

**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	循環器システムを司る分子実体の解明
研究機関・ 部局・職名	独立行政法人理化学研究所 生命システム研究センター・循環器分子動態研究 ユニット・研究ユニットリーダー
氏名	川原 敦雄

1. 当該年度の研究目的

本研究の目的は、心臓と血管網からなる脊椎動物の循環器システムの形成機構を分子レベルで明らかにすることである。我々は、これまでに循環器系に異常を示すゼブラフィッシュ変異体を作成しているが、平成23年度は、心臓・血管発生の可視化システムと掛け合わせて、循環器不全ゼブラフィッシュの心・血管発生における病態解析を行う。さらに、ゲノムマッピング法を用いて、循環器不全ゼブラフィッシュの原因遺伝子の同定を試みる。我々は、これまで二股心臓の表現型を示す ko157 変異体の原因遺伝子(Spns2)が、脂質メディエーターの一つであるスフィンゴシン-1-リン酸(S1P)の輸送体として機能していることを明らかにしている。平成23年度は、Spns2 と機能的に相互作用する分子を同定し、S1P シグナルの循環器系における役割を明らかにする。

2. 研究の実施状況

我々は、循環器システムに異常を示すゼブラフィッシュ変異体の作成とそれらの機能解析を行ってきた。これまでに、二股心臓の表現型を示す ko157 変異体の原因遺伝子である Spns2 分子が S1P 輸送体として機能し、心臓前駆細胞の移動を制御していることを明らかとしている。平成23年度は、Spns2-S1P シグナルの循環器系での役割および未解析 ko263 変異体の機能解析を行った。

心・血管発生の可視化システムを用いた解析から、ko263 変異体が心臓のルーピング異常および体幹での動脈の形成異常を示すことが分かった。ko263 変異体のゲノムマッピングの結果、細胞内シグナル伝達分子として機能する PLC γ 1 (Phospholipase C γ 1)が破壊されていることを同定した。この PLC γ 1 は、血管形成を制御する VEGF 分子の下流で機能することが報告されている。PLC γ 1 変異体において頭部の血管発生過程においても野生型と異なる血管網の構築過程が認められており、頭部の血管形成における PLC γ 1 の役割を明らかにしたいと考えている。

Spns2 変異体において接着分子フィブロネクチン(Fibronectin)の発現異常が認められたので、Spns2 変異体とフィブロネクチン変異体との二重変異体を作成し解析を行った。フィブロネクチン変異体は、二股心臓の表現型はほとんど示さなかったが、Spns2 とフィブロネクチンの二重変異体にすることにより、心臓前駆細胞の移動不全はより顕著となった。また、フィブロネクチン変異体胚を用い S1PR2 の機能を抑制した場合、上記の二重変異体と同様の心臓発生異常が認められた。さらに、二重変異体において特異的に下顎の構造が消失することから、Spns2-S1PR2 シグナルは、接着分子であるフィブロネクチンと相互作用することにより、心臓や顎などの頭部腹側に位置する器官の形態形成を制御していると考えられた。

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 Yukiura H., Hama K., Nakagawa K., Tanaka M., Asaoka Y., Okudaira S., Arima N., Inoue A., Hashimoto T., Arai H., Kawahara A., Nishina H., Aoki J. Autotaxin regulates vascular development via multiple LPA receptors in zebrafish J. Biol. Chem. 286, 43972-43983 (2011) (掲載済み一査読無し) 計 0 件 (未掲載) 計 1 件 Kawahara A., Endo S., Dawid I.B. Vap (Vascular Associated Protein): a novel factor involved in erythropoiesis and angiopoiesis Biochem. Biophys. Res. Commun. in press (2012)</p>
<p>会議発表 計 5 件</p>	<p>専門家向け 計 4 件 川原敦雄: 脂質メディエーターの生物活性の時空間制御機構 脂質マシナリー第 2 回班会議 (兵庫県洲本市, 7/30-31, 2011) Kawahara A.: Functional analysis of zebrafish mutants defective in cardiovascular development JSPS-NOW Joint Seminar (東京都町田市, 11/4-6, 2011) 川原敦雄: 初期発生におけるスフィンゴシン-1-リン酸の機能 日本発生生物学会秋季シンポジウム (愛知県岡崎市, 12/19-21, 2011) 川原敦雄: スフィンゴシン-1-リン酸と初期発生 第 8 回宮崎サイエンスキャンプ (宮崎県宮崎市, 2/17-19, 2012) 一般向け 計 1 件 川原敦雄 心臓や血管のネットワークは、どのように形作られるのだろうか? 第 4 回サイエンスフェア in 兵庫 (兵庫県神戸市, 2/5, 2012)</p>
<p>図書 計 2 件</p>	<p>川原敦雄 ゼブラフィッシュの順遺伝学から解明された心臓形成を司る分子実体 生化学 83, 379-387 (2011) 川原敦雄 循環器系および免疫系を制御するスフィンゴシン-1-リン酸 臨床検査 56, 198-202 (2011)</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 (出願中) 計 0 件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>http://www.riken.jp/r-world/research/lab/qbic/cmd/index.html</p>
<p>国民との科 学・技術対話 の実施状況</p>	<p>2011 年 11 月 5 日: 理化学研究所一般公開において、蛍光実体顕微鏡下でゼブラフィッシュの赤血球や血管の発生過程を来場者に見せる形で、研究の内容紹介を行った。 2012 年 2 月 5 日: 第 4 回サイエンスフェアにおいて、来場した高校生や一般の方に対して研究紹介を行うとともに研究内容への質問に答える形で議論や交流を行った。 理化学研究所のホームページを通じて、研究内容に関する情報発信を行っている</p>
<p>新聞・一般雑 誌等掲載 計 0 件</p>	
<p>その他</p>	

