

課題番号	LS036
------	-------

**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25年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	シグナルの新たな作動原理とその異常による炎症・自己免疫疾患発症メカニズムの解明
研究機関・ 部局・職名	東京大学・大学院薬学系研究科・特任准教授
氏名	松沢 厚

1. 当該年度の研究目的

前年度では、免疫シグナルの制御にとって重要な役割を果たすイムノシグナロソーム(免疫シグナル複合体)の様々な複合体構成因子を、独自に確立したスクリーニング系・実験系を用いることで、網羅的に同定することができた。本年度は、前年度までに同定した、幾つかの新たな複合体構成因子の機能解析を行い、特に解析が先行しているASK1シグナル複合体を中心としたシグナル伝達における役割と生理機能について、さらに分子生物学的・生化学的な解析により、明らかにすることを目標とした。それらの複合体構成因子のノックダウン、ノックアウトを行った細胞やモデル動物を用いて、実際に、免疫疾患の創薬ターゲットとしての可能性について検証したい。

2. 研究の実施状況

免疫応答の多様性は、シグナル分子の分子間相互作用の場であるイムノシグナロソーム(免疫シグナル複合体)での、多彩な複合体構成因子間の相互の調節によって生み出される。本研究では、これらの多彩な複合体構成因子の同定と機能解析によって、多様な免疫シグナル制御の仕組みを明らかにし、その破綻による免疫疾患の原因を分子レベルで解明し、創薬や疾患治療法開発に繋げたいと考えている。

本年度では、独自のスクリーニング系・実験系を用いて、前年度に新たに同定した複合体構成因子について、その機能解析による生理機能の解明、およびノックダウン、ノックアウトを行った細胞やモデル動物を用いて、免疫疾患の創薬ターゲットとしての可能性を検証した。具体的には、解析が先行しているASK1キナーゼの複合体構成因子として同定した幾つかのユビキチン化酵素について解析を行った結果、そのうちの一つRoquin-2(RC3H2)が、これまで未同定であったASK1に特異的なユビキチン化酵素であり、実際に刺激依存的にASK1のユビキチン化分解を促進し、持続的活性化を抑制することで、ASK1誘導性の細胞死を抑える働きがあることを証明した。また、本酵素を欠損した線虫は緑膿菌感染に対して脆弱であることを見出し、本酵素がASK1活性化を介した免疫応答を制御できる創薬標的としての可能性も示唆された。これとは別に、DNAヘリカーゼでASK1活性化因子として同定したDHX15も、そのノックダウンによって、炎症シグナルやサイトカイン産生が抑制されることから、免疫疾患の治療標的分子となる可能性がある。以上の成果は、下記の **Science Signaling** 誌を含む幾つかの論文として発表することができた。さらに、ASK1活性化促進因子としてTRIM48という別なユビキチン化酵素も見出し、この酵素の

様式19 別紙1

生理機能を解析することで、免疫シグナルの制御機構の詳細な解明を進めている。また、ASK1 の創薬標的としての妥当性についても、キナーゼの ATP 結合部位に変異を入れたキナーゼ変異体のノックインマウスである、ASKA マウスを用いて検討した。ASKA マウスにおいては、ATP アナログを阻害剤として用いることができ、その ATP アナログを ASKA マウスに投与することにより、代表的な免疫疾患モデルである接触性皮膚炎モデルの症状が軽減すること、その作用が主に炎症性の T 細胞の抑制などによるものであることを見出しており、このような ASKA マウスを用いた薬理的解析結果から、さらに ASK1 および ASK1 複合体構成因子の創薬標的としての妥当性を明らかにできると考えている。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文</p> <p>計 3 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 3 件</p> <p>Mosallanejad K, Sekine Y, Ishikura-Kinoshita S, Kumagai K, Nagano T, Matsuzawa, A., Takeda K, Naguro I, Ichijo H. The DEAH-Box RNA helicase DHX15 activates NF-κB and MAPK signaling downstream of MAVS during antiviral responses. Science Signaling, 7, ra40 (2014).</p> <p>Maruyama, T., Araki, T., Kawarazaki, Y., Naguro, I., Heynen, S., Aza-Blanc, P., Ronai, Z., Matsuzawa, A., Ichijo, H. Roquin-2 promotes ubiquitin-mediated degradation of ASK1 to regulate stress responses. Science Signaling, 7, ra8 (2014).</p> <p>Homma, K., Fujisawa, T., Tsuburaya, N., Yamaguchi, N., Kadowaki, H., Takeda, K., Nishitoh, H., Matsuzawa, A., Naguro, I., Ichijo, H. SOD1 as a molecular switch for initiating the homeostatic ER stress response under zinc deficiency. Molecular Cell, 52, 75-86 (2013).</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</p> <p>計 8 件</p>	<p>専門家向け 計 8 件</p> <p>●招待講演 松沢厚, 一條秀憲:酸化ストレス応答キナーゼ ASK1 の活性制御機構と生理機能, 第 66 回日本酸化ストレス学会(シンポジウム), 2013.6.13-14, 名古屋</p> <p>●国内学会 松沢厚, 片桐一美, 一條秀憲:新規ユビキチンリガーゼによるストレス応答キナーゼ ASK1 の制御と生理機能の解明, 第 36 回日本分子生物学会大会, 2013.12.3-6, 神戸</p> <p>岡田匡央, 松沢厚, 一條秀憲:リソソーム破裂によって活性化するキナーゼは NLRP3 インフラマソームの活性化を制御する, 第 12 回次世代を担う若手ファーマ・バイオフォーラム 2013, 2013.9.14-15, 東京</p> <p>松沢厚, 片桐一美, 一條秀憲:新規ユビキチンリガーゼによるストレス応答キナーゼ ASK1 の活性化と生理機能の解明, 第 86 回日本生化学会大会, 2013.9.11-13, 横浜</p> <p>岡田匡央, 松沢厚, 一條秀憲:リソソーム破裂によって活性化するキナーゼは NLRP3 インフラマソームの活性化を制御する, 第 86 回日本生化学会大会, 2013.9.11-13, 横浜</p> <p>曾我真弓, 服部一輝, 丸山剛, 松沢厚, 一條秀憲:炎症応答における ASK2 の機能解析, 第 86 回日本生化学会大会, 2013.9.11-13, 横浜</p> <p>岡田匡央, 松沢厚, 一條秀憲:リソソーム破裂によって活性化するキナーゼは NLRP3 インフラマソームの活性化を制御する, 第 5 回シグナルネットワーク研究会, 2013.8.30-31, 札幌</p>

