

Annual Report 2020



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



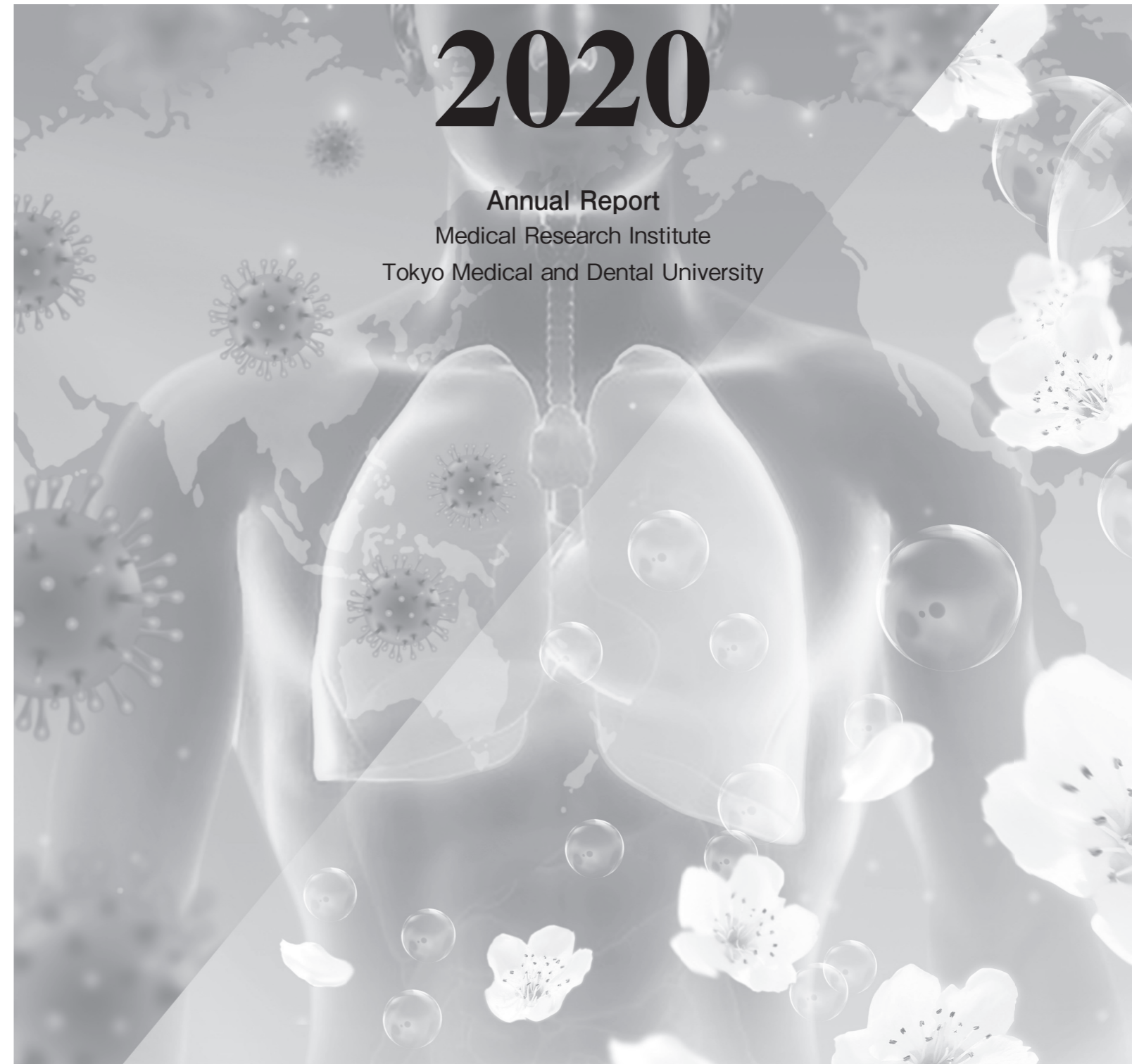
年報

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

2020

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2019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。

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に貢献しています。

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. ハイライト	6～8
5. 難治疾患共同研究拠点	10～13
6. トランスオミクス医学研究拠点ネットワーク形成事業	14～15
7. 学位取得者	16
8. 難研セミナー	17

難治疾患研究所

先端分子医学研究部門

1. 分子細胞生物学分野 20～21
2. 分子神経科学分野 22～23
3. 生体防御学分野 24～25
4. 生体情報薬理学分野 26～27
5. 幹細胞制御分野 28～29
6. 分子構造情報学分野 30～31
7. フロンティア研究室
低酸素生物学 32～33
8. フロンティア研究室
骨分子薬理学 34～35

難治病態研究部門

1. 神経病理学分野 38～39
2. 病態生理化学分野 40～41
3. 病態細胞生物学分野 42～43
4. 発生再生生物学分野 44～45
5. 幹細胞医学分野 46～47
6. 免疫疾患分野 48～49

ゲノム応用医学研究部門

1. 分子細胞遺伝学分野 52～53
2. 分子遺伝学分野 54～55
3. 分子疫学分野 56～57
4. ゲノム機能多様性分野 58～59
5. エピジェネティクス分野 60～61
6. 医科学数理分野 62～63
7. フロンティア研究室
遺伝子発現制御学 64～65

- ・病態発現機構研究部門 68～69
- ・難病基盤・応用研究
プロジェクト室 70～74
- ・大学院教育研究支援
実験施設 75～78

職員学生名簿..... 79～82

案内図..... 83

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、エピジェネティクス分野、病態細胞生物学分野、幹細胞医学分野、生体防御学分野、ゲノム病理学分野、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、フロンティア研究室遺伝子発現制御学、フロンティア研究室低酸素生物学、フロンティア研究室骨分子薬理学、事務部



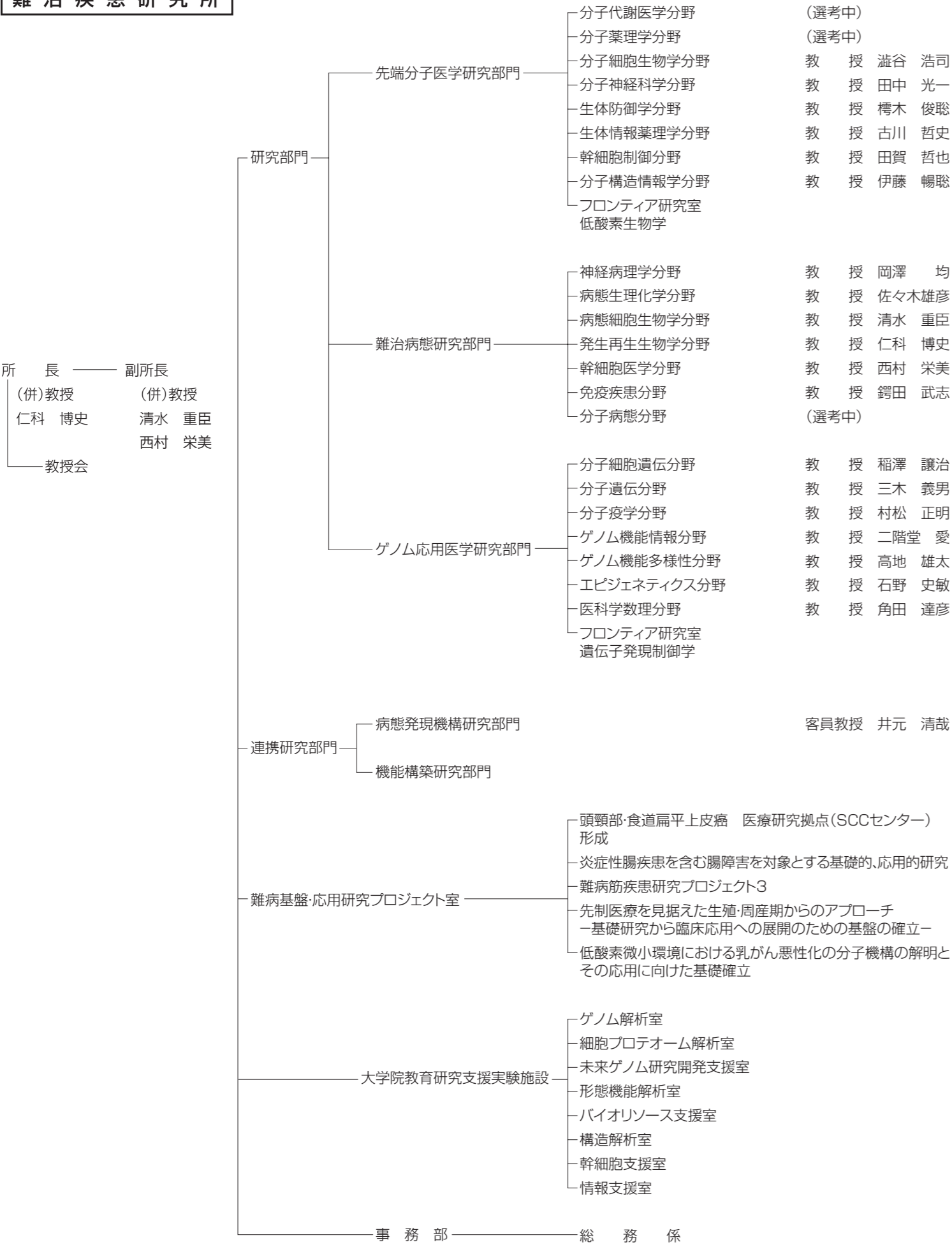
駿河台地区

〒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

2020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	1	0	1	1	
		分子神経科学分野	5	1	0	0	
		生体防御学分野	1	3	0	0	
		生体情報薬理学分野	1	0	2	0	
		幹細胞制御分野	3	3	0	1	
		分子構造情報学分野	3	0	1	0	
		フロンティア研究室 低酸素生物学	0	0	0	0	
		フロンティア研究室 骨分子薬理学	0	0	0	0	
		難治病態研究部門	神経病理学分野	2	4	0	0
	病態生理化学分野	1	0	0	1		
	病態細胞生物学分野	3	6	0	0		
	発生再生生物学分野	0	0	5	0		
	幹細胞医学分野	0	3	0	0		
	免疫疾患分野	2	0	4	4		
	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	1	4	2	1		
	分子疫学分野	1	6	0	0		
	ゲノム機能多様性分野	0	0	0	0		
	エピジェネティクス分野	1	0	2	0		
	医科学数理分野	0	0	0	0		
	フロンティア研究室 遺伝子発現制御学	0	0	0	0		
	計			26	34	17	8

●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 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	18	15	4	19	4	14	74	2	8	25	5	17	57	131

●日本学術振興会特別研究員数

区分	PD	DC1	DC2	SPD	RPD
現 員	0	0	4	0	2

ハイライト

第18回駿河台国際シンポジウム／2019年度難治疾患共同研究拠点シンポジウムを開催

2019年11月18日、鈴木章夫記念講堂（M&Dタワー2階）において第18回駿河台国際シンポジウム／2019年度難治疾患共同研究拠点シンポジウムが開催されました。

午前中は、全国共同利用共同研究拠点到認定されている難治疾患研究所の各分野と共同研究を行っている東京医科歯科大学 金井正美教授、小松大学 平山順教授、東京都健康長寿医療センター 新井富生博士、岐阜大学 石田秀治教授により、研究成果が発表されました。

午後からは第18回駿河台国際シンポジウムが開催されました。本シンポジウムは、難治疾患研究所における最先端の疾患研究、生命科学の成果を内外に広く発信するとともに、国際的な第一線級の研究者を招聘し多方面より討論することによって、新たな研究の展開をはかる目的で毎年度1回開催されています。今回は“The Future of Biomedical Science Research Pioneered by Advanced Technology”をテーマに、国内外から招待した8名の第一線研究者により最先端技術開発や同技術を用いた研究成果が発表されました。

第一部では田中光一教授の座長のもと、“The Frontier of Genome Editing Technology”をサブテーマに、東京大学大学院理学系研究科 西増弘志准教授、大阪大学高等共創研究院 鈴木啓一郎教授、マサチューセッツ工科大学マクガバン脳研究所 相田知海准教授によるゲノム編集技術に関する最新の研究成果が発表され、活発な意見交換が行われました。

第二部では理化学研究所 二階堂愛チームリーダーの座長により、“The Frontier of Single Cell Biology and Technology”をサブテーマに、Harry Perkins Institute of Medical Research (Perth, Australia) のSaskia Freytag 博士、理化学研究所 藤原裕展チームリーダー、大阪大学医学研究科 大倉永也教授によるシングルセル解析技術開発およびシングルセル解析技術を用いた成果が発表されました。

第三部では古川哲史教授の座長のもと、“The

第18回 駿河台国際シンポジウム
2019年11月18日(月) 東京医科歯科大学 M&Dタワー 2階 鈴木章夫記念講堂 13:00-17:55
18th Surugadai International Symposium & Joint Usage/Research Program of Medical Research Institute Symposium
Monday, November 18, 2019
Akio Suzuki Memorial Hall, M&D Tower 2F
Surugadai International Symposium 13:00-17:55

“The Future of Biomedical Science Research Pioneered by Advanced Technology”

Session 1
13:05
14:40
The Frontier of Genome Editing Technology

Session 2
15:00
16:30
The Frontier of Single Cell Biology and Technology

Session 3
16:50
17:50
The Frontier of iPS Technology

2019年度 難治疾患共同研究拠点シンポジウム 共同研究課題成果発表(日本語)
2019年11月18日(月)
鈴木章夫記念講堂 10:30-12:00
金井 正美 (東京医科歯科大学)
平山 順 (小松大学)
新井 富生 (東京都健康長寿医療センター)
石田 秀治 (岐阜大学)

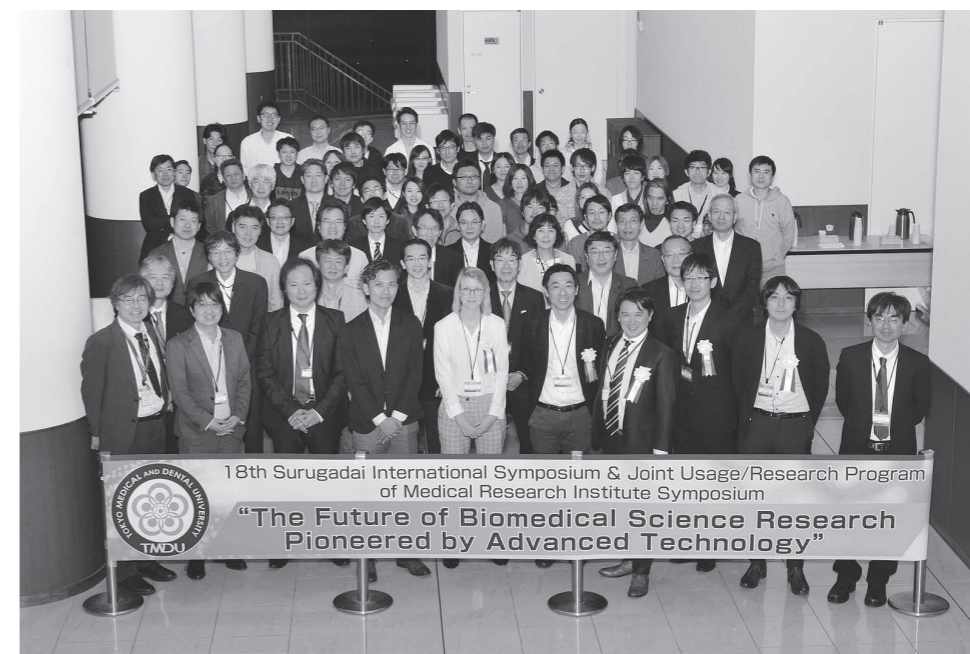
東京医科歯科大学
TMDU
難治疾患研究所
MEDICAL RESEARCH INSTITUTE

For more information visit <http://www.tmd.ac.jp/mri/>

Frontier of iPS Technology”をサブテーマに、東京大学医科学研究所 正木英樹博士、難治疾患研究所 竹内純准教授による発表がありました。

レセプションでは、吉澤靖之学長、石野史敏所長、田賀哲也副学長により祝辞が述べられ、Saskia Freytag 博士へ記念ミニ楯が授与されました。

今回のシンポジウムは、特定の研究分野ではなく、最先端技術開発(ゲノム編集技術、シングルセル解析技術、iPS技術)と関連成果に焦点が当てられました。歴史的にも、新たな技術開発は、生命医科学研究だけでなく、社会のあらゆる分野でブレイクスルーとなり未来を拓いてきました。多くの研究者は最新技術を享受することで恩恵を受けていますが、当該技術開発の重要性を再認識させられた意義深いシンポジウムとなりました。



各種受賞

神経病理学分野

田中ひかり

NEURO2019 国内トラベルアワード

「発達障害原因遺伝子 PQBP1 はアルツハイマー病態を制御する」

藤田慶大

第60回日本神経学会学術大会 一般演題 最優秀口演賞(基礎部門)

「Targeting Tyro3 ameliorates a model of PGRN-mutant FTLT-TDP via tau-mediated synaptic pathology」

分子細胞遺伝分野

玄泰行

第23回日本がん分子標的治療学会学術集会優秀ポスター賞

分子神経科学分野

加藤美波

東京医科歯科大学脳統合機能研究センター・最優秀ポスター賞

病態細胞生物学分野

荒川聡子

風戸賞

「Discovery of Atg5/Atg7-independent alternative macroautophagy」

幹細胞医学分野

劉 楠

第8回細胞競合コロキウム優秀口頭発表賞

「Stem cell competition orchestrates skin homeostasis and ageing」

松村寛行

Japan-Singapore Skin international conference 2019 Poster prize

「Stem cell competition and division govern skin homeostasis and ageing」

2019年難治疾患研究所優秀論文賞

最優秀論文賞

劉 楠、松村寛行(幹細胞医学分野)

Stem cell competition orchestrates skin homeostasis and ageing

Nature

優秀論文賞

五木田憲太朗(分子細胞遺伝分野)

Therapeutic potential of LNP-mediated delivery of miR-634 for cancer therapy

Molecular Therapy-Nucleic Acids

特許

神経病理学分野

【申請】

特願 2019-112658・岡澤 均

軽度認知障害の診断マーカー

2019年6月18日出願(株式会社シノテストとの共同出願)

特願 2019-145259・岡澤 均

軽度認知障害の予防又は治療剤

2019年8月7日出願

【登録】

「脊髄小脳変性症を予防又は治療するための薬剤」

日本国特許第 6606428 号

2019年10月25日登録

「アルツハイマー病の診断方法、診断薬、治療薬、及びこれら薬剤のスクリーニング方法」

日本国特許第 6584322 号

2019年9月13日登録

生体情報薬理学分野

発明の名称：心房性不整脈検査方法及び心房性不整脈検査システム

特許出願番号：特願 2019-015761

特許出願日：2019/01/31

出願者：笹野哲郎、古川哲史、コニカミノルタ株式会社

発明の名称：頻脈性不整脈検査方法および頻脈性不整脈検査システム

特許出願番号：特願

特許出願日：2019/03/20

出願者：笹野哲郎、山添正博、古川哲史、コニカミノルタ株式会社

分子細胞遺伝分野

〈特許取得－国内〉

2019年9月20日、登録番号：6587142

「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」

稲澤譲治・井上純・山本信祐・河野辰幸・小崎健一

国立大学法人東京医科歯科大学

幹細胞医学分野

日本特許出願番号：特願 2019-059616

出願日：2019年3月27日

発明の名称：『皮膚用組成物』

発明者：西村栄美

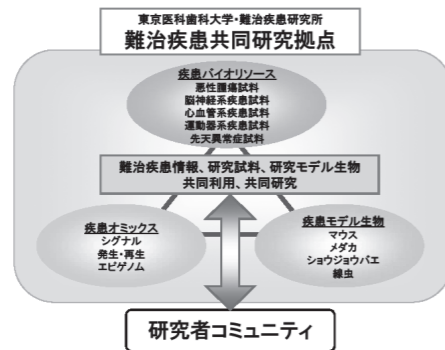
特許出願人：国立大学法人 東京医科歯科大学

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。



2019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
Alok Sharma (理化学研究所) 角田 達彦教授 (医科学数理分野)	人工知能でゲノミクスを 一遺伝子など非画像データを深層学習で扱う方法	DeepInsight: A methodology to transform a non-image data to an image for convolution neural network architecture. <i>Scientific Reports</i> , 9, 11399 (2019).
岩田 淳准教授 (東京大学) 岡澤 均教授、田中ひかり大学院生 (神経病理学分野)	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	YAP-dependent necrosis occurs in early stages of Alzheimer's disease and regulates mouse model pathology <i>Nature Communications</i> 11,507 (2020)
片桐豊雅 教授 (徳島大学) 三木義男 教授 (分子遺伝学分野)	大規模な日本人集団におけるゲノムワイド関連研究による2種の新規乳がん遺伝子座の同定	Identification of two novel breast cancer loci through large-scale genome-wide association study in the Japanese population. <i>Scientific Reports</i> . 2019 Nov 22;9 (1) :17332
神吉康晴 助教 (東京大学アイソトープ総合センター) 東島佳毅 日本学術振興会特別研究員 (PD)、 古川哲史 教授 (生体情報薬理学分野)	動脈硬化における炎症の新しいメカニズムを解明	Coordinated demethylation of H3K9 and H3K27 is required for rapid inflammatory responses of endothelial cells <i>EMBO Journal</i> 2020 Mar3e103949

2019年度採択課題

1) 戦略的課題 3件

代表者	職名	所属機関	研究題目
金児 - 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
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
森尾 友宏	教授	東京医科歯科大学	先天性肺胞蛋白症の発症機序の解明と効果的治療法の開発

2) 挑戦的課題 4件

代表者	職名	所属機関	研究題目
笹野 哲郎	教授	東京医科歯科大学	頻脈誘発性心筋症における pannexin-1 の役割の研究
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
木村 太一	医長	国立病院機構北海道医療センター	滑膜肉腫幹細胞における異型クロマチン再構成複合体の解析と新規治療標的の探索
岩坪 戒	教授	東京大学医学系研究科	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

3) 一般的課題 38件

代表者	職名	所属機関	研究題目
和田洋一郎	教授	東京大学アイソトープ総合センター	血管内皮細胞特異的エピゲノム制御による新規動脈硬化治療法の開発
小内 伸幸	教授	金沢医科大学医学部免疫学講座	新規多能性前駆細胞の同定と血液細胞分化経路の解明
平山 順	教授	公立小松大学健康医療学部	ゼブラフィッシュモデルを用いた体内時計の形成機構の解明
曾根 雅紀	准教授	東邦大学理学部	モデルショ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
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
岩田 淳	准教授	東京大学大学院医学系研究科	アルツハイマー病の新規サロゲートマーカーの開発
横田 隆徳	教授	東京医科歯科大学	制御性B細胞を標的とした神経免疫疾患治療法の開発
岩崎 雄吾	准教授	名古屋大学生命農学研究科	新規がん関連グリセロリン脂質の同定
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
小川 英知	准教授	大阪大学生命機能研究科	性ホルモン結合因子遺伝子破壊モデルを用いた心筋緻密化障害発病機序の理解
森 良之	教授	自治医科大学医学部歯科口腔外科学	舌癌オルガノイドバイオバンクの確立とこれを用いた舌癌予後予測および薬剤効果予測バイオマーカーの探索
織田 昌幸	教授	京都府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
水島 恒和	寄附講座教授	大阪大学大学院医学系研究科	オートファジー誘導食品および生薬の腸炎モデルマウスに対する治療効果
宮坂 尚幸	教授	東京医科歯科大学	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	細胞内シグナル伝達を高度に制御する非ペプチド性 PDZ ドメイン阻害剤の合理的設計
二藤 彰	教授	鶴見大学歯学部	腱・靭帯細胞における Anxa 5 機能の解明
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
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	マイクロ RNA 核酸抗がん剤を用いた癌個別化治療戦略の開発
大澤光次郎	特命助教	京都大学 iPS 細胞研究所	胎仔大動脈に認める造血幹細胞を含む血液細胞塊細胞の遺伝子発現解析
西頭 英起	教授	宮崎大学医学部機能生化学	小胞体-ミトコンドリア連携を介した脂肪萎縮症病態メカニズムの解明
早田 匡芳	准教授	東京理科大学薬学部	骨・関節疾患における新規 RNA 制御サーキットの解明
川上 秀史	教授	広島大学原爆放射線医学研究所	optineurin 変異モデル動物による神経変性研究
山崎 正和	准教授	秋田大学大学院医学系研究科	ショウジョウバエを用いた腫瘍形成に関わる Pis 分子種の解析
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
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
黒田 裕	教授	東京農工大学大学院工学研究院	Deng・エンペロー糖蛋白質第3ドメイン (DEN-ED3) の構造・物性解析
金井 正美	教授	東京医科歯科大学	胎生期の血液細胞塊における転写因子 Sox17 の未分化性維持への関わり
甲斐田大輔	准教授	富山大学大学院医学薬学研究部 (医学)	プロテアソームの不活性化が老化を引き起こすメカニズムの解析
津田 均	教授	防衛医科大学校病態病理部講座	栄養代謝特性を基盤とした新たな癌治療戦略の確立
石谷 太	教授	群馬大学生体調節研究所	モルフォゲン勾配を介した細胞品質管理機構の解析
千葉奈津子	教授	東北大学加齢医学研究所	乳癌発がんにおける BRCA1/2 タンパク機能の統合的理解
角舎 学行	講師	広島大学原爆放射線医学研究所	乳癌幹細胞の薬剤感受性における低酸素・Wnt5a シグナル経路の役割の解明
谷山 義明	招聘教授	大阪大学大学院医学系研究科	ベリオスチンバリアントの発現変動が関与する心不全に対する治療・予防法の開発
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
西田 満	准教授	神戸大学大学院医学研究科	がん細胞浸潤を制御する新規 Wnt5a-Ror1 シグナルの分子機構の解明
市川 大輔	教授	山梨大学医学部	癌の特性を制御するマイクロ RNA の探索と核酸抗がん剤に最適な DDS の開発
片桐 豊雅	教授	徳島大学先端薬学研究所	日本人女性の乳がん発生リスク予測モデルの構築
片岡 直行	特任准教授	東京大学農学生命科学研究科	がんや神経疾患の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

4) 国際共同研究 12件

代表者	職名	所属機関	研究題目
Sharma Ronesh Asnil	Lecturer	Fiji National University	Analysis and prediction of disease-associated viral infections
Liu Jun	Research fellow	Department of Immunology, Fudan University	Role of the lysosomal protein LAPTM5 in B cell tolerance
Marius Sudol	Adjunct Associate Professor	Icahn School of Medicine at Mount Sinai	Mouse model of the Golabi-Ito-Hall (GIH) syndrome of intellectual disability phenocopies severe autism
Yong-Sang Song	Professor	Department of Obstetrics and Gynecology, Seoul University College of Medicine	Genomics, bioinformatics and systems medicine to facilitate therapy of ovarian cancer
Mark Bradley	Professor	School of Chemistry, The University of Edinburgh	Niche mimicking polymer-based regulation of cancer stem cells (CSCs)
Hajime Hirase	Professor	Center for Translational Neuromedicine, University of Copenhagen	Chronic monitoring of energy metabolism in the mouse nervous system
Yoshinori Takahashi	Assistant Professor	Penn State College of Medicine	The role of Bif-1 in alternative autophagy
Makoto Inoue	Assistant Professor	University of Illinois at Urbana-Champaign	Early-life trauma induces neuropsychiatric disorders in autoimmune disease via altered immune system
Penninger, Josef, M	Director & Professor	Life Science Institute, University of British Columbia	Roles of MKK7 in the adult nervous system
Weisman Lois S	Professor	Life Science Institute, and Department of Cell and Developmental Biology, University of Michigan	Phosphoinositide-dependent regulation of mTORC1 localization and activity
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
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

5) 研究会 2件

代表者	職名	所属機関	研究題目
片桐 豊雅	教授	徳島大学先端酵素学研究所	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 細胞死コロキウム

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

開催日	講師	演題
第24回 / 2019年6月28日	佐々木雄彦 教授	良い脂質、悪い脂質、普通の脂質
	江面 陽一 准教授	骨系難病 – 骨粗鬆症との関係 –
第25回 / 2019年10月18日	清水 重臣 教授	新陳代謝の本質とその破綻から生じる病気
	中山 恒 准教授	健康と病気にかかわる体内の酸素のはたらき

※第26回（2020年2月28日開催予定）は中止

第18回駿河台国際シンポジウム / 難治疾患共同研究拠点シンポジウム (2019.11.18開催)



第14回生命科学研究所ネットワーク国際シンポジウム (2019.10.2~3開催)



難治疾患研究所市民公開講座 最先端生命科学講座シリーズ第24回 (2019.6.28開催)

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 市民公開講座 最先端生命科学講座シリーズ 第24回

開催日: 令和元年 6月28日(金) 午後7時~9時
 会場: スカイホール(文京シビックセンター)26階
 文京区春日1-16-21
 主催: 東京医科歯科大学・文京区・公益財団法人文京アカデミー

演題1: 良い脂質、悪い脂質、普通の脂質
 講師: 佐々木 雄彦 (徳島大学先端酵素学研究所) 教授
 演題2: 骨系難病 – 骨粗鬆症との関係 –
 講師: 江面 陽一 (難治疾患研究所 遺伝病) 准教授

みなさまのご参加をお待ちしております(定員90名・入場無料)

難治疾患研究所市民公開講座 最先端生命科学講座シリーズ第25回 (2019.10.18開催)

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 市民公開講座 最先端生命科学講座シリーズ 第25回

開催日: 令和元年 10月18日(金) 午後7時~9時
 会場: スカイホール(文京シビックセンター)26階
 文京区春日1-16-21
 主催: 東京医科歯科大学・文京区・公益財団法人文京アカデミー

演題1: 新陳代謝の本質とその破綻から生じる病気
 講師: 清水 重臣 (徳島大学先端酵素学研究所) 教授
 演題2: 健康と病気にかかわる体内の酸素のはたらき
 講師: 中山 恒 (難治疾患研究所 遺伝病) 准教授

みなさまのご参加をお待ちしております(定員90名・入場無料)

トランスオミクス医学研究拠点ネットワーク形成事業

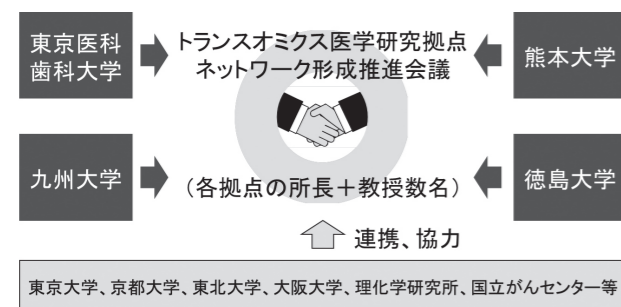
東京医科歯科大学難治疾患研究所は、2016年4月より、トランスオミクス研究教育拠点の構築を目指し、文部科学省の支援を受けて九州大学、熊本大学、徳島大学の共同利用・共同研究拠点と協力して「トランスオミクス医学研究拠点ネットワーク形成事業」を推進しています。

【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）



【2019年度の活動内容】

- ・合同研究シンポジウム
- 第4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
- Trans-Omics for Advanced Medical Sciences
 - 日時：2019年11月14日－15日
 - 場所：徳島大学 藤井節郎記念医科学センター1階 藤井節郎記念ホール

難治疾患研究所からの参加発表者（4名）

高地雄太（ゲノム機能多能性分野 教授）

What can we learn from eQTL studies in disease genetics?

古川哲史（生体情報薬理学分野 教授）

Trans-omics approach for precision medicine of atrial fibrillation.

李 知英（エピジェネティクス分野 准教授）

Generation of structural and functional heart organoids from mouse embryonic stem cells.

Yikelamu Alifu（発生再生生物学分野 大学院生 D2）

The clock components Period2, Cryptochromel₁, and Cryptochrome2a function in establishing light-dependent behavioral rhythms and/or total activity levels in zebrafish.

