

Annual Report 2019

ANNUAL REPORT 2019

Tokyo Medical and Dental University

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

2019

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2018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繰り広げております。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。それと同時に、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活動も開始しています。この年報には、これらの拠点活動の状況だけでなく、研究所独自の分野を超えた研究活動である難病基盤・応用研究プロジェクトについても記載しています。

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、大学の機能強化という目的もありますので、各支援室の支援体制を強化しているところです。そして最先端の研究活動で生み出した成果を、再び拠点活動を通して多くの方に利用していただけるよう、鋭意活動を続けていきたいと考えております。

難治疾患研究所長 石野史敏

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
7. 分子病態分野 50～51

ゲノム応用医学研究部門

1. 分子細胞遺伝学分野 54～55
2. 分子遺伝学分野 56～57
3. 分子疫学分野 58～59
4. ゲノム病理学分野 60～61
5. エピジェネティクス分野 62～63
6. 医科学数理分野 64～65
7. フロンティア研究室
遺伝子発現制御学 66～67

- ・病態発現機構研究部門 70～71
- ・難病基盤・応用研究
プロジェクト室 72～75
- ・大学院教育研究支援
実験施設 76～79

職員学生名簿	80～83
諮問委員名簿	84
案内図	85

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、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、テニュアトラック研究室細胞分子医学分野、事務部



駿河台地区

〒101-0062
東京都千代田区神田駿河台2-3-10

難治疾患研究所

未来ゲノム研究開発支援室

難治疾患研究所



職員及び学生数

●学生数

2019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	3	0	1	0
		分子神経科学分野	5	1	0	1
		生体防御学分野	3	1	0	0
		生体情報薬理学分野	1	0	3	0
		幹細胞制御分野	6	2	0	3
		分子構造情報学分野	1	0	0	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	2	0
	病態生理化学分野		0	0	0	0
	病態細胞生物学分野		2	7	0	0
	発生再生生物学分野		2	0	5	0
	幹細胞医学分野		0	4	0	0
	免疫疾患分野		3	0	5	2
	分子病態分野		0	0	0	0
	ゲノム応用医学研究部門		分子細胞遺伝分野	2	4	0
		分子遺伝分野	2	1	1	3
		分子疫学分野	3	8	0	0
		ゲノム病理学分野	0	0	0	0
		エピジェネティクス分野	2	0	0	0
		医科学数理分野	0	0	1	0
		フロンティア研究室 遺伝子発現制御学	0	0	0	0
		計	37	30	16	12

●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	14	5	26	3	17	83	1	8	37	5	17	68	151

●日本学術振興会特別研究員数

区分	PD	DC1	DC2	SPD	RPD
現 員	1	0	1	0	0

ハイライト

第17回駿河台国際シンポジウム／第9回難治疾患共同研究拠点国際シンポジウムを開催

2018年11月19日鈴木章夫記念講堂（M&Dタワー2階）において第17回駿河台国際シンポジウム／第9回難治疾患共同研究拠点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、生命科学研究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待し、多方面より討議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1回開催されています。今回はゲノム応用医学研究部門（稲澤譲治部門長）の企画のもと「がん精密医療の臨床的実装化」をテーマに、国内外から6名のがんプレジジョン医療研究のカッティングエッジで活躍する研究者により最先端の研究成果が発表されるとともに、がん研有明・がんプレジジョン医療センターの中村祐輔

所長より「AIホスピタルとがん精密医療の実装化」に関する基調講演がなされた。

第一部では三木義男教授の座長のもと、「精密医療を目指したがんオミクス研究フロンティア」をテーマに長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 福岡順也教授により「人工知能とデジタルパソロジー」、さらに、韓国サムソンメディカルセンター・ゲノム研究所 Woong-Yang Park 博士により「単一細胞ゲノム解析による腫瘍微小環境の理解」に関する研究成果が発表され、活発な意見交換が行われました。

中村祐輔がん研・がんプレジジョン医療センター所長の基調講演では、末梢血中がん細胞由来核酸を用いたりキッドバイオプシーによるがん早期発見、再発検出の技術の紹介、さらに、ネオアンチゲンによるがんワクチン療法の開発によるがん個別化医療の最適化に向けての取り組みなどの研究成果とともに、我が国が今後目指すべ

きAIホスピタルの実装と展望が紹介された。学生・若手研究者や実際のがん医療に従事する臨床医を交えた多くの聴衆に今後のがん精密医療の基盤研究とその成果に基づくがん医療の実装化に関して多くの重要な情報が提供された。

第二部では村松正明教授の座長により、「がん精密実装化」をテーマにソウル国立大学先進技術研究所の Seong-Jin Kim 教授による TGF- β を標的とした分子標的薬の開発とグローバル臨床試験の取り組みについての紹介があった。引き続き、当研究所分子疫学分野 佐藤憲子准教授、同・ゲノム病理学 石川俊平教授、本学腫瘍センター 池田貞勝講師による発表がありました。

レセプションでは古川哲史教授進行のもと吉澤靖之学長、石野史敏所長、木村彰方特命副学長より祝辞が述べられ、海外招待講演者の2名に対して記念ミニ楯が授与されました。基調講演を行って頂いた中村祐輔先生の本邦におけるAIホスピタルシステムの戦略研究の取り組み、さらに、韓国からの参加で招待講演をされた Woong-Yang Park 教授ならびに Seong-Jin Kim 教授の挨拶においても、本シンポジウムは最先端の内容で刺激になる素晴らしい企画であったとの感想が聞かれました。膨大なオミクス情報を利用したAIホスピタルの整備やIoT環境の医療・ヘルスケアへの的確な社会実装が求められている現状において、今回のシンポジウムの

テーマと内容はまさにタイムリーであり、招待研究者と本学の研究者による活発な議論や交流は、本学における未来医療の展開においても実りある企画となった。

各種受賞

ゲノム病理学分野

加藤洋人

日本がん分子標的治療学会 研究奨励賞

「がん浸潤B細胞の抗原受容体次世代シーケンスに基づく新規治療標的がん抗原の発見と治療抗体の応用開発」

日本病理学会 学術奨励賞

「ゲノム病理学のがん研究に基づく新規がん糖鎖抗原およびがん治療抗体の発見」

分子神経科学分野

中島陽二

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

免疫疾患分野

Xuexin, Li

第47回日本免疫学会学術集会ベストプレゼンテーション賞



稲澤譲治教授による開会の挨拶



中村祐輔がんプレジジョン医療センター所長による基調講演の様子



国内シンポジスト発表風景
(左より石川俊平教授、佐藤憲子准教授、池田貞勝講師)



吉澤靖之学長による祝辞



Seong-Jin Kim 教授による発表の様子



Woong-Yang Park 教授による発表の様子



会場の様子



参加者による集合写真

「Significant associations of human SIGLEC10 polymorphisms with susceptibility to Guillain-Barré syndrome」

分子細胞遺伝分野

村松智輝

2018 年度学長裁量優秀若手研究者奨励賞受賞

2018 年難治疾患研究所優秀論文賞

最優秀論文賞

藤田慶大（神経病理学分野）

Targeting Tyro3 ameliorates a model of PGRN-mutant FTLD-TDP via tau-mediated synaptic pathology

Nature Communications

優秀論文賞

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

Cancer Research

田中ひかり（神経病理学分野）

The intellectual disability gene PQBP1 rescues Alzheimer's disease pathology.

Molecular Psychiatry

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 日開催）受賞者

大学院生

第一位及びベストディスカッション賞

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

第二位及びベストプレゼンテーション賞

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

第三位及び萌芽賞

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

第三位及び難治疾患研究賞

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

特許申請

免疫疾患分野

特開 2018-042557：耐塩性乳酸菌、耐塩性乳酸菌の培養方法、及び免疫賦活剤

熊澤 利彦, 西村 篤寿, 浅井 紀之, 安達 貴弘

登録日 2018 / 5 / 18

発明の名称：乳酸菌

発明者：熊澤利彦・西村篤寿・浅井紀之・安達貴弘、イチビキ株式会社・国立大学法人東京医科歯科大学

出願番号：特願 2018-026443

出願日：2018/2/16

発明の名称：バチルス属細菌

発明者：熊澤利彦・西村篤寿・浅井紀之・安達貴弘、イチビキ株式会社・国立大学法人東京医科歯科大学

出願番号：特願 2018-026444

出願日：2018/2/16

分子細胞遺伝分野

〈特許取得－海外（US）〉

2018 年 6 月 12 日、登録番号 :9994843B2、「マイクロ RNA の測定方法、並びに、がん治療剤及びこれを含有するがん治療のための医薬組成物」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

病態生理化学分野

新規リン脂質およびその利用ならびにリン脂質分離測定法の開発

P C T / J P 2 0 1 7 / 0 2 6 5 6 3

神経病理学分野

特許出願

US62/623,203・岡澤 均・G a s 6 - T y r o 3 シグナルを標的とする神経変性の抑制方法・2018 年 1 月 29 日

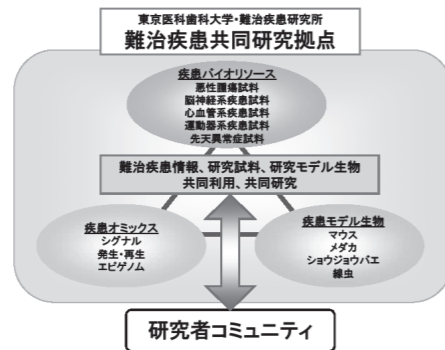
特願 2018-43641・デンカ生研、岡澤 均・MARKS のリン酸化を指標にした AD (アルツハイマー病)、FTLD (前頭側頭葉変性症) および ALS (筋萎縮性側索硬化症) の検出・2018 年 3 月 9 日

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。



2018年度の主な成果

主な研究者	研究成果	論文名及び掲載雑誌名
金井 正美 教授 (東京医科歯科大学 実験動物センター) 田賀 哲也 教授、信久 幾夫 准教授、齋藤 清香 大学院生 (幹細胞制御分野)	胎生期の造血幹細胞における転写因子 Sox17 の未分化性維持機構の解明	Maintenance of hematopoietic stem and progenitor cells in fetal intra-aortic hematopoietic clusters by the Sox17-Notch1-Hes1 axis. <i>Experimental Cell Research</i> 365, 145-155 (2018)
平山 順 教授 (公立小松大学保健医療学部 臨床工学科) 仁科 博史 教授 (発生再生生物学分野)	遺伝子改変ゼブラフィッシュを用いて光刺激が体内時計を形成する仕組みを解明	The clock components Period2, Cryptochrome1, and Cryptochrome2a are required for forming light-dependent behavioral rhythms and/or maintaining total activity levels in zebrafish. <i>Scientific Reports</i> 9, 196. (2019)
石田 秀治 教授 (岐阜大学応用生物科学部) 竹松 弘 教授 (藤田医科大学) 鈿田 武志 教授 (免疫疾患分野)	Bリンパ球抑制性受容体 CD22 を標的とした新規アジュバント化合物の開発	CD22-binding synthetic sialosides regulate B lymphocyte proliferation through CD22 ligand-dependent and independent pathways, and enhance antibody production in mice. <i>Frontiers in Immunology</i> 9:820 (2018)
新井 富生 部長 (都・健康長寿医療センター) 村松 正明 教授 (分子疫学分野)	膵癌に関連する一塩基多型を同定	Relationship between pancreatic intraepithelial neoplasias, pancreatic ductal adenocarcinomas, and single nucleotide polymorphisms in autopsied elderly patients. <i>Genes Chromosomes Cancer</i> . 2018 Jan57:12-18. (2018)
Chandra Abel Avitesh (フィジー) 角田 達彦 教授 (医科学数理分野)	タンパク質のホスホグリセリル化の予測アルゴリズムの構築	PhoglyStruct: Prediction of phosphoglycerylated lysine residues using structural properties of amino acids. <i>Scientific Reports</i> . 8, 17923 (2018).

2018年度採択課題

1) 戦略的課題 5件

代表者	職名	所属機関	研究題目
宮脇 敦史	チームリーダー	理化学研究所脳科学総合研究センター	病因・病態解明のための新規バイオセンサーマウスの開発
澤田 泰宏	部長	国立障害者リハビリテーションセンター研究所	個体レベルのメカニカルストレス受容機構の解明
鈴木 聡	教授	神戸大学大学院医学研究科	細胞競合を利用したがん先制医療の開発
森尾 友宏	教授	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科	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
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活性化化合物および食品のマウス腸炎モデルに対する治療効果

2) 挑戦的課題 3件

代表者	職名	所属機関	研究題目
久場 敬司	教授	秋田大学大学院医学系研究科	RNA 制御に基づいた心機能調節の分子機構解明と心不全治療応用
金児 - 石野知子	教授	東海大学健康科学部	レトロトランスポゾン由来の哺乳類特異的遺伝子の機能解析
岩坪 威	教授	東京大学医学研究科	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 43件

代表者	職名	所属機関	研究題目
寺井 崇二	教授	新潟大学大学院医歯学総合研究科	疾患モデル生物を用いた難治性肝疾患の病態解明と治療法の創出研究
片桐 豊雅	教授	徳島大学先端酵素学研究所	日本人女性の乳がん発生リスク予測モデルの構築
伊東 進	教授	昭和医科大学	消化管腫瘍形成を制御する TMEPAI の機能解析
石谷 太	教授	群馬大学生体調節研究所	組織恒常性維持を支える Wnt シグナル制御機構の解析
曾根 雅紀	准教授	東邦大学	ショウジョウバエモデルを用いた神経変性疾患の分子機序解明
織田 昌幸	准教授	京都府立大学大学院生命環境科学研究科	抗体とシグナル伝達タンパク質の構造基盤に基づく創薬への展開
市川 大輔	教授	山梨大学医学部	がんの特性を制御するマイクロ RNA の探索と核酸抗がん薬に最適な DDS の開発
新井 富生	部長	東京都長寿健康医療センター	剖検例を用いた遺伝子多型と老年病発症リスクとの関連研究
大澤光次郎	特定拠点助教	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
木村 太一	病理診断科医長	国立病院機構北海道医療センター	異型 SWI/SNF 型クロマチン再構成複合体の滑膜肉腫幹細胞における役割の解析
金井 正美	教授	東京医科歯科大学実験動物センター	胎生期の血液細胞塊における転写因子の Sox17 の未分化性維持への関わり
片岡 直行	特任准教授	東京大学農学生命科学研究科	がん・神経疾患にみられる低酸素刺激特異的な選択的スプライシング機構とその意義
石川 智則	講師	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科	未受精卵における染色体分配関連遺伝子の発現解析
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
武谷 立	教授	宮崎大学医学部	心筋症病関連遺伝子の変異がもたらすサルコメア恒常性の破綻
寺尾知可史	免疫研究部長	静岡県立総合病院臨床研究部	アジア人特異的 DNA アレイを用いた高安動脈炎の病態解明
常磐 広明	教授	立教大学理学部化学科	核内受容体の理論的創薬に向けた構造生物学および計算科学研究
並木 剛	准教授	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科	アポトーシス誘導による悪性黒色腫の新規治療法の開発
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
西頭 英起	教授	宮崎大学医学部	脂肪萎縮症における小胞体・ミトコンドリアクロストークシグナルの役割解明
角舎 学行	講師	広島大学原爆放射線医学研究所	低酸素下における Wnt5a シグナルの変化と乳癌悪性度への影響
小内 伸幸	教授	金沢医科大学医学部	骨髄球系細胞分化能と赤血球系細胞分化能分岐点の解明
望月 和樹	教授	山梨大学大学院総合研究部	発育期低栄養による生活習慣病発症を予測する Gene body エピゲノムマーカーの開発
小林 宏明	非常勤講師	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科	歯周炎感受性候補遺伝子の機能解析
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による心筋緻密化障害発症の研究
宝田 剛志	独立准教授	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科	光操作技術による生体内間葉系幹細胞の動員 / 集積機構の解明
二藤 彰	教授	鶴見大学歯学部	腱・靭帯細胞における Anxa5 機能の解明
森川 鉄平	部長	NTT 東日本関東病院 病理診断科	免疫組織化学と AI の統合解析による腫瘍関連マーカーの臨床病理学的意義の解析
磯本 一	教授	鳥取大学医学部	ゲノミクスデータを基盤とする食道アラカシアの病態解明
笹野 哲郎	准教授	東京医科歯科大学大学院保健衛生学研究科	頻脈誘発性心筋症における pannexin-1 の保護的作用の研究
浅野 正岳	教授	日本大学歯学部	脳梗塞における脳・脾臓機能連関
津田 均	教授	防衛医科大学校・病態病理部講座	栄養代謝特性を指標とした新たな癌治療戦略の開発
川上 秀史	教授	広島大学原爆放射線医学研究所	optineurin 改変モデル動物による神経変性研究
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系に介入する新規 PDZ ドメイン阻害剤の合理的設計基盤
平山 順	教授	小松大学保健医療学部	ゼブラフィッシュモデルを用いた体内時計の光制御機構の解明
西田 満	准教授	神戸大学大学院医学研究科	肺がん細胞の浸潤制御における Wnt5a-Ror1 シグナルの分子機構解析
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 Pls 子種の解析
甲斐田大輔	准教授	富山大学大学院医学薬学研究所 (医学)	プロテアソーム活性化剤を用いた老化機構の解明
志浦 寛相	助教	山梨大学生命環境学域	Peg 10 遺伝子の未知機能と哺乳類進化に果たした役割の解明
宮城 洋平	所長	神奈川県立がんセンター臨床研究所	血清飢餓低酸素状態特異的に発現する DNA 損傷修復遺伝子群の解析
和田洋一郎	教授	東京大学アイントープ総合センター	ヘテロ核酸による血管内皮細胞特異的エピゲノム制御と動脈硬化治療法の開発

代表者	職名	所属機関	研究題目
早田 匡芳	准教授	東京理科大学薬学部	骨芽細胞の遊走性制御に関わる分子機構の解明
宮坂 尚幸	教授	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科	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

4) 国際共同研究 8件

代表者	職名	所属機関	研究題目
Mark Bradley	Professor	School of Chemistry, The University of Edinburgh	Development of peptide-polymer hybrids that mimic cancer stem cell (CSC) niche
Otsu Kinya	BHF Chair of Cardiology	King's College London	Characterization of a mitophagy receptor, Bcl2-like protein 3
Marius SUDOL	Associate Professor	National University of Singapore, Department of Physiology	Mouse model of the Golabi-Ito-Hall (GIH) syndrome of intellectual disability phenocopies severe autism
Joseph Penninger	Director & Professor	Life Science Institute, University of British Columbia	Roles of MKK7 in the adult nervous system
Lois Weisman	Professor	Life Science Institute, and Department of Cell and Developmental Biology, University of Michigan	Phosphoinositide-dependent regulation of mTORC1 localization and activity
Edwin Vans	Lecturer	Fiji National University	Computational Analysis of Single Cell RNA-Seq Datasets using Unsupervised Clustering Techniques
Liu Jun	Research fellow	Department of Immunology, Fudan University	Role of the lysosomal protein LAPTM5 in B cell tolerance
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

5) 研究集会 1件

代表者	職名	所属機関	研究題目
大西 浩史	教授	群馬大学大学院保健学研究科	プロテインホスファターゼと関連分子についての新たな研究ツールの開発と創薬への展開

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21回 / 2018年6月23日	澁谷 浩司 教授	カエルやハエの研究がなぜ必要か？
	田中 光一 教授	ゲノム編集の医学への応用
第22回 / 2018年10月19日	稲澤 譲治 教授	健康と医療のために知っておきたいゲノム研究最前線
	田賀 哲也 教授	幹細胞の不思議
第23回 / 2019年2月22日	鏑田 武志 教授	自己免疫疾患はなぜおこる？
	伊藤 暢聡 教授	蛋白質のかたちと新しい薬

第17回駿河台シンポジウム / 難治疾患共同研究拠点シンポジウム (2018.11.19開催)

第13回生命医科学研究所ネットワーク国際シンポジウム (2018.10.18 ~ 19開催)

Workshop on Frontiers in Phosphatase Research and Drug Discovery (2018.10.23 ~ 25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21回 (2018.6.22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22回 (2018.10.19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23回 (2019.2.22開催)

トランスオミクス医学研究拠点ネットワーク形成事業

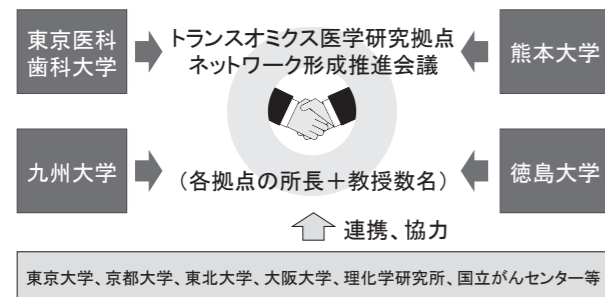
東京医科歯科大学難治疾患研究所は、平成 28 年 4 月より、トランスオミクス研究教育拠点の構築を目指し、文部科学省の支援を受けて九州大学、熊本大学、徳島大学の共同利用・共同研究拠点と協力して「トランスオミクス医学研究拠点ネットワーク形成事業」を推進しています。

【事業の目的】

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

【参加共同利用・共同研究拠点】

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



【平成 29 年度の活動内容】

- ・合同研究シンポジウム
共催シンポジウム「The 13th International Symposium of the Institute Network for Biomedical Sciences joint with the 3rd Symposium of the Inter-University Research Network for Trans-Omics Medicine and the

28th Hot Spring Harbor Symposium」

■日時：2018 年 10 月 18 日 - 19 日

■場所：九州大学 病院地区キャンパス 百年講堂

・技術講習会

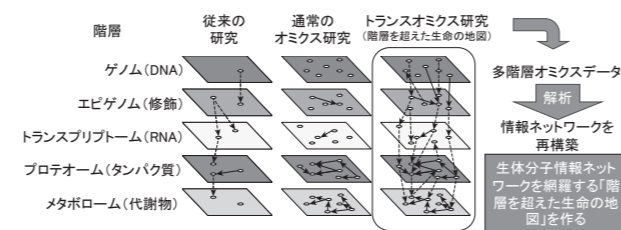
「DNA のシトシンメチル化、ヒドロキシメチル化解析技術の紹介・公共データベースの研究への活用法の紹介・LabDroid「まほろ」を用いたクロマチン免疫沈降解析」

■日時：2018 年 3 月 29 日

■場所：M & D タワー 21 階 大学院講義室 1

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。



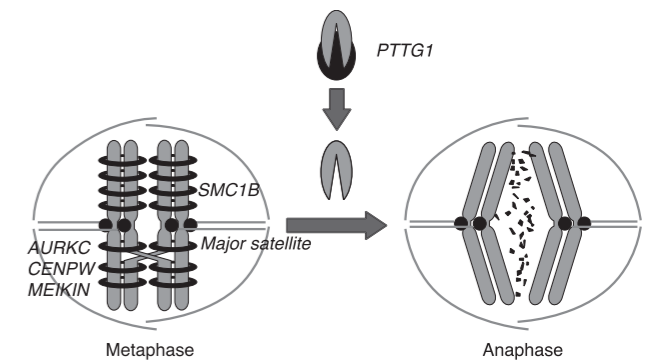
ヒト初期胚のトランスクリプトームデータの取得

哺乳類の初期発生において受精から着床までの期間はダイナミックに遺伝子発現が変化する時期である。またこの時期は体外受精、胚培養などの胚操作の技術が適用される時期でもある。従って、様々な胚操作技術による介入などが個体のエピゲノム修飾に大きな影響を及ぼす可能性が考えられる。しかしヒトの体外受精においては高い妊娠率を得るとともに、安全な技術であることが重要である。このためにもヒトの発生初期、着床前胚の遺伝子発現プロファイルを取得することは重要な基礎的データになると考えられる。

そこで、ヒトの胚盤胞期胚の標準的な遺伝子発現プロファイルを多数の単一胚からそれぞれ取得するとともに、種々の因子との相関性を解析した。その結果、母親、父親の年齢の上昇に伴って発現レベルが変化する遺伝子を多数同定した。また、反復配列由来の転写物を解析したところ、Alu 配列およびアルファサテライト由来の転写産物も、母親の年齢が上昇するにつれて減少した。前者については進化的に新しく挿入されたと考えられる

サブグループのみが見られることやそれ単独の転写物は poly-A 配列が付加されていないと考えられることから、他の遺伝子の 3' non-coding 領域に挿入されたものを観察していたと考えられる。一方、後者は染色体のセントロメア部分を構成する反復配列であり、生殖系列の細胞と初期胚でのみ発現することが知られている。このことから、卵母細胞のセントロメア配列のエピジェネティック修飾が親の年齢とともに変化し、次世代に伝達された結果である可能性を示唆している。

Kawai K. *et al.* Parental age and gene expression profiles in individual human blastocysts. *Sci Rep* (2018) 8(1):2380.



学位取得者

幹細胞制御分野

室田吉貴

「Requirement of ABC transporter inhibition and Hoechst 33342 dye deprivation for the assessment of side population-defined C6 glioma stem cell metabolism using fluorescent probes.」

分子神経科学分野

趙 卓揚

「Region-specific deletions of the glutamate transporter GLT1 differentially affect injury-induced neuropathic pain in mice」

分子細胞遺伝分野

外内えり奈

「miR-3140 suppresses tumor cell growth by targeting BRD4 via its coding sequence and downregulates the BRD4-NUT fusion oncoprotein.」

古澤啓子

「Ovarian cancer therapeutic potential of glutamine depletion based on GS expression.」

佐藤 拓

「Identification and characterization of TGFBI in circulating tumor cell subline from pancreatic cancer cell line.」

幹細胞医学分野

劉 楠

「Stem cell competition orchestrates skin homeostasis and ageing.」

難研セミナー

2017年度大学院生研究発表会・若手研究者研究発表会
2018年3月1日
ALBORZIAN DEH SHEIKH, Amin (免疫疾患分野)

Study on the cis-ligand mediated regulation of CD22
外内 えり奈 (分子細胞遺伝分野)
miR-3140 は BRD4 の coding sequence を標的とすることで BRD4-NUT 融合タンパクの発現を抑え、がん細胞の増殖を抑制する
野口 沙央理 (病態細胞生物学分野)
表皮特異的 Beclin1 ノックアウトマウスの解析
FENG YANGYANG (免疫疾患分野)
Role of NADPH oxidases in BCR ligation-induced ROS production and activation
AKDEMIR BURAK (分子細胞遺伝分野)
miR-432 Induces NRF2 Stabilization by Directly Targeting KEAP1
森永 浩伸 (幹細胞医学分野)
Obesity accelerates hair loss through fate switching of hair follicle stem cells

2017年度難治疾患研究所基礎研究奨励費採択者講演会
2018年3月1日
村松 智輝 (難病基盤・応用研究プロジェクト室)
In vitro/in vivo スクリーニングによる VEGFA 転写抑制分子の探索
赤津 ちづる (免疫疾患分野)
CD22/Siglec-2 の糖鎖シスリガンド分子による機能制御機構の解明
佐藤 卓 (生体防御学分野)
腸上皮幹細胞機能維持における免疫シグナル制御システムの解明
竹内 純 (生体情報薬理学分野)
心筋-血管決定機構の分子メカニズム

2017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
2018年3月1日
李 知英 (エピジェネティクス分野)
難治疾患遺伝子同定に有効な1倍体ES細胞由来分化細胞株の作成及びその応用
佐藤 卓 (生体防御学分野)
自己免疫性脱毛症発症における毛包幹細胞減少機構の解明
石田 紗恵子 (分子神経科学分野)
難治性てんかんおよび精神疾患原因遺伝子、DEPDC5 の機能解明
赤津 ちづる (免疫疾患分野)
抑制性分子 CD72 による SLE 発症関連核酸抗原への免疫応答の制御機構の解明
玄 泰行 (分子細胞遺伝分野)
SOX2 の miRNA 発現制御を介した食道扁平上皮癌における機能解明

2017年難治疾患研究所優秀論文賞受賞者講演会
2018年3月1日
加藤 洋人 (ゲノム病理学分野)
Immunogenetic Profiling for Gastric Cancers Identifies Sulfated Glycosaminoglycans as Major and Functional B Cell Antigens in Human Malignancies.
藤田 慶大 (神経病理学分野)
Developmental YAPdeltaC determines adult pathology in a model of spinocerebellar ataxia type 1
宮村 憲央 (発生再生生物学分野)
YAP determines the cell fate of injured mouse hepatocytes in vivo

難研セミナー／難治疾患共同研究拠点セミナー
第572回／第145回
竹内 理 教授

(京都大学ウイルス・再生医科学研究所感染防御分野)
mRNA 分解による免疫応答調節メカニズム
2018年5月25日

第573回／第146回
井上正宏 特定教授
(京都大学大学院医学研究科 クリニカルバイオリソース研究開発講座)
初代培養法の Functional precision medicine への応用
2018年6月21日

第574回／第147回
畠 星治 博士
(AG Schibel laboratory, Zentrum für Molekulare Biologie der Universität Heidelberg, Germany)
Mechanism of microtubule-based centrosome cohesion and separation (微小管依存的な中心体接着と分離の分子機構)
2018年6月1日

第575回／第148回
Prof. Mauro Martins Teixeira (Department of Biochemistry and Immunology, Universidade Federal de Minas Gerais, Brazil)
Inflammation and its resolution - mediators and relevance
2018年6月22日

第576回／第149回
杉本幸彦 教授
(熊本大学大学院生命科学研究部 薬学生化学分野)
プロスタグランジン受容体による生理と病態の調節機構
2018年7月19日

第577回／第150回
太田 調正 准教授
(熊本大学大学院生命科学研究部)
リボソームによる細胞のリプログラミング機構
2018年8月3日

第578回／第151回
渡邊 雄一郎 教授 (東京大学大学院総合文化研究科)
RNA 制御からみた植物の生存戦略
2018年9月18日

第579回／第152回
脇本 博子 講師 (ハーバードメディカルスクール 遺伝学講座)
心ミオシン結合 C タンパク異常による肥大型心筋症の発症機序
2018年10月23日

第580回／第153回
今村 健志 教授
(愛媛大学大学院医学系研究科 分子病態医学講座)
革新的なバイオフォニクス技術開発と次世代医学研究
2018年12月12日

第581回／第154回
武田 弘資 教授
(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 細胞制御学分野)
ミトコンドリアのストレス感知と細胞応答をつなぐ機構
2019年1月25日

第582回／第155回
高地 雄太 副チームリーダー
(理化学研究所 生命医学センター)
eQTL/sQTL を軸とした多因子自己免疫疾患の病態解明
2018年11月21日

第583回／第156回
藤本 明弘 特定准教授
(京都大学 医学研究科 創薬医学講座)
情報解析と人類遺伝学
2018年11月21日

第584回／第157回
二階堂 愛 ユニットリーダー
(理化学研究所 生命機能科学研究センター バイオインフォマティクス研究開発ユニット)
トランスクリプトーム計測とその情報科学技術の最前線と未来
2018年11月22日

第585回／第158回
山田 拓司 准教授
(東京工業大学 生命理工学院)
大腸がん発症に伴うヒト腸内環境のダイナミクス
2018年11月22日

第586回／第159回
鈴木 洋 客席研究員
(マサチューセッツ工科大学コーク痛総合研究所)
ゲノム・RNA ネットワークの「定量的」意味論～スーパーエンハンサーとゲノム相分離～
2018年12月3日

第587回／第160回
熊坂 夏彦 Staff Scientist
(Wellcome Trust Sanger Institute)
細胞量的形質座位を用いた疾患感受性座位の機能解析
2018年12月3日

第588回／第161回
吉村 昭彦 教授
(慶應義塾大学医学部 微生物学・免疫学教室)
脳梗塞による脳損傷後の免疫応答：自然免疫から獲得免疫まで
2019年1月28日

第589回／第162回
Prof. Vivek Malhotra
(CRG, Barcelona)
Building a machine for secretion of bulky collagens from endoplasmic reticulum
2019年2月22日

第590回／第163回
水橋 孝治 博士研究員
(ミシガン大学歯学部矯正小児歯科)
ユニークな骨格幹細胞が成長板軟骨の休止細胞層に存在する
2019年2月27日

第591回／第164回
Prof. Benjamin K. Tsang
(Director, Reproductive Biology Unit, Department of Obstetrics and Gynaecology, University of Ottawa, Canada)
In Search of Early Diagnosis and New Therapy Strategy for Chemoresistant Ovarian Cancer in the Era of Precision Cancer Medicine
2019年3月27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

- WNK シグナル伝達経路が GSK3 β を介して神経分化に関与することを示した。
- WDR26 が Wnt シグナルにおいて β -catenin の分解に関与することを示した。

分子神経科学

- グリア型グルタミン酸輸送体 GLT1 は、欠損の起こる脳部位により全く異なるてんかん発作を引き起こす
- グリア型グルタミン酸輸送体 GLT1 は、欠損の起こる脳部位により慢性疼痛に対し異なる影響を及ぼす

生体防御学

- ヒト単球前駆細胞および単球系列を標的にした治療薬開発。
- 新規ミクログリアスーパーエンハンサーの同定。
- ヒト舌癌オルガノイド培養法の確立。

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

- マウスの発生期に最初に造血幹細胞が生じる大動脈内腔血液細胞塊の未分化性維持に、Sox17-Notch1-Hes1 経路が重要であることを示した。
- C6 グリオーマの癌幹細胞集団に由来する死細胞が、腫瘍随伴マクロファージの関与する微小環境（ニッチ）の形成に寄与することを見出した。

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」が誤りであることを明らかにした。
- 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

研究内容

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

研究紹介

セリン/スレオニンキナーゼ WNK (with no lysine (K)) ファミリーは、線虫・ショウジョウバエからほ乳類に至るまで保存されており、ほ乳類には4つの WNK ファミリー分子が存在する。その内、WNK1 及び WNK4 は偽性低アルドステロン症 II 型 (PHAII) と呼ばれる常染色体優性遺伝性的高血圧症の原因遺伝子として同定されている。さらに WNK1 は、遺伝性感覚性自律神経性ニューロパチー 2A 型 (HSAN2A) の原因遺伝子としても同定されている。当研究室において、WNK \rightarrow SPAK/OSR1 \rightarrow Na, K, Cl 共輸送体というシグナル伝達経路が存在することを示し、その制御異常が PHAII で見られる高血圧症の発症原因の一つになっていることを示すことができた。しかしながら、HSAN2A の発症機構は未知のままである。そこで、我々は、さらなる WNK の機能解析を行うために、新たに WNK に関与する因子の探索を行い、GSK3 β を単離した。

