

課題番号	LS016
------	-------

**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24年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	病態関連膜脂質代謝の最先端研究—医薬応用への戦略的展開—
研究機関・ 部局・職名	秋田大学・大学院医学系研究科・教授
氏名	佐々木 雄彦

1. 当該年度の研究目的

本研究は、A)PIs 代謝酵素の病態生理的役割の解明、B)PIs 代謝酵素欠損マウスシリーズの開発、C)脂肪酸構成を異にするPIs 亜種の概念構築、という3つの項目に分類される。個々の目的や進行状況を記すが、実際にはこれらは相互に関連しており、包括、連携した研究を行う(例:C での技術開発のために A と B の遺伝子欠損マウスを利用するなど)。

A)前年度に引き続き、病態関連表現型から酵素の病態生理的役割を解明することを目的とした。

B)前年度から20の酵素をコードする遺伝子について欠損マウスの作製を同時に進めている。引き続き系統の樹立を目的とした。

C)PIP3 の高感度定量解析系の確立を完成させることを目的とした。

2. 研究の実施状況

A)主に以下の二点、PI3P 生成酵素 PIK3C の T 細胞がんへの関与とタンパク質分解系における役割、PI(3,5)P<sub>2</sub> 生成酵素 PIPKIII の腸上皮細胞での欠損による栄養障害と炎症性腸疾患などの分子基盤に着目して、解析を進めた。PIK3C3 はがん抑制遺伝子 PTEN の欠損による T 細胞発がんにより必要であり、PIK3C3 の欠損は、この発がんを抑制することが明らかになった。その分子メカニズムについて、現在解析を継続している。PIPKIII が腸上皮細胞において、アピカル膜へのタンパク質輸送、オートファゴソームの成熟を制御することなどを明らかにした。その成果は 24 年度に PNAS 誌に報告した。

B) 20 の PIs 代謝酵素について遺伝子欠損マウスの作製を計画していたが、さらに4系統を加えて作製を進めている。ターゲティングベクター完成 23 件、マウス胚性幹細胞での変異導入 19 件、キメラマウス 11 件、変異マウス系統樹立 7 件である。病態生理機能解析では、PIP<sub>3</sub> 分解酵素 Ship1 欠損による肺炎や Pten 欠損による発がんなどの症状が、PIP<sub>3</sub> のアシル基構成に依存することを示唆する、新しい知見を得ている。

