

Annual Report 2018



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

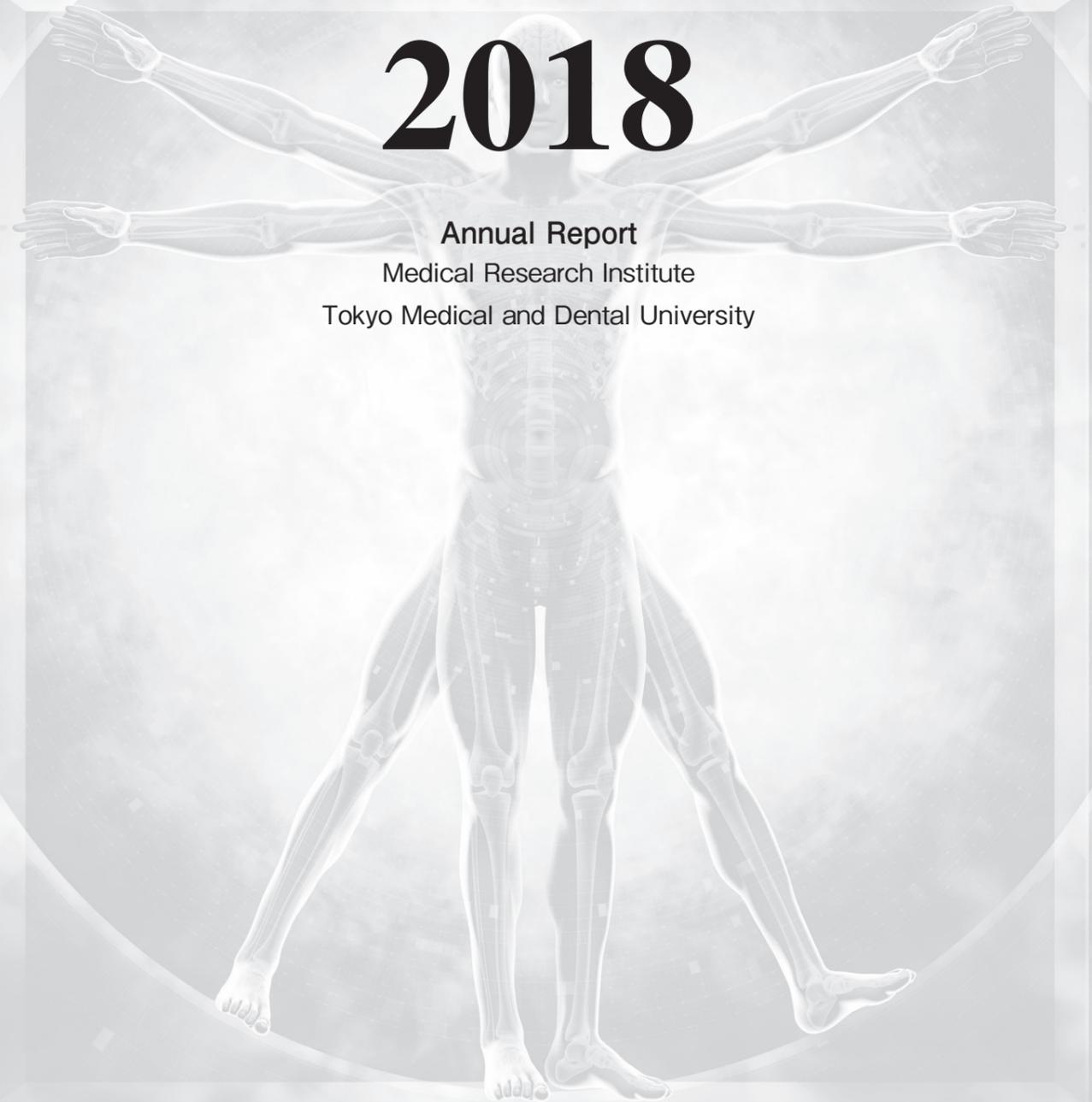
年報

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

2018

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2017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、東京医科歯科大学の方針でもある「難治疾患の克服」を第一のミッションに掲げ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。ここでいう難治疾患とは「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」を指し、国の指定する難病以外にもガンや肥満、糖尿病などの生活習慣病など幅広い疾患を対象とします。

本研究所は、平成21年に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、現在も活動を続けております。平成28年度からの第二期の拠点活動に合わせて、分野横断型の難病基盤・応用研究プロジェクトを新しい試みとしてスタートしました。また、九州大学生体防御医学研究所、熊本大学発生医学研究所、徳島大学先端酵素学研究所と「トランスオミクス医学研究」に関するネットワーク型拠点としての活動も行っています。

今後も、最先端の研究活動で生みだした成果を、拠点活動を通じて学内の研究者だけでなく広く研究者コミュニティの方々に利用していただけるよう、鋭意努力をしていきたいと考えておりますので、よろしくお願いたします。

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 ~ 11
5. 難治疾患共同研究拠点	12 ~ 15
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	16 ~ 17
7. 学位取得者	18
8. 難研セミナー	19

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 22 ~ 23
2. 分子神経科学分野 24 ~ 25
3. 生体防御学分野 26 ~ 27
4. 生体情報薬理学分野 28 ~ 29
5. 幹細胞制御分野 30 ~ 31
6. 分子構造情報学分野 32 ~ 33
7. フロンティア研究室 低酸素生物学 34 ~ 35
8. テニュアトラック研究室 細胞分子医学分野 36 ~ 37
9. フロンティア研究室 骨分子薬理学 38 ~ 39

難治病態研究部門

1. 神経病理学分野 42 ~ 43
2. 病態細胞生物学分野 44 ~ 45
3. 発生再生生物学分野 46 ~ 47
4. 幹細胞医学分野 48 ~ 49
5. 免疫疾患分野 50 ~ 51
6. 分子病態分野 52 ~ 53

ゲノム応用医学研究部門

1. 分子細胞遺伝学分野 56 ~ 57
2. 分子遺伝学分野 58 ~ 59
3. 分子疫学分野 60 ~ 61
4. ゲノム病理学分野 62 ~ 63
5. エピジェネティクス分野 64 ~ 65
6. 医科学数理分野 66 ~ 67
7. フロンティア研究室 遺伝子発現制御学 68 ~ 69
8. プロジェクト研究室 70

- ・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 ~ 78

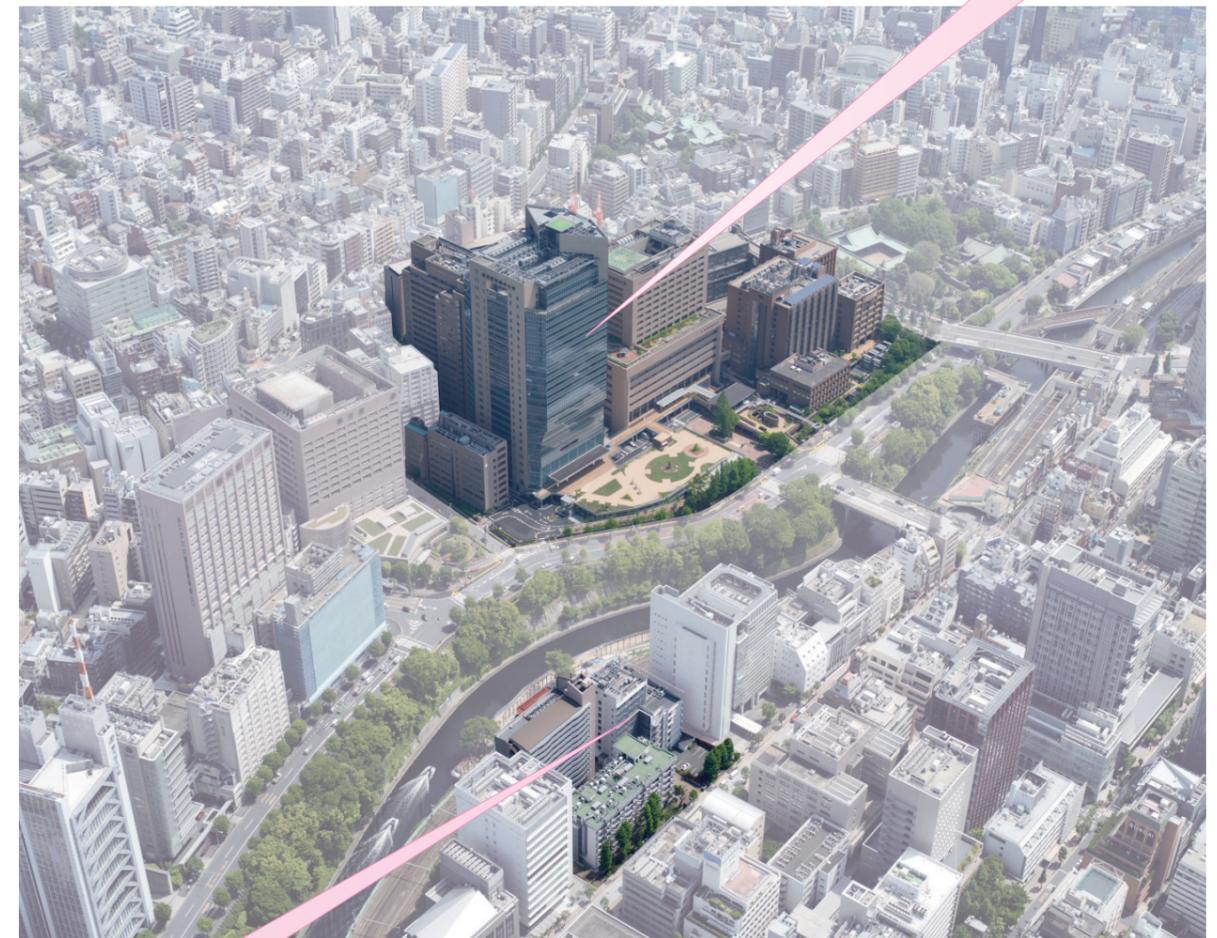
職員学生名簿	79 ~ 83
諮問委員名簿	84
案内図	85

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
プロジェクト研究室

難治疾患研究所

平成30年4月1日現在



職員及び学生数

●学生数

平成30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	分子代謝医学分野	0	0	0	0	
		分子薬理学分野	0	0	0	0	
		分子細胞生物学分野	0	0	0	0	
		分子神経科学分野	4	2	1	0	
		生体防御学分野	3	1	0	0	
		生体情報薬理学分野	1	0	2	0	
		幹細胞制御分野	7	3	0	0	
		分子構造情報学分野	0	0	0	0	
		フロンティア研究室 低酸素生物学	1	0	0	0	
		フロンティア研究室 骨分子薬理学	0	0	0	0	
		フロンティア研究室 細胞分子医学	2	0	0	1	
		難治病態研究部門	神経病理学分野	2	3	0	0
			病態生化学分野	0	0	0	0
	病態細胞生物学分野		1	4	2	0	
	発生再生生物学分野		6	2	1	0	
	幹細胞医学分野		1	6	0	0	
	免疫疾患分野		7	0	3	1	
	分子病態分野		0	1	0	2	
	ゲノム応用医学研究部門		分子細胞遺伝学分野	1	7	0	2
			分子遺伝学分野	3	1	1	2
			分子疫学分野	3	6	1	1
		遺伝生化学分野	0	0	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	1	0	
	医科学数理分野	0	0	0	0		
	フロンティア研究室 遺伝子発現制御学	1	0	1	0		
	計		45	36	13	9	

●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	19	17	4	22	4	22	89	4	10	36	5	18	77	167

●日本学術振興会特別研究員数

区分	PD	DC1	DC2	SPD	RPD
現 員	2	1	0	0	0

ハイライト

ヒト単球・マクロファージの源となる細胞を発見

Kawamura S, et al., Identification of a human clonogenic progenitor with strict monocyte differentiation potential - a counterpart of mouse cMoPs. *Immunity* 46, 835-48 (2017).

近年のマクロファージ研究により、成体の組織常在性マクロファージの多くが胎生期の赤血球系ミエロイド前駆細胞 (EMP) 由来であり、感染や組織損傷を含む炎症反応が起こると、骨髄単球の炎症組織への浸潤とマクロファージへの分化、さらに組織常在性マクロファージとの置換が徐々に促されることが明らかになった。炎症性腸疾患では、単球が腸粘膜に浸潤後腸炎惹起マクロファージになり TNF α を産生して炎症病態を拡大させる。がん組織では、腫瘍関連マクロファージ (TAM) として、がん細胞の増殖・浸潤・転移を直接促す因子を放出する一方、がん細胞を破壊する細胞傷害性 T 細胞をはじめとする免疫細胞の働きを抑制する。それら疾患以外にも、単球由来のマクロファージや破骨細胞は、肥満や動脈硬化、組織の繊維化、骨粗鬆症などへの積極的関与も知られている。

単球は造血幹細胞から複数の前駆細胞を経て分化する。マウスでは、2013 年、単球系列のみを供給する共通単球前駆細胞 (common monocyte progenitor, cMoP) が報告されたが、ヒトにおいて、単球がどのような細胞から作られるのか、単球のみを作る源になる細胞が存在するのかなど、多くの点が不明であった。

私たちの研究グループは、ヒト単球の分化経路を明らかにするため、臍帯血または骨髄細胞を用いてさまざまな表面分子のスクリーニングを行い、ヒト単球に高発現する CD64 と CLEC12A に着目した。ヒト臍帯血や骨髄中には、顆粒球と単球への分化能を併せ持つ GMP (granulocyte and monocyte progenitor) という前駆細胞が過去に報告されており、この GMP が CD64 と CLEC12A の発現レベルによって 4 つの亜集団に分かれることを見出した。そして各分画の分化能を解析したところ、CLEC12A^{hi}CD64^{hi} 分画は単球のみに、CLEC12A^{hi}CD64^{int} 分画は単球と顆粒球に分化した。これら 2 分画はリンパ球への分化能を完全に欠落していることも明らかになった。一方、残り 2 つの分画は雑多な

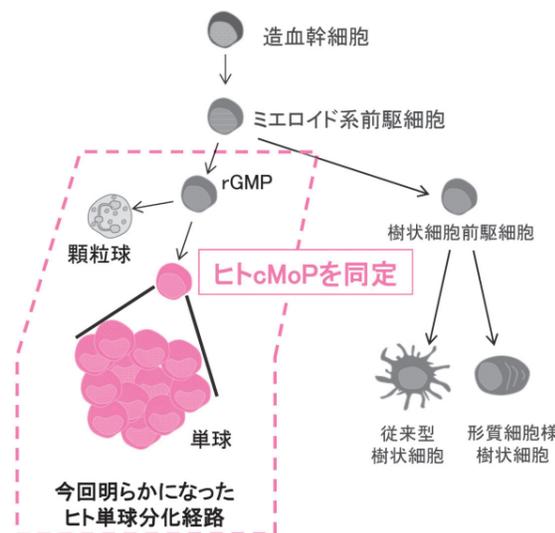


図 1 ヒト単球の源細胞 cMoP の同定

前駆細胞の集合体あるいは多能性前駆細胞と思われた。これらの結果から、CLEC12A^{hi}CD64^{hi} 分画が単球のみを数多く産生するヒト cMoP、CLEC12A^{hi}CD64^{int} 分画がより真の GMP に近い形質をもつ集団であることから revised GMP (rGMP) と定義した。また、cMoP ならびに単球系列の網羅的遺伝子発現データを用いた樹形図階層型クラスター解析、主成分解析、GSE 解析結果も踏まえ、ヒト単球分化経路として、ミエロイド前駆細胞 → rGMP → cMoP → プレ単球 → CD14⁺ 単球を提示した (図 1)。

現在製薬企業と共同で、ヒト cMoP ならびに単球系列を標的とした治療薬の開発を進めている。

(生体防御学分野 梶木俊聡)

第 16 回駿河台国際シンポジウム / 第 8 回難治疾患共同研究拠点国際シンポジウムを開催

2017 年 10 月 11 日 鈴木章夫記念講堂 (M&D タワー 2 階) において第 16 回駿河台国際シンポジウム / 第 8 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、生命科学研究の成果を内外に広く発信するとともに、国際的な第一線級の研究者を招待し、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「老化研究最前線 - 健康寿命の延伸にむけて -」をテーマに国内外から 11 名の老化研究におけるトップクラスの研究者により最先端の研究結果が発表されました。

第一部では岡澤均教授、田中光一教授の座長のもと、「寿命を制御するシグナルから脳の老化まで」をテーマに京都大学大学院生命科学研究所 西田栄介教授、国立長寿医療研究センター 佐藤亜希子プロジェクトリーダー及び難治疾患研究所 岡澤均教授による研究成果が発表され、活発な意見交換が行われました。

第二部では西村栄美教授、梶木俊聡教授の座長により、「幹細胞老化から組織・臓器の老化まで」をテーマに Leibniz Institute on Aging (FLI) の Karl Lenhard Rudolph 博士、Institute for Research In Biomedicine (IRB Barcelona) の Salvador Aznar Benitah 博士、難治疾患研究所 西村栄美教授及び慶應義塾大学医学部 佐藤俊朗 准教授による発表がありました。

第三部では仁科博史教授、大石由美子准教授の座長により、「臓器連関から個体の老化まで」をテーマに千葉大学大学院医学研究院 真鍋一郎 教授、難治疾患研究所 大石由美子 准教授、名古屋大学環境医学研究所 菅波

孝祥 教授及び東北大学大学院医学系研究科 片桐秀樹教授による発表がありました。

レセプションでは吉澤靖之学長、石野所長、木村特命副学長より祝辞が述べられ、海外招待講演者へ記念ミニ楯が授与されました。

海外からの参加で招待講演をされた Karl Lenhard Rudolph 教授ならびに Salvador Aznar Benitah 教授の挨拶においても、本シンポジウムは世界トップレベルの最先端の内容で刺激になる素晴らしい内容であったとの感想が聞かれました。

世界で最も急速に高齢化が進むことが予測されている



Karl Lenhard Rudolph 博士による発表



仁科教授による開会の挨拶



Salvador Aznar Benitah 博士による発表



西田栄介教授による発表の様子



座長の西村栄美教授

我が国においては、加齢に関連する疾患の克服ならびに健康寿命の延伸を目的とした老化の基礎メカニズムの解明や、それに基づく老化の制御に関する研究は、世界に先駆けて取り組むべき喫緊の課題となっています。その

ような背景において、今回のシンポジウムにおける一流の研究者による活発な議論や交流は、将来への日本の健康長寿へと繋がるもの期待されます。



会場の様子



記念ミニ瓶授与の様子



参加者による集合写真



木村彰方特命副学長による乾杯



吉澤靖之学長による祝辞



石野史敏所長による挨拶

中国医科大学于晓松副学長ら来訪

難治疾患研究所と学术交流協定のある中国医科大学の于晓松副学長、中国医科大学国際交流センターの馬鳳毛主任、同センター副主任の王奕萍教授ら4名の代表団が平成29年12月25日に難治疾患研究所を訪問しました。学内を見学したのちに、田賀副学長および鏝田教授と会談し、今後さらに学术交流を推進することで一致しました。なお、中国医科大学の卒業生は、これまでに多数本学で大学院生として研究をおこなっています。



左から、王教授、于副学長、田賀副学長、鏝田教授、馬主任

(免疫疾患分野 鏝田武志)

各種受賞

発生再生生物学分野

平山順

AOSP Award for Young Scientists

細胞分子医学分野

早川清雄

東京医科歯科大学 免疫学・病態生化学領域合同シンポジウム 優秀若手研究奨励賞「自然免疫応答の調節機構」

幹細胞医学分野

西村栄美

Myron Gordon Award

松村寛行

平成29年度「学長裁量優秀若手研究者奨励賞」

分子神経科学分野

瀧川遥

東京医科歯科大学脳統合機能研究センター・最優秀口頭発表賞

杉山香織

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

瀧川遥

「次世代脳プロジェクト」冬のシンポジウム2017若手優秀発表賞

分子細胞遺伝分野

稲澤譲治

「分子細胞遺伝学的アプローチによる癌と遺伝性疾患のゲノム・エピゲノム解析研究」第47回日本人類遺伝学会賞

免疫疾患分野

MEDZHIDOV Nazim

ポスター「Distinct ubiquitination level and sorting of the B cell receptor」

優秀ポスター賞

平成29年度日本生化学会関東支部例会

鏝田武志

オイゲン・ウント・イルゼ・ザイボルト賞 (Eugen-und-Ilse-Seibold-Preis, Eugen and Ilse Seibold Prize)

赤津ちづる

東京医科歯科大学 平成29年度「学長裁量優秀若手研究者奨励賞」

2017年難治疾患研究所優秀論文賞

最優秀論文賞

川村俊輔 (生体防御学分野)

Identification of a Human Clonogenic Progenitor with Strict Monocyte Differentiation Potential: A Counterpart of Mouse cMoPs
Immunity

優秀論文賞

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
Cell Reports

藤田慶大 (神経病理学分野)

Developmental YAPdeltaC determines adult pathology in a model of spinocerebellar ataxia type 1

Nature Communications

宮村憲央（発生再生生物学分野）

YAP determines the cell fate of injured mouse hepatocytes in vivo

Nature Communications

**平成 29 年度大学院生研究発表会・若手研究者研究発表会
(平成 30 年 3 月 1 日開催) 受賞者**

大学院生

優秀賞

ALBORZIAN DEH SHEIKH, Amin（免疫疾患分野）

Study on the cis-ligand mediated regulation of CD22

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

ベストプレゼンテーション賞

FENG YANGYANG（免疫疾患分野）

Role of NADPH oxidases in BCR ligation-induced ROS production and activation

難治疾患研究賞

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

萌芽賞

AKDEMIR BURAK（分子細胞遺伝分野）

miR-432 Induces NRF2 Stabilization by Directly Targeting KEAP1

若手研究者

1 位

森永浩伸（幹細胞医学分野）

Obesity accelerates hair loss through fate switching of hair follicle stem cells

特許申請

発生再生生物学分野

Anti-YAP antibody producing hybridoma clone8G5 (MilliporeSigma)

細胞分子医学分野

<特許出願（国内）>

発明の名称：免疫応答を制御する核酸および核酸の加工法

発明者：大石由美子、早川清雄

出願番号：特願 2017-049827

出願日：2017/03/15

発明の名称：筋サテライト細胞の培養方法

発明者：大石由美子、林 晋一郎

出願番号：特願 2017-121787

出願日：2017/06/22

分子神経科学分野

発明の名称：「遺伝子ノックイン細胞の作成方法」

出願番号：PCT/JP2017/27838

出願日：2017 年 8 月 1 日（優先日：2016 年 8 月 10 日）

発明者：相田知海・田中光一

分子細胞遺伝分野

2017 年 2 月 28 日、特願 2017-036122、「食道がんのリンパ節転移可能性のデータ取得方法」稲澤譲治・村松智輝・永田啓明・谷本幸介・河野辰幸・井元清哉・宮野悟、国立大学法人東京医科歯科大学、国立大学法人東京大学、株式会社ビー・エム・エル

2017 年 11 月 29 日、特願 2017-229046、「マイクロ RNA 及びその誘導体を有効成分とするがん治療剤」稲澤譲治・玄泰行・村松智輝・外内えり奈、国立大学法人東京医科歯科大学

生体防御学分野

国際公開番号：WO 2017/179718 A1

免疫疾患分野

発明の名称：耐塩性乳酸菌、耐塩性乳酸菌の培養方法、及び免疫賦活剤

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 2017-175169、PCT/JP2017/32933

出願日：2017/9/12

神経病理学分野

新規特許出願

整理番号：P15-050P

発明の名称：HMGB1 抗体によるアルツハイマー病治療

出願番号：PCT/JP2017/ 28773

出願日：2017/08/08

出願国：PCT

発明者：岡澤 均

出願審査請求

整理番号：P12-024P-JP

発明の名称：脊髄小脳変性症を予防又は治療するための薬剤

出願番号：特願 2015-541657

出願日：2014/10/10

出願国：日本

審査請求日：2017/10/05

発明者：岡澤 均

整理番号：P13-019P-JP

発明の名称：アルツハイマー病及び前頭側頭葉変性症の診断方法、診断薬、治療薬、

及びこれら薬剤のスクリーニング方法

出願番号：特願 2015-555030

出願日：2014/12/25

出願国：日本

審査請求日：2017/12/18

発明者：岡澤 均

出願公開

整理番号：P13-019P-US

発明の名称：アルツハイマー病及び前頭側頭葉変性症の診断方法、診断薬、治療薬、

及びこれら薬剤のスクリーニング方法

出願番号：15/107502

出願日：2014/12/25

出願国：米国

公開番号：US 2017/0182012 A1

公開日：2017/06/29

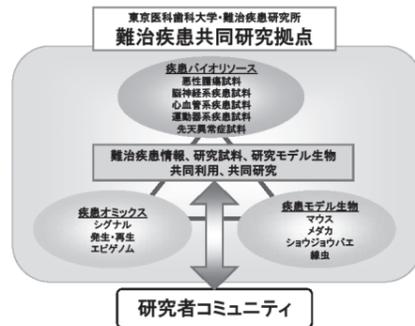
発明者：岡澤 均

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、平成 21 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、平成 22 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。



