

課題番号	LS011
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成23年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	自然免疫におけるオートファジー誘導と組織恒常性維持の分子機構解析
研究機関・ 部局・職名	東北大学・大学院薬学研究科・准教授
氏名	矢野 環

1. 当該年度の研究目的

本研究は、自然免疫におけるオートファジーの誘導と、オートファジーによる組織恒常性の分子機構を解明することを目的とし、平成23年度は次の2項目についてそれぞれ目的をかかげた。
 項目1の細胞内寄生細菌であるリステリア菌感染におけるオートファジー誘導とその空間制御の分子機構の解明については、細胞内寄生細菌の感染依存的に認識分子 PGRP-LE と細胞内で複合体を形成する因子群を同定し、その機能解析をショウジョウバエ個体と培養細胞の両方を用いて解析すること、および、リステリア菌感染時に宿主細胞に発現する microRNA のクローニングを目的とした。項目2、3のオートファジーと認識分子由来シグナルの腸管恒常性における自然免疫機能解析と腸管幹細胞増殖・分化の解析については、腸内細菌叢という環境要因が、炎症性腸疾患の遺伝的要因である、オートファジーや細菌センサーの欠損により、どのように腸管炎症に寄与しているのかを解析することを目的とした。

2. 研究の実施状況

本研究の第1の目的である細胞内寄生細菌であるリステリア菌感染におけるオートファジー誘導とその空間制御の分子機構の解明においては、オートファジー誘導に機能する因子を複合体として生化学的に単離する系を構築し、細胞内寄生細菌の細胞内センサーである PGRP-LE がオートファジー関連因子 Atg8 と相互作用すると考えられている因子 ref(2)P と複合体を形成していることを示した。これは、病原体センサーとオートファゴゾーム膜上の因子と相互作用する因子が1つの複合体を形成していることを意味し、本方法でオートファジー誘導に機能する因子が生化学的に単離可能となった。また、細胞内寄生細菌を取り囲むオートファゴゾームの空間的制御に関与する microRNA 単離の系を確立し、感染依存的に機能する microRNA の同定を開始した。第2の目的である経口感染による腸管における細胞内寄生細菌感染系を用いたオートファジー誘導と細胞死、腸管幹細胞増殖・分化の解析と、第3の目的であるオートファジーと認識分子由来シグナルの腸管恒常性における自然免疫機能解析においては、2つの目的を互いに連携させて研究を推進した。ショウジョウバエで確立している組織特異的発現系 UAS-GAL4 システムを用いた RNAi 法によって腸管上皮細胞特異的にオートファジーを抑制したところ、デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 経口摂取による腸管傷害により生存率が低下すること、また、RNAi 法による腸管特異的オートファジー抑制により幹細胞分裂が増加し、それが DSS 傷害によりさらに大きく増加することを示した。これにより、ヒトのクローン病に見られるオートファジー関連因子や NOD2 といった細胞内病原体センサー遺伝子の変異による病態の原因を分子レベルで解析していくモデル系が確立され、ゲノム網羅的スクリーニングを開始した。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計2件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計1件 Intracellular recognition of pathogens and autophagy as an innate immune host defense. <i>Journal of Biochemistry</i> (2011) 150, 143-149 Tamaki Yano and Shoichiro Kurata</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計1件 ショウジョウバエを用いたオートファジーと感染・免疫の解析 矢野 環 炎症と免疫 Vol.20 No.2(2012年3月号)</p> <p>(未掲載) 計0件</p>
<p>会議発表 計5件</p>	<p>専門家向け 計5件</p> <p>1. 日本生体防御学会第22回総会 矢野環 (シンポジスト) 「細胞内増殖性病原体に対する生体防御反応としてのオートファジー誘導」 那覇、平成23年6月29日～7月1日</p> <p>2. 日本比較免疫学会第23回学術集会 矢野環、若林康介、倉田祥一郎 「ショウジョウバエ体液細胞におけるオートファジー誘導による病原体排除」 横浜、平成23年8月21日～23日</p> <p>3. 日本生化学会第84回大会 大西健太、矢野環、倉田祥一郎 「ショウジョウバエ変態期における不要組織細胞死の機構解析」 京都、平成23年9月21日～24日</p> <p>4. 日本分子生物学会第34回年会 白田陽一、塩川裕子、矢野環、大島吉輝、倉田祥一郎 「リステリア菌感染によるオートファジー誘導をおこすペプチドグリカン認識タンパク質(PGRP)-LE のドメイン解析」 横浜、平成23年12月13日～16日</p> <p>5. 日本薬学会第132年会 大西健太、矢野環、倉田祥一郎 「ショウジョウバエ変態期における自己組織の排除機構」 札幌、平成24年3月28日～31日</p> <p>一般向け 計0件</p>
<p>図書 計0件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状況 計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>http://www.pharm.tohoku.ac.jp/~seimei/most_advanced.html</p>

