

**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 23 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	シグナルの新たな作動原理とその異常による炎症・自己免疫疾患発症メカニズムの解明
研究機関・ 部局・職名	東京大学・大学院薬学系研究科・特任准教授
氏名	松沢 厚

### 1. 当該年度の研究目的

本年度では、キナーゼを中心としたイムノシグナロソーム構成因子の同定手法を確立し、実際にその複合体構成因子の同定を行う。具体的には、解析が先行している ASK1 キナーゼ分子を対象とし、作成した ASK1-ASKA マウスを用いたケミカルバイオロジー的手法により、実際に ASK1 シグナロソーム構成因子の探索・同定を試行し、本手法を確立したい。また、siRNA ライブラリーによる ASK1 の活性制御に関わるユビキチン化酵素のスクリーニング法の確立を行い、実際にスクリーニングを実施する。これらの方法によって同定された分子および先行して ASK1 複合体構成因子として見出された分子に対して、生化学的・分子生物学的解析を行い、そのシグナルにおける生理機能を明らかにしていく。

### 2. 研究の実施状況

本研究においては、様々な分子の相互作用を介して多様な免疫応答の発現パターンが制御されていると考え、その分子間相互作用の場としてのイムノシグナロソーム(免疫シグナル複合体)の多彩な構成因子の同定と機能解析により、このようなシグナル制御の仕組みを明らかにし、その破綻による免疫疾患の原因を分子レベルで解明することを目指している。

本年度では、そのイムノシグナロソーム構成因子の同定手法として、2 つの方法を確立することができた。1 つは、キナーゼの ATP 結合部位に変異を入れた ASKA(analog-sensitive kinase allele)マウスの手法に基づき、その変異させたキナーゼ ATP 結合部位に特異的に結合できる ATP アナログ(類似体)で、内在性のキナーゼ複合体を精製するというケミカルバイオロジー的な同定法である。もう 1 つは、活性化に伴って、ユビキチン化修飾により分解されてしまうキナーゼを対象として、siRNA ライブラリーを用いて、キナーゼの分解を担う個々の分子の発現を減少させた時に、その分解抑制が起こるか否かを指標にスクリーニングを行い、目的のキナーゼの分解・活性制御機構に関わる分子を同定する方法である。これらの同定手法を確立し、実際に、解析が先行している ASK1 キナーゼについて実施し、幾つかの複合体構成因子や活性制御因子を同定した。その中には ASK1 キナーゼの活性を制御する分子も見出されており、このような複合体構成因子の生理機能の解析によって免疫シグナルの制御機構の解明を進めている。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 4 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 2 件 Runchel, C., <b>Matsuzawa, A.</b>, Ichijo, H. Mitogen-Activated Protein Kinases in Mammalian Oxidative Stress Responses. <b><i>Antioxidants &amp; Redox Signaling</i></b>, 15(1), 205-218, (2011) (ISSN: 1523-0864)</p> <p>Takeda, K., Naguro, I., Nishitoh, H., <b>Matsuzawa, A.</b>, Ichijo, H. Apoptosis Signaling Kinases: From Stress Response to Health Outcomes. <b><i>Antioxidants &amp; Redox Signaling</i></b>, 15(3), 719-761, (2011) (ISSN: 1523-0864)</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 2 件 Fujisawa, T., Kengo, H., Yamaguchi, N., Kadowaki, H., Tsuburaya, N., Naguro, I., <b>Matsuzawa, A.</b>, Takeda, K., Takahashi, Y., Goto, J., Tsuji, S., Nishitoh, H., Ichijo, H. A novel monoclonal antibody reveals a conformational alteration shared by amyotrophic lateral sclerosis-linked SOD1 mutants. <b><i>Annals of Neurology</i></b>, (2012) (ISSN: 0364-5134)</p> <p>Soga, M., <b>Matsuzawa, A.</b>, Ichijo, H. Oxidative stress-induced diseases via the ASK1 signaling pathway. <b><i>International Journal of Cell Biology</i></b>, (2012) (ISSN: 1687-8876)</p>
<p>会議発表 計 13 件</p>	<p>専門家向け 計 13 件</p> <p>●招待講演 <b>松沢厚</b>: 酸化ストレス応答キナーゼ ASK1 のユビキチン化による活性制御, 日本薬学会第 132 年会 (シンポジウム), 2012.3.28-31, 札幌</p> <p><b>松沢厚</b>, 一條秀憲: ユビキチン化によるリン酸化シグナルの新たな制御機構, 第 84 回日本生化学会 (シンポジウム), 2011.9.21-24, 京都</p> <p><b>松沢厚</b>: 活性酸素シグナルによる ASK1 キナーゼの活性制御機構, 第 2 回日本学術振興会レッドックス・ライフイノベーション第 170 委員会 “Redox Signal Forum”, 2011.7.8-9, 小樽</p> <p>●国際学会 Mayumi Soga, Takeshi Maruyama, <b>Atsushi Matsuzawa</b>, Physiological role of the induction of apoptosis signal-regulating kinase 2 (ASK2) in activated macrophages, Keystone Symposia “Cell Death Pathways: Beyond Apoptosis”, 2012.3.19-24, Banff, Alberta, Canada</p> <p>Toshihiro Araki, Takeshi Maruyama, <b>Atsushi Matsuzawa</b>, Hidenori Ichijo: Identification of novel E3 ubiquitin ligase for regulation of ASK1 activity, The 7th Japan-Korea Conference on Cellular Signaling for Young Scientists, 2012.2.17-18, Ulsan, Korea.</p> <p><b>Atsushi Matsuzawa</b>, Toshihiro Araki, Takeshi Maruyama, Hidenori Ichijo: Regulatory mechanisms of the stress-responsive kinase ASK1 by ubiquitination in response to oxidative stress, Cell Signaling Networks 2011 and 13th IUBMB Conference, 2011.10.22-27, Merida, Yucatan, Mexico.</p> <p>Masahiro Okada, <b>Atsushi Matsuzawa</b>, Hidenori Ichijo: Regulation of innate immune functions in macrophages by the stress-responsive kinase ASK1, Cell Signaling Networks 2011 and 13th IUBMB Conference, 2011.10.22-27, Merida, Yucatan, Mexico.</p> <p>Masahiro Okada, <b>Atsushi Matsuzawa</b>, Hidenori Ichijo: Regulation of innate immune functions in macrophages by the stress-responsive kinase ASK1, 13th International TNF Conference TNF2011, 2011.5.15-18, Awaji, Hyogo, Japan.</p>

