

**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	上皮バリア機能を制御する細胞間接着の分子基盤の解明
研究機関・ 部局・職名	神戸大学大学院医学研究科・教授
氏名	古瀬幹夫

1. 当該年度の研究目的

前年度に引き続き、上皮細胞の細胞間接着部位のうち、3つの細胞が接する点であるトリセルラージャクション(TCJ)の分子基盤と制御機構を解明することを目的として以下の3項目を並行して進める。1)TCJの構成分子であるLSRとトリセルリンの機能を解析することによりTCJ形成のメカニズムを解明する。2)個体レベルでLSRの機能を解明するためにLSR遺伝子のコンディショナルノックアウトマウスを作製する。またTCJが発生過程における上皮細胞シートの動態に果たす役割を解析するため、LSRやトリセルリンのゼブラフィッシュにおける発現抑制系を構築する。3)血球細胞が上皮細胞シートを透過する過程におけるタイトジャンクションおよびTCJの動態を形態学的に評価できる実験系を構築する。

2. 研究の実施状況

上記研究目的の3項目について実施状況を示す。

1) TCJの構成分子LSRに類似する分子ILDR1, ILDR2がLSRと同様にTCJに関連するタンパク質であるか否かを調べた。ILDR1, ILDR2に対する特異的抗体を作製し、マウス組織におけるこれら分子の発現を解析した。その結果、ILDR1, ILDR2がそれぞれ特定の上皮においてTCJに局在すること、さらに培養上皮細胞においてこれらがトリセルリンをTCJに局在化させること、上皮バリア機能に関与することを明らかにした。2)LSR遺伝子のコンディショナルノックアウトマウスを作製する過程で、Cre発現マウスとの交配によりLSR遺伝子の一部に組み込んだlox配列が切り出されることを確認し、さらに交配を進めている。また、ゼブラフィッシュの発生過程においてトリセルリンの発現抑制を行う目的で、ゼブラフィッシュに2つあるトリセルリン遺伝子産物に対する抗体を作製した。今後発生胚における発現を確認する。3)ヒト好中球が走化性因子の濃度勾配に従ってフィルターを透過することを確認した。しかし、上皮細胞シートを形成したフィルターでは好中球の透過がまだ効率よく観察できておらず、改善のための試行錯誤を重ねている。また上皮細胞のタイトジャンクションやTCJを蛍光タンパク質で標識した上皮細胞株を作製した。

