

研究拠点形成事業 平成27年度 実施報告書

A. 先端拠点形成型

1. 拠点機関

| | |
|--------------------|------------------|
| 日本側拠点機関： | 東京大学大学院農学生命科学研究科 |
| (スウェーデン) 拠点機関： | カロリンスカ研究所 |
| (スペイン)拠点 機関： | カハール研究所 |
| (アメリカ合衆 国)拠点機関： | ミズーリ大学 |

2. 研究交流課題名

(和文)：高齢化時代に克服すべき疾病の予防法開発に向けた新しい分子基盤の構築
(交流分野： 基礎／探索医学)

(英文)：New Insights into the Molecular Basis of Prevention of Diseases in the Aging Society Caused by Modulation of Insulin-Like Activities

(交流分野： Basic/translational medicine)

研究交流課題に係るホームページ：<http://endo.ar.a.u-tokyo.ac.jp/shingroup/index.html>

3. 採用期間

平成24年4月1日 ～ 平成29年3月31日
(4年度目)

4. 実施体制

日本側実施組織

拠点機関：東京大学大学院農学生命科学研究科

実施組織代表者(所属部局・職・氏名)：東京大学大学院農学生命科学研究科・研究科長・
丹下 健

コーディネーター(所属部局・職・氏名)：東京大学大学院農学生命科学研究科・准教授・
高橋 伸一郎

協力機関：東京工業大学・独立行政法人理化学研究所・明治大学・

首都大学東京・京都大学・慶応大学・東京都医学総合研究所・鳥取大学

事務組織：東京大学農学系総務課

相手国側実施組織 (拠点機関名・協力機関名は、和英併記願います。)

(1) 国名：スウェーデン

拠点機関：(英文) Karolinska Institute

(和文) カロリンスカ研究所

コーディネーター(所属部局・職・氏名)：(英文) Cancer Center Karolinska・Associate Professor of Pathology・Leonard GIRNITA

協力機関：(英文) なし

(和文) なし

経費負担区分 (A 型)：パターン 1

(2) 国名：スペイン

拠点機関：(英文) Cajal Institute, The Spanish Research Council

(和文) スペイン国立研究所、カハール研究所

コーディネーター(所属部局・職・氏名)：(英文) Neuroendocrinology・Professor・Ignacio TORRES-ALEMAN

協力機関：(英文) なし

(和文) なし

経費負担区分 (A 型)：パターン 1

(3) 国名：アメリカ合衆国

拠点機関：(英文) University of Missouri

(和文) ミズーリ大学

コーディネーター(所属部局・職・氏名)：(英文) School of Medicine・Research Assistant Professor・Yusuke HIGASHI

協力機関：(英文) University of Michigan

(和文) ミシガン大学

経費負担区分 (A 型)：パターン 1

5. 研究交流目標

5-1. 全期間を通じた研究交流目標

高齢化時代への突入により、健康年齢の延伸を目標とした研究の重要性はますます高まっている。このような研究の代表的な対象疾患として、ヒトでの死亡率第一位の**悪性腫瘍**や、加齢と共に発症率が上昇する**脳神経疾患**、生活習慣病に位置づけられる**循環器系疾患**や**糖尿病**などを挙げることができる。インスリン様成長因子 (IGF) は、広範な細胞の増殖誘導や細胞死の抑制、細胞遊走などを促進することが知られており、この活性が**過剰**になると細胞の癌化や浸潤が起こって**悪性腫瘍化**する。逆に**不足**すると神経細胞や血管平滑筋細胞の細胞死が起こり、**神経変性疾患**や**動脈硬化**が進行することが報告されている。一方、インスリンは脂肪細胞・筋肉、肝臓などに働いて糖・脂質同化を促進し、この活性が**不足**するとインスリン抵抗性を発生、**II型糖尿病**の主因となることは広く知られている。この

ように IGF やインスリンの生理活性の過剰な修飾は高齢化時代に克服すべき疾病の原因となっているにも関わらず、その発症の分子機構の多くは不明である。本研究に参加する研究者は、これまで、それぞれの疾病モデル細胞・動物を用いた研究で、IGF やインスリンのシグナル伝達の修飾機構について研究を進めてきた。本研究ではこの研究の交流をはかり、**それぞれの特徴あるモデル細胞・動物を用いて、新しい観点からインスリン様シグナルの修飾機構を明らかにし、それぞれの疾病について、これまで明らかにされていない発症の分子機構を提示することを目的としている。**

5-2. 平成27年度研究交流目標

<研究協力体制の構築>

平成27年度は、分子同定チーム（東京）よりがん解析チーム（スウェーデン）に1名の若手研究者を派遣し、日本で単離した IGF 受容体結合タンパク質の機能解析を行う。また、脳神経系解析チーム（スペイン）から若手研究員を一人受け入れ、これまでの共同研究によって脳神経系から単離された IRS 結合タンパク質が疾病の発症によって結合量に変化があるかを解析する。また、分子同定チーム（東京）より、血管系解析チームを含めたアメリカ合衆国のいくつかの研究室にポスドクを派遣する。昨年度、血管系の疾病モデルから複数の IRS 結合タンパク質が単離されており、哺乳動物だけでなく、進化の観点を導入するため zebrafish を用いた機能解析を進める。

<学術的観点>

これまで、各疾病モデルの解析チームのもとに若手研究者を派遣し、それぞれの疾病モデル細胞・組織より IGF-I 受容体、インスリン受容体、IRS と結合しているタンパク質の同定に成功した。そこで本年度より、同定したタンパク質の機能解析を精力的に進める。分子機能解析チームがその特異的抗体を作製、遺伝子を取得する。続いて、各疾病モデルの解析チームが、それぞれのチームで有している独自の疾病モデル細胞や動物を用いて、同定した分子と IRS や IGF-I 受容体との結合量の変動を解析し、疾病を誘導する刺激に応じて（がんでは悪性化の度合いに応じて）結合が変化することを確認する。また、結合を阻害または亢進させる低分子化合物の単離を進め、それぞれの低分子化合物を細胞や動物に添加・投与することによって、それぞれの疾病が治癒または解除されることを確認する。