・技術講習会

第3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：2019年3月7日

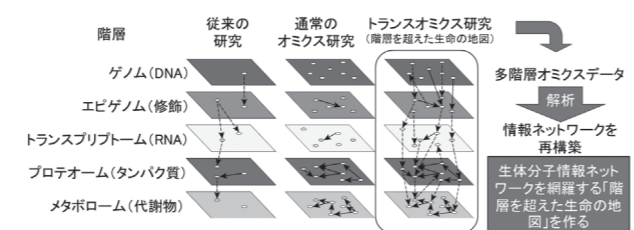
■場所：M & Dタワー11階 大学院講義室3

原田哲二（九州大学生体防御医学研究所 トランスクリプトミクス分野 助教）

「極微量サンプルからのクロマチン修飾解析を可能にする ChIL-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」



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。

学位取得者

生体情報薬理学分野

Xioaxi Yang

「The role of a rare variant in *TKS5* in pathogenesis of atrial fibrillation (AF)」

分子細胞遺伝学分野

平林恭子

「Copy number variation analysis in 83 children with early-onset developmental and epileptic encephalopathy after targeted resequencing of a 109-epilepsy gene panel.」

五木田憲太郎

「Therapeutic potential of LNP-mediated delivery of miR-634 for cancer therapy.」

免疫疾患分野

FENG Yang-yang

「Essential role of NADPH oxidase-dependent production of reactive oxygen species in maintenance of sustained B cell receptor signaling and B cell proliferation」

病態細胞生物学分野

杉本夕奈

「Prediction of intracellular targets of a small compound by analyzing peptides presented on MHC class I.」

野口沙央理

「Beclin 1 regulates recycling endosome and is required for skin development in mice.」

中井美由紀

「Caspase-dependent cleavage of PARL, a mitochondrial protein, during apoptosis.」

遠藤葉月

「Analysis of the Non-Apoptotic Anoikis.」

分子疫学分野

シルパ・パヴェシナット

「Metabolic and Immunological Shifts during Mid-to-Late Gestation Influence Maternal Blood Methylation of CPT1A and SREBF1」

幹細胞医学分野

村口太一

「IGF-1R Deficiency in Human Keratinocytes Disrupts Epidermal Homeostasis and Stem Cell Maintenance」

幹細胞制御分野

齋藤清香

「Maintenance of hematopoietic stem and progenitor cells in fetal intra-aortic hematopoietic clusters by the Sox17-Notch1-Hes1 axis.」

難研セミナー

2018年度大学院生研究発表会・若手研究者研究発表会

2019年3月14日

Yikelamu Alifu (発生再生生物学分野)
The clock components Period2, Cryptochrome1a, and Cryptochrome2a function in establishing light-dependent behavioral rhythms and/or total activity levels in zebrafish
FENG YANGYANG (免疫疾患分野)
Essential role of NADPH oxidase-dependent production of reactive oxygen species in maintenance of sustained B cell receptor signaling and B cell proliferation
中井 美由紀 (病態細胞生物学分野)
アポトーシス時に観察されるミトコンドリア膜タンパク質 PARL の Caspase 依存的な切断
柳 のど香 (生体情報薬理学分野)
クロマチンリモデリング因子 "Arip4" は Notch シグナルを介した心筋緻密化障害の発症を抑制する

2018年度難治疾患研究所基礎研究奨励費採択者講演会

2019年3月14日

金山 剛士 (生体防衛学分野)
リンパ球前駆細胞由来ミエロイド細胞の分化機構および機能解析
平岡 優一 (分子神経科学分野)
時空間条件特異的マルチモーダル遺伝子ノックダウンマウスの開発
佐々木 純子 (病態生理化学分野)
卵巣の性維持に関する研究

2018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

2019年3月14日

石田 紗恵子 (分子神経科学分野)
体細胞変異の難治性てんかんに与える影響
鳥居 暁 (病態細胞生物学分野)
CHCHD2 変異によるパーキンソン病の発症メカニズム解明

2018年難治疾患研究所優秀論文賞受賞者講演会

2019年3月14日

藤田 慶大 (神経病理学分野)
Targeting Tyro3 ameliorates a model of PGRN-mutant FTLT-DTP via tau-mediated synaptic pathology.
與那城 亮 (難病基盤・応用研究プロジェクト)
Pyruvate dehydrogenase PDH-E1 β controls tumor progression by altering the metabolic status of cancer cells
田中 ひかり (神経病理学分野)
The intellectual disability gene PQBP1 rescues Alzheimer's disease pathology.

難研セミナー／難治疾患共同研究拠点セミナー

第593回／第166回

林 悠 准教授

(筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構)

夢の技術で挑む、睡眠の意義解明と難治疾患克服

2019年5月15日

第594回／第167回

中田 慎一郎 教授
(大阪大学高等共創研究院)
DNA2 本鎖切断応答の分子機構解明から正確・効率的なゲノム編集法の開発へ
2019年5月15日

第595回／第168回

矢澤 真幸 Assistant Professor
(コロンビア大学リハビリテーション・再生医療学科)
iPS細胞によって広がる難治疾患への承認薬転用の可能性
2019年5月22日

第596回／第169回

谷口 俊恭 教授
(東海大学医学部医学科)
DNA修復とがん：Fanconi anemia から広がる世界
2019年6月5日

第598回／第171回

片桐 豊雅 教授
(徳島大学先端酵素学研究所ゲノム制御学分野)
乳がん治療刷新を目指した抑制因子活性化創薬とトランスレショナル研究
2019年6月10日

第599回／第172回

佐原 真 准教授
(カロリンスカ研究所・医科大学 内科／細胞分子生物学部門)
心臓発生と先天性心疾患における未知なる心臓幹・前駆細胞とバラクライン調節因子の役割解明と治療応用への展開
2019年6月25日

第600回／第173回

松井 秀彰 テニユアトラック准教授
(新潟大学 研究推進機構 (脳研究所))
小型魚類で明らかにする神経難病のメカニズム
2019年7月23日

第601回／第174回

Prof. Marius SUDOL
(National University of Singapore, Mechanobiology Institute, Department of Physiology)
Role of WW domain-containing proteins in mechanotransduction, Golabi-Ito-Hall syndrome and Ebola virus egress
2019年7月16日

第602回／第175回

Prof. John Milton Lucocq
(Structural Cell Biology Group, School of Medicine
University of St Andrews)
From 2D image to 3D reality? quantifying the endomembrane "morphome" using electron microscopy.
2019年9月19日

第603回／第176回

佐々木 敦朗 准教授
(シンシナティ大学医学部／慶應義塾大学先端生命科学研究所・特任教授)
GTP代謝からみる細胞機能と疾患
2019年9月20日

第604回／第178回

深見 希代子 教授
(東京薬科大学生命科学部ゲノム病態医科学研究室)
イノシトールリン脂質代謝による上皮細胞の分化と維持機構
2019年11月1日

第605回／第179回

Prof. BART VANHAESEBROECK
(University College London, UCL Cancer Institute - Faculty of Medical Sciences)
PI 3-kinase isoforms in health & disease
2019年12月4日

第606回／第181回

高橋 義徳 Assistant Professor
(Department of Pediatrics, Penn State University College of Medicine)
Harnessing Autophagy for Cancer Therapy: mechanistic insight into the intracellular trash bag sealing process
2020年1月9日

若手研究者企画難研セミナー／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1回／第177回

黒田 公美 チームリーダー
(理化学研究所脳神経科学研究センター 親和性社会行動研究チーム)
哺乳類の子育て行動の神経生物学的基盤
2019年10月23日

第2回／第180回／第1回

伊藤 俊樹 教授
(神戸大学バイオシグナル総合センター)
生体膜の形状と張力による細胞運動の制御機構
2020年1月17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

- がん微小環境内において IL-8 がグルコース輸送体である GLUT3 とグルコース消費を解糖系から GlcNAc 合成経路に変換する GFAT の発現を誘導することを示した。

分子神経科学

- グルタミン酸輸送体 GLAST の機能異常は、PCP の繰り返し投与による情動・認知機能障害に重要な役割を果たす。
- 背側前脳特異的 GATOR1 複合体欠損マウスは、自発性てんかん発作と大脳皮質形成異常を示す。

生体防御学

- 新規ミクログリアスーパーエンハンサーの同定。
- ストレス環境下で真の造血応答を観察できる新規表面マーカーの同定。
- ヒト舌癌オルガノイドバイオバンクの確立。

生体情報薬理学

- 心房細動の発症・重症化に関する循環血液中バイオマーカーを特定した。
- 初期中胚葉性細胞から心臓中胚葉性細胞への分化を決定つける重要因子を特定した。
- 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

- 胎生期 AGM 造血におけるエピジェネティック因子 TET 1 の関与の解明
- 脳腫瘍の新規治療法開発に向けたニッチ構築がん幹細胞の分離と制御

分子構造情報学

- アルツハイマー病の発症原因のひとつであるタウタンパク質の凝集における仮説「シスタウオーシス」を強く否定する実験結果を得た。
- VDR や RXR などの核内受容体 RXR と種々の低分子化合物との複合体の結晶構造を解明した。

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：佐藤 淳（～2019年8月）、清水幹容（2019年9月～）

研究内容

がん幹細胞（Cancer Stem Cells, CSCs）は、腫瘍形成モデルの一つとして提唱されている細胞集団である。1997年に急性骨髄性白血病で初めてその存在が同定され、その後、多くの固形がんにも存在することが報告されてきた。CSCsは腫瘍形成能、自己複製能、薬剤耐性能をもつとされ、近年、がんの転移や再発といった悪性化に対して、CSCsの重要性が指摘されている。よってCSCsの発生を阻止することが出来れば非常に有用ながん治療法となることが期待される。

がん微小環境内ではがん細胞だけでなく、免疫細胞やがん関連線維芽細胞など、多くの細胞が含まれている。これらの細胞は様々なサイトカインやケモカインを分泌し、がんの悪性化に重要な機能を持つことから、CSCsの発生・維持に関与すると考えられている。しかし、がん微小環境内におけるCSCsの制御機構は不明な点が多い。現在、大腸がん、肺がんに焦点を当て、3次元培養によるスフェロイド形成を利用して、サイトカイン・ケモカイン等の液性因子によるCSCsの発生・維持機構の解析を行っている。

研究紹介

本研究では、CSCsの制御機構を解析する上で、3次元培養によるスフェロイド形成を用いている。一般的に用いられる接着性プレート上での2次元培養法は、生体内における環境とは大きく異なりがん細胞がもつ本来の性質の多くが失われていると推測される。一方、3次元培養法であるスフェロイド培養は、2次元培養法に比べてがん細胞の生物学的性質や不均一性をより反映している。また、スフェロイド培養はCSCsの特性を持つ細胞集団を選択的に増殖しうる培養法としても知られており、実際に我々は大腸がん細胞を用いて、スフェロイドを形成した細胞集団がCSCsの特徴である腫瘍形成能をもつことを示している。

1. 炎症性ケモカインIL-8はCSCsの発生・維持に重要である。

まずCSCsの制御に関与する液性因子を特定するた

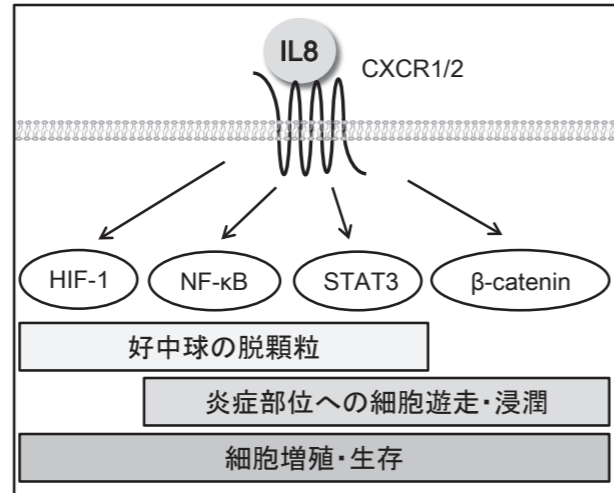


図1 炎症部位でのIL-8による遺伝子誘導と細胞応答

め、スフェロイド形成中の培養液に含まれる液性因子を網羅的に解析すると、ケモカインであるIL-8が非常に多く分泌されていることがわかった。IL-8は炎症性の刺激に応じて免疫系の細胞や炎症部位の細胞から分泌される液性因子であり、CXCR1/2受容体を介して様々な遺伝子発現変化と細胞応答を引き起こす（図1）。そのためIL-8の発現は厳密に制御されており、正常な組織では検出できないほど非常に低い。一方でIL-8は、ほぼ全ての固形がんを高発現しており、その発現量はがんの転移や再発、生存率と相関関係があることから、がん幹細胞の発生・維持に関与することが強く示唆される。実際に、IL-8で処理した大腸がんおよび肺がん細胞ではスフェロイド形成が促進し、一方でIL-8をノックダウンすることでスフェロイド形成が抑制された。以上のことから、IL-8ががん微小環境内においてCSCsの制御に重要な機能をもつと考えられる。

2. IL-8は糖代謝関連遺伝子であるGLUT3とGFATの発現を誘導し、O-GlcNAc修飾を制御する。

大腸がんおよび肺がん細胞をIL-8処理した際の遺伝子発現を解析したところ、グルコースの取り込みを制御するGLUT3の発現が非常に強く誘導されることが明らかになった。一方、細胞膜に局在している他のGLUTファミリーであるGLUT1、GLUT2、GLUT4の発現に

は全く影響がみられなかった。また、IL-8で処理することでGLUT3の発現誘導に伴いグルコースの取り込み量の増加が確認され、このことから炎症性ケモカインIL-8はGLUT3の発現を制御しグルコースの取り込みを調節することでCSCsの発生・維持に関与していることが示唆された。興味深いことに、解糖系の指標となる細胞内ATP・ピルビン酸・乳酸レベルはIL-8処理により変化しないことが示され、取り込まれたグルコースは解糖系に使用されていないと推測された。

O-GlcNAc修飾は翻訳後修飾のひとつであり、タンパク質のセリンまたはスレオニン残基にN-アセチルグルコサミン（GlcNAc）が付加されることで、そのタンパク質の活性や安定性を制御している。GlcNAcは、解糖系の中間生成物であるフルクトース6リン酸から派生するヘキソサミン経路により合成される。そこで我々は、IL-8により取り込まれたグルコースが解糖系ではなくヘキソサミン経路に使用されているのではないかと考えた。結果として、IL-8処理した細胞はタンパク質のO-GlcNAc修飾が増大すると共に、解糖系からヘキソサミン経路へと変換する律速酵素であるGFATの発現が誘導されることが明らかとなった。また、IL-8によるO-GlcNAc修飾の増大は、GLUT3またはGFATのノックダウンにより減少した。さらに、IL-8をノックダウンすることでO-GlcNAc修飾の減少が確認され、このときGLUT3を発現させることで回復がみられた。これらの結果から、IL-8はGLUT3とGFATの発現を介してタンパク質のO-GlcNAc修飾を制御することが示された。

3. IL-8はGLUT3とGFATを介してO-GlcNAc修飾を促進することで、がん幹細胞を制御する。

O-GlcNAc修飾は、大腸がんや肺がんを含む多くのがんにおいて、転移や再発と密接に関与している。そこで

我々は、IL-8-GLUT3/GFAT-O-GlcNAc経路がCSCsの発生・維持に重要な解析を行ったところ、IL-8処理により増大したスフェロイドは、GLUT3またはGFATをノックダウンすることで減少が確認された。また、IL-8をノックダウンすることで観察されたスフェロイドおよび腫瘍サイズの減少は、GLUT3を発現させることで回復した。

以上の結果から、がん微小環境内において、IL-8はグルコース輸送体であるGLUT3と、グルコース消費を解糖系からGlcNAc合成経路に変換するGFATの発現を誘導することが示された。これによりグルコース取り込み量の増加とGlcNAc合成経路の活性化が促進され、最終的にタンパク質のO-GlcNAc修飾が増大することでCSCsの機能が維持されることが明らかとなった（図2）。一方で、これまでの研究から、全てのCSCsがIL-8依存的に制御されるわけではないこともわかってきた。IL-8で制御される細胞集団の違いに着目し、「癌細胞の不均一性」がもたらすIL-8依存的なCSCs制御機構の解明を目指して、今後も解析を続けていく。

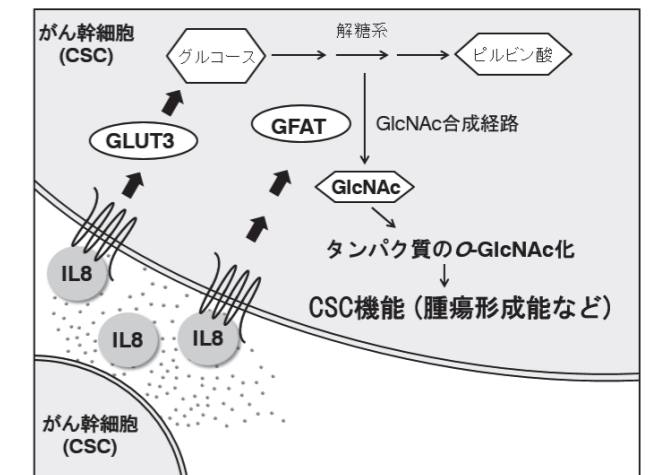


図2 IL-8によるがん幹細胞（CSC）機能の制御機構

研究業績

Shimizu M and Tanaka N. IL-8-induced O-GlcNAc

modification via GLUT3 and GFAT regulates cancer stem cell-like properties in colon and lung cancer cells. *Oncogene* 38, 1520-33 (2019).

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、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 (図1)。

遺伝子解析から、GLASTの1コピーを欠失している統合失調症の患者が報告された。我々は、GLAST欠損マウスが、新規環境における活動亢進 (陽性症状に相当)、巣づくりなどの社会行動の異常 (陰性症状に相当)、視覚弁別学習能の障害 (認知障害に相当) などの統合失

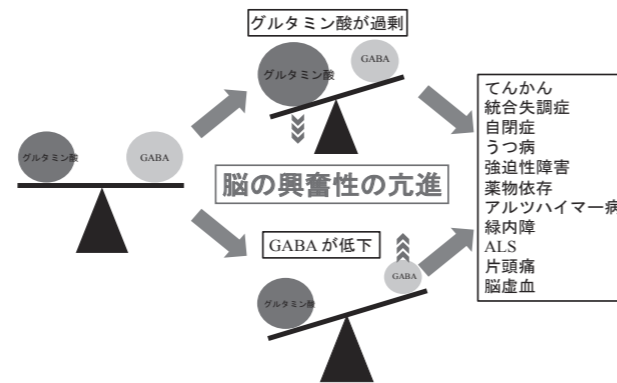


図1 グルタミン酸トランスポーターの機能異常による興奮と抑制のアンバランスが様々な精神神経疾患を引き起こす

調症様症状を示すことを報告した。本年度は、統合失調症の薬理的モデルである phencyclidine (PCP) 切り返し投与モデルにおける GLAST の役割を解析した。PCP を野生型マウスに繰り返し投与すると、グルタミン酸の放出の減少・GLAST の発現増加が観察され、強制水泳試験の無動時間の増加や新規物体探索試験に異常が起こる。しかし、GLASTヘテロ欠損マウスにPCPを繰り返し投与しても、強制水泳試験や新規物体探索試験に異常は観察されない。これらの結果は、PCP繰り返し投与による起こる統合失調症様症状には、GLASTの発現増加によるグルタミン酸シナプス伝達の障害が関与することを示唆している。脳の正常な活動のためには、適切な量のGLASTの発現が必須である。また、GLASTは統合失調症の新規薬物の標的として有用である。

2. GATOR1 複合体の異常が焦点性てんかんに与える影響の解明

「てんかん」は、神経細胞の過度な放電に由来する反復性発作を特徴とし、多種多様な臨床症状を示す。人口の約1%に生じる頻度の高い神経疾患であるが、多くの場合は根本的な治療法がなく、抗てんかん薬を長期間服用する対症療法に頼らざるを得ない。さらに、患者の約30%は抗てんかん薬も効かない難治性である。そのため、新たな治療・予防法の開発が急務となっている。

神経異常発火部位が脳半球の一部に限局される「焦点性てんかん」は、成人てんかんの半数を占める。この

焦点性てんかん発症の約10%にGap activity toward Rags 1 (GATOR1) 複合体の異常が関与している。GATOR1複合体は、DEP domain containing protein 5 (DEPDC5)、Nitrogen permease regulator 2/3-like protein (NPRL2, NPRL3) から構成される複合体であり、細胞の成長・増殖等を制御する mechanistic target of rapamycin complex1 (mTORC1) 経路を抑制する (図2)。しかしながら、GATOR1複合体の神経系での機能は明らかになっていない。我々は、モデルマウスを作製・

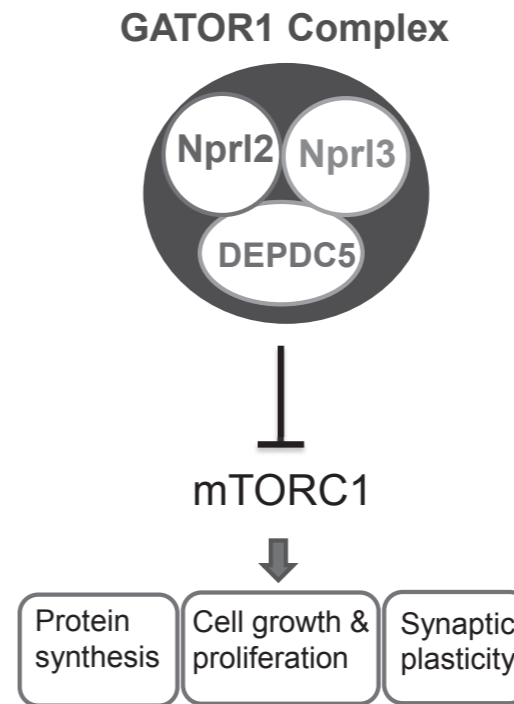


図2 GATOR1 複合体と mTORC1 経路

解析することにより、GATOR1 複合体の機能、およびその異常によるてんかん発症機序の解明を目指している。

GATOR1 複合体を構成する DEPDC5、NPRL2、NPRL3 の各全身性 knockout (KO) マウスは全て胎生致死を示し、成体においてそれらの機能を解析することは不可能であった。そこで、本年度は多くの患者で神経異常興奮が認められる大脳皮質に着目し、大脳皮質特異的に各遺伝子が KO された conditional knockout (cKO) マウスをそれぞれ作製した。表現型解析の結果、各 cKO マウスは、患者と同様に自発性のてんかん発作および、大脳皮質形成異常を示すことが明らかになり、てんかんモデルマウスとして有用であることが示された (図3)。今後、これらのマウスの更なる解析を通じて、発症メカニズムの解明研究を推進する。

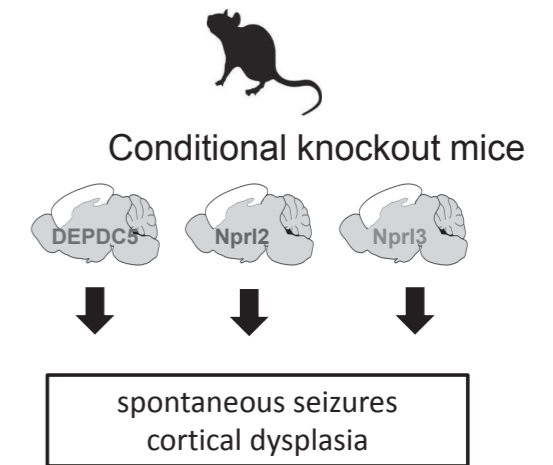


図3 大脳皮質特異的 KO マウスはてんかん発作と皮質形成異常を示す

人事異動

転入: 松浦稜、加藤美波 (修士課程)、谷茶みづき、片山真吾 (研究実践プログラム)

転出: 半田剛久 (博士課程)、萩原くるみ (修士課程)、Cheng Zhao (研究生)

業績目録

発表論文

1. Uchida M, Hida H, Mori K, Yoshimi A,

Kitagaki S, Yamada K, Hiraoka Y, Aida T, Tanaka K, Ozaki N, Noda Y. Functional roles of the glial glutamate transporter (GLAST) in emotional and cognitive abnormalities of mice after repeated phencyclidine administration. *Eur Neuropsychopharmacol* 29. 914-924, 2019.
2. Yamada T, Takechi M, Yokoyama N, Hiraoka Y, Ishikubo H, Usami T, Furutera T, Taga Y, Hirate Y, Kanai-Azuma M, Yoda T, Ogawa-Goto K, Iseki S. Heterozygous mutation of the splicing factor Sf3b4 affects development of the axial skeleton and forebrain in mouse. *Dev Dyn* doi: 10.1002/dvdy.148. 2020.
3. Hirayama T, Hiraoka Y, Kitamura E,

Miyazaki S, Horie K, Fukuda T, Hidema S, Koike M, Itakura A, Takeda S, Nishimori K. Oxytocin induced labor causes region and sex-specific transient oligodendrocyte cell death in neonatal mouse brain. *J Obstet Gynaecol* 46. 66-78, 2020.
4. Mulati M, Kobayashi Y, Takahashi A, Numata H, Saito M, Hiraoka Y, Ochi H, Sato S, Ezura Y, Yuasa M, Hirai T, Yoshii T, Okawa A, Inose H. The long noncoding RNA Crnde regulates osteoblast proliferation through the Wnt/ β -catenin signaling pathway in mice. *Bone* 130. 115076, 2020.

先端分子医学研究部門 生体防御学分野

教授：樗木俊聡 講師：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）
日本学術振興会特別研究員：梶田美穂子
技術補佐員：黒田聖子、始関紀彰 事務補佐員：上岡寿子

研究内容

概略

当分野では、「生体の防御と恒常性維持の理解」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

単核球系貪食細胞（Mononuclear Phagocyte）には単球とマクロファージ、さらに樹状細胞（Dendritic Cell, DC）が含まれる。今日、単核球系貪食細胞の機能は異物排除や感染防御といった古典的免疫学の枠を超え、組織形成・再生などの組織恒常性維持、さらにはがん組織進展やさまざまな炎症性疾患病態構築への積極的関与を含め、広範な生命現象に及ぶことが明らかになっている。

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。その後、単球・マクロファージ前駆細胞として共通単球前駆細胞（Common Monocyte Progenitor, cMoP）もマウスにおいて同定されたが、ヒトcMoPは未同定であった。

私たちの研究グループは、数年来、ヒト単核球貪食細胞前駆細胞の同定も試みてきたが、最近、ヒト臍帯血や

骨髄を用いて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、従来のヒト顆粒球・単球前駆細胞（GMP）分画の中に混在しており、優れた単球・マクロファージへの分化能を示す一方、他の血液細胞へは分化しなかった。ヒトcMoPは、単球を経て、炎症惹起性マクロファージ、破骨細胞、腫瘍随伴マクロファージ（Tumor Associated Macrophage, TAM）などに分化するため、ヒトcMoPを標的とした新規治療法の開発が期待される。現在製薬企業、本学血液内科との共同研究で、ヒトcMoPおよび単球系列細胞を標的とした治療薬の開発を、本学小児科との共同研究で、先天性肺胞蛋白症の病態解明を各々進めている。

2) ミクログリアによる脳恒常性維持・低下機構の解明

マクロファージは全身の組織に分布しており、免疫監視だけでなく、発生・再生を含む組織恒常性維持に積極的に関与する。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る。その結果、正常な神経細胞やシナプスを破壊し、脳機能が徐々に低下していく。

これらの背景下、ミクログリア形質転換プロセスの全体像と、そ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解析することで解明する。エンハンサーの活性化は通常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できる。我々は、理研との共同研究を行い、高塩基解像度でエンハンサーの活性化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（図1、未発表）。

3) 緊急時ミエロイド系細胞分化機構の解明

定常時の造血と異なり、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

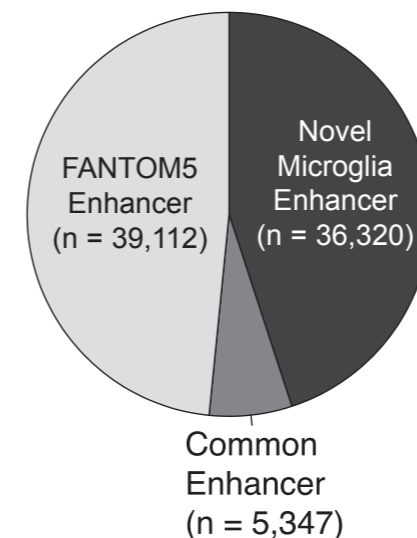


図1 NET-CAGE法により同定された新規ミクログリアエンハンサー

るが（ストレス造血）、造血幹前駆細胞マーカーが変動するため同細胞を正確に検出できない、故にストレス造血メカニズムを把握できない深刻な問題があった。我々の研究室では最近、ストレス造血時にも変動の少ない造血幹前駆細胞マーカーを同定することに成功した（図2、in revision）。今後、同マーカーを用いてストレス造血の真相を解明していく。

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

私たちの研究グループはこれまで、何ら感染の起きていない生体において、生理レベルのI型インターフェロン（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; *Blood* 2013）。これらの成果に基づき、I型IFNを含むサイトカインシグナルの他の組織幹細胞への影響を検討した。現在までに、IFNシグナルが全身性あるいは組織特異的に亢進するマウスを解析あるいはI型IFN誘導剤をWTマウスに投与・塗布して、他組織の幹細胞性が低下することを見出している（in revision）。

人事異動

梶田美穂子 プロジェクト助教から日本学術振興会特別研究員（2019.4.1.）

業績目録

原著

1. Wang Z, Adachi S, Kong L, Watanabe D, Nakanishi Y, Ohteki T, Hoshi N, Kodama Y. Role of eosinophils in a murine model of inflammatory bowel disease. *Biochem Biophys Res Commun*. 2019 Mar 26;511(1):99-104. DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.02.056

2. Hiroyuki Tezuka, Toshiaki Ohteki, Regulation of IgA Production by Intestinal Dendritic Cells and Related Cells. *Front Immunol*. 2019 August 13; 10: 1891 doi.org/10.3389/fimmu.2019.01891

3. Adachi T, Yoshikawa S, Tezuka H, Tsuji NM, Ohteki T, Karasuyama H, Kumazawa T. Propolis induces Ca²⁺ signaling in immune cells. *Biosci Microbiota Food Health*. 2019;38(4):141-149. doi: 10.12938/bmfh.19-011. Epub 2019 Aug 24.

