

【基盤研究(S)】

生物系 (総合生物)



研究課題名 神経行動形質を決定付ける遺伝子-環境相互作用の細胞機構

東北大学・大学院生命科学研究所・教授

やまもと だいすけ
山元 大輔

研究課題番号：16H06371 研究者番号：50318812

研究分野：行動遺伝学

キーワード：求愛行動

【研究の背景・目的】

ショウジョウバエの *fruitless* (*fru*) 遺伝子変異体の雄 (同性愛行動の遺伝的素因を持つ) が、求愛対象として同種の雌個体よりも雄個体を選び、さらには動く光の点のような非特異的視覚刺激に対して求愛を行うようになるには、羽化後すぐに他個体と集団生活をする必要がある (環境依存性) で、経験剥奪によりこれらの不適切な求愛を抑制できる。この経験依存的神経機構を明らかにする。野生型では初期体験によって不適切な行動を抑制する機構が働き、*fru* 変異体ではこの機構が破綻していると推定される。*fru* 変異雄の求愛意志決定ニューロン、P1 が、集団生活依存的に獲得する運動視誘発性 Ca^{2+} 応答の発生機序を電気生理学的に究明し、この電気特性変化が Fru タンパク質に依存したエピジェネティック制御の異常に根差すとする仮説を分子レベルで検証する。

【研究の方法】

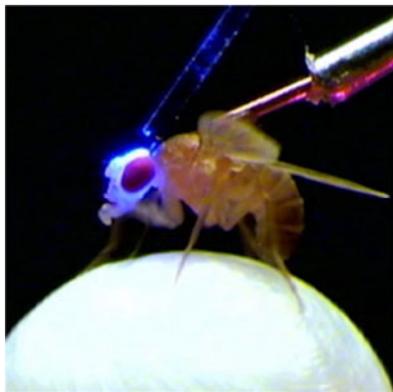


図 1 拘束雄の脳細胞の強制活性化による行動誘起。

羽化直後に集団生活は、不適切なターゲットへの求愛を生涯に亘って抑制する働きがある。臨界期の“社会化刺激”には、求愛行動を開始させる働きを持つ P1 ニューロンが、非特異的な動く視覚刺激にตอบสนองしないように、このニューロンの応答性を減弱させる働きがあると考えられる。そこで、P1 ニューロンの経験依存的な応答特性変化の直接の原因となっている受容体・チャンネル機能を Patch clamp 法によって特定する。さらに、P1 ニューロンの経験依存的な生理特性変化が、Fru に依存した epigenetic 制御による可能性を Pol II occupancy の *in vivo* 測定で評価する。

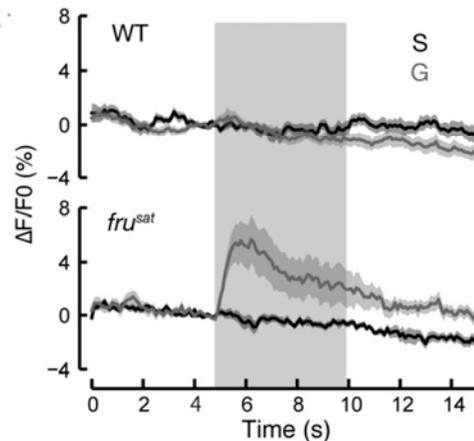


図 2 動く標的 (灰色の期間に与えた) に対する脳細胞の応答。集団飼育(G)の *fru* 変異体のみが応答。

【期待される成果と意義】

本研究により、環境と遺伝とがどのように動物の行動を形づくるのか、高次な神経機能の適応的変化の一般機構を解明することが可能になる。ひいてはヒトの行動を巡る氏と育ちの相互関係についても、理解できるようになる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Koganezawa, M., Kimura, K.-i. and Yamamoto, D. (2016) The neural circuitry that functions as a switch for courtship versus aggression in *Drosophila* males. *Curr. Biol.* 26, 1395-1403.
- Kohatsu, S. and Yamamoto, D. (2015) Visually induced initiation of *Drosophila* innate courtship-like following pursuit is mediated by central excitatory state. *Nat. Commun.* 6, 6457.

【研究期間と研究経費】

平成 28 年度 - 32 年度
140,900 千円

【ホームページ等】

http://www.biology.tohoku.ac.jp/lab-www/yamamoto_lab/

【基盤研究(S)】

生物系 (総合生物)



研究課題名 キネシンモーター分子群による脳神経機能および発生の制御の統合的研究

東京大学・大学院医学系研究科・特任教授

ひろかわ のぶたか
廣川 信隆

研究課題番号：16H06372 研究者番号：20010085

研究分野：細胞生物学

キーワード：運動・輸送、脳・神経系の情報処理、構造生物学、細胞骨格・運動、細胞内情報伝達

【研究の背景・目的】

私達の体を構成する神経細胞を始め全ての細胞は、細胞の働きにとり必須な機能蛋白分子を合成後、多種類の膜小器官、蛋白複合体、さらには mRNA 蛋白複合体として細胞内の目的地へ適正な速度で輸送する。この細胞内の輸送は、細胞の機能、形作り、生存の為に必須である。私達はこの輸送機構の主役である微小管をレールとする Kinesin superfamily 分子群(KIFs)を発見し(JCB 1982; JCB 1992)、哺乳類の全遺伝子 45 個を同定し (PNAS 2001)、KIFs が、多様な機能分子を輸送し分けるだけでなく(JCB 1994; Cell 1994; JCB 1995; Cell 1995; PNAS 1996; Trend Cell Biol 1996; Neuron 1997; Science 1998; JCB 1998; Cell 1998; Science 2000; Cell 2000; Nature 2002; Cell 2006; NCB 2008a&b; Dev Cell 2011; Neuron 2015)、脳の高次機能(Cell 1995; Science 1998; PNAS 2002; Neuron 2011; Neuron 2012)、神経回路網形成(Cell 2001; Cell 2003; Cell 2006; Cell Rep 2015)、体の左右非対称性の決定(Cell 1998; JCB 1999; Cell 2005; Nature 2005; Cell 2006)、腸管神経系の発生の制御(Cell 2009)、腫瘍の抑制(NCB 2005)など驚くべき重要な生命現象を司っている事を解明し、さらにその障害は、神経変性症(Cell 2001)、癲癇(Neuron 2012)、不安神経症(Cell Rep 2013)、腫瘍(NCB 2005)、II 型糖尿病(Dev Cell 2014)等の疾患の原因となる事を明らかにした。この様にモーター分子群 KIFs は、細胞機能の根幹を担うと同時に様々な基本的生命現象を司っておりこの研究は、広く分子細胞生物学、神経科学、発生生物学、生物物理学に留まらず、疾患の病態解明の臨床医学を含む広範な学問分野に非常に大きな学術的意義を有する。私達が発見した哺乳類の Kinesin superfamily molecular motors, KIFs につき以下の未知の重要な課題を解明し、国際的に先駆的研究を推進する事を目的とする。I) KIFs の機能とその制御機構 A)特に主要な KIF である KIF5 と KIF3/KAP3 複合体の作動及びカーゴ輸送におけるリン酸化による制御機構 B) 微小管脱重合能のある KIF2A と KIF19A による微小管脱重合機構 II)KIFs の神経可塑性、記憶・学習等の高次機能、及び神経機能の制御機構 A) KIF21B, KIF3B, 及び KIF17 の神経可塑性と記憶・学習の制御機構 B) KIF1A, KIF26 の疼痛シグナル伝達における機能 III)KIFs による発生制御の分子機構 A) KIF2A の胎児期及び出生後の脳形成及びその障害による小頭症と癲癇の分子機構 B) KIF3B の形態形成因子 (Morphogen) 勾配形成における新しい役割

【研究の方法】

分子細胞生物学、定量的質量分析法、生化学、分子遺伝学、電気生理学、超高解像度光学顕微鏡法、構造生物学等の学際的方法論を駆使する。

【期待される成果と意義】

I)KIFs の機能とその制御機構

A)KIFs の作動及びカーゴ輸送におけるリン酸化による制御機構、B)微小管脱重合能のある KIF2A と KIF19A による微小管脱重合機構

II)KIFs の神経可塑性、記憶・学習等の高次機能、及び神経機能の制御機構

A) a) KIF21B の記憶の素過程及びその障害による心的外傷ストレス (PTSD) における役割、A) b) KIF3B の神経可塑性における役割と、その障害による精神疾患発症のメカニズム、A) c) 視覚野の臨界期神経可塑性と KIFs の機能、A) d) 記憶想起過程における KIF17 の機能、B) a) KIF1A の疼痛 signal coupling における機能と其の欠損による痛覚低下の分子機構、B) b) KIF26 の疼痛持続期間制御に於ける機能と其の欠損による痛覚過敏の分子機構、III)KIFs による発生制御の分子機構

A)KIF2A の胎児期及び出生後の脳形成及びその障害による小頭症と癲癇の分子機構、B)KIF3B の形態形成因子 (Morphogen) 勾配形成における新しい役割等が解明され広く分子細胞生物学、神経科学、発生生物学、生物物理学に留まらず、疾患の病態解明の臨床医学を含む広範な学問分野に非常に大きな学術的意義を有する成果が期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

Hirokawa, N., et. al., Molecular motors in neurons: Transport mechanisms and roles in brain function, development, and disease. **Neuron** 68: 610-638, 2010.

Ichinose, S., et. al., Mechanism of Activity-dependent Cargo Loading via the Phosphorylation of KIF3A by PKA and CaMKIIa. **Neuron** 87: 1022-1035, 2015.

【研究期間と研究経費】

平成 28 年度-30 年度
142,900 千円

【ホームページ等】

<http://cb.m.u-tokyo.ac.jp>

【基盤研究(S)】

生物系 (総合生物)



研究課題名 ピロリ菌 CagA による「Hit-and-Run」発がん機構の解明とその制御

東京大学・大学院医学系研究科・教授

はたけやま まさのり
畠山 昌則

研究課題番号：16H06373 研究者番号：40189551

研究分野：腫瘍生物学

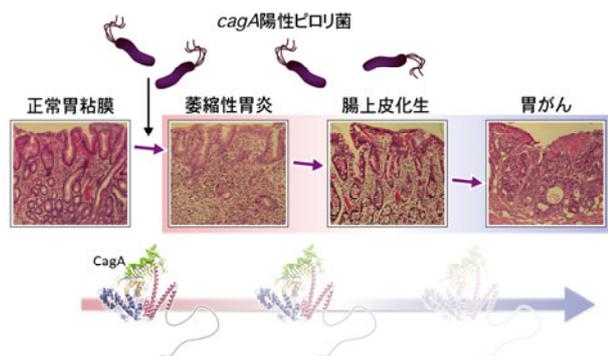
キーワード：発がん、炎症とがん、がん微小環境、がん細胞の特性、がん遺伝子

【研究の背景・目的】

胃がんは全世界部位別がん死亡の第3位を占め、その数は全がん死亡の約10%に及ぶ。胃がんの大多数はヘリコバクター・ピロリ（ピロリ菌）の慢性感染を基盤に発症し、その発症プロセスにはピロリ菌が産生するがんタンパク質 CagA の胃上皮細胞内移行と細胞内シグナルの攪乱が重要な鍵を握る。一方、ひとたび完成した胃がん細胞の悪性形質維持にはピロリ菌ならびに CagA はもはや必要なく、胃発がんは典型的な「Hit-and-Run」型の経過をたどる。本研究は、この胃発がんプロセスを“CagA に依存した細胞悪性化ステージ”および“CagA に非依存的な細胞悪性化ステージ”に区分し、各ステージの本態解明を通して「Hit-and-Run」型の胃がん発症の包括的理解とその進行阻止への道を拓く。

【研究の方法】

ピロリ菌による胃発がんプロセスを「CagA に依存して進行するステージ」ならびにそれに続く「CagA 非依存性を獲得し進行するステージ」に分け、「Hit-and-Run」胃がん発症機構解を目指す(下図)。



CagA 依存的発がんステージに関しては CagA-SHP2 ホスファターゼ複合体形成を中心に、SHP2 結合に関わる CagA 分子多型が胃がん発症リスクを規定する定量的分子基盤、SHP2 のチロシン脱リン酸化基質 Parafibromin の生理的機能と発がんへの関与、SHP2 複合体形成に必須となる CagA のチロシンリン酸化レベルを決定する機構、さらには胃上皮細胞への cagA 陽性ピロリ菌ならびに EB ウイルスの重感染が CagA の発がん活性に及ぼす影響を明らかにする。本研究遂行に重要な役割を担うチロシンリン酸

化型組換え CagA は世界的にも作製・精製を追随できる研究室はなく、胃発がん研究を定性的な解析から定量的な解析に変換する強力な推進力となる。CagA 非依存的発がんステージの解析では、胃がんの特徴的なゲノム変異が CagA 機能を代償する可能性を探るとともに、CagA 発現を人為的に on/off できる遺伝子改変マウスを作製し、病変特異的ゲノム・エピゲノム解析を通して、CagA 非存在的な細胞悪性化形質維持が可能となる機構を明らかにする。