1. Shaggy は WNK シグナル経路の下流因子として機能する。

ショウジョウバエを用いた新規 WNK 関連因子の探索により、*shaggy* (*sgg*) 遺伝子 (GSK3 β のショウジョウバエ相同遺伝子) を得た。ショウジョウバエの翅において、WNK の異所発現により、異所的な翅脈が形成される (図 1 B 矢頭)。*sgg* 変異体により、この異所的な翅

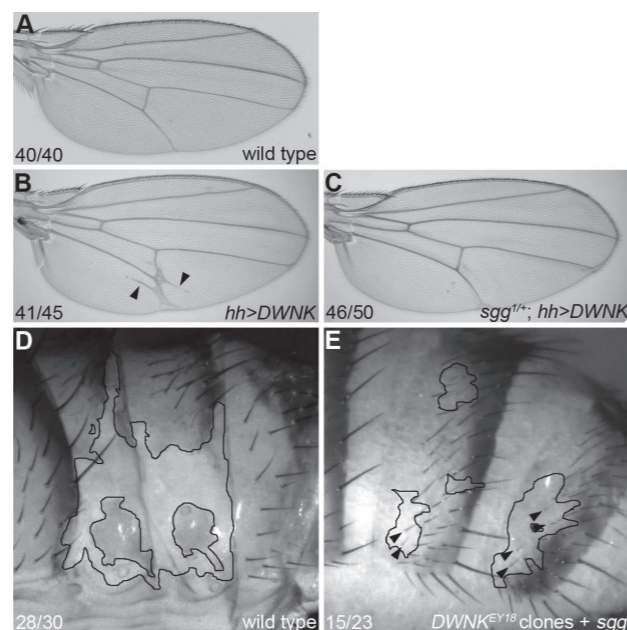


図 1 *shaggy* (*sgg*) は WNK シグナル伝達経路の新規下流因子である

脈形成が抑制された (図 1 C)。さらに、*WNK* 変異体により、ショウジョウバエの腹部では形態形成不全が起こる (図 1 D)。Sgg の異所発現により、不完全ながらも形成不全が抑制され、腹部が形成された (図 1 E 矢頭)。以上のことから、Sgg が WNK シグナル伝達経路の新規下流因子として機能することが示唆された。

2. GSK3 β は、WNK シグナル伝達経路の新規因子として機能する。

Sgg のほ乳類の相同遺伝子である GSK3 β を発現させると、WNK シグナル伝達経路の下流因子である Lhx8 の発現が活性化された。そこで、WNK シグナル伝達経路と GSK3 β の上下関係を解析した。WNK1 の発現により活性化された Lhx8 の発現が、GSK3 β のノックダウンにより抑制されたが、GSK3 β の発現による Lhx8 の活性化は、WNK のノックダウンでは抑制できなかった。さらに、OSR1 においても、WNK と同様の結果が得られたことから、ほ乳類でも GSK3 β が WNK シグナル伝達経路の下流因子として機能し、Lhx8 の発現に関与することが明らかになった。

3. GSK3 β は WNK シグナル伝達経路の下流因子として神経分化にも関与する。

WNK シグナル伝達経路は、神経系において、神経突起の伸長に関与するとともに、Lhx8 の発現を介して、アセチルコリン性神経への分化制御を行っている。Neuro2A 細胞において、GSK3 β をノックダウンすると、WNK 同様、神経突起の伸長が抑制された (図 2 A, B)。さらに、Lhx8 の発現も抑制され、アセチルコリン性神経のマーカー遺伝子である *ChAT* の発現も抑制されていた (図 2 C)。また、WNK のノックダウンにより抑制された神経突起の伸長が、GSK3 β の発現により回復した (図 2 D ~ G)。Lhx8 の発現、ChAT の発現に関しても、WNK のノックダウンにより抑制されていた発現が、GSK3 β の発現により、その発現が回復した (図 2 H)。これらの結果から、GSK3 β が神経分化においても、WNK シグナル伝達経路の下流因子として機能していることを明らかにした。

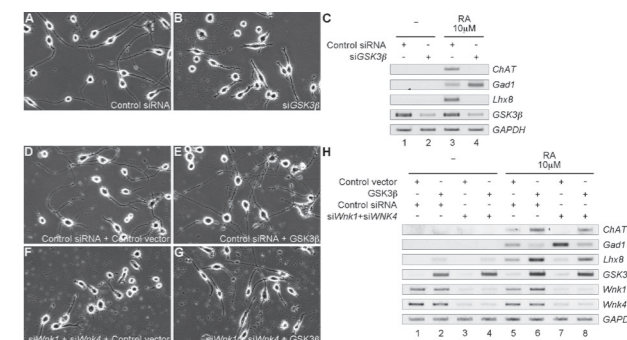


図 2 GSK3 β は WNK シグナル伝達経路の下流因子として神経分化にも関与する

このように、WNK シグナル伝達経路の下流で機能する新規構成因子として、GSK3 β を単離した。WNK-OSR-GSK3 β シグナル伝達経路が、神経分化にも関与することから、HSAN2A の発症機構の解明にも繋がっていく可能性がある。また、WNK シグナル伝達経路は発生初期でも機能しており、さらなる重要な機能があると推測されており、今後も解析を続けていく。

業績目録

Sato, A. and Shibuya, H. (2018). Glycogen syn-

thase kinase 3 β functions as a positive effector in the WNK signaling pathway. PLoS One 13, e0193204.

先端分子医学研究部門 分子神経科学分野

教授：田中光一 准教授：相田知海 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)。

本年度は、GLT1の異常が起こる部位により、異なるてんかん発作が起こることを明らかにしました。脳幹特異的GLT1欠損マウスは、思春期以降に全身性強直性痙攣を伴うてんかん発作を起こし、突然死を示した。一方、大脳皮質特異的GLT1欠損マウスは、乳児期に一

過性にミオクローニー発作やスパズム発作を示すが、突然死を示すことはなかった。しかし、大脳皮質特異的GLT1欠損マウスは、てんかん発作により大脳皮質の一部に神経細胞の脱落が観察された (Sugimoto et al., 2018; 図2)。

また、GLT1を異なる脳部位から欠損させた2種類のマウス (脊髄特異的GLT1欠損マウスと中脳特異的GLT1欠損マウス) を作成し、慢性疼痛に及ぼす影響を検討しました。通常のマウスでは、末梢神経を傷つけると痛覚過敏の症状を示します (神経因性疼痛モデル)。脊髄特異的GLT1欠損マウスでは、神経因性疼痛の症状が悪化しました。しかし、中脳特異的GLT1欠損マウスでは、神経因性疼痛の症状が起りませんでした (Zhao et al., 2018; 図3)。以前の研究で、末梢神経を傷つけると、GLT1の発現は脊髄で減少し、中脳で増加することが報告されています。今回の研究結果は、この

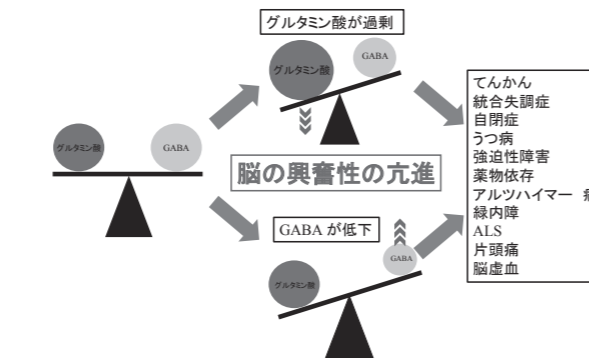


図1 グルタミン酸トランスポーターの機能異常による興奮と抑制のアンバランスが様々な精神神経疾患を引き起こす

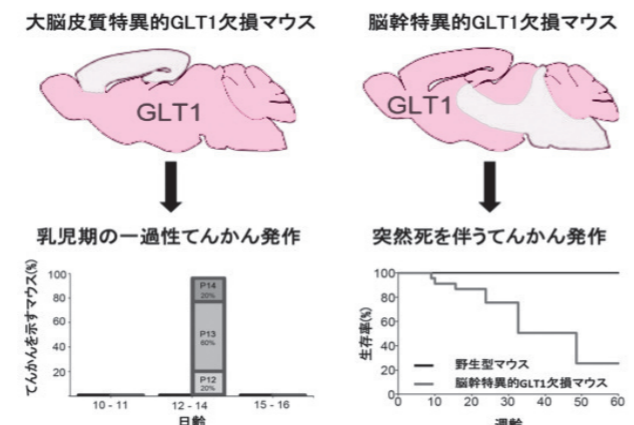


図2 グリア細胞の異常が起こる脳部位により異なるてんかん発作を引き起こす

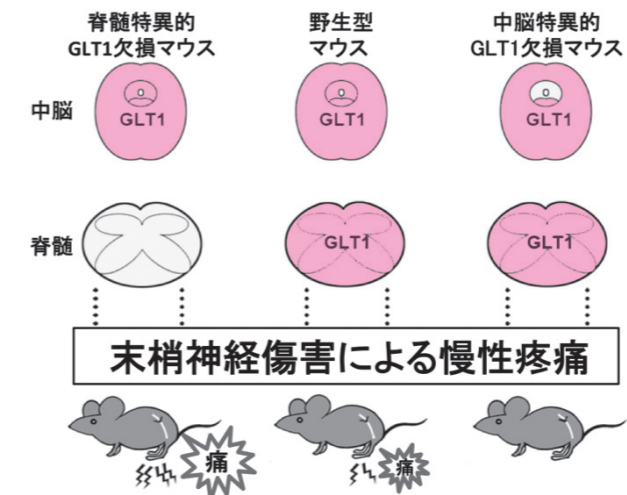


図3 グリア細胞の異常により慢性疼痛の発症が制御されている

ようなGLT1の発現変化が慢性疼痛の発症に関与していることを示唆しています。

2. ゲノム編集ツールの開発 (LoAD 法の開発)

Microhomology-mediated end-joining repairを促進する因子Ctipを見つけ、CtipをDNA修復部位に集積させる方法 (Local accumulation of double strand break (DSB) repair molecules; LoAD法)を開発し、複数領域への同時遺伝子挿入の効率化を実現した (Nakade et al., 2018)。

3. DEPDC5のてんかんおよび精神疾患発症における役割の解明

「てんかん」は、人口の約1%に生じる頻度の高い神経疾患であり、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。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。また、全体の約30%は抗てんかん薬が効かない難治性である。

近年、腫瘍などの病変が認められない「特発性てんかん」の病因として特定の遺伝子の変異が報告されている。これまでイオンチャネル関連遺伝子、もしくは伝達物質受容体のサブユニット遺伝子の変異が報告されてきたが、多種多様である「てんかん」の症状は、現在報告されている遺伝子の機能解析だけでは十分に解明できていない。DEP (Dishevelled, Egl-10 and Pleckstrin) domain containing protein 5 (DEPDC5) (Ishida et al., 2013) 遺伝子はこれまでに報告されてきたてんかん原因遺伝子とは同一性がなく、その発症機序は、既知のものとは異なることが推測されている。ゆえに、DEPDC5機能解析研究は、新たなてんかん予防法や治療法の開発につながることを期待される。さらに、患者において自閉症スペクトラム (ASD) 等の精神疾患の併発が多く認められ、精神疾患のみを示す患者も認められたことから、DEPDC5はてんかんのみならず、精神疾患の病因でもあることが指摘されている (Scheffer, *Neuropediatrics*, 2014)。しかしながら、DEPDC5の生体内における機能や、DEPDC5機能障害による発症機序は未だ明らかになっていない。

我々はこれまでに、DEPDC5のノックアウトラットおよびマウスは、胎生致死を示し (Marsan and Ishida et al., 2016)、また、Zebra fishにおけるKnockdownは、過活動を引き起こすことを明らかにした (de Calbiac et al., 2018)。加えて、ヒト患者と同じ遺伝子型であるDEPDC5ヘテロ型ノックアウトマウスは複数の行動異常を示すことを明らかにした。今後の発症メカニズムの解明は、てんかんおよび精神疾患研究に新たな知見を与える。

人事異動

転入：相川治奈、澤田裕太、Zhao Di (修士課程)、Cheng Zhao (研究生)、松浦稜 (卒研生)

転出：瀧川遥、小川恕 (修士課程)、杉山香織、場卓起 (博士課程)

業績目録

発表論文

- Nakade, S., Mochida, K., Kunii, A., Nakamae, K., Aida, T., Tanaka, K., Sakamoto, N., Sakuma, T., Yamamoto, T. Biased genome editing using the local accumulation of DSB repair molecules system. *Nature Commun* 16. 3270, 2018.
- Perkins, EM., Clarkson, YL., Suminaite, D., van Slageren, T., Rothstein, JD., Tanaka, K., Lyndon, AR., Skehel, P., Wylie, DJA., Jackson, M. Loss of cerebellar glutamate transporters EAAT4 and GLAST differentially affects the spontaneous firing pattern and survival of

- Purkinje cells. *Hum Mol Genet* 27. 2614-2627, 2018.
- Zhao, Z., Hiraoka, Y., Ogawa, H., Tanaka, K. Region-specific deletions of the glutamate transporter GLT1 differentially affect injury-induced neuropathic pain in mice. *Glia* 66. 1988-1998, 2018.
- Classon, J., Reichenbach, B., Aida, T., Tanaka, K., Genader, M., Göritz, C. Slc1a3 mediates inter niche stem cell activation during skin growth. *EMBO J* 37. e98280, 2018.
- Sugiyama, K., Tanaka, K. Spinal cord-specific deletion of the glutamate transporter GLT1 causes motor neuron death in mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 497. 689-693, 2018.
- Sugimoto, J., Tanaka, M., Sugiyama, K., Ito, Y., Aizawa, H., Soma, M., Shimizu, T., Mitani, A., Tanaka, K. Region-specific deletions of the glutamate transporter GLT1 differentially affect seizure activity and neurodegeneration in mice. *Glia* 66. 777-788, 2018.
- Murayama, R., Kimura-Asami, M., Togo-Ohno, M., Yamasaki-Kato, Y., Naruse, T.K., Yamamoto, T., Hayashi, T., Ai, T., Spoonamore,

- K.G., Kovacs, R.J., Vatta, M., Izuka, M., Saito, M., Wani, S., Hiraoka, Y., Kimura, A., Kuroyanagi, H. Phosphorylation of the RSRP stretch is critical for splicing regulation by RNA-Binding Motif Protein 20 (RBM20) through nuclear localization. *Sci Rep* 8. 8970, 2018.
- Miyasaka, Y., Uno, Y., Yoshimi, K., Kunihiro, Y., Yoshimura, T., Tanaka, T., Ishikubo, H., Hiraoka, Y., Takemoto, N., Tanaka, T., Ooguchi, Y., Skehel, P., Aida, T., Takeda, J., Mashimo, T. CLICK: one-step generation of conditional knockout mice. *BMC Genomics* 19. 318, 2018.
- Menon, R., Grund, T., Zoicas, I., Althammer, F., Fiedler, D.K., Biermeier, Y., Bosch, O.J., Hiraoka, Y., Nishimori, K., Eliava, M., Grinevich, V., Neumann, I.D. Oxytocin Signaling in the Lateral Septum Prevents Social Fear during Lactation. *Curr Biol* 28. 1066-1078, 2018.
- de Calbiac H, Dabacan A, Marsan E, Tostivint H, Devienne G, Ishida S, Leguern E, Baulac S, Muresan RC, Kabashi E, Ciura S. Depdc5 knockdown causes mTOR-dependent motor hyperactivity in zebrafish. *Ann Clin Transl Neurol* 5. 510-523, 2018.

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）
特任助教（～9/30）プロジェクト助教（10/1～）：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、図1）。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・再生や食能に優れた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

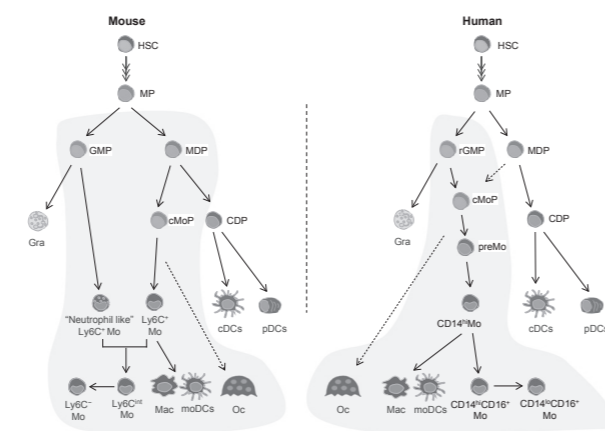


図1 ヒトおよびマウスにおける単球分化経路
Int Immunol 30, 503-9 (2018) から転載。cDC, 従来型 DC; pDC, 形質細胞様 DC; CDP, 共通 DC 前駆細胞; Gra, 顆粒球; Mac, マクロファージ; Mo, 単球; MP, ミエロイド前駆細胞; Oc, 破骨細胞; preMo, プレ単球

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。現在までに、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 領域の同定に成功している（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。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）。また、I 型 IFN の HSC への作用を活かして、放射線による移植前処置を行わず、I 型 IFN 誘導剤を用いて HSC を移植することに成功し、これを先天性代謝疾患ムコ多糖症モデルの治療に応用し一定の治療効果を得ることに成功した（*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ている。現在までに、IFN シグナルが全身性あるいは組織特異的に過剰に入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（論文投稿中）。

2) ヒト舌癌オルガノイドバイオバンクの構築と治療法開発

口腔癌は世界で年間 27 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した。今後は、ヒト舌癌オルガノイドバンクを構築し個別化治療に繋がる基盤技術開発を目指す。

人事異動

浅野純平、特任助教から聖霊女子短期大学助教で転出（2018.4.1）

業績目録

原著

1. Wang Z, Adachi S, Kong L, Watanabe D, Nakanishi Y, Ohteki T, Hoshi N and Kodama Y. Role of eosinophils in a murine model of inflam-

matory bowel disease. *Biochem Biophys Res Commun* doi:10.1016/j.bbrc.2019.02.056 [Epub ahead of print]

2. Nakanishi Y, Sato T and Ohteki T. IFN- γ -dependent epigenetic regulation instructs colitogenic monocyte/macrophage lineage differentiation in vivo. *Mucosal Immunol* 11, 871-80(2018)

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：櫛笥博子、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 ゲノム編集による生物学的ペースメーカーの開発

バッテリー寿命やデバイス感染、植え込み・交換手術による合併症など多くの問題点を抱える徐脈性不整脈に対する機械的ペースメーカー治療に対して、それら欠点を克服するために生物学的ペースメーカー研究が進められている。我々は永続的な治療効果が期待されるゲノム編集技術を生物学的ペースメーカー作成に応用し、マウス心室筋においてペースメーカー活動を発生させることに成功した。

2. 心房細動に付随する全身性炎症反応機転の解明

心房細動は心臓局所の炎症所見のみならず、血液中のCRP上昇など全身性の炎症反応の関与が報告されている。炎症反応は、凝固能の活性化、白血球の血管内皮細胞への接着などを誘導するのみならず、心房のリモデリングに関与し心房細動そのものの病態進展にも寄与する。しかしながら、なぜ心房細動に全身性の炎症反応が付随するのかその機序は未だ明らかにされていない。

我々は細胞から遊離し血中を循環する核酸に着目して研究を行っている。まず心房細動患者では健常者と比べて血漿中の遊離核酸量が多いことを確認した。この所見は心房筋培養細胞への高頻度ペーシング、マウス右房での高頻度ペーシングでも同様の傾向がみられた。そしてこの遊離核酸がマクロファージにおける炎症性サイトカインIL-1 β 、IL-6の発現を誘導すること、およびその伝達経路を確認した。さらに核酸のどのような性質が炎症誘導に重要であるかを同定した。心房細動の新規バイオマーカーとしての可能性が期待される。

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

多くの研究者の努力により容易に、安価に胚性幹 (ES) 細胞及び人為的幹 (iPS) 細胞から心筋を誘導することができるようになった。しかしながら、心臓発生研究において少なくとも2点解明すべき課題が残されている。①心臓を構成する細胞の運命決定時期と移動ルートの解明：心臓を誘導する因子は明らかにされつつあるが起源及び細胞のたどるルートにおいては未解明である。この理解のために初期中胚葉性細胞において発現するMesp1由来の細胞からシングルセル解析とChIP解析を行い、心臓領域を特定つける重要因子を特定した。この因子の遺伝子破壊マウスにおいて中胚葉性細胞は分化するものの心臓領域は形成されず心筋細胞も分化しない。②生体心臓を模倣した機能性心臓組織の樹立：誘導された心臓塊 (及びシート) は構造的・機能的にも生体心臓とは大きな隔たりが存在する。この理解のために、3つの手法を用いて研究を進めている。A: 左室因子Tbx5の制御機構の理解 (非コードRNAとポリコム複合体の制御機構; Hori et al., *BMC Genomics* 2018)、B: 心室—心房の運命決定機構の理解、C: 左右心室—心房獲得起源の理解 (Katano et al., *Dev. Growth Differ* 2018)。

4. 血管内皮細胞における炎症関連遺伝子のエピジェネティックな転写制御機構の解明

動脈硬化に端を発する心血管病は先進国の主要な死因であり (米国1位、本邦2位)、血管内皮細胞における慢性炎症がその病態形成の中心である。分子レベルでは、シグナル伝達に着目した研究がこれまで精力的に行われており、炎症性刺激に応じたマスター転写因子NF- κ Bによる炎症関連遺伝子の転写誘導機構がよく知られている。一方で、動脈硬化発症に重要な炎症関連遺伝子は正常状態の血管内皮細胞ではほぼ完全に発現が抑制されているが、なぜ発現が抑制されているのかはよく分かっていなかった。私は本研究においてlysine demethylase 7A (KDM7A) and 6A (UTX) の2つのヒストン脱メチル化酵素が協調的に抑制系ヒストン修飾を外すことが、血管内皮細胞における炎症関連遺伝子の発現誘導に重要であることを明らかにした。興味深いことに

KDM7A や UTX が結合するゲノム領域は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時間以内にすみやかに相互作用 (ループ形成) することが判明した。GWAS解析によって心血管病に関連したSNPsがKDM7AおよびUTXが結合するゲノム領域に濃縮していること、さらにin vivo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も明らかにし、KDM7AおよびUTXが臨床

的な観点からも重要である可能性が示唆された。本研究はH3K9me2、H3K27me3両者による協調的な抑制機構 (Basal Repression Mechanism) が血管内皮細胞に存在すること、さらにこれら抑制系ヒストン修飾がKDM7AおよびUTXによって外れることが炎症関連遺伝子の発現誘導に重要である可能性を世界ではじめて報告したものであり、当該分野において相当インパクトがあるものと考えている。これら成果は現在プレプリントサーバーに掲載されている (Higashijima Y et al. *bioRxiv*. 2018)。

ハイライト

光学マッピングを用いた不整脈発生機序解析 (図)

従来のマウス心臓を用いた光学マッピングでは対象となるマウス心臓が小さいことや、素早い電気生理学的変化をとらえるのに十分な時間分解能の必要性、マウス心臓の不整脈誘発の困難さといった様々な問題点を抱えており、それらを克服するため高空間分解能・高時間分解能を合わせ持った光学マッピングシステムを構築し、綿密な不整脈誘発プロトコルを組み合わせ、極めて詳細に不整脈発生のメカニズムを検討できる光学マッピング系を開発した (*J. Vis. Exp* 2018)。この新たなマッピング系を遺伝子組み換えマウスや病態モデルマウスに対して用いることで、種々の遺伝子変異や病態における不整脈発生の機序解明への貢献が期待される。

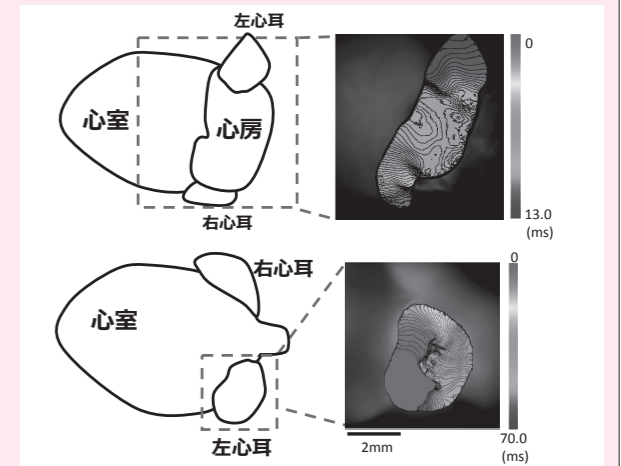


図 マウス心房の高解像度光学マッピング
上：正常洞調律時 (心臓下面)
下：リエントリー性心房頻拍時 (心臓上面)

人事異動

転入：櫛笥博子 (特任助教)、柳のど香 (博士)、掛野佐恵 (修士)、押切明美 (事務補佐員)
転出：高倉由起子 (事務補佐員)

業績目録

原著論文

- Natusme Y, Oaku K, Takahashi K, Nakamura W, Oono A, Hamada S, Yamazoe M, Ihara K, Sasaki T, Goya M, Hirao K, Furukawa T, Sasano T. Combined analysis of human and experimental murine samples identified novel circulating microRNAs as biomarker for atrial fibrillation. *Circ. J.* 2018;82:965-973.
- Ihara K, Sugiyama K, Takahashi K, Yamazoe M, Sasano T, Furukawa T. Electrophysiological assessment of murine atria with high-resolution optical mapping. *J. Vis. Exp.* 2018;132:256478.
- Okada J, Yoshinaga T, Kurokawa J, Washio T, Furukawa T, Sawada K, Sugiura S, Hisada T. Arrhythmic hazard map for a 3D whole-ventricles model under multiple ion channel block. *Br. J. Pharmacol.* 2018;275(27):3435-3452.
- Katano W, Moriyama Y, Takeuchi J, and Koshihara-Takeuchi K. Cardiac Septation in heart development and evolution. *Dev. Growth Differ. In press* 2018.
- Hori Y, Tanimoto Y, Takahashi S, Koshihara-Takeuchi K, and Takeuchi JK. Important cardiac transcription factor genes are accompanied by bidirectional long non-coding RNAs. *BMC Genomics* Dec 27;19(1):967. 2018.* : correspondence to this work
- Fujita, T., Kozuka-Hata, H., Hori, Y., Takeuchi J, Kubo, T., Oyama, M. Shotgun proteomics deciphered age/division of labor-related functional specification of three honeybee (*Apis mellifera* L.) exocrine glands. *PLoS One* Feb 15; 13(2):e0191344. 2018
- Higashijima Y, MATSUI Y, Shimamura T,

- Tsutsumi S, Nakaki R, Abe Y, Link VM, Osaka M, Yoshida M, Watanabe R, Tanaka T, Taguchi A, Miura M, Inoue T, Nangaku M, Kimura H, Furukawa T, Aburatani H, Wada Y, Glass CK, Kanki Y. Coordinated demethylation of H3K9 and H3K27 is required for rapid inflammatory responses of endothelial cells. *bioRxiv*. 2018.
- Tanaka S, Sugiura Y, Saito H, Sugahara M, Higashijima Y, Yamaguchi J, Inagi R, Suematsu M, Nangaku M, Tanaka T. Sodium-glucose cotransporter 2 inhibition normalizes glucose metabolism and suppresses oxidative stress in the kidneys of diabetic mice. *Kidney Int.* 2018. 94(5):912-925
- Saito H, Tanaka T, Tanaka S, Higashijima Y, Yamaguchi J, Sugahara M, Ito M, Uchida L, Hasegawa S, Wakashima T, Fukui K, Nangaku M. Persistent expression of neutrophil gelatinase-associated lipocalin and M2 macrophage markers and chronic fibrosis after acute kidney injury. *Physiol Rep.* 2018. 6(10):e13707.

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. Sox17-Notch1-Hes1 経路によりマウス胎生期成体型造血の場である AGM 領域血液細胞塊の造血幹細胞および造血前駆細胞は維持される

マウスの成体型造血が最初に起きる胎生 10.5 日胚の大動脈-中腎-生殖原器（AGM）領域において、大動脈の血管内皮細胞に接して造血幹細胞および造血前駆細胞を含む血液細胞の塊（血液細胞塊）を認める。この血液細胞塊に含まれる造血幹細胞がどのように維持され、また血液細胞を産み出していくかについて詳細は明らかではなかった。以前の研究で、転写因子であり内胚葉のマーカータンパク質である Sox17 を、血液細胞塊を構成し高い造血活性を有する CD45^{low}c-Kit^{high} 細胞に強制発現すると、支持細胞上で多数の継代を経ても細胞塊を形成し続けると共に未分化性が維持されることを明らかとし

た。一方、転写因子 Sox17 が、細胞運命決定に重要な役割を果たすことが知られる Notch1 タンパク質の転写を活性化することが報告された。そこで、血液細胞塊における造血幹細胞および造血前駆細胞の維持に対する Notch1 の役割を明らかにすることとした。まず、転写因子 Sox17 が Notch1 のプロモーターに認める Sox 結合配列領域に直接結合することで転写が活性化されることを示した。さらに、whole mount 免疫染色により、Sox17 と Notch1 が胎生 10.5 日胚の血液細胞塊において共発現することを明らかとした。そこで、血液細胞塊構成細胞の未分化性維持における Notch シグナルの関与を示すために、活性型 Notch1 細胞内ドメイン（NICD）を、血液細胞塊を構成する CD45^{low}c-Kit^{high} 細胞に強制発現し支持細胞と共培養すると、3 回の継代を経ても半固形培地での培養において多分化能が維持された。さらに、Notch1 のリガンドである Jagged1 および Delta-like protein 1 刺激により、血液細胞塊の未分化性が維持されることを明らかとした。また、Notch1 により発現誘導される下流遺伝子 Hes1 についても、同様な血液細胞塊細胞における未分化性の維持を認めた。一方、RNA 干渉法を用いて Sox17 導入細胞の Notch1 と Hes1 の発現をノックダウンすると、未分化性が減少することを明らかとした。以上のことから、Sox17-Notch1-Hes1 経路が血液細胞塊の未分化性維持に寄与することが示唆された。（図 1）。

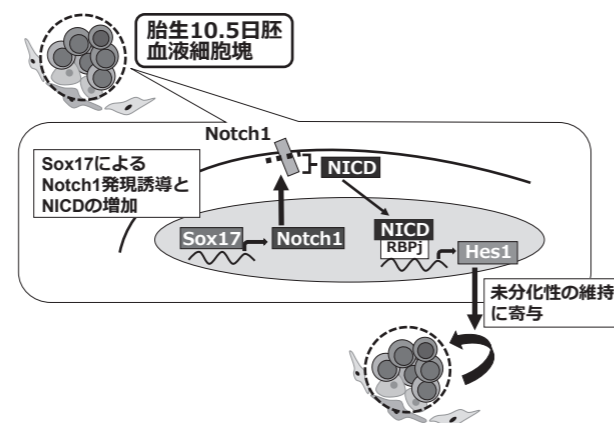


図 1 マウスにおいて最初に造血幹細胞が生じる血液細胞塊における Sox17-Notch1-Hes1 シグナル経路を介した未分化性維持機構

2. グリオーマ幹細胞の自己構築型ニッチに関する研究

グリオーマは頻度の高い脳腫瘍で、中でも最も悪性度の高い膠芽腫は病理学的に壊死（ネクロシス）や血管新生を主徴とする極めて予後の悪い難治性の癌である。一方、癌組織中に存在する癌幹細胞（cancer stem cell）は、化学療法や放射線療法などへの抵抗性を有するとともに、自己複製能と多分化能によって再び不均質な癌組織を構築する起源細胞として捉えられている。すなわち癌幹細胞は癌の発生と再発に深く関与しており診断・治療法の開発にあたり考慮すべき重要な細胞である。以前、当分野ではグリオーマ細胞株 C6 において Hoechst33342 色素排出性細胞集団（side population, SP）が癌幹細胞画分であることを報告し、さらに近年そのグリオーマ幹細胞がサイトカイン GM-CSF の分泌を介して CD204 陽性・CD11c 陽性の腫瘍随伴マクロファージ（tumor-associated macrophage; TAM）からなる微小環境（ニッチ）を自ら構築し、自身の生存を維持する巧みな生存戦略を執ることを報告した。そこで本年度は、この癌幹細胞によるニッチの自己構築機構を標的とした新たな治療法の確立を目指して、癌幹細胞の死産物と Mφ との相互作用に着目した以下の研究を実施した。SP 細胞由来の死産物において、マクロファージ（Mφ）による死細胞の認識に必要なホスファチジルセリンの高い発現が確認された。そこでマウス骨髄単球から GM-CSF を用いて誘導した Mφ/樹状細胞集団に SP 細胞由来の死産物を添加したところ、CD204 陽性および CD11c 陽性の TAM 様細胞特異的に貪食されることが明らかとなった。また SP 細胞由来の死産物はそれら

研究業績

原著論文

1. Ito K, Noguchi A, Uosaki Y, Taga T, Arakawa H, Takizawa T, Gfap and Osmr regulation by BRG1 and STAT3 via interchromosomal gene clustering in astrocytes. Mol. Biol. Cell, 29:209-219, 2018
2. Saito K, Nobuhisa I, Harada K, Takahashi S, Anani M, Lickert H, Kanai-Azuma M, Kanai Y, Taga T. Maintenance of hematopoietic stem and progenitor cells in fetal intra-aortic hematopoietic clusters by the Sox17-Notch1-Hes1 axis. Exp. Cell Res., 365:145-155, 2018