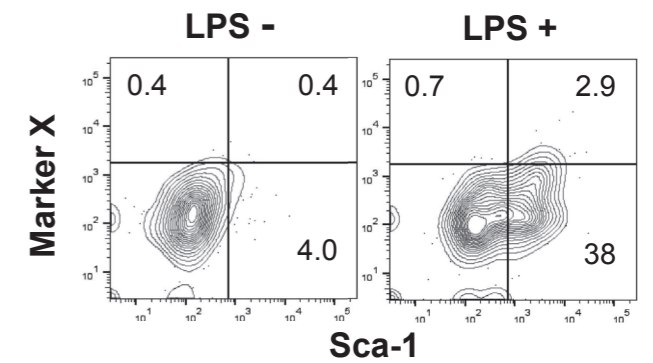


図2 ストレス造血時に変動し難い造血幹前駆細胞マーカー X の同定。造血幹前駆細胞をLPSで刺激するとSca-1の発現は上昇するが、マーカー X は変動しない。

腸上皮損傷後の再生起点細胞が数種類報告されているが、それらの上皮再生における貢献度の軽重は不明である。そこで、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ている細胞のシングルセル解析を行った。その結果、腸損傷後の主たる再生起点細胞の同定に成功した。また、YAP/Wntシグナルのバランスが起点細胞の上皮再生能に重要なこと、tetraspanin family memberの1つが当該起点細胞の同定に有用であることを見出した（in revision）。

2) ヒト舌癌オルガノイドパ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が舌癌であり、進展した症例では治療抵抗性となり予後不良な疾患で、原因遺伝子も同定されていない。これらの背景下、我々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。この培養技術は食道癌にも応用可能であった。詳細な解析の結果、ヒト舌癌オルガノイドは原発がん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った。また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を目指す。

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
特任助教：山添正博 学振特別研究員 (PD)：東島佳毅

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. In vivo ゲノム編集を用いたヒス・ブルキン系特異的遺伝子導入法の開発

心臓におけるヒス・ブルキン系は心房で生じた電気的興奮を心室全体に伝え、心室全体の収縮を生じるだけでなく、その収縮するタイミングも心臓全体で同期させることにより効率的な血液の拍出を調節している刺激伝導系である。近年ヒス・ブルキン系は徐脈性・頻脈性不整脈や心不全など様々な心病態に寄与していると考えられており、ヒス・ブルキン系を標的とした治療も開発されている。徐脈性不整脈の治療や心室内非同期の解消のためヒス束ペースメーカーが開発されるなど、デバイス治療を中心にヒス・ブルキン系特異的な治療法が臨床応用されているが、ヒス・ブルキン系特異的な内科的アプローチは未だなされていない。我々は心臓指向性の高い AAV 9 ベクター、および心臓特異的に発現するプロモーターなどと CRISPR/Cas9 を組み合わせ静脈投与によるヒス・ブルキン系特異的遺伝子導入法を開発した。この技術は生物学的ペースメーカーの開発に有用であると期待される。

2. 心房細動に関与する新規遺伝子の同定と機能解析

これまで当研究室では、Exome-wide association study (ExWAS) を用いて心房細動と関連する国内外未報告の新規一遺伝子多型 (SNP) を同定した。今年度、本遺伝子の機能、心房細動病態との関連を解析してきた。本遺伝子は神経組織で発現する転写因子として報告されているため、まず in vitro 実験において本遺伝子を神経細胞に過剰発現させたところ、交感神経マーカーであるチロシン水酸化酵素 (TH) の発現が上昇し、心房

細動感受性 SNP では野生型よりもさらに発現が亢進していた。そこで CRISPR/Cas9 を用いて同一 SNP を持つノックインマウスを作成し in vivo での機能解析を実施した。心拍変動解析を用いて自律神経機能を評価したところ、ノックインマウスでは交感神経活性が亢進していることが確認された。平常時の心電図では心房細動所見は認めなかったが、経食道高頻度ペーシングにて誘発を試みたところ、野生型マウスでは誘発は得られないのに対し、ノックインマウスでは約半数にて心房細動が誘発され、心房細動脆弱性が確認された。ExWAS にて同定された新規心房細動感受性 SNP は自律神経、特に交感神経の機能変容を介して、心房細動発症と関連していることが示唆された。

3. 心臓を構成する細胞運命決定と心臓区画化形成における発生学的制御機構

ヒト先天性心疾患の理解のための責任遺伝子の研究：発症機序の理解に向けて、ヒト家族性心室・心房中隔欠損症の責任遺伝子群に着目し研究を行ってきた (Katano et al., *DGD* 2019)。CRISPR/Cas システムを用いた *in utero* KO マウスの作成法の樹立、ChIP 解析における制御遺伝子領域の同定に成功している。また、新規心臓前駆細胞特異的表面抗原において、初期ガン化細胞特異的に局在することを見出した。

ヒト家族性疾患の多様な表現型理解のためのエピゲノム遺伝子の研究：家族性同一遺伝子変異においても多様な表現型を呈す。転写後修飾に関わるエピゲノム因子、非コード RNA (lncRNA) 分子の協調的作用の研究を行ってきた。in utero double KO マウスにおいて、左室低形成胚が得られ、ncRNA (promoter RNA) と Tbx5 遺伝子の遺伝学的協調的作用があることを見出した。

心臓構成細胞の運命決定機構：マウス初期胚、および ES/iPS 細胞を用いて心筋誘導・心臓発生運命地図の作成を試みてきた。Leica マイクロダイセクション法を用い、シングルセル解析を行い、small-volume (100 細胞以下) でのバイオフィンフォマテック解析系を立ち上げた。新たな運命地図の作成、重要因子を同定した。

4. 動脈硬化関連遺伝子におけるエピジェネティクス制御機構の解明

エピジェネティックな抑制機構の破綻が炎症性遺伝子の発現誘導に関与している可能性が示唆されているが、その詳細は不明である。ヒト臍帯静脈内皮細胞に TNF- α を作用させ、ヒストン修飾状態を ChIP-seq により網羅的に解析したところ、動脈硬化に重要な多数の炎症性遺伝子座において、抑制系ヒストン修飾である H3K9me2 および H3K27me3 が刺激後速やかに脱メチル化されることが明らかとなった。遺伝子スクリーニングによって、これら抑制系ヒストン修飾の脱メチル化に Lysine demethylase 7A (KDM7A) および 6A (UTX) がそれぞれ関与することが判明した。興味深いことに

ハイライト

心房細動のプレジジョン・メディシン (図)

心房細動は、最も頻度の高い不整脈で「21 世紀の心臓流行り病」といわれ、約 100 万人の患者がいる。無治療だと 1 年間に約 5% の心房細動患者が脳梗塞を発症し、我が国の寝たきりの約 5 人に 1 人が心房細動を原因とする。そこで、新たな凝固薬が開発され、心房細動患者の脳梗塞合併は年間 1% 以下にまで改善した。ところが、心房細動は発作性心房細動著して発症し、ほとんどの時が正常の調律をしている。また半数近くが無症状であることから、診断の付いていない潜在性心房細動 (いわゆる「隠れ心房細動」) が 100 万人近くいる。この隠れ心房細動に合併する脳梗塞 (塞栓源不明の脳塞栓 ESUS) が新たなアンメット・ニーズとなってきた。我々は、ゲノム情報・生活習慣情報・バイオマーカー・心電図特殊解析の多元情報を AI 解

KDM7A や UTX が結合するゲノム領域は転写因子 NF- κ B が濃縮したスーパーエンハンサーと呼ばれる強いエンハンサーと相関していた。また Hi-C および ChIA-PET と呼ばれる染色体構造解析によって、こうしたスーパーエンハンサー領域が炎症性刺激に応じて、わずか 1 時間以内に速やかに相互作用 (ループ形成) することが判明した。マウスモデルにおいて、KDM7A および UTX の阻害剤投与が血管内皮細胞への白血球接着を抑制することが確かめられた。以上より、TNF- α 刺激による炎症性遺伝子の発現誘導に KDM7A および UTX による抑制系ヒストンの脱メチル化が重要である可能性が示唆された。

析を行い、隠れ心房細動を検出するプレジジョン・メディシンの臨床研究を開始した (https://www.amed.go.jp/koubo/02/01/0201C_00059.html)。

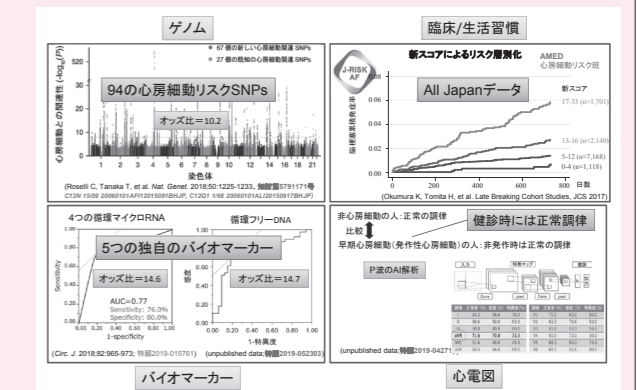


図 4 つ心房細動に関連する情報
上左：ゲノム情報、上右：臨床/生活習慣情報、
下左：バイオマーカー、下右：心電図

人事異動

転入：なし
転出：山添正博、Xioan Yang

業績目録

原著論文

1. Yamada N, Asano Y, Fujita M, Yamazaki S, Inanobe A, Matsuura N, Kobayashi H, Ohno S, Ebana Y, Tsukamoto O, Ishino S, Takuwa A, Kioka H, Yamashita T, Hashimoto N, Zankov DP, Shimizu A, Asakura M, Asanuma H, Kato H, Nishida Y, Miyashita Y, Shinomiya H, Naiki N, Hayashi K, Makiyama T, Ogita H, Miura K, Ueshima H, Komuro I, Yamagishi M, Horie M, Kawakami K, Furukawa T, Koizumi A, Kurachi Y, Sakata Y, Minamino T, Kitakaze M, Takashima S. Mutant KCNJ3 and KCNJ5 Potassium Channels as Novel Molecular Targets

- in Bradyarrhythmias and Atrial Fibrillation. *Circulation* 2019;139(18):2157-2169.
2. Kodama M, Furutani K, Kimura R, Ando T, Sakamoto K, Nagamori S, Ashihara T, Kurachi Y, Sekino Y, Furukawa T, Kanda Y, Kurokawa J. Systematic expression analysis of genes related to generation of action potentials in human iPS cell-derived cardiomyocytes. *J. Pharmacol. Sci.* 2019;140(4):325-330.
3. Ebana Y, Sun Y, Yang X, Watanabe T, Makita S, Ozaki K, Tanaka T, Arai H, Furukawa T. Pathway analysis with genome-wide association study (GWAS) data detected the association of atrial fibrillation with the mTOR signaling pathway. *IJC Heart & Vasc.* 2019;24:100383.
4. Ebana Y, Furukawa T. Networking analysis of superior vena cava arrhythmogenicity in atrial fibrillation. *IJC Heart & Vasc.* 2019;22:150-153.
5. Katano W., Moriyama Y., Takeuchi I. and Koshiba-Takeuchi K. Cardiac Septation in heart

- development and evolution. *Dev. Growth Differ.* 261.114-123. 2019.
6. 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 (in press).
7. Higashijima Y, Kanki Y. Molecular mechanistic insights: The emerging role of SOXF transcription factors in tumorigenesis and development. *Seminars in Cancer Biology* 2019, Sep;S1044-579X(18)30146-9.
8. Higashijima Y, Nagai N, Kitazawa T, Kawamura Y, Kurihara H, Wada Y, Kanki Y. Lysine demethylase 7a regulates the anterior-posterior development in mouse by modulating the transcription of Hox gene cluster. *bioRxiv* 2019, doi: <https://doi.org/10.1101/707125>

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. 成体型造血が出現する胎生期 AGM 領域の未分化血液細胞塊の造血能維持に対するエピジェネティック因子 TET 1 の関与

マウス胎生期において最初に成体型造血が起こる AGM (aorta-gonad-mesonephros, 大動脈-生殖原基-中腎) 領域においては、大動脈内腔の血管内皮細胞に接して未分化な血液細胞の集塊が出現し、この血液細胞塊には造血幹・前駆細胞が含まれていることが知られている。この細胞塊に発現を認める転写因子であり、胎生期および出生直後の造血幹細胞の維持に重要な役割を持つ Sox17 を、細胞塊の未分化性の高いとされる血液構成細胞である CD45^{low}c-Kit^{high} 細胞に強制発現させ、造血の場を支持するストローマ細胞との共培養を行うと、継代を重ねても細胞塊を形成しつつ未分化性が維持されることを以前明らかにした。また、DNA 脱メチル化に関与

する TET1 (ten-eleven translocation methylcytosine dioxygenase 1) が、Sox17 強制発現細胞に対する半定量的 RT-PCR の解析により、他の TET ファミリー分子に比べて発現が高いことを認めた。そこで、未だ不明である AGM 領域の未分化血液細胞塊における TET1 の役割を明らかにする目的で、以下の解析を行った。まず、in situ hybridization および whole mount 免疫染色を行い、胎生中期大動脈の血管内皮細胞および血液細胞塊において TET1 が発現することを示した。また RT-PCR により、血液構成細胞である CD45^{low}c-Kit^{high} 細胞において、その他の細胞集団より TET1 が高発現していることを示した。さらに、TET1 の発現と未分化性維持の関連を調べるために、Sox17 強制発現 CD45^{low}c-Kit^{high} 細胞に TET1shRNA と対照 shRNA を導入した後培養し、shRNA 導入細胞について半固形培地で colony-forming assay を行い、TET1 ノックダウン時の造血能に対する影響を検討した。その結果、対照と比べ、TET1 をノックダウンした細胞は顆粒球・マクロファージ・赤血球の多系列血液細胞を含むコロニー形成能（多分化能）が低くなることを示した。TET1 のプロモーター領域には複数の Sox17 結合配列が存在し、Luciferase assay より、Sox17 によって活性化され TET1 の発現が誘導された。以上の結果より、転写因子 Sox17 により発現誘導された TET1 が、マウス胎生期 AGM 領域の大動脈内腔に出現する造血幹細胞を含む細胞塊の未分化性の維持に寄与する可能性が示唆された (図 1)。

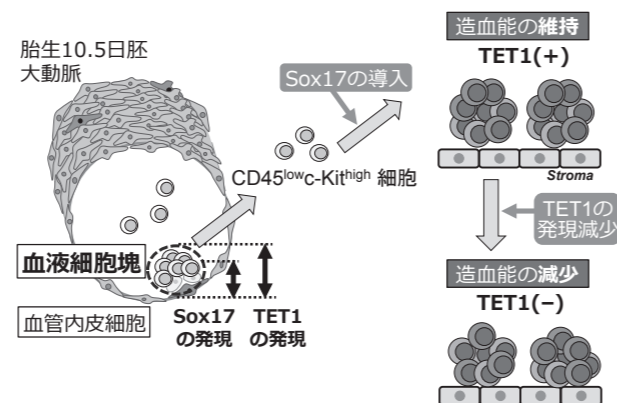


図 1 マウスにおいて最初に造血幹細胞が生じる血液細胞塊における転写因子 Sox17 と脱メチル化に関わる TET1 の役割

2. ニッチ構築がん幹細胞の分離と制御

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、当分野ではグリオーマ細胞株 C6 においてがん幹細胞がサイトカイン GM-CSF の分泌を介して骨髄単球から CD204 陽性・CD11c 陽性の腫瘍随伴マクロファージ (TAM) への分化を誘導し、微小環境 (ニッチ) を自ら構築することでがんの再発に寄与することを報告した (図 2)。そこで本年度はこのような免疫ニッチを構築するがん幹細胞亜集団の分離と制御を目指して、以下の研究を実施した。初めに膠芽腫患者 528 例の遺伝子発現データを用いた CIBERSORT 解析によりグリオーマ組織内における各種免疫細胞の浸潤度とがん幹細胞マーカーの発現相関を確認したところ、ケモカイン分子 CCL2 の発現が単球・TAM の浸潤レベル、および患者予後と有意に相関することが明らかとなった。

またゲノム編集を用いた CCL2 発現細胞の可視化を行ったところ、CCL2 発現細胞はがん幹細胞の 10 ~ 70% と幅を以て存在することが明らかとなった。重要なことに CCL2 発現細胞は従来のグリオーマ治療薬である TMZ や ACNU の処理時に約 90% にまで濃縮されることが明らかとなり、CCL2 は抗がん剤耐性・再発源細胞の有効なマーカーとなることが示唆された。次にこのような細胞内浸透型の従来の低分子化合物に耐性の高い集団を細胞外から制御することを目指して、エジンバラ大学との共同研究により CCL2 発現細胞に維持・死滅をもたらす高分子化合物 (合成ポリマー) の 1 次スクリーニングを行い、6 つの維持ポリマーと 3 つの死滅ポリマーの同定に成功した。今後、維持ポリマーの作用機序の解析による標的分子の同定や、死滅ポリマーそのものを用いた治療法の開発をすすめることで、悪性グリオーマの新たな治療法の開発が期待できる。

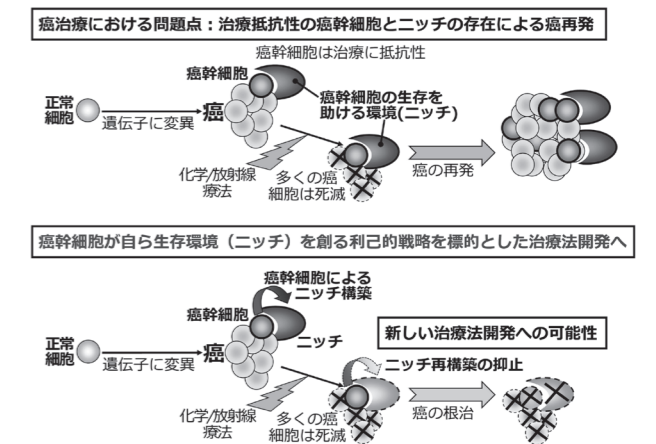


図 2 癌幹細胞によるニッチの自己構築と、それを標的とした癌根治の可能性

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16万に及ぶ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. 細胞内シグナル伝達の制御に関わる PDZ ドメインの結晶構造解析

Dishevelled (Dvl) タンパク質は、Wnt シグナル経路において、細胞質中で β -catenin の分解を妨げ、核内に移行した β -catenin による遺伝子発現誘導を促進する。Wnt シグナル経路は発生や細胞の分化、増殖などに大きく関わっているほか、大腸がん、乳がんなどの様々な腫瘍で異常が見つかり、Wnt シグナル経路を標的とする新しい治療薬の開発が盛んに研究されている。Dvl タンパク質は複数のドメインからなる700残基前後のタンパク質であるが、受容体に結合する機能を担っているのはPDZと呼ばれる、90残基ほどのドメイン(Dvl_PDZ)である。これまでDvl_PDZを標的とした低分子阻害剤がいくつか報告されているが、Dvl_PDZとの複合体での構造解析例は一例のみであり、Dvl_PDZのリガンド結合部位と、多様なリガンドとの相互作用様式は充分には解明されておらず、またヒト由来のDvl_PDZ

については、3つのパラログDvl1, Dvl2, Dvl3の存在が知られているが立体構造の報告がなされているのはDvl2のみである。われわれは、このように立体構造情報が不足しているDvl_PDZのX線結晶構造解析に取り組んでいるが、最近ヒト由来Dvl1のPDZドメイン(hDvl1_PDZ)について、初めてその結晶構造の決定に成功した。

得られた構造から、hDvl1_PDZは結晶中で隣接する分子のループ構造が相互作用することで、リング状の三量体を形成していることが明らかになった(図1)。このような三量体構造はDvl_PDZでは初めての例である。Dvl_PDZでは一般に、 $\beta 2$ と $\alpha 2$ の間に存在するポケットにリガンドが結合するとされており、特に標的タンパク質のC末端領域や、酸性アミノ酸の側鎖を認識することが知られている。今回明らかになったhDvl1_PDZ三量体構造では、リガンド結合ポケットに隣接する分子の $\beta 2$ - $\beta 3$ ループが相互作用しており、特にAsp272の側鎖との相互作用のほか、主鎖同士の間にも β シート様の相互作用も認められた。これまでも、Dvl_PDZの結晶構造解析において隣接する分子の酸性アミノ酸の側鎖がリガンド結合ポケットと相互作用し、二量体を形成しているなどの報告例があるが、今回明らかになった三量体構造とは分子の配向が異なり、Dvl_PDZのリガンド認識機構には多様性があるものと推測された。

本研究は、難治疾患共同研究拠点による名古屋大学と

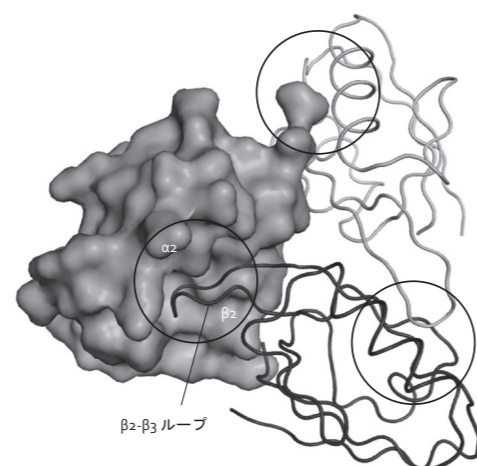


図1 ヒト由来Dvl1 PDZドメインの結晶構造。隣接する分子のループ構造が相互作用している部位を黒丸で示す。

の共同研究である。

2. プロリン異性化酵素 Pin1 の C113A 変異に伴うダイナミクスへの影響の解析

Pin1は、細胞周期のスイッチとしての機能やアルツハイマー病の発症制御等の多様な機能を有するプロリン異性化酵素である。触媒部位にあるC113は酵素活性において重要な役割を担っており、その変異が活性に与える影響は大きい。中でもC113A変異はプロリン異性化活性を1/130にまで減じることが知られており、その原因解明を目指した様々な研究が行われてきた。これまでに行われたNMR解析等からは、C113A変異はPin1の触媒部位の局所的な水素結合ネットワーク、及び、それに伴う構造ダイナミクスに影響を与えることが示唆されている。しかし、局所的な水素結合ネットワークの変化が、構造ダイナミクスに与える影響は依然として解明されていないままであった。そこで本研究では、C113A変異がPin1の構造ダイナミクスに及ぼす影響を、分子動力学シミュレーションを行なって解析した。野生型とC113A変異体のそれぞれに対し、500ナノ秒間の分子運動の軌跡を観測し、主成分分析により両者の構造ダイナミクスを比較した(図2)。その結果、野生型では、H59の側鎖がフリップ・フロップすることにより、C113の側鎖およびS115の側鎖と交互に水素結合を形成することが観測された。さらに、この水素結合の変化は、水素結合ネットワークによって基質結合ポケットの開閉をもたらすことが明らかになった。一方、C113A変異体では、H59とC113の側鎖間の水素結合が形成できないため、H59の側鎖はS115の側鎖とだけ水素結合を形成することになり、基質結合ポケットが閉じた構造だけをとっていることを発見した。これらの解析に基づき、本研究では、水素結合ネットワークの変化が構造ダイナミクスの変化をもたらす分子機構の解明に成功した。

本研究は、近畿大学の米澤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、

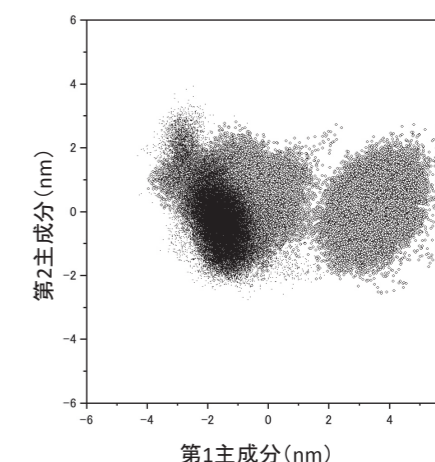


図2 野生型Pin1(○)とC113A変異体(●)の分子動力学シミュレーションの主成分分析。

また近年の電子顕微鏡の急激な発展により、今日では16万におよぶ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

- Ikura T, Yonezawa Y, Ito N. Mutational effects of Cys113 on structural dynamics of Pin1. *Biophysics and Physicobiology*. 2019;11: 16-452-465.
- Nishiguchi A, Numoto N, Ito N, Azuma T, Oda M. Three-dimensional structure of a high affinity anti-(4-hydroxy-3-nitrophenyl)acetyl antibody possessing a glycine residue at position 95 of the heavy chain. *Molecular immunology*. 2019;10: 114-545-552.

- Masuno H, Kazui Y, Tanatani A, Fujii S, Kawachi E, Ikura T, Ito N, Yamamoto K, Kagechika H. Development of novel lithocholic acid derivatives as vitamin D receptor agonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2019;08: 27(16): 3674-3681.
- Nakayama S, Shimonaka S, Elahi M, Nishioka K, Oji Y, Matsumoto SE, Li Y, Yoshino H, Mogushi K, Hatano T, Sato T, Ikura T, Ito N, Motoi Y, Hattori N. Tau aggregation and seeding analyses of two novel MAPT variants found in patients with motor neuron disease and progressive parkinsonism. *Neurobiology of Aging*. 2019;03

- Miyashita Y, Numoto N, Arulmozhiraja S, Nakano S, Matsuo N, Shimizu K, Shibahara O, Fujihara M, Kakuta H, Ito S, Ikura T, Ito N, Tokiwa H. Dual conformation of the ligand induces the partial agonistic activity of retinoid X receptor α (RXR α). *FEBS Lett*. 2019;01: 593(2): 242-250.
- Hosoe Y, Numoto N, Inaba S, Ogawa S, Morii H, Abe R, Ito N, Oda M. Structural and functional properties of Grb2 SH2 dimer in CD28 binding. *Biophysics and Physicobiology*. 2019; 16: 80-88.

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. がん細胞の異常なエネルギー代謝におけるピルビン酸脱水素酵素 PDH の役割

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認められ、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しているピルビン酸脱水素酵素 PDH に着目した解析を行いました。乳がん細胞を低酸素環境で継続的に培養したところ、PDH の発現が低下することを新たに見出しました。この PDH 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。実際に、PDH を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 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1)。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。

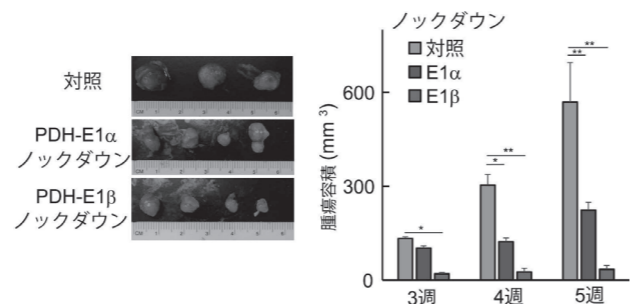


図1 PDH 抑制による乳がん細胞の腫瘍形成能の低下
乳がん細胞株 MB231 で PDH をノックダウンすると、腫瘍形成能が抑制された。

2. PDH が担う遺伝子発現制御機構

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 の活性制御機構にはリン酸化と発現調節の二通りあります。PDH の制御機構をミトコンドリアと核と比較したところ、低酸素下ではミトコンドリア PDH のリン酸化が顕著に起こるのに対して、核 PDH のリン酸化は限定的でした。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 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2)。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。私たちは乳がん細胞で PDH をノックダウンすることにより、ヒストン H3 のアセチル化が減少することを明らかにし

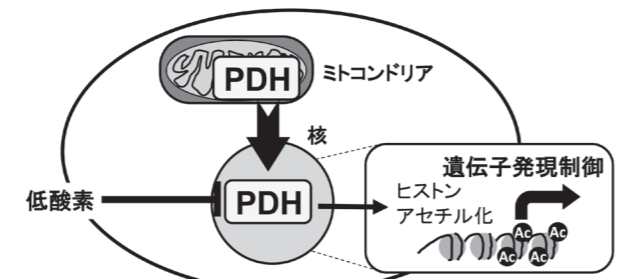


図2 核局在型の PDH による遺伝子発現制御
PDH はミトコンドリアと核の両方に局在する。核 PDH はヒストンアセチル化を促進して、遺伝子発現を制御する。低酸素下で、核 PDH の活性は抑制される。

ました。同様に、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2)。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て、研究を進めています。

コラム

低酸素研究展望 —2019 年ノーベル医学生理学賞によせて—

2019 年のノーベル医学生理学賞は「細胞の酸素センシング機構」を解明した、米英3名の研究者に贈られました。外環境に対する細胞応答機構は、センサー分子とエフェクター（実行）分子よりなりますが、低酸素応答において、センサー：プロリン水酸化酵素 Phd と、エフェクター：Hypoxia-Inducible Factor (HIF) を発見したのが、彼らの功績です。Phd は HIF の発現を主に制御する因子であり、Phd の活性が低酸素環境で抑制されると、HIF の発現・活性が上昇して、低酸素応答が引き起こされます(図3)。

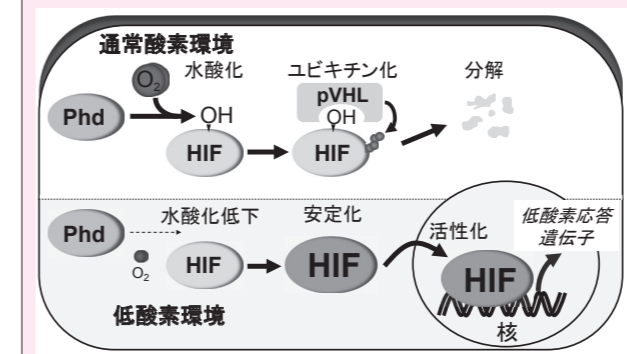


図3 低酸素応答を司る Phd-HIF 経路
通常酸素環境下で、Phd は HIF を水酸化して、ユビキチン化を促進し、分解へと導く。低酸素下では、Phd 活性が抑制され、水酸化が低下した結果、HIF は安定・活性化して、多数の低酸素応答遺伝子の発現を上昇させる。

今回のノーベル賞は、HIF が同定されてから約25年、Phd が同定されてから約20年のタイミングでした。2019年には、Phd 阻害薬（HIF を活性化する効果がある）が腎性貧血の治療薬として上市されたことも受賞を後押ししたのではないかと考えられます。

今後の低酸素研究の展望は、薬物開発という視点からは、Phd 阻害薬を他の低酸素性の疾患にも用いるこ

とができるのかが注目です。HIF の活性化は虚血組織の保護に働き、プレコンディショニングにも関与することから、虚血性疾患の予防や治療にも有効である可能性が考えられます。一方で、これとは逆の働きをする HIF 阻害薬はまだ開発途上にあります。HIF にはいくつかのアイソフォームがありますが、このうち HIF-2 が持つ特徴的な構造を標的とした低分子化合物が、マウスで腎がんの抑制に効果的であることが報告されています。この HIF-2 阻害薬の臨床試験が進んでいることが最近の学会で報告され、近い将来の完成が期待されます。

Phd-HIF 経路は低酸素応答システムの中心的な位置づけにありますが、それが低酸素応答の全てというわけではありません。低酸素応答の分子機構という基礎研究の視点からは、Phd-HIF 経路以外のメカニズムを明らかにすることが今後の展望の一つであると思います。私たちは、この HIF 非依存的経路に着目しています。例えば、細胞を長期的な低酸素環境で培養すると HIF-1 の発現が低下しますが、この時に活性化されるシグナルとして NF-κB や CREB を同定しました。現在は、長期の低酸素下での遺伝子発現を制御する、エピジェネティクスやクロマチン構造変化の解析を行っています。

ノーベル賞受賞の直後、2020年1月に開催された Keystone Symposia:Hypoxia には受賞者3名も参加しました。しかし、お祝いムード一色ということは決してなく、今なお未解明の課題の解決に向けて熱心に議論が交わされました。トピックスには、エピジェネティック制御、ミトコンドリア機能、免疫応答や幹細胞制御などがありました。これらの要素が軸となり、低酸素応答の分子機構のさらなる理解と多様な生命現象における役割の解明が進んでいくことが期待されます。

業績目録

発表論文

Eguchi K., and Nakayama K.* Prolonged hypoxia decreases nuclear pyruvate dehydrogenase complex and regulates the gene expression. *Biochem Biophys Res Commun.*, 520, 128-135, (2019).

総説

Nakayama K.* and Kataoka N.* Regulation of Gene Expression under Hypoxic Conditions. *Int. J. Mol. Sci.* 20, E3278 (1-15), (2019).

国際学会・シンポジウム

1. 中山 恒
「Phd-HIF システム依存的・非依存的に制御される細胞内エネルギー代謝の分子機構」

第42回 日本分子生物学会年会 ワークショップ講演、福岡(2019)

2. Nakayama K.
Prolonged hypoxic condition downregulates Pyruvate Dehydrogenase PDH-E1β and controls the tumor growth by altering the metabolic status in breast cancer cells. 27th FAO/BMB meeting, Kuala Lumpur, Malaysia (2019).

