

# Annual Report 2023



東京医科歯科大学難治疾患研究所

東京都文京区湯島1-5-45

電話 03-5803-4504

<http://www.tmd.ac.jp/mri/>

Medical Research Institute Tokyo Medical and Dental University

1-5-45 Yushima Bunkyo-ku Tokyo 113-8510 Japan

Tel +81-3-5803-4504



東京医科歯科大学

難治疾患研究所

年報

2023

Annual Report

Medical Research Institute

Tokyo Medical and Dental University



# まえがき

本年報は、国立大学法人東京医科歯科大学難治疾患研究所における2022年1月から12月までの研究と教育などに関わる活動報告です。本研究所では「難治疾患」を「病因・病態が明らかにされていないために未だ有効な診断法、治療法、予防法が確立されていない疾患」と定義し、その克服のため基礎から応用まで幅広い研究活動を展開しています。教授が主催する分野と准教授が主催するフロンティア研究室を含む「未来生命科学研究部門」「病態制御科学研究部門」「バイオデータ科学研究部門」の3部門（2022年4月改組）に加えて、連携研究部門、難病基盤・応用研究プロジェクト室、大学院教育研究支援実験施設、新型コロナウイルス研究プロジェクト推進室、若手研究者育成推進室、事務部などからなる全国的に見ても大規模の研究所です。

2009（平成21）年には文部科学大臣に全国共同利用・共同研究拠点「難治疾患共同研究拠点」に認定され、2022（令和4）年度からは第三期目の拠点活動を行っています。また、九州大学生体防御医学研究所、熊本大学発生医学研究所、徳島大学先端酵素学研究所とネットワークを組み、「高深度トランスオミクス医学研究拠点」の活動を行っています。これらの拠点活動は全国の研究者コミュニティのためだけでなく、指定国立大学法人（2022年度）の指定を受けた医療系総合大学である東京医科歯科大学の機能強化という目的もあります。そのため、各支援実験施設は学内外の多くの研究者のニーズに応える活動をしています。

独創的な発想と最先端の機器から生み出される研究成果は、大学広報を通じて、国内外の研究者のみならず社会に発信されています。我が国の生命科学の発展の一翼を担っています。

難治疾患研究所長 仁科博史

## Contents

1. 所在地	3
2. 組織	4
3. 職員及び学生数	5
4. 難治疾患共同研究拠点	6～8
5. 高深度オミクス医学研究拠点整備事業	10～11
6. シンポジウムおよび市民公開講座	12～13
7. プレスリリース	14
8. 受賞および特許	15
9. 学位取得者	16
10. 難研セミナー	17

## 難治疾患研究所

### 未来生命科学研究部門

1. 医化学分野 20～21
2. 病態生理化学分野 22～23
3. 発生再生生物学分野 24～25
4. 分子細胞生物学分野 26～27
5. 幹細胞制御分野 28～29

### 病態制御科学研究部門

1. 機能分子病態学分野 32～33
2. 生体防御学分野 34～35
3. 神経病理学分野 36～37
4. 分子神経科学分野 38～39
5. 病態細胞生物学分野 40～41

### バイオデータ科学研究部門

1. 分子構造情報学分野 44～45
2. ゲノム機能情報分野 46～47
3. ゲノム機能多様性分野 48～49

- ・ジョイントリサーチ部門 未病制御学研究部門 52～53
- ・難病基盤・応用研究 プロジェクト室 54～55
- ・大学院教育研究支援実験室 56～59

職員学生名簿..... 60～62

案内図..... 63

## 湯島地区

〒113-8510  
東京都文京区湯島1-5-45  
電話 (03) 5803-4504(代表)

### 難治疾患研究所

分子細胞生物学分野、分子神経科学分野、幹細胞制御分野、分子構造情報学分野、神経病理学分野、発生再生生物学分野、病態細胞生物学分野、生体防御学分野、ゲノム機能情報分野、ゲノム機能多様性分野、病態生理化学分野、医化学分野、機能分子病態学分野、計算システム生物学分野、先端ナノ医工学分野、恒常性医学分野、神経炎症修復学分野、事務部



## 駿河台地区

〒101-0062  
東京都千代田区神田駿河台2-3-10

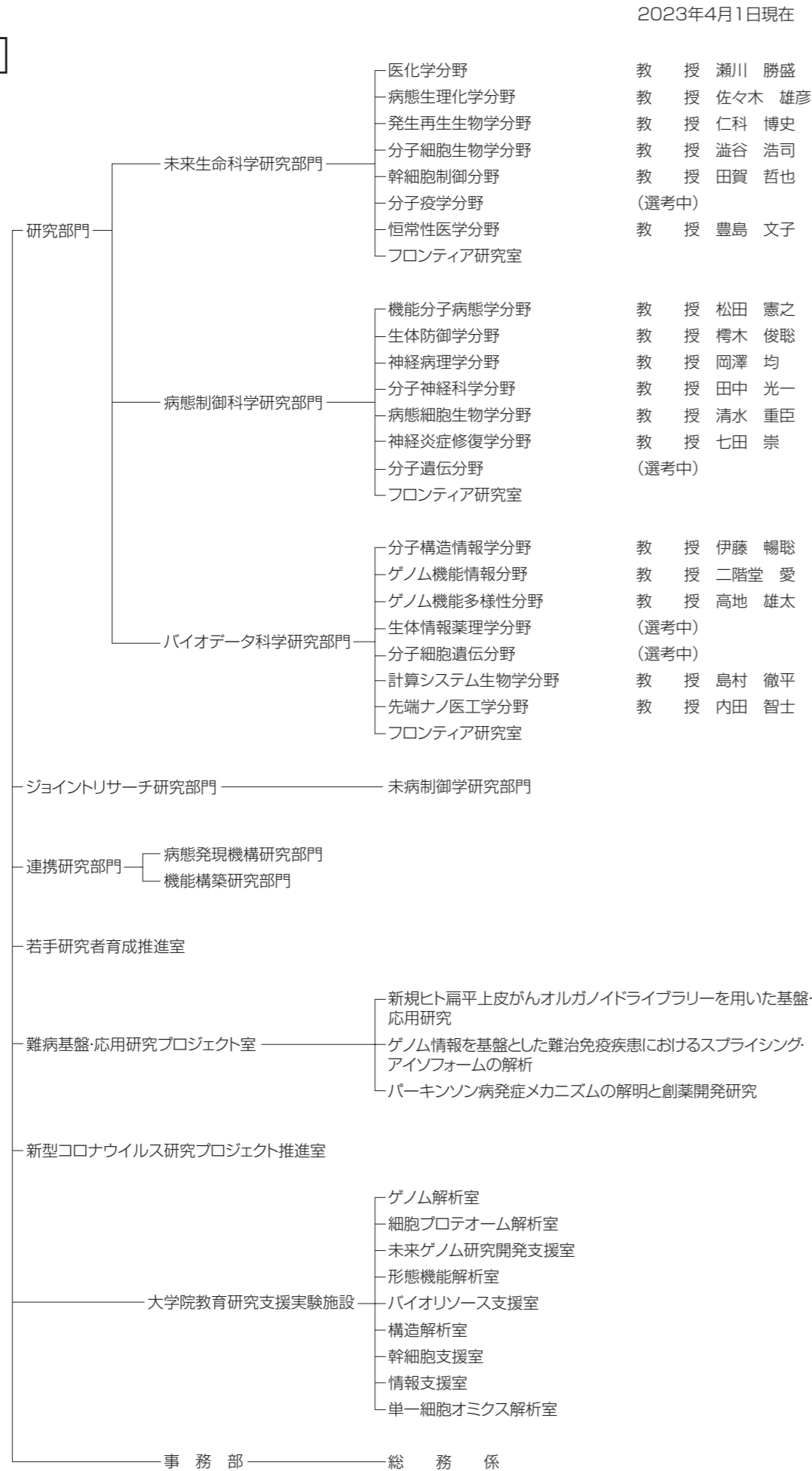
### 難治疾患研究所

ジョイントリサーチ未病制御学研究部門、未来ゲノム研究開発支援室



難治疾患研究所

所長 副所長  
 (併)教授 (併)教授  
 仁科 博史 高地 雄太  
 教授会



# 職員及び学生数

●学生数

2023年3月1日現在

	研究部門名	分野名等	大学院生			大学院 研究生
			修士	博士 医歯学	博士生命	
難治疾患研究所	未来生命科学部門	医化学分野	0	0	0	1
		病態生理化学分野	6	2	0	1
		発生再生生物学分野	4	0	5	0
		分子細胞生物学分野	0	0	0	0
		幹細胞制御分野	2	3	0	0
		分子疫学分野	0	1	0	0
		恒常性医学分野 【2023.4.1～】	0	0	0	0
	病態制御科学部門	機能分子病態学分野	0	0	1	0
		生体防御学分野	2	2	0	0
		神経病理学分野	0	5	0	1
		分子神経科学分野	0	0	0	0
		病態細胞生物学分野	0	2	0	0
		神経炎症修復学分野 【2023.4.1～】	0	0	0	0
		分子遺伝分野	0	3	0	0
	バイオデータ科学部門	分子構造情報学分野	4	0	3	0
		ゲノム機能情報分野	1	0	1	0
		ゲノム機能多様性分野	2	2	0	2
		生体情報薬理学分野	0	0	0	0
		分子細胞遺伝分野	0	0	0	0
		計算システム生物学分野	0	0	0	0
	先端ナノ医工学分野	0	0	0	0	
	計	21	21	20	10	

●職員数

区分	教 員							その他職員					合計	
	教授	准教授	講師	助教	特任准教授 講師	特任 助教	計	技術系職員		事務系職員		計		
								常勤	非常勤	常勤	非常勤			
現 員	16	8	3	13	8	6	53	0	6	29	6	11	52	105

●日本学術振興会特別研究員数

区分	PD	DC1	DC2	SPD	RPD
現 員	4	4	8	0	6

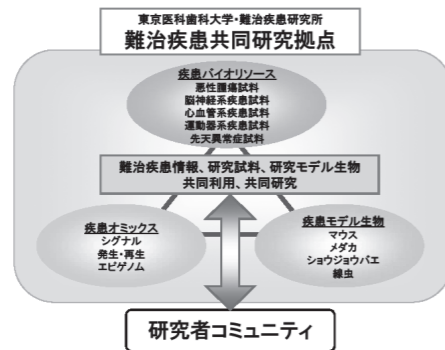


# 難治疾患共同研究拠点

東京医科歯科大学難治疾患研究所は、2009年6月25日に、文部科学大臣により、全国共同利用・共同研究拠点「難治疾患共同研究拠点」に認定され、2010年4月1日より難治疾患に関する研究を行っておられる研究者コミュニティの方々と共に本拠点のミッションにより、共同利用・共同研究を推進しております。

## 拠点のミッション

- ・難治疾患の病因・病態形成機構解明と診断・予防・治療法開発の基盤形成に資する共同利用・共同研究拠点構築を目的とする。
- ・「疾患バイオリソース」、「疾患モデル動物」、「疾患オミックス」の3つの難治疾患研究リソースを活用した公募型の戦略的難治疾患克服共同プロジェクトを推進する。
- ・国内外の研究者に、上記のリソース群へのアクセスや現有する先端解析支援施設の利用機会の提供を行ない、本邦の難治疾患研究の広範な発展に貢献する。
- ・難治疾患研究に携わる若手研究者の育成・支援システムを整備する。
- ・シンポジウム等の開催により、難治疾患研究の啓発と最先端情報の発信に努める。



## 2022 年度採択課題

### 1) 戦略的課題 2 件

申請者	職名	所属機関	研究題目
長井 淳	チームリーダー	理研・脳神経科学研究センター	神経-グリア活動の全脳プロービングを目指した遺伝子改変マウスの開発
中村 由和	准教授	東京理科大学 理工学部	形質膜リン脂質による上皮性の決定とその制御

### 2) 重点的課題 5 件

申請者	職名	所属機関	研究題目
藤本 豊士	特任教授	順天堂大学	ホスホイノシチド集中膜ドメインの解析
石濱 泰	教授	京都大学 大学院薬学研究科	末端プロテオームと sQTL の統合による免疫疾患の病因解明
森 良之	教授	自治医科大学 医学部歯科口腔外科学	新規ヒト舌がんオルガノイドライブラリーを用いた抗がん剤抵抗性獲得機構の解明と治療基盤の確立
加藤 忠史	主任教授	順天堂大学 大学院医学研究科	精神疾患の1細胞オミクス解析
岩坪 威	教授	東京大学 医学系研究科 神経病理学	高カロリーが及ぼすリン酸化シグナル変化のアルツハイマー病における病態意義の解明

### 3) 一般的課題 32 件

申請者	職名	所属機関	研究題目
田村 康	教授	山形大学 理学部	電子顕微鏡を用いたミトコンドリアクリステとオルガネラ間コンタクトサイトの解析
鈴木 聡	教授	神戸大学 大学院医学研究科	トリプルネガティブ乳癌における Hippo-TAZ 経路の役割と治療戦略
寺井 崇二	教授	新潟大学 大学院歯学総合研究科	細胞死誘導法による新規肝がん治療法開発のための基盤研究
仁科 幸子	診療部長	国立成育医療研究センター 眼科	視家系に見出された遺伝子変異の解析
吉田 秀郎	教授	兵庫県立大学 大学院理学研究科	ゴルジ体ストレス応答と新規オートファジー機構 GOMED の接点から迫る抗がん剤開発のための基礎研究
信久 幾夫	教授	中村学園大学 栄養科学部	転写因子 sox17 による造血幹細胞の造血能維持に関する GTPase 関連分子 Gimap6 の寄与機構
前川 素子	准教授	東北大学 大学院医学系研究科	ミクログリア前駆細胞特異的 FABP4 機能低下が自閉症病態形成に与える影響の解析
織田 昌幸	教授	京都府立大学 大学院生命環境科学研究科	CD28 細胞内領域とシグナル伝達タンパク質の結合を制御する化合物の結晶構造解析と構造ベース創薬
伊東 進	教授	昭和薬科大学	Apc 遺伝子変異に伴う消化管腫瘍を抑制する TMEPAI 遺伝子の機能解析
西田 満	教授	福島県立医科大学 医学部生化学講座	浸潤突起の伸長・成熟の分子機構解明
廣明 秀一	教授	名古屋大学 大学院創薬科学研究科	膜タンパク質局材と会合を制御する PDZ ドメインの分子認識と相互作用に関する構造科学的基礎
並木 剛	准教授	東京医科歯科大学 大学院歯学総合研究科皮膚科学分野	ヒト皮膚自己免疫病の発症起点となるマクロファージ集団同定
宮井 尊史	講師	東京大学 医学部附属病院	ロングリードシーケンシング技術を用いた眼科感染症のメタゲノム解析
猪狩 勝則	特任教授	東京女子医科大学 整形学科	単一細胞解析と GWAS による MTX-LPD の危険因子の同定
柚崎 通介	教授	慶應義塾大学 医学部生理学	Cbln1 ファミリー分子の後根神経節及び脊髄における局在及び機能解析
村川 泰裕	チームリーダー	理化学研究所	ミクログリアエンハンサーを起点とした脳機能低下・変容機構の解明
小内 伸幸	教授	金沢医科大学 医学部免疫学講座	革新的細胞系譜追跡システムを用いた自然造血における貪食細胞分化起源の解明と急性骨髄性白血病の新規治療法の創出
備前 典久	助教	新潟大学 大学院歯学総合研究科	ニッチ擬態人工ポリマーを用いた神経幹細胞の自己複製能維持機構の解明
田中 信之	教授	日本医科大学 先端医学研究所	がん幹細胞発生機構の解析とそれを標的とした治療法の開発
宮道 和成	チームリーダー	理化学研究所 生命機能科学研究センター	ニューロンの個性と接続パターンの1細胞解析
栗崎 晃	教授	奈良先端科学技術大学院大学	マウス胃成体幹細胞および分化細胞の同定と幹細胞分化メカニズムの解析
秀 拓一郎	准教授	北里大学 医学部脳神経外科	バイオ機能性ポリマーを用いた膠芽腫がん幹細胞ニッチ標的治療法の開発
岡部 泰賢	特任准教授	大阪大学 免疫学フロンティア研究センター 恒常性免疫学分野	死細胞の貪食がさまざまな組織マクロファージの転写プログラムに及ぼす影響の解析
山崎 晶	教授	大阪大学 微生物学研究所分子免疫制御分野	C型レクチン受容体 Mincle の自己由来リガンドの探索
和泉 自泰	准教授	九州大学 生体防御医学研究所	リン脂質の非対称分布が膜タンパク質のプロテオスタシスに与える影響の解明
曾根 雅紀	准教授	東邦大学 理学部	神経変性疾患モデルショウジョウバエの統合的解析
岩田 淳	神経内科部長	東京都健康長寿医療センター病院	認知症の新規サロゲートマーカーの開発
笹野 哲郎	教授	東京医科歯科大学 大学院歯学総合研究科	細胞外小胞を介した、心房細胞が合併症を生じる機構の解明
足立 礼孝	助教	東京医科歯科大学 大学院歯学総合研究科 分子発生学	顎顔面異常症の理解のための基盤研究
小柴 和子	教授	東洋大学生命科学部 応用生物科学科	先天性疾患重症化を惹起する因子の機能解析
藤井 晋也	准教授	東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 薬化学	核内受容体と新規リガンド分子の相互作用における分子基盤の解析
西頭 英起	教授	宮崎大学 医学部機能生化学	脂肪萎縮症における小胞体-ミトコンドリア連携ゾーンの役割



4) 国際共同研究 6件

申請者	職名	所属機関	研究題目
Penninger, Josef, M	Director & Professor	Life Science Institute, University of British Columbia	MKK7-deficiency in mature neurons impairs liver regeneration in mice
Mark Bradley	Professor	School of Chemistry, The University of Edinburgh	Niche mimicking hydrogel-based exploration of therapeutic targets for tackling cancer stem cells (CSCs)
Raychaudhuri, Soumya	Professor	The Brigham and Women's Hospital and Harvard Medical School	Trans-ancestry genetic study of rheumatoid arthritis and its application to precision medicine.
Steven Finkbeiner	Director, Professor	Center for Systems and Therapeutics & Taube/Koret Center for Neurodegenerative Disease, Gladstone Institutes	AI-based morphological analysis and prediction of neuronal cell death and organelle change
SUDOL, Marius	Adjunct Associate Professor	Icahn School of Medicine at Mount Sinai	Mouse model of the Golabi-Ito-Hall (GIH) syndrome of intellectual disability phenocopies severe autism
Weisman, Lois, S	Professor	Life Sciences Institute and Department of Cell and Developmental Biology	Phosphoinositide-dependent regulation of mTORC1 localization and activity

5) 研究集会 1件

申請者	職名	所属機関	研究題目
三浦 正幸	教授	東京大学 大学院薬学系研究科	第3回 細胞死コロキウム

6) 新型コロナウイルス 特別研究枠採択課題 3件

申請者	職名	所属機関	研究題目
久場 敬司	教授	秋田大学 大学院医学系研究科	ACE2 酵素活性による COVID-19 肺炎重症化抑制
鐺田 武志	客員教授	日本大学 歯学部	抗体産生型ヘブチドワクチンの開発と変異株対応 COVID-19 ワクチンへの応用
森田 英嗣	准教授	弘前大学 農学生命科学部 分子生命科学科	SARS-CoV-2 粒子分泌におけるゴルジ体選別輸送ゾーンの関与

# 高深度オミクス医学研究拠点整備事業

東京医科歯科大学難治疾患研究所は、2022年度から高深度オミクス医学研究拠点整備事業を九州大学生体防御医学研究所、熊本大学発生医学研究所及び徳島大学先端酵素学研究所との連携により開始した。この事業では、生命現象や疾患発症のメカニズムを単一細胞・単一分子レベルの高解像度・高分解能で計測し、それらのピックデータを統合する高深度オミクス研究を実施する。

## 【事業の背景】

東京医科歯科大学難治疾患研究所は、2009年6月25日に、文部科学大臣により、全国共同利用・共同研究拠点「難治疾患共同研究拠点」に認定され、2010年4月1日より難治疾患に関する研究を行っておられる研究者コミュニティの方々と共に本拠点のミッションにより、共同利用・共同研究を推進した。2022年より第三期の全国共同利用・共同研究拠点「難治疾患共同研究拠点」に認定され、共同利用・共同研究を引き続き推進する。

## 【事業の目的】

この事業では、生命現象や疾患発症のメカニズムを単一細胞・単一分子レベルの高解像度・高分解能で計測し、それらのピックデータを統合する高深度オミクス研究を実施する。ヒトのからだはたくさんの細胞種類から構成されており、その細胞組成や特性が正しく調整されていることは健常な発生や健康の維持にとって重要である。複雑な臓器や組織に含まれる細胞種類を同定したり、その特性を計測するには、細胞内でどのような遺伝子がど

のぐらい働いているかを調べる必要がある。どの遺伝子がどのぐらい働いているかを調べるには細胞内に存在するRNAを網羅的に解析する必要がある。このような技術はトランスクリプトーム解析と呼ばれる。しかし、これまでのトランスクリプトーム解析では、臓器・組織レベルでの計測が行われており、臓器・組織を構成する細胞組成や特性の変化を捉えることができなかった。

臓器・組織が含まれているすべての細胞種類と細胞内で働いている全遺伝子の働きを正確に捉えるには、単一細胞でのトランスクリプトームをハイスループットに計測できる技術が必要になる。難治疾患研究所が理化学研究所などの共同研究グループと開発した世界最高性能の単一細胞トランスクリプトーム技術 Quartz-Seq2は、臓器や組織を構成する単一細胞を数千から数万個に渡ってトランスクリプトームを高精度に計測できる技術である。この技術により、ガンや精神疾患などの難治疾患の原因解明を飛躍的に発展させることが期待され、再生医療・生殖医療に必須である組織内の細胞組成や特性の情報を提供することが可能となる。

本研究所は高深度オミクス医学研究拠点ネットワークを通じて、科学者コミュニティへの Quartz-Seq2 を始めとする単一細胞オミクス技術の普及を図りつつ、難治疾患研究所が強みとするゲノム多型機能解析、リピドミクス、クライオ電子顕微鏡などのデータを統合し、日本のゲノム医学研究を大きく推進することを目指す。

## 【2022年度の活動】

・単一オミクス解析室の設置

本事業の推進の中核として、単一細胞オミクス解析室を設置した。単一細胞オミクス解析室はゲノム機能情報分野と統合研究機構研究基盤クラスターと協力して運営されている。本年度は実験室のセットアップ、機器導入、研究支援者の雇用を進めた。教員2名からなる運営会議を発足させ4回の運営会議を実施した。また学内4件、

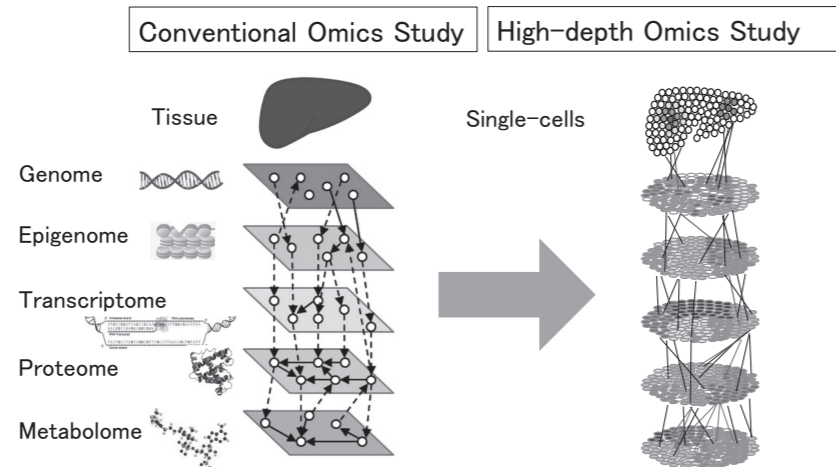
学外2件（うち1は企業）の共同研究を実施し、2万検体のシーケンスを実施、2報の論文が出版された。

・シンポジウム等の開催

第1回 高深度オミクス医学研究拠点整備事業シンポジウム

日時：2022年11月16-17

実施方法：オンライン





# シンポジウムおよび市民公開講座

## 第20回駿河台国際シンポジウム

2022年度難治疾患共同研究拠点シンポジウム  
(2022年11月28日開催)

20th Surugadai International Symposium  
Recent Advances in Computational and Experimental Structural Biology  
Mon 28 Nov 2022 13:00▶17:00 via Zoom

**Session 1**  
13:05 ▶ 14:55  
**Computational Structural Biology**  
Chair: Dr. Yuta Koichi  
Division Chief, Medical Research Institute, TMDU  
Opening Remarks: Dr. Hiroshi Nishino  
Director, Medical Research Institute, TMDU

**Dr. Hafumi Nishi** (Tohoku University)  
**Dr. Mitsunori Ikeguchi** (Yokohama City University)  
**Dr. Daron Standley** (Osaka University)  
**Dr. Nobutoshi Ito** (Medical Research Institute, TMDU)

**Session 2**  
15:15 ▶ 16:55  
**Cryo-electron Microscopy**  
Chair: Dr. Hoashi Nishio  
Medical Research Institute, TMDU  
Closing Remarks: Dr. Yuta Koichi  
Division Chief, Medical Research Institute, TMDU

**Dr. Yoshinori Fujiyoshi** (Cellular and Structural Physiology Laboratory, TMDU)  
**Dr. Kayo Nozawa** (Tokyo Institute of Technology)  
**Dr. Vinothkumar Kutti Ragunath** (National Centre for Biological Sciences, India)

難治疾患共同研究拠点シンポジウム  
2022年11月28日(月)  
10:30▶12:00 オンライン開催  
長井 淳 (理化学研究所)  
佐瀬 美和子 (自治医科大学)  
中村 由和 (東京理科大学)  
加藤 忠史 (順天堂大学)

Register to join by QR code  
For more information visit <https://www.tmd.ac.jp/mri>

## 第17回生命医科学研究所ネットワーク国際シンポジウム (2022年10月13~14日開催)

KANAZAWA UNIVERSITY  
The 17th International Symposium of the Institute Network for Biomedical Sciences  
International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa 2022  
2022 CRI & DUKE-NUS Joint Symposium

# Fundamental Biological Principles and Cancer

Cancer Research Institute of Kanazawa University

October 13-14, 2022  
Kanazawa University, Japan

Thursday, Oct. 13, 2022  
12:30-13:00 Registration  
13:00-13:05 Opening Remarks  
13:05-14:45 Session 1  
14:45-17:20 International Symposium  
17:20-18:09 Session 2

Friday, Oct. 14, 2022  
9:00-10:40 Session 3  
10:40-11:41 Session 4  
11:41-13:00 Lunch  
13:00-14:00 Poster Session & Coffee Break  
14:00-15:25 Session 5  
15:25-16:15 Session 6  
16:15-16:30 Award Ceremony & Closing Remarks

Organized by  
Cancer Research Institute of Kanazawa University,  
Kanazawa Association of Tumor Biologists

Cosponsored by  
WPI Nano Life Science Institute (Nano-LSI),  
Institute for Frontier Science Initiative (IFSI),  
Hokushin Cancer Educational Program for  
Advanced Professional Oncologists

Kakuma-machi, Kanazawa, Japan  
Cancer Research Institute, Kanazawa University  
Tel.: 076-264-6302 Fax: 076-234-8227 E-mail: kyo@cri.kanazawa-u.ac.jp  
URL: <http://cancer-ri.kanazawa-u.ac.jp/>

