

**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	生体リズム学を基盤とする時間医薬イノベーション
研究機関・ 部局・職名	京都大学・薬学研究科・准教授
氏名	土居 雅夫

1. 当該年度の研究目的

生体リズム学に基づく時間医薬研究の展開を目指し、生体リズムを積極的に変更・調整するための医薬品開発と、生体リズムの破綻がもたらす疾病の分子メカニズムの解明およびそのヒトへの応用という研究課題を立案し、次のような計画を立てた。すなわち、生体リズム調整薬の開発へ向けたオーファンG蛋白質共役受容体のリガンド検索、ならびに脳内中枢時計 SCN における本受容体シグナル下流の遺伝子発現解析、特異的抗体を用いた受容体陽性ニューロンの SCN 内ネットワーク構造の同定を行う他、生体リズム疾患の最重要テーマとして、生体リズム異常により引き起こされる高アルドステロン血症性高血圧 (Doi et al, Nature Med., 2010) に着目し、時計遺伝子に制御されるアルドステロン合成系酵素特異的サブタイプ HSD3B1 を指標にした難治性疾患「特発性アルドステロン症」の診断・治療法の確立を目指すトランスレーショナルリサーチおよびそのための基礎研究を実施した。またさらに、生体リズム疾患に対する治療薬の新たな分子標的を見出すため、時差症候群ならびに RNA レベルの化学修飾に着目した研究を行った。

