

課題番号	LS015
------	-------

**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24年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	マウス心臓の機能的な遺伝子ネットワークの統括的理解のための基盤創成
研究機関・ 部局・職名	秋田大学・大学院医学系研究科・准教授
氏名	久場 敬司

1. 当該年度の研究目的

・CCR4-NOT 複合体の心臓における役割を解明するために、前年度までに樹立された CCR4-NOT 構成因子やその関連因子の心臓特異的なコンディショナル・ノックアウトマウスについて、心機能を解析することにより、心機能制御におけるそれらの因子の役割、意義を明らかにする。

・CCR4-NOT 複合体による遺伝子発現制御ネットワーク解明のため、前年度より見出してきた CCR4-NOT 複合体の直接的なターゲット蛋白質、DNA ならびに RNA の生理機能、役割、意義を明らかにする。

・ハイスループット遺伝子欠損マウス作製、機能解析系の確立のため、C57BL6N マウス由来の均一な genetic background の ES 細胞を用いた RNAi ノックダウンラインを作製しライブラリー化を進めると同時に、効率よく遺伝子ノックダウンマウスへ個体化するシステムを確立することを目指す。

2. 研究の実施状況

CCR4-NOT 複合体を介した遺伝子ネットワークの解析のため、本年度は CCR4-NOT のデアデニレース (RNA poly-A 分解) サブユニットの 4 遺伝子について遺伝子欠損マウス (一部は心臓特異的) を作製し、既存のものは譲渡していただき、さらにデアデニレース因子の二重欠損マウスを作製しながら、機能解析を行った。前年度から継続して作製、解析している CCR4-NOT 複合体のコア因子の心臓特異的なコンディショナル・ノックアウトマウスと比較しながら、心エコーや心電図での心機能測定、左室圧負荷モデル (TAC) での病態モデルでの解析を行い、デアデニレース活性が心機能維持に重要であることを実証した。一方で、ノックアウトの心臓組織を用いた生化学的な解析から、CCR4-NOT 複合体は poly-A 分解と転写調節の両方が同時に重要であることを見出した。すなわち、CCR4-NOT 複合体は、RNA 合成、分解の両方に寄与し、微妙な遺伝子発現ネットワークのバランスをとっている因子であることが考えられ、RIP, ChIP sequencing などの解析に加えて、pulse-chase 実験などを開始した。他のネットワーク解析では、Apelin 系とレニン-アンジオテンシン系の新しい相互作用を見出し (JCI, in revision)、ACE2 によるアミノ酸吸収と腸内細菌叢の制御が臓器恒常性維持に重要であることを見出し (Nature 2012)、さらに重症 influenza 感染モデルの Lipidomics 解析から脂肪酸代謝物 Protectin D1 を発見し、RNA 核外移行と脂肪酸シグナルのクロストークを明らかにした (Cell 2013)。また、ハイスループット遺伝子欠損マウス作製、機能解析系についても、ES 細胞での高効率な遺伝子ターゲティング系や迅速なマウス個体の作製系を継続して動かしている。