Registration site  
Pre-registration Required!  
<https://gakai-gran.jp/seminar/17icobts.html>

## 難治疾患研究所市民公開講座

最先端生命科学講座シリーズ第31回  
(2022年6月24日開催)

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 市民公開講座  
— 最先端生命科学講座シリーズ 第31回 —

東京医科歯科大学難治疾患研究所は、「難治疾患に挑む。」をミッションに掲げる研究所であり、がん、心・血管病、神経疾患、骨・関節疾患、感染症、免疫病、生活習慣病など、幅広い領域にわたって研究しています。2009年から、文部科学大臣により難治疾患の全国共同研究拠点到定されています。本市民公開講座では、最先端の研究内容を一般の方々へわかりやすくご紹介します。  
※本公開講座は医療講演ではありません。

**日時** 2022年6月24日(金) 午後7時~9時  
**開催方法** オンライン (Zoom)  
**共催** 東京医科歯科大学・文京区・公益財団法人文京アカデミー

**講演1 認知症と脳の炎症**  
講師 岡澤 均 (難治疾患研究所 教授)  
認知症には脳の炎症が関与することが、最近注目されています。炎症には、様々な細胞や種々の物質が関与しており複雑ですが、わたしたちが明らかにしたミクログリア細胞のダウンパイク (認知症の原因タンパク質といわれている) に対する反応を中心に、この話題を解説したいと思います。

**講演2 細胞の死を支える私たちの体の健康**  
講師 瀬川 勝盛 (難治疾患研究所 教授)  
わたしたちの“生”は“死”によって支えられています。一見不思議に聞こえるこのフレーズ、本当です。今、この瞬間もたくさんの細胞が私たちの体のなかで生まれ、そして死を遂げています。細胞の死の視点から生命や病気を理解する研究についてお話したいと思います。

6/20(月)23:59まで：定員50名・参加費無料・15歳以上対象(中学生を除く)  
公益財団法人文京アカデミーHP (<https://www.b-academy.jp/manabi/lecture/science.html>) からお申し込みください。  
〒112-0003 文京区春日1-16-21 アカデミー文京 学習館連絡 TEL: 03-5803-1119 (9:00~17:00)

学際生命科学東京コンソーシアムは、東京医科歯科大学、お茶の水女子大学、学習院大学、北里大学と連携し、地域のみならず産官学連携によるイノベーションの推進に貢献します。

## 難治疾患研究所市民公開講座

最先端生命科学講座シリーズ第33回  
(2023年2月24日開催)

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 市民公開講座  
— 最先端生命科学講座シリーズ 第33回 —

東京医科歯科大学難治疾患研究所は、「難治疾患に挑む。」をミッションに掲げる研究所であり、がん、心・血管病、神経疾患、骨・関節疾患、感染症、免疫病、生活習慣病など、幅広い領域にわたって研究しています。2009年から、文部科学大臣により難治疾患の全国共同研究拠点到定されています。本市民公開講座では、最先端の研究内容を一般の方々へわかりやすくご紹介します。  
※本公開講座は医療講演ではありません。

**日時** 2023年2月24日(金) 午後7時~9時  
**開催方法** オンライン (Zoom)  
**共催** 東京医科歯科大学・文京区・公益財団法人文京アカデミー

**講演1 ゲノム編集技術が健康・医療に及ぼす影響**  
講師 田中 光一 (難治疾患研究所 教授)  
遺伝子は、生物の特徴を規定する大きな要因の一つです。遺伝子の役割を理解するためには、ゲノム配列を自由に改変し、その影響を解析することが必要です。ゲノム編集は、全ての生物、細胞の、全てのゲノム配列を自在に改変する技術です。この技術が我々の健康・医療にどのような影響を及ぼすか解説します。

**講演2 細胞内でエネルギーを産生する仕組みと神経変性疾患の関連について**  
講師 松田 憲之 (難治疾患研究所 教授)  
ミトコンドリアは、細胞が活動するための化学エネルギー(ATP)を合成しています。ミトコンドリアは全ての細胞で大切ですが、特に最近では神経細胞における重要性が注目されています。ミトコンドリアがATPを産生する仕組みや、その機能の破綻が神経系の疾患を引き起こす可能性について紹介します。

2/20(月)23:59まで：定員50名・参加費無料・15歳以上対象(中学生を除く)  
公益財団法人文京アカデミーHP (<https://www.b-academy.jp/manabi/lecture/science.html>) からお申し込みください。  
〒112-0003 文京区春日1-16-21 アカデミー文京 学習館連絡 TEL: 03-5803-1119 (9:00~17:00)

学際生命科学東京コンソーシアムは、東京医科歯科大学、お茶の水女子大学、学習院大学、北里大学と連携し、地域のみならず産官学連携によるイノベーションの推進に貢献します。

## 難治疾患研究所市民公開講座

最先端生命科学講座シリーズ第32回  
(2022年10月21日開催)

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 市民公開講座  
— 最先端生命科学講座シリーズ 第32回 —

東京医科歯科大学難治疾患研究所は、「難治疾患に挑む。」をミッションに掲げる研究所であり、がん、心・血管病、神経疾患、骨・関節疾患、感染症、免疫病、生活習慣病など、幅広い領域にわたって研究しています。2009年から、文部科学大臣により難治疾患の全国共同研究拠点到定されています。本市民公開講座では、最先端の研究内容を一般の方々へわかりやすくご紹介します。  
※本公開講座は医療講演ではありません。

**日時** 2022年10月21日(金) 午後7時~9時  
**開催方法** オンライン (Zoom)  
**共催** 東京医科歯科大学・文京区・公益財団法人文京アカデミー

**講演1 からだを守る免疫細胞の起源**  
講師 榎本 俊聡 (難治疾患研究所 教授)  
免疫細胞はみなさんのからだを病原体から守ってくれています。一方、免疫細胞の暴走はさまざまな病気の原因にもなります。免疫細胞はどこでどこどのように働くのか、主にマクロファージや樹状細胞を中心とした私たちの研究をお話します。

**講演2 病気を未然に予防・治療するには?**  
講師 安達 貴弘 (難治疾患研究所 ジョイントリサーチ部門 准教授)  
子供のアトピー、発達障害、生活習慣病、さらには認知症など、社会的問題となっていますが、実はこれらの病気は相互に関連があります。その原因となる小さな異常(超早期発症)を見つけて出し、それを標的にすれば食品やサプリメントでも、様々な病気の発症や重症化のリスクを未然に下げることが出来ます(医長同席)。免疫細胞の機能を異常を標的にした新しい予防・治療についての研究をご紹介します。

10/17(月)23:59まで：定員50名・参加費無料・15歳以上対象(中学生を除く)  
公益財団法人文京アカデミーHP (<https://www.b-academy.jp/manabi/lecture/science.html>) からお申し込みください。  
〒112-0003 文京区春日1-16-21 アカデミー文京 学習館連絡 TEL: 03-5803-1119 (9:00~17:00)

学際生命科学東京コンソーシアムは、東京医科歯科大学、お茶の水女子大学、学習院大学、北里大学と連携し、地域のみならず産官学連携によるイノベーションの推進に貢献します。



# プレスリリース (難治疾患研究所の主な成果)

主な研究者*	研究テーマ	論文名	掲載誌
山口健介 特任助教 (ゲノム機能多様性分野) 高地雄太 教授 (同上)	「タンパク質構造を変化させる遺伝子多型を同定する手法を開発」 → 選択的スプライシングの複雑性を読み解くことで疾患の病態解明に挑む	Splicing QTL analysis focusing on coding sequences reveals the causal mechanisms for disease susceptibility loci DOI: <a href="https://doi.org/10.1038/s41467-022-32358-1">https://doi.org/10.1038/s41467-022-32358-1</a>	Nature Communications
清水幹容 助教 (分子細胞生物学分野) 蓋谷浩司 教授 (同上)	「遺伝性の神経障害を引き起こす WNK1/HSN2 変異体の機能解明」 → 遺伝性感覚自律ニューロパシー II 型の発症機構解明に寄与	WNK1/HSN2 mediates neurite outgrowth and differentiation via a OSR1/GSK3β-LHX8 pathway DOI: <a href="https://doi.org/10.1038/s41598-022-20271-y">https://doi.org/10.1038/s41598-022-20271-y</a>	Scientific Reports
山口健介 連携研究員 (ゲノム機能多様性分野) 高地雄太 教授 (同上)	国際ゲノム解析により関節リウマチの遺伝的背景を解明 → 個人のゲノム情報を活用した発症予測の社会実装に貢献	Multi-ancestry genome-wide association analyses identify novel genetic mechanisms in rheumatoid arthritis DOI: <a href="https://doi.org/10.1038/s41588-022-01213-w">https://doi.org/10.1038/s41588-022-01213-w</a>	Nature Genetics
岡澤 均 教授 (神経病理学分野) Xiaocen Jin 大学院生 (同上) 田中ひかり 講師 (同上)	「核小体の構造形成の仕組みを解明」 → 核小体を形作るための必須分子 "PQB5" を発見!	PQB5/NOL10 maintains and anchors the nucleolus under physiological and osmotic stress conditions DOI: <a href="https://doi.org/10.1038/s41467-022-35602-w">https://doi.org/10.1038/s41467-022-35602-w</a>	Nature Communications
桜井 一 プロジェクト助教 (病態細胞生物学分野) 清水重臣 教授 (同上)	「オートファジー成熟過程を可視化する新規手法の開発」 → 2種類のオートファジー経路を同時に可視化する手法の研究	FLIP-based autophagy-detecting technique reveals closed autophagic compartments DOI: <a href="https://doi.org/10.1038/s41598-022-26430-5">https://doi.org/10.1038/s41598-022-26430-5</a>	Scientific Reports
樽木俊聡 教授 (生体防御学分野) 金山剛士 助教 (同上)	「感染時に出現する調節性 B 細胞が自然免疫細胞の供給を高めることを発見」 → まったく新しい獲得免疫と自然免疫相互作用の存在	Myeloid-like B cells boost emergency myelopoiesis through IL-10 production during systemic infection DOI: <a href="https://doi.org/10.1084/jem.20221221">https://doi.org/10.1084/jem.20221221</a>	Journal of Experimental Medicine
田賀哲也 教授 (幹細胞制御分野) 柏木太一 非常勤講師 (同上)	「胎生期の神経幹細胞が低酸素環境に適応して自己複製する仕組みを解明」 → 神経幹細胞が自己維持のための因子を分泌する生存戦略が明らかに	Organization of self-advantageous niche by neural stem/progenitor cells during development via autocrine VEGF-A under hypoxia DOI: <a href="https://doi.org/10.1084/jem.20221221">https://doi.org/10.1084/jem.20221221</a>	Inflammation and Regeneration
佐々木雄彦 教授 (病態生理化学分野)	細胞内の脂肪酸組成を調節することが白血病治療につながる可能性を発見	The fatty acid elongase Elovl6 is crucial for hematopoietic stem cell engraftment and leukemia propagation DOI: <a href="https://doi.org/10.1038/s41375-023-01842-y">https://doi.org/10.1038/s41375-023-01842-y</a>	Leukemia
東 範行 非常勤講師 (発生再生生物学分野) 仁科 博史 教授 (同上)	新たな眼の難治疾患を発見 → mRNA 形成の障害によっておこる多彩な眼の先天形成異常	Integrator complex subunit 15 controls mRNA splicing and is critical for eye development DOI: <a href="https://doi.org/10.1093/hmg/ddad034">https://doi.org/10.1093/hmg/ddad034</a>	Human Molecular Genetics

\* 職名・所属：研究当時

# 受賞および特許

## 各種受賞

### 生体防御学分野

金山剛士

第 17 回日本免疫学会研究奨励賞

「恒常性を制御する自然免疫ダイナミズムの解明」

### 神経病理学分野

Jin Meihua

第 14 回 CBIR/ONSA/ 大学院セミナー共催若手インスパイアシンポジウム

CBIR 若手インスパイアシンポジウム優秀賞(学生部門)

“Tau activates microglia via the PQBP1-cGAS-STING pathway to promote brain Inflammation”

Jin Meihua

TMDU-WISE リトリート 2021 卓越賞

“Tau activates microglia via the PQBP1-cGAS-STING pathway to promote brain Inflammation”

### 発生再生生物学分野

長尾裕志

2022 年度日本生化学会関東支部例会優秀発表賞

### 機能分子病態学分野

松田憲之

2021 年度 第 36 回 塚原伸晃記念賞 (塚原賞)

「パーキンソン病を抑制するマイトファジー」

### 分子構造情報学分野

花園祐矢

第 60 回日本生物物理学会年会若手招待講演賞

### 幹細胞制御分野

榎 康一

第 43 回日本炎症・再生医学会 ポスター発表優秀演題

「がん幹細胞ニッチ擬態性ハイドロゲルを用いた膀胱がん治療標的分子の探索」

### ジョイントリサーチ研究部門

安達貴弘

日本食品免疫学会 2022 年度 (令和 4 年度) 食品免疫学会賞

### 病態生理化学分野

釘井雄基

2022 年度 日本生化学会関東支部例会優秀発表賞

「MTMR3 による膀胱がん細胞増殖抑制メカニズムの解明」

### 2022 年難治疾患研究所優秀論文賞

#### 最優秀論文賞

森岡 真 (病態生理化学分野)

A mass spectrometric method for in-depth profiling of phosphoinositide regioisomers and their disease-associated regulation

Nature Communications

Nature Communications

## 特許

### 病態細胞生物学分野

国際出願

オートファジー活性化用組成物

2022.7.12



# 学位(博士)取得者

## 生体防御学分野

泉湧太

「An antibody-drug-conjugate that selectively targets human monocyte progenitors for anti-cancer therapy」

## 分子神経科学分野

Bi Haining

「Deletion of Bergmann glial glutamate transporters causes progressive motor deficits and astrogliosis without Purkinje cell degeneration」

## 神経病理学分野

近藤和

「HMGB1 signaling phosphorylates Ku70 and impairs DNA damage repair in Alzheimer's disease pathology」

## 発生再生生物学分野

長岡勇也

「Elucidation of the mechanism underlying carcinogenesis without traces of driver gene」

須永沙智

「YAP drives cell competition by activating choline metabolism」

## 幹細胞制御分野

Alapati Aimitijiang

「Glioma cells remotely promote erythropoiesis as a self-expanding strategy of cancer stem cell」

# 難研セミナー

## 2022年度大学院生研究発表会・若手研究者研究発表会

2023年3月9日

山田 楓子 (病態生理化学分野)

リン脂質が制御する老化メカニズムの解明

長尾 裕志 (発生再生生物学分野)

肝再生における成熟神経細胞内 MKK7 の役割解明

小川 千奈見 (発生再生生物学分野)

Involvement of Beclin1 in cell polarity and cell adhesion in hepatocyte.

## 2022年度難治疾患研究所研究助成採択者講演会

2023年3月9日

大西 哲生 (講演: 田中 光一) (分子神経科学分野)

新規遺伝子発現調節系 EGR-LDB2 軸が制御するシナプス動態と精神疾患の発症脆弱性形成メカニズムの関連研究

三橋 里美 (ゲノム機能多様性分野)

ロングリード・シーケンサーを用いた遺伝性脊髄小脳変性症の解明

辻岡 政経 (病態細胞生物学分野)

新規接着斑構成因子 FAP1 の生理機能、がん生着機構を解明し、抗がん剤を開発する

佐藤 卓 (生体防御学分野)

ヒト扁平上皮がんオルガノイドライブラリーを用いた、がん細胞の代謝リプログラミングと抗がん剤耐性がん発生の関連解明

長谷川 純矢 (病態生理化学分野)

新規リゾリン脂質の受容体の同定とその生理機能の解明

金山 剛士 (生体防御学分野)

新規樹状細胞分化経路の発見とその生理学的意義の解明

宮田 佑吾 (医化学分野)

細胞膜ホスファチジルコリンの非対称分布の分子機構

本田 真也 (病態細胞生物学分野)

新規オートファジー検出方法の確立と実行機構の解析

## 2022年難治疾患研究所優秀論文賞受賞者講演会

2023年3月9日

森岡 真 (病態生理化学分野)

A mass spectrometric method for in-depth profiling of phosphoinositide regioisomers and their disease-associated regulation

## 難研セミナー/難治疾患共同研究拠点セミナー

第624回/第199回

内田 智士

(京都府立医科大学 大学院医学研究科 医系化学) mRNA 工学、ナノ DDS に基づく次世代ワクチン、医薬品の創製

2022年6月27日

## 第625回/第200回

Tak Wah Mak

(The Campbell Family Institute for Breast Cancer Research, University of Toronto, CANADA)

Future anti-cancer Therapeutics: Put the Cart Before the Horses

2022年10月6日

## 第3回若手研究者企画難研セミナー/第201回

Yen, Hsueh-Chi Sherry

(Institute of Molecular Biology, Academia Sinica, Taiwan)

Illuminating the construction scheme of protein complexes by cooperative stabilization interactions

2022年11月24日

第626回/第202回

Mark Bradley

(The University of Edinburgh School of Chemistry)

Polymers and novel polymer technologies for biomedical applications

2022年11月24日

第627回/第203回

竹林 浩秀

(新潟大学大学院医歯学総合研究科 脳機能形態学分野)

オリゴデンドロサイトの発生・分化における転写-RNA 代謝制御機構

2023年2月9日

第628回/第204回

Fabien ALPY

(Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC))

Formation, role and regulation of inter-organelle contacts

2023年2月27日



# 未来生命科学研究部門

## *Division of Visionary Life Science*

未来生命科学研究部門は、生命現象の基本的なメカニズムの研究を通じて、新しい医療を切り拓くことを理念とします。この理念に基づいて、疾患 ES 細胞／iPS 細胞、がん幹細胞、オルガノイドや疾患モデル動物、質量分析技術を含む最先端の生物試料や手法を開発・駆使すること で、難治疾患の病因の発見、病態の解明、ならびに、診断法・治療法・予防法の開発基盤を築きます。疾患の学理と応用の研究を展開し、本学の指定国立大学法人化に伴い掲げられた「創生医学研究」の推進に貢献します。未来生命科学研究部門における本年の主な研究成果は以下のとおりです。

### [医化学]

- ホスファチジルセリンの非対称分布が二つの経路で維持されていることを見出した
- フリッパーゼである ATP11A が栄養膜細胞の融合と胎盤形成に重要な役割を担うことを見出した

### [病態生理化学]

- 神経膠芽腫スフェロイドに作用するリン脂質の同定
- 膵臓がんの悪性度に関連するリン脂質代謝酵素とホスホイノシタイド標的タンパク質の同定

### [発生再生生物学]

- 哺乳動物初期胚形成におけるセラミド代謝の重要性を発見した

### [分子細胞生物学分野]

- Maea 分子が初期発生において  $\beta$ -カテニンの分解を介して頭部形成に影響することを明らかにした
- WNK1/HSN2 分子が OSR1/GSK3 $\beta$ -LHX8 経路を介して神経突起伸長と分化に関与することを明らかにした

### [幹細胞制御分野]

- 胎生期の神経幹細胞が低酸素環境に適応し自己複製するためのニッチを構築する機構の解明
- 胎生中期マウス大動脈において造血幹細胞が生じる血液細胞塊の維持への Rasip1 の寄与の発見
- 免疫適合性マウスグリオーマ移植モデルの末梢血中で上昇する CD45<sup>Neg</sup>CD11b<sup>High</sup> 細胞の同定



# 未来生命科学研究部門 医化学分野

教授：瀬川勝盛 助教：宮田佑吾 外国人特別研究員：Sultan Cheryl Sophia  
技術補佐員：栗林梨沙、西本萌恵 秘書：澤田千賀子

## 研究内容

哺乳類細胞の細胞膜は非対称に分布するリン脂質二重層で構成される。すなわち、アミノリン脂質であるホスファチジルセリン (PtdSer) やホスファチジルエタノールアミン (PtdEtn) は細胞質側の内層に局在するのに対し、ホスファチジルコリン (PtdCho) やスフィンゴミエリン (SM) は主に外層に分布する。細胞はダイナミックに細胞膜リン脂質の分布を変化させることで、生体の恒常性を維持する。リン脂質を移層させる分子として、3つのタイプの膜脂質移層分子 (フリッパーゼ、フロッパーゼ、スクランブラーゼ) が存在する。医化学分野では、細胞のさまざまな膜脂質移層分子を同定し、その生理機能とヒトにおける病態学的意義を明らかにする研究を進めている。

## 研究紹介

### 1. これまでの研究

フリッパーゼは、PtdSer や PtdEtn を特異的かつ ATP 依存的に、脂質二重膜の外層から内層へ方向に移層 (フリップ) することで、非対称分布を樹立・維持すると考えられてきた。これまで 10 回膜貫通タンパク質である IV 型 P-type ATPase (P4-ATPase) ファミリー分子に属する ATP8A2 と ATP11A と ATP11C が哺乳動物細胞の細胞膜で機能するフリッパーゼであることを見出してきた。これらのメンバーは、ファミリーに共通するサブユニットである CDC50A と結合することで安定なフリッパーゼ複合体を形成、細胞膜へと移行し PtdSer と PtdEtn を ATP 依存的に外層から内層へ移層する。ATP8A2 は神経や精巣などの臓器に特異的に発現するのに対し、ATP11A と ATP11C は全身性に発現する。ATP11A と ATP11C を二重に欠損した T リンパ球系細胞は、細胞膜のフリッパーゼ活性が消失し、細胞表面に曝露した PtdSer を内層に戻すことができず露出し続ける。このことは、細胞膜フリッパーゼやフリッパーゼ活性が PtdSer の非対称分布の再樹立に必須であることを示している。また、名古屋大学の阿部一啓博士らのグループとの共同研究により ATP11C の構造を決定した。この構造により、1 番目の膜貫通領域のアミノ酸 (Q79) を含むいくつかのアミノ酸と PtdSer の頭部が塩

橋を形成することで、フリッパーゼ分子内に PtdSer が保持されること、その後の ATP の加水分解に伴うフリッパーゼ分子の構造変化により、PtdSer が外層から内層へ移層されることが示唆された。また、昨年は東北大学小児科、呉繁夫教授らとの共同研究により、神経学的退行を示す患者に発見されたフリッパーゼ ATP11A の点変異を見出し、点変異によりフリッパーゼの基質特異性が変化し、変異体が PtdCho をフリップすることを報告した。

### 2. 4つのフリッパーゼによる細胞膜 PtdSer の非対称分布維持機構

P4-ATPase は酵母では 5 種類、ヒトやマウスでは 14-15 種類のファミリーメンバーで構成される。これらのメンバーの中で、PtdSer や PtdEtn を移層するフリッパーゼ活性がリコンビナントタンパク質と細胞を用いたアッセイの両方で検出されているのは ATP8A1、ATP8A2、ATP11A、ATP11B、ATP11C の 5 つである。ATP8A2、ATP11A、ATP11C は細胞膜に、ATP8A1 と ATP11B は主にエンドソームやゴルジ体に局在する。また、ATP8A2 は神経や精巣などの臓器に特異的に発現するのに対し、ATP8A1、ATP11A、ATP11B、ATP11C は全身の臓器にユビキタスに発現する。これらのメンバーは CDC50A と結合することで初めて、細胞膜やエンドソームへと移行し、PtdSer と PtdEtn を細胞質側へ移層することができる。最近、我々は、ATP8A1-ATP11A-ATP11B-ATP11C を四重欠損した T 細胞株では、一過的に露出した PtdSer は 37 度において数時間もの間全く内層へ移層されないことを報告した。この四重欠損細胞に、細胞膜フリッパーゼの ATP11A や ATP11C を発現させると、露出した PtdSer は 37 度においても 15 度においても 5 分以内にすべてが速やかに内層へ戻され、非対称分布が再構築された。対照的に、エンドソーム局在する ATP8A1 や ATP11B を発現させた場合、露出した PtdSer は 15 度では内層に戻らず、37 度において 30-60 分をかけて非対称分布が構築された。この再構築活性は、ダイナミンの阻害剤で抑制されたことから、ATP8A1 と ATP11B はエンドサイトーシスなどの膜輸送を介して細胞膜 PtdSer の非対称

性を再構築することが明らかとなった。多くの細胞では、エンドソームと細胞膜のフリッパーゼを合わせもつことから、細胞膜 PtdSer の非対称分布は二つの独立したシステムで維持されていることが示唆された (ハイライト)。酵母においては、Drs2p が PtdSer を移層するフリッパーゼであり、主にエンドソームやゴルジ体に局在する。哺乳動物において Drs2p のオルソログは ATP8A1 であるが、進化の過程でさらに ATP11A、や ATP11C を獲得してきた。哺乳動物の複雑な高次機能を保障するために、ユビキタスに発現する細胞膜常在タイプのフリッパーゼ、あるいは PS 露出の後に非対称性をすみやかに再構築する活性が必要になってきたと想定される。実際に、細胞膜フリッパーゼの欠損や変異がマウスやヒトに重篤かつ多様な疾患を発症させることから (後述)、すみやかな非対称性の再構築が生理的に極めて重要であることが示されている。あるいは、ATP8A1 や ATP11B は、細胞膜フリッパーゼの喪失 (5 分以内に PS の非対称分布を樹立する機能) を代償できないこと

を示している。

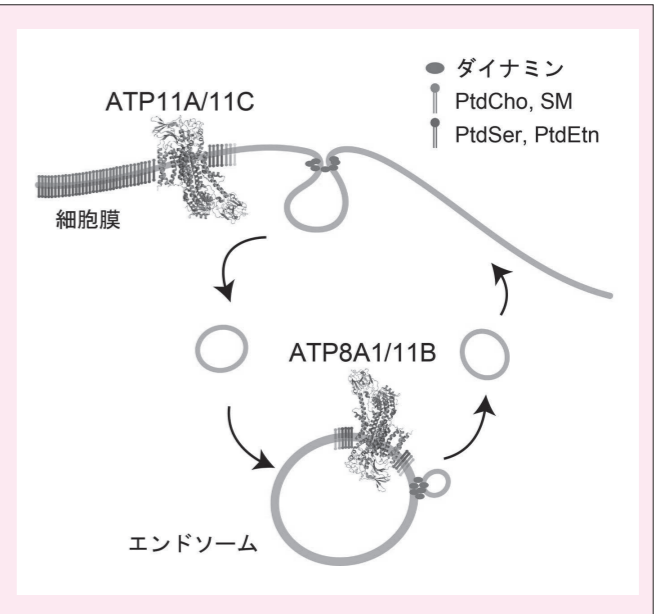
### 3. *Atp11a* 遺伝子欠損による胎盤形成不全

*Atp11a* 遺伝子を欠損した胎仔は心室が菲薄化し、全例が胎生致死となる。しかし、心筋細胞やエピブラストに特異的 *Atp11a* 遺伝子の欠失は、マウスの発生や死亡率に影響を与えなかったことから胎生致死の原因は胎児側でないこと、また *Atp11c* が機能を補完することが示唆された。一方、マウス胎盤では *Atp11a* が特異的に発現しており、*Atp11a* 遺伝子欠損は死細胞の増加を伴う胎盤迷路層の発達不全を引き起こすことが明らかになった。ヒト胎盤由来絨毛癌 BeWo 細胞は、ATP11A および ATP11C 遺伝子を発現していた。ATP11A と ATP11C の欠損により、BeWo 細胞は PtdSer をフリップする能力を失い、フォルスコリン誘導性の細胞融合に障害が認められた。これらの結果は、胎盤の発生において、細胞膜フリッパーゼが合胞体栄養細胞の融合と組織化に重要な役割を果たすことを示した。

## ハイライト

### 4つのフリッパーゼによる細胞膜 PtdSer の非対称分布維持機構

ATP8A1、ATP11A、ATP11B、ATP11C は全身の臓器にユビキタスに発現する。細胞膜フリッパーゼである ATP11A や ATP11C は PtdSer を 5 分以内に内層へ移層する。一方、エンドソームに局在する ATP8A1 や ATP11B を発現させると、30-60 分をかけて細胞膜 PtdSer の非対称分布が構築される。このエンドソームフリッパーゼによる非対称分布の再構築はダイナミンに依存した膜輸送を介している。細胞膜フリッパーゼとエンドソームフリッパーゼによる二つの経路により細胞膜 PtdSer の非対称性が維持されている。



## 人事異動

転入: Sultan Cheryl Sophia (外国人特別研究員)、栗林梨沙 (技術補佐員)、西本萌恵 (技術補佐員)、澤田千賀子 (秘書)、Xu Jing (大学院研究生)  
転出: なし

## 業績目録

### 原著論文

1. Miyata Y, Segawa K. Protocol to analyze

lipid asymmetry in the plasma membrane. STAR protocols. 2022.12; 3(4): 101870  
2. Miyata Y, Yamada K, Nagata S, Segawa K. Two types of type IV P-type ATPases independently re-establish the asymmetrical distribution of phosphatidylserine in plasma membranes. Journal of Biological Chemistry. 2022.11; 298(11): 102527  
3. Ochiai Y, Suzuki C, Segawa K, Uchiyama Y, Nagata S. Inefficient development of syncytiotrophoblasts in the *Atp11a*-deficient mouse placenta. Academy of Sciences of the United States of America. 2022.05; 119(18);

e2200582119  
4. Ryoden Y, Segawa K, Nagata S. Requirement of Xk and Vps13a for the P2X7-mediated phospholipid scrambling and cell lysis in mouse T cells. Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America. 2022.02; 119(7): e2119286119. doi: 10.1073/pnas.2119286119.