TAM 様細胞の数を増加させる働きを持つことが明らかとなった。さらに死産物添加後には IL-12b 遺伝子の発現が顕著に増加することが明らかとなった。ヒト膠芽腫患者由来細胞の培養系を用いて細胞増殖に与える影響を検討したところ、IL-12 添加時にスフィア形成能が有意に亢進することが明らかとなった。グリオーマ患者の遺伝子発現データベースを用いた解析では、膠芽腫患者の再発例において IL-12 b の発現の高い群で予後が悪いことが明らかとなり、死細胞を貪食した Mφ がヒトグリオーマの悪性化に関与している可能性が示唆された。以上の結果はグリオーマ幹細胞の一部が細胞死を介して TAM の発生を担い、ニッチを自己構築することで癌進展に寄与することを示唆している。これらは癌幹細胞のニッチ構築を介する癌進展病態の解明と、それを標的とした新たな治療法の開発に資する成果と考えられる（図 2）。

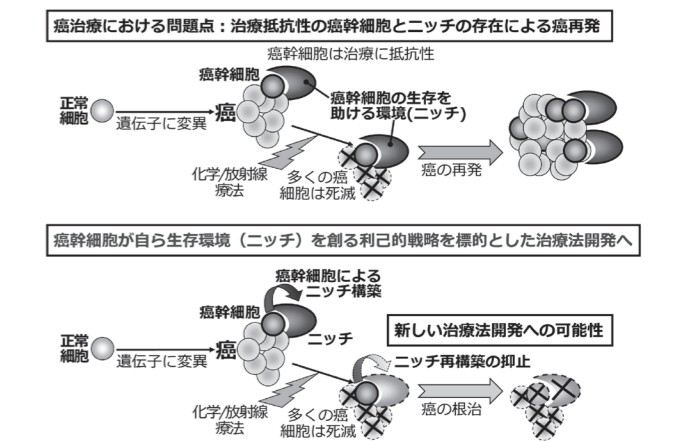


図 2 癌幹細胞によるニッチの自己構築と、それを標的とした癌根治の可能性

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15万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. 核内受容体 VDR と新規合成ビタミン D₃ 誘導体化合物との複合体の結晶構造解析

核内受容体の一種であるビタミン D 受容体 (vitamin D receptor, VDR) は身体内におけるカルシウム濃度とリン酸濃度を制御する上で不可欠な役割を担っている。近年、活性型ビタミン D₃ は VDR に作用することで骨の形成を促すことが明らかとなり、VDR は骨粗鬆症治療の有効な標的分子と認識されている。実際に活性型ビタミン D₃ 誘導体は骨粗鬆症の治療薬として使用されているが、高カルシウム血症を伴うことなどから、使用は限定的である。そこで、活性型ビタミン D₃ の分子構造を改良することで、望ましくない副作用を低減しつつ骨粗鬆症の治療のみに選択的に効果を発揮するよう改善することが望まれている。最近、組織選択的に VDR を活性化させる分子 ADRO1 が開発され、これと VDR のリガンド結合ドメインとの複合体について、X線結晶構造解析によりその結合様式を明らかにした。

ADRO1 は活性型ビタミン D₃ のメチル基を、より大きな置換基のアダマンチル基へと改変することで (図 1A)、VDR の活性化に重要なヘリックス領域 (H11 および H12) の構造変化を促すことを狙っている。また三重結合の導入によって、分子の剛性を強化するよう設計された。様々な組織由来の細胞を用いて ADRO1 が VDR を活性化させる能力を評価したところ、組織に依存して大きく異なり、特に腎臓由来の細胞では活性型ビタミン D₃ に比べおよそ 1.6 倍の活性を示すことがわかった。一方、腸管や皮膚由来の細胞では活性は著しく低下していた。

さらに ADRO1 と、ラット由来 VDR リガンド結合ドメインとの複合体の立体構造を X線結晶構造解析により明らかにした。得られた構造を活性型ビタミン D₃ 結合型と比較してみると、VDR の活性に重要であると考えられている H11 および H12 の構造が変化しており、より嵩高いアダマンチル基導入の狙い通りであることがわかった。特に H11 の His393 はその側鎖の配向が大きく変化しており、これに伴って主鎖の C α 原子の位置も変化することで、H11 の構造変化の直接的な引き金になっているものと考えられた (図 1B)。これは、リガンド結合ポケット内に嵩高いアダマンチル基を納めるため、ADRO1 の 25 位のヒドロキシル基の位置が活性型ビタミン D₃ のそれとは大きく異なった位置をとったことが原因であると示唆される。加えて、H12 の Phe418 もわずかに配向を変化させていた。これらの構造変化によって、H11 領域の分子表面の静電ポテンシャル分布が異なっていることもわかった。これらの相違が、ADRO1 による組織選択的な VDR 活性化に大きく影響を与えているものと考えられる。

本研究は、日本大学、サンティアゴ・デ・コンポステーラ大学 (スペイン)、立教大学との共同研究である。

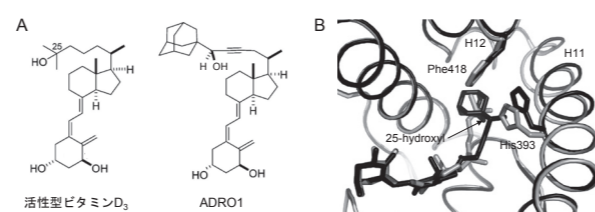


図 1 A) 活性型ビタミン D₃ と ADRO1 の構造式。B) ADRO1 結合型 (黒) と活性型ビタミン D₃ 結合型 VDR (灰) の重ね合わせ。

2. アルツハイマー病の分子機構の解明

アルツハイマー病の発症原因のひとつとして考えられているタウタンパク質は、中枢神経細胞に多く発現しており、通常は、微小管の主たる構成タンパク質である α および β チューブリンに結合して微小管の重合や安定性を調節している。しかし、アルツハイマー病においては、アミロイド β の凝集体が神経細胞にストレスを与えるため、タウタンパク質は過剰リン酸化を受けて遊離する。一方、細胞内には、PP2A などの脱リン酸化酵素があるので、遊離したタウタンパク質は、脱リン酸化を受けることにより、再び微小管に結合することもある。しかし、PP2A は pSer/pThr-Pro 配列がトランス型の場合にしか機能しないため、シス型のタウタンパク質は脱リン酸化を受けず、細胞質内に蓄積することになり、やがて凝集して神経原繊維変化 (NFT) を形成すると考えられている。タウタンパク質の凝集化において Thr231 のリン酸化の影響が大きいことが報告されており、現在は pThr231-Pro232 配列のシス型が NFT の原因と考えられている (「シスタウオーシス」)。

本研究では、この「シスタウオーシス」仮説を検証するために、pThr231-Pro232 配列を含む凝集性のリン酸化ペプチドを合成し (図 2)、pSer/pThr-Pro 配列特異的なプロリン異性化酵素 Pin1 による凝集阻害の解析を行った。その結果、pThr231-Pro232 配列はトランス型の場合であっても高い凝集性を有すること、Pin1 はリン酸化タウタンパク質の凝集化を抑制するものの、その機能はプロリン異性化反応とは無関係で、トランス型構造に対する Pin1 の WW ドメインの選択的な結合によることなどが明らかになった。これらのことから、「シスタウオーシス」が NFT の原因ではないことが証明された。

本研究は、広島大学、名古屋大学、帝京大学との共同研究である。

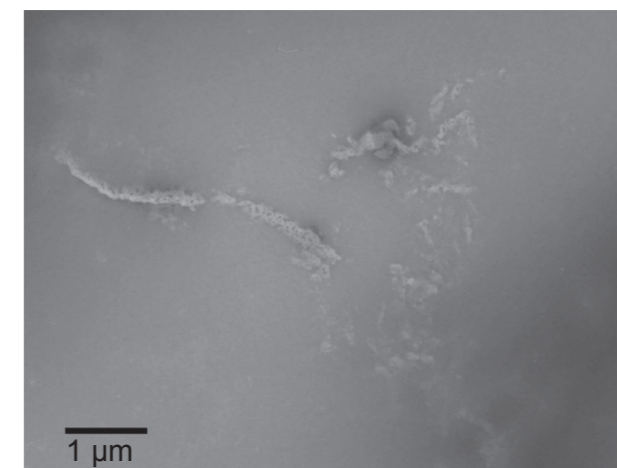


図 2 本研究で使用した pThr231-Pro232 配列を含む凝集性のリン酸化ペプチドが、全長タウ蛋白質同様に、アミロイド状の凝集性を有することが、電子顕微鏡により確認された。

3. Protein Data Bank の改善

世界的な構造ゲノム科学の進展に伴い X線結晶構造解析や核磁気共鳴 (NMR) の手法の高度化がなされ、また近年の電子顕微鏡の急激な発展により、今日では15万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。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。高校生以上を対象に社会的に関心の高いタンパク質についてその生体構造中心に性質や機能を紹介している。

研究業績

原著論文

1. Teikichi Ikura, Naoya Tochio, Ryosuke Kawasaki, Mizuki Matsuzaki, Akihiro Narita, Mahito Kikumoto, Naoko Utsunomiya-Tate, Shin-Ichi Tate, Nobutoshi Ito. The trans isomer of Tau peptide is prone to aggregate, and the WW domain of Pin1 drastically decreases its aggregation. FEBS Lett. 2018. 592, 3082-3091.
2. Nobutaka Numoto, Narutoshi Kamiya, Gert-Jan Bekker, Yuri Yamagami, Satomi Inaba, Kentaro Ishii, Susumu Uchiyama, Fusako Kawai, Nobutoshi Ito, Masayuki Oda. Structural Dynamics of the PET-Degrading Cutinase-like Enzyme from *Saccharomonospora viridis*

- AHK190 in Substrate-Bound States Elucidates the Ca²⁺-Driven Catalytic Cycle. Biochemistry. 2018. 57, 5289-5300.
3. Rocío Otero, Michiyasu Ishizawa, Nobutaka Numoto, Teikichi Ikura, Nobutoshi Ito, Hiroaki Tokiwa, Antonio Mourão, Makoto Makishima, Sachiko Yamada. Synthesis, Tissue Selective Biological Activities, and X-ray Crystal Structural Analysis of Its Vitamin D Receptor Complex. J. Med. Chem. 2018. 61, 6658-6673.
4. Koki Makabe, Takashi Nakamura, Debanjan Dhar, Teikichi Ikura, Shohei Koide, Kunihiro Kuwajima. An Overlapping Region between the Two Terminal Folding Units of the Outer Surface Protein A (OspA) Controls Its Folding Behavior. J. Mol. Biol. 2018. 430, 1799-1813.
5. Naoki Miyamoto, Miho Yoshimura, Yuji

- Okubo, Kayo Suzuki-Nagata, Takeshi Tsumuraya, Nobutoshi Ito, Ikuo Fujii. Structural basis of the broad substrate tolerance of the antibody 7B9-catalyzed hydrolysis of p-nitrobenzyl esters. Bioorg. Med. Chem. 2018. 26, 1412-1417.
6. Naoko Matsubara, Akihiro Imamura, Tatsuya Yonemizu, Chizuru Akatsu, Hongrui Yang, Akiharu Ueki, Natsuki Watanabe, Hajjaj Abdullah, Nobutaka Numoto, Hiromu Takematsu, Shinobu Kitazume, Thomas F Tedder, Jamey D Marth, Nobutoshi Ito, Hiromune Ando, Hideharu Ishida, Makoto Kiso, Takeshi Tsubata. CD22-Binding Synthetic Sialosides Regulate B Lymphocyte Proliferation Through CD22 Ligand-Dependent and Independent Pathways, and Enhance Antibody Production in Mice. Front. Immunol. 2018. 9, 820.

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 難病基盤・応用研究プロジェクト室助教：與那城 亮

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。高山や体内の微細環境は、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、虚血性の疾患、免疫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. 低酸素コンプレックスを介した低酸素センシング機構の解明

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

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

において解糖系と TCA 回路を結びつける役割を担います。PHD3 は、低酸素下で PDH と結合することにより PDH 複合体を安定化し、PDH 活性を正に制御する分子であることを明らかにしました。低酸素下では、PDH の活性は減少していきますが、PHD3 との結合は強くなります。したがって、PHD3 は低酸素下での PDH 活性を fine-tuning して、解糖系と TCA 回路のバランスを調節することで、低酸素の程度に応じた効率的なエネルギー産生ができるように働いていると考えられます。引き続き、複合体構成分子の機能解析を進めて、細胞内低酸素センシング機構の解明をめざします（図 1）。

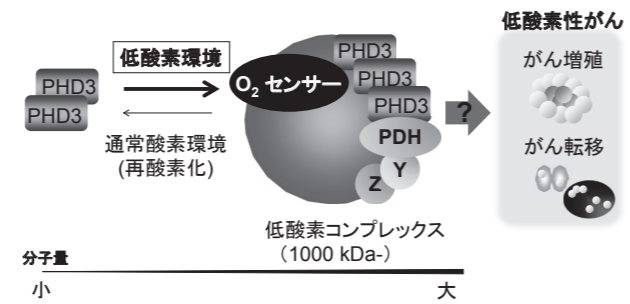


図 1 低酸素応答における低酸素コンプレックスの役割

2. 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。本研究では、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 複合体のサブユニットの一つ PDH-E1 β の発現が低下することを新たに見出しました。この PDH-E1 β の発現低下は、その後の再酸化化により通常酸素環境に戻った後も持続しており、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-E1 β を shRNA を用いてノックダウンしたところ、典型的ながん性代謝の表現型を示しました。このことから、PDH の発現低下ががん性代謝を形成するのに重要な役割を担っていることが明らかになりました。さらに、PDH-E1 β をノックダウンした乳がん細胞をヌードマウスに移植したところ、対照群と比べて腫瘍形成能が著しく低下していることが判明しました（図 2）。このことから、解糖系に極度に依存したエネルギー代謝のみしか利用できない乳がん細胞では、腫瘍を効率的に形成できないことが明らかになりました。したがって、PDH-E1 β の発現や活性を強固に抑制することで、乳がん細胞の腫瘍形成を効果的に抑制できる可能性が示唆されます。現在、PDH ががんの促進に働く分子機構の解析をさらに詳しく進めており、その成果をがん治療へと結びつけたいと考えています。

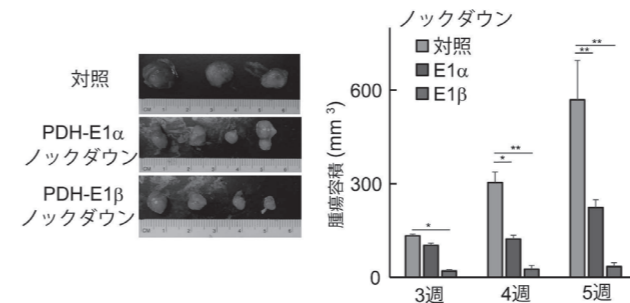


図 2 PDH の発現抑制による乳がん細胞の腫瘍形成能の低下

3. 慢性期低酸素応答を制御する新しい分子機構：CREB と ER ストレス応答経路の相互作用

がんが存在する微小環境は低酸素・低栄養・低グルコースであり、そのような環境に慢性的にさらされているがん細胞は ER ストレスシグナルが活性化されています。私たちは慢性的な低酸素環境で CREB、NF- κ B が活性化されることを見出したことから、まず CREB に着目して ER ストレス応答との関係を解析しました。その結

果、CREB はがん細胞が ER ストレスにさらされることで活性化されることを明らかにしました。さらに、CREB をノックダウンした細胞では、ER ストレス応答経路の中心分子 PERK、IRE1 α の発現が低下して、ER ストレス応答が顕著に抑制されていました。がんにおける ER ストレス応答経路の活性化は、がんの生存維持に働くばかりでなく、上皮間葉転換を引き起こしたり、血管新生を促したりすることで、がん転移を促進することが報告されています。そこで、CREB ノックダウン細胞をマウスに移植したところ、肺への転移が有意に減少することが明らかになりました。この細胞では、低酸素下で CREB によって誘導される細胞外マトリックス構築や血管新生に関わる遺伝子群が低下しており、その結果として、肺転移が減少したと考えられます。CREB は、慢性期低酸素で活性化されてその標的遺伝子の発現を制御することに加えて、ER ストレス経路の増強にも働くことで、がん細胞の転移能を亢進していると考えられます（図 3）。今後は、CREB をがんにおける慢性期の低酸素応答・ER ストレス応答経路の両経路を抑制するための主要な標的と捉えて、その発現や活性を阻害することによるがん抑制効果の検証を進めたいと考えています。

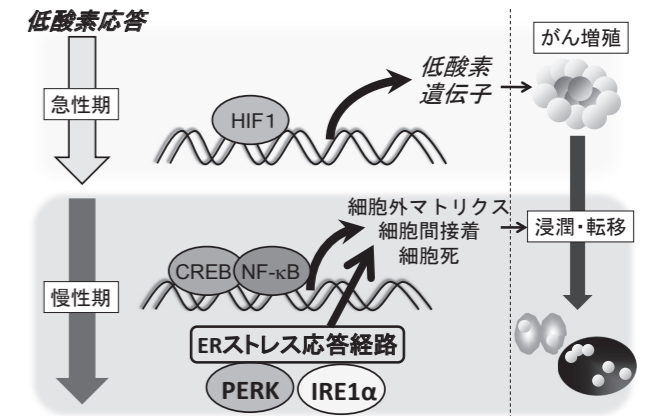


図 3 慢性期低酸素応答における CREB と ER ストレス応答経路の協調

業績目録

発表論文

Yonashiro R, Eguchi K, Wake M, Takeda N, and Nakayama K. Pyruvate dehydrogenase PDH-E1 β is downregulated under prolonged hypoxic conditions and controls tumor progression by altering the metabolic status of cancer cells. *Cancer Res.* 78:1592-1603, (2018)

総説

榎本 峻秀, 中山 恒
転写因子 CREB の長期的な低酸素応答における役割
細胞 4 月号 Vol. 50(4), 54-55, (ニューサイエンス社) (2018)

国際学会・シンポジウム

1. Nakayama K.
Regulation of cancer metabolism by pyruvate dehydrogenase PDH in hypoxia.
Hypoxia Research Meeting 2018, Tokyo (2018)
2. Nakayama K.

Regulation of tumor growth mediated by pyruvate dehydrogenase PDH-E1beta in cancer cells.
World Congress of Basic and Clinical Pharmacology 2018 Satellite Symposia, Kyoto (2018)

3. Nakayama K.
Pyruvate dehydrogenase PDH-E1 β is downregulated under prolonged hypoxic conditions and regulates tumor growth by altering the metabolic status in cancer cells.
Keystone Symposia: Therapeutic Targeting of Hypoxia-Sensitive Pathways Oxford, United Kingdom (2018)

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

難治性骨疾患の予防・治療法確立へ向けた知見の獲得に重点を置いて、細胞外カルシウム調節系に関わる生体組織・器官における細胞応答の分子制御解明を目指している。

研究紹介

1. アネキシンA5は腱付着部の骨過成長を抑制する(鶴見大学：二藤彰教授との共同研究)

硝子軟骨石灰化制御など、様々な生体機能を報告されてきたアネキシンA5の機能は、遺伝子欠損マウスの表現型としては検出されてこなかった。本研究は本遺伝子欠損マウスの線維軟骨性腱付着部（エンテシス）に骨過成長が見られることを見出し、その分子制御機構の可能性として、メカニカルな張力負荷を介したアルカリホスファターゼ遺伝子の発現抑制とANKやENPP1といった石灰化抑制因子の発現増加の寄与を示唆した。

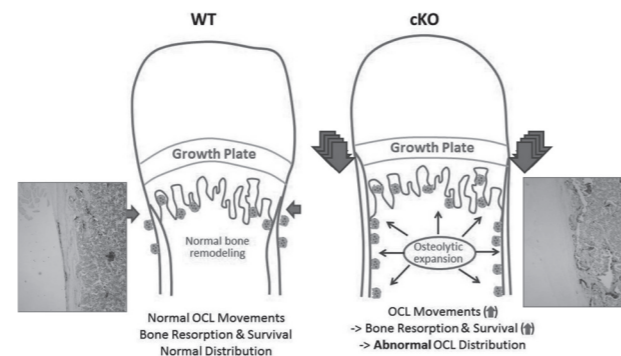
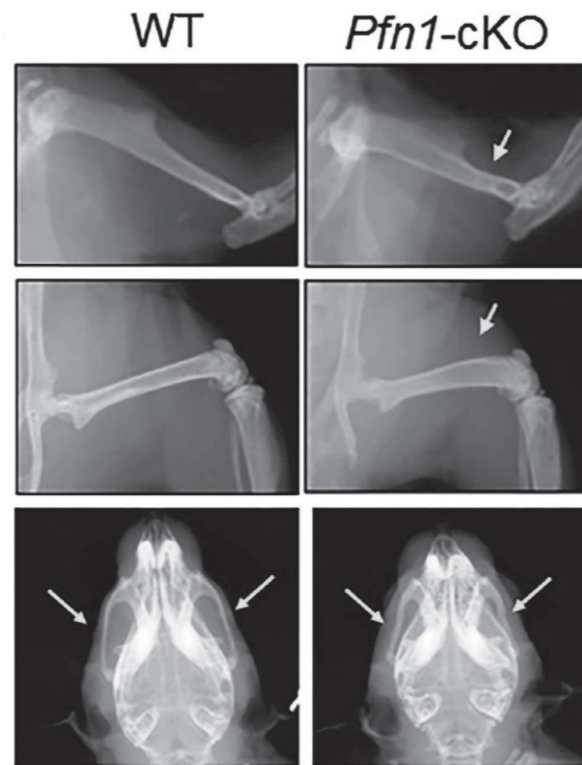
2. 破骨細胞分化に必須な前駆細胞融合をDok-3は抑制する(東京大学医科学研究所：山梨裕司教授との共同研究)

様々な受容体経路を修飾するDokアダプターファミリー分子Dok-1およびDok-2が破骨細胞の分化を抑制的に制御することは以前報告した。本研究は、両者と構造的類似性の高いDok-3を欠損するマウスが、さらに重度の骨量減少症を示し、細胞レベルの機構として、本遺伝子欠損マウスの破骨細胞の前駆細胞同士の癒合が促進されて大きな破骨細胞が形成されることを明らかにした。破骨細胞の融合制御因子は複数報告されているが、その詳細は十分に解明されておらず、本研究成果はその分子機構解明に重要な一歩を与えた。

3. プロフィリン1を破骨細胞で欠損すると溶骨症を生じる(白川純平ほか)

アクチン重合を制御するプロフィリン1は、骨系前駆細胞や骨細胞、軟骨細胞においてその運動性や突起形成を促進する働きを示すことを報告してきた。本研究は、これに反して破骨前駆細胞におけるプロフィリン1欠損は、その運動性を亢進させ、成長期の長管骨および頭蓋

顔面骨のリモデリングに際した部位特異的な骨吸収パターンを変調させることで骨変形を生じさせることを明らかにした。プロフィリン1分子のアクチンフィラメント構造特異的な調節作用については近年その解明が進められているところであり、本研究の知見はその理論を裏付けるものであった。また生後成長の比較的早期に骨形態変化を伴い発症する溶骨症モデルとして、本遺伝子改変マウスのモデル実験系としての意義を示すことが出来た。



人事異動

佐久間朋美が連携研究員として5月から12月まで勤務した

業績目録

原著論文

1. Shimada A, Ideno H, Arai Y, Komatsu K, Wada S, Yamashita T, Amizuka N, Pöschl E,

Brachvogel B, Nakamura Y, Nakashima K, Mizukami H, Ezura Y, Nifuji A*. Annexin A5 involvement in bone overgrowth at the enthesis. J Bone Miner Res. 2018, 33(8):1532-1543
2. Kajikawa S, Taguchi Y, Hayata T, Ezura Y, Ueta R, Arimura S, Inoue JI, Noda M, Yamanashi Y*. Dok-3 and Dok-1/-2 adaptors play distinctive roles in cell fusion and proliferation during osteoclastogenesis and cooperatively protect mice from osteopenia. Biochem Biophys Res Commun. 2018, 498(4):967-974.
3. Hayata T, Chiga M, Ezura Y, Asashima M,

Katabuchi H, Nishinakamura R, Noda M*. Dullard deficiency causes hemorrhage in the adult ovarian follicles. Genes Cells. 2018, 23(5):345-356.
5. 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 (accepted Oct. 2018).

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

- アルツハイマー病の遺伝子治療シーズを開発した（神経病理学）
- 知的障害原因遺伝子 PQBP1 がアルツハイマー病超早期病態に関わることを発見した（神経病理学）
- ホスホイノシタイドプロファイルによるリンパ腫細胞の層別化（病態生理化学）
- Beclin 1 によるリサイクリングエンドソーム制御が皮膚形成に必須であることを発見した（病態細胞生物学）
- アポトーシス時のカスパーゼによる PARL 切断がミトファジー誘導に重要であることを発見した（病態細胞生物学）
- 遺伝子改変ゼブラフィッシュを用いて光刺激が体内時計を形成する仕組みを示した（発生再生生物学）
- 加齢に伴い表皮が老化する仕組みを明らかにした（幹細胞医学）
- B リンパ球活性化に重要な活性酸素種産生で NADPH オキシダーゼ（NOX）3 が主要な役割を果たすことを明らかにした（免疫疾患）
- 抗体産生を制御する合成 CD22 リガンドを開発した（免疫疾患）
- ROCK 阻害剤が M21 高発現マウスの心不全発症を抑制するが不整脈は抑制しないことから、心不全と不整脈の病態形成機序が異なることを示した（分子病態）
- ULBP 遺伝子群の進化系統樹解析から、旧世界ザル系統特異的な遺伝子重複やヒト特異的な ULBP 遺伝子の存在を示した（分子病態）

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、内原俊記
助教：藤田慶大
特任助教：本間秀典、山西恵美子

研究内容

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

研究紹介

1. アルツハイマー病の新規病態と遺伝子治療法の発見 (Tanaka et al., *Molecular Psychiatry*, 2018)

アルツハイマー病、前頭側頭葉変性症、レビー小体型認知症の3大認知症には、根本的な治療法（病態修飾治療法：Disease Modifying Therapy）が確立されていません。また、遺伝子変異によって引き起こされる病態についても、多くの知識が蓄積されてきているものの、どの時期からどのような病態が生じているのか、いつからどのような病態を標的に治療をすれば良いのか、については明確になっていません。例えば、アルツハイマー病では欧米の巨大製薬企業を中心にアミロイド凝集除去を目的としてアミロイド抗体を用いた多くの国際的臨床試験が行われてきたが、アミロイド除去には成功したものの、臨床症状の改善には至っていません。これらの事例は、症状としての発症以前、さらにはアミロイド凝集体出現以前（凝集前）の『超早期病態』を解明する必要性を示しています。

先行研究において、私たちはアルツハイマー病モデルマウス4種類から、発症前・アミロイド凝集前の時期から発症時期までの期間に脳サンプルを採取し、網羅的リン酸化プロテオーム解析を実施しました。その結果、発症前・アミロイド凝集前にリン酸化を受ける3つのタンパク質を発見しました。その1つは、細胞膜形状の制御に関わる分子 MARCKS であり、発症前・アミロイド凝集前の MARCKS リン酸化がシナプス変性・神経突起変性につながることを報告しました (Fujita et al. *Sci Rep* 2016)。しかしながら、残りの2つのタンパク質 (SRRM2, Marcksl1) のリン酸化のアルツハイマー病態における意義は十分に解明されていませんでした。

私たちは、超早期アルツハイマー病態（発症前・アミロイド凝集前）における SRRM2 タンパク質リン酸化の

病的意義を明らかにしました。リン酸化 SRRM2 は TCP1alpha との結合を弱め、核移行を抑制しました。SRRM2 減少は発達障害原因遺伝子のひとつである PQBP1 を減少させ、シナプス関連遺伝子のスプライシング異常をもたらすことが判明しました。AAV-PQBP1 による遺伝子治療は、RNA スプライシングを改善し、シナプス病態、および認知機能異常を改善しました。

SRRM2 リン酸化に至る、上流シグナルの検討から、Erk1, Erk2 という酵素が Ser1068 で SRRM2 をリン酸化すると考えられました。発症前・アミロイド凝集前の時期には、モデルマウスの脳内で細胞内のアミロイドが蓄積している状態が存在しており、これが ER ストレスなど何らかのシグナル経路を通じて Erk1/2 の過度な活性化状態を来しているものと想定されます。

本研究において、アルツハイマー病の超早期（発症前・アミロイド凝集前）に生じる新しい病態メカニズムを明らかにし、この新規病態をターゲットにすることで治療が可能であることを示しました。本研究は、現在の認知症研究の焦点となっている超早期病態解明と、超早期病態で主要な役割を果たす、新たな標的分子を用いた遺伝子治療法を示した点でも、大きな意義を持つと考えられます。

2. 認知症における疾患横断的な MARCKS リン酸化変化 (Fujita et al., *eNeuro*, 2018)

私たちはこれまでに、アルツハイマー病の早期、すなわち細胞外アミロイドベータが蓄積する以前から、MARCKS (myristoylated alanine-rich C kinase substrate) の46番目のセリン残基のリン酸化が亢進し、それが神経変性の指標となることを見出しました。今回、新たに同様のリン酸化変化が、レビー小体型認知症患者脳、および正常 alpha-synuclein を強制発現した gluo-cerebrosidase (GBA)-heterozygous-knockout マウス脳においても観察されました。まず、リン酸化プロテオーム解析から、レビー小体型患者脳において複数のリン酸化タンパク質を同定しました。変化のあったタンパク質の中には、アルツハイマー病患者脳と共通して変化するタンパク質も存在しました。その中で、AD 及び DLB で共通する分子変化の一つが、MARCKS の Ser46 番目

のリン酸化でした。リン酸化 Ser46-MARCKS 特異的抗体にて免疫染色すると、神経線維に局在し、リン酸化シヌクレインの有無に関わらず、pSer46-MARCKS 上昇が起こることがわかりました。この変化は、マウス脳においても同様で、経時的に増加したことが明らかになっ

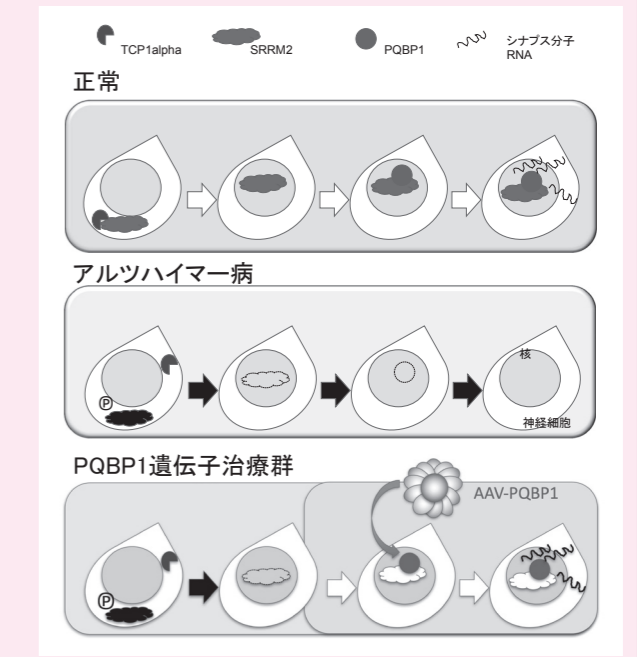
たほか、ユビキチンやリン酸化シヌクレイン (pSyn) が蓄積する以前からリン酸化が亢進したことも明らかになりました。この Ser46-MARCKS のリン酸化も、ERK によって亢進し、AD および DLB において、ERK は活性化していることも明らかになりました。

ハイライト

SRRM2 リン酸化の病的意義について

まず、発症前・アミロイド凝集前に観察された Ser1068 のリン酸化は、SRRM2 の TCP1alpha に対する結合を弱めることを発見しました。シャペロンタンパク質 TCP1alpha は SRRM2 と結合して、SRRM2 の折りたたみを助けて正しい3次構造にする役割があると考えられます。Ser1068 でリン酸化された SRRM2 は正しい3次構造を取ることができず、核内の量が減少します。SRRM2 タンパク質は細胞の核内部で多くの RNA 関連タンパク質と結合して、結合相手を安定化するスカフォールドタンパク質と考えられており、実際、アルツハイマー病態では、SC35, PQBP1 などの RNA 関連タンパク質が核内部で減少していました。この中で、PQBP1 は、多くの発達障害症候群の原因遺伝子です。そこで、新たに PQBP1 が成熟神経細胞にのみ欠損している遺伝子組み換えマウス (PQBP1-Synapsin-Cre-cKO マウス) を作成して、アルツハイマー病モデルマウス (5xFAD マウス) とのシナプス異常と遺伝子発現における共通性を検討しました。この結果、PQBP1-Syn-cKO マウスと 5xFAD マウスは、共通してシナプス形態に異常があり、シナプス関連遺伝子の RNA スプライシングが変化したこ

と、さらに 5xFAD マウスにおける RNA スプライシング変化は PQBP1 の補充 (PQBP1 遺伝子治療によって回復すること、PQBP1 遺伝子治療は、5xFAD マウスとヒト APP ノックインマウスにおいて、シナプス形態を回復し、記憶力テストの成績を顕著に回復させることも示しました。



研究業績

1. 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. Chronic cerebral hypoperfusion shifts the equilibrium of amyloid β oligomers to aggregation-prone species with higher molecular weight. *Sci Rep*. 2019, 9(1), 2827.
2. Chen X, Kondo K, *Okazawa H. Methods to Image Macroautophagy in the Brain In Vivo. *Methods Mol Biol*. 2019, 1880, 529-534.
3. Inoue S, Hayashi K, Fujita K, Tagawa K,

- *Okazawa H, Kubo KI, Nakajima K. Drebrin-like (Dbr1) Controls Neuronal Migration via Regulating N-Cadherin Expression in the Developing Cerebral Cortex. *J Neurosci*. 2019, 39(4), 678-691.
4. Tanaka H, Kondo K, Chen X, Homma H, Tagawa K, Kerever A, Aoki S, Saito T, Saido T, Muramatsu SI, Fujita K, *Okazawa H. The intellectual disability gene PQBP1 rescues Alzheimer's disease pathology. *Mol Psychiatry*. 2018, 23(10), 2090-2110.
5. Furotani K, Kamimura K, Yajima T, Nakayama M, Enomoto R, Tamura T, *Okazawa

- H, Sone M. Suppression of the synaptic localization of a subset of proteins including APP partially ameliorates phenotypes of the Drosophila Alzheimer's disease model. *PLoS One*. 2018, 13(9), e0204048.
6. Fujita K, Homma H, Kondo K, Ikuno M, Yamakado H, Tagawa K, Murayama S, Takahashi R, *Okazawa H. Ser46-Phosphorylated MARCKS Is a Marker of Neurite Degeneration at the Pre-aggregation Stage in PD/DLB Pathology. *eNeuro*. 2018, 5(4). pii: ENEURO.0217-18.2018.
7. *Okazawa H. Bridging Multiple Dementias. *ACS Chem Neurosci*. 2018, 9(4), 636-638.

