

Annual Report 2021



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

年報

東京医科歯科大学難治疾患研究所

東京医科歯科大学
難治疾患研究所
年報

2021

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2020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22分野と准教授が主催するフロンティア研究室に加えて、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、事務部からなる全国的に見ても大規模の研究所です。加えて、本年は新型コロナウイルス研究プロジェクト推進室も設置しました。

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、平成28年度からは第二期目の拠点活動を行なっています。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、「トランスオミクス医学研究拠点」の活動も開始しています。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、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	6～9
5. トランスオミクス医学研究拠点ネットワーク形成事業	10～11
6. 受賞および特許	12～14
7. 学位取得者	15
8. 難研セミナー	16

難治疾患研究所

先端分子医学研究部門

- 分子細胞生物学分野 18～19
- 分子神経科学分野 20～21
- 生体防御学分野 22～23
- 生体情報薬理学分野 24～25
- 幹細胞制御分野 26～27
- 分子構造情報学分野 28～29
- フロンティア研究室
低酸素生物学 30～31

難治病態研究部門

- 神経病理学分野 34～35
- 病態生理化学分野 36～37
- 病態細胞生物学分野 38～39
- 発生再生生物学分野 40～41
- 幹細胞医学分野 42～43
- 免疫疾患分野 44～45

ゲノム応用医学研究部門

- 分子細胞遺伝学分野 48～49
- 分子遺伝学分野 50～51
- 分子疫学分野 52～53
- ゲノム機能情報分野 54～55
- ゲノム機能多様性分野 56～57
- エピジェネティクス分野 58～59
- 医科学数理分野 60～61
- フロンティア研究室
遺伝子発現制御学 62～63

- 病態発現機構研究部門 66～67
- 難病基盤・応用研究
プロジェクト室 68～71
- 大学院教育研究支援
実験施設 72～75

職員学生名簿	76～79
諮問委員名簿	80
案内図	81

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、生体情報薬理学分野、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、免疫疾患分野、分子病態分野、分子細胞遺伝学分野、分子遺伝学分野、病態細胞生物学分野、幹細胞医学分野、生体防御学分野、医科学数理分野、分子疫学分野、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、事務部

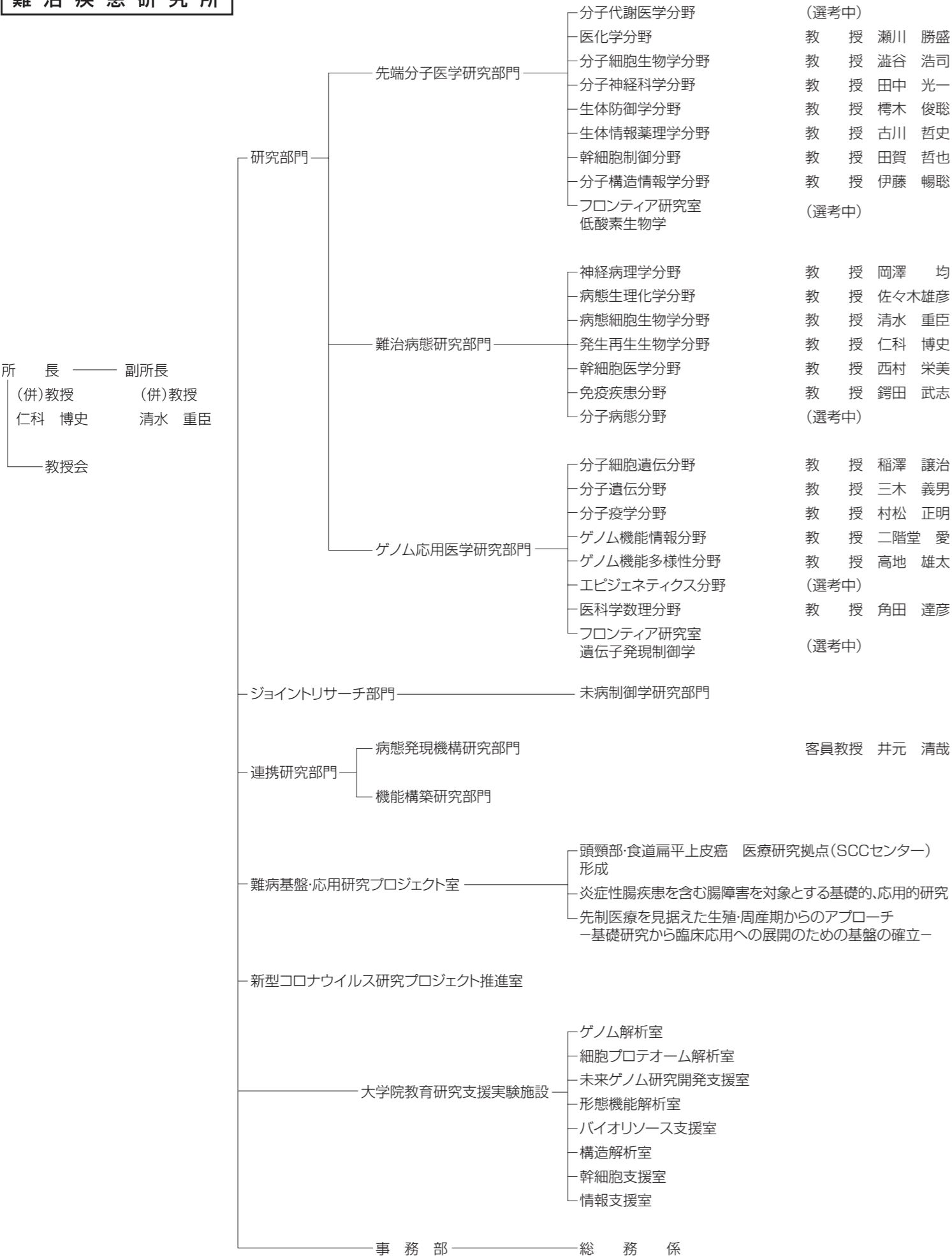


駿河台地区

〒101-0062
東京都千代田区神田駿河台2-3-10

難治疾患研究所
未来ゲノム研究開発支援室

難治疾患研究所



職員及び学生数

●学生数

2021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	先端分子医学研究部門	分子細胞生物学分野	0	0	1	0
		分子神経科学分野	4	0	2	0
		生体防御学分野	1	4	0	0
		生体情報薬理学分野	0	0	2	0
		幹細胞制御分野	3	4	0	1
		分子構造情報学分野	2	0	1	0
		フロンティア研究室 低酸素生物学	0	0	0	0
	難治病態研究部門	神経病理学分野	1	4	0	0
		病態生理化学分野	0	0	0	0
		病態細胞生物学分野	1	6	0	0
		発生再生生物学分野	2	0	4	0
		幹細胞医学分野	0	1	0	0
		免疫疾患分野	7	0	3	0
		フロンティア研究室 遺伝子発現制御学	0	0	0	0
	ゲノム応用医学研究部門	分子細胞遺伝学分野	1	4	0	0
		分子遺伝学分野	0	4	1	0
		分子疫学分野	1	4	0	0
		ゲノム機能情報分野	0	0	0	0
		ゲノム機能多様性分野	1	1	0	0
		エピジェネティクス分野	1	0	1	0
		計	21	32	15	1

●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	特任 講師	特任 助教	計	ポストドク	技術系職員		事務系職員			計
										常勤	非常勤	常勤	非常勤		
現 員	19	16	2	21	1	3	13	75	0	10	34	6	11	61	136

●日本学術振興会特別研究員数

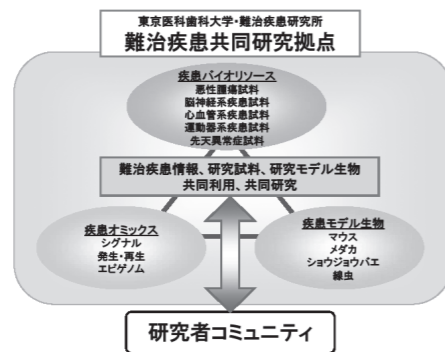
区分	PD	DC1	DC2	SPD	RPD
現 員	2	0	3	0	3

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。



2020年度の主な成果

主な研究者	研究成果	論文名及び掲載雑誌名
金児一石野知子 教授 (東海大学医学部) 石野史敏 教授 (エビジェネティクス分野) 北澤萌恵 助教 (同上)	指定難病の鏡・縮方症候群は RTL1 遺伝子の過剰発現で発症する —RTL1 が胎児・新生児期の筋肉にだけ発現する理由は？—	Deficiency and overexpression of Rtl1 in the mouse cause distinct muscle abnormalities related to the Temple and Kagami-Ogata syndromes, respectively. <i>Development</i> 147:dev185918 (2020). doi: 10.1242/dev.185918.
笹野哲郎 教授 (東京医科歯科大学大学院) 小川英知 准教授 (大阪大学) 黒柳秀人 准教授 (遺伝子発現制御学分野) 井原健介 助教 (生体情報薬理学分野)	変異型タンパク質の細胞質への蓄積が拡張型心筋症を重症化する —ゲノム編集による自然発症心房細胞を合併する拡張型心筋症モデルマウスの確立—	A missense mutation in the RSRSP stretch of Rbm20 causes dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation in mice. <i>Scientific reports</i> . 2020, 10 (1): 17894.
佐藤俊朗 教授 (慶應大学) 樺木俊聡 教授 (生体防御学分野) 佐藤 卓 准教授 (同上)	障害を受けた腸の再生の中心的な役割を担う細胞を発見 —腸障害疾患の治療法開発に期待—	Characterization of radioresistant epithelial stem cell heterogeneity in the damaged mouse intestine <i>Scientific Reports</i> 10:8308 (2020) doi: 10.1038/s41598-020-64987-1.
清水重臣 教授 (病態細胞生物学分野) 鳥居 暁 准教授 (同上)	二種類のオートファジーを使い分けるメカニズムの解明 —オートファジーと細胞死制御分子のクロストーク—	Identification of a phosphorylation site on Ulk1 required for genotoxic stress-induced alternative autophagy <i>NATURE COMMUNICATIONS</i> 2020 :1(1):1754. doi: 10.1038/s41467-020-15577-2.
稲澤謙治 教授 (分子細胞遺伝学分野) 井上 純 准教授 (同上)	がん抑制型 miRNA-634 の経皮投与による EGFR 阻害剤の治療効果の増強 —皮膚扁平上皮がんに対するマイクロ RNA 軟膏製剤の実用化へ期待—	Improving the efficacy of EGFR inhibitors by topical treatment of cutaneous squamous cell carcinoma with miR-634 ointment <i>Mol Ther Oncolytics</i> . 2020 Oct 22;19:294-307. doi: 10.1016/j.omto.2020.10.009.
田中信之 教授 (日本医科大学) 澁谷浩司 教授 (分子細胞生物学分野) 清水幹啓 助教 (同上)	大腸がんに関与する Wnt シグナルを血圧調節分子 WNK が制御する —大腸がんに対する新たな抗がん剤標的分子として期待—	WNK regulates Wnt signalling and β -Catenin levels by interfering with the interaction between β -Catenin and GID. <i>Communications Biology</i> 3, 666.

楠 進 教授 (近畿大学) 安形高志 研究員 (Academia Sinica) 鈿田武志 教授 (免疫疾患分野)	原因不明の免疫性神経疾患ギラン・バレー症候群に関連する遺伝子変異の同定に成功 —ギラン・バレー症候群発症の仕組み解明への手がかりとリスク因子の同定—	A Guillain-Barré syndrome-associated SIGLEC10 rare variant impairs its recognition of gangliosides <i>Journal of Autoimmunity</i> 116:102571 (2021) doi: 10.1016/j.jaut.2020.102571.
大野茂男 特任教授 (横浜市立大学) 西村栄美 教授 (幹細胞医学分野) 松村寛行 助教 (同上)	幹細胞分裂タイプの違いが毛包の再生・老化を決定づけることを発見 —毛髪再生を含む上皮の再生促進・抗老化に期待—	Distinct types of stem cell divisions determine organ regeneration and aging in hair follicles <i>Nature Aging</i> 1:190-204 (2021)
佐藤俊朗 教授 (慶應大学) 樺木俊聡 教授 (生体防御学分野) 佐藤 卓 准教授 (同上)	インターフェロニンシグナル制御が腸幹細胞の維持に重要なことを発見 —頑強な腸上皮を保つための新たな仕組み—	Regulated IFN signalling preserves the stemness of intestinal stem cells by restricting differentiation into secretory-cell lineages. <i>Nat Cell Biol.</i> 2020 Aug;22(8):919-926.
岩田 淳 准教授 (東京大学) 岡澤 均 教授 (神経病理学分野) 田中ひかり 特別研究員 (同上)	アルツハイマー病の超早期細胞死の解明と新たな治療標的を発見 —アミロイド仮説を修正する病態発症の新仮説を提唱—	YAP-dependent necrosis occurs in early stages of Alzheimer's disease and regulates mouse model pathology <i>NATURE COMMUNICATIONS</i>
清水重臣 教授 (病態細胞生物学分野) 荒川聡子 准教授 (同上) 山口啓史 助教 (同上)	新規オートファジーの変調は神経変性疾患の原因となる —神経変性疾患の新規治療法開発に期待—	Wipi3 is essential for alternative autophagy and its loss causes neurodegeneration <i>Nature Communiations</i> 2020 Oct 20;11(1):5311. doi: 10.1038/s41467-020-18892-w
樺木俊聡 教授 (生体防御学分野) 金山剛士 助教 (同上) 泉 湧太 大学院生 (同上)	炎症・感染環境下における造血応答解析法の開発	CD86-based analysis enables observation of bona fide hematopoietic responses <i>Blood</i> doi: 10.1182/blood.2020004923.

2020年度採択課題

1) 戦略的課題 6件

代表者	職名	所属機関	研究題目
村川 泰裕	チームリーダー	理化学研究所	老化およびアルツハイマー病ミクログリアの時空的転写制御変容機構の解明
奥山 輝大	准教授	東京大学定量生命科学研究所	自閉症スペクトラム障害における社会性記憶異常の神経メカニズムの解析
石濱 泰	教授	京都大学大学院薬学研究所	プロテオミックスと sQTL の横断的解析による免疫疾患の病因解明
鈴木 聡	教授	神戸大学大学院医学研究科	細胞競合を基盤にしたがん先制医療の開発研究
金児一石野知子	教授	東海大学医学部看護学科	レトロトランスポゾン由来の哺乳類特異的遺伝子の機能解析
岩田 淳	神経内科部長	東京都健康長寿医療センター病院	アルツハイマー病の新規サロゲートマーカーの開発

2) 挑戦的課題 2件

代表者	職名	所属機関	研究題目
木村 太一	医長	国立病院機構北海道医療センター病理診断科	異形 SWI/SNF 型クロマチン再構成複合体滑膜肉腫幹細胞に及ぼす効果の検討
笹野 哲郎	教授	東京医科歯科大学歯学総合研究科循環制御内科学	圧負荷モデルマウスを用いた DNA メチル化と心房モデリングの関連に関する検討

3) 一般的課題 39件

代表者	職名	所属機関	研究題目
織田 昌幸	教授	京都市立大学大学院生命環境科学研究科	免疫系タンパク質の立体構造情報に基づく創薬への展開
森 良之	教授	自治医科大学医学部歯科口腔外科学	ヒト舌がんオルガノイドバイオバンクを用いた新規舌がんリスク分類手法の確立
水島 恒和	寄附講座教授	大阪大学大学院医学系研究科炎症性腸疾患治療学	炎症性腸疾患患者の腸管上皮に発現する DNA とオートファジーの関連性に関連した研究
小柴 和子	教授	東洋大学生命科学部応用生物科学科	先天性心疾患責任遺伝子群の制御機構における研究
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	がん代謝機構を利用した新規分子標的治療開発
石谷 太	教授	大阪大学微生物学研究所	モルフォゲン勾配を介した細胞品質管理機構の解析
三枝 理博	教授	金沢大学医薬保健研究域医学系	中枢体内時計の神経機構の解明
宮井 尊史	講師	東京大学医学部附属病院	角膜炎の遺伝子解析による疾患メカニズムの探求
矢野 憲一	教授	熊本大学 産業ナノマテリアル研究所	DNA 損傷型抗がん剤の感受性増幅機構の解明とその臨床応用に関する共同研究
西頭 英起	教授	宮崎大学医学部機能生化学	脂肪萎縮症克服のための病態分子メカニズムの解明
岩崎 雄吾	准教授	名古屋大学生命農学研究科	新規リン脂質の合成と生理機能に関する研究
大村谷昌樹	教授	兵庫医科大学医学部	生体における Beclin 1 遺伝子の機能解析
宮坂 尚幸	教授	東京医科歯科大学大学院生殖機能協同学	先制医療を見据えた生殖・周産期からのアプローチ 基礎研究から臨床応用への展開のための基盤の確立
廣明 秀一	教授	名古屋大学大学院創薬科学研究科	シグナル伝達に介入する特異性の高い PDZ ドメイン阻害剤の合理的分子設計
菊池 秀彦	教授	尚絅大学短期大学部食物栄養学科	ヒストンアセチル化関連酵素群の生理機能と発がん制御の解明
猪狩 勝則	准教授	東京女子医科大学整形形成学	マルチオミックス解析による MTX-LPD の危険因子の同定
金丸 和典	准教授	日本大学	膵β細胞の生体内イメージング解析による糖尿病の治療戦略創生
角舎 学行	講師	広島大学原爆放射線医科学研究所腫瘍外科	低酸素微小環境がもたらす乳癌幹細胞の薬剤感受性変化の分子機構
田中 信之	教授	日本医科大学先端医学研究所	がん幹細胞の発生と維持機構の解析とそれを標的とした治療法の開発
横田 隆徳	教授	東京医科歯科大学大学院脳神経病態学	神経免疫疾患における抑制性 B 細胞共受容体の役割の解明

曾根 雅紀	准教授	東邦大学理学部	モデルシヨウジョウバエを用いた神経変性疾患の分子遺伝学的解析
寺井 崇二	教授	新潟大学大学院医歯学総合研究科	難治性肝疾患の病態解明と治療法の創出研究
松井 秀彰	教授	新潟大学脳研究所	加齢依存性 NAFLD/NASH モデルの確立
赤尾 幸博	特任教授	岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科	臨床応用に向けたマイクロ RNA 核酸抗がん剤の最適化
平沢 晃	教授	岡山大学臨床遺伝医療学	卵巣癌に対する DNA 修復システムを標的としたマイクロ RNA 核酸抗がん剤の開発
小内 伸幸	教授	金沢医科大学医学部免疫学講座	血液細胞分化経路解明と急性骨髄性白血病の新規治療法の創出
林 深	遺伝子医療研究部長	愛知県医療療育総合センター	てんかん及び精神発達遅滞関連遺伝子の機能解析
江面 陽一	教授	帝京大学	遺伝性溶骨症の病因病態解析
西口 康二	准教授	東北大学医学系研究科視覚先端医療学	網膜色素変性に対する集約的変異検出法の開発
西田 満	教授	福島県立医科大学医学部生化学講座	集団的がん細胞浸潤を司るリーダー細胞の特性解明
松本 佳則	助教	岡山大学大学院医歯学総合研究科腎・免疫・内分泌代謝内科学	自己免疫性疾患の新規病態メカニズムの解明
志浦 寛相	助教	山梨大学生命環境学域	Peg10 遺伝子の未知機能と哺乳類進化に果たした役割の解明
金井 正美	教授	東京医科歯科大学実験動物センター	胎生期の血液細胞塊で転写因子 Sox17 により発現誘導される遺伝子の発現解析
藤井 晋也	准教授	東京医科歯科大学生体材料工学研究所	細胞増殖シグナル制御化合物と受容体の分子間相互作用の解明
片岡 直行	准教授	東京大学農学生命科学研究科	虚血性疾患における低酸素刺激特異的な選択的スプライシング機構とその意義の解明
岩坪 威	教授	東京大学医学系研究科神経病理学	アルツハイマー病におけるリン酸化シグナル変化への環境因子の影響
山崎 正和	准教授	秋田大学大学院医学系研究科	比較オミックスによる Pls 多様性を司る機構の解析
柏木 太一	助教	東京医科大学	神経幹細胞由来グリオーマ幹細胞様細胞の性状解析
千葉奈津子	教授	東北大学加齢医学研究所腫瘍生物学	乳腺発がんにおける BRCA1/2 タンパク機能の統合的理解

4) 国際共同研究 13 件

代表者	職名	所属機関	研究題目
Sudol, Marius	Adjunct Associate Professor	Adjunct Faculty at the Icahn School of Medicine at Mount Sinai	Mouse model of the Golabi-Ito-Hall (GIH) syndrome of intellectual disability phenocopies severe autism
Penninger, Josef, M	Director & Professor	Life Science Institute, University of British Columbia	Establishment of a mouse sarcopenia model due to MKK7-deficiency
Peter St George-Hyslop	Professor	Cambridge Institute for Medical Research, University of Cambridge	Profiling the Lysosomal Membrane Landscape in Neurodegenerative Disease
Sharma Ronesh Asnil	Assistant Professor	Fiji National University	Analysis of disease-associated viral infections and prediction of functional regions in protein sequences
Marilyn Bernice Renfree	University Laureate Professor and Ian Potter Chair of Zoology	The University of Melbourne School of BioSciences	Analysis of development of mice with marsupial type Peg10
Bradley Mark	Professor	School of Chemistry, The University of Edinburgh	Niche mimicking polymer-based regulation of cancer stem cells (CSCs)
Takamitsu, Kato, A	Associate Professor	Department of Environmental & Radiological Health Sciences, Colorado State University	Development of novel DNA double-strand break repair inhibitors for cancer therapy
Yong-Sang Song	Professor	Department of Obstetrics and Gynecology, Seoul National University College of Medicine	Genomics, bioinformatics and systems medicine to facilitate therapy of ovarian cancer
Hajime Hirase	Professor	Center for Translational Neuromedicine, University of Copenhagen	Chronic monitoring of energy metabolism in the mouse nervous system
Liu Jun	Research fellow	Department of Immunology, Fudan University	Role of the lysosomal protein LAPTM5 in B cell tolerance
Masako Suzuki	Research Assistant Professor	Albert Einstein College of Medicine	Maternal vitamin D deficiency/insufficiency increases the disease risks of offspring later in life by changing immune cell proportions
Makoto Inoue	Assistant Professor	University of Illinois at Urbana-Champaign	Early-life trauma induces neuropsychiatric disorders in autoimmune disease via altered immune system
Yoshinori Takahashi	Assistant Professor	Pennsylvania State University Hershey Medical Center	The role of Bif-1 in alternative autophagy

5) 研究集会 2 件

代表者	職名	所属機関	研究題目
片桐 豊雅	教授	徳島大学先端薬学研究所	第 4 回 国際がんプレジジョン医療学会 2020
中野 裕康	教授	東邦大学	第 1 回 細胞死コロキアム

6) 新型コロナウイルス 特別研究採択課題 3 件

代表者	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 様酵素 838-CAP による COVID-19 重症化阻止
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	コロナウイルス感染細胞内に形成されるオルガネラ様構造体の解析
秋吉 一成	教授	京都大学大学院工学研究科	プルランの免疫増強作用と COVID19 予防ワクチンへの応用についての研究

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

※ 2020 年度は、開催中止

2020 年度難治疾患共同研究拠点シンポジウム
(2021.1.22 開催)

東京医科歯科大学 難治疾患研究所	
2020 年度 難治疾患共同研究拠点シンポジウム プログラム	
2021 年 1 月 22 日 (金) 10:30 - 12:00 (お昼開催)	
10:30-10:35	開会の辞 仁科 博史 所長 (東京医科歯科大学)
10:35-10:55	鈴木 聡 先生 (神戸大学) 「Hippo-YAP1 経路異常と癌発生」
10:55-11:15	金見-石野 知子 先生 (東海大学) 「LTR レトロウイルス由来の哺乳類特異的遺伝子 Sinh3/RH6 の胎児における機能」
11:15-11:35	奥山 雅大 先生 (東京大学) 「自閉症スペクトラムにおける社会性記憶異常の神経 メカニズムの解析」
11:35-11:55	岩田 淳 先生 (東京医科大学健康長寿医療センター) 「アルツハイマー病の新規病態の解明」
11:55-12:00	閉会の辞 佐々木 謙郎 部門長 (東京医科歯科大学)

第 15 回生命科学研究所ネットワーク国際シンポジウム
(2020.11.5 ~ 6 開催)

The 15th International Symposium of the Institute Network for Biomedical Sciences
The 6th IMCR Symposium on Endocrine and Metabolism

Cutting Edge of Biomedical and Metabolic Sciences

November 5 [Thu] – 6 [Fri], 2020

To be held Online
https://www.imcr.gunma-u.ac.jp/?page_id=8105

Network Members
 Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University
 Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University
 The Institute of Medical Science, The University of Tokyo
 Medical Research Institute, Tokyo Medical and Dental University
 Institute for Molecular and Cellular Regulation, Gunma University
 Cancer Research Institute, Kanazawa University
 Institute for Genome Sciences and Medical Sciences, Kyoto University
 Research Institute for Molecular Dynamics, Osaka University
 Institute for Protein Research, Osaka University
 Institute of Advanced Medical Sciences, Teikyo University
 Medical Institute of Bioregulation, Fukuoka University
 Institute of Molecular Evolution and Genetics, Kumamoto University

Gunma University
 Institute for Molecular and Cellular Regulation
 IMCR Joint Usage Research Program for Endocrine and Metabolism
 Gunma Univ. All-Link, All-Open, All-Share, Collaborative Integration Project (OANO)
 The evolution of the history of life and disease and search for molecular target.

Contact Person: Takeshi Inagaki
 Phone: 027-220-8880
 Email: inagaki@gunma-u.ac.jp

トランスオミクス医学研究拠点ネットワーク形成事業

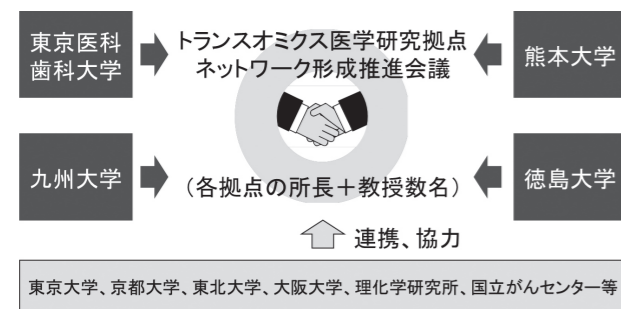
東京医科歯科大学難治疾患研究所は、平成 28 年 4 月より、トランスオミクス研究教育拠点の構築を目指し、文部科学省の支援を受けて九州大学、熊本大学、徳島大学の共同利用・共同研究拠点と協力して「トランスオミクス医学研究拠点ネットワーク形成事業」を推進しています。

【事業の目的】

- ・トランスオミクス研究を実現するため、国内の技術開発、人材育成を推進し、プラットフォームを確立する。
- ・各種オミクス研究が隆盛しているが、今後は種類の異なるビッグデータを統合する技術と人材が求められる。そこで優れた実績を持つ国内 4 拠点が連携し世界に先駆けて、この喫緊の課題を解決する。

【参加共同利用・共同研究拠点】

- ・東京医科歯科大学 難治疾患研究所（難治疾患共同研究拠点）
- ・九州大学 生体防御医学研究所（多階層生体防御システム研究拠点）
- ・徳島大学 先端酵素学研究所（酵素学研究拠点）
- ・熊本大学 発生医学研究所（発生医学の共同研究拠点）



【令和 2 年度の活動内容】

- ・合同研究シンポジウム
第 5 回トランスオミクス医学研究拠点ネットワークシンポジウム
The Future of Trans-Omics in the Age of COVID-19
■日時：2021 年 1 月 22 日
■実施方法：オンライン（Zoom）開催

難治疾患研究所からの参加発表者（2 名）

石野史敏（エピジェネティクス分野 教授）

Beyond genomic imprinting: mammalian-specific genes from LTR retrotransposons and primate-specific genes from retroviruses

二階堂 愛（ゲノム機能情報分野 教授）

High-throughput transcriptome methods for human cell atlas

・技術講習会

第 4 回トランスオミクス医学研究拠点ネットワーク事業技術講習会

■日時：2021 年 1 月 27 日

■実施方法：オンライン（Zoom）開催

平谷伊智朗（理化学研究所 生命機能科学研究センター）

「1 細胞からの全ゲノム DNA 複製解析を可能にする scRepli-seq の紹介」

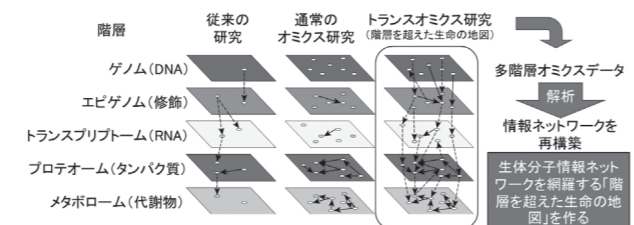
幸田 尚（山梨大学大学院 総合研究部 生命環境領域教授）

「DNA のシトシン修飾の包括的解析技術 EnIGMA-seq の紹介」

松沢 歩（東京医科歯科大学 難治疾患研究所 エピジェネティクス分野 プロジェクト助教）

「低発現遺伝子にコードされるタンパク質の生体内発現部位の検出法」

生命現象や疾患メカニズムを真に理解するためには、多階層のオミクスデータから細胞が織りなす情報ネットワークを再構築し、細胞の戦略を理解する必要がある（トランスオミクス研究）。しかしながら、トランスオミクス研究のプロトコルは存在せず、実現させる人材も体制



基盤（プラットフォーム）もない。そこで本事業では、世界で初めてトランスオミクス研究の共通プロトコル（「新しい生命の地図」）を開発し、研究プラットフォームの構築と人材育成を行う。

本事業において難治疾患研究所では主にゲノミクス、エピゲノミクス、トランスクリプトミクスの 3 つのレイ

ヤーについて、オミクスデータの取得を行うとともに他の 3 拠点との連携によって系統的に研究することによりトランスオミクス研究のモデルとなりうる独創的な研究を推進する。特にエピゲノミクス研究においては新規のヒドロキシメチルシトシン解析法の確立を行うとともに、この手法を標準化し、トランスオミクス研究のプロトコルへの統合を行うことを計画している。

受賞および特許

各種受賞

発生再生生物学分野

進 匡

第19回次世代を担う若手フェーマ・バイオフィォーラム

2020、優秀発表賞

中野 泰博

日本肝臓学会 冠 Award を受賞 (2020年11月5日)

生体防御学分野

佐瀬美和子

第65回日本口腔外科学会総会・学術大会最優秀口演発表賞、ヒト舌癌オルガノイドバイオバンクの構築

幹細胞制御分野

Melig Gerel

第41回日本炎症・再生医学会 優秀演題賞

対象論文: Melig G, Nobuhisa I, Kiyoka S, Tsukahara R, Itabashi A, Kanai Y, Kanai M, Taga T. Role of the Rasip1 in the hematopoiesis of HSC-containing hemopoietic cluster cells in midgestation of mouse embryos. 第41回日本炎症・再生医学会 ポスター発表

2020年7月8日 オンライン開催

神経病理学分野

田中ひかり

学会奨励賞 (基礎研究部門)

受賞年月: 2020年11月

授与機関: 第39回日本認知症学会学術集会

「YAP 依存的ネクロシスは超早期アルツハイマー病態を制御する」

田中ひかり

時実利彦記念神経科学優秀博士研究賞

受賞年月: 2020年7月

授与機関: 第43回日本神経科学大会

「超早期アルツハイマー病態における分子メカニズムの解明」

幹細胞医学分野

松村寛行

東京医科歯科大学【やる気倍増プロジェクト】優秀研究賞

2020年難治疾患研究所優秀論文賞

最優秀論文賞

佐藤 卓 (生体防御学分野)

Regulated IFN signalling preserves the stemness of intestinal stem cells by restricting differentiation into secretory-cell lineages.

Nature Cell Biology

優秀論文賞

田中ひかり (神経病理学分野)

YAP-dependent necrosis occurs in early stages of Alzheimer's disease and regulates mouse model pathology

Nature communications

山口啓史 (病態細胞生物学分野)

Wipi3 is essential for alternative autophagy and its loss causes neurodegeneration

Nature Communications

金山剛士 (生体防御学分野)

CD86-based analysis enables observation of bona fide hematopoietic responses

Blood

特許

分子細胞遺伝学分野

〈特許取得 - 国内〉

2020年6月19日、登録番号: 6719900号、「がんに対するL-アスパラキナーゼ剤とオートファジー阻害剤の併用療法の効果の予測方法、及び、がん治療剤」稲澤譲治・井上純・高橋寛吉、国立大学法人東京医科歯科大学・株式会社ビー・エム・エル

〈特許取得 - 外国 (EP)〉

2020年9月30日、登録番号: 2963125B1号、「マイクロRNAの測定方法、並びに、がん治療剤及びこれを含むがん治療のための医薬組成物」小崎健一・河野辰幸・山本信祐・井上純・稲澤譲治、国立大学法人東京医科歯科大学・富士フィルム株式会社

〈特許出願 - 国内〉

2020年6月23日、出願番号: 特願2020-107768、「がん用医薬組成物」稲澤譲治・村松智輝・徐博、国立大学法人東京医科歯科大学

〈特許出願 - 外国 (PCT)〉

2020年12月24日、出願番号 PCT/JP2020/48114、「医薬組成物」稲澤譲治・玄泰行・井上純・村松智輝・高川祐希、国立大学法人東京医科歯科大学

神経病理学分野

【申請】

◇新規特許出願

【国内】

出願番号: 特願2020-204343

出願日: 2020/12/9

発明者: 岡澤 均

出願人: 国立大学法人東京医科歯科大学

出願国: 日本

【国際】

1. 出願番号: PCT/JP2020/29677

出願日: 2020/8/3

発明者: 岡澤 均

出願人: 国立大学法人東京医科歯科大学

出願国: PCT

2. 出願番号: PCT/JP2020/023496

出願日: 2020/6/16

発明者: 岡澤 均

出願人: 国立大学法人東京医科歯科大学

出願国: PCT

◇出願公開

【国際】

1. 出願番号: PCT/JP2019/036926

出願日: 2019/9/20

公開番号: WO2020/059847

公開日: 2020/3/26

発明者: 岡澤 均

出願人: 国立大学法人東京医科歯科大学

出願国: PCT

2. 出願番号: 16/978,959

出願日: 2019/3/8

公開番号: 20200408783

公開日: 2020/12/31

発明者: 岡澤 均

出願人: 国立大学法人東京医科歯科大学、デンカ生研株式会社

出願国: US

3. 出願番号: 201980018335.7

出願日: 2019/3/8

公開番号: 111886500

公開日: 2020/11/3

発明者: 岡澤 均

出願人: 国立大学法人東京医科歯科大学、デンカ生研株式会社

出願国: CN

4. 出願番号: PCT/JP2019/044042

出願日: 2019/11/11

公開番号: WO2020/100779

公開日: 2020/5/22

発明者: 岡澤 均

出願人: 国立大学法人 東京医科歯科大学

出願国: PCT

5. 出願番号: 19743299.0

出願日: 2019/1/29

公開番号: 3747468

公開日: 2020/12/9

公開日: 岡澤 均

出願人: 国立大学法人東京医科歯科大学

出願国: EP

6. 出願番号: PCT/JP2020/023496

出願日: 2020/6/16

公開番号: WO2020/255938

公開日: 2020/12/24

発明者: 岡澤 均

出願人: 国立大学法人東京医科歯科大学

出願国: PCT

◇出願審査請求

【国内】

出願番号: 特願2018-533500

出願日: 2017/8/8

審査請求日: 2020/7/27

発明者: 岡澤 均

出願人: 国立大学法人 東京医科歯科大学

【国際】

1. 出願番号: 19764930.4

出願日：2019/3/8
審査請求日：2020/10/7
発明者：岡澤 均
出願人：国立大学法人東京医科歯科大学、デンカ
生研株式会社

出願国：EP
2. 出願番号：19743299.0
出願日：2019/1/29
審査請求日：2020/8/25
発明者：岡澤均
出願人：国立大学法人 東京医科歯科大学
出願国：EP

【登録】

【国際】

出願番号：16/324,192
出願日：2017/8/8
公開日：2019/7/11
登録番号：10730937
登録日：2020/8/4
発明者：岡澤 均、梶川 益紀（敬称略）
特許権者：国立大学法人東京医科歯科大学
出願国：US



学位取得者

発生再生生物学分野

山下 真梨子
「Identification and Analysis of Novel Proliferation Mechanisms of Cerebellar Granule Cell Precursors」

免疫疾患分野

AlborzianDehSheikh Amin
「Study of Cis/Trans ligands of B cell Siglecs」

生体防御学分野

佐瀬美和子
「ヒト舌癌オルガノイドバイオバンクの構築」
南出夏奈
「IRF2 maintains the stemness of colonic stem cells by limiting physiological stress from interferon.」

分子細胞遺伝学分野

高川祐希
「miR-1293, a candidate for miRNA-based cancer therapeutics, simultaneously targets BRD4 and the DNA repair pathway.」

分子遺伝学分野

鄧 宇
「Estradiol/GPER affects the integrity of mammary duct-like structures in vitro.」

神経病理学分野

田中 ひかり
「The intellectual disability gene PQBP1 rescues Alzheimer's disease pathology」

分子疫学分野

エイ・コ・コ・ミン
「Association study of long non-coding RNA HOTAIR rs920778 polymorphism with the risk of cancer in an elderly Japanese population」

メディナ・アブドサトル

「Association of CYP2A6 gene deletion with cancers in Japanese elderly: an autopsy study」

フロンティア研究室遺伝子発現制御学

渡部栄地
「Nascent RNA sequencing reveals pre-mRNA processing dynamics in living animals」

難研セミナー

2019年度大学院生研究発表会・若手研究者研究発表会

2021年3月10日
長岡 勇也 (発生再生生物学分野)
PGE2とその受容体EP2誘導性シグナルはYAP依存的細胞競合に必須である
進 匡 (発生再生生物学分野)
成体脳におけるMKK7-JNKシグナルの機能解明
Jing PU (発生再生生物学分野)
Identification of metabolic pathways involved in murine primitive streak formation
泉 湧太 (生体防御学分野)
単球前駆細胞を標的とした新規単球性白血病治療薬開発へ向けた基礎研究

2020年度大学院生研究発表会・若手研究者研究発表会

2021年3月10日
池田 拓海 (病態生理化学分野)
MTMR3の膵臓がん抑制機能の発見
石川 駿 (生体防御学分野)
加齢性ミクログリアの転写制御機構の解明

2019年度難治疾患研究所基礎研究奨励費採択者講演会

2021年3月10日
野口 沙央理 (病態細胞生物学分野)
表皮特異的Beclin1ノックアウトマウスの解析

2020年度難治疾患研究所基礎研究奨励費採択者講演会

2021年3月10日
長谷川 純矢 (病態生理化学分野)
新規リン脂質の機能解明とその作用標的の探索
桜井 一 (病態細胞生物学分野)
新規開発低分子化合物による生体内オートファジーの可視化
荒川 聡子 (病態細胞生物学分野)
トランスゴルジ膜が担う新たな細胞機能GOMEDの解析