【期待される成果と意義】

本研究は、分子から個体に至る多様な階層での研究を集約して「Hit-and-Run」型の発がん分子機構を包括的に把握することで、ピロリ菌による胃がん発症機構の時空間的理解を更なる高みへと飛躍させるものである。本研究で樹立を目指す独創的な発がん動物モデルは、胃がんのみならず感染がん・炎症がんの発症に広く通底する発がん原理の解明のための強力な *in vivo* モデルを提供する。「Hit-and-Run」型胃発がん機構の分子論的理解は、各々のピロリ菌感染者に対する個別の除菌が有効な胃がん予防につながるか否かの判別を可能にし、precision medicine の観点からもその臨床的意義は大きい。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- ・ Saju P, Murata-Kamiya N, Hayashi T, Senda Y, Nagase L, Noda S, Matsusaka K, Funata S, Kunita A, Urabe M, Seto Y, Fukayama M, Kaneda A, *Hatakeyama M. Host SHP1 phosphatase antagonizes *Helicobacter pylori* CagA and can be downregulated by Epstein-Barr Virus. *Nat Microbiol.* 1: 16026 (2016)
- ・ *Hatakeyama M. *Helicobacter pylori* CagA and gastric cancer: a paradigm for Hit-and-Run carcinogenesis. *Cell Host Microbe* 15: 306-316 (2014)

【研究期間と研究経費】

平成 28 年度－32 年度
141,600 千円

【ホームページ等】

<http://www.microbiol.m.u-tokyo.ac.jp>

【基盤研究(S)】

生物系 (総合生物)



研究課題名 Wnt シグナルネットワークの異常によるがん発症の新規分子機構の解明

大阪大学・大学院医学系研究科・教授 きくち あきら
菊池 章

研究課題番号：16H06374 研究者番号：10204827

研究分野：総合生物

キーワード：Wntシグナル、Arl4c、Dkk1、CKAP4、Wnt5a

【研究の背景・目的】

Wnt は胎生期において器官形成に必須の分泌タンパク質であり、Wnt が活性化する2つのシグナル経路、 β -カテニン依存性経路と β -カテニン非依存性経路の意義が幹細胞生物学を含めた発生生物学的な視点で精力的に解析されてきた。一方、出生後 Wnt シグナルは器官のホメオスタシスの維持に関与するとされているが、その分子機構は十分に理解されていない。Wnt シグナルの異常はがんとの関わりが深く、この10数年間 β -カテニン依存性経路を構成する分子を標的としたがん治療の開発が試みられてきたが、いまだに成果を得るに至っていない。一方、 β -カテニン非依存性経路もがんや炎症に関与することが明らかになってきたが、本経路を活性化するリガンド Wnt5a の発現と腫瘍形成の関連はがん種により異なる可能性があり、その全貌は明らかでない。本研究では Wnt シグナルの異常による発がん機構において未解決な問題、すなわち β -カテニン依存性経路の新規下流シグナル経路による腫瘍形成の分子機構と、 β -カテニン非依存性経路による腫瘍形成と炎症応答の制御機構を明らかにすることを目的とする(図1)。

【研究の方法】

本研究では、Wnt シグナルの異常による新規腫瘍形成機構を解明するために、下記の実験を遂行する。

1. 腫瘍形成における Arl4c の発現制御と作用機構の解明 Arl4c の発現制御機構と活性制御機構、作用機構を、がん細胞株を用いて解析する。マウスがんモデルを用いて Arl4c の発現による腫瘍形成機構を解析する。

2. 腫瘍形成における CKAP4 の細胞内局在と作用機構の解明 CKAP4 の小胞体から細胞膜への輸送機構と Dkk1-CKAP4 経路による細胞増殖機構を、がん細胞株を用いて解析する。マウスがんモデルを用いて、Dkk1-CKAP4 経路の異常による腫瘍形成機構を解析する。

3. 炎症を伴った腫瘍形成における Wnt5a の発現制御と作用機構の解明 Wnt5a の発現制御と細胞増殖機構を、がん細胞株を用いて解析する。マウスがんモデルを用いて、Wnt5a を介した腫瘍細胞と炎症細胞との相互作用を解析する。

【期待される成果と意義】

Wnt シグナルの異常による新規の細胞がん化の分子基盤を確立できることが本研究の意義である。

1. Wnt/ β -カテニン依存性経路の新規下流シグナル経路による腫瘍形成の分子基盤の確立

私共は3次元培養法を用いることにより上皮細胞の増殖を促進する新規のシグナル経路として Arl4c 経路と Dkk1-CKAP4 経路を見出している。これらのシグナル経路による腫瘍形成の分子機構が明らかになる。

2. Wnt/ β -カテニン非依存性経路による腫瘍形成と炎症応答の制御の解明

炎症を伴ったがん組織において、Wnt5a/ β -カテニン非依存性経路がどのように活性化されて、腫瘍形成を誘導するのかが明らかになる。

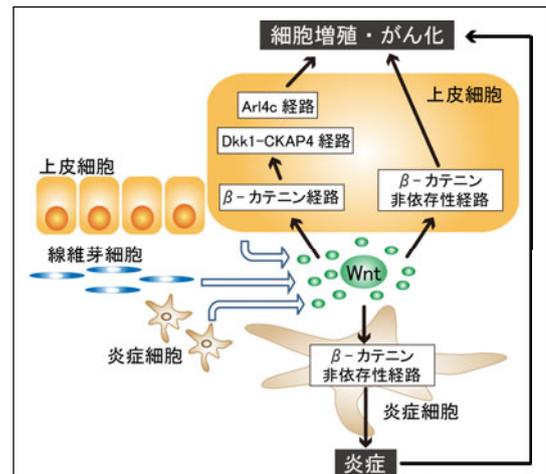


図1 研究の概略

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

・Kimura, H., Fumoto, K., Shojima, K., Nojima, S., Osugi, Y., Tomihara, H., Eguchi, H., Shintani, Y., Endo, E., Inoue, M., Doki, Y., Okumura, M., Morii, E., and Kikuchi, A. CKAP4 is a Dickkopf1 receptor and is involved in tumor progression. J. Clin. Invest. doi:10.1172/JCI84658, 2016

・Matsumoto, S., Fujii, S., Sato, A., Ibuka, S., Kagawa, Y., Ishii, M., and Kikuchi, A. A combination of Wnt and growth factor signaling induces Arl4c expression to form epithelial tubular structures. EMBO J. 33, 702-718, 2014

【研究期間と研究経費】

平成28年度-32年度
136,300千円

【ホームページ等】

<http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/molbiobc/>
akikuchi@molbiobc.med.osaka-u.ac.jp

【基盤研究(S)】

生物系 (生物学)



研究課題名 オートファジーの生理機能の総合的理解

東京工業大学・科学技術創成研究院・特任教授

おすすめ よしのり
大隅 良典

研究課題番号：16H06375 研究者番号：30114416

研究分野：細胞生物学

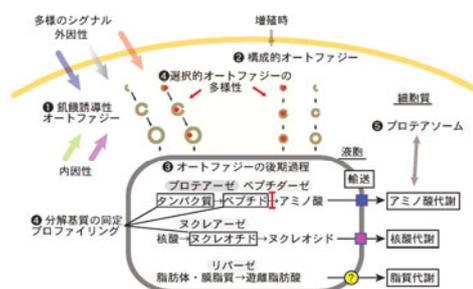
キーワード：オートファジー、タンパク質分解、RNA分解、ATG、酵母

【研究の背景・目的】

オートファジーは自己構成成分の液胞/リソソームにおける分解過程であり、ほぼ全ての細胞が持つ基本的な細胞機能である。その全容の解明は生命の基本単位である細胞の理解に不可欠である。本研究は申請者が過去27年に亘って進めて来た研究を基盤として、酵母の系にのみ可能な厳密な生化学的解析に基づく系統的、総合的な解析を進めることにより、未解決のオートファジーの生理的な意義を明らかにする。

【研究の方法】

1. オートファジー誘導条件の解明
様々な栄養条件欠乏条件で起こるオートファジーの誘導、特に亜鉛、鉄飢餓による誘導、及びその生理機能の解明を図る。
2. 炭素源飢餓誘導オートファジーの誘導機構解明
非発酵性炭素源で培養した酵母は、炭素飢餓に応答しオートファジーを誘導することを見いだした。その誘導シグナル、及び分解基質の同定を進める。
3. オートファジーによるタンパク質分解の解析系の確立。
9種の液胞内アミノ、カルボキシ-ペプチダーゼの多重破壊株の作製を完了し、飢餓条件における表現型を明らかにする。変異株がオートファジーにより、液胞内に蓄積するペプチドを生化学的、細胞生物学的に解析する。さらにこれらペプチドの質量分析により、種々の条件下のオートファジーにより分解されるタンパク質の同定を行う。そのための解析法を確立する。
4. オートファジーによるRNA分解の解析
液胞内RNA分解、細胞質中のヌクレオシドの代謝に関わる酵素系を明らかにする。オートファジーによるRNA分解の基質特異性を網羅的に解析するための実験系を確立する。第一にrRNA, tRNA, ncRNAなどの分解を検討し、次年度以降、オートファジーによる分解の意義を明らかにする。細胞外に放出されるヌクレオシド、修飾塩基などの高感度検出系を確立し、オートファジーの定量的指標としての可能性を探る。
5. その他、分泌型オートファジーの機構、オートファジーの細胞増殖停止、開始機構との関係、構成性のオートファジーなど多岐に亘るオートファジーの課題について検討する。



【期待される成果と意義】

オートファジーは現在最も注目される細胞生物学の領域となった。多岐に亘る生理機能が示唆されているが明確な因果関係は不明である。その一因はリソソームの生化学的解析が難しいことによる。酵母の液胞の特性を生かして、何が何時どのようにオートファジーにより分解されるかを明らかにすることは、今後のオートファジー研究の展開に重要な情報となる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

1. Takeshige, K., Babe, M., Tsuboi, S., Noda, T., and Ohsumi Y. Autophagy in yeast demonstrated with proteins-deficient mutants and its conditions for induction. *J. Cell Biol.*, 119, 301-311 (1992)
2. Tsukada, M., and Ohsumi, Y. Isolation and characterization of autophagy-defective mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett.*, 333, 169-174 (1993)
3. Mizushima, N., Noda, T., Yoshimori, T., Tanaka, T., Ishii, T., George, M. D., Klionsky, D. J., Ohsumi, M., and Ohsumi, Y. A protein conjugation system essential for autophagy. *Nature*, 395, 395-398 (1998)
4. Nakatogawa, H., Ichimura, Y., and Ohsumi Y. Atg8, a ubiquitin-like protein required for autophagosome formation, mediates membrane tethering and hemifusion. *Cell*, 130, 165-178 (2007)
5. Bulk RNA degradation by nitrogen starvation-induced autophagy in yeast. Huang H*, Kawamata T*, Horie T, Tsugawa H, Nakayama Y, Ohsumi Y**, Fukusaki E**. *EMBO J.* 34, 154-168 (2015)

【研究期間と研究経費】

平成28年度-32年度
143,700千円

【ホームページ等】

<http://www.ohsumilab.ari.titech.ac.jp/>
yohsumi@iri.titech.ac.jp

【基盤研究(S)】

生物系 (生物学)



研究課題名 再生原理の理解にもとづいて四肢再生を惹起する

学習院大学・理学部・教授

あがた きよかず
阿形 清和

研究課題番号：16H06376 研究者番号：70167831

研究分野：生物学

キーワード：発生・分化、器官形成、再生、エピゲノム、ゲノム編集

【研究の背景・目的】

形のあるものには座標のシステムがあり、再生過程では座標の端を作ってから(先端化)、残っている部分との途中の座標を作り直すことで(インターカレーション)元の形を再生していることを示唆してきた(文献1)。それらの再生原理にもとづいて、再生できない動物が再生のどのステップで止まっているかを明らかにし、止まっているステップを乗り越えることで、失った再生能力を惹起させることに成功してきた(文献2-4)。

イモリは変態後も四肢再生能力を維持するのに対し、カエルは変態後に四肢再生能力を失いスパイク状の構造しか再生できない。これは再生の第一段階の<先端化>は行われるが、第二段階の<インターカレーション>が遂行されないためと考えられる。すなわち先端化のFGFシグナルは機能するものの、インターカレーションを引き起こすためのShhとFGFシグナルとのポジティブ・フィードバックが形成されないためと考えられた。

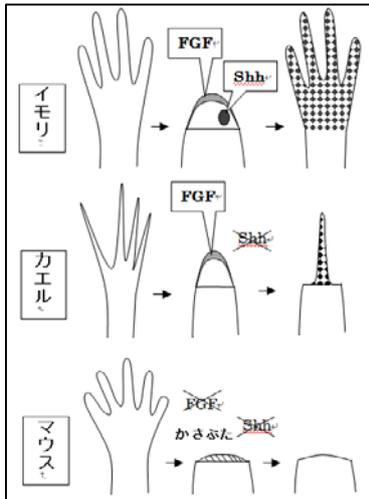


図1. イモリとカエルとマウスの再生能の違いを分子レベルで理解する

本研究では、カエルを遺伝子操作することで変態後もShhシグナルを活性化させて完全な四肢再生を惹起することに挑戦し、さらには、マウスにおいても四肢切断後に先端化とインターカレーションを引き起こすことで四肢再生を惹起することにチャレンジする。