様式19 別紙1

<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>平成23年度ひらめきときめきサイエンス(日本学術振興会) 「東北大学サイエンス・エンジェルと触れる昆虫機能の不思議」 平成23年8月6日実施 実施場所:東北大学薬学部 対象者:高校生11名 内容: 1.昆虫を使って遺伝子の働きを実際に目でみて感じてもらう 2. 遺伝子の働きを誘導してみる 3. サイエンス・エンジェルと対話する 上記に実施分担者として参加し、参加高校生への実験指導をおこなった。</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載計0件</p>	
<p>その他</p>	<p>該当なし</p>

4. その他特記事項

平成23年度の前半は東日本大震災からの復旧が大きな課題であった。機器、試薬等の破損など、損害は決して小さくなかったが、夏までにおおよその復旧を達成し、その後は研究計画に沿った実施が可能となった。

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

1. 助成金の受領状況(累計) (単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	120,000,000	48,010,000	0	71,990,000	0
間接経費	36,000,000	14,403,000	0	21,597,000	0
合計	156,000,000	62,413,000	0	93,587,000	0

2. 当該年度の収支状況 (単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	43,941,738	0	0	43,941,738	43,852,162	89,576	0
間接経費	13,170,000	0	0	13,170,000	13,170,000	0	0
合計	57,111,738	0	0	57,111,738	57,022,162	89,576	0

3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	38,175,485	インキュベータ等実験装置、実験試薬等
旅費	238,540	研究成果発表旅費
謝金・人件費等	3,471,560	研究補助員人件費
その他	1,966,577	学会参加費、研究室利用料、実験器具修理費等
直接経費計	43,852,162	
間接経費計	13,170,000	
合計	57,022,162	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
インキュベータ	三洋電機(株)製MIR-554	1	724,500	724,500	2011/5/30	東北大学
LightCycler	(独)ロシュ・ダイアグノ スティック社製 DX400TL	1	2,877,000	2,877,000	2011/8/23	東北大学
Dual-Glo Luciferase Assay System	E2980 プロメガ 10× 100ml	1	1,890,000	1,890,000	2012/1/27	東北大学
コンパクト多機能遠心 機	ベックマン・コールター社 製 Allegra X-30R	1	840,000	840,000	2012/2/17	東北大学
LightCycler カローセル 遠心機	ロシュ・ダイアグノス ティック(株)製	1	521,640	521,640	2012/2/17	東北大学
Dual-Glo Luciferase Assay System	E2980 プロメガ 10× 100ml	1	1,890,000	1,890,000	2012/2/21	東北大学
インキュベータ	三洋電機(株)バイオメディ カ製 MIR-554	1	756,000	756,000	2012/2/23	東北大学
バイオシェーカー	(株)タイテック製 BR- 180LF	1	1,470,000	1,470,000	2012/2/24	東北大学
液体窒素保存容器	Taylor-Wharton社製 LS3000	1	583,275	583,275	2012/2/27	東北大学

ルーチン倒立顕微鏡	ライカマイクロシステムズ社製 DMIL LED HC	1	512,400	512,400	2012/2/28	東北大学
高感度・高速冷却カラーデジタルカメラシステム	ライカマイクロシステムズ社製	1	2,522,100	2,522,100	2012/2/28	東北大学
遠心式濃縮機	タイテック(株)製 VR-96	1	1,417,500	1,417,500	2012/2/29	東北大学
超高圧水銀光源	ライカマイクロシステムズ社製	2	750,750	1,501,500	2012/3/12	東北大学
高感度・高速冷却カラーデジタルカメラシステム	ライカマイクロシステムズ社製	1	2,240,700	2,240,700	2012/3/21	東北大学