先端分子医学研究部門 フロンティア研究室 骨分子薬理学

准教授：江面陽一

研究内容

難治性骨疾患として注目すべき、遺伝性の溶骨症、重症骨粗鬆症、異所性骨化症についてその予防および治療法確立を目指し、生体内硬組織における骨系細胞応答の様々な局面における分子機構解明を目指している。

研究紹介

1. 遺伝性溶骨症の原因となる破骨細胞におけるプロフィリン1欠損マウスの解析

アクチン重合制御因子プロフィリン1を骨系前駆細胞や骨細胞などで欠損させると細胞突起形成と運動性が抑制されることをこれまで示してきた（宮嶋ら2008年、林ら2018年）。しかし破骨前駆細胞での欠損は細胞運動性を促進し、マウス成長期の長管骨および頭蓋顔面骨のリモデリングに伴う骨吸収パターンを変調させて骨変形を生じさせた。プロフィリン1によるアクチンフィラメント形成制御はフィラメント構造の違いによって異なることが近年明らかにされたが、本研究の観察もこの仮説と合致して破骨細胞のポドソーム形成促進を示唆した（白川ら JBMR-Plus 2019）。ごく最近、骨パジェット病の1家系でプロフィリン1遺伝子の機能喪失型変異が原因変異として報告され、本遺伝子改変マウスはモデル実験系としての意義がさらに明らかとされた。このためプロフィリン1が抑制的に制御する分枝状アクチンフィラメントの伸長に関わる分子機構を標的とした新たな溶骨症治療の戦略について検討している。

2. lncRNA CrndeはWntβカテニンシグナルを介してマウス骨芽細胞抑制を制御する（整形外科学：猪瀬弘之助教らとの共同研究）

重症骨粗鬆症の治療薬として利用される副甲状腺ホルモン（PTH）は様々な局面から骨芽細胞増殖と骨形成を促進させる。我々は培養骨芽細胞のPTHへの応答性因子に注目して焦点をあてたノンコーディングRNA、Crndeの発現誘導について、CRISPR-CASシステムを利用した遺伝子欠損マウスを作成した。Crnde遺伝子欠損マウスは有意な骨量減少と骨芽細胞数の増加を示し、動的骨形態計測指標解析により骨形成抑制が示された。Crnde発現による骨芽細胞数の増加と骨形成活性の亢進

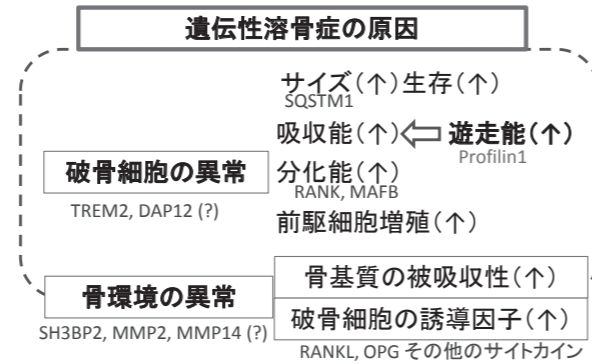


図1 遺伝性溶骨症の発症メカニズム

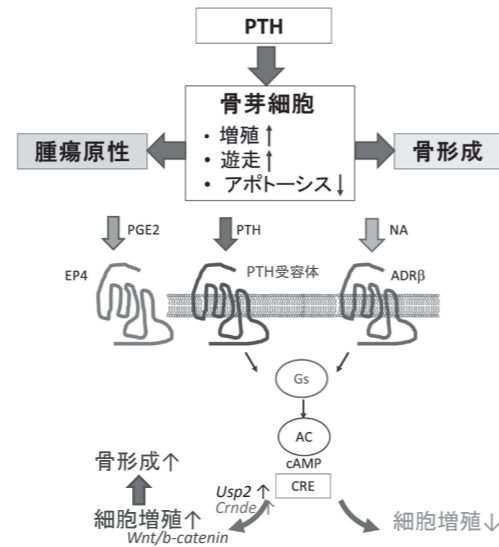


図2 PTHによる骨芽細胞増殖作用

が主として細胞増殖の抑制に基づき、分子経路としてWnt/b-Cateninシグナルが関与することを明らかにした（Bone 2019）。PTHを介した骨形成促進作用の一側面として重要であるとともに、ある種の骨系統疾患との関連を想定している。

3. 腱および靭帯細胞の異所性骨化に関わる分子機構について

厚生労働省の特定する難病のひとつ脊椎後縦靭帯骨化症（OPLL）は靭帯肥厚と軟骨化生から異所性骨化を生じる。OPLLの網羅的遺伝子多型関連解析GWASから示唆された第六染色体上のリスク領域近傍に位置するSLC29A1遺伝子は細胞膜上のアデノシントランスポー

ター遺伝子であり、その遺伝子欠損マウスは脊椎周囲に異所性骨化を生じることから有力な候補リスク遺伝子のひとつである。腱・靭帯の異所性骨化に関わるリスク要因として重要な加齢・外傷を基盤とする酸化ストレスに応答した細胞外ATPの関与が指摘されるため、本研究で我々は教室が樹立したTT-D6細胞およびマウス足底部の趾屈筋腱由来の初代培養細胞を用いて細胞外ATP由来アデノシンを介した腱細胞の骨化機序についてトランスporter阻害薬等を用いて解明している（ASBMR年会2019）。

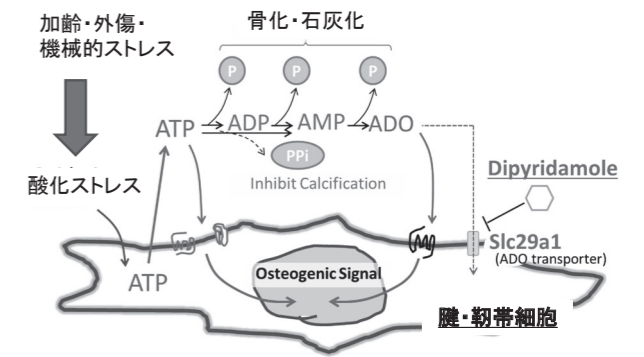


図3 腱細胞の異所性骨化に関わる細胞外アデノシン(ADO)の作用

人事異動

佐久間朋美が連携研究員として1月から3月まで勤務した

業績目録

原著論文

- Shirakawa J, Kajikawa S, Bottcher RT, Costell M, Izu Y, Hayata T, Noda M, Ezura Y. Profilin 1 negatively regulates osteoclast migration in postnatal skeletal growth, remodeling and homeostasis in mice JBMR-Plus

- e10130 (2019 Jan).
- Mulati M, Kobayashi Y, Takahashi A, Numata H, Saito M, Hiraoka Y, Ochi H, Sato S, Ezura Y, Yuasa M, Hirai T, Yoshii T, Okawa A, Inose H. The long noncoding RNA Crnde regulates osteoblast proliferation through the Wnt/b-catenin signaling pathway in mice. Bone 130: 115076 (2020 Jan).

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

- アルツハイマー病超早期病態を反映する新規バイオマーカーを発見した（神経病理学）
- YAP がアルツハイマー病の新規治療ターゲットとなることを発見した（神経病理学）
- 前立腺がん進行に伴うホスファチジルイノシトール1リン酸アシル飽和化の発見（病態生理化学）
- Ulk1 を起点として実行される新規オートファジーの実行メカニズムを解明した（病態細胞生物学）
- 新規の細胞死様式として非アポトーシス性アノイーキスを発見した（病態細胞生物学）
- ゼブラフィッシュを用いて細胞時計が同調する仕組みを解明（発生再生生物学）
- 加齢に伴い皮膚が老化する仕組みを明らかにした（幹細胞医学）
- 全身性エリテマトーデス（SLE）での自己抗体産生を B 細胞抑制性共受容体 CD72 が抑制する仕組みを明らかにした（免疫疾患）
- ギラン・バレー症候群に関連する遺伝子を同定した（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

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PQB1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)。

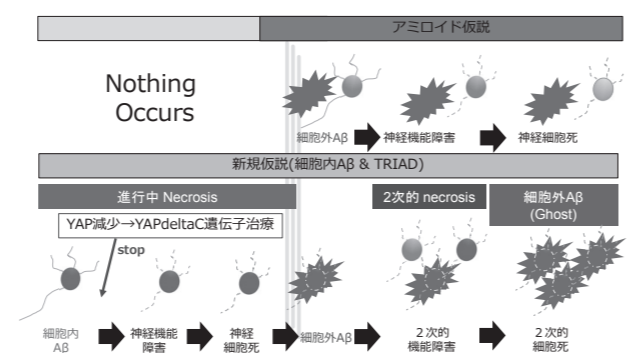
HMGB1 はネクローシスというタイプの細胞死を起こ

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と示唆されました。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

ハイライト

TRIAD と YAP

細胞死には様々な形がある。このうち、代表的なも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

Rahman, S. K., Okazawa, H. & Chen, Y. W. (2019) Frameshift PQBP-1 mutants K192Sfs*7 and R153Sfs*41 implicated in X-linked intellectual disability form stable dimers. *J. Struct. Biol.* 1 June 2019, 206 (3), 305-313. doi: 10.1016/J.JSB.2019.04.003

Bannai, T., Mano, T., Chen, X., Ohtomo, G., Ohtomo, R., Tsuchida, T., Koshi-Mano, K., Hashimoto, T., Okazawa, H., Iwatsubo, T., Tsuji, S., Toda, T. & Iwata, A. (2019) Chronic cerebral hypoperfusion shifts the equilibrium of amyloid β oligomers to aggregation-prone species with higher molecular weight. *Sci. Rep.* 26 February

2019, 9(1), 2827. doi: 10.1038/s41598-019-39494-7

Inoue, S., Hayashi, K., Fujita, K., Tagawa, K., Okazawa, H., Kubo, K.-I. & Nakajima, K. (2019) Drebrin-like (Dbn1) Controls Neuronal Migration via Regulating N-Cadherin Expression in the Developing Cerebral Cortex. *J. Neurosci.* 23 January 2019, 39(4), 678-691. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1634-18.2018

Chen, X., Kondo, K. & Okazawa, H. (2019). Methods to Image Macroautophagy in the Brain In Vivo. *Methods in Molecular Biology*, 2019, 1880, 529-534. doi: 10.1007/978-1-4939-8873-0_33

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 徳田恵美 学振特別研究員：森岡 真
大学院生 (M1)：池田拓海 大学院研究生：張易欣
事務補佐員：三田雅代

分野研究内容

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ます。私たちの研究分野では特に、ホスホイノシタイドと呼ばれる、分子量が大きく複雑な構造をもつ微量リン脂質群に着目しています。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ます。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、代謝酵素遺伝子の異常や生活習慣による病態発現機構をリン脂質の分子レベルで理解することに取組んでいます。これらによって、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ます。

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んで高頻度に見出されおり、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。またがんでは、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 の活性化因子である RAS, HER2 などの遺伝子異常と PI3K 阻害剤の in vitro, in vivo での作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。

我々は先に健常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い、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 50 ライン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 24 種類の薬剤への感受性 (細胞生存率) を評価した。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 阻害薬と 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 阻害剤イデラリシブについては、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 (80%以上の予測精度) の構築に成功した。これらの結果から、PIP₂ プロファイルは 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、ヘッドグループのリン酸化状態に加えて、アシル基構成が乱れているケースが多々認められる。そこで、アシル基構造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、ショットガンプロテオミクス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、アシル基特異性を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じさせ、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な分子種の同定は、上述の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クローズアップする可能性が考えられる。

3. 卵巣の性維持におけるホスホイノシタイドの役割

哺乳動物の性は、Y 染色体上の精巣決定遺伝子 Sry (Sex-determining region Y) の発現の有無により決定される。すなわち、性的に未分化な胎児性腺の支持細胞において、Sry が発現した場合は雄型のセルトリ細胞に、発現しない場合は雌型の顆粒膜細胞に分化する。その後、生殖細胞を含む種々の細胞の性分化が誘導され、精巣または卵巣が発達する。近年、この発生過程で決定した支持細胞の性は、出生後もそのまま安定し続けるわけではないことが明らかになってきた。出生後の顆粒膜細胞では Foxl2 (Forkhead 型転写因子) やエストロゲン受容体が、セルトリ細胞では Dmrt1 (DM ドメイン転写因子) や Sox9 (HMG ボックス型転写因子) が、互いの発現を抑制しながら出生後の支持細胞の性を維持しており、実際にこれらの転写因子の遺伝子を成体で欠損あるいは過剰発現した場合には、顆粒膜細胞がセルトリ細胞様細胞へ、セルトリ細胞が顆粒膜細胞様細胞へと性転換することが報告されている。

業績業績

1. Polarized PtdIns(4,5)P₂ distribution mediated by a voltage-sensing phosphatase (VSP) regulates sperm motility. Kawai T, Miyata H, Nakanishi H, Sakata S, Morioka S, Sasaki J, Watanabe M, Sakimura K, Fujimoto T, Sasaki T, Ikawa M, Okamura Y. Proc Natl Acad Sci U S A. 116(51):26020-26028, 2019
2. Increased fatty acyl saturation of phosphatidylinositol phosphates in prostate cancer progression. Koizumi A, Narita S, Nakanishi H, Ishikawa M, Eguchi S, Kimura H, Takasuga S, Huang M, Inoue T, Sasaki J, Yoshioka T, Habuchi T, Sasaki T. Sci Rep. 9(1):13257, 2019
3. A Negative Feedback Loop Regulates

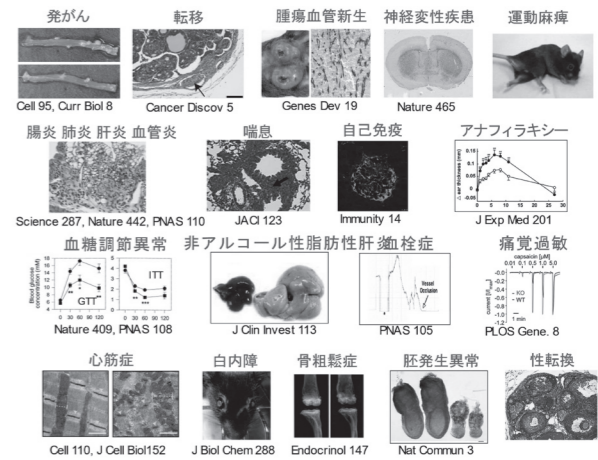
Integrin Inactivation and Promotes Neutrophil Recruitment to Inflammatory Sites. McCormick B, Craig HE, Chu JY, Carlin LM, Canel M, Wollweber F, Toivakka M, Michael M, Astier AL, Norton L, Lilja J, Felton JM, Sasaki T, Ivaska J, Hers I, Dransfield I, Rossi AG, Vermeren S. J Immunol. 203(6):1579-1588, 2019

4. A Peptide Derived from Phosphoinositide 3-kinase Inhibits Endocytosis and Influenza Virus Infection. Fujioka Y, Satoh AO, Horiuchi K, Fujioka M, Tsutsumi K, Sasaki J, Nepal P, Kashiwagi S, Paudel S, Nishide S, Nanbo A, Sasaki T, Ohba Y. Cell Struct Funct. 44(1):61-74, 2019
5. Lysophosphatidylinositol-acyltransferase-1 is involved in cytosolic Ca²⁺ oscillations in mac-

rophages. Takemasu S, Ito M, Morioka S, Nigorikawa K, Kofuji S, Takasuga S, Eguchi S, Nakanishi H, Matsuoka I, Sasaki J, Sasaki T, Hazeki K. Genes Cells. 24(5):366-376, 2019

総説・著書・訳

1. 佐々木雄彦. 膜で働く生理活性脂質. 脂質解析ハンドブック 脂質分子の正しい理解と取扱い・データ取得の技術 (新井洋由, 清水孝雄, 横山信治/編) 77-84. 羊土社
2. 佐々木雄彦, 山本 詠士, 佐々木純子. 細胞膜での蛋白質-イノシトールリン脂質相互作用へのアシル基の関与. 医学のあゆみ 269(13) 1068-1072
3. 佐々木雄彦 訳. 脂質代謝. ガイトン生理学原著第 13 版 (John E. Hall 著) 778-791



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
 助教：本田真也、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で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、使い分けられている。興味深いことに、2つのオートファジーとも、Ulk1（とそのホモログの Ulk2）と呼ばれる分子の活性化を起点として実行されるものの、その下流分子は大きく異なっている。

今年度私たちは、Ulk1/Ulk2 分子の下流で異なるオートファジーが実行されるメカニズムの解明に成功した。具体的には、Ulk1 の 637 番目のセリン残基が脱リン酸化されると、オートファジー全体が活性化され、その後さらに 746 番目のセリン残基がリン酸化されると新規オートファジーが活性化され、リン酸化されないと従来

型オートファジーが実行されることを見出した。これらの結果は、①従来型オートファジーと新規オートファジーの分岐点が、Ulk1 の 746 番目のセリン残基のリン酸化状態にあること、②この Ulk1 のリン酸化は、新規オートファジーのマーカーとなることを意味している。

また、同仁化学と共同で、赤色蛍光でオートファジーをモニターできるプローブの開発に成功した。これまでに開発した緑色蛍光でオートリソソームをモニターできるプローブと組み合わせることにより、オートファジーのダイナミクスを簡便に測定する方法の確立に成功した。これらのプローブは、両方のオートファジーを測定できるため、オートファジーの全量を測定する上で有効である。

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由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。

今年度は、細胞がマトリックスから剥がれる時に生じる細胞死（アノイーキス）について解析した。これまで、アノイーキスはアポトーシス実行機構を介して細胞が死に至るものと考えられてきた。しかしながら、アポトーシスの阻害剤を投与したときも、アポトーシス耐性の Bax/Bak 細胞を用いた時も、アノイーキスが生じることを見出した。即ち、非アポトーシス性のアノイーキスが存在することを見出したのである。現在、この機能の生理的な役割を検討している。

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。

ハイライト

新規オートファジーは、Ulk1 のリン酸化を介して実行される。

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、Ulk1 依存的に両系統のオートファジーが活性化されるが、どのようなメカニズムで2つのオートファジーが活性化されるかは不明であった。そこで我々は、DNA 傷害を加えた細胞における Ulk1 のリン酸化状態を測定した。その結果、① Ulk1 の 637 番目のセリ

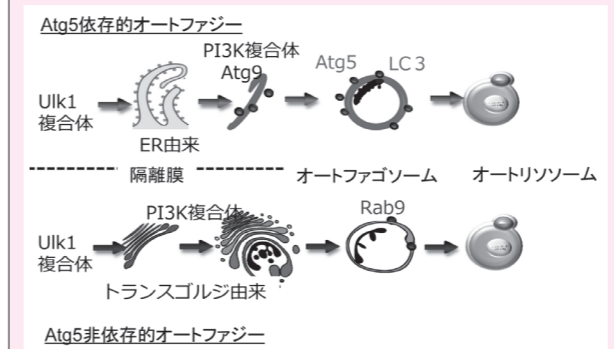


図1 オートファジーの模式図
 オートファジーには、Atg5 に依存した反応（上段）と依存しない反応（下段）が存在する。従来型オートファジーの場合には、小胞体膜を利用してオートファゴソーム形成が進行し、新規オートファジーの場合には、トランスゴルジ膜を利用して進行する。

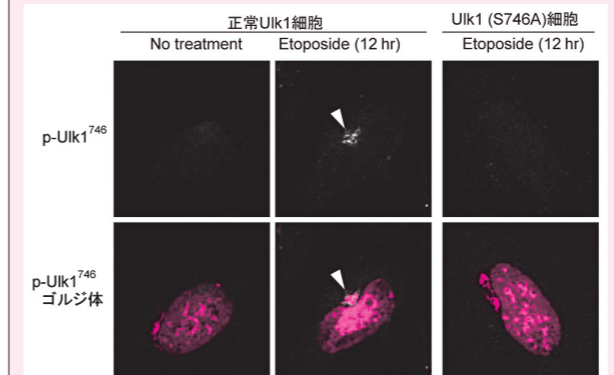


図2 DNA 傷害刺激で、Ulk1 の 746 番目のセリン残基がリン酸化される Ulk⁷⁴⁶ のリン酸化抗体で免疫染色すると、DNA 傷害性刺激を加えた細胞においてのみ、Ulk746 のリン酸化シグナルがゴルジ体上で確認された。Ulk746 のセリン残基を置換すると、このシグナルは見られなかった。

研究業績

原著論文

1. Beclin 1 regulates recycling endosome and is required for skin development in mice. *S. Noguchi, S. Honda, T. Saitoh, H. Matsumura, E. Nishimura, S. Akira, S. Shimizu. Communications Biology* 2: article No. 37, 2019
2. Prediction of intracellular targets of a small compound by analyzing peptides presented on MHC class I. *Y. Sugimoto, M. Murohashi, S.*

- Arakawa, S. Honda, S. Shimizu. BBRC* 508, 480-486, 2019.
3. 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
 4. 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 in press.*
5. Identification of a novel phosphorylation site of Ulk1 that is required for genotoxic stress-induced alternative autophagy. *S. Torii, H. Yamaguchi, A. Nakanishi, S. Arakawa, S. Honda, K. Moriwaki, H. Nakano, S. Shimizu. Nature Communications in press*

ンが脱リン酸化されること、②この脱リン酸化を止めると、両方のオートファジーが共に誘導されなくなること、③一方、Ulk1 の 746 番目のセリンは、逆にリン酸化されること（図2）、④このリン酸化を止めると、新規オートファジーのみが誘導されなくなること（図3）、⑤746 番目のセリンがリン酸化されると、通常は細胞質に局在する Ulk1 がゴルジ体へ集積すること、⑥637 番目の脱リン酸化は PPM1D によって、746 番目のリン酸化は Ripk3 によって制御されること（図4）を見出した。これらの結果は、従来型オートファジーと新規オートファジーの活性化機構、ならびに両オートファジーの分岐機構を明らかにするものである。また、Ulk1 のセリン746番のリン酸化が、新規オートファジーのマーカーとなることを示している。

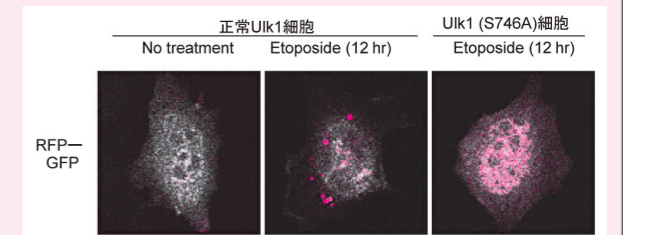


図3 新規オートファジーは、Ulk1 のセリン残基のリン酸化によって実行される
 新規オートファジー（赤色ドット）は、DNA 傷害性刺激を加えた細胞においてのみ観察された。Ulk⁷⁴⁶ のセリン残基を置換してリン酸化を引き起こさないようにすると、新規オートファジーは誘導されなかった。

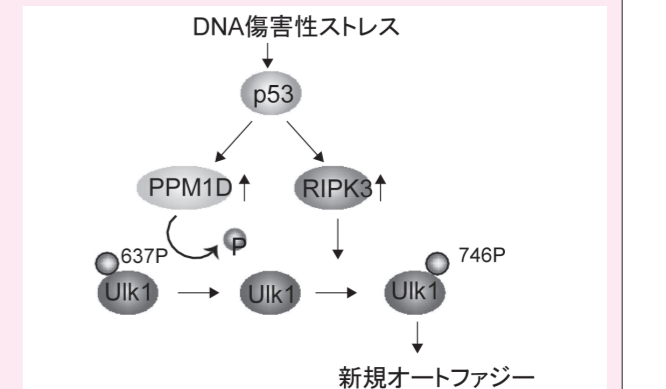


図4 新規オートファジー実行機構
 細胞に DNA 傷害性刺激が加わると、p53 活性化の下流で、PPM1D と RIPK3 の発現量が増加する。前者は、Ulk1⁶³⁷ の脱リン酸化、後者は Ulk⁷⁴⁶ のリン酸化を誘導して、新規オートファジーを惹起する。

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：本間謙吾、小藤智史 助教：石原えりか
特任助教：森ゆかり 事務補佐員：田中和子 技術補佐員：草場みずぎ

研究内容

当研究室では、情報のやり取り（シグナル伝達）の観点から、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組織や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、哺乳動物のマウスと小型魚類のメダカおよびゼブラフィッシュ、また、マウスとヒトの胚性幹（ES）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再生療法の開発や創薬のためには、正確で詳細な知見が必要です。

研究紹介

1. 初期胚発生と薬剤による発生毒性に関する研究

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胎仔を構成する微小な組織であり、その単離は困難です。ましてや原始線条を用いた生化学的解析は極めて困難です。それ故、原始線条の形成に関わる分子機構については不明な点が多く残されています。我々は、マウス胚性幹（ES）細胞を用いて、未分化細胞から原始線条様細胞集団を経て、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）を分化誘導する細胞分化誘導系を確立してきました。その結果、原始線条形成には、脂質代謝経路の1つであるメバロン酸経路とその下流のファルネシル2リン酸による“タンパク質のファルネシル化”と呼ばれる脂質修飾過程が必須の役割を果たしていること、一方、コレステロール合成は必須ではないことを明らかにしました

2. 器官形成に関する研究

約100年前に英国の物理・数学者 D'Arcy Thompson は、地球上の生物の形は重力に大きな影響を受けている

と予言しました。しかし、生物がどのように重力に抵抗して体を形作るのかは謎です。また、様々な組織は整然と配置されることで機能する臓器を形成しますが、その形成メカニズムも不明です。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て研究することが重要と考えています。そのため、ノックアウトマウスの作出や変異メダカの単離によって、上記課題の解決に取り組んできました。その結果、ノックアウトマウスの作出から MKK4/MKK7-JNK 経路が肝臓や脳の形成に必須であることを見出しました。また、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であることを明らかにしました。

3. 器官の恒常性維持に関する研究

老化あるいは損傷した異常な細胞は、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適切に排除される必要があります。しかしながら、哺乳動物の組織や器官に出現する異常な細胞を除去する機構は、未解明な点が多く残されています。我々は、哺乳動物培養細胞を用いて、器官サイズを制御する転写共役因子 YAP が異常な細胞の除去に関与することを明らかにしました。また、マウスを用いた実験から、アルコールなどで損傷した肝細胞が YAP 依存的に排除されることを見出しました。

4. 個体の概日リズムに関する研究

概日リズムは、睡眠や代謝等の生命現象に観察される約24時間の周期変動であり、生体の恒常性維持機構として機能します。この生体リズムは、細胞に内在する分子時計により形成されます。しかしながら、分子時計の制御機構については未だ不明な点が多く残されています。我々は、マウスの神経細胞内で恒常的に活性化されている MKK7-JNK 経路が個体の概日リズムおよび運動の制御に重要であることを明らかにしました。分子時計は、生物の初期胚には存在せず、個体発生に伴い組織・器官を構成する個々の細胞内に形成されていきます。分子時計が、組織・器官内で互いに同調すると、睡眠や代謝等の生命現象に概日リズムが観察されるようになります。我々は、哺乳動物と共通の概日リズム制御機構を有

するゼブラフィッシュを用いて、発生期の概日リズムの形成に関する研究を行っています。ゼブラフィッシュ胚は母体外で発生が進行し、その透明度は高いため、生きた状態で発生に伴う分子時計の動態を観察することが可能です。またゼブラフィッシュでは、孵化後すぐに開始される稚魚の遊泳行動を指標とした行動リズムの解析が

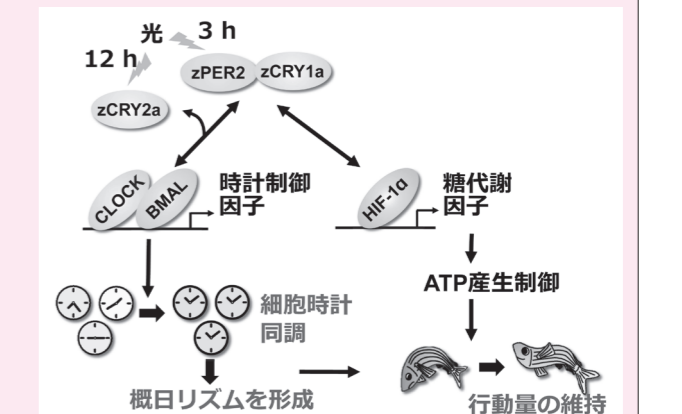
行えます。さらに、近年報告されたゲノム編集技術を用いて遺伝子改変個体の作出を簡便に行うことができます。我々は、これらゼブラフィッシュの特性を利用し、個体発生に伴う分子時計および概日リズムの形成機構の解明を目指しています。

ハイライト

光刺激がゼブラフィッシュ体内時計を形成する仕組みの解明

我々は、ゲノム編集技術を用いて、光誘導性の時計制御分子 zPer2, zCry1a, zCry2a をコードする遺伝子を破壊したゼブラフィッシュ（遺伝子改変ゼブラフィッシュ）を作出した。その結果、野生型ゼブラフィッシュと比較して、遺伝子改変ゼブラフィッシュでは行動量が低下することを見出した。遺伝子改変ゼブラフィッシュでは、エネルギー代謝を調節する遺伝子群の発現パターンが変化し、エネルギーの源である ATP 量が減少することを明らかにした。また、行動の日周変動を解析した結果、遺伝子改変個体では、光刺激による体内時計の異常を見出した。この原因を解明するために、ゼブラフィッシュ胚由来の培養細胞を樹立し、レポーター遺伝子を導入し、細胞時計を可視化した。その結果、野生型細胞では、異なる時刻を示した各細胞時計が光照射

により同じ時刻に同調した。一方、遺伝子改変細胞では、光照射によっても異なる時刻のまま同調しなかった。以上の結果は、光誘導性の時計制御分子が、1) エネルギー代謝を通じて行動量を制御すること、2) 個体内の個々の細胞時計を同調させ体内時計を形成させることを示唆している（図1）。



人事異動

転入：長尾裕志（4月～短期交流学生）、小藤智史（12月～講師）
転出：本間謙吾（9月末辞職、就職）、森 ゆかり（10月末辞職、新潟大学医学部）、石原えりか（11月末辞職、就職）

業績目録

原著論文

- Jun Hirayama, Yikelamu Alifu, Rin Hamabe, Sho Yamaguchi, Jun Tomita, Yusuke Maruyama, Yoichi Asaoka, Ken-ichi Nakahama, Teruya Tamaru, Ken Takamatsu, Nobuhiko Takamatsu, Atsuhiko Hattori, Sachiko Nishina, Noriyuki Azuma, Atsuo Kawahara, Kazuhiko Kume,

- Hiroshi Nishina (2019) The clock components *Period2*, *Cryptochrome1a*, and *Cryptochrome2a* are required for forming light-dependent behavioral rhythms and/or maintaining total activity levels in zebrafish. *Scientific Reports* 9, 196.
- Miki Nishio, Yousuke Miyachi, Junji Otani, Shoji Tane, Hirofumi Omori, Fumihito Ueda, Hideru Togashi, Takehiko Sasaki, Tak Wah Mak, Kazuwa Nakao, Yasuyuki Fujita, Hiroshi Nishina, Tomohiko Maehama and Akira Suzuki (2019) Hippo pathway controls cell adhesion and context-dependent cell competition to influence skin engraftment efficiency. *FASEB J* doi: 10.1096/fj.201802005R
- Ryo Goto, Kenya Kamimura, Yoko Shinagawa-Kobayashi, Norihiro Sakai, Takuro Nagoya, Yusuke Niwa, Masayoshi Ko, Kohei Ogawa, Ryosuke Inoue, Takeshi Yokoo, Akira Sakamaki,

- Hiroteru Kamimura, Satoshi Abe, Hiroshi Nishina and Shuji Terai (2019) Inhibition of sodium glucose cotransporter 2 (SGLT2) delays liver fibrosis in a medaka model of nonalcoholic steatohepatitis (NASH). *FEBS Open Bio* doi:10.1002/2211-5463.12598
- Takuro Nagoya, Kenya Kamimura, Ryo Goto, Yoko Shinagawa - Kobayashi, Yusuke Niwa, Atsushi Kimura, Norihiro Sakai, Masayoshi Ko, Hiroshi Nishina, Shuji Terai (2019) Inhibition of sodium - glucose cotransporter 2 ameliorated renal injury in a novel medaka model of nonalcoholic steatohepatitis - related kidney disease. *FEBS Open Bio* accepted

和文

仁科 博史：分子細胞生物学 第8版 (Lodish et al.) (翻訳分担) 東京化学同人 (2019)

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

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、幹細胞医学という新しい領域を創出し、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%を占める最大の臓器であり、外界から個体を隔て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可能性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ている。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、白髪が起こることを見出ししている (Nishimura EK et al., Science 2005) (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と癌の発生との関係性を明らかにすべく研究をすすめている。

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し、毛の再生に重要な細胞を供給している毛包幹細胞の

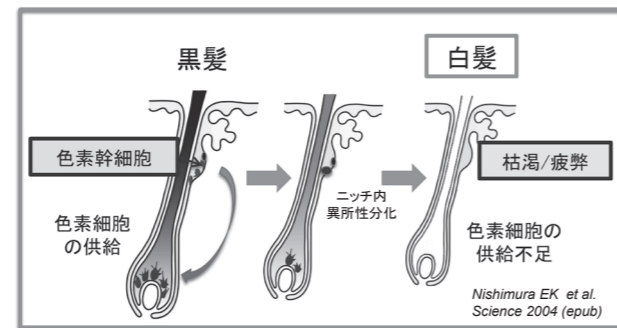


図1 加齢による色素幹細胞の枯渇/疲弊が色素細胞の不足による白髪を引き起こす

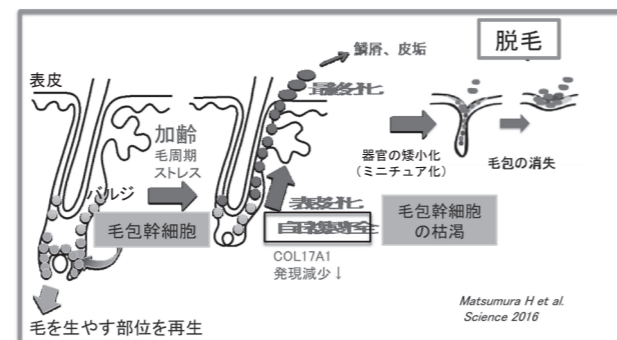


図2 加齢による毛包幹細胞の枯渇が毛包のミニチュア化と脱毛を引き起こす

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（ミニチュア化）するため、生えてくる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、ヒトにおいてもその傍証を得たことから、その制御によって加齢関連性疾患の予防や治療に繋がると考えられた (Matsumura H et al., Science 2016) (図2)。その仕組みとして、ストレス応答性の幹細胞分裂様式が存在する可能性について研究をすすめている。

4. 表皮における幹細胞競合による皮膚の若さの維持と老化の仕組みの解明

表皮などの重層扁平上皮において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。表皮幹細胞クローンを多く失いながらも一部のクローンの増大が進行する現象（中立的幹細胞競合）に着目し、真に中立的なクローンの選択がおこなわれているのか検証した。その結果、表皮幹細胞が隣接する幹細胞との間で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）が保たれて

いることが明らかになった (図3)。そして、幹細胞競合がおこななくなると表皮のみならず、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。今後、他の上皮系臓器でも同じように幹細胞競合が臓器の若さ（品質）や機能の維持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ていく。さらに加齢関連疾患との関連、その予防や治療の戦略についても探る予定である。

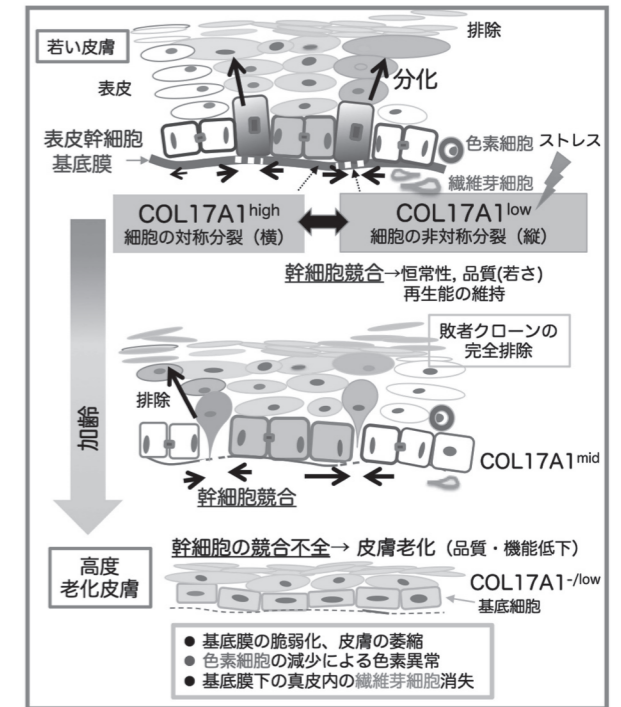


図3 表皮幹細胞はCOL17A1を介した細胞競合を行い、皮膚の恒常性を維持している。加齢により競合能は低下し皮膚の老化形質を示す。

業績目録

Liu N, Matsumura H, Kato T, Ichinose S, Takada A, Namiki T, Asakawa K, Morinaga H, Mohri Y, De Arcangelis, Georges-Labouesse E, Nanba D, Nishimura EK. Stem cell competition orchestrates skin homeostasis and ageing. *Nature*, 568(7752):344-350, 2019 doi: 10.1038/s41586-019-1085-7.