C) 逆相液体クロマトグラフィー/質量分析法により、PIP<sub>3</sub> に結合している脂肪酸分子種を含めた定量分析法の開発に成功した。定量感度は数百 fmol であり、ヒト検体をはじめとする幅広い試料に適用できる、non-isotopic、絶対定量の方法である。選択的反応モニタリングにより、特に 17 の PIP3 分子種について、様々な培養細胞株を用いて、PIP3 の定量解析を行った。その結果、PIP3 が極めて高いレベルで蓄積している特異な細胞株や、通常はアラキドン酸含有分子種が主要な PIP3 分子種であるが、エイコサトリエン酸含有分子種が異常蓄積している細胞株などを見出すことができた。また、アレルギー性疾患、癌(前立腺、腎臓)などについて、ヒト臨床検体での PIP3 の定量解析にむけて、倫理委員会への申請を行っている。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 13 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 13 件</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>•Morishita, H., Eguchi, S., Kimura, H., Sasaki, J., Sakamaki, Y., Robinson, ML., Sasaki, T., Mizushima, N. Deletion of autophagy-related 5 (Atg5) and Pik3c3 genes in the lens causes cataract independent of programmed organelle degradation. <i>J Biol Chem.</i> 288, 11436–11447 (2013)</li> <li>•Takasuga, S., Horie, Y., Sasaki, J., Sun-Wada, GH., Kawamura, N., Iizuka, R., Mizuno, K., Eguchi, S., Kofuji, S., Kimura, H., Yamazaki, M., Horie, C., Odanaga, E., Sato, Y., Chida, S., Kontani, K., Harada, A., Katada, T., Suzuki, A., Wada, Y., Ohnishi, H., Sasaki, T. Critical roles of type III phosphatidylinositol phosphate kinase in murine embryonic visceral endoderm and adult intestine. <i>Proc. Natl. Acad. Sci.</i> 110, 1726–1731 (2013)</li> <li>•Chida, S., Itoh, R., Kofuji, S., Eguchi, S., Takasuga, S., Sasaki, J., Sasaki, T. SHIP1 deletion enhances ROS production and decreases survival of the <i>S.aureus</i> infected mice. <i>Akita J Med.</i> 39, 95–101 (2012)</li> <li>•Asanuma, K., Takasuga, S., Sasaki, J., Sasaki, T. Phosphatidylinositol 3,5-bisphosphate is an essential regulator of lysosome morphology. <i>Akita J Med.</i> 39, 129–137 (2012)</li> <li>•Biswas, K., Yoshioka, K., Asanuma, K., Okamoto, Y., Takuwa, N., Sasaki, T., Takuwa, Y. Essential role of class II PI3K-C2<math>\alpha</math> in sphingosine-1-phosphate receptor-1 mediated signaling and migration in endothelial cells. <i>J Biol Chem.</i> 288, 2325–2339 (2012)</li> <li>•Ichikawa, A., Kuba, K., Morita, M., Chida, S., Tezuka, H., Hara, H., Sasaki, T., Ohteki, T., Ranieri, VM., Dos Santos, CC., Kawaoka, Y., Akira, S., Luster, AD., Lu, B., Penninger, JM., Uhlig, S., Slutsky, AS., Imai, Y. CXCL10-CXCR3 enhances the development of neutrophil-mediated fulminant lung injury of viral and non-viral origin. <i>Am J Respir Crit Care Med.</i> 187, 65–77 (2012)</li> <li>•Neely, GG., Rao, S., Costigan, M., Mair, N., Racz, I., Milinkeviciute, G., Meixner, A., Nayanala, S., Griffin, RS., Belfer, I., Dai, F., Smith, S., Diatchenko, L., Marengo, S., Haubner, BJ., Novatchkova, M., Gibson, D., Maixner, W., Pospisilik, JA., Hirsch, E., Whishaw, IQ., Zimmer, A., Gupta, V., Sasaki, J., Kanaho, Y., Sasaki, T., Kress, M., Woolf, CJ., Penninger, JM. Construction of a global pain systems network highlights phospholipid signaling as a regulator of heat nociception. <i>PLoS Genet.</i> 8, e1003071 (2012)</li> <li>•Nishio, M., Hamada, K., Kawahara, K., Sasaki, M., Noguchi, F., Chiba, S., Mizuno, K., Suzuki, SO., Dong, Y., Tokuda, M., Morikawa, T., Hikasa, H., Eggenschwiler, J., Yabuta, N., Nojima, H., Nakagawa, K., Hata, Y., Nishina, H., Mimori, K., Mori, M., Sasaki, T., Mak, TW., Nakano, T., Itami, S., Suzuki, A. Cancer susceptibility and embryonic lethality in Mob1a/1b double-mutant mice. <i>J Clin Invest.</i> 122, 4505–4518 (2012)</li> <li>•Lee, HC., Inoue, T., Sasaki, J., Kubo, T., Matsuda, S., Nakasaki, Y., Hattori, M., Tanaka, F., Udagawa, O., Kono, N., Itoh, T., Ogiso, H., Taguchi, R., Arita, M., Sasaki, T., Arai, H. LPIAT1 regulates arachidonic acid content in phosphatidylinositol and is required for cortical lamination in mice. <i>Mol Biol Cell.</i> 23, 4689–4700 (2012)</li> <li>•Kawamura, N., Sun-Wada, GH., Aoyama, M., Harada, A., Takasuga, S., Sasaki, T., Wada, Y. Delivery of endosomes to lysosomes via microautophagy in the visceral endoderm of mouse embryos. <i>Nature Commun.</i> 3:1071. doi: 10.1038/ncomms2069 (2012)</li> <li>•Yoshioka, K., Yoshida, K., Cui, H., Wakayama, T., Takuwa, N., Okamoto, Y., Du, W., Qi, X., Asanuma, K., Sugihara, K., Aki, S., Miyazawa, H., Biswas, K., Nagakura, C., Ueno, M., Iseki, S., Schwartz, R., Okamoto, H., Sasaki, T., Matsui, O., Asano, M., Adams, R., Takakura, N., Takuwa, Y. Essential role of endothelial class II PI3K-C2<math>\alpha</math> in angiogenesis and vascular barrier function. <i>Nature Med.</i> 18, 1560–1569 (2012)</li> <li>•Shinohara, M., Nakamura, M., Masuda, H., Hirose, J., Kadono, Y., Iwasawa, M., Nagase, Y., Ueki, K., Kadowaki, T., Sasaki, T., Kato, S., Nakamura, H., Tanaka, S., Takayanagi, H. Class IA phosphatidylinositol 3-kinase regulates osteoclastic bone resorption through Akt-mediated vesicle transport. <i>J Bone Miner Res.</i> 27, 2464–2475 (2012)</li> <li>•Kurokawa, T., Takasuga, S., Sakata, S., Yamaguchi, S., Horie, S., Homma, KJ., Sasaki, T., Okamura, Y. 3' Phosphatase activity toward phosphatidylinositol 3,4-bisphosphate [PI(3,4)P<sub>2</sub>] by voltage-sensing phosphatase (VSP). <i>Proc. Natl. Acad. Sci.</i> 109, 10089–10094 (2012)</li> </ul> <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 0 件</p>
------------------------	---