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
特別研究学生（学振特別研究員） 森岡 真 事務補佐員 三田雅代

分野研究内容

概要

生体を構成する脂質は、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/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. アシルプロファイルによる薬剤感受性予測

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)を生成し、一方、PTENはPIP3を脱リン酸化してPIP2に変換する酵素である。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、PTENの機能喪失型変異や欠失は、様々なタイプのがんで高頻度に見出され、主要なドライバー遺伝子変異と考えられている。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異常が認められることから、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、24種類の薬剤への感受性(細胞生存率)を評価した。その結果、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の構築に成功した。

2. 卵巣の性維持におけるホスホイノシタイドの役割

哺乳動物の性は、Y染色体上の精巣決定遺伝子Sry(Sex-determining region Y)の発現の有無により決定される。すなわち、性的に未分化な胎児性腺の支持細胞において、Sryが発現した場合は雄型のセルトリ細胞に、発現しない場合は雌型の顆粒膜細胞に分化する。その後、生殖細胞を含む種々の細胞の性分化が誘導され、精巣または卵巣が発達する。近年、この発生過程で決定した支持細胞の性は、必ずし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。

我々が作出した組織特異的phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate代謝酵素欠損マウスは、雄は妊性であるが、雌は不妊であることに気が付いた。組織化学的解析の結果、精巣は正常であるものの卵巣の異常が認められ、卵巣顆粒膜細胞層にセルトリ細胞様細胞が出現することを見出した。さらにレポーターマウスを用いた解析により、出生直後の卵巣に一過性に出現する卵巣男性化の責任細胞を見出した。これまでに、卵巣の性制御におけるリン脂質代謝の関与については全く知られていない。従って本研究成果は、成体支持細胞の性維持における新たな機構解明へと繋がることが期待される。

3. リソソーム膜でのホスホイノシタイドシグナリング

最近の研究で、様々なシグナル伝達経路の活性化がリソソームを起点としていることもわかってきた。例えば、増殖シグナルの主要制御複合体で、細胞質に存在するmechanistic target of rapamycin complex 1(mTORC1)は、リソソーム膜にリクルートされることで活性化すると考えられており、下流分子のリン酸化を介してオートファジーを抑制するとともにタンパク質合成や細胞増殖

を促進性に制御する。我々はホスホイノシタイドの一つphosphatidylinositol 3,5-bisphosphate(PI(3,5)P2)を欠損させると、mTORC1のリソソーム膜への局在が阻害され、さらに下流転写因子の核内移行が損なわれることを見出した。PI(3,5)P2の新機能を示す本研究は、mTORC1の新規調節メカニズムの同定に繋がること

ハイライト

ホスホイノシタイド測定技術の開発

私たちはホスホイノシタイドの新しい測定技術を開発しました(特許出願中)。従来の測定方法では、サンプルの放射性同位体標識が必要で、多くの場合は[32P]無機リン酸や[3H]イノシトールでラベルした培養細胞からの抽出リン脂質が解析対象となっています。この試料を陰イオン交換カラムクロマトグラフィーで分離・定量します。一方、私たちの方法では、質量分析計を測定に用います。放射性同位体標識が不要となり、ヒトや実験動物の組織、血液、尿など様々な試料を解析することが可能となりました。質量分析計による解析というアイデアは古くからありましたが、細胞内のホスホイノシタイドが極めて微量であることや不安定な物性をもつことから、なかなか成功しませんでした。生体試料からのホスホイノシタイドの濃縮、化学修飾による安定性の向上、異なる原理のカラムクロマトグラフィー、質量分析計の高感度化といった技術要素を積み重ねることで、リン酸化パターンの違いによって生ずる8クラスのホスホイノシタイドの測定方法が世界で初めて確立されました。また、従来法ではホスホイノシタイドの脱アシル化操作が必要でしたが、新しい方法では不要となるため、脂肪酸

期待される。また、リソソーム膜を構成する脂質は現在、謎に包まれている。我々は独自の脂質測定技術(ハイライト参照)を保有しているため、これまで解析困難であったリソソーム膜の脂質成分分析を実施し、リソソームのさらなる機能解明を行う予定である。

部分の構成が異なる100種類以上のサブクラスの一斉解析が可能となった点も、大きな進歩です。

ホスホイノシタイド代謝酵素が種々の難治性疾患の病態形成に関与することが、ヒトやマウスの遺伝学的解析から示唆されています。しかしながら、どのホスホイノシタイドが、健康な状態と比べて病的な状態で蓄積あるいは欠乏しているのかは不明です。この新技術を活用した病態研究が進めば、疾患の原因となったり、疾患を反映したりするホスホイノシタイドの動態が特定され、難治性疾患の医療の進歩につながる可能性があります。また、そのような研究は、脂質が司る生命現象の本態解明に寄与するものと考えています。

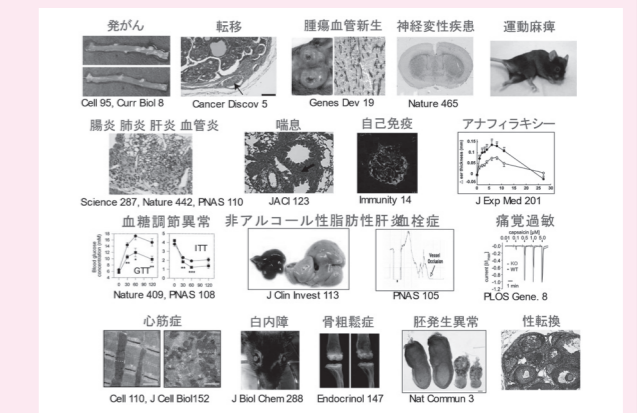


図 ホスホイノシタイド代謝異常症

業績業績

1. Nishio M, Miyachi Y, Otani J, Tane S, Omori H, Ueda F, Togashi H, Sasaki T, Mak TW, Nakao K, Fujita Y, Nishina H, Maehama T, Suzuki A. Hippo pathway controls cell adhesion and context-dependent cell competition to influence skin engraftment efficiency. FASEB J. 2019, in press
2. Liggins MC, Flesher JL, Jahid S, Vasudeva P, Eby V, Takasuga S, Sasaki J, Sasaki T, Boissy RE, Ganesan AK. PIKfyve regulates melanosome biogenesis. PLoS Genet. 14: e1007290, 2018
3. Makinoshima H, Umemura S, Suzuki A, Nakanishi H, Maruyama A, Udagawa H, Mimaki S, Matsumoto S, Niho S, Ishii G, Tsuboi M, Ochiai A, Esumi H, Sasaki T, Goto K, Tsuchihara K. Metabolic Determinants of Sensitivity to Phosphatidylinositol 3-Kinase Pathway Inhibitor in Small-Cell Lung Carcinoma. Cancer Res. 78:2179-2190, 2018
4. Morioka S, Nigorikawa K, Okada E, Tanaka Y, Kasuu Y, Yamada M, Kofuji S, Takasuga S, Nakanishi H, Sasaki T, Hazeki K. TMEM55a localizes to macrophage phagosomes to downregulate phagocytosis. J Cell Sci. 131. pii: jcs213272, 2018

5. Kimura H, Matsuyama Y, Araki S, Koizumi A, Kariya Y, Takasuga S, Eguchi S, Nakanishi H, Sasaki J, Sasaki T. The effect and possible clinical efficacy of in vivo inhibition of neutrophil extracellular traps by blockade of PI3K-gamma on the pathogenesis of microscopic polyangiitis. Mod Rheumatol. 28:530-541, 2018

特許申請

新規リン脂質およびその利用ならびにリン脂質分離測定法の開発
PCT/JP2017/026563

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 プロジェクト助教：山口啓史、室橋道子、申 珉京、藤掛伸宏、桜井 一
 学振特別研究員：吉田 剛

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ミトコンドリア機能異常に由来する疾患の克服、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。ミトコンドリアに関しては、ミトコンドリアと他のオルガネラとの間の情報交換の基本原理解明を目指している。最終的には、これらの知見を基盤に生命の動作原理の本質を解明することを目指している。

研究紹介

1. 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 に依存したオートファジーと、私たちが発見した Atg5 非依存的オートファジー（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、異なる役割を担っている。私たちは、オートファジーが何を分解し、それによってどのような役割を果たしているかという点に着目して研究を進めている。今年度私たちは、従来型オートファジーならびに新規オートファジーに関わる分子である Beclin1 の表皮特異的欠損マウスの作成に成功した。このマウスは、生直後に皮膚の形成不全によって死亡する。この原因は、基底層から顆粒層への表皮細胞分化の異常によるものである。Beclin1 は Atg14 と結合してオートファジーの進行に寄与する他、UVRAG と結合して小胞輸送の調節にもかかわっている。そこで、表皮特異的 Atg14 欠損マウスを作成したところ、表皮形成に異

常は見られず、一方 UVRAG を表皮細胞で発現抑制すると表皮細胞に異常が生じることがわかった。即ち、Beclin1 は表皮細胞において、小胞輸送系を調節して正常な分化を促しているものと考えられた。本論文は、Beclin1 の小胞輸送制御に関わる生命現象を個体レベルで捕捉した最初の論文である。その他、同人化学と共同研究を行い、従来型オートファジーと新規オートファジーを共に認識できるケミカルプローブの開発に成功した。

2. 細胞死の解析

生体で起こる主な細胞死はアポトーシスであるが、近年の解析によって非アポトーシス細胞死の重要性が明らかにされつつある。当研究室では、これらに先駆けて、オートファジー細胞死やミトコンドリア経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、カスパーズの新たな基質分子としてミトコンドリアの内膜タンパク質 PARL を同定した。カスパーズは細胞質ならびに核内に存在するため、どのようにミトコンドリア内膜のタンパク質を切断するか疑問であったが、これらの解析を通して、ミトコンドリア内膜が細胞質に露出する可能性を見出した。また、この切断により、PARL の基質認識機構が障害され、Pink1 分子の切断不良からミトコンドリアがオートファジーによって除去される可能性を見いだした。

3. ミトコンドリア機能異常に基づく疾患の解析

ミトコンドリアは、代謝反応の中心として細胞の生存に寄与すると同時に、細胞死においても決定的な役割を果たしている。我々は、ミトコンドリアと他のオルガネラとの間の物質交換の場となるミトコンドリア膜に着目し、膜蛋白質の機能や構造、膜透過性システムを網羅的に解析したいと考えている。

現在は、ミトコンドリア局在分子に変異のある家族性パーキンソン病の解析を行っている。

ハイライト

1. Beclin1 は表皮の形成に必須の分子である。

Beclin1 の表皮特異的欠損マウスを作成したところ、このマウスは、生直後に皮膚の形成不全によって死亡した（図1）。この原因は、基底層から顆粒層への表皮細胞分化の異常によるものである（図2）。Beclin1 は Atg14 と結合してオートファジーの進行に寄与する他、UVRAG と結合して小胞輸送の調節にもかかわっている。そこで、表皮特異的 Atg14 欠損マウスを作成したところ、このマウスでは異常が見られなかった（図2）。このため、Beclin1 の表皮形成における重要性は、UVRAG と共同して機能する小胞輸送によるものであることが明らかとなった。さらに、リサイクリングエンドソームで運搬されるインテグリンの細胞内局在を観察したところ、通常は細胞の底面に見られるインテグリンが、Beclin1 欠損マウスでは細胞内に存在することが明らかとなった（図3）。これらの結果より、Beclin1 を介したリサイクリングエン



図1 表皮特異的 Beclin1 欠損マウスは、皮膚からの過剰な水分蒸発によって生直後に死亡する。

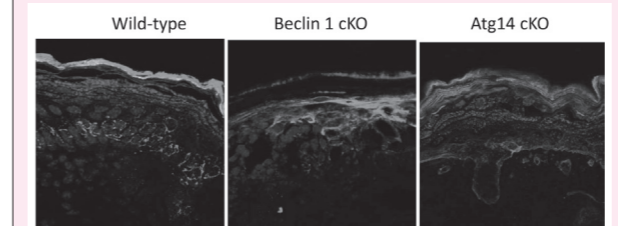


図2 表皮特異的 Beclin1 欠損マウスでは、本来基底層にしかないケラチン5（緑色）が、顆粒層などでも見られており、文化の異常が確認される。また、表皮形成に必要な Filaggrin（赤色）がほとんど形成されていない。一方、Beclin1 と協調してオートファジーに働く Atg14 欠損マウスでは、これらの異常は全く見られない。

ドソームの制御が、表皮の形成に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

2. アポトーシス時にミトコンドリア PARL が切断させる。

アポトーシスを最終的実行するのは、システインプロテアーゼであるカスパーズであり、約1000種類の基質を切断してアポトーシスを実行する。今回、ミトコンドリアの内膜タンパク質である PARL がカスパーズの基質であることを見出した。PARL はカスパーズの活性に伴って切断が進行する（図4A）。この切断部位は、膜間スペースに露出している基質認識領域に相当する（図4B）。このため、PARL の切断によって基質認識ができなくなる。

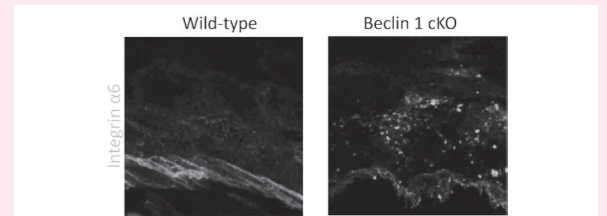


図3 表皮特異的 Beclin1 欠損マウスでは、本来細胞の底面に存在しているはずのインテグリンが顆粒層などの細胞内に存在しており、小胞輸送系、特にリサイクリングエンドソーム系の機能に破綻が生じていることが伺える。

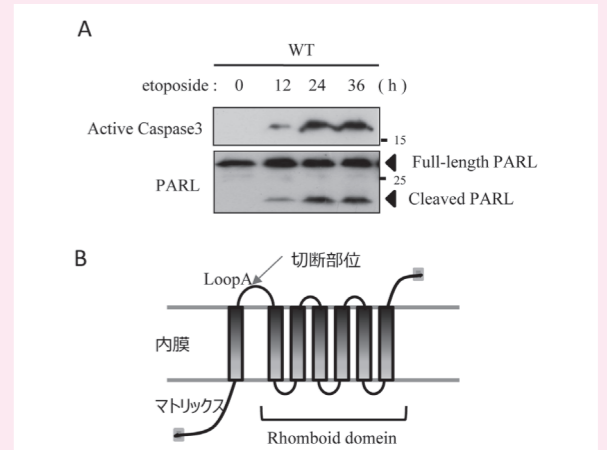


図4 PARL はカスパーズ3の活性化と並行して切断される(A)。切断部位は、ミトコンドリア膜間スペースに露出している loopA 部分である。この切断により、基質の認識ができなくなる。

人事異動

職名変更：山口啓史(プロジェクト助教から助教)、退職：藤掛伸宏(プロジェクト助教から)、吉田剛(学振特別研究員から)、転出：奥野暁(医学修士卒業)

研究業績

原著論文

1. Dnm1 regulates DNA damage-induced alter-

native autophagy. *M. Nagata, S. Arakawa, H. Yamaguchi, S. Torii, H. Endo, M. Tsujioka, S. Honda, Y. Nishida, A. Konishi, S. Shimizu. Cell Stress* 2: 55 - 65, 2018
 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. Role of Cyclooxygenase-2/Prostaglandin E2/Prostaglandin E Receptor 4 Signaling in Cardiac Reprogramming. *N. Muraoka, K. Nara, F. Tamura, H. Kojima, H. Yamakawa, T. Sadahiro,*

K. Miyamoto, M. Isomi, S. Haginiwa, H. Tani, S. Kurotsu, R. Osakabe, S. Torii, S. Shimizu, H. Okano, Y. Sugimoto, K. Fukuda, M. Ieda. Nature Commun. 10: article No. 674, 2019
 4. Beclin1 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* inpress 2019

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（5月～）
助教：宮村憲央（～4月退職、5月米国留学）、石原えりか（～4月特任助教、5月～）
特任助教：森ゆかり（4-5月連携研究員、6月～）
研究生：則信安里（4-9月、就職） 事務補佐員：田中和子

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を

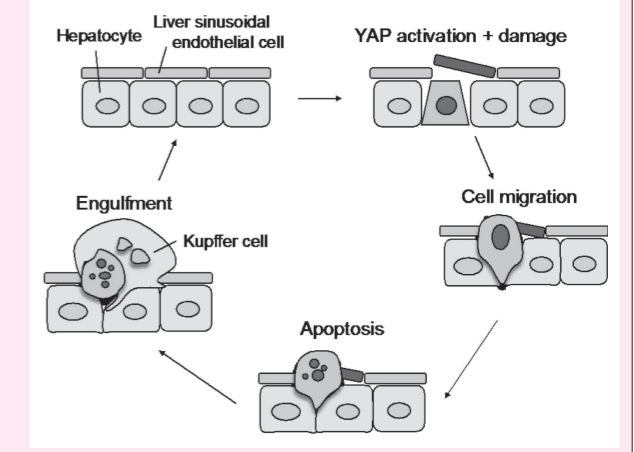
行うことができます。さらに、近年報告されたゲノム編集技術を用いて遺伝子改変個体の作出を簡便に行うことができます。我々は、これらゼブラフィッシュの特性を利用し、個体発生に伴う分子時計および概日リズムの形成機構の解明を目指しています。

ハイライト

肝臓が恒常性を維持する仕組みの解明

摂取された食べ物やアルコール、薬や有害物質などは消化管から取り込まれ、肝臓へ運ばれる。肝臓はこれら物質の代謝や解毒を担う生命維持に必須の器官である。肝臓の細胞はこうした生理機能上、常に様々なストレスにさらされている。ストレスは細胞の老化や損傷を誘導する。これら異常細胞は組織の機能不全や腫瘍形成の原因となるため、排除する必要がある。しかしながら、肝臓における異常細胞の排除機構については不明な点が多く残されている。我々は肝臓のサイズ制御に関する転写共役因子YAPが、障害された肝細胞の排除を誘導することを見出した (*Nat Commun*

2017)。YAPは肝細胞の数の制御に加えて、肝細胞の品質も制御することを明らかにした (*Cancers* 2018)。



人事異動

転入：須永沙智（博士課程入学）、石野匠（短期交流学生）
転出：平山順（准教授3月、公立小松大学教授）、YU Ruoxing（特任助教、3月）、宮村憲央（退職、5月～米国留学）

業績目録

- Erika Ishihara and Hiroshi Nishina (2018) The Hippo-YAP pathway regulates 3D organ formation and homeostasis. *Cancers* 2018, 10 (4), 122.
- Hiroki Goto, Miki Nishio, Yoko To, Tatsuya Oishi, Yosuke Miyachi, Tomohiko Maehama, Hiroshi Nishina, Haruhiko Akiyama, Tak Wah Mak, Yuma Makii, Taku Saito, Akihiro Yasoda, Noriyuki Tsumaki, and Akira Suzuki (2018) Loss of Mob1a/b in mice results in chondrodysplasia due to YAP1/TAZ-TEADs-dependent repression of SOX9. *Development* 145, dev159244.
- Asami Kawasaki, Masayasu Okada, Atsushi Tamada, Shujiro Okuda, Motohiro Nozumi, Yasuyuki Ito, Nozomu Yoshioka, Daiki

Kobayashi, Manabu Abe, Tokiwa Yamasaki, Ryo Yokoyama, Takeshi Shibata, Yutaka Yoshida, Yukihiko Fujii, Kenji Sakimura, Hiroshi Nishina, Kosei Takeuchi, and Michihiro Igarashi Growth cone phosphoproteomics reveals that GAP-43 phosphorylated by JNK is a marker of axon growth and regeneration. *iScience* 4, 190-203.

- Junichi Maruyama, Kazutoshi Inami, Fumiyoshi Michishita, Xinliang Jiang, Hiroaki Iwasa, Kentaro Nakagawa, Mari Ishigami-Yuasa, Hiroyuki Kagechika, Norio Miyamura, Jun Hirayama, Hiroshi Nishina, Daichi Nogawa, Kouhei Yamamoto, and Yutaka Hata (2018) Novel YAP1 Activator, Identified by Transcription-based Functional Screen, Limits Multiple Myeloma Growth. *Molecular Cancer Research* 16(2), 197-211.
- Yoko Shinagawa-Kobayashi, Kenya Kamimura, Ryo Goto, Kohei Ogawa, Ryosuke Inoue, Takeshi Yokoo, Norihiro Sakai, Takuro Nagoya, Akira Sakamaki, Satoshi Abe, Soichi Sugitani, Masahiko Yanagi, Koichi Fujisawa, Yoshizu Nozawa, Naoto Koyama, Hiroshi Nishina, Makoto Furutani-Seiki, Isao Sakaida, Shuji Terai (2018) Effect of histidine on sorafenib-induced vascular damage: Analysis us-

ing novel medaka fish model. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 496, 556-561.

- Ryosuke Inoue, Kenya Kamimura, Takuro Nagoya, Norihiro Sakai, Takeshi Yokoo, Ryo Goto, Kohei Ogawa, Yoko Shinagawa-Kobayashi, Yukari Watanabe-Mori, Akira Sakamaki, Satoshi Abe, Hiroteru Kamimura, Norio Miyamura, Hiroshi Nishina and Shuji Terai (2018) Effect of Neural Relay on Liver Regeneration in Mice: Activation of Serotonin Release from Gastrointestinal Tract. *FEBS Open Bio* 8, 449-460.
- Norio Miyamura and Hiroshi Nishina (2018) [review] YAP regulates liver size and function. *Cell Cycle* 17(3), 267-268.
- Norio Miyamura and Hiroshi Nishina (2018) [book] Molecular Mechanisms of Liver Development: Lessons from Animal Models. *Stem Cells and Cancer in Hepatology* (Yun-Wen Zheng, eds) pp1-20, Academic Press, London.

和文

宮村憲央、仁科博史：Hippo-YAPシグナル伝達経路による異常細胞の排除：生化学 90, 804-809 (2018)

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

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。ほ乳類の皮膚をモデルとして、とくに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とその分子基盤の解明と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成し、創薬、先制医療、再生医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生命を護っている。表皮、真皮、皮下脂肪層から成り、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。さらにCOL17A1が表皮幹細胞のマーカーとして良い指標となることも明らかにしている (Liu N, et al. Nature in press)。

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けて分化すると、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運命追跡を行なった。毛包幹細胞は加齢に遠な

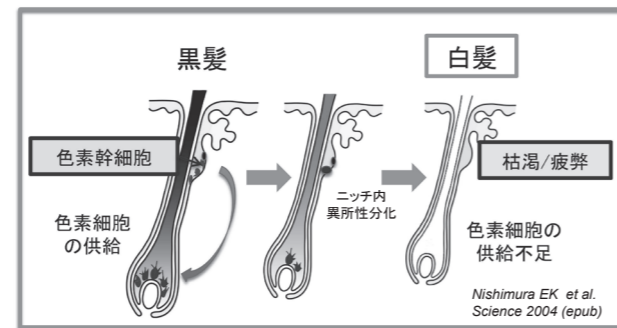


図1 加齢による色素幹細胞の枯渇/疲弊が色素細胞の不足による白髪を引き起こす

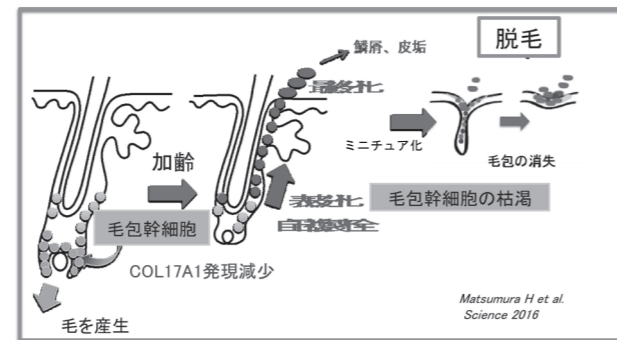


図2 加齢による毛包幹細胞の枯渇が毛包のミニチュア化と脱毛を引き起こす

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) 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)。幹細胞自身のなかにもどのような形で老化プログラムが書き込まれているのか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。表皮幹細胞クロンを多く失いながらも一部のクロ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。

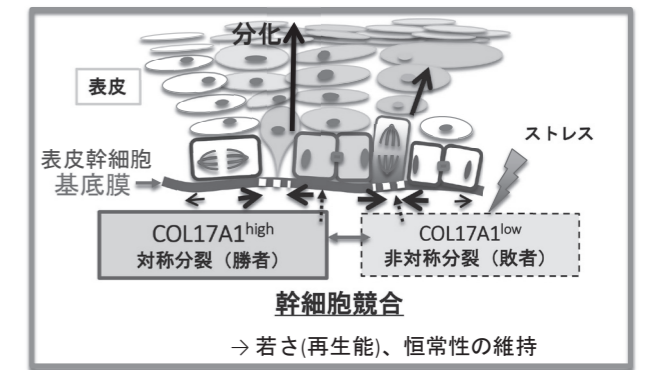


図3 表皮幹細胞の分裂と運動して起こる幹細胞競合皮膚の若さ(質)を維持する

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*, doi: 10.1038/s41586-019-1085-7. 2019 in press

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. *Commun Biol*. 2:37. 2019 doi: 10.1038/s42003-018-0279-0.

Sasaki M, Shinozaki S, Morinaga H, Kaneki M, Nishimura EK, Shimokado K. iNOS inhibits hair regeneration in obese diabetic (ob/ob) mice. *Biochem and Biophys Res Commun*. 501(4):893-897, 2018

国内学会招待講演

西村栄美：Cell fate determination in aging organs: stem cell aging vs cellular senescence: 第41回日本分子生物学会年会：(横浜：パシフィコ横浜) 2018年11月29-30日

西村栄美：毛包をモデルとした器官の再生と老化：NCGMRI Science Forum：(東京：国立研究開発法人国立国際医療研究センター) 2018年10月3日

西村栄美：幹細胞老化とメラノーマ：第77回日本癌学会総会：(大阪：大阪国際会議場・リーガロイヤル大阪) 2018年9月27-29日

西村栄美：哺乳類表皮における細胞競合と皮膚の恒常性維持：第91回日本生化学会大会：(京都：国立京都国際会館) 2018年9月24-26日

西村栄美：色素幹細胞と色素性疾患：北大皮膚科特別講演：(北海道：北大皮膚科医局) 2018年7月11日

西村栄美：毛髪の幹細胞と白髪・脱毛：第68回全国セミナー（日本毛髪科学協会）：(東京：京王プラザホテル) 2018年6月18日

西村栄美：毛包における幹細胞制御と老化のプログラム：第65回日本実験動物学会総会：(富山：富山県民会館) 2018年5月16-18日

国際学会招待講演

Emi K, Nishimura: Epidermal stem cell competition coupled with stem cell divisions in mammalian epidermis: 2019 Keystone Symposia Conference-Cell Competition in Development and Disease-(Tahoe City, USA) February 24-28th, 2019

Emi K, Nishimura: Melanocyte stem cells and melanoma: Montagna Symposium on the Biology of Skin: (Oregon, USA) August 19-24th, 2018

Emi K, Nishimura: Stem cell and niche dynamics in aging skin: Gordon Research Conferences-Issue niches and resident stem cells in adult epithelia: (New Hampshire, USA) August 19-24th, 2018

学内外教育活動

西村栄美：本学医学部医学科 細胞生物学 講義「幹細胞と分化」

西村栄美：本学大学院医歯学総合研究科修士課程 講義「毛包の組織幹細胞」

西村栄美：平成29年度東大医科研究大学院セミナー「皮膚および毛包の幹細胞、疾患と応用について」外部資金獲得状況

AMED 老化メカニズムの解明・制御プロジェクト (研究開発拠点/研究推進・支援拠点)

西村栄美 (分担) (H29年度 - H33年度) 「皮膚の局所性・全身性制御に着目した臓器老化原理の解明」

科学研究費補助金・基盤研究 S (継続) 西村栄美 (代表) (H26年度 - H30年度) 「幹細胞制御に着目した毛包の再生・老化ダイナミクスの解明から応用まで」

科学研究費補助金・新学術領域 (研究領域提案型: ステムセルエイジングから解明する疾患原理) (継続) 西村栄美 (代表) (H26年度 - H30年度) 各年度交付「色素幹細胞における老化ストレスと幹細胞の運命制御」

科学研究費補助金・基盤研究 C 西村栄美 (分担) (H30年度 - H32年度) 「NAUAK2を標的とした悪性黒色腫の分子標的治療開発」

科学研究費補助金・新学術領域 (研究領域提案型) (新規) 難波大輔 (代表) (H29年度 - H30年度) 「PI3K シグナルと幹細胞動態の階層的数理解析による自己組織化機構の解明」

科学研究費補助金・基盤研究 C (新規) 難波大輔 (代表) (H29年度 - H31年度) 「細胞動態解析による表皮再生原理の解明」

科学研究費補助金・基盤研究 C (新規) 難波大輔 (分担) (H29年度 - H31年度) 「瘢痕環境下における表皮角化幹細胞動態解析と創傷発生メカニズムの検討」

科学研究費補助金・基盤研究 B (新規) 難波大 (分担) (H29年度 - H31年度) 「細胞運動能を指標とした再生医療向け非侵襲的口腔粘膜上皮細胞評価システムの開発」

科学研究費補助金・新学術領域 (新規) 松村寛行 (代表) (H29年度 - H30年度) 「表皮基底細胞の細胞競合におけるヘミデスマソーム構成因子の役割の解明」

科学研究費補助金 (基金)・挑戦的研究 (萌芽) (新規) 松村寛行 (代表) (H29年度 - H30年度) 「皮膚発痛におけるヘミデスマソーム構成因子の役割の解明」

科学研究費補助金・若手研究 B (新規) 森永浩伸 (代表) (H29年度 - H32年度) 「毛包における幹細胞制御と環境要因」

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：Nazim Medhzidov
技術補佐員：大関史織、萩生田絵美 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抗体産生制御メカニズムの解明と免疫応答制御のための糖鎖修飾化合物の開発
- 4) Bリンパ球の活性化における活性酸素種および膜輸送の役割の解明
- 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

1. Bリンパ球の活性化に必要な活性酸素種 (ROS) の産生メカニズムの解明

活性酸素種 (ROS) は種々のストレスで発生し細胞に有害であるが、シグナル伝達分子として細胞の活性化に関わることもある。一般に、ROS産生の主なメカニズムとしてミトコンドリアにおける呼吸鎖とROSを産生する酵素NADPHオキシダーゼ (NOX) が知られている。B細胞抗原受容体 (BCR) 架橋の際のB細胞の活性化・増殖はROSスカベンジャーによってほぼ完全に阻害されることから、ROSはB細胞の活性化に必須である。そこで、BCR架橋の際のROS産生のメカニズムの解明を行った。その結果、BCR架橋の際のROS産生でNOX3が中心的な役割を果たすことが明らかとなった (Feng et al. 2019)。NOX3によるROS産生は、BCR架橋後数時間たつてから起こることから、NOX3

の機能解析によりこれまで解明されてこなかった受容体がリガンドを認識してから後期のシグナル伝達についての解明が進むものと期待される (ハイライト参照)。

2. 抑制性B細胞共受容体の内因性リガンドの役割の解明

Bリンパ球は、CD22 (Siglec-2としても知られる)、Siglec-10 (マウスではSiglec-G)、CD72、LILRB (マウスではPIR-B)、PECAM1 (CD31としても知られる)、FcγRIIBなどの多数の抑制性受容体が発現しており、これらはSHP-1やSHIP-1などのホスファターゼを活性化し、さらに、活性化したホスファターゼがBCRを介するシグナル伝達を抑制することでB細胞の活性化を抑制する。これらの抑制性共受容体の大部分はチロシンホスファターゼSHP-1を活性化する。一方、抑制性共受容体欠損マウスでのB細胞異常は、欠損する受容体により大きく異なる。

BCRは抗原との反応によりシグナルを伝達し、B細胞を活性化する。一方、抗原と反応しない状態でもBCRは低レベルのシグナルを産生し、B細胞の生存を誘導し、分化を制御する。このような抗原非依存的な低レベルのBCRシグナル伝達は、トニックシグナルと呼ばれる。B細胞特異的なSHP-1欠損マウスやCD22欠損マウスでは、トニックシグナルが高い場合の異常を示す。CD22はα2,6シアル酸をリガンドとして認識し、同じ細胞表面上のα2,6シアル酸を含む膜分子と会合する。我々は、α2,6シアル酸を欠損するマウスでもCD22欠損マウスと同様のB細胞分化異常が起こること、また、CD22とα2,6シアル酸の反応を阻害する合成シアロシドが無刺激B細胞の細胞内Ca²⁺レベルを上昇させることから、CD22と内因性のリガンドとの反応が、通常のB細胞のトニックシグナルを抑制することでB細胞の正常な分化を保っていることが明らかになった。さらに、Proximity labeling法を用いて、BCRそのものがCD22の内因性リガンドの1つであることを明らかにした (Alborzian Deh Sheikh et al. 2018)。これらの結果から、CD22がBCRを内因性リガンドとして認識し、BCRと恒常的に会合することで、BCRを介するトニックシグナルを抑制し、正常なB細胞分化を誘導することが明

らかとなった。この知見は、内因性リガンド認識が多様な抑制性B細胞共受容体の機能を決定することを示し

ている (Tsubata, Front Immunol. 2018)。

ハイライト

B細胞抗原受容体介した持続性シグナル伝達は活性酸素種 (ROS) を必要とし、B細胞の活性化に必須である。

活性酸素種 (ROS) は種々のストレスで発生し細胞に有害であるが、シグナル伝達分子として細胞の活性化に関わることもある。B細胞の抗原受容体 (BCR) を架橋するとB細胞の活性化・増殖が起こるが、この際に活性酸素種 (ROS) の二相性の産生が起こる。まず、BCR架橋後に速やかにROS産生が起こり、1時間以内に終了する。ついで、BCR架橋2時間から8時間の間に持続的なROS産生が起こる。初期のROS産生は、ROSを産生する酵素NADPHオキシダーゼの1つNOX2によって担われるが、B細胞の活性化には不要である。一方、我々は、持続的に産生されるROSをROSスカベンジャーにより不活化すると、NF-κBやPI-3K経路の持続的な活性化が减弱し、B細胞の増殖がほぼ完全に抑制されることを示した。さらに、CRISPR/Cas9システムを用いてB細胞株BAL17でNOX3を欠損させると持続的なROS産生が顕著に低下した。一方、NOX1を欠損してもROS産生には影響はなかった。これらの知見から、BCR架橋後2時間以降にNOX3が活性化され、NOX3が

産生したROSが持続的なBCRシグナル伝達、とりわけNF-κBおよびPI-3K経路の活性化を増強し、B細胞の活性化・増殖が誘導されることが明らかとなった (図)。この結果は、BCRシグナル伝達におけるNADPHオキシダーゼ由来のROSの重要性を明らかにするとともに、BCR架橋数時間後の持続的なシグナル伝達の重要性を明らかにしたものである。ROSはホスファターゼを不活化することでシグナル伝達を増強することが知られている。今後、BCRシグナル伝達でNOX3が産生したROSがどのホスファターゼを不活化してB細胞の活性化を誘導するのか、また、ROSが免疫応答の際のB細胞の活性化においてどのような役割を果たすのかを明らかにする必要がある。

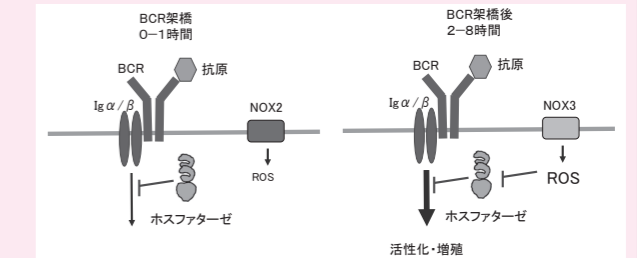


図 B細胞の活性化におけるNOXによるROS産生の役割
BCRが架橋されると、初期にはNOX2によるROS産生が起こるが、このROS産生はB細胞の活性化を増強しない。その後NOX3産生による多量のROS産生が持続的に起こる。持続的なROS産生は、ホスファターゼの不活化などによりBCRシグナル伝達を増強し、B細胞の活性化・増殖を誘導する。

人事異動

転入：西田響子 (大学院博士課程)、安部有紀 (大学院博士課程)、Long Wang (大学院博士課程)、Li Xuexin (大学院博士課程)、Yang Hongrui (大学院博士課程)、加藤秋生 (大学院修士課程)、鈴木雅人 (大学院研究生)、崔 楊 (大学院研究生)、國武慎治 (短期交流学生)、大関史織 (技術補佐員)、萩生田絵美 (技術補佐員)
転出：淀澤天斗 (技術補佐員)、堀田淑坤 (技術補佐員)、森 啓洋 (技術補佐員)

業績目録

原著論文

1. Tsubata, T. (2018): Negative regulation of B cell responses and self-tolerance to RNA-related lupus self-antigen. Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci. 94: 35-44.
2. Alborzian Deh Sheikh, A., Akatsu, C., Imamura, A., Abdu-Allah, H. H. M., Takematsu, H., Ando, H., Ishida, H. and Tsubata, T. (2018): Proximity labeling of cis-ligands of CD22/Siglec-2 reveals stepwise α2,6 sialic acid-dependent and -independent interactions. Biochem. Biophys. Res. Comm. 495: 854-859.
3. Liu, J., Zhu, H., Qian, J., Xiong, E., Zhang, L., Chu, Y., Kubagawa, H., Tsubata, T. and Wang, J.-Y. (2018): FcμR promotes the survival and activation of marginal zone B cells and protects mice against bacterial sepsis. Front. Immunol. 9: 160.