Muraguchi T, Nanb D, Nishimura EK., Tashiro T. IGF-1R deficiency in human keratinocytes disrupts epidermal homeostasis and stem cell maintenance. *J Dermatol Sci.*, 94(2):298-305, 2019 doi: 10.1016/j.jdermsci.2019.05.001.

Kinoshita K, Munesue T, Toki F, Isshiki M, Higashiyama S, Barrandon Y, Nishimura EK, Yanagihara Y, Nanba D. Automated collective motion analysis validates human keratinocyte stem cell cultures. *Sci Rep.* 9(1):18725, 2019 doi: 10.1038/s41598-019-55279-4.

Beclin 1 regulates recycling endosome and is required for skin development in mice.

Noguchi S, Honda S, Saitoh T, Matsumura H, Nishimura E, Akira S, Shimizu S. *Commun Biol.* 2:37, 2019 doi: 10.1038/s42003-018-0279-0.

国内学会招待講演

西村栄美：Stem cell-Centric strategies for organ regeneration and aging:RIKEN Aging Project Symposium 2020 (兵庫：理化学研究所神戸キャンパス), 2020年1月20-21日

西村栄美：Stem cell competition underlies skin homeostasis and aging: 日本研究皮膚科学会第44回年次学術大会 (青森：ホテル青森), 2019年11月7-10日

西村栄美：Stem cell competition orchestrates skin homeostasis and ageing: 第17回幹細胞シンポジウム (兵庫県：淡路夢舞台国際会議場), 2019年5月24日

国際学会招待講演

Emi K. Nishimura: Stem cell fate changes in skin organ aging:Fondation des treilles Stem Cells, Aging and Stress Response Mechanisms (Tourtour, France), October 7-12, 2019

Emi K. Nishimura: Stem cell competition in skin homeostasis and aging:Gordon Research

Conference-Epithelial Differentiation and Keratinization (Jordan Hotel at Sunday River, USA) , July 7-12, 2019

Emi K. Nishimura:Stem cell competition orchestrates skin homeostasis and ageing: Natuer Conference 2019-Aging, Health & Rejuvenation (De Doelen International Congress Centre, Netherlands) , June 23-26th, 2019

Emi K. Nishimura:Stem cell competition underlies skin homeostasis and aging: Japan-Singapore International Skin Conference 2019 (Clinical science building novena campus, Singapore), April 10-12th, 2019

国際学会発表

Hiroyuki Matsumura: Stem cell competition and division govern skin homeostasis and ageing: ISSCR (International Society for Stem Cell Research) 2019 Annual Meeting (Los Angeles Convention Center, USA), June 26-29th, 2019

Daisuke Nanba: Tracing stem cell motion in human keratinocyte colonies using deep learning-based object tracking:Japan-Singapore International Skin Conference 2019 (Clinical science building novena campus, Singapore), April 10-12th, 2019

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：Medhzidov Nazim, Feng Yang-yang
技術補佐員：萩生田絵美、寺本悠子 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。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がん免疫療法の開発を行っている。具体的なプロジェクトには以下のものがある。

- 1) 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
- 2) 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。
- 3) 糖鎖シグナルによるBリンパ球活性化制御の解明
- 4) Bリンパ球の活性化におけるエンドソームでのシグナル伝達の役割の解明
- 5) 制御性B細胞を標的とした自己免疫疾患の新規治療薬の開発
- 6) 抗体医薬に代わる治療ワクチンの開発

研究紹介

抑制性B細胞共受容体CD72による全身性エリテマトーデス発症抑制のメカニズムの解明

全身性エリテマトーデス (SLE) は、種々の核内抗原に対する自己抗体産生を特徴とする難治性の自己免疫疾患である。自己抗体と自己抗原との複合体 (免疫複合体) が血管壁に沈着し、炎症を惹起することが本疾患の病態で中心的な役割を果たす。

B細胞を含む多くの免疫細胞はウイルスなどの核酸を認識するレセプターを発現し、これらの核酸センサーはウイルスなどへの感染防御で重要な役割を果たす。核酸センサーには細胞質に局在するものと、TLR7, TLR8, TLR9のようにエンドソームに局在するものがある。これらのうちTLR7やTLR9は自己の核酸にも反応することが知られており、とりわけRNAを認識するTLR7はSLEの自己抗体が認識する自己抗原Sm/RNPを認識し、SLEの発症において重要な役割を果たすことが知

られている。死細胞から遊離したSm/RNPが抗Sm/RNP抗体産生B細胞に反応すると、Sm/RNPがエンドソームに取り込まれてTLR7を介してB細胞を活性化することで、自己抗体の産生がおこるものとされている。

我々は、もっぱらB細胞に発現する抑制性レセプターCD72がSLE発症を抑制することを明らかにした。さらに、CD72がSm/RNPを特異的に認識することで、B細胞のSm/RNPへの反応と自己抗体産生を特異的に抑制することを明らかにした。一方、SLEではSm/RNPだけでなく種々の核酸や核酸とタンパク質の複合体からなる自己抗原に対する自己抗体産生がおこる。そこで、我々は、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ることでCD72がSm/RNP以外の自己抗原にも反応するかの解析を行い、Sm/RNP以外にも種々の核酸関連の自己抗原に反応することを明らかにした。CD72は核酸とタンパク質の複合体からなる種々の自己抗原を認識するが、核酸そのものには反応しない。どのようなメカニズムでCD72

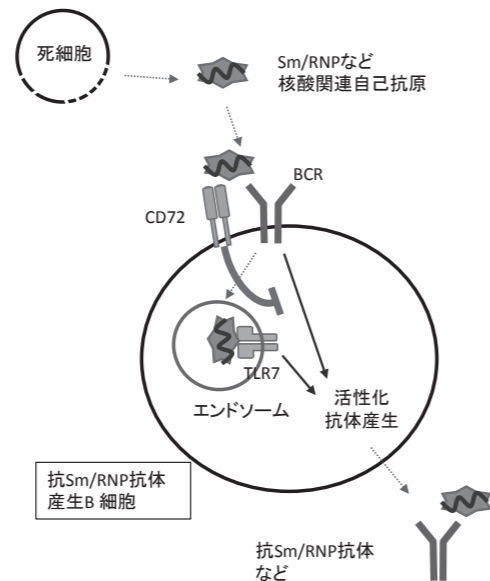


図1 B細胞に発現する抑制性受容体CD72による核酸関連抗原へのB細胞応答の抑制
死細胞由来のSm/RNPなどの核酸関連自己抗原が自己反応性B細胞により抗原として認識されると、抗原受容体(BCR)を介してシグナル伝達がおこるとともに、自己抗原はエンドサイトーシスされ、エンドソームでTLR7などの核酸センサーを介したシグナル伝達を誘導する。その結果、B細胞は活性化し、自己抗体産生がおこる。CD72はBCRに反応したSm/RNPを認識することで、BCRの近傍に移動し、BCRを介するシグナル伝達を抑制する。その結果、自己反応性B細胞の活性化が抑制され、自己抗体産生がおこらなくなる。

が種々の核酸関連自己抗原を認識できるのは不明であるが、核酸を認識せずに核酸関連自己抗原を認識することで、ウイルス核酸は認識せず、核酸関連自己抗原のみを

ハイライト

活性酸素種 (ROS) の抑制によりBリンパ球 (B細胞) のプラズマ細胞への分化を増強する。

これまでに、B細胞の抗原受容体 (BCR) を架橋するとNADPHオキシダーゼの活性化により活性酸素種 (ROS) 産生がおこり、ROSをN-アセチルシステイン (NAC) などでスカベンジするとB細胞の増殖が全くおこらなくなることを明らかにした。今回、B細胞のプラズマ細胞 (抗体産生細胞) への分化におけるROSの役割を明らかにする目的で、B細胞のBCRを抗IgM抗体で架橋するとともにサイトカイン存在下で培養してB細胞をプラズマ細胞に分化させる系にNACを加えてROSをスカベンジしたところ、細胞増殖は停止したが、プラズマ細胞への分化は顕著に増強した (図2) (Feng et al. 2019)。この結果は、ROSが抗原刺激を受けたB細胞の増殖に必須であるが、プラズマ細胞への分化は逆に抑制することを示している。筋肉細胞 (筋繊維) や神経細胞など種々の細胞の分化は細胞周期回転によって制御されることが示され、細胞周期回転が細胞分化を抑制することが明らかとなっている。免疫細胞での細胞分化が細胞周期回

転によって制御されるかはこれまで明らかではなかったが、本研究では、B細胞で細胞周期回転が細胞分化を抑制することを示唆する。現在そのメカニズムの解析を行っている。また、本研究の結果は、ROS産生を阻害することにより抗体産生を増強できることが示唆し、この知見を応用することで効率よく抗体を産生するワクチン開発が可能になると期待される。

転によって制御されるかはこれまで明らかではなかったが、本研究では、B細胞で細胞周期回転が細胞分化を抑制することを示唆する。現在そのメカニズムの解析を行っている。また、本研究の結果は、ROS産生を阻害することにより抗体産生を増強できることが示唆し、この知見を応用することで効率よく抗体を産生するワクチン開発が可能になると期待される。

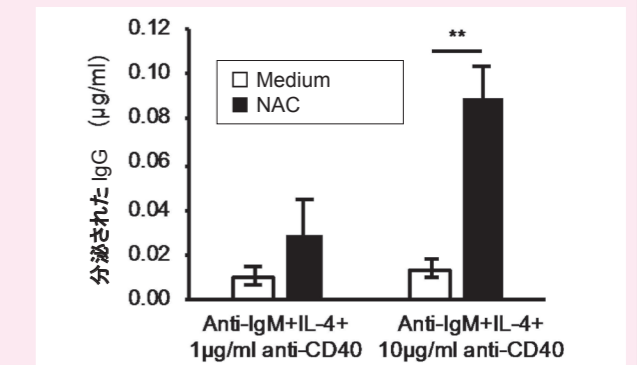


図2 ROS抑制による抗体産生の増強
マウスBリンパ球を抗IgM抗体、IL-4、抗CD40抗体によって刺激し、培養液中に分泌されたIgGの量を測定した。N-アセチルシステイン (NAC) により活性酸素種 (ROS) を除去すると、B細胞の増殖が顕著に抑制されるにもかかわらず、抗体産生が顕著に増強した (Feng et al. 2019 より引用改変)。

人事異動

転入: Huang Yuming (大学院博士課程)、國武慎治 (大学院修士課程)、丁一 (大学院研究生)、鈴木佑弥 (大学院特別研究生)、大亀綾香 (短期交流学生)、高嶋航 (共同研究員)、寺本悠子 (技術補佐員)、Orla Margaret Maeve Williams (短期交流学生)
転出: 安部有紀 (大学院博士課程)、Li Xuexin (大学院博士課程)、萩生田絵美 (技術補佐員)

業績目録

原著論文

1. Feng, Y.-Y., Tang, M., Suzuki, M., Gunasekara, C., Anbe, Y., Hiraoka, Y., Liu, J., Grasberger, H., Ohkita, M., Matsumura, Y., Wang, J.-Y. and Tsubata, T. (2019): Essential role of NADPH oxidase-dependent production of reactive oxygen species in maintenance of sustained B cell receptor signaling and B cell proliferation. *J. Immunol.* 202: 2546-2557.
2. Hong, R., Lai, N., Ouchida, R., Xiong, E., Zhou, Y., Hikida, M., Tsubata, T., Wang, Y. and Wang, J.-Y. (2019): The B cell novel protein 1 regulates BCR signaling and B cell apoptosis. *Eur. J. Immunol.* 49: 911-917.
3. Xiong, E., Li, Y., Min, Q., Cui, C., Hong, R., Lai, N., Wang, Y., Sun, J., Matsumoto, R., Takahashi, D., Hase, K., Shinkura, R., Tsubata, T., Wang,

- J.-Y. (2019): MZB1 promotes the secretion of J chain-containing dimeric IgA and is critical for the suppression of gut inflammation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 116: 13480-13489.
4. 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 (2019): Distinct roles of BCNP1 in B cell development and activation. *Int. Immunol.* 32(1):17-26.
5. Adachi, T., Yoshikawa, S., Tezuka, H., Tsuji, NM., Ohteki, T., Karasuyama, H., Kumazawa, T. (2019): Propolis induces Ca(2+)/signaling in immune cells. *Biosci Microbiota Food Health* 38:141-149.
6. Fujii, Y., Suzuki, K., Adachi, T., Taira, S., Osakabe, N. (2019): Corticotropin-releasing hormone is significantly upregulated in the mouse paraventricular nucleus following a single oral dose of cinnamtannin A2 as an (-)-epicatechin tetramer. *J Clin Biochem Nutr.* 65:29-33.
7. Isobe, J., Maeda, S., Obata, Y., Iizuka, K., Nakamura, Y., Fujimura, Y., Kimizuka, T., Hattori, K., Kim, YG., Morita, T., Kimura, I., Offermanns, S., Adachi, T., Nakao, A., Kiyono, H., Takahashi, D., Hase, K. (2019): Commensal-bacteria-derived butyrate promotes the T cell-independent IgA response in the colon. *Int Immunol.* dxz078. doi: 10.1093/intimm/dxz078.
8. Yoshikawa, S., Oh-Hora, M., Hashimoto, R., Nagao, T., Peters, L., Egawa, M., Ohta, T., Miyake, K., Adachi, T., Kawano, Y., Yamanishi,

- Y., Karasuyama, H. (2019): Pivotal role of STIM2, but not STIM1, in IL-4 production by IL-3-stimulated murine basophils. *Sci Signal.* 12:576

総説・著書

1. Tsubata, T. (2019): CD72 is a negative regulator of B cell responses to nuclear lupus self-antigens and development of SLE. *Immune Netw.* 19:e1.
2. Tsubata, T. (2019): Development of Siglec Regulators. In "Glycoscience: Basic Science to Applications" ed. by Naoyuki Taniguchi, Tamao Endo, Jun Hirabayashi, Shoko Nishihara, Kenji Kadomatsu, Kazunari Akiyoshi and Kiyoko F. Aoki-Kinoshita, p. 170-171, Springer.
3. Alborzian Deh Sheikh, A., Akatsu, C. and Tsubata, T. (2020): Identification of Siglec C ligands by Proximity Labeling. In "Lectin Purification and Analysis: Methods and Protocols" ed. by Jun Hirabayashi, Springer (in press).
4. Tsubata, T. (2019): Inhibitory B cell co-receptors and autoimmune diseases. *Immunol. Med.* 2(3): 108-116.
5. 鏑田武志 (2019): 制御性レセプターCD72によるRNA関連自己抗原の認識と自己免疫の抑制
臨床免疫・アレルギー科 71(3):288-293 2019年3月25日発行 科学評論社

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】

1. miRBaseに登録されているヒト全miRsの約96%をカバーする2565種類のmiRライブラリーを用いて、cell-based assayによる増殖抑制効果のスクリーニングを行い、核酸抗癌薬の創薬シーズとなりうる抗腫瘍効果の高い複数の癌抑制型miRsを同定した。
2. がん抑制型miR-634が食道扁平上皮がん等の治療の候補核酸分子であることのPOCを得て、LNPに内包したmiR-634-LNP製剤のマウス全身投与による皮下xenograft移行性と治療効果を確認するとともに、岐阜大学獣医病院との共同研究でメラノーマを対象とした伴侶犬臨床試験を開始した。
3. 癌病態の統合的理解に基づく新たな癌治療戦略の確立を目指し、高転移癌細胞株HOC313-LMによる化合物ライブラリースクリーニングからVEGFA抑制化合物の複数を同定するとともに、さらに、代謝関連遺伝子siRNAライブラリースクリーニングと癌ゲノム情報の統合解析から治療標的候補分子を特定した。
4. 先天異常症、発達障害、精神発達遅滞症のゲノム解析を行い、今年度、新たに2例で新規病因性遺伝子候補を見出した。また、既知てんかん原因遺伝子変異陰性と判定された乳幼児てんかん性脳症(early-onset DEE)の83症例のうち3症例(3.6%)に病因性CNVを見出し、Early-onset DEEの遺伝子診断においてCNV検出と病因性評価の重要性を提唱した。

【分子遺伝】

1. 乳がん発症に関連する分子の機能を追究し、乳腺発がん機構の解明に取り組んだ。
2. 乳がん関連遺伝子BRCA1/BRCA2の新規結合分子の探索によるDNA損傷修復機構の解明を進めるとともに、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。
3. 乳がん浸潤機構に焦点を当て、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。
4. 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。

【分子疫学】

1. 本学付属病院との共同研究において、母子コホート(BC-GENIST)研究を進め、健康関連エピゲノムマーカー同定の研究を進めている。
2. 胎児発育トラジェクトリーの後方視的解析を行い、胎児発育速度経過に多様性があることを世界で初めて見出した。
3. 妊娠中妊婦の体重増加が児の成長に与える影響を解析し、小さい児の場合、妊婦の体重増加の影響が児の体重増加に与える影響は小さいことを明らかにした。低出生体重児率の低下のために一様に妊婦に体重増加を推奨することは適切ではないことを示唆した。
4. 先天性代謝異常の検査後であっても新生児濾紙血はエピゲノムワイド関連解析による新生児エピゲノムマーカー探索に有効であることを示した。

【エピジェネティクス】

1. LTRレトロトランスポゾン由来のSIRH遺伝子群が、哺乳類でもヒトおよびマウスを含む真獣類のグループに多数存在することを報告し、そのうちPeg10, Peg11/Rtl1, Sirh7の3つの遺伝子が胎盤形成に関わる必須機能、Sirh11, Sirh3, Sirh8の3つは脳機能に関わることを明らかにした。
2. マウスES細胞およびヒトiPS細胞から生体における発生過程を模倣した心臓オルガノイドを作製する実験系を開発した。
3. 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の探索系を開発した。

【医科学数理分野】

1. 人工知能技術の一つである深層学習で扱えるように、ゲノミクスデータなどの非画像データを画像データに変換する方法を開発しました。この新手法を、がん遺伝子発現などの実データに適用した結果、既存の機械学習よりもはるかに高精度で分類できることが分かりました。背後にある複雑な特徴や構造を抽出できるようになり、医療での診断や医学・生命科学など広範囲の応用に貢献すると期待できます。
2. 疾患や薬物応答の鍵となる分子を同定し予測モデルを構築するためのネットワークボロジ解析と、オミクス特徴量と物理化学的特性を機械的学習により組み合わせた薬物毒性予測の高精度モデルを開発し、DREAM疾患モジュール同定コンテスト・薬剤併用効果予測コンテストでトップの成績をおさめました。
3. その他、認知症亜分類・リスク予測、メンデル遺伝病エクソーム解析、少サンプル1細胞解析手法の開発などの成果をおさめるとともに、ゲノムワイド関連解析の指針となる英文の教科書を出版しました。

【ゲノム機能多様性分野】

1. 多因子疾患の病因メカニズムを明らかにするために、ゲノムワイド関連解析(GWAS)とexpression QTL/splicing QTL解析の統合を行い、特に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。
2. GWASでは明らかにできない稀な多型の役割を、関節リウマチ検体を用いて解析し、TYK2遺伝子にサイトカインシグナルに影響を与える変異が集積していることを明らかにした。
3. 全身性エリテマトーデスの疾患感受性領域を明らかにするために、国際研究グループにおけるGWASのメタ解析を進めている。

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

当研究室では、未だ診断・治療法が確立されておらず、“アンメット・メディカルニーズ”の高い難治性疾患および癌を対象として、病態の分子メカニズムの解明だけでなく、新たな医療モダリティおよびゲノム構造異常の探索を行うことにより、革新的な診断・治療法を確立することを目的として研究を行なっている。

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* を創薬シーズとした核酸抗癌薬の開発

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が、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。一方、我々はこれまでに、*miR-634* は、癌細胞特有の細胞内代謝や細胞生存システム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。

そこで、DDS として LNP (lipid nanoparticle) を用いることにより、合成 2 本鎖 *miR-634* を LNP に内包した *miR-634*-LNP 製剤を開発した。膵臓癌細胞株 BxPC-3 細胞の担癌マウスに *miR-634*-LNP を全身性に投与した結果、腫瘍細胞への *miR-634* の効率的な送達による標的遺伝子の発現抑制および抗腫瘍効果が確認された。*miR-634*-LNP の投与による肝臓への障害性は認められなかった。本研究成果は、*miR-634*-LNP 製剤は有用な核酸抗癌薬になる可能性を示唆している (ハイライト参照) (Gokita K et al. Mol Therapy - Nucleic Acids. 2019)。

②新たな癌抑制型 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 *miR* ライブラリーを用いて、cell-based assay による増殖抑制効果のスクリーニングを行い、核酸抗癌薬の創薬シーズとなりうる抗腫瘍効果の高い癌抑

制型 *miRs* の探索を行ってきた。現在までに複数の癌抑制型 *miRs* 候補の絞り込み、標的遺伝子の同定、および担癌マウスモデルを用いた抗腫瘍効果を確認してきた。これらの癌抑制型 *miRs* 候補は、*miR* を用いた核酸抗癌薬の開発における有用な創薬シーズとなることが期待される。

③新たな医療モダリティとしての核酸抗癌薬の最適化

AMED による支援・連携企業・共同研究者とのオープンイノベーション体制のもと、合成 2 本鎖 *miR* を用いた核酸抗癌薬の開発に取り組んできた。具体的には、様々な癌種の担癌モデルにおいて、種々の DDS を利用した癌抑制型 *miR* 核酸製剤の抗腫瘍効果の検証、生体内安定性を保持するする *miR* の化学修飾・構造改変の特定、および中動物 (伴侶犬) での安全性・有効性試験を実施した。これらの取り組みは、*miR* を用いた核酸抗癌薬の前臨床試験および First-inhuman 試験の実施につながることを期待される。

2. 癌病態の統合的理解に基づく新たな癌治療戦略の確立

①腫瘍血管新生を標的とした新たな癌治療戦略

癌転移は、多段階のステップにより完遂する現象であり、腫瘍内における血管新生は、癌細胞の他臓器への導線となることが知られている。本研究において、高転移性口腔扁平上皮癌細胞株 HOC313-LM と種々の化合物ライブラリーを組み合わせることにより、血管新生に重要な因子である *VEGFA* の発現を抑制する化合物を複数同定した。興味深いことに、同定した化合物は、全てにおいて共通の細胞内シグナルを標的としていた。本研究成果は、血管新生を標的とする新たな癌治療戦略に貢献できる可能性がある。

②癌細胞の代謝脆弱性を標的とした新たな癌治療戦略

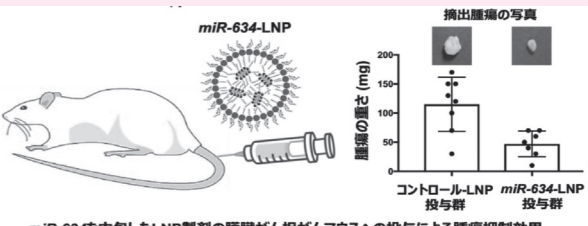
癌細胞では、しばしば遺伝子異常に伴って細胞内代謝経路の変調が認められる。そこで、癌細胞における細胞内代謝特性の生物学的意義を理解するとともに、癌細胞特有の代謝特性を標的とした新たな癌個別化治療戦略の開発を目的に研究を行った。これまで、192 種の代謝関連遺伝子に対する siRNA ライブラリースクリーニングおよび癌ゲノム情報解析により、遺伝子増幅に伴い活性化する治療標的分子を特定した。今後、本分子を標的と

する新たな癌治療戦略の開発が期待される。

3. 遺伝性疾患のゲノム解析

①多発奇形を伴う発達遅滞のゲノム解析

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 名を対象として、その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) において病理性 CNV を検出した (Hayashi et al. J Hum Genet 2011; Uehara et al. J Hum Genet. 2016)。次に、陰性であった 105 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% (20/105) に病理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、

ハイライト 「癌抑制型 miR-634 を創薬シーズとした核酸抗癌製剤の開発」 近年、新たな医療モダリティとして、癌抑制型 <i>miR</i> を用いた核酸抗癌薬の開発が注目されているが、標的となる腫瘍細胞内へ効率的に <i>miR</i> 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。一方、我々はこれまでに、 <i>miR-634</i> は、強力な抗腫瘍効果を有する癌抑制型 <i>miR</i> であることを示してきた。 そこで、DDS として LNP (lipid nanoparticle) を用いることにより、合成 2 本鎖 <i>miR-634</i> を LNP に内包した <i>miR-634</i> -LNP 製剤を開発し、膵臓癌細胞株 BxPC-3 細胞の担癌マウス尾静脈より全身性に投与した。その結果、腫瘍細胞への <i>miR-634</i> の効率的な送達による標的遺伝子の発現抑制および顕著な抗腫瘍効果が確認された。本研究成果は、 <i>miR-634</i> -LNP 製剤は有用な核酸抗癌薬になる可能性を示唆している (Gokita K et al Mol Therapy Nucleic acids 2019)。	 <p>図 1: <i>miR-634</i>-LNP の膵臓がん担癌マウスへの投与による腫瘍抑制効果。左: <i>miR-634</i>-LNP を含む注射器とマウス。右: 腫瘍重量 (mg) の比較。コントロール LNP 投与群 (黒) と <i>miR-634</i>-LNP 投与群 (白) の比較。腫瘍重量は投与群によって有意に減少した。</p> <table border="1"><thead><tr><th>投与群</th><th>腫瘍重量 (mg)</th></tr></thead><tbody><tr><td>コントロール LNP 投与群</td><td>~120</td></tr><tr><td><i>miR-634</i>-LNP 投与群</td><td>~50</td></tr></tbody></table>	投与群	腫瘍重量 (mg)	コントロール LNP 投与群	~120	<i>miR-634</i> -LNP 投与群	~50
投与群	腫瘍重量 (mg)						
コントロール LNP 投与群	~120						
<i>miR-634</i> -LNP 投与群	~50						

業績目録

原著論文

- Low SK, Chin YM, Ito H, Matsuo K, Tanikawa C, Matsuda K, Saito H, Sakurai-Yageta M, Nakaya N, Shimizu A, Nishizuka SS, Yamaji T, Sawada N, Iwasaki M, Tsugane S, Takezaki T, Suzuki S, Naito M, Wakai K, Kamatani Y, Momozawa Y, Murakami Y, [Inazawa J](#), Nakamura Y, Kubo M, Katagiri T, Miki Y: Identification of two novel breast cancer loci through large-scale genome-wide association study in the Japanese population. Sci Rep. 2019 Nov 22. doi: 10.1038/s41598-019-53654-9.
- Gokita K, Inoue J, Ishihara H, Kojima K, [Inazawa J](#): Therapeutic potential of LNP-mediated delivery of miR-634 for cancer therapy. Molecular Therapy Nucleic Acids 19 330-338 2019. doi: 10.1016/j.omtn.2019.10.045.
- Tanimoto K, Muramatsu T, [Inazawa J](#): Massive computational identification of somatic variants in exonic splicing enhancers using The Cancer Genome Atlas. Cancer Med. 2019 Oct 21. doi: 10.1002/cam4.2619.
- Takata R, Takahashi A, Fujita M, Momozawa Y, Saunders EJ, Yamada H, Maejima K, Nakano K, Nishida Y, Hishida A, Matsuo K, Wakai K, Yamaji T, Sawada N, Iwasaki M, Tsugane S,

Sasaki M, Shimizu A, Tanno K, Minegishi N, Suzuki K, Matsuda K, Kubo M, [Inazawa J](#), Egawa S, Haiman CA, Ogawa O, Obara W, Kamatani Y, Akamatsu S, Nakagawa H: 12 new susceptibility loci for prostate cancer identified by genome-wide association study in Japanese population. Nat Commun. 2019 Sep 27. 10:4422. doi: 10.1038/s41467-019-12267-6.