平成 29 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
鈴木 聡 教授 (神戸大学医学系研究科) 寺井 崇二 教授 (新潟大学大学院医歯学総合研究科) 仁科 博史 教授 (発生再生生物学分野)	損傷した肝細胞を排除する仕組みを発見	YAP determines the cell fate of injured mouse hepatocytes in vivo. <i>Nature Communications</i> 2017 Aug 7;8:16146.
辻本 寛英 研究所長 (大阪府立成人病センター) 清水 重臣 教授 (病態細胞生物学分野)	オートファジー細胞死の生体での役割	Role of Atg5-dependent cell death in the embryonic development of Bax/Bak double-knockout mice. <i>Cell Death and Differentiation</i> 2017 24, pages 1598-1608
永石 宇司 准教授 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科) 木村 彰方 教授 (分子病態分野)	炎症性腸疾患発症感受性が高い新たなモデルマウスを樹立	MKL1 expressed in macrophages contributes to the development of murine colitis. <i>Scientific Reports</i> 2017 7, Article number: 13650
石川 智則 助教 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科) 幸田 尚 准教授 (エビジェネティクス分野)	ヒト着床前胚の、親の年齢による遺伝子発現変化を捉える	Parental age and gene expression profiles in individual human blastocysts. <i>Scientific Reports</i> 2017 8, Article number: 2380
高橋 恭子 准教授 (日本大学生物資源科学部) 樺木 俊聡 教授 (生体防衛学分野)	インターフェロン γ は炎症性腸疾患の原因となるマクロファージを誘導する	IFN- γ -dependent epigenetic regulation instructs colitogenic monocyte-macrophage lineage differentiation in vivo. <i>Mucosal Immunology</i> . 2017 [Epub ahead of print]

平成 29 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
水島 恒和	教授	大阪大学大学院医学系研究科	Atg5 非依存的オートファジー誘導活性化化合物のマウス腸炎モデルに対する治療効果
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
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
宮脇 敦史	副センター長	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機能可視化マウスの開発
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

2) 挑戦的課題 3 件

代表者	職名	所属機関	研究題目
千葉 奈津子	教授	東北大学加齢医学研究所	乳腺発がんにおける BRCA1/2 タンパク機能の統合的理解
黒田 裕	准教授	東京農工大学	X 線結晶構造解析を用いた Dengue ウイルス血清型間における交差反応の変異体解析
青木 大輔	教授	慶應義塾大学医学部	卵巣癌におけるオートファジー活性の意義と個別化医療の開発

3) 一般的課題 46 件

代表者	職名	所属機関	研究題目
片桐 豊雅	教授	徳島大学先端酵素学研究所	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	昭和薬科大学	TMEPAI ノックアウトマウスにおける消化管腫瘍形成抑制
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
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
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癌の病態解明と治療戦略の開発
金児 - 石野知子	教授	東海大学健康科学部	LTR レトロトランスポゾン由来の真獣類特異的遺伝子群の解析
築地 信	准教授	星薬科大学・薬学部	シングルセル RT-PCR 法による B 細胞および T 細胞の受容体レパトアと免疫応答の相関解析
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	一本鎖 Fv 抗体とアダプター分子 SH2 の分子認識機構解明と創薬への展開
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	胎仔特異的に活性化する転写因子 Runx1 エンハンサーを用いた造血肝細胞の運命付け
木村 太一	病理診療科医長	国立病院機構北海道医療センター	滑膜肉腫幹細胞における SWI/SNF 型クロマチン再構成異常の役割の解析
廣瀬 伸一	教授	福岡大学医学部医学科	難治性の乳児期発症てんかん性脳症における疾患原因遺伝子探索
柏木 太一	助教	東京医科大学	グリオーマ幹細胞発生機構解明のための海馬成体神経幹細胞制御機構の理解
金井 正美	教授	東京医科歯科大学実験動物センター	胎生期の造血幹細胞における転写因子 Sox17 と Sox7 の発現解析
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の解明
亀井 康富	教授	京都府立大学生命環境科学研究科	筋萎縮・筋機能不全を改善する機序解明の基盤研究
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	ヒト体外受精胚培養液の解析
前田 大地	准教授	秋田大学大学院医学系研究科	ハンナ型間質性膀胱炎の原因抗原同定と分子生物学的な病態解明
松井 広	教授	東北大学大学院生命科学系研究科	アストロサイトの代謝の可視化と光操作による病態脳制御法の開発
眞鍋 一郎	教授	千葉大学大学院医学研究院	エピゲノムと代謝の連携制御ダイナミズム解析
浅岡 洋一	講師	山口大学大学院医学系研究科	YAP によるメカノホメオスタシス制御機構の解明
武谷 立	教授	宮崎大学医学部	心筋症発症に関わるサルコミア関連遺伝子の変異探索と発症機構の解明
田中 敏博	教授	東京医科歯科大学疾患バイオリソースセンター	ゲノムワイド関連解析に基づく難治性致死性不整脈関連遺伝子の探索
佐藤 俊朗	准教授	慶應大学医学部	小腸上皮幹細胞の機能破綻をもたらす生理的ストレス要因の同定
寺尾 知可史	免疫研究部長	静岡県立総合病院臨床研究部	高安静脈炎の疾患感受性遺伝子・多型の同定と治療標的の同定
関田 洋一	准教授	北里大学理学部生物科学科	iPS 細胞樹立時の活性化 Akt の役割
常磐 広明	教授	立教大学理学部化学科	核内受容体の構造・熱量解析
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	寄附講座准教授	大阪大学大学院医学系研究科	心筋症モデルにおけるベリオスチンバリエーションの発現変動と機能の解析
竹内 昌男	客員研究員	医薬基盤・健康・栄養研究所	非対称局在 GPC5 の心筋・血管の選択的運命制御と右源性心疾患発症の原因の解析
西田 満	准教授	神戸大学大学院医学研究科	非小細胞肺癌細胞の浸潤を制御する Ror1 シグナルの解析
黒川 洵子	教授	静岡県立大学薬学部	難治性不整脈疾患における KCNQ1 チャネル分子複合体の病態生理学的意義の解明
早田 匡芳	准教授	筑波大学医学医療系	骨粗鬆症における小胞体ストレス応答の解明
永石 宇司	准教授	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科	炎症性腸疾患の病態形成における MKL1 の役割
和田 洋一郎	教授	東京大学アイソトープ総合センター	ヘテロ核酸を用いた上皮細胞特異的エピゲノム制御技術の開発
西頭 英起	教授	宮崎大学医学部	脂肪萎縮症におけるオルガネラ連携を介したミトコンドリア品質管理の役割
大野 伸彦	特任准教授	自然科学研究機構生理学研究所	生体内におけるミトコンドリア分裂の細胞特異的・可逆的操作法の開発
備前 典久	助教	新潟大学大学院医歯学総合研究科	神経幹細胞におけるグリア分化能獲得機構の解明
角倉 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

代表者	職名	所属機関	研究題目
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
小内 伸幸	教授	金沢医科大学医学部	骨髄球形細胞分化能と赤血球系細胞分化能分岐点の解明
和泉 雄一	教授	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
原田 達也	教授	東京大学大学院情報理工学系研究科	ディープニューラルネットワークを用いたデジタル病理画像解析
望月 和樹	教授	山梨大学大学院総合研究部	Gene body エピジェネティクスを介した発育期低栄養による生活習慣病発症機構

4) 国際共同研究 6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 polymer biomaterials that mimic cancer stem cell (CSC) niche
Binay Panda	Head, Ganit Labs	Ganit Labs, Bio-IT Centre, Institute of Bioinformatics and Applied Biotechnology	Identification of cancer drug targets using active plant extracts and employing genome-wide shRNA, high-throughput bioinformatics and systems biology tools
Josef M Penninger	Director Professor	Institute of Molecular Biotechnology(IMBA)	Roles of stress-activated protein kinase MKK7 in adult mice
Kaur Gurvinder	Senior Scientist	All India Institute of Medical Sciences	Role of NFKB1.1 gene function in hematological diseases
Takashi Angata	Associate Research Fellow	Institute of Biological Chemistry, Academia Sinica	Studies on the role of glycan ligands interaction in Siglec-mediated regulation of immune homeostasis and bone metabolism
Kinya Otsu	BHF Chair of Cardiology	King's College London	Characterization of a mitophagy receptor, Bcl2-like protein 13

5) 研究集会 1件

代表者	職名	所属機関	研究題目
平沢 晃	講師	慶應義塾大学医学部	第1回国際がんプレジジョン医療カンファレンス

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18回 / 平成29年6月23日	岡澤 均 教授	認知症治療の最前線：超早期病態へのアプローチ
	石川 俊平 教授	がん遺伝子とがん免疫の関係
第19回 / 平成29年10月20日	三木 義男 教授	遺伝性のがんについて：乳がん・卵巣がんから学ぶ
	石野 史敏 教授	ヒトおよび哺乳類ゲノムの特殊性と疾患との関係
第20回 / 平成30年2月23日	樗木 俊聡 教授	からだをまもる免疫の研究
	村松 正明 教授	パーソナルゲノム：健康・病気そして環境との関わり

第16回駿河台シンポジウム / 第8回難治疾患共同研究拠点シンポジウム (H29.10.11 開催)

第12回研究所ネットワーク国際シンポジウム (H29.11.28 ~ 29 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18回 (H29.6.23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19回 (H29.10.20 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20回 (H30.2.23 開催)

第1回国際がんプレジジョン医療カンファレンス (H29.6.29 ~ 30 開催)

KEY FORUM 2018 Stem Cell Traits and Developmental Systems (H30.1.11 ~ 12 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

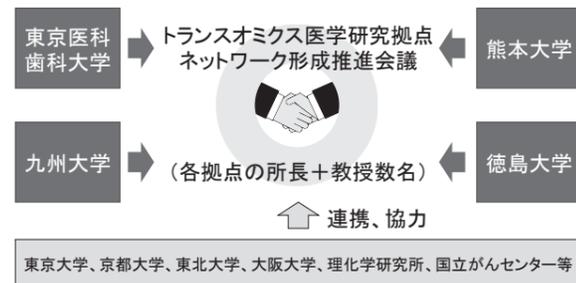
東京医科歯科大学難治疾患研究所は、平成 28 年 4 月より、トランスオミクス研究教育拠点の構築を目指し、文部科学省の支援を受けて九州大学、熊本大学、徳島大学の共同利用・共同研究拠点と協力して「トランスオミクス医学研究拠点ネットワーク形成事業」を推進しています。

【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）



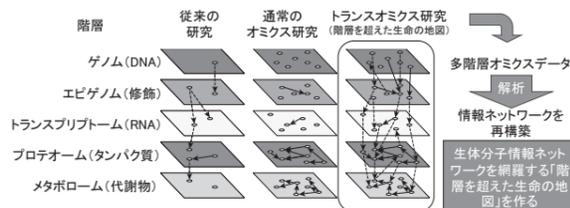
【2017年の活動内容】

- 合同研究シンポジウム
共催シンポジウム
「Frontiers in Biomedical Sciences」
■日時：2017年1月26日～27日
■場所：徳島大学 藤井節郎記念ホール

- 共催シンポジウム
「The 291st IMEG Seminar Tokyo Medical and Dental University- IMEG Joint Seminar」
■日時：2017年2月24日
■場所：熊本大学 発生医学研究所 1階カンファレンス室
- 共催シンポジウム
「Frontiers in Stem Cell Research and Reprogramming」
■日時：2017年10月31日～11月1日
■場所：九州大学 病院キャンパスコラポステーション I・視聴覚ホール

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。



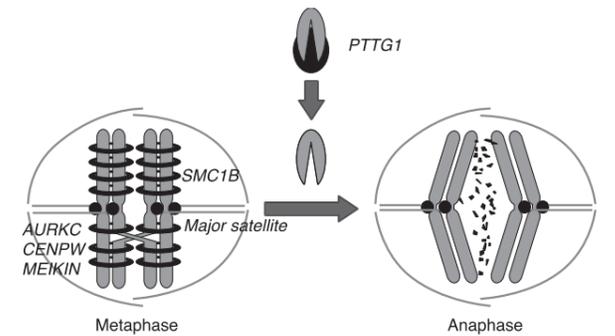
ヒト初期胚のトランスクリプトームデータの取得

哺乳類の着床前胚はダイナミックに遺伝子発現の制御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、胚操作技術による介入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。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、体外受精のためにも重要な基礎的データになると考えられる。一方ヒトの場合女性の年齢が上がるとともに妊娠率が減少し、流産率が上昇することが問題となっている。これは減数分裂時の染色体不分離による染色体異常が主要な原因であると考えられている。

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、母親の年齢の上昇に伴って発現レベルが低下する遺伝子が多

数同定された。これらの遺伝子の中には、*PTTG1*、*AURKC*、*SMC1B* および *MEIKIN* のような減数分裂時の染色体分離に重要な遺伝子が含まれていた。さらに、染色体のセントロメアを構成するメジャーサテライト反復配列由来の転写産物も、母親の年齢が上昇するにつれて減少した。これらの結果は、卵母細胞ゲノムのエピジェネティック修飾は親の年齢とともに変化し、次世代に伝達される可能性があることを示唆している。

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

発生再生生物学分野

石原えりか
 「Elucidation of the molecular mechanism underlying active YAP-induced apical extrusion in mammalian cells」
 出表 - 有馬誉恵
 「Analysis of the function of stress-activated protein kinase MKK7 in adult nervous system」
 YU Ruoxing
 「Evaluation of the Toxicity Effects of Drugs on Early Embryogenesis」

生体情報薬理学分野

劉鍵
 「Genetic variants associated with susceptibility to atrial fibrillation in Japanese population」

分子神経科学分野

杉山香織
 「Dysfunction of glial glutamate transporters contributes to spinal motor neuron death in vivo」

分子細胞遺伝分野

Sujata Sakha
 「Exosomal microRNA miR-1246 induces cell motility and invasion through the regulation of DENND2D in oral squamous cell carcinoma.」
 高橋寛吉
 「Autophagy is required for cell survival under L-asparaginase-induced metabolic stress in acute lymphoblastic leukemia cells.」
 平本秀一
 「miR-509-5p and miR-1243 increase the sensitivity to gemcitabine by inhibiting epithelial-mesenchymal transition in pancreatic cancer.」
 永田啓明
 「Genome-wide screening of DNA methylation associated with lymph node metastasis in esophageal squamous cell carcinoma.」
 奥田将史
 「Subcloning and characterization of highly metastatic cells derived from human esophageal squamous cell carcinoma KYSE150 cells by in vivo selection.」

生体防御学分野

川村俊輔
 「Identification of a human clonogenic progenitor with strict monocyte differentiation potential - a counterpart of mouse cMoPs.」

免疫疾患分野

Medzhidov Nazim
 「ENDOSOMAL TRAFFICKING AND PERSISTENCE OF THE ANTIGEN - B CELL RECEPTOR COMPLEX

AND THEIR SIGNIFICANCE IN B LYMPHOCYTE ACTIVATION.」

幹細胞制御分野

Wang Wenqian
 「Enhancement of 5-aminolevulinic acid-based fluorescence detection of side population-defined glioma stem cells by iron chelation」

分子疫学分野

前田裕子
 「Association of non-synonymous variants in WIPF3 and LIPA genes with abdominal aortic aneurysm: an autopsy study.」
 カウンシー・トゥ
 「Association of polymorphisms of the transporter associated with antigen processing (TAP2) gene with pulmonary tuberculosis in an elderly Japanese population.」
 キン・テテ・ゾー
 「Association of ZFH3 gene variation with atrial fibrillation, cerebral infarction, and lung thromboembolism: An autopsy study.」

エピジェネティクス分野

松沢歩
 「Preferable *in vitro* condition for maintaining faithful DNA methylation imprinting in mouse embryonic stem cells」
 高木清考
 「Parental age and gene expression profiles in individual human blastocysts」
 細井勇輔
 「Analysis of lincRNA *Fat60*-deficient mice showing female-specific developmental abnormalities.」
 黒田友紀子
 「ハイドロキシメチルシトシンを同一分子上の塩基単位で同定する Enzyme-assisted Identification of Genome Modification Assay (EnIGMA) 法の開発とビタミンC 欠乏マウスの解析」

フロンティア研究室骨分子薬理学

林エンテイ
 「Profilin Expression is Regulated by Bone Morphogenetic Protein (BMP) in Osteoblastic Cells」
 勝村早恵
 「Beta Adrenergic Receptor Stimulation Suppresses Cell Migration in Association with Cell Cycle Transition in Osteoblasts—Live Imaging Analyses Based on FUCCI System」
 パワプタノンナマハサラカム・チャンチダ
 「BMP-2 Enhances Lgr4 Gene Expression in Osteoblastic Cells」

難研セミナー

平成 28 年度大学院生研究発表会・若手研究者研究発表会
 平成 29 年 3 月 10 日

Taniguchi Juliana Bosso (神経病理学分野)
 RpA1 ameliorates symptoms of mutant Ataxin-1 knock-in mice and enhances DNA damage repair
 Lian Liu (生体情報薬理学分野)
 Genetic risk of atrial fibrillation in a Japanese population
 Ruoxing Yu (発生再生生物学分野)
 The mevalonate pathway regulates primitive streak formation via protein farnesylation
 劉 楠 (幹細胞医学分野)
 COL17A1 orchestrates mammalian epidermal aging
 遠藤 葉月 (病態細胞生物学分野)
 アポトーシス非依存的な新規アノイキス機構の解析
 室田 吉貴 (幹細胞制御分野)
 蛍光プローブを用いた癌幹細胞の代謝解析における問題点の提起: ABC トランスポーターと DNA 染色性色素の影響
 Medzhidov Nazim (免疫疾患分野)
 Distinct Ubiquitination and Sorting of the B cell Receptor.
 宮 冬樹 (医科学数理分野)
 次世代シーケンサーを用いた先天性神経疾患の原因変異の探索と原因変異未同定検体の同定に向けた解析法の開発

平成 27 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
 平成 29 年 3 月 10 日

難波大輔 (幹細胞医学分野)
 表皮および毛包幹細胞制御による難治性皮膚潰瘍の新規治療法の開発
 梶田美穂子 (生体防御学分野)
 IL-27 に着目した自己免疫疾患の新規治療法の確立
 藤掛 伸宏 (病態細胞生物学分野)
 従来型/新規型オートファジーの活性化による神経変性疾患の治療法開発
 安達貴弘 (免疫疾患分野)
 未病の検出および病態の解析システム構築
 齋藤清香 (幹細胞制御分野)
 Sox17 による Notch シグナルを介した AGM 領域の造血幹細胞未分化性維持機構の解明

平成 28 年度難治疾患研究所優秀論文賞受賞者講演会
 平成 29 年 3 月 10 日

松村寛行 (幹細胞医学分野)
 Hair follicle aging is driven by transepidermal elimination of stem cells via COL17A1 proteolysis
 川崎佑季 (難病基盤・応用研究プロジェクト室)
 A novel method for the simultaneous identification of methylcytosine and hydroxymethylcytosine at a single base resolution
 本田真也 (病態細胞生物学分野)
 Autophagy controls centrosome number by degrading Cep63
 榎 康一 (幹細胞制御分野)
 Synthetic polymer scaffold reveals the self-

maintenance strategies of rat glioma stem cells by organization of the advantageous niche
 山口啓史 (病態細胞生物学分野)
 Golgi membrane-associated degradation pathway in yeast and mammals
 赤津ちづる (免疫疾患分野)
 CD72 negatively regulates B lymphocyte responses to the lupus-related endogenous Toll-like receptor 7 ligand Sm/RNP

難研セミナー/難治疾患共同研究拠点セミナー

第 558 回/第 131 回
 Philipp Yu (Philipps-Universität Marburg, Germany)
 IgE Regulation: Then and Now
 平成 29 年 3 月 30 日

第 559 回/第 132 回

井上 梓 (Yi Zhang Lab at Harvard Medical School Research specialist)
 卵子由来のヒストン修飾によるゲノム刷り込み機構
 平成 29 年 6 月 23 日

第 560 回/第 133 回

梶垣信彦 (Genentech, Inc. Senior Scientist)
 新しい細胞死メカニズムの発見—細菌感染に対抗する宿主の戦略—
 平成 29 年 7 月 26 日

第 561 回/第 134 回

山崎世和 (イェール大学医学部 細胞分子生理学Postdoctoral Associate)
 GABAA 受容体複合体形成と抑制性シナプス伝達を制御する新奇補助サブユニットの同定
 平成 29 年 7 月 18 日

第 562 回/第 135 回

Dr. Stephanie Baulac (Institut du Cerveau et de la Moelle (ICM), Research Director)
 Epilepsies linked to mTOR1 pathway
 平成 29 年 7 月 14 日

第 563 回/第 136 回

Lionel Larue (Institut Curie, Section de Recherche, Research Director)
 From melanoblast to melanoma: a stressed journey
 平成 29 年 7 月 11 日

第 564 回/第 137 回

Tak Wah Mak (The Campbell Family for Breast Cancer Research Institute, Princess Margaret Hospital, University Health Network, Director)
 Beyond Targeting Oncogenes: Emerging Anti-Cancer Strategies

平成 29 年 9 月 27 日

第 565 回/第 138 回

佐々木 雄彦 (秋田大学大学院医学系研究科・教授)
 リン脂質による生体調節機構と疾患
 平成 29 年 9 月 6 日

第 566 回/第 139 回

田久保 圭誉 (国立国際医療研究センター研究所・プロジェクト長)
 ニッチによる造血幹細胞の代謝制御と応用
 平成 29 年 9 月 6 日

第 567 回/第 140 回

安形高志 (Institute of Biological Chemistry, Academia Sinica, Associate Research Fellow)
 Identification of Siglec-15 ligands using proximity labeling method
 平成 29 年 11 月 15 日

第 568 回/第 141 回

Josef M. Penninger (Institute of Molecular Biotechnology of the Austrian Academy of Sciences, Scientific Director)
 From haploid stem cells to swaying sugar forests
 平成 29 年 11 月 16 日

第 569 回/第 142 回

Iván Velasco (Instituto de Fisiología Celular - Neurociencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Associate Professor)
 Enhancing survival, maturation and axonal growth of stem cell-derived neurons
 平成 29 年 11 月 9 日

第 570 回/第 143 回

斧 正一郎 (Dept. Pathology & Dept. Cell Biology, Emory University School of Medicine, Associate Professor)
 線虫 *C. elegans* の筋発生におけるアクチン調節タンパク質の機能と制御: Actin-interacting protein 1 を中心として
 平成 29 年 11 月 20 日

第 571 回/第 144 回

吉森 保 (大阪大学大学院医学系研究科遺伝学教室・栄誉教授)
 オートファジー: 分子機構と疾患との関わり
 平成 30 年 1 月 23 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

- カルパイン依存性の nucleoporin 分解が興奮毒性による運動神経細胞死を起こす
- グルタミン酸輸送体 GLAST はグリアによるシナプスの覆いと機能的なシナプス回路の発達・維持に必須

生体防御学

- ヒト単球・マクロファージ前駆細胞を同定した。
- 樹状細胞前駆細胞は組織環境に沿った分化可塑性を示すことを見出した。
- 腸上皮幹細胞維持と腸再生にオートファジーが必要不可欠なことを見出した。

生体情報薬理学

- 心房細動の個別化医療を目指して、日本人集団で 14 の疾患感受性 SNPs の同定、バイオマーカーとして 4 つマイクロ RNA を同定した。
- マウス心房における詳細な高解像度光学マッピング系を開発した。
- ヒト心不全発症に関わる性特異的 miRNAs を同定し、個別化医療に発展するバイオマーカーとなることを報告した。

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、造血幹細胞を保ったままの in vitro での維持に、thrombopoietin が寄与することを示した。
- C6 グリオーマの癌幹細胞集団に由来する死細胞によって、癌幹細胞自身の誘導するマクロファージにおける腫瘍促進性マーカー CD11c の発現が増大することを見出した。

分子構造情報学

- 核内受容体 RXR とパーシャルアゴニストとの複合体の結晶構造を解明した。
- プロリン異性化酵素である Pin1 由来のタンパク質分解酵素の触媒機構の一端を明らかにした。

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 (PHAI) 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 PHAI 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

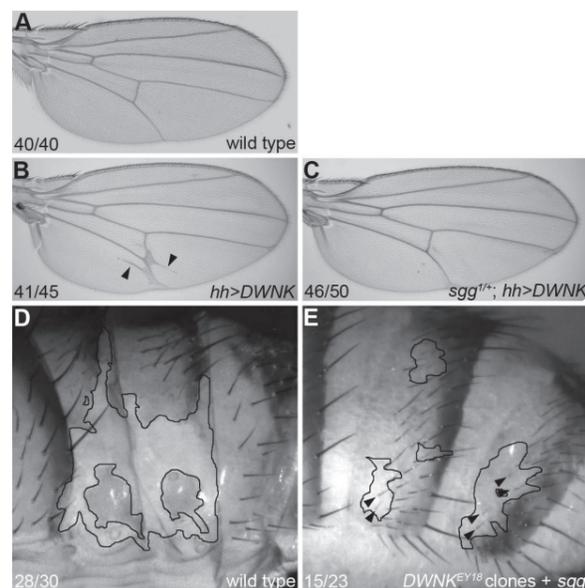


図 1 *shaggy* (*sgg*) は WNK シグナル伝達経路の新規下流因子である

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。

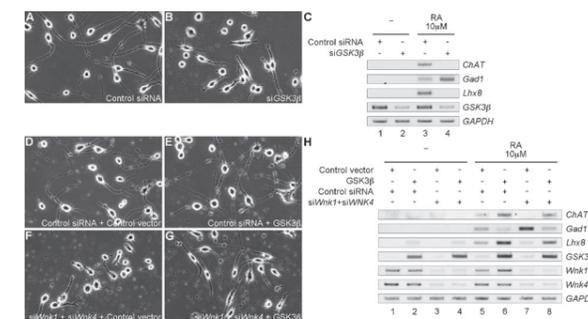


図 2 GSK3 β は WNK シグナル伝達経路の下流因子として神経分化にも関与する

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 in press.