<若手研究者育成>

この3年間、多くの若手研究者をスペインやスウェーデン、アメリカ合衆国に派遣して海外の研究環境のもとでそれぞれの研究拠点の若手研究者とともに実験を行ってきた。本年度も同様に二人の研究者をスウェーデン、アメリカ合衆国に派遣し、共同研究を推進する。特に本年度は、スペインから若手研究者を受け入れ、このプロジェクトで単離されてきたタンパク質の機能解析を日本で行う予定である。この際、日本の若手研究者と海外の若手研究者との交流が活発に行うための環境作りにつとめ、活発な交流は若手育成に直結すると期待している。

<その他（社会貢献や独自の目的等）>

これまでも国内外の種々の学会に参加し、本研究から得られた研究成果を発表してきた。日本の拠点研究代表者の高橋伸一郎博士は、近年、インスリン/IGFに関するいろいろな学会の Vice president やシンポジウムの Chair・Organizer を努めており、これらは、国内だけではなく、国外においても本研究拠点の研究成果が高い評価を受けていることを示している。このように、国外に IGF の研究拠点の形成に成功しつつあるので、これらを更に発展させ、「高齢化時代に克服すべき疾病の予防法開発に向けた新しい分子基盤の構築」という新しい領域を確立することを目標に、本事業を推進する。

6. 平成27年度研究交流成果

（交流を通じての相手国からの貢献及び相手国への貢献を含めてください。）

6-1 研究協力体制の構築状況

平成24年から平成26年度にかけて、スウェーデンのカロリンスカ研究所に2人、スペインのカハール研究所に1人、アメリカのチュレーン大学に1人の若手研究者を派遣し、神経変性疾患モデル動物、がんモデル細胞、酸化ストレスを負荷した神経細胞およびグリア細胞、動脈硬化のモデル動物や IGF 受容体のノックアウトマウス由来の平滑筋細胞などから、IRS と結合するタンパク質や IGF 受容体 (IGFIR) と結合するタンパク質の単離を行ってきた。

平成27年度は、12月から2月中旬の約3ヶ月間、日本側拠点研究機関（東京大学）の研究員、柴野卓志博士をスウェーデンのカロリンスカ研究所の Leonard Girmita 博士の研究室に派遣した。Girmita 博士は、IGFIR に β arrestin が結合して、MAP kinase cascade の活性化に重要な役割を果たしていることを示してきている。そこで、柴野博士は、IGFIR- β arrestin 複合体に結合しているタンパク質を探索するとともに、これまでに我々が単離した IGFIR 結合タンパク質 CC2D1A/B タンパク質の機能解析を行い、新たな知見を得た。

また IRS 結合タンパク質を単離している過程で、IRS-1 は RNA 結合タンパク質や RNA 自体と結合することが示されてきたため、これまで拠点機関でポストドクとして RNA 結合タンパク質の研究を行ってきた尾添淳文博士、RNA スプライシングの専門家である片岡直行博士と研究打ち合わせを行った。また、これまでに我々が単離した IRS 結合タンパク質の中の多くは IRS の受容体からのチロシンリン酸化のされやすさを調節していることを明らかにしており、いくつかその成果を発表している。そこで、IRS と IGFIR/IR との結合を生細胞で観察できるアッセイ系の技術習得のため、オーストリア、University of Applied Sciences Upper Austria School of Engineering and Environmental Sciences の Weghuber 博士の研究室に米山鷹介博士を派遣した。また、高橋博士は、下記のカハール研究所の訪問の後、アイルランドの University College Cork の O'Connor 博士を訪ね、department で講演後、IGF 関係の研究をしている複数の研究者と今後の共同研究の打ち合わせを行った。これにより、高橋博士らの同定した IGF-I 受容体に相互作用するタンパク質が、彼女らが発見したがんや神経疾患の異常の原因である可能性が明らかとなり、共同研究を開始している。

一方、平成27年度に計画していたミズーリ大学への派遣は見送ることになった。この理由は、研究拠点がチューレン大学からミズーリ大学に移行したことにより、東博士のグループが研究体制を再構築する必要が生じたためである。逆に、日本の拠点である高橋博士のグループで動脈硬化の研究の新しい系の構築などを行い、この打ち合わせに平成27年12月に東博士が来日した。一定の進捗があったので、この系を持ち帰り、現在、東博士たちの研究グループで更に研究を進めている。このように、本研究の推進には大きな影響はなかった。また、平成27年度にスペインの拠点 Torres-Aleman 博士のグループの Ginnes 博士が来日して、日本の拠点、高橋博士の研究グループで実験を行う予定であったが、スペインの経済状態の悪化により、Ginnes 博士は他の研究所に異動したため、この来日も実現しなかった。このプロジェクトについては、今後、どのようにすすめるか、Torres-Aleman 博士と高橋博士の間で検討中である。

セミナー活動としては、平成27年9月には、Torres-Aleman 博士が主催のワークショップをスペインのカハール研究所で開催し、日本からは、拠点機関である東京大学から研究代表者の高橋伸一郎博士のほか、伯野史彦博士、松脇貴志博士、Bu-Chin Yu 博士、修士課程の大学院生4人、明治大学の竹中麻子博士、首都大学東京の西島壮博士、名古屋大学の上野山賀久博士が参加し、それぞれの研究成果を発表した。さらに、スウェーデンの Girmita 博士の研究室からは研究員を含めた8人が参加し、主催者である Torres-Aleman 博士の研究室からは研究員など10人以上が参加し、それぞれの拠点機関で得られた成果を発表した。このセミナーでは非常に活発な議論が行われ、今後の共同研究の進め方について意見を交わした。また、高橋博士の研究グループの数人は、カハール研究所において実際の実験技術の習得を行った。

本事業で得られた成果は、ここまで毎年度、国内外の学会において精力的に発表している。平成27年度は、4月に Pan American Congress of Computational Mechanics 学会、12月に日本分子生物学会、3月に農芸化学学会などに多数の本事業の参加者を派遣し、IRS 結合タンパク質の機能解析について成果を発表、高い評価を得た。また研究代表者の高橋伸一郎博士は、平成29年3月に行われる予定の「IGF & insulin in Physiology and Diseases」 Gordon Research Conference の vice chair に選出されている。