4. Matsubara, N., Imamura, A., Yonemizu, T., Akatsu, C., Yang, H., Ueki, A., Watanabe, N., Abdu-Allah, H., Numoto, N., Takematsu, H., Kitazume, S., Tedder, T. F., Marth, J. D., Ito, N., Ando, H., Ishida, H., Kiso, M. and Tsubata, T. (2018): CD22-binding synthetic sialosides regulate B lymphocyte proliferation through CD22 ligand-dependent and independent pathways, and enhance antibody production in mice. Front. Immunol. 9: 820.
5. Li, S., Liu, J., Min, Q., Ikawa, T., Yasuda, S., Yang, Y., Wang, Y.-Q., Tsubata, T., Zhao, Y. and Wang, J.-Y. (2018): Kelch-like protein 14 promotes B-1a but suppresses B-1b cell development. Int. Immunol. 30: 311-318.
6. Lino, A. C., Dang, V. D., Lampropoulou, V., Welle, A., Joedicke, J., Pohar, J., Simon, Q., Thalmens, J., Baures, A., Fluehler, V., Sakwa, I., Stervbo, U., Ries, S., Jouneau, L., Boudinot, P., Tsubata, T., Adachi, T., Hutloff, A., Doener, T., Zimmer-Strobl, U., de Vos, A. F., Dahlke, K., Loh, G., Komiotis, S., Goosmann, C., Weill, J.-C., Raynaud, C.-A., Kaufmann, S. H. E., Walter, J. and Fillatreau, S. (2018): LAG-3 expression identifies immunosuppressive natural regulatory plasma cells. Immunity 49: 120-133.
7. Tsubata, T. (2018): Ligand recognition determines the role of inhibitory B cell co-receptors in the regulation of B cell homeostasis and autoimmunity. Front Immunol. 9: 2276
8. 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

9. Tsubata, T. (2019): Development of Siglec Regulators. In "Glycoscience: Basic Science to Application" ed. by Naoyuki Taniguchi, Tamao Endo, Jun Hirabayashi and Shoko Nishihara, Springer (in press).
10. 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. (in press).
11. 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. (in press).

総説・著書

- 鏑田武志 (2018) : グライコメティックスーシグレック制御剤、未来を創るグライコサイエンス-我が国のロードマップ (日本糖鎖科学コンソーシアム編) pp.43-44
- 鏑田武志 (2018) : 「自然免疫の最前線」TLR7による自己核酸への応答とそのCD72による制御、医学のあゆみ 265: 1179-1184
- 鏑田武志 (2019) : 抑制性レセプター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 印刷中

難治病態研究部門 分子病態分野

教授：木村彰方 准教授：林 文晴
助教：安 健博 プロジェクト助教：成瀬妙子

研究内容

概略

ヒト疾患の病因および病態形成には多かれ少なかれ遺伝学的な要因すなわちヒトゲノムの変異ないし多型に象徴されるゲノム機能の多様性が関与する。疾患の発症がほぼ遺伝的要因のみで規定されるものが単因子病であり、環境要因と遺伝的要因の両者が関与すること疾患を多因子病と呼ぶ。分子病態分野では、単因子病、多因子病を問わず、病因が不明ないし病因は判明しても病態形成機構が解明されていないために有効な診断、治療、予防法が確立されていない難病に焦点をあて、それぞれの病因や病態形成に関わるゲノム多様性の同定とその機能的意義の解明を目指している。現在の主な対象疾患は、特発性心筋症、心筋梗塞、高安病などの心血管系疾患と、HIV/AIDS、自己免疫疾患などを含むウイルス・免疫系疾患である。

研究紹介

1. 特発性心筋症の病因究明

全国の臨床医学研究者との共同で心筋症例について既知の原因遺伝子における変異検索を実施しており、ユニークな臨床病態を呈した症例を報告した (Harada, et al. J Hum Genet 63: 249, 2018, Tsuji, et al. Ped Int 60: 85, 2018)。一方、既知の 67 原因遺伝子の全エクソンにおける体系的な変異検索法を開発し、これを用いて小児期発症肥大型心筋症 (Hayashi et al. J Hum Genet 63: 989, 2018) や心室中隔中部の著明な肥大を呈する mid-ventricular obstruction 型の肥大型心筋症 (Inagaki et al. J Hum Genet 63: 1273, 2018) の網羅的遺伝子解析を実施した。その結果、前者においては成人症例よりも高率 (約 80%) に変異が同定されること、約 1/3 が de novo 変異例であること、1/3 が重複変異例であることが明らかとなった。これに対して、後者では、通常の肥大型心筋症とは異なり、サルコメア変異例は少ないことが判明した。これとは別に、ミオシン脱リン酸化酵素 PP1M の抑制サブユニットである M21 を発現するトランスジェニックマウス (高発現 2 系統、低発現 1 系統) を作製し、高発現系統は肥大型心筋症様の病態を示すが、ROCK 阻害剤で病態進行を予防できること、心肥大が

発現しない低発現系統でも種々の心肥大マーカー遺伝子の発現が増強しているため、心肥大発現とマーカー遺伝子発現には乖離があることなどが判明した (Arimura, et al. Am J Physiol Heart Circ Physiol 314: H1192, 2018)。また、RNA 代謝経路が Ayc7 依存性アポトーシスを介して心機能維持に関わることを見出した (Yamaguchi et al. Sci Signal 11: eaan3638, 2018)。さらに、拡張型心筋症の原因であるスプライシング制御因子である RBM20 変異がもたらす機能異常を検討した。その結果、患者集団で多くの変異が検出される領域 (RSRSP 領域) のセリン残基のリン酸化が RBM20 の核内移行に必須であることを細胞レベルで、この領域に変異を導入したマウスがタイチンのスプライシング異常を来すことを in vivo で明らかにした (Maruyama et al. Sci Rep 8: 8970, 2018)。また、RBM20 変異がスプライシング異常を介して拡張型心筋症を来すメカニズムに関する総説を発表した (Watanabe et al. Front Mol Biosci 5: 105, 2018)。

2. 動脈硬化症と炎症性腸疾患の共通病態

患者集団と一般集団における網羅的ゲノム解析から動脈硬化関連遺伝子であることを明らかにした MKL1 遺伝子の高発現マウス (MKL1-Tg) を作製し、動脈硬化病態を検討している。

3. 高安病関連遺伝子の探索

高安病は大動脈に原因不明の炎症が生じる疾患であり、HLA との関連が以前から知られている。HLA 以外の疾患関連遺伝子を探索するための共同研究に参加し、6 か所の新たな疾患遺伝子座を同定した。とくに、パスウェイ解析から NK 細胞機能が高安病の病態形成に関わることが判明した (Terao et al. Proc Natl Acad Sci USA 115: 13045, 2018)。

4. HLA 領域と HIV 感染との関連

ベトナムの患者集団についての HLA 多様性および HIV 変異を検討することで、特定の HLA 型とエスケーブ変異の対応を明らかにした (Takahashi, et al. Microb Inf 4579: 30163-1, 2018)。これとは別に、HLA 領域内の

NFKBIL1 による選択的スプライシング制御と HIV 感染との関連を検討した。

5. サル MHC および MHC 様領域の解析

アカゲザルおよびカニクイザルを対象として次世代シーケンサーを用いた MHC クラス I 遺伝子タイピングシステムを開発している。また、NK レセプターのリガ

ンドである MHC 様分子 (ULBP5) のゲノム多様性を進化的観点から検討し、旧世界ザルでは ULBP5 が重複していること、NK レセプターとのコンタクトサイトに多型が存在することに加えて、自己免疫性脱毛に関連する ULBP6 はヒトが高等霊長類と分岐した後に生じたことが示唆された (Naruse et al. Proc Jpn Acad Ser Bi 94: 441, 2018)。

ハイライト

肥大型心筋症の原因変異は心筋収縮のカルシウム感受性の亢進をもたらすが、カルシウム感受性亢進がいかなるメカニズムで病態形成に至るかは不明である。そこで、ミオシン脱リン酸化酵素 PP1M の抑制サブユニット M21 を心筋特異的に高発現するトランスジェニックマウス 2 系統を樹立したところ、いずれも心筋収縮のカルシウム感受性が亢進していることが確認された。また、これらのマウスで、心筋細胞肥大や錯綜配列が出現すること、経過に伴って心室拡大と心機能低下を来し、拡張相肥大型心筋症病態に至ること、拡張相に至る前から不整脈を発症することを見出した。これらはヒト肥大型心筋症の病態に酷似しているため、心筋のカルシウム感受性亢進が肥大型心筋症の病態をもたらす直接の原因であることが強く示唆された。さらに、ROCK 阻害剤の投与によって肥大型心筋症の病態進行を抑制するが、不整脈発症には影響しなかったことから、心筋収縮機能異常と伝導障害は異なる

分子機序によることが示唆された。加えて、心機能異常が発現する以前の心筋における遺伝子発現を網羅的に解析することで、リモデリング関連遺伝子の発現異常は、病態発現とは相関しないことが明らかとなった。今後、心筋のカルシウム感受性制御を標的とした心筋症病態の新たな治療戦略の開発が期待される。

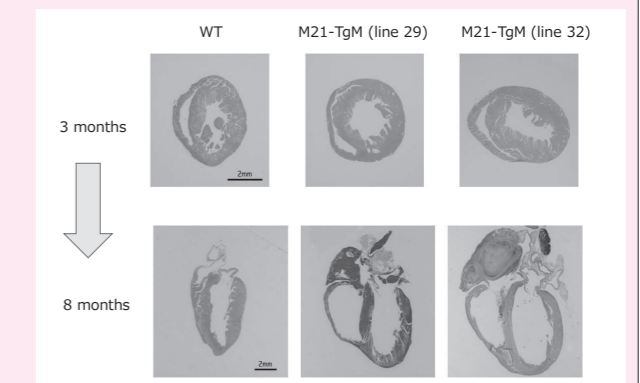


図 M21 高発現マウスは拡張相肥大型心筋症の病態を呈するヒト M21 を心筋特異的に高発現するトランスジェニックマウス 2 系統 (line 29 および line 32) は、3 ヶ月齢では形態的な異常はないが、8 ヶ月齢では心収縮機能が低下し、心室が著明に拡大する。

人事異動

転出：4月に准教授の林文晴が退職。
転入：6月に実験補助者の橋野一美、9月に実験補助者の谷口久美子が研究に参加。

業績目録

1. Harada H, #Hayashi T, Nishi H, Kusaba K, Koga Y, Koga Y, Nonaka I, *Kimura A. Phenotypic expression of a novel desmin gene mutation: hypertrophic cardiomyopathy followed by systemic myopathy. J Hum Genet 2018; 63 (2): 249-254.
2. Tsujii N, Hayashi T, Hayashi T, Kimura A, Nishikubo T. Barth syndrome associated with triple mutation. Pediatr Int 2018; 60(4): 385-387.
3. Yamaguchi T, Suzuki T, Sato T, Takahashi A, Watanabe H, Kadowaki A, Natsu M, Inagaki H, Arakawa S, Nakaoka S, Koizumi Y, Seki S, Adachi S, Fukao A, Fujiwara T, Natsume T, Kimura A, Komatsu M, Shimizu S, Ito H, Suzuki Y, Penninger JM, Yamamoto T, Imai Y, Kuba K. The CCR4-NOT deadenylase complex controls Atg7-dependent cell death and heart function. Sci Signal 2018; 11(516): eaan3638.
4. Arimura T, Muchir A, Kuwahara M, Morimoto S, Ishikawa T, Nakao S, Machida N, Tanaka R, Yamane Y, Hayashi T, Kimura A. Overexpression of heart-specific small subunit of myosin light chain phosphatase results in heart failure and conduction disturbance. Am J Physiol-Heart Circ Physiol, 2018; 314 (6):H1192-H1202.
5. Murayama R, Kimura K, Togo-Ohno M, Yamasaki-Kato Y, Naruse TK, Yamamoto T, Hayashi T, Ai T, Vatta M, Iizuka M, Saito M, Wani S, Hiraoka Y, *Kimura A, *Kuroyanagi H. Phosphorylation of the RSRSP stretch is critical for splicing regulation by RNA-Binding Motif Protein 20(RBM20) through nuclear localization. Sci Rep 2018; 8: 8970
6. Hayashi T, Tanimoto K, Yamada K, Tsuda E, Ayusawa M, Nunoda S, Hosaki A, *Kimura A. Genetic background of Japanese patients with pediatric hypertrophic and restrictive cardiomyopathy. J Hum Genet 2018; 63(9): 989-996.
7. Inagaki N, Hayashi T, Takei Y, Tanimoto K, Chikamori T, Kimura A. Clinical and genetic background of hypertrophic cardiomyopathy with midventricular obstruction. J Hum Genet 2018; 63(12): 1273-1276.
8. Takahashi N, Matsuoka S, Minh TTT, Ba HP, Naruse TK, Kimura A, Shiino T, Kawana-Tachikawa A, Ishikawa K, Matano T, Thi LAN,

- Human leukocyte antigen-associated gag and nef polymorphisms in HIV-1 subtype A/E-infected individuals in Vietnam. Microb Inf, 2018; S1286-4579(18): 30163-1
9. Terao C, Yoshifuji H, Matsumura T, Naruse T, Ishii T, Nakaoka Y, Kirino Y, Matsuo K, Origuchi T, Shimizu M, Maejima Y, Amiya E, Tamura N, Kawaguchi T, Takahashi M, Setoh K, Ohmura K, Watanabe R, Horita T, Atsumi T, Matsukura M, Miyata T, Kochi Y, Suda T, Tanemoto K, Meguro A, Okada Y, Ogimoto A, Yamamoto M, Takahashi H, Nakayamada S, Saito K, Kuwana M, Mizuki N, Tabara Y, Ueda A, Komuro I, Kimura A, Isobe M, Mimori T, Matsuda F. Novel genetic determinants and an epistasis of LILRA3 and HLA-B*52 in Takayasu arteritis. Proc Natl Acad Sci U S A. 2018; 115 (51): 13045-13050.
 10. Naruse TK, Akari H, Matano T, Kimura A. Diversity of ULBP5 in the Old World monkey and divergence of ULBP gene family in primates. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci. 2018; 94(10): 441-453.
 11. Watanabe T, Kimura A, Kuroyanagi H. Alternative splicing regulator RBM20 in cardiomyopathy. Front Mol Biosci 2018; 5:105.

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、罹りリスクなど、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、その成果を以って未来医療に貢献する。

【分子細胞遺伝】

1. 癌のゲノム・エピゲノム解析によりマイクロRNA (*miRNA*) を含む癌関連遺伝子を同定し病態形成機構を明らかにするとともに、*miR-3140* など治療標的や悪性特性判定バイオマーカーの候補の複数を同定した。
2. がん抑制型 *miRNA* を標的とした核酸創薬研究を推進し、*miR-634* が食道扁平上皮がん等の治療の候補核酸であることのPOCを得た。
3. 卵巣癌細胞株を用いた解析から、細胞生存に必須な栄養源アミノ酸は各癌細胞によって異なることを明らかにした。これにより、細胞外グルタミン枯渇による新たな卵巣癌個別化治療法の可能性を示した。
4. 先天異常症、発達障害、精神発達遅滞症の645例のゲノム解析を行い155例(24.0%)において疾患原因となるCNVを同定した。さらにCNV陰性症例の105症例を対象に75個の候補遺伝子パネル解析を行い、19%(20/105)に病因性変異を同定した。

【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. 臓器特異的な転移を促す因子として、エクソソームに着目し、がん細胞の遺伝子変異特異的にエクソソームが特異性を持って転移先の臓器に取り込まれる可能性を示した。

【分子疫学】

1. 胎児期の子宮内環境が出生後の仔獣の代謝応答に影響を及ぼすことを、DOHaDモデルマウスを用いた実験により研究を進めている。
2. 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。

【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. X染色体不活性化に関わる新しい遺伝子としてlncRNAである*Ftx*を同定した。これはX染色体不活性化の維持に重要であり、メスだけに特異的な表現型が観察される。

【ゲノム病理学】

1. 胃がん組織における腫瘍浸潤リンパ球の免疫ゲノミクス解析を行い、硫酸化グリコサミノグリカンが、がん組織における主要ながん免疫抗原であることを明らかにした。また、免疫ゲノミクス解析により抗腫瘍活性を持つ抗体を作成することに成功した。
2. 人工知能技術の一つであるディープラーニングを用いて、病理組織画像の類似症例検索システムを構築を試みている。
3. 癌のXenograftモデルを用いて並列型シーケンサーによる癌-間質間相互作用の網羅的プロファイルを行う独自技術を用いて、臨床腫瘍組織を直接免疫不全マウスに移植したPatient-Derived-Xenograft(PDX)の解析を行っている。

【医科学数理分野】

1. ゲノムワイド関連解析とその他のオミクスデータを統合する新しい手法を開発し、これによって、従来のゲノムワイド関連解析のデータから新しい発見が得られる方法論が確立されました。それを用い、人のゲノムワイド関連解析データとマウスモデルのトランスクリプトームデータを統合した結果、新しいアルツハイマー原因遺伝子候補が見出され、それらは別の患者の海馬での発現や、eQTL解析によって妥当性の検証をすることができました。
2. 次世代シーケンサーデータの解析手法の一つとして、中間サイズの配列の挿入や欠失を精度よく検出することを、BWAソフトクリップ断片と参照配列にマップされないリードを集めることによって実現する方法を開発しました。このような方法によって、全ゲノム解析そのものや表現型に関わる多様性の検出に関し、これまで解析しつづけなかった部分まで探索することができます。

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 講師：井上 純 助教：玄 泰行、村松智輝
特任助教：Daniela Tiaki Uehara

研究内容

ゲノム情報を基盤に疾患の新しい診断、治療、予防法の開発、ならびに基礎研究で得られた成果を臨床医学に展開する「トランスレーションリサーチ」に多大な期待が寄せられている。私たちは、ゲノム構造変化、エピゲノム遺伝子制御機構、体系的遺伝子発現解析など統合的ゲノム解析研究を推進し、癌や遺伝疾患の原因遺伝子探索と病態の解明、さらにこれら難治疾患における画期的な診断、治療、予防法の開発を目指している。

研究紹介

1. 癌病態の統合的理解に基づく個別化医療推進基盤の確立

①循環腫瘍細胞 (CTC) 由来癌細胞株を用いたがん転移分子機構の解明

癌の血行性遠隔転移は、原発腫瘍塊から血管に浸潤した循環腫瘍細胞 (Circulating Tumor Cell: CTC) によって引き起こされる。しかし、ほとんどのCTCは血液循環の中でanoikis(細胞接着不全に起因するアポトーシス)を起す。そのため、生存するCTCは、高い悪性形質を持つ細胞と考えられる。膵臓癌細胞株Panc-1の皮下移植担癌マウスの血液中から、CTC亜株(Panc-1-CTC)を樹立した。Panc-1-CTCは、親株のPanc-1(Panc-1-P)よりも*in vitro*で高い移動・浸潤能を有し、*in vivo*において高い腫瘍形成能を示した。網羅的遺伝子発現アレイ解析の結果、Panc-1-Pと比し、Panc-1-CTCにおいてtransforming growth factor beta-induced (TGFB1)の有意な発現上昇が見出された。TGFB1は、細胞接着に関与する分子であるが、その機能の詳細は未だ不明な点が多い。本研究において、我々は、TGFB1の発現抑制により細胞の移動・浸潤能が低下すること、一方でTGFB1の過剰発現が細胞の移動・浸潤能を亢進させることを明らかにした。また、膵臓癌臨床検体の免疫組織化学染色において、癌部周囲でTGFB1が強陽性を示す症例は予後不良であった。以上より、TGFB1は膵臓癌の治療標的分子ならびに新規予後予測バイオマーカーとなる可能性が示唆された(Sato T et al. Cancer Sci. 2018)。

②細胞内代謝活性を指標とした癌の個別化医療の確立

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、代謝特性を基盤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。その結果、①抗癌剤抵抗性に寄与するオートファジー、レドックス、抗アポトーシス作用を標的とするマイクロRNAを用いた核酸抗癌薬の開発のための分子基盤を確立した。さらに、②卵巣癌細胞株を用いた解析から、細胞生存に必須な栄養源アミノ酸は、各癌細胞によって異なることを明らかにし、グルタミン合成酵素の有無を指標に細胞外グルタミン枯渇による新たな卵巣癌個別化治療法の可能性を示した(ハイライト参照)(Furusawa et al. Carcinogenesis 2018)。

③癌関連マイクロRNAの探索

1090種類のマイクロRNAライブラリーを用いて、細胞増殖抑制を指標とした機能的スクリーニングを行い、強力な抗腫瘍効果をもつマイクロRNAとして*miR-3140*を同定した。*miR-3140*が*MYC*など癌遺伝子の転写を促進する*BRD4*のコーディング領域(CDS)を、増殖を促進する*EGFR*、*CDK2*の3'UTR領域を標的に、これらの遺伝子発現を抑制することを明らかにした。その結果、*in vitro*において*miR-3140*は病型を超えて多種の癌細胞の増殖を抑制し、さらにマウス皮下移植モデルにおいて、*in vivo*抗腫瘍効果を示した。また、*miR-3140*は*BRD4-NUT*融合遺伝子がドライバーとなる希少・難治性癌のNUT正中線癌において、*BRD4-NUT*融合遺伝子を抑制することで抗腫瘍効果を発揮した。以上よりマイクロRNA核酸抗癌薬のシーズとして*miR-3140*の可能性が示された(Tonouchi et al. Sci Rep 2018)。

2. マイクロRNAを用いた核酸抗癌薬の開発

関連企業・研究者とのオープンイノベーション体制のもと、合成2本鎖マイクロRNAを用いた核酸抗癌薬の開発に取り組んだ。具体的には、様々な癌種の担癌モデルにおいて、種々のドラッグデリバリーシステム(DDS)を利用した合成2本鎖マイクロRNA核酸製剤の抗腫瘍効果を検討した。さらに合成2本鎖マイクロRNAの化学修飾の最適化や中動物(伴侶犬)での効果安全性試験に着手した。これらの取り組みは、核酸創薬を基盤とした新たな癌治療戦略の開発につながる事が期待される。

3. 遺伝性疾患のゲノム解析

発達遅滞や多発奇形を合併する先天異常症は全人口の2-3%に存在する難治性疾患である。遺伝学的異質性によりその診断は容易でなく、診断未確定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)において病因性CNVを検出した(Hayashi et al. J Hum Genet 2011; Uehara et al. J Hum Genet.

ハイライト

卵巣癌は、早期発見が困難なため、進行がんが発見されることが多く、予後が不良である。一方、癌細胞は、細胞増殖・生存において、細胞外中(血中または培養液中)の特定のアミノ酸に要求性が高いことが知られている。本研究において、卵巣癌細胞株の生存に必須なアミノ酸の種類は、各癌細胞により異なること、そして、細胞外グルタミンに要求性の高い卵巣癌細胞株では、グルタミン合成酵素(glutamine synthetase: GS)の発現が低下していることを明らかにした。さらに、卵巣癌症例の約14%において、GSの発現低下が認められた。また、GSの発現が低い卵巣癌細胞は、血中(または培地中)のグルタミンレベルを低下させる製剤であるL-アスパラギナーゼ(L-asparaginase; L-asp)による処理、またはグルタミントランスポーターの阻害処理に対して、高い感受性を示した。GSの発現が低下している癌細胞は、細胞外のグルタミンに依存して、腫瘍形成・

業績目録

原著論文

1. Tanikawa C, Kamatani Y, Toyoshima O, Sakamoto H, Ito H, Takahashi A, Momozawa Y, Hirata M, Fuse N, Takai-Igarashi T, Shimizu A, Sasaki M, Yamaji T, Sawada N, Iwasaki M, Tsugane S, Naito M, Hishida A, Wakai K, Furusawa N, Murakami Y, Nakamura Y, Imoto I, Inazawa J, Oze I, Sato N, Tanioka F, Sugimura H, Hirose H, Yoshida T, Matsuo K, Michiaki K, Matsuda K: GWAS identifies gastric cancer susceptibility loci at 12q24.11-12 and 20q11.21. Cancer Science. 109:4015-4024. 2018
2. Taku Sato, Tomoki Muramatsu, Minoru Tanabe, Johji Inazawa. Identification and characterization of TGFB1 in circulating tumor cell subline from pancreatic cancer cell line. Cancer Science. 109:3623-3633. 2018
3. Furusawa A, Miyamoto M, Takano M, Tsuda H, Song YS, Aoki D, Miyasaka N, Inazawa J, Inoue J. Ovarian cancer therapeutic potential of glutamine depletion based on GS expression. Carcinogenesis. 39:758-766. 2018
4. Tonouchi E, Gen Y, Muramatsu T, Hiramoto H, Tanimoto K, Inoue J, Inazawa J. miR-3140 suppresses tumor cell growth by targeting BRD4 via its coding sequence and downregulates the BRD4-

- NUT fusion oncoprotein. Sci Rep. 8:4482. 2018
5. Tanikawa C, Kamatani Y, Takahashi A, Momozawa Y, Leveque K, Nagayama S, Mimori K, Mori M, Ishii H, Inazawa J, Yasuda J, Tsuboi A, Shimizu A, Sasaki M, Yamaji T, Sawada N, Iwasaki M, Tsugane S, Naito M, Wakai K, Koyama T, Takezaki T, Yuji K, Murakami Y, Nakamura Y, Kubo M, Matsuda K. GWAS Identifies Two Novel Colorectal Cancer Loci at 16q24.1 and 20q13.12. Carcinogenesis. 39:652-660. 2018
6. Kanai Y, Nishihara H, Miyagi Y, Tsuruyama T, Taguchi K, Katoh H, Takeuchi T, Gotoh M, Kuramoto J, Arai E, Ojima H, Shibuya A, Yoshida T, Akahane T, Kasajima R, Morita KI, Inazawa J, Sasaki T, Fukayama M, Oda Y: The Japanese Society of Pathology Guidelines on the handling of pathological tissue samples for genomic research: Standard operating procedures based on empirical analyses. Pathol Int. 68:63-90. 2018
7. Urayama KY, Takagi M, Kawaguchi T, Matsuo K, Tanaka Y, Ayukawa Y, Arakawa Y, Hasegawa D, Yuza Y, Kaneko T, Noguchi Y, Taneyama Y, Ota S, Inukai T, Yanagimachi M, Keino D, Koike K, Toyama D, Nakazawa Y, Kurosawa H, Nakamura K, Moriwaki K, Goto H, Sekinaka Y, Morita D, Kato M, Takita J, Tanaka T, Inazawa J, Koh K, Ishida Y, Ohara A, Mizutani S, Matsuda F, Manabe A: Regional evaluation of

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)に病因性点変異を検出した。これらの取組の中で、小脳脳幹部低形成を伴う小頭症(MICPCH)において、CASK異常症を見出したが、これをきっかけに本邦のMICPCH患者41例の収集し詳細なゲノム解析を行い、37例(90.2%)に疾患原因または候補となるゲノム異常を同定し、包括的に病態を明らかにした(Hayashi et al. PloS One 2017)。

悪性化していると考えられる。従って、GSの発現低下を有する腫瘍に対しては、細胞外のグルタミンを枯渇させる治療戦略が有用になる。本研究成果は、GSの発現の有無を指標として、細胞外グルタミンを枯渇させることによる卵巣癌の個別化治療法の開発につながる事が期待される(Furusawa et al. Carcinogenesis 2018)。

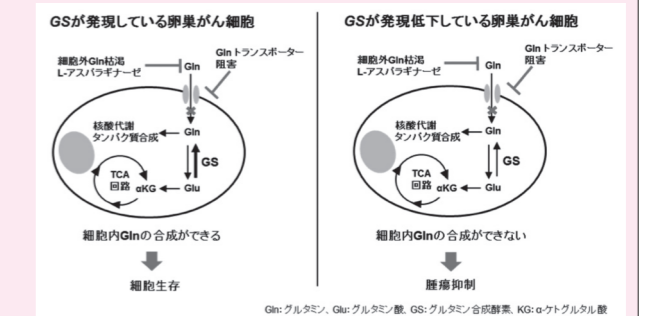


図 GS発現を基盤とした治療戦略
左: GSが発現している卵巣がん細胞では、細胞内グルタミンが合成できるため、細胞外グルタミンが枯渇しても細胞は生存可能である。
右: GSが発現低下している卵巣がん細胞では、細胞内グルタミンが合成できず、細胞外グルタミンが枯渇すると腫瘍は抑制される。

childhood acute lymphoblastic leukemia genetic susceptibility loci among Japanese. Sci Rep. 8:789. 2018

各種受賞

1. 村松智輝: 2018年度学長裁量優秀若手研究者奨励賞受賞

学位(博士)取得者

1. 外内えり奈: miR-3140 suppresses tumor cell growth by targeting BRD4 via its coding sequence and downregulates the BRD4-NUT fusion oncoprotein.
2. 古澤啓子: Ovarian cancer therapeutic potential of glutamine depletion based on GS expression.
3. 佐藤拓: Identification and characterization of TGFB1 in circulating tumor cell subline from pancreatic cancer cell line.