【研究の方法】

アフリカツメガエルで四肢再生を惹起させるために、まずはShh遺伝子が変態後のカエルの再生芽で発現しなくなる理由を明らかにする。そのために、Shh遺伝子の四肢特異的なエンハンサー(MFCS1)が変態後に機能しなくなる理由を調べる。具体的には、①変態後にエピジェネティックな修飾を受ける可能

性と、②変態後にFGF/ERKシグナルとShhシグナルのクロストークが何処かで遮断される可能性があり、イモリとカエルのMFCS1を詳細に比較することでその理由を明らかにする。その上で、変態後の四肢再生芽でShh遺伝子が発現できるようにした遺伝子操作カエルを作成し、四肢再生を惹起させる。また、マウスについても、FGF/ERKシグナルを外科的に活性化した後、カエルと同じ戦略を用いてShh遺伝子を活性化し四肢再生へ挑戦する。

【期待される成果と意義】

本研究によって変態後のカエルで四肢再生が惹起され、マウスで四肢再生がどのステップでとまっているかが明らかになれば、再生医療の新たな方向性を示し、大きなインパクトをもたらされる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

1. Unifying principles of regeneration I: epimorphosis versus morphallaxis. K. Agata, Y. Saito and E. Nakajima *Dev. Growth Differ.*, 49, 73-78 (2007)
2. The molecular logic for planarian regeneration along the anterior-posterior axis. Y. Umesono, J. Tasaki, S. Yazawa, K. Itomi, O. Nishimura, Y. Tabata, F. Son, N. Suzuki, R. Araki, M. Abe and K. Agata *Nature*, 500, 73-76 (2013)
3. Reintegration of the regenerated and the remaining tissues during joint regeneration in newts, *Cynops pyrrhogaster*. R. Tsutsumi, T. Inoue, S. Yamada and K. Agata *Regeneration*, 2, 26-36 (2015)
4. Functional joint regeneration is achieved using reintegration mechanism in *Xenopus laevis*. R. Tsutsumi, S. Yamada and K. Agata *Regeneration*, 3, 26-38 (2016)

【研究期間と研究経費】

平成28年度-32年度
136,800千円

【ホームページ等】

http://www.gakushuin.ac.jp/univ/sci/bio/laboratory/detail_agata/theme.html

【基盤研究(S)】

生物系 (生物学)



研究課題名 維管束幹細胞の多分化能の分子基盤

東京大学・大学院理学系研究科・教授

ふくだ ひろお
福田 裕穂

研究課題番号： 16H06377 研究者番号： 10165293

研究分野： 生物学

キーワード： 植物、幹細胞、多分化能

【研究の背景・目的】

多細胞生物は多様な細胞が時空間の厳密な制御のもとに作られ、それらが互いに密に関連して個体としての機能を果たす。一方で、多様な細胞は継続的につくりだされる必要がある。この継続的に多様な細胞の供給を支えるのが、幹細胞システムである。幹細胞は自ら分裂しながら、その一部が多様な細胞へと分化する。したがって、多細胞生物の成り立ちを理解するには、幹細胞の発生運命の制御機構の理解が必須である。

私たちはこれまでの研究で、維管束幹細胞の維持シグナルとその主要ネットワークの同定、さらには、この発見を元に新規の維管束細胞分化誘導系の開発に成功した。そこで本研究では、新規分化誘導系を用いて、植物個体形成の根本的な問い、「植物幹細胞はどこから来て」、「どこに、どのように行くのか」にアプローチする。

【研究の方法】

私たちは Glycogen Synthase Kinase 3 (GSK3) 阻害剤 *bikinin* を用いた新たな維管束細胞誘導系の開発に成功し、この実験系を **Vascular cell Induction**

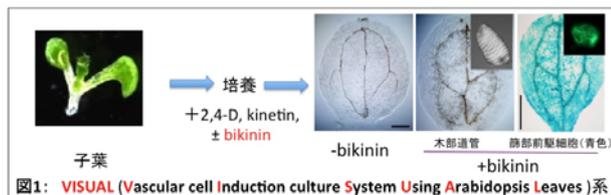


図1: VISUAL (Vascular cell Induction culture System Using Arabidopsis Leaves)

culture System Using Arabidopsis Leaves (VISUAL) と名付けた (図1)。この系においては、葉肉細胞から維管束幹細胞が分化し、さらに維管束幹細胞から木部細胞と篩部細胞が分化した。

そこで、VISUAL系を用いて、以下の解析を行い、維管束幹細胞の確立機構と維管束幹細胞からの木部・篩部分化のスイッチング機構を明らかにする (図2)。

1) 光シグナルに着目し、葉肉細胞からの維管束幹細胞確立のしくみを明らかにする。

2) 篩部分化の研究は、木部分化研究に比べて遅れていることから、篩部分化の制御機構を明らかにする。

3) 維管束メリステムでは、維管束幹細胞が木部細胞と篩部細胞の間に位置し、両サイドに篩部細胞と木部細胞を作り続ける。組織内でのこの木部/篩部細胞分化のスイッチング機構を明らかにする。

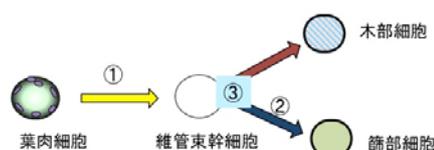


図2: 本研究で対象とする維管束幹細胞の分化過程

【期待される成果と意義】

本研究により、維管束幹細胞の発生運命制御の理解が進む。特に、細胞内シグナル伝達のネットワーク、発生運命決定のための転写の鍵因子、様々なフィードバックシステムが明らかになると予想される。維管束メリステムだけでなく、植物におけるメリステム制御の基本システムの理解を深めると考えられる。また、動物細胞における幹細胞の発生運命制御機構と比較することで、多細胞生物における幹細胞の発生運命制御の多様性と普遍性が明らかになると期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Oda, Y. and Fukuda, H.: Initiation of cell wall pattern by a Rho- and microtubule-driven symmetry breaking. *Science* 337, 1333-1336, 2012.
- Kondo, Y., Ito, T., Nakagami, H., Hirakawa, Y., Saito, M., Tamaki, T., Shirasu, K., and Fukuda, H.: Plant GSK3s regulate stem cell differentiation downstream of TDIF-TDR signalling. *Nature Commu.* 5, article number 4505, 2014.
- Kondo, Y., Nurani, A. M., Saito, C., Ichihashi, Y., Saito, M., Yamazaki, K., Mitsuda, N., Ohme-Takagi, M. and Fukuda, H.: Vascular cell Induction culture System Using Arabidopsis Leaves (VISUAL) visualizes the sequential differentiation of sieve element-like cells. *Plant Cell*, in press, 2016.

【研究期間と研究経費】

平成 28 年度 - 32 年度
141,800 千円

【ホームページ等】

<http://www.biol.s.u-tokyo.ac.jp/users/seigyolab.html>

【基盤研究(S)】

生物系 (生物学)



研究課題名 植物発生進化のグランドプランとしての細胞分裂軸制御機構とその時空間制御機構の解明

基礎生物学研究所・生物進化研究部門・教授 **はせべ みつやす** **長谷部 光泰**

研究課題番号：16H06378 研究者番号：40237996

研究分野：進化生物学

キーワード：細胞分裂軸、発生進化、細胞進化、ヒメツリガネゴケ、ミカヅキモ

【研究の背景・目的】

動物植物ともに、細胞がどちらの方向に分裂するかは発生過程に大きな影響を与える。そして、細胞分裂軸の変化は、動植物において体制進化に大きく寄与してきた。陸上植物は中心体や星状体を持たず、動物と異なった新規の細胞分裂軸決定機構を持つと予想されるがその分子機構は未解明である。本研究ではこれまでの発生進化研究、微小管制御研究から得たアイデアの下、新発見したヒメツリガネゴケの垂層分裂から並層分裂への転換を一括制御するGRAS転写因子と関連因子を手がかりに、動物とは異なった新たな細胞分裂軸制御機構とその時空間的制御機構を明らかにする。そして、ヒメミカヅキモ、シロイヌナズナとの比較から細胞分裂軸制御機構の進化と陸上植物の発生進化のグランドプラン進化との関係を推定することを目的とする。

陸上植物発生のグランドプランは細胞レベルにある

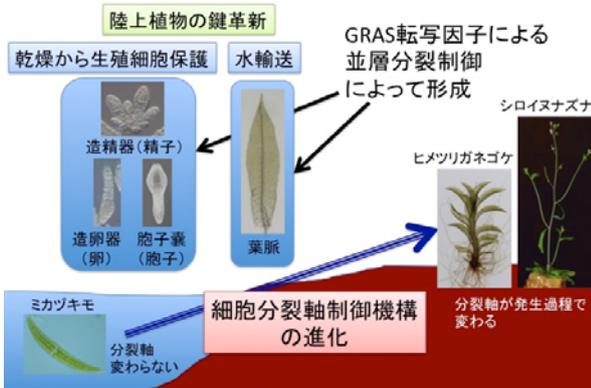


図1 細胞分裂軸制御機構の進化が陸上植物進化の鍵となったのではないだろうか

【研究の方法】

陸上植物における細胞分裂軸制御機構を明らかにし、その進化過程を推定する。

【研究1】垂層分裂から並層分裂への転換に必要なヒメツリガネゴケ GRAS 転写因子と微小管関連因子を結ぶ分子機構を GRAS 転写因子 が制御する因子の解析から解明する。

【研究2】GRAS 転写因子とその制御に関わる因子の時空間制御機構をヒメツリガネゴケの葉脈形成をモデルとして明らかにする。

【研究3】研究1、研究2で明らかになった転写因子と微小管関連因子を結ぶ遺伝子系、時空間制御

機構をシロイヌナズナ、ヒメミカヅキモにおいて解析し、進化過程の推定を行う。

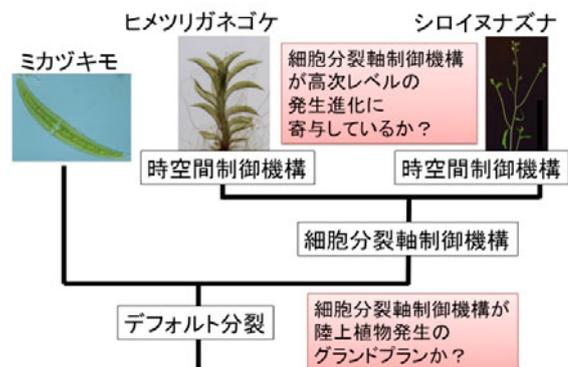


図2 細胞分裂軸の時空間制御機構の進化が陸上植物の多様化に寄与したのではないだろうか

【期待される成果と意義】

進化学的に重要な形質の分子機構が明らかになることで、進化学に新しい潮流ができる例は多い。本研究では、陸上植物の細胞分裂軸方向決定の分子機構の概要を世界に先駆けて明らかにし、その進化過程を推定できることが予想され、細胞生物学、発生学とともに、発生進化学の新しい研究潮流を作りうる点に学術的意義がある。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- ・ Fukushima, K., Fujita, H., Yamaguchi, T., Kawaguchi, M., Tsukaya, H., and Hasebe, M. (2015) Oriented cell division shapes carnivorous pitcher leaves of *Sarracenia purpurea*. *Nat. Commun.* 6, 6450
- ・ Kofuji, R. and Hasebe, M. (2014) Eight types of stem cells in the life cycle of the moss *Physcomitrella patens*. *Curr. Opin. Plant Biol.* 17, 13-21.

