

**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25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

・心臓における CCR4-NOT 複合体による役割を解明するために、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の心機能解析により CCR4-NOT 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、前年度までの CCR4-NOT 複合体のターゲット分子の解析に加えて、メタボローム解析、バイオインフォマティクス解析により CCR4-NOT 複合体の生理機能、役割、意義を明らかにする。

・ネットワーク解析などにより抽出された未知遺伝子群について、遺伝子欠損/ノックダウンマウスを作製し、*in vivo* 心機能ミニスクリーニングを行うことにより新しい心遺伝子ネットワークの同定を目指す。

2. 研究の実施状況

CCR4-NOT構成因子と会合するデアデニレース因子全てについて、左室圧負荷モデル(TAC)での病態モデルでの解析を行ったところ、個々のデアデニレース因子が圧負荷ストレスでの心機能維持に重要であることを見出した。一方、デアデニレースの単独欠損では定常状態の心機能に異常を認めないが、デアデニレースの二重欠損マウスでは、定常状態でしかも若年齢から心機能が低下していることを見出した。すなわち、CCR4-NOT複合体は複数のデアデニレース因子を取り込んで、RNA代謝を制御していることが分かった。さらに、CCR4-NOT複合体のコア因子の遺伝子欠損マウスの詳細なRNA seq、RIP seq、metabolomeなどの複合的な解析から、CCR4-NOTと結合しているmRNA量が必ずしも細胞内のmRNA発現量変化と対応していないことが分かった。一方で、poly-A鎖の長さとは相関しているという結果が得られたのでさらに詳細な解析を進めている。他のネットワーク解析では、ACE2を介したApelin系とレニン-アンジオテンシン系の新しい相互作用を解明した(JCI 2013)。ハイスループトット遺伝子欠損マウス作製、機能解析系については、CRISPRによるゲノム編集の技術を取り入れ、遺伝子変異導入ES細胞の100%キメラ個体の作出ならびに受精卵前核へのインジェクションによる変異個体の作出の2つの方法を試みた。その結果、ネットワーク解析などにより抽出された未知遺伝子13個について遺伝子変異マウスを作製することに成功し、一部のマウスについて心機能スクリーニングを行い、screening hit候補を得ることに成功した。したがって、マウス*in vivo*スクリーニングの研究基盤を創成することができた。

様式19 別紙1

3. 研究発表等

<p>雑誌論文</p> <p>計 2 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 2 件</p> <p>Sato T, *Kuba K, et al. Apelin is a positive regulator of ACE2 in failing hearts. <i>Journal of Clinical Investigation</i>. 123, 2013. (*責任著者)</p> <p>Arimura T, Kuba K, et al. Nuclear accumulation of androgen receptor in gender difference of dilated cardiomyopathy due to lamin A/C mutations. <i>Cardiovascular Research</i>. 99: 382-394, 2013.</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表</p> <p>計 9 件</p>	<p>専門家向け 計 9 件</p> <p>久場敬司 Apelin—ACE2 ネットワークによる心機能制御機構の解明. 第 87 回日本薬理学会、仙台、2014 年 3 月 20 日</p> <p>久場敬司 呼吸循環器疾患の病態における新規の分子ネットワークの同定、解析. 秋田医学会総会、秋田、2014 年 2 月 10 日</p> <p>久場敬司 ACE2 を介した Apelin 系とアンジオテンシン系の相互作用. 第 23 回日本循環薬理学会 福岡、2013 年 12 月 6 日</p> <p>久場敬司 Ccr4-Not complex is a crucial regulator of cardiac function and homeostasis. 第 36 回分子生物学会シンポジウム 2PW9、神戸、2013 年 12 月 4 日</p> <p>久場敬司 ACE2 を介した Apelin 系とアンジオテンシン系のシステム連関. 第 2 回川島腎カンファレンス、岐阜、各務原、2013 年 10 月 26 日</p> <p>久場敬司 脂肪酸代謝物の RNA 核外輸送制御によるインフルエンザウイルスの増殖抑制効果. 第 64 回日本薬理学会北部会、旭川、2013 年 9 月 13 日</p> <p>久場敬司 心機能調節における Apelin を介した ACE2 制御機構の解明. 第 64 回日本薬理学会北部会、旭川、2013 年 9 月 13 日</p> <p>久場敬司 CCR4-NOT 複合体の循環呼吸機能調節における役割 overview. 第 1 回 CCR4-NOT 研究会、秋田、田沢湖高原、2013 年 8 月 9-10 日</p> <p>久場敬司 Apelin シグナルによる ACE2 の発現制御 第 11 回 北東北血液研究会、秋田、2013 年 4 月 27 日</p> <p>一般向け 計 0 件</p>
<p>図書</p> <p>計 0 件</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>

様式19 別紙1

Webページ (URL)	<p>http://www.akita-u.ac.jp/honbu/project/pr_next.html (秋田大学HP内、最先端次世代研究開発支援プログラム紹介)</p> <p>http://www.imai-lab.com/(今井研究室)</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。 ・中学生を対象とした特別授業による医学研究解説 「秋田大学ジュニア・メディカル・サイエンス・ミーティング」で、中学1年生を対象に医学研究を解説する特別授業を実施。(平成25年11月19日) 参加者143名 開催場所:秋田大学附属中学校 ・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 2013」のパネル展として、研究発表会を実施。(平成25年11月26日) 参加者189名 開催場所:秋田市民交流プラザ「アルヴェ」 ・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26年2月27日) 参加者110名(学内69名, 学外41名) 開催場所:秋田ビューホテル
新聞・一般雑誌等掲載 計2件	<ul style="list-style-type: none"> ・秋田さきがけ新報(2013年11月15日付):「心機能改善、仕組み解明 秋田大・久場准教授ら研究グループ」 ・秋田さきがけ新報(2013年11月21日付):「医学研究「興味湧いた」 秋田大教授ら 秋大付中生に解説」
その他	

4. その他特記事項

なし

実施状況報告書(平成25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	132,000,000	92,720,000	39,280,000	0	0
間接経費	39,600,000	27,816,000	11,784,000	0	0
合計	171,600,000	120,536,000	51,064,000	0	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	133,001	39,280,000	0	39,413,001	39,413,001	0	0
間接経費	12,979,692	11,784,000	0	24,763,692	24,763,692	0	0
合計	13,112,693	51,064,000	0	64,176,693	64,176,693	0	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	24,676,831	試薬、消耗品等
旅費	1,746,755	研究成果発表旅費、共同研究打ち合わせ
謝金・人件費等	80,000	研究協力者への謝金
その他	12,909,415	受託解析、通信運搬、印刷製本費等
直接経費計	39,413,001	
間接経費計	24,763,692	
合計	64,176,693	

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
Panasonic ハイオ クリーンハンチ	MCCV-B131F- PJ	1	1,047,375	1,047,375	2013/12/26	秋田大学
Applide Biosystems 2730サーマルサイ クラー	ライフテクノ ロジージャパン	1	777,000	777,000	2013/12/20	秋田大学
Bioruptor	東湘電機株式会 社 UCD-300型/高 性能消音箱付属 一式	1	1,351,350	1,351,350	2013/12/20	秋田大学
CO2インキュベ ーター	アステック SCA- 165DRS 一式	1	1,687,350	1,687,350	2013/12/25	秋田大学
超低音フリーザー	Panasonic MDF-U384-PJフ ルセット	1	1,328,250	1,328,250	2013/12/26	秋田大学
基礎研究用パー ソナル細胞イメージ アナライザー	サーモフィッ シャー	1	10,395,000	10,395,000	2014/2/28	秋田大学