特許取得

〈特許取得-海外(US)〉

1. 2018年6月12日、登録番号:9994843B2、「マイクロRNAの測定方法、並びに、がん治療剤及びこれを含有するがん治療のための医薬組成物」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

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

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。乳がん発症の関連分子の機能を追究し、乳腺発がん機構を明らかにするとともに、これらを利用した乳がんの新規治療法開発を目指している。

研究紹介

1. 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

女性ホルモンのエストロゲンは、分泌量が多い時期が持続すると乳がん発症リスクや悪性度を高めることが示唆されている。ところが、エストロゲンの作用が、乳腺組織や乳管細胞に直接どのような影響を及ぼすのか、十分明らかにされていない。我々は、エストロゲンが、乳管形成に及ぼす影響を明らかにするために、MCF10A 細胞（悪性形質転換されない乳管上皮細胞）を用いて、マトリゲル基底膜マトリックスの三次元培養による乳管モデルを作製した。この乳管モデルにエストロゲンを添加して免疫染色後、共焦点レーザー顕微鏡で観察した結果、管腔を取り巻く基底膜の崩壊や、細胞死による管腔構造の崩壊が認められた（図1）。そこで本研究は、エストロゲンによる乳管モデル崩壊の分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。MCF10A 細胞は、エストロゲン受容体 GPR30 を発現することから、エストロゲンが GPR30 に結合してシグナル伝達される可能性を考えた。エストロゲンの GPR30 への結合は、cAMP の増加を促進して p38 および JNK のリン酸化を亢進することが報告されている。我々は、エストロゲンの作用に伴いこれらシグナル伝達が作動し、GPR30 の阻害剤や siRNA-GPR30 によって p38 および JNK のリン酸化が阻害されることを確認した。さらに、エストロゲンの作用は、caspase1 の活性化による gasderminD の分解を介

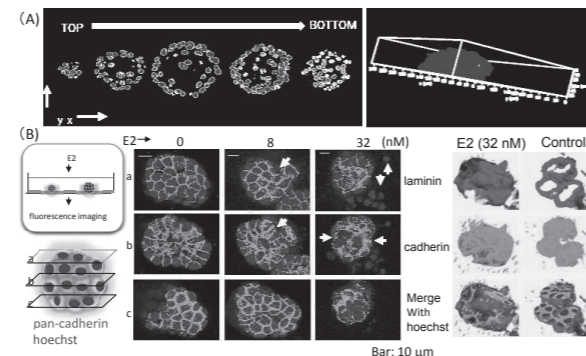


図1 Estradiol(E2)を処理した MCF-10A acini の共焦点顕微鏡画像 (A)MCF-10A acinus. MCF-10A の3D 培養から z-stack イメージを取得し(左図)、3D を再構築した(右図)。(B)Luminal 構造に及ぼす Estradiol(E2)の効果。MCF-10A acini に E2(8, 32 nM)、およびコントロール(EtOH)を処理して、31 日間培養した。E2 を処理した Luminal 構造は、一部崩壊した(白矢印:左図)。再構築した3D 画像から、基底膜の崩壊も観察された(右図)。青;hoechst、緑;pan-cadherin、赤; laminin V。

して、IL-1 β を分泌させることを明らかにした。また、エストロゲンおよび IL-1 β の作用がマトリックスメタロプロテアーゼ3(MMP3)を活性化することも確認した。MMP3 は、IL-1 β の刺激で誘導されること、さらに基底膜構成因子のコラーゲン IV とラミニンを分解することが報告されていることから、エストロゲンの作用が基底膜の崩壊に関与することが示唆された。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・転移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 遺伝子の欠損・変異による乳がんや卵巣がんの発症や悪性度は、エストロゲンホルモンが作用する組織でそのリスクを高めることから、BRCA2 タンパク質の機能とエストロゲンとの関連性は示唆されている。エストロゲン (E2) とエストロゲン受容体 (ER α) の複合体は、転写因子として機能するが、BRCA2 による E2-ER α の転写機能への関与は明らかにされていない。我々はこれまで、293T 細胞に過剰発現させた HA-BRCA2 と FLAG-ER α は、BRCA2 の 2240 から 2940 アミノ酸に相当するヘリカルドメインを介して相互作用することを報告した。その際、両タンパク質は、直接結合しなかったことから、BRCA2 は、ER α の転写コレギュレーターを介して ER α と間接的に結合する可能性を考

えた。そこで、BRCA2 が結合する ER α の転写コレギュレーターを見出すため、BRCA2 抗体による ChIP 産物を質量分析計で解析した。具体的には、MCF7 細胞を S 期に同調後、超音波によって DNA を断片化し、DNA binding beads を用いて DNA とタンパク質の複合体のみを回収した。その後、DNase により DNA を消化し、抗-BRCA2 抗体で免疫沈降することにより BRCA2 と BRCA2 に結合するタンパク質のみを選別し、トリプシン消化・脱塩処理後、質量分析計で解析を行った。その結果、ER α の転写コレギュレーターとして NCOA17、CREB binding protein (CBP)、CITED2、DACH1 が同定された。また、E2-ER α の代表的な転写標的遺伝子の pS2 に対するルシフェラーゼアッセイの結果、E2 依存的に発現させた BRCA2 は、E2-ER α のプロモーター活性を抑制することを明らかにした。以上の結果から、BRCA2 は、ER α の転写コレギュレーターを介して E2-ER α の転写活性を制御する可能性が示唆され、現在、そのメカニズムを詳細に検討している。

3. 新規 DNA 修復阻害剤の開発

DNA 修復経路の阻害は、放射線や化学物質などの DNA 損傷因子と組み合わせることで細胞致死効果を増強 (増感) できることから、がん治療での応用が期待される。そこで我々は、新たな DNA 修復阻害因子の探索を目的に、化合物ライブラリを用いたスクリーニング試験を実施した。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化合物

ライブラリから機能既知化合物を選定し、DNA 損傷剤 (PARP 阻害剤またはエトポシド) との併用効果を調べた。細胞毒性ならびに DNA 二本鎖切断修復の影響を調べる in vitro スクリーニング試験系により、DNA 損傷剤の細胞致死効果を増強する化合物を抽出した。ヒット化合物のうち、PARP 阻害剤に対する増感剤として同定された化合物 A は、相同組み換え修復の際に修復エラーを誘発することで増感作用を引き起こすことを見出した。またエトポシドに対する増感剤として同定された化合物 B は、非相同末端結合による修復経路を阻害することを見出した (図2)。これらの化合物は、既知の作用機序とは異なる作用により、DNA 修復に関わっていると考えられる。今後、新たな修復阻害剤としてリード化合物の創出に向け、これらの分子機構を詳細に調べ、個体レベルでも検証する。

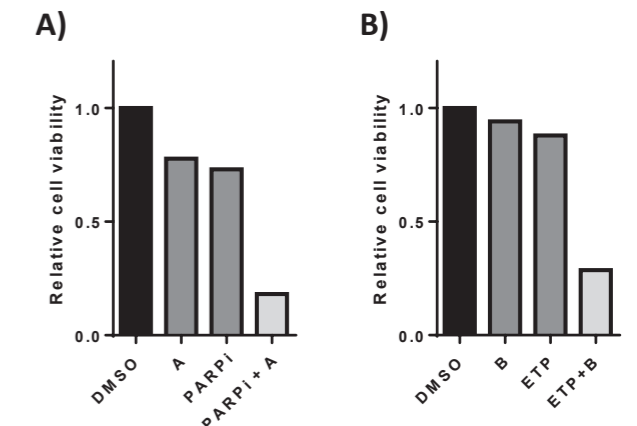


図2 DNA 損傷薬と化合物との新規併用による抗腫瘍効果 A): PARP 阻害剤と化合物 A、B): エトポシドと化合物 B

人事異動

転入: Enkhbat Gerelmaa (博士課程)、Xu Zeyu (修士課程)、Zhang Dou Dou (大学院研究生)、Zhao Yui (大学院研究生)、Guo Qian Qian (大学院研究生)
転出: 高岡美帆 (助教)、佐藤亜美 (修士課程)、山田翔太 (修士課程)

業績目録

原著論文

- Momozawa Y, Iwasaki Y, Parsons MT, Kamatani Y, Takahashi A, Tamura C, Katagiri T, Yoshida T, Nakamura S, Sugano K, Miki Y, Hirata M, Matsuda K, Spurdle AB, Kubo M. Germline pathogenic variants of 11 breast cancer genes in 7,051 Japanese patients and 11,241 controls. Nat Commun. 2018 Oct 4; 9(1):4083. doi: 10.1038/s41467-018-06581-8.
- Osumi H, Shinozaki E, Mashima T, Wakatsuki T, Suenaga M, Ichimura T, Ogura M, Ota Y, Nakayama I, Takahari D, Chin K, Miki Y, Yamaguchi K. Phase II trial of biweekly cetux-

imab and irinotecan as third-line therapy for pretreated KRAS exon 2 wild-type colorectal cancer. Cancer Sci. 2018 Aug; 109(8):2567-2575. doi: 10.1111/cas.13698.

- 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 Feb 15; 20(4). doi: 10.3390/ijms20040841.
- Cartwright IM, Su C, Haskins JS, Salinas VA, Sunada S, Yu H, Uesaka M, Hirakawa H, Chen DJ, Fujimori A, Kato TA. DNA Repair Deficient Chinese Hamster Ovary Cells Exhibiting Differential Sensitivity to Charged Particle Radiation under Aerobic and Hypoxic Conditions. Int J Mol Sci. 2018 Jul 30; 19(8). doi: 10.3390/ijms19082228.
- Aizawa Y, Sunada S, Hirakawa H, Fujimori A, Kato TA, Uesaka M. Design and evaluation of a novel flavonoid-based radioprotective agent utilizing monoglucosyl rutin. J Radiat Res. 2018 May 1; 59(3):272-281. doi: 10.1093/jrr/rrx090.

総説

- Sunada S, Nakanishi A, Miki Y. Crosstalk of DNA double-strand break repair pathways in poly(ADP-ribose)polymerase inhibitor treatment of breast cancer susceptibility gene 1/2-mutated cancer. Cancer Sci. 2018 Apr; 109(4):893-899. doi: 10.1111/cas.13530.
- 三木 義男:【動き始めたがんゲノム医療 深化と普及のための基礎研究課題】(第2章) actionable パスウェイ PARP 阻害剤 がん治療における新しい合成致死アプローチ、実験医学 36 巻 15 号 Page2543-2552(2018.09)
- 阿多 亜里沙、明石 定子、井手 佳美、吉田 敦、澤木 正孝、津川 浩一郎、柳田 康弘、川端 英孝、山内 清明、高橋 将人、武井 寛幸、菰池 佳史、遠山 竜也、指宿 睦子、西村 誠一郎、土井原 博義、北田 正博、三木 義男、新井 正美、横山 士郎、中村 清吾: BRCA1/2 変異陽性乳がん患者に対する適切なマネージメント リスク低減乳房切除術の意義を含め、日本外科学会誌 119 巻 5 号 Page598-605(2018.09)
- 甲畑 宏子、三木 義男:【根拠がわかる治療とケアのベストプラクティス】(第II章 総論: がんとエビデンス) がんと遺伝、がん看護 24 巻 2 号 (2019 増刊) Page115-120(2019.02)

ゲノム応用医学研究部門 分子疫学分野

教授：村松正明 准教授：佐藤憲子 助教：今井千裕

研究内容

本分野では、難治性病態に繋がる日常的慢性疾患 (Common Chronic Disease) の発症・進展に関連する遺伝子および環境因子を、ゲノム情報を駆使して、疫学的手法を用いて明らかにする。疫学フィールドや臨床サンプルを持つ研究グループとの共同研究のもとで、疾患の発症に及ぼす遺伝子と環境因子、およびそれらの交互作用の発見と検証を同定する。対象疾患はメタボリック症候群、動脈硬化性疾患、アルツハイマー病、癌などである。これらの日常的疾患は多因子疾患であり、ライフスタイルの影響も大きいので、ゲノム研究から得られた遺伝子情報を予防医療に生かすべく社会実装に向けての取り組みに着手する。また Developmental Origin of Health and Disease (DOHaD) の概念に基づき、出生前環境要因とゲノムの相互作用によるエピゲノム変化に着目し、新生児エピゲノムの小児のメタボ形質や精神行動発達に及ぼす影響を探索する。このため母子コホート研究を立ち上げ、本学生殖機能協同学教室と共同で出生前環境要因とゲノムの相互作用、母児エピゲノム多様性を生み出す環境要因の研究を行っている。

研究紹介

1. 生活習慣病の遺伝子検査の結果回付は疾患予防に向けた行動変容を促すか？

<背景>病気のかかりやすさには個人差があるが、個人がこれをあらかじめ知ることができれば、発症前に予防的に行動できると考えられる。近年、GWAS (Genome-wide association study: ゲノムワイド関連解析) などにより多因子疾患の疾患感受性遺伝子が多数明らかにされ、これらの多くの遺伝子情報を組み合わせたポリジェニックスコア (polygenic score) が多因子疾患の易罹患と相関していることが明らかにされた。このような遺伝子検査は個別化予防に貢献することが期待される場所であるが、現在のところ、被検者に疾患予防への行動変容を促すかについては答えは出ていない。被験者が回付された結果を十分理解しているか等、どのようにすれば遺伝子検査を生かした個別化予防医療が実現するのか、その方法論についての検討はほとんどなされていない。<方法> 20 人の健康人に、検査の特性や限界を説明し

たうでポリジェニックスコア型の遺伝子検査を行い、結果開示の際に、それぞれの被検者が相対的に高いリスクにあるとされた3つの疾患について医師からコンサルテーションを行い、それが被検者の予防行動につながるかを検証した。検査の直前、直後、3か月後、6か月後、12か月後に、アンケート形式で「健康への意識」「将来発症するリスクのある疾患の理解」「疾患予防の意識」「実際の予防行動」などの項目について調査した。<結果>検査の前後で、生活習慣が疾患発症に影響を及ぼすという意識 (P<0.05) や、自らの力で疾患の発症に影響を与えようという意識 (P<0.01) に有意な変化がみられた。3か月後、6か月後、12か月後のフォローアップでも、60%以上の被検者に健康な生活に向けての行動変化が見られ、その比率には低下がみられなかった。また、遺伝子結果回付による明らかなメンタル不調は見られなかった。<考察> DTC タイプ遺伝子検査は、それだけでは予防行動への効果は限定的であるが、医師による丁寧な疾患のコンサルテーションが伴うことで疾患予防への行動変容を促す可能性が示唆された。健康人に生活習慣病などの予防行動を促すことは決して容易ではないが、遺伝子検査を患者教育に取り入れることによって実効性が高まる可能性がある。

2. 孤発性アルツハイマー病と ABCA7 遺伝子バリエーションの関連

孤発性アルツハイマー病 (Late-onset Alzheimer's disease: LOAD) は多因子疾患で、遺伝率は 58-79% と遺伝的な要因が比較的高いことが知られている。近年 GWAS によって、APOE 領域を始めとする疾患感受性のコモンバリエーションが多数同定された。その中に ABCA7 遺伝子のコモンバリエーションも含まれるが、最近の全エクソームシーケンシング研究により、ABCA7 の未成熟停止コドンが LOAD のリスクとなっていることが報告された。

そこで東京都健康長寿医療センターで行われた日本人高齢者連続剖検の内、エクソームチップ解析を行った 1815 例 (LOAD 患者群: 265 例、コントロール群: 1550 例) のデータを用いて、日本人の LOAD の遺伝的

危険因子について ABCA7 に着目して解析を行った。結果 ABCA7 遺伝子上に 84 個の coding SNV 及び 1 個の non-coding SNV を同定し、この内 14 個の SNV においては多型性が認められた (14 個の SNV のマイナーアレル頻度 (MAF) は 0.03%~42%)。この内の 1 つの SNV (rs3764650) は GWAS 解析により同定されているものと同一であり、本研究でも LOAD との関連が認められた。(P=0.01, OR= 1.45, 95% CI=1.09 ~ 1.92) さらに D964E (rs117390715) は MAF=0.23% のレアバリエーションであり、コントロール群 1550 人中 7 人、症例群 265 人中 8 人がヘテロ変異体であり、LOAD との関連が示唆された。(P=4.73E-04, OR= 6.86, 95% CI=2.47 ~ 19.09)。ABCA7 遺伝子は ATP 結合カセット ATP アーゼタンパク質をコードし、ABCA1 同様に apoA-I に依存してリン脂質とコレステロールを細胞外へ排出する。ABCA7KO マウスでは脳内で不溶性アミロイドβ沈着が高まることも報告されているが、LOAD との関わりは未だ解明されていない。今後更に大きなコホートで ABCA7 遺伝子レアバリエーションの関連を検証すると共に発症メカニズムの研究を進める必要がある。

3. 母子コホート研究

糖尿病、肥満、循環器疾患、精神発達障害など多因子疾患の発症を低減させることは、現代の重要な課題となっている。これらの疾患発症に出生前や幼少期の環境が影響することが多くの観察研究によって示された結果、Developmental Origin of Health and Disease (DOHaD) 概念が生まれた。しかし、どの時期のどのような環境要因が、どの部位のエピゲノムに変化をもたらす、それが将来どのような表現型に結びつくのかは明らかではない。一方、妊娠は、母体にとって大きな負荷のかかる時期であり、妊娠糖尿病や妊娠高血圧症候群を発症した女性は、将来 2 型糖尿病や慢性腎疾患を高率に発症することも知られている。

妊娠というストレスが、母体のエピゲノムにどのよう

な影響を及ぼすのかは明らかにする目的で我々は周産期における母児エピゲノムの体系的な解析を行っている。妊娠中期までは、母体内にエネルギーを蓄える同化が優位なのに対し、妊娠後期では胎児成長のためにエネルギーを産生する異化が優位となり、妊娠中期から後期にかけて脂質代謝は劇的に変化する。脂質代謝の変化に伴う体内環境変化は一部肥満と妊娠で共通する現象もある。これまでに末梢白血球を用いたエピゲノムワイド関連解析 (EWAS) では、脂質関連形質 (BMI や血中脂質濃度) が DNA メチル化レベルを変化させることを明らかにした。中でも CPT1A イントロン 1 および SREBF1 イントロン 1 領域の CpG は頑強に脂質関連形質と関連することが知られている。我々は、MassARRAY EpiTYPER アッセイを用いて妊婦 (n = 52) の前向きコホート研究を行い、これらの CpG のメチル化レベルに与える脂質関連形質の影響が妊娠中期と後期で変化するかどうかを調べた。その結果、SREBF1 のメチル化は妊娠中期の BMI および血清 LDL-C レベルと関連していたが、妊娠後期にはその関連が弱められることを見出した。この変化は同化から異化への代謝スイッチとよく一致した。これに対し、CPT1A イントロン 1 のメチル化レベルは血清 LDL-C レベルとの関連が妊娠後期に減弱したが、BMI との関連が見かけ上強められた。この理由について、我々は妊娠前 BMI が妊娠中期から後期への白血球の細胞組成変化に影響を及ぼすこと、さらに CPT1A イントロン 1 のメチル化レベルが白血球の細胞組成の影響を受けることの 2 つの要因によるものであることを見出した。すなわち BMI の CPT1A メチル化への関連には、脂質形質としての因果の関連経路以外に、白血球組成を介した別の媒介経路が妊娠特異的に存在したため、見かけ上妊娠後期に強められていることを明らかにした。以上より、CPT1A, SREBF1 の末梢血 DNA メチル化レベルは、妊娠過程における脂質代謝状態の変化と白血球組成に反映される免疫学的変化に応じて変化する事がわかった。

業績目録

発表論文

Hayashi M, Watanabe A, Muramatsu M, & Yamashita N. Effectiveness of personal genomic testing for disease-prevention behavior when combined with careful consultation with a physician: a preliminary study. BMC Research Notes 11:223 2018
Matsuda Y, Tanaka M, Sawabe M, Mori S, Muramatsu M, Mieno MN, Furukawa T, Arai T. Relationship between pancreatic intraepithelial neoplasias, pancreatic ductal adenocarcinoma, and single nucleotide polymorphisms autopsied elderly patients. Genes Chromosomes

Cancer 57:12 2018
Pavethynath S, Imai C, Xin J, 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. IJMS. 2019 in press.

講演

1. Noriko Sato. "Perinatal Immunomethylomics towards DOHaD". 17th Surugadai International Symposium & Joint Usage/Research Program of Medical Research Institute International Symposium. 2018.11.19. Tokyo
2. 村松正明 パーソナルゲノムの視点から考える

Digital/Mobile Medicine. JASIS 「ライフサイエンスイノベーションフォーラム」2018 9. 6 幕張メッセ

総説等

佐藤憲子 Developmental Origin of Health and Disease (DOHaD) を理解する新時代の到来—ゲノム・エピゲノムと加齢性慢性疾患の関連性に関する新たな視点. 化学と生物. Vol.56, No.9, page 613-620. 2018
村松正明 遺伝子検査は疾患予防への行動変容を促すか? 日本がん予防学会ニュースレター No.96 2018

学外教育活動

村松正明: 北里大学薬学部非常勤講師

ゲノム応用医学研究部門 ゲノム病理学分野

教授：石川俊平 助教：加藤洋人、河村大輔

研究内容

腫瘍性疾患や炎症・免疫疾患などは、多種の細胞によって構成される複雑な系であり、病態の原因となる細胞だけでなく、それら多種の細胞が相互作用することにより疾患の病態や悪性を引き起こしている。したがって、これら相互作用するシグナルを同定し、介入することは疾患発症機構の理解およびその治療戦略を考えるうえで重要な課題となる。本研究分野では、ゲノムレベルで多量のデータ計測を行うことによりその動態を明らかにし、介入可能な治療ターゲットやバイオマーカーになりうる特異的現象の探索と疾患における意義について解析を行っている。また多量・多次元のゲノム配列・画像等の生物情報のなかから次元圧縮・可視化等により本質的な情報を抽出し人が解釈するための人工知能を含めたバイオインフォマティクスの技術開発にも取り組んでいる。

研究紹介

1. がん-間質間相互作用のゲノミクス

腫瘍組織は、癌細胞のほか、免疫細胞、線維芽細胞など多様な間質細胞により構成されている。ゲノム病理学分野では、これまで包括的および定量的に評価することの難しかった腫瘍組織内の細胞間相互作用全体を解析する手法を開発した。担癌動物モデルより摘出した腫瘍組織のトランスクリプトームデータを取得後、ヒト由来、マウス由来の配列に振り分けることで腫瘍細胞と間質細胞の遺伝子発現プロファイルを構築し、タンパク相互作用データベースを取り込むことによりがん-間質細胞間の全体像（インタラクトーム）を捕え、さらに強い相互作用を起こすシグナル経路を同定することを試みている。

またより臨床の病態に近い相互作用を解析する為に、実験動物中央研究所と共同で臨床腫瘍組織の直接移植モデル（PDX：Patient Derived Xenograft）を用いて多様な腫瘍でインタラクトームの解析を行っている。

2. がんの免疫ゲノミクス

腫瘍組織の周囲に浸潤しているリンパ球は、腫瘍免疫において重要な役割を果たしていると考えられており、

実際種々の癌で予後と関連することが知られている。しかし、その詳細な性質は未だ明らかではない。ゲノム病理学分野では、並列型次世代シーケンス技術を用いて腫瘍浸潤リンパ球の抗原受容体配列を解析することで、その性質を解明しようと試みている。現在、我々はびまん型胃癌（スキルス胃癌）を主なターゲットとして解析を行っている。びまん型胃癌は、極めて予後が不良であるうえに、分子標的薬のターゲットになりうるドライバー変異の頻度がきわめて低く、また変異の数が少ないことから免疫チェックポイント阻害薬などの免疫療法の効果も乏しいと考えられ、本研究により新たな治療法の開発につながることを期待される。

3. 臨床疾患組織のゲノミクス解析

ゲノム病理学分野では、様々な難治性疾患の臨床検体のゲノミクス解析を進めている。並列型シーケンサーを用いたトランスクリプトームシーケンスや全エクソームシーケンス等の包括的なデータ取得を行い、発症メカニズムをゲノミクスの側面から解明することを試みている。我々はびまん型胃癌において高深度の全エクソーム解析により、びまん型胃癌症例の約 1/4 に、RHOA 遺伝子の体細胞変異を同定した。培養細胞を用いた検証実験の結果、このような RHOA 遺伝子変異は、がんの原因として働く「ドライバー変異」だということが示唆された。ゲノム病理学分野では、びまん型胃癌における RHOA 遺伝子変異の分子メカニズムの研究を進め、分子標的薬への応用を含めた研究を継続している。

4. 機能的ゲノミクススクリーニング

ゲノム病理学分野では、核酸バーコードを付加された網羅的 shRNA ライブラリと並列型次世代シーケンス技術を融合させることにより、機能ゲノミクス・スクリーニングを行っている。その一例として、網羅的 shRNA レンチウイルス・ライブラリを感染させた各種のがん細胞株をマウスに移植し、移植前後における shRNA 感染細胞のクローン組成を比較することによって、新しいがん治療標的分子の探索を行ってきた。現在までに多数のヒトがん細胞株を用いた実験を進めており、複数のがん治療標的遺伝子候補を同定することができた。今後も、

網羅的 shRNA ライブラリを用いた機能ゲノミクス・スクリーニングを行っていくことで、新規性のあるがん治療標的分子の同定を試みる。

5. デジタル病理画像解析

腫瘍組織は正常組織とは異なる細胞・構造形態をとるが、それは主に腫瘍ゲノムの異常が原因で生じた結果と

考えられている。腫瘍におけるゲノムの異常と組織形態との関係性を調べることで、臨床上重要な遺伝子変異との関連や遺伝子の新たな機能の発見など多くの知見が得られている。ゲノム病理学分野では、画像認識分野で優れた性能を発揮している深層ニューラルネットワーク技術をデジタル病理画像解析に応用し、腫瘍の組織形態とゲノム異常との関係の解析を行う予定である。

ハイライト

1. 深層テキストを用いた病理組織類似症例検索

データベースから画像をクエリとして類似画像を検索する技術は、CBIR (Contents Based Image Retrieval) と言われる。病理診断において CBIR は極めて有用である。経験の豊富な病理医にとっても、経験の浅い病理医にとっても自分の見たことのない症例に出会うことはある。そのような場合、周囲の病理医に意見を聞くことになるが、それでもわからなければ病理画像アトラスから類似の組織画像を探すことになる。この作業は病理診断のなかでも時間の掛かる作業であり、しかも体系的にもれなく検索することは非常に難しい。自分の遭遇した診断困難な症例について、病理画像のデータベースから類似症例を迅速かつ正確に検索できれば正しい診断にたどり着く確率や時間は大幅に改善されると考えられる。病理画像の CBIR では、通常的一般画像の基準とは異なり、病理組織学的な類似性の定量化することが重要である。我々はディープニュー

ラルネットワークから取り出したテキスト情報（ディープテキスト）が癌の病理組織像の特徴を良く表現しており、そのテキスト情報が類似画像検索に有用であることを見出した。我々は、このディープテキストを用いて、病理組織画像の類似症例検索を行う Luigi というシステムを開発し、公開している (<https://luigi-pathology.com/>)。検索対象の症例画像は TCGA に存在する 32 種のがん種の約 7300 症例であり、全てにがんのゲノム異常の情報が紐付いている。登録したユーザが類似する症例を選択すると、それらに共通するがんのゲノム異常が表示される。今後はディープテキストを利用することで病理組織画像からがんのゲノム異常を推定することを目指す予定である。中小規模の医療施設においてルーチンの病理組織検査の画像から背景にあるゲノム異常を高精度に推定することが可能になれば、拠点病院等や自己負担での包括的ゲノム異常解析により治療標的が見つかる出る確率が高い患者を選び出せる可能性もある。

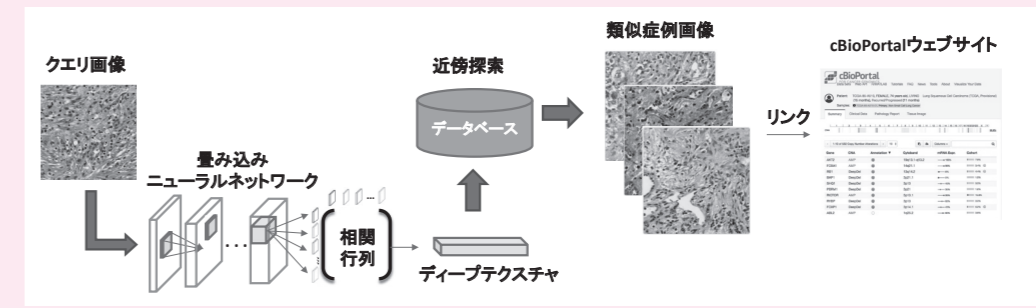


図 1

研究業績

原著論文

1. Bándi P., Geessink O., Manson Q., Dijk M van., Balkenhol M., Hermesen M., Bejnordi B., Lee B., Paeng K., Zhong A., Li Q., Zanjani F.G., Zinger S., Fukuta K., Komura D., Ovtcharov V., Cheng S., Zeng S., Thagaard J., Dahl A., Lin H., Chen H., Jacobsson L., Hedlund M., Cetin M., Halici E., Jackson H., Chen R., Both F., Franke J., From detection of individual metastases to classification of lymph node status at the patient level: the CAMELYON17 challenge. *IEEE Transactions on Medical Imaging* 2018:1-1.
2. Funahashi S-I, Kawai S., Fujii E., Taniguchi K., Nakano K., Ishikawa S., Aburatani H., Suzuki M., Generation of an anti-desmoglein 3 antibody without pathogenic activity of pemphigus vul-

- garis for therapeutic application to squamous cell carcinoma. *J Biochem* 2018. Dec 1;164(6):471-481.
3. Hosonaga M., Arima Y., Sampetean O., Komura D., Koya I., Sasaki T., Sato E., Okano H., Kudoh J., Ishikawa S., Saya H., Ishikawa T. HER2 Heterogeneity Is Associated with Poor Survival in HER2-Positive Breast Cancer. *Int J Mol Sci* 2018;19(8) E2158.
4. Komura D., Ishikawa S. Machine Learning Methods for Histopathological Image Analysis. *Comput Struct Biotechnol J* 2018;16:34-42.
5. Nakano K, Nishizawa T, Komura D, Fujii E, Monnai M, Kato A, Funahashi SI, Ishikawa S, Suzuki M. Difference in morphology and interactive profiles between orthotopic and subcutaneous gastric cancer xenograft models. *J Toxicol Pathol*. 2018 Oct;31(4):293-300.
6. Nishizawa T, Nakano K, Harada A, Kakiuchi

- M, Funahashi SI, Suzuki M, Ishikawa S, Aburatani H. DGC-specific RHOA mutations maintained cancer cell survival and promoted cell migration via ROCK inactivation. *Oncotarget*. 2018 May 1;9(33):23198-23207...
7. Tanaka A, Ishikawa S, Ushiku T, Yamazawa S, Katoh H, Hayashi A, Kunita A, Fukayama M. Frequent CLDN18-ARHGAP fusion in highly metastatic diffuse-type gastric cancer with relatively early onset. *Oncotarget*. 2018 Jun 29;9(50):29336-29350.
8. Wang CW, Lee YC, Calista E, Zhou F, Zhu H, Suzuki R, Komura D, Ishikawa S, Cheng SP. A benchmark for comparing precision medicine methods in thyroid cancer diagnosis using tissue microarrays. *Bioinformatics*. 2018 May 15;34(10):1767-1773.