様式19 別紙1

	<p>●国内学会</p> <p>荒木利博, 丸山剛, <b>松沢厚</b>, 一條秀憲:ASK1 活性制御に関わる新規 E3 ユビキチンリガーゼの同定, 第 34 回日本分子生物学会, 2011.12.13-16, 横浜</p> <p>岡田匡央, 一條秀憲, <b>松沢厚</b>:ストレス応答キナーゼ ASK1 によるマクロファージの自然免疫機能の制御, 第 40 回日本免疫学会総会, 2011.11.27-29, 千葉</p> <p>丸山剛, 荒木利博, <b>松沢厚</b>, 一條秀憲:siRNA ライブラリーを用いた蛍光イメージングによる ASK1 分解関連ユビキチンリガーゼの同定法の確立, 第 84 回日本生化学会, 2011.9.21-24, 京都</p> <p>片桐一美, <b>松沢厚</b>, 一條秀憲:過酸化水素依存的な ASK1 活性化機構における Peroxiredoxin 1 の役割, 第 84 回日本生化学会, 2011.9.21-24, 京都</p> <p>丸山剛, 荒木利博, <b>松沢厚</b>, 一條秀憲:siRNA ライブラリーを用いた蛍光イメージングによる ASK1 分解関連ユビキチンリガーゼ同定法の確立, 第 11 回東京大学生命科学シンポジウム, 2011.6.4, 東京</p> <p>一般向け 計 0 件</p>
<p>図書</p> <p>計 1 件</p>	<p><b>松沢厚</b>, 一條秀憲:ストレス応答キナーゼシグナルの破綻と疾患, 細胞工学, 秀潤社, 31(2), 138-143, (2012) (ISBN:978-4-7809-0127-6)</p>
<p>産業財産権 出願・取得状 況</p> <p>計 0 件</p>	<p>(取得済み) 計 0 件</p> <p>(出願中) 計 0 件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>(・研究室ウェブページに、最先端・次世代研究開発支援プログラムにおける本研究の研究目的・研究方針・研究成果などを掲載。 ULR: <a href="http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~toxicol/saisentan-matsuzawa.html">http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~toxicol/saisentan-matsuzawa.html</a> )</p>
<p>国民との科 学・技術対話 の実施状況</p>	<p>●2011年11月8日13:00~15:00, 東京大学大学院薬学系研究科, 高校1年生(10名):薬学研究の実際の現場を見学 (将来の職業を決めるプログラムの一環として集まってもらった高校生を対象に、自分が現在行っている具体的な研究について説明し、実際の研究室での研究の様子や実習の現場を体験してもらった)</p>
<p>新聞・一般雑 誌等掲載</p> <p>計 0 件</p>	
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

## 実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

## 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	119,000,000	41,400,000	0	77,600,000	0
間接経費	35,700,000	12,420,000	0	23,280,000	0
合計	154,700,000	53,820,000	0	100,880,000	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	32,154,315	0	0	32,154,315	25,266,405	6,887,910	0
間接経費	12,420,000	0	0	12,420,000	12,420,000	0	0
合計	44,574,315	0	0	44,574,315	37,686,405	6,887,910	0

## 3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	16,175,262	試薬、マウス、飼料等
旅費	1,042,129	研究成果発表旅費(アメリカ・京都)等
謝金・人件費等	4,933,861	博士研究員(1名)人件費
その他	3,115,153	論文投稿料、機器修理代等
直接経費計	25,266,405	
間接経費計	12,420,000	
合計	37,686,405	

## 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
				0		
				0		
				0		