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目的とする。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る (図1)。しかし、グリア型グルタミン酸輸送体の発現減少が神経細胞の変性・脱落の直接的な原因か、あるいは神経細胞の脱落に伴う二次的な現象なのかは不明である。我々は、グリア型グルタミン酸輸送体 (GLT1 と

GLAST) を脊髄から欠損させたマウス (脊髄 GLT1/GLAST 欠損マウス) を作成し、脊髄運動ニューロンに変性・脱落を引き起こし得るかを検討しました。脊髄 GLT1/GLAST 欠損マウスは、進行性の下肢麻痺および運動ニューロンの脱落といった筋萎縮性側索硬化症 (ALS) に似た症状を呈することを見つめました。さらに、脊髄 GLT1/GLAST 欠損マウスの運動ニューロンでは、タンパク分解酵素のカルパインが過剰に活性化され、核一細胞質間輸送に関わる核膜孔複合体 (Nuclear Pore Complex; NPC) の構成成分 (Nucleoporin; NUP) が分解され、核に形態異常が起こることを見出しました。また、脊髄 GLT1/GLAST 欠損マウスの ALS に似た症状や NUP の分解は、AMPA 型グルタミン酸受容体阻害剤ベランパネルおよびカルパイン阻害剤 SNJ-1945 により長期的に改善されることを明らかにしました (Sugiyama et al., 2017; 図2)。

また、小脳のバーグマングリアに豊富なグルタミン酸輸送体 GLAST に着目し、その遺伝子欠損マウスの表現型解析を行いました。その結果、GLAST が、プルキンエ細胞における登上線維と平行線維の支配テリトリーの

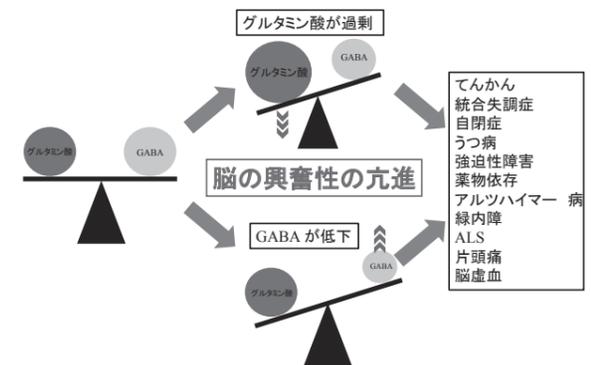


図1 グルタミン酸トランスポーターの機能異常による興奮と抑制のアンバランスが様々な精神神経疾患を引き起こす

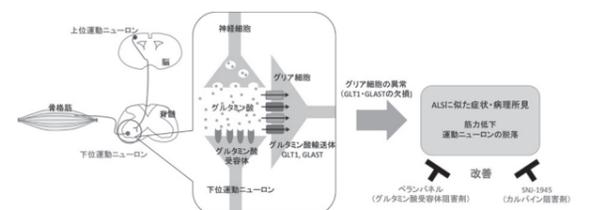


図2 脊髄グリア細胞のグルタミン酸輸送体機能障害はALSに似た症状を引き起こす

分離化、優勢な登上線維による単一支配の確立、グリア突起による樹状突起とシナプスの被覆化 (図3) に必須であることを突き止めました。同様の表現型は、成熟した野生型マウス小脳へのグルタミン酸輸送体阻害剤の投与により再現されたことから、機能的なシナプス回路の維持に不可欠であることもわかりました。

2. 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源性がなく、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, Neuro-pediatrics, 2014)。しかしながら、DEPDC5 の生体内に

人事異動

転入：萩原くみ、Bi Haining (修士課程)

転出：田中萌子、楠瀬未菜 (修士課程)

業績目録

発表論文

1. Sugiyama, K., Aida, T., Nomura, M., Takayanagi, R., Zeilhofer, H.U., Tanaka, K. Calpain-dependent degradation of nucleoporins contributes to motor neuron death in a mouse model of chronic excitotoxicity. *J Neurosci* 37, 8830-8844. 2017

2. Miyazaki, T., Yamasaki, M., Hashimoto, K., Kohda, K., Yuzaki, M., Shimamoto, K., Tanaka, K., Kano, M., Watanabe, M. Glutamate transporter GLAST controls synaptic wrapping by Bergmann glia and ensures proper wiring of Purkinje cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 114, 7438-7443, 2017.
3. Kubo, K., Deguchi, K., Nagai, T., Ito, Y., Yoshida, K., Endo, T., Benner, S., Shan, W., Kitazawa, A., Aramaki, M., Ishii, K., Shin, M., Matsunaga, Y., Hayashi, K., Kakeyama, M., Tohyama, C., Tanaka, K.F., Tanaka, K., Takashima, S., Nakayama, M., Itoh, M., Hirata, Y., Antalfy, B., Armstrong, D.D., Yamada, K., Inoue, K., Nakajima, K. Association of impaired neuronal migration with cognitive deficits in extremely preterm infants. *JCI Insight* 2, e88609, 2017.

総説

1. 田中光一 グルタミン酸 Clinical Neuroscience, 35: 1412-1416, 2017
2. 田中光一 グリア型グルタミン酸トランスポーター機能障害と精神疾患 日本生物学的精神医学会誌 28, 77-83 2017
3. 田中光一 CRISPR/Cas9 によるゲノム編集 LiSA 24, 649-658 2017

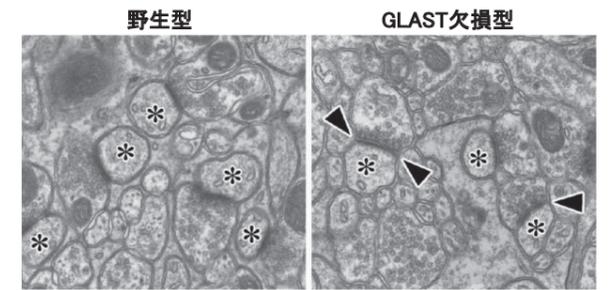


図3 野生型マウスとGLAST欠損マウスにおけるバーグマングリア被覆の表現型
灰色の部分は平行線維シナプス、薄いピンクはバーグマングリア、*はプルキン細胞のスパインを示す。野生型では、全てのシナプス表面は、バーグマングリアの突起で覆われている。しかし、GLAST欠損型では被覆が不完全で、バーグマングリアの突起で覆われていないシナプス (矢頭部) が観察される。

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。

これまでの研究から、Depdc5 は成長因子や細胞ストレスなどの刺激にตอบสนองして細胞の成長・増殖等を制御する mTORC1 (mechanistic target of rapamycin complex1) の抑制因子であることを明らかにしたが、DEPDC5 のノックアウト個体は、胎生致死を示し、その後の詳細な解析はできなかった (Marsan and Ishida et al., 2016)。そこで我々は、DEPDC5 の機能異常と病態との関連を詳細に検討するには、Depdc5 を脳部位特異的に欠失させた conditional KO (cKO) 個体を作製する必要があるという着想に至った。本年度は、Cre-loxP システムを用いた cKO マウス作製に必要な Depdc5floxed/floxed マウスを CRISPR-Cas9 システムを用いて、独自に作製することに成功した。引き続き、本マウスを用いて、てんかん発症における DEPDC5 の役割の解明を強く推し進める。DEPDC5 の機能研究は、てんかんおよび精神疾患発症機序解明研究に新たな知見をもたらす。

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（1/16～） 助教：金山剛士：（6/1～）
非常勤講師：小内伸幸（金沢医科大学教授） 特任助教：浅野純平、梶田美穂子
難病基盤・応用研究プロジェクト室助教：中西祐輔 特任研究員：川村俊輔
SONY 特別研究員：山内康晴（9/1～）
技術補佐員：黒田聖子、始関紀彰、英美奈子（4/1～） 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。単核球系貪食細胞（樹状細胞・マクロファージ）などの免疫細胞や、血液・腸・皮膚などの組織幹細胞を研究対象として、免疫系ならびに組織幹細胞系ホメオシスターシスの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、難治性疾患の予防治法・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. 単核球系貪食細胞の研究

1) 単核球系貪食細胞の源となる細胞の同定

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の同定に成功し特許出願を行った

（*Immunity* 2017、国際公開番号：WO 2017/179718 A1）。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（図1）。現在製薬企業との共同研究で、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、また本学小児科森尾教授との共同研究で、先天性肺胞蛋白症の病態解明を進めている。

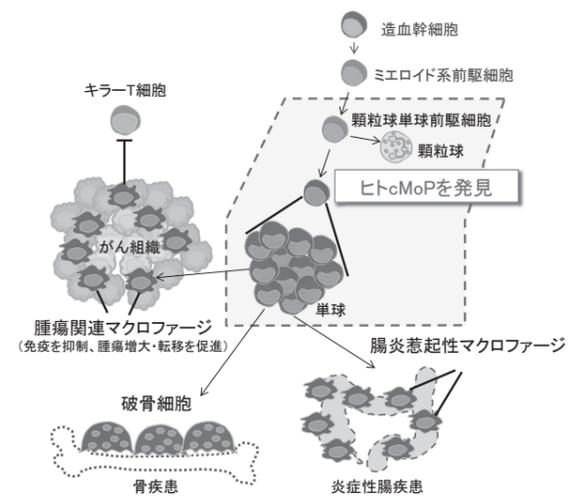


図1 単球由来マクロファージの疾患関与

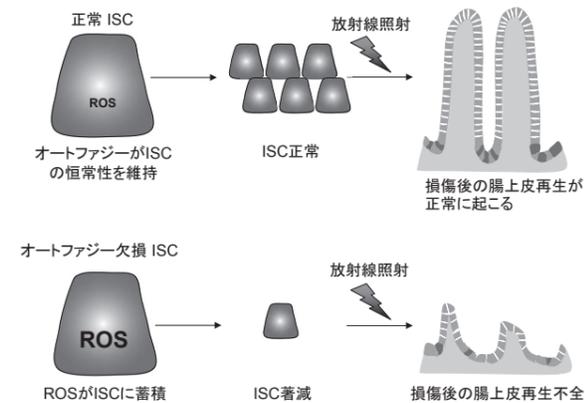


図2 腸幹細胞（ISC）維持におけるオートファジーの重要性

2) 腸免疫系における単核球系貪食細胞の役割

腸管上皮バリアー機能の破綻は、腸内常在菌の生体内への侵入を介して不適切な免疫応答を惹起し、炎症性腸疾患（Inflammatory Bowel Disease, IBD）の誘因になる。私たちの研究グループは、薬剤誘導性IBDモデルを用いて、腸内常在性グラム陽性菌が、炎症性単球・マクロファージの大腸組織への動員に重要なことを明らかにした（*Mucosal Immunol* 2015）。炎症性サイトカインTNF- α は代表的なIBD増悪因子かつ治療標的の1つであるが、その主たる産生細胞は炎症性マクロファージであった。さらに当該大腸炎惹起性マクロファージを詳細に解析したところ、Ly6C⁺マクロファージがTNF- α を高産生する大腸炎惹起性マクロファージの主体であった。さらにLy6C⁺マクロファージの分化にはIFN- γ →STAT1経路が必須であり、IFN- γ を介したヒストンのアセチル化が、TNF- α を高産生するLy6C⁺大腸炎惹起性マクロファージの誘導に重要であった。アセチル化阻害剤をマクロファージに選択的に投与することがIBD治療戦略として期待される（*Mucosal Immunol* 2018）。

一方、定常状態において、腸免疫系は免疫寛容状態を保つことにより、容易に腸内細菌や食餌抗原に反応しないよう維持されている。私たちの研究グループは、新たに、pDC分化に必須の転写因子レポーターマウスを作製し、同マウスCDPからE2-2^{hi}分画のみを単離してin vivoで分化能を検討したところ、通常の二次リンパ組織ではpDCのみに分化したが、腸粘膜では約半数がcDCに分化転換を起こした。さらにそれらcDCは免疫寛容に重要なTreg細胞の分化誘導能を備えていた。免疫寛容状態を高度に維持しなければならない腸粘膜で

は、本来pDCに分化するDC前駆細胞が、Treg誘導能に長けたcDCに分化転換を起こすことが示唆された（*Int Immunol* 2017）。

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、あるいはI型IFN誘導剤をWTマウスに投与・塗布して、腸上皮再生の源である腸上皮幹細胞（Intestinal Stem Cell, ISC）及び毛や表皮再生の源である毛包幹細胞の幹細胞性が低下することを見出している（論文投稿中）。

また、新たに腸上皮幹細胞のオートファジーが活性酸素種（ROS）等の生産調節を介して、腸上皮幹細胞の維持と腸上皮損傷後の再生に必要不可欠なことを報告した（*Cell Reports* 2017）（図2）。

人事異動

金山剛士、デューク大学博士研究員から助教に着任（2017.6.1）
佐藤卓、JST さきがけ研究員から講師に着任（2017.1.16）
中西祐輔、IBD 難病基盤応用プロジェクト助教から日本大学生物資源科学部応用生物科学科助教で転出（2017.4.1）

業績目録

原著

1. Kawamura S, Onai N, Miya F, Sato T, Tsunoda T, Kurabayashi K, Yotsumoto S,

Kuroda S, Takenaka K, Akashi K and Ohteki T. Identification of a human clonogenic progenitor with strict monocyte differentiation potential - a counterpart of mouse cMoPs. *Immunity* 46, 835-48 (2017)

2. Asano J, Sato T, Ichinose S, Kajita M, Onai N, Shimizu S and Ohteki T. Intrinsic autophagy in intestinal stem cells is required for their maintenance and for irradiation-induced intestinal regeneration. *Cell Rep* 20, 1050-60 (2017)

3. Onai N, Asano J, Kurosaki R, Kuroda S and Ohteki T. Flexible fate commitment of E2-2^{high} common DC progenitors implies tuning in tissue microenvironments. *Int Immunol* 29, 443-56 (2017)

4. Nadya NA, Tezuka H, Ohteki T, Matsuda S,

Azuma M and Nagai S. PI3K-Akt pathway enhances the differentiation of interleukin-27-induced type 1 regulatory T cells. *Immunology* 152, 507-16 (2017).

5. Matsuda K, Okamoto N, Kondo M, Arkwright PD, Karasawa K, Ishizaka S, Yokota S, Matsuda A, Jung K, Oida K, Amagai Y, Jang H, Noda E, Kakinuma R, Yasui K, Kaku U, Mori Y, Onai N, Ohteki T, Tanaka A and Matsuda H. Mast cell hyperactivity underpins the development of oxygen-induced retinopathy. *J Clin Invest* 127, 3987-4000 (2017).

受賞

川村俊輔、平成29年度難治疾患研究所最優秀論文賞

先端分子医学研究部門 生体情報薬理学分野

教授：古川哲史 准教授：竹内純 助教：井原健介

研究内容

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

研究紹介

1. 心房細動の研究

Discovery panel と replication panel を合わせて、心房細動ケース 11,300、コントロール 153,676 の日本人集団で行った GWAS で、合計 14 の心房細動感受性 SNPs を同定した。重みづけしたゲノムリスクスコアを四分位に分類すると、上位 25% では下位 25% に比べて 7.58 倍（統合的オッズ比）心房細動の罹患率が高かった（*Nat. Genet.* 2017;70:180-184）。

医療介入による個別化医療を行うためには、統合的オッズ比は約 50 必要とされている。個別化医療を実現するためには、オッズ比を 10 弱から 50 近く上げるステップがボトルネックとなっていると考えられた。3 回の GWAS でオッズ比の高い SNPs はほとんど検出されているので、やみくもにゲノム解析を続けてもオッズ比を 50 近くまで上げることは不可能である。そこで、臨床情報と組み合わせること、バイオマーカーを取り入れ

ることを考えた。バイオマーカー候補として 5 因子を同定した。そのうちの 4 つは循環マイクロ RNA (miRNA) である（ハイライト参照）。

2. 光学マッピングを用いた不整脈発生機序解析

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性の低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 in press）。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。

3. 心不全発症に関わる性特異的 miRNAs

ヒト心不全は男女とも加齢を経るに従って発症率が高くなり、男性優位な疾病である。我々は性ホルモンとエピジェネティック因子に着目し mRNA アレイ解析を行ってきたが、顕著に発現変動する因子は見出されなかった。そこで、低分子量 RNAs (microRNAs; miRNAs) に着目しヒト男女心不全患者と心不全モデルマウ

スゾウにおいて、発現変動がありバイオマーカーとしての可能性のある mRNAs と miRNAs のプロファイリングを行った。本解析には、特に有望な miRNAs のみを選定する *in silico* 解析パイプラインを R 環境でプログラムし使用した。この解析により、心疾患において発現量が増える有望な miRNAs が、男性からは 2 つ、女性においては 3 つ候補 miRNA が単離された。ヒト心疾患で発現変動する miRNAs のうち、マウスにおいても心筋梗塞時に発現変動する miRNAs を優先的に機能解析してきた。マウスにおいて正常発生、心筋梗塞時における miRNAs の網羅解析を行った。その結果、ヒト網

羅解析で同定された miRNA のうち、男性において 1 つ、女性において 2 つがマウスにおいても心筋梗塞に反応することが判明した（Tsuiji. et al., *PLoS One* 2017）。さらに、ターゲット遺伝子予測、Gene Ontology 解析を行ったところ、miR2861、miR-139-5p が遺伝子発現制御やクロマチン制御、さらに心疾患や細胞死、再生に関わる遺伝子を優先的にターゲットとすることが予測された。心臓細胞の初代培養系においてこれらの miRNAs をノックダウンしたところ、細胞増殖に変化は見られなかったものの、拍動心筋細胞の数が優位に減少した。

人事異動

転入：東島佳毅 (PD)、阿部桂子 (博士課程)、高倉由紀子 (事務補佐員)
転出：高橋健太郎 (特任助教)、林地のぞみ (PD)、劉鍵 (博士課程) 安東朋子 (技術補佐員)、山口邦子 (事務補佐員)

業績目録

原著論文

1. Kuroda Y, Yuasa S, Watanabe Y, Ito S, Egashira T, Seki T, Hattori T, Ohno S, Kodaira M, Suzuki T, Hashimoto H, Okata S, Tanaka A, Aizawa Y, Murata M, Aiba T, Makita N, Furukawa T, Shimizu W, Kodama I, Ogawa S, Kokubun N, Horigome H, Horie M, Kamiya K, Fukuda K. Flecainide ameliorates arrhythmogenicity through NCX flux in Andersen-Tawil syndrome-iPS cell-derived cardiomyocytes. *Biochem. Biophys. Rep.* 2017;9:245-256.
2. Liu L, Ebana Y, Nitta J, Takahashi Y, Miyazaki S, Tanaka T, Komura M, Isobe M,

- Furukawa T. Genetic variants associated with susceptibility to atrial fibrillation in Japanese population. *Can. J. Cardiol.* 2017;33:443-449.
3. Zaw KTT, Sato N, Ikeda S, Thu KS, Mieno MN, Arai T, Mori S, Furukawa T, Sasano T, Sawabe M, Tanaka M, Muramatsu M. Association of ZFH3 gene variation with atrial fibrillation, cerebral infarction, and lung thromboembolism: An autopsy study. *J. Cardiol.* 2017;70:180-184.
4. Low SK, Takahashi A, Ebana Y, Ozaki K, Christophersen IE, Ellinor PT; AFGen Consortium, Ogishima S, Yamamoto M, Satoh M, Sasaki M, Yamaji T, Iwasaki M, Tsugane S, Tanaka K, Naito M, Wakai K, Tanaka H, Furukawa T, Kubo M, Ito K, Kamatani Y, Tanaka T. Identification of six new genetic loci associated with atrial fibrillation in the Japanese population. *Nat. Genet.* 2017;49:953-958.
5. Ebana Y, Ozaki K, Liu L, Hachiya H, Hirao K, Isobe M, Kubo M, Tanaka T, Furukawa T. Clinical utility and functional analysis of variants in atrial fibrillation-associated locus 4q25. *J. Cardiol.* 2017;70:366-373.
6. Miyazaki S, Ebana Y, Liu L, Nakamura H,

- Hachiya H, Taniguchi H, Takagi T, Kajiyama T, Watanabe T, Igarashi M, Kusa S, Niida T, Iesaka Y, Furukawa T. Chromosome 4q25 variants and recurrence after second-generation cryoballoon ablation in patients with paroxysmal atrial fibrillation. *Int. J. Cardiol.* 2017;244:151-157.
7. Ebana Y, Nitta J, Takahashi Y, Miyazaki S, Suzuki M, Liu L, Hirao K, Kanda E, Isobe M, Furukawa T. Association of the clinical and genetic factors with superior vena cava arrhythmogenicity in atrial fibrillation. *Circ. J.* 2017;82:71-77.
8. Min Li, Kanda Y, Ashihara T, Sasano T, Nakai Y, Kodama M, Hayashi E, Sekino Y, Furukawa T, Kurokawa J. Overexpression of KCNJ2 in induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes for the assessment of QT-prolonging drugs. *J. Pharmacol. Sci.* 2017;134:75-85.
9. Tsuiji M, Kawasaki T, Matsuda T, Arai T, Gojo S, Takeuchi JK. Sexual dimorphisms of mRNA and miRNA in human/murine heart disease. *PLoS One* 2017;12:e0177988.

ハイライト

心房細動発症のバイオマーカー miRNA

心房細動患者 100 名とコントロール患者 100 名の血清を miRNA アレイを使って解析し、発現発現が異なる循環 miRNA を同定した。マウスので 2 つの心房細動モデル（圧負荷モデル、高脂肪食モデル）で同様に miRNA アレイを解析を行い、ヒトとマウスで共通して発現が異なる循環 miRNA を解析し、4 つの miRNA (miR-99a-5p, miR-192-5p, miR-214-3p, miR-342-5p) を同定した。4 miRNA を組み合わせると、感度 76%、特異度 80% で心房細動患者を層別化できることが示された (図 1)。(Circ J 2018 in press [プレ

スリリース])。

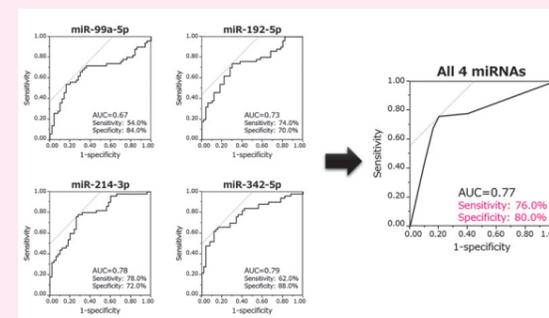


図 1 心房細動バイオマーカー候補の 4 つの miRNA 4 つの循環 miRNA、およびこれらを組み合わせた場合の心房細動層別化の精度を ROC 解析で検討した。4 つの miRNA を組み合わせると、感度 76%、特異度 80% であった。

先端分子医学研究部門 幹細胞制御分野

教授：田賀哲也 准教授：信久幾夫 助教：梶 康一 技術補佐員：井上和子

研究内容

概要

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

研究紹介

1. 胎生中期マウスの背側大動脈に生じる造血幹細胞を含む血液細胞塊の形成と維持におけるトロンボポエチンの重要な役割の解明

マウスでは胎生 10.5 日に AGM (aorta-gonad-mesonephros; 大動脈-中腎-生殖原器) 領域で最初に成体型造血が観察される。この AGM 領域の大動脈（背側大動脈）内腔の血管内皮細胞に隣接する血液細胞塊に造血幹細胞が含まれていることが知られている。当分野では以前の研究で、マウス胎生 10.5 日胚の大動脈に認める血液細胞塊の構成細胞 CD45^{low}c-Kit^{high} 細胞に対して、転写因子 Sox17 を強制発現した後、ストローマ細胞との共培養において、液性因子 stem cell factor、interleukin-3、および thrombopoietin (トロンボポエチン, TPO) の添加により、血液細胞塊の形成および未分化性が保持されることを示した。そこで、これら 3 つの液性因子の

中でどの因子が重要であるかを、様々な液性因子の組み合わせで培養し検討を行ったところ、TPO が細胞塊形成および未分化性維持に重要であることを明らかとした。さらに TPO 受容体 c-Mpl が、胎生 10.5 日胚から作成した凍結切片に対する免疫組織学的解析より、血液細胞塊に発現することを示した。また、TPO が活性化する MAPK シグナル経路の阻害剤 U0126、JAK/STAT シグナル経路の阻害剤 AG490、および PI3K シグナル経路の阻害剤 LY294002 が濃度依存的に Sox17 導入による血液細胞塊形成を阻害することを明らかにした。さらに、胎生 10.5 日 AGM 領域の血管内皮細胞から血液細胞が分化する培養系において、TPO の添加がより多くの血液細胞産生を誘導することを示した。以上の結果より、TPO/c-Mpl シグナル経路が、胎生 10.5 日胚の大動脈において血管内皮細胞から血液細胞塊における造血幹細胞を含む血液細胞の形成に重要であることが分かった (図 1)。

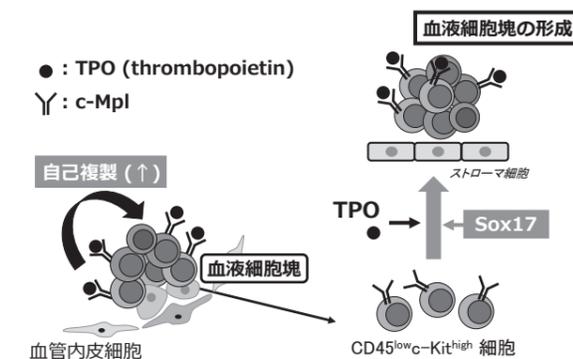


図 1 血液細胞塊形成における TPO の重要性

2. 癌幹細胞によるニッチの自己構築に関する研究

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、そのグリオーマ幹細胞が血管

内皮細胞や腫瘍随伴マクロファージ (Mφ) からなる微小環境 (ニッチ) を自ら構築することで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。本年度はこの癌幹細胞によるニッチ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、癌幹細胞により誘導される Mφ の貪食に着目した以下の研究を実施した。マウス骨髄単球から SP 細胞の馴化培地を用いて誘導される腫瘍促進性の Mφ (SP-Mφ) に SP 細胞由来の死産物を添加したところ、SP-Mφ は死産物を貪食し、顕著に拡大する傾向が見られた。そこで死産物添加後の SP-Mφ における腫瘍促進性 Mφ マーカー CD11c の発現を解析したところ、CD11c 陽性細胞数が増加する傾向が見られた。このことは、グリオーマ幹細胞が自らの細胞死を介して Mφ の性質に影響を与え、癌進展に寄与することを示唆している。一方で、SP 細胞は鉄運搬分子トランスフェリンの受容体を高く発現していることや、鉄キレート剤の処理によって細胞増殖が有意に低下することが明らかとなった。SP 細胞のマウス脳内移植腫瘍組織において鉄貯蔵 Mφ が観察されたことから、癌幹細胞は Mφ の赤血球貪食能を利用して鉄を補給していることが考えられた。そこで SP-Mφ に老化赤血球を添加したところ、赤血球が捕捉される様子が確認できた。また SP-Mφ における鉄リサイクリング関連遺伝子の発現を調べたところ、鉄放出遺伝子 ferroportin (FPN) の発現が骨髄単球と比較して約 9.6 倍に上昇しており、

研究業績

原著論文

1. Wang W, Tabu K, Hagiya Y, Sugiyama Y, Kokubu Y, Murota Y, Ogura SI, Taga T.
2. Harada K, Nobuhisa I, Anani M, Saito K, Taga T.