2. 研究の実施状況

上記計画に従って課題を遂行した結果、順調に研究が進み、下記の成果を得た。とくに、これまで取得の困難であったリガンド応答能を有する GPR 安定発現細胞株の樹立に成功し、これによって、ラットの脳抽出液の特定の HPLC 精製画分に当該受容体のリガンドが含まれることを明らかにした。また本受容体シグナル下流の時計遺伝子制御、ならびに SCN 内における本受容体陽性ニューロンの空間分布を特定することに成功した。アルドステロン症の臨床応用研究においても大きな研究成果を得た。すなわち我々は、原発性アルドステロン症の 2 大病変である APA (aldosterone-producing adenoma) と IHA (idiopathic hyperaldosteronism) には互いに異なるアルドステロン合成系酵素が発現することを明らかにし、その両者の分子機構の違いに基づいた鑑別法を開発した (J Clin Endocrinol Metab 2014; Mol Cell Endocrinol 2014)。我々が作製した HSD3B1 と HSD3B2 という IHA と APA のそれぞれに特異的な分子マーカーに対する超選択的抗体を用いれば本症の正確な判別が可能となる (特許出願)。またさらに、今年度は 2011 年に報告した目覚まし蛋白質 RGS16 (Nature Commun 2011) に続き、時差ボケ解消因子 V1aV1b を新たに発見した (Science 2013) ほか、RNA のメチル化修飾が体内時計のスピードを制御する新たな調節系となることを明らかにした (Cell 2013)。これらの発見は、生体リズム調整薬の新たな分子標的を提供するものといえる。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 5 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 5 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <u>Doi M</u>#, Satoh F, Maekawa T, Nakamura Y, Fustin JM, Tainaka M, Hotta Y, Takahashi Y, Morimoto R, Takase K, Ito S, Sasano H and Okamura H#: Isoform-specific monoclonal antibodies against 3β-hydroxysteroid dehydrogenase/isomerase family provide markers for subclassification of human primary aldosteronism. J. Clin. Endocrinol. Metab. 99, E257–E262 (2014) (#corresponding authors) 2. Nugrahaningsih DAA, Emoto N, Vignon-Zellweger N, Purnomo E, Yagi K, Nakayama K, <u>Doi M</u>, Okamura H and Hirata KI: Chronic hyperaldosteronism in Cryptochrome null mice induces high-salt- and blood pressure-independent kidney damage in mice. Hypertension Res. 37, 202-209 (2014) 3. Yamamura K*, <u>Doi M</u>*#, Hayashi H, Ota T, Murai I, Hotta Y, Komatsu R and Okamura H#: Immunolocalization of murine type VI 3β-hydroxysteroid dehydrogenase in the adrenal gland, testis, skin, and placenta. Mol. Cell. Endocrinol. 382, 131-138 (2014) (#corresponding authors, *equally contributing authors) 4. Fustin JM, <u>Doi M</u>, Yamaguchi Y, Hayashi H, Nishimura S, Yoshida M, Isagawa T, Morioka MS, Kakeya H, Manabe I and Okamura H: RNA-methylation-dependent RNA processing controls the speed of the circadian clock. Cell 155, 793-806 (2013) 5. Yamaguchi Y, Suzuki T, Mizoro Y, Kori H, Okada K, Chen Y, Fustin JM, Yamazaki F, Mizuguchi N, Zhang J, Dong X, Tsujimoto G, Okuno Y, <u>Doi M</u> and Okamura H: Mice genetically deficient in Vasopressin V1a and V1b receptors are resistant to jet lag. Science 342, 85-90 (2013) <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件 (未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 14 件</p>	<p>専門家向け 計 12 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <u>Doi M</u>: Clock and steroid metabolism in mouse and human diseases. The 3rd International Symposium on Molecular Clock, Kyoto, March 29, 2014 [chair and speaker] 2. <u>Doi M</u>: Circadian G-protein Signaling in the Suprachiasmatic Nucleus. The 2nd Bristol -Kyoto Symposium, Kyoto, January 9, 2014 [chair and speaker] 3. <u>Doi M</u>, Yamamura K, Hayashi H, Murai I, Ota T, Hotta Y, Komatsu R, and Okamura H: Immunohistochemistry of murine type IV 3β-hydroxysteroid dehydrogenase in adrenal, skin, testis, placenta, and ovary. The 39th Meeting of the International Aldosterone Conference, San Francisco, USA, June 13-14, 2013 [poster]. 4. Ota T, <u>Doi M</u>, Okamura H: Adrenal Zona Glomerulosa Cells Exhibit Cell-Autonomous Circadian Oscillations. The 39th Meeting of the International Aldosterone Conference, San Francisco, USA, June 13-14, 2013 [poster]. 5. <u>Doi M</u>, Okamura H: Circadian G protein Signaling in the Suprachiasmatic Nucleus. Gordon Research Conference, Molecular Pharmacology, Lucca, Italy, April 30, 2013 [poster]. 6. <u>Doi M</u>, Sato F, Sasano H, Okamura H: Clock Gene, Aldosterone and Hypertension, Keystone Symposia, Molecular Clockworks and the Regulation of Cardio-Metabolic Function. Snowbird, USA, April 3-7, 2013 [symposium]. 7. 村井伊織, <u>土居雅夫</u>, 堀田韻虹, 岡村均: 視交叉上核における VPAC2 受容体の発現分布: 新規 VPAC2 受容体抗体の作製と免疫組織化学. 第 20 回日本時間生物学会年会、東大阪、2013 年 11 月 9 日 (ポスター) 8. <u>土居雅夫</u>, 岡村均: 生体リズム異常に伴う高血圧発症メカニズムー原発性アルドステロン症の原因診断学の再構築を目指してー第 86 回日本生化学会大会、横浜、2013 年 9 月 11 日 (シンポジウム) 9. <u>土居雅夫</u>: 新たな生体リズム調整薬の開発を目指して. 第 6 回東京アンチエイジングアカデミー、東京、2013 年 6 月 27 日 (講演) 10. 松尾雅博, 瀬尾和志, Jean-Michel Fustin, <u>土居雅夫</u>, 山口賀章, 岡村均: 電位依存性カルシウムチャネル制御ユニットα2δ3 の生体リズム調節機構に関する研究. Neuro2013、京都、2013 年 6 月 21 日 (ポスター) 11. 岡村均, 河野雄平, 神出 計, 笹野公伸, <u>土居雅夫</u>, 江本憲昭, 成瀬光栄, 角谷寛: ゲノム解析による原発性アルドステロン症の原因診断学の再構築. 第 86 回日本内分泌学会学術総会、仙台、2013 年 4 月 26 日 (シンポジウム)