2019年度「難治疾患の研究」を重点課題とする研究助成採択者講演会

2021年3月10日
黒柳 秀人 (フロンティア研究室 (遺伝子発現制御学))
心筋症と不整脈を発症する疾患モデルマウスの病態形成機構の解明
赤津 ちづる (免疫疾患分野)
樹状細胞疲労阻害による新規免疫療法開発のための基礎的研究
藤田 慶大 (神経病理学分野)
VCP変異を伴う前頭側頭葉変性症における発生異常に基因する晩発性病態の解析
佐藤 卓 (生体防御学分野)
ヒト舌癌オルガノイドバイオバンクの構築と、それを用いた癌治療抵抗性獲得機構の解明
仁部 洋一 (病態細胞生物学分野)
腸炎の病態形成における新規オートファジー関連分子の役割

2020年度「難治疾患の研究」を重点課題とする研究助成採択者講演会

2021年3月10日
佐々木 純子 (病態生理化学分野)
リンパ腫の悪性化を反映するイノシトールリン脂質分子種の機能
本田 真也 (病態細胞生物学分野)
中心体タンパク質Cep63を分子標的とした膵がん治療法の開発
辻岡 政経 (病態細胞生物学分野)
新規接着斑構成因子FAP1依存的ながん転移メカニズムの解明
平岡 優一 (分子神経科学分野)
周期性失調症6型病態においてGLAST P290R

変異の果たす役割の解明
Yikelamu Alifu (発生再生生物学分野)
ゼブラフィッシュを用いた概日リズム依存性疾患に関する基礎研究

2019年難治疾患研究所優秀論文賞受賞者講演会

2021年3月10日
劉 楠 (講演:松村 寛行) (幹細胞医学分野)
Stem cell competition orchestrates skin homeostasis and ageing

2020年難治疾患研究所優秀論文賞受賞者講演会

2021年3月10日
佐藤 卓 (生体防御学分野)
Regulated IFN signalling preserves the stemness of intestinal stem cells by restricting differentiation into secretory-cell lineages.
田中 ひかり (神経病理学分野)
YAP-dependent necrosis occurs in early stages of Alzheimer's disease and regulates mouse model pathology
山口 啓史 (病態細胞生物学分野)
Wipi3 is essential for alternative autophagy and its loss causes neurodegeneration
金山 剛士 (生体防御学分野)
CD86-based analysis enables observation of bona fide hematopoietic responses

難研セミナー／難治疾患共同研究拠点セミナー

第607回 / 第182回
五十嵐 啓 Tenure-track Assistant Professor (カリフォルニア大学アーバイン校 医学部 神経科学・解剖学科)
記憶を支える脳回路メカニズムと、アルツハイマー病におけるその失調
2020年9月23日

第608回 / 第183回

松本 有樹修 准教授 (九州大学 生体防御医学研究所 分子医科学分野)
再定義されるタンパク質翻訳機構
2020年2月25日

第609回 / 第184回

西増 弘志 准教授 (東京大学 大学院理学研究科生物化学専攻生物化学科)
CRISPR-Cas9の構造機能解析および新規ゲノム編集ツールの開発
2020年2月25日

第610回 / 第185回

矢野 真人 准教授 (新潟大学 大学院医歯学総合研究科神経生物・解剖学分野)
神経系疾患の理解と治療への挑戦～蛋白質-RNA相互作用の分子精査に基づいて～
2020年2月25日

第611回 / 第186回

伊藤 暢 特任准教授 (東京大学 定量生命科学研究所 幹細胞創薬社会連携部門)
肝障害・再生過程における『胆管リモデリング』の発見と、その生理機能・制御メカニズムの解明
2020年2月25日

第612回 / 第187回

澤本 和延 教授 (名古屋市立大学 医学研究科 神経発達・再生医学分野)
生後脳における新生ニューロンの移動・再生機構とその操作技術
2020年2月25日

第613回 / 第188回

久場 敬司 教授 (秋田大学 大学院医学系研究科 分子機能学・代謝機能学)
疾患病態におけるシグナル伝達とRNA制御の解明
2020年9月23日

第614回 / 第189回

長谷 耕二 教授 (慶應義塾大学 薬学部 生化学講座)
腸内共生と疾患
2020年9月24日

第615回 / 第190回

松田 憲之 プロジェクトリーダー (東京都医学総合研究所 ユビキチンプロジェクト)
ミトコンドリア品質管理を介した遺伝性パーキンソン病の発症抑制メカニズム
2020年9月24日

第616回 / 第191回

田中 元雅 チームリーダー (理化学研究所 脳神経科学研究センター タンパク質構造疾患研究チーム)
タンパク質の凝集化に着目した精神・神経変性疾患の病態解明
2020年9月24日

第617回 / 第192回

瀬川 勝盛 准教授 (大阪大学 免疫学フロンティア研究センター 免疫・生化学)
リン脂質の動態が制御する生命現象と疾患 - これまでの研究と今後の展望 -
2020年10月12日

第618回 / 第193回

内藤 尚道 助教 (大阪大学 免疫学フロンティア研究センター 免疫・生化学)
血管内皮細胞の多様性と血管維持機構の解明
2020年10月12日

第619回 / 第194回

影山 龍一郎 教授 (京都大学 ウイルス・再生医学研究所)
神経幹細胞制御における遺伝子発現動態の意義
2020年11月16日

難研セミナー／難治疾患共同研究拠点セミナー／トランスオミクスセミナー

第620回 / 第195回 / 第2回
横溝 岳彦 教授 (順天堂大学大学院医学研究科生化学第一講座)
ロイコトリエンB4受容体BLT1発現が規定するマクロファージと樹状細胞サブセットの機能解析
2020年11月19日

先端分子医学研究部門 Division of Advanced Molecular Medicine

先端分子医学研究部門内の各分野は、生体の恒常性維持と修復の分子基盤について、細胞、器官、個体の各レベルで取り組んでいる。遺伝子や蛋白質の構造・機能から個体の適応応答に至るまで、種々の異なる視点から推進する研究が、生活習慣病、骨粗鬆症、免疫疾患、神経疾患、循環器疾患、悪性腫瘍などの病因解明や新規治療法・予防法の確立に寄与するべく活動している。本年の成果は以下の通りである。

分子細胞生物学

- 血圧調節に関与するリン酸化酵素WNKがE3リガーゼMAEA/RMND5Aを介してWntシグナルを制御することを示した。
- WNK阻害剤のマウスモデルへの投与により大腸がんの増殖が抑制されることから、WNKが抗がん剤の新たな標的分子となることを示した。

分子神経科学

- グリア型グルタミン酸トランスポーターGLT1が片頭痛の前兆の感受性に関与することを明らかにした。
- 緑内障におけるグルタミン酸トランスポーターEAAT1の変異を同定。
- アデノ随伴ウイルスを用いたin vivoゲノム編集システムの確立。
- 時間・空間(照射時/部位)特異的な生体内遺伝子操作を可能にするマウスの樹立。

生体防御学

- 腸幹細胞の維持にIFNシグナルの抑制が重要なことを発見。
- 損傷腸における主な再生起点細胞の同定。
- ストレス環境下で真の造血応答を観察できる解析技術を開発。

生体情報薬理学

- 変異型RNA結合タンパク質による新たな拡張型心筋症発症メカニズムを発見した。
- ヒト間葉系幹細胞の腫瘍化過程で心臓前駆細胞特異的なバイオマーカーを発見した。
- 血管内皮細胞において動脈硬化発症に重要な炎症誘導に関わるエピゲノム制御を明らかにした。

幹細胞制御

- 胎生中期マウス大動脈に存在する血液細胞塊構成細胞の造血活性維持におけるGIMAPファミリーの関与の解明。
- がん幹細胞がオートスキジス様細胞死を介して腫瘍促進性のM1型マクロファージを誘導するグリオーマ再発メカニズムの解明。

分子構造情報学

- T細胞制御因子とシグナル伝達分子の分子認識機構を高解像度の結晶構造から明らかにした。
- アルツハイマー病等のタウオパチーと呼ばれる神経変性疾患に対する新規シード化合物を発見した。

先端分子医学研究部門 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、さまざま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

セリン/スレオニンキナーゼ WNK (With No lysine (K)) ファミリーは線虫・ショウジョウバエからは哺乳類に至るまで保存されており、ほ哺乳類には4つの WNK ファミリーが存在する。そのうち、WNK1 及び WNK4 は偽性低アルドステロン症 II 型 (PHA II) と呼ばれる常染色体優性遺伝性の高血圧症の原因遺伝子として同定されている。当研究室において、WNK → SPAK/OSR1 → Na, K, Cl 共輸送体というシグナル伝達経路が存在し、その制御異常が PHA II の高血圧症の発症原因の一つになっていることを示すことができた。

一方、WNK1 ノックアウトマウスが胎生致死であることから、発生過程における WNK キナーゼの機能が示唆されている。当研究室では、WNK が Lhx8 の発現誘導や GSK3β を介して神経分化を制御することを報告したが、発生過程において WNK はさらなる重要な機能があると推測されている。そこで当研究室では、特に Wnt シグナルに着目し、WNK の機能解析を進めている。

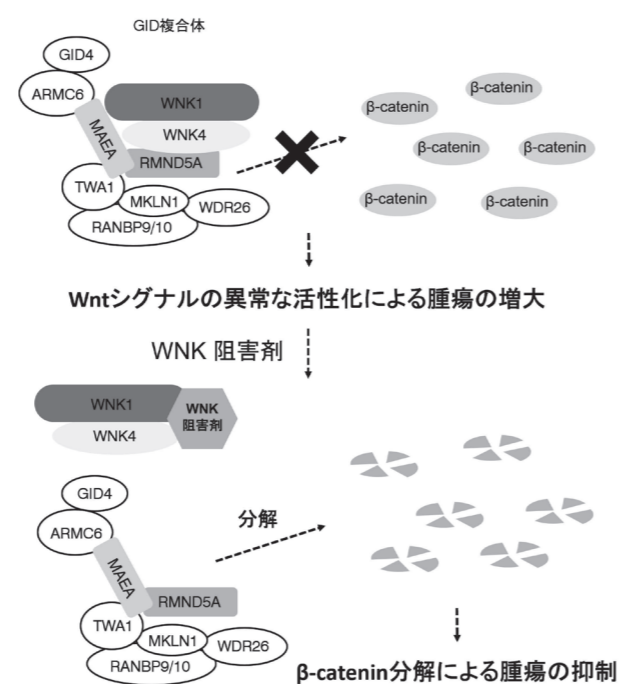
1. WNK は Wnt シグナルを正に制御する。

Wnt シグナルにおける WNK の機能を調べるため、HEK293T 細胞の WNK1 及び WNK4 (WNK1/4) を siRNA によりノックダウンしたところ、Wnt 標的遺伝子の発現減少が確認され、WNK が Wnt シグナルを正に制御することが示された。そこで β-catenin のタンパク質を解析すると、WNK1/4 のノックダウンにより

β-catenin の分解がみられた。Wnt シグナルにおいて β-catenin を分解する E3 リガーゼとして β-TrCP が広く知られている。そこで WNK1/4 のノックダウンによる β-catenin の分解が β-TrCP を介しているか調べたところ、興味深いことにそうではないことが示された。したがって、β-TrCP ではない別の E3 リガーゼによる制御が推測される。そこで、これまでに報告されている β-catenin 分解に関与する E3 リガーゼ SIAH1 や SHPRH との関連を調べたが、これらの E3 リガーゼも WNK による β-catenin 制御には関与しないことが明らかとなった。

2. WNK は GID 複合体を介して β-catenin のタンパク質量を制御する。

以前、当研究室では GID と呼ばれる E3 リガーゼ複合体の構成因子である WDR26 が β-catenin の分解に重要なことを報告した。そこで GID を構成する E3 リガーゼ MAEA 及び RMND5A をノックダウンしたところ、WNK1/4 のノックダウンによる β-catenin の分解が抑制された。また、解析を進めると、WNK が MAEA と結合することが示され、WNK が MAEA と β-catenin の



結合を阻害することで GID による分解を抑制することが明らかとなった。

3. WNK 阻害剤は Wnt シグナルを阻害することで、大腸がんの発生を抑制する。

近年、WNK 阻害剤として STOCKS2S-26016 (26016) が報告された。そこで、Wnt シグナルに対するこの阻害剤の効果を調べたところ、β-catenin のユビキチン化と分解を誘導し、Wnt 標的遺伝子の発現を抑制することがわかった。さらに 26016 の誘導体である #13 の効果も検証したところ、26016 と同様の結果が得られた。したがって、これらの WNK 阻害剤は Wnt シグナルの阻害剤としても機能することが明らかとなった。

β-catenin の分解を誘導する化合物は大腸がん形成を抑制する効果が期待できることから、大腸がんに対する 26016 と #13 の効果を解析した。大腸がん細胞をそれぞれの阻害剤で処理したところ、26016 は細胞死を誘導し、#13 は細胞増殖を抑制することがわかった。そこで大腸がん細胞を皮下移植したヌードマウスにそれぞれの阻害

剤を投与し抗腫瘍効果を検証したところ、驚いたことに 26016 を投与したマウスでは抗腫瘍効果が確認されず、ほとんどのマウスが死んでしまった。おそらく 26016 は抗腫瘍効果よりも毒性が勝ってしまったと考えられる。一方、#13 を投与したマウスでは投与量依存的に腫瘍の大きさが縮小し、致命的な毒性も示さなかった。また、#13 を投与したマウスから腫瘍を回収し β-catenin の発現量を調べると、#13 の投与量依存的に発現が減少していることが明らかとなった。以上の結果から、WNK 阻害剤 #13 は毒性が低く、β-catenin の分解を介して効率的に大腸がんの形成を抑制すると示唆される。

本研究により、WNK が GID 複合体と β-catenin の結合を阻害することで β-catenin の安定化を誘導し、Wnt シグナルを正に制御することが明らかとなった。また WNK 阻害剤が Wnt シグナルの阻害剤としても機能し、大腸がん形成を効率的に抑制することを示した。したがって、β-catenin の新規制御因子として、WNK ががん治療の新たな標的となることが期待される。

研究業績

Sato A, Shimizu M, Goto T, Masuno H, Kagechika

H, Tanaka N and Shibuya H. WNK regulates β-Catenin and GID. *Commun Biol* 3, 666(2020). Wnt signalling and β-Catenin levels by interfering with the interaction between β

先端分子医学研究部門 分子神経科学分野

教授：田中光一 助教：石田紗恵子（～2020年9月30日）、平岡優一

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 が片頭痛の前兆（拡張性抑制）の感受性に関与することを明らかにし、GLT1 が片頭痛の新しい治療標的として有効であることを明らかにした（ハイライト参照）。また、強迫性障害・自閉症・トゥレット症候群などで見られる「繰り返し行動」を再現した GLT1 を思春期以降に欠損させたマウスの全脳を diffusion functional MRI 法 (DfMRI) を用いて解析し、大脳皮質一線条体一視床回路の機能的結合や神経活動の伝播に異常が見られ、その結果、大脳皮質一線条体一視床回路の活動が過剰なることを明らかにしました。さらに、グルタミン酸トランスポーター EAAT1 (GLAST) 欠損マウスが正常眼圧緑内障と同じ症状を示すことから、緑内障患者さんの EAAT1 の全エクソンの配列を解析し、緑内障の発症に強く関与する EAAT1 の機能障害を示すミスセンス変異を同定しました。

2. In vivo ゲノム編集系の確立とそれを用いたドーパミン受容体の新しい機能の解明

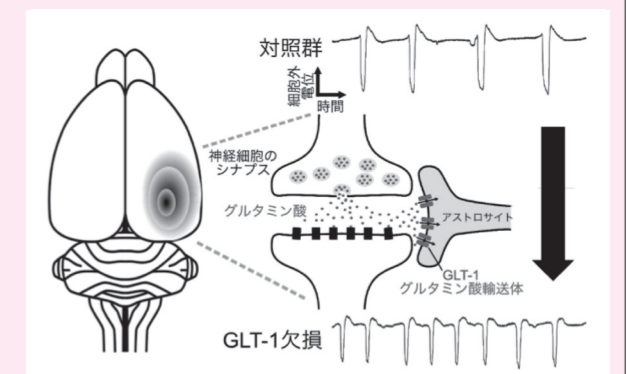
脳機能の解明にとって、脳の特定部位から標的遺伝子を欠損させる方法は必要不可欠である。そのためには、従来、Cre-loxP システムを用いた条件付き遺伝子欠損マウスが用いられてきた。しかし、条件付き遺伝子欠損マウスの作成には、多くの時間と労力が必要だった。我々は、アデノ随伴ウイルスベクターを用い、CRISPR/Cas9 システムを特定の脳部位に発現させることにより、簡便で高効率な in vivo ゲノム編集系を確立した。In vivo ゲノム編集系を用い、側座核のドーパミン受容体 D1R が尾懸垂試験における行動選択に重要な役割を果たすことを明らかにした。

ハイライト

片頭痛の前兆に関与する遺伝子をマウスで同定

頭痛は、成人の約半数が抱えるありふれた病気であるにもかかわらず、日常生活へ支障を来します。中でも片頭痛は激しい痛みを伴い、50歳未満の損失生存年数が最も多い疾患で、大きな社会的損失を生み出しています。従って、片頭痛の治療・予防法開発は社会的に喫緊の課題です。片頭痛の3分の1の患者さんでは、その痛みに先立って視野の一部が欠けたり、歪んだりする前兆現象を示します。片頭痛の前兆では、大脳皮質が拡張性抑制と呼ばれる病的興奮状態に陥ると言われており、そのメカニズムの解明は片頭痛の病態解明や治療法開発に欠かすことができません。しかし、拡張性抑制のメカニズムは不明な点が多く残されています。我々は、神経細胞の興奮性を制御するグルタミン酸代謝に注目して研究を進めました。グルタミン酸は、興奮性の神経伝達物質として働きます。細胞外グルタミン酸濃度は主にグルタミン酸トランスポーターとよばれる遺伝子により制御されているため、我々は「グルタミン酸トランスポーターが片頭痛の前兆の感受性を決定する」という仮説を立てました。脳には GLT1, GLAST, EAAC1 の3種類のグルタミン酸トランスポーターがあるため、それぞれの遺伝子を欠損したマウスを作成し、脳の興奮性を調べました。片頭痛の前兆では、大脳皮質に拡張性抑制と呼ばれる病的興奮状態が引き起こされます。そこで、それぞれ

の遺伝子欠損マウスにおける拡張性抑制を調べたところ、GLT1 欠損マウスのみでその頻度が上昇していました（図1）。これらの結果は、グリア細胞の失調に伴うグルタミン酸体代謝異常が片頭痛前兆の感受性を決定することを示しており、GLT1 遺伝子およびその主な産生細胞であるグリア細胞が前兆を伴う片頭痛の新しい治療標的として有効であることを示しています。また、拡張性抑制は片頭痛のみならず、脳虚血、脳外傷、てんかんなどの神経疾患の病態進展に関与することが知られています。今後、GLT1 遺伝子の働きを増強する薬剤をスクリーニングすることで、片頭痛を含むこれら神経疾患の治療・予防戦略へ向けた研究が加速されると期待されます。



グルタミン酸トランスポーター GLT1 の欠損は拡張性抑制（右上部および右下部）の感受性を増加させる

人事異動

転入：Zhao Di（博士課程）、河合耀瑠、光増 真広（修士課程）、河内健悟（北里大学からの卒業研究生）、松野弘和（研究実践プログラム）
転出：石田紗恵子（助教）、中川道子（技術補佐員）、相川治奈、澤田裕太、Zhao Di（修士課程）、谷茶みづき、片山真吾（研究実践プログラム）

業績目録

発表論文

- Onodera, M., Mayer, J., Furukawa, K., Hiraoka, Y., Aida, T., Tanaka, K., Tanaka, K.F., Rose, C.R., Matsui, K. Exacerbation of epilepsy by astrocyte alkalization and gap junction uncoupling. *J. Neurosci.* (in press)
- Shin, T., Hiraoka, Y., Yamasaki, T., Marth, J.D., Penninger, J.M., Kanai, M., Tanaka, K., Kofuji, S., Nishina, H. MKK7-deficiency in mature neurons impairs parental behavior in mice. *Genes Cells* 26. 5-17, 2021.
- Tsuru H., Osaka M., Hiraoka Y. & Yoshida M. HFD-induced hepatic lipid accumulation and inflammation are decreased in Factor D deficient mouse. *Sci. Rep.* vol. 10: 17593(2020)
- Ihara K., Sasano T., Hiraoka Y., Togo-Ohno M., Soejima Y., Sawabe M., Tsuchiya M., Ogawa H., Furukawa T. & Kuroyanagi H. A missense mutation in the RSRSP stretch of Rbm20 causes dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation in mice. *Sci. Rep.* vol. 10: 17894(2020)

- Horiai M., Otsuka A., Hidema S., Hiraoka Y., Hayashi R., Miyazaki S., Furuse T., Mizukami H., Teruyama R., Tamura M., Bito H., Maejima Y., Shimomura K. & Nishimori K. Targeting oxytocin receptor(Oxtr)-expressing neurons in the lateral septum to restore social novelty in autism spectrum disorder mouse models. *Sci. Rep.* vol. 10: 22173(2020)
- Abe, Y., Takata, N., Sakai, Y., Hamada, H., Hiraoka, Y., Aida, T., Tanaka, K., Le Bihan, D., Doya, K., Tanaka, K.F. Diffusion functional MRI reveals global brain network functional abnormalities driven by targeted local activity in a neuropsychiatric disease mouse model. *Neuroimage* 223. 117318, 2020.
- Cui, W., Aida, T., Ito, H., Kobayashi, K., Wada, Y., Kato, S., Nakano, T., Zhu, M., Isa, K., Kobayashi, K., Isa, T., Tanaka, K., Aizawa, H. Dopaminergic signaling in the nucleus accumbens modulates stress-coping strategies during inescapable stress. *J. Neurosci* 40, 7241-7254, 2020.
- Yanagisawa, M., Namekata, K., Aida, T., Katou, S., Takeda, T., Harada, T., Fuse, N., the Glaucoma Gene Research Group, Tanaka, K. EAAT1 variants associated with glaucoma. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 529, 943-949, 2020.
- Mori, D., Sekiguchi, M., Sobue, A., Kushima, I., Chenyao, W., Arioka, Y., Kato, H., Kodama, A., Kubo, H., Ito, N., Sawahata, M., Hada, K., Ikeda, R., Shinno, M., Mizukoshi, C., Tsujimura, K., Yoshimi, A., Ishizuka, K., Takasaki, Y., Kimura, H., King, J., Yu, Y., Yamamoto, M., Okada, T.,

- Shishido, E., Inada, T., Nakatomi, M., Takano, T., Kuroda, K., Amano, M., Aleksic, B., Yamamoto, T., Sakuma, T., Aida, T., Tanaka, K., Hashimoto, R., Arai, M., Ikeda, M., Iwata, N., Shimamura, T., Nagai, T., Nabeshima, T., Kaibuchi, K., Yamada, K., Ozaki, N. ARHGAP10, which encodes Rho GTPase-activating protein 10, is a novel gene for schizophrenia risk. *Transl Psychiatry* 10, 247, 2020.
- Aihara, Y., Fukuda, Y., Takizawa, A., Osakabe, N., Aida, T., Tanaka, K., Yoshikawa, S., Karasuyama, H., Adachi, T. Visualization of mechanical stress-mediated Ca²⁺ signaling in the gut using intravital imaging. *Biosci Microbiota Food Health* 39. 209-218, 2020.
- Aizawa, H., Sun, W., Sugiyama K., Itou, Y., Aida, T., Cui, W., Toyoda, S., Terai, H., Yanagisawa, M., Tanaka, K. Glial glutamate transporter GLT-1 determines susceptibility to spreading depression in the mouse cerebral cortex. *Glia* 68. 2631-2641, 2020.
- Takao, T., Hiraoka, Y., Kawabe, K., Yamada, D., Ming, L., Tanaka, K., Sato, M., Takarada, T. Establishment of a tTA-dependent photoactivatable Cre recombinase knock-in mouse model for optogenetic genome engineering. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 526. 213-217, 2020.

総説

- 田中光一 グルタミン酸トランスポーターと精神疾患 臨床精神薬理、23, 763-771, 2020
- 田中光一 慢性疼痛におけるグルタミン酸輸送体の役割 日本臨床麻酔学会誌、40:366-374, 2020

先端分子医学研究部門 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（金沢医科大学教授）
 村川泰裕（理化学研究所）
 日本学術振興会特別研究員：梶田美穂子
 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や、血液・腸・皮膚などの組織幹細胞を研究対象として、免疫系、組織幹細胞系、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

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+CDPは主にcDCを生み出すが、M-CSFR-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、ヒト臍帯血や骨髄を用いてヒト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れた分化能を示す一方、他の血液細胞へは分化しなかつ

た。単球は、慢性骨髄単球性白血病(CMML)に関与し、腫瘍の増殖進展を促す腫瘍関連マクロファージ(TAM)にも分化するため、製薬企業と共同で、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、当該疾患PDXモデルを用いて、ADCの効果を検討中である(in revision)。

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領域の同定に成功、さらにクロマチン高次構造解析により当該エンハンサーにより調節されるコード領域を解析中である。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) ストレス造血時のミエロイド系細胞分化機構の解明

感染や放射線照射・抗がん剤投与時にはミエロイド系細胞に偏った分化・供給が起こるが(ストレス造血)、造血幹前駆細胞(hematopoietic stem progenitor, HSPC)を検出するためのマーカーSca-1が下流のミエロイド前駆細胞(myeloid progenitor, MP)にも発現してしまうため、ストレス造血メカニズムを正確に検出できない深刻な問題があった。私たちの研究室では、ストレス造血時にも変動の少ないHSPCマーカーCD86を同定することに成功した(*Blood* 2020)(図1)。CD86を用いた解析により、従来見逃されていた正確な造血現象の理解が可能になり、造血系疾患病態の理解が深化し、治療法への応用が期待される。

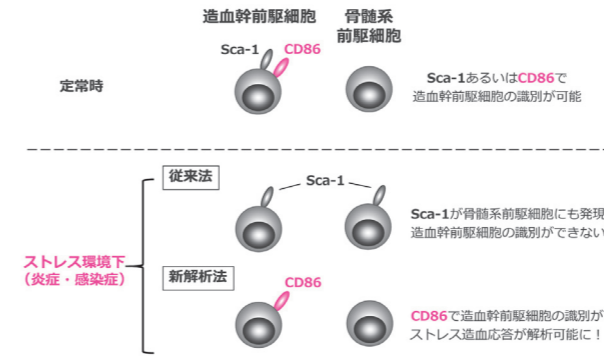


図1 ストレス造血応答の新規解析法を開発

2. 組織幹細胞の研究

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)(図2)。大腸上皮幹細胞(Colonial Stem 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)(図2)。

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

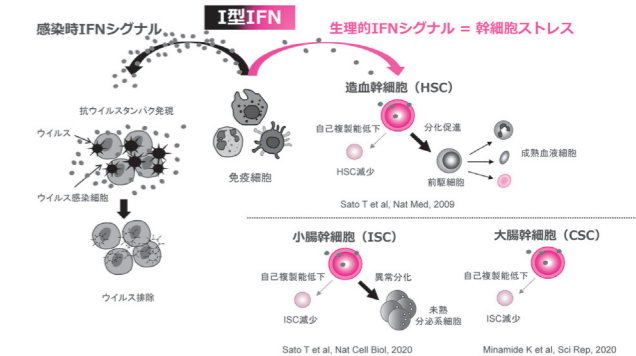


図2 腸幹細胞の維持にはIFNシグナルの抑制が重要

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) ヒト舌癌オルガノイドバイオバンクの構築と治療法開発

口腔癌は世界で年間30万人が新たに罹患しており、増加傾向にある。そのうち2/3が舌癌である。私たちの研究グループは、ヒト舌癌オルガノイド培養系の確立に成功、ヒト舌癌オルガノイドバンクを構築した。ヒト舌癌オルガノイドは原発がん組織の性質を忠実に再現しており、患者ごとに異なる特徴を示した。また、現在の分類法にオルガノイドによる評価を加えることで、これまで難しかった正確な予後予測や適切な治療法選択が可能になり、新たな治療標的分子の同定にも成功した(submitted)。今後は、個別化治療に繋がる基盤技術開発が期待される。

人事異動

大梁恵梨子、中川舞 東京薬科大学から短期交流学生として参加(2020.10.1.)
 黒田聖子 本学技術補佐員から日本医科大学へ異動(2020.5.1.)

業績目録

原著

- Minamide K, Sato T, Nakanishi Y, Ohno H, Kato T, Asano J, Ohteki T. IRF2 maintains the stemness of colonic stem cells by limiting

- physiological stress from interferon. *Sci Rep* 10, 14639(2020). doi: 10.1038/s41598-020-71633-3.
 2. Asano J, Sato T, Ohteki T. Autophagy detection in intestinal stem cells. *Methods Mol Biol* 2171, 115-125(2020). doi: 10.1007/978-1-0716-0747-3_7.
 3. Sato T, Ishikawa S, Asano J, Yamamoto H, Fujii M, Sato T, Yamamoto K, Kitagaki K, Akashi T, Okamoto R, Ohteki T. Regulated IFN signalling preserves the stemness of intestinal stem cells by restricting differentiation into secretory-cell lineages. *Nat Cell Biol* 22, 919-926(2020). doi: 10.1038/s41556-020-0545-5.
 4. Sato T, Sase M, Ishikawa S, Kajita M, Asano J,

- Sato T, Mori Y, Ohteki T. Characterization of radioresistant epithelial cell heterogeneity in the damaged mouse intestine. *Sci Rep* 10, 14639(2020). doi: 10.1038/s41598-020-64987-1.
 5. Kanayama M, Izumi Y, Yamauchi Y, Kuroda S, Shin T, Ishikawa S, Sato T, Kajita M, Ohteki T. CD86-based analysis enables observation of bona fide hematopoietic responses. *Blood* 136, 1144-1154(2020).

受賞

佐瀬美和子 第65回日本口腔外科学会総会・学術大会最優秀口演発表賞

先端分子医学研究部門 生体情報薬理学分野

教授：古川哲史 准教授：竹内純 助教：井原健介

研究内容

心血管系の難治疾患・コモン疾患（特に不整脈・突然死）の病態解明研究を、多角的アプローチ（ゲノム研究、パッチクランプ実験、遺伝子組み換えマウス、計算科学的研究など）により行っている。得られた成果を元に、患者に還元できるトランスレーショナル研究を目指している。

研究紹介

1. 全エクソン関連解析 (ExWAS) から明らかになった新たな心房細動病態発現機構

全ゲノム関連解析 (GWAS) には、疾患発症のリスク予測とともに、新たな疾患パスウェイおよび新たな創薬シーズの同定という目的がある。GWAS が展開されるようになり 20 年近く経過するが、GWAS から同定された新たな疾患パスウェイおよび新たな創薬シーズはほとんどない。これは、GWAS で見つかる 1 塩基多型 (SNP) の疾患への関連性 (オッズ比) が低いこと、SNP のほとんどが非遺伝子領域に同定されることが原因の 1 つ考えられる。一方、全エクソン関連解析 (ExWAS) ではオッズ比の高い SNP が同定されること、SNP がエクソン、すなわち遺伝子上にあることから、上記の GWAS の問題点が克服される可能性がある。

我々は理化学研究所との共同研究で行った ExWAS で、オッズ比が 3.617 の SNPrs202011870 を同定した。別の日本人コホート (心房細動 3378 人、コントロール 641 人) で rs202011870 が心房細動発症と関連することが再現された。同 SNP は Tks5 と呼ばれる細胞質タンパク質上に存在し、396 番目の Lys を Arg に置換する (L396R)。Tks5 はマクロファージに豊富に発現し、protein kinase C (PKC) 活性化によって生じる podosome 形成、及びこれに伴う遊走・組織浸潤に関係することが示された。Tks5 L396R を有するマクロファージは、PKC 刺激がないコントロール状態でも podosome 形成、および遊走・組織浸潤が促進されることが示された。本研究は ExWAS から心房細動の新たな病態発現

機構と創薬シーズを示すことに成功した。

2. 変異型 RBM20 による拡張型心筋症・心房細動発症メカニズムの検討

RBM20 遺伝子は心筋特異的スプライシング制御因子をコードし、拡張型心筋症 (DCM) の原因遺伝子の一つである。従来は RBM20 が遺伝子変異により機能を喪失し、DCM 原因遺伝子である TTN などのスプライシング異常を起こすことが DCM の原因と考えられてきたが、RBM20 変異による DCM は他の遺伝子変異による DCM と比較して重症であることが知られていた。一方で、DCM 症例で見つかる RBM20 遺伝子の変異は RSRSP 配列と呼ばれる領域に集中していることが知られており、この RSRSP 配列が RBM20 タンパク質の核移行に重要であることが知られていた。我々は実際の DCM 症例で発見された RBM20 の RSRSP 配列内の 1 塩基置換変異を持つ遺伝子改変マウス (*Rbm20*^{S637A} マウス) を作成し、1) *Rbm20*^{S637A} マウスは *Rbm20* KO マウスと同等に心臓における RBM20 によるスプライシング制御は欠損している、2) *Rbm20* KO マウスは軽度の心機能を呈するのみだが、*Rbm20*^{S637A} マウスは DCM 患者に類似した重度の心機能低下を呈し、かつ心房細動と心室性不整脈を発症する、3) *Rbm20*^{S637A} マウスの心筋細胞では細胞質に核移行能を失った変異型 RBM20 タンパク質が蓄積している、ことを発見し報告した (Sci Rep. 2020. 10: 17894)。このことは RBM20 遺伝子変異による重症 DCM は従来考えられてきたスプライシング制御異常だけでなく、変異型 RBM20 タンパク質が細胞質に蓄積することによる機能獲得という全く新規の DCM 重症化機序が存在することを示しており、更なる検討を行っている。

3. 先天性心疾患発症メカニズムと心血管を構成する細胞運命決定における分子機構の解明

Tbx5 遺伝子はヒト Holt-Oram 症候群の責任遺伝子であり、その遺伝子変異は上肢欠損と心疾患を発症する。

我々のグループは *Tbx5* の転写環境に着目することで、先天性心疾患発症メカニズムの理解と心臓運命の決定機構の理解を目指している。今まで左室・心房特異的に機能する *Tbx5* 陽性細胞の単離は難しいとされてきたが、トランスクリプトーム解析によって世界で初めて特異的

な表面抗原 GPC5 を単離した。未分化細胞が細胞分化過程で過剰な GPC5 発現は細胞増殖亢進し腫瘍化を誘発することが明らかとなった (Takeuchi et al., PLOS ONE *in press*)。

ハイライト

Rbm20^{S637A} マウスは、DCM の病態メカニズムの更なる解明・新規治療法の開発への応用が期待されるが、心房細動を高率に自然発症するという特徴も持つ (図)。一般的にマウスで心房細動を生じるのは極めて稀と考えられており、既存の心房細動モデルと呼ばれるマウスは薬剤投与、電気刺激や手術など様々な介入によりようやく短時間の発作性心房細動が誘発できるものであり、心房細動の自然発症は数種のトランスジェニックマウスをみの報告しかない。この *Rbm20*^{S637A} マウスは 1 塩基のみのヒト症例型遺伝子変異により全例で発作性心房細動を自然発症し、経時的に発作性から持続性へと移行する臨床心房細動の自

然経過を再現する世界初の遺伝子改変マウスであり、心房細動の病態解明・治療法開発にも大きく寄与すると期待される。

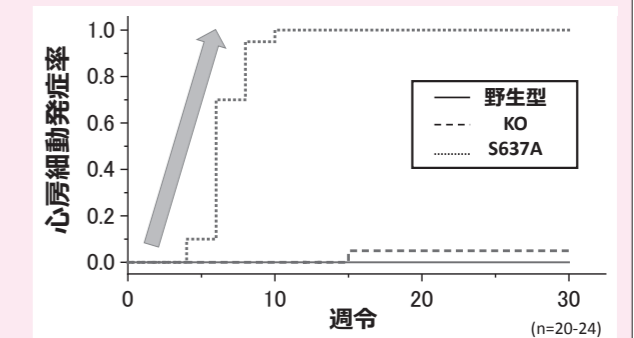


図 *Rbm20*^{S637A} マウスは高率に心房細動を発症する。

人事異動

転入：なし
転出：山添正博、東島佳毅

業績目録

原著論文

1. Higashijima Y, Matsui Y, Shimamura T, Nakaki R, Nagai N, Tsutsumi S, Abe Y, Link VM, Osaka M, Yishida M, Watanabe R, Tanaka T, Taguchi A, Miura M, Ruan X, Li G, Inoue T, Nangaku M, Kimura H, Furukawa T, Aburatani H, Wada Y, Ruan Y, Glass CK, Kankmi Y.

Coordinated demethylation of H3K9 and H3 K27 is required for rapid inflammatory responses of endothelial cells. *Embo J.* 2020;39(7):e103949. Doi: 10.15252/embj.2019103949.
2. Lee J, Sutani A, Kaneko R, Takeuchi J, Sasano T, Kohda T, Ihara K, Takahashi K, Yamazoe M, Morio T, Furukawa T, Ishino F. In vitro generation of functional murine heart organoids via FGF4 and extracellular matrix. *Nat. Commun.* 2020;11(1):4283. doi: 10.1038/s41467-020-18031-5.
3. Yang X, Sasano T, Ebana Y, Takeuchi J-K, Ihara K, Yamazoe M, Furukawa T. Functional role of L396R mutation of Tks5 identified by Exome-Wide Association Study in atrial fibrillation. *Circ. J.* 2020;84(12):2148-2157.

4. Ihara K, Sasano T, Hiraoka Y, Togo-Ohno M, Soejima Y, Sawabe M, Tsuchiya M, Ogawa H, Furukawa T, Kuroyanagi T. A missense mutation in the RSRSP stretch of Rbm20 causes dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation in mice. *Sci. Rep.* 2020;10(1):17894.
5. Higashijima Y, Nagai N, Yamamoto M, Kitazawa T, Kawamura YK, Taguchi A, Nakada N, Nangaku M, Furukawa T, Aburatani H, Kurihara H, Wasa Y, Kanki Y. Lysine demethylase 7a regulates murine anteroposterior development by modulating the transcription of Hox gene cluster. *Commun. Biol.* 2020;3(1):725.