Enhancement of 5-aminolevulinic acid-based fluorescence detection of side population-defined glioma stem cells by iron chelation. Scientific Reports, 7:42070, 2017.

Thrombopoietin contributes to the for-

癌幹細胞は分泌因子を介して Mφ の分化を促すと共に、鉄放出能を付与することが示唆された。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、神経膠芽腫 (グリオブラストーマ, WHO grade IV) 患者において腫瘍随伴 Mφ マーカー CD204 と FPN の発現が相関することや、アストロサイトーマ (WHO grade II&III) 患者における FPN の発現の高い群で予後が悪いことが明らかとなり、鉄供給能を付与された 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。これらは癌幹細胞により自己構築されるニッチの特性理解と、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)。

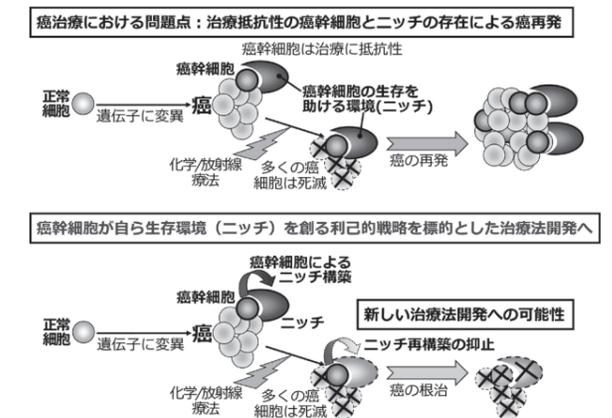


図 2 癌幹細胞によるニッチの自己構築と、それを標的とした癌根治の可能性

mation and the maintenance of hematopoietic progenitor-containing cell clusters in the aortagonad-mesonephros region. Cytokine, 95:35-42, 2017.

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13万を超えるの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 RXR とパーシャルアゴニストとの複合体の結晶構造解析

核内受容体は、一般的にホルモンと総称される脂溶性低分子の結合に反応して遺伝子の転写を制御している。核内受容体とその特異的リガンドの機能は、がん、自己免疫疾患、生活習慣病の発症や治療と密接に関与しており、核内受容体のシグナル伝達を制御するリガンド分子は医薬品としての応用が期待されるため、非常に活発に研究されている。なかでも、レチノイドX受容体(RXR)は主要な核内受容体として研究が進んでおり、種々のアゴニスト、アンタゴニスト、その中間的なパーシャルアゴニストなどが開発され、またこれらについて、核内受容体との結合様式の詳細な解明など、構造生物学的研究が求められている。しかしながら、特に中間的な活性を示すパーシャルアゴニストの結合様式の解明はほとんどなされておらず、副作用の低減と活性制御の両立の観点から、パーシャルアゴニスト作用の分子機構の解明は、

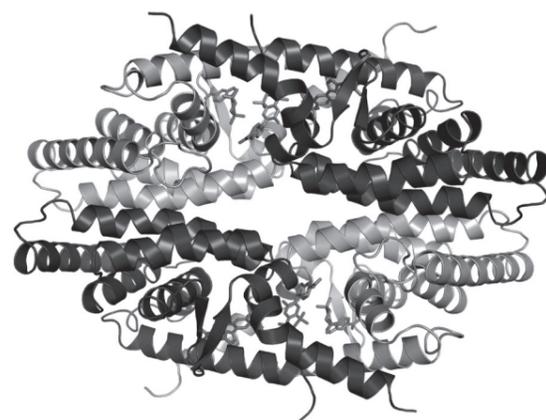


図1 RXRのリガンド結合ドメインと、パーシャルアゴニストCBt-PMNとの複合体の結晶構造。

医薬品としての応用面でも非常に重要である。本研究では、新規に合成されたRXRのパーシャルアゴニストCBt-PMN (Kakuta et al, ACS Med Chem Lett., 3, 427, 2012) と、ヒトRXR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。

得られた構造から、RXRは四量体を形成しており、その四量体中に6分子のCBt-PMNが結合していることが明らかとなった(図1)。6分子中の4分子については、これまでに核内受容体のリガンド結合部位として知られている、分子内の比較的大きな疎水ポケット付近に結合していた。興味深いことにこれら4分子の結合様式は、ふたつの様式に分類できるものであった。残りの2分子については、四量体のサブユニット境界面に結合していた。RXRとこれらCBt-PMNの結合様式は、これまでに知られているアゴニスト結合型とは明確に異なっており、特にCBt-PMNの疎水性に富む部位の結合位置の差異が顕著であった。またRXRの構造を単量体のみに着目してみた場合、リガンド分子の結合していないapo型構造に近いものであった。本研究で得られた構造は、パーシャルアゴニスト活性をもつ分子の新たな結合様式を明らかにしたものであり、パーシャルアゴニスト活性の分子機構の解明に向け、重要な構造情報を与えるものである。

本研究は、立教大学の常盤広明教授との共同研究であ

る。

2. Pin1 由来のタンパク質分解酵素の触媒機構

Pin1は、細胞周期のスイッチとしての機能やアルツハイマー病の発症制御機能等の多様な機能を有するプロリン異性化酵素である。しかし、その触媒機構は未だ十分には解明されていないため、我々は活性に必須のC113に網羅的な変異を導入して異性化の機能解析を進めていた。ところが、C113Aなどのいくつかの変異はプロリン異性化活性を失活させるとともに、タンパク質分解酵素活性を発現させることを発見した。このことは、Pin1において、単一のアミノ酸の変異がプロリン異性化酵素からタンパク質分解酵素への機能転換をもたらすことを示している(図2)。そこで、現在、この新規タンパク質分解酵素の触媒機構の解明に取り組んでいる。

これまでの解析において、質量分析法やアラニンスクランニング変異導入法などにより、基質認識配列がプロリン残基であること突き止めるとともに、その上流の4残基前のペプチド結合を切断することを明らかにした。一方、触媒部位に関しては典型的なセリンプロテアーゼである可能性が示唆された。しかし、さらに解析を進めたところ、特異的な基質切断の他に、非特異的な基質分解の性質も現れるようになり、複数の触媒部位及び触媒機構が存在していることを示唆するデータが得られた。また、もともとの野生型のPin1も潜在的にタンパク質分解酵素活性を有しており、特定の条件下でその活性が顕在化することも分かりつつある。

3. Protein Data Bank の改善

世界的な構造ゲノム科学の進展に伴いX線結晶構造

研究業績

原著論文

1. Satomi Inaba, Nobutaka Numoto, Shuhei Ogawa, Hisayuki Morii, Teikichi Ikura, Ryo Abe,

Nobutoshi Ito, Masayuki Oda. Crystal Structures and Thermodynamic Analysis Reveal Distinct Mechanisms of CD28 Phosphopeptide Binding to the Src Homology 2 (SH2) Domains of Three Adaptor Proteins. J. Biol. Chem., 2017.01; 292(3); 1052-1060

2. Yurina Miyashita, Eiji Ohmae, Teikichi Ikura, Kaoru Nakasone, Katsuo Katayanagi. Halophilic mechanism of the enzymatic function of a moderately halophilic dihydrofolate reductase from Haloarcula japonica strain TR-1. Extremophiles. 2017.05; 21(3); 591-602

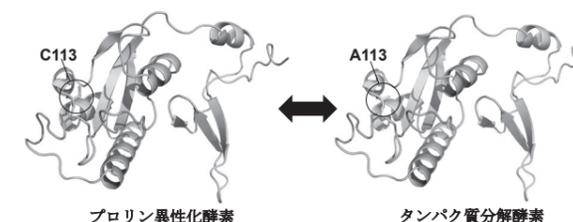


図2 Pin1が単一のアミノ酸変異によりプロリン異性化酵素からタンパク質分解酵素に機能転換すること表す概念図。

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 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は認められ、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。本研究室では主に 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 の独自の働きには明らかになっていないことが多く、私たちはこの課題に PHD3 に着目して取り組んでいます。

PHD3 は低酸素環境に反応して、大きなタンパク質複合体を形成します（図 1）。この複合体中には細胞内の酸素濃度変化を感知する分子「酸素センサー」が含まれていると考えられます。そこでプロテオミクス解析を用いて、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 複合体の安定性を保持し、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せんが、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)。

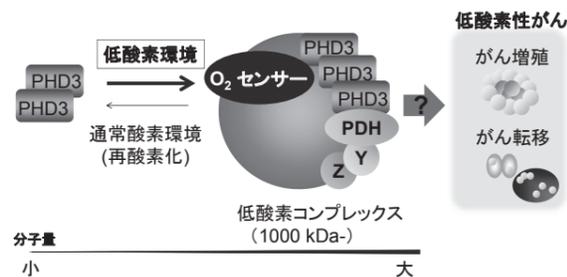


図 1 低酸素応答における低酸素コンプレックスの役割

2. 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新たに明らかにしました。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 2)。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、その活性を阻害することによるがん抑制効果を検証したいと考えています。

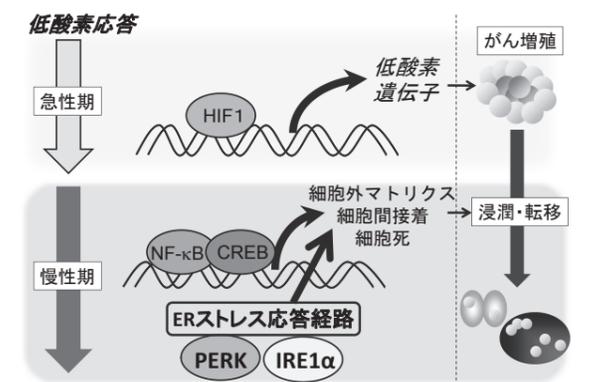


図 2 慢性期低酸素応答における ER ストレス応答経路と CREB の協調

ハイライト

がんが異常なエネルギー代謝を引き起こす新しい分子機構の同定

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。継続的な低酸素培養で引き起こされた PDH-E1 β の発現低下は、その後の再酸素化により通常酸素環境に戻った後にも持続しており、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 を用いて人為

的に発現低下（ノックダウン）させたところ、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。これに加えて、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 3)。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。

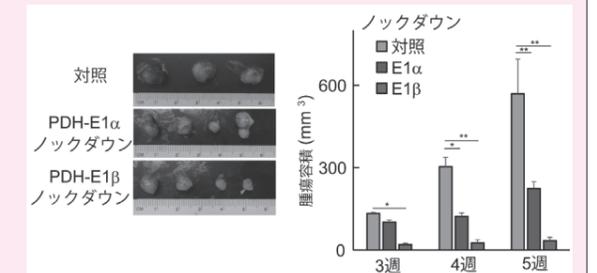


図 3 PDH の発現抑制は乳がん細胞の腫瘍形成能を低下させる

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.* (2018) *in press*
- Gudla PR, Nakayama K, Pegoraro G, Misteli T. SpotLearn: Convolutional Neural Network for Detection of Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) Signals in High-Throughput Imaging Approaches. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* (2017) *in press*

国内学会

中山 恒
HIF プロリン水酸化酵素 Phd3 が形成するタンパク質複合体を介した細胞内エネルギー代謝機構の解析 第 17 回日本蛋白質科学会年会 ワークショップ発表 6 月 20 日 仙台

先端分子医学研究部門 テニュアトラック研究室 細胞分子医学分野

准教授：大石由美子 早川清雄、林 晋一郎（2017年6月まで）
技術補佐員：星野由紀子

研究内容

概要

肥満を基盤とした糖尿病、高脂血症などの生活習慣病は、動脈硬化症を進める主要な要因となる。生活習慣病の発症や進展には、マクロファージなどの免疫細胞が重要な役割を担う。また、加齢に伴う骨格筋量の減少をサルコペニアと呼び、高齢者が生活習慣病を発症する背景として重要である。当分野では、①マクロファージを中心とした慢性炎症の分子機構 ②サルコペニアに関連した骨格筋の修復・再生のメカニズム を明らかにすることを主たる研究の目的としている。これらの研究を通じて、生活習慣病をはじめとした加齢関連疾患に対する予防・治療法の開発を目指す。

研究内容紹介

1. 慢性炎症におけるマクロファージの機能とその制御機構

肥満や糖尿病、動脈硬化症や発癌の基盤となる病態として、慢性炎症が重要である。慢性炎症は、内外の刺激によって惹起された炎症反応が適切に収束せず、持続した状態である。肥満時の脂肪組織や、動脈硬化では慢性炎症の所見が観察され、慢性炎症の病態形成にマクロファージが重要な役割を果たす。マクロファージは多彩な機能を持ち、それぞれ異なる分化を遂げたM1マクロファージは炎症を促進するが、M2マクロファージは炎症を収束すると考えられてきた。ところが、私たちは、このようなマクロファージの多彩な機能が、細胞代謝と密接に関連して、従来想定されていた以上にダイナミックに制御されることを見出した（ハイライト参照、Oishi, Hayakawa et al. *Cell Metab* 2017）。

ハイライト

「マクロファージがつくる不飽和脂肪酸が、炎症を収めるのに重要であることを発見」

—炎症の慢性化を抑え生活習慣病を防ぐ、新しい治療標的の可能性—

肥満・糖尿病をはじめとした生活習慣病の罹患者は近年ますます増加し、生活習慣病に対する治療・予防

肥満や生活習慣病の病態では、さまざまな代謝異常の影響を受けてマクロファージの細胞内代謝が変動し、刺激に対する応答性が変化して炎症が慢性化すると想定される。現在は、細胞代謝に治療的に介入し、マクロファージ機能を正常化する抗生活習慣病治療・予防法の開発を目指して、研究を行っている。

2. 骨格筋の修復・再生のメカニズムに関する研究

骨格筋は、運動や姿勢の保持に重要であるだけでなく、身体最大の代謝臓器として代謝調節にも重要である。加齢に伴う骨格筋量の低下をサルコペニアと呼び、高齢者が生活習慣病を発症する背景として注目されている。また、骨格筋は修復・再生能の高い臓器である。骨格筋の修復や再生を司るのは、筋特異的体性幹細胞である筋衛星細胞である。私たちは、筋損傷後に活性化された筋衛星細胞で、一過性にKlf5の発現が増加することを見いだした。Klf5は内外のストレスにより誘導され、ES細胞の未分化能の維持にも重要なZnフィンガー型の転写因子である。筋修復の過程において、Klf5は分化途上の幼弱な筋線維に発現し、筋衛星細胞特異的にKlf5を欠損したマウス（*Pax3-Cre:Klf5^{fllox/fllox}*）では筋損傷後の修復が著明に遅延した。これらの結果から、Klf5は筋再生や修復に必須であることを報告した（Hayashi et al. *eLife* 2016）。

さらに、興味深いことに筋損傷後の修復には筋衛星細胞とマクロファージの相互作用が必須である。今後は、筋衛星細胞-マクロファージの相互作用の観点から、サルコペニアの病態解明と治療・予防法の開発へと研究を展開してゆきたい。

法の開発が大きな課題となっています。生活習慣病は、炎症がうまくおさめられない（収束しない）で長引いてしまう「慢性炎症」を基盤として発症することが知られていますが、なぜ炎症が慢性化するのか、そのメカニズムは明らかではありません。

マクロファージは多彩な機能をもつ免疫細胞で、生活習慣病の病態形成に重要な役割を果たします。マク

ロファージが炎症を引き起こす刺激に反応して活性化されると、自ら細胞の中でさまざまな種類の脂肪酸を合成します。また、エイコサペンタエン酸（EPA）やドコサヘキサエン酸（DHA）などの不飽和脂肪酸は、マクロファージにおいて炎症を抑える働きを持っています。ところが、これらの脂肪酸の合成と、炎症におけるマクロファージの機能制御との関連は明らかではありませんでした。

マクロファージが炎症を引き起こす刺激に反応して活性化されると、自ら細胞の中でさまざまな種類の脂肪酸を合成します。また、エイコサペンタエン酸（EPA）やドコサヘキサエン酸（DHA）などの不飽和脂肪酸は、マクロファージにおいて炎症を抑える働きを持っています。ところが、これらの脂肪酸の合成と、炎症におけるマクロファージの機能制御との関連は明らかではありませんでした。

マクロファージにTLR4受容体を介して炎症を引き起こす刺激を与えると、炎症反応を進めるように活性化します。このとき、細胞内の不飽和脂肪酸は刺激後、1-2時間目には減少しますが、16-24時間目には増加に転じることが明らかとなりました。炎症を引き起こす刺激は核内受容体Liver X Receptor（LXR）の機能を低下させ、それまでLXRによって維持されていた不飽和脂肪酸の合成が止まり、マクロファージは炎症を促進する働きを示すことがわかりました。

ところが、炎症応答の後期（刺激から24時間目）には、転写因子Sterol responsive element binding protein（Srebp）1の働きで、一旦は低下した不飽和脂肪酸の合成が再び増加します。この不飽和脂肪酸の働きでマクロファージの炎症応答と活動とが抑えられ、組織に起きた炎症は収束に向かうことが明らかと

なりました。

全身でSrebp1を欠損したマウスでは、全身での炎症応答が長引いてしまいました。しかし、このマウスに、あらかじめ不飽和脂肪酸を多く含む餌を食べさせておくと、炎症応答を適切に収束させることができるようになりました。この結果は、マクロファージにおいてSrebp1によって行われる不飽和脂肪酸の合成が、からだの炎症応答の適切な制御に重要であることを示しています（図1）。

本研究の成果から、マクロファージの脂質代謝と炎症における機能とは密接に関連して制御されており、マクロファージがつくる不飽和脂肪酸が、炎症を長引かせずにうまく収束させる（収束させる）ために重要であることが明らかとなりました。マクロファージの炎症がうまく抑えられずに長引くと、「慢性炎症を」引き起こし、生活習慣病を発症する原因にもなります。本研究の成果は、マクロファージの脂質代謝（合成や分解）を標的とした、生活習慣病に対する新しい治療・予防法開発への道を拓くものと期待されます。

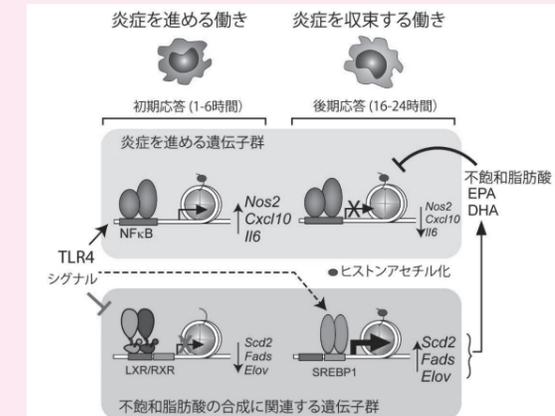


図1 Oishi, Hayakawa et al. *Cell Metab* 2017.

人事異動

転出：鈴木裕美（技術補佐員）、今野太貴（大学院修士課程）
転入：劉琳（大学院修士課程）、成英瀾（大学院研究生）

業績目録

原著論文

- Oishi Y, Spann, NJ, Link VM, Muse ED, Strid T, Edillor C, Kolar MJ, Matsuzaka T, Hayakawa S, Tao J, Kaikkonen M, Lam MT, Manabe I, Shimano H, Saghatelian A and Glass CK. SREBP1 contributes to resolution of pro-inflammatory TLR4 signaling by reprogramming fatty acid metabolism. *Cell Metab*, 25: 412-427, 2017
- Oishi Y, Hayashi S, Isagawa T, Oshima M, Iwama A, Shimba S, Okamura H and Manabe I. Bmal1 regulates inflammatory responses in macrophages by modulating enhancer RNA transcription. *Sci Rep* 7:7086, 2017.
- Vallecillo-García P, Orgeur M, Vom Hofe-Schneider S, Stumm J, Kappert V, Ibrahim DM, Börno ST, Hayashi S, Relaix F, Hildebrandt K, Sengle G, Koch M, Timmermann B, Marazzi G, Sassoon DA, Duprez D, Stricker S. Odd skipped-related 1 identifies a population of embryonic fibro-adipogenic progenitors regulating myogenesis during limb development. *Nat Commun* 8:1218, 2017
- Scionti I, Hayashi S, Mouradian S, Girard E, Lima J, Morel V, Simonet T, Wurmser M, Maire P, Ancelin K, Metzger E, Schuele R, Goillot E, Relaix F and Schaeffer L. LSD1 controls timely MyoD expression via MyoD Core Enhancer transcription. *Cell Rep* 18:1996-2006, 2017

英文著書

Hayakawa S, Oishi Y, Tanabe H, Isemura M, Suzuki Y, Tea, Coffee and Health Benefits. Bioactive Molecules in Food, Reference Series in phytochemistry p.1-58 (doi:10.1007/978-3-319-54528-8_14-1)

特許出願（国内）

発明の名称：免疫応答を制御する核酸および核酸の加工法
発明者：大石 由美子、早川 清雄
出願番号：特願2017-049827
出願日：2017/03/15

発明の名称：筋サテライト細胞の培養方法
発明者：大石 由美子、林 晋一郎
出願番号：特願2017-121787
出願日：2017/06/22

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. 骨芽細胞における Lgr4 について (パワプタノンナマハサラカムほか)

G 蛋白質共役型受容体分子 Lgr4 は、遺伝子変異マウスの解析から骨格形成への関与が指摘され、ヒトにおける遺伝子変異の同定から、加齢性骨粗鬆症の病態発生にも関わる可能性が示唆されている。我々は、加齢性骨粗鬆症の発症への Lgr4 の関与を推定し、酸化ストレスとの関連について、培養骨芽細胞株 MC3T3-E1 細胞への過酸化水素負荷の影響を検討した。MC3T3-E1 細胞における過酸化水素負荷は、Lgr4 発現を濃度依存性に少なくとも 48 時間まで持続的に抑制し、この発現抑制は転写後制御と新たな蛋白質合成を要求した。骨形成を促進する BMP2 は Lgr4 の発現を促進したが、過酸化水素負荷はこの Lgr4 発現誘導に打ち克って Lgr4 発現を抑制した。マウス頭蓋冠由来の初代培養骨芽細胞においても Lgr4 発現は MC3T3-E1 細胞と同様な発現を示し、老化に伴う酸化ストレスは骨芽細胞における Lgr4 発現を抑制して骨芽細胞機能を障害する可能性が示唆された。

2. 破骨細胞分化に関わるリソソームチャンネル TPC2 の機能について(大阪歯科大学:納富博士との共同研究)

リソソームチャンネル TPC2 はニコチン酸アデニンジヌクレオチドリン酸 (NAADP) を受容して機能するカ

ルシウムチャンネルである。我々は、破骨細胞における TPC2 がリソソームから細胞内へカルシウムを送り出すことで破骨細胞分化を促進することを先に報告した (JBC 2012 年)。ところが異なる研究者は、TPC2 チャンネルがホスファチジルイノシトール 3,5 ビスホスフェート (PI(3, 5)P₂) 受容によって Na チャンネルとして機能することを報告し、この現象がマグネシウム濃度に依存する可能性を指摘した。そこで本研究は、低マグネシウム環境における TPC2 機能が破骨細胞分化に及ぼす影響を検討した。実際、マグネシウム存在下で破骨細胞分化を促進した TPC2 は、低マグネシウム環境下ではその分化を逆に阻害し、そのメカニズムとして、ホスファチジルイノシトール 3,5 ビスホスフェート (PI(3, 5)P₂) が関与することが明らかにされた。PI(3, 5)P₂ はリソソームの TPC2 を介して細胞内 Na レベルを上昇させ、結果として細胞膜の脱分極が分化を阻害すると考えられた。細胞膜脱分極による破骨細胞の分化抑制について検証するため、光刺激によって細胞膜脱分極を誘導する実験系を用いて破骨細胞の分化誘導を行ったところ、脱分極が破骨細胞分化を抑制することが証明された。低マグネシウム栄養は成人の骨密度値低下をもたらすことが知られている。そのメカニズムは必ずしも明らかにされていないが、我々は低マグネシウム食で飼育したマウスにおける低骨密度が、PI(3, 5)P₂ レベルを上昇させるミオ・イノシトールを与えることで改善することを見いだした。本知見は破骨細胞分化制御に関する新たな分子機構の存在を示し、加えて低マグネシウム栄養に伴う骨量減少の発症機構にも新たな示唆を与えた点に意義を有する。