# 未来生命科学研究部門 病態生理化学分野

教授：佐々木雄彦 准教授：佐々木純子 助教：長谷川純矢  
技術補佐員：山本利義 プロジェクト助教：森岡真  
プロジェクト助教：柳井翔吾 学振特別研究員：徳田恵美

## 研究内容

### 概要

脂質は、膜形成による細胞の区画化、エネルギーの貯蔵、細胞内外のシグナル伝達に利用されている。私たちの研究室では特に、ホスホイノシタイドと呼ばれるリン脂質群 (図1) に着目している。約40種類のホスホイノシタイドキナーゼやホスファターゼの遺伝子改変マウスを作製し、がん、炎症性疾患、神経変性疾患をはじめとする難治疾患の病態研究に利用している。また、ホスホイノシタイドの質量分析技術を新たに開発し、病態モデルマウスやヒト疾患サンプルに適用することで、遺伝子異常や環境因子によって病態が発現する機構をリン脂質分子レベルで理解することに取組んでいる (図2)。これらの方法で、リン脂質による生体調節機構の理解を深め、難治疾患の治療標的の提示や、薬剤感受性予測マーカー、疾患層別化マーカーなどの開発を目指している (図3)。ホスホイノシタイド研究と並行して、新規構造を持つリン脂質の探索に取り組んでいる。見出したいくつかのリン脂質の生理活性、合成・分解酵素、標的タンパク質の同定を進めている。

## 研究紹介

### 1. ホスホイノシタイド包括測定技術の開発

ホスホイノシタイドの新しい測定技術“phosphoinositide regioisomer measurement by chiral column chromatography and mass spectrometry” (PRMC-MS法) を開発した。従来法では、サンプルの放射性同位体標識が必要で、多くの場合は $^{32}\text{P}$ 無機リン酸や $^3\text{H}$ イノシトールでラベルした培養細胞からの抽出リン脂質を解析対象として、試料を陰イオン交換カラムクロマトグラフィーで分離・定量する。一方、新しい方法では、質量分析計を用いる。放射性同位体標識が不要となり、ヒトや実験動物の組織、血液、尿など様々な試料を解析することが可能となった。質量分析計による解析はこれまで試みられてきたが、細胞内のホスホイノシタイドが極めて微量であることや不安定な物性をもつことなどが原因となり困難であった。生体試料からのホスホイノシタイドの濃縮、化学修飾による安定性の向上、異なる原理のカラムクロマトグラフィー、質量分析計の高感度化と

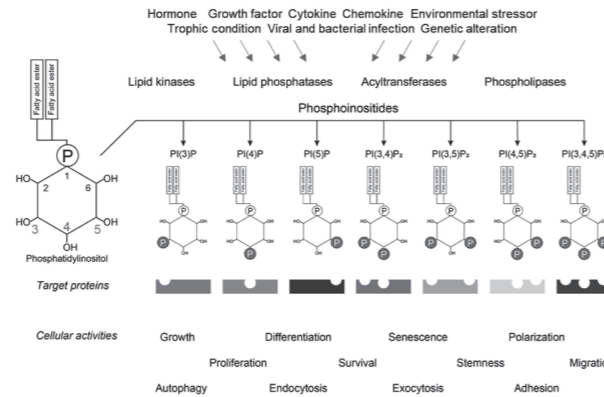


図1 ホスホイノシタイド

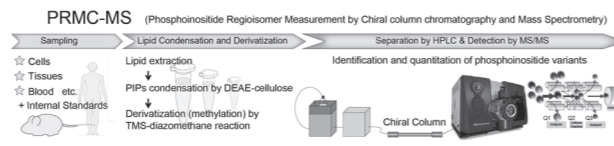


図2 ホスホイノシタイド包括測定技術

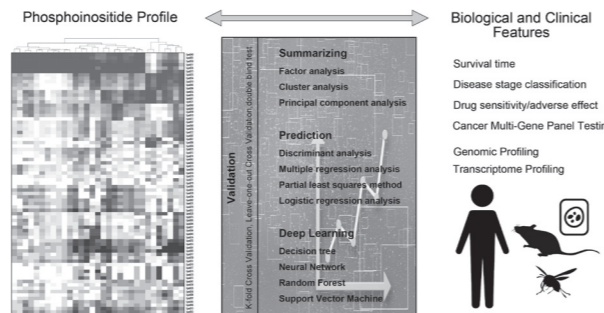


図3 ホスホイノシタイドが担う病態生理機能の解明

いった技術要素を積み重ねることで、リン酸化パターンの違いによって生ずる8クラスのホスホイノシタイドの測定方法が世界で初めて確立された (図3)。また、従来法で必須であった脱アシル化操作が不要となり、脂肪酸部分の構成が異なるバリエーションの一斉解析が可能となった点も大きな進歩である。

ホスホイノシタイド代謝酵素(キナーゼ、ホスファターゼ、ホスホリパーゼ、アシルトランスフェラーゼ等) が種々の難治性疾患の病態形成に関与することが、ヒトやマウスの遺伝学的解析によって提示されている。しかしながら、どのホスホイノシタイドバリエーションが、健康な状態と比べて病的な状態で蓄積あるいは欠乏しているのかは不明なままである。新技術を活用した病態研究が進めば、疾患の原因となったり、疾患を反映したりするホ

スホイノシタイドバリエーションが特定され、難治性疾患の医療の進歩につながる可能性がある。また、そのような研究は、脂質が司る生命現象の本態解明に寄与するものと考えられる。

### 2. 卵巣の性維持におけるホスホイノシタイドの役割

哺乳動物の性は、Y染色体上の精巣決定遺伝子 Sry (Sex-determining region Y) の発現の有無により決定される。すなわち、性的に未分化な胎児性腺の支持細胞において、Sryが発現した場合は雄型のセルトリ細胞に、発現しない場合は雌型の顆粒膜細胞に分化する。その後、生殖細胞を含む種々の細胞の性分化が誘導され、精巣または卵巣が発達する。近年、この発生過程で決定した支持細胞の性は、出生後もそのまま安定し続けるわけではないことが明らかになってきた。出生後の顆粒膜細胞では Foxl2 (Forkhead 型転写因子) やエストロゲン受容体が、セルトリ細胞では Dmrt1 (DM ドメイン転写因子)

### 人事異動

転入：柳井翔吾 (プロジェクト助教)、山田楓子 (博士課程)、精木遙 (修士課程)、毛塚康平 (修士課程)、岡風吹 (研究生：東京理科大学4年)、及川堅己 (研究生：慶應義塾大3年)、樊宇博 (研究生)、森岡真 (職位変更：プロジェクト助教)  
転出：佐藤太地 (修士課程)、高橋恒一郎 (修士課程)

### 研究業績

- Morioka S, Nakanishi H, Yamamoto T, Hasegawa J, Tokuda E, Hikita T, Sakihara T, Kugii Y, Oneyama C, Yamazaki M, Suzuki A, Sasaki J, Sasaki T: A mass spectrometric method for in-depth profiling phosphoinositide

- regioisomers and their disease-associated regulation. *Nature Commun.* **13**, 83, 2022
- Hasegawa J, Tokuda E, Yao Y, Sasaki T, Inoki K, Weisman LS: PP2A-dependent TFEB activation is blocked by PIK<sup>lyve</sup>-induced mTORC1 activity. *Mol Biol Cell* **33**(3):ar26, 2022
- Kanemaru K, Shimozawa M, Kitamata M, Furuishi R, Kayano H, Sukawa Y, Chiba Y, Fukuyama T, Hasegawa J, Nakanishi H, Kishimoto T, Tsujita K, Tanaka K, Itoh T, Sasaki J, Sasaki T, Fukami K, Nakamura Y: Plasma membrane phosphatidylinositol (4,5)-bisphosphate is critical for determination of epithelial characteristics. *Nature Commun.* **13**, 2347, 2022
- Hashimoto D, Hirashima T, Yamamura H, Kataoka T, Fujimoto K, Hyuga T, Yoshiki A, Kimura K, Kuroki S, Tachibana M, Suzuki K,

や Sox9 (HMG ボックス型転写因子) が、互いの発現を抑制しながら出生後の支持細胞の性を維持しており、実際にこれらの転写因子の遺伝子を成体で欠損あるいは過剰発現した場合には、顆粒膜細胞がセルトリ細胞様細胞へ、セルトリ細胞が顆粒膜細胞様細胞へと性転換することが報告されている。我々が作出した組織特異的 PIP<sub>3</sub> 代謝酵素欠損マウスは、雄は妊性であるが、雌は不妊であることに気が付いた。組織化学的解析の結果、精巣は正常であるものの卵巣の異常が認められ、卵巣顆粒膜細胞層にセルトリ細胞様細胞が出現することを見出した。さらにレポーターマウスを用いた解析により、出生直後の卵巣に一過性に出現する卵巣男性化の責任細胞を見出した。これまでに、卵巣の性制御におけるリン脂質代謝の関与については全く知られておらず、本研究で、成体生殖腺支持細胞の維持における新たな機序の解明を目指している。

- Yamamoto N, Morioka S, Sasaki T, Yamada G: Establishment of mouse line showing inducible priapism-like phenotypes. *Reprod Med Biol.* **104**, 875-886, 2022
- Shiraishi Y, Maehama T, Nishio M, Otani J, Hikasa H, Mak TW, Sasaki T, Honma T, Kondoh Y, Osada H, Yoshida M, Fujisawa M, Suzuki A: N-(3,4-dimethoxyphenethyl)-6-methyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-1-amine inhibits bladder cancer progression by suppressing YAP1/TAZ. *Genes Cells.* **27**, 602-612, 2022
- Ayukawa T, Akiyama M, Hozumi Y, Ishimoto K, Sasaki J, Senoo H, Sasaki T, Yamazaki M: Tissue flow regulates planar cell polarity independently of the Frizzled core pathway. *Cell Rep.* **40**, 111388, 2022



# 未来生命科学研究部門 発生再生生物学分野

教授：仁科博史 講師：小藤智史 助教：岡本好海（4月～）  
プロジェクト助教：田中卓（～3月）、金山敬子 特任助教：Jing Pu  
技術補佐員：草場みずき 秘書：小藤香織 派遣職員：許梨香（6月～）

## 研究内容

動物は生存に必要な生命活動のために、個体サイズに応じて一定の大きさを有する諸器官を持っています。しかしながら、器官サイズの決定機構や恒常性維持機構の全貌は未解明です。当研究室では、情報のやり取り（シグナル伝達）の視点から、発生工学・遺伝学・細胞生物学・生化学・分子生物学などの幅広い実験手法を駆使して、「高次の細胞社会である器官がどのような仕組みで形成され、そして機能発現体として維持されるのか？」という課題に取り組んでいます。モデル生物として、哺乳動物マウスおよび小型魚類メダカとゼブラフィッシュ、また、マウスおよびヒトのESとiPS細胞を用いており、それぞれの長所を活かした実験を行っています。難治性疾患に対する治療法の開発や創薬のための基盤研究を行っています。

## 研究紹介

### 1. 初期胚形成に関する研究

哺乳動物の受精卵は、細胞分裂を繰り返し、器官の基となる外・中・内の三胚葉を形成します。外胚葉は胚盤葉上層から形成され、中胚葉と内胚葉は原始線条からダイナミックな細胞移動と細胞分化などを経て形成されます。それ故、原始線条は“細胞分化の入り口”と呼ばれ、個体発生を運命づける極めて重要な組織です。しかしながら、原始線条は妊娠マウス子宮内の微小な組織であり、その解析は困難です。それ故、原始線条の形成の分子機構は不明な点が多く残されています。我々は、マウスES細胞を用いて、原始線条様細胞集団を誘導し、拍動する心筋細胞（中胚葉由来）やアルブミンを産生する肝細胞（内胚葉由来）、軸索を伸ばす神経細胞を分化誘導

する実験系を確立しました。本実験系を用いて、原始線条形成に必要なシグナル分子や代謝産物の同定を行っています。

### 2. 器官形成に関する研究

地球上の生物の個体サイズや形は重力に大きな影響を受けています。しかし、生物が重力に抵抗して個体を形成する仕組みはほとんど未解明です。また、個体内の諸器官は、適切なサイズで整然と配置されることで、機能を発揮します。しかし、これらの分子機構もほとんど不明です。我々は、これら重大な課題を解決するためには、適切なモデル生物を用いることが重要であると考えています。そのため、重力感受性のメダカ変異体の単離や、ノックアウトマウスの作出を行い、これら課題の解決に取り組んできました。その結果、重力感受性メダカ変異体の単離から、Hippo-YAP 経路が3次元の器官形成に必須の役割を果たしていることを見出しました。肝臓形成における Hippo-YAP 経路の役割を解析しています。

### 3. 器官の恒常性維持に関する研究

損傷細胞や老化細胞は、がんなどの疾患の原因となります。それ故、器官の恒常性維持のためにはこれら異常細胞は排除される必要があります。しかしながら、異常細胞排除機構はほとんど未解明です。我々は、マウス肝臓やイヌ腎臓培養細胞を用いて、Hippo-YAP 経路が異常細胞排除に関与することを見出しました。また、MKK7-JNK 経路がマウス脳の恒常的な機能発現に必須の役割を果たしていることを見出しました。肝臓や脳の恒常性維持におけるこれらシグナル伝達経路の役割を解析しています。

## ハイライト

### 肝臓の恒常性維持および病態発症における Hippo-YAP/TAZ の役割

肝臓は、代謝や解毒の中心的な役割を担う必須器官である。様々な傷害に耐えるため、驚くべき再生能力を有する。例えば、肝硬変や肝がんの原因となる老化細胞、形質転換細胞、傷害細胞を排除する能力も有する。また、肝臓は細胞数の制御を介して一定のサイズを保つ（図1）。長らく不明であったこれら現象の分子機構の一端が、Hippo-YAP/TAZ シグナル伝達経路の発見により解明されつつある。本シグナル経路が発見され約20年が経過した。本総説では、肝臓の恒常性維持の視点から、本シグナルの生理的および病理的役割をまとめた。

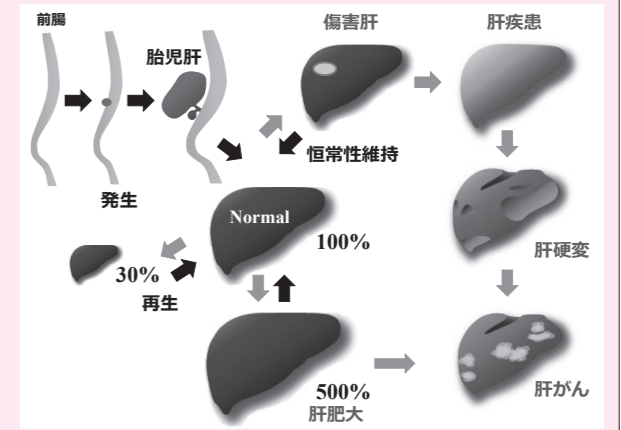


図1 肝臓の発生・再生・病態を示す概念図

## 人事異動

転入：岡本好海（4月～）  
転出：長岡勇也（博士課程修了）、  
須永沙智（博士課程修了）、  
Yiming Qian（修士課程修了）、  
田中卓（3月末退職）

## 業績目録

### 原著論文

1. Hirotoishi Soyama, Miki Nishio, Junji Otani, Toshiko Sakuma, Shintaro Takao, Shigeo Hara, Takaaki Masuda, Koshi Mimori, Shinya Toyokuni, John P Lydon, Kazuwa Nakao, Hiroshi Nishina, Takumi Fukumoto, Tomohiko Maehama and Akira Suzuki (2022) Hippo-TAZ signaling is the master regulator of the onset of triple negative basal-like breast cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 199, e2123134119.
2. Caleb Kwame Sinclair, Junichi Maruyama, Shunta Nagashima, Kyoko Arimoto-Matsuzaki,

- Joshua Agbemefa Kuleape, Hiroaki Iwasa, Hiroshi Nishina, Hata, Yutaka (2022) Protein kinase *Cα* activation switches YAP1 from TEAD-mediated signaling to p73-mediated signaling. *Cancer Science* 10.1111/cas.15285
3. Takeaki Shibata, Hiroki Kawana, Yuri Nishino, Yoshiko Ito, Hiroyasu Sato, Hirofumi Onishi, Kuniyuki Kano, Asuka Inoue, Yoshitaka Taketomi, Makoto Murakami, Satoshi Kofuji, Hiroshi Nishina, Atsuo Miyazawa, Nozomu Konol and Junken Aoki (2022) Abnormal male reproduction and embryonic development induced by downregulation of a phospholipid fatty acid-introducing enzyme Lpgat1 in zebrafish. *Scientific Reports* 12, 7312.
4. Chiyumi Oda, Kenya Kamimura, Osamu Shibata, Shinichi Morita, Yuto Tanaka, Toru Setsu, Hiroyuki Abe, Takeshi Yokoo, Akira Sakamaki, Hiroteru Kamimura, Satoshi Kofuji, Toshifumi Wakai, Hiroshi Nishina, Shuji Terai (2022) HBx and YAP Expression Could Promote Tumor Development and Progression in HBV-related Hepatocellular Carcinoma. *Biochem. Biophys. Rep.* 32, 101352.

5. Sakurako Kobayashi, Nobuhiko Ogasawara, Satoshi Watanabe, Yosuke Yoneyama, Sakura Kirino, Yui Hiraguri, Masami Inoue, Sayaka Nagata, Yoshimi Okamoto-Uchida, Satoshi Kofuji, Hiromichi Shimizu, Go Ito, Tomohiro Mizutani, Shinichi Yamauchi, Yusuke Kinugasa, Yoshihito Kano, Yasuhiro Nemoto, Mamoru Watanabe, Kiichiro Tsuchiya, Hiroshi Nishina, Ryuichi Okamoto, Shiro Yui (2022) Collagen Type I mediated mechanotransduction controls epithelial cell fate conversion during intestinal inflammation. *Inflammation and Regeneration* 42, 49.
6. Hiroshi Nishina (2022) [review] Physiological and pathological roles of the Hippo-YAP/TAZ signaling pathway in liver formation, homeostasis and tumorigenesis. *Cancer Science* DOI: 10.1111/cas.15352

### 著書・総説

1. 仁科博史：動物における臓器サイズ制御機構 再生医療 Vol 21 No 2 p74-79(2022)



# 未来生命科学部門 分子細胞生物学分野

教授：澁谷浩司 准教授：後藤利保 助教：清水幹容

## 研究内容

脊椎動物の形態形成、器官形成は、様々なシグナル分子が時間的空間的に細胞を誘導することにより成立する。また、これらの多くのシグナル分子の破綻が疾患の発症にも結びついている。したがって、発生・分化を制御するシグナル分子によるシグナル伝達ネットワークの解明は形態形成、器官形成機構、さらには、疾患の発症機構を明らかにする上で重要課題となる。本研究分野では発生過程における、形態形成、器官形成を制御する Wnt シグナル伝達及び偽性低アルドステロン症 II 型の原因遺伝子 WNK プロテインキナーゼに着目し、解析を進めている。

## 研究紹介

canonical Wnt シグナル伝達経路は線虫やショウジョウバエから哺乳類に至るまで、種々の生物において広く保存されたシグナル伝達経路である。特に脊椎動物間では Wnt シグナル伝達に関わる遺伝子の相同性や機能は、より高い保存性を示し、ヒトにおける癌の発症や幹細胞の維持、脊椎動物の胚発生において重要な役割を担っている。canonical Wnt シグナル伝達はリガンドである Wnt と膜タンパク質である Frizzled、及び LRP との結合により始まる。Wnt 刺激により DVL は細胞膜で活性化され、 $\beta$ -catenin を分解する APC/Axin/GSK-3 $\beta$  複合体を不活化する。分解されなかった細胞質中の  $\beta$ -catenin は核内へ移行し、転写因子 Tcf などと結合し、Wnt シグナルの下流（標的）遺伝子の転写を活性化する。

アフリカツメガエルの胚発生において、Wnt シグナルは初期胚での背腹パターンの決定や頭部の形成などで重要な役割を担っている。背側における Wnt シグナルが  $\beta$ -catenin の核内移行を促進することで、背側組織を誘導する Wnt 標的遺伝子の転写が活性化される。逆に、頭部形成では Wnt のアンタゴニストによる Wnt シグナルの抑制が必須であり、Wnt シグナルが活性化した状態では頭部形成不全を引き起こす。

Wnt シグナル伝達経路において、 $\beta$ -catenin の制御がもっとも重要であり、当研究室はこれまでに  $\beta$ -catenin の核内移行を促進する IQGAP1 の解析、 $\beta$ -catenin の分解を促進する足場タンパク質 WDR26 の解析などの研究

成果を報告してきた。 $\beta$ -catenin の分解は、ユビキチン/プロテアソーム系の分解経路によって行われる。近年、 $\beta$ -catenin のユビキチン化に関わるユビキチンライゲースが複数同定され始めたが、それらの分子機構は未だに明らかになっていない部分が多い。Maea (Macrophage Erythroblast Attacher) はユビキチンライゲースの 1 つであり、当研究室では、アフリカツメガエルの胚発生での機能解析を進めている。

## 1. Maea.S による $\beta$ -catenin のユビキチン化と分解

アフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) は異質四倍体のカエルであり、2つのサブゲノム、L (長い方) と S (短い方) を有しています。初期発生において、maea.S の転写産物は maea.L よりも多いので、機能解析は maea.S を用いて行いました。maea.S mRNA の過剰発現により、 $\beta$ -catenin のタンパク質量は減少しました。免疫沈降アッセイにより、Maea.S は  $\beta$ -catenin に結合し、ユビキチン化することが明らかになりました。また、RT-PCR 分析により、maea.S mRNA の過剰発現が  $\beta$ -catenin の転写量を減少させないことが分かりました。これらの結果は、Maea.S による  $\beta$ -catenin のタンパク質量の減少が転写レベルではなく、翻訳後の分解によって起こることを示唆しました。

## 2. maea.S による $\beta$ -catenin の機能阻害

アフリカツメガエルの胚発生における Maea.S の canonical Wnt シグナル伝達経路への影響を調べました。その結果、背側への maea.S mRNA の過剰発現は原腸胚期に Wnt 標的遺伝子の発現を減少させました。しかし、背側に maea.S mRNA を注入した胚の表現型は、注入していない対照胚の表現型と類似していました。これらの結果より、maea.S mRNA の過剰発現は Wnt 標的遺伝子の発現を低下させるには十分であるが、表現型を変化させるには不十分であることが示唆されました。一方、将来、頭部になる 8 細胞胚の背側動物割球に maea.S mRNA を過剰発現させると、注入された胚の頭部構造が拡大しました (図 1)。 $\beta$ -catenin mRNA を 4 細胞胚の腹側割球に注入すると、注入された胚には二次軸が形成されますが、maea.S mRNA との同時注入により、

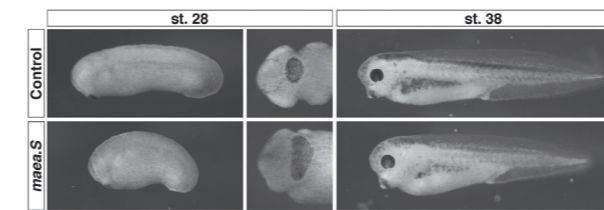


図 1. Maea.S の過剰発現による頭部の肥大化

二次軸を持つ胚の出現率は低下しました。 $\beta$ -catenin mRNA を腹側に注入した胚における Wnt 標的遺伝子の発現も、maea.S mRNA との同時注入によって減少しました。これらの結果は、maea.S は初期発生において、 $\beta$ -catenin タンパク質の分解を介して過剰な Wnt 活性を抑制する遺伝子として機能し、主に頭部形成に関与している可能性を示唆しました。

## 3. Maea のノックダウンによる頭部形成阻害

初期発生において、Maea.S のノックダウンの影響を調べるために、maea-MO (モルフォリノオリゴヌクレオチド) を使用した実験を行いました。8 細胞胚の背側動物割球への maea-MO の注入は、濃度依存的に頭部形成を阻害しました。胚の頭部領域の表現型は、目の大きさで比較し、正常、軽度な阻害 (小さな目)、重度な阻害 (目の欠損) に分類しました (図 2)。maea-MO による頭部形成阻害は、MO 結合部位に 5 つのミスマッチヌクレオチドを含む MO 耐性型の maea mRNA (5-mis-maea.S mRNA) の同時注入によってレスキューされました。これらの結果は、maea.S が初期発生において、頭部形成に必須な遺伝子である可能性を示唆しました。

## 研究業績

Goto T. and Shibuya H. (2023). maea affects head formation through  $\beta$ -catenin degradation during early *Xenopus laevis* development. *Dev. Growth Differ.* 65, 29-36.

Shimizu, M. and Shibuya, H. (2022). WNK1/HSN2

mediates neurite outgrowth and differentiation via a OSR1/GSK3  $\beta$  -LHX8 pathway. *Sci. Rep.* 12, 15858.

Goto T., Michiue T., and Shibuya H. (2022). *ccr7* affects both morphogenesis and differentiation during early *Xenopus* embryogenesis. *Dev. Growth Differ.* 64, 254-260.