先端分子医学研究部門 幹細胞制御分野

教授：田賀哲也 准教授：信久幾夫 助教：梶 康一 技術補佐員：井上和子

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. 胎生中期マウス大動脈内腔に存在する未分化血液細胞塊構成細胞の造血活性維持における GIMAP ファミリーの関与

マウス胎生中期において大動脈・生殖原基・中腎 (aorta-gonad-mesonephros, AGM) 領域で最初の成体型造血を担う造血幹細胞が生じる。この時期の造血幹細胞は大動脈内腔の血管内皮細胞に隣接する血液細胞塊中に存在する。今までの研究より、この細胞塊に転写因子 Sox17 が発現していること、細胞塊構成細胞のうち CD45^{low}-Kit^{high} 細胞分画がその他の分画に比べて最も造血活性が高いこと、さらにこの細胞分画に Sox17 を強制発現して造血の場を支持するストローマ細胞と共培養すると in vitro において未分化性を有する血液細胞塊の形成が再現・維持されることを示した。また、Sox17 による未分化性の維持には Notch シグナルの活性化が重要であ

るが、不明な点も多い。そこで、Sox17 の下流で造血幹細胞の維持に関わる新規の分子探索及び機能解析を行った。初めに、Sox17 プロモーター制御下で GFP を発現する妊娠 10.5 日胚 AGM 領域の細胞を Sox17 発現及び非発現細胞に分画し、RNA シークエンス解析により遺伝子発現様式を比較した。その結果、Sox17 発現細胞集団において GTPase 活性を持つ GIMAP ファミリーをコードする遺伝子の発現が高かった。近年、GIMAP5 がマウスの成体型造血活性に関わることが報告されたが、AGM 造血での役割は不明である。そこで、AGM 領域の血液細胞塊構成細胞である CD45^{low}-Kit^{high} 細胞に Sox17 を強制発現させた細胞およびタモキシフェン依存的に Sox17 を核移行させる細胞について、Gimap 遺伝子ファミリーの発現量を RT-PCR で解析したところ、Sox17 の発現およびタモキシフェン添加に伴う Sox17 の核移行により、上昇することが明らかになった。次に、GIMAP ファミリーの未分化性維持における役割を調べるために、CD45^{low}-Kit^{high} 細胞に 4 種類の Gimap ファミリー遺伝子をウイルス感染により導入した後、colony-forming assay を行い造血能の変化を解析した。その結果、Gimap6 強制発現細胞において造血能が高くなることを示した。一方で、Sox17 を強制発現した CD45^{low}-Kit^{high} 細胞に Gimap6-shRNA を導入して colony-forming assay を行ったところ、Gimap6 発現抑制細胞における造血能は低くなった。さらに、GIMAP ファミリーと GFP の融合タンパク質を用いて細胞内局在を調べたところ、GIMAP6 は他のファミリーとは異なり核周辺部にドット状の局在を示し、オートファジー

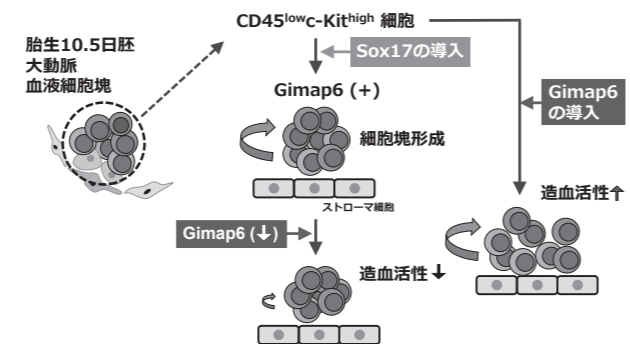


図1 造血幹細胞が生じる血液細胞塊の造血能の維持における転写因子 Sox17 による Gimap6 の発現の関与

形成に重要な蛋白質である LC3 と共局在することを明らかとした。以上の結果から、マウス胎生中期における大動脈内腔で血管内皮細胞に接する未分化血液細胞塊構成細胞の転写因子 Sox17 による造血活性の維持は、Gimap6 の発現を介している可能性が示唆された。(図1)。

2. がん幹細胞の特殊な細胞死を介するニッチの自己構築

脳腫瘍の中で最も頻度の高い神経膠腫（グリオーマ）はそのほとんどが悪性であり、脳実質へ浸潤性の増殖を示すことから外科的に全てを摘出することが難しい。最も悪性度の高い膠芽腫に至っては現行の第一選択薬テモゾロミド (TMZ) による治療後も 1 年以内の再発をきたし、分子標的薬であるアバスタチンの併用も延命効果はないとされる。5 年生存率は 10% 以下と最も予後の悪い難治性がんのひとつであり、早急な対策を必要とする。一方、がん組織中に存在するがん幹細胞 (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。すなわちがん幹細胞はがん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、グリオーマのがん幹細胞が自ら血管内皮に分化し、また各種サイトカインを分泌して単球・マクロファージを誘導するなど、ニッチを自ら構築することでがん再発に寄与することを報告してきた (図2)。本年度は、膠芽腫が病理組織学的にネクローシスを主徴とすることに着目し、グリオーマのニッチ形成における細胞死産物の役割の解明を目指した以下の研究を実施した。初めに膠芽腫細胞の通常培養系において、propidium iodide (PI) 核染色液に高い染色性を示し、且つフローサイトメーター上で比較的小さいサイズを呈する死細胞画分が自発的に産生されているこ

研究業績

原著論文

Takahashi S, Nobuhisa I, Saito K, Gerel G, Itabashi A, Harada K, Osawa M, Endo T, A, Iwama A, Taga T. Sox17-mediated expression of adherent molecules is required for the maintenance of undifferentiated hematopoietic cluster formation in midgestation mouse embryos. Differentiation, 115: 53-61, 2020

Tabu K, Liu W, Kosaku A, Terashima K, Murota Y, Aimaityjiang A, Nobuhisa I, Hide T, Taga T. Glioma stem cell(GSC)-derived autschizis-like products confer GSC niche properties involving M1-like tumor-associated macrophages. Stem Cells, 38: 921-935, 2020

総説

Taga T and Tabu K. Glioma progression and recurrence involving maintenance and expansion strategies of glioma stem cells by organizing

self-advantageous niche microenvironments. Inflammation and Regeneration, 40: 33, 2020

Anani M, Nobuhisa I, and Taga T. Sry-related high mobility group box 17 functions as a tumor suppressor by antagonizing the Wntless-related integration site pathway. Journal of Cancer Prevention, 25: 204-212, 2020

とを見出した。この死細胞は細胞膜の崩壊とメッシュ状の細胞質、細胞質の断片化と正常な核膜、核膜辺縁へのクロマチンの濃縮を主徴とし、核溶解とオルガネラの消失を伴うネクローシスの一つ「オートスキジス (autschizis)」様の形態を呈していた。オートスキジスは 1995 年 Gilloteaux らにより発見されたがん細胞を Vitamin C および K3 で処理した際に生じる誘導性の細胞死であり、この死産物を「オートスキジス様産物 (autschizis-like products; ALPs)」と命名した。がん幹細胞由来の ALPs を骨髄由来マクロファージの培養系に添加したところ、ALPs は CD204 陽性・CD11c 陽性の腫瘍随伴マクロファージ (tumor-associated macrophage; TAM) に優先的に貪食され、長期培養後の生存数が有意に増加した。すなわち、がん幹細胞の死産物は単なる残骸などではなく、TAM の発生を促すことでがん再発に寄与する機能的な役割を有していることが明らかとなった。また、がん幹細胞内にはニッチ形成に寄与する細胞 (supporter) と再発に寄与する細胞 (driver) の棲み分けが存在すると考えられた。このようなニッチ自己構築がん幹細胞はニッチを制御するための有効な治療標的と考えられる。

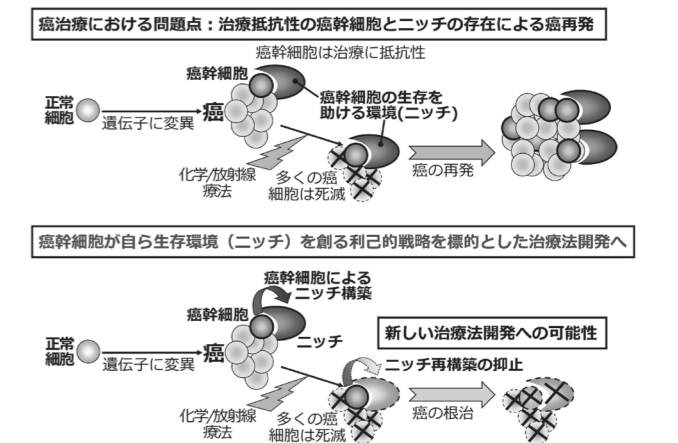


図2 がん幹細胞によるニッチの自己構築と、それを標的とした癌根治の可能性

先端分子医学研究部門 分子構造情報学分野

教授：伊藤暢聡 准教授：伊倉貞吉 助教：沼本修孝

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17万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. T細胞制御因子とシグナル伝達分子の分子認識機構

ヒトの免疫系で重要な役割を担うT細胞のはたらきは、主要組織適合抗原複合体（MHC）との結合によるT細胞レセプター（TCR）を介した抗原特異的な活性化シグナルの他に、CD28ファミリー分子を介した抗原非特異的なシグナルにより精密に制御されている。CD28ファミリー分子にはCD28のほか cytotoxic T-lymphocyte antigen 4（CTLA-4）や、inducible T-cell co-stimulator（ICOS）が知られ、これらの細胞内領域に存在するコンセンサス配列と、シグナル伝達分子であるGrb2、Gads、PI3K p85のSH2ドメインが結合することでT細胞制御シグナルを伝達する。シグナル伝達分子がCD28ファミリー分子を認識して結合する分子機構の詳細を明らかにすることで、自己免疫疾患や臓器移植後の拒絶反応を抑制する新規医薬品の開発につながることを期待される。

われわれはこれまでにCD28とICOSについて、その

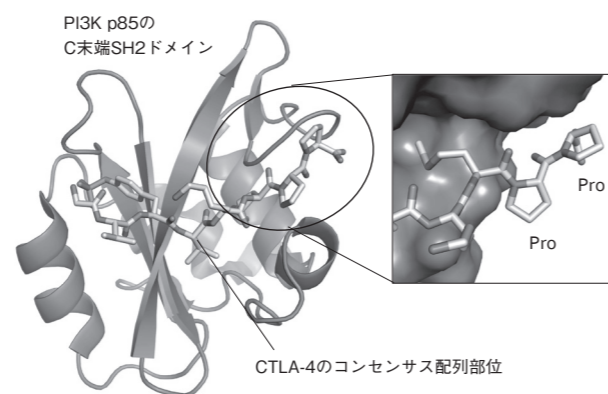


図1 CTLA-4のコンセンサス配列部位（スティックモデル）と、シグナル伝達分子PI3K p85のC末端SH2ドメイン（リボンモデル）の複合体結晶構造。

コンセンサス配列部位とシグナル伝達分子との複合体の立体構造を高精度で決定してきたが、CTLA-4のコンセンサス配列部位とシグナル伝達分子との複合体構造は不明であった。最近われわれは、CTLA-4のコンセンサス配列部位と、シグナル伝達分子PI3K p85のC末端SH2ドメインとの複合体構造を、X線結晶構造解析により1.1 Å分解能の高精度で決定した（Iiyama *et al.*, 2021）。得られた構造モデル（図1）から、CTLA-4のコンセンサス配列部位のみがもつプロリン（Pro）が連続した部位が、シグナル伝達分子との結合親和性に重要な影響を及ぼしていることが明らかになった。これまで得られたCD28ファミリー分子とシグナル伝達分子複合体の構造情報とも統合し、T細胞のはたらきを制御する低分子化合物の合理的設計が進行中である。

本研究は、京都府立大学の織田昌幸教授との共同研究である。

2. タウオパチーに対する新規シード化合物の発見

アルツハイマー病等のタウオパチーと呼ばれる神経変性疾患は、微小管結合タンパク質タウの過剰リン酸化と凝集化が、その原因として知られている。これまでに、私たちは神経変性疾患のひとつであるハンチントン病の阻害薬の開発を行い3種類の小分子を発見したことがあった。本研究では、これらの小分子がタウオパチーにも効くかどうかを試したところ、その中のひとつである7Hペプチドに顕著な効果が見られることを発見した。

7Hペプチドを様々なモル比でタウのフラグメントと混合したところ、わずか0.2:1のモル比でさえ効果的にタウの凝集化を抑制し、1:1以上のモル比ではほぼ最大活性を示した（図2）。そこで、私たちは、NMRにより7Hペプチドとタウフラグメントとの相互作用を調べたところ、7Hペプチドはタウフラグメントの分子全体に渡って弱いながらも特異的な相互作用をしていることが明らかになった。さらに、私たちは細胞内での7Hペプチドとタウの相互作用を調べた。すると、iPS細胞由来の神経細胞を用いた実験系において、7Hペプチドがタウの凝集化に関わる過剰リン酸化部位のリン酸化を阻害することが明らかになった。これらの結果は、7Hペプチドがタウオパチーを阻害するシード化合物となりうることを示唆している。

本研究は、当研究所神経病理学分野の岡澤教授と広島大学の楯教授との共同研究である。

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17万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

- Alborzian Deh Sheikh A, Goma S, Li X, Routledge M, Saigoh K, Numoto N, Angata T, Hitomi Y, Takematsu H, Tsuiji M, Ito N, Kusunoki S, Tsubata T. A Guillain-Barré syndrome-associated SIGLEC10 rare variant impairs its recognition of gangliosides. *Journal of autoimmunity*. 2021.01; 116:102571.
- Sasaki H, Masuno H, Kawasaki H, Yoshihara A, Numoto N, Ito N, Ishida H, Yamamoto K,

Hirata N, Kanda Y, Kawachi E, Kagechika H, Tanatani A. Lithocholic Acid Derivatives as Potent Vitamin D Receptor Agonists. *Journal of medicinal chemistry*. 2021; 64(1): 516-526.

- Emori Miho, Numoto Nobutaka, Senga Akane, Bekker Gert-Jan, Kamiya Narutoshi, Kobayashi Yuma, Ito Nobutoshi, Kawai Fusako, Oda Masayuki. Structural basis of mutants of PET-degrading enzyme from *Saccharomonospora viridis* AHK190 with high activity and thermal stability. *PROTEINS-STRUCTURE FUNCTION AND BIOINFORMATICS*. 2020.12; <https://doi.org/10.1002/prot.26034>

- Iiyama M, Numoto N, Ogawa S, Kuroda M, Morii H, Abe R, Ito N, Oda M. Molecular interactions of the CTLA-4 cytoplasmic region with the phosphoinositide 3-kinase SH2 domains. *Molecular immunology*. 2021; 131: 51-59.
- Senga A, Numoto N, Yamashita M, Iida A, Ito N, Kawai F, Oda M. Multiple structural states of Ca²⁺ regulated PET hydrolase, Cut190, and its correlation with activity and stability. *Journal of biochemistry*. 2020.09; <https://doi.org/10.1093/jb/mvaa102>

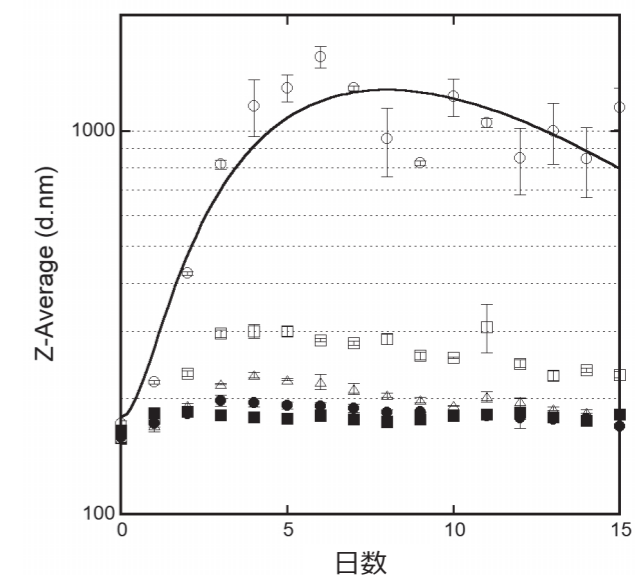


図2 7Hペプチドがタウフラグメントの凝集に及ぼす影響の動的分散解析。縦軸の値は凝集量に対応している。（○：7Hペプチドなし、□：モル比0.2:1での7Hペプチドの添加、△：モル比1:1での7Hペプチドの添加、●：モル比5:1での7Hペプチドの添加、■：モル比25:1での7Hペプチドの添加）

先端分子医学研究部門 フロンティア研究室 低酸素生物学

准教授：中山 恒

研究内容

概要

私たちの研究室では、外界の酸素濃度の変化が、生体内でどのように検知されて、どのように作用しているのかを研究しています。高地や体内の微小環境は、酸素濃度の低い環境（低酸素環境）にあります。個体や細胞は低酸素環境にさらされると、その変化を素早く感知し、呼吸・代謝をはじめとする様々な生理応答を調節して、その環境に適応します（低酸素応答）。こうして低酸素環境下においても恒常性が維持されます。一方で、がん、虚血性疾患、炎症性疾患などの病気でも低酸素応答が惹起され、その病態に密接に関与しています。私たちは、低酸素応答の分子レベルでの解析を通して、がん治療や再生医療に貢献することをめざしています。

研究紹介

1. 巨大タンパク質複合体「低酸素コンプレックス」を介した低酸素センシング機構の解明

Hypoxia-Inducible Factor(HIF)- α は低酸素応答において中心的な役割を担う転写因子です。プロリン水酸化酵素 PHD は HIF- α のプロリン残基を水酸化することで、ユビキチン化を介した分解を促進して、HIF- α の発現を負に制御します。私たちは主に PHD に着目して、低酸素応答のシグナル伝達機構の解析を進めています。PHD には 1、2、3 の三種類が存在しており、共通に HIF- α の水酸化に働く一方で、それぞれに独自の働きを持つことも示唆されています。しかしながら、まだ各 PHD の固有の働きには明らかになっていないことが多く、私たちはこの課題に PHD3 に着目して取り組んでいます。

PHD3 は低酸素環境に反応して、大きなタンパク質複合体を形成します（図 1）。この複合体中には細胞内の酸素濃度変化を感知する分子「酸素センサー」が含まれていると考えられます。そこでプロテオミクス解析により、複合体を構成するタンパク質を網羅的に同定して、酸素センサー分子の同定を試みました。これまでに、この複合体の構成分子としてピルビン酸脱水素酵素(PDH)を同定しました。PDH はピルビン酸をアセチル CoA へと変換する酵素であり、エネルギー代謝経路において解

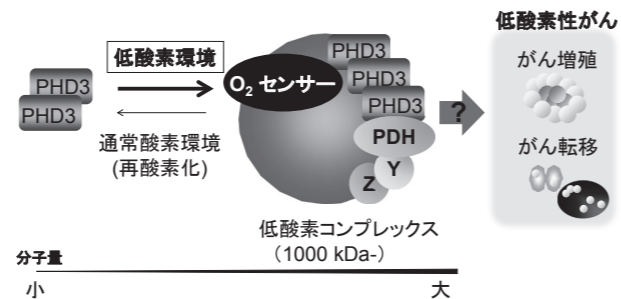


図 1 低酸素応答における低酸素コンプレックスの役割

糖系と TCA 回路を結びつける役割を担います。PHD3 は、低酸素下で PDH と結合することにより PDH 複合体を安定化し、PDH 活性を正に制御する働きを持つことを明らかにしました。低酸素下では、PDH の活性は減少していきますが、PHD3 との結合は強くなります。したがって、PHD3 は低酸素下での PDH 活性を fine-tuning して、解糖系と TCA 回路のバランスを調節することで、低酸素の程度に応じた効率的なエネルギー産生ができるように働いていると考えられます。

2. ピルビン酸脱水素酵素 PDH の不活化が引き起こすがん細胞の異常なエネルギー代謝

がん細胞では、そのエネルギー産生を解糖系に高度に依存した異常な代謝様式がしばしば認められます。このような代謝様式は本来、細胞が低酸素環境におかれた時に引き起こされるものですが、がんでは通常酸素環境においても起こります。しかし、その分子機構はこれまで明らかではありませんでした。私たちは、この疑問に答えるために、細胞の主たるエネルギー産生過程「解糖系—TCA 回路—電子伝達系」の中で、解糖系と TCA 回路を結びつける働きをする PDH に着目した解析を行いました。乳がん細胞を低酸素下で継続的に培養したところ、PDH を構成するサブユニットの一つ PDH-E1 β の発現が低下することを見出しました。この PDH-E1 β の発現低下は、その後、通常酸素環境に戻っても持続しており、このことで通常酸素環境においても解糖系に依存したエネルギー代謝が引き起こされていると考えられます。事実、PDH-E1 β を shRNA を用いてノックダウンしたところ、典型的ながん性代謝の表現型を示しまし

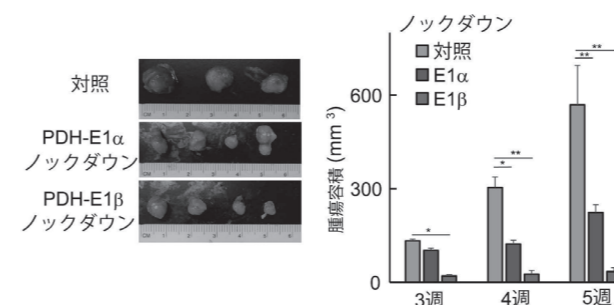


図 2 PDH 抑制による乳がん細胞の腫瘍形成能の低下
乳がん細胞株 MB231 で PDH をノックダウンすると、腫瘍形成能が抑制された。

た。このことから、PDH の発現低下ががん性代謝を形成するのに重要な役割を担っていることが明らかになりました。さらに、PDH-E1 β をノックダウンした乳がん細胞をヌードマウスに移植したところ、対照群と比べて腫瘍形成能が著しく低下していることが判明しました（図 2）。このことから、解糖系に極度に依存したエネルギー代謝のみしか利用できない乳がん細胞では、腫瘍を効率的に形成できないことが明らかになりました。したがって、PDH-E1 β の発現や活性を抑制することで、乳がん細胞の腫瘍形成を効果的に阻害できる可能性が示唆されます。PDH の抑制が腫瘍形成を低下させる分子機構の解析をさらに詳しく進めて、その成果をがん治療へと結びつけることをめざします。

3. 核内 PDH による遺伝子発現制御

PDH はミトコンドリアに局在する代謝酵素ですが、最近、核にも局在することが発見され、注目されています。私たちも乳がん細胞において PDH が核内に存在することを明らかにしました。PDH は核内でもミトコンドリア内と同様の大きな酵素複合体を形成し、酵素活性を保持していることが明らかになりました。PDH の活

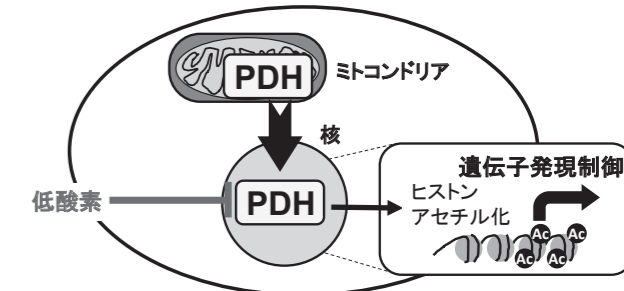


図 3 核局在型の PDH による遺伝子発現制御
PDH はミトコンドリアと核の両方に局在する。核 PDH はヒストンアセチル化を促進して、遺伝子発現を制御する。低酸素下で、核 PDH の活性は抑制される。

性制御機構にはリン酸化と発現調節の二通りあることをこれまでに報告しています。PDH の制御機構をミトコンドリアと核と比較したところ、低酸素下でミトコンドリア PDH のリン酸化が顕著に起こるのに対して、核 PDH のリン酸化はわずかに見られるのみでした。一方で、核 PDH のタンパク質量は低酸素下で顕著に減少したことから、核 PDH の制御は発現量によって主に制御されていると考えられます（図 3）。PDH は核内でアセチル CoA を産生して、ヒストンのアセチル化を亢進します。乳がん細胞で PDH をノックダウンしたところ、ヒストン H3 のアセチル化が減少することが明らかになりました。ヒストンアセチル化の低下は、乳がん細胞を低酸素培養した時にも認められました（図 3）。この時に、細胞死、免疫応答、低酸素応答に関与する遺伝子群の発現低下がみられたことから、核 PDH は遺伝子発現制御を通して、これらの生理応答に働くことが示唆されました。がんの進展には様々な要素が関与しています。その中でも、代謝と遺伝子発現は主要な要素です。本研究成果は、PDH がその両方の制御に関与していることを示しており、がんを抑制するための効果的な標的となると考え、その阻害手法の開発研究を進めています。

業績目録

国際学会・シンポジウム

1. 中山 恒
「Transcriptional and post-transcriptional

regulation under hypoxic conditions」
第 43 回 日本分子生物学会年会 ワークショップ講演、神戸オンライン開催（2020）

2. Nakayama K.
Nuclear pyruvate dehydrogenase complex is downregulated during prolonged hypoxia and

regulates the gene expression.
Keystone Symposia: Hypoxia, Keystone, CO, USA (2020).

難治病態研究部門

Division of Pathophysiology

難治病態研究部門では、難治病態形成機構の研究を通じて生命現象の基本的なメカニズムを解明し、新たな診断・治療法の開発に資することを理念とする。この理念に沿って、種々の疾患における難治病態に焦点を当て、病態形成機序の解明研究とそれに基づいた診断法および治療法の開発を念頭においた病態研究を時代の要請に応じて展開し、難治疾患を克服することを目的とする。難治病態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ある。

難治病態研究部門における主な研究成果

- アミロイド仮説を修正する新たなアルツハイマー病態仮説を提唱した（神経病理学）
- アルツハイマー病における早期段階の細胞死を標的とする遺伝子治療等の可能性を見出した（神経病理学）
- ホスホイノシタイド分子種特異的なシグナル伝達機構を見出した（病態生理化学）
- 新規オートファジー実行分子 Wipi3 を同定し、この機構が神経細胞維持に必須であることを発見した（病態細胞生物学）
- 天然物のジユに炎症性腸疾患の保護作用があることを発見した（病態細胞生物学）
- 細胞競合にプロスタグランジン E2 が関与することを発見（発生再生生物学）
- 加齢に伴い表皮が老化する仕組みを明らかにした（幹細胞医学）
- 細胞表面糖鎖層内での分子間相互作用がB細胞分化を制御する仕組みを明らかにした（免疫疾患）
- ギラン・バレー症状群に集積する遺伝子変異を同定した（免疫疾患）

難治病態研究部門 神経病理学分野

教授：岡澤 均 准教授：田川一彦
特任講師 / 非常勤講師：井上治久、曾根雅紀
助教：藤田慶大 特任助教：本間秀典
博士研究員（日本学術振興会特別研究員）：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PQBPI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、を行っています。

研究紹介

アルツハイマー病の超早期細胞死の解明と新たな治療標的を発見

アルツハイマー病を初めとする神経変性疾患は、細胞の内外に異常タンパク質が蓄積することが病理学的な特徴です。アルツハイマー病では、細胞外にアミロイドベータ（以後、アミロイドと略称）と呼ばれる異常ペプチドが沈着する老人斑と、細胞内にタウタンパク質が凝集する神経原線維変化の2つが起こることが知られています。これまで数々の治療法が試みられてきましたが、十分な有効性を示すものは得られていません。特に、約15年前からアミロイドに対する抗体医薬品の臨床試験が国際的な規模で行われてきましたが、脳内のアミロイド除去に成功したものの、患者の症状は改善が見られないことも予想外の知見として得られました。このため、発症後から治療を開始するのでは既に遅く、発症前にアミロイド抗体療法を開始する、あるいは、脳内の細胞外アミロイド凝集が起きる以前の超早期（Phase 0）に生じる脳内分子変化を解明して、新たな分子標的に対する治療を開発する必要があると考えられるようになってきました。

私たちは先行研究において、脳内細胞外アミロイド凝集前にリン酸化の異常変動を示すタンパク質 MARCKS を同定し (Tagawa et al, Hum Mol Genet 2015)、リン酸化 MARCKS (pSer46-MARCKS) が細胞外アミロイドの周囲にある変性神経突起に存在することを報告しました (Fujita et al, Sci Rep 2016)。また、pSer46-MARCKS の上流シグナルが HMGB1 であることを示し、MARCKS のリン酸化を誘導する細胞外分子 HMGB1 を標的とする抗体治療法がアルツハイマー病の発症を予防することを報告してきました (Fujita et al, Sci Rep 2016)。

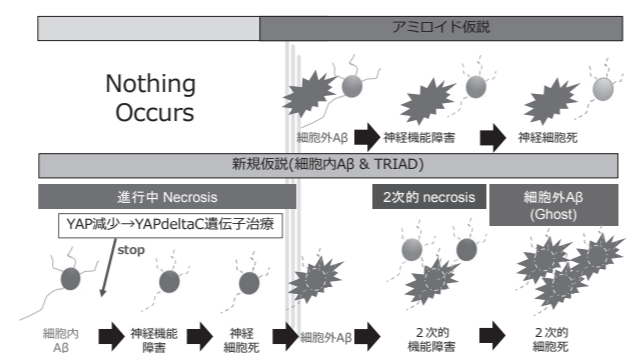
HMGB1 はネクローシスというタイプの細胞死を起こ

した時に放出されることが知られています (Scaffidi et al, Nature 2002)。そこで、患者さんの髄液中の HMGB1 を測定したところ、アルツハイマー病として診断される時期の髄液よりも、軽度認知障害 (MCI) の時期の患者さんの髄液の方が、HMGB1 がより高値であることを見出しました。このことは発症前にすでに細胞死が活発に起きていることを示唆しています。そこで、アルツハイマー病の2種類のモデルマウスを用いて、本研究で開発した pSer46-MARCKS 抗体で進行中の神経細胞ネクローシスを検出する技術によって、現在進行形のネクローシスを定量したところ、認知機能障害を起こすより前に、なおかつ、細胞外アミロイド蓄積が見られる前から、ネクローシスが盛んに起きていることが明らかになりました。そして、現在進行形ネクローシスは、発症前にピークがあるものの、発症後も続いているということも示されました (図1)。

また、ゲノム編集技術を用いてアルツハイマー病遺伝子変異を導入したヒト iPS 細胞をから分化作成したヒト・アルツハイマー病ニューロンの詳細な観察から、このようなネクローシスは細胞内アミロイドが YAP と呼ばれるタンパク質を巻き込んで、YAP の細胞生存維持作用が奪われるために生じる新しいタイプのネクローシス (TRIAD) であることが分かりました。

さらに、本研究ではネクローシスを引き起こす YAP 機能障害を正常化する目的で、遺伝子治療による YAP 補充をアルツハイマー病モデルマウスに対して行いました。その結果、TRIAD ネクローシスの抑制、認知機能改善、そして、細胞外アミロイド蓄積の抑制が観察されました。

本研究を通じて、細胞外アミロイド凝集を最上流の原



因と考えるアミロイド仮説を訂正する必要性が強く示唆されました。代わりに、1) 細胞内アミロイド蓄積に始まるネクローシスの結果として細胞外アミロイド凝集がおきること、2) (a)細胞内アミロイド蓄積に起因するネクローシス過程および(b)ネクローシスを起こした細胞の周辺神経細胞が起こす二次的細胞死過程が神経機能障害を引き起こしていること、3) 細胞内アミロイド

蓄積がトリガーするネクローシスは YAP 機能低下に起因する TRIAD であること、4) YAP 機能回復を基盤とする遺伝子治療等の治療開発が今後可能であること、を示しました (図2)。また、5) 髄液 HMGB1 量がアルツハイマー病の発症前分子マーカーとして開発しうる可能性を示しました。

ハイライト

TRIAD と YAP

細胞死には様々な形がある。このうち、代表的なのはアポトーシスとネクローシスである。アポトーシスはプログラム細胞死とも呼ばれ、細胞の内外の原因によって能動的に特定シグナル経路が活性化されることで生じる。これに対して、ネクローシスは強力な外的障害要因（熱、放射線、出血、化学物質など）で受動的に起こる細胞死と、かつては考えられてきた。形態学的には、アポトーシスは核クロマチン濃縮、核膜乖離など核の変化が優位である。細胞は全体に縮小していく。これに対して、ネクローシスは核よりも細胞質の変化が目立ち、ミトコンドリアなどの細胞内小器官の膨張、破裂などがみられ、細胞は膨張する。近年、ネクローシスにも特定のシグナル経路活性化により誘導されるものが知られるようになってきた。RIP1/3 によるシグナル活性化で起きるネクローシスはネクロプトーシスと呼ばれる。これに対して TRIAD (Transcriptional Repression-Induced Atypical neuronal Death) は、RIP1/3 の活性化はなく、YAP と呼ばれる生存因子の機能低下が原因であり、Hippo パスウェイ活性化とも関連する (Hoshino et al, JCB

2006; Mao et al, Hum Mol Genet 2016; Mao et al, Cell Death Dis 2016)。

YAP は、p73 あるいは TEAD と呼ばれる転写因子に結合する転写補助因子である。近年、ガン、発生など様々な現象に、Hippo pathway と呼ばれるシグナル経路が重要な役割を果たすことが明らかになってきたが、YAP は Hippo pathway の最下流にあり、最終的な効果を具現化する分子である。岡澤グループは神経型アイソフォームである YAPdeltaC を 2006 年に発見した (Hoshino et al, 2006)。3つのアイソフォーム (ins13, ins25, ins61) が存在し、YAP 同様 WW ドメイン (タンパク質との結合部位で、特徴として PPXY モチーフをもつ) はもつが、C 末端の p73 への transactivation domain が欠損している。多くの転写因子は単独ではなく、複数の転写因子などによる複合体形成が必要である。YAP は、これら転写因子の機能を補助する転写共役因子である。YAP と同様に YAPdeltaC は、TRIAD に対して、ドミナントネガティブ様に細胞死を抑制する。YAPdeltaC は遺伝子の長さが短く、ウィルスベクターに組み込みやすいため、本研究で使用している。

研究業績

Tanaka H., Homma H., Fujita K., Kondo K., Yamada S., Jin X., Waragai M., Ohtomo G., Iwata A., Tagawa K., Atsuta N., Katsuno M., Tomita N., Furukawa K., Saito Y., Saito T., Ichise A., Shibata S., Arai H., Saido T., Sudol, M., Muramatsu, S., Okano, H., Mufson, E. J., Sobue, G., Murayama, S. & Okazawa, H. (2020) YAP-dependent necrosis occurs in early stages of

Alzheimer's disease and regulates mouse model pathology. *Nat. Commun.* 24 January 2020, 11 (1), 507. doi: 10.1038/s41467-020-14353-6

Yang SS, Ishida T, Fujita K, Nakai Y, Ono T, Okazawa H. (2020) PQBPI, an intellectual disability causative gene, affects bone development and growth. *Biochem Biophys Res Commun.* 2020 Mar 19;523(4):894-899. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.12.097.

Role of the Drosophila YATA protein in the proper subcellular localization of COPI revealed by in vivo analysis. Saito M, Nakayama M, Fujita K, Uchida A, Yano H, Goto S, Okazawa H, Sone M. *Genes Genet Syst.* 2021 Feb 13. doi: 10.1266/ggs.20-00027.

