

令和 3年 7月 14日

若手研究者海外挑戦プログラム報告書

独立行政法人日本学術振興会 理事長 殿

受付番号 202180049

氏名 桑山尚大
(氏名は必ず自署すること)

若手研究者海外挑戦プログラムによる派遣を終了しましたので、下記のとおり報告いたします。
なお、下記記載の内容については相違ありません。

記

- 派遣先: 都市名 ウィーン (国名 オーストリア)
- 研究課題名 (和文) : アホロートルを用いた再生の分子メカニズムの解明
- 派遣期間: 令和 3年 4月 1日 ~ 令和 3年 7月 1日 (92日間)
- 受入機関名・部局名: Research Institute of Molecular Pathology (Elly Tanaka Laboratory)

5 派遣先で従事した研究内容と研究状況 (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

私は本派遣において、組織再生を可能にする分子メカニズムの解明に取り組んだ。我々哺乳類とは異なり、一部の両生類は高い再生能を有し組織レベルの再生を行うことが可能である。再生過程において、既に分化している細胞群は一度多分化能を獲得したのちに再び分化して分化細胞を生み出すという極めてダイナミックな分化能の変遷をたどる。この分化能の変化は分子的にどのように規定されているのだろうか？

これまで本派遣先の研究室においてアホロートル(ウーパールーパー)が再生のモデル動物として確立されてきた。アホロートルは手足の損傷後に再生芽を形成し最終的にパターン化された手足を獲得する。この過程において再生芽の一部の細胞群は、発生期に高く発現する遺伝子群を再び活発に発現するようになることが分かっている。一方で変態後のカエルは不完全な再生能を持つモデル動物として知られる。カエルはアホロートルと同じ両生類でありながら、四肢の切断後に再生芽を形成するもののパターン化された手足を再生できない(指のないスパイクを形成する)。派遣研究室の最近の研究により、カエルではアホロートルと異なり再生芽の細胞が発生期に特徴的な遺伝子群を十分に再活性化できないことが明らかになった。このことから我々はアホロートルの再生芽で再活性化され、カエルでは再活性化されない発生期特徴的な遺伝子が再生に重要な働きを持つのではないかと仮説を立てた。

まず本派遣においてはこのような再生のマスター因子候補の同定を試みた。派遣先の論文のデータから再解析を行い、いくつかの転写因子及びあるクロマチン関連因子をリストアップした。さらにこの中から一つの因子を抽出し、発現ダイナミクスの解析及び機能解析を行った。特に機能欠損解析においては、この候補因子を欠損したノックアウトアホロートルを作成することに成功した。また、このアホロートルの発生期における表現型においても解析を行った。

6 研究成果発表等の見通し及び今後の研究計画の方向性 (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

- ・研究成果発表等の見通し
結果がまとまり次第論文として報告したい。
- ・今後の研究計画の方向性

本派遣では、再生能をもつアホロートルと再生能が十分でないカエルを比較することで、組織再生に重要な因子の候補を得た。今後はこの因子が実際に再生に寄与しているか、寄与しているのであればどのようなメカニズムであるかを検討していきたい。

1. この因子が実際に再生に寄与しているか

今回の派遣では組織再生に重要な因子の候補についてノックアウトアホロートルを作成することに成功した。しかしながらこのアホロートルが再生に異常を示すかはいまだ明らかではない。今後はこれらの動物が再生のアッセイに十分なサイズに成長するのを待って四肢を切断することで、適切な再生が起きるかを検証する。特に再生のスピードや再生後の組織サイズ、手足のパターン化などについて着目して解析を行う。また、この因子が再生のマスター因子であるとするれば、不完全な再生を示すカエルにこの因子を強制発現することで再生能を向上できる可能性もある。このためカエルにこの因子を過剰発現して細胞運命を追跡する実験も行いたい。これまでの報告でカエルの足に電気穿孔法によりプラスミドを直接導入して細胞運命を検証する方法や、変態前のカエルの四肢に細胞を移植することでドナー細胞の分化ポテンシャルを検証する方法などが報告されている。これらの系を用いることで候補因子の発現が適正な再生に十分であるか検証したい。

2. 寄与しているのであればどのようなメカニズムであるか

今回着目した候補因子は所属研究室において私がゲノム構造に与える新たな生化学的性質を見出しているものである(未発表)。もしこの因子が再生に重要であるならば、この生化学的性質こそが再生能の付与に寄与しているかを明らかにしたい。

7 本プログラムに採用されたことで得られたこと (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

本プログラムで特に衝撃的だったのは派遣先研究室の연구원(ポストドク)の皆さんの研究への姿勢である。私はそれまで将来の自分の研究者としての研究プランについて、面白い研究であれば何でもいいし연구원としてもその時のポストと興味をすり合わせてプロジェクトを立てていこうと思っていた。しかし派遣されてすぐに、派遣先研究室の연구원が研究室主催者としてのポジションを目指すための明確で大局的な視点を持って独立して研究を進めていることに気づいた。個々人がこれまで扱っていた分野を研究室に独自に持ち込むことで、これまでになかった研究領域を生み出していく様子はとても刺激的であった。これは大学院生がメンバーのほとんどを占める所属研究室では感じられない雰囲気であり、博士課程を卒業すればもう独立した研究者であるという自覚が不足していたのを痛感することになった。この経験で自分自身の考えの甘さを認識するとともに、近い将来目指すべき姿を具体的にイメージすることができた。

また、研究キャリアの近いメンターと日々ディスカッションしながら研究を進めていった経験から研究遂行能力を向上させるヒントが得られた。所属研究室ではスタッフ研究者に教えてもらったり、若い学生に教えたりと研究歴に差がある関係が多かった。今回の滞在では同じくPhDを終わろうとしている学生と彼にとっても新しいプロジェクトについて話し合いながら実験を計画した。特に、時間が限られる中でどのデータを出すことが最も主張に大事であるか、どの実験を優先すべきかをフラットに近い関係で毎週議論するなかで、お互い意見をぶつけ合い最適な道を見つけていく過程はプロジェクトの進め方の参考になった。さらに研究過程だけではなく研究発表についても多くの経験を積むことができた。滞在先でのプロジェクトを研究室のメンバーの前で発表する機会をいただいたが、発表にあたってサイエンスとして適切で聴衆にインパクトを与えられるような表現ができるように発表スライドや原稿について普段では考えられないくらいの時間を使って1枚1枚話し合いながら進めた。所属研究室ではすでにシニアな学生となっているため発表スタイルについて指摘される機会が減ってしまっていたが、今回の発表準備を通して無意識のうちについていた癖に気づくことができた。表現の幅を広げたりすることができた。これらの経験は所属研究室での研究にもこれから先の研究生活にも生かすことのできる貴重な財産になった。