研究課題名　生体の酸化ストレス応答の分子メカニズム解明とその疾病予防・治療への応用

東北大学・大学院医学系研究科・教授　山本（やまもと）　雅之（まさゆき）

研究課題番号：19H05649　研究者番号：50166823
キーワード：ストレス応答、Keap1-Nrf2 系

【研究の背景・目的】

私たちは常に外界からのストレスに曝されており、それに対する応答は生体の恒常性維持に必須である。酸素、紫外線、大気や食物中の化学物質などが重要な環境由来ストレスとなっているが、これらのストレス因子の増加は生体内レドックスバランスの撹乱を招来し、多くの疾患の共通基盤を形成している。超高齢化社会での健康長寿を実現するためには、生体の酸化ストレス応答機構全容の理解とその制御メカニズムの詳細な解明が極めて重要である。本申請研究では、生体の酸化ストレス応答機構において中心的な役割を果たしている KEAP1-NRF2 制御系の機能メカニズムの解明に挑むとともに、ストレス関連疾患の予防・治療に対する同制御系の貢献を明らかにする。特に、生体が KEAP1 を利用して過剰な酸素によるストレスを感知するメカニズムとそのストレス感知が生体防御遺伝子群の発現の変化を惹起するメカニズムの解明に挑戦する。

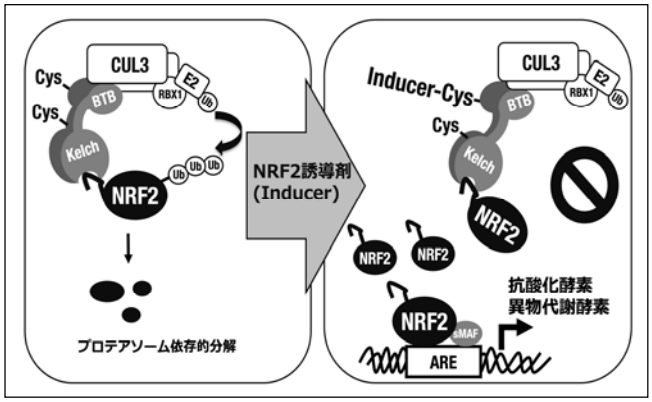

図１　KEAP1-NRF2

【研究の方法】

本研究では、KEAP1-NRF2 系の機能と制御の分子メカニズムの解明、さらに、加齢関連疾患の予防・治療における NRF2 の貢献を明らかにすることを目的に、以下の３点に取り組む。

１．KEAP1-NRF2 制御系による酸化ストレス感知メカニズムの解明

KEAP1 が酸化ストレスを感知する際のセンサー機能の分子メカニズム解明に挑む。KEAP1-NRF2 系は、酸化ストレスや毒性化学物質ストレスなどに応答して生体を防御しているが、これらのストレス応答は生体の恒常性維持において中心的な貢献をしている。KEAP1 による酸化ストレスの感知、また、それを介した NRF2 活性化メカニズムの解析は、いくつかの環境ストレス応答型制御因子の中で最も先進的であるが、しかし、その詳細なメカニズムに目を向けると、未だに尽きない謎が数多く存在する。そこで、酸化ストレスへ応答における KEAP1 分子のセンサー機能の詳細な解明を目指す。

２．KEAP1-NRF2 系の動的な構造・機能連関の解明

システイン残基修飾により KEAP1-CUL3 複合体にどのような構造変化が起こり、それによって複合体のユビキチンリガーゼ活性がいかに減弱するのか、その詳細な分子メカニズムの解明には至っていない。X 線構造解析、クライオ電子顕微鏡法、NMR 構造解析により構造解析を実施する。

３．NRF2 活性に対する介入に基づく健康長寿戦略の確立と有効性検証

多くの加齢関連疾患の発症基盤に酸化ストレスの増悪と非感染性微少炎症の惹起・持続が存在するものと予測される。NRF2 の抗酸化・抗炎症作用を活用することで、多くの加齢関連疾患の予防・発症遅延・治療を実現して、健康寿命の延伸に資することができると考えている。いくつかの病態モデル系を活用して、それらのモデル動物の NRF2 活性を増大させたり、減少させたりして、この仮説を検証する。