難治病態研究部門 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 事務補佐員：小藤香織 学振特別研究員：徳田恵美
 学振特別研究員：森岡真 大学院生 (M2)：池田拓海
 大学院生 (M1)：佐藤太一、高橋恒一郎 大学院研究生：張易欣
 大学院研究生：王 天

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 (図2)。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。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。

研究紹介

1. ホスホイノシタイドアシル基プロファイリングによる細胞応答の予測

PI3K (phosphoinositide 3-kinase) はホスホイノシタイドの一種であるホスファチジルイノシトール三リン酸 (PIP₂) をリン酸化してホスファチジルイノシトール三リン酸 (PIP₃) を生成する。PI3K α アイソザイムをコードする PIK3CA の機能獲得型変異や増幅が多様ながんを高頻度に見出されている。一方、PTEN は PIP₃ を脱リン酸化して PIP₂ に変換する酵素であり、PTEN の機能喪失型変異や欠失ががんを高頻度に見出されており、細胞内 PIP₃ の蓄積はがん細胞特性の発揮に重要な役割を果たすと考えられている。また、細胞死抑制機能をもつ AKT など、PIP₂ や PIP₃ に結合して活性調節を受けるタンパク質にもがんでの異常が認められる。これらのことから、PI3K はがん治療の有望な分子標的と目されており、数十種類の阻害剤が開発され、治験が進められている。これまでの研究では、PI3K、PTEN、AKT や PI3K の活性化を導く RAS、HER2 などの遺伝子異常と、PI3K 阻害剤の in vitro, in vivo での効用には相関が認められず、治療効果を予測する遺伝子プロファイルは同定されていない。このような背景から、がん細胞の薬剤感

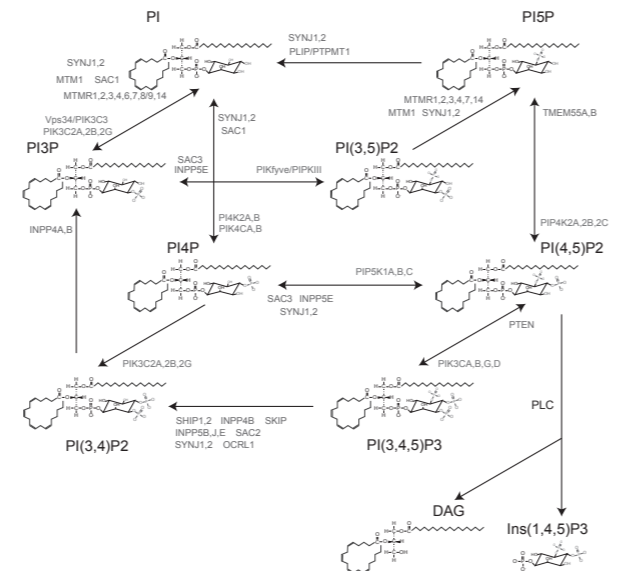


図1 ホスホイノシタイドと代謝酵素

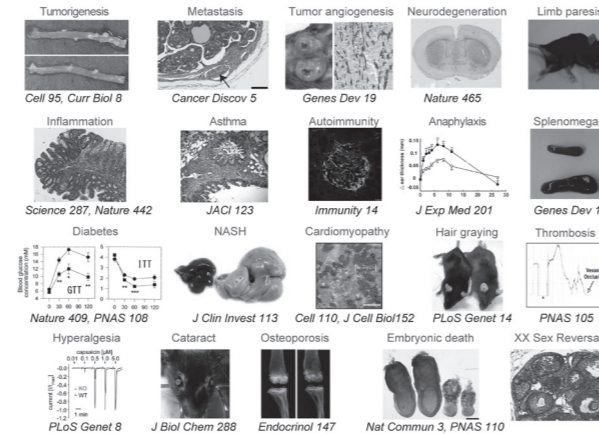


図2 ホスホイノシタイド代謝異常により出現する病態

受性の予測を可能とするリン脂質プロファイルの探索を行っている。

健康人リンパ球とリンパ腫臨床検体でのホスホイノシタイド解析を行ったところ、ホスホイノシタイドのアシル基プロファイルによりリンパ腫患者を層別化できる可能性を見出していた。そこで、リンパ腫細胞株においてホスホイノシタイド解析を行い、3種類のPI3K阻害剤を含む種々の分子標的薬で処理した細胞の生存率を評価した。薬剤感受性データの主成分分析を行ったところ、PIP₂のアシル基プロファイルと関連する主成分を見出

した。この主成分を従属変数、PIP₂プロファイルを独立変数とした部分最小二乗法 (PLS) 回帰を行ったところ、両者の間に有意な相関が得られた。さらに個々の薬剤について精査したところ、全てのPI3K阻害剤とAKT阻害剤についてはPLSによる回帰予測が可能であると考えられた。特にPI3K δ 阻害剤については、ホスホイノシタイドプロファイルによる感受性予測の良好なモデル (予測精度 > 80%) の構築に成功した。これらの結果から、細胞内リン脂質構成はPI3K阻害剤によるがん治療効果を予測する指標として有用であると考え、固形がんの研究を展開するとともに、臨床応用を目指したパラメータの最適化を進めている。

2. ホスホイノシタイド分子種に特異的な結合タンパク質の同定

上述のリンパ腫のほか、ヒト疾患やそのマウスモデルから得た組織、細胞では、リン脂質の水溶性部分 (ヘッドグループ) の構造に加えて、疎水性部分であるアシル基の構成が、正常状態から大きく逸脱するケースが多々認められる。そこで、アシル基構成で分類されるホスホ

イノシタイド分子種に特異性をもって結合する標的タンパク質を探索している。同一のヘッドグループをもつ分子種を含む脂質二重膜を調製し、細胞や組織のタンパク質抽出物とインキュベートした後に回収し、ショットガン法で各ホスホイノシタイド分子種に結合するタンパク質を同定している。興味深いことに、ヘッドグループ特異性を保ちつつ、アシル基特異性も有するタンパク質が数多く存在することが明らかになっている。ミュータジェネシスの結果同定されるアシル基特異性を担保するアミノ酸残基が、脂質二重層の界面においてホスホイノシタイドの脂肪酸と直接相互作用していることが、分子動力学シミュレーションで確認される例を得ている。このような結果から、分子種構成の変化はホスホイノシタイドに発するシグナル伝達のアウトプットに大きな捻じれを生み、病態形成に関わると推察される。疾患リピドミクスによる病態特異的分子種の同定は、上述の分子種特異的結合タンパク質や、アシル基構成を規定する脂肪酸導入酵素などをあらたな創薬標的として提示する可能性が考えられる。

ハイライト

ホスホイノシタイド測定技術の開発

私たちはホスホイノシタイドの新しい測定技術を開発しました。従来の測定方法では、サンプルの放射性同位体標識が必要で、多くの場合は³²P無機リン酸や³H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が解析対象となっています。この試料を陰イオン交換カラムクロマトグラフィーで分離・定量します。一方、私たちの方法では、質量分析計を測定に用います。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りました。質量分析計による解析というアイデアは古くからありましたが、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から、なかなか成功しませんでした。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

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ました (特許出願)。また、従来法ではホスホイノシタイドの脱アシル化操作が必要でしたが、新しい方法では不要となるため、脂肪酸部分の構成が異なる100種類以上のサブクラスの一斉解析が可能となった点も、大きな進歩です。

ホスホイノシタイド代謝酵素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から示唆されています。しかしながら、どのホスホイノシタイドが、健康な状態と比べて病的な状態に蓄積あるいは欠乏しているのかは不明です。この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の動態が特定され、難治性疾患の医療の進歩につながる可能性があります。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ています。

業績

1. Endogenous YAP1 activation drives immediate onset of cervical carcinoma in situ in

mice. Nishio M, To Y, Maehama T, Aono Y, Suzuki A. Cancer Sci. 111(10):3576-3587, 2020
 Otani J, Hikasa H, Kitagawa A, Mimori K, Sasaki T, Nishina H, Toyokuni S, Lydon J, Nakao K, Mak T, Kiyono T, Katabuchi H, Tshiro H,

難治病態研究部門 病態細胞生物学分野

教授：清水重臣 講師：荒川聡子
 プロジェクト講師：辻岡政経、鳥居暁、本田真也 助教：山口啓史
 プロジェクト助教：室橋道子、申珉京、桜井一、野口沙央理、遠藤葉月

研究内容

概略

当研究室では、①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、②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、③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3つの柱として研究を行っている。オートファジーに関しては、当研究室で発見したゴルジ体膜を用いた新しいメカニズムによるオートファジーの分子機構やその生理的、病理的意義を解析している。また、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、オートファジー細胞死に代表される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間の情報交換の基本原理の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. 新しいオートファジー機構の分子機構と生理機能解析

オートファジーには、多くの研究者が対象としている Atg5 に依存し小胞体膜を利用するオートファジーと、私たちが発見した Atg5 に依存せずゴルジ体膜を利用するオートファジー（以下、新規オートファジー）が存在する。両方のオートファジーは、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、生体での役割は全く異なっている。

今年度、私たちは、新規オートファジー実行分子として Wipi3 分子の同定に成功した。Wipi3 分子は、細胞質中に局在するが、新規オートファジーのシグナルが細胞に加わると、ゴルジ体に移動し、ゴルジ体膜の変形を行う。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リソソーム酵素で分解する。

さらに、神経細胞で Wipi3 遺伝子をもたないマウスを作製した。すると、Wipi3 欠損マウスでは、歩行に異常がみられ、以下の所見が得られた。即ち、(1)小脳の

プルキンエ細胞が変性脱落している、(2)脱落前の神経細胞でゴルジ体の形態が異常である、(3)新規オートファジーが起きていない、(4)鉄ならびに鉄輸送タンパク質であるセルロプラスミンが蓄積している、(5)セルロプラスミンは新規オートファジーで分解されるタンパク質である、などの知見である。

従来型オートファジーに必須の Atg7 を欠損したマウスの脳でも同様の神経機能異常が見られたが、両者の神経細胞の内部構造は全く異なっており、各々異なる機構で神経機能を維持していることが考えられた。実際に、Wipi3, Atg7 の両者を欠損したマウスを作成したところ、生後 28 日で死亡し、単独の遺伝子欠損マウスよりもはるかに重篤な神経変性を示した。このことから、従来型オートファジーと新規オートファジーは、異なる機構で神経細胞を維持していることが確認された。

その他の研究として、大阪大学と共同で、炎症性腸疾患の治療に有効な天然物を探索し、ジユを同定した。ジユをマウスに摂食させておくと、マクロファージにおいて強いオートファジー誘導活性が認められ、DSS で誘導した大腸炎に対して抵抗性を示した。オートファジーの阻害剤を併せて投与すると、大腸炎抑制効果が減弱したことより、マクロファージにおけるオートファジーが腸炎抑制に効いていることが明らかとなった。

2. 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ー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。

3. 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。

今年度、我々は、新規オートファジー時のゴルジ体の変形がどのように起こるのかを詳細に観察し、ゴルジ体の PI4P が減少することが重要であることを見出した。

また、この時、ゴルジ体とミトコンドリアの間にクロストークが存在することも見出した。現在は、ゴルジ体によるミトコンドリア調節機構の詳細を解析している。

ハイライト

新規オートファジーの変調は神経変性疾患の原因となる

オートファジーには、Atg5 に依存し小胞体膜より形成される従来型オートファジーと、Atg5 に依存せずゴルジ体膜より形成される新規オートファジーが存在する（図1）。DNA 傷害ストレスなどを加えると、新規オートファジーが活性化されるが、これまで、どのような分子が関わっているかは不明であった。本年

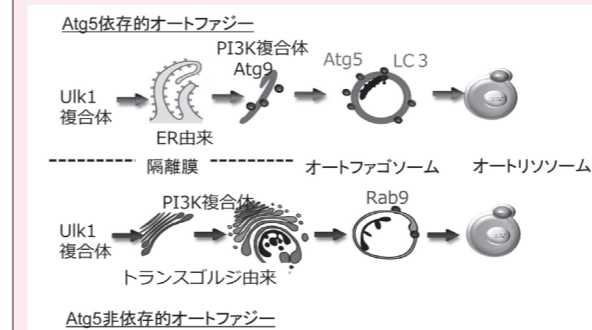


図1 オートファジーの模式図
 オートファジーには、Atg5 に依存した反応（上段）と依存しない反応（下段）が存在する。従来型オートファジーの場合には、小胞体膜を利用してオートファゴソーム形成が進行し、新規オートファジーの場合には、トランスゴルジ膜を利用して進行する。

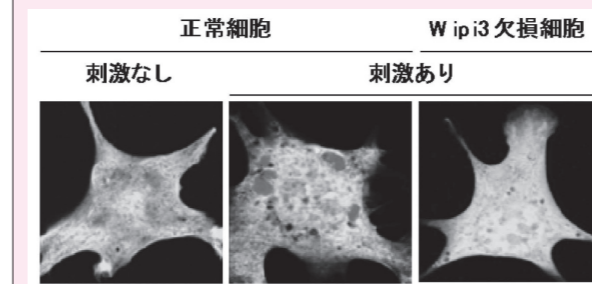


図2 Wipi3 を欠損すると新規オートファジーが誘導されない。(赤色部分がオートファジー)

我々は、新規オートファジー実行分子として Wipi3 を同定した。実際、細胞に DNA 傷害ストレスを加えると通常観察される新規オートファジーが、Wipi3 欠損細胞では観察されなかった（図2）。また、この細胞を電子顕微鏡で観察すると、ゴルジ体膜の形態が異常であり、ゴルジ体膜の異常のため新規オートファジーが誘導されないことが明らかとなった。

神経細胞で Wipi3 遺伝子をもたないマウスを作製したところ、姿勢保持の異常、歩行障害などの小脳失調様症状を示した（図3）。実際に、小脳を観察すると、プルキンエ細胞の変性脱落、新規オートファジーの欠損が観察された。さらに、興味深いことに、プルキンエ細胞において、鉄の沈着ならびに鉄輸送タンパク質であるセルロプラスミンの蓄積が観察された。即ち、新規オートファジー不全により、セルロプラスミンが分解されなくなり、鉄代謝の異常から鉄沈着が生じているものと考えられた。なお、ヒトの脳内鉄沈着神経変性症 SENDA は、Wipi4（Wipi3 の相同遺伝子）の遺伝子変異によって発症することが知られており、このマウスは SENDA のモデルマウスとも考えられた。

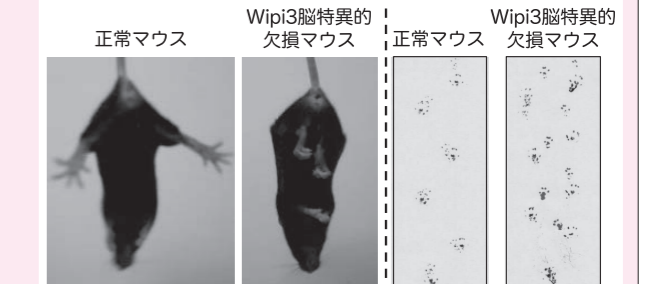


図3 Wipi3 を欠損したマウスでは、体のバランスがとれなくなり(左)、歩行にも異常がみられる(右)。

人事異動

退職：室橋道子（プロジェクト助教）

研究業績

原著論文

1. Identification of a phosphorylation site on Ulk1 required for genotoxic stress-induced alternative autophagy. S. Torii, H. Yamaguchi, A. Nakanishi, S. Arakawa, S. Honda, K. Moriwaki, H. Nakano, S. Shimizu Nature Commun 11, Article number: 1754 (2020)
2. The ceramide analogue N-(1-hydroxy-3-morpholino-1-phenylpropan-2-yl)decanamide induces large lipid droplet accumulation and highlights

- the effect of LAMP-2 deficiency on lipid droplet degradation. Y. Kato, S. Arakawa, K. Terasawa, J.I. Inokuchi, T. Iwata, S. Shimizu, T. Watabe. Bioorg. Med. Chem. Lett. 30: 126891, 2020
3. ER-resident sensor PERK is essential for mitochondrial thermogenesis in brown adipose tissue. H. Kato, K. Okabe, M. Miyake, K. Hattori, T. Fukaya, K. Tanimoto, S. Beini, M. Mizuguchi, S. Torii, S. Arakawa, M. Ono, Y. Saito, T. Sugiyama, T. Funatsu, K. Sato, S. Shimizu, S. Oyadomari, H. Ichijo, H. Kadowaki, H. Nishitoh. Life Science Alliance 3: 3. e201900576, 2020
 4. Sanguisorba officinalis L. derived from herbal medicine prevents intestinal inflammation by inducing autophagy in macrophages. A. Yasueda, H. Kayama, M. Murohashi, J. Nishimura, K. Wakame, K. Komatsu, T. Ogino, N. Miyoshi, H.

- Takahashi, M. Uemura, C. Matsuda, T. Kitagawa, K. Takeda, T. Ito, Y. Doki, H. Eguchi, S. Shimizu, T. Mizushima. Scientific Reports 10, Article number: 9972 (2020)
5. Wipi3 is essential for alternative autophagy and its loss causes neurodegeneration. H. Yamaguchi, S. Honda, S. Torii, K. Shimizu, K. Katoh, K. Miyake, N. Miyake, N. Fujikake, H. Sakurai, S. Arakawa, S. Shimizu. Nature Commun 11, Article number: 5311 (2020)
 6. Homeostatic p62 levels and inclusion body formation in CHCHD2 knockout mice. S. Sato, S. Noda, S. Torii, T. Amo, A. Ikeda, M. Funayama, J. Yamaguchi, T. Fukuda, H. Kondo, N. Tada, S. Arakawa, N. Watanabe, Y. Uchiyama, S. Shimizu, N. Hattori. Human Molecular Genetics in press 2021

難治病態研究部門 発生再生生物学分野

教授：仁科博史 講師：小藤智史 助教：中野泰博（9月～）
事務補佐員：田中和子（～3月）、小藤香織（2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

YAP誘導性細胞排除機構の解明

哺乳動物において、細胞競合を観察する実験系として「哺乳動物培養細胞を用いた細胞競合実験系」が確立された。我々はこの実験系を用いて転写共役因子YAPが細胞排除を誘導することを報告した。次に我々は、分子メカニズムを解明するため、標的既知低分子化合物ライブラリーを用いたケミカルスクリーニングを行った。その結果、1) 排除関連因子としてシクロオキシゲナーゼ2 (COX-2) を同定した。また、2) 活性型YAP発現細胞の排除はCOX-2阻害剤により抑制されること、3) その抑制はCOX-2が産生誘導するプロスタグランジンE2 (PGE2) の添加によりレスキューされること、4) PGE2受容体であるEP2またEP4受容体のアンタゴニストは、活性型YAP発現細胞の排除を阻害することを明らかにした。さらに5) EP2/4受容体の下流であるcAMP模倣体(dibutyryl cAMP)の添加は、COX-2阻害剤による排除抑制をレスキューすること、6) PKA阻害剤は細胞排除を抑制することを明らかにし

た。以上の結果は、COX-2-PGE2-EP2/4-cAMP-PKAのシグナルが細胞排除現象に重要であることを示唆している(図1)。Hippo-YAPシグナル経路は、細胞増殖、細胞分化、細胞張力など多様な細胞応答を制御することが知られている。加えて、上述した細胞排除というユニークな細胞応答の制御を行うことで、広く組織や器官の恒常性制御を担っていると考えられる。

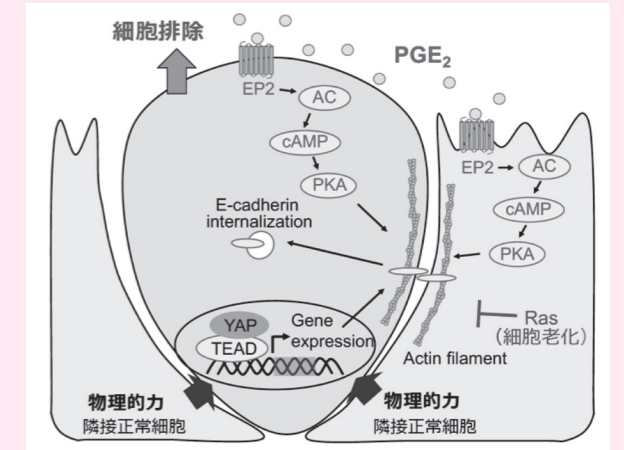


図1 哺乳動物培養細胞を用いたYAP誘導性細胞排除

人事異動

転入：小迫洵（短期交流学生）、中野泰博（9月～）
転出：田中和子（任期満了のため3月末辞職）、
山下真梨子（博士課程修了）

業績目録

原著論文

1. Erika Ishihara, Yuya Nagaoka, Toshiaki Okuno, Satoshi Kofuji, Mari Ishigami-Yuasa, Hiroyuki Kagechika, Kenya Kamimura, Shuji Terai, Takehiko Yokomizo, Yukihiko Sugimoto, Yasuyuki Fujita, Akira Suzuki and Hiroshi Nishina (2020) Prostaglandin E2 and its receptor EP2 trigger signaling that contributes to YAP-mediated cell competition. *Genes to Cells* 25, 197-214.
2. Hirofumi Omori, Miki Nishio, Muneyuki Masuda, Yosuke Miyachi, Fumihito Ueda, Takafumi Nakano, Kuniaki Sato, Koshi Mimori, Kenichi Taguchi, Hiroki Hikasa, Hiroshi Nishina, Hironori Tashiro, Toru Kiyono, Tak Wah Mak, Kazuwa Nakao, Takashi Nakagawa, Tomohiko Maehama and Akira Suzuki (2020) YAP1 is a Potent Driver of the Onset and Progression of Oral Squamous Cell Carcinoma. *Science Advance* 6: eaay3324
3. Kenya Kamimura, Takeshi Yokoo, Hiroyuki Abe, Norihiro Sakai, Takuro Nagoya, Yuji Kobayashi, Masato Ohtsuka, Hiromi Miura, Akira Sakamaki, Hiroteru Kamimura, Norio Miyamura, Hiroshi Nishina, Shuji Terai (2020) Effect of Diphtheria Toxin-Based Gene Therapy for Hepatocellular. *Cancers* 12(2), 472.
4. Miki Nishio, Yoko To, Tomohiko Maehama, Yukari Aono, Junji Otani, Hiroki Hikasa, Akihiro Kitagawa, Koshi Mimori, Takehiko Sasaki, Hiroshi Nishina, Shinya Toyokuni, John P. Lydon, Nishina, Kazuwa Nakao, Tak Wah Mak, Tohru Kiyono, Hidetaka Katabuchi, Hironori and Akira Suzuki (2020) Endogenous YAP1 activation Drives Immediate Onset of Cervical Carcinoma In Situ in Mice. *Cancer Science* 111, 3576-3587.
5. Takanobu Shimizu, Takeshi Nakamura, Hironori Inaba, Hiroaki Iwasa, Junichi Maruyama, Kyoko Arimoto-Matsuzaki, Takao Nakata, Hiroshi Nishina, Yutaka Hata (2020) The RAS-interacting chaperone UNC119 drives the RASSF6-MDM2-p53 axis and antagonizes RAS-mediated malignant transformation. *J. Biol. Chem.* 295, 11214-11230.
6. Nozomi Hanzawa, Koshi Hashimoto, Xunmei Yuan, Kenichi Kawahori, Kazutaka Tsujimoto, Miho Hamaguchi, Toshiya Tanaka, Yuya Nagaoka, Hiroshi Nishina, Sumiyo Morita, Izuho Hatada, Tetsuya Yamada, and Yoshihiro Ogawa

7. Kenya Kamimura, Takeshi Yokoo, Hiroyuki Abe, Norihiro Sakai, Takuro Nagoya, Yuji Kobayashi, Masato Ohtsuka, Hiromi Miura, Akira Sakamaki, Hiroteru Kamimura, Norio Miyamura, Hiroshi Nishina, Shuji Terai (2020) Targeted DNA demethylation of the *Fgf21* promoter by CRISPR/dCas9-mediated epigenome editing. *Scientific Reports* 10, 5181.
7. Manami Kodaka, Kyoko Arimoto-Matsuzaki, Xiaoyin Xu, Zeyu Yang, Fengju Mao, Yue Guo, Junichi Maruyama, Kentaro Nakagawa, Kana Ishii, Chihiro Akazawa, Takuya Oyaizu, Naoki Yamamoto, Mitsuhiro Enomoto, Mari Ishigami-Yuasa, Nozomi Tsuemoto, Shigeru Ito, Hiroyuki Kagechika, Hiroshi Nishina, Yutaka Hata (2020) Characterization of a novel compound that promotes myogenesis via Akt and transcriptional co-activator with PDZ-binding motif (TAZ) in mouse C2C12 cells. *PLoS ONE* 15(4) e0231265.
8. Satoshi Kofuji and Atsuo T Sasaki (2020) [review] GTP Metabolic Reprogramming by IMPDH2: Unlocking Cancer Cells' Fueling Mechanism. *J. Biochem* 168(4):319-328.

著書・総説

1. 仁科博史：Hippo-YAPシグナル経路を介した異常細胞の排除 医学のあゆみ 274：451-455 (2020)
2. 小藤智史：核小体の活性と腫瘍形成を制御するGTP代謝リプログラミング 生化学 92：722-725 (2020)
3. 中野泰博：コラーゲン産生細胞の形質転換による臓器線維症治療への応用 医学のあゆみ 275:1051-1058 (2020)

難治病態研究部門 幹細胞医学分野

教授：西村栄美 准教授：難波大輔 助教：松村寛行
プロジェクト助教：毛利泰彰、森永浩伸、浅川杏祐、劉楠、下川真理子

研究内容

概要

生体を構築する多くの組織や臓器の恒常性維持においては、幹細胞システムが大きな役割を果たしている。本研究分野では、幹細胞システムの動作原理の研究を通じて、生体組織の再生、老化、がん化の仕組みを理解し、臨床に応用すべく研究を行っている。組織幹細胞が幹細胞周囲の微小環境（ニッチ）との相互作用や隣接する幹細胞間での細胞競合を経て、あるいは様々な環境因子に起因するシグナルを経て幹細胞運命を制御する仕組みについて、ほ乳類の皮膚をモデルとして研究を進めている。その分子基盤の解明ならびに疾患発症や病態との関連の研究を通じて、老化再生生物学、幹細胞医学という新しい領域を創成し、創薬、先制医療、疾患治療へと応用することを目指している。

研究紹介

1. 組織幹細胞の同定

皮膚は、体重の約16%を占める再生系臓器であり、外界から個体を隔て生命を護っている。表皮、真皮、皮下脂肪織から成り、毛包や汗腺などの付属器を持つ。表皮では、恒常的に角化細胞が新陳代謝を行なうのに対して、毛包は周期的に再生を行い、多くの細胞が毛周期ごとに新しく入れ替わる。皮膚は、その外観から変化が容易に検出できる上、アクセスが容易で幹細胞の運命追跡や *in vivo* イメージングも可能であり多くの利点を持っている。これまでに哺乳類の毛包内の色素細胞系譜の幹細胞（色素幹細胞）(Nishimura EK, et al., Nature, 2002.)、加えて汗腺分泌部の色素幹細胞を発見しており (Okamoto N et al. PCMR, 2014)、メラノーマの起始細胞となっていることやメラノーマの初期病変の病理診断への応用について検証をすすめや (Eshiba, S et al., 投稿中)。表皮幹細胞は表皮基底層に存在することは知られていたが生体内における同定は困難であった。我々は COL17A1 を発現する表皮基底細胞を真の表皮幹細胞として同定することに成功した (Liu N. et al. Nature, 2019)。

2. 老化形質の発現と癌発生のメカニズムの解明

白髪や脱毛は、哺乳類における最も典型的な老化形質の代表である。我々はこれまでに毛包幹細胞が色素幹細胞のニッチ細胞となることを示し (Nishimura EK et al. Cell Stem Cell, 2010) (Inomata K et al. Cell Stem Cell, 2011) 加齢マウスの髭毛包内において、色素幹細胞がニッチ内において異所性に分化すること、これによって幹細胞が枯渇し色素細胞を供給できなくなるため、白髪が起こること、ゲノム毒性ストレスによってこれが促進すること、自己複製チェックポイントの関与を見出した (Nishimura EK et al., Science 2005) (Inomata K et al. Cell, 2009) (図1)。ヒトの加齢に伴う生理的な白髪においても、同様の細胞が加齢に伴いニッチに現れ、未分化な色素細胞が枯渇するため白毛化が起こる。さらに脱毛においても同様に毛包幹細胞が自己複製せずに表皮へと運命をかえて分化すると、これによって幹細胞プールが維持できなくなり毛包がミニチュア化して薄毛と脱毛が進行することを明らかにしている (Matsumura H et al., Science 2016) (図2)。これらの幹細胞枯渇に基づく老化形質の発現は、ニッチによる自己複製を介して癌の発生と拮抗していることを明らかにしている (Mohri Y et al. 投稿中)。

3. 毛包の老化と脱毛の仕組みの解明

我々の体を構築する組織や臓器の多くは、加齢に伴って器質的に変化すると同時にその機能レベルが低下する。我々は臓器老化モデルとして毛包の老化過程に着目

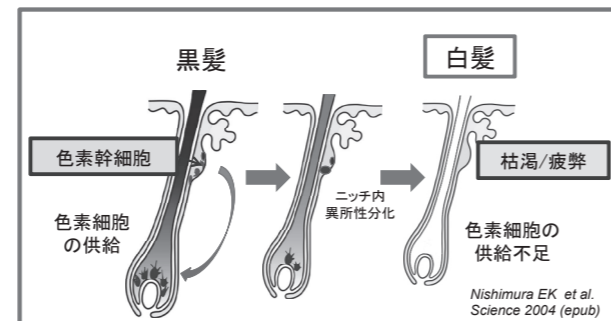


図1 加齢による色素幹細胞の枯渇/疲弊が色素細胞の不足による白髪を引き起こす

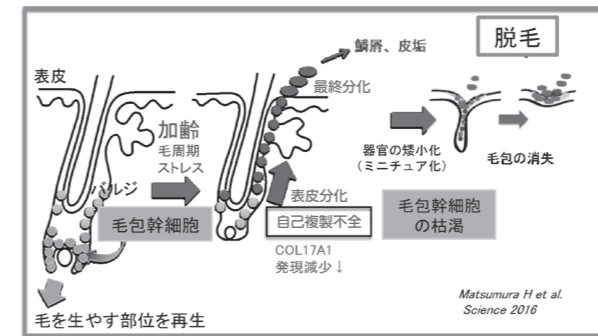


図2 加齢による毛包幹細胞の枯渇が毛包のミニチュア化と脱毛を引き起こす

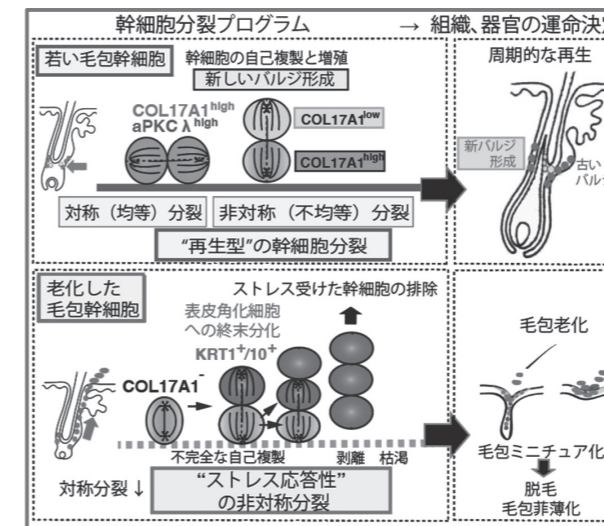


図3 毛包の幹細胞分裂タイプの違いが器官の再生・老化を決定づける

し、毛の再生に重要な細胞を供給している毛包幹細胞の運命追跡を行なった。毛包幹細胞は加齢に遠なると DNA 損傷応答が遷延するようになり、毛包幹細胞の維持において重要な XVII 型コラーゲン (COL17A1/BP180) が失われると、表皮の角化細胞へと分化して皮膚表面から剥がれ落ちて失われていくこと、これによって毛包幹細胞とそのニッチが次第に縮小し、毛包自体が小型化するため毛が細くなり失われていくことが明らかになった。さらに、マウスの毛包幹細胞において COL17A1 の消失を抑えると、一連の加齢変化を抑制できた。以上のことから、組織に幹細胞を中心とした老化プログラムが存在すること (Matsumura H et al.,

業績目録

Matsumura H, Liu N, Nanba D, Ichinose S, Takada A, Kurata S, Morinaga H, Mohri Y, De Arcangelis A, Ohno S, Nishimura EK. Distinct types of stem cell divisions determine organ regeneration and aging in hair follicles. *Nature Aging*, 1: 190-204, 2021

Al-Busani H, Al-Sobaihi S, Nojima K, Tanemura

A, Yaguchi T, Kawakami Y, Matsumura H, Nishimura EK, Yokozeki H, Namiki T. NUA2 localization in normal skin and its expression in a variety of skin tumors with YAP. *J Dermatol Sci*, 97(2): 143-151, 2020

和文総説

松村寛行, 劉楠, 西村栄美: 「幹細胞競合が皮膚の恒常性維持と老化を担う」: 医学のあゆみ Vol.274(7), 597-598, (2020)

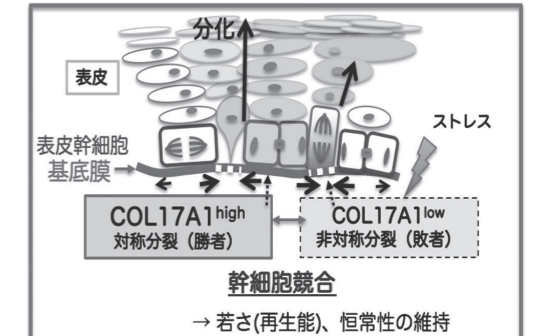


図4 表皮幹細胞はCOL17A1を介した細胞競合を行い、皮膚の恒常性(若さ)を維持している

Science, 2016) (図2)、さらに幹細胞分裂タイプが再生型から老化型へとスイッチし、これにより毛包の矮小化と脱毛を引き起こすことが明らかになった (Matsumura H et al., Nat Aging, 2021) (図3)。ヒトにおいてもその傍証を得たことから、その制御による脱毛症の予防や治療への応用に向けた応用研究を進めている。

4. 表皮における幹細胞競合による皮膚の若さの維持、再生・老化の仕組みの解明

表皮は生涯にわたって個体を外界から隔てて生命を維持し続けており、毛包よりも遥かに長期に渡って機能し続ける。その仕組みを明らかにするために表皮幹細胞のクローン解析を行った。その結果、表皮幹細胞が隣接する幹細胞との間で COL17A1 の発現差に基づく細胞競合を行っており、これによって表皮角化細胞の若さ(質)を保ち老化を抑制していることが明らかになった (図4)。しかし加齢に伴い幹細胞競合がおこらなくなり、色素細胞や線維芽細胞なども失われ皮膚が老化することが明らかになった。さらに加齢に伴う COL17A1 を制御するシグナルの低下により幹細胞の分裂様式や運動性が変化し創傷治癒が遅れる仕組みを明らかにした (Nanba, D et al. 投稿中)。他の上皮系臓器でも同じように幹細胞競合や分裂様式の変化、運動性が臓器の若さ(品質)や機能維持や再生において共通原理としてはたらく可能性について検証し、加齢関連疾患との関連、予防や治療の戦略についても探る予定である。

松村寛行, 劉楠, 西村栄美: 「表皮幹細胞の細胞競合と皮膚の再生・老化」: 医学のあゆみ Vol.274(5), 491-499, (2020)

松村寛行, 劉楠, 西村栄美: 「細胞競合が担う皮膚の恒常性維持と老化」: 臨床皮膚科 Vol.74(5), 37-43, (2020)

難治病態研究部門 免疫疾患分野

教授：鏑田武志 准教授：安達貴弘 助教：赤津ちづる
プロジェクト助教：金原秀一 特任講師：王 継揚
特任研究員：Feng, Yang-yang, Alborzian Deh Sheikh, Amin
技術補佐員：寺本悠子、赤澤美圭子 事務補佐員：澤田千賀子

研究内容

糖鎖や核酸など非タンパク質抗原への抗体産生は感染防御や自己免疫疾患で重要な役割を果たす。しかし、教科書的な抗体産生のメカニズムは抗原がタンパク質の場合に限定されており、糖鎖や核酸への抗体産生のメカニズムには不明の点が多い。本研究室では、非タンパク質抗原への抗体産生のメカニズムの解明を行うとともに、Bリンパ球（B細胞）や抗体産生を標的とした自己免疫疾患の新規治療法の開発およびワクチンの開発を行っている。

研究紹介

1. 全身性エリテマトーデス (SLE) や免疫性神経疾患発症に関わる糖脂質および核酸関連抗原への自己抗体産生制御メカニズムの解明

全身性エリテマトーデス（SLE）では核酸や核酸関連抗原への自己抗体が産生され、免疫性ニューロパチーであるギラン・バレー症候群では、シアル酸を含有糖脂質であるガングリオシドへの自己抗体が産生される。これらの自己抗体は、それぞれの疾患の発症に関わる。B細胞には種々の抑制性受容体を発現するが、本研究室では、抑制性受容体の1つCD72がSLE発症を制御することを明らかにし（Xu et al. J. Immunol. 2013）、さらに、RNAを含む自己抗原Sm/RNPを認識し、自己抗体産生を抑制することを明らかにした（Akatsu et al. JEM 2016）。SLEでは、Sm/RNP以外の種々の核酸関連自己抗原への抗体が産生されるため、テキサス大学SouthwesternのLi博士らとの共同研究により、自己抗原アレイを用いてCD72認識する自己抗原の同定を行った。その結果、いくつかSLEで特徴的に産生される自己抗体の対応抗原をCD72が認識することが明らかになり、現在、このCD72の認識がSLE発症制御で果たす役割の解明を行っている。また、B細胞に発現する抑制性受容体の1つSiglec-10はシアル酸を認識することが知られている。ギラン・バレー症候群患者でのSiglec-10遺伝子の解析を行い、Siglec-10がガングリオシドを認識することでガングリオシドへの自己抗体産生を抑制し、ギラン・バレー症候群の発症を抑制することを示す知見を得た（Alborzian Deh Sheik J. Autoimm et al.

2021）（ハイライト参照）。

2. 細胞表面糖鎖層内での分子間相互作用によるB細胞制御の解明

細胞の表面には脂質やタンパク質に結合した糖鎖が多量に存在し、糖鎖の被殻（Glycocalyx）を形成している。Glycocalyx内では糖鎖を介した膜分子の相互作用により細胞機能が制御されるがその詳細は不明である。B細胞が発現する抑制性受容体CD22はシアル酸を認識するレクチンでもある。CD22はB細胞表面でCD22のシアル酸と会合し、CD22同士のクラスターを形成するとともに、B細胞抗原受容体(BCR)ともシアル酸を介して会合する。これらの会合によりCD22の機能が制御され、正常なB細胞の分化や抗原への応答が維持されることを明らかにした（Akatsu et al. under revision, Alborzian Deh Sheik et al. J. Immunol. 2021）。また、スタンフォード大学Butcher教授らとの共同研究で、CD22が腸管リンパ組織へのB細胞のホーミングに関わるインテグリンとシアル酸を介して相互作用し、その機能を制御することを明らかにした（Ballet et al. Nat Immunol. 2021）。

3. 多糖抗原への抗体産生と自己非自己識別のメカニズムの解明

多糖への抗体産生は感染防御で重要である。多糖への抗体産生はT細胞からのヘルプなしに起こるという特徴があるが、その仕組みは不明である。本研究室では、その仕組みの解明を行っている。

4. ワクチンおよび自己免疫疾患新規治療薬の開発

標的分子の一部と免疫誘導能の高いキャリア分子をコンジュゲートすることで、標的分子の特定の部分への抗体産生を効率よく誘導する技術を開発している。さらに、この技術を用いて、がんワクチンや新型コロナウイルスへのワクチンの開発を行っている。また、B細胞の一部はIL-10などの抑制性のサイトカインを産生することで、免疫応答、とりわけ一部の自己免疫応答を抑制する。このようなB細胞を増加させる自己免疫疾患治療法の開発を行っている。

ハイライト

免疫性ニューロパチーであるギラン・バレー症候群に関連する遺伝子変異の同定

急性のニューロパチーを起こすギラン・バレー症候群では、神経細胞に特徴的に発現するシアル酸を含む糖脂質（ガングリオシド）に対する自己抗体が産生され、この自己抗体がニューロパチーの発症に関わるとされている。これまで本症候群の特徴的な遺伝子変異は不明であった。Siglec-10はシアル酸を認識する抑制性レセプターでB細胞などに発現する。近畿大学の楠教授らとの共同研究で、ギラン・バレー症候群患者での、Siglec-10遺伝子のDNA配列を調べたところ、Siglec-10のリガンド結合ドメイン内の47番目のアミノ酸がアルギニンからグルタミンに置換（R47Q）された変異体がギラン・バレー症候群患者で集積していることが明らかとなった（Alborzian Deh Sheik et al. J.Autoimm, 2021）。さらに、R47Q変異によりSiglec-10のガングリオシドへの結合が顕著に減弱することを明らかにした。この結果から、自己反応性B細胞がガングリオシドを認識した際に、野生型のSiglec-10がガングリオシドに反応してB細胞の活性化を抑制することで、抗ガングリオシド抗体の産生が抑制されるが、R47Q変異体はガングリオシドに反応できないために抗ガングリオシド抗体産生を抑制できず、ギラン・バレー症候群の発症に関わることが示唆された（図）。Siglec-10 R47Q変異は、日本人でもアレラ頻度が1%程度と低いrare variantである。一般

に疾患に関連するrare variantはオッズ比が高く、疾患発症での役割が大きい。また、rare variantには地域差があるという特徴がある。実際、R47Q変異は、中国南部と日本でのみ見られる変異である。また、ギラン・バレー症候群はカンピロバクター感染などが引き金となって発症することが多いため、R47Q変異を持つ場合にはこれらの感染を避けることでギラン・バレー症候群発症のリスクを低減できると考えられる。

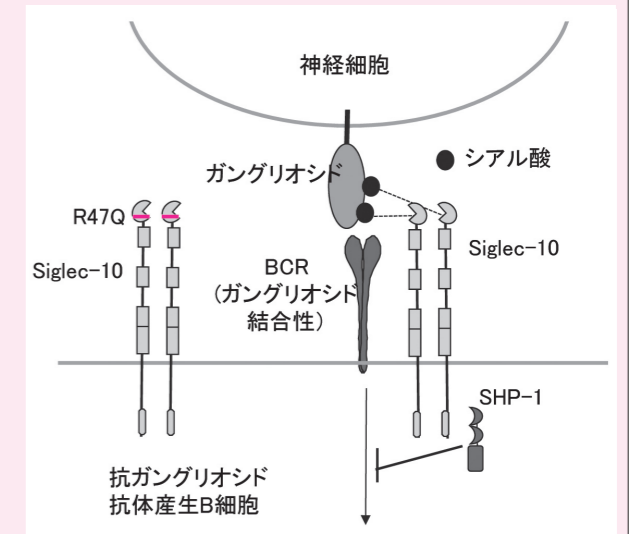


図 Siglec-10による抗ガングリオシド自己抗体産生抑制
抗ガングリオシド抗体を産生するB細胞が抗原受容体(BCR)を介して神経細胞表面のガングリオシドを認識すると、野生型Siglec-10はガングリオシドのシアル酸を認識し、チロシンホスファターゼSHP-1を活性化することで、BCRを介するシグナル伝達を抑制する。その結果、B細胞の活性化が抑制され、ガングリオシドへの抗体は産生されない。一方、R47Q変異を持つSiglec-10はガングリオシドを認識できず、抗ガングリオシド抗体産生を抑制できない。

人事異動

転入:大亀綾香(大学院生)、松村佳奈(大学院生)、大隅瑞基(大学院生)、Cui, Yang (大学院生)、Ding, Yi (大学院生)、Yang, Tianyi (大学院生)、清田顕之介(インターンシップ学生)、高嶋航(共同研究員)、赤澤美圭子(技術補佐員)
転出:金原秀一(プロジェクト助教)、Feng, Yangyang (特任研究員)、Alborzian Deh Sheikh, Amin (特任研究員)、寺本悠子(技術補佐員)

業績目録

原著論文

- Hong, R., Lai, N., Xiong, E., Ouchida, R., Sun, J., Zhou, Y., Tang, Y., Hikida, M., Tsubata, T., Tagawa, M., Wang, Y. and J.-y. Wang (2020): Distinct roles of BCNP1 in B cell development and activation. *Int. Immunol.* 32: 17-26.
- Alborzian Deh Sheikh, A., Goma, S., Li, X., Routledge, M., Saigo, K., Numoto, N., Angata, T., Hitomi, Y., Takematsu, H., Tsuiji, M., Ito, N., Kusunoki, S. and Tsubata, T. (2020): A Guillain-Barré syndrome-associated SIGLEC10 rare variant impairs its recognition of gangliosides. *J. Autoimmun.* 116: 102571.
- Tsugawa, N., Yamada, D., Watabe, T., Onizawa, M., Wang, S., Nemoto, Y., Oshima, S.,

- Tsubata, T., Adachi, T., Karasuyama, H., Watanabe, M., Blumberg, R., Okamoto, R. and Nagaishi, T. (2020): CEACAM1 specifically suppresses B cell receptor signaling-mediated activation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 535: 99-105.
- Ballet, R., Brennan, M., Brandl, C., Feng, N., Berri, J., Cheng, J., O'c6n, B., Alborzian Deh Sheikh, A., Marki, A., Bi, Y., Abram, L. C., Lowell, A. C., Tsubata, T., Greenberg, B. H., Macauley, S. M., Ley, K., Nitschke, L. and Butcher, C. E. (2021): A CD22-Shp1 phosphatase axis controls integrin $\beta 7$ display and B cell function in mucosal immunity. *Nat Immunol.* 22: 381-390.
- Yasuda, K., Nakashima, A., Murata, A., Suzuki, K., Adachi, T. (2020): Euglena Gracilis and beta-glucan paramylon Induce Ca(2+) signaling in intestinal tract epithelial, immune, and neural cells. *Nutrients.* 12(8).
- Nishimura, Y., Fukuda, Y., Okonogi, T., Yoshikawa, S., Karasuyama, H., Osakabe, N., Ikegaya, Y., Sasaki, T., Adachi, T. (2020): Dual real-time in vivo monitoring system of the brain-gut axis. *Biochem Biophys Res Commun.* 524 (2):340-5.
- Kumazawa, T., Kotake, K., Nishimura, A., Asai, N., Ugajin, T., Yokozeki, H., Adachi, T. (2020): Isolation of food-derived bacteria inducing interleukin-22 in B cells. *Biosci Microbiota Food Health.* 39(1):1-9.