【研究期間と研究経費】

平成 28 年度－32 年度
150,100 千円

【ホームページ等】

<http://www.nibb.ac.jp/evodevo>

【基盤研究(S)】

生物系(農学)



研究課題名 第二の緑の革命をめざす環境保全型超多収イネの作出

東北大学・大学院農学研究科・教授

まきの あまね
牧野 周

研究課題番号：16H06379 研究者番号：70181617

研究分野：植物栄養学

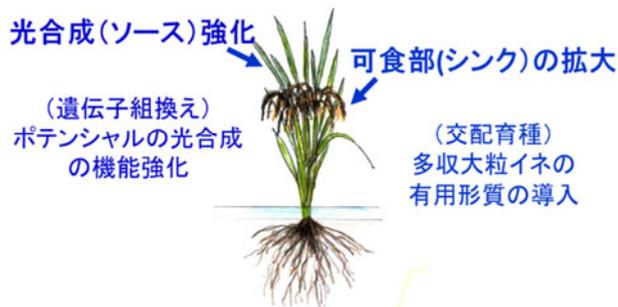
キーワード：イネ、光合成、多収、バイオマス、窒素

【研究の背景・目的】

イネは世界で最も重要な穀類作物で、人類は食料の20%以上を依存している。1960年代人類は緑の革命と呼ばれた短稈育種によって、飛躍的な増収に成功した。短稈育種の成功は、多肥に依存したソース能強化とシンク拡大によってもたされたものである。とりわけ多量の窒素施肥は、葉の窒素含量の増加によってソース能である光合成を増大にさせ、同時にシンク面では、穂数や粒数を増加させた。しかし一方で、多量の窒素施肥は大きな環境破壊にもつながった。したがって、窒素による環境負荷を最小限に抑えた多収を実現することは急務である。

短稈育種の成功後、イネの主要な改良は病害虫耐性付与や良品質米育種、早稲品種の作出等に移り、高収量性に関しては、ハイブリッドイネや穂重型ニュープラントイネの作出が注目されたが、当初の短稈種を超える高収量イネの作出はされていない。

そこで、本課題では、ソースとシンク機能をともに強化させる戦略で、多肥に依存しない環境保全型の超多収イネの作出をめざすこととした(図)。まず、



図：イネの超多収性を光合成(ソース)強化と可食部(シンク)拡大で実現。超多収は高い光合成能力と大きな可食部をバランス良く持つことが必須である。

ソース機能の向上のために、葉身窒素の最大の投資先である光合成の炭酸固定酵素ルビスコ(Rubisco)の適量化と効率改善を試み、窒素に対する光合成の強化を計る。また、シンク側からは、大粒多収イネ「秋田63号」の有用形質を持つ準同質遺伝子系統を育成する。次に、両者の交配種を育成する。同時に、組換え導入も試みる。作出された優良系統は、P1P 隔離開放系組換え圃場の試験に供し、収量評価を行う。

【研究の方法】

まず、電子伝達系、Rubisco activase、およびカルビン回路鍵酵素の強化イネを作製し、それらの優良系統と Rubisco 増減組換えイネの交配種を作製する。同時にシンク能強化として、秋田63号由来の大粒 QTL の高収量性効果の実証を含め準同質遺伝子系統を作出する。その準同質遺伝子系統に Rubisco 改善イネを交配導入する。そして、最終的には光合成とバイオマス生産評価に行い、P1P 隔離開放系組換え圃場に供し、窒素の施肥量を変えて圃場レベルでの収量・バイオマス調査等を行う。

【期待される成果と意義】

今後の世界人口の増加は、とくにアジアやアフリカで大きく、コメの需要は2025年までに30%以上増加すると予想されている。現在の多肥依存型のコメ作りがもはや限界に達し、大きな環境破壊にもつながりつつある。このような中、Rubisco 機能を強化させたソース能と大粒有用形質を持ったシンク能を有する超多収を狙う環境保全型の革新的なイネを開発することによって、21世紀版の「緑の革命」となることを期待している。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Sudo E, Suzuki Y and Makino A (2014) Whole-plant growth and N utilization in transgenic rice plants with increased or decreased Rubisco content under different CO₂ partial pressures. *Plant Cell Physiol.* 55: 1905-1911.
- Makino A (2011) Photosynthesis, grain yield and N utilization in rice and wheat. *Plant Physiol.* 155: 125-129.

【研究期間と研究経費】

平成28年度-32年度
108,300千円

【ホームページ等】

<http://www.agri.tohoku.ac.jp/syokuei/index-j.html>
amanemakino@m.tohoku.ac.jp

研究課題名 植物自家不和合性の分子機構と進化



東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

たかやま せいじ
高山 誠司

研究課題番号：16H06380 研究者番号：70273836

研究分野：農芸化学、応用生物化学

キーワード：植物生化学、生殖、進化、自家不和合性

【研究の背景・目的】

多くの植物は自家不和合性という性質を有し、自殖(近親交配)を回避して種の遺伝的多様性を維持している。この自他識別は、*S*遺伝子座のハプロタイプ(S_1, S_2, \dots, S_n)にコードされた2種類の認識因子(花粉因子と雌ざい因子)の相互作用を介して行われている。我々は、アブラナ科およびナス科植物を対象に分子機構解明を進め、植物が「自己認識」と「非自己認識」という根本的に異なる自他識別機構を進化させてきたことを明らかにした(図1)。

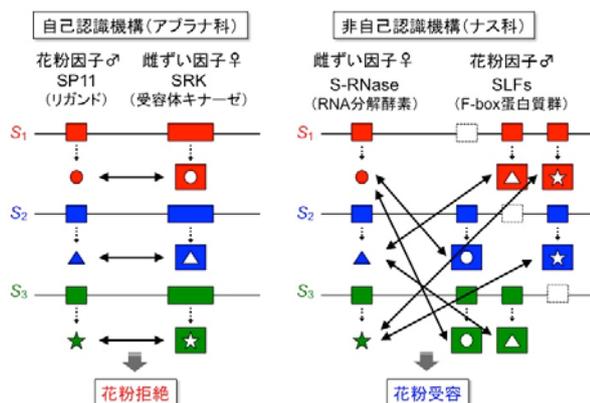


図1. 植物自家不和合性の基本原理

アブラナ科植物では、花粉因子および雌ざい因子がリガンド様蛋白質(SP11)と受容体キナーゼ(SRK)であり、同一*S*ハプロタイプ由来の両者が特異的に相互作用することで「自己」を認識し、雌ざい細胞内に不和合反応を誘起して自己花粉を拒絶していることが示されてきた。

一方、ナス科植物では、雌ざい因子はRNA分解酵素(S-RNase)であり、自己花粉のRNAを特異的に分解する「細胞毒」として機能するが、花粉因子のF-box蛋白質群(SLFs)が「非自己」S-RNaseを分担して無毒化することで非自己の花粉を特異的に受容していることが示されてきた。

本研究では、こうした発見により浮上した新たな未解決課題の中から、1)多数の分子の中から自己および非自己特異的な認識を可能とする認識因子の蛋白質構造上の分子基盤解明、2)自他認識から花粉拒絶あるいは受容に至るまでの分子機構解明、3)多様な自他識別機構を生み出してきた植物自家不和合性の進化経緯の解明、の3つの課題を取り上げ、研究期間内での解明を目指す。

【研究の方法】

1) 自己および非自己認識機構の蛋白質構造化学的解明では、これまでに成功していない認識因子SRK, S-RNase, SLFsの異種細胞での発現系の確立が鍵を握る。2) 自他認識から花粉拒絶あるいは受容に至るまでの分子機構解明では、アブラナ科植物においては雌ざい細胞内のCa²⁺の挙動解析、ナス科植物においては花粉管内でのS-RNaseの挙動解析が中心となる。3) 自家不和合性の進化過程の解明では、複数の植物種における*S*遺伝子座の構造の比較解析が中心的手法となる。

【期待される成果と意義】

本研究により、自家不和合性における自他識別の仕組みが蛋白質構造レベルで明らかとなり、自己・非自己の識別という生物の根幹を成す基本的仕組みの理解が深化すると期待できる。また、F-box蛋白質、受容体キナーゼは植物の2大ファミリー蛋白質であり、これらを介した情報感知・伝達機構の一端が明らかとなり、植物の様々な生命現象の理解に貢献することが期待できる。さらに、多様な自家不和合性の進化過程を解析することで、変動する環境を生き抜いてきた植物の生存戦略を理解し、環境保全等に向けた基盤情報を提供することができる。さらに、本研究における自家不和合性の基礎的理解は、汎用性のあるF₁種子生産法の確立など農業・育種上の技術開発に生かされる可能性が期待できる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- ・Iwano M, Ito K, Fujii S, *et al.*, Calcium signalling mediates self-incompatibility response in the Brassicaceae. *Nature Plants* 1, 15128, 2015.
- ・Kubo K, Paape T, *et al.*, Gene duplication and genetic exchange drive the evolution of S-RNase-based self-incompatibility in *Petunia*. *Nature Plants* 1, 14005, 2015.

【研究期間と研究経費】

平成28年度-32年度
140,800千円

【ホームページ等】

<http://bsw3.naist.jp/takayama/a-taka@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp>

【基盤研究(S)】

生物系(農学)



研究課題名 時空間的探索による一酸化炭素資化菌の包括的研究とその応用基盤の構築

京都大学・大学院農学研究科・教授 さこ よしひこ
左子 芳彦

研究課題番号：16H06381 研究者番号：60153970

研究分野：海洋微生物学

キーワード：一酸化炭素(CO)資化菌、CO代謝、ゲノム解析、海洋コア、メタンハイドレート

【研究の背景・目的】

一酸化炭素(CO)は強い還元力を有し、多くの微生物の増殖を阻害する有毒ガスである。CO資化菌はCOを資化して増殖する。CO代謝において、複数種のCarbon monoxide dehydrogenase (CODH, *cooS*)が中心的な役割を担っており、CODHはその種類によってATP合成、炭酸固定や還元力生成と多岐に渡る代謝に寄与する。水素(H₂)生成型CO資化菌ではCODH-Iと同一遺伝子クラスター上のヒドロゲナーゼが複合体を形成し、CO酸化とH₂生成を共役させることでエネルギー獲得を行う。そのため、H₂生成型CO資化菌は合成ガスのCOを利用して高効率に水素を生成する微生物触媒への利用が期待されている。一方、COは多様な有用C1化合物を合成するための前駆物質でもある。そこで、CO₂⇌COの可逆反応を行なうCODHは、CO₂からCOを生成する新規持続的触媒として注目されている。より高効率な生物触媒ならびに触媒資源の開発に向け、CO資化菌の資源化が望まれている。

我々は、海洋・陸性熱水環境より多様なH₂生成型CO資化菌を分離してきた。特に海底カルデラコアから分離した新属種の細菌は、既報の生物で最多の6つのCODHを有する。本菌は、孢子として堆積コア内で休眠中の古代型CO資化菌と予測され、代謝過程にCOを共役させ、直接電子を取り込む強力なCO利用能を有している。本研究では、強力なCO利用能を有する古代型を中心に、CO資化菌を総合的に理解し、CO₂削減と次世代炭素循環の創生を目指す。

【研究の方法】

- (1) 古い年代の堆積コアを中心に海洋・陸水熱水環境から新規CO資化菌の分離とその環境のメタゲノム解析を行う。
- (2) 分離株の全ゲノム解析を行い、メタボローム/トランスクリプトーム解析による分子生理学的研究を進め未知CO代謝を解明する。
- (3) リスト化した高性能CODH組換え微生物の性状解析と本酵素大量発現系を構築する。

【期待される成果と意義】

孢子として海底に眠るCO資化菌に探索範囲を拡大し、未開拓の生理・生態・生化学的特性を総合的に理解して、脱化石燃料生産技術とCO₂削減技術の創生に資するものである。CO資化菌の理解が進み

CO代謝を制御することで、合成ガス由来のH₂生産効率を向上させる新規な耐熱性微生物触媒が確立される。また、高性能なCO代謝遺伝子の利用と光エネルギーとの共役で、C1化学の素材を高純度で提供可能になり、地球温暖化ガスのCO₂を積極的に新規炭素資源とした次世代炭素循環の創生に繋がる。

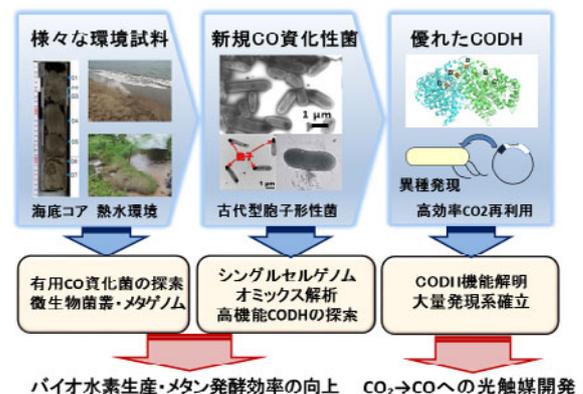


図1 本研究の概要

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Yoneda, Y., I-Kano, S., Yoshida, T., Ikeda, E., Fukuyama, Y., Omae, K., Kimura-Sakai, S., Daifuku, T., Watanabe, T. and Sako, Y. (2015) Detection of anaerobic carbon monoxide-oxidizing thermophiles in hydrothermal environments. *FEMS Microbiol. Ecol.* 91: 1-9.
- Yoneda, Y., Yoshida, T., Yasuda, H., Imada, C. and Sako, Y. (2013) A novel thermophilic, hydrogenogenic, and carboxydrotrophic bacterium *Calderohabitans maritimus* gen. nov., sp. nov. from a marine sediment core of an undersea caldera. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 63: 3602-3608.