本事業による支援期間の終了が近づいてきているため、「持続的な研究協力体制の構築」を可能とするために、更に、次のような活動を行ってきた。まず来年度には、日本側の拠点である高橋博士のグループから研究員の柴野博士をスウェーデンの拠点、カロリンスカ研究所に研究員として採用してもらうことの内諾を得た。これにより、人材育成を両拠点で協力して行うこととなる。一方、高橋博士は、ミズーリ大学の東博士の研究グループにモデル動物のブタに投与するために必要な大量の IGF-I の供給の道筋をつけた。この研究試料の供給によって持続的な研究協力が行われることとなった。また、カハール研究所とは、Torres-Aleman 博士を東京大学の客員教授として一定期間迎える準備を進めた。これにより、日本の拠点においても Torres-Aleman 博士の研究教育の貢献を受けることが可能になる予定である。この他に、インスリン様活性の研究を発展させるために、今後のグローバルな拠点として、University College Cork の O'Connor 博士、オーストラリア、University of

Applied Sciences Upper Austria School of Engineering and Environmental Sciences の Weghuber 博士、イギリス University of Bristol の Holly 博士、イタリア University Magna Graecia of Catanzaro の Belfiore 博士、イスラエル Tel Aviv University の Werner 博士、アメリカ University of North Carolina at Chapel Hill の Clemmons 博士、オーストラリア Flinders University の Forbes 博士、さらにインスリン様活性による成長・成熟・老化の制御は、ヒトのみでなく、線虫からすべての動物に共通していることから、ショウジョウバエの研究者である Brown University の Tatar 博士、zebrafish の研究者である University of Michigan の Cumming 博士などと共同して研究を進める準備を整えた。来年度は、これらの研究者を招聘することにより、世界レベルで新しい持続的な研究協力態勢を構築する予定である。国内では、高橋博士の研究グループのメンバーであった研究員の亀井博士が金沢大学理工研究域自然システム学系の助教として、また山中博士が東京大学大学院農学生命科学研究科獣医学専攻の食と生体機能モデル学研究室の特任助教として独立し、それぞれサカナや大動物を対象としたインスリン様活性の研究に着手している。また、線虫を用いたインスリン様活性の生理的意義の解明を進めている東京大学大学院理学系研究科の生物化学専攻の飯野博士、富岡博士との共同研究を開始した。来年 4 月には、高橋博士のグループに京都大学大学院医学系研究科からスプライシングの大家である片岡博士が異動する予定で、インスリン受容体 RNA のスプライシングの研究の態勢も整うことになっている。これらにより、高齢化時代に克服すべき疾病の予防法開発に向けた新しい分子基盤の構築を進展させて、比較生物学・進化的な観点も加え、動物一生の生命科学の推進のための世界レベルでの研究拠点形成への準備を進めている。

このように、平成 27 年度の研究活動は、研究目標を十分に達成しており、この研究グループが IGF 研究の拠点としても国際的に高い評価を受け、この研究分野でリーダーシップを発揮している。

6-2 学術面の成果

平成 26 年度までの段階で、本共同研究により、種々のモデル細胞系を用いて、IGF 受容体結合タンパク質、IRS 結合タンパク質の網羅的な同定は概ね終了している。平成 27 年度からは、いくつかの IRS 結合タンパク質の機能解析と結合を修飾するような低分子化合物の単離についての研究を鋭意進めていった。特に IRS-2 と結合するユビキチン ligase である、Nedd4 は IRS-2 と結合することにより IRS-2 の IGF によるチロシンリン酸化をされやすくし、その結果として、IGF 依存的な細胞増殖を増強し、ゼブラフィッシュにおいては成長を促進することを明らかにした。これは Nat. Commun. に公表した。また、他の IRS1 結合タンパク質である DGK ζ に関しては、IRS1 と DGK ζ の結合がインスリン抵抗性モデル細胞（糖尿病モデル細胞）において増加しており、この結合を阻害するような変異体や低分子化合物の投与は、インスリン様活性の抑制を解除できることが明らかとなった。現在、この研究成果に関しては Science Signal に投稿中である。また、IRS 結合タンパク質の多くは IGFIIR/IR からのチロシンリン酸化のされやすさを制御しているため、IRS と IGFIIR/IR との結合量を生細胞で定量的に可視化できるアッセイ系が必要である。すでに、オーストリアの Weghuber

博士とともにそのアッセイ系を構築し、その成果を FEBS J に発表している。今年度は、米山博士を Weghuber 博士の研究室に派遣することによって、そのアッセイ系の技術習得をした。今後は、IRS/IGFIR/IR 結合タンパク質を過剰発現した細胞において、IRS のチロシンリン酸化のされやすさを可視的に検出することが可能となる。

現在投稿準備中であるが、この他の IRS 結合タンパク質や IGF-I 受容体結合タンパク質の機能解析からも多くの成果が得られている。IRS-1 が AP というエンドサイトーシスに必要なタンパク質と結合し、その活性を抑制することによって、IGF シグナルの持続時間を制御していることを明らかにすることができた。また、脱ユビキチン化酵素である USP9X は IRS-2 と結合することによって IRS-2 のタンパク量を維持しており、この活性が前立腺がん細胞の足場非依存的増殖に必須であることを示している。このように、他の研究拠点との共同研究によって、IRS タンパク質に結合するタンパク質、IRSAP がインスリン様活性の制御に重要な役割を果たしていることを総合的に明らかにすることができた。Frontiers in Cancer and Endocrinology には IRS 結合タンパク質の機能に関する総説を発表することもでき、本研究助成の大きな目的である、高齢化時代に克服すべき疾病の予防法開発に向けた新しい分子基盤の構築のための「新たな研究拠点の形成」に成功したと言える。