- Isobe, J., Maeda, S., Obata, Y., Iizuka, K., Nakamura, Y., Fujimura, Y., Kimizuka, T., Hattori, K., Kim, Y.-G., Morita, T., Kimura, I., Offermanns, S., Adachi, T., Nakao, A., Kiyono, H., Takahashi, D., Hase, K. (2020): Commensal bacteria-derived butyrate promotes the T-cell-independent IgA response in the colon. *Int Immunol.* 32(4):243-58.
- Aihara, Y., Fukuda, Y., Takizawa, A., Osakabe, N., Aida, T., Tanaka, K., Yoshikawa, S., Karasuyama, H., Adachi, T. (2020): Visualization of mechanical stress-mediated Ca(2+) signaling in the gut, using intravital imaging. *Biosci Microbiota Food Health.* 39(4):209-18.

総説・著書

- Tsubata, T. (2020): Involvement of reactive oxygen species (ROS) in BCR signaling as a second messenger. In "B Cells in Immunity and Tolerance" ed. by Ji-Yang Wang, Springer pp. 37-46.
- Alborzian Deh Sheikh, A., Akatsu, C. and Tsubata, T. (2020): Identification of Siglec Cis-ligands by Proximity Labeling. In "Lectin Purification and Analysis: Methods and Protocols" ed. by Jun Hirabayashi, Springer pp. 75-83.
- 鏑田 武志 (2020): B細胞と自己免疫疾患、臨床免疫・アレルギー科 73(5) 562-570
- 安達 貴弘 (2020): 生体イメージングによる食シグナルおよび未病・病態の解析、実験医学増刊 38(10) 1779-1786

ゲノム応用医学研究部門

Division of Medical Genomics

【研究の理念と概要】

ゲノム応用医学部門では、その本態が明らかでないために適切な治療法が確立されていない難治性の疾患や生活習慣病等の克服に資する研究の実施を理念とする。この理念のもとに、ゲノム構造、ゲノム機能、タンパク情報等を併せた学術横断的な研究を実施し、得られた包括的生命科学情報を基盤に難治疾患の病態を明らかにするとともに、罹患性リスクなど、これまで体質と呼ばれてきたものを科学的に解明する。これにより、難治性の疾患の分子診断法の開発と個別化医療実践への応用、発症前診断、疾患の予防法の開発を目指し、それら成果を以って未来医療に貢献する。

【分子細胞遺伝】

- 2565種類のmiRライブラリーのcell-based screeningを行い、核酸抗癌薬のシーズ候補、*miR-1293*を同定した。*miR-1293*はBRD4及びDNA修復に関わる複数の遺伝子（APEX1、RPA1、POLD4）を標的することでDNA障害を惹起し、抗腫瘍効果を発揮した。
- 担瘤マウスにおいて*miR-634*軟膏製剤の経皮投与による顕著な抗腫瘍効果を確認した。岐阜大学獣医病院との共同研究で伴侶犬メラノーマを対象とした*miR-634*局所注入による臨床試験を実施して、その有効性および安全性を確認した。
- 既承認薬再配置の概念のもとに、FDA承認薬ライブラリーから新規抗がん剤候補として脂質異常症治療薬であるビタバスタチンを同定した。さらに、ビタバスタチンとカブマチニブ（MET阻害剤）の組み合わせは、単剤よりも強い抗がん活性を示した。
- 重度の発達遅滞及び先天性多発奇形を呈する男児において*OTUD5*のミスセンス変異を同定した。米国NIHとの共同研究で、*OTUD5*遺伝子変異が新規X染色体連鎖先天異常症となることから、LINKED症候群（MIM: # 301056）と命名した。

【分子遺伝】

- 乳がん発症に関連する分子の機能を追究し、乳腺発がん機構を解明、得られた成果を応用し新規治療法の開発に取り組んだ。
- 乳がん関連遺伝子BRCA1/BRCA2の新規結合分子を探索し、その機能解析からDNA損傷修復機構の解明を進めた。さらに、BRCA変異腫瘍に対する合成致死性効果を示す新規低分子化合物の探索を進めた。
- 乳がん浸潤機構に焦点を当て、in vitro培養によって作製された乳管モデルを利用して、エストロゲンによる乳管構造および基底膜崩壊機構の解明を行った。
- DNA相同組換え（HR）修復機能が減弱した遺伝性乳がん・卵巣がんは、PARP阻害剤などのDNA損傷剤に特異的な感受性（合成致死）を示すが、耐性獲得が重要課題である。そこで、PARP阻害剤との併用により、がん細胞の感受性を尤進（増感）させる新たな因子の探索を目的に、化合物スクリーニングを実施した。

【分子疫学】

- 高齢者連続剖検例（JG-SNPデータベース）を用いて、ウェルナー症候群（WS）の原因変異WRNヘリカーゼレアバリアントWRN pR369Xはアレル頻度が0.11%であり、ヘテロキャリアーは寿命を全う出来るものの、男性は肺がんを含む原発性重複がんのリスクがあることを明らかにした。
- D-アミノオキシダーゼ（DAO）は細胞保護作用のあるガスシグナル分子H2Sを生成する酵素であるが、DAO pP103Lミスセンス変異（アレル頻度0.21%）は筋萎縮性側索硬化症（ALS）の感受性遺伝子であるとともに、男性において胃がんのリスク因子である可能性を見出した。
- 本学付属病院との母子コホート研究（BC-GENIST）を基軸として、東北三世代コホート、浜松母と子の出生コホートを対象とした共同研究の開始を準備し、DOHaD研究を推進している。
- 慶應義塾大学医学部耳鼻咽喉科学教室との共同研究で、苦痛度の高い重症耳鳴りにBCR遺伝子のrs131702が関連することを明らかにした。

【エピジェネティクス】

- LTRレトロトランスポゾン由来の真獣類特異的遺伝子*RTL1/PEG11*の筋肉、脳における機能を解明し、ヒトゲノムインプリンティング疾患である鏡一緒方症候群、テンプル症候群に見られる筋肉、脳症状の原因であることを明らかにした。また、この遺伝子が真獣類特異的脳構造である脳梁の形成／機能に関与することを示唆した。
- マウスES細胞、ヒトiPS細胞から心臓オルガノイドを作製する実験系を完成したが、ヒトES細胞からも同様の心臓オルガノイドの作製が可能であることを見出した。
- ヒトゲノムに含まれる内在性レトロウイルス由来の遺伝子が実際にタンパク質として機能していることを示すための新しい実験法を開発し、真猿類に保存される遺伝子でその有効性を実証した。

【医科学数理分野】

- 国際がんゲノムコンソーシアム（ICGC）に参画し、タンパク質に翻訳されないゲノム領域のがん発症への影響を、2,658症例の全がん種横断的な全ゲノム上で解析しました。その結果、長いタンパク非コードRNAや転写制御領域での変異の効果などを見出しました。さらにそれらをカタログ化し、それらの機能解析を行ったことによって、あらゆるがん種の新たな創薬の基盤を構築しました。
- 転移先の腫瘍にどれだけの原発巣の腫瘍の細胞が含まれていたのかを解明するために、両部位の腫瘍のWESデータを用い、転移先での「創始者細胞の集団サイズ」を定量化する方法を開発しました。大腸がん患者の実データに提案手法を適用したところ、3～17細胞の集団的な転移が認められました。これが治療奏効の違いとなっている可能性があります。

【ゲノム機能多様性分野】

- 免疫疾患の病因メカニズムを明らかにするために、免疫細胞サブセットのロングリードRNA-seqを行い、選択的スプライシングによってもたらされるアイソフォームカタログの作成を行った。また、ゲノムワイド関連解析（GWAS）とsplicing QTL解析の統合を行い、疾患に関与する選択的スプライシングの網羅的同定を行った。
- 関節リウマチの滑膜細胞を用いたeQTL解析を行い、滑膜細胞特異的なeQTL遺伝子の同定を行うとともに、GWASの結果と統合することによって、疾患発症に関与するeQTL遺伝子の同定を行った。
- 国際共同研究において、東アジア人の全身性エリテマトーデスのGWASメタ解析を行い、100を超える疾患感受性領域を明らかにした。
- ロングリードシーケンサーから得られるシーケンズデータを用いて、ゲノム上の構造多型や反復配列多型の同定を行うパイプラインを作成した。

【ゲノム機能情報分野】

- 表現型スクリーニングやコホート検体からトランスクリプトームデータを大規模にかつ簡便に得るために、超多検体RNA-seq法の開発を実施した。
- 超多検体RNA-seq法とメタデータを深層学習し、遺伝子発現行列を生成する学習モデルの開発を実施した。
- 本分野で開発した1細胞RNA-seq法を用いて、ヒト疾患iPS細胞による精神疾患の病態解析（Sawada T., Mol. Psychiatry. 2020）、免疫細胞の急峻な応答機序解析（Michida H., Cell Rep. 2020）の論文を出版した。

ゲノム応用医学研究部門 分子細胞遺伝分野

教授：稲澤譲治 准教授：井上 純 助教：玄 泰行、村松 智輝
特任助教：Daniela Tiaki Uehara

研究内容

未だ診断・治療法が確立されていない“アンメット・メディカルニーズ”の難治癌ならびに希少性遺伝疾患を対象に、それら病態の分子メカニズムの解明とその成果に基づく革新的な診断・治療法の開発を目的に研究を行っている。

研究紹介

1. マイクロ RNA を用いた核酸抗癌薬の開発

①癌抑制型 *miR-634* 核酸抗癌薬の開発

マイクロ RNA (*microRNA*; *miR*) は、約 22 塩基からなる機能性 RNA であり、複数の標的遺伝子の転写産物に直接結合することで、遺伝子発現を負に制御する。近年、新たな医療モダリティとして、癌抑制型 *miR* を用いた核酸抗癌薬の開発が注目されている。しかし、標的となる腫瘍細胞内へ効率的に *miR* を送達するための DDS (drug delivery system) の開発が急務の課題となっていた。我々はこれまでに、*miR-634* が癌細胞特有の細胞内代謝や細胞生存システムの変調に関連する複数遺伝子を標的とする癌抑制型 *miR* であり、核酸抗癌薬の有用な創薬シーズとなることを示してきた。

本年度は、核酸の経皮透過を飛躍的に促進する ILTS (Ionic Liquid Transdermal System) 技術を用いることにより、合成 2 本鎖 *miR-634* を含有する“*miR-634* 軟膏製剤”を開発した。皮膚扁平上皮癌細胞株 A431 細胞の担癌マウスに“*miR-634* 軟膏製剤”を経皮投与することで、腫瘍細胞内への *miR-634* の効率的な送達と標的遺伝子の発現抑制ならびに抗腫瘍効果が確認された。さらに、“*miR-634* 軟膏製剤”の投与はグルタミントランスporter *ASCT2* の発現抑制を介して、EGFR 阻害剤の治療効果を顕著に増強することが見出された。本研究結果により“*miR-634* 軟膏製剤”が皮膚扁平上皮癌の有用な外用抗癌薬となると示唆された (Inoue J et al. Mol Ther- Oncolytics 2020)。

②新規癌抑制型 *miRs* の探索

miRBase に登録されている *miRs* の約 96% を網羅する 2565 種類のヒト *miR* ライブラリーを用いて、cell-based スクリーニングを行い、新たな癌抑制型 *miR*-

1293 を同定した。*miR-1293* は癌治療の創薬標的である epigenetic reader BRD4 や DNA 修復に関わる複数の遺伝子を直接標的としてそれら機能を抑制することで、癌細胞死を誘導することが示された。担癌マウスモデルにおいて *miR-1293* の局所投与は明らかな有害現象を伴うことなく、*in vivo* 抗腫瘍効果を示した (Takagawa Y et al. Mol Ther. 2020)。

2. 既承認薬再配置 (DR) に基づく新規抗癌剤探索

既承認薬再配置 (Drug Repurposing: DR) は、既に何らかの疾患で承認されている薬剤を異なる他の疾患の治療薬として応用することである。766 種類の FDA 承認薬ライブラリーと口腔扁平上皮癌細胞株 (HOC313-LM) を用いて、細胞増殖を指標とした機能的スクリーニングを施行し、新規抗癌剤候補ピタバスタチンを同定した。その作用メカニズムの一つとして、ゴルジ体の機能不全を介して癌遺伝子である MET のプロセッシングを阻害することを発見した。さらに、MET 阻害剤であるカプマチニブと併用することで、抗癌活性が増強することを明らかにした (Xu B et al. Mol Cancer Res. 2020)。

3. 遺伝性疾患のゲノム解析

発達遅滞や多発奇形を合併する先天異常症は全人口の 2 - 3% に存在する難治性疾患である。遺伝学的異質性によりその診断は容易でなく、診断未確定の症例も数多く存在する。2005 年より国内 23 医療施設において、多発奇形を伴う発達遅滞を呈する日本人 645 名を対象に原因の探索を行ってきた。最初に BAC アレイ、SNP アレイを用いたコピー数変化を解析し、その 24% (155/645) において病因性 CNV を検出した。次に、陰性であった 104 症例を対象として 75 個の遺伝子パネルを用いた解析を行い、19% (20/104) に病因性点変異を検出した。さらに、遺伝子パネル解析陰性の 6 症例を対象に全エクソームのトリオ解析を行い、2 症例で疾患に関連する新規候補遺伝子を同定した。

そのうちの一つは、脱ユビキチン化酵素である X 染色体連鎖 *OTUD5* 遺伝子であった。全エクソームのトリオ解析から、重度の発達遅滞及び先天性多発奇形を呈する男児において *OTUD5* の母親由来ミスセンス変異

(p.Arg274Trp) が同定された。健常者である母親においては、X 染色体不活化パターンが偏っていることを確認した。*OTUD5* 変異を有する症例を集めて解析していた米国 NIH のグループとの国際共同研究により、*OTUD5* 遺伝子変異が中枢神経系 (CNS)、頭蓋顔面、

心臓、骨格、泌尿生殖器異常によって特徴付けられ男児に発症する新規の X 染色体連鎖先天異常症であることが示され、LINKage-specific deubiquitylation deficiency-induced Embryonic Defects (LINKED) 症候群と命名された (Beck DB et al. Sci Adv. 2021)。

ハイライト

1. 「核酸抗癌薬の新たなシーズ *miR-1293* の同定」

2565 種類のヒト *miRNA* のスクリーニングから、新規癌抑制型 *miR-1293* を同定した。担癌マウスモデルにおいて *miR-1293* の投与は、癌治療の創薬標的 BRD4 及び DNA 修復に関わる複数の遺伝子の抑制を介して、抗腫瘍効果を発揮した (Takegawa et al Mol Ther 2020)。

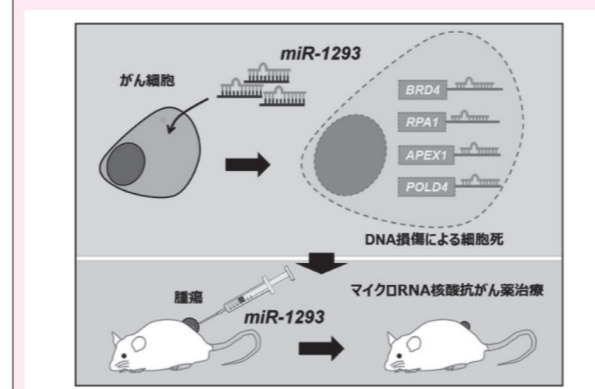


図 1 *miR-1293* の抗腫瘍効果を示すモデル図。

2. 「*OTUD5* 遺伝子変異における新規先天性異常疾患の同定」

全エクソームのトリオ解析から、重度の発達遅滞及び先天性多発奇形を呈する男児において X 染色体連鎖 *OTUD5* 遺伝子の母親由来ミスセンス変異 (p.Arg274Trp) を同定した。米国 NIH のグループとの共同研究の結果、*OTUD5* 変異が新規先天性異常疾患の原因であることを明らかにした。同疾患は LINKED 症候群と名付けられた (Beck et al. Sci Adv. 2021)。

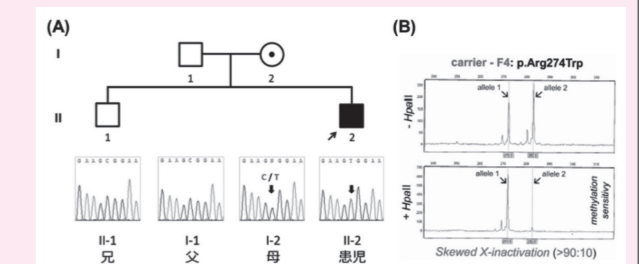


図 2 (A) 家系図及び同定された *OTUD5* 遺伝子変異 (B) 母親 (保因者) における X 染色体不活性化状態

業績目録

原著論文

1. Beck DB, Basar MA, Anthony J, Asmar AJ, Thompson JJ, Oda H, Uehara DT, Inazawa J, Walkiewicz M, Öunap K, Tift CJ, Aksentjevich I, Kastner DL, Rocha PP, Werner A: et al. Linkage-specific deubiquitylation by *OTUD5* defines an embryonic pathway intolerant to genomic variation. Science Advances. 2021 Jan 20. 7: eabe2116. doi:10.1126/sciadv.abe2116.
2. Xu B, Muramatsu T, Inazawa J: Suppression of MET signaling mediated by pitavastatin and capmatinib inhibits oral and esophageal cancer cell growth. Mol. Cancer Res. 2020 Dec 22: molcanres.0688.2020. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-20-0688. Online ahead of print
3. Inoue J, Fujiwara K, Hamamoto H, Kobayashi K, Inazawa J: Improving the efficacy of EGFR inhibitors by topical treatment of cutaneous squamous cell carcinoma with *miR-634* ointment. Molecular Therapy Oncolytics. 2020 Oct 22. 19:294-307. doi: 10.1016/j.omto.2020.10.009. eCollection 2020 Dec 16. doi: 10.1016/j.

omto.2020.10.009. eCollection 2020 Dec 16. 19:294-307.

4. Matsukawa T, Yamamoto T, Honda A, Toya T, Hayashi S, Nakamura F, Arai S, Momma K, Ogata K, Yoshida T, Abe O, Inazawa J, Toda T, Kurokawa M, Tsuji S: et al. Clinical efficacy of haematopoietic stem cell transplantation for adult adrenoleukodystrophy. Brain Commun. 2020 Jan 14. 2: fcz048. doi: 10.1093/braincomms/fcz048. eCollection 2020.
5. Ishigaki K, Akiyama M, Kanai M, Takahashi A, Nakamura Y, Raychaudhuri S, Inazawa J, Yamauchi T, Kadowaki T, Kubo M, Kamatani Y: et al. Large-scale genome-wide association study in a Japanese population identifies novel susceptibility loci across different diseases. Nat Genet. 2020 Jul. 52:669-679. doi: 10.1038/s41588-020-0640-3. Epub 2020 Jun 8.
6. Takagawa Y, Gen Y, Muramatsu T, Tanimoto K, Inoue J, Harada H, Inazawa J: *miR-1293*, a candidate for *miRNA*-based cancer therapeutics, simultaneously targets BRD4 and the DNA repair pathway. Mol Ther. 2020 Jun 3. 28:1494-1505. doi: 10.1016/j.ymt.2020.04.001. Epub 2020 Apr 11.

各種受賞

1. 五木田憲太郎：2019 年度難治疾患研究所優秀論文賞

学位 (博士) 取得者

1. 高川祐希: *miR-1293*, a candidate for *miRNA*-based cancer therapeutics, simultaneously targets BRD4 and the DNA repair pathway.

特許取得

〈特許取得 - 国内〉

1. 2020 年 6 月 19 日、登録番号: 6719900 号、「がんに対する L-アスパラキナーゼ剤とオートファジー阻害剤の併用療法の効果の予測方法、及び、がん治療剤」稲澤譲治・井上純・高橋寛吉、国立大学法人東京医科歯科大学・株式会社ビー・エム・エル

〈特許取得 - 外国 (EP)〉

2. 2020 年 9 月 30 日、登録番号: 2963125B1 号、「マイクロ RNA の測定方法、並びに、がん治療剤及びこれを含有するがん治療のための医薬組成物」小崎健一・河野辰幸・山本信祐・井上純・稲澤譲治、国立大学法人東京医科歯科大学・富士フィルム株式会社

ゲノム応用医学研究部門 分子遺伝分野

教授：三木義男 准教授：中西 啓 助教：砂田成章
プロジェクト助教：Ji Shuting

研究内容

BRCA1・2は、DNA二本鎖切断修復に機能する。この機能は、発がんを予防する守護者である一方で、がん組織内では抗がん剤によるDNA損傷を修復し細胞死誘導を低下させ治療抵抗性をもたらす。また、BRCA1・2は、それ以外にもDNA安定性を維持する多くの機能を有し、それらの機能障害も同じく乳腺発がんを誘導する。BRCA1・2によるDNA安定性維持機構の解明、及びDNA損傷応答を標的とした新規乳がん治療法の開発を進め、さらに、DNA損傷がPD-L1の発現を誘導することから、PD-L1の細胞内動態の研究を進め、PD-L1の核移行が免疫応答遺伝子発現を誘導することを見出した。このように、乳がん発症の関連分子の機能を追究し、乳腺発がん機構を明らかにするとともに、これらを利用した乳がんの新規治療法開発を目指している。

研究紹介

1. 細胞周期におけるBRCA2タンパク質分解機構の解明

遺伝性乳がん現遺伝子産物のBRCA2は、細胞周期のS期におけるゲノム維持のメディエーターであり、複製ストレスに重要な意味を持つ。また、中心体の複製や細胞質分裂にも関与する。BRCA2の発現レベルは細胞周期に依存して制御されて、S期で最も高くなりM期で低下する。M期におけるBRCA2発現量の低下は、ユビキチン-プロテアソームによる分解が関与することが報告されているが、ユビキチン修飾部位や分解機構は十分明らかにされていない。そこで我々は、M期におけるBRCA2の分解機構、およびその生理的意義を明らかにすることを目的に研究を進めている。これまでにBRCA2の発現量は、ユビキチンとHSP27に応答して低下することを明らかにしてきた。さらに、BRCA2のユビキチン修飾部位の可能性が高いアミノ酸領域を90残基まで絞り込んだ。この領域は、BRCA2のヘリカルドメイン内に含まれる。BRCA2のユビキチン修飾部位の同定、およびその分解機構の解明は、細胞周期のM期で生じるBRCA2の分解に対する新たな知見を見出す可能性がある。

2. PD-L1核移行のアセチル化依存性調節が抗PD-1免疫療法の有効性を決定する

PD-1とそのリガンドPD-L1、およびCTLA4を標的とする免疫療法は、複数の腫瘍に対して印象的な結果を得ている。しかし、一部の患者が良好な応答を示すのみで、これは、免疫チェックポイント経路のメカニズムが完全に理解されていないことを示唆している。我々は、PD-L1が、エンドサイトーシス及び核細胞質輸送経路のコンポーネントと結合し、それらがp300によるアセチル化とHDAC2による脱アセチル化によって調節され、細胞膜から核に移行することを見出した。さらに、PD-L1欠損は、複数の免疫応答関連遺伝子の発現低下につながることで、PD-L1アセチル化を抑制すると、その核移行が阻害されることによって免疫応答関連遺伝子の発現が再プログラムされ、その結果、PD-1遮断に対する抗腫瘍応答が増強されることを示した。そこで、アセチル化依存的なPD-L1の核移行が免疫応答遺伝子発現を誘導することから、免疫チェックポイント阻害剤（PD-1/PD-L1遮断）の有効性を高めるためPD-L1核移行を標的とする化合物の併用を提唱する。

3. 治療抵抗性がんを克服する新たな合成致死療法の開発

がんの進行や治療に伴うゲノムの可塑性による、がん細胞の化学療法耐性獲得は、臨床上の憂慮すべき問題で、その克服法開発はがん治療の最重要課題の1つである。BRCA遺伝子等の異常により、DNA相同組換え（HR）修復機能が減弱した遺伝性乳がん・卵巣がんは、PARP阻害剤などのDNA損傷剤に対して特異的な感受性（合成致死）を示し、本邦でも治療が行われている。しかし、これらDNA損傷剤に対する多様な耐性獲得機構が報告され、治療を困難にすることが明らかになってきた。また、ほとんどの耐性機構に対して治療法は未だ確立されていない。

そこで我々は、PARP阻害剤との併用により、がん細胞の感受性を亢進（増感）させる新たな因子の探索を目的に、化合物スクリーニングを実施した。加速的な臨床開発を促すドラッグリポジショニングに向け、本学・医療機能分子開発室の機能既知化合物を対象に、細胞致死

性やDNA修復を指標にした独自のスクリーニング手法を利用した。これまでに、PARP阻害剤に対する増感剤候補として複数のヒット化合物が得られ、現在開発を進めている例として、化合物Aを同定した。興味深いことに、化合物Aは、単独処理では細胞に対してほとんど毒性を示さず、PARP阻害剤との併用時においてのみ、顕著に合成致死性を亢進させた。さらに、化合物Aは、PARP阻害剤との併用により、細胞にとって深刻な損傷

であるDNA二本鎖切断の形成を亢進させることで、合成致死性を亢進させ、これは、相同組換え修復に依存しない修復経路を標的として引き起こされることも見出した。これにより、遺伝性乳がん・卵巣がんの多様な耐性獲得機構を克服する新たな合成致死療法として、開発が期待される。今後、これらの分子機構を詳細に調べ、実用化を目指す。

ハイライト

S期中心体におけるBRCA2の生理的役割

中心体は、細胞周期を通してG1期に1つ、G1後期からS期に複製されて2つになる。S期の2つの中心体は、隣接している。この隣接機構として、C-Nap1とRootletinの複合体が、中心体を構成する中心小体を繋ぎとめることが報告されている。ところが、これらタンパク質をノックダウンさせても中心体は十分に離れない。我々は、BRCA2がS期に2つの中心体をつなぐ第2の隣接機構に関与することを提唱してきた。BRCA2は中心体局在化シグナル（CLS）を介して、ダイニンによって中心体に運ばれる。HA-CLS-DsRed融合タンパク質は、ドミナントネガティブ効果でBRCA2の中心体への輸送を阻害し、S期の中心体の分離をもたらした。また、S期に中心体が隣接する生理的役割は明らかされていない。我々は、MCF10A細胞にHA-CLSを過剰に発現させて、S期の中心体を引き離した場合、中心体から伸びる一次繊毛は、HAを過剰に発現させたコントロールと比較して、繊毛の長さが短くなることを見出した。興味深いことに、通常、S期では中心体に局在しないオーロラ

キナーゼA（AURKA）が、HA-CLSを過剰発現させた中心体に局在することを確認し、siRNA-AURKAを処理した細胞では一次繊毛の短縮が部分的に回復した。AURKAは中心体で一次繊毛を分解することが報告されていることから、S期における中心体分離がAURKAの中心体へのリクルートを誘導する可能性が考えられた。これらの結果から、中心体の隣接は、一次繊毛の形態維持に重要な役割を果たしていることが示唆された。

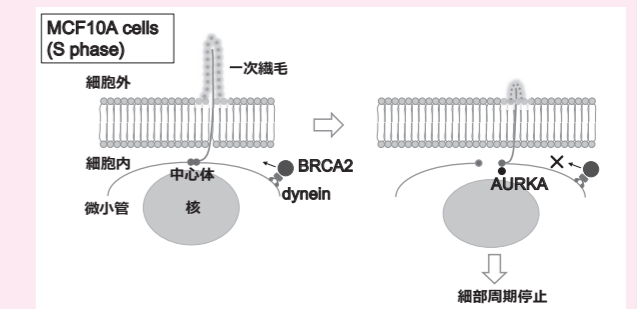


図 S期中心体隣接の生理的役割（モデル図）
S期にBRCA2は、中心体に局在して、2つの中心体を繋ぎとめる。この時、1つの中心体から一次繊毛が細胞外に突出する。BRCA2を中心体に輸送阻害させた場合、中心体は離れるとともに一次繊毛の分解タンパク質であるAURKAが中心体に局在して、一次繊毛が短くなった。

人事異動

転入：なし
転出：Xu Zeyu

研究業績

原著論文

- Gao Y, Nihira NT, Bu X, Chu C, Zhang J, Kolodziejczyk A, Fan Y, Chan NT, Ma L, Liu J, Wang D, Dai X, Liu H, Ono M, Nakanishi A, Inuzuka H, North BJ, Huang YH, Sharma S, Geng Y, Xu W, Liu XS, Li L, Miki Y, Sicinski P, Freeman GJ, Wei W. Acetylation-dependent regulation of PD-L1 nuclear translocation dictates the efficacy of anti-PD-1 immunotherapy. Nat Cell Biol. 2020 Sep;22(9):1064-1075. doi: 10.1038/s41556-020-0562-4.
- Vares G, Ahire V, Sunada S, Ho Kim E, Sai S,

- Chevalier F, Romeo PH, Yamamoto T, Nakajima T, Saintigny Y. A multimodal treatment of carbon ions irradiation, miRNA-34 and mTOR inhibitor specifically control high-grade chondrosarcoma cancer stem cells. Radiother Oncol. 2020 Sep; 150:253-261. doi: 10.1016/j.radonc.2020.07.034.
- Kaneyasu T, Mori S, Yamauchi H, Ohsumi S, Ohno S, Aoki D, Baba S, Kawano J, Miki Y, Matsumoto N, Nagasaki M, Yoshida R, Akashi-Tanaka S, Iwase T, Kitagawa D, Masuda K, Hirasawa A, Arai M, Takei J, Ide Y, Gotoh O, Yaguchi N, Nishi M, Kaneko K, Matsuyama Y, Okawa M, Suzuki M, Nezu A, Yokoyama S, Amino S, Inuzuka M, Noda T, Nakamura S. Prevalence of disease-causing genes in Japanese patients with BRCA1/2-wildtype hereditary breast and ovarian cancer syndrome. NPJ Breast Cancer. 2020 Jun 12; 6:25. doi: 10.1038/s41523-020-0163-1.
 - Ishigaki K, Miki Y, et al. Large-scale

- genome-wide association study in a Japanese population identifies novel susceptibility loci across different diseases. Nat Genet. 2020 Jul;52(7):669-679. doi: 10.1038/s41588-020-0640-3.
- Torii S, Yamaguchi H, Nakanishi A, Arakawa S, Honda S, Moriwaki K, Nakano H, Shimizu S. Identification of a phosphorylation site on Ulk1 required for genotoxic stress-induced alternative autophagy. Nat Commun. 2020 Apr 9;11(1):1754. doi: 10.1038/s41467-020-15577-2.
 - Deng Y, Miki Y, Nakanishi A. Estradiol/GPER affects the integrity of mammary duct-like structures in vitro. Sci Rep. 2020 Jan 28;10(1):1386. doi: 10.1038/s41598-020-57819-9.

学位（博士）取得者

鄧 宇
論文題名：Estradiol/GPER affects the integrity of mammary duct-like structures in vitro.