【期待される成果と意義】

NRF2 活性化による疾病予防・治療の有効性やその健康長寿実現への貢献を実証するものと期待される。また、多機能な制御因子である KEAP1 分子の性状解析にタンパク質構造解析の視点から挑むことにより、動的なユビキチンリガーゼ活性制御の先駆モデルが明らかにな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】

・**Yamamoto M**, Kensler TW, and Motohashi H. The Keap1-Nrf2 System: a thiol-based sensor-effector apparatus for the maintenance of redox homeostasis. ***Physiol Rev*** 98, 1169-1203. (2018)
・Suzuki T, **Yamamoto M**. et al, Molecular mechanism of cellular oxidative stress sensing by Keap1. ***Cell reports*** *in press* (2019)

【研究期間と研究経費】

令和元年度－令和 5 年度
153,000 千円

【ホームページ等】

http://www.dmbc.med.tohoku.ac.jp/official/index.html
masiyamamoto@med.tohoku.jp

研究課題名　病原性免疫記憶の成立機構の解明
ー難治性炎症疾患の病態の理解へー

千葉大学・大学院医学研究院・教授　なかやま　としのり　中山　俊憲

研究課題番号：19H05650　研究者番号：50237468
キーワード：免疫システム、気道炎症、アレルギー、病原性免疫記憶

【研究の背景・目的】

本研究では、免疫学領域で残されている一大テーマである免疫記憶（immunological memory）成立における細胞や分子機構に関するプリンシプルを明らかにしたい。我々はこれまでに、免疫記憶 T 細胞の中でも慢性の炎症疾患を引き起こし、生体にとって有害な病原性免疫記憶 T 細胞：IL-5 高産生及び線維化誘導性の病原性 Th2 細胞を同定した（図 1）。この発見を元に、病原性記憶 Th1/2/17 細胞が種々の炎症疾患を引き起こすという説を提唱している（図 2）。

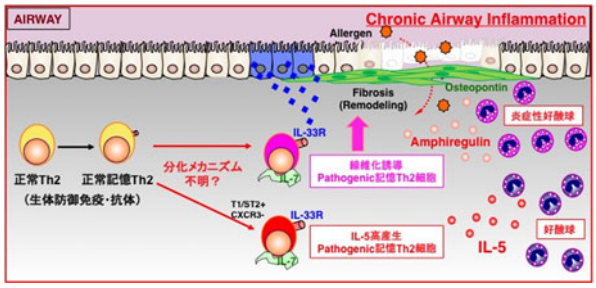

図 1: 病原性記憶 Th2 細胞による好酸球性気道炎症•線維化

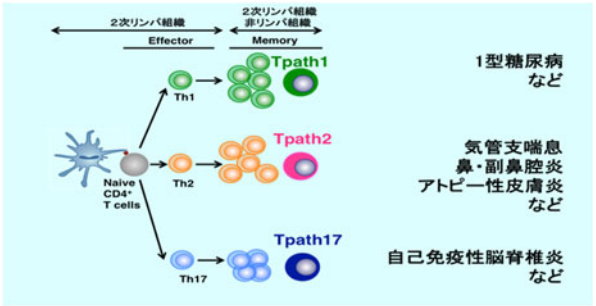

図 2　病原性記憶ヘルパーT（Tpath）細胞と炎症疾患

そこで、本研究では、「生体にとって有害な病原性免疫記憶 T 細胞が分化し生体内で長期間維持される機構、すなわち病原性免疫記憶成立の機序」を分子レベルおよび生体レベルで解明する。