- Hirabayashi K, Uehara DT, Abe H, Ishii A, Moriyama K, Hirose S, [Inazawa J](#): Copy number variation analysis in 83 children with early-onset developmental and epileptic encephalopathy after targeted resequencing of a 109-epilepsy gene panel. J Hum Genet. 2019 Aug 30. doi: 10.1038/s10038-019-0661-x.
- Kikuchi-Koike R, Nagasaka K, Tsuda H, Ishii Y, Sakamoto M, Kikuchi Y, Fukui S, Miyagawa Y, Hiraike H, Kobayashi T, Kinoshita T, Kanai Y, Shibata T, Imoto I, [Inazawa J](#), Matsubara O, Ayabe T: Array comparative genomic hybridization analysis discloses chromosome copy number alterations as indicators of patient outcome in lymph node-negative breast cancer. BMC Cancer. 2019 May 30. 19:521. doi: 10.1186/s12885-019-5737-7.
- Akatsu Y, Takahashi N, Yoshimatsu Y, Kimuro S, Muramatsu T, Katsura A, Maishi N, Suzuki HI, [Inazawa J](#), Hida K, Miyazono K, Watabe T: Fibroblast growth factor signals

regulate transforming growth factor- β induced endothelial-to-myofibroblast transition of tumor endothelial cells via Elk1. Mol Oncol. 2019 Aug 13. 13:1706-1724. doi: 10.1002/1878-0261.12504. Epub 2019 Jun 19.

各種受賞

- 玄泰行: 第 23 回日本がん分子標的治療学会学術集会優秀ポスター賞
- 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

- 平林恭子: Copy number variation analysis in 83 children with early-onset developmental and epileptic encephalopathy after targeted resequencing of a 109-epilepsy gene panel.
- 五木田憲太郎: Therapeutic potential of LNP-mediated delivery of miR-634 for cancer therapy.

特許取得

(特許取得 - 国内)

- 2019 年 9 月 20 日、登録番号: 6587142、「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」稲澤譲治・井上純・山本信祐・河野辰幸・小崎健一、国立大学法人東京医科歯科大学

うち 2 例で新規候補遺伝子を同定した。

②乳幼児てんかん性脳症におけるゲノムコピー数異常の探索

乳幼児てんかん性脳症 (early-onset DEE, developmental and epileptic encephalopathy) は、乳幼児期に発症し、重篤かつ進行性の脳機能障害を特徴とする。未だ原因不明とされる症例も数多く存在し、ゲノムコピー数異常との関連を示した報告は未だ少ない。既知てんかん原因遺伝子 109 個を含む遺伝子パネル解析より、変異陰性と判定された early-onset DEE 83 症例を対象とし、SNP アレイ解析を用いて CNV を探索した。12 症例 (14.4%) で稀な CNV を検出し、うち 3 症例 (3.6%) は病理性 CNV、残り 9 症例 (10.8%) は臨床的意義不明の変異と判定した。Early-onset DEE の遺伝子診断において CNV の検出とその評価も重要であることが示唆された (Hirabayashi et al. J Hum Genet. 2019)。

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

乳がんは代表的なホルモン依存性がんであり、エストロゲン依存性増殖により発生し、DNA 損傷修復機能不全による生存シグナルの亢進からエストロゲン非依存性増殖能の獲得へと進行する。そこで、エストロゲンによる乳がん発生機構の解明、BRCA1・2による DNA 安定性維持機構の解明、及び DNA 損傷反応を標的とした新規乳がん治療法の開発、さらに、エストロゲンと BRCA2 による DNA 安定化機能制御を追究している。

研究紹介

1. 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

乳がんが上皮内乳管がんから乳管浸潤がんへ進行する間、腫瘍細胞は乳管と基底膜を破壊し、周囲の組織に侵入し、最終的にがんの浸潤を引き起こす。我々はこれまでにエストラジオール (E2) が、インターロイキン (IL) -1 β およびマトリックスメタロプロテイナーゼ-3 (MMP3) の分泌を増加させ、基底膜を破壊することを報告してきた。しかし、E2 応答による IL-1 β と MMP3 が分泌される分子機構は不明のままである。本研究では、カスパーゼ-1 および切断されたガスダーミン D (GSDMD) が E2 による刺激後に活性化されることを見出した。切断された GSDMD は、細胞膜の孔形成を誘導し、炎症性の細胞死に先行する IL-1 β などの成熟サイトカインの放出に寄与する。電子顕微鏡による観察から、E2 が MCF10A 細胞のパイロトーシスによる細胞死を誘導し、MCF10A 細胞の基底膜を破壊することが示された。以上の結果は、E2 がカスパーゼ-1-GSDMD 経路を介してパイロトーシス細胞死を誘導し、IL-1 β および MMP3 の分泌を促進し、それによって乳管を破壊することを示唆する。本研究は、エストロゲンが、乳管構造を崩壊させて乳がんの浸潤に関与する新しい可能性を提示するものである。

2. BRCA2 とエストロゲン受容体相互作用による生理的役割の解明

BRCA2 遺伝子の変異または欠損は、乳腺や卵巣などエストロゲンが作用する組織で発がんのリスクを高め

る。これは、BRCA2 タンパク質の機能喪失とエストロゲンの作用ががんの発症に関与することを示唆しているが、その証明は十分なされていない。エストラジオール (E2) は、エストロゲン受容体 (ER α) に結合することにより転写因子として作用し、その標的遺伝子には BRCA1 及び BRCA 2 遺伝子も含まれる。本研究では、BRCA2 と ER α の相互作用についてより詳細な解析結果を報告する。BRCA2 と ER α の直接結合を検討するために、BRCA2-FLAG と ER α の FLAG プルダウンアッセイを実施した。その結果、BRCA2-FLAG と ER α の直接結合を確認した。BRCA2-FLAG と ER α の複合体に E2 を加えても、両タンパク質の結合に影響しなかった。ところが、E2 を ER α に結合後 BRCA2-FLAG を加えると、E2 濃度依存的に BRCA2-FLAG と ER α の結合が抑制された。また、内在性の BRCA2 と ER α の核内での共局在は、MCF-7 細胞の共焦点免疫蛍光画像によって明らかにされた。これらの結果は、BRCA2 と ER α が核内で直接結合する可能性を示唆しており、今後さらに BRCA2 が E2-ER α の転写活性を制御するメカニズムを詳細に検討する。

3. 日本人集団における大規模ゲノムワイド関連解析 (GWAS) 研究による 2 種新規乳がん遺伝子座の同定

ゲノムワイド関連解析 (GWAS) により、これまで乳がん発症に関連する約 70 のゲノム遺伝子座が報告されている。しかし、様々な集団における連鎖不平衡と環境曝露の複雑さにより、より良いリスク予測のためには人種別、国別等で GWAS を実施することが不可欠である。そこで、遺伝的構造を調査し、日本人集団における 6,669 人の乳がん患者と 21,930 人の女性コントロールにより、一般的な乳がんの遺伝的リスクモデルを構築しその評価を行った。GWAS の結果、既報告の 9 種遺伝子座、及び 3q13.11 の rs9862599 (ALCAM) と 21q22.12 の rs75286142 (CLIC6-RUNX1) の 2 種の新規遺伝子座で、 $P < 5.0 \times 10^{-8}$ のゲノムワイド有意閾値を超える 11 種ゲノム遺伝子座を特定した。検証には、愛知県がんセンターの 981 乳がん症例と 1,394 人のコントロールを用いた。GWAS 結果の経路分析により、ドーパミン受容体シグナルおよびアミノ酸脱アセチル化と乳がんとの関連

が特定された。さらに、同定した乳がん発症関連遺伝子座による重み付き遺伝的リスクスコアを算出し、最もリスクの高いグループに分類された個人が、最もリスクの低いグループの個人と比較して、乳がんを発症する可能性が約 3.7 倍高いことを示した。この GWAS は、日本人の乳がんに関連する SNP を特定するこれまでで最大の研究である。

4. 治療抵抗性がんを克服する新たな合成致死療法の開発

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

ハイライト

我々は、MCF-10A 細胞の 3D 培養で乳管モデルを構築して、17- β エストラジオール (E2) が、乳管をとり囲む基底膜の破壊、細胞間の接着異常、アポトーシスおよびパイロトーシスによる細胞死を誘導することを見出した。その機構として、E2 がエストロゲン受容体の GPER に結合し、MAPK シグナル伝達経路を介して分泌されたマトリックスメタロプロテイナーゼ 3 (MMP-3) およびインターロイキン-1 β (IL-1 β) によることを明らかにした。乳管の崩壊は、がん細胞が乳管外に放出される浸潤の開始である。我々の発見は、乳管の崩壊に対するエストロゲンの重要な分子メ

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。

カニズムを明らかにした (Deng *et al.* 2020)。

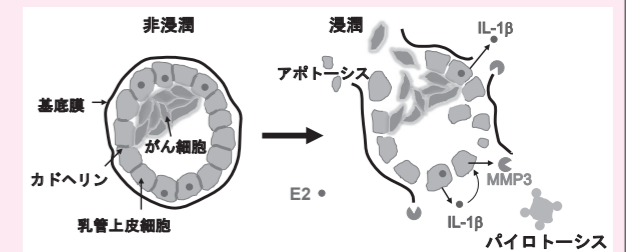


図 E2 の作用による乳がんの浸潤機構のモデル
E2 が GPER に結合して、cAMP-MAPK シグナル伝達が働き IL-1 β や MMP3 を分泌させることを明らかにした。活性化 MMP3 は、カドヘリンの消失や基底膜を崩壊させて、IL-1 β は、MAPK シグナル伝達系を活性化して新たな IL-1 β を分泌させる。この IL-1 β の分泌には、E2 が炎症性 Caspase1 を活性化して、パイロトーシスを誘導した。同時に E2 は、Caspase3 の活性化によるアポトーシスも誘導して乳管構造を崩壊した。

人事異動

転入：Ji Shuting (プロジェクト助教)、東條陽 (博士課程)、Zhang DouDou (博士課程)、Zhao Ying (博士課程)、Guo QianQian (博士課程)、Li Zi (大学院研究生)
転出：なし

業績目録

原著論文

- 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.
- Low SK, Chin YM, Ito H, Matsuo K, Tanikawa C, Matsuda K, Saito H, Sakurai-Yageta M, Nakaya N, Shimizu A, Nishizuka SS, Yamaji

- Sawada N, Iwasaki M, Tsugane S, Takezaki T, Suzuki S, Naito M, Wakai K, Kamatani Y, Momozawa Y, Murakami Y, Inazawa J, Nakamura Y, Kubo M, Katagiri T, Miki Y. Identification of two novel breast cancer loci through large-scale genome-wide association study in the Japanese population. *Sci Rep.* 2019 Nov 22;9(1):17332. doi: 10.1038/s41598-019-53654-9.
- Osumi H, Shinozaki E, Wakatsuki T, Suenaga M, Ichimura T, Ogura M, Takahari D, Ooki A, Suzuki T, Ota Y, Nakayama I, Chin K, Miki Y, Yamaguchi K. Non-V600E BRAF mutations and EGFR signaling pathway in colorectal cancer. *Int J Cancer.* 2019 Nov 1;145(9):2488-2495. doi: 10.1002/ijc.32320.
- Sunada S, Haskins JS, Kato TA. Sister Chromatid Exchange as a Genotoxic Stress Marker. *Methods Mol Biol.* 2019; 1984:61-68. doi: 10.1007/978-1-4939-9432-8_7.

- Yoshikawa H, Sunada S, Hirakawa H, Fujimori A, Elmegerhi S, Leary D, Kato TA. Radiobiological Characterization of Canine Malignant Melanoma Cell Lines with Different Types of Ionizing Radiation and Efficacy Evaluation with Cytotoxic Agents. *Int J Mol Sci.* 2019; 20(4). pii: E841. doi: 10.3390/ijms20040841.

著書・総説

三木 義男：【希少がん、遺伝性腫瘍】遺伝性腫瘍 遺伝子バリエーション解釈の問題点：腫瘍内科 24 巻 pp.370-377 (2019)

戸井 雅和、三木 義男、小川 誠司、山本 信之：【Somatic/germline 変異とがん医療】Somatic/germline 変異とがん医療 研究の最前線と臨床展開：がん分子標的治療 17 巻 pp.62-68 (2019)

荒木 和浩、三木 義男：進行乳がんに対するオラパリブ：腫瘍内科 23 巻 pp.410-419 (2019)

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

研究紹介

1. 新生児マススクリーニング濾紙血を用いたエピジェネティック解析

先制医療実現化のためには、一生を通じた健康関連の表現型と生体試料の分子生物学的解析データのセットを収集し蓄積していく仕組みを今後構築していくことが社会的にも重要である。なるべく早期に疾患リスクを検出し、その後の人生の軌道を修正することができれば、健康寿命を延伸することができると考えられている。しかし、出生前環境によって形成された疾患リスクの検出および評価の方法はまだ確立されていない。DNA メチル化の解析対象となる新生児生体試料は主に臍帯、臍帯血、および末梢血の乾燥濾紙血検体である。現在細胞種ごとの DNA メチル化参照データの整備も進められ、さらに遺伝の影響も考慮する試みが少しずつつ行われ、エピゲノムワイド関連解析の質も向上しつつある。出生前環境と関連する DNA メチル化変化あるいは小児期、成人期の疾患形質と関連する DNA メチル化変化が適切に解析されることにより、先制医療の分子生物学的指標の同定につながると考えられている。先制医療の社会的仕組みを構築する上では、使用済み新生児マススクリーニング濾紙血検体の利用が注目される。そこで、島根大学医学部小児科特任教授、山口清次博士と共同で、我が国の実際の使用済み新生児マススクリーニング濾紙血検体を用いてエピゲノムワイド関連解析に向けた試験的な研究を行った。DNA 取量は、在胎週数が 35 週以上であれば、メチル化アレイ及び SNP アレイの両方の解析を行うのにほぼ十分であることがわかった。出生体重との関連が報告されている HIF3A DNA メチル化を解析し既報の結果を再現した。出生体重との関連性は近傍の SNP の影響を調整しても維持された。

2. DOHaD 研究

先制医療実現化 DOHaD 研究プロジェクトを推進し、(1) 母児ゲノム・エピゲノムと環境が母児の健康に及ぼす影響を前向きに調査する母子コホート研究 (Birth Cohort-Gene ENvironment Interaction Study in TMDU, BC-GENIST) の実施・解析に加え、(2) 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、

(3) マイクロ RNA を介した胎児胎盤母体間コミュニケーションによる胎児発育制御、母体の妊娠適応制御の解析に取り組んでいる。

3. Noncoding RNA HOTAIR SNP rs920778 と癌の関連研究 (Aye Ko Ko Minn)

HOTAIR は HOX 遺伝子クラスターにある noncoding RNA であり、細胞の分化や癌化において重要な機能を持つことが知られている。実際、多くの癌で HOTAIR の発現が上昇が認められ、発現量と予後が関連するという報告もある。一方 HOTAIR の一塩基多型 (SNP) rs920778 は eQTL により HOTAIR 遺伝子発現と関連していることが明らかとなり癌との関連が調べられた。これまでに rs920778 は食道がん、胃がん、乳がん、子宮がん、肺がんなど様々な癌種のリスクと関連していることが報告されている。しかしこれらはほとんど中国からの論文であり、関連を認めないとする論文もある。日本人において rs920778 を調べた関連研究は未だない。そこで私たちは東京都長寿健康医療センター病理部との共同研究の元で、JG-SNP に登録された日本人連続剖検例を用いて解析した。1373 人 (平均年齢 80 歳) 症例のうち 827 人 (60.2%) が病理的に確認された癌を有しており、546 人 (39.8%) は癌を有していなかった。年齢・性・喫煙・飲酒で調整して優性・劣性・相加的モデルにおいて関連を調べたが、いずれも優位な関連は見られなかった。個々の癌腫に分けて解析すると肺がんでのみ nominal $p=0.04$ の値をみたが、これは多重検定による偽陽性の可能性が高いと考えられた。以上により HOTAIR rs920778 は日本人高齢者集団においては癌との関連はないことが示唆された。

4. CYP2A6 遺伝子欠損と癌の関連研究 (Maidina Abudushataer)

CYP2A6 はニコチン及び多くの環境化学物質の代謝を司る CYP450 系酵素である。CYP2A6 の遺伝子全欠損 (CYP2A6*4) は日本人を含む東アジア人集団ではアリル頻度の高く (20 ~ 24%)、SNP ではタグ付けされないことが判っている ($r^2 < 0.4$)。CYP2A6 遺伝子欠損が癌と関連するかどうかは、まだ明らかではない。そこ

で CYP2A6 欠損型ががんのリスクに与える影響を調べる目的で、東京都健康長寿医療センターの JG-SNP データベースに登録された連続剖検例を用いて関連解析を行った。がんは剖検時に病理学的に診断された。CYP2A6 野生型 (W) と欠損型 (D) は、アリル特異的 RT-PCR 方法によって判定した。

CYP2A6 WW、WD と DD の遺伝子型頻度は、それぞれ、65.0%、30.6% と 4.4% であり、ハーディ-ワインバーグ平衡に従った。全がんならびに主要な胃がん ($n=163, 11.9\%$)、大腸がん ($n=130, 9.5\%$)、肺がん ($n=128, 9.3\%$) と血液がん ($n=127, 9.3\%$) との関連を優性、劣性および相加的モデルで検討したが、いずれにおいても関連は認められなかった。男女別に解析をしたところ、女性でのみ、CYP2A6 欠損型は胃がん有病率を低下させた ($OR=0.49, 95\% CI: 0.25-0.95, p=0.021$ 、年齢・喫煙・飲酒調整後)。喫煙者と非喫煙者を個別に解析したところ、女性非喫煙者において、CYP2A6 欠損型はで全がんの有病率が低下した ($OR=0.67, 95\% CI: 0.45-0.99, p=0.041$ 、同調整後)。一方、喫煙者において、CYP2A6 欠損型は血液がん有病率の増加が認められた ($OR=2.05, 95\% CI: 1.19-3.53, p=0.01$ 、同調整後)。

CYP2A6 欠損型は、全がんおよび主要がんの有病率に大きくに影響を及ぼす可能性は少ない。しかし性や喫

人事異動

転出：Sylpa Pavethynath 博士課程終了、飛知和尚美 修士課程終了
短期滞在：Pallavi Govind (Imperial College London 交換留学生)

業績目録

発表論文

- Pavethynath S, Imai C, Jin X, Hichiwa N, Takimoto H, Okamitsu M, Tarui I, Aoyama T, Yago S, Fudono A, Muramatsu M, Miyasaka N, Sato N. Metabolic and Immunological Shifts during Mid-to-Late Gestation Influence Maternal Blood Methylation of CPT1A and SREBF1. *Int J Mol Sci*. 2019;20(5). pii: E1066.
- Kyaw TZ, Yamaguchi S, Imai C, Uematsu M, Sato N. The utility of post-test newborn blood spot screening cards for epigenetic association analyses: association between HIF3A methyla-

tion and birth weight-for-gestational age. *J Hum Genet*. 2019;64(8):795-801

- Sato N, Miyasaka N. Heterogeneity in fetal growth velocity. *Sci Rep*. 2019;9(1):11304.
- Sato N, Miyasaka N. Stratified analysis of the correlation between gestational weight gain and birth weight for gestational age: a retrospective single-center cohort study in Japan. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2019;19(1):402.
- Matsuda Y, Tanaka M, Sawabe M, Mori S, Muramatsu M, Mieno NM, Ishiwata T, Arai T. The Stem Cell-Specific Intermediate Filament Nestin Missense Variation p.A1199P Is Associated With Pancreatic Cancer. *Oncol Lett* 2019; 17(5), 4647-54
- 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* 2020 *in press*
- 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* 2020 *in press*

- Govind P, Pavethynath S, Sawabe M, Arai T, Muramatsu M. *Mol & Clin Oncology* 2020 *in press*
- 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* 2020 *in press*

招待講演

- 村松正明「ポリジェニックスコアによる多因子疾患のリスク測定の意義」第 60 回日本人ドック学会学術大会 ランチョンセミナー 2019 年 7 月 26 日 (岡山)
- 村松正明「ポリジェニックスコアを用いた遺伝学的検査は予防行動を促すか？」日本人類遺伝学会 第 64 回大会 ランチョンセミナー 2019 年 11 月 8 日 (長崎)

煙習慣によって対象を層別化することによりがんに関連する可能性がある。本結果を確認するためにはより大きなサンプルサイズによる追試が必要である。

5. アルコール脱水素酵素 (ADH1B) と癌との関連研究 (Pallavi Govind)

アルコール脱水素酵素 (ADH1B) はアルデヒド脱水素酵素 (ALDH2) とともにアルコール代謝を司る代謝酵素である。ALDH2 の機能不全をもたらす非同義多型 Glu504Lys (rs671) が有名であり、飲酒習慣との強い関連が知られている。一方 ADH1B にはこれほど強い効果ではないが、活性を低下させる非同義多型 Arg84His (rs1229984) が存在していることが知られている。ADH1B rs1229984 多型が癌と関連しているかどうかは不明である。そこで私たちは東京都長寿健康医療センター病理部との共同研究の元で、JG-SNP に登録された日本人連続剖検例を用いて解析した。その結果、年齢・性・喫煙・飲酒で調整して優性・劣性・相加的モデルにおいて関連を調べたが、いずれも優位な関連は見られなかった。個々の癌腫に分けて解析すると肺がんでのみ nominal $p=0.02$ の値をみたが、これは多重検定による偽陽性の可能性が高いと考えられた。

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

研究紹介

免疫アレルギー疾患・生活習慣病・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、2020年6月に新しく発足したが、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、Geuvadis project、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、より詳細な解析が必要である。また、遺伝子多型から離れた領域 (> 100kb) の遺伝子に働くものもあるため、Hi-C法などによって得られる高次エピゲノム情報を追加して解析する必要がある。

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ウイ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。

さらに、疾患発症に関与する遺伝因子として、GWASが解析対象としてこなかったrare variantの寄与も明らかになりつつある。これらのrare variantの一部は、アミノ酸配列の変化を介して、タンパクの機能を質的に変化させて疾患に関与しているものもある。実際に、関節リウマチの98個のGWAS遺伝子をリシーケンスすることによって、TYK2遺伝子のpsuedo-kinase domainに、健常者において疾患に防御的に働くrare variantの集積が明らかになった。細胞株を用いたタンパク機能解析により、これらのrare variantは、IFN- γ などの炎症性サイトカインシグナル伝達を減弱することを明らかにしたが、このことはTYK2のpsuedo-kinase domainを標的とした創薬が疾患に有効であることを示唆する。

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

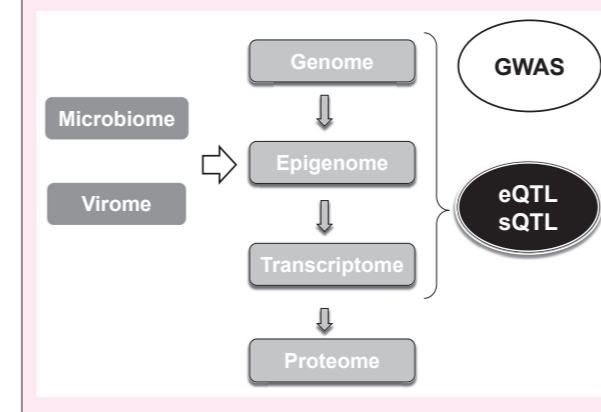
個々の遺伝因子を解析することによって、多因子疾患の病態の一側面が明らかになるが、病態全体を形成するのはこれらの遺伝因子の積み重なりである。したがって、疾患をシステムとみなしたうえで、この遺伝因子の積み重なりをシステムズ・アプローチによって解析することが、病態の全体像や個人間の病態の違いを評価するために必要である。実際に我々は、CD4陽性T細胞におけ

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。

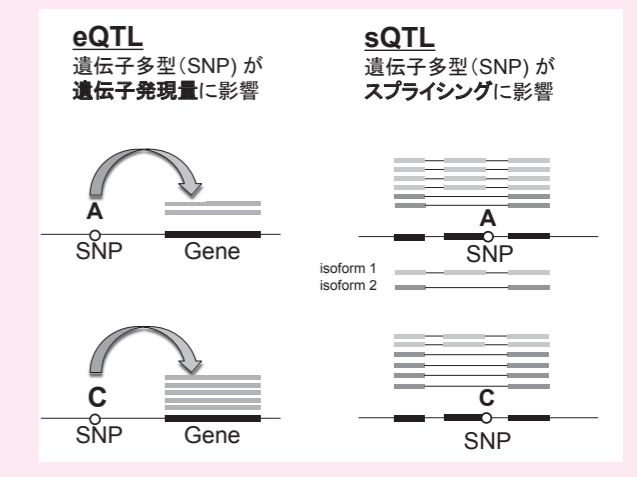
ハイライト

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 他

転入：湯浅亜沙子 (事務補佐員)、山口健介 (連携研究員)、小林香子 (連携研究員)、阿部舞 (連携研究員)

業績目録

原著論文

1. Otani T, Noma H, Sugawara S, Kuchiba A, Goto A, Yamaji T, Kochi Y, Iwasaki M, Matsui S, Tsunoda T. Exploring predictive biomarkers from clinical genome-wide association studies via multidimensional hierarchical mixture

- models. *Eur J Hum Genet.* 2019 27(1):140-9.
2. Motegi T, Kochi Y, Matsuda K, Kubo M, Yamamoto K, Momozawa Y. Identification of rare coding variants in TYK2 protective for rheumatoid arthritis in the Japanese population and their effects on cytokine signalling. *Ann Rheum Dis.* 2019 78(8):1062-9.
3. Molineros JE, Looger LL, Kim K, Okada Y, Terao C, Sun C, Zhou XJ, Raj P, Kochi Y, Suzuki A, et al. Amino acid signatures of HLA Class-I and II molecules are strongly associated with SLE susceptibility and autoantibody production in Eastern Asians. *PLoS Genet.* 2019 15(4):e1008092.
4. Akizuki S, Ishigaki K, Kochi Y, Law SM, Matsuo K, Ohmura K, Suzuki A, Nakayama M,

Iizuka Y, Koseki H, et al. PLD4 is a genetic determinant to systemic lupus erythematosus and involved in murine autoimmune phenotypes. *Ann Rheum Dis.* 2019 78(4):509-18.

著書・総説

1. Okada Y, Eyre S, Suzuki A, Kochi Y, Yamamoto K. Genetics of rheumatoid arthritis: 2018 status. *Ann Rheum Dis.* 2019 78(4):446-53.
2. ゲノム情報による自己免疫疾患の個別化医療 Precision Medicine 2019 2(1): 10-13
3. 強皮症および炎症性筋疾患の遺伝素因 リウマチ科 2019 61(2): 116-121
4. eQTLによる自己免疫疾患の病因解明 炎症と免疫 2019 27(5):398-401

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) 体細胞クローン動物や生殖補助医療を含む発生工学的手法による個体発生におけるエピジェネティック過程の解明です。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。

研究紹介

1. 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

哺乳類特異的なゲノムインプリンティングは片親性発現インプリント遺伝子の発現制御機構であり、その異常はゲノムインプリンティング疾患を引き起こす。染色体 14 番父親性 2 倍体症候群 (Kagami-Ogata syndrome) はベル型肋骨形成異常、呼吸不全による新生児致死などの重篤な症状を示す難病指定を受けている疾患である。同じ領域の母親性 2 倍体症候群 (Temple syndrome) にも成長遅延や筋肉の異常が見られる。疾患モデルマウスを用いた研究から、父親性発現遺伝子 PEG11/RTL1 の過剰発現が Kagami-Ogata syndrome、PEG11/RTL1 の欠失が Temple syndrome の主要原因遺伝子であることを明らかにした (論文リバイズ中)。現在、アンチセンス RNA を用いて制御することで、過剰発現を抑制する治療法の開発を進めている。(ハイライト参照)

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

PEG11/RTL1 は SIRH/RTL (Sushi-ichi retrotransposon homologues/Retrotransposon Gag-like) 遺伝子群に含まれる。これらは哺乳類特異的に存在する獲得遺伝子群であるが、われわれは哺乳類の個体発生に重要な胎盤形成に必須の PEG10 や胎盤の各種ホルモン産生に関与する SIRH7/LDOC1 など明らかにしてきた。現在、他の SIRH 遺伝子群の脳関連機能に関する解析を東海大学医学部の金児-石野教授と進めている。マウスモデルでは Sirh11/Zcchc16 KO が認知機能の異常を起こすこと、Sirh3/Ldoc1 KO、Sirh8/Rgag4 KO マウスにも、それとは異なる行動異常が見られている。これらの遺伝子はヒト精神疾患の原因候補遺伝子と考えている。

3. マウス ES 細胞、ヒト iPS 細胞からの心臓オルガノイド作製

現在、ES 細胞や iPS 細胞などの多機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誰も成功はしていなかった。当研究室では、今回、自己組織化という生物本来が持つ機能を使用して、世界で初めて心臓オルガノイド作製法の開発に成功した (論文リバイズ中)。これを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。

4. ゲノムのメチル化状態を解析する新技術開発

DNA メチル化は遺伝子発現調節に重要な役割を果たしていますが、ヒドロキシメチル化状態に変換されるとその機能が変わると考えられています。ゲノム中のメチル化関係の修飾を配列レベルで解析できる EnIGMA 法を開発し、現在、これをゲノムワイド解析に応用できるように改良を進めている。

ハイライト

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 (Kagami-Ogata syndrome) はベル型肋骨形成異常、呼吸不全による新生児致死などの重篤な症状を示す難病指定を受けている疾患である。同じ領域の母親性 2 倍体症候群 (Temple syndrome) にも成長遅延や筋肉の異常が見られる (図 1)。このインプリント領域に含まれる PEG11 を過剰発現したマウスモデルが Kagami-Ogata syndrome と同様の症状を示し、欠失したマウスモデルが Temple syndrome と同様の症状を示すことから、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 2、論文リバイズ中)。また、この遺伝子発現量をアンチセンス RNA を用いて制御することで、過剰発現を抑制する治療法の開発を進めている。PEG11 はもともと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として私たちが報告したものである (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由来の哺乳類特異的な遺伝子群の一つでもあり、哺乳類に特徴的な胎盤の進化に重要な遺伝子と考えられるが、今回の研究で、胎児期、新生児期の筋肉に特異的に発現し、重要な機能を持つことが明らかになった。面白いことに成体の筋肉では全く発現していない。新生児の筋肉を見ると Peg11 タンパク質の過剰発現と欠失では全く異なる異常が生じている (図 2)。このタンパク質は筋繊維では Z 帯の極近傍に存在し、筋繊維の安定化、収縮力を生み出すのに重要な Desmin

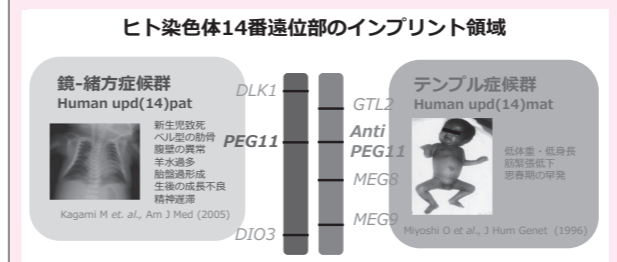


図 1 鏡-緒方症候群とテンブル症候群 (左) ヒト染色体 14 番遠位部の父親性 2 倍体症候群 (鏡-緒方症候群) の症状を示す。(右) 同母親性 2 倍体症候群 (テンブル症候群) の症状を示す。どちらも筋肉に関する異常が見られている。今回の研究で、前者は PEG11/RTL1 遺伝子の過剰発現、後者は発現欠失が主要原因であることがわかった。

タンパク質と共局在する (図 3) ことから、胎児、新生児期の筋繊維の安定化および収縮の制御に関係していると考えられる。ヒトやマウスが属する真獣類では Peg11 タンパク質の胎盤での機能維持機能により、胎児を母親の胎内で長期間育てることが可能になっている。その際、大きくなった胎児の運動をある程度抑制することが母体の安全、ひいては胎児の安全に重要になろう。PEG11 の胎児筋肉における特異的な発現は、真獣類の長期間の胎生に対応し、安全に胎児が母体内で過ごすための適応の一つではないかと考えられる。

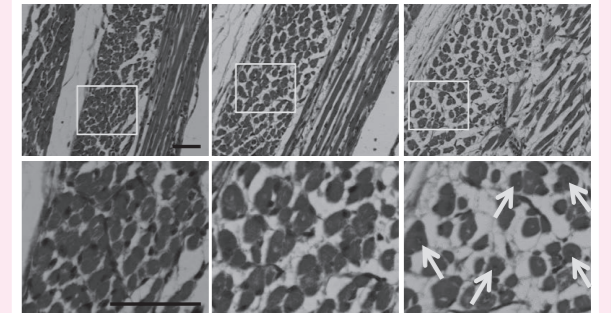


図 2 Peg11/Rtl1 の欠失および過剰発現による骨格筋の異常 (肋間筋の例) (左) 欠失、(中央) 正常、(右) 過剰発現の標本。肋間筋は肋骨間を直交する 2 つの筋肉束が見える。そのうち筋肉の断面部分 (黄色の四角) を拡大したのが下の図である。スケールバーは上図では 1mm、下図では 50µm を表す。

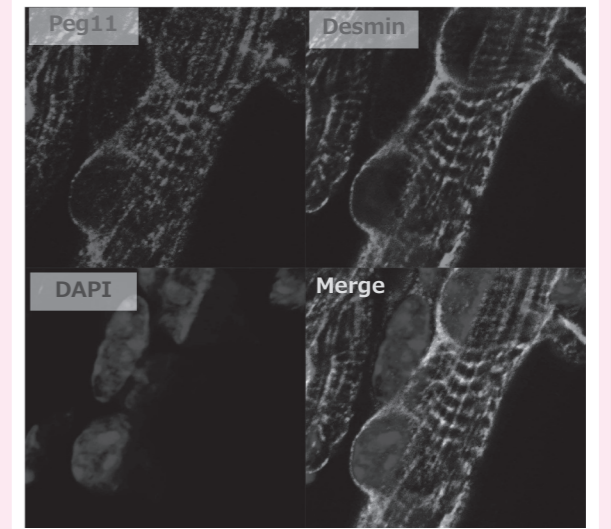


図 3 Peg11/Rtl1 タンパク質の筋繊維での発現部位 (左上) Peg11/Rtl1 タンパク質の新生児筋繊維での発現、(右上) Desmin タンパク質の同サンプルにおける発現、(左下) 細胞核の DAPI 染色、(右下) すべてのシグナルを重ね合わせた画像。Desmin タンパク質は横紋筋の Z バンドの極近傍に局在し、筋繊維の安定化に重要な役割を果たしている。Peg11/Rtl1 タンパク質は同じ位置に共局在をしている。

業績目録

発表論文

1. Kaneko-Ishino T and Ishino F. Evolution of

viviparity in mammals: what genomic imprinting tells us about mammalian placental evolution. *Reprod Fert Dev* (in press) doi: 10.1071/RD18127

2. Kaneko-Ishino T and Ishino F. Cooperation

and Competition in Mammalian Evolution -Gene Domestication from LTR Retrotransposons- *In* Evolution, Origin of Life, Concepts and Methods, Chapter 15 (Ed. Pontarotti P), Springer Nature, pp.317-333(2019).