ゲノム応用医学研究部門 分子疫学分野

教授：村松正明 准教授：佐藤憲子 助教：今井千裕

研究内容

本分野では、難治性病態に繋がる日常的慢性疾患 (Common Chronic Disease) の発症・進展に関連する遺伝子および環境因子を、ゲノム情報を駆使して、疫学的手法を用いて明らかにする。疫学フィールドや臨床サンプルを持つ研究グループとの共同研究のもとで、疾患の発症に及ぼす遺伝子と環境因子、およびそれらの交互作用を同定し、検証する。対象疾患はメタボリック症候群、動脈硬化性疾患、アルツハイマー病、癌などである。これらの日常的疾患は多因子疾患であり、ライフスタイルの影響も大きいので、ゲノム研究から得られた遺伝子情報を予防医療に生かすべく社会実装に向けての取り組みに着手する。また日常的慢性疾患の遺伝要因には missing heritability (GWAS-SNP で説明のできない遺伝要因) の占める割合が大きい、その1つの要因として出生前の子宮内環境の重要性が認識されている。即ち Developmental Origin of Health and Disease (DOHaD) の概念に基づき、出生前環境要因とゲノムの相互作用によるエピゲノム変化が注目されている。近年新生児エピゲノムは小児のメタボ形質や精神行動発達に関連することが報告された。当教室では母子コホート研究を立ち上げ、本学生殖機能協同学教室と共同で出生前環境要因とゲノムの相互作用、母児エピゲノム多様性を生み出す環境要因の探索を行っている。

研究紹介

1. ウェルナー症候群遺伝子 (WRN) レアバリエントと癌の関連研究

ウェルナー症候群 (WS) は DNA ヘリカーゼをコードする WRN 遺伝子の両アレルに機能欠失変異が入ることによって起こる稀な早老症の一つであり、日本人には比較的頻度が高いとされる常染色体劣性遺伝病である。ヘテロ欠損のキャリアーも細胞レベルでは DNA 不安定性が報告されているが、実際の表現系についてはほとんど記載がない。WRN 遺伝子 p.R369X は日本人 WS 変異の 16% を占め、一塩基変異としては一番多い。そこで日本人高齢者連続剖検例 (n=2343, 平均年齢: 80) において Illumina Exome Bead-Chip (~ 24 万 SNV) で遺伝子型が決定された JG-SNP データベースを用いて WRN 遺伝

子変異を検索した。登録者のうち男女はそれぞれ 1,298 人 (55.4%)、1,045 人 (44.6%)、担癌者・非担癌者はそれぞれ 1446 (61.7%)、897 (38.3%) だった。WRN p.R369X ヘテロキャリアーは 5 人 (男性 3 人、女性 2 人) に認められ、アレル頻度は 0.11% であった。東北メガバンクにおける一般住民のアレル頻度 (0.02%, n = 3552) と比べて低くなかった。ヘテロ保持者の平均年齢は 89.8 歳だった。3 人の男性は全員肺がんを共通に持っているほか、それぞれ胃癌、前立腺癌、胆管癌の原発性多発性癌 (primary multiple cancer) を有していた。女性の一人は甲状腺癌、もう一人は非担癌者だった。男性に原発性多発性癌が多いのはキャリアーの細胞アッセイで DNA 不安定性が見られる報告と呼応しているかもしれない。WS の特徴的な症状である白内障、骨粗鬆症、糖尿病、虚血性心疾患はこれらの症例の中で集積は見られなかった。p.R369X ヘテロ保有者は平均寿命を全うすることに関しては障害になっていないようだった。今後、全エクソームシーケンスや全ゲノムシーケンスが医療の中で広く行われていく中で、二次的所見として WS 変異も見られる機会が増えることが予想される。これらの情報はヘテロキャリアーには重要な情報になりうることが考えられた。

2. D-アミノ酸オキシダーゼ (DAO) レアバリエントと胃癌の関連

D-アミノ酸オキシダーゼ (DAO) は D-アミノ酸の酸化的脱アミノ化を触媒する酵素であり、様々な臓器において、組織保護的な生理活性を持つガスシグナル伝達分子である硫化水素 (H₂S) を D-システインより生成する。最近ラットを用いた研究により、DAO が生成する H₂S がエタノール誘発性胃粘膜損傷を保護する新しい経路が発見された。そこで DAO 遺伝子が胃癌に対する感受性遺伝子と考え、胃癌および消化管癌の発生に関して、ヒト DAO 遺伝子の生殖細胞バリエント解析を先の JG-SNP データベースより行った。

Exome Bead-Chip で解析された DAO 遺伝子バリエントは 13 個あり、8 つは monomorphic であり 2 つのコモンバリエントはイントロンにあり、3 つは非同義のレアバリエントだった。これらは p.R22H、p.P103L、お

よび p.R283Q であり、それらのアレル頻度はそれぞれ 0.09%、0.21%、0.02% だった。

これらの変異体の保因者を、癌、性別、喫煙、飲酒の習慣に関して調査した。p.P103L を持つ者は 10 人おり、4 人が男性で 6 人が女性だった。男性全員が胃癌を持っていた。6 人の女性のうち、1 人は結腸がん、1 人は小腸がん、1 人は膵臓、乳がん、甲状腺の重複がんであり、他の女性 3 人は非担癌者だった。すべての男性は喫煙と飲酒の習慣があった。女性は、1 人の喫煙者を除いて、飲酒または喫煙の習慣がなかった。p.R22H を持つ者は 4 人ですべて男性であり、そのうち 1 人は悪性リンパ腫、他の 3 人は非担癌者だった。p.R283Q を持つ者は、一人で喫煙習慣がある女性で肺がんを有していた。

剖検例のうち、胃癌は 262 人 (11.18%)、結腸直腸癌は 222 人 (9.48%)、小腸癌は 12 人 (0.51%) だった。胃癌と p.P103L は名目上の p 値で関連が認められた (p = 0.018, OR = 5.36, 95 % CI 1.50-19.13, Fisher's exact test)。また消化器がん (胃癌 + 結腸直腸癌 + 小腸癌) と p.P103L も関連が認められた (p = 0.008, OR = 5.64, 95% CI 1.59-20.07, 同)。

p.P103L は Polyphen2 による構造機能予測から、活性障害を起こすことが示唆された。また p.P103L は 10 種類の他の非同義 DAO レアバリエントとともに筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の感受性変異として報告されており、機能低下型の変異であると考えられた。本症例の中には、ALS と診断された症例はなかった。一方、日本人において ALS 患者に胃癌が多いことが報告されており、他の DAO レアバリエントも胃癌と関連しているかどうか検討することは興味深いと考えられる。以上、DAO 遺伝子 p.P103L を持つ男性には胃癌が多いことを見出した。本バリエントはアレル頻度が低く、サンプル数も少ないので、この結果は真正の関連を示しているというより、作業仮説を提供するものであると考えられる。更に大きなサイズのコホートにおける検証が必要である。

人事異動

転入：山田楓子 修士課程入学
転出：エイ・ココ・ミン 博士課程修了 メディナ・アブドサタル 博士課程修了

業績目録

原著論文

- Minn AKK, Sato N, Mieno MN, Arai T, Muramatsu M. Association Study of Long Non-Coding RNA HOTAIR rs920778 Polymorphism With the Risk of Cancer in an Elderly Japanese Population. *Gene* 729:144263 (2020)
- Abudushataer M, Sato N, Mieno M, Sawabe M, Muramatsu M, Arai T. Association of

- CYP2A6 gene deletion with cancers in the Japanese elderly: an autopsy study. *BMC Cancer* 20:186 (2020)
- Govind P, Pavethynath S, Sawabe M, Arai T, Muramatsu M. Association between rs1229984 in ADH1B and cancer prevalence in a Japanese population *Mol & Cline Oncology* 12:503 (2020)
- Wang T, Matsuda Y, Nonaka K, Ishiwara T, Kanazawa N, Uewgai S, Muramatsu M, Sawabe M, Mori S, Tanaka M, Kitagawa M, Arai T. Clinicopathological characteristics of gastric cancer with CA19-9 expression occurring in elderly individuals: An autopsy study. *Pathology International* 70:92 (2020)
- Zong Y, Tanaka M, Muramatsu M, Arai T, Werner Syndrome Helicase (WRN) gene variants and cancer in Japanese elderly: An autopsy study *J Geriatr Med Gerontol* 6:103

- (2020)
- Zong Y, Tanaka M, Muramatsu M, Arai T. D-amino oxidase (DAO) gene rare missense variant p.Pro103Leu and gastric cancer. *Mol & Cline Oncology* (2021) in press
- Watabe T, Kanzaki S, Sato N, Matsunaga T, Muramatsu M, Ogawa K. Single nucleotide polymorphisms in tinnitus patients exhibiting severe distress. *Sci Rep.* 10:13023 (2020)

著書

- 佐藤憲子「4 章 3. DOHaD 分子疫学」, 遺伝子医学 MOOK36 号「エピゲノムで新たな解明が進む【先天性疾患】」, メディカル ドゥ, 2021
- 佐藤憲子「9-16. 胎生期の栄養と免疫機能」, 食品免疫学事典, 朝倉書店, 2021

3. DOHaD 研究

先制医療実現化 DOHaD 研究プロジェクトを推進している。本学の出生前コホート (Birth Cohort-GenEnvironment Interaction Study in TMDU, BC-GENIST) の実施・解析に加え、東北大学三世代コホート、浜松医科大学出生コホートのそれぞれの研究グループと共同研究を開始し、DOHaD 研究を推進している。

4. 耳鳴り重症度に関連する一塩基多型

慶應義塾大学医学部耳鼻咽喉科学教室との共同研究で、苦痛度の高い重症耳鳴りに BCR 遺伝子の rs131702 が関連することを明らかにした。耳鳴りの原因は現在不明だが、耳鳴りを悪化させる要因として、睡眠障害、うつ、不安が強いといわれている。慶應義塾大学病院に入院されていた耳鳴り患者のうち、3 ヶ月以上継続する耳鳴りがあり、精神神経科受診を要するような精神疾患をもたない 138 症例を対象に、重症患者と重症でない患者を対象に遺伝子多型との関連を解析した。以前、慶應義塾大学グループは、耳鳴りによる苦痛の度合いを評価するスコア (Tinnitus Handicap Inventory: THI) には耳鳴りの大きさ、高さなどが関係するのではなく、不安や抑うつなどの心理的要因が関連していることを見出していた。そこで、抑うつ、不安障害、パニック障害に関係する 6 遺伝子 9SNP と、THI との関連を解析したところ、その中で BCR 遺伝子 rs131702 と THI との関連性が認められた。当該 SNP については、日本人において躁状態とうつ状態を繰り返す双極性障害との関連が知られている。本研究の結果は大規模なコホートを用いて検証する必要はあるが、重症化予防に役立つ可能性がある。慶應義塾大学グループは、耳鳴りの重症化の過程で起こる中枢神経系の変化にもこの遺伝子多型が関与している可能性を考え、今後、重症化を予測するバイオマーカーの 1 候補として rs131702 を採用し、早期治療介入の促進に活用する計画である。

ゲノム応用医学研究部門 ゲノム機能情報分野

教授：二階堂愛 連携研究員：笹川洋平、山根万里子、岩山佳美
技術補助員：前田伊久子

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る。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る。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る。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る。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る。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だろう。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る。

研究紹介

(1) 世界最高性能の大規模RNA-seq法: Quartz-Seq2

本分野では高精度・高スループットに検体に含まれるRNAの量や種類を測る技術Quartz-Seq2 (Sasagawa Y. et al. Genome Biol. 2018)を開発した。この技術は国際ヒト細胞アトラスプロジェクト (Human Cell Atlas: HCA) の性能比較研究で最高成績を示した (Merue, et al. Nature Biotech. 2020)。

Quartz-Seq2は1細胞由来の微量なRNAをDNAシーケンスするために全遺伝子増幅 (whole transcript amplification) と呼ぶ一連の分子生物学的反応を試験管内で行う。WTAは次の2つの反応によって構成されている。まず細胞からRNAを取り出した後、DNAへ逆転写する反応である。その際にDNA分子を増幅するためのDNA配列を付加する。2つ目の反応は付与された配列を頼りにPCRによってDNA分子を増幅する。我々はPolyA付加反応と suppression PCR という反応原理によりWTAを実現した。特にPolyA付加反応は他の

手法と比べて反応効率が高い。そのためQuartz-Seq2で検出できる遺伝子数がほかの手法より優れている。

我々はQuartz-Seq2をたくさんの細胞で実施できるよう細胞バーコード法と混合反応を取り入れた。これにより数千から数万の1細胞RNA-seqを高精度に実現できるようになった。本手法は1細胞RNA-seqだけでなく細胞集団から精製されたRNAを用いることも可能である。

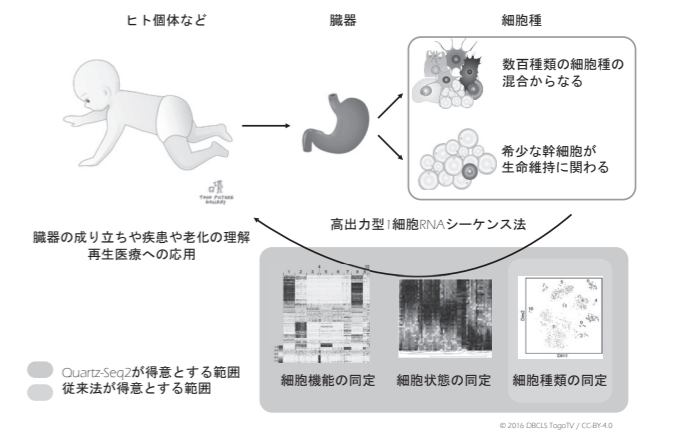
現在、ヒトを構成するすべての細胞の機能と状態を1細胞RNA-seqで解析しデータベース化する国際研究プロジェクトHuman Cell Atlasが進行中である。このプロジェクトでは世界中の解析拠点がヒトの様々な臓器の1細胞RNA-seq解析を実施し、すべてのデータを統合してインターネットを介して、世界中の研究者にデータを提供することを目的とする。世界中のデータを統合するためには各拠点で利用している1細胞RNA-seq法の性能差を理解し、データ統合可能であるかを確認する必要がある。そこでHCAでは1細胞RNA-seq法の性能比較研究を実施した。まずヒトやマウスの様々な細胞が含まれている細胞懸濁液を等分し世界中の1細胞RNA-seq法の開発者や解析拠点に凍結輸送した。次に、その検体を各拠点で1細胞RNA-seqを実施し、シーケンスデータをデータ解析拠点にインターネットを経由して提出した。性能比較チームは各データを公平に比較可能なようにデータ量などを揃えた後、6つの性能指標を計算し各手法の性能を比較した。その結果、Quartz-Seq2は6つの性能指標を統合した総合スコアで最高性能を示した。特に6つの性能指標のうち、検出できる遺伝子数においては他の手法の1.5から4倍程度であり圧倒的な性能を示した。

この方法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と期待できる。そのため製薬会社や再生医療ベンチャーなどへ技術提供を行うためKnowledge Palette, Inc.を起業し、本分野の二階堂らが顧問として社会実装を進めている。またアカデミアでも各大学や国立研究所などと連携し、疾患機序解明や創薬を目指した研究を進めている。本年度は次節で述べるQuartz-Seq2を用いた精神疾患の機序解明に応用した研究を報告した。

(2) 大規模RNA-seq法と疾患iPSを用いた疾患機序の解明

本分野では前節で紹介した大規模RNA-seq法Quartz-Seq2を用いて、生命の最小単位である細胞レベルからの疾患機序解明を目指している。本年度は精神疾患の機序解明を行った。そもそも精神疾患の機序解明はヒト脳の研究を行う必要があるため困難である。そこで患者由来の多能性幹細胞 (iPS細胞) を樹立し、試験管内で脳組織に類似した細胞塊 (脳オルガノイド) を作製した (Sawada T. et al. Mol. Psychiatry. 2020)。このオルガノイドは脳を構成するニューロンなどが含まれており、それらの細胞は患者の先天的・後天的な遺伝情報を引き継いでいる。ここでは精神疾患の発症が一致していない一卵性双生児由来のヒトiPSC細胞から脳オルガノイドを作製した。そのためこれらの性質を比較することで、遺伝的背景が同一ではあるが発症してしまう機序を解析できる。この脳オルガノイドが持つ細胞の機能や状態を調べるため、Quartz-Seq2を用いて1細胞RNA-seqを実施した。その結果、患者由来の脳オルガノイドは抑制性のGABA作動性ニューロンになりやす

いことがわかった。さらにこの細胞が増えてしまう理由としてWntが関係していることを明らかにした。Wntシグナルを患者由来細胞に加えると細胞分化能の差がなくなることが確認できた。これらの結果から精神疾患の発症には発達時になんらかの理由によってWntシグナルが低下してしまうことが原因のひとつと考えられる。本研究は理化学研究所脳神経科学研究センター精神疾患動態研究チームの加藤忠史先生らとの共同研究で実施された。



人事異動

転入：笹川洋平 (連携研究員)、山根万里子 (連携研究員)、岩山佳美 (連携研究員)、前田伊久子 (技術補助員)
転出：なし

業績目録

原著論文

1. Tomoyo Sawada, Thomas E. Chater*, Yohei Sasagawa*, Mika Yoshimura, Noriko Fujimori-Tonou, Kaori Tanaka, Kynon J. M. Benjamin, Apuã C. M. Paquola, Jennifer A. Erwin, Yukiko Goda, Itoshi Nikaido, Tadafumi Kato. Developmental Excitation-Inhibition Imbalance Underlying Psychoses Revealed by Single-Cell Analyses of Discordant Twins-Derived Cerebral Organoids. Molecular Psychiatry. 2020 (*These authors contributed equally)
2. Hiroshi Ochiai, Tetsutaro Hayashi, Mana Umeda, Mika Yoshimura, Akihito Harada, Yukiko Shimizu, Kenta Nakano, Noriko Saitoh, Hiroshi Kimura, Zhe Liu, Takashi Yamamoto, Tadashi Okamura, Yasuyuki Ohkawa, Itoshi Nikaido. Genome-wide analysis of transcriptional bursting-induced noise in mammalian cells. Science Advances 17 Jun 2020; Vol. 6, no. 25, eaaz6699.
3. Hiroki Michida, Hiroaki Imoto, Hisaaki Shinohara, Noriko Yumoto, Masahide Seki, Mana Umeda, Tetsutaro Hayashi, Itoshi Nikaido, Kasukawa Takeya, Yutaka Suzuki, Mariko Okada-Hatakeyama. The number of transcription factors at an enhancer determine switch-like gene expression. Cell Reports. VOLUME 31, ISSUE 9, 107724, JUNE 02, 2020.
4. Elisabetta Mereu, Atefeh Lafzi, Catia Moutinho, Christoph Ziegenhain, Davis J. McCarthy, Adrian Alvarez, Eduard Batlle, Sagar, Dominic Grün, Julia K. Lau, Stéphane C. Boutet, Chad Sanada, Aik Ooi, Robert C. Jones,

2. Kelly Kaihara, Chris Brampton, Yasha Talaga, Yohei Sasagawa, Kaori Tanaka, Tetsutaro Hayashi, Caroline Braeuning, Cornelius Fischer, Sascha Sauer, Timo Trefzer, Christian Conrad, Xian Adiconis, Lan T. Nguyen, Aviv Regev, Joshua Z. Levin, Swati Parekh, Aleksandar Janjic, Lucas E. Wange, Johannes W. Bagnoli, Wolfgang Enard, Marta Gut, Rickard Sandberg, Itoshi Nikaido, Ivo Gut, Oliver Stegle, Holger Heyn. Benchmarking Single-Cell RNA Sequencing Protocols for Cell Atlas Projects. Nature Biotechnology. 06 April 2020.

著書・総説

1. 二階堂愛. シングルセルトランスクリプトーム. シングルセル解析でなにがわかるか. 化学同人. 2020/07/20
2. 二階堂愛. THE COMMENTARY: Quartz-Seq2: ヒト細胞アトラス時代の高精度1細胞RNAシーケンス法. 再生医療2020年5月号 (Vol.19 No.2). メディカルレビュー社. 2020年6月1日.

ゲノム応用医学研究部門 ゲノム機能多様性分野

教授：高地雄太 准教授：三橋里美 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. 遺伝子多型が発現やスプライシングに与える影響の網羅的解析

多因子疾患の感受性遺伝子領域の多くは、遺伝子多型が発現に影響を与える領域、すなわち発現量の形質遺伝子座 (expression quantitative trait locus : eQTL) であると考えられている(ハイライト参照)。したがって、GWASの結果を解釈するためには、GWASとeQTLデータの統合解析が必須である。すでに、GTEx projectなどの国際eQTL解析プロジェクトが行われ、我々も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)。これらのeQTLカタログとGWASデータを合わせて解析することにより、疾患に関わる多くのeQTLが同定されてきたが、eQTL効果の一部は、細胞種特異的であり、また細胞刺激条件下のみで認めることもあるため、細胞環境特異的な解析をすることによって疾患の病因に迫ることが可能となる。

さらに、多因子疾患のもうひとつの重要な病因メカニズムとして、遺伝子多型がプライシングに影響を与えるsplicing QTL(sQTL)がある。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、従来のショートリード・シーケンサー

によるsQTLデータでは、transcriptの全長を明らかにすることができないため、本分野ではNanopore社やPacBio社のロングリード・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。

2. 多因子疾患 GWAS 候補領域の遺伝子機能解析

GWASは、疾患毎に100を超える感受性遺伝子領域を明らかにしてきた。全遺伝因子に占める個々の遺伝因子の寄与は小さいが、病態の一側面を形成しているのも事実である。したがって、個々の感受性遺伝子の機能を明らかにすることが病態解明の第一歩となる。たとえば、我々は筋無症候性皮膚筋炎 (CADM) のGWASにおいて、WDFY4遺伝子のsQTL効果を持つ多型が疾患と関連することを明らかにしたが、同時にリスクアレルによって増加するC末端欠如型のWDFY4タンパクが、RNAウィルス認識受容体であるMDA5のシグナルを増強することを明らかにした(Ann Rheum Dis 2018)。CADMは、致死率が50%にいたる急速進行性の間質性肺炎をもたらすため、このC末端欠如型WDFY4タンパクを標的とした治療法が有望であると考えられる。このようにGWAS候補領域の詳細な機能解析によって疾患の治療に直結する知見を得られる可能性がある。

いっぽうで、ロングリード・シーケンサーの登場により、GWASが解析対象としたSNP以外にも、構造多型や反復配列多型などが様々な疾患に寄与していることが明らかになりつつあり、一部のGWAS候補領域においても、これらの多型が原因多型となっている可能性がある。さらに、レトロトランスポゾン由来の散在性反復配列が転写するRNAの一部は、自然免疫などで機能しており、免疫疾患のみならずのみならず、アルツハイマー病などの多因子疾患の病態に関与していることが示唆されている。本分野では、ロングリード・シーケンサーを用いた解析によって、これらの未開拓のゲノム配列・多型の機能解析を行う。

3. システムズ・アプローチによる遺伝子多型解析と疾患の病態理解

個々の遺伝因子を解析することによって、多因子疾患

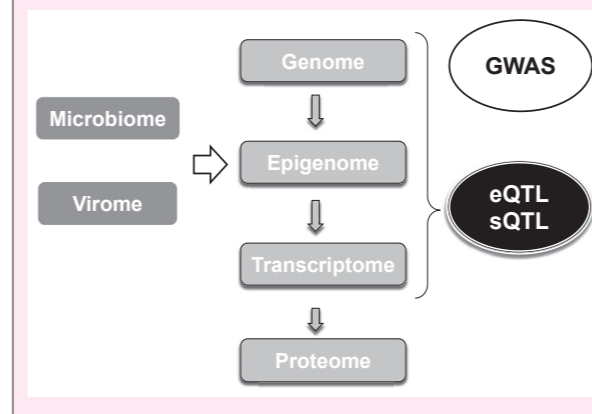
の病態の一側面が明らかになるが、病態全体を形成するのはこれらの遺伝因子の積み重なりである。したがって、疾患をシステムとみなしたうえで、この遺伝因子の積み重なりをシステムズ・アプローチによって解析することが、病態の全体像や個人間の病態の違いを評価するために必要である。実際に我々は、CD4陽性T細胞におけるeQTLの積み重なりがTNF- α の活性化に寄与してい

ることを、関節リウマチ患者のゲノムを評価することによって明らかにした(Nat Genet 2017)。当分野では、GWAS、eQTL、sQTL、エピゲノムなどの様々なオミックスデータを統合することによって、ゲノム情報を用いた疾患の病態予測法の樹立を目指す。また、臨床教室やコホートプロジェクトの協力のもとに予測モデルの検証を行い、プレジジョン医療の実現化を目指す。

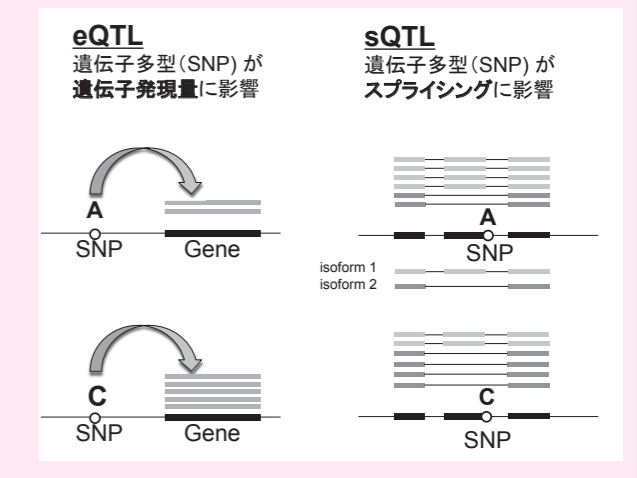
ハイライト

疾患とオミックス解析

次世代シーケンサーの登場により、疾患研究に利用可能なゲノム、エピゲノム、トランスクリプトームなどのオミックスデータが爆発的に増えているが、本



分野では、ゲノムとトランスクリプトームを横断的に解析するeQTLおよびsQTL解析を疾患研究の軸に置く。



人事異動

転入：三橋里美 (准教授)、助教：上田 真保子 (助教)、森下真由美 (事務補佐員)

研究業績

原著論文

1. Mitsuhashi S, Frith MC, Matsumoto N. Genome-wide survey of tandem repeats by nanopore sequencing shows that disease-associated repeats are more polymorphic in the general population. BMC Med Genomics. 14, 17, 2021.
2. Inamo J, Kochi Y, Takeuchi T. Is type 2 diabetes mellitus an inverse risk factor for the development of rheumatoid arthritis? J Hum Genet. 66, 219-23, 2021.
3. Frith MC, Mitsuhashi S, Katoh K. lamassemble: Multiple Alignment and Consensus Sequence of

Long Reads. Methods Mol Biol. 2231, 135-45, 2021.

4. Bing N, Zhou H, Chen X, Hirose T, Kochi Y, et al. Contribution of a European-Prevalent Variant near CD83 and an East Asian-Prevalent Variant near IL17RB to Herpes Zoster Risk in Tofacitinib Treatment: Results of Genome-Wide Association Study Meta-Analyses. Arthritis Rheumatol. 2021.
5. Yin X, Kim K, Suetsugu H, Bang SY, Wen L, et al. Meta-analysis of 208370 East Asians identifies 113 susceptibility loci for systemic lupus erythematosus. Ann Rheum Dis. 2020.
6. Tsuchiya H, Ota M, Sumitomo S, Ishigaki K, Suzuki A, et al. Parsing multiomics landscape of activated synovial fibroblasts highlights drug targets linked to genetic risk of rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis. 2020.
7. Otomo A, Ueda MT, Fujie T, Hasebe A, Suematsu Y, et al. Efficient differentiation and polarization of primary cultured neurons on poly (lactic acid) scaffolds with microgrooved structures. Sci Rep. 10, 6716, 2020.

8. Mitsuhashi S, Ohori S, Katoh K, Frith MC, Matsumoto N. A pipeline for complete characterization of complex germline rearrangements from long DNA reads. Genome Med. 12, 67, 2020.
9. Ishigaki K, Akiyama M, Kanai M, Takahashi A, Kawakami E, et al. Large-scale genome-wide association study in a Japanese population identifies novel susceptibility loci across different diseases. Nat Genet. 52, 669-79, 2020.

著書・総説

1. 高地雄太. ヒト免疫疾患のゲノム解析からのアプローチ 炎症と免疫. 28, 460-464, 2020
2. 高地雄太. 特発性炎症性筋疾患のゲノム解析の現状 リウマチ科. 63, 369-373, 2020
3. 高地雄太. 免疫・アレルギー疾患のゲノム医学 関節リウマチのゲノム医学 生体の科学. 71, 142-146, 2020
4. 高地雄太. eQTLを介した関節リウマチのゲノム解析 日本整形外科学会雑誌. 94, 6-10, 2020.

ゲノム応用医学研究部門 エピジェネティクス分野

教授：石野史敏 准教授：李 知英 助教：北澤萌恵
プロジェクト助教：松沢 歩 非常勤講師：幸田 尚、小林 慎、志浦寛相、成瀬妙子

研究内容

概略

エピジェネティクス分野では、遺伝・個体発生・進化等のさまざまな生命現象を、ゲノム機能という立場から総合的に理解することを目指しています。現在の研究の主要テーマは、1) 哺乳類特異的なゲノム機能であるゲノムインプリンティングの分子機構・生物学的意義の解明、2) レトロウイルス／レトロトランスポゾンなど外来 DNA によるゲノム機能進化と哺乳類の進化の関係の解明、3) 発生工学的手法によるミニ臓器（臓器オルガノイドの作製）と個体発生機構の解析および疾患の原因解明。ヒトを含む哺乳類を対象に据え、遺伝学とエピジェネティクスを統合した研究により哺乳類に共通する特徴的なゲノム機能解明をめざしています。これにより、ヒトの生物学（哺乳類の生物学）の再構築と、それに基づくエピジェネティック医療実現のための基盤づくりに貢献したいと考えています。

ハイライト 1

マウス ES 細胞からのミニ心臓の作製

ES 細胞や iPS 細胞などの多能性幹細胞から肝臓、腎臓、小腸などの臓器様構造（オルガノイド）を誘導する研究が世界中で進行している。しかし、まだ心臓のように複雑な組織全体を作ることにも成功していなかった。当研究室では、自己組織化という生物本来が持つ機能を使用して、世界で初めてマウス ES 細胞からの心臓オルガノイド作製法の開発に成功した (Lee *et al.* Nat Commun 2020) (図 1)。ヒト iPS 細胞、ES 細胞からの作製にも成功しており、薬剤の心毒性試験などへの応用できれば、新薬開発の促進を通じて、医療の発展に大きく寄与できる。これらは 4 で述べるヒトゲノムにおけるレトロウイルス由来の未同定遺伝

研究紹介

1. マウス、ヒト多能性幹細胞 (ES、iPS 細胞) からの臓器オルガノイド作製

個体発生に見られるように、細胞には自己組織化能力がある。この能力を最大限に生かして試験管内で、マウス、ヒト臓器（ミニ臓器）を作製する方法を開発している (ハイライト 1 参照)。

2. LTR レトロトランスポゾン由来の遺伝子群の重要な機能

SIRH/RTL (Sushi-ichi retrotransposon homologues/Retrotransposon Gag like) 遺伝子群は、*PEG11/RTL1* や胎盤形成に必須の *PEG10* を含む 11 遺伝子からなる。東海大学医学部の金児・石野教授と共同で、残りの遺伝子の機能解析を進め、認知機能、情動機能に関する *Sirh11/Zcchc16*、*Sirh3/Ldoc11*、*Sirh8/Rgag4* の解析を進め、真獣類の脳機能の向上に関係するこれらの遺伝子が、脳内のどの場所のどの細胞で機能するのかを明らかにした (Irie *et al.* 投稿中)。

子の同定および機能解析の必須のツールとなると期待している。

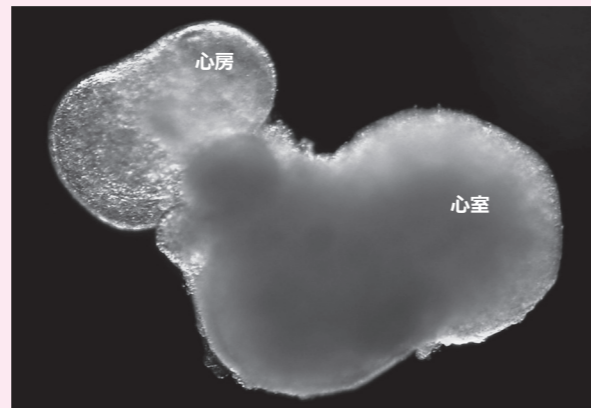


図 1 マウス ES 細胞から作成したミニ心臓（心臓オルガノイド）
世界初の心室・心房構造を持ち拍動を制御する伝導系を持つミニ心臓の作製。

業績目録

発表論文

1. Kitazawa M, Hayashi S, Imamura H, Takeda S, Oishi Y, Kaneko-Ishino T* and Ishino F*. Deficiency and overexpression of *Rhl1* in the mouse cause distinct muscle abnormalities

related to the Temple and Kagami-Ogata syndromes. *Development* 147 (21):dev185918 (2020). doi: 10.1242/dev.185918.

2. Lee J*, Sutani A, Kaneko R, Takeuchi J, Sasano T, Kohda T, Ihara K, Takahashi K, Yamazoe M, Morio T, Furukawa T and Ishino F*. *In vitro* generation of functional murine heart organoids via FGF4 and extra cellular matrix.

Nat Commun 11:4283 (2020). doi: 10.1038/s41467-020-18031-5.

3. Kitazawa M, Sutani A, Kaneko-Ishino T* and Ishino F*. The role of eutherian-specific *RTL1* in the nervous system and its implications for the Kagami-Ogata and Temple syndromes. *Genes Cells* (2021). doi: 10.1111/GTC.12830

3. ヒトのゲノムインプリンティング疾患に関わる *PEG11/RTL1* 遺伝子

父親性発現遺伝子 *PEG11/RTL1* が鏡-緒方症候群 (KOS14)、テンプル症候群 (TS14) の主要原因遺伝子であることを明らかにした (ハイライト 2 参照)。

ハイライト 2

PEG11/RTL1 と哺乳類の胎生について

染色体 14 番父親性 2 倍体症候群 (鏡-緒方症候群 (KOS14)) はベル型肋骨形成異常、呼吸不全による新生児致死、存命したとしても生後の重度の知的障害などの重篤な症状を示す難病指定の疾患である。同じ領域の母親性 2 倍体症候群 (テンプル症候群 (TS14)) にも成長遅延や筋肉の異常、摂食障害、発語の遅れなどが見られる (図 2)。われわれは *PEG11* を過剰発現したマウスモデルおよび欠失したマウスモデルが KOS14 や TS14 と同様の筋肉関係の異常 (呼吸に関する筋肉) や運動・感覚神経に関わる症状を示すことから、胎盤における異常と合わせて、*PEG11* が両疾患の主要原因遺伝子であることを明らかにした (図 3、4 Kitazawa *et al.* *Development* 2020, *Genes Cells* 2021)。

PEG11 は胎盤の胎児性毛細血管という母体と胎児の間の酸素・栄養交換に必須の構造維持に関わる遺伝子である (Sekita *et al.* *Nat Genet* 2008, Kitazawa *et al.* *Genes Cells* 2015)。この遺伝子は LTR レトロトランスポゾンに似たタンパク質をコードする真獣類特異的遺伝子群の一つであり、真獣類に特徴的な胎盤の進化に重要で長期の妊娠期間を可能にした遺伝子と考えられる。おそらくデスミンタンパク質の代替として赤ちゃんの筋肉の力を弱めることは母子双方の安全に重要であると思われ、長期の妊娠期間への適応として、胎児期、新生児期の筋肉に特異的な発現をしていると

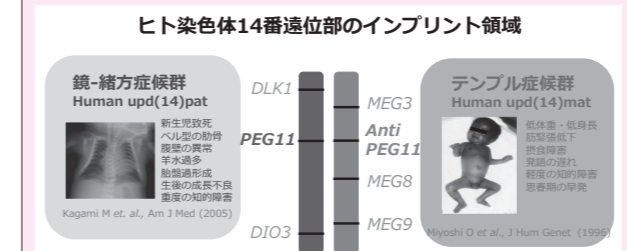


図 2 鏡-緒方症候群とテンプル症候群
KOS14(左)、TS14(右)の症状を示す。どちらも筋肉及び神経関連の異常が見られる。今回の研究で、前者は *PEG11/RTL1* 遺伝子の過剰発現、後者は発現欠失 (または発現低下) が主要原因であることがわかった。

4. ヒトゲノムにおけるレトロウイルス由来の未同定遺伝子検出の新技术開発

ヒトゲノムにはレトロウイルス由来の DNA 断片が 8% も含まれているが、この中に重要な遺伝子が存在する可能性がある。実際にタンパク質になる能力のあるレトロウイルス由来の OFR を高感度で、ヒト iPS 細胞の細胞分化、オルガノイド形成系で検出する新技术を開発した (Matsuzawa *et al.* 2021)。

考えられた。さらに、脳においては脳皮質 5 層から脊髄に至る皮質脊髄路 (図 3 上) や 6 層から視床に至る皮質視床路という運動・感覚ニューロンでの発現、脳梁、海馬交連、前交連 (図 3 下) など左右の脳半球をつなぐニューロン、海馬からの出力経路や内側扁桃核など、記憶と情動にかかわる経路での発現が確認された。これは KOS14、TS14 の神経疾患をうまく説明できるだけでなく、筋肉疾患と思われていた呼吸不全や摂食障害、発語の遅れなどに関する筋肉への神経支配も関係する、筋神経疾患であることを示唆した。皮質脊髄路、脳梁は哺乳類、真獣類特異的な脳構造であり真獣類の脳機能の向上に機能したと考えられている。*PEG11/RTL1* がこれらの機能だけでなく構造の誕生にも関与する可能性が高く、今後の研究が期待される。

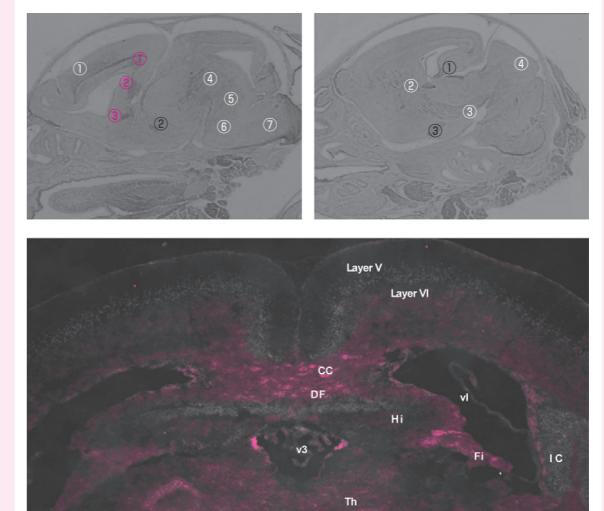


図 3 *PEG11/RTL1* タンパク質の新生児脳での発現部位
PEG11/RTL1 タンパク質の新生児脳での発現 上段：矢状面 脳皮質 5 層から内包、中脳大脳脚、後脳 (橋、延髄) を通って脊髄へ至る皮質脊髄路を代表とする錐体路、脳梁、海馬交連、前交連などの交連ニューロン、海馬系、脳弓、内側扁桃核などの発現が見られる。白色 ① 脳皮質 5 層 ② 内包 ③ 中脳大脳脚 ④ 中脳 ⑤ 後脳 ⑥ 橋 ⑦ 延髄 赤色 ① 脳梁 ② 海馬交連 ③ 前交連 黒色 ① 海馬系 ② 脳弓 ③ 内側扁桃核
下段：冠状面 *PEG11/RTL1* (赤) と脳皮質 5 層のマーカー CTIP2 (灰色) の蛍光免疫染色像。左右の脳半球を結ぶ脳梁 (脳皮質 5 層、6 層のニューロンからなる) での *PEG11/RTL1* の発現が確認できる。CC: 脳梁、DF: 背側脳弓、Hi: 海馬、Fi: 海馬系、IC: 内包、Layer V and VI: 脳皮質 5、6 層、Th: 視床、V3: 第 3 脳室、VI: 側脳室

ゲノム応用医学研究部門 医科学数理分野

教授：角田達彦 講師：宮 冬樹

研究内容

近年の医学研究の主要な目的の一つとし、急速に発展しつつあるオミクスプロファイリング技術を活用し、個別化医療・予防を推進することがあげられます。このパラダイムシフトにより、患者ごとの違いを十分に考慮しない従来の医療から離脱することができます。私たちの研究室は、医学の領域に数学や計算科学のアイデアや方法をもたらすことによって、これらの課題を克服する方法論を研究します。アプローチとしてまず、臨床データおよびオミクスデータの統合的分析を行い、がん、生活習慣病、神経変性疾患などの難治性疾患の病因を探求します。次に、分子プロファイルを用いて各疾患をより細かいカテゴリーに分類し、システムベースの方法論を用いて疾患原因の根本的なメカニズムを解明します。そして、患者ごとに最適な治療を行うために必要な推論を、数学および機械学習によって行います。同様の方法論は、個人のオミクスデータや病歴などをみた、病気の予防にも活用できます。

研究紹介

1. がん種横断的ながん全ゲノムオミクス解析

国際がんゲノムコンソーシアム (ICGC) に参画し、タンパク質に翻訳されないゲノム領域のがん発症への影響を、2,658 症例の全がん種横断的な全ゲノム上で解析しました。その結果、長いタンパク非コード RNA や転写制御領域での変異の効果などを見出しました。さらにそれらをカタログ化し、それらの機能解析を行ったこと

によって、あらゆるがん種の新たな創薬の基盤を構築しました [1-24]。

2. がんの転移時の同時転移細胞数の推定

転移先の腫瘍にどれだけの原発巣の腫瘍の細胞が含まれていたのかを解明するために、両部位の腫瘍の WES データを用い、転移先での「創始者細胞の集団サイズ」を定量化する方法を開発しました。大腸がん患者の実データに提案手法を適用したところ、3~17 細胞の集団的な転移が認められました。これが治療奏効の違いとなっている可能性があります [25]。

3. 翻訳後修飾・タンパク質構造予測

様々な物理化学的特性や配列特性を用いた機械学習手法により、翻訳後アミノ酸修飾およびタンパク質構造を高精度に予測するモデルを開発しました [26-29]。

4. メンデル遺伝病エクソーム解析

次世代シーケンサーデータ解析の一つは、WES 解析です。この方法論により、家系データを用いたメンデル病の研究が大きく進展しました。私たちは、高いカバー率と正確さを同時に達成した独自の実験手法と解析パイプラインによって、神経変性疾患などの難治性疾患の多くの疾患原因遺伝子を同定しました [30]。

5. その他の研究プロジェクトの成果 [31-36]