様式19 別紙1

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 4 件 Morita M, <u>*Kuba K</u>, et al. The lipid mediator protectin D1 inhibits influenza virus replication and improves severe influenza. <i>Cell</i>. 153(1):112-25, 2013. (*共同筆頭著者) <u>*Kuba K</u>, Imai Y, Penninger JM. Multiple functions of angiotensin-converting enzyme 2 and its relevance in cardiovascular diseases. <i>Circ J</i>. 77(2):301-8, 2013. (*責任著者) Ichikawa A, <u>*Kuba K</u>, et al. CXCL10-CXCR3 enhances the development of neutrophil-mediated fulminant lung injury of viral and nonviral origin. <i>Am J Respir Crit Care Med</i>. 187(1):65-77, 2013. (*共同筆頭著者) Hashimoto T, <u>Kuba K</u>, et al. ACE2 links amino acid malnutrition to microbial ecology and intestinal inflammation. <i>Nature</i>. 487(7408):477-81, 2012. (掲載済み一査読無し) 計 0 件 (未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 7 件</p>	<p>専門家向け 計 7 件 ・久場敬司 A crucial role of CCR4-NOT complex in controlling heart functions. 2012年12月16日 日本生化学会シンポジウム(福岡) ・久場敬司 アンジオテンシン変換酵素2(ACE2)によるペプチド、アミノ酸代謝制御 2012年11月17日 第13回東北内分泌研究会/第25回日本内分泌学会東北地方会(秋田) ・久場敬司 アンジオテンシン変換酵素2(ACE2)と炎症性呼吸器疾患 2012年9月10日 フォーラム富山「創薬」第36回研究会(富山) ・久場敬司 ACE2による心血管ペプチド、アミノ酸の代謝制御、RA系の新展開 2012年8月31日 久留米腎高血圧セミナー(福岡) ・久場敬司 酵母から保存されたCCR4-NOT複合体の哺乳類における生理機能 2012年8月16日 第4回生命科学阿波おどりシンポジウム(徳島) ・久場敬司 CNOT3のマウス心臓発生、心機能調節における役割、意義の解析 2012年7月18日 RNA学会(仙台) ・久場敬司 新興ウイルス感染症におけるARDS発症、重症化の分子機構 2012年4月21日 肺研究フォーラム21(神戸) 一般向け 計 0 件</p>
<p>図書 計 0 件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状況 計 0 件</p>	<p>(取得済み) 計 0 件 (出願中) 計 0 件</p>

様式19 別紙1

Webページ (URL)	<p>http://www.med.akita-u.ac.jp/~yakuri/index.html http://www.akita-u.ac.jp/honbu/project/pr_next.html</p>
国民との科学・技術対話の実施状況	<ul style="list-style-type: none"> ・インターネット上での研究成果の継続的な発信 秋田大学ホームページ内に「最先端・次世代研究開発支援プログラム」専用サイトにより、研究内容や各種イベントの開催について情報発信を実施。 ・大学関係者・一般を対象とした講演会等での研究内容発表 「秋田大学生体情報研究センター設置記念講演会・式典・シンポジウム」にてパネル展として、研究発表会を実施。(平成24年8月30日・31日) 参加者164名(学内140名, 学外24名) 開催場所:秋田キャッスルホテル ・企業関係者等一般を対象とした産学官合同フォーラムでの研究内容発表 「あきた産学官連携フォーラム 2012」のパネル展として、研究発表会を実施。(平成25年1月16日)参加者192名 開催場所:にぎわい交流館「あう」 ・企業関係者等一般を対象とした合同フォーラムでの研究内容発表 「秋田大学合同フォーラム」ポスターセッションの特別企画として、研究発表会を実施。(平成25年2月27日)参加者148名(学内97名, 学外51名) 開催場所:秋田ビューホテル
新聞・一般雑誌等掲載 計0件	
その他	

4. その他特記事項

無し

実施状況報告書(平成24年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

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	132,000,000	54,040,000	38,680,000	39,280,000	0
間接経費	39,600,000	16,212,000	11,604,000	11,784,000	0
合計	171,600,000	70,252,000	50,284,000	51,064,000	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	-1,177,401	38,680,000	0	37,502,599	37,369,598	133,001	0
間接経費	3,990,485	11,604,000	0	15,594,485	2,614,793	12,979,692	0
合計	2,813,084	50,284,000	0	53,097,084	39,984,391	13,112,693	0

3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	18,612,273	試薬、キット、消耗品、機器修理など
旅費	891,290	研究成果発表旅費
謝金・人件費等	8,795,798	博士研究員人件費、研究補助員人件費
その他	9,070,237	受託解析、学内実験施設利用費
直接経費計	37,369,598	
間接経費計	2,614,793	
合計	39,984,391	

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
パスウェイ解析 ツール IPA アカ デミックライセンス	Ingenuity Pathway Analysis 品番(＃)	1	1,147,125	1,147,125	2012年10月10日	秋田大学
				0		
				0		