

| | |
|------|-------|
| 課題番号 | LS120 |
|------|-------|

**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 | 生体組織の伸縮性を生み出す仕組みの研究 |
| 研究機関・ 部局・職名 | 関西医科大学・医学部・教授 |
| 氏名 | 中邨 智之 |

1. 当該年度の研究目的

| |
|--|
| <p>1. 弾性線維の形成には、エラスチンがマイクロフィブリル上に沈着するプロセスとエラスチンどうしがクロスリンクされるプロセスがある。前年度までの研究において、前者のプロセスに Fibulin-5 と LTBP-4 という2つの分泌タンパク質が必須の役割をしていることを明らかにしてきた。平成25年度は、後者のプロセスの解明を目指し、クロスリンク酵素活性化のメカニズムを検討する。</p> <p>2. Fibulin-4 に CreERT2 をノックインしたマウスの作成。</p> <p>3. Fibulin-5 に CreERT2 をノックインしたマウスと Fibulin-5 flox マウスの作成。これらを掛け合わせて成体における Fibulin-5 の役割を調べる。</p> |
|--|

2. 研究の実施状況

| |
|---|
| <p>1. エラスチンクロスリンク酵素の解析</p> <p>エラスチンをクロスリンクする酵素はリシルオキシダーゼとそのファミリー分子(LOXL1, 2, 3, 4)とされている。中でもリシルオキシダーゼが重要であるが、その酵素活性を制御するメカニズムはよくわかっていない。リシルオキシダーゼを精製する方法を改良し、タグを使わず少ないステップ(2つのカラムの組み合わせ)で皮膚組織・大動脈組織・細胞培養上清から高純度に精製する方法を確立した。この方法を用いて生体内で作られ活性化されているリシルオキシダーゼおよび 293T 細胞に cDNA を導入することで強制発現させたリシルオキシダーゼを精製し、これらの活性と翻訳後修飾の違いを現在検討している。</p> <p>2. Fibulin-4 に CreERT2 をノックインしたマウスの作成</p> <p>Fibulin-4 の発現部位については未だよくわかっていないため、Fibulin-4 遺伝子に CreERT2 をノックインしたマウスを作成した。これをインジケーターマウス(Cre がはたらくと細胞内で LacZ が発現するマウス)と掛け合わせ、タモキシフェンによって Cre を活性化したところ、成体では発現が検出限界以下であったが胎生期には腎臓・軟骨・心臓・肺で LacZ 発現が認められた。</p> <p>3. Fibulin-5 に CreERT2 をノックインしたマウスと Fibulin-5 flox マウスの作成</p> <p>Fibulin-5 flox マウスは作成できたが、Fibulin-5 遺伝子に CreERT2 をノックインしたマウスについてはキメラマウスからヘテロマウスが生まれなかったため、再度 ES 細胞スクリーニングを行った。現在キメラマウスを作成している。</p> |
|---|

様式19 別紙1

3. 研究発表等

| | |
|----------------------------------|---|
| <p>雑誌論文 計2件</p> | <p>(掲載済み一査読有り) 計2件 1. Yokoyama U, Minamisawa S, Shioda A, Ishiwata R, Jin MH, Masuda M, Asou T, Sugimoto Y, Aoki H, <u>Nakamura T</u>, Ishikawa Y: Prostaglandin E2 inhibits elastogenesis in the ductus arteriosus via EP4 signaling. <i>Circulation</i>129:487-96, 2014. 2. Horie T, Nishino T, Baba O, Kuwabara Y, Nakao T, Nishiga M, Usami S, Izuhara M, Sowa N, Yahagi N, Shimano H, Matsumura S, Inoue K, Marusawa H, <u>Nakamura T</u>, Hasegawa K, Kume N, Yokode M, Kita T, Kimura T, and Ono K. MicroRNA-33 regulates sterol regulatory element-binding protein 1 expression in mice. <i>Nat Commun</i> 4:2883, 2013. (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5件</p> | <p>専門家向け 計5件 Nakamura, T.: TGFβ-independent role of LTBP2s in microfibril and elastic fiber assembly. Invited talk at Gordon Research Conference on Elastin and Elastic Fiber (July 21 - 25, 2013, Biddeford, U.S.A.). 中邨智之: 「弾性線維は再生できるか ～ 線維形成の分子機構～」太陽紫外線防御研究委員会 第24回シンポジウム 特別講演 (大阪、2014年3月7日) 中邨智之: 「生体の伸縮性を生み出す仕組み」徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 ストレスと栄養クラスター・ミニトリート2013 特別講演 (徳島、2013年12月18日) 藤川雄介、赤間智也、井上唯史、中邨智之: Mutant LTBP-2 proteins lack secretion ability and fibrillin-1 binding activity. 第36回 日本分子生物学会年会 ポスター発表 (神戸、2013年12月5日) 中邨智之: 「弾性線維は再生できるか ～ 線維形成の分子機構～」第5回 日本創傷外科学会総会・学術集会 特別講演 (京都、2013年7月11日) 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) | |
| 国民との科学・技術対話 の実施状況 | 2013年8月3日、関西医科大学にて開催したオープンキャンパスにおいて、高校生と保護者に対して研究内容の紹介・パネル展示を行った。参加者は383名。 |
| 新聞・一般雑誌等掲載 計0件 | |
| その他 | |

4. その他特記事項

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せん

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 | 97,665,000 | 34,335,000 | 0 | 0 |
| 間接経費 | 39,600,000 | 29,299,500 | 10,300,500 | 0 | 0 |
| 合計 | 171,600,000 | 126,964,500 | 44,635,500 | 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 | 3,825,242 | 34,335,000 | 0 | 38,160,242 | 38,160,242 | 0 | 0 |
| 間接経費 | 0 | 10,300,500 | 0 | 10,300,500 | 10,300,500 | 0 | 0 |
| 合計 | 3,825,242 | 44,635,500 | 0 | 48,460,742 | 48,460,742 | 0 | 0 |

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

| | 金額 | 備考 |
|---------|------------|-------------------------------|
| 物品費 | 21,468,450 | 凍結切片作製装置、冷却遠心機、実験試薬等 |
| 旅費 | 344,286 | 研究成果発表旅費(米国Gordon Research会議) |
| 謝金・人件費等 | 3,189,719 | 研究補助員給与等 |
| その他 | 13,157,787 | 動物センター利用費、変異ES細胞作製等 |
| 直接経費計 | 38,160,242 | |
| 間接経費計 | 10,300,500 | |
| 合計 | 48,460,742 | |

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 |
|---------------------|---|----|--------------|--------------|-----------|-------------|
| ユニバーサル冷却 遠心機 | 久保田商事製 5930 | 1 | 1,345,890 | 1,345,890 | 2013/5/13 | 関西医科大学 |
| 凍結切片作製装置 クリオスタット | サーモフィッ シャーサイエン ティフィック製 HM550-OVP | 1 | 4,614,120 | 4,614,120 | 2013/5/15 | 関西医科大学 |
| 細胞融合装置 | ネッパジーン製 BCFG21 | 1 | 1,837,500 | 1,837,500 | 2013/6/19 | 関西医科大学 |