研究業績

- Rheinbay E, Nielsen MM, Abascal F, Wala JA, Shapira O, Tiao G, Hornshøj H, Hess JM, Juul RI, Lin Z, Feuerbach L, Sabarinathan R, Madsen T, Kim J, Mularoni L, Shuai S, Lanzós A, Herrmann C, Maruvka YE, Shen C, Amin SB, Bandopadhyay P, Bertl J, Boroevich KA, Busanovich J, Carlevaro-Fita J, Chakravarty D, Chan CWY, Craft D, Dhingra P, Diamanti K, Fonseca NA, Gonzalez-Perez A, Guo Q, Hamilton MP, Haradhvala NJ, Hong C, Isaev K, Johnson TA, Juul M, Kahles A, Kahraman A, Kim Y, Komorowski J, Kumar K, Kumar S, Lee D, Lehmann KV, Li Y, Liu EM, Lochovsky L, Park K, Pich O, Roberts ND, Saksena G, Schumacher SE, Sidiropoulos N, Sieverling L, Sinnott-Armstrong N, Stewart C, Tamborero D, Tubio JMC, Umer HM, Uusküla-Reimand L, Wadelius C, Wadi L, Yao X, Zhang CZ, Zhang J, Haber JE, Hobolth A, Imielinski M, Kellis M, Lawrence MS, von Mering C, Nakagawa H, Raphael BJ, Rubin MA, Sander C, Stein LD, Stuart JM, Tsunoda T, Wheeler DA, Johnson R, Reimand J, Gerstein M, Khurana E, Campbell PJ, López-Bigas N; PCAWG Drivers and Functional Interpretation Working Group; PCAWG Structural Variation Working Group, Weischenfeldt J, Beroukhir R, Martincorena I, Pedersen JS, Getz G; PCAWG Consortium. Analyses of non-coding somatic drivers in 2,658 cancer whole genomes. *Nature*, 578, 102-111 (2020).
- ICGC/TCGA Pan-Cancer Analysis of Whole Genomes Consortium. Pan-cancer analysis of whole genomes. *Nature*, 578, 82-93 (2020).
- PCAWG Transcriptome Core Group, et al. Genomic basis for RNA alterations in cancer. *Nature*, 578, 129-136 (2020).
- Alexandrov LB, et al. The repertoire of mutational signatures in human cancer. *Nature*, 578, 94-101 (2020).
- Gerstung M, et al. The evolutionary history of 2,658 cancers. *Nature*, 578, 122-128 (2020).
- Li Y, et al. Patterns of somatic structural variation in human cancer genomes. *Nature*, 578, 112-121 (2020).
- Cortés-Ciriano I, et al. Comprehensive analysis of chromothripsis in 2,658 human cancers using whole-genome sequencing. *Nature Genetics*, 52, 331-341 (2020).
- Zapatka M, et al. The landscape of viral associations in human cancers. *Nature Genetics*, 52, 320-330 (2020).
- Akdemir KC, et al. Disruption of chromatin folding domains by somatic genomic rearrangements in human cancer. *Nature Genetics*, 52, 294-305 (2020).
- Rodriguez-Martin B, et al. Pan-cancer analysis of whole genomes identifies driver rearrangements promoted by LINE-1 retrotransposition. *Nature Genetics*, 52, 306-319 (2020).
- Yuan Y, et al. Comprehensive molecular characterization of mitochondrial genomes in human cancers. *Nature Genetics*, 52, 342-352

- (2020).
- Yakneen S, et al. Butler enables rapid cloud-based analysis of thousands of human genomes. *Nature Biotechnology*, 38, 288-292 (2020).
- Jiao W, et al. A deep learning system accurately classifies primary and metastatic cancers using passenger mutation patterns. *Nature Communications*, 11, 728 (2020).
- Cmero M, et al. Inferring structural variant cancer cell fraction. *Nature Communications*, 11, 730 (2020).
- Rubanova Y, et al. Reconstructing evolutionary trajectories of mutation signature activities in cancer using TrackSig. *Nature Communications*, 11, 731 (2020).
- Zhang Y, et al. High-coverage whole-genome analysis of 1220 cancers reveals hundreds of genes deregulated by rearrangement-mediated cis-regulatory alterations. *Nature Communications*, 11, 736 (2020).
- Bhandari V, et al. Divergent mutational processes distinguish hypoxic and normoxic tumours. *Nature Communications*, 11, 737 (2020).
- Sieverling L, et al. Genomic footprints of activated telomere maintenance mechanisms in cancer. *Nature Communications*, 11, 733 (2020).
- Reyna MA, et al. Pathway and network analysis of more than 2500 whole cancer genomes. *Nature Communications*, 11, 729 (2020).
- Paczkowska M, et al. Integrative pathway enrichment analysis of multivariate omics data. *Nature Communications*, 11, 735 (2020).
- Shuai S; et al. Combined burden and functional impact tests for cancer driver discovery using DriverPower. *Nature Communications*, 11, 734 (2020).
- Bailey MH, et al. Retrospective evaluation of whole exome and genome mutation calls in 746 cancer samples. *Nature Communications*, 11, 4748 (2020).
- Li CH, et al. Sex differences in oncogenic mutational processes. *Nature Communications*, 11, 4330 (2020).
- Carlevaro-Fita J, et al. Cancer LncRNA Census reveals evidence for deep functional conservation of long noncoding RNAs in tumorigenesis. *Communications Biology*, 3, 56 (2020).
- Nishino J, Watanabe S, Miya F, Kamatani T, Sugawara T, Boroevich KA, Tsunoda T. Quantification of multicellular colonization in tumor metastasis using exome sequencing data. *International Journal of Cancer*, 146, 2488-2497 (2020).
- Chandra AA, Sharma A, Dehzangi A, Tsunoda T. RAM-PGK: Prediction of Lysine Phosphoglycerylation Based on Residue Adjacency Matrix. *Genes*, 11, 1524 (2020).
- Singh V, Sharma A, Dehzangi A, Tsunoda T. PupStruct: Prediction of Pupylylated Lysine Residues Using Structural Properties of Amino Acids. *Genes*, 11, E1431 (2020).
- Sharma R, Kumar S, Tsunoda T, Kumarevel T, Sharma A. Single-stranded and double-stranded DNA-binding protein prediction using HMM profiles. *Analytical Biochemistry*, 612, 113954 (2020).
- Wardah W, Dehzangi A, Taherzadeh G, Rashid MA, Khan MGM, Tsunoda T, Sharma A. Predicting protein-peptide binding sites with a Deep Convolutional Neural Network. *Journal of Theoretical Biology*, 496, 110278 (2020).
- Mutai H, Wasano K, Momozawa Y, Kamatani Y, Miya F, Masuda S, Morimoto N, Nara K, Takahashi S, Tsunoda T, Homma K, Kubo M, Matsunaga T. Variants encoding a restricted carboxy-terminal domain of SLC12A2 cause hereditary hearing loss in humans. *PLoS Genetics*, 16, e1008643 (2020).
- Shigemizu D, Akiyama S, Higaki S, Sugimoto T, Sakurai T, Boroevich KA, Sharma A, Tsunoda T, Ochiya T, Niida S, Ozaki K. Prognosis prediction model for conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease created by integrative analysis of multi-omics data. *Alzheimer's Research & Therapy*, 12, 145 (2020).
- Johnson TA, et al. Association of an IGHV3-66 gene variant with Kawasaki disease. *Journal of Human Genetics*. 2020 Oct 26. doi: 10.1038/s10038-020-00864-z. Online ahead of print.
- Sato Y, Wada I, Odaira K, Hosoi A, Kobayashi Y, Nagaoka K, Karasaki T, Matsushita H, Yagi K, Yamashita H, Fujita M, Watanabe S, Kamatani T, Miya F, Mineno J, Nakagawa H, Tsunoda T, Takahashi S, Seto Y, Kakimi K. Integrative immunogenomic analysis of gastric cancer dictates novel immunological classification and the functional status of tumor-infiltrating cells. *Clinical & Translational Immunology*, 9, e1194 (2020).
- Hosoe J, Miya F, Kadowaki H, Fujiwara T, Suzuki K, Kato T, Waki H, Sasako T, Aizu K, Yamamura N, Sasaki F, Kurano M, Hara K, Tanaka M, Ishiura H, Tsuji S, Honda K, Yoshimura J, Morishita S, Matsuzawa F, Aikawa SI, Boroevich KA, Nangaku M, Okada Y, Tsunoda T, Shojima N, Yamauchi T, Kadowaki T. Clinical usefulness of multigene screening with phenotype-driven bioinformatics analysis for the diagnosis of patients with monogenic diabetes or severe insulin resistance. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 169, 108461 (2020).
- Onodera K, Shimojo D, Ishihara Y, Yano M, Miya F, Banno H, Kuzumaki N, Ito T, Okada R, de Araújo Herculano B, Ohyama M, Yoshida M, Tsunoda T, Katsuno M, Doyu M, Sobue G, Okano H, Okada Y. Unveiling synapse pathology in spinal bulbar muscular atrophy by genome-wide transcriptome analysis of purified motor neurons derived from disease specific iPSCs. *Molecular Brain*, 13, 18 (2020).
- Mason MJ, et al. Multiple Myeloma DREAM Challenge reveals epigenetic regulator PHF19 as marker of aggressive disease. *Leukemia*, 34, 1866-1874 (2020).

ゲノム応用医学研究部門 フロンティア研究室 遺伝子発現制御学

准教授：黒柳秀人

研究の概要

真核生物では、転写されたRNAがプロセッシングを経て成熟mRNAとなるが、転写後プロセッシングの選択的な制御により、ひとつの遺伝子からでも必要に応じて多様なタンパク質が産生される。ヒトでは、タンパク質遺伝子の実に9割が複数の成熟mRNAを産生することが明らかになっている。また、ヒトの疾患の原因として報告される変異のうちタンパク質の機能に影響しないものには、mRNAの転写後プロセッシングに大きく影響するものが多いことが報告されている。したがって、転写後プロセッシング制御機構の解明は、これまでによく研究されてきた転写調節に勝るとも劣らない重要な遺伝子発現制御機構であり、個人ゲノムの解読が進む今後の疾患研究において重要性がますます高まっていくと予想される。当研究室では、DNAから転写されたmRNA前駆体が組織特異的・発生段階依存的に多様な成熟mRNAとなるための転写後プロセッシングの「細胞暗号」の解明と、転写後プロセッシング制御因子の異常に起因する疾患の病態解明を目指して研究を展開している。

転写後プロセッシングパターンの個体レベルでの可視化と制御機構の解明

mRNAプロセッシングの制御機構を生体内で解析するために、当研究室では、複数の蛍光タンパク質を用いてミニ遺伝子を構築し選択的プロセッシングパターンを1細胞レベルで可視化するレポーター系を開発した(Nat Meth, 2006; Nat Protoc, 2010)。そして、線虫 *Caenorhabditis elegans* をモデル生物として、遺伝学的解析、生化学的解析、生物情報学的解析、構造生物学的解析などを組み合わせ、複数の制御因子が協働して転写後プロセッシングを制御する分子機構やその生物学的意義を個体レベルで明らかにしてきた(Mol Cell Biol, 2007; Genes Dev,

2008; PLoS Genet, 2012, 2013; Nucleic Acids Res, 2013, 2016; Worm, 2013, 2014; Nat Struct Mol Biol, 2014; Nat Commun, 2016; WIREs RNA, 2017; Mol Biol Cell, 2018; Cytoskeleton, 2018; Genetics, 2020)。

拡張型心筋症で変異が見られるスプライシング制御因子 RBM20

拡張型心筋症は、心筋壁が薄く伸展することによって心室の内腔が拡大しポンプ機能が障害されて機能不全に陥るものであり、根本的な治療法が確立されていない。近年、拡張型心筋症患者の遺伝子解析により、さまざまなタンパク質の遺伝子変異が相次いで報告されているが、心筋特異的選択的スプライシングの制御因子をコードする *RBM20* もそのうちの1つである。本研究室では、拡張型心筋症の原因となる *RBM20* 変異が集中する RSRSP という5アミノ酸残基からなる配列中の Ser635 残基と Ser637 残基がともにリン酸化されること、そのリン酸化が *RBM20* の核移行に必須であることを発見した(Sci Rep, 2018; Front Mol Biosci, 2018)。さらに、*Rbm20* 遺伝子のノックアウトマウスと、拡張型心筋症患者の S635A 変異を模したノックインマウスを作製したところ、ノックアウトマウスはほとんど拡張型心筋症様の表現型を軽度を示すのみだが、ノックインマウスは若齢から心機能の低下や心室腔の拡大のほか、心房細動や心室頻拍など、拡張型心筋症とそれに合併する不整脈の表現型を再現する希少な疾患モデルマウスであることが明らかとなった(Sci Rep, 2020)。米国 Mayo Clinic が作製した *RBM20* 変異モデルブタの病態形成機構の解析にも参画しており、RSRSP 配列の変異によりいわゆる液-液相分離を介して細胞質に異常な RNA 結合タンパク質顆粒を形成することで心筋症の病態を引き起こすモデルを提唱している(Nat Med, 2020)。

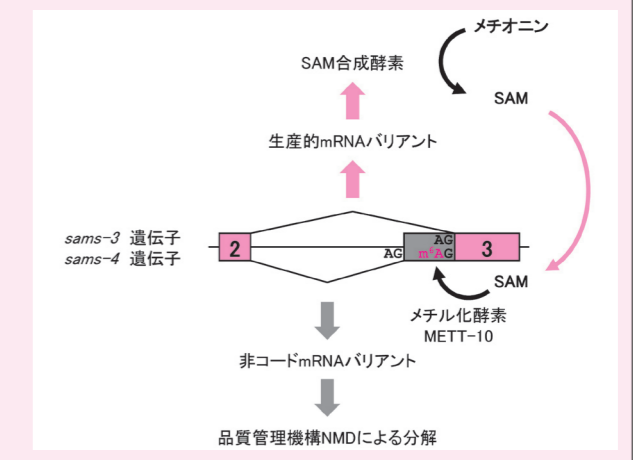
ハイライト

塩基のメチル化によりスプライシングがフィードバック制御される SAM 合成酵素遺伝子

mRNA 前駆体の選択的スプライシング制御の一部には、中途に終止コドンを持ち品質管理機構(NMD)で速やかに分解されるスプライスバリエントをあえて産生することで遺伝子発現量を調整する選択的スプライシングが存在する。NMDの必須因子である UPF1 の相同遺伝子 *smg-2* の変異体が致死でない線虫を材料として、mRNAの全長配列を Nanopore の直接 RNA シーケンシングにより解析した結果、8,028 遺伝子から 12,517 種類のスプライスバリエントが検出された。このうち 259 遺伝子の 289 種類のバリエントが中途終止コドンを持ち、かつ *smg-2* 変異体で比率が増加していたことから、選択的スプライシングにより発現制御される遺伝子群だと推定された。これらの遺伝子群には、スプライシングを自己制御可能な RNA 結合タンパク質の他に、代謝に関連する遺伝子群が有意に濃縮していた(投稿中)。

選択的スプライシングにより発現制御される代謝関連遺伝子である S-アデノシルメチオニン(SAM)合成酵素遺伝子 *sams-3* と *sams-4* は、SAM 合成酵素活性による間接的なフィードバック制御を受けていた。SAM は、タンパク質、DNA、RNA、脂質などの生体分子のメチル化反応でメチル基の主要な供与体としてはたらく。そこで、何らかのメチル化を介した間接的制御の可能性を探索した結果、メチル化酵素

METT-10 が *sams-3* と *sams-4* の摂食による選択的スプライシング制御に必須であり、組換え METT-10 タンパク質が試験管内で *sams-3* と *sams-4* で選択的スプライシングを受ける 3' スプライス部位の AG の A を特異的に N^6 メチル化 (m^6A) 修飾すること、内在性の *sams-3* と *sams-4* のバリエントのほとんどでその 3' スプライス部位が m^6A 修飾されていることを見出した。以上の結果から、図のように、METT-10 による *sams-3*、*sams-4* 遺伝子 mRNA 前駆体の 3' スプライス部位の特異的な m^6A 修飾により選択的スプライシングが制御され、SAM 合成酵素の発現量がフィードバック制御される、という、代謝産物による間接的なスプライシング制御を介した代謝酵素の恒常性維持機構が明らかとなった(投稿中)。3' スプライス部位の m^6A 修飾によるスプライシング制御は知られておらず、全生物を通じて初めての例である。



人事異動

転出：渡部栄地(医歯学総合研究科博士課程大学院生、学位取得)
転入：弥益有理(医歯学総合研究科修士課程大学院生)

業績目録

原著論文

1. Kensuke Ihara, Tetsuo Sasano, Yuichi Hiraoka, Marina Togo-Ohno, Yurie Soejima, Motoji Sawabe, Megumi Tsuchiya, Hidesato Ogawa, Tetsushi Furukawa, Hidehito Kuroyanagi. A missense mutation in the RSRSP stretch of *Rbm20* causes dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation in mice. *Scientific Reports*, 10: 17894, 2020.
2. Jay W Schneider, Saji Oommen, Muhammad Y Qureshi, Sean C Goetsch, David R Pease, Rhianna S Sundsbak, Wei Guo, Mingming Sun, Han Sun, Hidehito Kuroyanagi, Dennis A Webster, Alexander W Coutts, Kimberly A

Holst, Brooks S Edwards, Nikolas Newville, Matthew A Hathcock, Tamene Melkamu, Francesca Briganti, Wu Wei, Maria G Romanelli, Scott C Fahrenkrug, Doug E Frantz, Timothy M Olson, Lars Steinmetz, Daniel F Carlson, Timothy J Nelson, Wanek Program Pre-Clinical Pipeline. Dysregulated RNP granules promote cardiomyopathy in *RBM20* gene-edited pigs. *Nature Medicine*, 26: 1788-1800, 2020.

総説等

1. Joshua A. Arribere, Hidehito Kuroyanagi and Heather A. Hundley. Wormbook: mRNA Editing, Processing and Quality Control in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 215: 531-568, 2020.

教育活動

黒柳秀人：大学院医歯学総合研究科、医学部保健衛生学科

競争的研究費

黒柳秀人(代表)．基盤研究(B)「動物個体における転写と共役した mRNA プロセッシングの制御機構の解明」
黒柳秀人(支援依頼者)．新学術領域研究「先進

ゲノム支援」大規模配列解析拠点ネットワーク支援「動物個体における転写と共役した mRNA プロセッシングの制御機構の解明」
黒柳秀人(代表)．難治疾患研究所 2019 年度「難治疾患の研究」を重点課題とする研究助成「心筋症と不整脈を発症する疾患モデルマウスの病態形成機構の解明」
黒柳秀人(代表)．基盤研究(B)「動物の生体における組織特異的 mRNA プロセッシングの進行過程の解明」
黒柳秀人(代表)．新学術領域研究「代謝統合オミクス」公募研究「線虫の幼虫期発生プログラムを起動する栄養シグナルと遺伝子発現ネットワークの解明」
黒柳秀人(代表)．挑戦的研究(萌芽)「拡張型心筋症で変異が見られるスプライシング制御因子 *RBM20* の機能の解明」
黒柳秀人(分担)．基盤研究(C)「疾患特異的スプライシングバリエントをターゲットにした乳がん治療・診断法の確立」
黒柳秀人(支援依頼者)．新学術領域研究「先進ゲノム支援」大規模配列解析拠点ネットワーク支援「拡張型心筋症で変異が見られるスプライシング制御因子 *RBM20* の機能の解明」

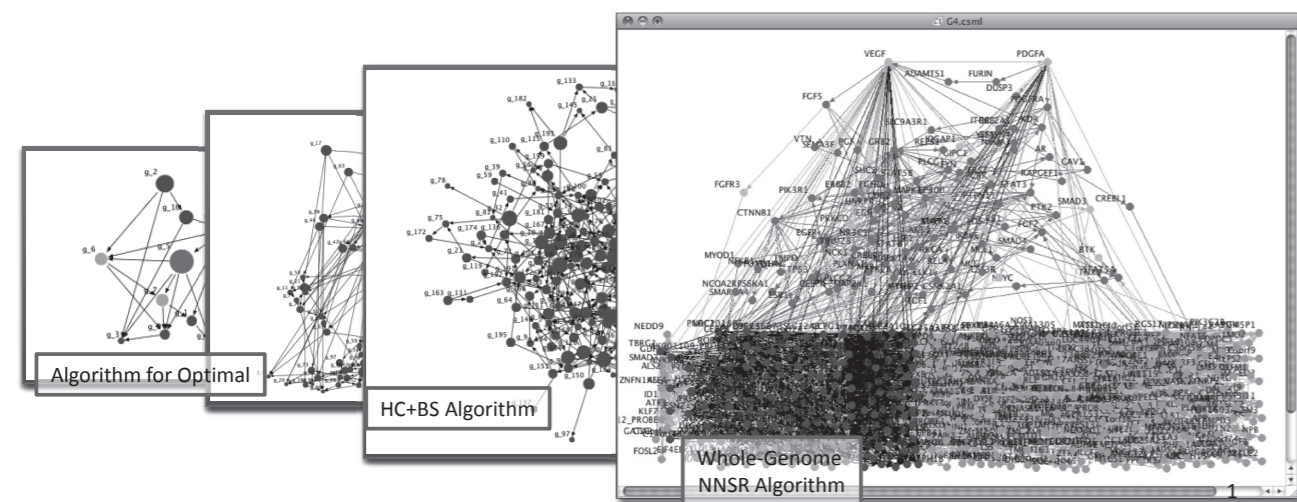
連携研究部門
難病基盤・応用研究プロジェクト室
大学院教育研究支援実験施設

連携研究部門 病態発現機構研究部門

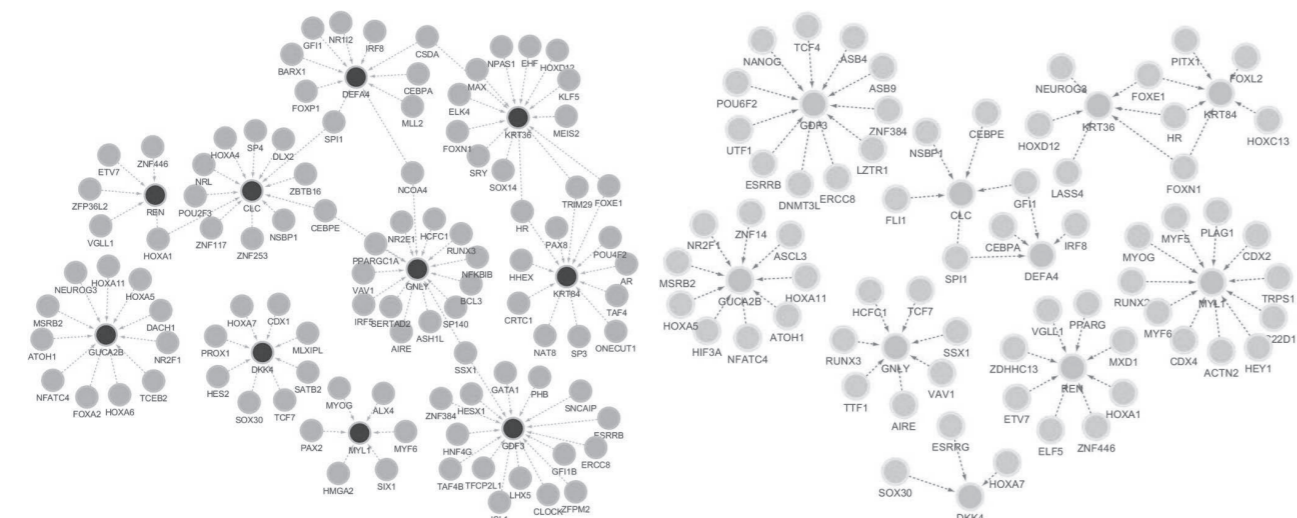
客員教授：宮野 悟、井元清哉

難治疾患の病態は複数の遺伝子の制御異常が複雑に相互に影響し合った状況で、システムとしての統合的制御から逸脱した状態であることが明白になってきた。一方、先端的ゲノム解析や網羅的リン酸化プロテオーム解析技術などの開発により大量のオミクスデータが蓄積されてきている。また、腸内細菌叢など我々に共生する微生物叢の乱れが消化器疾患のみならず神経変性疾患などの難治疾患にも関連している事が分かってきた。これら超多次元・超ヘテロな生命科学情報を至適アルゴリズムによりスーパーコンピュータなどの最先端計算科学戦略・情

報処理技術を駆使して、大量シーケンス情報の処理・解析、情報の抽出、構造化、そしてシミュレーションを行い、生体・生命システムの破綻の仕組みを明らかにする。これにより、従来のアプローチでは見えてこなかった難治疾患の分子パスウェイやネットワークを明らかにする。当該部門では、難治研の様々な分野と連携して、生命をシステムとして読み解くことで得られた情報をもとに、難治疾患の病態を解明し、それら成果を創薬や治療法開発へと発展させる。



ノンコーディング RNA を含む遺伝子発現データから様々なタイプの遺伝子ネットワークを推定する手法とスーパーコンピュータプログラムを開発。Bayesian N, State Space Model, Structural EQ などの数理モデルに基づいて、30 遺伝子からなる最適ネットワークから全遺伝子 (2万) からなるネットワークまで推定できる。プログラムはオープンソースで公開している。



Park et al. J Comp Biol. 2019 の手法により推定したある抗がん剤に対して耐性な細胞株の遺伝子ネットワーク (左) と感受性のある細胞株のネットワーク (右)。データは Sanger Genomic of Drug Sensitivity in Cancer を用いた。

業績目録

- Fujimoto K, Kimura Y, Allegretti JR, Yamamoto M, Zhang Y-Z, Katayama K, Tremmel G, Kawaguchi Y, Shimohigoshi M, Hayashi T, Uematsu M, Yamaguchi K, Furukawa Y, Akiyama Y, Yamaguchi R, Crowe SE, Ernst PB, Miyano S, Kiyono H, *Imoto S, *Uematsu S. Functional restoration of bacteriomes and viromes by fecal microbiota transplantation. *Gastroenterology*. 2021 Feb 9;S0016-5085(21)00400-5. doi: 10.1053/j.gastro.2021.02.013. Online ahead of print.
- Johmura Y, Yamanaka T, Omori S, Wang T-W, Sugiura Y, Matsumoto M, Suzuki N, Kumamoto S, Yamaguchi K, Hatakeyama S, Takami T, Yamaguchi R, Shimizu E, Ikeda K, Okahashi N, Mikawa R, Suematsu M, Arita M, Sugimoto M, Nakayama K, Furukawa Y, *Imoto S, and Nakanish M. Senolysis by glutaminolysis inhibition ameliorates various age-associated disorders. *Science*. 15 Jan 2021;371(6526) 265-270. DOI: 10.1126/science.abb5916
- *Imoto S, Hasegawa T, Yamaguchi R. Data science and precision healthcare. *Nutrition Reviews*. 2020 Dec 1;78(Supplement_3):53-57. doi: 10.1093/nutrit/nuaa110.
- Ishida S, Kato K, Tanaka M, Odamaki T, Kubo R, Mitsuyama E, Xiao J, Yamaguchi R, Uematsu S, *Imoto S, Miyano S. Genome-wide association studies and heritability analysis reveal the involvement of host genetics in the Japanese gut microbiota. *Communications Biology*. 3, Article number: 686 (2020)
- Konishi H, Yamaguchi R, Yamaguchi K, Furukawa Y, *Imoto S. Halycon: an accurate basecaller exploiting an encoder-decoder model with monotonic attention. *Bioinformatics*. 2020 Nov 9;btaa953. doi: 10.1093/bioinformatics/btaa953. Online ahead of print.
- Park H, Maruhashi K, Yamaguchi R, *Imoto S, Miyano S. Global gene network explorer based on explainable artificial intelligence approach. *PLoS ONE*, November 6, (2020). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0241508>
- Park H, *Imoto S, Miyano S. Automatic sparse principal component analysis. *The Canadian Journal of Statistics*, in press.
- Omori S, Wang T-W, Johmura Y, Kanai T, Nakano Y, Kido T, Susaki E, Nakajima T, Shichino S, Ueha S, Ozawa M, Yokote K, Kumamoto S, Nishiyama A, Sakamoto T, Yamaguchi K, Hatakeyama S, Shimizu E, Katayama K, Yamada Y, Yamazaki S, Iwasaki K, Miyoshi C, Funato H, Yanagisawa M, Ueno H, *Imoto S, Furukawa Y, Yoshida N, Matsushima K, Ueda H, Miyajima A, Nakanishi M. Generation of a p16 reporter mouse and its use to characterize and target p16high cells in vivo. *Cell Metabolism*. Available online 18 September 2020, <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.09.006>
- Moriyama T, *Imoto S, Miyano S, Yamaguchi R. Theoretical foundation of the performance of phylogeny-based somatic variant detection. *Proc. 2nd International Symposium on Mathematical and Computational Oncology*, Springer LNBI, 12508, 87-101.
- Shimizu S, Mimura J, *Imoto S, Hasegawa T, Tsushima M, Kasai S, Yamazaki H, Ushida Y, Sugauma H, Tomita H, Nakaji S, Itoh K. Association between single nucleotide polymorphism in NRF2 promoter and vascular stiffness with aging. *PLoS ONE*, 15(8): e0236834. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236834>
- Hasegawa T, Hayashi S, Shimizu E, Mizuno S, Niida A, Yamaguchi R, Miyano S, Nakagawa H,

- *Imoto S. Neoantimon: a multifunctional R package for identification of tumor-specific neoantigens. *Bioinformatics*. 2020 Sep 15;36(18):4813-4816. doi: 10.1093/bioinformatics/btaa616.
- Bailey MH, Meyerson WU, Dursi LJ, Wang LB, Dong G, Liang WW, Weerasinghe A, Li S, Li Y, Kelso S; MC3 Working Group; PCAWG novel somatic mutation calling methods working group, Saksena G, Ellrott K, Wendl MC, Wheeler DA, Getz G, Simpson JT, Gerstein MB, Ding L; *PCAWG Consortium*. Retrospective evaluation of whole exome and genome mutation calls in 746 cancer samples. *Nature Communications*. 2020 Sep 21;11(1):4748. doi: 10.1038/s41467-020-18151-y.
- Li CH, Prokopec SD, Sun RX, Yousif F, Schmitz N, PCAWG Tumor Subtypes and Clinical Translation, Boutros PC, *PCAWG Consortium*. Sex differences in oncogenic mutational processes. *Nature Communications*. Published online 2020 Aug 28. doi: 10.1038/s41467-020-17359-2
- Fujimoto K, Kimura Y, Shimohigoshi M, Satoh T, Sato S, Tremmel G, Uematsu M, Kawaguchi Y, Usui Y, Nakano Y, Hayashi T, Kashima K, Yuki Y, Yamaguchi K, Furukawa Y, Kakuta M, Akiyama Y, Yamaguchi R, Crowe SE, Ernst PB, Miyano S, Kiyono H, *Imoto S, *Uematsu S. Metagenome data on intestinal phage-bacteria associations aids the development of phage therapy against pathobionts. *Cell Host & Microbe*. 2020 Sep 9;28(3):380-389.e9. doi: 10.1016/j.chom.2020.06.005. Epub 2020 Jul 10.
- Fujimoto A, Fujita M, Hasegawa T, Wong J-H, Maejima K, Oku-Sasaki A, Nakano K, Shiraishi Y, Miyano S, Yamamoto G, Akagi K, *Imoto S, Nakagawa H. (2020) Comprehensive analysis of indels in whole-genome microsatellite Regions and microsatellite instability across 21 cancer types. *Genome Research*, 2020, 30:334-346. doi: 10.1101/gr.255206.119
- Takashima S, Tanaka F, Usui Y, Fujimoto K, Nadatani Y, Otani K, Hosomi S, Nagami S, Kamata N, Taira K, Tanigawa T, Watanabe T, *Imoto S, Uematsu S, Fujiwara Y. Proton pump inhibitors enhance intestinal permeability via dysbiosis of gut microbiota under stressed conditions in mice. *Neurogastroenterology and Motility*. 2020 Apr 21:e13841. doi: 10.1111/nmo.13841. Online ahead of print.
- Zhang Y-Z, Akdemir A, Tremmel G, *Imoto S, Miyano S, Shibuya T, Yamaguchi R. Nanopore basecalling from a perspective of instance segmentation. *BMC Bioinformatics*. 2020 Apr 23;21(Suppl 3):136. doi: 10.1186/s12859-020-3459-0.
- Sato N, Kakuta M, Hasegawa T, Yamaguchi R, Uchino E, Murashita K, Nakaji S, *Imoto S, Yanagita M, Okuno Y. Metagenomic profiling of gut microbiome in early chronic kidney disease. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2020 Sep 1;gfaa172. doi: 10.1093/ndt/gfaa172. Online ahead of print.
- Parbie PK, Mizutani T, Ishizaka A, Kawana-Tachikawa A, Runtuwene LR, Seki S, Abana CZ, Kushitor D, Bonney EY, Ofori SB, Uematsu S, *Imoto S, Kimura Y, Kiyono H, Ishikawa K, Ampofo WK, Matano T. Fecal microbiome composition in healthy adults in Ghana. *Jpn J Infect Dis*. 2020 Jun 30. doi: 10.7883/yoken.JJID.2020.469. Online ahead of print.
- Hasegawa T, Yamaguchi R, Kakuta M, Sawada K, Kawatani K, Murashita K, Nakaji S, *Imoto S. (2020) Prediction of blood test values under different lifestyle scenarios using time-series electronic health record. *PLoS ONE*, 15(3): e0230172.