さらに、柴野卓志博士をスウェーデン・カロリンスカ研究所の Girnita 博士の研究室に派遣し、IGFIR- β arrestin 複合体に結合するタンパク質の網羅的解析、および IGFIR 結合タンパク質である CC2D1A/B の機能解析を行った。その成果から、CC2D1A/B は IGFIR と結合することによって IGFIR の脱感作を促進するタンパク質であることが明らかになりつつある。一方で、Girnita 博士は、 β arrestin が IGFIR の脱感作に関与していることを示す論文を発表しており、共同研究を進めていくことにより全く新しいがん化メカニズムの解明につながることを期待している。

一方、この共同研究を行うための matching fund によって、Girnita 博士のグループでは、C. Worrall, E. Candrea, N. Suleymanova, C. Crudden, D. Nedelcu, I. Trocoli, S.-I. Takahashi, L. Girnita. and A. Girnita, Unbalancing p53/Mdm2/IGF-1R axis by oncogene activation restrains the metastatic phenotype of skin melanoma という報文を Cancer Research に投稿中である。Torres-Aleman 博士のグループでは、D. Davila, S. Fernandez, I.TORRES-ALEMAN. Astrocyte resilience to oxidative stress induced by insulin like growth factor I involves preserved AKT activity. J Biol Chem 291, 2510-23 (2016), A.M. Fernandez, R. Hervas, M. Dominguez-Fraile, V. Garrido, P. Gomez-Gutierrez, M. Vega, J. Vitorica, J.J. Perez, IGNACIO TORRES ALEMAN. Blockade of the interaction of calcineurin with FOXO in astrocytes protects against A-induced neuronal death. J Alzh Dis 2016 (in press). の 2 報を発表した。更に、東博士のグループでは、Sakamuri SSVP, Valente AJ, Siddesha JM, Delafontaine P, Siebenlist U, Gardner JD, Bysani C. TRAF3IP2 mediates aldosterone/salt-induced cardiac hypertrophy and fibrosis. Mol. Cell. Endocrinol. 2016: In press., Anwar A, Anwar IJ, Delafontaine P. Elevation of cardiovascular risk by non-steroidal anti-inflammatory drugs. Trends Cardiovasc Med. 2015 25(8):726-35. Review. を報告した。

上述したように平成27年度は若手研究者である柴野卓志博士をスウェーデンのカロリンスカ研究所に派遣し、IGFIR- β arrestin 複合体に結合するタンパク質の網羅的解析、およびIGFIR 結合タンパク質の機能解析を行った。柴野博士は、平成28年6月よりカロリンスカ研究所にポスドクとして留学することが決まっており、Girmita 研究室とはさらに緊密な共同研究が可能になると期待される。また、9月にスペインのカハール研究所で行われたセミナーには、日本からは若手研究者や大学院生を中心に、11人派遣し、カハール研究所の多くのポスドクと濃密なディスカッションを行うことができた。このような海外での研究成果の発表や、海外の若手研究者との交流やディスカッションは、若手育成に直結している。

スペインの研究拠点 Torres-Aleman 博士の研究室から派遣される研究者が、IRS と相互作用することが明らかとなったタンパク質と IRS との結合を調べる予定であったが、当該研究者がほかの研究所に異動となり（スペインの科学予算の大幅削減が原因）、受け入れを中止せざるを得なかった。

一方、アメリカの研究拠点の東博士の研究室へ若手研究者を派遣し、動脈硬化モデルマウスにインスリン様成長因子(IGF)-I を投与し、動脈硬化の変化を調べる予定であったが、高橋の仲介により IGF-I がアメリカで入手できることになったので、東博士の研究室の研究者が本実験を行うこととし、派遣を中止した。さらに、Duan 博士の研究室へ若手研究者を派遣し、Zebrafish を用いた解析を行う予定であったが、Zebrafish を用いた研究は平成27年度に東京大学の高橋の研究室で系を立ち上げ、研究成果も出すことができた。しかし、さらに高度な技術が必要な実験をするため、若手研究者の派遣を平成28年度に検討している。

6-4 その他（社会貢献や独自の目的等）

本年度は、昨年度に続いて、がん、脳神経疾患、動脈硬化、糖尿病の発症機構に関連する IRSAP や IGFIR/IR に相互作用するタンパク質の同定に成功した。これらは、新しい作用点を有する上記の疾病の治療薬の開発の基礎となると期待している。また、インスリン様活性の異常が主因と考えられているこれらの疾病が、同じようなタンパク質あるいはシグナル修飾の異常で発症することもわかってきて、これも新しい概念を提示できたと考えている。このような研究が進めば、高齢化社会における克服が必要な疾病の予防や治療に役立ち、健康寿命の延伸という観点から、社会貢献の意義も大きい。

これらの情報を一般の方々にも紹介するために、高橋博士らは、多くの研究会（論文リスト参照）や市民講座や授業（タンパク質栄養とヒトの健康を繋ぐ仕組み フォーデイズ 寄附講座「食と生体機能モデル学」開設記念公開講座「動物に支えられるヒトの健康」記念講演、日本科学未来館共催 リアルラボ@東京大学～見てみよう、動物の培養細胞～、初年次ゼミナールなど）で啓蒙のために講演を行い、栄養情報によって産生が制御されているインスリン様活性の調節が高齢化社会で問題となっている種々の疾病の予防に重要であることを社会に情報発信している。この IGF は、これまで成長の異常に関連したホルモンとして注目されてきたが、最近の我々の研究成果によって、正常な発生、着床、胎児発

育、生後成長、成熟、代謝制御、老化に必須であることが明らかになってきている。更に、このホルモンシステムは、線虫から哺乳類のヒトに至るまで良く保存されていることもわかってきた。したがって、我々の健康寿命を延伸する手法を、多くの動物の一生のいろいろな段階のインスリン様活性の制御機構から学ぶ必要があることは明白である。本プロジェクトの代表者である高橋は、国際レベルで IGF の研究を推進することにより、この分野の重要性を基礎・臨床の両分野で理解してもらい、前述のような問題を解決していくことを、目的の一つとしている。高橋は、International IGF Society の理事として活動をしており、Society が進めている International Symposium of GRS-IGF Society と、Gordon Research Conference の活性化に力を注いできた（前者のプログラム作成委員会の長、後者は次回の vice chair に選出された）。来年度は、これら両学会が開催されることから、この準備に努力を傾注する予定である。今後、このような地道な活動を維持していくことが重要と考えている。

