア規定因子・老化調節因子やその調節化合物の同定を試みる。

#### 【期待される成果と意義】

骨格筋が種々の代謝産物や myokine あるいは神経経路を通じて種々の臓器とネットワークを形成して生体恒常性を維持しており、加齢によりこの骨格筋を中心とする臓器間ネットワーク機構が破綻することが生活習慣病や加齢関連疾患発症の要因となっているという metabolocomotive syndrome の疾患概念を検証し、その病態を分子レベルで明らかにすることにより、サルコペニアの超早期バイオマーカーや、これを予防・治療する適切な食事療法・運動療法・薬物療法の基盤を開発できるものと考えられる(図)。



#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Iwabu M et al. Adiponectin and AdipoR1 regulate PGC-1alpha and mitochondria by Ca(2+) and AMPK/SIRT1. *Nature* 464:1313-1319, 2010
- Lu M et al. Insulin regulates liver metabolism in vivo in the absence of hepatic Akt and Foxo1. *Nat Med* 18:388-395, 2012

#### 【研究期間と研究経費】

平成 27 年度～31 年度  
153,800 千円

#### 【ホームページ等】

<http://dm.umin.jp/dmsd/>

## 【基盤研究(S)】

生物系 (医歯薬学)



### 研究課題名 皮膚を場とする外的刺激に対する生体応答機構の包括的解明

京都大学・大学院医学研究科・教授 **かばしま けんじ**  
**梶島 健治**

研究課題番号： 15H05790 研究者番号： 00362484

研究分野： 臨床医学、皮膚科学

キーワード： 免疫学、皮膚科学、アレルギー学

#### 【研究の背景・目的】

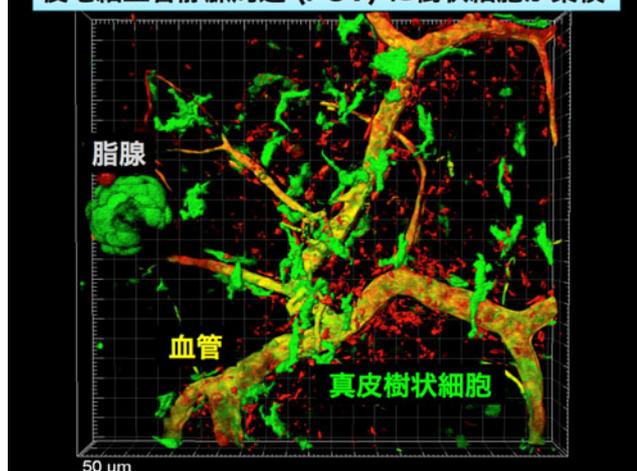
皮膚は、細菌などの微生物、化学物質、タンパク抗原などの様々な外的侵襲に対して多彩な応答を發揮して生体を防御する。その一方、不適切な生体応答は、接触皮膚炎やアトピー性皮膚炎、尋常性乾癬などの皮膚疾患の発症へと導く。従って、「外的侵襲に対する皮膚応答機序を理解することは、皮膚疾患の発症機序の解明に繋がる」と考えられる。

我々は二光子励起顕微鏡を用いた皮膚の生体イメージング技術の導入により、ハプテン刺激による上皮細胞の応答により、後毛細血管領域に高内皮細静脈の誘導と血管周囲マクロファージが活性化され、樹状細胞やメモリーT細胞がクラスターを形成することを見出した(下図)。誘導型 SALT(inducible skin associated lymphoid tissue;iSALT)と命名し、その新規概念と構築の存在を世界で初めて提唱した。iSALTは、皮膚炎発症メカニズムの中心的役割を担っている可能性が高く、今後の解析が期待されている。

iSALTの誘導の際には、外的侵襲に対する表皮角化細胞をはじめとする上皮細胞からの一次刺激により、マクロファージなどの免疫細胞や血管内皮細胞などの間質細胞が活性化され、これにより皮膚や血液中に存在する免疫細胞が導入されると申請者は仮説を立てている。そして、皮膚に存在する微生物環境が生体応答を調節している事が考えられる。

そこで本研究では、外的侵襲に対して上皮・免疫・間質細胞や常在菌が織りなす免疫応答機構とその生理的意義をiSALTの観点から包括的に解析したい。

#### 後毛細血管静脈周辺(PCV)に樹状細胞が集積



#### 【研究の方法】

本研究では、遺伝子改変マウスや人工蛍光プローブ分子の開発により、皮膚の構成細胞・構造物・細胞機能を可視化し、生体応答のダイナミズムを非侵襲的に解明できる基盤技術を確立する。そして、iSALTという皮膚を場とする外的侵襲に対する生体応答を上皮細胞-免疫細胞-間質細胞の3者と皮膚常在菌の観点から理解する。その際にiSALTの形成機序とその意義の解明も図る。また、外的侵襲に対する多彩な生体応答とそれにより引き起こされる皮膚疾患の発症という因果関係の解明にも迫る。さらに、小動物で得られた結果をヒトで再検証し、ヒトの炎症性皮膚疾患の発症機序の解明に迫る。