ハイライト

バルデビードル症候群(BBS)のモデル実験系 Bbs3 遺伝子欠損マウス頭蓋骨発生について(川崎真希理ほか)

繊毛関連疾患として知られるバルデビードル症候群は肥満と心臓奇形、合指症を特徴とする遺伝性疾患であり、特徴的な頭蓋顔面変形を伴うことが知られるが、その発生学的な分子機序は十分には知られていない。我々は、Bbs3 欠損マウスが生下時よりドーム状の頭蓋骨変形を伴う短頭症を呈することに注目して、本遺伝子改変マウスの頭蓋骨発生を形態学的に追跡した。マウス新生児頭蓋骨のマイクロ CT による画像解析は、この変形が頭蓋底中央部における骨原基の低形成と、顔面正中部における左右の骨原基癒合に起因することを示唆した。骨格標本の染色像は、とくに蝶形骨原基間の軟骨結合の欠損を際立たせ、頭蓋底部の前後方向への成長阻害の原因と考えられた。頭蓋底を形成する蝶形骨、篩骨および口蓋骨の骨原基は低形成を示し、正中部における左右の癒合が阻害される一方、これらの骨原基の成長は前後方向へは向かわず左右に拡大した。一方これより前方に位置する鼻腔、上顎、顔面部では左右の骨原基の分離が障害され、正中部で過度に癒合する傾向が見られた(鋤骨の癒合、前上顎骨

の変形、上顎切歯は正中部に単一の切歯として形成された)。組織学的に、頭蓋底を形成する正中部の外間葉系凝集の細胞数は少なく、同部への細胞動員もしくは細胞増殖が障害されることが原因と考えられ、神経堤細胞の繊毛機能が障害されることによる、Shh シグナルの異常に基づくと考えられた。培養軟骨細胞株 ATDC5 における Bbs3 ノックダウンによる検討では、古典的な Shh 経路の障害は軽微であり、非古典的経路を介した前駆細胞の遊走もしくは増殖制御の障害が原因となる可能性が推察された。

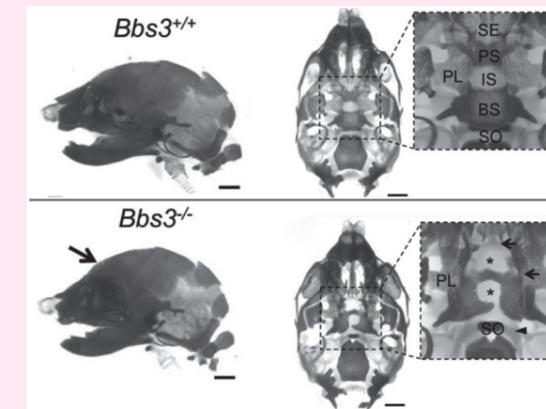


図 Bbs3^{-/-} マウス新生児頭蓋骨の骨格標本染色像

人事異動

梶川修平が技術補佐員として4月から12月まで勤務した
林欣が技術補佐員として4月から11月まで勤務した

業績目録

原著論文

1. Lin W, Izu Y, Smriti A, Kawasaki M, Pawaputanon C, Böttcher RT, Costell M, Moriyama K, Noda M, Ezura Y. Profilin1 is expressed in osteocytes and regulates cell shape and migration. J Cell Physiol. 2018, 233(1):259-268.
2. Notomi T, Kuno M, Hiyama A, Nozaki T,

- Ohura K, Ezura Y, Noda M. Role of lysosomal channel protein TPC2 in osteoclast differentiation and bone remodeling under normal and low-magnesium conditions. J Biol Chem. 2017, 292(51):20998-21010.
3. Katsumura S, Izu Y, Yamada T, Griendling K, Harada K, Noda M, Ezura Y. FGF Suppresses Poldip2 Expression in Osteoblasts. J Cell Biochem. 2017, 118(7):1670-1677.
 4. Pawaputanon Na Mahasarakham C, Izu Y, Nishimori K, Izumi Y, Noda M, Ezura Y. Lgr4 Expression in Osteoblastic Cells Is Suppressed by Hydrogen Peroxide Treatment. J Cell Physiol. 2017, 232(7):1761-1766.
 5. Kawasaki M, Izu Y, Hayata T, Ideno H, Nifuji A, Sheffield VC, Ezura Y, Noda M. Bardet-Biedl syndrome 3 regulates the development of cranial base midline structures. Bone. 2017, 101:179-190.

学位取得者と論文名

- 林欣 (修士課程: 3月修了)
林エンテイ (博士課程: 3月修了)
"Profilin Expression is Regulated by Bone Morphogenetic Protein (BMP) in Osteoblastic Cells" J. Cell. Biochem. 117: 621-628, 2016
勝村早恵 (博士課程: 3月修了)
論文名: "Beta Adrenergic Receptor Stimulation Suppresses Cell Migration in Association with Cell Cycle Transition in Osteoblasts—Live Imaging Analyses Based on Fucci System" J. Cell. Physiol. 231: 496-504, 2016
パワプタノンナマハサラカム・チャンチダ (博士課程: 9月修了)
論文名: "BMP-2 Enhances Lgr4 Gene Expression in Osteoblastic Cells" J. Cell. Physiol. 231: 887-895, 2016

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

- アルツハイマー病と前頭側頭葉変性症の共通病態を発見した（神経病理学）
- 発達期 YAPdeltaC が成人期小脳失調症 1 型病態を規定することを発見した（神経病理学）
- Atg5 非依存的オートファジー実行分子の一つとして Dram1 を同定した（病態細胞生物学）
- オートファジー細胞死は、個体発生期にアポトーシスの代償機能を果たしていることを発見した（病態細胞生物学）
- 損傷した肝細胞を排除する仕組みを発見した（発生再生生物学）
- 概日リズムや運動を制御する神経細胞内で働く遺伝子を同定した（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 リンパ球の活性化に活性酸素種が重要な役割を果たすことを明らかにした（免疫疾患）
- B リンパ球機能制御に関わるレクチン分子 CD22/Siglec2 の機能を制御する同じ細胞上の糖鎖リガンド（シスリガンド）の同定法を開発し、この方法を用いて新規シスリガンドを同定した（免疫疾患）
- マクロファージ特異的に MKL1 を高発現するマウスが炎症性腸疾患モデル動物となることを示した（分子病態）
- PP1M 抑制ユニットである M21 を高発現するマウスが肥大型心筋症のモデル動物となることを示した（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：陳 西貴、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PQBPI分子機能解析を通じた精神遅滞の研究、3) Oct-3/4の機能解析を通じた幹細胞分化機能の研究、を行っています。

研究紹介

1. 発達期病態が脊髄小脳失調症の発症後予後に関与する —YAPdeltaCによる治療法開発にむけて—

脊髄小脳失調症1型は代表的な神経変性疾患の一つであり、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症など他の神経変性疾患と同様に、根本的な治療法（病態修飾治療法：Disease Modifying Therapy：DMTとも言う）は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アミロイド凝集除去を目的としたアミロイド抗体を用いた多くの臨床試験が行われてきましたが、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。この事例は、どのような時期に如何なる不可逆的病態に至るかを明らかにすることが非常に重要であることを示しています。

本研究では、先行研究（Hoshino et al, JCB 2006）で岡澤グループが発見した非典型的なネクロシス（TRIAD）における制御分子YAPdeltaCの脊髄小脳失調症1型における機能解明を目指して、YAPdeltaCのTet-ONマウスとAtaxin1-KIマウスを交配し、YAPdeltaCの時期特異的発現がAtaxin1-KIマウスの症状と生存期間にどのような影響を与えるかを検討しました。その結果、胎児期から生後8週までのYAPdeltaC発現が症状と生存期間を顕著に改善するものの、それ以後のYAPdeltaC発現は効果がほとんど見られないことが分かりました。

さらに、YAPdeltaCは正常型Ataxin1と協調して発達期の小脳神経細胞における遺伝子発現調節に重要な役

割を果たすことが知られているRORalphaの機能を高める転写補助因子として働くこと、変異型Ataxin1はYAPdeltaCをRORalphaから切り離してしまうため、小脳神経細胞の成熟に必要な遺伝子発現を阻害することが明らかとなりました。YAPdeltaCを強制的に発現することでRORalphaとの結合を増やし、結果として小脳成熟に必要な遺伝子の発現量を回復することもわかりました。

本研究は、脊髄小脳失調症モデルマウスにおいてYAPdeltaCを用いて発達期の小脳成熟関連遺伝子の発現量を回復させることが発症後予後の改善につながることを示しました。本研究は、神経変性疾患一般に、発症前の早期治療が必要であることを示した一例と考えられ、同時に、その際の治療標的分子を示した点で、大きな意義を持つと考えられます。

2. アルツハイマー病と前頭側頭葉変性症の共通病態を発見 —新たなシグナルを標的とする早期治療法の開発にむけて—

アルツハイマー病、前頭側頭葉変性症、レヴィー小体型認知症の3大認知症は、高齢化社会の日本で大きな社会問題となっています。アルツハイマー病は、2025年には高齢者の5人に1人が罹患すると言われており、前頭側頭葉変性症とレヴィー小体型認知症は、アルツハイマー病に次いで頻度が高く、概ね、アルツハイマー病の2分の1から3分の1ほどの患者数があると言われています。これらの3大認知症には遺伝の影響が強い家族性認知症と遺伝的要素が目立たない孤発性認知症がありますが、家族性前頭側頭葉変性症の中では、タウ（tau）とプログレニューリン（PGRN）の遺伝子変異の頻度が比較的高いと言われています。

これらの3大認知症については、根本的な治療法（病態修飾治療法：Disease Modifying Therapy:DMT）は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（日本を含む）が行われてきましたが、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。この事例は、どのような時期に如何なる不可逆的病態に至るかを明らかにすることが非常に重要であることを示しています。前頭側頭葉変性症とレヴィー小体型認知症では、治療開発はアルツハイマー病よりも遅れた状況にあります。

本研究において、岡澤グループは新たに作成した変異プログレニューリン遺伝子を持つノックインマウスより採取した大脳組織を用いて、経時的に網羅的リン酸化プロテオーム解析を行いました。得られた結果を検討した結果、予想外にも、TDP43タンパク質の脳内凝集が見られる以前に、タウタンパク質の203番目アミノ酸（Ser203）のリン酸化の異常増加が変異プログレニューリンノックインマウスの脳内で検出されました。さらに解析を進めたところ、この203番目セリンがリン酸化したタウタンパク質（pSer203 タウタンパク質）はヒト前頭側頭葉変性症患者脳でも確認され、pSer203 タウタンパ

ハイライト

Tauのリン酸化はアルツハイマー病、tau型前頭側頭葉変性症、非tau型前頭側頭葉変性症の共通病態である

前頭側頭葉変性症はアルツハイマー病に次ぐ認知症の原因です。本研究において、岡澤グループは、前頭側頭葉変性症とアルツハイマー病に共通する病態、すなわちタウタンパク質異常リン酸化とそのシナプス局在、を発見しました。さらに本研究は、タウタンパク質異常リン酸化につながる新たなシグナルを解明しました。アルツハイマー病においては、アミロイド抗体療法の失敗の後に、タウタンパク質が新たな治療開発の標的分子として注目されています。本研究は、この戦略が前頭側頭葉変性症においても適応可能であることを示唆すると同時に、具体的な治療手法を複数提示しました。本研究は、治療標的分子として従来は知られていなかったTyro3, Gas6, B-rafらの分子を示し、

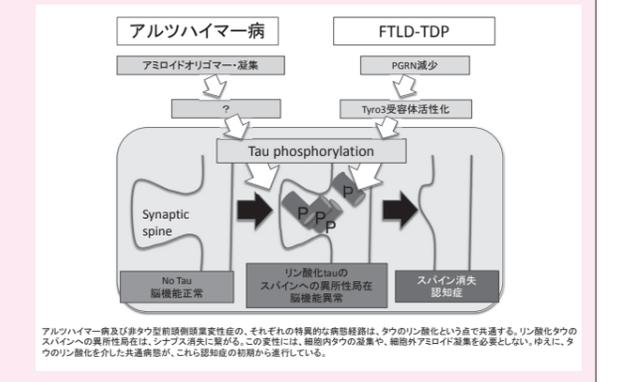
研究業績

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*. 2018; 9: 433. doi: [10.1038/s41467-018-02821-z](https://doi.org/10.1038/s41467-018-02821-z).
2. Kawahori K, Hashimoto K, Yuan X, Tsujimoto K, Hanzawa N, Hamaguchi M, Kase S, Fujita K, Tagawa K, Okazawa H, Nakajima Y, Shibusawa N, Yamada M, Ogawa Y. Mild maternal hypothyroxinemia during pregnancy induces persistent DNA hypermethylation in the hippocampal brain-derived neurotrophic factor gene in mouse offspring. *Thyroid*. February 2018, ahead of print. <https://doi.org/10.1089/thy.2017.0331>
3. Fujita K, Mao Y, Uchida S, Chen X, Shiwaku H, Tamura T, Ito H, Watase K, Homma H, Tagawa K, Sudol M, Okazawa H. Developmental YAPdeltaC determines adult pathology in a model of spinocerebellar ataxia type 1. *Nat Commun*. 2017; 8: 1864. doi: [10.1038/s41467-017-01790-z](https://doi.org/10.1038/s41467-017-01790-z).
4. Okazawa H. Ultra-Early Phase pathologies of Alzheimer's disease and other neurodegenerative diseases. *Proceedings of the Japan Academy*. Series B, Physical and biological sciences 93(6)361-377 2017. doi: [10.2183/pjab.93.022](https://doi.org/10.2183/pjab.93.022).
5. Okazawa H. PQBPI, an intrinsically disordered/denatured protein at the crossroad of intellectual disability and neurodegenerative dis-

ク質は神経細胞のシナプスに局在していました。このような、異常リン酸化タウタンパク質のシナプスへの局在は、既にアルツハイマー病モデルでも報告されており、シナプスを障害して認知症状につながることを示唆されています。そこで、タウタンパク質のAAVノックダウンベクターを用いて変異プログレニューリンノックインマウスの遺伝子治療を行ったところ、減少していたシナプスの数が正常化して認知障害の症状も改善しました。

また、岡澤グループは、プログレニューリン遺伝子変異と、タウタンパク質のSer203異常リン酸化の関係を調べました。まず、プログレニューリン遺伝子変異はプログレニューリンタンパク質の減少につながっていました。次に、プログレニューリンが、Tyro3という受容体型チロシンキナーゼとGas6という分泌タンパク質との結合を阻害することを示しました。また、Gas6がTyro3に結合してこれを活性化すると、PKC, MAPKあるいはB-rafというリン酸化酵素（キナーゼ）によるTyro3下流シグナルが活性化され、最終的にタウタンパク質のSer203異常リン酸化につながることを明らかにしました。

それらを阻害する作用を持つ、既に非神経疾患に臨床使用されているVemurafenibなどの薬剤や、AAVノックダウンベクターを用いた遺伝子治療が、将来的な治療開発の選択肢であることを、具体的に証明しました。



6. Sato K, Kerever A, Kamagata K, Tsuruta K, Irie R, Tagawa K, Okazawa H, Arikawa-Hirasawa E, Nitta N, Aoki I, Aoki S. Understanding microstructure of the brain by comparison of neurite orientation dispersion and density imaging (NODDI) with transparent mouse brain. *Acta radiologica open* 6(4) 2058460117703816. doi: [10.1177/2058460117703816](https://doi.org/10.1177/2058460117703816)
7. Yamanishi, E., Hasegawa, K., Fujita, K., Ichinose, S., Yagishita, S., Murata, M., Tagawa, K., Akashi, T., Eishi, Y., Okazawa, H. A novel form of necrosis, TRIAD, occurs in human Huntington's disease. *Acta Neuropathologica Communications*. doi: [10.1186/s40478-017-0420-1](https://doi.org/10.1186/s40478-017-0420-1)

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、新規オートファジーに関わる分子として Dram1 の同定に成功した。Dram1 は DNA 傷害などの刺激を受けて p53 依存的に発現が上昇する。Dram1 を欠損させた細胞では、DNA 傷害によって誘導される新規オートファジーが起こらないこと、Dram1 を過剰発現させると新規オートファジーが誘導されることより、新規オートファジーにおける Dram1 の関与は明白であった。また、Dram1 欠損細胞では、オー

トファゴソームは観察されないものの、隔離膜の形成は認められていることから、隔離膜の伸張、融合に必要な分子であることを見出した。その他、同人化学と共同研究を行い、オートファジーならびにミトファジー（ミトコンドリアを選択的に除去するオートファジー）を検出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。私たちは、最初に同定された非アポトーシス細胞死としてオートファジー細胞死を発見したが、これまでその個体レベルでの役割は明確でなかった。

今年度は、オートファジー細胞死の個体での役割を明らかにするために、Bax/Bak 欠損マウス（アポトーシスが起らないマウス）と Atg5/Bax/Bak 欠損マウス（アポトーシスとオートファジー細胞死が起こらないマウス）を作製した。これらのマウスを比較したところ、3重欠損マウスは2重欠損マウスに比較して胎仔死亡率が高いこと、指間のヒレの消失が遅れること、脳の形成に異常が生じることなどの表現系が認められた。これらの結果は、本来アポトーシスが担っている機能が破綻した時に、オートファジー細胞死が代償的な役割を果たすことを示すものである。

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. オートファジーを同定できるケミカルプローブの開発

同人化学と共同で、オートファジーを同定できるケミカルプローブの開発を行なった。まず、photoinduced electron transfer (PeT) システムを用いて、オートファジーの膜にプローブが入ると蛍光を発する化合物を合成した。さらに、酸性環境で蛍光を発するように工夫したところ、オートリソソームを検出できる化合物 (DALgreen) の開発に成功した (図1)。実際に、オートファジーマーカーとして頻用されている LC3 のドット用構造体と重ね合わせると、共局在が観察さ

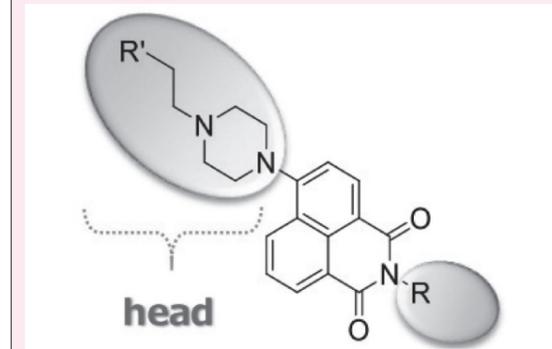


図1 DALgreenの構造式

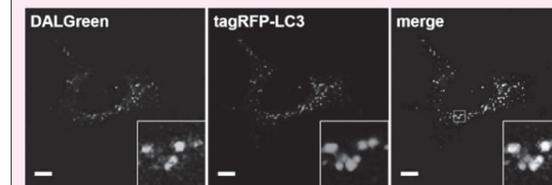


図2 DALgreenの蛍光(左)は、オートファジーマーカーであるLC3の蛍光(中)と共局在する(右)。

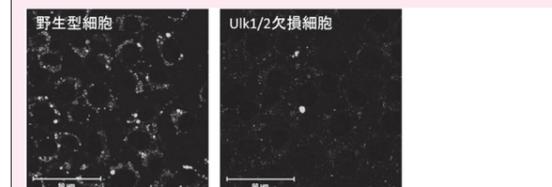


図3 正常細胞にラバマイシンを添加するとDALgreenの蛍光が見られる(左)が、Uik1/2欠損細胞(オートファジーが起こらない細胞)ではDALgreenの蛍光は見られない(右)。

人事異動

職名変更：申 珉京 (特任助教からプロジェクト助教)
転出：後藤佑太 (生命博士中退)、望月 啓 (医歯学修士卒業)、川田真大 (特別研究学生：東京理科大学大学院卒業)

研究業績

原著論文

1. Role of Atg5-dependent cell death in the embryonic development of Bax/Bak double-knockout mice. S. Arakawa, M. Tsujioaka, T. Yoshida, H. Tajima-Sakurai, Y. Nishida, Y. Matsuoka, I. Yoshino, Y. Tsujimoto, S. Shimizu. Cell death and differ 24: 1598-1608, 2017

2. Intrinsic autophagy is required for the maintenance of intestinal stem cells and for irradiation-induced intestinal regeneration. J. Asano, T. Sato, S. Ichinose, M. Kajita, N. Onai, S. Shimizu, T. Ohteki. Cell Reports 20: 1050-1060, 2017

3. Live Cell Imaging of Mitochondrial Autophagy with a Novel Fluorescent Small Molecule. H. Iwashita, S. Torii, N. Nagahora, M. Ishiyama, K. Shioji, K. Sasamoto, S. Shimizu, K. Okuma. ACS Chemical Biology 12: 2546-2551, 2017

4. Rhodium-catalyzed odorless synthesis of diaryl sulfides from borylarenes and S-aryl thiosulfonates. K. Kanemoto, Y. Sugimura, S. Shimizu, S. Yoshida, T. Hosoya. Chem. Commun. 53: 10640-10643, 2017

5. Hyperoxidation of ether-linked phospholipids accelerates neutrophil extracellular trap formation. S. Yotsumoto, Y. Muroi, T. Chiba, R.