本研究の具体的内容についても、本研究で共同研究の拠点としているスウェーデン、スペイン、アメリカ合衆国のみならず、本研究成果に興味を持ったイギリス、アイルランド、ドイツ、ベルギー、オーストリア、イタリア、イスラエル、台湾、韓国、オーストラリア、カナダなどの研究者から共同研究の申し込みを受け、その多くとの共同研究を開始した。特に、オーストリアのグループとは人材の交流、アイルランドのグループとは樹立した細胞の供給、イタリアのグループとは樹立中のマウスの情報交換、オーストラリアのグループとは構造生物学的な共同研究、カナダのグループとは彼らが樹立した ES 細胞の機能評価をそれぞれ行った。この点からも、IGF の研究拠点の役割を果たすことができたと考えている。次年度は、本助成が終了後に、これらのグループも含めた研究拠点形成の可能性について検討を開始したい。

6-5 今後の課題・問題点

ここまでの研究成果より、がん、脳神経疾患、動脈硬化、糖尿病の発症機構に関与している IRS と相互作用するタンパク質、IGFIR/IR と相互作用するタンパク質などを複数絞り込んだ。今後は、細胞系・動物系を用いて、これらのタンパク質と IRS あるいは IGRIR/IR との相互作用がインスリン様シグナル・活性の制御に果たす機能の解析を中心に研究を展開する。これを推進するためには、これらのタンパク質と IRS あるいは IGRIR/IR との相互作用を修飾する低分子化合物のスクリーニングが必要である。我々は、これまで ELISA 法を用いて、理化学研究所との共同研究で、IRS とインスリン抵抗性を発生するタンパク質との相互作用を修飾する低分子化合物の取得に成功している。しかし、ELISA 法では、多くの化合物のスクリーニングが難しいので、現在、AlphaScreen 系の導入を進めている。これにより、低分子化合物のハイスループットスクリーニングが可能となる。このように、化合物のスクリーニングを強力に推進し、最終年度には、特定のタンパク質と IRS あるいは IGRIR/IR との相互作用が上記の疾病の発症に重要な役割を果たしていることを直接的に証明したいと考えている。

本年度、派遣ができなかったミズーリ大学医学部では、動脈硬化発症に IGF が及ぼす影

響を検討するブタを使った動物実験を行うこととなった。この際の IGF-I などは、高橋博士らが中心となって獲得の努力をしている。最終年度ではこれらの長期的な実験は修了しないが、臨床応用に直結する研究へと我々の共同研究を展開していく予定である。

一方、スペインとの共同研究は、スペインの経済状況が好転しないため、これまでの計画通りの推進は難しいという問題に直面している。特に、スペインの研究拠点のカハール研究所の研究者の多くが当研究所での職を失っていることが問題を深刻化している。Torres-Aleman 博士との話し合いで、今後、それぞれの研究室でできる研究を併せて報文を仕上げる試みを進めることにした。高橋博士らが発見したストレスに応答して起こる IRS とタンパク質翻訳制御タンパク質の相互作用が、神経細胞で細胞死に及ぼす影響を、カハール研究所の研究者か、我々の研究拠点から研究者を短期派遣する可能性についても検討を進めている。

本研究の推進に大きな問題点はないが、昨年度の研究成果、国際セミナーでの話し合いの結果から、進化的に保存されている IGF の生理活性の調節機構を明らかにするためには、線虫、ショウジョウバエ、ゼブラフィッシュなども利用し、メカニズムの評価を進めていく必要があることがわかった。がん、脳神経疾患、動脈硬化、糖尿病の発症機構の解明には、更に多くの研究者の協力が必要であることも明らかとなった。そのため、これらの共同研究もさらに拡大していく予定である。

中間評価において、研究者交流の仕組みを利用していない点が指摘されたが。昨年度も述べたように、協力機関以外の研究機関、あるいは研究拠点が存在する国以外との共同研究も進めているので、これらについては、研究交流として次年度の研究計画に盛り込みたい。

このような観点のもと、最終年度の研究計画を立案し、研究拠点だけではなく、世界で IGF/インスリン活性の調節機構の解明に取り組んでいる共同研究者たちを東京に集め、これまでの研究の総括と今後の研究の展望を話し合う機会を設ける予定です。

6-6 本研究交流事業により発表された論文等

- | | |
|-------------------------------|-----|
| (1) 平成27年度に学術雑誌等に発表した論文・著書 | 6本 |
| うち、相手国参加研究者との共著 | 2本 |
| (2) 平成27年度の国際会議における発表 | 16件 |
| うち、相手国参加研究者との共同発表 | 0件 |
| (3) 平成27年度の国内学会・シンポジウム等における発表 | 16件 |
| うち、相手国参加研究者との共同発表 | 0件 |
- (※ 「本事業名が明記されているもの」を計上・記入してください。)
- (※ 詳細は別紙「論文リスト」に記入してください。)