実際には、（1）アレルギー性気道炎症を起こす多様な“病原性記憶 Th2 細胞”の分化経路の解析から、病原性機能の獲得や維持を担うマスター転写因子や、サイトカイン遺伝子の転写記憶を司るエピジェネティック制御機構を解明する。（2）微小環境（場）の時空間的解析による免疫記憶の制御因子の同定を目指す。（3）ヒト（患者）の組織及び細胞で、最先端解析技術を用いて検証（Proof of Concept：POC）する。

【研究の方法】

3 点の研究を行う。

（1）“病原性記憶 Th2 細胞”の分化経路、病原性を担う新規の機能分子を探るため、独自に樹立した Amphiregulin 産生細胞が蛍光発色するマウスを用い、Single cell RNA-Seq、ChIP-Seq、ATAC-Seq 法等で Pathogenic 記憶 Th2 細胞の網羅的遺伝子発現解析を行う。また、ポリコーム及びトライソラックス分子群による“病原性記憶 Th2 細胞”の機能変換・維持のメカニズムを、クロマチンレベルで解析する。

（2）“病原性記憶 Th2 細胞”の分化と維持を担う微小環境の時空間的な解析では、炎症局所の線維化、異所性リンパ組織（iBALT）の免疫組織学的、及び、病理学的変化の解析を行う。

（3）POC を目ざした研究を進めるため、ヒト患者（慢性好酸球性副鼻腔炎、慢性過敏性肺臓炎、好酸球性食道炎など）の検体を用いた解析を行う。

【期待される成果と意義】

「免疫記憶」という免疫分野での大きなテーマに関して、その本質を分子レベル・クロマチンレベルで明らかにしようとする研究であると同時に、生体レベルでの病態制御も視野に入れた研究であり、学術的意義は大きいと考えている。

殆ど全ての実験でマウスとヒトの細胞、更に患者の炎症組織の細胞を解析し、動物実験で得られたコンセプトをヒトで検証することを計画しており、Human Immunology を重視した研究といえる。ヒトでの免疫記憶細胞の数や機能増強法が明らかになれば、より有用なワクチンの開発にも資する。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

・Morimoto Y, Nakayama T, et al., Amphiregulin-producing pathogenic memory T helper-2 cells instruct eosinophils to secrete Osteopontin and facilitate airway fibrosis. *Immunity* 49:134-150 (2018).
・Nakayama T, et al., Th2 Cells in Health and Disease. *Annu. Rev. Immunol.* 35:53-84 (2017).

【研究期間と研究経費】

令和元年度－令和 5 年度
155,400 千円

【ホームページ等】

https://www.m.chiba-u.ac.jp/class/meneki/

【基盤研究（S）】

大区分Ｈ

研究課題名　多様な紡錘体形成マシナリーの統合的解析と次世代型分裂期阻害剤の創成

東京大学・大学院薬学系研究科・教授　北川（きたがわ）　大樹（だいじゅ）

研究課題番号：19H05651　研究者番号：80605725
キーワード：細胞分裂、中心体、中心小体、分裂期紡錘体、分裂期阻害剤

【研究の背景・目的】

中心体は真核生物において進化上保存された細胞小器官であり、分裂期紡錘体の形成に重要であることから娘細胞への均等な染色体分配、ゲノム安定性維持に深く関与している。一方、ヒトがん細胞においては中心体を物理的に除去しても、中心体に依存しない紡錘体形成機構により細胞分裂が進行することが報告されている。最近、我々は異なるがん細胞種において、紡錘体形成における中心体の寄与度が大きく異なることを見出した。そこで本研究では、多種類のヒトがん細胞をモデルとした比較解析を行うことで、細胞種に特異的で多様な紡錘体形成マシナリーの同定を行う。さらに、それらを制御する分子基盤を統合的に解析し、中心体依存的・非依存的な分裂期紡錘体の形成機構を解明する。また、最新の細胞遺伝学、細胞生物学とケミカルバイオロジーを融合させることで、分裂期特異的且つ効果的な抗がん剤標的を浮き彫りにし、独創的な視点に立脚した基礎・創薬研究を行う。