Ohmura, M. Yoneyama, M. Magarisawa, K. Dodo, N. Terayama, M. Sodeoka, R. Aoyagi, M. Arita, S. Arakawa, S. Shimizu, M. Tanaka. Scientific Reports 7: Article number: 16026, 2017

6. The CCR4-NOT deadenylase complex controls Atg7-dependent cell death and heart function. T. Yamaguchi, T. Suzuki, T. Sato, A. Takahashi, H. Watanabe, A. Kadowaki, M. Natsui, H. Inagaki, S. Arakawa, S. Nakaoka, Y. Koizumi, S. Seki, S. Adachi, A. Fukao, T. Fujiwara, T. Natsume, A. Kimura, M. Komatsu, S. Shimizu, H. Ito, Y. Suzuki, J.M. Penninger, T. Yamamoto, Y. Ima, K. Kuba. Scientific Signalling 11: pii: eaan3638, 2018

7. Fluorescent small molecules for monitoring autophagic flux. H. Iwashita, H. Tajima-Sakurai, N. Nagahora, M. Ishiyama, K. Shioji, K. Sasamoto, K. Okuma, S. Shimizu, Y. Ueno. FEBS lett. in press, 2018

れた(図2)。また、正常細胞にDALgreenを前投与しておく、ラバマイシン投与によってDALgreenの蛍光が増強されたが、Uik1/2欠損細胞(オートファジー欠損細胞)ではDALgreenの蛍光は極めて低値であった(図3)。これらの結果より、DALgreenの蛍光強度はオートファジー活性を反映していることが示された。

2. オートファジー細胞死は生体においてアポトーシスの代償機構として働く

細胞死にはアポトーシスの他に、非アポトーシス細胞死としてオートファジー細胞死、ネクローシスなどが含まれる。私たちは、オートファジー細胞死が個体の中で如何に機能しているかを解析した。具体的には、オートファジー細胞死は、アポトーシスを代償していることが示唆されていたため、アポトーシス抵抗性のマウス(Bax/Bak 2重欠損マウス; DKOマウス)とオートファジー抵抗性マウス(Atg5欠損マウス)を交配して、アポトーシスならびにオートファジー細胞死が誘導されないマウス(Atg5/Bax/Bak 3重欠損マウス; TKOマウス)を作製した。その結果、正常マウスの胎生13.5日目にアポトーシスによって起こる水かきの消失が、DKOマウスでは14.5日目にオートファジー細胞死によって起こり、TKOマウスではさらに15日目まで遅れた(図4)。また、DKOマウスでは、胎生期の顕著な異常は認めないものの、TKOマウスでは、脳の形成異常や胎生致死に至るマウスが頻繁に認められた。これらの事実より、オートファジー細胞死は生体内でアポトーシスの代償機構として重要な役割を担っていることが明らかとなった。

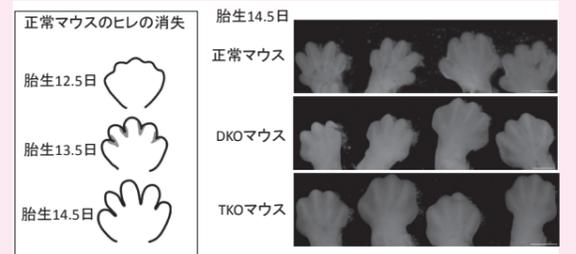


図4 アポトーシスの起きないBax/Bak DKOマウスでは、指間ヒレの消失が遅れる。オートファジー細胞死も起きないAtg5/Bax/Bakマウスでは、さらに指間消失が遅れる。

難治病態研究部門 発生再生生物学分野

教授：仁科博史 准教授：平山 順 助教：宮村憲央
特任助教：石原えりか（4月～）、YU Ruoxing（11月～）
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が

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

ハイライト

損傷した細胞を排除する仕組みを発見

—肝臓を構成する細胞の品質管理による恒常性維持機構— (Nature Communications 8, 16017, 2017)

近年、肝臓のサイズを制御するシグナルとしてHippo-YAPシグナル伝達経路が注目されている。本シグナルのノックアウトマウスやトランスジェニックマウスの解析によって、YAPの活性化は肝肥大と肝がんを誘導することが示された。しかしながら、YAP活性化肝細胞の詳細な動態は不明な点が多い。

我々は肝臓におけるYAP活性化細胞の動態を明らかにするため、マウス肝臓でモザイク解析を行った。その結果、1) アデノウイルスベクターを用いて肝臓内の約30%の肝細胞に活性型YAPを発現させると、肝臓は肥大し、活性型YAP発現肝細胞は増殖すること、2) 一方、HTVi法を用いて活性型YAPを発現させた場合は、肝サイズは変化せず、活性型YAP発現肝細胞は、7日間で30%から3%まで減少すること、3) この肝細胞排除現象には獲得免疫を必要でないこと、4) YAP活性化肝細胞は、類洞へ細胞移動し、アポトーシスを起こした後、クッパー細胞によって貪食

され、排除されること、5) アデノウイルスベクターとHTVi法の違いによる細胞応答の差は、肝障害の有無であること。6) HTVi法やエタノールによって、肝細胞と類洞内皮細胞の両者に傷害を与えた場合には細胞排除が誘導されること、7) 細胞移動を制御する低分子量Gタンパク質CDC42やRacの活性化が必須であること、8) CDC42やRacの活性化因子であるEct2とFgd3が細胞排除の生じる条件で特異的に発現誘導されること、が判明した(図1)。すなわち、Hippo-YAPシグナルは、肝臓のサイズ制御のみならず、肝臓の品質管理の制御にも関与することを示唆する。

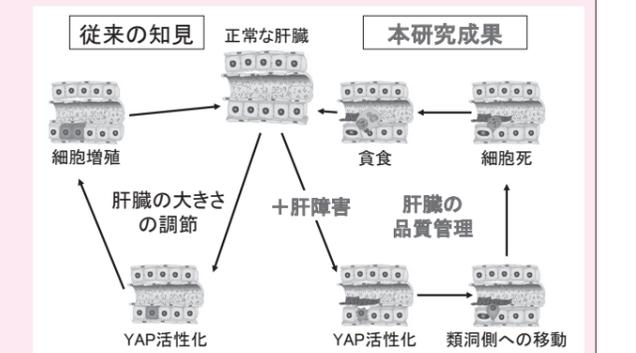


図1 転写共役因子YAPによる肝臓のサイズと品質の制御機構

人事異動

転入：長岡勇也（修士課程入学）、進匡（博士課程入学、c/o 清水重臣教授）
転出：出来（有馬）誉恵（博士修了、3月）、石原えりか（博士修了、3月）、YU Ruoxing（博士修了、9月）、原崇（東大博士中退、10月～就職）

業績目録

1. Norio Miyamura, Shoji Hata, Tohru Itoh, Minoru Tanaka, Miki Nishio, Michiko Itoh, Yoshihiro Ogawa, Shuji Terai, Isao Sakaida, Akira Suzuki, Atsushi Miyajima and Hiroshi Nishina (2017) YAP determines the cell fate of injured mouse hepatocytes *in vivo*. **Nature Communications** 8, 16017. Press release
2. Tokiwa Yamasaki, Norie Deki-Arima, Asahito Kaneko, Norio Miyamura, Mamiko Iwatsuki, Masato Matsuoka, Noriko Fujimori-Tonou, Yoshimi Okamoto-Uchida, Jun Hirayama, Jamey D. Marth, Yuji Yamanashi, Hiroshi Kawasaki, Koji Yamanaka, Josef M. Penninger, Shigenobu Shibata and Hiroshi Nishina. (2017) Age-dependent motor dysfunction due to

neuron-specific disruption of stress-activated protein kinase MKK7. **Scientific Reports** 7, 7348. Press release
3. Tatsuyuki Matsuda, Kojiro Mukai, Taishin Noguchi, Junya Hasegawa, Tomohisa Hata, Shun-ichiro Iemura, Tohru Natsume, Norio Miyamura, Hiroshi Nishina, Jun Nakayama, Kentaro Semba, Takuya Tomita, Shigeo Murata, Hiroyuki Arai and Tomohiko Taguchi (2017) Endosomal phosphatidyserine is critical for the YAP signalling pathway in proliferating cells. **Nature Communications** 8, 1246.
4. Kohei Otsubo, Hiroki Goto, Miki Nishio, Koichi Kawamura, Shigehisa Yanagi, Wataru Nishie, Takehiko Sasaki, T. Tomohiko Maehama, Hiroshi Nishina, Koshi Mimori, Toru Nakano, Hiroshi Shimizu, Tak W. Mak, Kazuwa Nakao, Yoichi Nakanishi, Akira Suzuki (2017) MOB1-YAP1/TAZ-NKX2.1 axis controls bronchioalveolar cell differentiation, adhesion, and tumor formation. **Oncogene** 36, 4201-4211.
5. Seiichiro Mori, Takamasa Takeuchi, Yoshiyuki Ishii, Takashi Yugaw, Tohru Kiyono, Hiroshi Nishina, Iwao Kukimoto. (2017) Human Papillomavirus 16 E6 Up-regulates APOBEC3B via the TEAD Transcription Factor. **J. Virology**

e02413-16
6. Jun Negishi, Yuka Omori, Mami Shindo, Hayate Takanashi, Shiori Musha, Suminori Nagayama, Jun Hirayama, Hiroshi Nishina, Takashi Nakakura, Chihiro Mogi, Koichi Sato, Fumikazu Okajima, Yuta, Mochimaru, and Hideaki Tomura (2017) Manganese and cobalt activate zebrafish ovarian cancer G-protein-coupled receptor 1 but not GPR4. **Journal of Receptors and Signal Transduction** 37, 401-408.
7. 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 (2017) Novel YAP1 Activator, Identified by Transcription-Based Functional Screen, Limits Multiple Myeloma Growth. **Molecular Cancer Research** 10.1158/1541-7786.
8. Yoichi Asaoka, Hiroshi Nishina, Makoto Furutani-Seiki (2017) [review] YAP is essential for 3D organogenesis withstanding gravity. **Develop. Growth Differ** 59: 52-58.

難治疾患研究部門 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
特任研究員：加藤靖子

研究内容

概要

生体を構築する多くの組織や臓器の恒常性維持においては、幹細胞システムが大きな役割を果たしている。本研究分野では、幹細胞システムの動作原理の研究を通じて、生体組織の再生、老化、がん化の仕組みを理解し、臨床に応用すべく研究を行っている。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、皮下脂肪織から成り、毛包や汗腺などの付属器を持つ。表皮では、恒常的に角化細胞が新陳代謝を行なうのに対して、毛包は周期的に再生を行い、多くの細胞が毛周期ごとに新しく入れ替わる。皮膚は、その外観から変化が容易に検出できる上、アクセスが容易で幹細胞の運命追跡も可能であり、実験系として多くの利点を持っている。色素細胞系譜の幹細胞（色素幹細胞）については、哺乳類の毛包のバルジーサブバルジ領域内に同定していた（Nishimura EK, et al., Nature, 2002.）が、汗腺の分泌部においても類似した色素幹細胞を発見した（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研究をすすめている。

2. 白髪や脱毛などの老化形質の発現メカニズムの解明

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、白髪が起こるを見い出している（Nishimura EK et al. Science 2005）。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。さらに脱毛についても、加齢マウスや早老症モデル、あるいは放射線などのゲノムストレスを受けたマウスにおいて、毛包幹細胞が自己複製せずに表皮へと運命をかえて分化すると、これによって幹細胞プールが維持できなくなり毛包がミニチュア化して薄毛と脱毛が進行することを明らかにしている（Matsumura H et al. Science 2016）。

3. 臓器が老化する仕組み

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研究を行なった。我々は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うことにより、組織幹細胞を中心として進行する老化プログラムの存在を明らかにした。加齢に伴って毛包幹細胞に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って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の枯渇を抑えると、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へと役立つことが示唆された（Matsumura H et al. Science 2016）。一方、表皮などの重層扁平上皮においてはより長期にわたり幹細胞集団が維持されており、表皮幹細胞集団を失いながらもクローン化が進行するため長期にわたって維持されており、臓器ごとに一部共通しながらも異なるプログラムが存在するものと考えられる（投稿中）。また、これら臓器老化プログラムにおいて幹細胞運命を決めている“自己複製のチェックポイント”について、その存在をはじめて報告し（Inomata K. et al. Cell 2009）、続いて毛包幹細胞においても類似

のチェックポイントの存在を見出し報告した（Matsumura H et al. Science 2016）。さらに他の臓器でもその存在が報告されるようになってきている。

4. ヒト皮膚幹細胞を用いた皮膚再生技術の開発

ヒト表皮幹細胞を皮膚より単離・培養して作製される培養表皮シートは、重度熱傷の治療などの臨床現場で用いられており、ヒト幹細胞を用いた再生医療の実例として、世界的に認知されている。しかしながら、培養表皮シートの作製には多大なコストを必要とし、また、シート作製時の品質管理も不十分である。また、毛包などの皮膚付属器の欠損や瘢痕組織の形成など、機能的にも審美的にも未解決の課題も多く、普及するレベルには至っていない。そこで我々は、まず培養表皮シートの作製効率と品質を共に向上させることを目的に研究を進めた結果、培養ヒト表皮角化幹細胞を非襲侵的かつ簡便に認識する方法を開発することに成功した（Nanba et al., J. Cell Biol., 2015; Tate et al., J. Dermatol. Sci. 2015）。本研究成果は、移植医療や再生医療用の細胞生産での応用

が期待される。また、ヒト真皮線維芽細胞のクローンレベルでの性状解析から、増殖能力の高いクローンと非増殖性ながら組織再編成能力の高いクローンの2種類に分類され、加齢に伴ってこれらが変化することを見出した（Hiraoka et al., J. Dermatol. Sci. 2015）。この線維芽細胞の機能的な不均一性は、真皮の損傷修復や線維化、さらに老化に関与している可能性がある。今後、上記の根底にあると考えられる幹細胞におけるプログラムの解明により難治性皮膚潰瘍や脱毛症などの治療へと役立つ予定である。

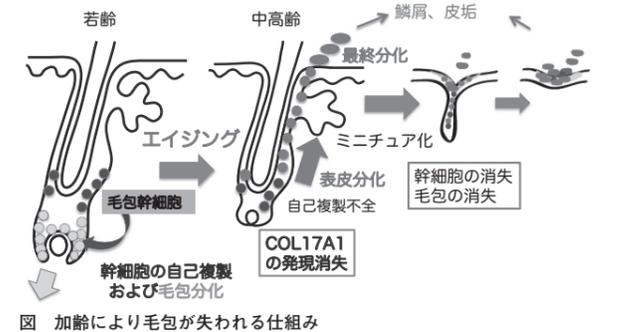


図 加齢により毛包が失われる仕組み

業績目録

総説

西村栄美：「臓器老化におけるステムセルエイジングの役割」実験医学増刊号総力戦で挑む老化・寿命研究 Vol.35 (20) : p37-42, 2017(羊土社)
西村栄美：「概論-ライフステージに伴う組織幹細胞システムの変遷と老化」実験医学 Vol.35 (8) : p1272-1278, 2017(羊土社)
西村栄美：「色素幹細胞, 毛包幹細胞のエイジングと白髪・脱毛」実験医学 Vol.35 (8) : p1285-1290, 2017」(羊土社)

国内学会招待講演

西村栄美：Stem cell orchestrate hair follicle aging program : 日本研究皮膚科学会総会第42回年次学術大会：(高知：高知文化プラザかるぽーと) 2017年12月14-17日 -招待-
西村栄美：毛包の再生と老化：第68回日本皮膚科学会中部支部学術大会：(京都：国立京都国際会館) 2017年10月7-8日 -招待-
西村栄美：毛包の再生と老化のプログラム：第38日本炎症・再生医学会：(大阪：大阪国際会議場) 2017年7月18-19日
西村栄美：臓器の老化とは？-加齢とともに毛が薄くなる仕組み：第17回日本抗加齢医学会総会：(東京：東京国際フォーラム) 2017年6月2-4日
西村栄美：Stem cell aging:the core to orchestrates tissue aging : Aging Science:from Molecules to Society-Aging Biology- : (宮城：東北大学研究推進・支援機構知の創出センター) 2017年5月9-11日

国際学会招待講演

Emi K.Nishimura :Stem cell-centric Mechanisms of hair follicle aging : Gordon Research Conference-Cornea and Ocular Surface Biology and Pathology- : (California, USA) Feburuary 18-23, 2018
Emi K. Nishimura : Stem cells orchestrate hair follicle aging program : Internatioal Meeting on RECQ Helicases and Related Disease 2018 : (Kazusa Akademia Hall: Chiba) February 16-18,

2018
Emi K.Nishimura : Stem cell orchestrate hair follicle aging : JSPS&NUS Joint 2nd Symposium "New Horizons in Normal And Cancer Stem Cell Research" : (Kumamoto : 熊本大学山崎記念館) : January 18-20, 2018 -招待-
Emi K. Nishimura : Stem cells orchestrate hair follicle aging program:Stem Cells in Disease Modeling and Therapeutics : (Tokyo : Yayoi Auditorium, University of Tokyo) November 13, 2017 -招待-
Emi K. Nishimura : The mechanism of aging-associated hair graying and hari thinning:toward the discovery of pharmacological targets : (Kyoto:Kyoto International Conference Cente) : Octobar 31 - November 3, 2017 -招待-
Emi K. Nishimura : Melanocyte stem cell in ecrine sweat glands: a potential original of acral melanoma:IPCC 2017 (The International Pigment Cell Conference) : (Denver, USA) August 26-30th, 2017
Emi K. Nishimura : Stem cells orchestrates hair follicle aging program : ISSCR (International Society for Stem Cell Research 2017 Annual Meeting) : (Boston, USA) June 14-17th, 2017
Emi K. Nishimura : Tissue aging program based on stem cell aging in hair follicle : KEYSTONE SYMPOSIA-Aging and Mechanisms of Aging-Related Disease- (神奈川 : パシフィコ横浜) May 15-19, 2017 -招待-

学内外教育活動

西村栄美：本学医学部医学科 先端医学 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) (H27年度 - H28年度)「皮膚構成細胞の細胞運命解析による皮膚の老化・再生機序の解明」
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モ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)「皮膚発癌におけるヘミデスモソーム構成因子の役割の解明」
科学研究費補助金・基盤研究C (継続) 松村寛行 (分担) (H26年度 - H29年度)
「皮膚構成細胞の細胞運命解析による皮膚の老化・再生機序の解明」
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：松原直子、赤津ちづる
特任講師：王 継揚 特任研究員：Mohammad Aslam, Medhzidov Nazim
技術補佐員：中野成子、久留主幸江、淀澤天斗、堀田淑坤
事務補佐員：澤田千賀子

研究内容

正常な免疫系は病原微生物やがん細胞を排除するが、微生物以外の異物や正常な自己成分には反応しない。微生物以外の異物や自己成分への反応は、それぞれ、アレルギーおよび自己免疫疾患の原因となる。非タンパク質抗原への免疫応答も、結核菌や髄膜炎菌などの病原微生物への免疫応答や、種々の自己免疫疾患の発症に重要である。非タンパク質抗原への免疫応答のメカニズムはタンパク質抗原への応答と根本的に異なる。非タンパク質抗原への反応における病原微生物とそれ以外の異物や自己抗原との識別のメカニズム、病原微生物由来の非タンパク質高原への免疫応答のメカニズムについては未解明の点が多い。したがって、非タンパク質抗原への免疫応答の解明は、免疫学の残されたフロンティアのなかでもとりわけ重要なものの1つである。本研究室では、以下の研究をおこなっている。

- 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) 抗体医薬に代わる治療ワクチンの開発

研究紹介

1. CD22の糖鎖リガンド同定法の開発と、新規シスリガンドの同定

CD22はSiglec2とも呼ばれる主にB細胞に発現する膜分子で、細胞外領域の糖鎖認識(レクチン)ドメインでシアル酸を認識し、細胞内領域でタンパク質チロシンフォスファターゼSHP-1を活性化することによりB細胞抗原受容体(BCR)シグナル伝達を負に制御する。CD22を含め、多くの細胞表面のレクチンは、同じ細胞表面の糖鎖リガンドにより修飾された糖タンパク質や糖脂質(シスリガンド)と会合する。CD22はシスリガンドにより機能的な制御を受けることがすでに明らかに

なっているが、シスリガンドの本態やシスリガンドによる制御の詳細は不明である。一般的にレクチンと糖鎖の反応は弱いために、免疫沈降などの通常の方法で糖鎖リガンドを同定することは困難である。我々は、proximity labeling法という標的分子の近傍の分子を標識する方法の1つで、ビオチン化チラミドを用いるproximity labeling法により、効率よくCD22の糖鎖リガンドを同定できることを明らかにし(Alborzian Deh Sheikh et al. 2018)、さらに、新規糖鎖リガンドの同定に成功した。

2. 抗体産生増強作用を持つCD22結合性糖鎖修飾化合物の開発

抗体産生増強化合物はアジュバントとしてワクチンに用いられる。これまでに開発された抗体産生増強化合物は樹状細胞などの先天免疫細胞を活性化することで、T細胞の活性化を増強し、さらに、抗体産生を増強する。一方、これらのアジュバントは先天免疫細胞の活性化により炎症をおこし、副作用を惹起する。我々は、CD22欠損B細胞では、抗原刺激の際の活性化が増強することを明らかにしていた(Onodera et al. 2008)。そこで、CD22の機能を阻害することで免疫応答を増強する新規アジュバントの開発を行った。

まず、我々は天然リガンドである α 2,6シアル酸よりも1万倍強くCD22に結合するシアル酸誘導体を開発した(Abdu-Allah et al. 2011)。この化合物はB細胞の抗原受容体を介するシグナル伝達を抑制するものの、CD22の機能を抑制することで、T細胞によるB細胞活性化で重要な役割を果たすCD40を介する活性化や、リポ多糖などによるB細胞の活性化を増強した。そこで、この化合物を抗原とともにマウスに免疫したところ、化合物による抗体産生を増強した(Matsubara et al. submitted)。既存のアジュバントをマウスに投与すると炎症反応を惹起したが、CD22結合シアル酸誘導体では炎症は誘導されなかった。この結果は、CD22に高親和性に結合する化合物が、CD22の機能を抑制することでB細胞の活性化を増強し、抗体産生を増強するが、先天免疫細胞を活性化しないために炎症反応を誘導することを示し、この化合物が炎症をおこさない抗体産生増強化合物として有用であることが明らかとなった。

3. Bリンパ球活性における活性酸素種の役割

活性酸素(ROS)は当初は細胞のストレスなどで発生し、細胞に有害な分子であると考えられていたが、近年ROSがシグナル伝達分子として機能することが明らかとなってきた。しかし、B細胞の活性化におけるROS

の役割については不明な点が多い。我々は、B細胞抗原受容体(BCR)を架橋した際にROSが二相性に産生され、早期のROS産生はB細胞の活性化を制御しないが、後期のROS産生がBCR架橋によりB細胞の増殖で必須であることを明らかにした。

ハイライト

レクチンのシスリガンド同定法の開発とCD22がシスリガンドと会合するメカニズムの解明

多くの細胞表面の糖鎖認識分子(レクチン)は、同じ細胞表面の糖鎖リガンドにより修飾された糖タンパク質や糖脂質(シスリガンド)と会合する。CD22のように、シスリガンドによりレクチンの機能が制御されるものもある。一般に、レクチンと糖鎖の反応は弱いために、免疫沈降法などでレクチンの糖鎖リガンドを同定することは困難な場合が多い。そこで、我々は近年開発された標的分子の近傍の分子を同定する方法であるproximity labeling法を用いることで、CD22のリガンドが容易にそして確実に同定できることを明らかにした。

チラミドは H_2O_2 存在下で、peroxidaseにより極短寿命のラジカルとなる。そこで、horseradish peroxidase(HRP)でラベルされた抗CD22抗体と H_2O_2 をビオチン化チラミドとともに細胞に反応させることで、細胞表面のCD22の極近傍の分子をビオチン化することができる。この方法を用いて正常B細胞上のCD22近傍の分子を標識すると、種々のビオチン化分子を同定することができた。一方、CD22の糖鎖リガンドである α 2,6シアル酸の産生に必須のシアル酸転移酵素ST6GalIを欠損する(ST6GalI^{-/-})B細胞では、内因性のビオチン化タンパク質以外にはビオチン化分子を同定できなかった。このことは、proximity labelingによりビオチン化された分子がCD22と糖鎖依

存的に会合する分子であることを示すもので、これらの分子がCD22のシス糖鎖リガンドであることが明らかとなった。

さらに、この手法を用いて解析を行った結果、おそらく膜ドメインによる局在やタンパク質タンパク質相互作用などにより、CD22のシスリガンドは糖鎖非依存的にCD22のやや近傍に位置する分子が、糖鎖とCD22のレクチン活性に依存した反応によりCD22のごく近傍に引き寄せられ、CD22の機能を制御するようになることが明らかとなった(図1)。

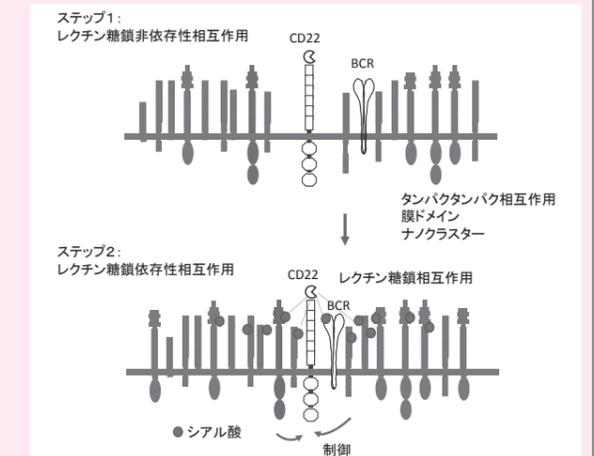


図1 CD22とシス糖鎖リガンドとの相互作用
CD22シス糖鎖リガンドは、糖鎖非依存的にCD22の近傍に局在する分子(上段、ステップ1:レクチン糖鎖非依存性相互作用)が糖鎖依存的にCD22と相互作用(下段、ステップ2:レクチン糖鎖依存性相互作用)することで、CD22の極く近傍に引き寄せられ、CD22の機能を制御する。

人事異動

転入: 遠藤萌恵(大学院修士課程)、Huang Yuming(大学院修士課程)、Long Wang(大学院研究生)、Alborzian-Deh-Sheikh Amin(大学院博士課程)、Rengarajan Sundararaman(大学院博士課程)、淀澤天斗(技術補佐員)、堀田淑坤(技術補佐員)
転出: 松原直子(助教)、Mohammad Aslam(特任研究員)、中野成子(技術補佐員)、久留主幸江(技術補佐員)

業績目録

原著論文

1. 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.
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 α 2,6 sialic acid-dependent and -independent interactions. Biochem. Biophys. Res. Comm. 495: 854-859.
3. 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.
4. Liu, J., Xiong, E., Zhu, H., Mori, H., Yasuda, S., Kinoshita, K., Tsubata, T. and Wang, J.-Y. (2017):

- Efficient induction of Ig gene hypermutation in ex vivo-activated primary B cells. J. Immunol. 199: 3023-3030.
5. Tsubata, T. (2017): B cell tolerance and autoimmunity. F1000Research 6 (F1000 Faculty Rev.): 391.

総説・著書

1. 鏑田武志 CD72による自己核酸と微生物核酸の識別とSLEの制御 臨床免疫・アレルギー科 67: 209-215, 2017
2. 鏑田武志 全身性エリテマトーデスの最新のメカニズムと治療薬開発 PHARM STAGE 17: 66-72, 2017
3. 鏑田武志 抗体医薬の代替としての治療ワクチン 医学の歩み 264: 383-389, 2018.