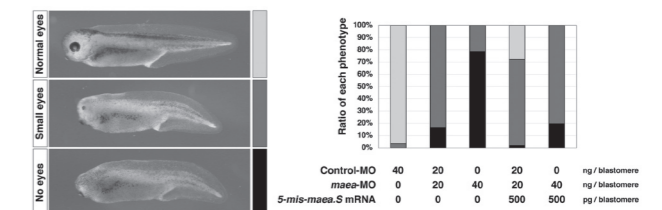


図 2. Maea.S のノックダウンによる頭部形成不全

## 4. Maea による $\beta$ -catenin の未知のリジン残基でのユビキチン化

脊椎動物では、 $\beta$ -catenin のアミノ酸配列に、26 個のリジン残基 (K) が含まれ、分解に関わるユビキチン化部位として 4 つのリジン残基が同定されています。 $\beta$ -catenin の 19 と 49 番目のリジン残基 (K19, K49) は、Btrc と Jade1 によってユビキチン化されます。さらに、Siah1 は  $\beta$ -catenin の K666 と K671 をユビキチン化します。maea.S は上記の 4 つのリジン残基をアルギニン残基 (R) に置換した  $\beta$ -catenin -4KRs 変異体をユビキチン化し、そのタンパク質量を減少させました。胚発生において、maea.S mRNA の過剰発現は  $\beta$ -catenin と同様に  $\beta$ -catenin -4KRs 変異体の機能も阻害しました。これらの結果は、Maea.S による  $\beta$ -catenin の分解が既知の 4 つのリジン残基以外のリジン残基のユビキチン化を介して起こっている可能性を示しています。

maea による  $\beta$ -catenin 分解機構のさらなる研究は、canonical Wnt シグナル伝達の新たな抑制機構、それに関連する胚発生機構や癌の抑制機構の解明に貢献すると考えられます。

Shimizu, M., Shibuya, H. and Tanaka, N. (2022). Enhanced O-GlcNAc modification induced by the RAS/MAPK/CDK1 pathway is required for SOX2 protein expression and generation of cancer stem cells. *Sci. Rep.* 12, 2910.



# 未来生命科学研究部門 幹細胞制御分野

教授：田賀哲也 講師：梶康一 助教：室田吉貴 事務補佐員：牧野まや  
技術補佐員：野寺真里花

## 研究内容

### 概要

生体内各組織の形成・維持・再生に重要な役割を果たす幹細胞は、それぞれの組織を構成する多細胞集団を生み出す一方で、そのような多分化能を維持した自己複製も行う。それら組織幹細胞（体性幹細胞）の発生や多分化能維持、あるいは組織内各細胞系譜への分化といった過程においては、増殖分化因子や細胞外マトリクスなどによる細胞外来性のシグナルと、エピジェネティック修飾や転写因子存在プロファイルに基づく細胞内在性のプログラムが深く関わっている。幹細胞制御分野における組織幹細胞に焦点を当てた研究は、主として神経幹細胞や造血幹細胞を研究対象として幹細胞制御の分子基盤を明らかにすることを目的として実施している。また癌幹細胞に焦点を当てた研究では、癌幹細胞の特性解明とともに、癌幹細胞の維持に寄与する微小環境（ニッチ）の分子基盤解明にも取り組んでいる。総合的に得られた知見が、神経幹細胞や造血幹細胞のみならず広く生体内組織の発生・再生に関わる正常幹細胞や、癌の再発に関与する癌幹細胞を制御する機構の普遍的理解ならびに、医療応用への開発的研究の手がかりとなるよう研究を推進している。

## 研究紹介

### 1. 胎生期の神経幹細胞が低酸素環境に適応し自己複製するためのニッチを構築する機構の解明

神経幹細胞は脳を構成する主な細胞である神経細胞（ニューロン）とグリア細胞（アストロサイト、オリゴデンドロサイト）を生み出す細胞であり、脳が形成途上にある胎生期において神経幹細胞はニューロンやアストロサイトなどに分化すると同時に自らが枯渇しないよう維持・拡大するために自己複製することが必要である。しかしながら、組織構造とくに毛細血管網が未発達な胎生期半ばの脳における低酸素環境下での自己複製の詳細な仕組みは不明であった。その解明のために行った我々の研究ではまず、胎生期中期のマウス脳より採取した神経幹細胞を低酸素環境下で培養するとニューロスフェア（神経幹細胞の存在指標）の数が著しく増加することを見出した。この実験結果は神経幹細胞が低酸素環境に置

かれると自らの維持に寄与する何らかの仕組みが働いていることを示唆した。また低酸素環境下で培養した神経幹細胞は予想外に血管内皮細胞増殖因子（VEGF-A）を産生して培地中に分泌し、その分泌量は神経幹細胞の自己複製に十分であった。その後、VEGF-A シグナルの阻害剤添加など様々な実験の結果から、低酸素環境下の神経幹細胞が VEGF-A を分泌し、それが自分自身に作用して自己複製が促進され、脳の形成が盛んに行われる胎生期において毛細血管網が未熟な段階であっても神経幹細胞が維持・拡大されることに寄与することを示した。この研究成果は、低酸素下に置かれた神経幹細胞が本来血管形成に寄与する VEGF-A を分泌することで自分自身が神経幹細胞ニッチの構築に関わるという生存戦略を有する点で興味深い（図1）。今後、マウス成体脳やヒト虚血性脳疾患における研究への展開が期待される。

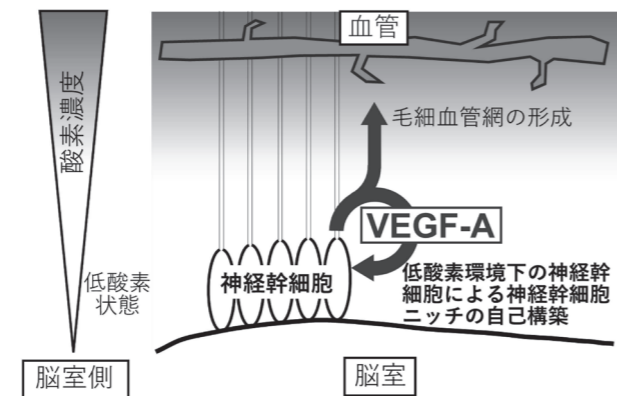


図1 低酸素状態における神経幹細胞による神経幹細胞ニッチの自己構築

### 2. 胎生中期マウス大動脈において造血幹細胞が生じる血液細胞塊の維持に Rasip1 が寄与する

マウスの胎生期において造血幹細胞は、妊娠 10.5 日目の大動脈内腔に現れる血液細胞塊に生じることが知られている。これまで当分野の研究により、この血液細胞塊を構成する細胞に転写因子 Sox17 を導入することで、生体外において培養皿上で複数回の培養を経ても長期造血再建能を持つ造血幹細胞が維持されることを示し、またその分子機構として Sox17 の下流で機能する Notch1 分子と接着分子の寄与が重要であることも示した。そこ

で 2022 年には、転写因子 Sox17 の下流で機能する分子についてさらに探索し解析を行った。Sox17 プロモーターの下流に GFP を接続したマウス胎仔を用いて、胎生中期の血液細胞塊において Sox17 発現細胞と非発現細胞を分画し、Sox17 発現血液細胞塊構成細胞において発現が亢進している遺伝子について RNA sequence により調べたところ、Sox17 発現細胞集団において Ras interacting protein 1 (Rasip1) をコードする遺伝子が高発現していた。Rasip1 は、血管内皮細胞において、GTPase 活性を制御し、細胞の構造や接着に関与することが知られるタンパク質である。Rasip1 の血液細胞塊における発現を、ホルマウント免疫染色を用いて解析したところ、血液細胞塊の細胞膜に発現し、一部の細胞において Sox17 と共発現していた。さらにルシフェラーゼアッセイにより、Sox17 が Rasip1 遺伝子のエンハンサー領域に結合して発現を誘導することを示した。また、Rasip1 遺伝子を血液細胞塊構成細胞に導入すると造血能の亢進が認められる一方で、Sox17 を導入した血液細胞塊構成細胞に対して RNA 干渉を用いて Rasip1 遺伝子の発現を減少させると造血能が低下した。このことより、Rasip1 の発現量と造血能に正の相関があることが明らかとなった。以上の結果より、Rasip1 が造血幹細胞を含む血液細胞塊の幹細胞性維持に機能することが強く示唆された（図2）。

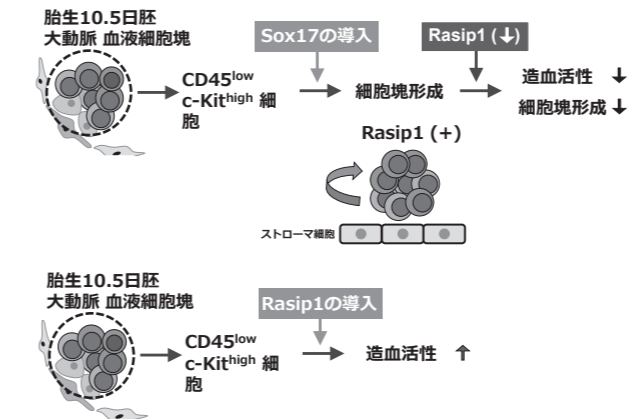


図2 造血幹細胞が生じる胎生中期の血液細胞塊の造血能維持における転写因子 Sox17 の下流分子 Rasip1 の寄与

### 3. 癌幹細胞によるニッチ構築機構の解明

癌組織中に存在する癌幹細胞（cancer stem cell）は、化学療法や放射線療法などへの抵抗性を有するととも

に、自己複製能と多分化能によって再び不均質な癌組織を構築する起源細胞として捉えられている。すなわち癌幹細胞は癌の発生と再発に深く関与しており診断・治療法の開発にあたり考慮すべき重要な細胞である。以前より当分野では、グリオーマの癌幹細胞が各種サイトカインを分泌して単球・マクロファージ（Mφ）を誘導するなどの利己的な戦略によりニッチを自ら構築することで癌の再発に寄与することを報告してきた（図3）。また、癌幹細胞は液性因子を介して骨髄および脾臓の赤血球産生を促進し、腫瘍内に出血した赤血球を上記Mφが貪食することで自らの生存に必要な鉄と酸素を補給することを担癌マウスを用いた実験で示した。これらの結果は、グリオーマを全身性の疾患として捉えることの重要性を強く示唆しており、末梢造血器官の遠隔制御を介して脳内へと動員される免疫細胞の特性を解明することが、癌の再発メカニズム、延いてはその診断・治療法を開発する上で重要であると考えられた。そこで 2022 年は、免疫適合性のマウス脳内グリオーマ移植モデルを用いて、末梢血中の各種免疫細胞の経時的プロファイリングを行った。その結果、腫瘍を形成しないマウスと比較して、担癌マウスの末梢血中では CD45<sup>High</sup> CD11b<sup>Low</sup> の単球系細胞の割合が有意に減少する一方、骨髄由来のミクログリア前駆細胞として知られる CD45<sup>Nega</sup> CD11b<sup>High</sup> 細胞の割合が有意に上昇していることが明らかとなった。本細胞画分のグリオーマ再発への寄与は未だ不明であるものの、今後その機能解析を進めることで、画期的な再発リスクの診断法・根絶治療法の開発に貢献できると期待される。

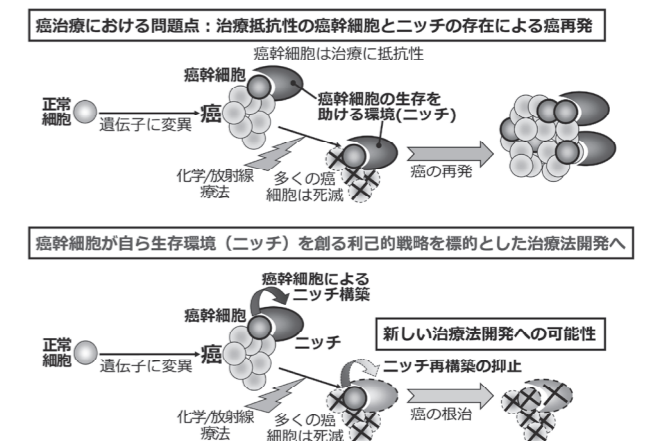


図3 癌幹細胞によるニッチの自己構築と、それを標的とした癌根治の可能性

## 研究業績

### 原著論文

Aimaitijiang A, Tabu K, Wang W, Nobuhisa I, Taga T. Glioma cells remotely promote erythropoiesis as a self-expanding strategy of cancer stem cells. Genes Cells 27(1), 2022

### 総説

Murota Y, Tabu K, Taga T. Cancer stem cell-associated Immune microenvironment in Recurrent Glioblastomas. Cells 11(13):2054, 2022  
Wang W, Tabu K, Aimaitijiang A, Taga T. Therapy-resistant nature of cancer stem cells in

view of iron metabolism. Inflamm Regen 42(1):34, 2022

Tabu K, Taga T. Cancer ego-system in glioma: an iron-replenishing niche network systemically self-organized by cancer stem cells. Inflamm Regen 42(1):54, 2022

# 病態制御科学研究部門

## *Advanced Pathophysiological Science*

難治疾患とは、病因や病態形成機序が不明であり、有効な予防法や治療法がない疾患の総称である。病態制御科学研究部門では、難治疾患の病因・病態形成機序の解明を通じて、生命現象の基本メカニズムの理解を深めるとともに、新たな診断法、治療法、予防法の開発を行っている。本研究部門は現在5つの分野から構成されており、指定国立大学に認定された本学の重点研究領域「難治疾患研究」「口腔科学研究」に貢献している。本年の成果は以下の通りである。

### 機能分子病態学

- Fluoppi system を用いた解析から、遺伝性パーキンソン病の原因因子 Parkin が損傷ミトコンドリアをユビキチン化する際のパートナー E2（協調して機能する E2）が UBE2D・UBE2L3・UBE2E1・UBE2E3・UBE2C であることを見出した。
- 遺伝性神経発達疾患 HEMARS の原因遺伝子産物 BCAS3 が伸長中の隔離膜に局在するオートファジー関連因子であること、および HEMARS の疾患関連変異によって BCAS3 の隔離膜局在性が失われることを発見した。

### 生体防御学

- 全身感染時に新たな調節性 B 細胞が出現することを見出し、同細胞が産生する IL-10 が感染初期の自然免疫細胞供給を亢進させることを明らかにした。
- 当分野で樹立したヒト扁平上皮がん（主に舌がん、食道がん）オルガノイドライブラリーを用いて、化学療法剤抵抗性&感受性オルガノイドの選別に成功した。

### 神経病理学

- 当分野が発見した分子 PQBP5 が核小体分子の中では比較的安定な天然変性タンパク質であり、核小体を形造る上の必須分子であることを明らかにした。
- ハンチントン病および脊髄小脳失調症モデルマウスを用いて、ポリグルタミン病原因タンパク質は、PQBP5 と結合して核小体異常を起こす可能性を示した。

### 分子神経学

- グリア細胞による神経細胞の貪食が記憶に重要であることを示した。
- VIP 産生ニューロン特異的に遺伝子操作可能なマウスを開発した。

### 病態細胞生物学

- オートファジー成熟過程を可視化する新規手法 FLAD 法を開発した。
- 当分野が発見したタンパク質分解機構 GOMED を誘導できる化合物を同定した。また、当該化合物によりポリグルタミン病モデルマウスの病態を改善できることを見出した。



# 病態制御科学研究部門 機能分子病態学分野

教授：松田憲之 准教授：山野晃史 助教：小松谷（小谷野）史香

## 概略

細胞内には様々なオルガネラが存在するが、多くはその機能を果たす過程でダメージを受けて、損傷オルガネラとなって細胞内に蓄積してゆく。細胞内のオルガネラ機能を維持するためには、このような損傷オルガネラを選択的オートファジーによって除去することが重要である。一方で「生存に必須なオルガネラを分解すること」は危険な行為であり、このプロセスを有益なものにするためには、分解対象となる損傷オルガネラを正しく認識・識別し、厳密な制御下で分解する必要がある。近年、選択的オルガネラ分解の実行因子や生理的意義に関する理解が進み、ユビキチンとオートファジーアダプターの重要性や、神経変性疾患との関連性が明らかとなった。われわれは、2010年頃から遺伝性潜性パーキンソン病の原因遺伝子産物であるPINK1やParkinが損傷ミトコンドリアをユビキチンで標識して、その後のオートファジー分解（マイトファジー）に導くメカニズムの解析を進めてきた。本分野が発足したのは2021年なので本学で研究を始めてから日が浅く、まだ成果に乏しいが、今後とも選択的オルガネラ分解の分子メカニズムの解明と、その病態生理学的意義の理解を目指して研究を進める予定である。

## 1. Fluoppi システム

最初に、Fluoppi (Fluorescent based technology detecting Protein-Protein Interactions) システムについて簡単に紹介したい。本システムは、タンパク質間の相互作用をin cellで評価可能な蛍光液滴の人工形成系である。もともとは理化学研究所の宮脇博士らによって開発されたものであり、Ashタグを融合したタンパク質Xとアザミグリーン (AG) を融合したタンパク質Yを細胞内で共発現した時に、XとYが結合すると多価的な相互作用を介して液滴が形成されて、細胞内の蛍光輝点 (Fluoppi foci) として観察できる原理に基づいている (Watanabe, Sci Rep 2017)。この実験系のメリットとして、細胞を破碎することなく、細胞中でのXとYの相互作用を可視化・解析できることが挙げられる。これらのメリットを生かして、われわれはマイトファジーの解析にFluoppiシステムを用いてきた。

## 2. Fluoppi システムを用いたマイトファジーの解析

哺乳類のマイトファジーに選択性を付与するメカニズムとして、オートファジーの始動因子であるユビキチンとマイトファジーのアダプターを連携させるメカニズムが重要である。哺乳類細胞においては、遺伝性パーキンソン病の原因遺伝子産物であるPINK1(セリンキナーゼ)とParkin(ユビキチン連結酵素:E3)が連動して損傷ミトコンドリアの外膜タンパク質をユビキチン化することが引き金となって、マイトファジーが誘導される。

Parkinはユビキチン連結酵素(E3)であり、全てのE3はユビキチン活性化酵素(E1)やユビキチン結合酵素(E2)と協調して機能する。哺乳類細胞には30種類程度のE2が存在する。マイトファジー誘導時にParkinと協調して働くE2として、既に複数のE2が報告されているが、論文間で結論が異なっていた。そこでFluoppiシステムを用いて、マイトファジーの際にParkinのパートナーとして機能するE2を決定することを試みた。本来はE2-E3間の結合は一過性である。そこで両者の結合を安定化させるために、Parkinの酵素活性中心に変異(C431S)を導入したうえで、Ashタグを融合した(Ash-Parkin)。さらに、細胞内に存在する28種類のE2をアザミグリーンと融合し(AG-E2s)、Ash-ParkinとAG-E2sを細胞内で共発現させてFluoppi foci(蛍光液滴)が形成されるかどうかを観察した。通常条件下においては、検討した全てのE2はParkinとFluoppi fociを形成しなかった。対照的に、ミトコンドリアに障害を与えてマイトファジーを誘導すると、いくつかのE2とParkinがFluoppi fociを形成することが明らかとなった(ハイライト参照)。分子立体構造の解析結果から、Parkinは通常時に自己阻害ドメイン(auto-inhibitory domain)との結合を介して、E2と結合できない不活性型に維持されていると考えられており(Onishi, EMBO J., 2021)、このFluoppiアッセイの結果は極めてリーズナブルであると考えている。損傷ミトコンドリア近傍におけるFluoppi fociの形成を定量的に測定した結果、ミトコンドリア障害時特異的にParkinと相互作用可能なE2は11種類に絞られた。次にCell free assayを用いて、損傷ミトコンドリアのParkinに依存したユビキチン化の再構成を試みた。この実験では、

細胞より調製した正常ミトコンドリア(あるいは損傷ミトコンドリア)と、精製ユビキチン・E1・E2(Fluoppi assayで単離された11種類のE2)・Parkinを反応させて、ミトコンドリアのユビキチン化を再構成した。その結果、Fluoppi fociを形成できるE2のうち、7種類のE2がParkinと協調して損傷ミトコンドリアの外膜タンパク質をユビキチン化した。重要なことは、このcell free系において、正常なミトコンドリアはユビキチン化されずに、損傷ミトコンドリアのみがユビキチン化されたことである。これらの結果から、われわれは「Parkinが損傷ミトコンドリアのユビキチン化を触媒する際のパートナーE2はUBE2Ds, UBE2L3, UBE2E1, UBE2E3, UBE2Cである」と結論した(Hayashida, JBC 2023)。

## 3. その他の研究テーマ

上述の研究以外にも、選択的オルガネラ分解と関連した下記研究テーマを鋭意解析中である。

(1) 新規オートファジー制御因子の単離と機能解析：われわれはマイトファジー誘導時に損傷ミトコンドリア

近傍の隔離膜に移行する新規因子としてBCAS3を単離した(Kojima, Autophagy 2021)。現在、その分子機能と生理学的意義を解析している。

(2) TBK1 kinaseの解析：マイトファジーのアダプタータンパク質であるOPTNと結合する因子としてはATG9(Yamano, JCB 2020)以外にもTBK1 kinaseが知られており、OPTNをTBK1がリン酸化することも報告されている。そこで、Parkin依存性マイトファジーに際して、ユビキチン修飾をマイトファジー駆動シグナルに変換する過程でのTBK1の役割を研究中である。

(3) ペキソファジーの解析：ペルオキシソーム特異的なオートファジー(ペキソファジー)においてもユビキチン化が重要であることを見出し、ユビキチン修飾がペキソファジーのシグナルに変換されるメカニズムを解析している。

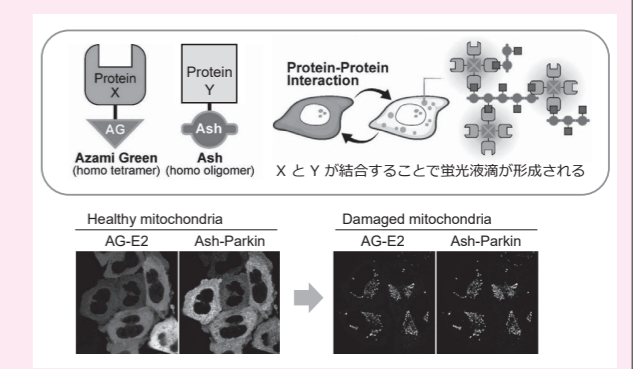
今後も引き続き、マイトファジーとペキソファジーを中心として、選択的オルガネラ分解の分子メカニズムの理解と、遺伝性パーキンソン病に着目した病態生理学的意義の解明を目指して、研究を進める予定である。

## ハイライト

### ミトコンドリア損傷に依存したParkinとE2の結合

上図:Fluoppiシステムの概略図。Azami Green (AG)に融合したタンパク質(X)と、Ash-tagに融合したタンパク質(Y)が結合すると、多価的な相互作用を通じて細胞内に蛍光液滴が形成される。下図:E2とParkinの結合。AGにE2(UBE2L3)を融合し、AshにParkinを融合して、細胞内で共発現した。通常時に両者は結合しないが、ミトコンドリアに損傷を加えると両者が結合して細胞内に輝点(蛍光液滴)が形成

される。



## 人事異動

転入：松田憲之(教授)、山野晃史(教授)、小松谷史香(助教)

## 業績目録

原著論文

1. Elucidation of ubiquitin-conjugating enzymes that interact with RBR-type ubiquitin ligases using a liquid-liquid phase separation-based

method.

Hayashida R, Kikuchi R, Imai K, Kojima W, Yamada T, Iijima M, Sesaki H, Tanaka K, Matsuda N, Yamano K.

J Biol Chem. 299(2):102822, 2023 (doi: 10.1016/j.jbc.2022.102822).



# 病態制御科学研究部門 生体防御学分野

教授：樗木俊聡 准教授：佐藤卓 助教：金山剛士  
非常勤講師：小内伸幸（金沢医科大学）、村川泰裕（京都大学）  
技術補佐員：始関紀彰、林豊貴 事務補佐員：上岡寿子

## 研究内容

### 概略

私たちの分野では「生体の防御と恒常性維持機構の解明」に焦点をあて、それらを担う免疫細胞や組織幹細胞の分化・機能を、正常および疾患病態において理解することを目的としている。樹状細胞・マクロファージなどのミエロイド系細胞、血液や上皮の組織幹細胞・がん幹細胞を研究対象として、免疫系、幹細胞系、さらにはそれら異系間相互作用による恒常性維持機構とその破綻による病態構築機序の解明に取り組んでいる。また、それら成果に基づき、難治性疾患の予防法・治療法の開発へ繋がる応用研究への糸口が得られるよう研究を推進している。

## 研究紹介

### 1. ミエロイド系細胞の分化・機能研究

#### 1) 樹状細胞・マクロファージ前駆細胞の同定と関連病態解明・治療法開発

樹状細胞（Dendritic Cell, DC）は、抗原提示能に優れた従来型樹状細胞（cDC）と、ウイルスや自己の核酸に反応して大量のインターフェロンを産生する形質細胞様樹状細胞（pDC）に分類される。私たちの研究グループは、DCだけを大量に産みだす“DC前駆細胞”をマウスで同定し、共通DC前駆細胞（Common DC Progenitor, CDP）として報告した（*Immunity* 2013; *Nat Immunol* 2007）。CDPは、M-CSF受容体（M-CSFR）発現の有無を指標に2種類に分類される。M-CSFR<sup>+</sup>CDPは主にcDCを生み出すが、M-CSFR<sup>-</sup>CDPはpDCへの分化能に優れていた。

単球は、定常状態においても腸や真皮に異動して組織マクロファージに分化するが、感染や損傷に伴い、それ以外の組織にも積極的に流入してマクロファージに分化、炎症や組織修復に関与する。単球の源である共通単球前駆細胞（Common Monocyte Progenitor, cMoP）は、マウスにおいて最初に同定されたが、ヒトcMoPは未同定であった。私たちの研究グループは、ヒト臍帯血や骨髓を用いてヒトcMoPの同定に成功し、ヒト単球分化経路を明らかにした（*Immunity* 2017; *Int Immunol* 2018）。ヒトcMoPは、単球・マクロファージへの優

た分化能を示す一方、他の血液細胞へは分化しなかった。単球は、慢性骨髓単球性白血病（CMML）に関与するため、製薬企業との共同研究として、ヒトcMoPを効果的に除去できる抗体-薬剤複合体（ADC）を作製して、CMML PDXモデルに投与したところ、骨髓や末梢血中から白血病細胞がほぼ完全に消滅した。また、単球は腫瘍の増殖進展を促す腫瘍関連マクロファージ（TAM）に分化するため、担がんヒト化マウスにADCを投与したところ、末梢血単球に加えて腫瘍内TAMが消滅し、腫瘍塊の有意な縮小が認められた（*Front Immunol* 2021）。単球は様々な炎症性疾患にも関与するため、ヒト単球系列特異的なADCの適応拡大も期待される。

#### 2) ミクログリアによる脳恒常性維持・低下機構の解明

脳のマクロファージであるミクログリアは、若齢期には神経組織形成・再生や貪食能に優れ恒常性維持に積極的に貢献しているが、加齢に伴い徐々に炎症形質が顕著になり、脳機能が徐々に低下していく。私たちの研究グループは、当該ミクログリア形質転換プロセスの原因となる転写制御変容を、細胞機能変化の最も初期に起こるエンハンサーの活性化を指標に解明することを目指している。理化学研究所で開発された一塩基レベルで活性化エンハンサー領域を計測可能な新技術NET-CAGE法を用いて、新規ミクログリア活性化エンハンサー36,320領域、加齢に伴い発現が増減するエンハンサー937領域を同定した。エンハンサーの活性化は細胞種特異的であるため、プロモーターやコード領域を標的にする場合と異なり、ミクログリア特異的機能制御法の開発につながる可能性が期待される。

#### 3) 感染時ミエロイド細胞増産機構の解明

全身的な感染症では、体内に侵入した病原体を速やかに排除するためにミエロイド系細胞の産生が著しく亢進し自然免疫を増強する（Emergency Myelopoiesis, EM）。私たちの研究グループは、感染時に出現する調節性B細胞の産生するインターロイキン10（IL-10）がミエロイド系細胞の供給を増強することを見出している（*J Exp Med* in press）（図1）。

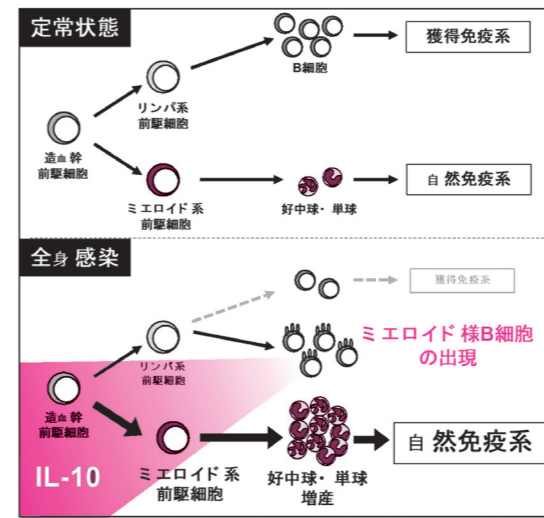


図1 感染時に出現する新規B細胞亜群による自然免疫細胞の増産 Kanayama M et al., *J Exp Med* in press の Graphic Abstract を改変引用

## 2. 組織幹細胞・がん幹細胞の研究

### 1) 免疫系-組織幹細胞系の連関による組織恒常性の維持と破綻

何ら感染の起きていない個体においても、I型インターフェロン（IFN）は微量ではあるが持続的に産生されている。私たちの研究グループは、この生理レベルのI型IFNシグナルが造血幹細胞（Hematopoietic Stem Cell, HSC）ストレスとして働き、同細胞の幹細胞性低下の原因になることを報告した（*Nat Med* 2009）。この成果に基づき、当該I型IFNシグナルの小腸上皮幹細胞（Intestinal Stem Cell, ISC）への影響を検討したところ、HSC同様、ISCの数や機能を低下させること、その結果、分泌系前駆細胞への分化が促されることが判明した（*Nat Cell Biol* 2020）。大腸上皮幹細胞（Colonic Stem

### 人事異動

中川 俊作 本学消化管外科学博士課程（D2）として参加（2022.4.1）  
山田 悠貴 短期交流学生（東京薬科大学）として参加（2020.9.12.）

### 業績目録

#### 原著

1. Kanayama M, Izumi Y, Akiyama M, Hayashi T, Atarashi K, Roers A, and Ohteki T. Myeloid-like B cells boost emergency myelopoiesis through IL-10 production during infection. *J Exp Med* in press
2. Cui G, Shimba A, Jin J, Ogawa T, Muramoto

Y, Miyachi H, Abe S, Asahi T, Tani-Ichi S, Dijkstra JM, Iwamoto Y, Kryukov K, Zhu Y, Takami D, Hara T, Kitano S, Xu Y, Morita H, Zhang M, Zreka L, Miyata K, Kanaya T, Okumura S, Ito T, Hatano E, Takahashi Y, Watarai H, Oike Y, Imanishi T, Ohno H, Ohteki T, Minato N, Kubo M, Holländer GA, Ueno H, Noda T, Shiroguchi K, Ikuta K. A circulating subset of iNKT cells mediates antitumor and antiviral immunity. *Sci Immunol* 2022. 7:eabj8760. doi: 10.1126/sciimmunol.abj8760.