このほかに、タイトジャンクションの量的制御機構の解析のモデル系となりうるショウジョウバエの腸管上皮の細胞間結合セプテートジャンクションに特異的に存在する4回膜貫通型タンパク質Snakeskinを世界に先駆けて同定し、この分子がしセプテートジャンクション形成と腸管バリア機能に必須であることを証明した。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 7 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 7 件 Kawai Y, Hamazaki Y, Fujita H, Fujita A, Sato T, Furuse M, Fujimoto T, Jetten AM, Agata Y, Minato N. (2011). Claudin-4 induction by E-protein activity in later stages of CD4/8 double-positive thymocytes to increase positive selection efficiency. <i>Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.</i> 108(10):4075-80. Umetsu Y, Goda N, Taniguchi R, Satomura K, Ikegami T, Furuse M, Hiroaki H. 1H, 13C, and 15N resonance assignment of the first PDZ domain of mouse ZO-1. (2011). <i>Biomol. NMR Assign.</i> 5(2):207-10. Akashi M, Higashi T, Masuda S, Komori T, Furuse M. (2011). A coronary artery disease-associated gene product, JCAD/KIAA1462, is a novel component of endothelial cell-cell junctions. <i>Biochem. Biophys. Res. Commun.</i> 413(2):224-9. Miyamoto T, Furuse M, Furutani-Seiki. (2011). In vivo imaging of tight junctions using claudin-EGFP transgenic medaka. <i>M. Methods Mol Biol.</i> 762:171-8. Ohta H, Chiba S, Ebina M, Furuse M, Nukiwa T. Altered expression of tight junction molecules in alveolar septa in lung injury and fibrosis. (2012). <i>Am. J. Physiol. Lung Cell Mol Physiol.</i> 302(2):L193-205. Muto S, Furuse M, Kusano E. (2012). Claudins and renal salt transport. <i>Clin. Exp. Nephrol.</i> 16(1):61-7. Kajiya K, Kidoya H, Sawane M, Matsumoto-Okazaki Y, Yamanishi H, Furuse M, Takakura N. (2012). Promotion of lymphatic integrity by angiopoietin-1/Tie2 signaling during inflammation. <i>Am. J. Pathol.</i> 180(3):1273-82. Yanagihashi Y, Usui T, Izumi Y, Yonemura S, Sumida M, Tsukita S, Uemura T, Furuse M. (2012). A novel smooth septate junction-associated membrane protein, Snakeskin, is required for intestinal barrier function in <i>Drosophila</i>. <i>J. Cell Sci.</i> 125(8):1980-90</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 7 件</p>	<p>専門家向け 計 7 件 古瀬幹夫、増田小百合、小田裕香子 「トリセルラータイトジャンクションの分子構築」 日本顕微鏡学会第 67 回学術講演会 2011 年 5 月 16-18 日(福岡) 泉裕士、古瀬幹夫 A novel adhesion protein Mesh is essential for smooth septate junction formation and the intestinal barrier function in the <i>Drosophila</i> midgut. 第 63 回日本細胞生物学会大会 2011 年 6 月 27-29 日(札幌) 古瀬幹夫 「細胞同士の隙間を塞ぐ仕組み」 第 23 回高遠・分子細胞生物学シンポジウム 2011 年 8 月 25, 25 日 (伊那) M. Furuse. Tricellular tight junction formation. <i>International conference, Berlin 2011 "Barriers and channels formed by tight junction proteins"</i> 2011 年 9 月 22-24 日 (Berlin) M. Furuse. Molecular structure and function of the tight junction. 第 59 回国際歯科研究学会日本部会学術大会 2011 年 10 月 8, 9 日(広島) M. Furuse, Y. Oda. Cell-cell junctions in epithelial barrier function. 2011 Taiwan-Japan Joint Symposium on Cell Signaling and Gene Regulation. 2011 年 11 月 19, 20 日 (台南) T.Higashi, M.Furuse. ILDR1 and ILDR2 recruit Tricllulin to tricellular tight junctions. 2011 ASCB Annual Meeting. 2011 年 12 月 15-19 日 (Denver)</p> <p>一般向け 計 0 件</p>
<p>図書 計 0 件</p>	

様式19 別紙1

<p>産業財産権 出願・取得状 況 計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>http://www.med.kobe-u.ac.jp/cellb/</p>
<p>国民との科 学・技術対話 の実施状況</p>	<p>神戸大学大学院人間環境発達学研究科が開催する「サイエンスカフェ神戸」に参加し、「からだをつくる細胞シートのはなし」と題して、本研究の背景となる上皮、細胞接着、上皮バリア機能について、高校生5名を含む28名の一般市民の参加者に話題を提供し、対話を行った。(平成24年3月10日14-16時、神戸市庁舎) 開催報告:http://scicafe-2011.h.kobe-u.ac.jp/record/record76_90/326.html</p>
<p>新聞・一般雑 誌等掲載 計0件</p>	
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

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ず

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	115,000,000	38,420,000	0	76,580,000	0
間接経費	34,500,000	11,526,000	0	22,974,000	0
合計	149,500,000	49,946,000	0	99,554,000	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	37,103,374	0	0	37,103,374	33,345,377	3,757,997	0
間接経費	11,319,000	0	0	11,319,000	11,319,000	0	0
合計	48,422,374	0	0	48,422,374	44,664,377	3,757,997	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	12,802,442	実験試薬、消耗品器具、実験用マウス等
旅費	709,263	研究打ち合わせに係る旅費
謝金・人件費等	13,490,762	非常勤職員人件費
その他	6,342,910	動物実験施設使用料、英文校正料等
直接経費計	33,345,377	
間接経費計	11,319,000	
合計	44,664,377	

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
CO2インキュベータ	三洋電機(株)製 MCO-38AIC(UV)	1	1,842,750	1,842,750	2011.05.13	神戸大学
ハイオイメージングシステムNebula	(株)デジタルマイクロシステムズ製 EM-C2	1	2,031,750	2,031,750	2012.03.26	神戸大学
				0		