7. 平成27年度研究交流実績状況

7-1 共同研究

| 整理番号 | R-1 | 研究開始年度 | 平成24年度 | 研究終了年度 | 平成28年度 |
|--------------------|--|--------|--------|--------|--------|
| 研究課題名 | (和文) 高齢化時代に克服すべき疾病の予防法開発に向けた新しい分子基盤の構築 | | | | |
| | (英文) New Insights into the Molecular Basis of Prevention of Diseases in the Aging Society Caused by Modulation of Insulin-Like Activities | | | | |
| 日本側代表者 氏名・所属・職 | (和文) 高橋伸一郎・東京大学大学院農学生命科学研究科・准教授 | | | | |
| | (英文) Shin-Ichiro TAKAHASHI・Graduate School of Agricultural and Life Sciences, University of Tokyo・Associate Professor | | | | |
| 相手国側代表者 氏名・所属・職 | (英文) 1) Leonard GIRNITA・Cancer Center Karolinska・Associate Professor of Pathology 2) Ignacio TORRES-ALEMAN・Neuroendocrinology, Cajal Institute The Spanish Research Council・Professor 3) Yusuke HIGASHI・Department of Medicine, University of Missouri・Research Assistant Professor | | | | |
| 参加者数 | 日本側参加者数 | 4名 | | | |
| | (スウェーデン)側参加者数 | 2名 | | | |
| | (スペイン)側参加者数 | 0名 | | | |
| | (アメリカ合衆国)側参加者数 | 1名 | | | |
| 27度の研究交流活動 | 4月の末から5月にかけて、尾添淳文博士が、12月には参加者である片岡直行博士が東京大学の研究室を訪問し、研究データを整理し、IRSと結合するRNAの検出方法を大学院生に伝授し、IRSと結合するRNA結合タンパク質の機能解析の研究の進め方について打ち合わせを行った。12月より2月まで柴野卓志博士をスウェーデンのカロリンスカ研究所に派遣し、IGFIR-β arrestin複合体と結合するタンパク質の単離、機能解析を行った。さらに12月には米山鷹介博士をオーストリアのWeghuber博士の研究室に派遣し、IRSと受容体との結合を可視的に検出する方法について解析を行い、今後の研究方針の打ち合わせを行った。 | | | | |

| | |
|--------------------------------------|---|
| <p>27年度の研究 交流活動から得 られた成果</p> | <p>カロリンスカ研究所に派遣した柴野博士は、IGFIR と結合するタンパク質の中で CC2D1A/B の機能解析を行った。その結果、CC2D1B は IGFIR と結合することによって IGF シグナルの脱感作を制御し、MAP kinase が活性化される時間を調節していることを明らかにした。Leonard Girnita 博士の研究室では、IGFIR と β arrestin の結合が MAP kinase の活性化維持に必須であり、その結合が細胞のがん化に必要であることを示している。柴野博士を派遣することによって IGFIR シグナルの活性化を介したがん化のメカニズムを IGFIR 結合タンパク質の機能から解明することが可能になると考えている。</p> <p>また、IRS-1 と結合するタンパク質の中には RNA 結合タンパク質や、IRS のチロシンリン酸化のされやすさを変化させるタンパク質などが多数単離されてきている。尾添博士、片岡博士との研究打ち合わせを頻繁に行うことにより、IRS-1 と結合する RNA 結合タンパク質の機能解析が大幅に進捗し、研究成果を農芸化学会で発表することができた。また、昨年度に、オーストリアの Weghuber 博士との共同研究で IRS と IGFIR の結合量を生細胞で可視的に検出するアッセイ系を確立している（既に FEBS J に成果を発表している）。本年度は、米山博士を Weghuber 博士の研究室に派遣し、IRS 結合タンパク質を過剰発現した細胞における IRS のチロシンリン酸化のされやすさを検出する方法を技術習得した。今後この方法を用いて解析を進めることが可能となった。</p> |
|--------------------------------------|---|

7-2 セミナー

| | |
|---------------------------------------|--|
| 整理番号 | S-1 |
| セミナー名 | (和文) 日本学術振興会研究拠点形成事業「高齢化時代に克服すべき疾病の予防法開発に向けた新しい分子基盤の構築」 (英文) JSPS Core-to-Core Program “New Insights into the Molecular Basis of Prevention of Diseases in the Aging Society Caused by Modulation of Insulin-Like Activities” |
| 開催期間 | 平成27年9月24日 ~ 平成27年9月27日 (4日間) |
| 開催地(国名、都市名、会場名) | (和文) スペイン、マドリッド、カハール研究所 (英文) Spain, Madrid, Cajal Institute |
| 日本側開催責任者 氏名・所属・職 | (和文) 高橋伸一郎・東京大学大学院農学生命科学研究科・准教授 (英文) Shin-Ichiro TAKAHASHI・Graduate School of Agricultural and Life Sciences, University of Tokyo・Associate Professor |
| 相手国側開催責任者 氏名・所属・職 (※日本以外で開催の場合) | (英文) Ignacio TORRES-ALEMAN・Neuroendocrinology, Cajal Institute The Spanish Research Council・Professor |

参加者数

| 派遣先□ 派遣元□ | | セミナー開催国 (スペイン) |
|-------------------|----|-------------------|
| 日本 〈人/人日〉 | A. | 11/ 73 |
| | B. | |
| スウェーデン 〈人/人日〉 | A. | 8/ 40 |
| | B. | |
| スペイン 〈人/人日〉 | A. | 3/ 12 |
| | B. | 10 |
| アメリカ合衆国 〈人/人日〉 | A. | 0/ 0 |
| | B. | |
| 合計 〈人/人日〉 | A. | 22/ 125 |
| | B. | 10 |