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

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. ゲノムインプリンティング疾患の解析

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。マウスモデルで主要原因遺伝子として *PEG11* を同定し (投稿中)、この遺伝子発現量を制御する治療法の開発を進めています。

2. X 染色体不活性化維持に関わる *Rtx* lncRNA の同定 (ハイライト)

哺乳類のメスは 2 本の X 染色体を持つが片方は不活性化される。オスとの遺伝子量補正に重要と考えられ、2 本とも発現させた変異体は初期胚致死となる。今回、X 染色体不活性化を起こす *Xist* 遺伝子の近傍に、X 染色体不活性化状態を維持するために必要な長鎖ノンコーディング RNA (lncRNA) である *Ftx* が存在することを明らかにしました。この遺伝子の欠失はメスだけに眼球

形成異常を引き起こす特徴を持っています (Nat Commun 2018)。

3. LTR レトロトランスポゾン由来の遺伝子群の哺乳類進化への寄与

哺乳類ではレトロウイルスに似た LTR レトロトランスポゾンに由来する遺伝子群が、哺乳類の個体発生に重要な働きをしており、哺乳類進化に大きな寄与したとされています。当研究室で明らかにした胎盤形成に必須の *Peg10*、*Peg11* の他、同じ sushi-ichi レトロトランスポゾン由来の *SIRH* 遺伝子群の機能解析を東海大学の金見-石野教授と進めています。これらは胎盤だけでなく脳でも重要な機能を果たしており、*Sirh11/Zcchc16* は認知機能に関わっています。現在、睡眠/覚醒の制御に関わる *Sirh3/Ldoc11*、*Sirh8/Rgag4* の解析を進めています。

4. ヒト受精卵における遺伝子発現における父親・母親の年齢の影響

ヒトの受精/着床率は母親年齢が高くなるに従って低下することが知られている。それには染色体異常の影響が大きいと考えられている。次世代シーケンスによるヒト受精卵の網羅的遺伝子発現解析により、母親年齢に相関性の高い遺伝子の同定に成功した。その中には染色体分離に関わるものや着床に関わる可能性が高いものが含まれている。これらの因子を加えることで、着床率の改善が測れるかを検討している (Sci Rep 2018)。

5. ES 細胞におけるゲノムインプリンティング記憶の保持

ES 細胞は iPS 細胞と並び多能性幹細胞として再生医療への利用が大きく期待されている。しかし、これらの細胞は DNA メチル化によるエピジェネティックな記憶維持が難しく、細胞分化能は持っていますが、ゲノムインプリンティング制御に問題があることが知られている。この問題を克服するために ES 細胞の培養条件を検討し、長期培養でもゲノムインプリンティング記憶が正しく保たれる条件を発見した (Genes Cells 2018)。

6. マウス ES 細胞からの心臓オルガノイド作製

生物の個体発生は細胞自身の自己組織化から成り立っています。この性質を利用して 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)が誘導できています。当研究室では、あらたに心臓オルガノイド作製法の開発に成功し特許申請しました。これらは薬剤の心毒性試験などへの応用が期待されます。

ハイライト

メスだけに小眼症様態を引き起こす X 染色体不活性化維持機構の異常 (Hosoi et al. Nature Communication 2018)

本研究は難治疾患研究所のテニュアトラック制度 (MTT) の出身で、現在、産業技術総合研究所のシニアリサーチャーの小林慎博士との共同研究である。小林博士は 2013 年に X 染色体上にあるインプリント遺伝子として *Ftx* 遺伝子を同定し (PLoS One 2013)、その遺伝子機能の解析を私たちの研究室で進めてきた。この遺伝子は、X 染色体不活性化に関わる *Xist* 遺伝子の周辺クラスターに存在し、初期発生過程では父親由来の遺伝子だけが発現するインプリント型発現をするが、着床後は両親性発現をする。タンパク質をコードしない、いわゆる長鎖ノンコーディング RNA (LncRNA) であるが、この遺伝子をノックアウトしたところ、致死性には関係しないが、メスに時々小眼症が見られる事に気がついた。この小眼症は胎児期 13.5 日目、15.5 日目にすでに観察された (図 1)。オスにはこの症状が一切出ないこと、メスでもヘテロ欠失、ホモ欠失の一部にのみ症状が現れ、メンデルの遺伝法則には従わない伝達様式を示した。このことからメス特有のエピジェネティクスである X 染色体不活性化の異常に関わる可能性を追求した。

ノックアウトマウスの遺伝子発現を調べると、X 染色体上に存在する遺伝子群の発現が 1.5 倍ぐらいに上昇しており、また、蛍光標識を用いた細胞の観察からいくつかの細胞で X 染色体不活性化が崩れ、2 本の染色体 (または不活性化 X 染色体) から遺伝子発現していることが確認された (図 2)。これにより、予想通り X 染色体不活性化状態を正常に維持できないことが原因となり、一部の X 染色体遺伝子の発現が上昇することが証明できた。おそらく、これが常染色体上の眼球発生に関係する遺伝子の異常を引き起こすと推測される。今回、発見した疾患発症機構はヒトにも

共通する可能性があり、女性特異的な疾患との関係が示唆される。

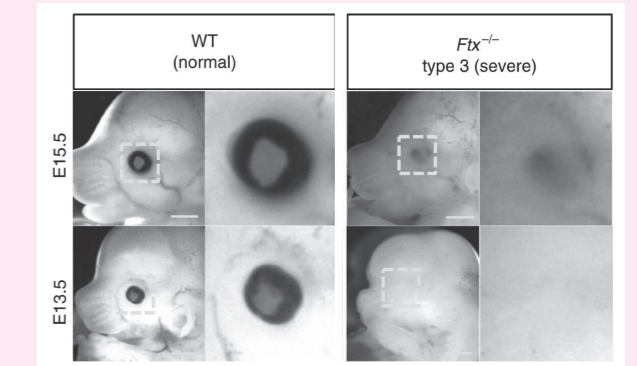


図 1 *Ftx* 欠失によるメス特異的小眼症
メスではヘテロ欠失の 7~10% にホモ欠失の 17~26% に小眼症の表現型が現れるが、小眼症の母親から小眼症の子供が生まれるわけではなく、欠失を持つメスにランダムに症状が現れる。いわゆるメンデルの遺伝法則には従わない伝達様式を示す。オスにおいてはこの異常は見られない。Type3 は特に顕著な異常を示すもの。

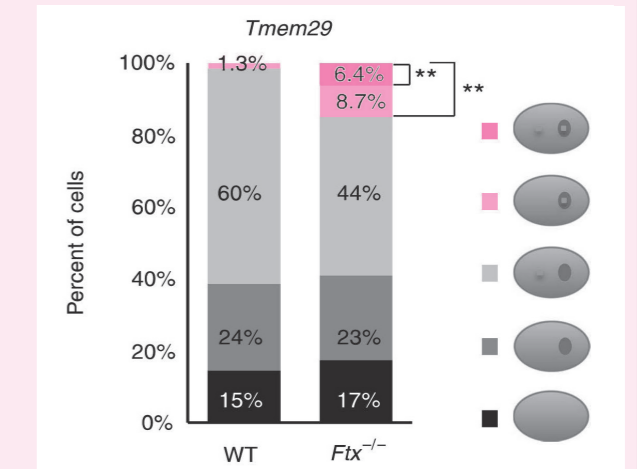


図 2 X 染色体上の遺伝子の異常発現
左図: *Tmem29* 遺伝子は X 染色体上にあり、通常は片側の活性化 X 染色体から発現している。しかし、小眼症を示す個体では眼球の細胞のいくつかで、この遺伝子が不活性化されている X 染色体からも発現していることが確認できる (赤とピンク)。右図: 赤の大きな楕円で示したのが不活性化した X 染色体。緑の点は遺伝子発現が確認されたものを示す。一番上の図 (赤の四角) では、活性化、不活性化 X 染色体の 2 本からの遺伝子発現が観察され、上から 2 番目の図 (ピンクの四角) では不活性化 X 染色体からのみ発現が見られる。蛍光標識をした細胞で数を数えるため、遺伝子発現自体が観察できないものが多い (下 2 つの図)、同じ条件下の WT コントロールでは、赤、ピンクの四角のような異常はほとんど観察されない。*Tmem29* 遺伝子以外にも、*Mecp2*、*Ogt* 遺伝子で同様の傾向が確認された。

業績目録

原著論文

1. Lee J, Matsuzawa A, Shiura H, Sutani A and Ishino F. Preferable in vitro condition for maintaining faithful DNA methylation imprinting in

mouse embryonic stem cells. Genes Cells 23(3), 146-160(2018). doi: 10.1111/gtc.12560.
2. Kawai K, Harada T, Ishikawa T, Sugiyama R, Kawamura T, Yoshida A, Tsutsumi O, Ishino F, Kubota T and Kohda T. Parental age and gene expression profiles in individual human blastocysts. Sci Rep 8(1):2380(2018). doi: 10.1038/

s41598-018-20614-8.
3. Hosoi Y, Soma M, Shiura H, Sado T, Hasuwa H, Abe K, Kohda T, Ishino F, Kobayashi S. Female mice lacking *Ftx* lncRNA exhibit impaired X-chromosome inactivation and a microphthalmia-like phenotype. Nat Commun 9(1):3829(2018). doi: 10.1038/s41467-018-06327-6.

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
プロジェクト助教：鎌谷高志

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. ゲノムワイド関連解析 (GWAS) の新しい解析方法論

GWAS 研究の新しい潮流は国際メタ解析です。世界の集団を集めた解析の結果、9つの新しい喘息関連遺伝子座や、その他の疾患関連遺伝子や量的形質遺伝子座を発見しました[1]-[3]。また、階層的混合モデルと経験的ペイズを用いて統計的検出力を高める方法論を開発し、それを応用して大鬱病性障害の有意な所見に必要な標本数を推定しました[4]-[6]。続き、GWASを他のオミクスデータと統合し、従来にない新たな発見を可能にする新しい方法論を提案しました。それを用いた重要な成果として、人間のGWASとマウスのトランスクリプトームデータを組み合わせ、アルツハイマー病の原因となる新たな遺伝子の候補を発見し、人の海馬とeQTLデータを用いて、その妥当性を示すことができました[7]。

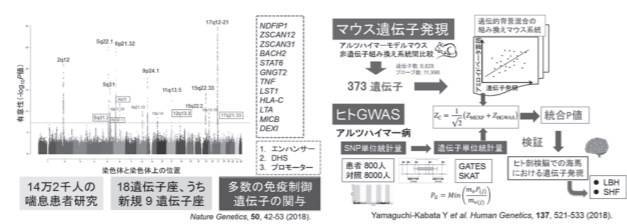


図1 国際共同研究による9つの新しい喘息関連遺伝子座の発見 (左)、ヒトGWASおよびマウスのトランスクリプトームの統合解析による新しいアルツハイマー原因遺伝子の発見 (右)。

2. 全ゲノム(WGS)・全エクソーム配列(WES)解析

私たちは、中間サイズの挿入と削除 (indel) を予測する、新規の方法を開発しました[8]。このような独自の的方法論を用いて、ヒト全ゲノム配列 (WGS) や標的配列の非常に正確な解析や表現型関連の多様性の解明を推進しました[8]-[10]。次世代シーケンサーデータ解析のもう一つは、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 [11]-[15]。

3. 医学臨床・オミクスのビッグデータ解析

私たちは最近、以下のような独自の的方法論を開発し、それらを実際のオミクスデータに適用しました。(1) 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、(2) オミクス特徴量と物理化学的特性を機械的学習を用いて組み合わせた薬物毒性予測の高精度モデル[17]、(3) 様々な物理化学的特性や配列特性を用いた翻訳後アミノ酸修飾およびタンパク質構造の予測モデル[18]-[26]、(4) 遺伝子発現プロファイルデータを画像のような形式に変換し、深層学習を利活用することが可能になるなどの、非画像データを解析するための新しい方法論 (投稿中)。さらに現在、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。

研究業績

1. Demenais F, *et al.* Multiancestry association study identifies new asthma risk loci that colocalize with immune-cell enhancer marks. *Nature Genetics*, 50, 42-53(2018).
2. Akiyama M, Takahashi A, Momozawa Y, Arakawa S, Miya F, Tsunoda T, Ashikawa K, Oshima Y, Yasuda M, Yoshida S, Enaida H, Tan X, Yanagi Y, Yasukawa T, Ogura Y, Nagai Y, Takahashi K, Fujisawa K, Inoue M, Arakawa A, Tanaka K, Yuzawa M, Kadonosono K, Sonoda KH, Ishibashi T, Kubo M. Genome-wide association study suggests four variants influencing outcomes with ranibizumab therapy in exudative age-related macular degeneration. *Journal of Human Genetics*, 63, 1083-1091 (2018).
3. Chang SW, McDonough CW, Gong Y, Johnson TA, Tsunoda T, Gamazon ER, Perera MA, Takahashi A, Tanaka T, Kubo M, Pepine CJ, Johnson JA, Cooper-DeHoff RM. Genome-wide association study identifies pharmacogenomic loci linked with specific antihypertensive drug treatment and new-onset diabetes. *Pharmacogenomics Journal*, 18, 106-112(2018).
4. 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).
5. Nishino J, Ochi H, Kochi Y, Tsunoda T, Matsui S. Sample Size for Successful Genome-Wide Association Study of Major Depressive Disorder. *Frontiers in Genetics*, 9, 227 (2018).
6. Nishino J, Kochi Y, Shigemizu D, Kato M, Ikari K, Ochi H, Noma H, Matsui K, Morizono T, Borojevich KA, Tsunoda T, Matsui S. Empirical Bayes Estimation of Semi-parametric Hierarchical Mixture Models for Unbiased Characterization of Polygenic Disease Architectures. *Frontiers in Genetics*, 9, 115 (2018).
7. Yamaguchi-Kabata Y, Morihara T, Ohara T, Ninomiya T, Takahashi A, Akatsu H, Hashizume Y, Hayashi N, Shigemizu D, Borojevich KA, Ikeda M, Kubo M, Takeda M, Tsunoda T. Integrated analysis of human genetic association study and mouse transcriptome suggests LBH and SHF genes as novel susceptible genes for amyloid- β accumulation in Alzheimer's disease. *Human Genetics*, 137, 521-533(2018).
8. Shigemizu D, Miya F, Akiyama S, Okuda S, Borojevich KA, Fujimoto A, Nakagawa H, Ozaki K, Niida S, Kanemura Y, Okamoto N, Saitoh S, Kato M, Yamasaki M, Matsunaga T, Mutai H, Kosaki K, Tsunoda T. IMSindel: An accurate

intermediate-size indel detection tool incorporating de novo assembly and gapped global-local alignment with split read analysis. *Scientific Reports*, 8, 5608(2018).

9. Nguyen DT, Nguyen HH, Nguyen TD, Nguyen TTH, Nakano K, Maejima K, Sasaki-Oku A, Nguyen VB, Nguyen DB, Le BQ, Wong JH, Tsunoda T, Nakagawa H, Fujimoto A, Nong VH. Whole Genome Sequencing of a Vietnamese Family from a Dioxin Contamination Hotspot Reveals Novel Variants in the Son with Undiagnosed Intellectual Disability. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15, 2629(2018).
10. Ton ND, Nakagawa H, Ha NH, Duong NT, Nhung VP, Hien LTT, Hue HTT, Hoang NH, Wong JH, Nakano K, Maejima K, Sasaki-Oku A, Tsunoda T, Fujimoto A, Van Hai N. Whole genome sequencing and mutation rate analysis of trios with paternal dioxin exposure. *Human Mutation*, 39, 1384-1392(2018).
11. 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*, 2018 Dec 20. pii: jmedgenet-2018-105487. doi: 10.1136/jmedgenet-2018-105487. [Epub ahead of print]
12. Hori I, Miya F, Negishi Y, Hattori A, Ando N, Borojevich KA, Okamoto N, Kato M, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Saitoh S. A novel homozygous missense mutation in the SH3-binding motif of STAMBP causing microcephaly-capillary malformation syndrome. *Journal of Human Genetics*, 63, 957-963(2018).
13. Suzuki N, Mutai H, Miya F, Tsunoda T, Terashima H, Morimoto N, Matsunaga T. A case report of reversible generalized seizures in a patient with Waardenburg syndrome associated with a novel nonsense mutation in the penultimate exon of SOX10. *BMC Pediatrics*, 18, 171(2018).
14. Ikeda Y, Nishiguchi KM, Miya F, Shimozaawa N, Funatsu J, Nakatake S, Fujiwara K, Tachibana T, Murakami Y, Hisatomi T, Yoshida S, Yasutomi Y, Tsunoda T, Nakazawa T, Ishibashi T, Sonoda KH. Discovery of a Cynomolgus Monkey Family With Retinitis Pigmentosa. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 59, 826-830(2018).
15. Mutai H, Miya F, Shibata H, Yasutomi Y, Tsunoda T, Matsunaga T. Gene expression dataset for whole cochlea of Macaca fascicularis. *Scientific Reports*, 8, 15554(2018).
16. Saqi M, Lysenko A, Guo YK, Tsunoda T, Auffray C. Navigating the disease landscape:

knowledge representations for contextualizing molecular signatures. *Briefings in Bioinformatics*, 2018 Apr 19. doi: 10.1093/bib/bby025. [Epub ahead of print]

17. Lysenko A, Sharma A, Borojevich KA, Tsunoda T. An integrative machine learning approach for prediction of toxicity-related drug safety. *Life Science Alliance*, 1, e201800098 (2018).
18. Chandra A, Sharma A, Dehzangi A, Ranganathan S, Jokhan A, Chou KC, Tsunoda T. PhoglyStruct: Prediction of phosphoglycylated lysine residues using structural properties of amino acids. *Scientific Reports*, 8, 17923(2018).
19. Dehzangi A, López Y, Taherzadeh G, Sharma A, Tsunoda T. SumSec: Accurate Prediction of Sumoylation Sites Using Predicted Secondary Structure. *Molecules*, 23, 3260(2018).
20. Dehzangi A, López Y, Lal SP, Taherzadeh G, Sattar A, Tsunoda T, Sharma A. Improving succinylation prediction accuracy by incorporating the secondary structure via helix, strand and coil, and evolutionary information from profile bigrams. *PLoS One*, 13, e0191900 (2018).
21. López Y, Sharma A, Dehzangi A, Lal SP, Taherzadeh G, Sattar A, Tsunoda T. Success: evolutionary and structural properties of amino acids prove effective for succinylation site prediction. *BMC Genomics*, 19(Suppl 1), 923 (2018).
22. Sharma R, Bayarjargal M, Tsunoda T, Patil A, Sharma A. MoRFPred-plus: Computational Identification of MoRFs in Protein Sequences using Physicochemical Properties and HMM profiles. *Journal of Theoretical Biology*, 437, 9-16(2018).
23. Sharma R, Sharma A, Raicar G, Tsunoda T, Patil A. OPAL+: Length-Specific MoRF Prediction in Intrinsically Disordered Protein Sequences. *Proteomics*, 2018 Oct 15:e1800058. doi: 10.1002/pmic.201800058. [Epub ahead of print]
24. Sharma R, Raicar G, Tsunoda T, Patil A, Sharma A. OPAL: Prediction of MoRF regions in intrinsically disordered protein sequences. *Bioinformatics*, 34(11):1850-1858(2018).
25. 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).
26. 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).

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 特任助教：和仁翔太郎（2018年3月まで）

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)。

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かった。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)。

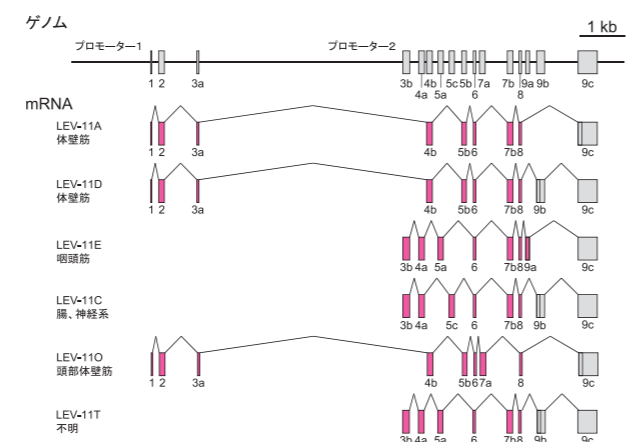


図1 線虫 *lev-11* 遺伝子のスプライスバリエーションの発現組織

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。タイチンもその1つであり、サルコメアが伸展した際に受動的張力を発揮して過伸展を防ぐ。タイチンをコードする *TTN* 遺伝子の選択的スプライシングにより、心臓では短い N2B 型とやや長い N2BA 型のタイチンが発現するが、拡張型心筋症心筋では張力が大きい N2B 型の比率が減少し張力が小さい N2BA 型の比率が増加する。一方、この *TTN* 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 RBM20 の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ているが、その変異は RNA 結合ドメインではなく RSRSP 配列に集中しており、なぜこの5アミノ酸残基が機能的に重要なのか解っていなかった。

本研究室では、*TTN* 遺伝子の二色蛍光スプライシ

ングレポーターを作製し、RBM20 による *TTN* 遺伝子の心筋型スプライシング制御を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 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 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個体レベルでも明らかにした (Sci Rep, 2018)。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 *TTN* 遺伝子の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)。

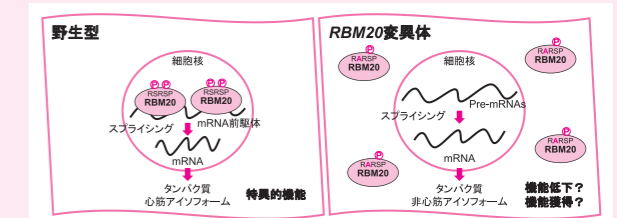


図2 RBM20 の RSRSP 配列のリン酸化による核移行は心筋特異的選択的スプライシング制御に必須

人事異動 他

2018年3月～9月、岩崎利業 (医学部保健衛生学科) が卒業研究のために参加
2018年4月、和仁翔太郎特任助教が製薬会社へ転出
～2018年7月、黒柳秀人准教授が University of California, Los Angeles (UCLA) の Visiting Associate Professor を兼任

業績目録

原著論文

1. Dawn E. Barnes, Eichi Watabe, Kanako Ono, Euiyoung Kwak, Hidehito Kuroyanagi, Shoichiro Ono. Tropomyosin isoforms differentially affect muscle contractility in the head and body regions in the nematode *Caenorhabditis elegans*. Molecular Biology of the Cell. 29: 1075-1088, 2018.
2. Rie Murayama, Mariko Kimura-Asami, Marina Togo-Ohno, Yumiko Yamasaki-Kato, Taeko K. Naruse, Takeshi Yamamoto, Takeharu Hayashi, Tomohiko Ai, Katherine G. Spoonamore, Richard J. Kovacs, Matteo Vatta, Mai Iizuka, Masumi Saito, Shotaro Wani, Yuichi Hiraoka, Akinori Kimura and Hidehito Kuroyanagi. Phosphorylation of the RSRSP stretch is critical for splicing regulation by RNA-Binding Motif Protein 20 (RBM20) through nuclear localization. Scientific Reports. 8: 8970, 2018.
3. Hiroaki Iwasa, Aradhan Sarkar, Takanobu Shimizu, Takeru Sawada, Shakhawoat Hossain, Xiaoyin Xu, Junichi Maruyama, Kyoko Arimoto - Matsuzaki, Kanchanamala Withanage, Kentaro Nakagawa, Hidetake Kurihara, Hidehito Kuroyanagi, Yutaka Hata. UNC119 is a binding partner of a tumor suppressor RASSF6 and induces apoptosis and cell cycle arrest via MDM2 and p53. Cancer Science. 109: 2767-2780, 2018.
4. Eichi Watabe, Shoichiro Ono and Hidehito Kuroyanagi. Alternative splicing of the *Caenorhabditis elegans lev-11* tropomyosin gene is regulated in a tissue-specific manner. Cytoskeleton. 75: 427-436, 2018.

総説等

1. Takeshi Watanabe, Akinori Kimura, Hidehito KUROYANAGI. Alternative splicing regulator

RBM20 and cardiomyopathy. Frontiers in Molecular Biosciences, section RNA, 5: 105, 2018.

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 (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)。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 (代表)。新学術領域研究「ノンコーディング RNA ネットワーク」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」

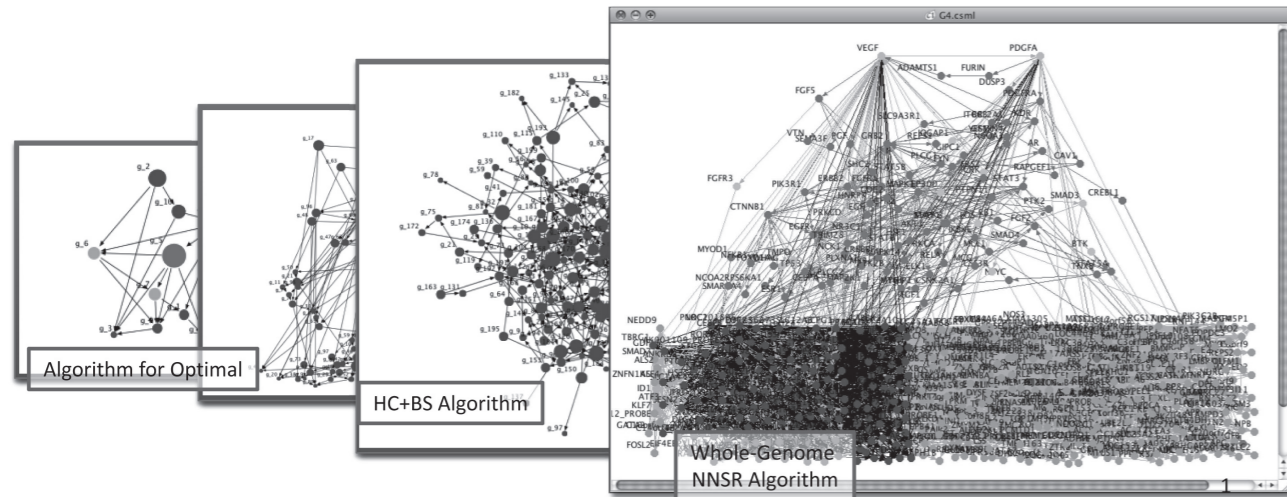
連携研究部門
難病基盤・応用研究プロジェクト室
大学院教育研究支援実験施設

連携研究部門 病態発現機構研究部門

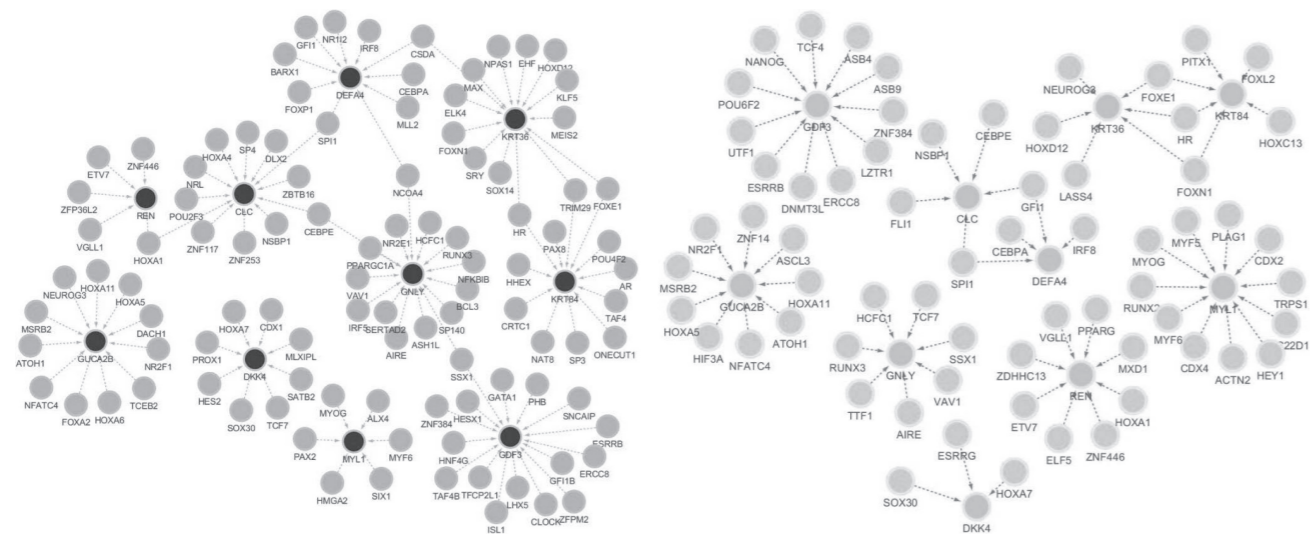
客員教授：宮野 悟、井元清哉

難治疾患の病態は複数の遺伝子の制御異常が複雑に相互に影響し合った状況で、システムとしての統合的制御から逸脱した状態であることが明白になってきた。一方、先端的ゲノム解析や網羅的リン酸化プロテオーム解析技術などの開発により大量のオミクスデータが蓄積されてきている。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-

ステム情報の処理・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

1. Fujita K, Chen X, Homma H, Tagawa K, Amano M, Saito A, Imoto S, Akatsu H, Hashizume Y, Kaibuchi K, Miyano S, Okazawa H. Targeting Tyro3 ameliorates a model of PGRN-mutant FTLD-TDP via tau-mediated synaptic pathology. *Nat Commun.* 9(1):433, 2018.
2. Hayashi S, Moriyama T, Yamaguchi R, Mizuno S, Komura M, Miyano S, Nakagawa H, Imoto S. ALPHLARD-NT: Bayesian method for HLA genotyping and mutation calling through simultaneous analysis of normal and tumor whole-genome sequence data. *J Comput Biol.* In press.
3. Hayashi S, Yamaguchi R, Mizuno S, Komura M, Miyano S, Nakagawa H, Imoto S. ALPHLARD: a Bayesian method for analyzing HLA genes from whole genome sequence data. *BMC Genomics.* 19(1):790, 2018.
4. Inoue D, Fujino T, Sheridan P, Zhang YZ, Nagase R, Horikawa S, Li Z, Matsui H, Kanai A, Saika M, Yamaguchi R, Kozuka-Hata H, Kawabata KC, Yokoyama A, Goyama S, Inaba T, Imoto S, Miyano S, Xu M, Yang FC, Oyama M, Kitamura T. A novel ASXL1-OGT axis plays roles in H3K4 methylation and tumor suppression in myeloid malignancies. *Leukemia.* 32(6):1327-1337, 2018.
5. Kiyotani K, Mai TH, Yamaguchi R, Yew PY, Kulis M, Orgel K, Imoto S, Miyano S, Burks AW, Nakamura Y. Characterization of the B-cell receptor repertoires in peanut allergic subjects undergoing oral immunotherapy. *J Hum Genet.* 63(2):239-248, 2018.
6. Kobayashi M, Yokoyama K, Shimizu E, Yusa N, Ito M, Yamaguchi R, Imoto S, Miyano S, Tojo A. Phenotype-based gene analysis allowed successful diagnosis of X-linked neutropenia associated with a novel WASp mutation. *Ann Hematol.* 97(2):367-369, 2018.
7. Murakami N, Okuno Y, Yoshida K, Shiraishi Y, Nagae G, Suzuki K, Narita A, Sakaguchi H, Kawashima N, Wang X, Xu Y, Chiba K, Tanaka H, Hama A, Sanada M, Ito M, Hirayama M, Watanabe A, Ueno T, Kojima S, Aburatani H, Mano H, Miyano S, Ogawa S, Takahashi Y, Muramatsu H. Integrated molecular profiling of juvenile myelomonocytic leukemia. *Blood.* 131(14):1576-1586, 2018.
8. Muraoka D, Seo N, Hayashi T, Tahara Y, Fujii K, Tawara I, Miyahara Y, Okamori K,

- Yagita H, Imoto S, Yamaguchi R, Komura M, Miyano S, Goto M, Sawada SI, Asai A, Ikeda H, Akiyoshi K, Harada N, Shiku H. Antigen delivery targeted to tumor-associated macrophages overcomes tumor immune resistance. *J Clin Invest.* 2019 Jan 10. pii: 97642. doi: 10.1172/JCI97642.
9. Nakamura S, Yokoyama K, Yusa N, Ogawa M, Takei T, Kobayashi A, Ito M, Shimizu E, Kasajima R, Wada Y, Yamaguchi R, Imoto S, Nagamura-Inoue T, Miyano S, Tojo A. Circulating tumor DNA dynamically predicts response and/or relapse in patients with hematological malignancies. *Int J Hematol.* 108(4):402-410, 2018.
10. Ogawa M, Yokoyama K, Hirano M, Jimbo K, Ochi K, Kawamata T, Ohno N, Shimizu E, Yokoyama N, Yamaguchi R, Imoto S, Uchimaru K, Takahashi N, Miyano S, Imai Y, Tojo A. Different clonal dynamics of chronic myeloid leukaemia between bone marrow and the central nervous system. *Br J Haematol.* 183(5):842-845, 2018.
11. Park H, Yamada M, Imoto S, Miyano S. Robust Sample-Specific Stability Selection with Effective Error Control. *J Comput Biol.* In press. doi: 10.1089/cmb.2018.0180.
12. Park H, Shimamura T, Imoto S, Miyano S. Adaptive NetworkProfiler for Identifying Cancer Characteristic-Specific Gene Regulatory Networks. *J Comput Biol.* 25(2):130-145, 2018.
13. Saito T, Niida A, Uchi R, Hirata H, Komatsu H, Sakimura S, Hayashi S, Nambara S, Kuroda Y, Ito S, Eguchi H, Masuda T, Sugimachi K, Tobo T, Nishida H, Daa T, Chiba K, Shiraishi Y, Yoshizato T, Kodama M, Okimoto T, Mizukami K, Ogawa R, Okamoto K, Shuto M, Fukuda K, Matsui Y, Shimamura T, Hasegawa T, Doki Y, Nagayama S, Yamada K, Kato M, Shibata T, Mori M, Aburatani H, Murakami K, Suzuki Y, Ogawa S, Miyano S, Mimori K. A temporal shift of the evolutionary principle shaping intratumor heterogeneity in colorectal cancer. *Nat Commun.* 9(1):2884, 2018.
14. Shiozawa Y, Malcovati L, Galli A, Sato-Otsubo A, Kataoka K, Sato Y, Watatani Y, Suzuki H, Yoshizato T, Yoshida K, Sanada M, Makishima H, Shiraishi Y, Chiba K, Hellström-Lindberg E, Miyano S, Ogawa S, Cazzola M. Aberrant splicing and defective mRNA production induced by somatic spliceosome mutations in myelodysplasia. *Nat Commun.* 9(1):3649, 2018.

15. Shiraishi Y, Kataoka K, Chiba K, Okada A, Kogure Y, Tanaka H, Ogawa S, Miyano S. A comprehensive characterization of cis-acting splicing-associated variants in human cancer. *Genome Res.* 28(8):1111-1125, 2018.
16. Usui Y, Kimura Y, Satoh T, Takemura N, Ouchi Y, Ohmiya H, Kobayashi K, Suzuki H, Koyama S, Hagiwara S, Tanaka H, Imoto S, Eberl G, Asami Y, Fujimoto K, Uematsu S. Effects of long-term intake of a yogurt fermented with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 2038 and *Streptococcus thermophilus* 1131 on mice. *Int Immunol.* 30(7):319-331, 2018.
17. VanderWeele DJ, Finney R, Katayama K, Gillard M, Paner G, Imoto S, Yamaguchi R, Wheeler D, Lack J, Cam M, Pontier A, Nguyen YTM, Maejima K, Sasaki-Oku A, Nakano K, Tanaka H, Vander Griend D, Kubo M, Ratain MJ, Miyano S, Nakagawa H. Genomic Heterogeneity Within Individual Prostate Cancer Foci Impacts Predictive Biomarkers of Targeted Therapy. *Eur Urol Focus.* pii: S2405-4569(18)30007-5, 2018.
18. Yamato G, Shiba N, Yoshida K, Hara Y, Shiraishi Y, Ohki K, Okubo J, Park MJ, Sotomatsu M, Arakawa H, Kiyokawa N, Tomizawa D, Adachi S, Taga T, Horibe K, Miyano S, Ogawa S, Hayashi Y. RUNX1 mutations in pediatric acute myeloid leukemia are associated with distinct genetic features and an inferior prognosis. *Blood.* 131(20):2266-2270, 2018.
19. Yokoyama A, Kakiuchi N, Yoshizato T, Nannya Y, Suzuki H, Takeuchi Y, Shiozawa Y, Sato Y, Aoki K, Kim SK, Fujii Y, Yoshida K, Kataoka K, Nakagawa MM, Inoue Y, Hirano T, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Sanada M, Nishikawa Y, Amanuma Y, Ohashi S, Aoyama I, Horimatsu T, Miyamoto S, Tsunoda S, Sakai Y, Narahara M, Brown JB, Sato Y, Sawada G, Mimori K, Minamiguchi S, Haga H, Seno H, Miyano S, Makishima H, Muto M, Ogawa S. Age-related remodelling of oesophageal epithelia by mutated cancer drivers. *Nature.* 565(7739):312-317, 2019.
20. Yokoyama K, Shimizu E, Yokoyama N, Nakamura S, Kasajima R, Ogawa M, Takei T, Ito M, Kobayashi A, Yamaguchi R, Imoto S, Miyano S, Tojo A. Cell-lineage level-targeted sequencing to identify acute myeloid leukemia with myelodysplasia-related changes. *Blood Adv.* 2(19):2513-2521, 2018.