【研究期間と研究経費】

平成28年度-32年度
133,100千円

【ホームページ等】

<http://www.microbiology.marine.kais.kyoto-u.ac.jp/>

【基盤研究(S)】

生物系 (農学)



研究課題名 フロックュレーション解析に基づく環境界面工学の展開

筑波大学・生命環境系・教授

あだち やすひさ
足立 泰久

研究課題番号： 16H06382 研究者番号： 70192466

研究分野： 農学

キーワード： 不均一コロイド、凝集、沈降、界面動電現象、生物資源

【研究の背景・目的】

粘土、有機物など土壌や水中に遍在する微細なコロイド粒子面分はその表面に各種栄養塩、ミネラル、さらには化学毒性が問題になる汚染物質を吸着濃縮する性質を有している。特にこの傾向は、ダイオキシン類などの疎水性の化合物や放射性核種を含む重金属類など化学種の溶解性が低い時に著しい。一方、微粒子から構成される分散系は熱力学的に不安定であり、粒子同士は互いに凝集しフロックを作り易い。従って微粒子そのものより、その凝集体であるフロックの方が運動の単位として重要である。従って、土壌や水環境における化学物質の動態を理解し、汚染対策、生態系の保全や資源管理などを考えて行く上では、種々の化学条件、水理学的条件に対応したフロクキュレーションの動力学に関する体系的知識を整備していくことが有効である。

本研究の目的は、環境中のコロイドがナノ粒子と溶解有機物から構成され、乱流条件下にあることを想定しフロクキュレーションの動力学の解析を深化させ、その結果に基づいて環境界面工学の体系を構築し展開することにある。また、一連の活動を通して筑波大学に発足したリサーチユニット生物資源コロイド工学の活動を強化し、研究拠点機能の充実をはかる。

【研究の方法】

有機分子吸着を伴う流れ場におけるコロイドの凝集過程のダイナミクス、②多孔質複合体の界面動電現象、③フロック群の乱流沈降とレオロジー、の3課題を研究コアとして設定し、モデルコロイド粒子と高分子電解質を用いた理論とその実験面での現象の理解を体系的に進展させる。次に得られた成果や開発された方法を、④濃厚コロイドの分離操作、⑤微生物コロニーにおける凝集と界面動電現象、⑥フィールドにおける水質構造の解析、に関連づけることによって、環境面におけるコロイド界面科学の工学的な展開をはかる(図参照)。また、不均一系コロイド界面のダイナミクスの解析を共通項に食品、生物材料、膜、生体界面などを扱う分野との交流を積極的に行い、より総合的な視点から生物資源に関するコロイド工学の横断的体系の構築を目指す。

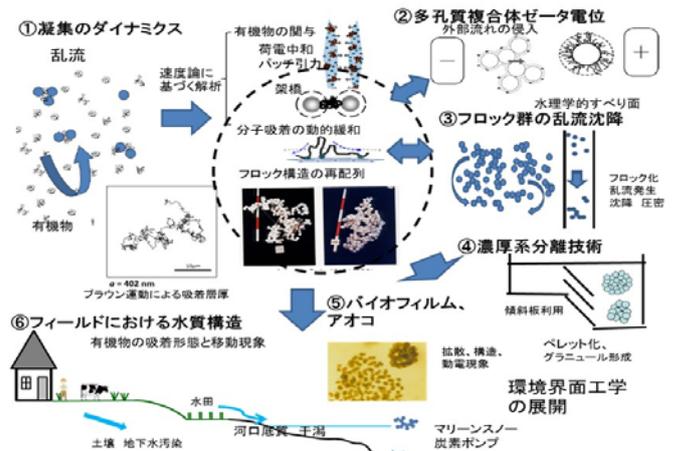


図1.研究の概念図

【期待される成果と意義】

流れ場が関与するコロイド分散系の凝集に関わる動力学を明らかにすることによって、土壌中の粘土などマイクロ粒子の不均一界面間の相互作用とマクロな移動現象や力学機構をより高度な視点から理解することができるようになる。また、フロックや高分子に被覆されたコロイド複合体などの多孔質体の界面動電現象の実体を扱う方法を明らかにすることで、土壌や水環境中の水質変動や環境中の微生物を扱う方法の新展開が期待できる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- ・土のコロイド現象 - 土・水環境の物理化学と工学的基礎 -, 足立泰久, 岩田進午 編, 学会出版センター (2003)
- ・ Dynamics of polyelectrolyte adsorption and colloidal flocculation upon mixing studied using mono-dispersed polystyrene latex particles, Lili Feng, Martien Cohen Stuart, Yasuhisa Adachi, Adv. in Colloid and Interface Sci. 226,101-104 (2015)

【研究期間と研究経費】

平成 28 年度 - 32 年度
102,000 千円

【ホームページ等】

<http://www.agbi.tsukuba.ac.jp/~colloid/>



研究課題名 マスト細胞活性化症候群を基盤とする難治性炎症性病態の比較動物学的再定義

東京農工大学・大学院農学研究院・教授

まつだ ひろし
松田 浩珍

研究課題番号：16H06383 研究者番号：80145820

研究分野：農学

キーワード：疾病予防・制御

【研究の背景・目的】

マスト細胞は結合組織に広く分布するが、病原体成分や IgE 抗体により多種多様な起炎性物質を細胞外に放出し、生体防御に関与するだけでなく、アレルギー反応のような非特異性炎を誘導・修飾することが知られている。この反応は、特異顆粒に含まれるヒスタミンなど、刺激直後に放出されるものと、サイトカインなど遅発性に新たに合成・放出される化学伝達物質によって惹起される。

難治性炎症性疾患において、局在するマスト細胞が病態形成に関与することは周知であるが、活性化機構は上述した単純な反応系だけで理解することはできない。また、起炎性物質は多種にわたり、放出動態に動物種を含め物質特異性を有する。放出された起炎性物質は、血液を介し、遠隔部位で病態を誘導する場合もあり、近年「マスト細胞活性化症候群」という新たな概念が提起された。本研究では、マスト細胞の活性化と病態発現部位について、組織微小環境を背景に疾病及び動物ごとの機能性分子を同定し、多種の動物を対象とする獣医領域において未だ解明されていない難治性炎症性疾患の病態解析を行い、新たな視点から再定義をすることを目的とし、病因と病勢評価につながる新奇診断法及び治療薬の開発を目指す。また、得られた新知見は、ヒト疾患への応用が可能であり、トランスレーションモデルとして、医学領域への貢献も期待される。

【研究の方法】

マスト細胞活性化症候群診断パラメータの解析研究では、1) 各種動物に由来するマスト細胞の種特異性、組織特異性、並びに分化特異性を細胞表面分子および内在する化学伝達物質の性状と量的差異を検証するとともに、各種刺激物質による反応性の違いについて解明する。2) 各種難治性炎症疾患モデルを用いて、マスト細胞由来化学伝達物質を血液及び組織にて定量し、診断パラメータとしての有効性を評価する。3) 遺伝子操作によってノックインあるいはノックアウトしたマスト細胞をマウスに移入することにより、特異的伝達物質の作用を痒みおよび痛みの観点から明らかにする。さらに、病勢を修飾する主たる化学伝達物質が判明した後、その標的分子および組織を同定し、マスト細胞活性化症候群の有効な制御法を確立する (図 1)。

【期待される成果と意義】

本研究プロジェクトは、これまでに得られた多くの知見に立脚し、動物の難治性炎症性疾患の発症と



図 1 研究計画

病勢悪化のプロセスを体系的に明らかにしようとするもので、特にマスト細胞の動物種、局所、分化段階での違いを生化学的観点だけでなく、生物物理化学的観点を加味した視点は他に例をみない。マスト細胞活性化症候群の関与を明らかにし、有効な診断パラメータを同定にすることは、これまでの難治性炎症性疾患の治療方針を大きく変化させる可能性がある。即ち、基礎治療と並行し、疾病特異的なマスト細胞活性化症候群誘発物質を定量し、病態修飾作用を制御することで病勢を制御出来れば、難治性炎症性疾患治療に新しい道を切り開くことが可能となる。コンパニオン診断によって予防および早診完治を目指す現代において、学術的意義のみならず、社会的意義が極めて大きい。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Hamilton, M.J. *et al.* Mast cell activation syndrome: A newly recognized disorder with systemic clinical manifestations. *J. Allergy Clin. Immunol.* 128:147-152 (2011).
- Tanaka, A. *et al.* Mast cells function as an alternative modulator of adipogenesis through 15-deoxy-delta-12, 14-prostaglandin J2. *Am. J. Physiol.-Cell Physiol.* 301:C1360-C1367 (2011).

【研究期間と研究経費】

平成 28 年度 - 32 年度
144,900 千円

【ホームページ等】

http://web.tuat.ac.jp/~mol_path/hiro@cc.tuat.ac.jp

【基盤研究(S)】

生物系 (医歯薬学)



研究課題名 糖ペプチドを含有する大・中分子の合成を指向した革新的合成触媒の開発

京都大学・大学院薬学研究科・教授 **たけもと よしじ**
竹本 佳司

研究課題番号：16H06384 研究者番号：20227060

研究分野：化学系薬学、有機合成化学

キーワード：合成化学、触媒、糖、ペプチド、大・中分子

【研究の背景・目的】

近年、抗体や核酸などのバイオ医薬が急増しており、それらはもっぱら生物学的的手法を利用して合成されている。その理由は、タンパク質、核酸、糖質から成る大・中分子化合物を効率的に化学合成する方法論が極めて少ないからである。

生物学的手法を用いて供給されているバイオ医薬品においても、現状では(1)単一化合物として純粋に合成できない、(2)薬価が高い、(3)構造修飾が容易でないなど幾つかの解決すべき課題がある。医薬品の製造という観点のみならず、今後の生命科学の発展を支えるためにも、所望の位置を化学修飾した抗体、ホルモン、受容体といった糖タンパク質を純粋、簡便かつ経済的に化学合成する優れた方法論を確立することは喫緊の課題である。しかし、既存の化学合成手法を用いると、高価な脱水試薬や反応基質を過剰に使用する必要があるため、目的生成物以上に大量の廃棄物が副生するという問題を抱えている。

本課題では、アミノ酸や単糖を穏和な条件下、廃棄物ゼロで合成しうる革新的な合成触媒と新規触媒反応を開発し、それらを組み合わせることで任意に構造修飾した大・中分子を精密合成できる合成化学的手法の確立を目指します。

【研究の方法】

糖ペプチドを持続可能な手法で合成するためには、脱水剤や活性化試薬を用いずアミノ酸や単糖をつなぐ触媒反応（ペプチド・グリコシド結合形成法）を開発する必要がある。我々は、この課題を解決するヒントに、生体内でこれらの結合形成に関与している非リボソームペプチド合成酵素とグリコシダーゼに着目し、新たな合成触媒を設計した（図1）。

触媒 **1a** は、アミノ酸のカルボン酸を活性化するボロン酸と続くチオエステル化に必要な求核部を組み込んだ設計を施しており、それぞれ適切な官能基を導入することで(1)アザマイケル反応を利用した *N*-(アルコキシ)- α -アミノ酸誘導体の不斉合成、(2)縮合剤を用いない触媒的ペプチド合成への適用を検討する。

一方、触媒 **1b** では、単糖ジオール部の選択的な活性化が期待できるボロン酸と、続く2番目の反応基質の攻撃を立体選択的に行うための官能基を適切に配置することで、(3)無保護の糖供与体/糖受容体間で行える位置および立体選択的なグリコシド化、(4)無保護グリコシル化を利用したオリゴ糖のダイバージ

ェント合成法の確立に取り組む予定である。

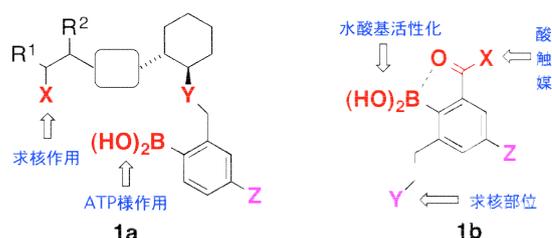


図1 生体酵素を擬似化した合成触媒 (1a, 1b)

【期待される成果と意義】

今後社会的需要が高まる糖ペプチド化合物の化学合成を、廃棄物排出やエネルギー消費を最小限に抑制して行えるクリーンな製造技術を確立できる。

小分子医薬品に比べて薬価が非常に高いバイオ医薬品を安価かつ大量に供給する道が拓ける。

所望の位置を任意に化学修飾した糖ペプチドを単一構造かつ純粋に化学合成することが可能になるため、生命科学研究の発展に貢献できる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Hayama, N.; Azuma, T.; Kobayashi, Y.; Takemoto, Y. Chiral integrated thiourea and arylboronic acid: Asymmetric aza-Michael addition of α,β -unsaturated carboxylic acids, *Chem. Pharm. Bull.*, **2016**, 64, 704-717.
- Azuma, T.; Murata, A.; Kobayashi, Y.; Inokuma, T.; Takemoto, Y., A dual arylboronic acid-aminothiourea catalytic system for the asymmetric intramolecular hetero-Michael reaction of α,β -unsaturated carboxylic acids, *Org. Lett.*, **2014**, 16, 4256-4259.