Cell, CSC)でも同様に幹細胞性が低下しており、DSS腸炎モデルにおいて全個体が死亡した（*Sci Rep* 2020）。さらに皮膚においてもI型IFNシグナルの慢性化によって脱毛や繊維化等の異常が誘導されることを見出しており、ヒト自己免疫疾患や自己炎症疾患との関連を含め詳細に検討中である（未発表）。

腸上皮損傷後の再生起点細胞が数種類報告されているが、それらの上皮再生における貢献度の軽重は不明である。私たちの研究グループは、細胞運命追跡技術を用いて、放射線照射による腸損傷後に生き残った細胞のシングルセル解析を行い、腸損傷後の主たる再生起点細胞の同定に成功した（*Sci Rep* 2020）。

### 2) ヒト扁平上皮がんオルガノイドパイオバンクの構築と化学療法剤抵抗性機構の解明

扁平上皮がんは、口腔、食道、肺、子宮頸部などの扁平上皮組織に生じるがんである。舌がんは口腔がんのおよそ6割を占め、進行がんでは5年生存率が42%と極めて低く、根治治療後の再発率も高い。同様に、日本を含むアジア諸国に特徴的な食道扁平上皮がんも、根治治療後の再発率は非常に高い。私たちの研究グループは、多施設共同研究として、これまでに報告のないヒト舌がん及びヒト食道扁平上皮がんに特化したオルガノイドライブラリーの構築に成功している（舌がん34症例、食道がん24症例、未発表）（図2）。また、実際に臨床治療に用いられる抗がん剤に抵抗性を示すがんオルガノイドを各々数症例樹立している。これら独自のリソースを用いて、抗がん剤耐性獲得機構の解明と創薬探索を進めている。



# 病態制御科学研究部門 神経病理学分野

教授：岡澤 均 特任講師 / 非常勤講師：井上治久、曾根雅紀、藤田慶大  
プロジェクト准教授：本間秀典 講師：田中ひかり

## 研究内容

当分野は、1) 神経変性疾患の分子機構の包括的理解とこれに基づいた治療開発を目指した研究、2) 神経変性疾患研究の過程で発見した PQBP1 分子機能解析を通じた精神遅滞の研究、3) Oct-3/4 の機能解析を通じた幹細胞分化機能の研究、を行っている。

## 研究紹介

核小体（「仁」とも呼ぶ）は、細胞核の中でもっとも大きい構造物である。核小体の存在は、光学顕微鏡が発明されていた 1830 年代には、少なくとも複数の科学者によって記載されており、一説によれば、1770 年代に発見されたとも言われている。現在では、さまざまな新しい顕微鏡が開発され、その構造を見ることができるようになってきた。核は膜を持っていて、それ以外の細胞部分と区切られています。核小体には膜がない。したがって、どのようなメカニズムが核小体の構造を形成・維持するかは長い間謎であった。

私たちは、25 年ほど前（1998 年）に複数のポリグルタミン病原因タンパク質に共通して含有されるポリグルタミン配列への結合蛋白質を yeast two hybrid 法を用いて探索し、PQBP1, 2, 3, 4, 5 という 5 つの新規分子を発見した (Imafuku et al, BBRC 1998; Waragai et al, Hum Mol Genet 1999; Okazawa et al, Neuron 2002)。このうち、PQBP1 ※ 2 については、岡澤グループに加えて多数の研究者が参入して、基本的な分子機能と、神経変性疾患、小頭症、発達障害、ウイルス感染症、免疫疾患などにおける病態機能が多数報告されている。また、PQBP1 はヒトの知的障害の原因遺伝子であることから (Kalscheuer et al, Nature Genet 2003)、ヒト知能に関わる分子であることも確実になっている。一方、PQBP5 を含む、PQBP 1 以外の PQBPs については、この 25 年間に PQBP5 などが核小体タンパク質であることが分かったものの（そのため PQBP5 に NOL10 という新しい名称がつけられた）、十分な知識は得られていなかった。今回は PQBP5 に焦点を当てた 20 年近い研究の末に、当初予測していなかった結論に至った。

私たちは、PQBP5 が、PQBP1 と同様に天然変性タンパク質であることが研究進展の契機になった。今回の研

究では、予測コンピュータプログラムから PQBP5 が天然変性タンパク質である可能性が高まったため、さらに金沢大学の安藤教授らと共同研究を行い、高速原子間力顕微鏡を用いて 1 分子の挙動を観察した結果、PQBP5 が天然変性タンパク質であることを確認した。

天然変性タンパク質には、「液液相分離 (LLPS)」という、水と油のように互いの液相と液相が分離する性質があるために、それ以外のタンパク質から分離して液滴（液体状態での集合体）を形成する。核小体タンパク質に天然変性タンパク質が多いことが近年になって解明されたことから、膜を持たない核小体の形成は、このような液滴であり、LLPS の物理的エネルギー安定性が基盤にあるものと考えられるようになった。私たちは、さらに、他の核小体タンパク質である fibrillarin, nucleolin と生物物理学的性質を比較することで、PQBP5 が他の核小体タンパク質よりも安定した分子であり、PQBP5 によって LLPS に基づく集合体（液滴）である核小体が浸透圧や熱などのストレスに強くなり、構造が安定化することを明らかにした。

電子顕微鏡で核小体の細部構造を観察すると、核小体にはさらに FC, DFC, GC という細かな構造があることが、これまでに知られている (図 1)。今回、超解像顕

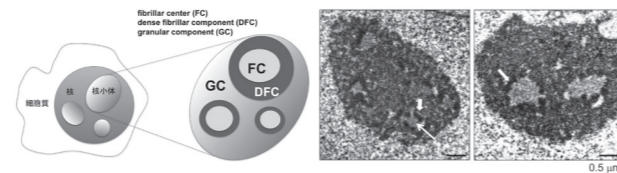


図 1 核小体の微細構造  
核小体は、さらに FC, DFC, GC という層状構造を持つ。

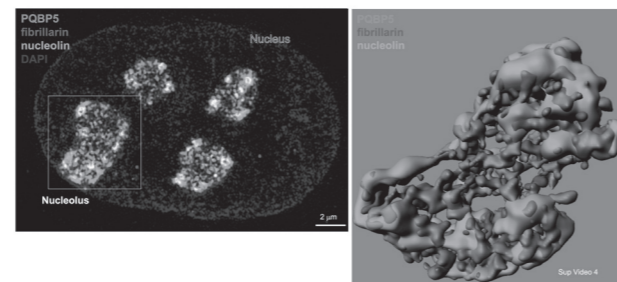


図 2 核小体内部での PQBP5 の分布  
左図は、超解像顕微鏡による PQBP5, fibrillarin, nucleolin の分布を示す。右図は、超解像顕微鏡のデータを画像解析ソフト Imaris で 3 次元画像にしたものを示す。

微鏡と CLEM (Correlative light and electron microscopy) という最新技術を用いて、PQBP5 の核小体内部における分布を調べた結果、PQBP5 は主に GC に存在し、竹で編んだ籠のような構造（籠状構造）を構築して、DFC に分布する fibrillarin や核小体の外皮に存在する nucleolin などが集合するための骨組みとなっていることを解明した (図 2)。実際に、PQBP5 をノックダウンすると、核小体に変形したり消失したりすることも確認した。さらに、25 年前の疑問に戻って、PQBP5 と神経

## ハイライト：PQBP5

今回の研究では、1) 核小体が天然変性タンパク質の生物物理的性質を基盤とした複数の構成分子の集合体であることを解明した。加えて、2) 構成分子の生物物理的性質には（当然ながら）差があり、もっとも安定な PQBP5 を基軸に核小体が形成されていること、3) 浸透圧変化などの細胞ストレス化では核小体構造が乱れるが、PQBP5 は集合体として定位置に残り、細胞ストレスからの回復過程において、アンカーとして他の核小体分子の再集合に寄与すること、を示した。

核小体は ribosomal DNA から ribosomal RNA が産生される場所で形成されると考えられている。PQBP5 の LLPS 集合体形成も ribosomal RNA によって促進することを今回確認しており、この考え方と合致した結果であった。一方、PQBP5 ノックダウンは ribosomal RNA を最終的に減少させるが、PQBP5 タンパク質が減少し、ribosomal RNA が未だ減少していない時点で、すでに核小体構造が崩れていることから、ribosomal RNA が産生されても、PQBP5 タンパク質がなければ、核小体は形成できない、と考えられる。

また、今回の研究では、4) 神経変性疾患の原因タンパク質が細胞内凝集体（封入体）を作る過程で PQBP5 を巻き込んで、核小体における PQBP5 を減少させるために、核小体そのものの構造異常を起こすことを示した。今回の研究では、脊髄小脳失調症、ハ

ンチントン病との関連についても検討した。ハンチントン病の原因タンパク質であるハンチンチンと脊髄小脳失調症 1 型の原因タンパク質であるアタキシシン 1 は、正常型と異常型は共に PQBP5 と結合するものの、PQBP5 は異常型の封入体に取り込まれて、核小体から不足することが示された。これは、前述の PQBP5 ノックダウンと同様な病態であり、実際、2 つの疾患のモデルマウスにおいて、細胞の PQBP5 ノックダウンと同様な核小体異常が検出された。

ンチントン病や球脊髄性筋萎縮症 (Kennedy 病) を含むポリグルタミン病と呼ばれる神経変性疾患グループにおいて、PQBP5 の巻き込みによる核小体病態が実際に生じていることを示した。

ポリグルタミン病以外に、どのような神経変性疾患において、同様に PQBP5 を介した核小体病態が起きているのかは（例えば、アルツハイマー病やパーキンソン病でも同一病態が起きているかは）、PQBP5 に結合しうる変性疾患原因タンパク質の種類が網羅的に確認されていないために、現時点では不明である。しかし、今後さらに研究を続けることができれば、種々の神経疾患における核小体病態の広がりを含意的に捉えることが可能になる。

さらに、PQBP5 遺伝子は、がん、老化などにも影響を与えていることが予想される。核小体の大きさ・数が、がん細胞の病理学的診断の根拠に使われているように、核小体は細胞増殖活性と関連している。脳以外の全身臓器では細胞増殖が低下することをセネセンスと呼び、老化の現象の一つと考えられている。これまでに、がんと PQBP5 の遺伝子変異や発現量が関係するという論文が複数発表されているが、PQBP5 が核小体を守る機能があること、すなわち細胞増殖能力や抗がん剤耐性へ影響しうること、と関係があるのではとも予想される。今後、PQBP5 の研究が進むことで、がんや老化の制御につながる可能性もある。

## 研究業績

### 原著

- Jin X, Tanaka H, Jin M, Fujita K, Homma H, Inotsume M, Yong H, Umeda K, Kodera N, Ando T, Okazawa H. PQBP5/NOL10 maintains and anchors the nucleolus under physiological and osmotic stress conditions. *Nat Commun*. published 2023 January 4, 14(1):9. doi: 10.1038/s41467-022-35602-w.
- Shiwaku H, Katayama S, Kondo K, Nakano Y, Tanaka H, Yoshioka Y, Fujita K, Tamaki H, Takebayashi H, Terasaki O, Nagase Y, Nagase T, Kubota T, Ishikawa K, Okazawa H, Takahashi H. Autoantibodies against NCAM1 from patients with schizophrenia cause schizophrenia-related behavior and changes in synapses in mice. *Cell Rep Med*. published 2022 April 19, 3(4):100597. doi: 10.1016/j.xcr.2022.100597.

### 著書・総説

- 岡澤 均, 藤田 慶大. 3 塩基リピート病 1 (Huntington's Disease). *メディカルサイエンス・ダイジェスト*, 2022 年 9 月 25 日発行, vol.48, No.10, pp.3-5.
- 望月 秀樹, 青木 正志, 池中建介, 井上 治久, 岩坪 威, 宇川 義一, 岡澤 均, 小野 賢二郎, 小野寺 理, 北川 一夫, 齊藤 祐子, 下畑 享良, 高橋 良輔, 戸田 達史, 中原 仁, 松本 理器, 水澤 英洋, 三井 純, 村山 繁雄, \*勝野 雅史. 日本神経学会将来構想委員会, 青木 吉嗣, 石浦 浩之, 和泉 唯信, 小池 春樹, 島田 斉, 高橋 祐二, 徳田 隆彦, 中嶋 秀人, 波田野 琢, 三澤 園子, 渡辺 宏久. 脳神経疾患克服に向けた研究推進の提言 2020, 各論 II (疾患群別), 臨床神経学, 2022 年 6 月 24 日発行, 62 巻, 6 号, pp.443-457. doi: 10.5692/clinicalneurocn-001696.
- 岡澤 均, 加齢, 変性疾患と DNA 損傷修復不全, 老年精神医学雑誌, 2022 年 6 月 20 日発行, 第 33 巻, 第 6 号, pp.603-617.
- Hikari Tanaka, \*Hitoshi Okazawa. PQBP1: The Key to Intellectual Disability, Neurodegenerative Diseases, and Innate Immunity. *Int J Mol Sci*. published 2022 June 2, 23(11):6227. doi:10.3390/ijms23116227.



# 病態制御科学研究部門 分子神経科学分野

教授：田中光一 助教：平岡優一、大西哲生

## 研究内容

### 概略

種々の分子や細胞の機能及びこれらの異常がどのように動物の個体レベルでの行動及び行動異常に関与するかについて遺伝子改変動物を用いて研究する。これらの解析を通して、記憶・学習などの脳高次機能及び機能異常の機構を、分子・細胞および個体レベルで理解する。

## 研究紹介

### 1. グルタミン酸トランスポーターの脳機能における役割

中枢神経系の興奮性シナプス伝達は主にグルタミン酸により担われており、グルタミン酸シグナル伝達の解明は脳機能解明の基礎となる。我々の分野では、神経回路網の形成・脳高次機能におけるグルタミン酸シグナリングの機能的役割を分子、細胞、個体レベルで明らかにすることを旨とする。また、過剰なグルタミン酸は神経毒性を示し、様々な精神神経疾患の原因と考えられている。精神神経疾患におけるグルタミン酸シグナル伝達の病態生理学的役割を解明し、それら疾患の新しい治療法の開発を目指す。グルタミン酸シグナル伝達に中心的な役割を果たすグルタミン酸トランスポーターを中心に研究を行っている。

グルタミン酸トランスポーターは、神経終末から放出されたグルタミン酸を取り込み、神経伝達物質としての作用を終わらせ、細胞外グルタミン酸濃度を低く保つ機能的分子である。現在まで脳のグルタミン酸トランスポーターには、グリア型2種類 (GLT1, GLAST) と神経型2種類 (EAAC1, EAAT4) の計4種類のサブタイプが知られている。グリア型グルタミン酸輸送体の機能障害は、多くの精神神経疾患 (筋萎縮性側索硬化症、アルツハイマー病、脳梗塞・脳外傷、てんかん、統合失調症、うつ病、自閉症など) で報告されており、神経細胞の機能障害および変性・脱落に関与する共通した機序だと考えられています。

本年度は、グルタミン酸トランスポーター GLT1 を80%欠損するマウスを作成し、そのマウスが注意欠如・多動症に似た行動異常を示すことを明らかにした。

### 2. グリア細胞の記憶・学習における役割

シナプスの刈り込みは、学習や記憶における神経回路の最適化の基本的なプロセスです。しかし、グリアがシナプスの刈り込みに関与しているかどうか、さらに、それが記憶形成に関与しているかどうかについては、まだ解明されていません。そこで、新たに開発した貪食レポーターマウスと3次元超微細構造解析法を用いて、グリアによるシナプスの貪食が記憶形成に関与しているかどうかを調べました。まず、小脳のバグマングリア (BG) がシナプスを含む神経細胞の一部を貪食していることを明らかにしました。さらに、小脳依存性運動学習に伴い、BGによるプルキンエ細胞のシナプス構造の貪食が亢進していることを見つめました。この貪食作用を Annexin V を用いて阻害すると、シナプスの構造変化が抑制され、学習の効果が低下することを明らかにしました。

### 3. VIP 陽性神経細胞の概日リズム形成における役割を解析する新規ツールの開発

視交叉上核 (SCN) は哺乳類の中枢時計として機能する。SCNは、様々なタイプのニューロンにより構築され、vasoactive intestinal peptide (VIP) 産生ニューロン (VIPニューロン) もその一つである。VIPニューロンは、個々のSCNニューロンの同期に重要な役割を果たすことが知られている。しかし、VIPニューロンがどのように個々のSCNニューロンを同期するかは不明な点が多い。本研究では、VIPニューロンの個体レベルでの機能解析に役立つ新しいツールを開発した。VIPの転写開始コドンの下流にテトラサイクリン依存性転写因子 (tTA) をノックインしたマウスを、クローニングフリー CRISPR/Cas9法を用いて作成した。作成したVIP<sup>tTA</sup>マウスとレポーターマウスであるActb-tetO-EGFPマウスと交配し、EGFPの発現を調べたが、VIPニューロンが局在するSCN及び大脳皮質においてEGFP陽性ニューロンが観察された。VIP<sup>tTA</sup>マウスは、VIPニューロンの機能解析に貢献すると期待される。

## ハイライト

### 「グリア細胞の記憶・学習における役割」

記憶は、シナプス伝達が増強/抑制されることで短期的に保持され、引き続きシナプスの構造変化 (新しいシナプスの形成や不要なシナプスの除去) により長期的に定着すると考えられています。本研究で着目した小脳は、運動学習にとって重要な役割を担っている脳部位です。従来、記憶の研究は神経細胞を中心に行われてきましたが、最近になり、グリア細胞も重要な役割を果たすことがわかりつつあります。本研究では、小脳のグリア細胞であるバグマングリアの貪食を可視化するため、リソソーム中で分解されにくい赤色蛍光タンパク質 (pHRed) をプルキンエ細胞にのみ発現する新しい遺伝子改変マウスを作成し (図1)、バグマングリアに取り込まれた神経細胞の断片をpHRedの発現量で追跡する方法を確立しました。この方法を用いて、バグマングリアが恒常的に近傍のプルキンエ細胞の一部を断片的に貪食することを明らかにしました (図2)。次に、このバグマングリアによる周囲神経細胞の貪食の学習・記憶における役割を調べました。そのため、小脳が関与する水平視機性眼球運動 (HOKR) の学習における役割を解析しました。HOKRの学習後、小脳のバグマングリアによる貪食が亢進し、プルキンエ細胞のスパインの大きさが減少していることを明らかにしました (図3 A, B)。また、貪食を阻害する薬物 (Annexin V) を投与すると、スパインの大きさの減少は抑制され、HOKRの学習効果が低下することを明らかにしました (図3 C)。本研究により、グリア細胞による周囲の神経細胞の貪食が、学習によるシナプスの構造変化を介し、記憶・学習に重要な役割を果たすことが明らかになりました。記憶形成におけるグリア細胞の貪食の役割を

解明することは、記憶力促進や認知症の治療に役立つと期待されます。

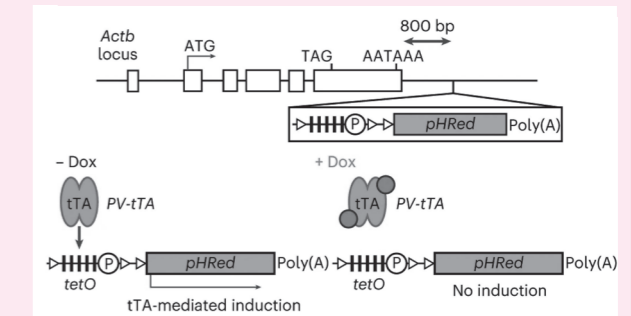


図1 バグマングリアによるプルキンエ細胞の一部の貪食を可視化するマウスの作成  
リソソーム中で分解されにくい赤色蛍光タンパク質 (pHRed) をプルキンエ細胞特異的に発現させるため、Actb遺伝子座にtetO-pHRedをノックインしたマウスとプルキンエ細胞特異的にtTAを発現しているマウス (PV-tTA) を交配する

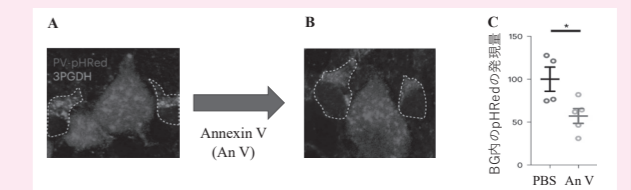


図2 バグマングリアによるプルキンエ細胞の一部の貪食  
A: プルキンエ細胞特異的に発現させたpHRedがバグマングリアの細胞体 (点線で囲まれた部分) に取り込まれている  
B, C: 貪食を阻害するAnnexin Vによりバグマングリア内のpHRedの発現量が減少する

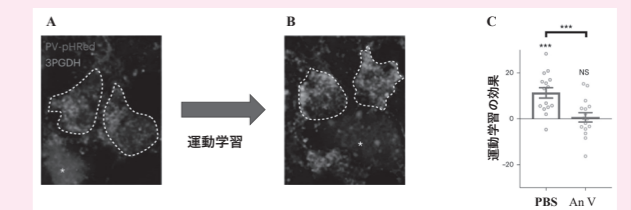


図3 バグマングリアによるプルキンエ細胞の一部の貪食は運動学習に必要な  
A: 運動学習前のバグマングリアの細胞体 (点線で囲まれた部分) 内のpHRed  
B: 運動学習後のバグマングリアの細胞体 (点線で囲まれた部分) 内のpHRedの発現は増加する  
C: 運動学習の効果は貪食を阻害するAnnexin Vにより低下する

## 人事異動

転入：中川道子 (技術補佐員)、大橋祐仁 (研究実践プログラム)  
転出：河合耀瑠 (修士課程)、Bi Haining (博士課程)、松野弘和 (研究実践プログラム)

## 業績目録

### 発表論文

- Ito, T., Hiramatsu, Y., Aida, T., Kushima, I., Yoshida, M., Yoshimi, A., [Tanaka, K.](#), Ozaki, N., Noda, Y. Astroctactin2 (ASTN2) regulates emotional and cognitive functions by affecting neuronal morphogenesis and monoaminergic

- systems. *J Neurochem* (in press)
- Morizawa, Y., Matsumoto, M., Nakashima, Y., Endo, N., Aida, T., Ishikane, H., Beppu, K., Moritoh, S., Inada, H., Osumi, N., Shigetomi, E., Koizumi, S., Yang, G., Hirai, H., [Tanaka, K.](#), Tanaka, K.F., Ohno, N., Fukazawa, Y., Matsui, K. Synaptic pruning through glial synapse engulfment during motor learning. *Nature Neurosci* 25, 1458-1469, 2022.
- Peng, Y., Tsuno, Y., Matsui, A., [Hiraoka, Y.](#), [Tanaka, K.](#), Horike, S., Daikoku, T., Mieda, M. Cell type-specific genetic manipulation and impaired circadian rhythms in *Vip<sup>tTA</sup>* knock-in mice. *Frontiers in Physiology* 13, 895633, 2022
- Ishida, S., Zhao, D., Sawada, Y., [Hiraoka, Y.](#), Mashimo, T., [Tanaka, K.](#) Dorsal telencephalon-specific Nprl1- and Nprl3-knockout mice: novel

- mouse models for GATORopathy. *Hum Mol Genet* 31, 1519-1530, 2022.
- Irie, M., Itoh, J., Matsuzawa, A., Ikawa, M., Kiyonari, H., Kihara, M., Suzuki, T., [Hiraoka, Y.](#), Ishino, F., Ishino, T.K. Retrovirus-derived RTL5 and RTL6 genes are novel constituents of the innate immune system in the eutherian brain. *Development* 149, dev200976, 2022
- Tamura, A., Ito, G., Matsuda, H., Nibe-Shirakihara, Y., [Hiraoka, Y.](#), Kitagawa, S., Hiraguri, Y., Nagata, S., Aonuma, E., Otsubo, K., Nemoto, Y., Nagaishi, T., Watanabe, M., Okamoto, R., Oshima, S. Zranb1-mutant mice display abnormal colonic mucus production and exacerbation of DSS-induced colitis. *Biochem Biophys Res Commun*. 628, 147-154, 2022