様式19 別紙1

	<p>12. <u>土居雅夫</u>: 不眠症・生活習慣病への挑戦ー生体リズム調整薬の開発を目指してー 第86回日本内分泌学会学術総会、仙台、2013年4月25日(シンポジウム)</p> <p>一般向け 計2件</p> <p>1. <u>土居雅夫</u>: 生体リズム学を基盤とする時間医薬イノベーション. FIRST シンポジウム「科学技術が拓く2030年」へのシナリオ、東京、2014年2月28日(ポスター)</p> <p>2. <u>土居雅夫</u>: 14歳からの創薬科学. 京都大学オープンキャンパス2013最先端・次世代研究開発支援プログラム展示コーナー、京都、2013年8月7日(ポスター)</p>
<p>図書</p> <p>計7件</p>	<p>1. <u>土居雅夫</u>, <u>岡村均</u>: 時計遺伝子 Clock genes. 医学のあゆみ (印刷中)</p> <p>2. <u>土居雅夫</u>: 高等動物の生物時計 光と生命の事典 朝倉書店 (印刷中)</p> <p>3. <u>岡村均</u>, <u>土居雅夫</u>: 生体リズムと高血圧. 循環 Plus (印刷中)</p> <p>4. <u>岡村均</u>, <u>土居雅夫</u>: 原発性アルドステロン症のトランスレーショナルリサーチ. 医学のあゆみ 247, 615-620 (2013)</p> <p>5. <u>土居雅夫</u>: 時計遺伝子と生体リズム調節分子. 日本臨床 Nihon Rinsho 71, 2069-2075 (2013)</p> <p>6. <u>岡村均</u>, <u>土居雅夫</u>: 生体リズム異常による高アルドステロン血症と血圧の多層的制御機構. 血圧 20, 755-761 (2013)</p> <p>7. <u>土居雅夫</u>, <u>岡村均</u>: 特発性アルドステロン症と時計遺伝子. 月刊 Current Therapy 30, 726-732 (2013)</p>
<p>産業財産権 出願・取得状況</p> <p>計1件</p>	<p>(取得済み) 計0件 (出願中) 計1件</p> <p>1. 特許出願(国際特許): PCT/JP2013/076787: <u>岡村均</u>, <u>土居雅夫</u>, 佐藤文俊, 笹野公伸, 森本玲, 伊藤貞嘉, 中村保宏 「原発性アルドステロン症の検出方法及びモノクローナル抗体」 国立大学法人 京都大学・2013年10月2日</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>京都大学薬学研究科ホームページ 医薬創成情報科学専攻システムバイオロジー分野 <u>土居雅夫</u> http://www.pharm.kyoto-u.ac.jp/system-biology/doimasao/</p>
<p>国民との科学・技術対話 の実施状況</p>	<p>1. 標題: 生体リズム学を基盤とする時間医薬イノベーション, 実施日: 2014年2月28日, 場所: ベルサール新宿グランド, 対象者: 一般, 参加者数: 100名, 内容: FIRST シンポジウム「科学技術が拓く2030年」へのシナリオ一般参加者らと本研究プログラムの2030年の応用展開を語り合った.</p> <p>2. 標題: 14歳からの創薬科学, 実施日: 2013年8月7日, 場所: 京都大学薬学部キャンパス, 対象者: 高校生, 参加者数: 30名, 内容: 京都大学薬学部オープンキャンパスにおいて参加者の高校生に対し、「14歳からの創薬科学」と題して本プログラムの紹介を行いながら科学の重要性や魅力を伝えた.</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載</p> <p>計3件</p>	<p>1. 2014年2月5日 薬事日報 (8面) 「新たな生体リズム調整薬の開発を目指して: 現代型不眠症・生活習慣病治療への挑戦」</p> <p>2. 2013年11月23日 京都新聞 (朝刊9面) 「mRNA 遺伝子情報のコピー役 実は体内時計のリズム維持に重要」</p> <p>3. 2013年10月6日 読売新聞 (朝刊2面) 「ホルモン抑え時差ぼけ軽減」</p>
<p>その他</p>	<p>なし</p>

4. その他特記事項

なし

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	121,000,000	87,000,000	34,000,000	0	0
間接経費	36,300,000	26,100,000	10,200,000	0	0
合計	157,300,000	113,100,000	44,200,000	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	3,064,704	34,000,000	0	37,064,704	37,064,704	0	0
間接経費	13,050,000	10,200,000	0	23,250,000	23,250,000	0	0
合計	16,114,704	44,200,000	0	60,314,704	60,314,704	0	0

3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	21,670,139	実験機器、実験試薬、実験動物 等
旅費	712,191	研究成果発表、研究情報収集 等
謝金・人件費等	5,237,445	非常勤教職員人件費 等
その他	9,444,929	学会参加費、論文投稿料、実験動物飼育管理 等
直接経費計	37,064,704	
間接経費計	23,250,000	
合計	60,314,704	

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
独国ライカマイクロシ ステムズ社製 CM1 950 クリオスタット	OUV 141950C O2J 一式	1	4,959,150	4,959,150	2013/10/23	京都大学
サーモライン社製 液体窒素凍結保存 システム	ローケータープラス 8プラス CY5091 11CP	1	747,600	747,600	2014/2/6	京都大学