【研究期間と研究経費】

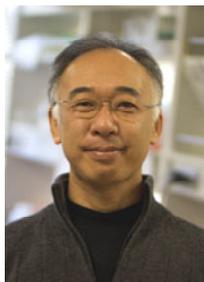
平成28年度－32年度
123,300千円

【ホームページ等】

<http://www.pharm.kyoto-u.ac.jp/orgchem/takemoto@pharm.kyoto-u.ac.jp>

【基盤研究(S)】

生物系 (医歯薬学)



研究課題名 細胞死を起点とした細胞外コミュニケーションの発動と生理機能

東京大学・大学院薬学系研究科・教授 みうら まさゆき
三浦 正幸

研究課題番号： 16H06385 研究者番号： 50202338

研究分野： 発生遺伝学

キーワード： 炎症、細胞増殖・細胞死、細胞間情報伝達

【研究の背景・目的】

これまで細胞死は、不要になった細胞の除去という消極的な役割で認識されていた。しかし近年の個体内における細胞死を操作した研究から、細胞死はシグナルセンターとも呼べるようなシグナル分子の発信源になっている姿が浮かび上がってきた。本研究では、細胞死に伴って発せられるシグナル分子の発現、分泌の分子機構を明らかにし、その遺伝学的な操作、細胞生物学的な解析を通して、新たな細胞間、組織間相互作用の解明を目指す。細胞死とリンクしたシグナル分子分泌を用いた細胞外コミュニケーションの解明から、細胞死を全身に知らせる仕組みの生理的な役割と、疾患の発症及び診断との関わりについて新たな視点をもたらすと期待される。

【研究の方法】

本研究は異なるタイプの細胞死からいかにして全身性のシグナル分子が分泌されるかを、我々が長らく解析してきた異なる細胞死モデルを用いて行うものである。Caspase-1が関わる分泌機構解析では、基質探索のためにGel-enhanced LC-MS/MS解析、シグナル経路解析に化合物ライブラリーのスクリーニングを導入する。アポトーシス、ネクローシスがかわる分泌現象に関しては分子遺伝学的な手法を駆使して行う。分泌機構の生理機能解析には同定された分子の遺伝学的な機能解析を行い、さらに申請者が得意とする先端の生体イメージング技術を活用して生体の中で、細胞生物学的な解像度の解析を行い新たな生命現象の発見へとつなげていく。具体的なテーマは以下の3つである。

1. Caspase-1が活性化する細胞で見られるパイロトーシス
2. Caspase-3が活性化するアポトーシス
3. Caspaseが関与しない非アポトーシス (ネクローシス)

【期待される成果と意義】

これまで、死細胞から受動的に分子が周りに放出されると考えられてきたが、我々の caspase-1 の研究から、IL-1 の放出は細胞が死んだだけではおきず、caspase-1 活性に依存した仕組みの存在が明らかになっている。パイロトーシス以外のアポトーシス、

ネクローシスに関しても、細胞死刺激を受けた細胞がいかに積極的にシグナル分子の発現、分泌を行っているのかに興味を持たれる。本研究の知見は、発生や成体での組織恒常性理解に大きく貢献するのみならず、病態の検出と制御の観点からも重要である。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

・ Kashio, S., Obata, F., Zhang, L., Katsuyama, T., Chihara, T., and Miura, M.: Tissue non-autonomous effects of fat body methionine metabolism on imaginal disc repair in *Drosophila*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 113, 1835-1840, 2016.

・ Yamaguchi, Y., and Miura, M.: Programmed cell death in neurodevelopment. Dev. Cell 32, 478-490, 2015

・ Liu, T., Yamaguchi, Y., Shirasaki, Y., Shikada, K., Yamagishi, M., Hoshino, K., Kaisho, T., Takemoto, K., Suzuki, T., Kuranaga, E., Ohara, O., and Miura, M.: Single-cell imaging of caspase-1 dynamics reveals an all-or-none inflammasome signaling response. Cell Rep. 8, 974-982, 2014,

【研究期間と研究経費】

平成 28 年度 - 32 年度
140,900 千円

【ホームページ等】

<http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~genetics/index.html>



研究課題名 受容体の超過渡的複合体によるシグナル変換機構とアクチンによる制御：1分子法による解明

京都大学・物質-細胞統合システム拠点・教授 **くすみ あきひろ**
楠見 明弘

研究課題番号：16H06386 研究者番号：50169992

研究分野：1分子細胞生物物理学・1分子医化学

キーワード：1分子追跡、生細胞、細胞膜、コンパートメント構造、ラフト領域、メゾ構造体

【研究の背景・目的】

我々は最近、超高速 1 分子 FRET 法を開発し、細胞膜のシグナル伝達について 2 つの驚くべき観察をした。3 つの受容体系 (補体制御の CD59、アレルギーに関わる $Fc\epsilon$ 受容体、アドレナリン GPCR) において、

(1)シグナル分子複合体は、生細胞内で 1 分子法で直接見ると、大きくも安定でもなく、0.1 秒オーダーで様々なシグナル分子がやってきては去っていくような著しく動的な機構で働く、

(2)アクチン膜骨格がシグナル変換の基盤として働く、である。

これらは多くのシグナル系に共通の基本戦略・原理であると思われる。

本研究は、主に上記 3 つの受容体系を用い、これら 2 つのシグナル機構を解明することを目的とする。以て、細胞のシグナル機構研究にパラダイム変換を誘起することを目指す。シグナル異常による多くの病気の理解に寄与するだけでなく、薬剤の新しい設計概念につなげたい。

【研究の方法】

まず、現在でも世界をリードする、生細胞での 1 分子イメージングと PALM 超解像法を同時実行する装置を開発する。このユニークな装置と分子・細胞生物学・生化学の方法の組み合わせにより、本研究が高いレベルで遂行できる。3 つの受容体シグナル系 (CD59、 $Fc\epsilon$ 受容体、 $\beta 2$ アドレナリン受容体 [GPCR]) に GDNF 受容体を加えて、比較検討する。

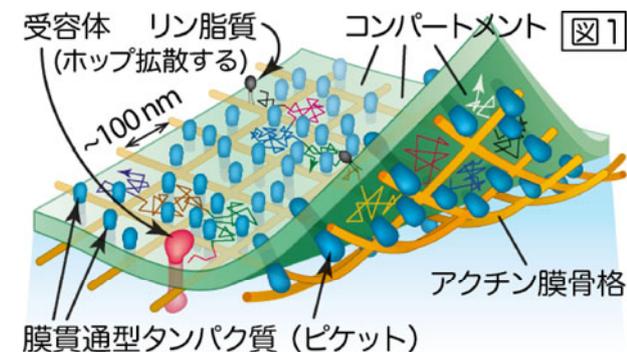


図1 アクチン膜骨格による細胞膜のコンパートメント化

これらの系で、生細胞内で、シグナル/足場分子とアクチン/アクチン結合分子を、1 分子レベルで 6~20 μs の分解能で直接観察することにより、(1)シグナル変換の著しく動的な過程と制御機構、さらに分子 1 個のパルス状シグナルが、数分間継続する細胞シグナルを創る仕組み、(2)アクチン膜骨格がシグナル変換の共通基盤 (動的に重合・切断・脱重合を繰り返す囲いと足場) として働く仕組み、を解明する。

【期待される成果と意義】

シグナル変換が、『今までの常識では考えられないほど動的な分子結合』と『膜骨格の制御』により可能になる、という概念は、我々の多くの 1 分子研究に基づいており、極めて斬新であり、独創的である。この概念の正しさが示されれば、細胞のシグナル機構研究にパラダイム変換を誘起する。これは、シグナル異常による多くの病気の理解に寄与するだけでなく、薬剤の新しいデザインにつながる。

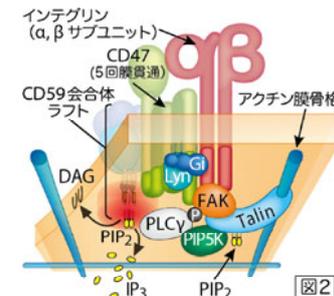


図2. シグナル分子の CD59 会合体ラフトへの短寿命リクルートの解明

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- A. Kusumi et al. Tracking single molecules at work in living cells (review). Nat. Chem. Biol. 17, 524-532 (2014).
- A. Kusumi et al. Organizing principles of the plasma membrane for signal transduction: Membrane mechanisms by the three-tiered hierarchical meso-scale domain architecture. Ann. Rev. Cell Dev. Biol. 28, 215-250 (2012).

【研究期間と研究経費】

平成 28 年度 - 32 年度
145,500 千円

【ホームページ等】

<http://www.nanobio.frontier.kyoto-u.ac.jp/index.html>



研究課題名 抑制性免疫受容体による自然免疫応答の制御機構の解明

筑波大学・生命領域学際研究センター・教授

しづや あきら
渋谷 彰

研究課題番号：16H06387 研究者番号：80216027

研究分野：医歯薬学

キーワード：抑制性免疫受容体、自然免疫、疾患制御

【研究の背景・目的】

免疫応答においては、過剰な免疫応答を制御する機構が必要である。抑制性免疫受容体は、細胞内領域に ITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif) を有し、フォスファターゼを介して免疫細胞の活性化シグナルを遮断する。これまで、T, B, NK 細胞などのリンパ球で、それぞれ PD-1, FcγRIIb, Ly49a などの ITIM を有する抑制性免疫受容体が同定され、これらが過剰の免疫応答を制御することが明らかにされてきた。しかし、リンパ球と異なり、自然免疫応答を担う細胞の活性化制御機構はこれまで十分に解明されていなかった。

我々は細胞内領域に ITIM を有し、樹状細胞、マクロファージ、肥満細胞などの自然免疫細胞に発現する抑制性免疫受容体である MAIR-I, Allergin-1, Clec10a を同定した (図1)。本研究では、これらの抑制性免疫受容体による自然免疫応答の制御機構を明らかにする。これらの分子の免疫応答における機能の詳細な解析によって、自然免疫応答の負の制御機構の理解が促進するとともに、疾患病態における抑制性免疫受容体の意義が明らかになるものと思われる。これらの結果をもとに、感染、アレルギー、炎症などに対する MAIR-I, Allergin-1, Clec10a を分子標的とした医薬の創出の可能性を探る。

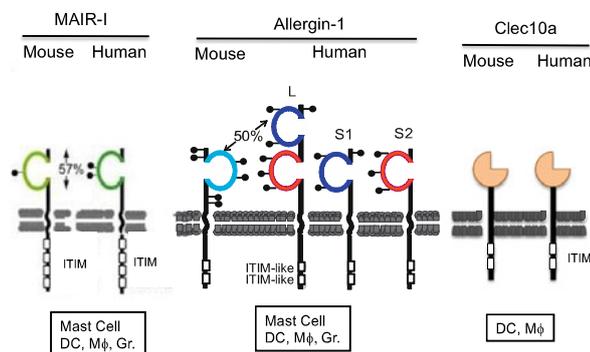


図1. 抑制性免疫受容体の構造

【研究の方法】

Allergin-1 と Clec10a の可溶性キメラ蛋白を用いて、それぞれのリガンドを同定する。さらに、MAIR-I, Allergin-1, Clec10a とそれぞれの同定したリガンドとの結合の時空間局在を解析するとともに、細胞系別特異的コンディショナル遺伝子欠損マウスを作製し、自然免疫をになうそれぞれの細胞における抑制性受容体の機能を解明する。感染、アレルギー、炎症などの疾患モデルマウスの病態において、これらの抑制性受容体の役割を明らかにし、これらの疾患に対する分子標的療法の可能性について、抑制性受容体の機能を中和する抗体あるいは蛋白、または抑制性受容体の機能を賦活化するリガンドを用いて検討する。

【期待される成果と意義】

免疫応答は、自己と非自己を識別し、非自己を排除する生体防御システムであるが、一方で自己に対しては寛容 (Tolerance) を示すことが特徴である。本研究によって、まだ十分に解明されていない自然免疫応答の正と負の制御機構の解明と疾患治療への応用が期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- 1. Nakahashi-Oda C, et al. Apoptotic epithelial cells control regulatory T cell expansion. *Nat Immunol*, 17:441-50, 2016
- 2. Hitomi K, et al. An immunoglobulin-like receptor, Allergin-1, inhibits immunoglobulin E-mediated immediate hypersensitivity reactions. *Nat Immunol*, 11:601-607, 2010

【研究期間と研究経費】

平成 28 年度 - 32 年度
142, 600 千円

【ホームページ等】

<http://immuno-tsukuba.com/index.html>



研究課題名 リソソームでの自然免疫系と代謝系のクロストークに関わる分子細胞基盤の解明

東京大学・医科学研究所・教授

みやけ けんすけ
三宅 健介

研究課題番号：16H06388 研究者番号：60229812

研究分野：免疫学

キーワード：自然免疫

【研究の背景・目的】

Toll様受容体(Toll-like Receptor, TLR)は病原体成分を認識し、感染防御反応を誘導する。病原体由来核酸はTLRの主要なリガンドであるが、自己由来核酸もTLRを活性化し、自己免疫疾患など多くの疾患の炎症病態に関わる。核酸特異的TLRはリソソームに局在している。

リソソームでは、核酸は常に分解されており、結果として核酸特異的TLRの活性化は抑制されている。しかしながら、DNAの分解は、DNAの認識に必要なプロセッシングとしての役割もある。また、RNAセンサーTLR7、TLR8が、UridineやGuanosineに応答することから、TLR7、TLR8によるRNA認識にRNAからヌクレオシドへの代謝が関与する可能性がある。

mammalian Target of Rapamycin (mTOR)は細胞内の代謝状態を察知するセンサーである。同じリソソームに局在するにもかかわらず、TLRとmTORとの関係については不明な点が多い。