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 助教：西野 穰

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. 深層学習によりゲノム解析を行う方法論

私たちは、人工知能技術の一つである深層学習で扱えるように、ゲノミクスデータなどの非画像データを画像データに変換する方法を開発しました [1]。ゲノミクスデータなどの多くのデータは非画像データであるため、深層学習の能力を生かすには画像データにする必要があります。遺伝子発現などのゲノミクスデータを使って医療診断や予測のためのクラス同定や分類を高精度に行うために、適切な変数(画素)の配置、特徴抽出、そして適切な分類モデルの構築という三つのステップを行う DeepInsight 法を開発しました。DeepInsight 法では最初の段階で、画素としての変数を適切に再配置し、非画像データから画像データへの変換を行うことで、非画像データの解析に対しても深層学習が可能になりました。この新手法を、がん遺伝子発現などの実データに適用した結果、既存の機械学習よりもはるかに高精度で分類できることが分かりました。本研究成果により、遺伝子データなどさまざまな非画像データを深層学習で扱うことで、背後にある複雑な特徴や構造を抽出できるよ

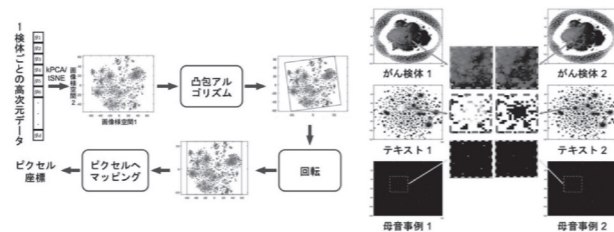


図1 ゲノミクスなどの非画像データを画像データに変換する方法(左)と実例(右)。

くなり、医療での診断や医学・生命科学など広範囲の応用に貢献すると期待できます。

2. DREAM 疾患モジュール同定コンテスト・薬剤併用効果予測コンテスト・疾患モジュールネットワーク解析

疾患や薬物応答の鍵となる分子を同定し予測モデルを構築するためのネットワークトポロジー解析と、オミクス特徴量と物理化学的特性を機械的学習により組み合わせた薬物毒性予測の高精度モデルを開発しました。これにより DREAM 疾患モジュール同定コンテスト・薬剤併用効果予測コンテストでトップの成績をおさめました [2-4]。

3. 認知症亜分類・リスク予測

認知症には大きく3つの亜分類があり、治療にはこれらを適切に分類し診断することが重要と考えられます。今回 miRNA 発現データをセミスーパーバイズド手法と機械学習によって高精度に分類しリスクを推定するモデルを構築することができました [5, 6]。

4. 少サンプル 1 細胞クラスタリング手法

1 細胞 RNA-Seq データを用いて多細胞をクラスタリングすることが行われつつありますが、少サンプルの場合の難しさを克服するために、特徴のクラスタリングと選択を行う手法を開発しました [7]。

5. 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 [8]。

6. GWAS バイオマーカー探索と予測・教科書

GWAS の未来像として、各疾患の発症や治療のバイオマーカーの探索と予測に応用することが求められています。その手法を開発し論文化するとともに、GWAS の歴史とその手法、成果、そして未来像をまとめた教科書を出版しました [9-12]。

7. 翻訳後修飾予測

様々な物理化学的特性や配列特性を用いた機械学習手

研究業績

- Sharma A, Vans E, Shigemizu D, Boroevich KA, Tsunoda T. DeepInsight: A methodology to transform a non-image data to an image for convolution neural network architecture. *Scientific Reports*. 9, 11399(2019).
- Choobdar S, et al. Assessment of network module identification across complex diseases. *Nature Methods*. 16, 843-852(2019).
- Menden MP, et al. Community assessment to advance computational prediction of cancer drug combinations in a pharmacogenomic screen. *Nature Communications*. 10, 2674 (2019).
- Saqi M, Lysenko A, Guo YK, Tsunoda T, Auffray C. Navigating the disease landscape: knowledge representations for contextualizing molecular signatures. *Briefings in Bioinformatics*. 20, 609-623(2019).
- Shigemizu D, Akiyama S, Asanomi Y, Boroevich KA, Sharma A, Tsunoda T, Sakurai T, Ozaki K, Ochiya T, Niida S. A comparison of machine learning classifiers for dementia with Lewy bodies using miRNA expression data. *BMC Med Genomics*. 12, 150(2019).
- Shigemizu D, Akiyama S, Asanomi Y, Boroevich KA, Sharma A, Tsunoda T, Matsukuma K, Ichikawa M, Sudo H, Takizawa S, Sakurai T, Ozaki K, Ochiya T, Niida S. Risk prediction models for dementia constructed by supervised principal component analysis using miRNA expression data. *Communications Biology*. 2, 77(2019).
- Vans E., Sharma A., Patil A., Shigemizu D., Tsunoda T. Clustering of Small-Sample Single-Cell RNA-Seq Data via Feature Clustering and Selection. In: Nayak A., Sharma A. (eds) *PRICAI 2019: Trends in Artificial Intelligence*. PRICAI 2019. Lecture Notes in Computer Science, vol 11672, 445-456, Springer, Cham, 2019.

Cham, 2019.

- Kato K, Miya F, Hamada N, Negishi Y, Narumi-Kishimoto Y, Ozawa H, Ito H, Hori I, Hattori A, Okamoto N, Kato M, Tsunoda T, Kanemura Y, Kosaki K, Takahashi Y, Nagata KI, Saitoh S. MYCN de novo gain-of-function mutation in a patient with a novel megalencephaly syndrome. *Journal of Medical Genetics*. 56, 388-395(2019).
- Otani T, Noma H, Sugawara S, Kuchiba A, Goto A, Yamaji T, Kochi Y, Iwasaki M, Matsui S, Tsunoda T. Exploring predictive biomarkers from clinical genome-wide association studies via multidimensional hierarchical mixture models. *European Journal of Human Genetics*. 27, 140-149(2019).
- Lysenko A, Boroevich KA, Tsunoda T. Genotyping and Statistical Analysis (Chapter 1). *Genome-Wide Association Studies*. doi: 10.1007/978-891-13-8177-5, Springer Singapore, 2019. (Book)
- Tsunoda T. The Future of and Beyond GWAS (Chapter 8). *Genome-Wide Association Studies*. doi: 10.1007/978-891-13-8177-5, Springer Singapore, 2019. (Book)
- Tsunoda T, Tanaka T, Nakamura Y. *Genome-Wide Association Studies*. doi: 10.1007/978-891-13-8177-5, Springer Singapore, 2019.
- Chandra A, Sharma A, Dehzangi A, Shigemizu D, Tsunoda T. Bigram-PGK: phosphoglycylation prediction using the technique of bigram probabilities of position specific scoring matrix. *BMC Molecular and Cell Biology*. 20(Suppl 2), 57(2019).
- Sharma A, Lysenko A, López Y, Dehzangi A, Sharma R, Reddy H, Sattar A, Tsunoda T. HseSUMO: Sumoylation site prediction using half-sphere exposures of amino acids residues. *BMC Genomics*. 19(Suppl 9), 982(2019).
- Chandra AA, Sharma A, Dehzangi A,

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 [13]-[19]。

8. 脳波分類・運動イメージ脳波認識

脳波分類・運動イメージ脳波を認識し予測する方法として、周波数スペクトル分析と深層学習による手法を開発し高精度化を達成しました [20, 21]。

これらの成果に加え、現在、がん免疫に関するバイオマーカーを同定し薬剤奏効予測モデルを構築するため、臨床試験グループと連携しています。

- Tsunoda T. EvolStruct-Phogly: incorporating structural properties and evolutionary information from profile bigrams for the phosphoglycylation prediction. *BMC Genomics*. 19(Suppl 9), 984(2019).
- Sharma R, Sharma A, Patil A, Tsunoda T. Discovering MoRFs by trisecting intrinsically disordered protein sequence into terminals and middle regions. *BMC Bioinformatics*. 19(Suppl 13), 378(2019).
- Reddy HM, Sharma A, Dehzangi A, Shigemizu D, Chandra AA, Tsunoda T. GlyStruct: glycation prediction using structural properties of amino acid residues. *BMC Bioinformatics*. 19(Suppl 13), 547(2019).
- Sharma R, Sharma A, Raicar G, Tsunoda T, Patil A. OPAL+: Length-Specific MoRF Prediction in Intrinsically Disordered Protein Sequences. *Proteomics*. 19, e1800058 (2019).
- Singh V, Sharma A, Chandra A, Dehzangi A, Shigemizu D, Tsunoda T. Computational Prediction of Lysine Pupylation Sites in Prokaryotic Proteins Using Position Specific Scoring Matrix into Bigram for Feature Extraction. In: Nayak A., Sharma A. (eds) *PRICAI 2019: Trends in Artificial Intelligence*. PRICAI 2019. Lecture Notes in Computer Science, vol 11672, 488-500, Springer, Cham, 2019.
- Kumar S, Sharma A, Tsunoda T. Brain wave classification using long short-term memory network based OPTICAL predictor. *Scientific Reports*. 9, 9153(2019).
- Kumar S, Sharma A, Tsunoda T. Subject-Specific-Frequency-Band for Motor Imagery EEG Signal Recognition Based on Common Spatial Spectral Pattern. In: Nayak A., Sharma A. (eds) *PRICAI 2019: Trends in Artificial Intelligence*. PRICAI 2019. Lecture Notes in Computer Science, vol 11671, 712-722, Springer, Cham, 2019.

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

研究紹介

ヒトを含む真核生物では、転写された RNA がプロセシングを経て成熟 mRNA となることから、転写後プロセ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ている。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シングの「細胞暗号」の解明と、転写後プロセ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て、複数の制御因子が協働して転写後プロセ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; Nat Protoc, 2010; PLoS Genet, 2012, 2013; Nucleic Acids Res, 2013; Worm, 2014; Nat Struct Mol Biol, 2014; Nat Commun, 2016; WIREs RNA, 2017; WormBook, in press)。

トロポミオシンは筋の収縮を制御する進化的によく保

存されたアクチン結合タンパク質であり、哺乳類では 4 つの遺伝子がそれぞれ複雑に選択的スプライシングを受けることで多様なアイソフォームが産生されている。しかし、アイソフォームの発現が複雑であるがゆえに、細胞種ごとの発現アイソフォームの種類や各アイソフォーム間の機能の差異はよく解っていない。線虫では、トロポミオシン遺伝子は *lev-11* の 1 つのみであるが、2 つの組織特異的プロモーター、3 組の相互排他的エクソン、2 つのカセットエクソンが組み合わされて、理論上は 72 種類ものアイソフォームが存在しており、実際にどのようなアイソフォームがどの組織で発現するか、機能に差異があるか解っていない。そこで、本研究室は、米国 Emory 大学と共同で、*lev-11* 遺伝子の発現アイソフォームの網羅的探索を行い、実際に発現するアイソフォームはただか 6 種類に過ぎないことを見出した (Mol Biol Cell, 2018)。そして、新たに見出したエクソン 7a が頭部体壁筋のみで特異的に選択されることなど、個々の選択的エクソンがどの組織で選択されているかを蛍光レポーターで可視化し、各アイソフォームが発現する組織を明らかにした (Mol Biol Cell, 2018; Cytoskeleton, 2018) (図 1)。また、エクソン 7a と 7b のそれぞれの一アミノ酸置換変異体を解析し、これらの変異体の頭部体壁筋とその他の体壁筋ではアセチルコリン受容体アゴニストであるレバミゾールへの感受性などの性質が異なることを明らかにした (Mol Biol Cell, 2018)。

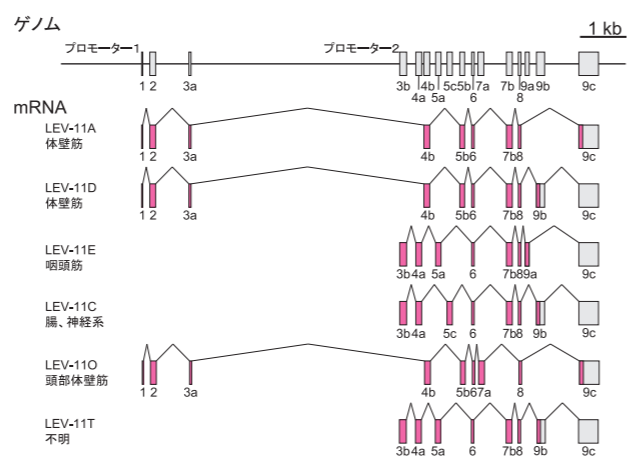


図 1 線虫 *lev-11* 遺伝子のスプライスバリエーションの発現組織

ハイライト

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、心筋サルコメアを構成し筋収縮に関連する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。また、これらの心筋症原因遺伝子の心筋特異的選択的スプライシングの制御因子である RNA 結合タンパク質 RBM20 の遺伝子変異でも家族性や孤発性の拡張型心筋症が引き起こされることが報告された。しかし、拡張型心筋症患者の *RBM20* 変異は RNA 結合ドメインではなく RSRSP という 5 アミノ酸残基からなる配列に集中しており、この配列がなぜ機能的に重要なか解っていなかった。

本研究室では、RBM20 による心筋型スプライシング制御を解析する実験系を構築し、拡張型心筋症患者で変異が集中して報告されている RSRSP 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見出した (Sci Rep, 2018) (図 2)。さらに、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、この一アミノ酸置換変異により個体レベルでも RBM20 のスプライシング制御因子としての機能が失われることを明らかにした (Sci Rep, 2018)。RBM20 の主要な標的である *TTN* 遺伝子がコードするサルコメアタイチンは心筋組織の「固さ」を決める重要な構造タンパク質であることから、RBM20 によるスプライシング制御は拡張障害の治療標的としても期待されている (Front Mol Biosci, 2018)。米国 Mayo Clinic が作製した *RBM20* 変異モデルマウス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 (Nature Medicine, in press)。

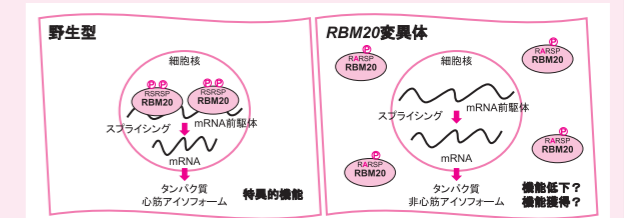


図 2 RBM20 の RSRSP 配列のリン酸化による核移行は心筋特異的選択的スプライシング制御に必須

業績目録

原著論文

1. 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, Alex 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. A ribonucleoprotein-granule pathway to heart failure in human RBM20 cardiomyopathy gene-edited pigs. Nature Medicine, in press.

総説等

1. Joshua A. Arribere, Hidehito Kuroyanagi and Heather A. Hundley. mRNA editing, processing and quality control in *Caenorhabditis elegans*. WormBook, in press.

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)。国際共同研究加速基金 (国際共同研究強化)「mRNA 前駆体の組織特異的転写後プロセシングの制御機構の解明」
黒柳秀人 (代表)。新学術領域研究「ノンコーディング RNA ネオタクソミ」公募研究「代謝酵素

遺伝子ノンコーディング mRNA の食餌による発現制御機構の解明」

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「代謝酵素遺伝子ノンコーディング mRNA の食餌による発現制御機構の解明」

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)。新学術領域研究「ノンコーディング RNA ネオタクソミ」公募研究「代謝酵素

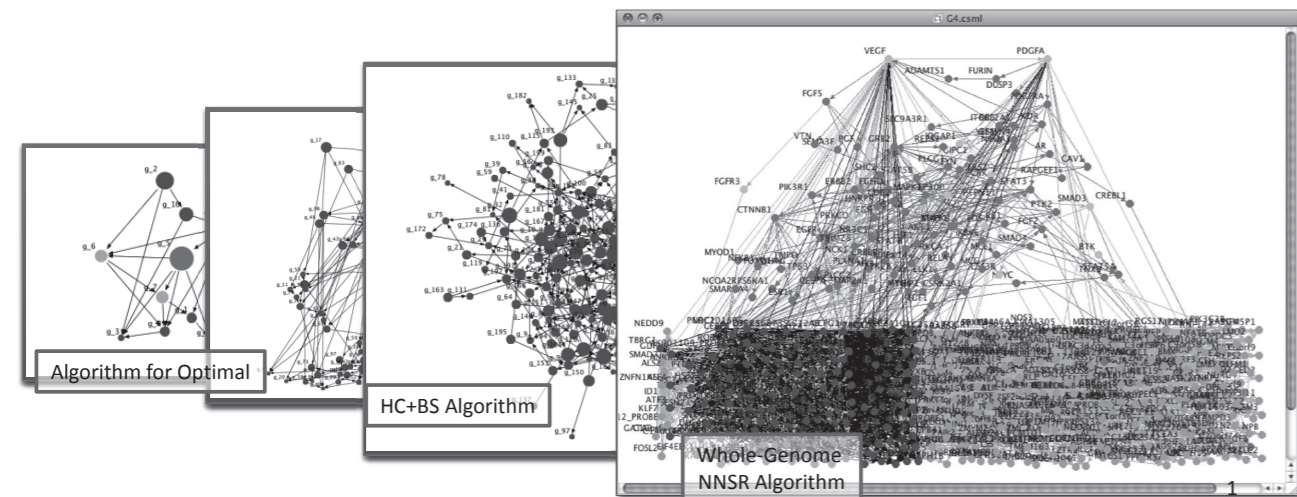
連携研究部門
難病基盤・応用研究プロジェクト室
大学院教育研究支援実験施設

連携研究部門 病態発現機構研究部門

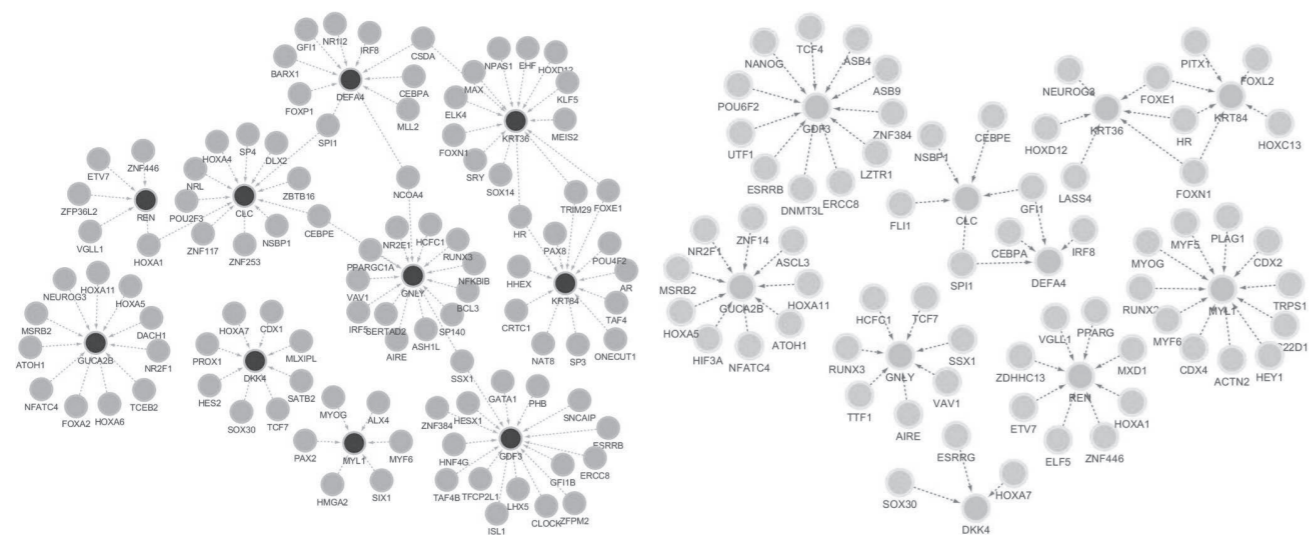
客員教授：宮野 悟、井元清哉

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態で、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。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-

ェンス情報の処理・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

- Hasegawa T, Yamaguchi R, Kakuta M, Sawada K, Kawatani K, Murashita K, Nakaji S, Imoto S. Prediction of blood test values under different lifestyle scenarios using time-series electronic health record. *PLoS ONE*, in press.
- 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. Metagenomic analysis of bacterial species in tongue microbiome of current and never smokers. *npj Biofilms and Microbiomes*, in press.
- The ICGC/TCGA Pan-Cancer Analysis of Whole Genomes Consortium. Pan-cancer analysis of whole genomes. *Nature*. 2020 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. *Nat Biotechnol*. 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, Yamau 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*, in press.
- 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, Uchimaru K, Tojo A. Successful clinical sequencing by molecular tumor board in an elderly patient with refractory Sézary syndrome. *JCO Precision Oncology*, in press.
- 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*, 2019 Dec 13. doi: 10.1088/1752-7163/ab61c6. [Epub ahead of print]
- Kakiuchi N, Yoshida K, Uchino M, Kihara T, Akaki K, Inoue Y, Kawada K, Nagayama S, Yokoyama A, Yamamoto S, Matsuura M, Horimatsu T, Hirano T, Goto N, Takeuchi Y, Ochi Y, Shiozawa Y, Kogure Y, Watatani Y, Fujii Y, Kim SK, Kon A, Kataoka K, Yoshizato T, Nakagawa MM, Yoda A, Nanya Y, Makishima H, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Sanada M, Sugihara E, Sato TA, Maruyama T, Miyoshi H,

- Taketo MM, Oishi J, Inagaki R, Ueda Y, Okamoto S, Okajima H, Sakai Y, Sakurai T, Haga H, Hirota S, Ikeuchi H, Nakase H, Marusawa H, Chiba T, Takeuchi O, Miyano S, Seno H, Ogawa S. Frequent mutations that converge on the NFKBIZ pathway in ulcerative colitis. *Nature*. 2020 Jan;577(7789):260-265. doi: 10.1038/s41586-019-1856-1. Epub 2019 Dec 18.
- Hirata M, Asano N, Katayama K, Yoshida A, Tsuda Y, Sekimizu M, Mitani S, Kobayashi E, Komiyama M, Fujimoto H, Goto T, Iwamoto Y, Naka N, Iwata S, Nishida Y, Hiruma T, Hiraga H, Kawano H, Motoi T, Oda Y, Matsubara D, Fujita M, Shibata T, Nakagawa H, Nakayama R, Kondo T, Imoto S, Miyano S, Kawai A, Yamaguchi R, Ichikawa H, Matsuda K. Integrated exome and RNA sequencing of dedifferentiated liposarcoma. *Nat Commun*. 2019 Dec 12;10(1):5683. doi: 10.1038/s41467-019-13286-z.
- Ozato N, Saito S, Yamaguchi T, Katashima M, Tokuda I, Sawada K, Katsuragi Y, Imoto S, Ihara K, Nakaji S. Association between nutrients and visceral fat in healthy Japanese adults: a 2-year longitudinal study. *Nutrients*, 2019 Nov 7;11(11). pii: E2698. doi: 10.3390/nu1112698.
- 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*, in press. https://doi.org/10.1016/j.jfranklin.2019.10.015
- Takeda R, Yokoyama K, Kawamata T, Nakamura S, Yokoyama T, Ito M, Yusa N, Shimizu E, Ohno N, Yamaguchi R, Imoto S, Miyano S, Uchimaru K, Tojo S, Kobayashi S. An unusually short latent period of therapy-related myeloid neoplasm harboring a rare MLL-EP300 rearrangement: case report and literature review. *Case Reports in Hematology*, 2019 Oct 2;2(19):4532434. doi: 10.1155/2019/4532434. eCollection 2019.
- Ozato N, Saito S, Yamaguchi T, Katashima M, Tokuda I, Sawada K, Katsuragi Y, Kakuta M, Imoto S, Ihara K, Nakaji S. (2019) Blautia genus associated with visceral fat accumulation independent of BMI and waist circumference in adults 20-76 years of age. *npj Biofilms and Microbiomes*, 5, Article number: 28.
- Yang F, Kim D-K, Nakagawa H, Hayashi S, Imoto S, Stein L, Roth FP. (2019) Quantifying immune-based counterselection of somatic mutations. *PLoS Genetics*, 15(7):e1008227. doi: 10.1371/journal.pgen.1008227.
- Konishi H, Komura D, Katoh H, Atsumi S, Koda H, Yamamoto A, Seto Y, Fukayama M, Yamaguchi R, Imoto S, Ishikawa S. (2019) Capturing the differences between humoral immunity in the normal and tumor environments from repertoire-seq of B-cell receptors using supervised machine learning. *BMC Bioinformatics*, 20(1):267. doi: 10.1186/s12859-019-2853-y.
- Maeda-Minami A, Yoshino T, Katayama K, Horiba Y, Hikiami 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. (2019)

- Prediction of deficiency-excess pattern in Japanese Kampo medicine: multi-centre data collection-. *Complementary Therapies in Medicine*, 45:228-233. doi: 10.1016/j.ctim.2019.07.003.
- Yoshino T, Katayama K, Yamaguchi R, Imoto S, Miyano S, Mima H, Watanabe K. (2019) Classification of patients with cold sensation by a review of systems database: a single-centre observational study. *Complementary Therapies in Medicine*, 45:7-13. doi: 10.1016/j.ctim.2019.05.011.
- Tsuda Y, Hirata M, Katayama K, Motoi T, Matsubara D, Oda Y, Fujita M, Kobayashi H, Kawano H, Nishida Y, Sakai T, Okuma T, Goto T, Ogura K, Kawai A, Ae K, Anazawa U, Suehara Y, Iwata S, Miyano S, Imoto S, Shibata T, Nakagawa H, Yamaguchi R, Tanaka S, Matsuda K. (2019) Massively parallel sequencing of tenosynovial giant cell tumors reveals novel CSF1 fusion transcripts and novel somatic CBL mutations. *International Journal of Cancer*, 145(12):3276-3284. doi: 10.1002/ijc.32421.
- Yamaguchi K, Shimizu E, Yamaguchi R, Imoto S, Komura M, Hatakeyama S, Noguchi R, Takane K, Ikenoue T, Gohda Y, Yano H, Miyano S, Furukawa Y. (2019) Development of an MSI-positive colon tumor with aberrant DNA methylation in a PPAP patient. *Journal of Human Genetics*, 64(8):729-740. doi: 10.1038/s10038-019-0611-7.
- Nakamura S, Yokoyama K, Shimizu E, Yusa N, Kondoh K, Ogawa M, Takei T, Kobayashi A, Ito M, Isobe M, Konuma T, Kato S, Kasajima R, Wada Y, Nagamura-Inoue T, Yamaguchi R, Takahashi S, Imoto S, Miyano S, Tojo A. (2019) Prognostic impact of circulating tumor DNA status post-allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in AML and MDS. *Blood*, 133(25):2682-2695. doi: 10.1182/blood-2018-10-880690.
- Takeda R, Yokoyama K, Ogawa M, Kawamata T, Fukuyama T, Kondoh K, Takei T, Nakamura S, Ito M, Yusa N, Shimizu E, Ohno N, Uchimaru K, Yamaguchi R, Imoto S, Miyano S, Tojo A. (2019) The first case of elderly TCF3-HLF-positive B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia and Lymphoma*, 6:1-4. doi: 10.1080/10428194.2019.1602267.
- Park H, Yamada M, Imoto S, Miyano S. (2019) Robust sample-specific stability selection with effective error control. *Journal of Computational Biology*, 26(3):202-217.
- Moriyama T, Imoto S, Hayashi S, Shiraishi Y, Miyano S, Yamaguchi R. (2019) A Bayesian model integration for mutation calling through data partitioning. *Bioinformatics*, pii: btz233. doi: 10.1093/bioinformatics/btz233. [Epub ahead of print]
- Hayashi S, Moriyama T, Yamaguchi R, Mizuno S, Komura M, Miyano S, Nakagawa H, Imoto S. (2019) ALPHLARD-NT: Bayesian method for HLA genotyping and mutation calling through simultaneous analysis of normal and tumor whole-genome sequence data. *Journal of Computational Biology*, 26(9):923-937. doi: 10.1089/cmb.2018.0224.