# 病態制御科学研究部門 病態細胞生物学分野

教授：清水重臣 プロジェクト准教授：鳥居暁 講師：山口啓史  
プロジェクト講師：辻岡政経、本田真也 助教：仁部洋一  
プロジェクト助教：申珉京、桜井一

## 研究内容

### 概略

当研究室では、①自らが発見した細胞機能であるゴルジ体関連分解 Golgi-membrane-associated degradation (GOMED) の生理的、病理的意義の解明、②オートファジー分子機構とその生理的、病理的意義の解明、③細胞死機構の解析とその破綻に由来する疾患の治療薬開発、④ミトコンドリアやゴルジ体に代表されるオルガネラの新たな機能の探索、を4つの柱として研究を行っている。

GOMED に関しては、ゴルジ体の構造や機能と密接な関係があり、分子機構の詳細な解析を行なっている。細胞死に関しては、哺乳動物個体の中で細胞死システムが如何に機能しているかを探索している。特に、非接着性細胞死 (アノイーキス) などの非アポトーシス細胞死を解析している。オルガネラに関しては、ミトコンドリアやゴルジ体の新たな機能の解明、他のオルガネラとの情報交換の基本原理解明を目指している。最終的には、これらの知見を基盤に生命の動作原理の本質を解明することを目指している。

## 研究紹介

### 1. GOMED の分子機構と生理機能解析

GOMED は、オートファジーと類似の構造体によって実行されるタンパク質分解機構である。ただし、誘導刺激、実行分子、分解タンパク質の種類などが、オートファジーとは大きく異なる。また、オートファジーが小胞体膜を利用して実行されるのに対し、GOMED はゴルジ体膜を利用して実行される (図1)。ゴルジ体は、通常シス、メディアル、トランス槽が一体的に機能し、分泌タンパク質や細胞膜タンパク質に適切な修飾を加え、適切な場所に運搬するために機能している。しかしながら、分泌タンパク質などが過剰に運搬されたり、タンパク質に異常が生じたりすると、GOMED が活性化し、トランス槽の一部がメディアル槽から乖離し、球体化し、異常なタンパク質を包み込む。包み込まれたタンパク質は、その後リソソーム酵素によって分解される。オートファジーと GOMED は、1つの細胞の中で共存しており、細胞に加わった刺激の種類によって、あるいは分解する基質の種類によって、使い分けられており、生体

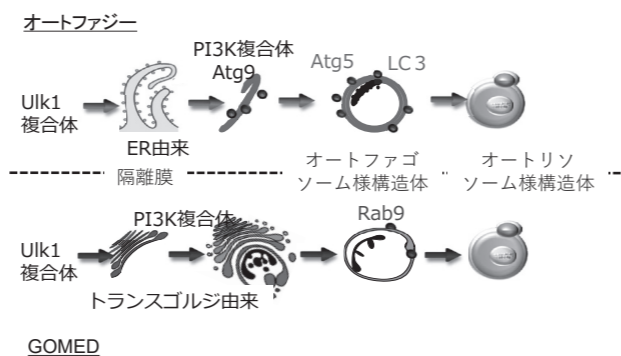


図1 オートファジーと GOMED の比較  
オートファジーは、Atg5 に依存した反応で、小胞体 (ER) 膜を利用して進行する (上段)。一方、GOMED は、Atg5 に依存しない反応であり、トランスゴルジ膜を利用して進行する。 (下段)。

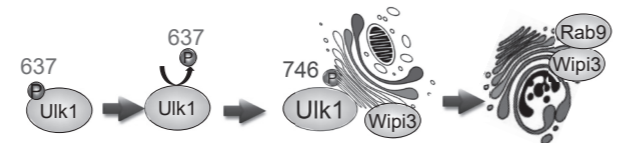


図2 GOMED の分子機構  
GOMED は、Ulk1 の脱リン酸化反応から始まり、引き続いて別のアミノ酸がリン酸化される。この後、Ulk1 はゴルジ体へ移動し、下流のシグナルを活性化する。下流では、まず Wipi3 が活性化し、Rab9 を用いてオートファゴソーム様構造体が形成される。

での役割は全く異なっている。

GOMED の分子機構は、酵母から哺乳動物細胞までよく保存されており、初期段階においては Ulk1 や Beclin 1 などの分子が重要となる (図2)。Ulk1 に関しては、リン酸化反応が重要であり、① Ulk1 の 637 番目のセリンの脱リン酸化、② 746 番目のセリンのリン酸化、③ ゴルジ体膜への移動、の順番でシグナルが活性化される。さらに、その下流では Wipi3 分子が機能している。Wipi3 分子も、通常は細胞質中に局在するが、GOMED のシグナルが細胞に加わると、ゴルジ体へ移動し、ゴルジ体膜の変形にかかわる。湾曲したゴルジ体膜は、細胞質成分やゴルジ体中のタンパク質を包み込み、最終的にリソソーム酵素で分解する。

通常のオートファジーと GOMED の最大の違いは、分解基質が異なる点にある。通常のオートファジーは、p62 や LC3 などの細胞質タンパク質を主に分解する。

一方で、GOMED は、ゴルジ体を経由して運搬される分子が基質分子となる。このような GOMED 機能の代表的なものとして、インスリン分泌制御がある。インスリンは、膵臓のインスリン分泌細胞 ( $\beta$  細胞) で合成されゴルジ体を介して分泌されるが、細胞周囲のグルコース濃度が低下する (即ち血糖値が下がる) と、さらなる低グルコースを防ぐためにインスリン分泌が抑制される。この時、 $\beta$  細胞内では、GOMED が誘導されてインスリンの滞留が緩和されるのである。また、GOMED は、神経細胞の恒常性維持にも関わっている。この知見は、神経細胞特異的に Wipi3 遺伝子を欠損させたマウスにおいて、小脳のプルキンエ細胞が変性脱落し、行動異常が出現したことより明らかである。この時の GOMED は、鉄輸送タンパク質であるセルロプラスミンの恒常的分解に寄与しており、この分解が起こらないと、鉄沈着性の神経変性疾患を発症することとなるのである。

### 2. ケミカルバイオロジーを応用した創薬開発研究

GOMED の変調が、神経変性疾患などを起こすことより、逆に GOMED を活性化させることにより、神経変性疾患の治療が可能ではないかと考えた。実際に、GOMED 誘導化合物を探索し、ポリグルタミン病のモデルマウスに投与したところ、ポリグルタミン蓄積の緩

和、神経変性の改善、行動異常の正常化が認められた。現在、神経変性疾患以外の疾患への応用を検討している。

### 3. 細胞死の解析

生体で起こる主な細胞死はアポトーシスであるが、近年の解析によって非アポトーシス細胞死の重要性が明らかにされつつある。当研究室では、これらに先駆けて、オートファジー細胞死やミトコンドリア経路ネクロシスを発見しており、アポトーシスを含めてこれら3つの細胞死を中心に解析を行っている。最近、細胞接着性の喪失による細胞死 (アノイーキス) の新たな実行メカニズムを発見した。

### 4. オルガネラの新たな機能の探索

従来、ミトコンドリアやゴルジ体などのオルガネラは、細胞内で各々独自の機能を発揮していると考えられてきた。しかしながら、超解像顕微鏡の開発によりオルガネラ間 (ミトコンドリアと小胞体の間など) に接触面が存在し、接触面において様々な細胞機能が発揮されていることが明らかになりつつ有る。

我々は、ゴルジ体とミトコンドリア、ゴルジ体と小胞体との間にクロストークが存在することを見出しており、ゴルジ体によるミトコンドリア調節や小胞体調節の詳細なメカニズムを解析している。

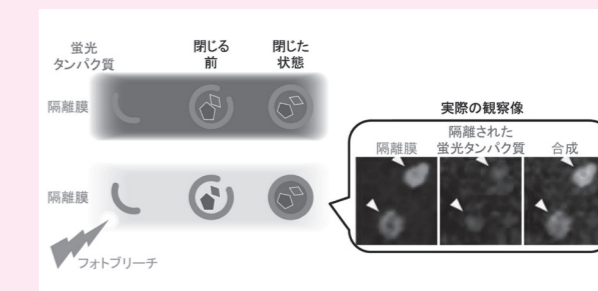
## ハイライト

### オートファジーと GOMED の成熟過程を可視化する新規手法の開発

オートファジーや GOMED は、細胞内成分を分解する時に、分解したい成分を隔離膜で包み込んで、細胞質から隔離する。この隔離の進行を適切に評価する研究手法はこれまで存在しなかった。そこで我々は、極小の蛍光分子を隔離膜内に入れ、蛍光分子が漏れ出ないことで隔離の進行を評価する測定系を構築した。

具体的には、GFP などの蛍光タンパク質を細胞に発現させる。その後、細胞の一部にフォトブリーチ (蛍光タンパク質を強力に励起することで消光させる技術) を行う (左図下)。これにより、隔離膜に包まれていない蛍光タンパク質は、自由拡散によって消光し、隔離膜に

包み込まれた蛍光タンパク質は、隔離膜内にとどまり強い蛍光を発する (図右)。この手法を、FLAD (FLIP-based autophagy detection) と命名した。



FLAD によるオートファジーや GOMED の可視化  
オートファジーや GOMED は、細胞質成分を隔離する。この時に、細胞の一部をブリーチすると、隔離された構造物のみで、強い蛍光が残る (左下)。実際に、細胞質に RFP タンパク質を発現させ、隔離膜を緑色蛍光で標識すると、緑色の球状体の中に RFP のシグナルが観察される。

## 人事異動

昇任：荒川聡子 (リサーチコアセンター教授)

## 研究業績

### 主な論文

1. Nickel particles are present in Crohn's

disease tissue and exacerbate intestinal inflammation in IBD susceptible mice. Matsuda H, Nibe-Shirakihara Y, Tamura A, Aonuma E, Arakawa S, Otsubo K, Nemoto Y, Nagaishi T, Tsuchiya K, Shimizu S, Ma A, Watanabe M, Uo, M, Okamoto R. BBRC 592, 2022 74-80  
2. Absence of ULK1 decreases AMPK activity in the kidney, leading to chronic kidney disease progression. Yanagi T, Kikuchi H, Susa K, Takahashi N, Bamba H, Suzuki T, Nakano Y,

Fujiki T, Mori Y, Ando F, Mandai S, Mori T, Takeuchi K, Honda S, Torii S, Shimizu S, Rai T, Uchida S, Sohara E. Genes Cells 2022, 12989.  
3. FLIP-based autophagy-detecting technique reveals closed autophagic compartments. Tajima-Sakurai H, Arakawa S, Noguchi S, and Shimizu S. Scientific Reports 2022, 12, 22452.

# バイオデータ科学研究部門

## *Division of Biological Data Science*

### 【研究の理念と概要】

バイオデータ科学研究部門では、ゲノム、トランスクリプトーム、プロテオームなどのオミックスデータや、単一細胞解析、分子構造解析、生体イメージングなどの最新解析技術によって得られるバイオデータを、AIなどの最新のデータサイエンスで統合解析することによって、疾患の病因解明や画期的な治療法の開発につなげることを目指しています。さらに、これらのバイオデータを基に、「病気への罹りやすさ」といった、これまで体質と呼ばれてきたものを科学的に解明することで、個別化医療の実現や、疾患予防法の開発を目指します。

### 【新規開設分野】

計算システム生物学分野

先端ナノ医工学分野

### 【分野】

分子構造情報学分野

ゲノム機能情報分野

ゲノム機能多様性分野

生体情報薬理学分野

### 【部門の主な研究成果】

2022年度プレスリリース

- タンパク質構造を変化させる遺伝子多型を同定する手法を開発 – 選択的スプライシングの複雑性を読み解くことで疾患の病態解明に挑む – (ゲノム機能多様性分野)。
- 国際ゲノム解析により関節リウマチの遺伝的背景を解明 – 個人のゲノム情報を活用した発症予測の社会実装に貢献 – (ゲノム機能多様性分野)。



# バイオデータ科学研究部門 分子構造情報学分野

教授：伊藤暢聡 准教授：沼本修孝 助教：花園祐矢

## 研究内容

ゲノム配列の決定やプロテオミクスの進歩により、多くのタンパク質の一次配列やその経時的な機能が解明されてきているが、タンパク質はある特定の立体構造をとることにより初めてその機能を発揮する。いわゆるプリオン病が示すように、タンパク質の化学的組成が同じでも、その立体構造が正しくなければ活性を示さないだけでなく疾病と関連することもある。

本分野では、タンパク質を中心に生体高分子の立体構造やそれに関連した物理化学的な性質を研究することを目的としている。また、合理的薬物設計を目指し、タンパク質と低分子化合物の複合体の構造も数多く決定している。X線結晶解析による立体構造の解析を中心に、分子生物学的手法やコンピュータシミュレーション等も利用してタンパク質の機能発現機構の研究も行っている。一方、現在までに20万を超える生体高分子の立体構造情報（原子座標）が蓄積されており、これと情報科学を結ぶデータベースの構築にも寄与している。こうした研究がこれらのタンパク質を標的とした創薬に結びつくことを目標としている。

## 研究紹介

### 1. ヒト由来 B 細胞抑制性因子 CD72 の構造機能相関

自己免疫疾患の発症には、核酸を含む自己抗原への抗体産生が大きく関わっている。わたしたちは B 細胞上に発現している抑制性共受容体 CD72 に着目し、CD72 が RNA を含む核内自己抗原 Sm/RNP (U1 snRNP) に特異的に結合して Sm/RNP への自己抗体産生を抑制していることを明らかにし、またこれまでにマウス由来 CD72 のリガンド結合ドメイン (CTL D) の結晶構造を報告したが、ヒト CD72 の構造は不明であった。CD72 による Sm/RNP への自己抗体産生の抑制は、代表的な全身性自己免疫疾患である全身性エリテマトーデス (SLE) の発症を抑制しており、マウスおよびヒトの CD72 多型は SLE 発症に関連する。ヒト由来 CD72 の詳細な立体構造に基づくリガンド認識機構の解明は、新たな治療法の開発につながる期待される。

ヒト CD72-CTL D には、マウス CD72-CTL D と比べて長い挿入配列が存在し (図 1)、一定の構造をとらな

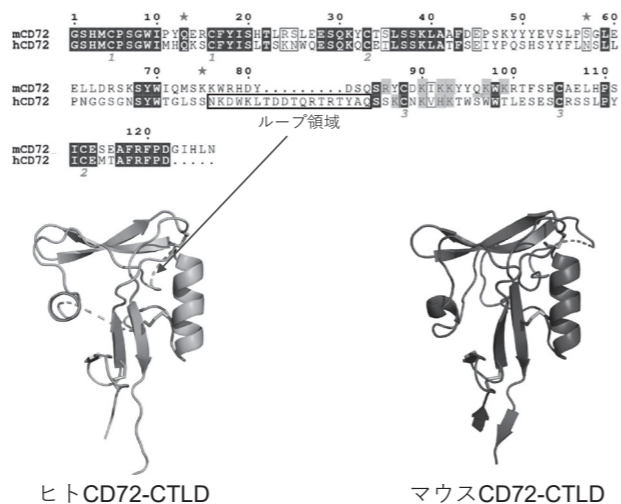


図 1 (上段) ヒトおよびマウス CD72-CTL D のアミノ酸配列比較。ヒト CD72-CTL D の挿入配列 (ループ領域) を box で囲んだ。(下段) ヒトおよびマウス CD72-CTL D の結晶構造。ヒト CD72-CTL D の挿入配列部位に相当する領域を矢印で示した。

いランダムループ領域が存在すると考えられる。このような領域は構造解析に不利なため、わたしたちはこの挿入配列を欠損させたヒト CD72-CTL D 変異体を用いて結晶化をおこない、結晶構造を決定した。構造解析には大型放射光施設 SPring-8 における高輝度マイクロフォーカス X 線ビームと自動測定/解析システムを用い、多数の結晶クラスターからの回折データを統合して解析することで構造決定に成功した。マウス由来 CD72-CTL D の構造との比較 (図 1) から、CD72 が核酸とタンパク質の複合体である Sm/RNP をどのように認識し、結合親和性を調節しているのかについての分子機構を議論できるようになった。マウスとヒトの CD72-CTL D では、リガンド結合部位と推測される部位での分子表面の静電ポテンシャルが大きく異なり、特に核酸との親和性に大きく影響があるものと思われる。また構造解析に際して欠損させたループ領域は、リガンドに認識には大きく影響しないことが、立体構造からも、相互作用解析からも支持された。より詳細な結合様式の構造情報を得るため、CD72-CTL D と Sm/RNP との複合体の構造解析を進めている。将来的に CD72 の機能を利用した新しい自己免疫疾患の治療法の確立を目指し、CD72 の機能を制御する新規分子の合理的設計などへの構造基盤を得ることを目指している。

本研究は、日本大学の鐔田武志教授との共同研究である。

### 2. ビタミン D 受容体 (VDR) における新規リガンド化合物の探索

ビタミン D から生成される活性型ビタミン D<sub>3</sub> (1 $\alpha$ , 25-ジヒドロキシビタミン D<sub>3</sub>) はステロイドホルモンの一種であり、生体内において血中カルシウム濃度を調節するほか、免疫調整、細胞増殖抑制、分化促進など多様な機能を持つ。そのため、くる病、骨粗鬆症といった骨疾患、乾癬などの皮膚疾患にビタミン D<sub>3</sub> 誘導体が治療薬として使用される一方、副作用として高カルシウム血症を引き起こす可能性がある。したがって、VDR に作用するが、ビタミン D とは異なる作用機序を持つ化合物を探索することが求められている。様々な新規リガンドについて VDR リガンド結合ドメイン (VDR-LBD) との複合体の結晶構造解析を行い、その分子認識機構をより詳細に解明し、さらに高機能なリガンド分子の合理的設計を行っている。

リトコール酸は第 2 の内因性 VDR アゴニストとして同定されている。リトコール酸自体は VDR 親和性やビタミン D 活性は低い、我々はこれまでにリトコール酸誘導体 (Dcha-20) が強力なアゴニストであること、そのカルボキシル基が VDR のリガンド結合部位のアミノ酸残基と相互作用することを報告している。最近、Dcha-20 は活性型ビタミン D<sub>3</sub> よりも低い血糖値活性を持つことが報告され、臨床使用上有益であると考えられる。しかし、Dcha-20 の予備的な薬物動態試験から、マウスでは速やかに排泄されることが報告されている。そこで、リトコール酸のカルボキシル基の機能を明らかにするために、Dcha-20 のアミド誘導体を設計し、N-シアノ基と N-2-カルボキシエチル基を持つ化合物が強力な活性を示した。その中で N-2-カルボキシエチル基を持つ化合物と VDR-LBD の構造解析を行った。構造解析の結果、VDR-LBD のアミノ酸残基とはアミド基ではなく、末端のカルボキシル基が水素結合を形成していることがわかった (図 2)。Dcha-20 のカルボキシル基は、強力なビタミン D 活性と薬物動態特性の両方に重要であると考えられる。これらの知見は、リトコール酸の末端極性基を修飾することで、高い活性と薬物動態特性を

有するリトコール酸誘導体が創出される可能性を示唆している。

本研究は生体材料工学研究所の影近弘之教授、日本大学の横島誠教授、お茶の水女子大学の棚谷綾准教授との共同研究である。

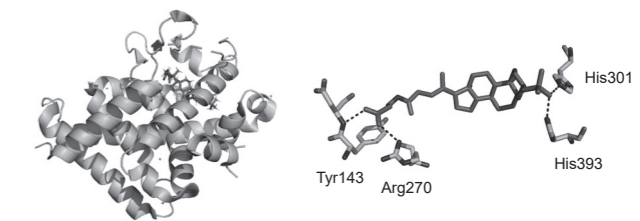


図 2 (左) VDR-LBD とリトコール酸誘導体の複合体構造。(右) VDR-LBD とリトコール酸誘導体の結合様式。

### 3. Protein Data Bank の改善

世界的な構造ゲノム科学の進展に伴い X 線結晶構造解析や核磁気共鳴 (NMR) の手法の高度化がなされ、また近年の電子顕微鏡の急激な発展により、今日では 20 万を超える生体高分子の立体構造が蓄積され、日々増加している。この膨大な立体構造情報はバイオインフォマティクスなどの分野での貴重な情報源となっている。構造生物学が成立した早い時期から Protein Data Bank (PDB) がこうした成果の主たるアーカイブとして機能してきた。現在は、米国 Rutgers 大学を中心とした Research Collaboratory of Structural Bioinformatics (RCSB)、ヨーロッパの European Bioinformatics Institute (EBI)、そして大阪大学蛋白質研究所を中心とした日本の Protein Data Bank Japan (PDBj, <http://www.pdbj.org>) の三者からなる world-wide PDB (wwPDB) が連携して PDB の維持・運営にあたっている。本研究室は PDBj の一員として PDB の活動に参加している。そのひとつに、研究の社会還元の一環として PDBj が作成している、生体高分子立体構造の教育用データベース、Encyclopedia of Protein Structures (eProtS) がある。これは高校生以上を対象にしたものであるが、教育的な目的だけではなく、健康に関して一般の人々の関心が高まっていることもあり、そうした社会的に関心の高いタンパク質についてその生体構造中心に性質や機能を紹介している。

### 研究業績

#### 原著論文

1. Numoto N., Onoda S., Kawano Y., Okumura H., Baba S., Fukumori Y., Miki K., Ito N. Structures of oxygen dissociation intermediates

of 400 kDa V2 hemoglobin provide coarse snapshots of the protein allostery. *Biophys. Physicobiol.*, 19, e190019, 2022.

2. Hanazono Y., Hirano Y., Takeda K., Kusaka K., Tamada T., Miki K. Revisiting the concept of peptide bond planarity in an iron-sulfur protein by neutron structure analysis. *Science*

*Advances.*, 8, eabn2276, 2022.

3. Yoshihara A., Kawasaki H., Masuno H., Takada K., Numoto N., Ito N., Hirata N., Kanda Y., Kagechika H., Tanatani A. Lithocholic Acid Amides as Potent Vitamin D Receptor Agonists. *Biomolecules.*, 12, 130, 2022.



# バイオデータ科学研究部門 ゲノム機能情報分野

教授：二階堂愛 准教授：笹川洋平 助教：山根万里子

## 研究内容

本分野では新しい大規模ゲノム実験法やデータ解析手法の開発を行っています。これらの技術を利用し難治性疾患の創薬や再生医療の実現を目指します。近年、生命の最小単位である細胞レベルから疾患を理解する研究に注目が集まっています。我々は臓器に含まれる細胞の機能や状態をもれなく計測するために、1細胞ごとのRNAの量や種類を測る1細胞RNA-seq法の開発を行っています。この方法で得られた1細胞ごとのRNAの量や種類のデータを人工知能技術で解析することで、臓器内の細胞の機能や状態、分化系譜、細胞間相互作用などを同定できます。我々は生命情報科学（バイオインフォマティクス）や機械学習、統計科学、計算機科学などを駆使し、1細胞RNA-seqデータから疾患の原因や創薬標的を発見するアルゴリズムを開発しています。これらの技術は特定の細胞とターゲットとする薬や特定の細胞を補う再生医療の開発に貢献するでしょう。本分野で開発した技術を創薬や再生医療に繋げるべく企業に技術移転することで社会実装を行っています。

## 研究紹介

### (1) 免疫に関わる遺伝子の発現多様性と活性化

細胞の運命決定に重要な役割を果たす転写因子NF- $\kappa$ Bは、スーパーエンハンサー(SE)の活性化に関与しています。しかし、NF- $\kappa$ BのSEの遺伝子制御における生物学的機能は十分に解明されていませんでした。我々は、大阪大学蛋白質研究所細胞システム研究室の岡田眞里子先生、Johannes N Wibisanaさんを中心とした研究グループに参加し、NF- $\kappa$ Bを介したSE活性について研究を行いました。抗IgM刺激を受けたB細胞において、RelAの蛍光イメージング、単一細胞のトランスクリプトーム解析およびクロマチンアクセシビリティ解析を用いて、NF- $\kappa$ Bを介したSE活性の特徴を検討しました。細胞刺激による核内RelAフォーカスの形成は、ヘキサンジオール存在下で消失し、液-液相分離のプロセスが根底にあることが示唆されました。得られたSEはスイッチ的な発現を誘導し、転写反応の細胞間変動性を高めました。これらの特性は、獲得したシス調節相互作用の数と相関し、スイッチ様遺伝子誘導はSE中の

NF- $\kappa$ B結合部位の数と相関していました。本研究は、NF- $\kappa$ B SEが高分子相互作用からなる液体凝縮体の形成を通じて、おそらくB細胞の転写調節に重要な役割を担っていることを示唆しています。

### (2) ライフサイエンス計測におけるスループットの再定義

近年、フォトニクス、エレクトロニクス、コンピューティング、流体工学、ロボット工学、化学の技術的進歩により、ライフサイエンスデータの取得と処理の速度、自動化と並列化の規模が大幅に向上しました。これにより、分子、化合物、遺伝子、細胞の測定、DNAシーケンスにおいて、ハイスループット性能が実現されました。「スループット」という言葉は、バイオメディカル界で広く受け入れられ、常に使われています。ハイスループットは、効率的で、再現性があり、時間的制約がなく、低コストで、希少価値の高いアプリケーションに不可欠なものです。

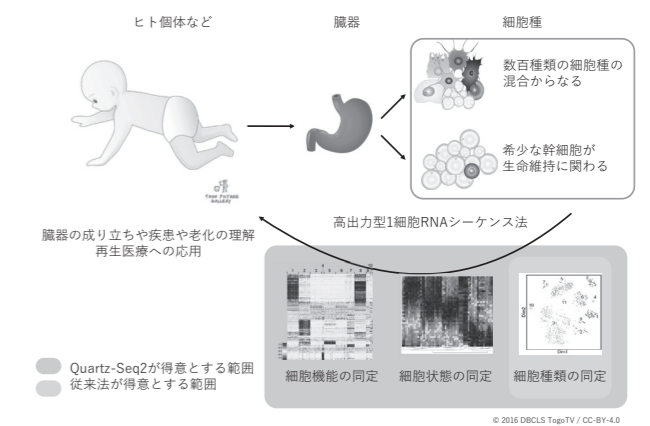
しかし、この用語は曖昧に定義されていることが多く、生命科学の異なる領域で一貫して使用されていません。実際、電気工学の分野で厳密に定義されている「スループット」とは異なる使われ方をしており、スループットは理論上、一定時間内に送信または処理できるデータの最大量を表し、ビット/秒の単位で数値化されます。ライフサイエンスでは、スループットが非電氣的なパラメータ（例えば、化学、生物、流体）に依存し、不均一で時間変動することが多いため、実際に達成できるスループットは理論スループットよりも数桁低くなる場合があります。さらに、研究領域によってスループットの単位が異なるため領域間の連携が阻害されています。そこで我々は理論的に到達可能なスループットと現実的に達成可能なスループットを区別して計算することを提案しました。

### (3) 自閉症モデルマウスと免疫異常

免疫異常は自閉症の病態に重要な役割を担っています。脳の炎症から末梢の自然免疫・適応免疫の乱れまで、全身レベルで起こる変化は自閉症患者で頻繁に観察されるが、その背後にある本質的なメカニズムはまだ解明さ