#### 【期待される成果と意義】

本研究により、皮膚を場とする生体応答システムの理解が深まることが予想される。その理解は、外的侵襲により発症するアトピー性皮膚炎などの炎症性皮膚疾患の発症機序の解明や新規治療法の開発に発展しうる。さらに、皮膚で得られた知見を基盤として腸管や気道などの他のバリア臓器における生体システムの普遍的理解につながることも期待される。

#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- ・ Natsuaki Y, Egawa G, Nakamizo S, Ono S, Hanakawa S, Okada T, *et al.* Perivascular leukocyte clusters are essential for efficient activation of effector T cells in the skin. *Nature Immunology* 2014, **15**(11): 1064-1069.
- ・ Otsuka A, Nakajima S, Kubo M, Egawa G, Honda T, Kitoh A, *et al.* Basophils are required for the induction of Th2 immunity to haptens and peptide antigens. *Nature Communications* 2013, **4**: 1739.

#### 【研究期間と研究経費】

平成 27 年度 - 31 年度  
147,000 千円

#### 【ホームページ等】

<http://www.kuhp.kyoto-u.ac.jp/~skin/index.html>

## 【基盤研究(S)】

生物系 (医歯薬学)



### 研究課題名 包括的統合的アプローチによる日本人早期膵癌の高精度診断の具現化

大阪大学・大学院医学系研究科・教授 もり まさき  
森 正樹

研究課題番号： 15H05791 研究者番号： 70190999

研究分野： 医歯薬学

キーワード： 膵臓外科学

#### 【研究の背景・目的】

日本人癌死亡の65%は消化器癌であり、その中で最難治の代表格は膵癌である。しかし早期の段階で診断されれば、5年生存率は69%である。以上から明らかなように、膵癌の治療成績向上のためには「早期診断」が極めて重要であり、そのためには新規バイオマーカー開発による早期診断と適切な医療介入が重要である。ところが現実の問題として、早期膵癌は極めて少ないため、それらを対象とする研究は実施困難であった。そこでオールジャパン体制で戦略的・体系的にまず臨床的に転移のない早期膵癌症例を集積し高精度に解析する。

#### 【研究の方法】

現在の医療技術を上回る感度と特異度で、早期膵癌の高精度診断の新規バイオマーカーを開発する為には、期間内に可能な限り全国から日本人試料(腫瘍因子(T)=早期膵癌の血液・唾液[および可能な限り腫瘍])を収集し、三位一体として環境因子(E)・遺伝的背景(P)を吟味して俯瞰的な統合理解を得ることが重要である。全5年間で個々の因果関係を紐解きながら成果発表に合わせて知的財産整備、産業基盤の育成、広く国民への啓蒙、医療活動展開に応用する。



図1 早期膵癌に重点を据えた三位一体の研究

#### 【期待される成果と意義】

(1)膵癌は予後が悪くその克服は国民の悲願であるといえる。早期診断が極めて重要である。(2)これまで早期膵癌の研究は困難であった。その実現の為には、オールジャパン体制の戦略的な研究組織を構築し、課題解決型の総合開発事業を推進することが必須。(3)本研究は、これまで行った大腸癌と食道癌の三位一体型融合研究の経験を踏まえて、早期膵癌に

特化した行方戦略事業である。(P因子)はGWAS情報を確認後活用して(E因子)を加えることで高品質のまま開発コストを圧縮することができる。全国から早期膵癌試料(T因子)を得て三位一体融合型研究(P+E+T)を実施する。(4)早期膵癌の三位一体の研究は世界初である。(5)末梢血のmiRNA/Exosomeと癌代謝産物の重要性は学際的に注目されているが、早期膵癌の開発研究は困難であり、報告はない。

ハイリスク群の絞り込み(P・E因子)、リスク習慣の回避管理(P・E因子)、膵炎等の診療時の早期診断(P・E・T因子)、家系遺伝相談による適切な疾患理解の国民啓蒙(P因子)等に向けて基盤情報が整備され、現行の治療方針を高精度に転換させることができる。

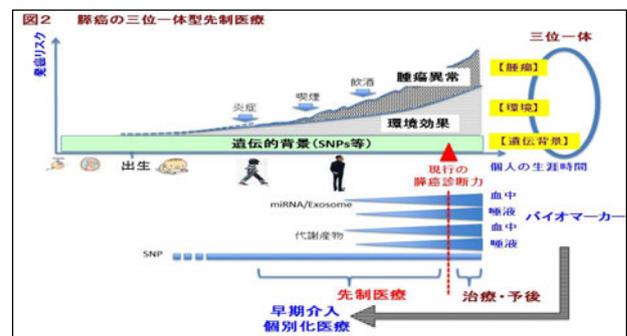


図2 膵癌の三位一体型先制医療

#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

・ Egawa S, Toma H, Ohigashi H, Okusaka T, Nakao A, Hatori T, Maguchi H, Yanagisawa A, Tanaka M. Japan Pancreatic Cancer Registry; 30th year anniversary: Japan Pancreas Society. *Pancreas*, 41(7):985-992, 2012.