- Sato N, Kakuta M, Hasegawa T, Yamaguchi R, Uchino E, Kobayashi W, Sawada K, Tamura Y, Murashita K, Nakaji S, *Imoto S, Yanagita M, Tokuda I, Okuno Y. (2020) Metagenomic analysis of bacterial species in tongue microbiome of current and never smokers. *npj Biofilms and Microbiomes*, 6, Article number: 11.
- Maeda-Minami A, Yoshino T, Katayama K, Horiba Y, Hikiyama H, Shimada Y, Namiki T, Tahara E, Minamizawa K, Muramatsu S, Yamaguchi R, *Imoto S, Miyano S, Mima H, Mimura M, Nakamura T, Watanabe K. Discrimination of prediction models between cold-heat and deficiency-excess patterns. *Complement Ther Med*. 2020 Mar;49:102353. doi: 10.1016/j.ctim.2020.102353.
- Sato N, Kakuta M, Uchino E, Hasegawa T, Kojima R, Kobayashi W, Sawada K, Tamura Y, Tokuda I, *Imoto S, Nakaji S, Murashita K, Yanagita M, Okuno Y. The relationship between cigarette smoking and the tongue microbiome in an East Asian population. *J Oral Microbiol*. 2020 Mar 25;12(1):1742527. doi: 10.1080/20002297.2020.1742527.
- The ICGC/TCGA Pan-Cancer Analysis of Whole Genomes Consortium. (2020) Pan-cancer analysis of whole genomes. *Nature*. Feb;578(7793):82-93. doi: 10.1038/s41586-020-1969-6. Epub 2020 Feb 5.
- Yakneen S, Waszak SM, *PCAWG Technical Working Group*, Gertz M, Korbel JO, PCAWG Consortium. Butler enables rapid cloud-based analysis of thousands of human genomes. *Nature Biotechnology*. 2020 Feb 5. doi: 10.1038/s41587-019-0360-3. [Epub ahead of print]
- Fujita M, Yamaguchi R, Hasegawa T, Shimada S, Arihiro K, Hayashi S, Maejima K, Nakano K, Fujimoto A, Ono A, Aikata H, Ueno M, Hayami S, Tanaka H, Miyano S, Yamaue H, Chayama K, Kakimi K, Tanaka S, *Imoto S, Nakagawa H. Classification of primary liver cancer with immunosuppression mechanisms and correlation with genomic alterations. *EBioMedicine*. 2020, 53, 102659.
- Kasajima R, Yamaguchi R, Shimizu E, Tamada Y, Niida A, Tremmel G, Kishida T, Aoki I, *Imoto S, Miyano S, Uemura H, Miyagi Y. Variant analysis of prostate cancer in Japanese patients and a new attempt to predict related biological pathways. *Oncol Rep*. 2020 Jan 27. doi: 10.3892/or.2020.7481. [Epub ahead of print]
- Hijikata Y, Yokoyama K, Yokoyama N, Matsubara Y, Shimizu E, Nakashima M, Yamagishi M, Ota Y, Lim L, Yamaguchi R, Ito M, Tanaka Y, Denda T, Tani K, Yotsuyanagi H, *Imoto S, Miyano S, Uchimarum K, Tojo A. Successful clinical sequencing by molecular tumor board in an elderly patient with refractory Sézary syndrome. *JCO Precision Oncology*. 4(2020) 534-560.
- Ozato N, Saito S, Yamaguchi T, Katashima M, Tokuda I, Sawada K, Katsuragi Y, Kakuta M, *Imoto S, Ihara K, Nakaji S. Association between breath methane concentration and visceral fat area: A population-based cross-sectional study. *Journal of Breath Research*. 2020 Feb 25;14(2):026008. doi: 10.1088/1752-7163/ab61c6.
- Hasegawa T, Yamaguchi R, Niida A, Miyano S, *Imoto S. Ensemble smoothers for inference of hidden states and parameters in combinatorial regulatory model. *Journal of the Franklin Institute*. 357(5) March 2020, 2916-2933. <https://doi.org/10.1016/j.franklin.2019.10.015>

難病基盤・応用研究プロジェクト室

プロジェクト室長：清水重臣

難病 IBD プロジェクト 3

炎症性腸疾患を含む腸障害を対象とする基礎的、応用的研究

研究代表者 清水重臣（病態細胞生物）
共同研究者 樗木俊聡（生体防御学）
荒川聡子（病態細胞生物）
佐藤 卓（生体防御学）
仁部洋一（プロジェクト専従）

研究内容

炎症性腸疾患（IBD）は腸管に炎症を引き起こし長期に下痢・血便が続く慢性疾患の総称で、潰瘍性大腸炎とクローン病の2疾患からなり、厚生労働省により特定疾患（難病）に指定されている。本研究プロジェクトは、IBDの病態形成メカニズムの解析と本疾患を対象とした新規の創薬開発を目的としている。本年度の成果は以下の通りである。

研究紹介

成果1：腸炎を制御する新規オートファジーの分子機構を解析し、①Ulk1のセリン476のリン酸化が重要であること（Nature Commun 2020a）、②Wipi3分子が重要な実行分子であること（Nature Commun 2020b）を見出した。

成果2：オートファジー誘導能を有する天然物としてSanguisorba officinalis L.（ジウ）を同定した。また、これをDSS誘導性腸炎マウスに経口投与したところ、DSS腸炎が顕著に抑制された。その機構として、マクロファージのオートファジーが重要であることも見出した（Scientific Rep. 2020）

成果3：慶應義塾大学消化器内科、自治医科大学口腔外科との共同研究成果として、放射線照射により障害を受けた腸陰窩に生存している細胞を、細胞系譜追跡、単一細胞遺伝子発現解析、オルガノイド培養法を駆使して解析した結果、再生を担う最も重要な細胞分画を発見した（Scientific Reports 2020）。

成果4：慶應義塾大学消化器内科、本学包括病理学、人体病理学、消化器病態学分野との共同研究により行った成果として、持続的なインターフェロンの刺激が小腸幹細胞の枯渇や機能低下の原因になること、転写因子

Interferon regulatory factor-2（IRF2）が、インターフェロンシグナルを適切に制御し、正常な腸上皮を維持するために重要なことを見出した（Nature Cell Biology 2020）。

成果5：理化学研究所との共同研究により行った成果として、慢性的なインターフェロン刺激は大腸幹細胞の枯渇や機能低下の原因になることを見出した（Scientific Reports 2020）。

業績

1. Identification of a phosphorylation site on Ulk1 required for genotoxic stress-induced alternative autophagy. S. Torii, H. Yamaguchi, A. Nakanishi, S. Arakawa, S. Honda, K. Moriwaki, H. Nakano, S. Shimizu. Nature Commun 11. Article number: 1754 (2020)
2. Sanguisorba officinalis L. derived from herbal medicine prevents intestinal inflammation by inducing autophagy in macrophages. A. Yasueda, H. Kayama, M. Murohashi, J. Nishimura, K. Wakame, K. Komatsu, T. Ogino, N. Miyoshi, H. Takahashi, M. Uemura, C. Matsuda, T. Kitagawa, K. Takeda, T. Ito, Y. Doki, H. Eguchi, S. Shimizu, T. Mizushima. Scientific Reports 10. Article number: 9972 (2020)
3. Wipi3 is essential for alternative autophagy and its loss causes neurodegeneration. H. Yamaguchi, S. Honda, S. Torii, K. Shimizu, K. Katoh, K. Miyake, N. Miyake, N. Fujikake, H. Sakurai, S. Arakawa, S. Shimizu. Nature Commun 11, Article number: 5311 (2020)
4. Characterization of radioresistant epithelial stem cell heterogeneity in the damaged mouse intestine. T. Sato, S. M Sase, S. Ishikawa, M. Kajita, J. Asano, T. Sato, Y. Mori, T. Ohteki. Scientific Reports 10, Article number: 8308 (2020)
5. Regulated IFN signaling preverves the stemness of intestinal stem cells by restricting differentiation into secretory-cell lineages. T. Sato, S. Ishikawa, J. Asano, H Yamamoto, M. Fujii, T. Sato, K. Yamamoto, K. Kitagaki, T. Akashi, R. Okamoto, T. Ohteki. Nature Cell Biology 22, Article number: 919 (2020)
6. IRF2 maintains the stemness of colonic stem cells by limiting physiological stress from interferon. K. Minamide, T. Sato, Y. Nakanishi, H. Ohno, T. Kato, J. Asano, T. Ohteki. Scientific Reports 10, Article number: 14639 (2020)

難病筋疾患研究プロジェクト 3

心筋症の病態解明と治療法の開発に関する研究

研究代表者 黒柳秀人（遺伝子発現制御学）
共同研究者 古川哲史・井原健介（生体情報薬理学）
平岡優一（分子神経科学）
笹野哲郎（循環制御内科学）

研究の目的

拡張型心筋症（DCM）は心筋収縮不全と心室内腔の拡張を特徴とする症候群で根本的治療が心移植しかない難病であり、不整脈は心筋症と合併すると重症化して突然死に至るリスクが高まることから、これらの発症機序

の解明と対策が求められる。本プロジェクトでは、DCMと不整脈の病態を早期発現する*Rbm20*^{S637A}マウスにおいて各病態の根本原因となる遺伝子発現異常を明らかにすることを最終的な目標としている。

研究成果の概要

近年のDCMの遺伝子解析では、心筋特異的選択的スプライシング調節を司る*RBM20*を含む多くの遺伝子が原因遺伝子として同定されてきている。*RBM20*変異によるDCMでは、他遺伝子を原因とするDCMと比較して、重篤な心機能低下、致死性心室性不整脈および心房細動を高頻度に合併すると報告されている。我々は、DCM症例で*RBM20*遺伝子変異が集積しているRSRSP配列がRBM20の核移行に重要であることを見出し報告した（Sci Rep, 2018; Front Mol Biosci, 2018）。本研究では、DCM症例で同定されたRSRSP配列のミスセンス変異を模した*Rbm20*^{S637A}ノックインマウスおよび*Rbm20*ノックアウトマウスを用いてその心表現型を解析した。ノックアウトマウスは軽度の心機能低下を示すのみであったが、ノックインマウスはより重篤な心機能低下と心室性不整脈、心房細動を呈し、*RBM20*変異のDCM症例に類似した心臓表現型が見られた。一方、RBM20標的遺伝子の心筋特異的スプライシング制御は、ノックアウトマウスとノックインマウスの両者とも同様に完全に欠損していた。さらに、変異型*Rbm20*^{S637A}タンパク質は心筋細胞内細胞質で顆粒状構造物を形成していた。これらの結果から、RSRSP配列変異は核内での機能喪失のみでDCMを生じているのではなく、変異型RBM20が細胞質内に蓄積し機能獲得をすることにより重篤な心表現型の形成に関与していると考えられた（Sci Rep, 2020）。本研究で作製した*Rbm20*^{S637A}マウスは、世界初のヒト型遺伝子変異を持つ自然発症心房細動モデルマウスであり、今後の心房細動研究に大きく寄与すると期待される。

業績

1. Kensuke Ihara, Tetsuo Sasano, Yuichi Hiraoka, Marina Togo-Ohno, Yurie Soejima, Motoji Sawabe, Megumi Tsuchiya, Hidesato Ogawa, Tetsushi Furukawa, Hidehito Kuroyanagi. A missense mutation in the RSRSP stretch of *Rbm20* causes dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation in mice. Scientific Reports, 10: 17894, 2020.
2. Jay W Schneider, Saji Oommen, Muhammad Y Qureshi, Sean C Goetsch, David R Pease, Rhianna S Sundsbak, Wei Guo, Mingming Sun, Han Sun, Hidehito Kuroyanagi, Dennis A Webster, Alexander W Coutts, Kimberly A Holst, Brooks S Edwards, Nikolas Newville, Matthew A Hathcock, Tamene Melkamu, Francesca Briganti, Wu Wei, Maria G Romanelli, Scott C Fahrenkrug, Doug E Frantz, Timothy M Olson, Lars Steinmetz, Daniel F Carlson, Timothy J Nelson, Wanek Program Pre-Clinical Pipeline. Dysregulated RNP granules promote cardiomyopathy in *RBM20* gene-edited pigs. Nature Medicine, 26: 1788-1800, 2020.
3. Jiyoung Lee, Akito Sutani, Rin Kaneko, Jun Takeuchi, Tetsuo Sasano, Takashi Kohda, Kensuke Ihara, Kentaro Takahashi, Masahiro Yamazoe, Tomohiro Morio, Tetsushi Furukawa & Fumitoshi Ishino. In vitro generation of functional murine heart organoids via FGF4 and extracellular matrix. Nature Communications 11: 4283 (2020).

プレスリリース

「心臓発生を再現する試験管内心臓オルガノイド作製法の開発」(2020年8月31日)
「変異型タンパク質の細胞質への蓄積が拡張型心筋症を重症化する」(2020年10月23日)

難治低酸素乳がん研究プロジェクト 低酸素微小環境における乳がん悪性化の分子機構の解明とその応用に向けた基盤確立

研究代表者 中山 恒（低酸素生物学）
共同研究者 石野史敏（エピジェネティクス分野）
澁谷浩司（分子細胞生物学分野）
三木義男（分子遺伝分野・教授）

概略

国内における乳がん患者の数は年々増加しており、乳がん患者は女性のがん罹患者の中で現在一番多い。乳がんはサブタイプごとに治療法が確立されているものの、特異性の高い効果的な治療法が十分に確立されていないtriple negative型乳がんや治療の過程で出現する悪性度の高い薬剤耐性がんに対する有効な治療法はなく、その開発は大きな課題である。低酸素応答は、呼吸・代謝などを調節して、低酸素下における恒常性の維持に働く機構である。がんの微小環境はしばしば低酸素であり、がんの低酸素応答はその生存、さらには悪性化にも働く。ヒト乳がん組織においても低酸素環境が形成されており、低酸素下では乳がんの転移が促進されることも、マウスモデルを用いた研究で示されている。

Hypoxia-Inducible Factor（HIF）は低酸素下で様々な生理応答を制御することから、低酸素応答の中心分子と位置付けられてきた。一方で、慢性的な低酸素環境ではHIFの活性が低下することから、低酸素応答制御にはHIF以外にも鍵となる分子が関与していると考えられている。がんの進展過程では慢性的に低酸素領域が形成されるが、慢性期の低酸素応答を制御する分子機構は依然として未解明の点が多い。研究代表者らはこれまでに慢性期低酸素に着目した解析を進めて、①DNAメチル化②クロマチン構造③代謝が動的に変化することを見出してきた。これらの統合的な解析から同定した低酸素応答性因子の乳がんバイオマーカーとしての有用性を検証して、新しい診断法に結びつくような基盤技術の創出をめざす（図）。

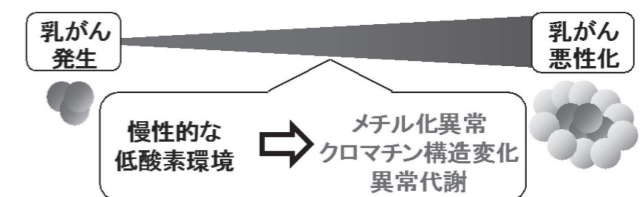


図 難治低酸素性乳がん研究プロジェクトの概略

頭頸部・食道扁平上皮がん精密医療研究拠点形成プロジェクト

研究代表者 稲澤譲治（分子細胞遺伝）

共同研究者 朝蔭孝宏（頭頸部外科・教授）

池田 通（口腔病理・教授）

北川昌伸（包括病理・教授）

角田達彦（医科学数理・教授）

田中敏博（疾患多様性遺伝・教授）

原田浩之（顎口腔外科・教授）

三宅 智（腫瘍センター・教授）

中島康晃（食道外科・准教授）

池田貞勝（腫瘍内科・特任部長）

森田圭一（顎顔面外科・講師）

竹本 暁（疾患バイオリソースセンター・特任助教）

谷本幸介（ゲノム解析支援室・助教）

村松智輝（難病基盤・応用研究プロジェクト室・助教）

研究内容

頭頸部・食道扁平上皮がん（HNSCC・ESCC）は、比較的早期にリンパ節転移が起きやすいことから予後不良である。また、HNSCC、ESCCにおける外科的手術は、外見の変化や食餌の摂取を困難にさせることからQOLを著しく低下させることがある。本研究は、HNSCC・ESCCの臨床検体を本学 医学部・歯学部附属病院、疾患バイオリソースセンター（BRC）、腫瘍センター、長寿・健康人生支援センター等と密接な連携のもと、バンキングおよび解析システムを構築し、クリニカルシーケンスを通じた精密医療（Precision Medicine）を実践するための体制を整備し、難治性がんであるHNSCC・ESCCの克服を目的にプロジェクトを推進する。

研究成果の概要

・HNSCC・ESCC 臨床検体のバイオリソース収集状況

本研究では、重複がんを含めた良質なSCCバイオリソースの収集・保存を進めてきた。2020年9月末までのバイオバンク収集状況は、食道がん276症例、頭頸部がん272症例、口腔がん（歯学部附属病院）395症例が、各々包括的同意に基づいて検体収集されている。

・クリニカルシーケンスの進行状況

2017年8月より医学部附属病院において開始されたクリニカルシーケンスは、2020年11月末日までに345例である。そのうち、食道がんが17例、頭頸部が

んが26例含まれる。

・口腔扁平上皮がん（OSCC）、ESCCを対象としたマイクロRNA 核酸抗がん薬の開発

マイクロRNA（*miRNA*）は、20-25塩基からなる機能性ノンコーディングRNAの一種であり、標的遺伝子のmRNAに結合することにより、翻訳阻害、分解に関与することが知られており、現在までに2,654種類のmiRNAが同定されている。本研究では、2,565種類のmiRNAを搭載した*miRNA*ライブラリーを用いてOSCC、ESCCを含む様々ながん細胞の細胞増殖を著しく阻害する*miRNA*の探索を行い、*miR-1293*を新規がん抑制型*miRNA*として同定した。*miR-1293*は、エピジェネティックリーダーであるBRD4および複数のDNA修復関連遺伝子を直接の標的とし、発現抑制することにより細胞死を誘導することを明らかにした（Takagawa Y et al. Mol Ther. 2020）。

・OSCC、ESCCを対象とした既承認薬再配置に関する研究

既承認薬再配置（Drug repurposing; DR）の概念のもと、766種類のFDA承認薬を搭載したライブラリーと独自に樹立した高転移性OSCC細胞株（HOC313-LM）を用いて、細胞増殖抑制効果を有する抗がん剤候補の探索を行った。その結果、脂質異常症治療薬のピタバスタチンが強い抗がん活性を有することを見出した。ピタバスタチンは、ゴルジ体の機能不全を介してMETのプロセシングを阻害することにより、METシグナルを抑制し、ERK、AKT活性を低下させることで細胞増殖を低下させた。また、MET阻害剤（カプマチニブ）との併用により、単剤よりも強い細胞増殖抑制効果を示した。さらに、ピタバスタチンの感受性は、メバロン酸経路代謝産物であるGGPPの合成酵素であるGGPS1の発現に依存する傾向が認められた。以上より、ピタバスタチンおよびカプマチニブとの併用は、OSCC、ESCCの新たながん治療戦略となる可能性があり、その感受性においてGGPS1の発現量が重要であることを明らかにした（Xu B et al. Mol Cancer Res. 2020）。

業績

- Takagawa Y, Gen Y, Muramatsu T, Tanimoto K, Inoue J, Harada H, Inazawa J: miR-1293, a candidate for miRNA-based cancer therapeutics, simultaneously targets BRD4 and the DNA repair pathway. Mol Ther. 2020 28:1494-1505.
- Xu B, Muramatsu T, Inazawa J: Suppression of MET signaling mediated by pitavastatin and capmatinib inhibits oral and esophageal cancer cell growth. Mol. Cancer Res. 2020 Online ahead of print.

先制医療実現化 DOHaD 研究プロジェクト

研究代表者：佐藤憲子（分子疫学）

共同研究者：宮坂尚幸（医学部・生殖機能協関学）

菅野純夫（分子疫学）

石川智則（医学部・生殖機能協関学）

今井千裕（分子疫学）

不殿絢子（医学部・生殖機能協関学）

研究内容

低出生体重児は将来加齢性慢性疾患を発症するリスクが高い。日本は超高齢化社会である上に、先進諸国の中でも、最も低出生体重児の出生割合が高い。そのため加齢性慢性疾患有病率の爆発的増加が懸念されている。そこで、出生前環境が胎児の発育過程に影響することによって疾患形質と関連するというDevelopmental Origin of Health and Disease (DOHaD) 概念に基づき、生殖・周産期からのアプローチによって将来の疾患発症を予防できるのではないかと期待されている。本プロジェクトは、DOHaDの基本的考えに基づき、胎児の発育過程に遺伝、環境の様々な因子がどのように影響を及ぼすのかを解析することを目的としている。特に、集団内の異質性も丁寧に考慮し、様々な因子の影響と疾患素因との関係を調査し、疾患発症リスクを抑える周産期要件の科学的根拠の提示を目指している。

具体的には、(1)胎児発育トラジェクトリーと妊婦体重変化の後方視的解析、(2)胎児発育に与える母児の遺伝要因の影響、及び環境との相互作用の解明、(3)妊婦の栄養が妊娠アウトカムに与える影響の解明、(4)Immunomethylomics解析を用いた母児の免疫プロファイルの解析に取り組んでいる。

東京医科歯科大学の出生前コホート（Birth Cohort-Gene Environment Interaction Study in TMDU, BC-GENIST）を基軸に、東北大学三世代コホート、浜松医科大学出生コホート研究グループと共同研究開始を準備し、DOHaD研究を推進している。

研究の紹介

日本の出生体重低下の原因の1つが妊婦の痩せだと指摘されている。リプトダクティブエイジ及び妊娠期の女性のエネルギー摂取量が不足、さらに妊娠のための追加必要分も欠如していると一般的に言われており、BC-GENISTにおいても一貫して同様の傾向が見られた。しかしエネルギー摂取量は食事調査の測定誤差の影響を比較的大きく受けやすい。我々は健康維持増進に不可欠な栄養素及び過剰摂取が害となる栄養素に焦点をあて残差法によりエネルギー調整を行い、日本食事摂取基準へ

の準拠度をスコア化することにより、食事の質を評価した。その結果、準拠度の高い妊婦のほうが非妊娠時体重、非妊娠時BMI、妊娠中体重増加量が低い傾向のあることを見出した。BMIを指標とした従来の栄養管理を改良して、栄養スコアを考慮した管理方法を開発する必要があると考えられた。また、鉄とビタミンDの欠乏はわが国の女性にも高頻度に観察され、妊婦におけるそれらの欠乏の胎児発育に及ぼす影響が危惧されている。我々は、鉄不足が、ヘム及びBach転写因子の作用するクロマチン領域のDNAメチル化状態に及ぼす影響を解析している。また、胎児期ビタミンD不足による造血・免疫系の異常については、アメリカ・アルバートアインスタイン医科大学の鈴木雅子博士と共同研究を行なっている。

業績
著書
1. 佐藤憲子「4章3. DOHaD分子疫学」、遺伝子医学MOOK36号「エピゲノムで新たな解明が進む『先天性疾患』」、メディカルドゥ、2021
2. 佐藤憲子「9-16. 胎生期の栄養と免疫機能」、食品免疫学事典、朝倉書店、2021

溶骨性骨系統疾患の破骨細胞遊走性に着目した治療法開発

研究代表者

江面陽一（フロンティア研究室 - 骨分子薬理学）

研究内容

本プロジェクトは遺伝性溶骨症治療に有効な薬物療法開発を目標とした。前年度に引き続き、破骨細胞特異的にプロフィリン1（Pfn1）を欠損する遺伝子改変マウスを疾患モデルマウスとして破骨細胞機能や細胞運動能を阻害する薬剤による効果の有効性を検証した。このモデルマウスは早期発症型の骨パジェット病患者の病型を反映することが、2020年初めに1大家系11名患者のホモ接合性遺伝子変異が初めて同定されて証明され、この1年間で類似病型の患者41名が報告された。我々はArp2/3を阻害するCK-666について、破骨細胞培養系での検討を続け、その遊走性阻害と骨吸収阻害について検証を完了した（論文投稿中）。またインビボでの効果として5週齢マウスへの間欠的投与が骨量変化に及ぼす効果を比較薬剤アレンドロネートの効果と比較検討した。卵巣摘除マウスにおける効果についても検討した。さらに分子細胞遺伝学分野、稲澤譲治先生との共同研究を開始し、原因不明の溶骨症性疾患「ゴーハム病」患者と血縁者の遺伝子解析により病因解明と薬物療法開発の基盤を築く計画を開始した。

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

技能補佐員：藺部 知奈美

技術補佐員：植田 由希子

技能補佐員：田村 祐美子

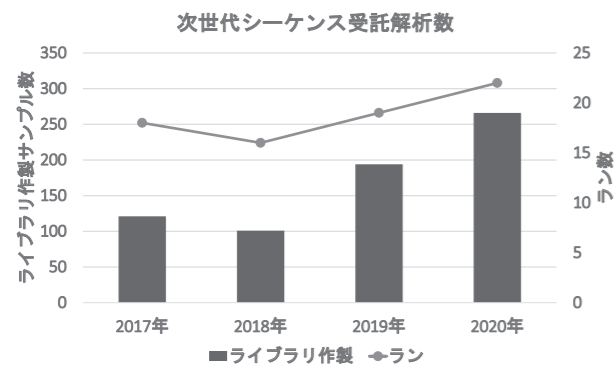
本解析室は、難治疾患研究所の教職員・学生および難治疾患共同研究拠点の参加研究者が実施するゲノム解析研究の支援を目的としている。最新機器の原理や使用法の講習会を通じた研究者への技術紹介、知識啓蒙を行っている。さらに、日常業務として、研究所内外からのゲノム情報の受託解析を行い研究の推進を図っており、年間約2万件の解析実績を持っている。また、所内研究者、学生が共通して利用できる研究機器を配置するとともに、各分野にある共通性の高い機器を登録したヴァーチャラボの管理も行っている。なお、2017年より本学リサーチコアセンターと連携を行っている。

以下は、2020年の実績である。

1. キャピラリーシーケンス受託解析サービス、及び次世代シーケンス受託解析サービス

本年のキャピラリーシーケンスサービスのサンプル依頼数は17,432 延べ利用人数は1,914名であった。難研外からの依頼サンプル数は9,615となり、全体の約6割を占めている。

次世代シーケンス（Ion PGM・Ion S5）による受託解析サービスについては、本年はコロナ禍にもかかわらず需要が伸びており、22ラン（うち難研外3ラン、学外15ラン）を行った。またライブラリ作製のサンプル数は266となった。次世代シーケンス解析については



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ス 3130xl 2台、次世代シーケンス 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

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。

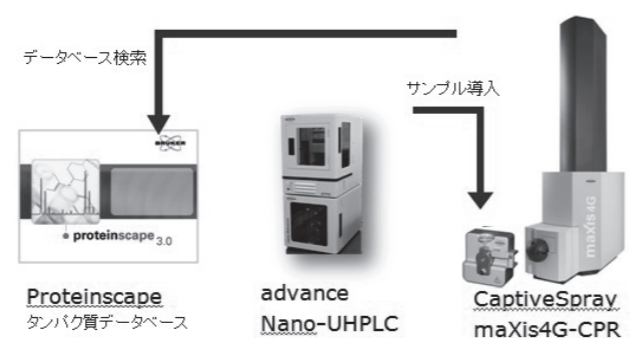
特に質量分析装置を用いた LC-MSMS 解析では受託解析も行っている。

<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。



< LC-MSMS 解析システム maXis4G 使用 BrukerJapan >

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

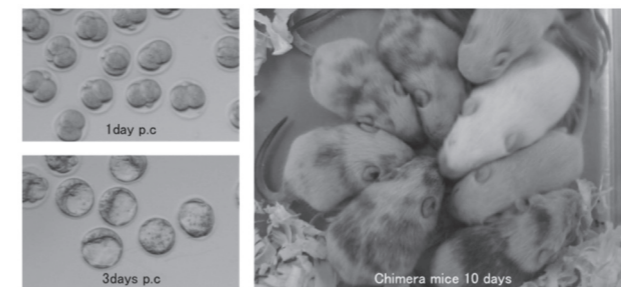
技能補佐員：木崎 美央

技術補佐員：石久保 春美

技能補佐員：橋野 一美

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, flox 等) 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)
- ・ビプラトーム … 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>

共焦点レーザー顕微鏡を利用する者には、正しい機器の使用方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)
11月10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)
- 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、学外からの利用も受けている。

3. 2020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。共焦点レーザー顕微鏡の講習会は2月と7月に申込者数にあわせて合計2回行った。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。2020年の当支援室の利用者数はのべ274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。当該年度、鎌倉女子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手続きが行われ、支援室より細胞株を分譲した。また、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の研究支援業務の受託については、安定した樹立効率が維持されており、本学小児科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。当該年度、和歌山県立医科大学医学部および北海道大学遺伝子制御研究所から、新規依頼を受け付けた。細胞株等のマイコプラズマ汚染検査(図1参照)については、当該年度、前年度と比し受託件数は減少した。これは、今年度、新型コロナウイルス感染症による緊急事態宣言発令下において、新規受付を一定期間(4月1日-6月1日)停止したことと研究活動の制限による影響と考えられる。大型液体窒素タンク(図2参照)を利用した生体試料保存サービスは、学内の多分野から継続の依頼があった。

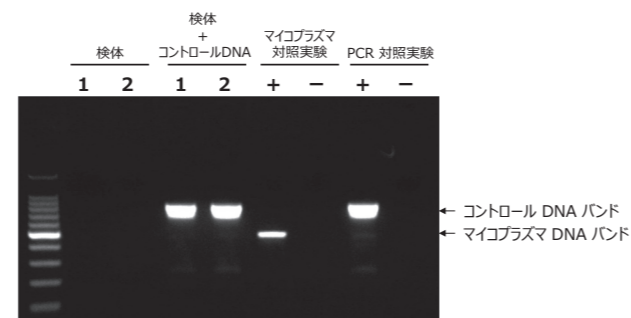


図1 マイコプラズマ汚染検査(マイコプラズマ陰性の2検体)



図2 大型液体窒素タンク G430-S 太陽日酸

VII. 構造解析支援室

構造解析支援室には、高輝度X線発生装置とイメージングプレートX線回折装置が設置されており、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、タンパク質など高分子の粒子径・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、学外からの利用も受け入れている。

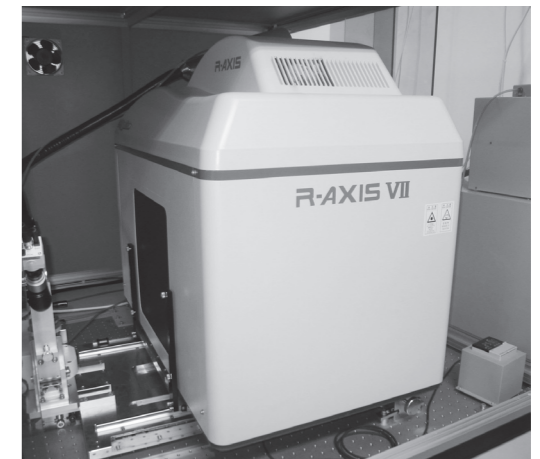


写真 イメージングプレートX線回折装置

職員学生名簿

医化学分野

教 授 瀬川勝盛

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 渡辺藍子
 研究生 白 婕
 研究支援員 井古田千英

分子神経科学分野

教 授 田中光一
 助 教 石田紗恵子
 助 教 平岡優一
 大学院生 Bi Haining
 Z h a o D i
 松浦稜
 加藤美波
 河合耀瑠
 光増真広
 卒業研究生 河内健悟
 研究実践プログラム 松野弘和
 技術補佐員 大野里美
 中川道子

生体情報薬理学分野

教 授 古川哲史
 准 教 授 竹内純
 助 教 井原健介
 大学院生 孫溢哈
 事務補佐員 押切明美

幹細胞制御分野

教 授 田賀哲也
 准 教 授 信久幾夫
 助 教 榑康一
 連携研究員 鹿川哲史
 備前典久

非常勤講師 影山龍一郎

柏木太一

技術補佐員 井上和子

大学院生 Alapati Aimagijiang

Liu Wenyu

Melig Gerel

Zhang TingTing

板橋歩未

古作瑛菜

永根まり子

大学院研究生 Deng Shenghuan

吉田大峰

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

村川泰裕

日本学術振興会特別研究員 梶田美穂子

大学院生 佐瀬美和子

泉湧太

石川駿

秋山めぐみ

山田翔太

短期交流学生 大梁恵梨子

中川舞

技術補佐員 始関紀彰

林豊貴

事務補佐員 上岡寿子

分子構造情報学分野

教 授 伊藤暢聡

准 教 授 伊倉貞吉

助 教 沼本修孝

大学院生 全熙斌

吉村哲哉

周崇震

神経病理学分野

教 授 岡澤均

准 教 授 田川一彦

特任講師・非常勤講師 井上治久

曾根雅紀

助 教 藤田慶大

特任助教 本間秀典

日本学術振興会特別研究員 田中ひかり

秘 書 田中麻里絵

技術補佐員 佐藤しげみ

大学院生 近藤和

Jin Xiaocen

Jin Meihua

吉岡優希

Huang Yong

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

事務補佐員 小藤香織

学振特別研究員 徳田恵美

森岡真

大学院生 池田拓海

佐藤太一

高橋恒一郎

大学院研究生 張易欣

王天

病態細胞生物学分野

教 授 清水重臣

講 師 荒川聡子

プロジェクト准教授 鳥居暁

プロジェクト講師 辻岡政経

本田真也

助 教 山口啓史

プロジェクト助教 申珉京

桜井一

野口沙央理

遠藤葉月

秘 書 深堀仁美

技術補佐員 吉野育代

大学院生 関豊和

吉田朋世

大島和馬

小川千奈見

加藤瑞生

発生再生生物学分野

教 授 仁科博史

講 師 小藤智史

助 教 中野泰博

事務補佐員 田中和子

小藤香織

技術系補佐員 草場みずき

大学院生 進 匡

Alifu Yikelamu

Jing PU

長岡勇也

須永沙智

長尾裕志

YimingQian

短期交流学生 小迫 洸

免疫疾患分野

教 授 鏑田武志

准 教 授 安達貴弘

助 教 赤津ちづる

特任講師 王 継揚

技術補佐員 赤澤美圭子

事務補佐員 澤田千賀子

大学院生 Yang Hongrui

Huang Yuming

爲廣(西田)響子

Long Wang

國武慎治

Cui Yang

Ding Yi

Yang Tianyi

大亀綾香

松村佳奈

大隅瑞基

共同研究員 高嶋航

インターンシップ学生 清田顕之介

幹細胞医学分野

教 授 西村栄美

准 教 授 難波大輔

助 教 松村寛行

プロジェクト助教 毛利泰彰

森永浩伸

浅川杏祐

劉 楠

共同研究員 下川真理子
 大学院生 室山優子
 Sally Eshiba
 技術補佐員 加藤智起
 矢嶋玲子
 難波富士緒
 西森由里子
 Tan Li Jing
 鈴木恵里
 秘書 渡邊郁

分子細胞遺伝分野

教授 稲澤讓治
 准教授 井上純
 助教 村松智輝
 玄泰行
 特任助教 Daniela Tiaki Uehara
 大学院生 平林恭子
 五木田憲太郎
 Akdemir Burak
 岸川正大
 高川祐希
 劉暢
 徐博
 Tran Xuan Phuon

分子遺伝分野

教授 三木義男
 准教授 中西啓
 助教 砂田成章
 プロジェクト助教 Ji Shuting
 特別研究員 仁平直江
 技術補佐員 戸部秀子
 大学院生 鄧宇
 福田未緒
 Enkhbat Gerelmaa
 東條陽
 Zhang DouDou
 Zhao Ying
 Guo QianQian
 平山栞
 Li Zi

分子疫学分野

教授 村松正明
 准教授 佐藤憲子
 助教 今井千裕

大学院生 藤谷啓雄
 勝田江朗
 エイ・コ・コ・ミン
 メディナ・アブサトル
 縦媛
 トウ・タイガ
 非常勤講師 菅野純男

ゲノム機能情報分野

教授 二階堂愛
 連携研究員 笹川洋平
 山根万里子
 岩山佳美
 技術補助員 前田伊久子

ゲノム機能多様性分野

教授 高地雄太
 准教授 三橋里美
 助教 上田真保子
 連携研究員 山口健介
 小林香子
 北里舞
 研究従事者 稲毛純
 本田卓
 大学院生 西田晨也
 加藤大輝
 事務補佐員 湯浅亜沙子
 森下真由美

エピジェネティクス分野

教授 石野史敏
 准教授 李知英
 助教 北澤萌恵
 プロジェクト助教 松沢歩
 非常勤講師 幸田尚
 小林慎
 志浦寛相
 成瀬妙子
 大学院生 酢谷明人
 金子凜
 藤岡慶史

医科学数理分野

教授 角田達彦
 講師 宮冬樹

フロンティア研究室 低酸素生物学

准教授 中山恒

フロンティア研究室 遺伝子発現制御学

准教授 黒柳秀人
 大学院生 弥益有理
 技術補佐員 大野麻理奈
 学部生 宮内智仁

連携研究部門 病態発現機構

教授 井本清哉

ジョイントリサーチ部門未病制御学研究部門

ジョイントリサーチ部門准教授 安達貴弘

大学院教育研究支援実験施設

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
 田村祐美子

細胞・プロテオーム解析室

技術専門職員 名和真希子

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
 技能補佐員 木崎未央
 技術補佐員 石久保春美
 橋野一美

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 齊藤佳子
 技術補佐員 英美奈子

支援室

事務補佐員 秋元文乃

バイオリソース支援室

技術補佐員 高岡美帆

事務部

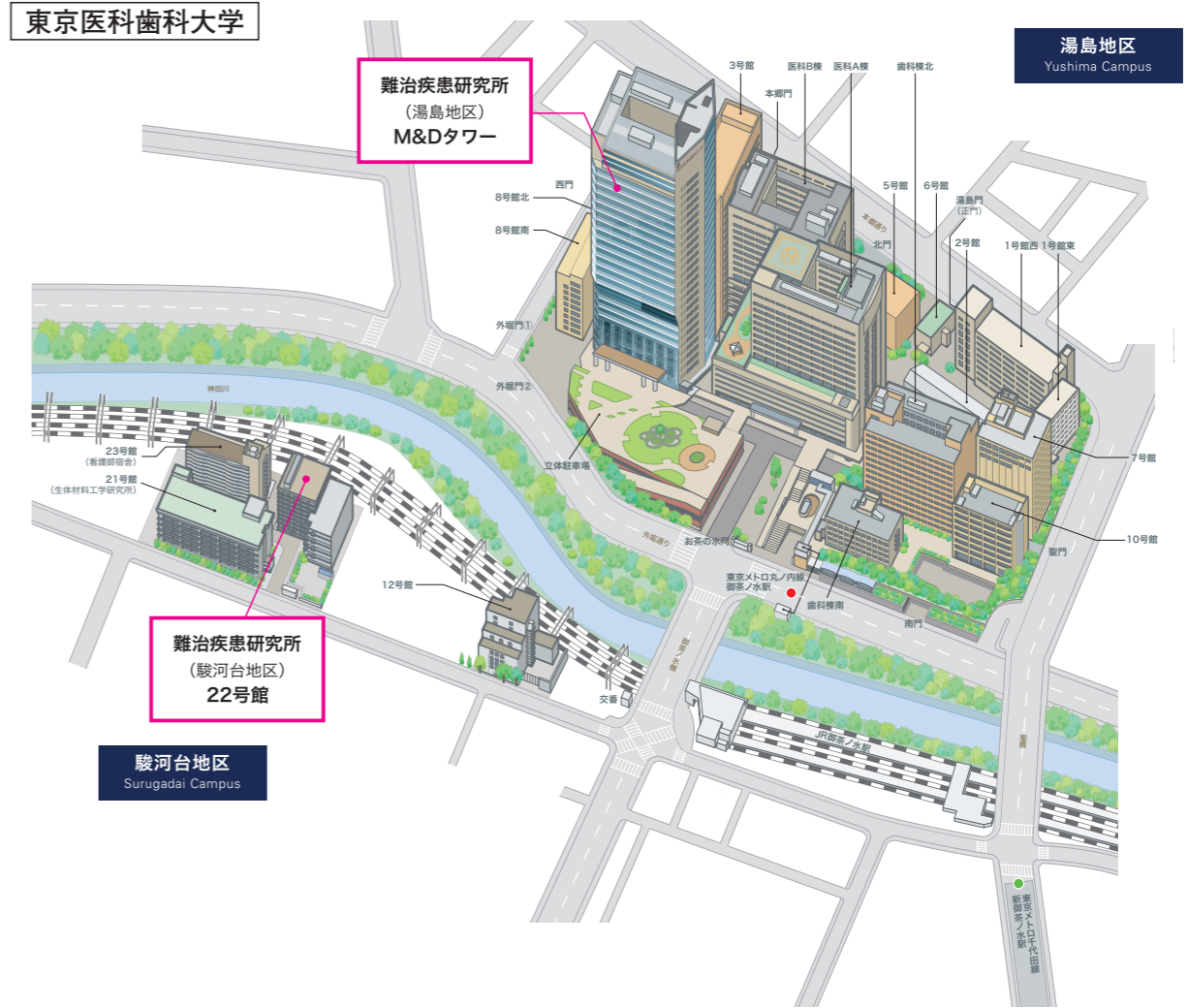
事務長 渡邊剛志
 副事務長 坂口奈美
 総務係長 三原智樹
 総務係主任 梅津綾子
 大石友美
 小林俊彦
 事務補佐員 近江有里
 高橋将貴
 派遣職員 長久保潤子

難治疾患研究所運営諮問委員会委員

- 油谷 浩幸 先生 東京大学 先端科学技術研究センター
シニアリサーチフェロー
- 大隅 典子 先生 東北大学 副学長
- 小安 重夫 先生 理化学研究所 理事
- 佐々木泰子 先生 お茶の水女子大学 学長
- 末松 誠 先生 慶應義塾大学 医学部 教授
- 永井 良三 先生 自治医科大学 学長
- 中釜 斉 先生 国立がん研究センター 理事長
- 水澤 英洋 先生 国立精神・神経医療研究センター 理事長

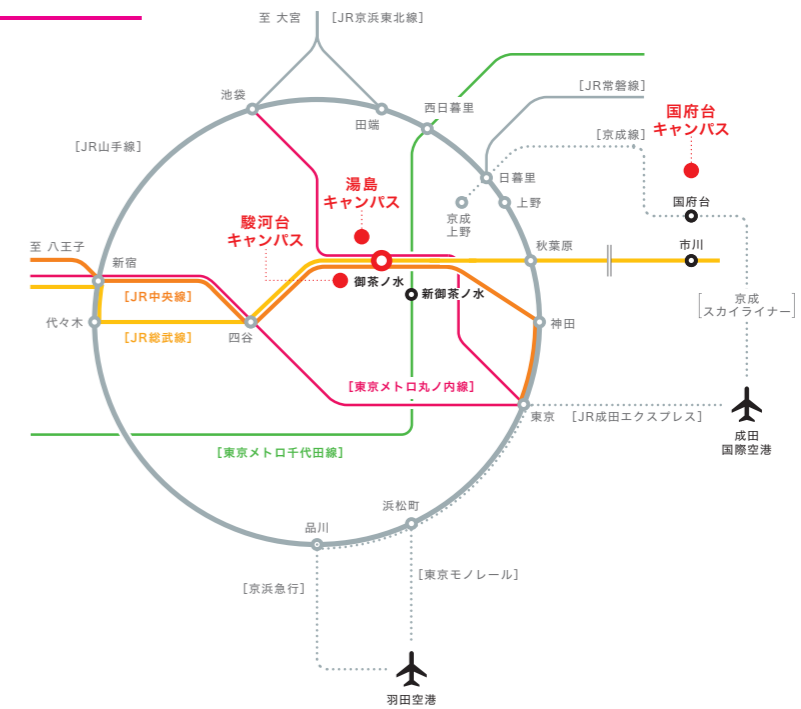
(50 音順)

案内図



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 2021

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 株式会社廣濟堂