れていません。我々は神戸大学大学院医学研究科生理学・細胞生物学講座生化学分野の内匠透先生が率いる研究チームに参加し、シングルセルRNAシーケンス(sc-RNA-seq)により、特発性自閉症モデルマウスにおける免疫制御異常の発生源を追跡しました。その結果、大動脈-生殖腺-中隔膜(AGM)および卵黄囊(YS)前駆細胞において、HDAC1を介したエピジェネティック機構の制御異常が胚発生中の決定的な造血を変え、ミクログリア発生に関わるAP-1複合体の発現を低下させることが判明しました。その後、これらの変化は免疫系の制御異常を引き起こし、腸内細菌の異常や脳内ミクログリアの過活動につながるようになりました。さらに、制御不能な免疫プロファイルが特定の微生物叢の構成と関連していることを確認し、免疫制御不能なサブタイプの自閉症を特定するバイオマーカーとなりうることを示しまし

た。この結果は、自閉症の免疫異常が脳から腸に至る共通のメカニズムを明らかにし、自閉症の異質性を解明するとともに、免疫異常のある自閉症サブタイプを標的とした治療の可能性に新たな知見を与えるます。



## 人事異動

転入：矢野実(研究支援者)、関良子(研究支援者)、相馬淳美(研究支援者)、岩山佳美(非常勤講師)  
転出：なし

## 業績目録

### 原著論文

1. Johannes N Wibisana, Takehiko Inaba, Hisaaki Shinohara, Noriko Yumoto, Tetsutaro

Hayashi, Mana Umeda, Masashi Ebisawa, Itoshi Nikaido, Yasushi Sako, Mariko Okada. Enhanced transcriptional heterogeneity mediated by NF- $\kappa$ B super-enhancers. PLoS genetics. 2022年6月1日 18(6) e1010235

2. Maik Herbig, Akihiro Isozaki, Dino Di Carlo, Jochen Guck, Nao Nitta, Robert Damoiseaux, Shogo Kamikawaji, Eigo Suyama, Hirofumi Shintaku, Angela Ruohao Wu, Itoshi Nikaido, Keisuke Goda. Best practices for reporting throughput in biomedical research. Nature methods. 2022年5月4日 19(6) 633-634

3. Chia-Wen Lin, Dian E Septyaningtrias, Hsu-

Wen Chao, Mikiko Konda, Koji Atarashi, Kozue Takeshita, Kota Tamada, Jun Nomura, Yohei Sasagawa, Kaori Tanaka, Itoshi Nikaido, Kenya Honda, Thomas J McHugh, Toru Takumi. A common epigenetic mechanism across different cellular origins underlies systemic immune dysregulation in an idiopathic autism mouse model. Molecular psychiatry. 2022年5月2日 27(8) 3343-3354

4. Sabrina T Amorim, Koki Tsuyuzaki, Itoshi Nikaido, Gota Morota. Improved MeSH analysis software tools for farm animals. Animal genetics. 2021年12月2日

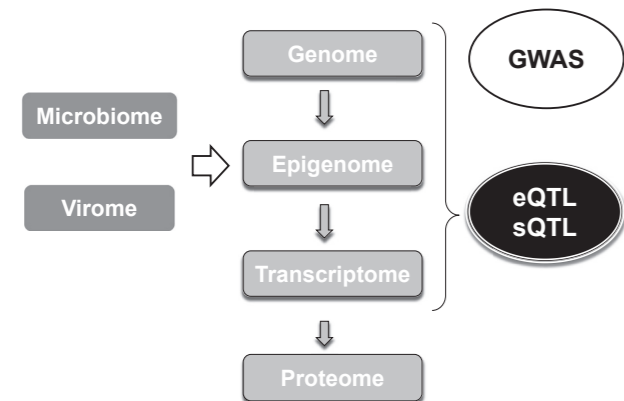


# バイオデータ科学研究部門 ゲノム機能多様性分野

教授:高地雄太 准教授:三橋里美、西田奈央 (2023年1月より)  
助教:上田真保子

## 研究内容

免疫アレルギー疾患・生活習慣病・認知症・癌などの多因子疾患は、個人間の遺伝子配列の違い、すなわち遺伝子多型が積み重なることによって発症に至る。ゲノムワイド関連解析 (genome-wide association study: GWAS) によって、様々な疾患の感受性遺伝子多型が明らかにされたが、病態解明は道半ばである。本分野は、ヒトゲノム、エピゲノム、トランスクリプトームなどの様々なビッグデータを用いた解析に、分子生物学的手法を用いた解析を統合することによって、遺伝子多型によってもたらされるゲノム機能の多様性を理解し、多因子疾患の病態解明を行う。また、個人のゲノム情報に基づいた病態や薬剤応答性の予測法を開発し、いわゆるプレジジョン医療の確立を目指す。



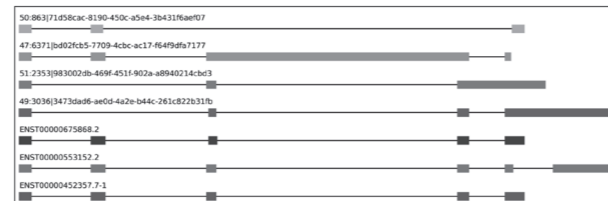
## 研究紹介

### 1. 遺伝子多型の機能解析による病態解明

多因子疾患の感受性遺伝子領域の多くは、遺伝子多型が発現量や選択的スプライシングに影響を与える領域、すなわち expression quantitative trait locus (eQTL) や splicing QTL (sQTL) であると考えられている。したがって GWAS の結果を解釈するためには、GWAS と eQTL/sQTL データの統合解析が必須であるが、我々は日本人の免疫細胞サブセットにおける QTL カタログの樹立を行ってきた (*Nat Genet* 2017, *Cell* 2021)。

eQTL が、遺伝子機能を量的に変えるのに対して、sQTL はタンパク構造・機能を質的に変えることによって疾患に寄与している可能性がある。しかし、従来の

COVID-19重症化遺伝子であるOAS1のスプライシングアイソフォーム



ショートリード・シーケンサーによる発現解析では、mRNA の全長を明らかにすることができない。本分野ではロングリード・シーケンサーを用いたスプライス・アイソフォーム解析を行うことによって、疾患に関わる sQTL の全貌を明らかにする。

まず、sQTL のうち、遺伝子のタンパク質の配列を変化させるものを網羅的に明らかにする手法として、integrated-isoform ratio QT ( $i^2$ -QTL) 解析法を開発した (*Nat Commun* 2022)。また、免疫細胞 28 サブセットにおけるロングリード・シーケンスによる網羅的発現解析 (RNA-seq) を行い、免疫細胞におけるアイソフォームのアトラス (Immune Isoform Atlas) を作成した (*bioRxiv* 2022)。このアトラスを用いることによって、免疫が関連する様々な病態解明が進むものと考えられる。

### 2. 疾患感受性遺伝子の探索

これまで行われてきた GWAS の結果として、集団における遺伝子多型の違いも少なからず存在することが明らかになっている。我々は、関節リウマチのゲノム解析を目的とした国際共同研究グループ (Rheumatoid Arthritis Consortium International: RACI) において、世界中の様々な集団の GWAS データのメタ解析を行うことによって、あらたに 34 の遺伝子領域が疾患と関連することを明らかにした (*Nat Genet* 2022)。また 2022 年度より、診断未確定段階の関節炎患者における診断・予後予測を可能にすることを目的に、全ゲノムシーケンシングによる網羅的なゲノム解析プロジェクトを開始している (AMED 免疫アレルギー疾患実用化研究事業)。

### 3. システムズ・アプローチによる疾患の病態理解

個々の遺伝子多型を解析することによって、多因子疾患

の病態の側面が明らかになるが、個人の病態を形成するのはこれらの遺伝子多型の積み重なりである。したがって、疾患をシステムとみなしたうえで、この遺伝子多型の積み重なりをシステムズ・アプローチによって解析することが、病態の全体像や個人間の病態の違いを評価するために必要である。この積み重なりを評価する有力なツールとして Polygenic Risk Score (PRS) が有望視さ

れているが、我々は東京女子医科大学 IORRA コホートとの共同研究により、GWAS のサマリーデータから構築された PRS が、関節リウマチ患者の骨破壊の程度を予測できることを明らかにした (*Arthritis Rheumatol.* 2022)。この PRS に様々なビッグデータを組み込み、改善することによって、さまざまな多因子疾患の病態予測につなげる。

## 人事異動

転入:西田奈央(准教授)、岩佐直美(事務補佐員)、井藤理恵(技術補佐員)  
転出:三橋里美(聖マリアンナ大学)、稲毛純(コロラド大学)

## 研究業績

### 原著論文

1. Yamaguchi K, Ishigaki K, Suzuki A, Tsuchida Y, Tsuchiya H, et al. Splicing QTL analysis focusing on coding sequences reveals mechanisms for disease susceptibility loci. *Nat Commun.* 13. 4659, 2022.
2. Tsuji H, Ohmura K, Jin H, Naito R, Arase N, et al. Anti-Double-Stranded DNA Antibodies Recognize DNA Presented on HLA Class II Molecules of Systemic Lupus Erythematosus

- Risk Alleles. *Arthritis Rheumatol.* 74. 105-11, 2022.
3. Takeshima Y, Iwasaki Y, Nakano M, Narushima Y, Ota M, et al. Immune cell multiomics analysis reveals contribution of oxidative phosphorylation to B-cell functions and organ damage of lupus. *Ann Rheum Dis.* 81. 845-53, 2022.
4. Suetsugu H, Kim K, Yamamoto T, Bang SY, Sakamoto Y, et al. Novel susceptibility loci for steroid-associated osteonecrosis of the femoral head in systemic lupus erythematosus. *Hum Mol Genet.* 31. 1082-95, 2022.
5. Scofield RH, Lewis VM, Cavitt J, Kurien BT, Assassi S, et al. 47XXY and 47XXX in Scleroderma and Myositis. *ACR Open Rheumatol.* 4. 528-33, 2022.
6. Kato D, Mitsuhashi S, Miya F, Saitoh S, Okamoto N, et al. Utility of tissue-specific gene expression scores for gene prioritization in Mendelian diseases. *J Hum Genet.* 67. 739-42,

7. Ishigaki K, Sakaue S, Terao C, Luo Y, Sonehara K, et al. Multi-ancestry genome-wide association analyses identify novel genetic mechanisms in rheumatoid arthritis. *Nat Genet.* 54. 1640-51, 2022.
8. Honda S, Ikari K, Yano K, Terao C, Tanaka E, et al. Association of Polygenic Risk Scores With Radiographic Progression in Patients With Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheumatol.* 74. 791-800, 2022.

### 著書・総説

1. 高地 雄太, 関節リウマチの遺伝素因, 日本臨床 80(4)41-45, 2022
2. 高地 雄太, SLE の遺伝学, 日本臨床 80(5)757-762, 2022
3. 高地 雄太, 遺伝要因を用いた関節リウマチの発症期の診断・病態予測, 臨床リウマチ, 34(1)38-43, 2022

ジョイントリサーチ部門  
難病基盤・応用研究プロジェクト室  
大学院教育研究支援実験室



# ジョイントリサーチ部門 未病制御学研究部門

准教授：安達貴弘 教授：仁科博史（兼任） 技術補佐員：飛田めぐみ 共同研究員：林卓人

## 研究内容

子供のアトピーや発達障害、成人してからの生活習慣病も増え、さらには長寿社会となり認知症も社会的問題となっている。これらの原因として遺伝的な要因以外にも環境要因による微細な異常に起因した慢性炎症が、素因となることがわかってきており、相互の疾患に相関があることも指摘されている。病気をより早期に検出できれば、我々により負担が少なく、様々な疾患を未然に防ぐことができ、健康寿命を延ばすことができる。最近では、病気の兆候を示す前（未病）を標的とした“未病の予防・治療”が謳われている。そのためには生体情報を高感度でモニタリングすることと、“未病の予防・治療”方法の開発が必要である。そこで我々は、より早期に簡便に生体内の微細な異常（超早期未病）を検出し、それを標的として、我々に負担が少ない予防・治療方法の開発を目指した研究に取り組んでいる。

## 研究紹介

### 免疫応答制御機能の解明

免疫細胞の動態のみならず、活性化までを生体内でモニターできる細胞系譜特異的なカルシウムバイオセンサー（YC3.60）マウスを世界に先駆けて樹立し、6D（x、y、z、時間、Ca<sup>2+</sup>シグナリング、細胞標識）生体イメージングを確立してきた（ハイライト）。このシステムを利用し、生体内での免疫細胞の活性化、分化の様子をリアルタイムで可視化してみることができる。また、このマウスを利用した細胞内Ca<sup>2+</sup>シグナリングに着目した生体イメージングにより、病態を発症しなくても素因があること（超早期未病）が検出できることを見出している（図1）。この系をさらに発展させ、アレルギー、ウイルス感染、自己免疫疾患など各種疾患の発症、および病態の進行過程で起こっている事象の詳細な解明を目的としている。

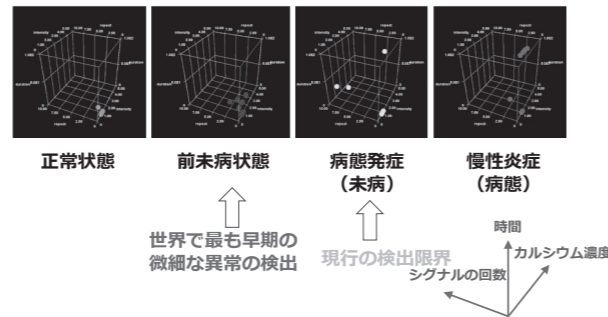


図1. 健康状態の高感度モニタリングシステム  
細胞系譜特異的なカルシウムバイオセンサーマウスを用いた生体イメージングによる免疫細胞のCa<sup>2+</sup>シグナリングを、正常な状態から基にして、病態発症前の素因となる微細な異常を検出できる。このシステムで、病態発症から慢性疾患への進行も高感度に検出でき、生体の健康状態をモニタリングすることができる。

### 腸管センシングネットワークおよび臓器連関の解明

腸管は進化の過程を遡れば、我々、生命体のプロトタイプであり、生命現象の根源をなす重要な器官である。腸管には免疫系、末梢神経系、内分泌系が集中しており、中枢神経系とも直接の情報のやり取りをしている。口から摂取した食物、医薬品などが腸管でどのように認識されているのか、これまではブラックボックスだったが、我々が世界で初めて確立した生体イメージングシステムにより、その応答を神経、免疫、あるいは内分泌細胞特異的にリアルタイムで可視化することができる。これら独自に確立してきた技術を基盤として、それぞれのクロストーク、さらには腸-脳、腸-皮膚などの臓器連関を明らかにすることにより、我々が口から摂取したものが生体に及ぼす影響の機序を明らかにすることを目的とした研究を行っている。

### 超早期未病の予防・治療法及びロバストネス増強法の確立

上記2つの研究を組み合わせ、超早期未病を標的とした食品、医薬品の開発、さらにはストレスに強く、病気になりにくい心身の健康を増強する食品、医薬品の開発

を目指している。効果が期待される食品、天然物、並びにそれら由来の成分及び化合物について、我々が確立した評価系を用いて、免疫系、神経系、内分泌を含む腸管上皮への影響を明らかにし、免疫系、腸管・皮膚バリア機能にもともと異常あるいは疾患の素因を持つモデルマウス系や食餌による肥満マウスモデル系を用いて、その予防・治療方法、ロバストネス獲得法を開発している。

### 超早期未病検出器の開発

現在、未病として定義されている段階は、既に病気が起こるところ、あるいはその直後からの自覚症状のないレ

ベルの早期発見をターゲットとしているが、いずれにしても質的な変化（遺伝子発現レベルの変化）が起こった後で、既に発症してしまっている状態である。我々はこれまでの未病という定義よりさらに前の発症にはまだ至っていない微細な変化（超早期未病）の検出方法の確立を目指しており、これらの標的であれば、食品などでも効果的な予防・治療することができると考えられる。上記の基礎研究成果をもとに臨床応用を見据え、ヒトでの生活習慣病、発達障害などの疾患の素因となる微細な異常を簡便に測定できる機器の開発を目指している。

## ハイライト

- 細胞系譜特異的なカルシウムバイオセンサーマウスを樹立
- 免疫細胞の6D（x、y、z、時間、カルシウムシグナリング、細胞標識）生体イメージングを確立
- 食シグナルによる腸管（上皮・免疫・神経）センシングの生体イメージングによる可視化システムを確立
- 生体内の食シグナルによる腸脳相関を同時リアルタイムで可視化システムを確立（上記の成果により2022年度日本食品免疫学会、食品免疫学会賞を受賞）

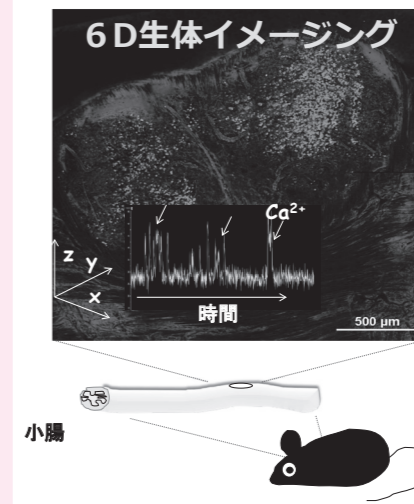


図 細胞系譜特異的なカルシウムバイオセンサーマウスによる6D生体イメージング  
細胞系譜特異的なカルシウムバイオセンサー（Yellow Cameleon3.60）を樹立し、x、y、z、時間、細胞標識、カルシウムシグナリングの6つのパラメーターが測定できる6D生体イメージング系を確立。生体内の免疫細胞について動態のみならず、活性化もリアルタイムでモニターできる。

## 人事異動

連携研究員：吉川宗一郎（順天堂大学医学部）  
難研研究従事者：水野美歩（順天堂大学医学部）  
長尾 圭（順天堂大学医学部）  
共同研究員：林 卓人（東亜薬品工業）  
特別研究学生：李 金成（九州大学・博士課程1年）  
BAI YUYING（東京工大・博士課程3年）  
短期交流学生：東京農業大学・応用生物科学研究科  
食品安全健康学専攻 修士4名

## 業績目録

### 原著論文

Takeuchi, Y., Fukunaga, M., Iwatani, S., Miyanaga, K., Adachi, T., Yamamoto, N. Release of an anti-anxiety peptide in casein hydrolysate

with *Aspergillus oryzae* protease. Food Funct. 13(20):10449-10460. 2022.

Kotake, K., Kumazawa, T., Adachi, T. Long-term administration of *Tetragenococcus halophilus* No. 1 over generations affects the immune system of mice. PLoS One. 17(4):e0267473. 2022.

Hirata, Y., Nomura K, Daisuke Kato D, Tachibana Y, Niikura T, Uchiyama K, Hosooka T, Fukui Ti, Oe K, Kuroda R, Hara Y, Adach T, Shibasaki K, Wake H, Ogawa W. A Piezo1/KLF15/IL-6 axis mediates immobilization-induced muscle atrophy. J Clin Invest.132(10):1-13. 2022.

Gao P, Adachi T, Okai S, Morita N, Kitamura D, Shinkura R. Integrin CD11b provides a new marker of pre-germinal center IgA<sup>+</sup> B cells in

murine Peyer's patches. Int Immunol. Apr 20;34(5):249-262. 2022.

Kotake, K., Kumazawa, T., Nakamura, K., Shimizu, Y., Ayabe, T., Adachi, T. Ingestion of miso regulates immunological robustness in mice. PLoS One. 17(1): e0261680. 2022.

Nagaishi, T., Watabe, T., Kotake, K., Kumazawa, T., Aida, T., Tanaka, K., Ono, R., Ishino, F., Usami, T., Miura, T., Hirakata, S., Kawasaki, H., Tsugawa, N., Yamada, D., Hirayama, K., Yoshikawa, S., Karasuyama, H., Okamoto, R., Watanabe, M., Blumberg, R.S., and Adachi, T. Immunoglobulin A-specific deficiency induces spontaneous inflammation specifically in the ileum. Gut. 71(3):487-496. 2022.



# 難病基盤・応用プロジェクト室

プロジェクト室長：樗木俊聡

## 新規ヒト扁平上皮がんオルガノイドライブラリーを用いた基盤・応用研究

研究代表者 樗木俊聡 (生体防御学)

共同研究者 佐藤 卓 (生体防御学)

絹笠祐介 (消化管外科学)

原田浩之 (顎口腔外科学)

森 良之 (自治医科大学・歯科口腔外科学)

三浦昭順 (都立駒込病院・食道外科)

### 研究紹介

舌がんは口腔がんの約6割を占め、進行がんでは5年生存率が42%と極めて低い。抗がん剤と放射線による術後根治治療が行われるが、24～48%の患者で再発を認める。同様に、日本を含むアジア諸国に特徴的な食道扁平上皮がんも、根治治療後の再発率は30～50%と高い。私たちは独自の手法を用いて、ヒト舌がん及びヒト食道がんオルガノイドライブラリーの構築に成功した(舌がんオルガノイド28症例、食道がんオルガノイド24症例)(図1)。この中には、実際に臨床治療に用いられる抗がん剤に抵抗性を示す、複数のがんオルガノイド症例(舌がんオルガノイド4症例、食道がんオルガノイド6症例)が含まれていた。これらを用いて以下の研究を推進している。



図1 ヒト舌がん・食道がんオルガノイドライブラリーの樹立

## 1. 扁平上皮がんオルガノイドを用いた抗がん剤耐性獲得機構の解明

化学療法剤耐性が生じる分子基盤を明らかにする目的で、化学療法剤耐性舌がんオルガノイド株と、化学療法剤感受性の舌がんオルガノイド株の遺伝子発現プロファイルと比較し、前者で有意に活性化または不活性化する生物学的経路(パスウェイ)を同定した。化学療法剤耐性舌がんオルガノイド株で活性化している特定のパスウェイを低分子化合物により阻害することによって同オルガノイド株の生存が著しく低下すること、反対に、化学療法剤感受性舌がんオルガノイド株で活性化されている特定のパスウェイを不活性化することで、化学療法剤

抵抗性が高まることを見出している。

一方、食道扁平上皮がんオルガノイドについても化学療法剤抵抗性に関わる可能性の高いパスウェイを特定しており、現在、この化学療法剤抵抗性の中核を担う転写因子をノックダウンした化学療法剤耐性がんオルガノイド株を作成中である。

## 2. 抗がん剤耐性ががんを標的とする既存薬の探索

本研究では、臨床応用の実現可能性を鑑み、FDAやPMDAなどの機関が承認済みの薬剤(低分子化合物)を対象とした。その結果、各舌がんオルガノイド株および食道扁平上皮がんオルガノイド株の増殖・生存を、実際の臨床で使用されている化学療法剤よりも有意に抑制しうる薬剤を複数同定することに成功している。今後、これらの薬剤の標的分子ノックダウン株を作製し、生存・増殖への影響を検証するとともに、がんオルガノイドPDXモデルを用いて*in vivo*における効果を検証する予定である。

## ゲノム情報を基盤とした難治免疫疾患におけるスプライシング・アイソフォームの解析

研究代表者：高地雄太(ゲノム機能多様性分野・教授)

共同研究者：山口健介(生体材料工学研究所・特任助教)

佐藤 荘(免疫アレルギー学・教授)

保田晋助(膠原病・リウマチ内科学・教授)

三橋里美(ゲノム機能多様性分野・准教授)

### 研究内容

本プロジェクトでは、ゲノム医学、免疫学、膠原病学の専門家が、分野横断的な研究として、膠原病や重症型COVID-19などの難治性免疫疾患の発症に関わる遺伝子に注目し、そのスプライシング・アイソフォームの機能解析、また創薬標的としての評価を行う。

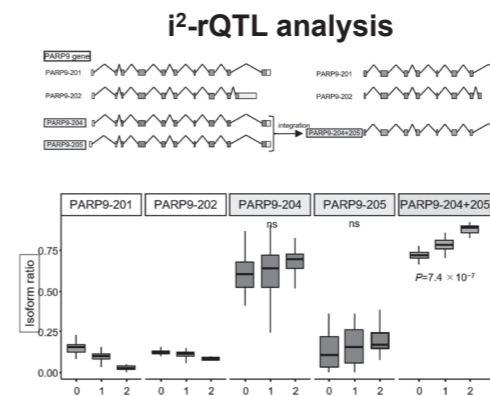
### 研究成果の概要

#### 1) sQTL解析手法の開発

選択的スプライシングに影響を与える遺伝子多型は、splicing quantitative trait locus (sQTL) と定義される。選択的スプライシングによって、様々な機能性・日機能性アイソフォームが生み出されるが、我々はsQTLの

うち遺伝子のタンパク質の配列を変化させるものを網羅的に明らかにする手法として、integrated-isoform ratio QT (i<sup>2</sup>-QTL) 解析法を開発した(*Nat Commun* 2022)。

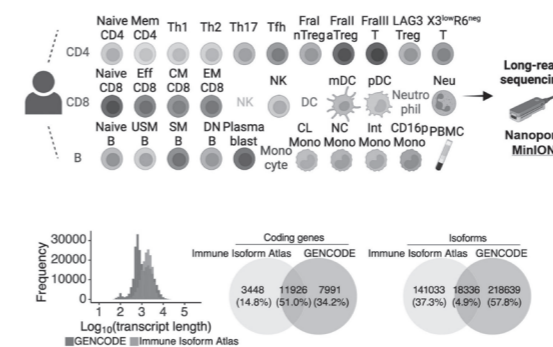
2) 疾患におけるスプライシング・アイソフォーム解析 国際共同研究において、関節リウマチのGWASメタ解析を行い、計126の遺伝子領域を明らかにした。そのうち、*PAD14* 遺伝子の capture long-read RNA-seq を行ったところ、C末端ドメインを欠くアイソフォームを同定するとともに、このアイソフォームの発現量が低下することが、疾患の原因となっていることを明らかにした(*Nat Genet* 2022)。



## 3) スプライシング・アイソフォームデータベースの構築

免疫細胞28サブセットにおけるロングリード・シーケンシスによる網羅的発現解析(RNA-seq)を行い、免疫細胞におけるアイソフォームのアトラス(Immune Isoform Atlas)を作成した(*bioRxiv* 2022)。このアトラスを用いることによって、免疫に関連する様々な病態解明が進むものと考えられる。

### Immune Isoform Atlas



### 業績

1. Yamaguchi K, Ishigaki K, Suzuki A, Tsuchida Y, Tsuchiya H, et al. Splicing QTL analysis focusing on coding sequences reveals mechanisms for disease susceptibility loci. *Nat Commun*. 13. 4659, 2022.
2. Ishigaki K, Sakae S, Terao C, Luo Y, Sonehara K, et al. Multi-ancestry genome-wide association analyses identify novel genetic mechanisms in rheumatoid arthritis. *Nat Genet*. 54. 1640-51, 2022.
3. Inamo J, Suzuki A, Ueda M, Yamaguchi K, Nishida H, et al. Immune Isoform Atlas: Landscape of alternative splicing in human immune cells. *bioRxiv* 2022.