#### 【研究期間と研究経費】

平成27年度-31年度  
153,800千円

#### 【ホームページ等】

<http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/gesurg/>

## 【基盤研究(S)】

### 生物系 (医歯薬学)



## 研究課題名 がん幹細胞化に關与する Sphere 形成メカニズムを標的とした革新的治療開発

九州大学・大学院医学研究院・教授 まえはら よしひこ  
前原 喜彦

研究課題番号：15H05792 研究者番号：80165662

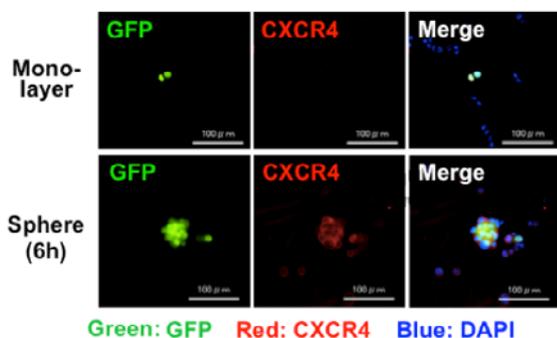
研究分野：医歯薬学

キーワード：癌、外科、細胞・組織、薬剤反応性、トランスレーショナルリサーチ

### 【研究の背景・目的】

肉眼的がん消失後の再発は、化学療法や放射線治療などに抵抗性であるがん幹細胞 (CSC) の存在を想定すると説明可能である。CSC の代表的な研究手法として sphere formation assay があるが、これは、培養系中の sphere 形成数により CSC の数を定量する方法である。しかし sphere 形成によるがん細胞の形質変化に関する具体的な分子メカニズムについては不明である。我々は、sphere 形成により細胞に誘導される種々の細胞生物学的な変化を追求する学問分野を「Sphere biology」と命名し、本研究ではそれをさらに発展・加速させ、がんを難治化へ導く Sphere 形成メカニズムを解明して治療に応用することを目的とする (図 1)。

図1 Sphere形成とCXCR4の発現



Green: GFP Red: CXCR4 Blue: DAPI  
免疫組織化学染色によってCXCR4を検出した。

### 【研究の方法】

- 1) Sphere 形成の分子生物学的機序を解明する。トランスクリプトーム、プロテオーム、メタボローム解析などによる網羅的手法による sphere 形成に必須な分子を同定する。また、文科省「化合物ライブラリーを活用した創薬等最先端研究・教育基盤の整備事業」との共同研究として、化合物ライブラリーによる Sphere 形成阻害物質の網羅的探索を行う。
- 2) Sphere 形成後の変化とがん幹細胞の關係についての解析を行う。Sphere 形成後の下流シグナル、ジェネティック・エピジェネティックな変化、遺伝子発現について解析を行う。
- 3) 臨床検体での解析を行う。当科を含め研究分担者の施設において腫瘍臓器の悪性腫瘍について臨床検体が系統的に保存されており、上記研究で同定された標的分子について発現解析を行う。

4) Sphere 形成を阻害する革新的治療法の開発を行う。標的遺伝子に相補的となる核酸を発現する遺伝子治療用センダイウイルス (SeV) ベクターを作成する。または、Sphere 形成を阻害する新たな低分子化合物が同定された場合には阻害剤の創薬を行う。

### 【期待される成果と意義】

本研究における「Sphere Biology」という新しい概念の分子生物学的観点からの理解により、がん幹細胞研究分野や再生医療分野へ直接的、間接的に成果を還元できるという点で特徴がある。本研究において、Sphere 形成とがん幹細胞の關係やがん幹細胞のニッチを同定し、これらの分子生物学的特性を解析することによって、がん幹細胞を狙い撃ちすることができる治療標的分子を同定する事が可能となる。さらに、既存の治療法と組み合わせることで、がん治療のブレイクスルーになりうる可能性がある。

治療標的分子が同定されれば、センダイウイルスを用いた遺伝子治療が計画可能である。また、低分子化合物により Sphere 形成阻害、Sphere 崩壊という新たな視点から新たな作用機序の創薬を行うことが可能になる。

### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- ・Taniguchi K, Maehara Y, et al. A gp130-Src-YAP module links inflammation to epithelial regeneration. *Nature*. 2016; 519:57-62.
- ・Morodomi Y, Maehara Y, et al. BioKnife, a uPA activity-dependent oncolytic Sendai virus, eliminates pleural spread of malignant mesothelioma via simultaneous stimulation of uPA expression. *Molecular Therapy*. 2012; 20:769-77.

### 【研究期間と研究経費】

平成 27 年度 - 31 年度  
144,000 千円

### 【ホームページ等】

<http://www.kyudai2geka.com>