難病基盤・応用研究プロジェクト室

プロジェクト室長：木村彰方

難病基盤・応用研究プロジェクト室は以下の5研究プロジェクト室で構成した。

研究課題名	研究チーム 氏名(所属部門・分野・職) ○研究代表者、*専任助教
【難病 IBD 研究プロジェクト2】 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(難治病態・病態細胞生物・教授) 樗木俊聡(先端分子・生体防御学・教授) 木村彰方(難治病態・分子病態・教授) 荒川聡子(難治病態・病態細胞生物・講師) 佐藤 卓(生体防御学・講師) 安 健博(難治病態・分子病態・助教) 成瀬妙子(難治病態・分子病態・プロジェクト助教) *仁部洋一(プロジェクト専任助教)
【難病筋疾患研究プロジェクト2】 難病筋疾患の病態解明と治療法の開発に関する研究	○木村彰方(難治病態・分子病態・教授) 黒柳秀人(ゲノム応用・遺伝子発現制御学・准教授) 安 健博(難治病態・分子病態・助教) 成瀬妙子(難治病態・分子病態・プロジェクト助教)
【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(先端分子・低酸素生物学・准教授) 石野史敏(ゲノム応用・エピジェネティクス・教授) 澁谷浩司(先端分子・分子細胞生物学・教授) 三木義男(ゲノム応用・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(ゲノム応用・分子細胞遺伝・教授) 石川俊平(ゲノム応用・ゲノム病理・教授) 角田達彦(ゲノム応用・医科学数理・教授)
【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ー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(ゲノム応用・分子疫学・准教授) 幸田 尚(ゲノム応用・エピジェネティクス・准教授) 宮坂尚幸(医学部・生殖機能協関係学・教授) 今井千裕(ゲノム応用・分子疫学・助教) 須藤カツ子(東京医大・動物実験センター)

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2

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 木村彰方(分子病態・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)

成瀬妙子(分子病態・助教)

安 健博(分子病態・助教)

仁部洋一(プロジェクト専任・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、IBDにおけるMKL1の関与を解明：IBDの動物モデルとしてDSS誘導性腸炎が用いられている。本研究では、DSS誘導性腸炎モデルの病態形成機構におけるMKL1の関与とマクロファージの機能異常機序を解析し、①DSS誘導性腸炎における大腸組織マクロファージのMKL1発現量亢進、②マクロファージ特異的

MKL1高発現マウス(MKL1-Tg)におけるIBD様症状の出現とDSS誘導性腸炎への感受性亢進、③MKL1-Tgにおける大腸組織マクロファージ炎症抑制機能の低下に加えて、④MKL1-Tgにおける骨髄由来マクロファージの増殖亢進と炎症誘導型への分化促進、⑤MKL1-TgとApoEノックアウトマウスの掛け合わせから、MKL1-Tg背景は動脈硬化促進因子となることを発見した。このことは、IBD患者に動脈硬化症(特に冠動脈硬化症)が多いことの背景にMKL1発現亢進が関わることを示唆する。

2、腸炎惹起性単球・マクロファージ分化誘導機構の解明：大腸マクロファージは腸内常在菌に対して病的な炎症を惹起することによって炎症性腸疾患(IBD)を誘導する。最近、当該マクロファージの起源に関してはよく研究されてきたが、マクロファージが如何に腸炎惹起形質を獲得するのかは不明であった。本研究では、デキストラン硫酸ナトリウム(DSS)誘導性のIBDモデルを用いて、大腸局所に集積した炎症性単球と炎症マクロファージから構成されるLy6c+細胞集団が、代表的な腸炎惹起物質であるTNF- α とiNOSを強く発現していること、またIFN- γ -Stat1経路がそれら腸炎惹起性マクロファージの誘導に必要不可欠なことを見出した。重要なことに、IFN- γ は*Tnf*と*iNos*遺伝子プロモーター領域のヒストンアセチル化を介して腸炎惹起性単球・マクロファージ分化を誘導していることが明らかになった。

3、DSS腸炎に対するオートファジー研究：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低分子蛍光プローブを開発した。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同定した。

業績

- Nakanishi Y, Sato T, Takahashi K, and Ohteki T. IFN- γ -dependent epigenetic regulation instructs colitogenic monocyte/macrophage lineage differentiation in vivo. *Mucosal Immunol* 2018; 11: 871-80.
- Iwashita H, Tajima-Sakurai H, Nagahora N, Ishiyama M, Shioji K, Sasamoto K, Okuma K, Shimizu S and Ueno Y. Fluorescent small molecules for monitoring autophagic flux. *FEBS Lett*. 2018; 592: 559-567.
- An J, Naruse TK, Hinohara K, Soejima Y, Sawabe M, Nakagawa Y, Kuwahara K, Kimura A: MRTF-A regulates proliferation and survival properties of pro-atherogenic macrophages. *J Mol Cell Cardiol*. In Press

難病筋疾患研究プロジェクト2

難病筋疾患の病態解明と治療法の開発に関する研究

○木村彰方(分子病態)

黒柳秀人・和仁翔太郎(遺伝子発現制御学)

安 健博・成瀬妙子(分子病態)

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はRNA結合タンパク質RBM20の遺伝子に変異がることが報告されている。RBM20の機能欠損によりスプライシング異常を起こしてタイチンの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原因にな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：

遺伝子発現制御学研究室では、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。分子病態分野では、遺伝性心疾患関連67遺伝子の変異をスクリーニングするシステムを構築し、家族歴を有する拡張型心筋症患者で新たにRBM20のRSRSP配列中にR634W変異を見出した。R634W変異型RBM20はやはり核移行ができなかったことから、患者変異のホットスポットとなっているRSRSP配列はRBM20の核移行に必須の配列であることが明らかとなった。さらに、患者型アミノ酸置換変異を導入した*Rbm20*ノックインマウスを作製し、心臓におけるタイチンのN2B型とN2BA型の比率が大きく変化していることが確認された(Maruyama et al. *Sci Rep* 8: 897, 2018)。さらに、*Rbm20*変異マウスの心臓表現型とタイチン比率との関連を解析している。

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おり、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背景に、低酸素性乳がんにおけるエピジェネティクス制御の分子機構の解明をめざします。現在、低酸素応答に重要な働きをすることが明らかになってきた 2-oxoglutarate (2-OG)-dependent oxygenase 酵素の一つ、TET の解析を進めています。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も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。本研究により、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統合させ、「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)。また、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大きな目標としています。

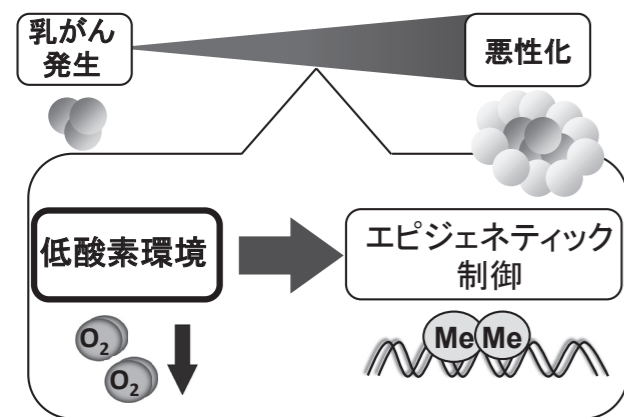


図 難治低酸素性乳がん研究プロジェクトの概略

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)

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、それは予後不良の原因となる。また、外科的治療は、外見の変化や食餌摂取を困難とすることから QOL の低下を招くことが多い。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の間で緊密な連携を取りながらバイオバンクの充実化を図るとともに生体試料のオミクス解析を実施することで、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する。これにより難治性がんである HNSCC・ESCC の新しい診断、治療、予防法の開発を目指す。

2018 年 10 月末現在、口腔がんを含む HNSCC204 例、ESCC420 例のバイオバンクが順調に進んでおり、東京医科歯科大学付属病院でのクリニカルシーケンス実装化に向けての基盤体制が整備されつつある。

・DNA メチル化を指標とした ESCC リンパ節転移予測バイオマーカーの開発

ESCC のゲノム・エピゲノム解析によるリンパ節転移予測バイオマーカーの同定を試みた。67 例を対象に外科切除の ESCC 腫瘍/非腫瘍組織の DNA を用いてビーズアレイ法による網羅的 DNA メチル化解析を実施した。その結果、ESCC のリンパ節転移の有無と有意に相関する DNA メチル化マーカー候補として計 10 個の遺伝子 (座) が統計学的に選出された。それら 10 遺伝子のバイオマーカーとしての有用性を確認するため、新たな ESCC57 症例の検証コホートを用いてパイロシーケンスによる DNA メチル化検出の再現性の確認とリンパ節転移の関連性について統計学的に解析した。その結果、最終的に新規の ESCC リンパ節転移予測 DNA メチル化マーカーとして 2 遺伝子 (HOXB2、SEPT9) を同定した。これら 2 種類の ESCC リンパ節転移予測バイオマーカーの臨床応用に期待がかかる。

・HNSCC のターゲットリシークエンスによる予後予測解析

HNSCC の中でも口腔 SCC に関し、220 臨床検体を対象にホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 切片より抽出した gDNA を用いて、がん関連 50 遺伝子のターゲッ

トリシークエンスを行った。検出された体細胞変異およびコピー数変異と臨床病理学的情報の統合解析から受容体型チロシンキナーゼ (RTK) の増幅を検出した 37 例中 9 例に遠隔転移が認められ、さらに、これら 9 例は全遠隔転移例の 43% (9/21) を占めていた。RTK 増幅群の 5 年生存率は 64.6% であり、RTK 増幅かつ TP53 体細胞変異を有する群における 5 年生存率は 41.6% と極めて予後不良であった。上記結果から、RTK 増幅は口腔 SCC における遠隔転移の予後予測因子となることが示された。

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)

今井千裕 (分子疫学・助教)

幸田 尚 (山梨大学・生命環境学部・教授)

須藤カツ子 (東京医大・動物実験センター・講師)

研究内容

Developmental Origin of Health and Disease (DOHaD) は、“人が生涯健康でいられるか、病気になるか、その潜在的な生体能力は、出生前や幼少期に遭遇した環境による影響を受けて決まってしまう” という概念である。受胎前～妊娠期・新生児期の母親・父親の食事栄養環境が不適切であると、子供が成長して大人になった時に生活習慣病を発症する率が高まる。中年期の慢性的な代謝性疾患に限らず、成長後一定期間を経たのちに発症する精神神経疾患や免疫アレルギー疾患においても、出生前や乳児期の疾患要因への曝露が問題になると考えられている。従って超高齢化が進む我が国においては、慢性的な難治性疾患に対して、生殖周産期からのアプローチによる発症予防方法を構想する必要がある。そのために本プロジェクトでは、本学附属病院で母子コホート研究 (Birth Cohort-Gene Environment Interaction Study in TMDU, BC-GENIST) を実施・解析し、それをベースとしてヒト臨床に即した周産期リスクマウスモデルを作製し、出生前要因による疾患形質形成の分子機序の解明及び発症リスクを抑える周産期要件の科学的根拠の提示に取り組んでいる。

研究の紹介

BC-GENIST の研究協力者のリクルートは 100 を超え、

出産及びその後の追跡データを取得中である。本年度は妊婦のエピゲノムについて解析を進めた。妊娠中期までは、母体内にエネルギーを蓄える同化が優位なのに対し、妊娠後期では胎児成長のためにエネルギーを産生する異化が優位となり、妊娠中期から後期にかけて脂質代謝は劇的に変化する。脂質代謝の変化に伴う体内環境変化は一部肥満と妊娠で共通する。そこで末梢白血球を用いたエピゲノムワイド関連解析 (EWAS) において、脂質関連形質 (BMI や血中脂質濃度) と頑強にメチル化レベルが関連することが知られている *CPTIA* イントロン 1 および *SREBF1* イントロン 1 領域の CpG を対象領域として、妊娠進行が及ぼす影響を解析した。その結果、*SREBF1* のメチル化は妊娠中期の BMI および血清 LDL-C レベルと関連していたが、妊娠後期にはその関連が弱められることを見出した。この変化は同化から異化への代謝スイッチとよく一致した。これに対し、*CPTIA* イントロン 1 のメチル化レベルは血清 LDL-C レベルとの関連が妊娠後期に減弱したが、BMI との関連が見かけ上強められた。この理由は、*CPTIA* イントロン 1 のメチル化レベルが白血球細胞特異的であり、BMI が妊娠中期から後期にかけての白血球組成変化と関連しているためであることを、白血球組成を算定することにより明らかにした。以上により、*CPTIA*、*SREBF1* の末梢血 DNA メチル化レベルは、妊娠過程における脂質代謝状態の変化と白血球組成に反映される免疫学的変化に応じて変化することが明らかとなった。

業績

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 and Sato N, "Metabolic and immunological shifts during mid-to-late gestation influence maternal blood methylation of *CPTIA* and *SREBF1*". Int. J. Mol. Sci., 2019, 20,1066.

講演

Sato N. "Perinatal Immunomethylomics towards DOHaD". 17th Surugadai International Symposium & Joint Usage/Research Program of Medical Research Institute International Symposium, 2018.11.19. Tokyo, Japan.

総説等

佐藤憲子 Developmental Origin of Health and Disease (DOHaD) を理解する新時代の到来—ゲノム・エピゲノムと加齢性慢性疾患の関連性に関する新たな視点. 化学と生物. 2018. Vol.56, No.9, page 613-620.

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
 研究支援推進員：藺部知奈美
 研究支援推進員：植田由希子
 技術補佐員：福井 都代

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3.5万件の解析実績を持っている。また、所内研究者、学生が共通して利用できる研究機器を配置するとともに、各分野にある共通性の高い機器を登録したヴァーチャラボの管理も行っている。なお、2017年より本学リサーチコアセンターと連携を行っている。

以下は、2018年の実績である。

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

本年のキャピラリーシークエンスサービスのサンプル依頼数は32,377、延べ利用人数は3,066名であった。難研外からの依頼サンプル数は19,707となり、全体の6割を占めている。

次世代シークエ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クエンサー Ion S5を導入し、受託サービスを開始した。次世代シークエンサー (Ion

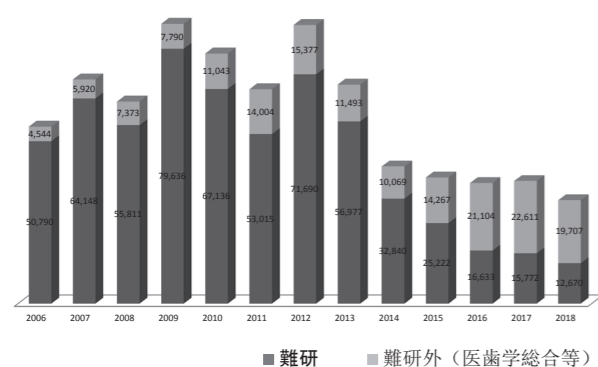


図 キャピラリーシークエンス受託解析サンプル数

PGM・Ion S5) による受託解析サービスについては、本年は20ラン (内難研外1ラン) 行った。またライブラリ作製のサンプル数は118となった。次世代シークエ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

キャピラリーシークエンサー 3130xl 2台、次世代シークエンサー 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。

- 6月6日 次世代シークエンス講習会 (基礎編)
- 次世代シークエンス講習会 (実践編)
- 7月5日 ソニケーター「Covaris」講習会
- 9月27日 新規導入次世代シークエンサー Ion S5 講習会

4. 人事異動

- 転出 石田 麗子 (技術補佐員)
- 転入 植田由希子 (技術補佐員)

II. 細胞・プロテオーム解析室

技術専門職員：名和真希子

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

本解析室は、所内の研究者が細胞分離やプロテオーム解析を行うにあたり支援・委託解析を行う共同利用施設として設置された。主に細胞と蛋白質を対象とする解析の研究支援に焦点を置き、最新の機器を設置し解析技術の進歩に対応していく方針である。

本解析室ではプロテオーム解析について、二次元電気泳動システム、質量分析計、生体分子相互作用解析装置

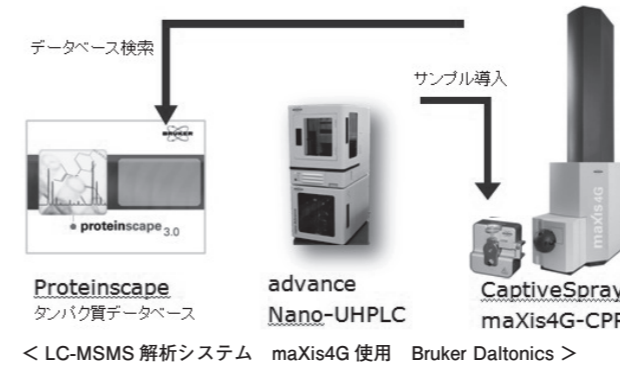
Biacore T100, Microcalorimetry TC200, Eppendorf InjectMan NI2, Leica MI65FC等を常備しており、様々な視点から蛋白質に対する解析を行える状況になってい

る。

質量分析計によるLC-MSMS解析システムを利用した受託解析も行っている。

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

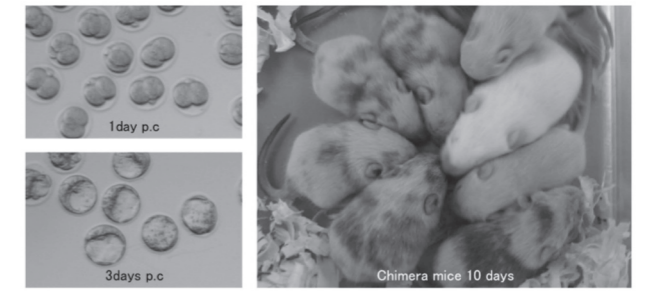
プロテオームユニット部門内には、異なるタイプの質量分析機器が複数稼働しており、目的蛋白質の同定・翻訳後修飾等の同定による使い分けをしている。円滑に解析、利用、運営できるよう互いに連携を図っている。



III. 未来ゲノム研究開発支援室

技術職員：宇佐美貴子
 技術補佐員 (研究支援推進員)：石久保春美
 技能補佐員：木崎 未央

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。

本支援室は、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。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できない強力なツールを提供し、研究の便宜をはかっている。

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

<設置機器>

- ・共焦点レーザー顕微鏡 … LSM710, LSM510META (Carl Zeiss)
- ・凍結マイクロトーム … CM3050s (Leica)
- ・ロータリーマイクロトーム … HM-325E, HM-335E (Micom)
- ・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 Scientific)
- ・パラフィンブロック作成装置 … Histostar (Thermo 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、正しい機器の使用方法を体得してもらうため、事前にメーカーによる講習会を受講することを義務づけている。今年度の開催日程は以下の通りである。

- ・共焦点レーザー顕微鏡講習会（カールツァイス株式会社）
春季…5月29日、秋季…10月30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16日

V. 幹細胞支援室

技術専門職員：齊藤 佳子

技術補佐員（研究支援推進員）：豊田 麻美

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（研究支援推進員）1名（2018年3月末日退職）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 Legacy（ベックマンコールター）

高速セルソーター MoFlo XDP（ベックマンコールター）

共焦点レーザー顕微鏡タイムラプス撮影システム FV10i-w（オリンパス）

共焦点レーザー顕微鏡撮影システム FV10i-DOC（オリンパス）

倒立型電動リサーチ顕微鏡 IX81（オリンパス）

ハイブリオープン（TAITEC）

超音波破砕器（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、学外からの利用も受けている。

3. 2018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5月と10月に申込者数にあわせて合計3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。2018年の当支援室の利用者数はのべ457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、既存の機器のバージョンアップ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、生命医学分野の発展に貢献するため、大学院教育・研究を支援する施設としての活動を行っている。

細胞株の寄託・分譲業務は、寄託から分譲まで一連の体制を構築し、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、細胞株の学外分譲に関して、当学産学連携研究センターと協力し、寄託者の権利および細胞株の安全な使用の遵守を提供者側に求めるため、学外用書類を整備した。細胞株等の適切な保管維持を目的に、マイコプラズマ汚染検査を受託しているが（図1参照）、当該年度は、前年度同様、高い受託件数であった。Bリンパ芽球樹立業務は、安定した樹立効率を維持しており、学内外からの継続的な依頼を請け負っている。当該年度は、東北大学等からの新規依頼を受け付けた。生体試料保存業務は、学内のみ受付となっているが、引き続き多くの検体について保存依頼があり、停電時にも影響なく試料を保管可能な大型液体窒素タンク（図2参照）は、利用者に有効活用されている。

また、当該年度4月には、担当技術補佐員が交代した

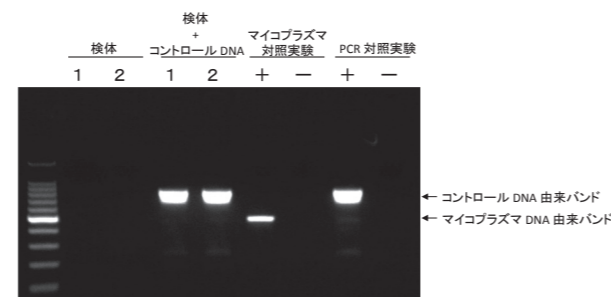


図1 マイコプラズマ汚染検査 参考資料
※写真はマイコプラズマ陰性の2検体



図2 大型液体窒素タンク G430-S 大陽日酸

が、支援室業務は適切に運営されている。当該年度、支援室業務内容を点検し、当学倫理委員会の承認を得た。

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 μV ）も導入されている。大学院の学生を対象として、装置の取り扱いやタンパク質の結晶化についての演習を行ったほか、研究所の共同研究拠点事業に参画し、学外からの利用も受け入れている。

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 佐藤淳
大学院生 小池博之
劉琳
熊上尚樹
研究支援員 満友陽子

分子神経科学分野

教授 田中光一
准教授 相田知海
助教 石田紗恵子
大学院生 平岡優一
趙卓揚
半田剛久
萩原くるみ
Bi Haining
相川治奈
澤田裕太
Zhao Di
研究生 Cheng Zhao
技術補佐員 大野里美

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 櫛笥博子
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
技術補佐員 木村麗子
事務補佐員 高倉由記子
押切明美

幹細胞制御分野

教授 田賀哲也
准教授 信久幾夫
助教 榑康一
連携研究員 鹿川哲史
備前典久
非常勤講師 影山龍一郎
柏木太一
技術補佐員 室田吉貴
井上和子
室田吉貴
齋藤清香
Alapati Aimitijiang
横居優貴
巽瑠璃子
松永浩明
東康哉
飯塚直樹
奥野里彩
巳鼻佑作
塚原涼太
大学院研究生 Liu Wenyu
Melig Gerel
Zhang TingTing

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
プロジェクト助教 梶田美穂子
大学院生 稲澤美奈子
南出夏奈
山本明那
泉湧太
石川駿
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 沼本修孝
大学院生 全熙斌

神経病理学分野

教授 岡澤均
准教授 田川一彦
非常勤講師 井上治久
曾根雅紀
内原俊記
助教 藤田慶大
本間秀典
山西恵美子
秘書 田中麻里絵
事務補佐員 張雪梅
佐藤しげみ
大学院生 田中ひかり
近藤和
猪爪舞子
吉岡優希
金晓岑
金美花

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
事務補佐員 三田雅代
特別研究生 森岡真

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
秘書 桜井一
深堀仁美

技術補佐員 吉野育代
中名生幾子
大学院生 杉本夕奈
関豊和
野口沙央理
中井美由紀
遠藤葉月
久保田ジョシュア
小川千奈見
特別研究生 加藤瑞生

発生再生生物学分野

教授 仁科博史
講師 本間謙吾
助教 宮村憲央
石原えりか
特任助教 森ゆかり
事務補佐員 田中和子
大学院生 山下真梨子
進匡
ALIF Yikelamu
P U J i n g
須永沙智
長岡勇也
研究生 則信安里
短期交流学生 石野匠

免疫疾患

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 Medzhidov.Nazim
技術補佐員 大関史織
萩生田絵美
事務補佐員 澤田千賀子
大学院生 Feng,Yang-yang
Alborzian-Deh-Sheikh,Amin
Yang, Hongrui
Li, Xuexin
安部有紀
西田響子
Long, Wang
遠藤萌恵
Huang, Yuming
加藤秋生

大学院研究生 鈴木雅人
短期交流学生 崔楊
國武慎治

分子病態分野

教授 木村彰方
助教 安健博
成瀬妙子
事務補佐員 佐々木悦子
技術補佐員 谷口久美子
橋野一美
非常勤講師 布田伸一
共同研究者 久場敬司
武谷立
寺尾知可史

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
大学院生 劉楠
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
貝塚利恵
津田麻里沙
秘書 渡邊郁

分子細胞遺伝分野

教授 稲澤讓治
講師 井上純
助教 村松智輝
玄泰行
特任助教 Daniela Tiaki Uehara
大学院生 古澤啓子
外内えり奈

分子遺伝

教授 三木義男
准教授 中西啓
助教 砂田成章
大学院生 鄧宇
福田未緒
Enkhbat Gerelmaa
東條陽
X u Z e y u
大学院研究生 Zhang DouDou
Z h a o Y u i
Guo QianQian

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
非常勤講師 新井富生
大学院生 藤谷啓雄
勝田江朗
メディナ・アブサトル
エイ・ココ・ミン
シルバ・バベティナット
縦媛
飛知和尚美
J i n X i n
トウ・タイガ

エピジェネティクス分野

教授 石野史敏
准教授 幸田尚
助教 志浦寛相
プロジェクト講師 李知英
プロジェクト助教 北澤萌恵
技術補佐員 松沢歩
非常勤講師 小林慎
大学院生 高木清考
松沢歩
黒田友紀子
細井勇輔
酢谷明人
金子凜
立花沙織

ゲノム病理学分野

教授 石川俊平
助教 加藤洋人

河村大輔
技術補佐員 山本麻未
鈴木良平
小西寛城
鈴木花実
梅崎敏和
伊佐碩恭
坪坂歩
佐野恭平
末吉国誉
非常勤講師 永井純正
事務補佐員 田向美春
大学院生 河辺昭宏
香田弘知
渥美振一郎
古谷弦太
張夢華
弓庭さつき

医科学数理分野

教授 角田達彦
講師 宮冬樹
助教 西野穰
非常勤講師 重水大智
細江隼
秘書 中村由実

フロンティア研究室 低酸素生物学

准教授 中山恒
助教(難病基盤・応用研究プロジェクト室) 與那城亮
大学院生 榎本峻秀
技術補佐員 江口加代子

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

フロンティア研究室 骨分子薬理学

准教授 江面陽一
技術補佐員 梶川修平
連携研究員 佐久間朋美

連携研究部門 病態発現機構

教授 宮野悟
教授 井元清哉

大学院教育研究支援施設

ゲノム解析室

助教 谷本幸介
研究支援推進員 藺部知奈美
植田由希子
技術補佐員 福井都代

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 (2018年6月～：遺伝子組み換えマウス実験室より改称)

技術職員 宇佐美貴子
技術補佐員(研究支援推進員) 石久保春美
技能補佐員 木崎未央
派遣職員 木野目智子

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(研究支援推進員) 豊田麻美

支援室

事務補佐員 高尾美帆
事務補佐員 小関航太

バイオリソース支援室

技術補佐員 高岡美帆

事務部

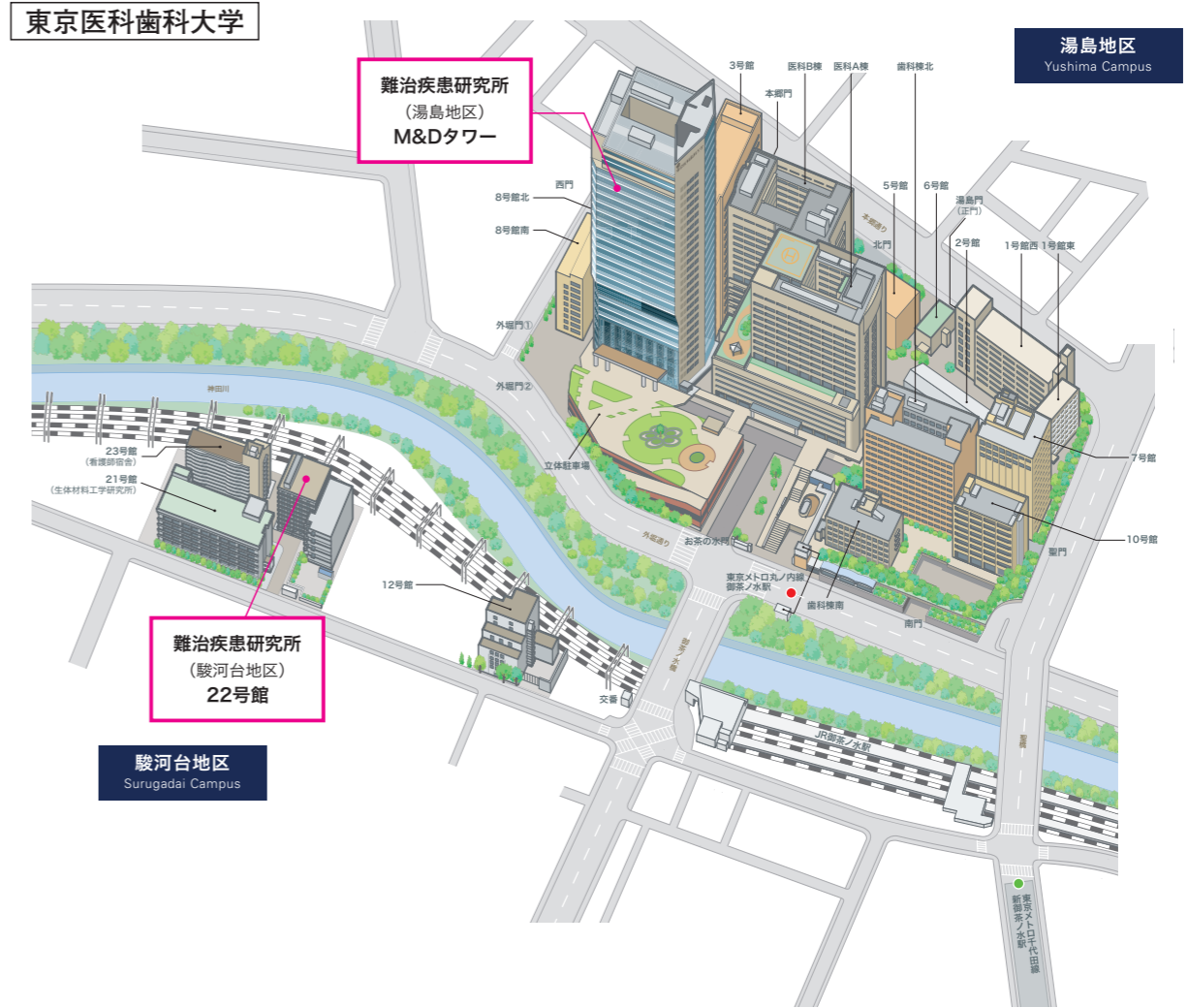
事務長 坂入幸雄
阿部勝也
事務主事 渡邊剛志
副事務長 坂口奈美
総務係長(兼) 渡邊剛志
坂口奈美
総務係主任 小林俊彦
総務係員 木下清隆
林健策
矢吹南実
事務補佐員 近江有里
高橋将貴

難治疾患研究所運営諮問委員会委員

- 郷 通子 先生 名古屋大学 理事
- 笹月 健彦 先生 九州大学高等研究院 特別主幹教授
- 田中 隆治 先生 星薬科大学長
- 谷口 克 先生 理化学研究所統合生命医科学研究センター 特別顧問
- 永井 良三 先生 自治医科大学長
- 中釜 斉 先生 国立がん研究センター 理事長
- 長野 哲雄 先生 東京大学創薬機構 客員教授
- 西川 伸一 先生 J T生命誌研究館 顧問

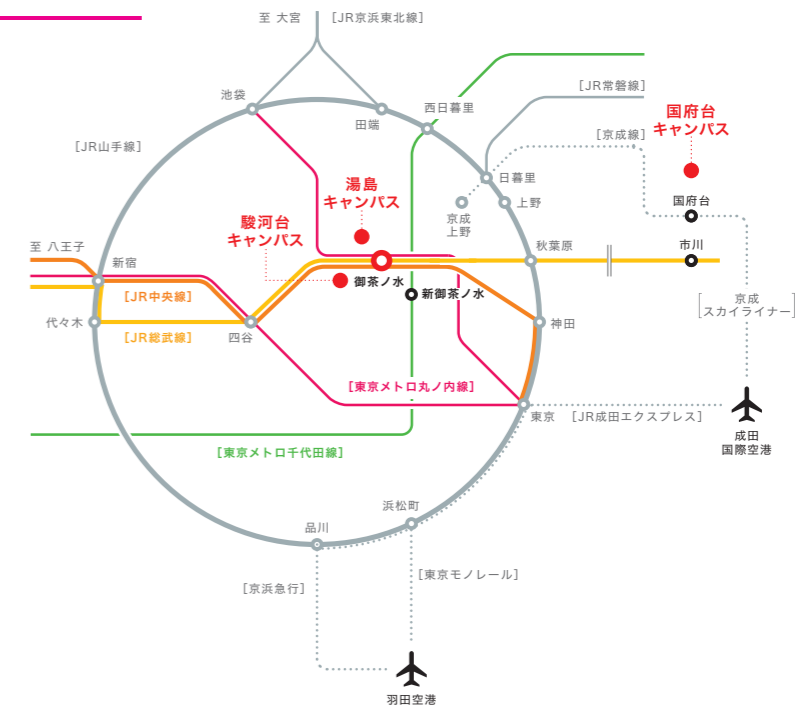
(50音順)

案内図



最寄駅

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



年報 2019

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