## パーキンソン病発症メカニズムの解明と創薬開発研究

研究代表者：鳥居 暁(病態細胞生物学・プロジェクト准教授)

共同研究者：清水重臣(病態細胞生物学・教授)

細谷孝充(生体材料工学研究所・教授)

### 研究内容

パーキンソン病は50～60代に発症することが多く、手足の震えなどの症状が進行する神経難病である。患者は本邦で14万人以上を数えるが、現在まで根本治療法は存在しない。その発症には、中脳黒質ドーパミン作動性神経細胞の変性・脱落の関与が知られている。本プロジェクトにおいては、この疾患の発症メカニズムの解明と創薬開発を行っている。具体的には、①原因遺伝子の1つであるPARK22遺伝子の変異による発症メカニズムの解明を培養細胞、疾患モデルマウスを用いて行う。②低分子化合物から疾患を緩和できる化合物を同定し、創薬開発研究を行う。③得られた知見を他の家族性、孤発性パーキンソン病へと応用し、統合的な理解へ繋ぐことを目的としている。本年度の成果は以下の通りである。

### 研究の紹介、成果

- 成果1：遺伝子変異を有するPARK22発現細胞でリン酸化 $\alpha$ -シヌクレインとアグリソーム/フィブリルの増加が見られた。さらに変異タンパク質と結合するキナーゼを複数同定した。PARK22遺伝子変異を有するノックインマウスを作製して解析している。このマウスの中脳黒質において、培養細胞と同様の異常が見られた。
- 成果2：PARK22遺伝子変異による異常を緩和できる化合物を同定した。この化合物によりノックインマウスの運動機能の改善が見られている。また、より効果が高い化合物の同定にも成功した。
- 成果3：孤発性パーキンソン病発症においてもPARK22遺伝子の関与があるかの解析を行っている。

### 業績

#### 原著論文

1. Yanagi T, Kikuchi H, Susa K, Takahashi N, Bamba H, Suzuki T, Nakano Y, Fujiki T, Mori Y, Ando F, Mandai S, Mori T, Takeuchi K, Honda S, Torii S, Shimizu S, Rai T, Uchida S, Sahara E. Absence of ULK1 decreases AMPK activity in the kidney, leading to chronic kidney disease progression. *Genes to Cells*, in press (2022).

#### 著書

1. 鳥居暁. オートファジー細胞死. 週刊医学のあゆみ 細胞死のすべて vol.283 No.5 2022/10/29.



# 大学院教育研究支援実験室

## I. ゲノム解析室

助教：谷本 幸介  
技術補佐員：藺部 知奈美  
技術補佐員：植田 由希子  
技術補佐員：中荃 佳世

本解析室は、難治疾患研究所の教職員・学生および難治疾患共同研究拠点の参加研究者が実施するゲノム解析研究の支援を目的としている。最新機器の原理や使用方法の講習会を通じた研究者への技術紹介、知識啓蒙を行っている。さらに、日常業務として、研究所内外からのゲノム情報の受託解析を行い研究の推進を図っている。また、所内研究者、学生が共通して利用できる研究機器を配置するとともに、各分野にある共通性の高い機器を登録したヴァーチャルラボの管理も行っている。なお、2017年より本学リサーチコアセンターと連携を行っている。

以下は、2022年の実績である。

### 1. キャピラリーシーケンシング受託解析サービス、及び次世代シーケンシング受託解析サービス

本年のキャピラリーシーケンシングサービスのサンプル依頼数は10,714 延べ利用人数は1,211名であった。難研外からの依頼サンプル数は6,354となり、全体の約6割を占めている。

次世代シーケンサー(Ion PGM・Ion S5)による受託解析サービスについては、本年もコロナ禍にもかかわらず学外からの需要があり、7ラン(うち難研外2ラン、学外5ラン)行った。またライブラリ作製のサンプル数は50(学外)となった。次世代シーケンシング解析についてはデータ解析を含めたサポートを行うことで、利用者の個別のニーズに対応し利便性の高い支援を行っている。

### 2. 設置機器

キャピラリーシーケンサー 3130xl 1台、キャピラリーシーケンサー 3500xl 1台、次世代シーケンサー Ion PGM・Ion S5、フローサイトメーター、発光プレートリーダー、マイクロ流路電気泳動装置 バイオアナライザ、DNA断片化装置 Covaris、蛍光マイクロビーズ検出システム Luminex、サーマルサイクラー 5台、遠

心機、遠心濃縮機



Ion S5

キャピラリーシーケンサー 3500xl

### 3. 人事異動

転出 吉田 泉 (技術補佐員)  
転入 中荃 佳世 (技術補佐員)

## II. 細胞・プロテオーム解析室

技能専門職員：名和 眞希子

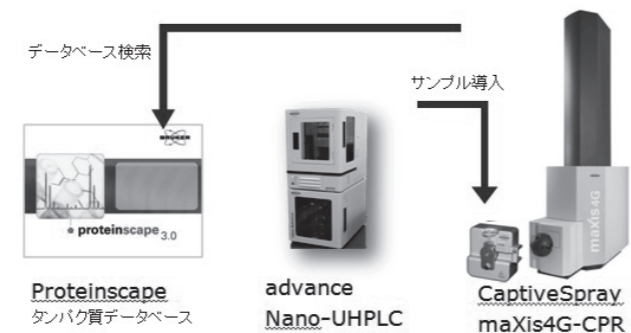
ホームページ <http://www.tmd.ac.jp/mri/lcpr/Top.html>

細胞プロテオーム解析室は、プロテオミクスに関する研究のサポートをしている。

特に質量分析装置を用いた nanoLC-MSMS 解析では受託解析も行っている。

<設置機器>

1. 質量分析計 定性分析向き装置 高感度高性能 maXis4G
2. 質量分析計 定量分析向き装置 iTRAQ,TMT ラベル対応 QTRAP5500
3. 分子間相互作用解析装置 MicrocalorimetryTC200
4. インジェクションシステム Eppendorf InjectMan



NI2、Leica M165FC

上記装置の管理を行っている。

本学 RCC リサーチコアセンター内プロテオームユニット部門としても活動している。

プロテオームユニット部門内には、異なるタイプの質量分析機器が複数稼働しており、目的蛋白質の同定・翻訳後修飾等の同定による使い分けをしている。円滑に解析、利用、運営できるよう互いに連携を図っている。

## III. 未来ゲノム研究開発支援室

助教：鈴木 亨

技術職員：宇佐美 貴子

技能補佐員：木崎 美央

技術補佐員：石久保 春美

技能補佐員：橋野 一美 (2022年3月31日退職)

遺伝子組換えマウスは、遺伝子操作により外来遺伝子の導入、内在性の遺伝子を改変したマウスで、現在、医学・生命科学分野における大学院教育・研究には欠かせない材料となっている。難治疾患研究の分野においても、疾患モデルとして利用できるなど、病因や病態、新たな診断法・治療法の開発に必須である。本支援室では、技術職員および飼育専任スタッフのサポートにより、組換えマウス作成・特定微生物排除・飼育維持・胚凍結による系統保存を行うことにより、マウス個体を用いた生命科学・難治疾患研究の教育基盤となっている。平成27年度からは、学内向けに、ゲノム編集技術を用いた遺伝子組換えマウス (KO、KI、1塩基置換、floxed) 作製支援サービスも行なっている。

本実験室は、難治疾患研究所の大学院教育支援施設として、教授若干名からなる運営委員会が管理・運営にあたり、新規利用者への教育、新たな組換えマウスの樹立や搬入の審査などの適正な利用をはかっている。



## IV. 形態機能解析室

技術補佐員：野村 隆之

本解析室は所内研究者が形態学的解析を行うための共同利用施設として設置された。疾患に伴う遺伝子や蛋白質の動的変化を細胞や組織レベルにおいて経時的に解析することは難治疾患の病態解明・診断・治療にとって不可欠な手段であるため、本解析室では遺伝子構造解析が終了したポストゲノム時代に欠かすことのない強力なツールを提供し、研究の便宜を図っている。

ウェブサイト：<http://www.tmd.ac.jp/mri/lacf/index.html>

<設置機器>

- ・共焦点レーザー顕微鏡 … LSM710、LSM510META (Carl Zeiss)
- ・凍結マイクロトーム … CM3050S (Leica)
- ・ロータリーマイクロトーム … HM-325、HM-335E (Microm)
- ・ビブラトーム … PRO7 (堂阪イーエム)
- ・自動固定包埋装置 … RH-12DM(サクラファインテック) Excelsior ES(Thermo Fisher Scientific)
- ・パラフィンブロック作成装置 … Histostar (Thermo Fisher Scientific)
- ・リアルタイムPCR システム … 7500、7900HT (Applied biosystems)
- ・レーザーマイクロダイセクション … LMD7000 (Leica)
- ・実体顕微鏡 … SZX-16 (Olympus)

<講習会等>

共焦点レーザー顕微鏡およびレーザーマイクロダイセクションを利用する者には、正しい機器の使用法を体得してもらうため、事前にメーカーによる講習会を受講することを義務づけている。今年度の開催日程は以下の通りである。

- ・共焦点レーザー顕微鏡講習会(カールツァイス株式会社) 5月13日
- ・レーザーマイクロダイセクション講習会(ライカマイクロシステムズ株式会社) 12月5日



## V. 幹細胞支援室

技術専門職員：齊藤 佳子

技術補佐員：英 美奈子

ホームページ: <http://www.tmd.ac.jp/mri/scl/index.html>

難治疾患研究所の大学院教育研究支援施設のひとつ幹細胞支援室は、2009年12月に設置され、2010年に入り実質的な整備が開始された。当支援室は、組織幹細胞、胚性幹細胞（ES細胞）、iPS細胞など、組織・臓器の成り立ちの解明、疾患の理解、再生医療の開発などにおいて重要な役割を果たす幹細胞研究あるいは幹細胞由来の分化した細胞群の研究を支援するため、関連研究者が利用できる機器の整備と供用化に対応するべく活動している。その運営は、幹細胞支援室運営委員会により審議を重ねつつ、難研教授会の協力を得ながら行っている。また、2017年から本学のリサーチコアセンターとの連携がスタートした。管理スタッフは技術専門職員1名が管理業務全般を、技術補佐員1名が高速セルソーターのオペレーター業務を担当している。

### 1. 設置機器

幹細胞支援室はM&Dタワー24階において、下記の主要機器を研究者の利用に供している。

高速セルソーター MoFlo XDP（ベックマン・コールター）

セルソーター FACS Aria Fusion（ベクトン・ディッキンソン）

共焦点レーザー顕微鏡タイムラプス撮影システム FV10i-w（オリンパス）

共焦点レーザー顕微鏡撮影システム FV10i-DOC（オリンパス）

倒立型電動リサーチ顕微鏡 IX81（オリンパス）

ハイブリオープン（TAITEC）

超音波破碎器（BRANSON）

### 2. 受託サービス

高速セルソーター MoFloによるソーティング受託サービスを2013年8月1日より行っている。利用対象者は、所内のみならず、学内他部局、および学外の研究者でも利用可能である。サービス開始以降、学内他部局の研究者の利用も増え、学外からの利用者も受けている。

### 3. 2022年の供用実績

前年に引き続き設置機器の利用提供とソーティング受託サービスを行った。12月1日よりセルソーター FACS Aria Fusionの共用化を開始し、利用料金改定を行った。支援室の利用案内や講習会の開催案内、機器予約の管理は、主にホームページで行った。2022年の当

支援室の利用者数はのべ234人であった。今後も利用者のニーズに合った支援室となるよう、既存の機器の維持管理やサービス向上等に努めていく。

## VI. バイオリソース支援室

技術補佐員：高岡 美帆

バイオリソース支援室は、生命医科学分野の大学院教育・研究について、バイオリソースの面から学内外に対して支援活動を行っている。

細胞株の寄託・分譲業務は、コンプライアンス遵守した細胞株の提供に取り組んでいる。当該年、国内他大学から分譲依頼があり、産学連携研究センターを介してMTA手続きが行われ、支援室より5株を分譲した。学内分野へは、1株分譲した。EBVトランスフォームによる末梢血Bリンパ芽球細胞株化（図1）の支援業務については、安定した樹立効率が維持されており、本学臨床分野をはじめ学内外の研究機関から継続的に依頼を請け負っている。当該年、他大学から新規依頼を1件受け付けた。細胞株のマイコプラズマ汚染検査も行っている。大型液体窒素タンク（図2）を利用した生体試料保存サービスは、学内の分野から継続の依頼があった。

また、当支援室は、創薬・医療系オープンイノベーションに資する大学保有機器等の共用に関する東京都との協定利用に参画しており、当該年、1企業からマイコプラズマ汚染検査の利用があった。

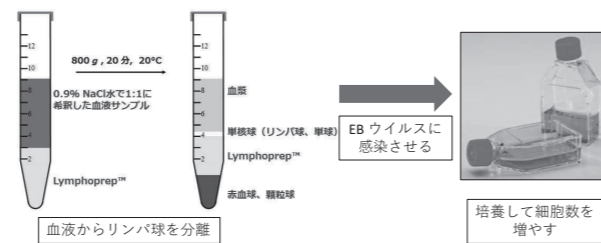


図1 EBVによるリンパ芽球の不死化



図2 大型液体窒素タンク G430-S（大陽日酸）

## VII. 構造解析室

構造解析室には、高輝度X線発生装置（Rigaku MicroMax007HF）とイメージングプレートX線検出器（Rigaku R-Axis VII）が設置されており、タンパク質や核酸などの生体高分子や、それらと低分子化合物との複合体の立体構造解析の支援を目的としている。また、タンパク質などの粒子径、分子量（ひいては会合、凝集状態）の計測が行える動的光散乱装置（Malvern Zetasizer  $\mu$ V）も導入されている。大学院の学生を対象として、装置の取り扱いやタンパク質の結晶化についての演習を行ったほか、研究所の共同研究拠点事業に参画している。

## VIII. 単一細胞オミクス解析室

教授：二階堂 愛

准教授：笹川 洋平

研究支援者：矢野 実

単一細胞オミクス解析室では1細胞レベルの計測技術とデータ解析技術の開発を行っている。またこれらの技術を用いて学内の共同研究を推進する。単一細胞オミクス解析室はゲノム機能情報分野と統合研究機構研究基盤クラスターと協力して運営されている。また難治疾患研究所が推進している高深度オミクス医学研究拠点整備事業の1細胞オミクス解析の中核として事業に貢献している。

我々は世界最高性能の1細胞RNAシーケンス法

Quartz-Seq2の開発に成功した（Sasagawa Y. et al. Genome Biol. 2013, 2018, Mereu E. et al. Nature Biotech. 2020）。この技術を用いるとたったひとつの細胞に含まれるすべてのRNAの種類と数を正確に計測できる。Quartz-Seq2を用いることで、臓器や組織に含まれるあらゆる細胞種類の特性を計測できる。疾患が起きた臓器・組織内の細胞特性を調べると、疾患の原因の解明や創薬を行うことができる。

2022年度は、学内4件、学外2件（うち1は企業）の共同研究を実施し、2万検体のシーケンスを実施、2報の論文が出版された。

1. Johannes N Wibisana, Takehiko Inaba, Hisaaki Shinohara, Noriko Yumoto, Tetsutaro Hayashi, Mana Umeda, Masashi Ebisawa, Itoshi Nikaido, Yasushi Sako, Mariko Okada. Enhanced transcriptional heterogeneity mediated by NF- $\kappa$ B super-enhancers. PLoS genetics. 2022年6月1日 18(6) e1010235

2. Chia-Wen Lin, Dian E Septyaningtrias, Hsu-Wen Chao, Mikiko Konda, Koji Atarashi, Kozue Takeshita, Kota Tamada, Jun Nomura, Yohei Sasagawa, Kaori Tanaka, Itoshi Nikaido, Kenya Honda, Thomas J McHugh, Toru Takumi. A common epigenetic mechanism across different cellular origins underlies systemic immune dysregulation in an idiopathic autism mouse model. Molecular psychiatry. 2022年5月2日 27(8) 3343-3354



# 職員学生名簿

## 医化学分野

教授 瀬川勝盛  
 助教 宮田佑吾  
 外国人特別研究員 Sultan Cheryl Sophia  
 技術補佐員 栗林梨沙  
 西本萌恵  
 秘書 澤田千賀子  
 大学院研究生 Xu Jing  
 学部生 篠田和  
 蜂巣頌  
 鳥田康介

## 病態生理化学分野

教授 佐々木雄彦  
 准教授 佐々木純子  
 助教 長谷川純矢  
 技術補佐員 山本利義  
 学振特別研究員 徳田恵美  
 プロジェクト助教 森岡真  
 柳井翔吾  
 秘書 小藤香織  
 研究補助員 坂本尚子  
 大学院生(学振DC) 崎原知子  
 大学院生 山田楓子  
 佐藤太地  
 高橋恒一郎  
 王天  
 釘井雄基  
 黄俊傑  
 毛塚康平  
 精木遥  
 張易欣  
 学部生 大村実果里  
 磯崎雅子  
 菊地雄翔  
 岡風吹  
 及川堅己  
 大学院短期研究生 樊宇博

## 発生再生生物学分野

教授 仁科博史  
 講師 小藤智史  
 助教 岡本好海  
 プロジェクト助教 金山敬子  
 特任助教 Jing Pu  
 技術補佐員 草場みずき  
 秘書 小藤香織  
 派遣職員 許梨香  
 大学院生 長尾裕志  
 遠藤賢生  
 Junjie Chen

## 分子細胞生物学分野

教授 澁谷浩司  
 准教授 後藤利保  
 助教 清水幹容  
 大学院生 葛恒兵  
 技術補佐員 池ノ谷祥平

## 幹細胞制御分野

教授 田賀哲也  
 講師 榊康一  
 助教 室田吉貴  
 非常勤講師 信久幾夫  
 柏木太一  
 連携研究員 鹿川哲史  
 備前典久  
 事務補佐員 牧野まや  
 技術補佐員 野寺真里花  
 大学院生 Liu Wenyu  
 Melig Gerel  
 Zhang TingTing  
 Deng Shenghuan  
 坂井優太  
 J D P student Tarapongpun Tanakorn

## 機能分子病態学分野

教授 松田憲之

准教授 山野晃史  
 助教 小松谷史香  
 学振特別研究員PD 小島和華  
 大学院研究生 霍安妮  
 宇田川智里  
 荻原禪  
 卒 研 生 渋谷千尋  
 宮本純  
 遠藤龍  
 澤田百葉

## 生体防御学分野

教授 梶木俊聡  
 准教授 佐藤卓  
 助教 金山剛士  
 非常勤講師 小内伸幸  
 村川泰裕  
 大学院生 秋山めぐみ  
 石川駿  
 泉湧太  
 佐藤元  
 中川俊作  
 大梁恵梨子  
 中川舞  
 短期交流学生 山田悠貴  
 技術補佐員 始関紀彰  
 林豊貴  
 事務補佐員 上岡寿子

## 神経病理学分野

教授 岡澤均  
 特任講師/非常勤講師 井上治久  
 曾根雅紀  
 藤田慶大  
 プロジェクト准教授 本間秀典  
 講師 田中ひかり  
 事務補佐員 張雪梅  
 秘書 田中麻里絵  
 大学院生 近藤和  
 吉岡優希  
 金花美  
 黄曉岑  
 黄勇  
 高山すみれ

## 分子神経科学分野

教授 田中光一

助教 平岡優一  
 助教 大西哲生  
 大学院生 Bi Haining  
 Zhao Di  
 光増真広  
 技術補佐員 中川道子

## 病態細胞生物学分野

教授 清水重臣  
 プロジェクト准教授 鳥居暁  
 講師 山口啓史  
 プロジェクト講師 辻岡政経  
 本田真也  
 助教 仁部洋一  
 プロジェクト助教 申珉京  
 桜井一  
 秘書 深堀仁美  
 大学院生 吉田朋世  
 大島和馬  
 小川千奈見

## 分子構造情報学分野

教授 伊藤暢聡  
 准教授 沼本修孝  
 助教 花園祐矢  
 大学院生 全熙斌  
 周崇震  
 Narasinghe Mudiyanselage Hansaka  
 Mitu Rani Das  
 Purnima Liyanage

## ゲノム機能情報分野

教授 二階堂愛  
 准教授 笹川洋平  
 助教 山根万里子  
 非常勤講師 岩山佳美  
 研究支援者 矢野実  
 相馬淳美  
 技術補佐員 関良子  
 大学院生 中川晴子  
 脇田舞子  
 川越凜

## ゲノム機能多様性分野

教授 高地雄太  
 准教授 三橋里美  
 西田奈央

助 教 上田真保子  
 特別研究員 P D 稲毛 純  
 連携研究員 小林香子  
 研究従事者 本田 卓  
 大学院生 西田 晨也

莊 兆輝  
 渡 邊 ゆか  
 小曾根 瑞希

大学院 研究生

劉 育 菌  
 石 憲

技術 補佐員 井藤 理恵  
 事務 補佐員 岩佐 直美

**ジョイントリサーチ研究部門 未病制御学研究部門**

准 教 授 安達 貴弘  
 技術 補佐員 飛田 めぐみ  
 特別 研究 学生 李 金成  
 短期 交流 学生 太田 彩水  
 檜原 さゆり  
 三輪 拓美  
 八尾 成美

**大学院教育研究支援実験室**

**ゲノム解析室**

助 教 谷本 幸介  
 技術 補佐員 藺部 知奈美  
 植田 由希子  
 中 荃 佳世

**細胞プロテオーム解析室**

技術 専門 職員 名和 眞希子

**未来ゲノム研究開発支援室**

助 教 鈴木 亨  
 技術 職員 宇佐美 貴子  
 技術 補佐員 木崎 未央  
 石久保 春美

**形態機能解析室**

技術 補佐員 野村 隆之

**幹細胞支援室**

技術 専門 職員 齋藤 佳子  
 技術 補佐員 英美 奈子

**バイオリソース支援室**

技術 補佐員 高岡 美帆

**大学院教育研究支援実験施設**

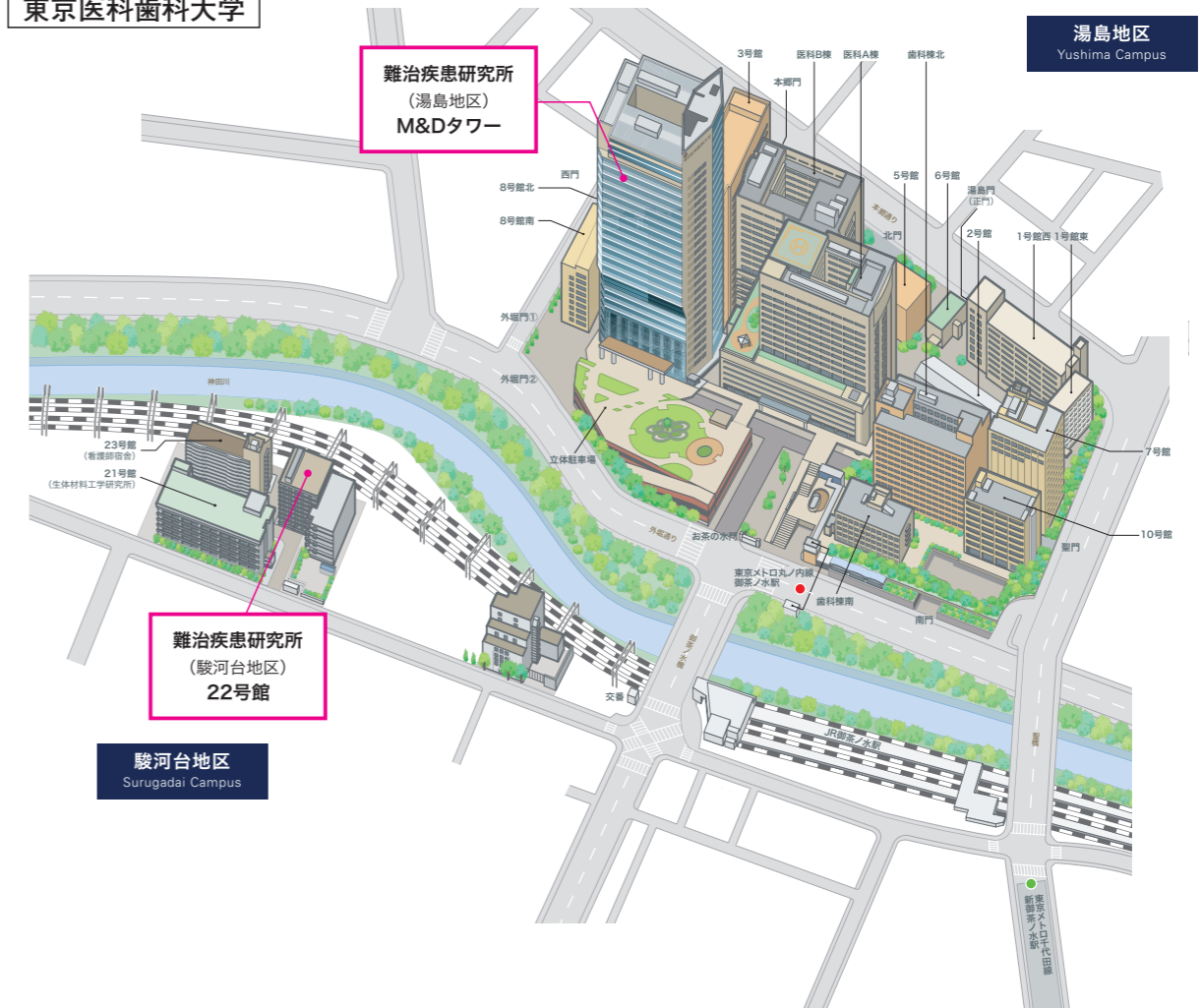
事務 補佐員 秋元 文乃

**事務局**

事 務 長 渡邊 剛志  
 副 事 務 長 清水 満  
 総 務 係 長 三原 智樹  
 総 務 係 主 任 梅津 綾子  
 長崎 州 宏  
 特定業務事務職員 松村 美里  
 事務 補佐員 高橋 将貴  
 派遣 職員 長久保 潤子

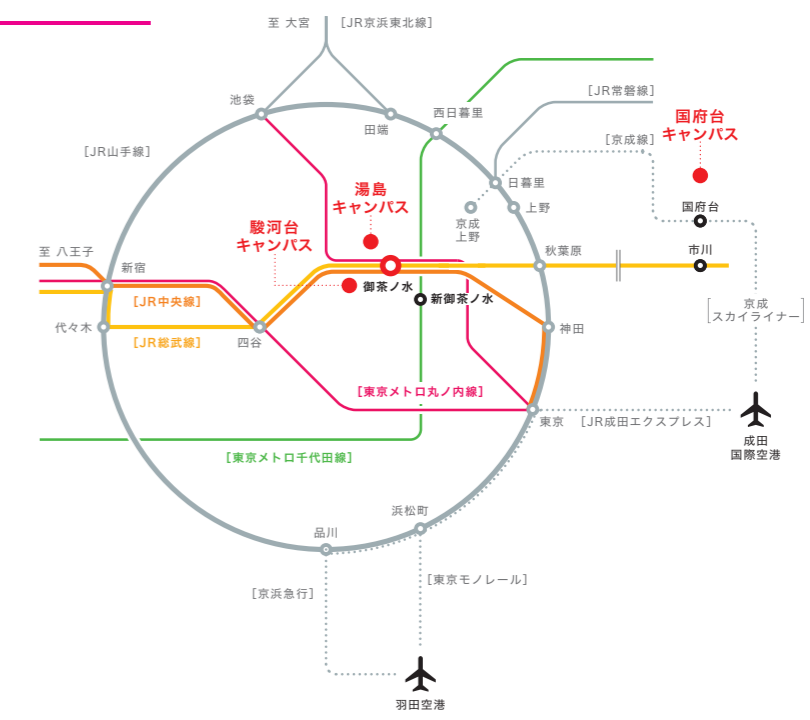
**案内図**

**東京医科歯科大学**



**最寄駅**

- ・ JR 御茶ノ水駅
- ・ 東京メトロ丸ノ内線 御茶ノ水駅
- ・ 東京メトロ千代田線 新御茶ノ水駅





年報 2023

東京医科歯科大学難治疾患研究所

〒 113-8510

東京医科歯科大学難治疾患研究所

東京都文京区湯島 1 - 5 - 45

03(5803)4504 (代表)

印刷所 株式会社広済堂ネクスト