本研究では、TLRによる核酸認識と核酸代謝の関係、TLRとmTORのクロストークについて、分子生物学および細胞生物学的手法を用いて解析し、リソソームにおける代謝系と自然免疫系との関係を統合的、高次的に理解することを目指す。

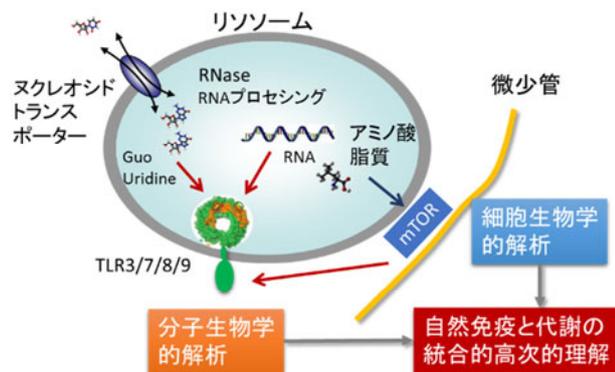


図1: リソソームでの自然免疫と代謝のクロストークの統合的理解

【研究の方法】

核酸代謝と核酸認識の関係については、RNAの解析を中心に進める。リソソームでのRNA分解に関わるRNase、およびグアノシンやウリジンの動態に関わるトランスポーターについて、TLR7/8応答における役割を検討する。RNaseやトランスポーターの機能欠損によって誘導される病態についても検討する。

リソソームにおける、核酸特異的TLRによるI型インターフェロン産生誘導と代謝センサーmTORとの関係についても検討する。特にリソソームの細胞内移行の役割について細胞生物学的手法を用いて検討する。

【期待される成果と意義】

核酸の代謝と核酸認識の関係を明らかにすると同時にその核酸代謝が破綻した場合の病態について検討することで、自己免疫疾患などの病態解明に貢献しうる。また、TLRが核酸を認識した後に、細胞の代謝状態を考慮したうえで、免疫応答誘導の決定を下す。リソソームでのTLRと代謝センサーmTORとのクロストークを解析することで、免疫応答誘導決定機構の解明を目指す。得られた結果は免疫学ばかりでなく、細胞生物学にとってもインパクトを持つと期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Chan MP, Onji M, Fukui R, Kawane K, Shibata T, Saitoh SI, Ohto U, Shimizu T, Barber GN, Miyake K. DNase II-dependent DNA digestion is required for DNA sensing by TLR9. *Nat Commun.* 2015 6:5853.
- Shibata T, Ohto U, Nomura S, Kibata K, Motoi Y, Zhang Y, Murakami Y, Fukui R, Ishimoto T, Sano S, Ito T, Shimizu T, Miyake K. Guanosine and its modified derivatives are endogenous ligands for TLR7. *Int Immunol.* 2016 28:211-222.

【研究期間と研究経費】

平成28年度-32年度
140,900千円

【ホームページ等】

<http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/kanseniden/index.html>

【基盤研究(S)】

生物系 (医歯薬学)



研究課題名 肝癌抑制タンパク質 AIM の活性化機構解明とその NASH 肝癌に対する臨床応用

東京大学・大学院医学系研究科・教授 みやざき とおる
宮崎 徹

研究課題番号：16H06389 研究者番号：30396270

研究分野：消化器内科学

キーワード：NASH 肝癌、AIM、脂肪肝、肥満

【研究の背景・目的】

生活習慣病を基軸とする脂肪肝やそれに伴う肝障害の進行と共に近年増加傾向にある NASH はその一部が肝癌へと進行することから有効な予防・治療法、診断法の開発が求められている。これまでの研究により NASH 肝癌において癌抑制効果をもつことが既に明らかになっている血中タンパク質 apoptosis inhibitor of macrophage (AIM) は、血中で IgM 五量体に結合することで不活性な形で安定化しており、IgM から解離して活性型となつてはじめて癌抑制効果を発揮すると考えられている。そこで、本研究では IgM から AIM を解離させるメカニズムを明らかにし、内在性 AIM の活性化による NASH 肝癌治療を目指す。同時に、血中 AIM 濃度や活性型 AIM 量と疾患の関連性を見出すことで、新しい NASH 肝癌の早期診断・予後予測の樹立を目的とする。

【研究の方法】

(1) AIM 活性化のメカニズム探索：AIM は通常時は IgM に結合することで不活性のまま安定的に存在するが、何らかの機序により IgM から解離して活性型となる。これまで、特に急性腎障害時に AIM が活性化することを見出しており、この系を利用して IgM から AIM を解離する「生理的活性化因子」を同定し、AIM の活性化メカニズムを明らかにする。また、生理的活性化因子に加え、人為的に AIM を IgM から解離させる方法についても検討する。そのために、IgM と AIM の結合部位を明らかにし、結合部位に相互作用し、IgM-AIM 結合を競合的に阻害するようなアミノ酸や低分子化合物を探索する (図 1)。

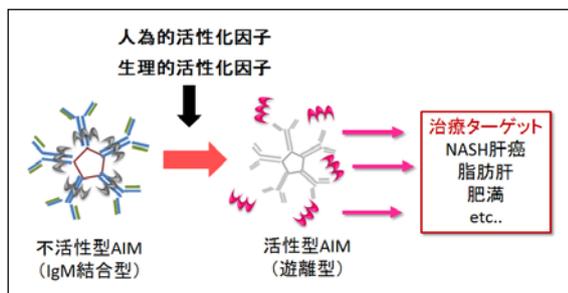


図 1 内在性 AIM の活性化

(2) AIM の活性化による NASH 肝癌治療の検討 (創薬化を目指して)：(1) で得られた生理的・人為的活性化因子を利用した NASH 肝癌治療の検討をマウスを用いた動物実験において行う。最終的には

ヒト臨床応用のための創薬化を目指す。

(3) ヒト患者検体を用いた AIM の網羅的解析と診断法の樹立：NAFLD, NASH, NASH 肝癌、あるいは非 NASH 肝癌等、多くの肝疾患患者について網羅的に AIM の血中濃度および活性型 AIM の測定を行い、肝機能や癌の進行度、治療前後等、様々なファクターと AIM との関連性を解析する。AIM による NASH 肝癌の早期診断や予後予測等の新しい診断法の樹立を目指す。

【期待される成果と意義】

これまでの研究から、肥満や NASH 肝癌等に対し、AIM タンパク質を投与することで治療効果があることは示されてきたが、タンパク質創薬は高コストであり、また AIM の複雑な立体構造から活性の AIM を精製することが困難であるという問題点があった。本研究では、体内に多量に存在する内在性 AIM を活性化することでそれらを治療に利用することを目的としており、実現すれば、タンパク質創薬よりもより簡便にかつ低コストな創薬が可能になる。また治療法だけでなく、NASH 肝癌の早期診断や予後予測等、今までにない新たな診断法樹立も期待される。さらに、活性型 AIM による癌抑制は特に NASH 肝癌において効果が認められているが、論理的には癌の発症機序や部位の違いには依存しないものであるため、NASH 肝癌に限らず様々なタイプのがん治療への応用も期待できる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Arai S, Kitada K, *et al*, Apoptosis inhibitor of macrophage protein enhances intraluminal debris clearance and ameliorates acute kidney injury in mice. *Nat Med* 22:183-193, 2016
- Maehara N, Arai S, *et al*, Circulating AIM prevents obesity-associated hepatocellular carcinoma through complement activation. *Cell Rep*. 9:61-74, 2014

【研究期間と研究経費】

平成 28 年度 - 32 年度
133,800 千円

【ホームページ等】

URL: <http://tmlab.m.u-tokyo.ac.jp/>
Email: tm@m.u-tokyo.ac.jp



研究課題名 環境因子とエピゲノム記憶による生活習慣病発症の解明

東京大学・先端科学技術研究センター・教授

さかい じゅろう
酒井 寿郎

研究課題番号：16H06390 研究者番号：80323020

研究分野：代謝医学・分子生物学

キーワード：生活習慣病、エピゲノム、シグナル伝達

【研究の背景・目的】

肥満ともなう 2 型糖尿病や高脂血症などの生活習慣病やがんなどの多因子の疾患の解明は 21 世紀の生物医学の大きな課題となっている。エピゲノムは塩基配列を変えず、DNA やヒストンの化学修飾により遺伝子発現を変える環境への適応機構であり、生活習慣病発症に深く関与することが示唆されている。しかし、多様な外的環境の変化に対応して、どのように特異的にエピゲノムが変化するのか、その一連のメカニズム解明は不十分であった。

我々はこれまで、統合的なエピゲノム解析技術を確立し、環境変化を感知するエピゲノム酵素複合体研究をしてきた。寒冷刺激が感知されると脂肪細胞でシグナル伝達を介してエピゲノム修飾酵素の翻訳後修飾がおり、これによって誘導されるタンパク質複合体形成がクロマチン構造変化の初期応答 (1st step) の鍵となることを解明した (図)。本研究では環境刺激によるタンパク質複合体を介した初期応答が、さらにどのようにしてエピゲノム変化をとともう持続応答 (2nd step) へとつながるメカニズムを解明する。そしてエピゲノム酵素への翻訳後修飾が制御する特異的なエピゲノム変化誘導に基づく画期的な体質改善、生活習慣病の治療法の開発を目指す。

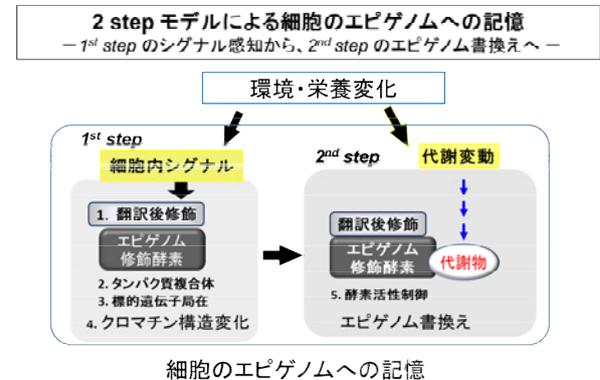
【研究の方法】

メタボローム解析を加えたエピゲノム解析から代謝変動を解析し、エピゲノム書き換えにおけるエピゲノム修飾の特異性を解明する。さらに、メタボローム解析やノックインマウス解析から、栄養や補酵素となる代謝物がエピゲノム修飾酵素の酵素活性を制御し、エピゲノムを変化させる (2nd step) メカニズム解明する。

ヒストン脱メチル化酵素 JMJD1A-Ser265 のリン酸化状態を制御するタンパク質複合体を同定し、熱産生や脂肪細胞のベージュ化への関与について、ベージュ化モデル細胞や S265A 変異体ノックインマウスから解析する。さらに、JMJD1A の AMP キナーゼのリン酸化部位とこれによる標的遺伝子やエピゲノム解析、代謝物によるエピゲノム酵素活性制御メカニズム解析から脂肪細胞での生理的役割を解明する。具体的には以下の項目の検討を行う。

1. 寒冷刺激に適応したエピゲノム安定化による「脂肪を燃焼しやすい体質」にできないかの検討。
2. 低グルコース刺激下での JMJD1A の AMP キナーゼによる翻訳後修飾解明 (1st step)。

3. 分化刺激での SETDB1 のユビキチン修飾による制御機構 (1st step) の解明
4. 栄養・代謝物を介したエピゲノム変化 (2nd step) のメカニズムの解明



【期待される成果と意義】

二段階の制御機構の解明により、シグナル感知 (1st step) を狙った特異性の高いエピゲノム創薬開発に貢献するものと考えられる。JMJD1A の脱リン酸化酵素複合体は、リン酸化を維持し、JMJD1A と複合体を形成する核内受容体 PPAR γ 機能を活性化させうる生活習慣病の新規治療薬標的である。また、2nd step の解明から、栄養によりエピゲノムの書換えすることで肥満体質を改善させうる生活習慣病への新たな治療法につながるものと期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Matsumura Y. et al. (2015) H3K4/H3K9me3 Bivalent Chromatin Domains Targeted by Lineage-specific DNA Methylation Pauses Adipocyte Differentiation. *Molecular Cell*, 60, 584-596,
- Abe Y, et al. (2015) JMJD1A is a signal-sensing scaffold that regulates acute chromatin dynamics via SWI/SNF association for thermogenesis. *Nature Commun*, 6, 7052

【研究期間と研究経費】

平成 28 年度 - 32 年度
140,700 千円

【ホームページ等】

<http://www.mm.rcast.u-tokyo.ac.jp>

【基盤研究(S)】

生物系 (医歯薬学)