様式19 別紙1

<p>会議発表 計 6 件</p>	<p>専門家向け 計 6 件          ・EuroMEMBRANE International Conference “Membrane Dynamics in Physiology and Disease”平成 24 年 6 月 5 - 8 日 University of Basel, Switzerland 「Phosphoinositide phosphatases」 Takehiko Sasaki          ・第 11 回 生命科学研究会 平成 24 年 6 月 29-30 日 秋田 「PGP ホスファターゼの発見とその生理機能について」 高須賀俊輔、浅沼研、木村洋貴、高須賀緑、中西広樹、佐々木純子、佐々木雄彦、<u>オーガナイズ</u>          ・第 35 回日本神経科学大会 平成 24 年 9 月 18-21 日 名古屋 シンポジウム「神経系における脂質シグナリングの重要性」 「Phosphatidylinositol 3,4-bisphosphate metabolism in excitotoxic neuronal death」 佐々木雄彦、佐々木純子          ・第 24 回 青森県内分泌研究会 平成 24 年 10 月 13 日 弘前 「イノシトールリン脂質による生体調節機構」 佐々木雄彦          ・NCBS international meeting “Inositide signalling in health and disease” 平成 24 年 11 月 28 日 - 12 月 2 日 Orange County Resort. Coorg, INDIA 「Identification of a novel substrate for phosphoinositide phosphatases」 Takehiko Sasaki          ・日本薬学会 第 133 年会 平成 25 年 3 月 27-30 日 横浜 シンポジウム「脂質バイオロジーの最前線」「イノシトールリン脂質脱リン酸化酵素の新しい基質」 佐々木雄彦          一般向け 計 0 件</p>
<p>図 書 計 2 件</p>	<p>・河原康一、西尾美希、佐々木雅人、前濱朝彦、佐々木雄彦、古後龍之介、三森功士、森 正樹、鈴木 聡 (2012) PICT1 による核小体ストレス経路を介した p53 と腫瘍進展制御～腫瘍予後マーカーや今後の創薬応用にむけて～. 遺伝子 Mook22 号 最新疾患モデルと創薬応用研究の最前線 260-265          ・西尾美希、佐々木雄彦、鈴木聡(2012) PTEN 変異による発がんモデル. 疾患モデルの作製と利用ーがん(エル・アイ・シー社)ー145-171</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><a href="http://www.med.akita-u.ac.jp/~bisei/">http://www.med.akita-u.ac.jp/~bisei/</a></p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>1. インターネット上での研究成果の継続的な発信          秋田大学ホームページ内に「最先端・次世代研究開発支援プログラム」専用サイトにより、研究内容や各種イベントの開催について情報発信を実施。          2. 大学関係者・一般を対象とした講演会等での研究内容発表          「秋田大学生体情報研究センター設置記念講演会・式典・シンポジウム」にてパネル展として、研究発表会を実施。(平成24年8月30日・31日)          参加者164名(学内140名, 学外24名)          開催場所: 秋田キャッスルホテル          3. 企業関係者等一般を対象とした産学官合同フォーラムでの研究内容発表          「あきた産学官連携フォーラム 2012」のパネル展として、研究発表会を実施。(平成25年1月16日)参加者192名          開催場所: にぎわい交流館「あう」          4. 企業関係者等一般を対象とした合同フォーラムでの研究内容発表          「秋田大学合同フォーラム」ポスターセッションの特別企画として、研究発表会を実施。(平成25年2月27日)参加者148名(学内97名, 学外51名)          開催場所: 秋田ビューホテル</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載 計 1 件</p>	<p>秋田魁新報、平成 25 年 1 月 19 日、「炎症性腸疾患、新たな発症機構解明」、26 面</p>
<p>その他</p>	<p></p>

4. その他特記事項

## 実施状況報告書(平成24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	134,000,000	50,850,000	41,550,000	41,600,000	0
間接経費	40,200,000	15,255,000	12,465,000	12,480,000	0
合計	174,200,000	66,105,000	54,015,000	54,080,000	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	3,997,407	41,550,000	0	45,547,407	45,338,631	208,776	0
間接経費	3,754,926	12,465,000	0	16,219,926	2,956,092	13,263,834	0
合計	7,752,333	54,015,000	0	61,767,333	48,294,723	13,472,610	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	13,853,574	質量分析装置、実験試薬、プラスチック器具等
旅費	149,030	研究成果発表旅費
謝金・人件費等	18,398,327	技術補佐員人件費
その他	12,937,700	動物実験施設等学内共同利用施設利用料
直接経費計	45,338,631	
間接経費計	2,956,092	
合計	48,294,723	

## 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
MS/MSシステム	サーモフィッ シャーサイエン	1	10,682,700	10,682,700	2013/3/22	秋田大学
窒素ガス発生装置	エアテック社 AT-24NC	1	1,316,700	1,316,700	2013/3/22	秋田大学
				0		