A. 本事業参加者(参加研究者リストの研究者等)

B. 一般参加者(参加研究者リスト以外の研究者等)

※日数は、出張期間(渡航日、帰国日を含めた期間)としてください。これによりがたい場合は、備考欄を設け、注意書きを付してください。

| | | | |
|---------------------|---|----------------|-------------|
| セミナー開催の目的 | この3年間で、それぞれの疾病モデル解析チームに、日本の解析チームから若手研究者を派遣し、多くの IRS 結合タンパク質や IGF-I 受容体結合タンパク質を単離してきた。いくつかの結合タンパク質に関してはその機能解析も進み、論文に報告している。そこで、結合タンパク質の網羅的単離が終了した現在の段階で、各国の拠点研究機関のリーダーや若手研究者にスペインに集結していただき、それぞれの結合タンパク質の機能解析に関するデータを共有する。また、このセミナーで実際に実験を行う若手研究者同士が顔合わせすることで、研究交流を活発化する。さらに、このプロジェクトの参加者以外で、インスリン様活性を指標にした他の研究者にも講演を依頼し、様々な分野の研究者との交流を図る。 | | |
| セミナーの成果 | これまで神経疾患モデル動物、動脈硬化モデル動物、がん化モデル細胞、糖尿病モデル細胞などから IRS 結合タンパク質 (IRSAP) や IGFIR/IR 結合タンパク質を多数単離してきた。いくつかの結合タンパク質については機能解析が進んできているため、その研究成果を各研究拠点機関の若手研究者を含めた参加者が発表した。今回のセミナーによって、それぞれのモデル動物や細胞で、IRS/IGFIR/IR 結合タンパク質が疾病に果たす役割の理解できたばかりでなく、どのような低分子化合物が疾病を治癒させるための薬剤となりうるかをお互いに確認することができた。 さらに、日本から新たな若手研究者を本事業の参加者として迎え入れ、スペインでのセミナーに招聘した。彼らの講演からも、新たな研究交流の可能性が感じられ、実際に、いくつかの共同研究がスタートしつつある。 | | |
| セミナーの運営組織 | Torres-Alemann 博士を代表者とし、スペインのカハール研究所の研究者で運営した。 | | |
| 開催経費 分担内容 と金額 | 日本側 | 内容 外国旅費 | 3,900,420 円 |
| | | その他の経費 | 20,580 円 |
| | | 消費税 | 301,925 円 |
| | | 合計 | 4,222,925 円 |
| | (スウェーデン) 側 | 内容 外国旅費 | |
| | (スペイン) 側 | 内容 国内旅費、その他の経費 | |

7-3 研究者交流（共同研究、セミナー以外の交流）

| 所属・職名 派遣者名 | 派遣・受入先 (国・都市・ 機関) | 派遣期間 | 用務・目的等 |
|--|--|--|---|
| 東京大学大学院 農学生命科学研究科・助教・伯 野史彦 | アルゼンチ ン・ブエノス アイレス・ヒ ルトン | 平成27年 4月25日 ～平成27 年5月2日 | 第一回 Pan American Congress of Computational Mechanics に出席し、成果 発表を行い、参加者と研究打ち合わせを 行った。 |
| 東京大学大学院 農学生命科学研究科・准教授・ 高橋伸一郎 | アイルラン ド、Cork College University | 平成27年 9月29日 ～平成27 年10月2 日 | アイルランド、University College Cork, Bioscience Institute を訪問し、研究打ち合 わせを行った。 |
| 東京大学大学院 農学生命科学研究科・准教授・ 高橋伸一郎、助 教・伯野史彦、 ポスドク・ BuChin Yu、米山 鷹介、大学院 生・西宏起、合 田祐貴、稲光智 美、臼井杏美、 渡部千尋、 | 日本・神戸・ 神戸ポート ピアホテル | 平成27年 11月30 日～平成2 7年12月 5日 | BMB2015 に出席し、それぞれの若手研 究者が成果発表を行い、参加者と研究打 ち合わせを行った。 |
| 東京大学大学院 農学生命科学研究科・助教・伯 野史彦、大学院 生・中沖優里 | 日本・札幌・ 札幌コンベ ンションセ ンター | 平成28年 3月28日 ～3月30 日 | 日本農芸化学会に出席し、成果発表を行 い、参加者と研究打ち合わせを行った。 |
| 東京大学大学院 農学生命科学研究科・准教授・ 高橋伸一郎 | 日本・仙台・ 東北大学医 学部 | 平成28年 3月4日～ 平成28年 3月5日 | 東北大学医学部赤池教授の研究室で IRS に相互作用するタンパク質についての セミナーを行い、意見交換を行った。さ らに共同研究の可能性について討論し た。 |

7-4 中間評価の指摘事項等を踏まえた対応

1. 指摘事項：日本からの派遣はほとんどが短期滞在に留まる。
対応：平成27年度より長期滞在を試みている。平成27年度にスウェーデンのカロリンスカ研究所に派遣した日本の拠点の特任研究者は、同カロリンスカ研究所で平成28年6月より雇用され、本研究に従事する。
2. 指摘事項：研究交流、セミナー以外の研究者交流がない。
対応：平成26年度まで、学会参加などは研究交流（R-1）という位置づけにしていたが、平成27年度からは、研究者交流という形に明記した。日本側参加研究者で交流派遣されていない研究者は、本セミナーなどに参加し、closedな研究報告などを行うことにより、直接海外の研究者と意見を交換する場を設け、研究教育拠点としての活動を重視する。
3. 指摘事項：相手国機関との共著論文がほとんど無いことや、他の参加研究者グループからの本交流事業の成果発表がまだあまり上がっていない点が改善を要する
対応：平成27年度は、Nature Communication に共同研究の成果を発表し、総説や本のchapter を執筆した。現在も、共同研究の論文を執筆あるいは投稿中である。日本側の研究者が共著となっていない論文もあり、これについては報告書には明記する。
4. 指摘事項：「共同研究」の体制が、日本側からの若手研究者派遣に留まり、また滞在期間から判断するとサンプリングに重点を置いていると思われ、相互交流とは言いがたい。
対応：このプロセスは既に修了し、それぞれの拠点のメンバーにより、分析が進められている。また、これまで予想しなかったタンパク質が IGF-I 受容体や IRS に相互作用をしているため、研究が広範にわたってしまっている。そこで、平成28年度は対象タンパク質、疾病を絞って研究を進める予定である。
5. 指摘事項：疾病に関連した結果が得られていない。
対応：これまでも学術的な研究成果が得られていたが、研究交流に重点をおいていたため、記載していなかった。そのため、平成27年度からは、学術的な研究成果も記載している。