研究課題名 全てのヒト骨髄性腫瘍が依存する、新規がん幹細胞維持機構の解明

九州大学・大学院医学研究院・教授 あかし こういち
赤司 浩一

研究課題番号：16H06391 研究者番号：80380385

研究分野：医歯薬学

キーワード：血液腫瘍学

【研究の背景・目的】

造血器腫瘍分野においては、いわゆる「がん幹細胞」の存在が広く認められている。がん幹細胞はがんを構成する細胞の階層の頂点に位置し、がんの進展は遺伝子異常の集積により成立したがん幹細胞の進化と選択に依存する。一方、臨床ではよく見られる長期潜伏の後の再発などは階層性を基本とする考え方だけでは説明できないため、それらを理解するための新たな概念として環境や外的ストレスに適応し潜むがん幹細胞の可塑性・柔軟性が新たに注目されている。端的に“静(耐える)”と“動(増える)”と表現できるがん幹細胞特有の振る舞いは、転写・シグナル・細胞回転などを制御する代謝・エピゲノムなどの細胞内因子や、がん幹細胞の微小環境からのシグナルなどの細胞外因子などにより規定されると予想され、がん幹細胞制御のためにはこれらのメカニズムを明らかにする必要がある。本研究課題においては、急性骨髄性白血病(AML)を含む骨髄性腫瘍ヒト白血病幹細胞を対象とし、その静と動を規定する分子メカニズムを解明する。

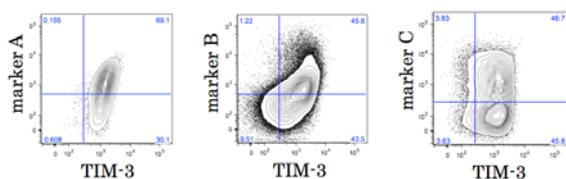
【研究の方法】

申請者らは、AMLにTIM-3抗原が特異的に発現していること(Cell Stem Cell 2010)、さらにこの現象が、骨髄異形成症候群(MDS)、骨髄増殖性腫瘍(MPN)からの白血病化など、全てのヒト骨髄系がん幹細胞に普遍的に見られること、AML幹細胞はTIM-3のリガンドGalectin-9を分泌し、 β -cateninの核内移行を含む「動的」自己再生シグナルを自ら惹起することを報告した(Cell Stem Cell 2015)。申請者らはヒト白血病幹細胞症例のトランスクリプトー

図1

白血病幹細胞亜分画純化に必要な新規表面抗原

CD34+CD38-白血病幹細胞分画



TIM-3+白血病幹細胞の亜分画純化に有効な表面マーカーを先行研究において既に複数同定している。

ム解析結果から、動的シグナルであるTIM-3に加えて、TIM-3陽性白血病幹細胞の一部に発現する、白血病幹細胞特異的シグナル分子を新規に複数同定している(図1)。特に白血病幹細胞の静止期維持に関与する可能性のある分子を同定しており、本研究課題においてはこれらの新規分子の白血病幹細胞における機能を明らかにする。さらに、これらの新規マーカーを用いて、動的もしくは静的な幹細胞が濃縮された白血病幹細胞亜分画を同定・純化し、オミクス解析および異種移植実験を行い、新規白血病幹細胞亜分画の細胞生物学的特性を明らかにする。

【期待される成果と意義】

本研究課題において、ヒト骨髄性腫瘍に共通する動的シグナル分子であるTIM-3に加えて、新規の白血病幹細胞特異的表面抗原を用いて、白血病幹細胞亜分画をプロスペクティブに純化する新しい技術を確認する。確立した純化技術を用いることにより、がん幹細胞が如何なるメカニズムを用いて可塑性・柔軟性を獲得しているかを明らかにする。さらに、本研究はヒト骨髄性腫瘍に共通するがん幹細胞を標的とした、効率的で安全な新規治療法確立のための基盤的研究になるものと考えられる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- ・Kikushige, Y., Shima, T., Takayanagi, S., Urata, S., Teshima, T., Tanaka, T., Inagaki, Y. & Akashi, K. (2010) TIM-3 is a promising target to selectively kill acute myeloid leukemia stem cells. *Cell Stem Cell*, **7**, 708-717.
- ・Kikushige Y., Miyamoto T., Yuda J., Tabrizi S.-J., Shima T., Takayanagi S., Niino H., Yurino A., Miyawaki K., Takenaka K., Iwasaki H. & Akashi K. (2015) A TIM-3/Gal-9 autocrine stimulatory loop drives self-renewal of human myeloid leukemia stem cells and leukemic progression, *Cell Stem Cell* **17**,341-52

【研究期間と研究経費】

平成28年度-32年度
118,500千円

【ホームページ等】

<http://www.lnai.med.kyushu-u.ac.jp>

【基盤研究(S)】

生物系 (医歯薬学)



研究課題名 臓器連関の視点から俯瞰する筋・骨恒常性維持機構の 解明－健康寿命増進治療法の開発－

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授

たけだ しゅう
竹田 秀

研究課題番号：16H06392 研究者番号：30376727

研究分野：整形外科学

キーワード：骨・軟骨代謝学

【研究の背景・目的】

加齢に伴う骨格筋量の減少や筋機能の低下、すなわちサルコペニアは、高齢者における運動機能の低下、さらには健康寿命の著しい短縮を招くことが知られているが、その発症機構や治療法に関する研究は未だ黎明期にある。また、近年、骨吸収の調節機構について、新たな知見が集積されてきたが、骨形成の詳細な分子機構は未だ不明な点が多い。

近年、「心腎連関」や「脂肪血管連関」などの名称に示されるように、臓器、組織間の機能連関、相互作用による新たな代謝調節機構が注目を集めている。このことは、多細胞生物である生体を全体として理解し、臓器間ネットワークに着目した研究を推進することにより、未知の高次調節機能を見出しうることを示唆している。我々は、レプチンやニューロメジン U(NMU)などのホルモンや神経ペプチドが中枢神経系を介して骨代謝に関わることを世界で初めて見出し、骨が骨外臓器により代謝調節を受けることを提唱するに至った。また、我々は骨代謝の恒常性維持における感覚神経系の生理的重要性を個体レベルで世界で初めて見出した。

そこで、本研究では、筋および骨の幹細胞、すなわち、骨格筋幹細胞および骨軟骨幹細胞に着目し、その恒常性維持における神経・血管系の生理的意義を広く検討し、神経・血管由来幹細胞調節因子の同定とその臨床応用を目指す。

【研究の方法】

本研究では、硬組織の *in vivo* 透明化の手法により、筋・骨に分布する神経・血管を可視化し、その三次元的関係を解析する。また、神経および血管特異的セマフォリン受容体欠損マウスを用いて、神経および血管の筋・骨の恒常性維持における骨軟骨幹細胞、骨格筋幹細胞の生理的意義を解析するとともに、骨軟骨幹細胞、骨格筋幹細胞調節因子を同定する。これらの検討から、筋骨格系の恒常性維持における神経・血管の果たす生理的、病態生理的意義の全貌を明らかにし、神経・血管を標的とした新たな治療法の確立を目指す。

【期待される成果と意義】

本研究は、「臓器間クロストークによる代謝調節研究」の概念をさらに発展させ、運動器を単なる骨格の支持組織としてではなく、外界の変化を感知し、神経系を介して情報を伝達し、さらに他の臓器の代

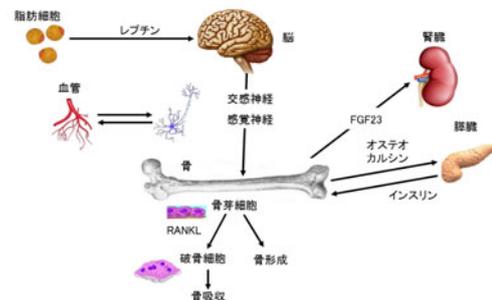


図1 臓器間ネットワークによる骨代謝

謝に深く影響を与える臓器として捉えなおし、なかでも、神経系による幹細胞の調節機構を分子レベルで解明することを目指す。また、本研究で提案する神経・血管系と筋・骨の関連の視点から研究を進めることで、従来の薬剤と全く異なる、新しい運動器疾患の治療法の開発が進み、将来的に骨粗鬆症やサルコペニアの治療に大きく寄与することが期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Takeda, S., Elefteriou, F., Lévassseur, R., Liu, X., Zhao, L., Parker, K.L., Armstrong, D., Ducy, P., and Karsenty, G. Leptin regulates bone formation via the sympathetic nervous system. *Cell* 111:305-17, 2002
- Fukuda, T., Takeda, S., Xu, R., Ochi, H., Sunamura, S., Sato, T., Shibata, S., Yoshida, Y., Gu, Z., Kimura, A., Ma, C., Xu, C., Bando, W., Fujita, K., Shinomiya, K., Hirai, T., Asou, Y., Enomoto, M., Okano, H., Okawa, A., and Itoh, H. Sema3A regulates bone-mass accrual through sensory innervations. *Nature* 497:490-3, 2013

【研究期間と研究経費】

平成 28 年度－32 年度
150,300 千円

【ホームページ等】

http://www.med.tmd.ac.jp/medicine/list/basic/functional/cell_physiology.html



研究課題名 関節軟骨の生体恒常性の維持および破綻機構の統合的理解に基づく革新的医療技術の開発

大阪大学・大学院歯学研究科・教授 **にしむら りこう**
西村 理行

研究課題番号：16H06393 研究者番号：60294112

研究分野：機能系基礎歯科学、生化学、分子生物学

キーワード：関節軟骨、転写因子、変形性関節症、再生

【研究の背景・目的】

関節軟骨細胞および関節軟骨基質が、加齢、炎症あるいは過度の機械的刺激によって破壊されると、変形性関節症などの関節疾患が発症する。近年の超高齢社会の到来により、変形性関節症の患者数は増加の一途を辿っており、2,000万人にも膨れ上がり、大きな社会問題になっている。

変形性関節症の関節破壊部位では、成長軟骨細胞の肥大化と、その後生じる軟骨基質の分解に似た病理組織学的所見と遺伝子発現パターンが認められるため、これまでの変形性関節症に関する研究は、成長軟骨細胞の肥大化と軟骨基質の分解のメカニズムを基盤にして展開されてきた。

最近、関節軟骨細胞が成長軟骨細胞とは異なる特性を多々有していることが明らかになりつつあるが、関節軟骨細胞の細胞、分子あるいは遺伝子レベルでの特性は、未だ不明な点が多々残されている。

そこで本研究では、関節軟骨細胞の特性を細胞ならびに遺伝子レベルで解き明かし、関節軟骨の生体恒常性の維持機構を的確に理解するとともに、変形性関節症を引き起こすシグナルを究明し、その発症メカニズムを解明することを目指す。究極的には、関節軟骨細胞の維持と破綻の機構を統合的に理解して、変形性関節症に対する新規治療法ならびに早期診断法の開発に寄与することを目的として研究を遂行する。

【研究の方法】

1. 関節軟骨細胞に特異的な転写因子の同定

関節軟骨細胞の形質あるいは特性に関わっている転写因子の同定は、関節軟骨細胞の分子レベルでの理解に極めて重要であるが、現在まで、この課題は明らかにされてこなかった。そこで関節軟骨細胞特異的マーカーである GDF5 および Prg4 の発現調節に関わる転写因子を遺伝子座特異的ゲノム機能解析技術、enChIP 法を用いて解析を実施する。また enChIP 法と平行して、関節軟骨細胞と成長軟骨細胞を Microarray 解析により比較検討し、関節軟骨細胞特異的遺伝子の同定を多角的に検討する。

2. 変形性関節症の発症に関わる分子の同定とその機能解析

変形性関節症を惹起するシグナルを明らかにするために、変形性関節症ヒト患者の遺伝子データベースを基盤にして、変形性関節症の発症に関与して転

写因子を選別し、それら転写因子の機能を in vitro および in vivo で解析する。特に変形性関節症の発症に対する同定した転写因子の関与を検討するために、遺伝子改変マウスを用いて解析を実施する。

3. 関節軟骨細胞の恒常性の維持に関与する分子の同定と機能的役割の解明

関節軟骨細胞の Microarray 解析結果を基に、関節軟骨細胞の恒常性の維持に関与している候補分子を選び出し、それぞれの遺伝子をノックダウン法あるいは Cas9 ゲノム編集法で破壊し、関節軟骨の形質に対する効果を検討する。

【期待される成果と意義】

本研究の成果より、今まで不明であった関節軟骨細胞の特性が明らかになり、「関節軟骨バイオロジー」という新たな研究領域を切り拓けると期待される。さらに、変形性関節症に対する新規治療法と早期診断法の開発への貢献が見込まれ、変形性関節症治療のパラダイムシフトを目指す。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Hata K, Takashima R, Amano K, Ono K, Nakanishi M, Yoshida M, Wakabayashi M, Matsuda A, Maeda Y, Suzuki Y, Sugano S, Whitson R, Nishimura R, Yoneda Y (2013) Arid5b facilitates chondrogenesis by recruiting the histone demethylase Phf2 to Sox9-regulated genes. *Nature Communications*. 4: 2850 DOI: 10.1038/ncomms3850
- Yoshida M, Hata K, Takashima R, Ono K, Nakamura E, Takahata Y, Murakami T, Iseki S, Takano-Yamamoto T, Nishimura R, Yoneda T. (2015) The transcription factor Foxc1 is necessary for Ihh-Gli2-regulated endochondral ossification. *Nature Communications* 6: DOI: 10.1038/ncomms7653.

【研究期間と研究経費】

平成 28 年度－32 年度
139,900 千円

【ホームページ等】

http://www.dent.osaka-u.ac.jp/admission/admission_000294.html