【研究の方法】

上記に挙げた研究目的に対応して、以下研究方法に関して記す。

1) 超解像顕微鏡観察と *in vitro* 再構成系の融合による中心小体複製機構の解明
2) 多様なヒトがん細胞種における、細胞遺伝学的手法を用いた中心体を相補する紡錘体形成マシナリーの網羅的同定と機能解析
3) 分裂期紡錘体形成を特異的に阻害する低分子化合物の探索と細胞生物学的解析
4) 血液がん細胞における紡錘体形成メカニズムの解明

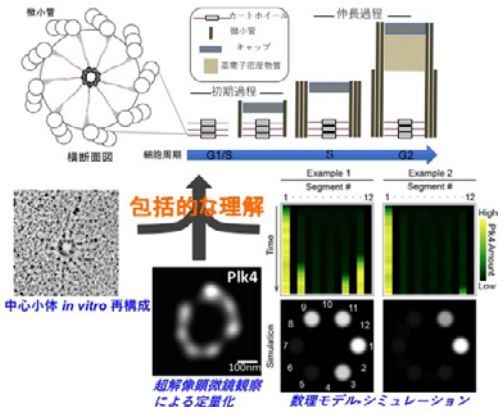

図１　中心小体複製機構の解明

【期待される成果と意義】

本研究では、超解像顕微鏡技術、シミュレーション、構造生物学的解析などを導入し、多様な手法を融合させることで、中心小体複製に介在する基本原理を明らかにする。また、実測データに基づいた数理モデルやシミュレーションを用いて精度の高い中心小体の複製モデルを確立する。さらに、本研究から得られる知見は、様々ながん細胞種の分裂様式の理解を深めるばかりでなく、新しい抗がんストラテジーの開発に繋がることが期待される。紡錘体形成中心を標的にすることで、既に形成された微小管自体には作用しないが、分裂期に新たに生じる微小管重合を強く阻害する薬剤を創生することを目指す。

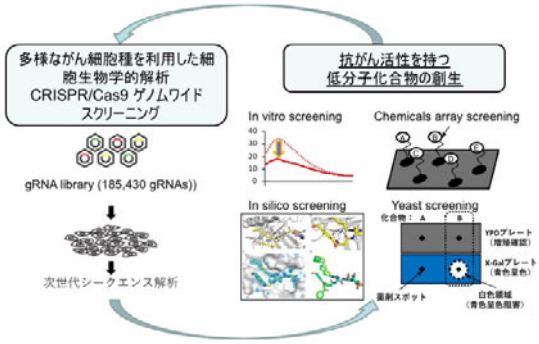

図２　細胞遺伝学とケミカルバイオロジーの融合

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

・Midori Ohta, Koki Watanabe, Tomoko Ashikawa, Yuka Nozaki, Satoko Yoshiba, Akatsuki Kimura and Daiju Kitagawa (2018) Bimodal Binding of STIL to Plk4 Controls Proper Centriole Copy Number. *Cell Reports*, 23, 3160-3169, doi: 10.1016/j.celrep.2018.05.030.
・Yuki Tsuchiya, Satoko Yoshiba, Akshari Gupta, Koki Watanabe and Daiju Kitagawa (2016) Cep295 is a conserved scaffold protein required for generation of a bona fide mother centriole. *Nature Communications*, doi: 10.1038/ncomms12567.