8. 平成27年度研究交流実績総人数・人日数

8-1 相手国との交流実績

| 派遣先 派遣元 | 四半期 | 日本 | スウェーデン | スペイン | アメリカ合衆国 | アルゼンチン(第 三国) | アイルランド(第 三国) | オーストリア(第 三国) | 合計 |
|-------------|-----|---------------|----------------|------------------|---------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------|
| 日本 | 1 | | () | () | () | 1/ 8 () | () | () | 1/ 8 (0/ 0) |
| | 2 | | () | 11/ 73 () | () | () | 1/ 4 () | () | 11/ 77 (0/ 0) |
| | 3 | | 1/ 81 () | () | () | () | () | 1/ 6 () | 1/ 87 (0/ 0) |
| | 4 | | () | () | 1/ 6 () | () | () | () | 1/ 6 (0/ 0) |
| | 計 | | 1/ 81 (0/ 0) | 11/ 73 (0/ 0) | 1/ 6 (0/ 0) | 1/ 8 (0/ 0) | 1/ 4 (0/ 0) | 1/ 6 (0/ 0) | 11/ 178 (0/ 0) |
| スウェー デン | 1 | () | | () | () | () | () | () | 0/ 0 (0/ 0) |
| | 2 | () | | (8/ 40) | () | () | () | () | 8/ 50 (8/ 40) |
| | 3 | () | | () | () | () | () | () | 0/ 0 (0/ 0) |
| | 4 | () | | () | () | () | () | () | 0/ 0 (0/ 0) |
| | 計 | 0/ 0 (0/ 0) | | 8/ 50 (8/ 40) | 0/ 0 (0/ 0) | 0/ 0 (0/ 0) | 0/ 0 (0/ 0) | 0/ 0 (0/ 0) | 8/ 50 (8/ 40) |
| スペイン | 1 | () | () | | () | () | () | () | 0/ 0 (0/ 0) |
| | 2 | () | () | | () | () | () | () | 0/ 0 (0/ 0) |
| | 3 | () | () | | () | () | () | () | 0/ 0 (0/ 0) |
| | 4 | () | () | | () | () | () | () | 0/ 0 (0/ 0) |
| | 計 | 0/ 0 (0/ 0) | 0/ 0 (0/ 0) | | 0/ 0 (0/ 0) | 0/ 0 (0/ 0) | 0/ 0 (0/ 0) | 0/ 0 (0/ 0) | 0/ 0 (0/ 0) |
| アメリカ 合衆国 | 1 | () | () | () | | () | () | () | 0/ 0 (0/ 0) |
| | 2 | () | () | () | | () | () | () | 0/ 0 (0/ 0) |
| | 3 | (1/ 3) | () | () | | () | () | () | 1/ 3 (1/ 3) |
| | 4 | () | () | () | | () | () | () | 0/ 0 (0/ 0) |
| | 計 | 1/ 3 (1/ 3) | 0/ 0 (0/ 0) | 0/ 0 (0/ 0) | | 0/ 0 (0/ 0) | 0/ 0 (0/ 0) | 0/ 0 (0/ 0) | 1/ 3 (1/ 3) |
| 合計 | 1 | 0/ 0 (0/ 0) | 0/ 0 (0/ 0) | 0/ 0 (0/ 0) | 0/ 0 (0/ 0) | 1/ 8 (0/ 0) | 0/ 0 (0/ 0) | 0/ 0 (0/ 0) | 1/ 8 (0/ 0) |
| | 2 | 0/ 0 (0/ 0) | 0/ 0 (0/ 0) | 11/ 73 (8/ 40) | 0/ 0 (0/ 0) | 0/ 0 (0/ 0) | 1/ 4 (0/ 0) | 0/ 0 (0/ 0) | 11/ 77 (8/ 40) |
| | 3 | 0/ 0 (1/ 3) | 1/ 81 (0/ 0) | 0/ 0 (0/ 0) | 0/ 0 (0/ 0) | 0/ 0 (0/ 0) | 0/ 0 (0/ 0) | 1/ 6 (0/ 0) | 1/ 87 (1/ 3) |
| | 4 | 0/ 0 (0/ 0) | 0/ 0 (0/ 0) | 0/ 0 (0/ 0) | 1/ 6 (0/ 0) | 0/ 0 (0/ 0) | 0/ 0 (0/ 0) | 0/ 0 (0/ 0) | 1/ 6 (0/ 0) |
| | 計 | 0/ 0 (1/ 3) | 1/ 81 (0/ 0) | 11/ 73 (8/ 40) | 1/ 6 (0/ 0) | 1/ 8 (0/ 0) | 1/ 4 (0/ 0) | 1/ 6 (0/ 0) | 11/ 178 (9/ 43) |

※各国別に、研究者交流・共同研究・セミナーにて交流した人数・人日数を記載してください。(なお、記入の仕方の詳細については「記入上の注意」を参考にしてください。)

※相手国側マッチングファンドなど、本事業経費によらない交流についても、カッコ書きで記入してください。

8-2 国内での交流実績

| 1 | 2 | 3 | 4 | 合計 |
|---------------|-----|------------|-----------|-----------------|
| 1/ 6 (1/ 3) | () | 10/ 49 () | 3/ 11 () | 14/ 66 (1/ 3) |

9. 平成27年度経費使用総額

(単位 円)

| | 経費内訳 | 金額 | 備考 |
|---------|--------------------|------------|--|
| 研究交流経費 | 国内旅費 | 1,166,219 | |
| | 外国旅費 | 7,239,940 | |
| | 謝金 | 33,223 | |
| | 備品・消耗品 購入費 | 4,240,161 | |
| | その他経費 | 2,328,578 | |
| | 外国旅費・謝金等 に係る消費税 | 591,879 | ■内訳 ¥567,134 (海外旅費にかかるもの) ¥3,777 (講演謝金にかかるもの) ¥5,859 (海外学会参加費にかかるもの) ¥13,765 (海外での印刷製本費にかかるもの) ¥1,344 (海外でのWi-Fi利用料にかかるもの) |
| | 計 | 15,600,000 | |
| 業務委託手数料 | | 1,560,000 | |
| 合計 | | 17,160,000 | |

10. 平成27年度相手国マッチングファンド使用額

| 相手国名 | 平成27年度使用額 | |
|---------|---------------------|---------------|
| | 現地通貨額[現地通貨単位] | 日本円換算額 |
| スウェーデン | 260,000 [SEK] | 3,510,000 円相当 |
| スペイン | 17,000 [EUROS] | 2,108,000 円相当 |
| アメリカ合衆国 | 30,000 [US dollars] | 3,270,000 円相当 |

※交流実施期間中に、相手国が本事業のために使用したマッチングファンドの金額について、現地通貨での金額、及び日本円換算額を記入してください。