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

我々を含む国内外の研究者らにより心筋症の原因遺伝子とその変異による機能異常が解明されているが、さらなる未知の心筋症原因遺伝子を同定するために、候補遺伝子アプローチや連鎖解析を行っている。また、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複数報告した (Harada, et al. J Hum Genet, Online pub, Tsuji, et al. Pediatr Int, In Press)。一方、ミオシン脱リン酸化酵素 P P 1 M 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, In Press)。これらとは別に、アペリン受容体およびリガンドとなる ELABELA が圧負荷状態における心機能維持を担うことを明らかにした (Sato, et al. Cardiovasc Res 113: 760, 2017)。さらに、

RNA 代謝経路が Aylg7 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, In Press)。

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。一方、炎症性腸疾患患者では冠動脈硬化症の発症が有意に多いことが疫学的に判明しているが、その理由は不明であった。MKL1-Tg は自然経過中に脱肛、腸短縮、陰窩炎などの炎症所見を示したため、デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 投与による実験腸炎の発症を検討したところ、MKL1-Tg は有意に発症感受性が高いことが判明した。また、MKL1-Tg ではマクロファージの分化・活性化異常が生じて炎症性マクロファージ (M1) 有意になっていることから、炎症性腸炎と動脈硬化症には共通の病態形成機序があることが判明した (An, et al. Sci Rep 7: 13650, 2017)

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おり、我々も HLA-B52, -B67 との関連を報告しているが、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、複数の新たな疾患遺伝子が同定されるとともに、HLA 領域の疾患関連 SNV は免疫関連分子の発現制御と関することなどが判明している。

4. HLA 領域ヒトおよび動物 MHC 領域の解析

HLA 領域には自己免疫疾患発症を規定する遺伝子群が存在する。今年度は皮膚筋炎と HLA との関連を検討し、診断マーカーである抗 MD A 5 抗体の産生が特定の HLA-DRB1 遺伝子アリルと関連することを見出した (Chen et al. J Rheumatol 44: 1389, 2017)。また、HLA 領域内の自己免疫関連遺伝子である NFKB1L1 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ている。一方、エイズ (HIV) ワクチン開発で用いられるアカゲザルについて、そのワクチン免疫応答の個体差

を制御するゲノム多様性を検討している。本年は、ウイルス毒性の増強は MHC に依存した選択と馴化を介して成立するとの独創的な発見に至った (Seki et al. PLoS Pathog 13: e1006638, 2017)。また、次世代シーケンサーによるアカゲザル MHC タイピング法を開発している。さらに、アカゲザルおよびカニクイザルを対象として 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ている。

ハイライト

マクロファージにおける MKL1 発現はマウス腸炎の発症を制御する (An, et al. Sci Rep 7: 13650, 2017)

クローン病及び潰瘍性大腸炎を代表とする炎症性腸疾患は、腸管組織における慢性的な炎症を特徴とする難治性疾患であり、マクロファージの機能異常に起因する恒常性の破綻が発症に寄与すると考えられているが、その分子機序には不明な点が残されている。また、炎症性腸疾患の動物モデルとして DSS 誘導性腸炎が用いられているが、MKL1 遺伝子を欠損したマウスでは DSS 誘導性腸炎が軽症化することが報告された。そこで、DSS 誘導性腸炎モデルの病態形成機構における MKL1 遺伝子の関与とマクロファージの機能異常機序を解明することとした。まず、DSS 誘導性腸炎において、大腸粘膜固有層に浸潤した組織マクロファージで MKL1 遺伝子の発現量の亢進を見出した。また、マクロファージ特異的に MKL1 遺伝子を

5. エイズ感受性・抵抗性関連遺伝子の探索

HIV 感染感受性には個人差があり、HIV 感染後の経過や AIDS 発症までの期間にも個人差が存在する。このような HIV/AIDS 感受性・抵抗性に関わるヒトゲノム多様性を進化的観点から検討しており、霊長類系統で進化選択を受けた OAS1 遺伝子のゲノム多様性と HIV 感染感受性との関連を見出した。

高発現するトランスジェニックマウス (MKL1-Tg) は、大腸短縮、直腸脱、陰窩炎などの腸炎様病態を自然発症した。さらに、MKL1-Tg において大腸組織マクロファージの炎症抑制機能が低下すること、骨髄由来マクロファージの分化・活性化異常が生じて炎症誘導型 (M1) が優位になること、DSS 誘導性腸炎が重症化すること (図) を示した。マクロファージ MKL1 を標的とした炎症性腸疾患の新たな治療戦略の開発が期待される。

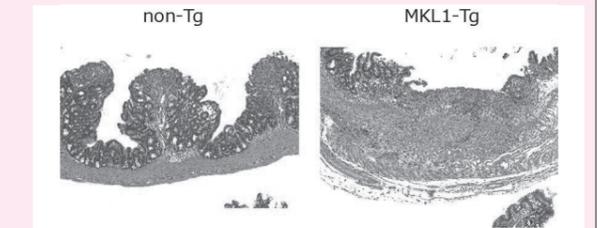


図 MKL1-Tg では DSS 誘導性腸炎が重症化する DSS 投与後の大腸組織標本。MKL1-Tg では、大腸粘膜層の損傷と炎症細胞の浸潤が重症化した

人事異動

転出：8月に研究補助員の佐藤美佐子が退職。

業績目録

1. Kikkawa E, Tanaka M, *Naruse TK, Tsuda TT, Tsuda M, Murata K, *Kimura A. Diversity of MHC class I alleles in Spheniscus humboldti. Immunogenetics 2017; 69(2): 113-124.
2. *Gregson, JM, *Freitag DF, Surendran P, Nathan O, Stitzel NO, Chowdhury R, Burgess S, Kaptoge S, Gao P, Staley JR, Willeit P, Nielsen SF, Caslake M, Trompet S, Polfus LM, Kuulasmaa K, Kontto J, Perola M, Blankenberg S, Veronesi G, Gianfagna F, Männistö S, Kimura A, Reilly DF, Mijatovic V, Munroe PB, Ehret GB, Uria-Nickelsen P, Malarstig A, Dehghan A, Sasaoka T, Kato N, Yamada Y, Kee F, Müller-Nurasyid M, Ferrières J, Arveiler D, Salomaa V, Thompson SG, Jukema JW, Packard CJ, Majumder AAS, Alam DS, Deloukas P, Schunkert H, Samani NJ, Kathiresan S, Nordestgaard BG, #Saleheen D, #Howson JMM, #Angelantonio ED, #Butterworth AS, #Danesh J. Genetic invalidation of Lp-PLA2 as a therapeutic target: lessons for future cardiovascular trials. Eur J Prev Cardiol 20 D 17; 24(5): 492-504.
3. Sato T, Sato C, Kadowaki A, Watanabe H, Ho L, Ishida J, Yamaguchi T, Kimura A, Fukamizu A, Penninger JM, Reversade B, Ito H, Imai Y, *Kuba K. ELABELA-APJ axis protects from pressure overload heart failure and Angiotensin II-induced cardiac damage. Cardiovasc Res. 2017; 113(7): 760-769.
4. Chen Z, Wang Y, Kuwana M, Xu X, Hu W, Feng X, Wang H, *Kimura A, *Sun L. HLA-DRB1*04:01 and *12:02 as genetic risk factors for the development of anti-MDA5 antibodies in patients with dermatomyositis. J Rheumatol. 2017; 44(9): 1389-1393.
5. #Seki S, #Nomura T, #Nishizawa M, Yamamoto H, Ishii H, Matsuoka S, Shiino T, Sato H, Mizuta K, Sakawaki H, Miura T, Naruse TK, Kimura A, *Matano T. Increased in vivo virulence of MHC-adapted AIDS virus serially-passaged through MHC-mismatched hosts. PLoS Pathog. 2017; 13(9): e1006638.
6. An J, Nagaishi T, Watanabe T, Naruse TK, Watanabe M, *Kimura A. MKL1 expressed in macrophages contributes to the development of murine colitis. Sci Rep. 2017; 7: 13650.
7. #Harada H, #Hayashi T, Nishi H, Kusaba K,

- peutic target: lessons for future cardiovascular trials. Eur J Prev Cardiol 20 D 17; 24(5): 492-504.
3. Sato T, Sato C, Kadowaki A, Watanabe H, Ho L, Ishida J, Yamaguchi T, Kimura A, Fukamizu A, Penninger JM, Reversade B, Ito H, Imai Y, *Kuba K. ELABELA-APJ axis protects from pressure overload heart failure and Angiotensin II-induced cardiac damage. Cardiovasc Res. 2017; 113(7): 760-769.
4. Chen Z, Wang Y, Kuwana M, Xu X, Hu W, Feng X, Wang H, *Kimura A, *Sun L. HLA-DRB1*04:01 and *12:02 as genetic risk factors for the development of anti-MDA5 antibodies in patients with dermatomyositis. J Rheumatol. 2017; 44(9): 1389-1393.
5. #Seki S, #Nomura T, #Nishizawa M, Yamamoto H, Ishii H, Matsuoka S, Shiino T, Sato H, Mizuta K, Sakawaki H, Miura T, Naruse TK, Kimura A, *Matano T. Increased in vivo virulence of MHC-adapted AIDS virus serially-passaged through MHC-mismatched hosts. PLoS Pathog. 2017; 13(9): e1006638.
6. An J, Nagaishi T, Watanabe T, Naruse TK, Watanabe M, *Kimura A. MKL1 expressed in macrophages contributes to the development of murine colitis. Sci Rep. 2017; 7: 13650.
7. #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. (#; equal contribution) Epub ahead of print (doi: 10.1038/s10038-017-0383-x)
8. *Tsuji N, Hayashi T, Hayashi T, Kimura A, Nishikubo T. A case of early-onset of Barth syndrome and severe cardiomyopathy associated with triple mutations. Pediatr. Int, In Press
9. #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. (#; equal contribution) Sci Signal, In Press
10. #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, In Press

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横断的な研究を実施し、得られた包括的生命科学情報を基盤に難治疾患の病態を明らかにするとともに、罹患リスクなど、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 を含む癌患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、治療標的や悪性特性判定バイオマーカーの候補マイクロ RNA の複数を同定した。
2. がん抑制型マイクロ RNA 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分子であることの POC を得た。
3. ALL 治療において、L-アスパラギナーゼ (L-asp) とオートファジー阻害薬クロロキン (CQ) の併用療法により、p53 依存的細胞死を惹起されることを明らかにした。その結果、p53 変異の有無をコンパニオン診断に既存薬クロロキンと L-asp の併用治療法のドラッグリポジショニング効果の層別化の可能性を明示した。
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ゲノムコピー数異常 (CNV) を見出した。

【分子遺伝】

1. BRCA1・2 をはじめ乳がん発症の関連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. 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. 免疫抑制剤 FK506 に結合する標的分子 FKBP51 タンパク質は、がんの遊走・浸潤を亢進させることが報告されている。我々は、FKBP51 は、RhoA-ROCK シグナルを調節して、細胞の遊走・浸潤を制御することが明らかにした。
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。
3. 腹部大動脈瘤のリスク遺伝子候補として *WIPF3*, *LIPA* 遺伝子を、エクソームチップを用いた関連解析により同定した。

【エピジェネティクス】

1. LTR レトロトランスポゾン由来の *SIRH* 遺伝子群が、哺乳類でもヒトおよびマウスを含む真獣類のグループに多数存在することを報告し、そのうち *Peg10*, *Peg11/Rtl1*, *Sirh7* の 3 つの遺伝子が胎盤形成に関わる必須機能、*Sirh11*, *Sirh3*, *Sirh8* の 3 つは脳機能に関わることを明らかにした。
2. 再生医療へ ES 細胞を使う場合、そのエピジェネティックな状態を正常に保つ必要がある。これまでの培養条件の問題点を明らかにし、より最適な培養方法を報告した。
3. ヒト体外受精を用いて、着床、妊娠に関わるいくつかの重要な遺伝子の発現量変化が母親年齢と相関していることを報告した。

【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、病理組織画像より乳がんのリンパ節転移を同定するアルゴリズムを開発した。このアルゴリズムにより病理組織画像を用いた国際コンペティション (ISBI2017 Camelyon17 ワークショップ) で 3 位に入賞した。また、本技術を用いて、腫瘍細胞の形態とゲノム異常との関連を解析する研究を行っている。
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. 医学・医療オミックスビッグデータ解析の顕著な成果として、国際ぜん息コンソーシアムにて全世界的共同研究を行い、新たな 5 つのぜん息関連遺伝子領域を発見しました。それらは、自己免疫疾患や炎症性疾患の座位と大きく重なっており、同時に免疫関係の制御を担っている可能性も示されました。
2. 遺伝性糖尿病を症例として、ゲノム上の変異箇所がコードするタンパク質ドメインと、疾患の重症度の関連をエンリッチメント解析で同定し、タンパク質立体構造解析結果との関連性を同定する手法も確立しました。さらに最近では、エクソーム解析から全ゲノムシークエンス解析へと探索手法を拡大し、遺伝性疾患原因変異を探索する手法も開発中です。

ゲノム応用医学研究部門 分子細胞遺伝分野

教授：稲澤謙治 講師：井上 純 助教：村松智輝、玄 泰行
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転回する「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. がん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 がん転移分子機構に基づいた転移抑制法の開発
がんの悪性化の要因の一つであるがん転移は、複雑かつ多段階のステップによって成立する事象であり、これまでも様々な分子機序が報告されてきたが、未だ不明な点は多い。そのような中、2017年度において、食道癌細胞株 KYSE150 細胞を用いた *in vivo* selection により、肺への高転移能を保持する亜株を樹立し、様々な炎症性サイトカイン・ケモカインの分泌が KYSE150 細胞の肺転移に寄与する可能性を見いだした (Okuda et al. Oncotarget 2017)。

② 細胞内代謝活性を指標とした癌の個別化医療の確立
がん細胞では、遺伝子異常に起因して正常細胞とは異なる、特有の細胞内代謝経路が活性化している。従って、遺伝子の異常および活性化した代謝経路に基づいた適切ながん治療戦略の開発が求められている。そのような中、2017年度、食道扁平上皮癌において、*miR-432-3p* の高発現が代謝関連転写因子 NRF2 の異常な活性化に寄与していることを明らかにした (Akdemir et al. Mol Cancer Res. 2017)。さらに、卵巣癌において、非必須アミノ酸グルタミン合成酵素 (Glutamine synthetase; GS) の不活性化を有する卵巣癌細胞は、その細胞生存において、細胞外グルタミン取り込みに依存していること、そして、そのような GS 不活性化卵巣癌に対しては、L-アスパラギナーゼ処理により、細胞外グルタミンを枯渇させる治療戦略が有効である可能性を示した (Furusawa et al. Carcinogenesis 2018 in press)。

2. 個別化がん医療実現のための開発研究

「AMED・オーダーメイド医療実現プログラム」において、肺、胃、結腸・直腸 (大腸)、前立腺、乳腺、食道扁平上皮など6がん種を対象に、11名の研究者からなるプロジェクトチームを組織し、理化学研究所ならびに東大医科研・バイオバンクジャパン (BBJ) と資源、知識、情報、技術等において緊密な連携のもと、オールジャパン体制でオーダーメイドがん医療実現のための開発研究を推進している。この取り組みにより、個人のゲノム情報に基づいた最適な医療の実現化を目指している。2017年度、食道扁平上皮癌における網羅的な DNA メチル化解析を行い、予後不良の指標であるリンパ節転移を予測するマーカーとして *HOXB2* と *SEPT9* の DNA メチル化を同定した (Nagata et al. Oncotarget 2017)。

3. 食道扁平上皮がんの新規治療標的分子と診断バイオマーカーの同定

「AMED・次世代がん研究シーズ戦略的育成推進プログラム」において、抗がん剤としてのマイクロ RNA の探索および最適な DDS の開発を実施している。上皮間葉転換 (EMT) は癌細胞の転移や薬剤耐性に寄与することが知られているが、2017年度において、EMT を抑制するマイクロ RNA を同定するため、EMT 可視化システムを組み合わせた細胞ベースのスクリーニングを行い、*miR-509-5p* と *miR-1243* を同定した (Hiramoto et al. Sci Rep 2017)。

4. 遺伝性疾患のゲノム解析

2005年より国内23医療施設の遺伝専門医による「アレイ CGH 診断法実用化コンソーシアム」を組織し、多発奇形をともなう発達遅滞を呈する日本人450名を対象とした SNP アレイを用いた微細ゲノム構造異常のスクリーニングを実施してきた。2017年度は、発達遅滞を呈する先天異常疾患である小脳脳幹部低形成を伴う小頭症 (MICPCH) の患者41例の収集解析を行い、37例 (90.2%) に疾患原因またはその候補となるゲノム構造異常を同定し、包括的に病態を明らかにしました (Hayashi et al. Plos One 2017)。

ハイライト

miRNA ライブラリースクリーニングによって同定された強力な抗腫瘍効果をもつ *miR-3140* は BRD4 及び BRD4-NUT 融合遺伝子を標的とする (Tonouchi E. et al. Sci Rep 8, 2018)

1090種類のマイクロ RNA を搭載したマイクロ RNA ライブラリーの機能的スクリーニングにより、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* は癌促進的に働く BRD4 をコーディング領域を介して抑制し、また *EGFR*、*CDK2* といった増殖を促進する遺伝子を 3' UTR 領域を介して抑制した。その結果、*miR-3140* は多種のがん細胞の増殖を抑制することを見出し、*in vivo* における抗腫瘍効果も確認できた。さらに、*miR-3140* は BRD4-NUT 融合遺伝子を抑制することで、難治性癌の NUT midline carcinoma へも抗腫瘍効果を発揮した。これらの結果から *miR-3140* は

miRNA 核酸抗がん治療への応用が期待できる。

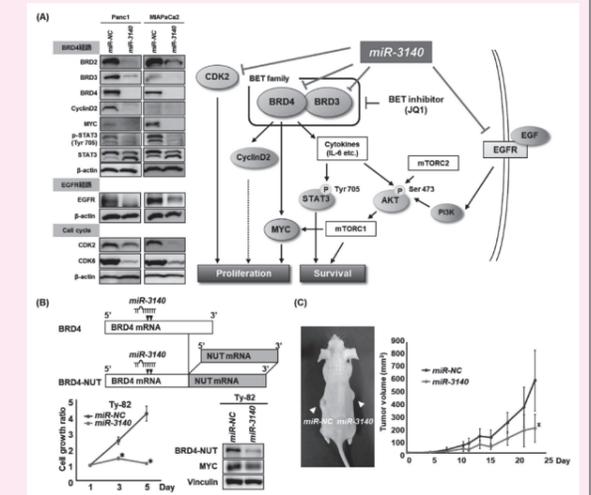


図 miR-3140 の抗腫瘍効果
(A) miR-3140 のシグナル経路。(B) miR-3140 の BRD4-NUT 融合遺伝子を有する NUT midline carcinoma 細胞に対する増殖抑制効果。(C) マウス皮下腫瘍モデルにおける miR-3140 の抗腫瘍効果

業績目録

原著論文

1. 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
2. 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 2018 in press.
3. Akdemir B, Nakajima Y, Inazawa J, Inoue J: miR-432 induces NRF2 stabilization by directly targeting KEAP1. Mol Cancer Res. 15:1570-1578. 2017
4. Hayashi S, Uehara DT, Tanimoto K, Mizuno S, Chinen Y, Fukumura S, Takanashi J-I, Osaka H, Okamoto N, Inazawa J: Comprehensive investigation of CASK mutations and other genetic etiologies in 41 patients with intellectual disability and microcephaly with pontine and cerebellar hypoplasia (MICPCH). Investigation of CASK and other Genetic etiologies of 41 MICPCH cases. PLoS One. 12:e0181791. 2017
5. Hiramoto H, Muramatsu T, Ichikawa D, Tanimoto K, Yasukawa S, Otsuji E, Inazawa J: miR-509-5p and miR-1243 increase the sensitivity to gemcitabine by inhibiting epithelial-mesenchymal transition in pancreatic cancer. Sci Rep. 7:4002. 2017
6. Nagata H, Kozaki K-i, Muramatsu T, Hiramoto H, Tanimoto K, Fujiwara N, Imoto S, Ichikawa D, Otsuji E, Miyano S, Kawano T, Inazawa J: Genome-wide screening of DNA methylation associated with lymph node metastasis in esophageal squamous cell carcinoma. Oncotarget. 8:37740-37750. 2017
7. Okuda M, Inoue J, Fujiwara N, Kawano T, Inazawa J: Subcloning and characterization of highly metastatic cells derived from human esophageal squamous cell carcinoma KYSE150 cells by in vivo selection. Oncotarget. 8:34670-34677. 2017
8. Takahashi H, Inoue J, Sakaguchi K, Takagi M, Mizutani S, Inazawa J: Autophagy is required for cell survival under L-asparaginase-induced metabolic stress in acute lymphoblastic leukemia cells. Oncogene.36:4267-4276. 2017

各種受賞

1. 稲澤謙治「分子細胞遺伝学のアプローチによる癌と遺伝性疾患のゲノム・エピゲノム解析研究」第47回日本人類遺伝学会賞受賞

学位 (博士) 取得者

1. Sujata Sakha: Exosomal microRNA miR-1246 induces cell motility and invasion through the regulation of DENND2D in oral squamous cell

2. 高橋寛吉: Autophagy is required for cell survival under L-asparaginase-induced metabolic stress in acute lymphoblastic leukemia cells.
3. 平本秀一: miR-509-5p and miR-1243 increase the sensitivity to gemcitabine by inhibiting epithelial-mesenchymal transition in pancreatic cancer.
4. 永田啓明: Genome-wide screening of DNA methylation associated with lymph node metastasis in esophageal squamous cell carcinoma.
5. 奥田将史: Subcloning and characterization of highly metastatic cells derived from human esophageal squamous cell carcinoma KYSE150 cells by in vivo selection.

特許申請

(特許取得 - 海外 (US))

1. 2017年2月28日、特願2017-036122、「食道がんのリンパ節転移可能性のデータ取得方法」稲澤謙治・村松智輝・永田啓明・谷本幸介・河野辰幸・井元清哉・宮野悟、国立大学法人東京医科歯科大学、国立大学法人東京大学、株式会社ビー・エム・エル
2. 2017年11月29日、特願2017-229046、「マイクロ RNA 及びその誘導体を有効成分とするがん治療剤」稲澤謙治・玄泰行・村松智輝・外内えり奈、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：高岡美帆
プロジェクト助教：砂田成章

研究内容

遺伝性乳がん原因遺伝子 BRCA1・2 は、DNA 二本鎖切断修復に機能する。これらは、発がんを予防する守護者である一方で、がん組織内では抗がん剤による DNA 損傷を修復し細胞死を抑制、治療抵抗性をもたらす。また、その他にも多くの DNA 安定性維持機能を有し、それらの障害も乳がん発症につながる。そこで、BRCA1・2 をはじめ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に取り組む。

研究紹介

1. FKBP51 は、RhoA シグナルを介して細胞の遊走や浸潤を調節する

我々は、ヒト乳癌由来 MCF7 細胞で抗 FKBP51 抗体を用いた免疫沈降産物を LC-MS/MS 解析を行い、FKBP51 の新たなパートナータンパク質として deleted in liver cancer 1 (DLC1) と deleted in liver cancer 2 (DLC2) を同定した。DLC1/2 は、Rho-GAP ドメインを有するタンパク質で、Rho-GTP を加水分解して Rho-GDP に変換することでがん細胞の遊走や浸潤を抑制することが報告されている。FLAG-FKBP51 を発現させた場合、RhoA 活性を増加させて細胞の遊走と浸潤を亢進させた。さらに、FKBP51 の欠失細胞では、細胞先端に特徴的に生じる仮足の構築が阻害され、同時にアクチンストレスファイバーの崩壊を引き起こして細胞の遊走や浸潤が阻害された。本研究において我々は、FKBP51 は、RhoA とそれに続く ROCK 活性を調節してアクチン骨格再編成の誘導を促し、がん細胞の遊走・浸潤に関与する新しい機能を有することを見出した。

2. 遺伝子変異導入による臓器特異的ながん転移機構の解明

我々は、臨床研究における乳がん患者の原発巣と転移巣のゲノム解析比較から、がん転移を促すドライバー遺伝子候補をいくつか同定し、これまでの報告と同様の結

果を得ている。一方で興味深いことに、これらのドライバー遺伝子の変異が臓器特異的な転移を促していることを示唆するデータが得られた。そこで、臓器特異的な転移を促す因子として、細胞間のコミュニケーションツールとして機能する細胞外小胞の一つのエクソソームに着目した。ヒト乳がん細胞 MCF-7 に対し、転移ドライバー遺伝子 MGA (教室名) をノックダウン後、培養上清からエクソソームを回収して解析に用いた。内包されているタンパク質を解析したところ、ある臓器を構成する細胞に特異的に吸着するインテグリン分子群の発現が亢進されていることを見出した。さらに、MGA が欠損しているがん細胞由来のエクソソームを正常細胞に添加し、網羅的な遺伝子発現解析を行ったところ、腫瘍の悪性化に関わる遺伝子群の発現が亢進されていることを確認した。これらの知見は、遺伝子変異により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、さらに転移を促す環境 (前転移ニッチ) を形成することで、転移を進行させていることを示唆している (図 1)。今後は個体レベルで詳細を検証するとともに、臨床応用へ向けた、がん転移の予防策開発へと発展させていく。

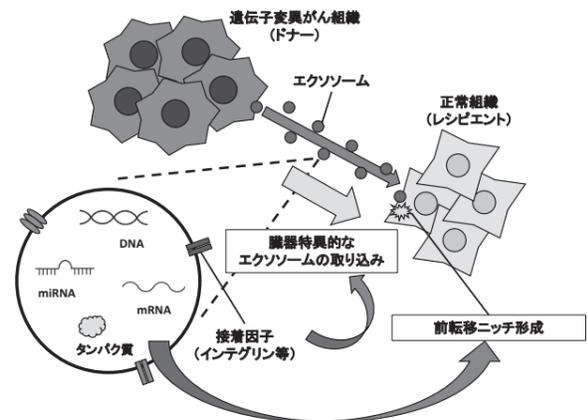


図 1 遺伝子変異導入による臓器特異的ながん転移形成機構 “MGA をはじめとした転移ドライバー遺伝子の変異によるがん転移形成機構に、エクソソームを介した臓器特異的な前転移ニッチ形成が関与している” という仮説を立て、その検証と解析のフロー図。形成された転移巣への高い指向性を持つエクソソームは、転移巣特異的な天然のドラッグデリバリー担体として治療などに応用できると考えられる。