【研究期間と研究経費】

令和元年度－令和５年度
153,800 千円

【ホームページ等】

http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~seiri/index.html

研究課題名　薬用資源植物の化学的多様性のゲノム起源

理化学研究所・環境資源科学研究センター・副センター長　齊藤（さいとう）　和季（かずき）

研究課題番号：19H05652　研究者番号：00146705
キーワード：薬用植物、ゲノム、メタボローム

【研究の背景・目的】

医薬の源泉となる植物メタボロームの多様性は動物などを遙かに凌駕しているが、そのゲノム起源は未解明であり根源的な課題である。また、現在でも医師の 9 割が漢方を処方しており、さらに高齢化社会における健康寿命の延伸に向けて植物医薬への期待が大きい。生薬の多くが輸入に依存している中で、名古屋議定書により公正な利益配分を求めるようになったが、むしろ国内栽培されてきた薬用植物のゲノム解明と知財防衛への大きなチャンスである。加えて、2015 年に国連で採択された「持続可能な開発目標」SDGs (Sustainable Development Goals)において、生物多様性資源の保全とその持続的利用は地球規模での焦眉の課題である。また、技術的背景として、ゲノム科学関連技術の急速な進展がある。

そこで本研究では、薬用資源植物のゲノム、メタボロームを解読し、その化学的多様性の起源を明らかにするとともに、その知見を植物資源の持続的利用に応用する。

【研究の方法】

漢方処方に最も頻繁に用いられ、最大の生産量などからも、生薬として最も重要な甘草について、その主要有効成分であるグリチルリチンを含む植物種、含まない種の高品質ゲノム配列を決定し、さらに成分パターンの異なる変種系統をリシークエンスし、変異情報を得る。次に、トランスクリプトームやメタボロームデータも取得して、これらの共起性ネットワーク解析や、ゲノムワイドアソシエーション解析（GWAS)によって、成分パターンを決めている遺伝子、ゲノム領域、変異を特定する。次に、これらの遺伝子の機能同定と共に、ゲノム編集・合成生物学などのバイオテクノロジーによって、甘草の分子育種や有効成分の生産に応用する。同時に、この基本的な手法を甘草以外の、重要な薬用植物のゲノム機能科学にも展開する。

【期待される成果と意義】

医薬学や医療分野において重要性が増加している薬用資源植物について、ゲノム、メタボロームを解読し、その化学的多様性の起源を明らかにすることができる。これにより、「持続可能な開発目標」SDGsにも貢献する植物資源の持続的利用に応用し、同時に人類の知の地平線を拡大することができる。さらに、今後 10〜20 年の薬用植物資源開発に新しい道を拓くことになる。

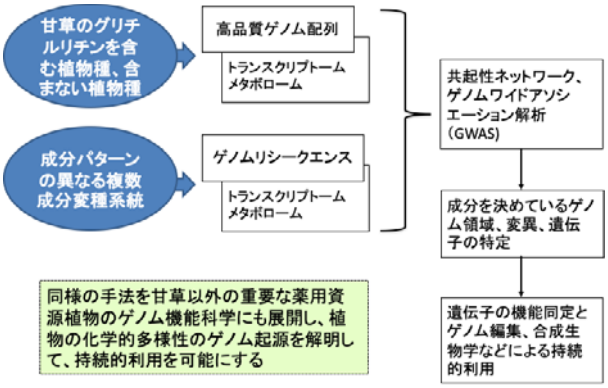

図 1　本研究の概要

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

・Mochida, K., *et al.*: Draft genome assembly and annotation of *Glycyrrhiza uralensis*, a medicinal legume. *Plant J.*, **89**, 181–194, (2017)
・Rai, A., Saito, K., Yamazaki, M.: Integrated omics analysis of specialized metabolism in medicinal plants. *Plant J.*, **90**, 764-787 (2017)
・Knoch, E., *et al.*: The third DWF1 paralog in Solanaceae, sterol Δ^{24}-isomerase, branching withanolide biosynthesis from the general phytosterol pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **115**, E8096-E8103 (2018)
・Tsugawa, H., Nakabayashi, R., *et al.*: A cheminformatics approach to characterize metabolomes in stable-isotope-labeled organisms. *Nature Methods*, **16**, 295–298 (2019)

【研究期間と研究経費】

令和元年度－令和 5 年度
154,600 千円

【ホームページ等】

http://www.riken.jp/research/labs/csrs/metabolom/
http://metabolomics.riken.jp/