難病基盤・応用研究プロジェクト室

プロジェクト室長：古川哲志

難病基盤・応用研究プロジェクト室は以下の6研究プロジェクト室で構成した。

研究課題名	研究チーム ○研究代表者
【難病 IBD 研究プロジェクト3】 炎症性腸疾患（クローン病・潰瘍性大腸炎）を対象とする創薬開発研究	○清水重臣（病態細胞生物・教授） 樗木俊聡（生体防御学・教授） 荒川聡子（病態細胞生物・講師） 佐藤 卓（生体防御学・講師） 仁部洋一（プロジェクト専従・助教）
【難病筋疾患研究プロジェクト3】 難病筋疾患の病態解明と治療法の開発に関する研究	○黒柳秀人（遺伝子発現制御学・准教授） 古川哲史（生体情報薬理学・教授） 井原健介（生体情報薬理学・助教） 平岡優一（分子神経科学・助教） 笹野哲郎（循環制御内科学・教授）
【難治低酸素性乳がん研究プロジェクト】 低酸素性乳がんの DNA メチル化異常を介した悪性化機構の解明	○中山 恒（低酸素生物学・准教授） 石野史敏（エピジェネティクス・教授） 澁谷浩司（分子細胞生物学・教授） 三木義男（分子遺伝・教授）
【頭頸部・食道扁平上皮がん精密医療プロジェクト】 頭頸部・食道扁平上皮がん精密医療に向けた基盤研究拠点形成	○稲澤譲治（分子細胞遺伝・教授） 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）
【先制医療実現化 DOHaD 研究プロジェクト】 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	○佐藤憲子（分子疫学・准教授） 宮坂尚幸（生殖機能協関学・教授） 菅野純夫（分子疫学・非常勤講師） 石川智則（生殖機能協関学・講師） 今井千裕（分子疫学・助教） 不殿絢子（生殖機能協関学・大学院生）
【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】	○江面陽一（骨分子薬理学・准教授）

各研究プロジェクト室の概要は以下の通りである。

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・教授）

共同研究者 樗木俊聡（生体防御学・教授）

荒川聡子（病態細胞生物・講師）

佐藤 卓（生体防御学・講師）

仁部洋一（プロジェクト専従・助教）

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

1、腸管上皮のバリアー機能の破綻は、腸内常在細菌の生体への侵入を介して過剰な免疫応答を惹起する。この腸内常在細菌に対する過剰な免疫応答がIBDの病態形成において重要な役割を果たしていることが示唆されているため、腸上皮再生メカニズムの解明は重要である。腸上皮損傷後の再生起点細胞が数種類報告されているが、それらの上皮再生における貢献度の軽重は不明である。そこで、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ている細胞のシングルセル解析を行った。その結果、腸損傷後の主たる再生起点細胞はLgr5⁺細胞を起源とすること、YAP/Wntシグナルのバランスが起点細胞の上皮再生能に重要なこと、tetraspanin family memberの1つが当該起点細胞の同定に有用であることを見出した（in revision）。また慢性的IFNシグナルがISCの幹細胞性を低下させることを、DSS大腸炎および5-FU腸炎の系を用いて見出している（in revision）。これら研究成果以外にも、腸炎自然発症IL-10^{-/-}マウスを用いて、好酸球は腸炎発症に不必要なことを報告した（*Biochem Biophys Res Commun* 2019）。また、腸粘膜免疫の恒常性維持機構に関する総説を執筆した（*Front Immunol* 2019）。

2、炎症性腸疾患の発症とオートファジーとの関連を探索するために、種々のオートファジー欠損マウスを作成した。また、オートファジー誘導化合物や天然物による炎症性腸疾患の治療の可能性を検討した。このために、オートファジー活性を簡便に測定できる赤色の低分子蛍光プローブを開発した。この化合物は、すでに開発済みの緑色蛍光プローブと組み合わせることにより、オートファジーダイナミクスを計測することができた(submis-

sion)。さらに、このプローブを用いてハイスループットスクリーニングを行い、高活性の化合物（120種類）、天然物（31種類）を同定した。これらの高活性物質をDSS誘導性腸炎マウスに投与することにより、腸炎を緩和できる天然物を1種類同定した（in revision）。

業績

- Wang S, Adachi S, Kong L, Watanabe D, Nakanishi Y, Ohteki T, Hoshi N, and Kodama Y. Role of eosinophil in a murine model of inflammatory bowel disease. *Biochem Biophys Res Commun* 2019; 511: 99-104.
- Tezuka H. and Ohteki T. Regulation of IgA production by intestinal dendritic cells and related cells. *Front Immunol* 2019; 10: 1891.
- Sugimoto Y, Murohashi M, Arakawa S, Honda S, Shimizu S. Prediction of intracellular targets of a small compound by analyzing peptides presented on MHC class I. *Biochem Biophys Res Commun* 2019; 508: 480-486.
- Noguchi S, Honda S, Saitoh T, Matsumura H, Nishimura E, Akira S, Shimizu S. Beclin 1 regulates recycling endosome and is required for skin development in mice. *Communications Biology* 2019; 2, Article No. 37.

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

○黒柳秀人（遺伝子発現制御学）

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）

研究の背景：

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、筋収縮に関連する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。そのうちの1つであるタイチンは、心筋が伸展した際に受動張力を発揮して過伸展を防ぐ分子バネとして機能しており、心臓においては選択的スプライシングによりN2B型とN2BA型が主に発現する。一方、拡張型心筋症患者の一部にはタイチンの心筋特異的選択的スプライシングを制御するRNA結合タンパク質RBM20の遺伝子に変異が報告されている。RBM20の機能欠損によりタイチンのN2B型とN2BA型の比率が大きく変化することが拡張型心筋症の病態形成に寄与すると考えられているが、RBM20変異がRSRSPという特定のアミノ酸配列に集中して見つかる理由は不明であった。

研究成果の概要：

タイチン遺伝子の選択的スプライシングを可視化する蛍光レポーターを作製し、RBM20によるスプライシング制御を定量的に解析する実験系を構築した。そして、拡張型心筋症患者で変異が集中して報告されているRBM20のRSRSP配列中の2つのセリン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見出した。さらに、患者型アミノ酸置換変異を導入した *Rbm20* ノックインマウスおよび機能的な RBM20 の発現を欠損する *Rbm20* ノックアウトマウスを作製し、ノックインマウスの心臓でもノックアウトマウスと同様にタイチンの N2B 型と N2BA 型の比率が大きく変化していることから、RSRSP 配列の一アミノ酸置換変異が個体レベルでも RBM20 のスプライシング制御機能を大きく毀損するが確認された (Maruyama et al. Sci Rep 8: 897, 2018)。現在は、これら *Rbm20* 遺伝子改変マウスの心臓表現型を詳細に解析している。また、米国 Mayo Clinic が作製した *RBM20* 変異モデルブタの解析にも参画している。

業績

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, Alex 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. A ribonucleoprotein-granule pathway to heart failure in human RBM20 cardiomyopathy gene-edited pigs. Nature Medicine, in press.

難治低酸素性乳がん研究プロジェクト

代表者:

中山 恒 (フロンティア研究室 低酸素生物学・准教授)

共同研究者:

石野史敏 (エピジェネティクス分野・教授)

澁谷浩司 (分子細胞生物学分野・教授)

三木義男 (分子遺伝分野・教授)

国内における乳がん患者の数は年々増加しています。乳がんの病態を明らかにして、新しい治療法や診断法の開発に結びつけることは重要な課題です。私たちは、これまでに乳がんの低酸素応答の分子機構の解析を進めて、新たな転写や代謝制御機構を明らかにしてきました。本プロジェクトでは、これまでの研究成果を基に、低酸素性乳がんの遺伝子発現を制御するエピジェネティクスの分子機構の解明をめざしています。その活性に酸素(O₂)を必要として、低酸素応答に重要な働きをする 2-oxoglutarate(2-OG)-dependent oxygenase 酵素ファミリーの中に、TET があります。TET は DNA を脱メチル化する酵素であり、エピジェネティック制御を介して遺伝子発現を調節します。乳がん組織中には低酸素部位が形成され、悪性度の高い乳がんは DNA メチル化レベルが亢進していることが報告されていますが、低酸素と DNA メチル化の関連は明らかではありません。本研究を遂行することで、これまで個々に研究されてきた「乳がんと低酸素」、「乳がんと DNA メチル化 (エピジェネティクス)」という二つの領域を融合し、「腫瘍低酸素エピジェネティクス」という新たな医学研究領域へと発展

させることをめざしています (図)。さらに、本プロジェクトで新たに同定した低酸素応答性遺伝子や DNA メチル化様式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します。

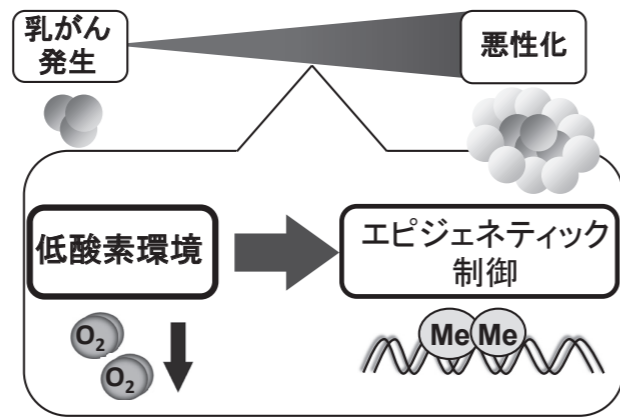


図 難治低酸素性乳がん研究プロジェクトの概略

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・教授)

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)

研究成果の概要:

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く、予後不良の原因である。また、上記疾患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緊密に連携しながら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個別化医療 (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。

・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。2019 年 12 月末までのバイオバンク収集状況は、口腔がん (OSCC) を含む HNSCC 569 例、ESCC 255 例であり、クリニカルシーケンスの基盤体制が整備されつつある。

・OSCC、ESCC を対象とした既承認薬再配置の検討

OSCC、ESCC において、特効薬となるような抗がん剤は未だ開発されておらず、その開発は喫緊の課題となっている。本研究では、既承認薬再配置 (Drug repurposing) を目的とし、766 種類の FDA 承認薬を搭載したライブラリーと高転移性を有する OSCC 細胞株 (HOC313-LM) を用いて、細胞増殖抑制効果を有する新たな抗がん剤候補の探索を行った。スクリーニングの結果、細胞増殖抑制効果の最も高かったピタバスタチンを新規抗がん剤候補として抽出した。ピタバスタチンは、メバロン酸経路を阻害する薬剤であり、脂質異常症治療薬として臨床応用されているが、がん領域での適応はない。ピタバスタチンは、ERK、AKT のシグナルを阻害することにより、細胞増殖を抑制した。さらに、ニワトリ胚 (*in ovo*) およびマウスを用いた *in vivo* における治療実験においてもピタバスタチン投与により腫瘍増殖抑制効果を認めた。ピタバスタチンの細胞増殖抑制効果は、メバロン酸経路の代謝産物であるメバロン酸および GGPP 処理によりキャンセルされることを明らかにした。今後、詳細なピタバスタチン作用機序の解明と OSCC および ESCC 患者のピタバスタチンに対する正確な効果予測を行い、臨床応用への基盤を築く必要がある。

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・准教授)

共同研究者:

宮坂尚幸 (医学部・生殖機能協同学・教授)

菅野純夫 (分子疫学・非常勤講師)

石川智則 (医学部・生殖機能協同学・講師)

今井千裕 (分子疫学・助教)

不殿絢子 (医学部・生殖機能協同学・大学院生)

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。日本は先進諸国の中でも、最も低出生体重児の出生割合が高く、さらに超高齢化社会を迎えたことから加齢性慢性疾患有病率の爆発的増加が懸念される。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することが期待されている。一方で、日本の出生体重が低いことが真に出生前環境の悪化によるものか、また将来の加齢性慢性疾患の増加に直結するのかどうか、慎重に分析することも重要である。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) 母児ゲノム・エピゲノムと環境が母児の健康に及ぼす影響を前向きに調査する母子コホート研究 (Birth Cohort-Gene Environment Interaction Study in TMDU, BC-GENIST) の実施・解析に加え、(2) 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、(3) マイクロ RNA を介した胎児胎盤母体間コミュニケーションによる胎児発育制御、母体の妊娠適応制御の解析に取り組んでいる。

研究の紹介

従来胎児発育の質は、胎児超音波計測値から算出される推定胎児体重の集団平均値、すなわち胎児発育曲線からの逸脱の程度で評価されてきた。しかし、胎児は妊娠経過に依存した胎内環境の変化に回答して成長するため、縦断的な成長速度の変化も発育の状態を反映する指標として重要である。ところがこれを考慮した胎児発育評価はこれまで行われてこなかった。そこで、我々は成長速度軌跡にどのような個人差があるのかを明らかにするため、801 人の日本人単胎妊娠妊婦の超音波計測データに基づき、週あたりの成長速度を算出し、成長速度軌跡を解析した。その結果、成長速度軌跡には、既知の周産期リスク因子 (喫煙、基礎疾患など) や出生体重関連因子 (児の性、母親の年齢、身長、BMI、経産歴など) では説明できない多様性があることがわかった。潜在クラス分析の結果、3つの速度変化パターンに分かれた。このパターンの違いは妊娠後期に最も顕著であった。今後、このパターンの違いと生後の児の健康との関連を明らかにすることにより、胎児発育の個別化評価を可能とし将来的に先制医療実現化に役立てることができると考えられる。胎児発育成長速度はこれまで均一と想定されていたが、本研究により世界で初めて胎児発育成長速度に多様性があることを示すことができた。この発見は普遍性のあるもので生理学的にも重要だと考えられる。

業績

発表論文

1. Pavethynath S, Imai C, Jin X, Hichiwa N, Takimoto H, Okamitsu M, Tarui I, Aoyama T, Yago S, Fudono A, Muramatsu M, Miyasaka N, Sato N. Metabolic and Immunological Shifts during Mid-to-Late Gestation Influence Maternal Blood Methylation of CPT1A and SREBF1. *Int J Mol Sci.* 2019;20(5). pii: E1066.
2. Kyaw TZ, Yamaguchi S, Imai C, Uematsu M, Sato N. The utility of post-test newborn blood spot screening cards for epigenetic association analyses: association between HIF3A methylation and birth weight-for-gestational age. *J Hum Genet.* 2019;64(8):795-801
3. Sato N, Miyasaka N. Heterogeneity in fetal growth velocity. *Sci Rep.* 2019;9(1):11304.
4. Sato N, Miyasaka N. Stratified analysis of the correlation between gestational weight gain and birth weight for gestational age: a retrospective single-center cohort study in Japan. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2019;19(1):402.

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・准教授）

研究内容

遺伝性溶骨症治療に有効な薬物療法開発のため、疾

患モデルマウスの症状改善に有効な薬物を同定する。方法として、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用い、細胞運動性を阻害する薬剤による効果の有効性を、既存の治療薬ビスホスホネートおよび強力な骨吸収抑制効果と骨形成促進効果を併せ持つカテプシンK阻害薬による効果と比較することで検証する。本年度は Arp2/3 を阻害する CK-666 について、まず破骨細胞培養系で検討を行い、その遊走性阻害と骨吸収阻害について検証した。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。全身性の溶骨性病変を発症する「骨 Paget 病」として診断され SQSTM1 遺伝子に変異の同定されなかった1家系における新たな原因変異遺伝子として Pfn1 変異が海外から報告された。したがってモデル実験系として我々の利用する Pfn1-cKO マウスの意義がさらに明らかとなっている。

大学院教育研究支援実験施設

I. ゲノム解析室

助教：谷本 幸介

技能補佐員：菌部 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3万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ルラボの管理も行っている。なお、2017年より本学リサーチコアセンターと連携を行っている。

以下は、2019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

7 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 27,661 延べ利用人数は 2,824 名であった。難研外からの依頼サンプル数は 19,013 となり、全体の約 7 割を占めている。

次世代シーケンス受託サービスへの要望の高まりを受け、本年新たに次世代シーケンサー Ion S5 を導入し、受託サービスを開始した。次世代シーケンサー (Ion PGM・Ion S5) による受託解析サービスについては、

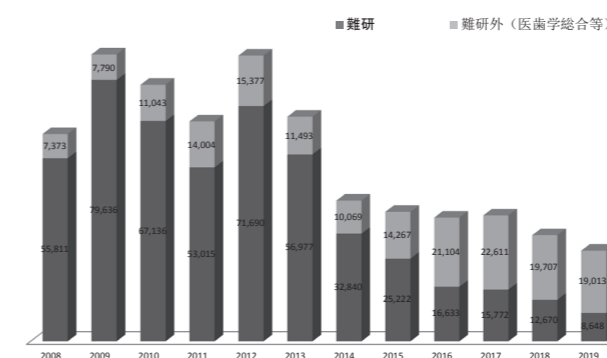


図 キャピラリーシーケンス受託解析サンプル数

本年は 16 ラン (うち難研外 6 ラン、学外 6 ラン) 行った。またライブラリ作製のサンプル数は 280 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サー 3130xl 2 台、次世代シーケンサー Ion PGM・Ion S5、フローサイトメーター、発光プレートリーダー、マイクロ流路電気泳動装置 バイオアナライザ、DNA 断片化装置 Covaris、蛍光マイクロビーズ検出システム Luminex、サーマルサイクラー 5 台、遠心機、遠心濃縮機

3. 説明会等

解析機器技術の紹介及び共通機器利用促進のため、以下の講習会を行った。

5 月 28 日 次世代シーケンス講習会 (疾患ゲノム解析セミナー)

次世代シーケンス講習会 (がんゲノム解析セミナー)

4. 人事異動

転出 福井都代 (技術補佐員)

転入 田村祐美子 (技術補佐員)

II. 細胞・プロテオーム解析室

技能専門職員：名和 眞希子

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

細胞プロテオーム解析室は、プロテオミクスに関する研究のサポートをしている。

特に質量分析装置を用いての LC-MSMS 解析では受託解析も行っている。

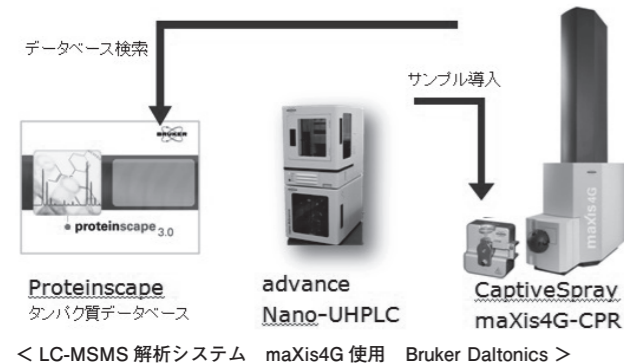
<設置機器>

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 BiacoreT100 システム
4. 分子間相互作用解析装置 MicrocalorimetryTC200
5. インジェクションシステム Eppendorf InjectMan

NI2、Leica M165FC
上記装置の管理を行っている。

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

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



Ⅲ. 未来ゲノム研究開発支援室

助教：鈴木 亨

技術職員：宇佐美 貴子

技能補佐員：木崎 美央

技術補佐員：石久保 春美

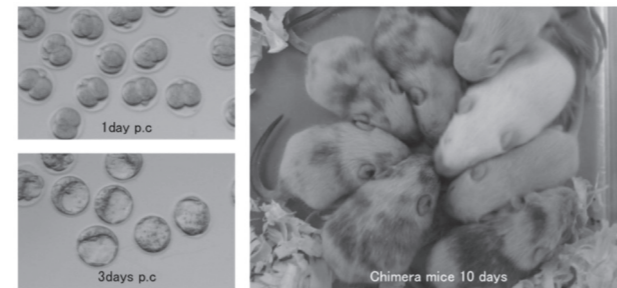
技能補佐員：橋野 一美

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 (研究支援推進員)：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)
- ・凍結ミクロトーム … CM3050S (Leica)
- ・ロータリーミクロトーム … 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とレーザーマイクロダイセクションを利用する者には、正しい機器の使用法を体得してもらうため、事前にメーカーによる講習会を受講することを義務づけている。今年度の開催日程は以下の通りである。

- ・共焦点レーザー顕微鏡講習会 (カールツァイス株式会社)

6月3日

- ・レーザーマイクロダイセクション講習会 (ライカマイクロシステムズ株式会社)

5月13日

また他にも、共焦点レーザー顕微鏡の最新技術を利用者に体験してもらうため、最新機種のデモ機を支援室に搬入して数日間に渡りデモンストレーションを開催した。デモンストレーションでは、メーカーのサポートスタッフからレクチャーを受けながら利用者が持ち込んだサンプルの観察・撮影を行った。

- ・共焦点レーザー顕微鏡 LSM980 デモンストレーション (カールツァイス株式会社) 10月7日～10月11日
- ・共焦点レーザー顕微鏡 FV3000 デモンストレーション (オリンパスメディカルサイエンス販売株式会社) 11月12日～11月15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 (2019年6月1日着任) 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)
- 超音波破砕器 (BRANSON)

2. 受託サービス

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

3. 2019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7月と11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。2019年の当支援室の利用者数はのべ588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、山梨大学医学部および株式会社エーザイからの分譲依頼があり、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。学外営利団体からの分譲依頼を円滑に進めるため、当学産学連携センター等との協働により学外分譲課金の見直しを行った。その結果、営利団体への細胞株分譲課金については、非営利団体とは区別して、産学連携研究センターを通して個別対応を基本とする内容での規約改正を行った (12月1日施行)。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、昭和大学・難治疾患研究所医科学数理分野の共同研究グループから、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、当該年度の依頼検体の検査結果は「マイコプラズマ陰性」と判定さ

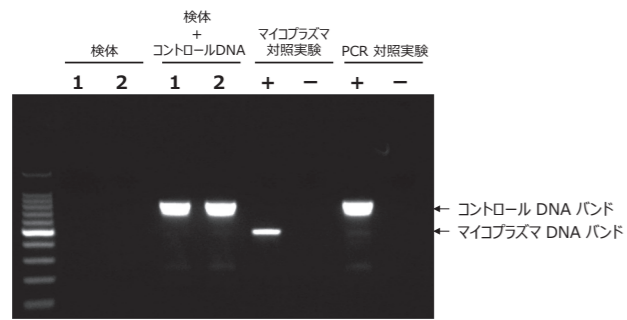


図1 マイコプラズマ汚染検査 (マイコプラズマ陰性の2検体)



図2 大型液体窒素タンク G430-S 大陽日酸

れる検体が多く、各研究者が保存管理、あるいは新たな細胞株化の操作においてマイコプラズマ汚染に関する注意喚起の裏付けと思われ、前年度と比し受託件数は減った。大型液体窒素タンク (図2参照) を利用した生体試料保存管理業務は、学内の多分野から新規および継続の依頼があった。

その他、当該年度には、東京都との「創薬・医療系オープンイノベーション」に資する大学保有機器等の共用事業の研究ファシリティーの一つとして参画し、ベンチャー企業7社および三井不動産株式会社の支援室見学を受け入れた。また、ホームページを変更し、支援内容や受託料金についての正確な情報発信に努めた。

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

職員学生名簿

分子細胞生物学分野

教授 澁谷 浩司
 准教授 後藤 利保
 助教授 清水 幹容
 大学院生 渡辺 藍子
 熊上 尚樹
 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
 助教授 石田 紗恵子
 助教授 平岡 優一
 大学院生 半田 剛久
 Bi Haining
 相川 治奈
 澤田 裕太
 Z h a o D i
 松浦 稜
 加藤 美波
 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
 助教授 井原 健介
 特任助教授 山添 正博
 東島 佳毅
 大学院生 楊 筱茜
 孫 溢哈
 柳 のど香
 掛野 佐恵
 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
 助教授 榊 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 齋藤 清香
 井上 和子
 大学院生 齋藤 清香
 Alapati Aimaitijiang
 Liu Wenyu
 Melig Gerel
 横居 優貴
 東 康哉
 飯塚 直樹
 奥野 里彩
 巳鼻 佑作
 塚原 涼太
 板橋 歩未
 古作 瑛菜
 大学院研究生 Zhang TingTing

生体防御学分野

教授 樗木 俊聡
 講師 佐藤 卓
 助教授 金山 剛士
 非常勤講師 小内 伸幸
 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
 秋山 めぐみ
 泉 湧太
 石川 駿
 山田 翔太
 技術補佐員 黒田 聖子
 始 関 紀彰
 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
 助教授 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
秘 書 田 中 麻 里 絵
技 術 補 佐 員 佐 藤 し げ み
大 学 院 生 田 中 ひ かり
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
徳 田 恵 美
学 振 特 別 研 究 員 森 岡 真
大 学 院 研 究 生 張 易 欣
事 務 補 佐 員 三 田 雅 代
大 学 院 生 池 田 拓 海

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
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
久 保 田 ジ ョ シ ユ ア
小 川 千 奈 見
加 藤 瑞 生

発生再生生物学分野

教 授 仁 科 博 史
准 教 授 本 間 謙 吾
小 藤 智 史
助 教 石 原 え り か
特 任 助 教 森 ゆ か 理
事 務 補 佐 員 田 中 和 子
小 藤 香 織
技 術 補 佐 員 草 場 み ず き
大 学 院 生 山 下 真 梨 子
進 匡
ALIF Yikelamu
長 岡 勇 也
須 永 沙 智
P U J i n g
三 井 貴 洋
長 尾 裕 志
短 期 交 流 学 生

免疫疾患分野

教 授 鏝 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 繼 揚
特 任 研 究 員 Medzhidov, Nazim
Feng, Yang-yang
技 術 補 佐 員 寺 本 悠 子
事 務 補 佐 員 澤 田 千 賀 子
大 学 院 生 Alborzian-Deh-Sheikh, Amin
Yang, Hongrui
Huang, Yuming
西 田 響 子
L ong, W ang
加 藤 秋 生
國 武 慎 治
大 学 院 研 究 生 鈴 木 雅 人
崔 楊 一
共 同 研 究 員 高 嶋 航
短 期 交 流 学 生 大 亀 綾 香
Orla Williams

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
大 学 院 生 Sally Eshiba
村 口 太 一
加 藤 智 起
芹 澤 直 隆
連 携 研 究 員 佐 藤 宗 範
早 野 元 詞
技 術 補 佐 員 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 譲 治
准 教 授 井 上 純
助 教 村 松 智 輝
助 教 玄 泰 行
特 任 助 教 Daniela Tiaki Uehara
大 学 院 生 平 林 恭 子
五 木 田 憲 太 朗
Akdemir Burak
岸 川 正 大
高 川 祐 希

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
連 携 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
Z h a o Y i n g
G u o Q i a n Q i a n

X u Z e y u
大 学 院 研 究 生 L i Z i

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
シルバ・バヴェシナット
エイ・コ・コ・ミン
メディナ・アブドサトル
縦 媛
トウ・タイガ
飛 知 和 尚 美
中 田 あり さ
非 常 勤 講 師 菅 野 純 男

ゲノム機能多様性分野

教 授 高 地 雄 太
連 携 研 究 員 山 口 健 介
小 林 香 子
阿 部 舞
事 務 補 佐 員 湯 浅 亜 沙 子

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
助 教 西 野 穰

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
 技術補佐員 大野 麻理奈
 大学院生 渡部 栄地
 共同研究者 渡辺 毅
 短期雇用職員 河村 平

フロンティア研究室 骨分子薬理学

准教授 江面 陽一
 連携研究員 佐久間 朋美
 朱 凌

連携研究部門 病態発現機構研究部門

客員教授 宮野 悟
 客員教授 井本 清哉

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 植田 由希子
 菌部 知奈美
 田村 祐美子

細胞プロテオーム解析室

技術専門職員 名和 眞希子

未来ゲノム研究開発支援室

助教 鈴木 亨
 技術職員 宇佐美 貴子
 技能補佐員 木崎 美央
 技術補佐員 石久保 春美
 技能補佐員 橋野 一美

形態機能解析室

技術補佐員 (研究支援推進員) 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 小関 航太
 秋元 文乃

バイオリソース支援室

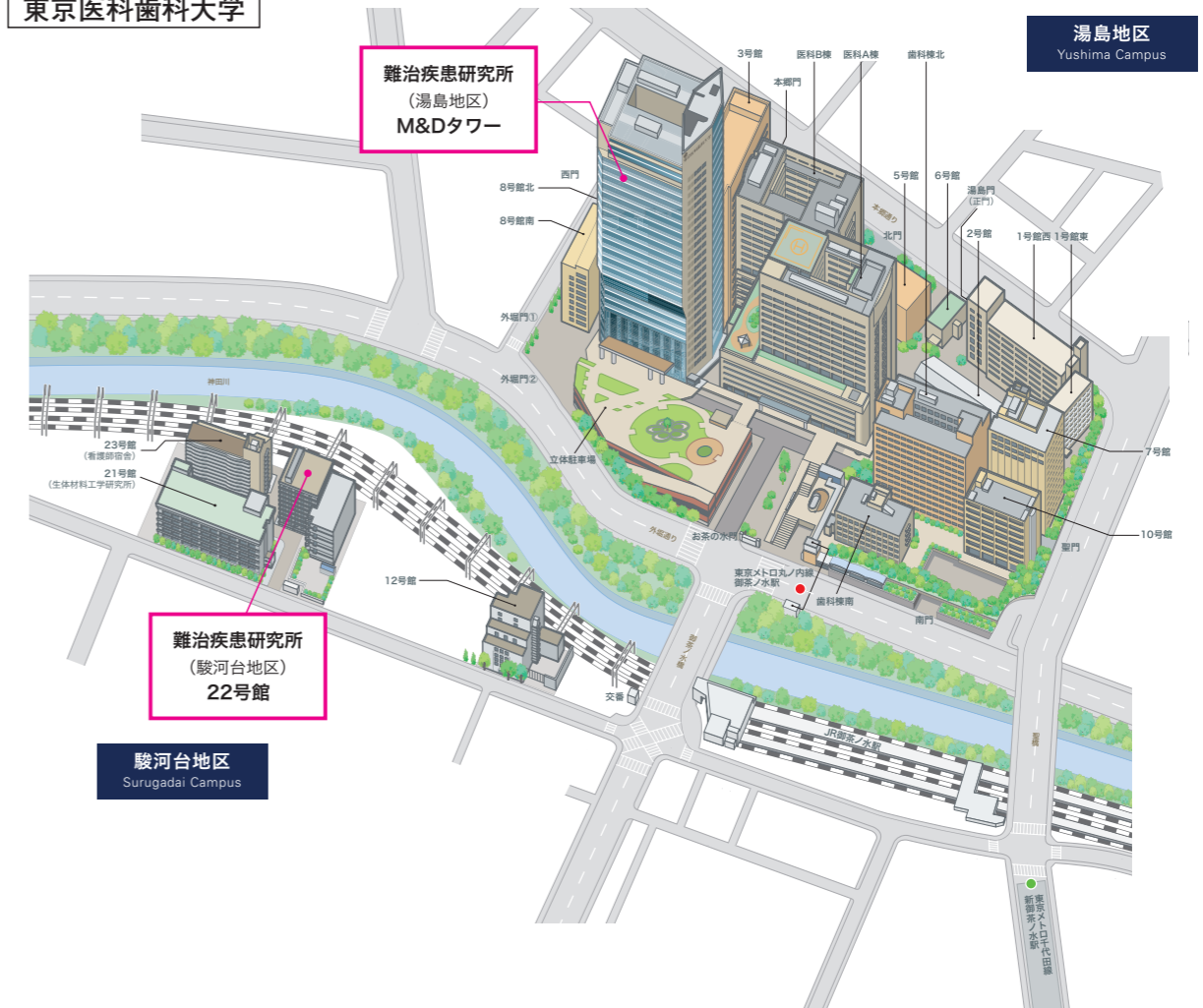
技術補佐員 高岡 美帆

事務部

事務長 阿部 勝也
 副事務長 坂口 奈美
 総務係長 (兼) 坂口 奈美
 総務係主任 小林 俊彦
 総務係員 矢吹 南実美
 大石 友美
 事務補佐員 小日向 有里
 高橋 将貴
 田口 知世

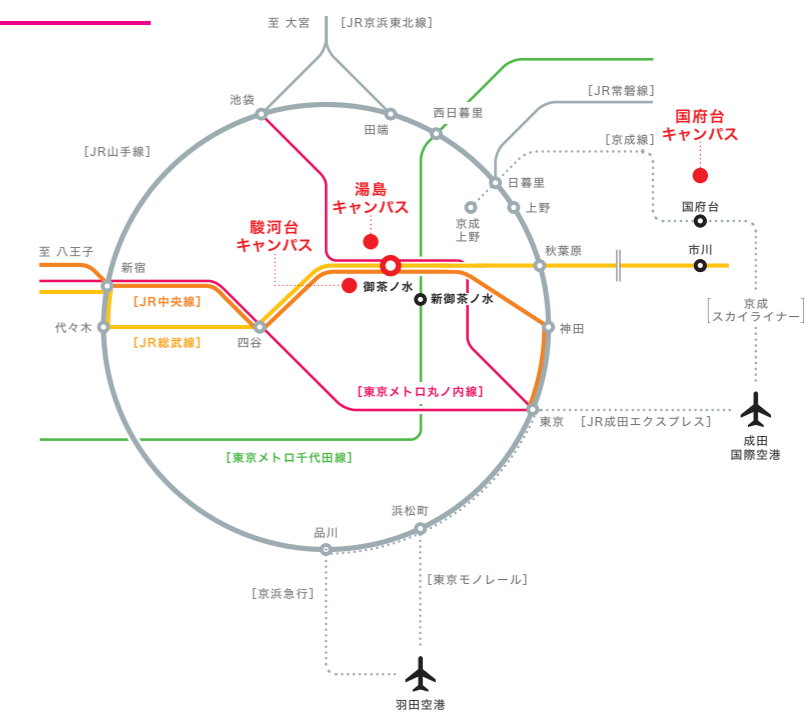
案内図

東京医科歯科大学



最寄駅

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



年報 2020

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