様式19 別紙1

	<p>松沢厚: 活性酸素の濃度変化の感知・応答システムと制御機構の解明, 平成 24 年度長瀬科学技術振興財団受賞者研究成果発表会, 2013.4.25, 大阪</p> <p>一般向け 計 0 件</p>
<p>図書</p> <p>計 0 件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状 況</p> <p>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>(・研究室ウェブページに、最先端・次世代研究開発支援プログラムにおける本研究の研究目的・研究方針・研究成果などを掲載。 URL: http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~toxicol/previous/saisentan-matsuzawa.html)</p>
<p>国民との科 学・技術対話 の実施状況</p>	<p>●2013年8月8日 12:45~13:15, 13:20~13:50, 東京大学大学院薬学系研究科にて, 高校生(10名程度, 2班): 薬学研究の説明と実際の現場を見学(オープンキャンパス開催時に集まってもらった高校生を対象に、自分が行っている現在の具体的な研究内容について説明を行い、実際の研究室での研究の様子や研究データの一部、そして実習の現場を体験してもらった)</p>
<p>新聞・一般雑 誌等掲載 計 1 件</p>	<p>2014.1.23 マイナビニュースにて掲載「東大、シグナル伝達分子 ASK1 の分解を促進するタンパク質「Roquin-2」を発見」(URL: http://news.mynavi.jp/news/2014/01/23/094/) (他に幾つかのオンラインニュースにも掲載)</p>
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成25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	119,000,000	80,200,000	38,800,000	0	0
間接経費	35,700,000	24,060,000	11,640,000	0	0
合計	154,700,000	104,260,000	50,440,000	0	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	8,554,244	38,800,000	0	47,354,244	47,354,244	0	0
間接経費	5,820,000	11,640,000	0	17,460,000	17,460,000	0	0
合計	14,374,244	50,440,000	0	64,814,244	64,814,244	0	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	34,186,845	オートクレーブ、試薬、マウス等
旅費	1,226,110	研究成果発表旅費(日本Cell Death、京都大学)
謝金・人件費等	6,478,001	研究員1名人件費他謝金
その他	5,463,288	学会参加費、英文校正料等
直接経費計	47,354,244	
間接経費計	17,460,000	
合計	64,814,244	

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
オートクレーブ	LSX-700/ト ミー精工社製	1	696,150	696,150	2013/6/12	東京大学
バイオクリーンベンチ	MCV-B131F -PJ/パナソ ニックヘルスケ ア(株)	1	1,333,500	1,333,500	2013/5/13	東京大学
セーフティラック	SCL-1(20 ケージ収容)/ オリエンタル技 研工業(株)	1	1,554,000	1,554,000	2013/5/28	東京大学
超低温フリーザー	MDF-C2156 VA-PJ(貯蔵 ラック・貯蔵ボ ックスフルセット) /パナソニック ヘルスケア(株)	1	3,391,500	3,391,500	2013/4/12	東京大学
ベックマン DTCSク イックスタートキット (消耗品)		1	756,000	756,000	2013/5/2	東京大学
小動物用代謝計測4c hシステム	MK-5000R Q/室町機械社 製	1	9,187,500	9,187,500	2013/12/25	東京大学

CellInsight Personal Cell Imager	NX11110 / サーモフィッ シャーサイエン ティフィック社製	1	11,930,100	11,930,100	2013/12/10	東京大学
----------------------------------	--	---	------------	------------	------------	------