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	114,000,000	42,000,000	0	72,000,000	0
間接経費	34,200,000	12,600,000	0	21,600,000	0
合計	148,200,000	54,600,000	0	93,600,000	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	41,451,600	0	0	41,451,600	35,497,069	5,954,531	0
間接経費	12,600,000	0	0	12,600,000	12,600,000	0	0
合計	54,051,600	0	0	54,051,600	48,097,069	5,954,531	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	31,362,697	蛍光実体顕微鏡、実験試薬、実験器具等
旅費	306,420	研究成果発表旅費(日本発生物学会)等
謝金・人件費等	3,529,647	博士研究員人件費、テクニカルスタッフ人件
その他	298,305	機器類修理等
直接経費計	35,497,069	
間接経費計	12,600,000	
合計	48,097,069	

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
CO2インキュベータ	(株)アズバイオ	1	842,625	842,625	2011/10/14	Qbic OLABB 313号室
バイオクリーンベンチ	(株)アズバイオ	1	987,000	987,000	2011/10/14	Qbic OLABB 313号室
ゲル撮影装置	白井松器械(株)	1	517,650	517,650	2011/10/06	Qbic OLABB 313号室
電動マイクロインジェクター	(株)アズバイオ	1	548,625	548,625	2011/10/28	Qbic OLABB 313号室
EM-CCDカメラ	(株)イナ・オプティ	1	1,548,750	1,548,750	2011/12/19	Qbic OLABB 313号室
バイオメディカルフリーザ	(株)アズバイオ	1	588,000	588,000	2011/11/07	Qbic OLABB 313号室
コンパクト多機能遠心機Allegra X-	(株)アズバイオ	1	924,000	924,000	2011/11/11	Qbic OLABB 313号室
貯水タンク	白井松器械(株)	1	546,000	546,000	2011/12/27	Qbic OLABB 313号室

ハイオンメーカー	(株)イナ・オプティクス	1	921,900	921,900	2011/12/26	Qbic OLABB 313号室
Applied Biosystems Veriti 96well サーマルサイクラー-0.2ml	(株)アズバイオ	1	840,000	840,000	2011/12/28	Qbic OLABB 313号室
超低温フリーザ、他 実験室用機器	(株)アズバイオ	1	1,411,200	1,411,200	2012/01/16	Qbic OLABB 313号室
微量高速冷却遠心機、他 生化学	(株)アズバイオ	1	1,345,050	1,345,050	2012/01/16	Qbic OLABB 313号室
水質コントロールボックス	白井松器械(株)	1	628,425	628,425	2012/01/24	Qbic OLABB 313号室
小型魚類水槽ラック	白井松器械(株)	1	1,526,175	1,526,175	2012/02/24	Qbic OLABB 313号室
日本ローバー-sCOMSカメラ 1280×1024 24MHz USB	オリンパスメディカルサイエンス販売	1	654,675	654,675	2012/02/22	Qbic OLABB 313号室
単穴レボルバ	オリンパスメディカルサイエンス販売	1	694,575	694,575	2012/02/08	Qbic OLABB 313号室
電動ズーム顕微鏡	和研薬(株)	1	3,990,000	3,990,000	2012/03/30	Qbic OLABB 313号室
フレークアイスメーカー(製氷機)	(株)アズバイオ	1	514,500	514,500	2012/02/28	Qbic OLABB 313号室
超純水製造装置Direct-QUV	(株)アズバイオ	1	522,270	522,270	2012/03/26	Qbic OLABB 313号室