ハイライト

FKBP51 は、RhoA-ROCK シグナルを調節する

FKBP51 タンパク質は、免疫抑制剤 FK506 に結合する標的分子として同定された。近年、悪性黒色腫などのがん種で、FKBP51 の発現増加が、がんの遊走・浸潤を亢進させることが報告されている。しかしこの現象において、FKBP51 が機能する詳細なメカニズムは明らかにされていない。

FKBP51 ががん細胞の遊走・浸潤を制御するメカニズムを明らかにするため、我々は Rho 活性により制御される標的タンパク質を調べた。Rho シグナルには、ROCK と mDia の 2 つの主要なエフェクターがある。これら 2 つのシグナルのバランスがアクチンストレスファイバーの構成に関与する。そこで、FKBP51 が Rho-mDia と Rho-ROCK シグナルのどちらに影響を及ぼすのかを調べるため、FLAG-FKBP51 を発現させたヒト骨肉腫由来 U2OS 細胞に対して、コルタチンとファロイジンを免疫染色後、共焦点蛍光レーザー顕微鏡で細胞膜の形状とアクチンストレスファイバーを観察した。その結果、細胞膜に生じる波打ち構造 (membrane ruffles) が減少した。この構造は、形態を変化させている側のアクチンフィラメントが細胞膜を押し広げて波打ち状になることで観察される (図 2. a)。この時、Rho-ROCK 活性が変化するかを調べるため、FLAG-FKBP51 発現細胞とコントロール細胞から ROCK1 タンパク質を精製して、活

性型 ROCK1 のタンパク質量をイムノブロットアッセイで検出した。その結果、FLAG-FKBP51 発現細胞は、コントロール細胞に比べて明らかに活性型 ROCK1 のタンパク質量が増加した (図 2. b)。この効果は、特異的 ROCK 阻害剤の Y27632 や ATP の欠損で減少することを確認した。一方、FLAG-FKBP51 を発現させても mDia の活性は、確認できなかった。以上のことから、FKBP51 は、RhoA-ROCK シグナルを調節して、細胞の遊走・浸潤を制御することが明らかになった (図 2. c)。 (Takaoka M. et al. Cancer Science 108, 2017)

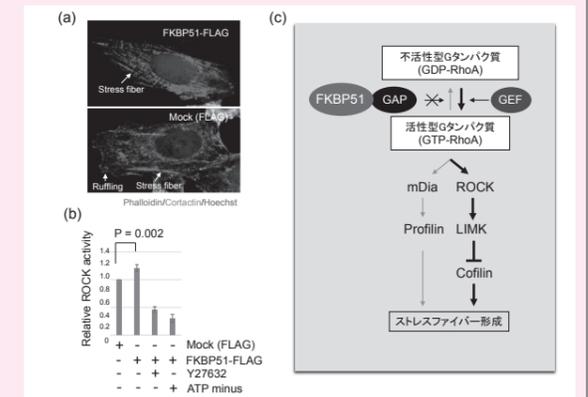


図 2 FLAG-FKBP51 発現 U2OS 細胞における ROCK 活性 (a) U2OS 細胞に FLAG-FKBP51 と FLAG を発現させた 24 時間後、コルタチン抗体 (緑) とファロイジン ATTO565 (赤) で免疫染色を行った。核は Hoechst 33258 で染色した (青)。 (b) 活性型 ROCK タンパク質量の相対定量比較。ROCK 阻害剤 Y27632 (10 μM) と ATP (125 μM) (n=3)。 (c) FKBP51 によるストレスファイバーを形成する RhoA シグナル伝達のネットワーク。

人事異動

転入：鄧 宇 (博士課程)、福田未緒 (博士課程)、東條 陽 (修士課程)、徐 沢宇 (大学院研究生)、ヌセレト イミン (大学院研究生)
転出：大塚菜央 (修士課程)

業績目録

原著論文

- Takaoka M, Ito S, Miki Y, Nakanishi A. FKBP51 regulates cell motility and invasion via RhoA signaling. *Cancer Sci.* 2017;108(3):380-389.
- Sato K, Koyasu M, Nomura S, Sato Y, Kita M, Ashihara Y, Adachi Y, Ohno S, Iwase T, Kitagawa D, Nakashima E, Yoshida R, Miki Y, Arai M. Mutation status of RAD51C, PALB2 and BRIP1 in 100 Japanese familial breast cancer cases without BRCA1 and BRCA2 mutations. *Cancer Sci.* 2017;108(11):2287-2294.
- Sunada S, Cartwright IM, Hirakawa H, Fujimori A, Uesaka M, Kato TA. Investigation of

the relative biological effectiveness and uniform isobiological killing effects of irradiation with a clinical carbon SOBp beam on DNA repair deficient CHO cells. *Oncol Lett.* 2017;13(6):4911-4916.

- Sunada S, Hirakawa H, Fujimori A, Uesaka M, Okayasu R. Oxygen Enhancement Ratio in Radiation-Induced Initial DSBs by an Optimized Flow Cytometry-based Gamma-H2AX Analysis in A549 Human Cancer Cells. *Radiat Res.* 2017;188(5):591-594.
- Hosoya K, Matsusaka S, Kashiwada T, Suzuki K, Ureshino N, Sato A, Miki Y, Kitera K, Hirai M, Hatake K, Kimura S, Sueoka-Aragane N. Detection of KRAS Mutations in Plasma DNA Using a fully Automated Rapid Detection System in Colorectal Cancer Patients. *Pathol Oncol Res.* 2017;23(4):737-744.
- Nguyen CT, Okamura T, Morita KI, Yamaguchi S, Harada H, Miki Y, Izumo T, Kayamori K, Yamaguchi A, Sakamoto K. LAMC2 is a predictive marker for the malignant progression of leukoplakia. *J Oral Pathol Med.* 2017;46(3):223-231.

総説

- Sunada S, Nakanishi A, Miki Y. Crosstalk of DNA double-strand break repair pathways in PARP inhibitor treatment of BRCA1/2-mutated Cancer. *Cancer Sci.* 2018.
- Takaoka M, Miki Y. BRCA1 gene: function and deficiency. *Int J Clin Oncol.* 2018;23(1):36-44.
- 三木義男:【遺伝性がんはここまで解明された】遺伝性腫瘍 最近の知見と遺伝形式。成人病と生活習慣病 47 巻 8 号, 813-819. (2017.07)
- 三木義男:【乳癌のすべて】診断・治療の進歩 BRCA 遺伝子の基礎と合成致死療法の開発に向けて。医学のあゆみ 261 巻 5 号, 423-428. (2017.04)
- 三木義男:【HBOC 症候群の診断と治療の現況】HBOC 症候群の分子診断と治療。癌と化学療法 44 巻 2 号, 102-106. (2017.02)
- 宇都宮謙二, 田村和朗, 三木義男, 富田尚裕:「ポリポーシスセンター」から統合的ゲノム情報時代へ。家族性腫瘍 17 巻 1 号, 12-17. (2017.10)

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

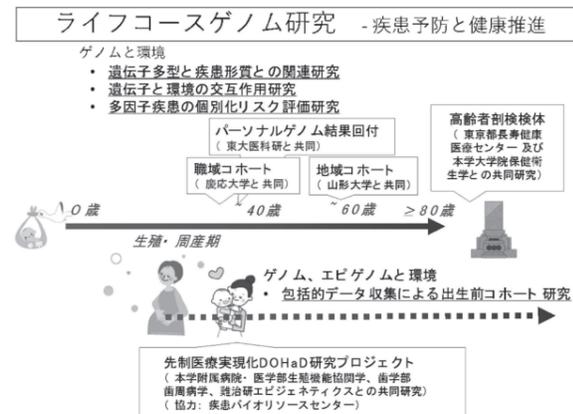
研究内容

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・進展と遺伝子および環境因子との関連を明らかにする目的で、ゲノム情報を駆使し、疫学的手法を用いて解析する。疫学フィールドや臨床・病理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、疾患の易罹患性や薬剤反応性に関与する遺伝子多型を明らかにする。対象疾患はメタボリック症候群 (糖尿病、高血圧、高脂血症、肥満)、動脈硬化関連疾患及び悪性腫瘍などである。これらの日常的疾患の遺伝的要因にはコモンバリエーションだけでは説明のできない遺伝的要因が大きいので、レアバリエーションやエピゲノムにも着目して研究を進める。Developmental Origin of Health and Disease (DOHaD) の概念に基づき、出生前環境要因とゲノムの相互作用によるエピゲノム変化が小児の肥満形質や精神行動発達などに関連することに着目し、母子コホート研究を立ち上げ、本学生殖機能協同学教室と共同で出生前環境要因とゲノムの相互作用、母児エピゲノム多様性を生み出す環境要因の探索を行っている。

研究紹介

1. ライフコースゲノム研究

ライフコースゲノム研究は人生の様々なステージに応じて必要なタイミングで自らのパーソナルゲノム情報を参照することにより、疾患予防と健康増進を支援することを目的としている (図)。近年ヒトゲノム研究が飛躍的に進展し、臨床現場においても、癌や原因不明の疾患等の診断や治療指針を探索する目的で、クリニカル・シーケンスが標準的な治療に組み入れられつつある。一方でコモンバリエーションを用いた日常的慢性疾患の遺伝的リスクを提供する消費者直結型 (direct to consumer=DTC) 遺伝子検査サービスも巷間では行われている。ゲノム情報が個人にとって有意義な形で還元することが可能かどうかを探索するためにパーソナルゲノムの結果回付に関する調査を東京大学医科学研究所と行った。本人に回付するためには検査結果がアクション



ブルであることが前提とされる。アクションナブルな遺伝子変異 (多型) はまだ一部であり、これらをより充実させて、個別化リスク評価に繋げることも今後の課題である。

2. 高齢者剖検例によるゲノム・フェノーム関連解析

腹部大動脈瘤は、加齢や喫煙の他に遺伝的要因の強い関与が報告されている多因子疾患である。これまでの遺伝子関連研究では細胞外マトリックスや心血管系に関連する候補遺伝子から同定されてきた。本研究では、高齢者連続剖検例を対象とし、エクソームのSNVを網羅的に解析にすることにより、腹部大動脈瘤に関連する候補遺伝子としてWIPF3及びLIPAを同定した。これらは、いずれも泡沫化マクロファージで発現されている。腹部大動脈瘤の発生には中膜変性硬化による病理学的変化の関与が考えられているが、本研究結果から、マクロファージの変化による腹部大動脈瘤への寄与の可能性が示唆された。今後、これらのSNVと泡沫化マクロファージの関連をさらに検討していくことで、腹部大動脈瘤の発生機序について新たな知見を得ることができるのではないかと考える。

3. 出生前の環境要因が子孫の健康に与える影響の解析

妊娠マウスに低タンパク質飼料を与えるDOHaD動物実験モデルでは、生まれてきた仔動物 (低タンパク質群) は、標準的な飼育下でも長期間飼育し歳をとらせると対

照群に比べて脂肪肝や糖尿病を発症しやすくなる。しかし、若齢成人期には特段の病的変化を示さないため、胎生期要因による疾患発症プロセスを追跡することが難しい。我々は、仔動物に絶食/再摂食の栄養負荷を与え、肝臓のマルチオミックス解析を行なった結果、低タンパク質群では絶食応答の一部の遺伝子発現誘導が損なわれていることを見出した。肝臓の絶食応答は、個体の恒常性維持に重要な生体応答反応であり、その減弱は疾患発症前の代謝調節障害である可能性がある。超高齢化社会である我が国では脂肪肝や糖尿病などの慢性疾患に対する胎生期環境リスクを適切に評価し、早期予防法を考案することが望まれているが、本研究結果から、疾患発症前の早期の段階では、定常状態ではなく、ストレス等に対する応答状態の変化を捉えることが、胎生期要因の影響を評価するのに有用であることが示唆された。

業績目録

原著論文

- Sato N, Sudo K, Mori M, Imai C, Muramatsu M, Sugimoto M. Early gestational maternal low-protein diet diminishes hepatic response to fasting in young adult male mice. *Sci Rep.* 2017 7:9812
- Dechamethakun S, Sato N, Ikeda S, Sawabe M, Mori S, Yamada Y, Tanaka M, Muramatsu M, and Arai T. Association of Macrophage Capping Protein (CAPG) Arg335His Polymorphism and Cancer Susceptibility in the Elderly Japanese. *Journal of Gerontology and Geriatric Research.* 2017; 6: 417
- Nishi K, Luo H, Nakabayashi K, Doi K, Ishikura S, Iwaihara Y, Yoshida Y, Tanisawa K, Arai T, Mori S, Sawabe M, Muramatsu M, Tanaka M, Sakata T, Shirasawa S, Tsunoda T. An Alpha-kinase 2 Gene Variant Disrupts Filamentous Actin Localization in the Surface Cells of Colorectal Cancer Spheroids. *Anticancer Res.* 2017 37:3855-3862.
- Yamada Y, Sakuma J, Takeuchi I, Yasukochi Y, Kato K, Oguri M, Fujimaki T, Horibe H, Muramatsu M, Sawabe M, Fujiwara Y, Taniguchi Y, Obuchi S, Kawai H, Shinkai S, Mori S, Arai T, Tanaka M. Identification of five genetic variants as novel determinants of type 2 diabetes mellitus in Japanese by exome-wide association studies. *Oncotarget.* 2017 8:80492-80505.
- Yamada Y, Sakuma J, Takeuchi I, Yasukochi Y, Kato K, Oguri M, Fujimaki T, Horibe H, Muramatsu M, Sawabe M, Fujiwara Y, Taniguchi Y, Obuchi S, Kawai H, Shinkai S, Mori S, Arai T, Tanaka M. Identification of polymorphisms in 12q24.1, ACAD10, and BRAP as novel genetic determinants of blood pressure in Japanese by exome-wide association studies. *Oncotarget* 2017 8:43068-43079.
- Yamada Y, Sakuma J, Takeuchi I, Yasukochi Y, Kato K, Oguri M, Fujimaki T, Horibe H, Muramatsu M, Sawabe M, Fujiwara Y, Taniguchi Y, Obuchi S, Kawai H, Shinkai S, Mori S, Arai T, Tanaka M. Identification of eight genetic variants as novel determinants of dyslipidemia in Japanese by exome-wide association studies. *Oncotarget.* 2017 8:38950-38961

- Yamada Y, Sakuma J, Takeuchi I, Yasukochi Y, Kato K, Oguri M, Fujimaki T, Horibe H, Muramatsu M, Sawabe M, Fujiwara Y, Taniguchi Y, Obuchi S, Kawai H, Shinkai S, Mori S, Arai T, Tanaka M. Identification of rs7350481 at chromosome 11q23.3 as a novel susceptibility locus for metabolic syndrome in Japanese individuals by an exome-wide association study. *Oncotarget.* 2017 8:39296-39308.
- Yamada Y, Sakuma J, Takeuchi I, Yasukochi Y, Kato K, Oguri M, Fujimaki T, Horibe H, Muramatsu M, Sawabe M, Fujiwara Y, Taniguchi Y, Obuchi S, Kawai H, Shinkai S, Mori S, Arai T, Tanaka M. Identification of C21orf59 and ATG2A as novel determinants of renal function-related traits in Japanese by exome-wide association studies. *Oncotarget.* 2017 8:45259-45273.
- Yamada Y, Sakuma J, Takeuchi I, Yasukochi Y, Kato K, Oguri M, Fujimaki T, Horibe H, Muramatsu M, Sawabe M, Fujiwara Y, Taniguchi Y, Obuchi S, Kawai H, Shinkai S, Mori S, Arai T, Tanaka M. Identification of STXBP2 as a novel susceptibility locus for myocardial infarction in Japanese individuals by an exome-wide association study. *Oncotarget.* 2017 8:33527-33535.
- Yamada Y, Sakuma J, Takeuchi I, Yasukochi Y, Kato K, Oguri M, Fujimaki T, Horibe H, Muramatsu M, Sawabe M, Fujiwara Y, Taniguchi Y, Obuchi S, Kawai H, Shinkai S, Mori S, Arai T, Tanaka M. Identification of EGFLAM, SPATC1L and RNASE13 as novel susceptibility loci for aortic aneurysm in Japanese individuals by exome-wide association studies. *Int J Mol Med.* 2017 39:1091-1100.
- Yamada Y, Sakuma J, Takeuchi I, Yasukochi Y, Kato K, Oguri M, Fujimaki T, Horibe H, Muramatsu M, Sawabe M, Fujiwara Y, Taniguchi Y, Obuchi S, Kawai H, Shinkai S, Mori S, Arai T, Tanaka M. Identification of six polymorphisms as novel susceptibility loci for ischemic or hemorrhagic stroke by exome-wide association studies. *Int J Mol Med.* 2017 39:1477-1491.
- Yamada Y, Sakuma J, Takeuchi I, Yasukochi Y, Kato K, Oguri M, Fujimaki T, Horibe H, Muramatsu M, Sawabe M, Fujiwara Y, Taniguchi Y, Obuchi S, Kawai H, Shinkai S,

- Mori S, Arai T, Tanaka M. Identification of TNFSF13, SPATC1L, SLC22A25 and SALL4 as novel susceptibility loci for atrial fibrillation by an exome-wide association study. *Mol Med Rep.* 2017 16:5823-5832
- Tanisawa K, Hirose N, Arai Y, Shimokata H, Yamada Y, Kawai H, Kojima M, Obuchi S, Hirano H, Suzuki H, Fujiwara Y, Taniguchi Y, Shinkai S, Ihara K, Sugaya M, Higuchi M, Arai T, Mori S, Sawabe M, Sato N, Muramatsu M, Tanaka M. Inverse association between height-increasing alleles and extreme longevity in Japanese women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2017 [Epub ahead of print]
- Komazaki R, Katagiri S, Takahashi H, Maekawa S, Shiba T, Takeuchi Y, Kitajima Y, Ohtsu A, Udagawa S, Sasaki N, Watanabe K, Sato N, Miyasaka N, Eguchi Y, Anzai K, Izumi Y. Periodontal pathogenic bacteria, Aggregatibacter actinomycetemcomitans affect non-alcoholic fatty liver disease by altering gut microbiota and glucose metabolism. *Sci Rep.* 2017 7:13950
- Udagawa S, Katagiri S, Maekawa S, Takeuchi Y, Komazaki R, Ohtsu A, Sasaki N, Shiba T, Watanabe K, Ishihara K, Sato N, Miyasaka N, Izumi Y. Effect of Porphyromonas gingivalis infection in the placenta and umbilical cord in pregnant mice with low birth weight. *Acta Odontol Scand.* In press.

総説等

- Dechamethakun S and Muramatsu M. Long noncoding RNA variations in cardiometabolic diseases. *J. Hum. Genet.* 2017 62:97-104
- 佐藤憲子. 3. DOHaDの基礎: DOHaDの分子機構、産婦人科の実際. 2017.08; 66(08); 959-966
- Mochizuki K, Imai C, Sato N, Kubota T. The roles of epigenetics in developmental programming/Developmental Origins of Health and Disease theory. *OBM Genetics.* 2017.10; 1(4);
- 佐藤憲子. 疾患発症前段階の肝臓トランスクリプトーム・メタボローム解析 - 妊娠前期低タンパク質飼料 DOHaD 動物実験 - メディカル・サイエンス・ダイジェスト MSD. 2017.12; 43(12); 45-46

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化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

ハイライト

1. 主要ながん免疫抗原である硫酸化グリコサミノグリカンの同定

胃癌はわが国におけるもっとも高頻度な悪性腫瘍の1つである。近年、がん免疫療法への注目が高まっているが効果が得られるのは一部の症例のみであり、特に現行のがん免疫療法に抵抗性であると予想されるびまん型胃癌についてはがん免疫システムの全体像の解明が求められていた。本研究では、びまん型胃癌組織に浸潤するリンパ球について、次世代シーケンサーを用いて免疫レパトア解析を行い、がん組織におけるリンパ球の組成の全体像を明らかにした。そのなかで多くの症例のがん組織中では特定の B リンパ球が増えていることを見だし、それらの B リンパ球が作り出す抗体が糖鎖の一つである硫酸化グリコサミノグリカンを認識していることを明らかにした。これにより硫酸化グリコサミノグリカンが胃癌組織における主要ながん免疫抗原であることが初めて示された。また免疫ゲノム解析によって得られたがん特異的に反応する B リンパ球の DNA シーケンス情報をもとにヒト抗体を作成したところ、様々ながん細胞に結合し抗腫瘍活性を持つことを見出した。

2. 深層学習を用いた乳がんの病理組織画像解析

乳がんのリンパ節転移の有無は、患者の治療方針や予後を決定する重要な因子である。その判定は通常顕微鏡を用いて病理組織を観察することにより行うが小さな病変については見逃されやすく、病理医による診断結果の差も問題になる。本研究では乳がん患者のリンパ節組織の病理組織画像において、癌細胞の領域と

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っている。

それ以外の領域からトレーニングデータとして約 30 万枚の画像を用いて深層ニューラルネットワークにより学習を行った。その際に、ニューラルネットワークの中間層のなかから、病理組織像の特徴的な情報を取り出すことにより効率的に学習を行うことに成功し、画像パッチレベルの判定で AUC 0.976 という高い精度を達成した。この結果を用いて、病理画像上に重ね合わせたがん細胞の存在確率マップを作成し、最終的なリンパ節毎の転移の有無、乳がん患者のステージの判定を行ったところ参加チーム中 3 位に入る精度を達成した。こうした技術を用いて乳がんリンパ節転移に対する診断補助に実用化できる可能性があり、将来的には乳がん以外の様々ながんの病理診断に対しても、人工知能を用いることで施設間均てん化、高精度化が達成できる可能性が示された。

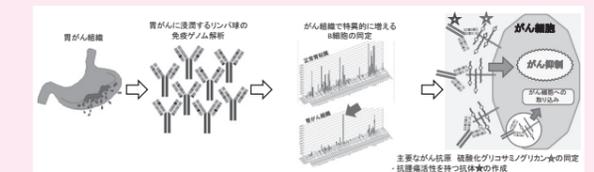


図 1

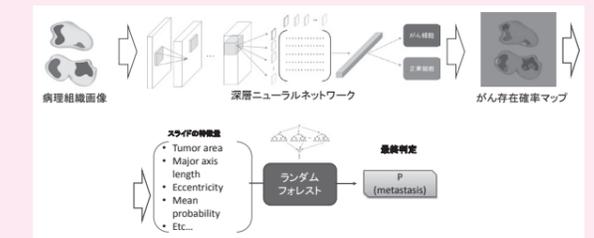


図 2

研究業績

原著論文

1. 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*. 2017 Dec 23.
2. **Katoh H, Komura D**, Konishi H, Suzuki R, Yamamoto A, Kakiuchi M, Sato R, Ushiku T, Yamamoto S, Tatsuno K, Oshima T, Nomura S, Seto Y, Fukayama M, Aburatani H, **Ishikawa S**. Immunogenetic Profiling for Gastric Cancers Identifies Sulfated Glycosaminoglycans as Major and Functional B Cell Antigens in Human

Malignancies. *Cell Rep*. 2017 Aug 1;20(5):1073-1087.
3. Ito Y, Maeda D, Yoshida M, Yoshida A, Kudo-Asabe Y, Nanjyo H, Izumi C, Yamamoto F, Inoue M, Shibata H, **Katoh H, Ishikawa S**, Nakamura H, Totoki Y, Shibata T, Yachida S, Goto A. Cardiac intimal sarcoma with PDGFR β mutation and co-amplification of PDGFR α and MDM2: an autopsy case analyzed by whole-exome sequencing. *Virchows Arch*. 2017 May 4.
4. Kon S, Ishibashi K, **Katoh H**, Kitamoto S, Shirai T, Tanaka S, Kajita M, Ishikawa S, Yamauchi H, Yako Y, Kamasaki T, Matsumoto T, Watanabe H, Egami R, Sasaki A, Nishikawa A, Kameda I, Maruyama T, Narumi R, Morita T, Sasaki Y, Enoki R, Honma S, Imamura H,

Oshima M, Soga T, Miyazaki JI, Duchon MR, Nam JM, Onodera Y, Yoshioka S, Kikuta J, Ishii M, Imajo M, Nishida E, Fujioka Y, Ohba Y, Sato T, Fujita Y. Cell competition with normal epithelial cells promotes apical extrusion of transformed cells through metabolic changes. *Nat Cell Biol*. 2017 May;19(5):530-541.
5. Shikata Y, Yoshimaru T, Komatsu M, **Katoh H**, Sato R, Kanagaki S, Okazaki Y, Toyokuni S, Tashiro E, **Ishikawa S**, Katagiri T, Imoto M. Protein kinase A inhibition facilitates the antitumor activity of xanthohumol, a valosin-containing protein inhibitor. *Cancer Sci*. 2017 Apr;108(4):785-794.

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：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
非常勤講師：小林 慎 技術補佐員：松沢 歩

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. 哺乳類のゲノムインプリンティングの解析

哺乳類の父親・母親由来のゲノムは片親性発現を示すインプリント遺伝子群 (*Peg* と *Meg*) の存在により、個体発生、成長において異なる機能を果たしています。ゲノムインプリンティングと哺乳類の胎生との関係を解明するため、胎盤形成に必須な *Peg10*、*Peg11* の機能解析をすすめています。ヒトにおいて *PEG11* は、ゲノムインプリンティング疾患である染色体 14 番父親性 2 倍体症候群 (Kagami-Ogata syndrome) (難病指定) と染色体 14 番母親性 2 倍体症候群 (Temple syndrome) に見られる成長遅延や筋肉の異常の原因遺伝子であることも明らかになってきました。そのため、*PEG11* 発現量を制御する治療法の開発を進めています。

2. 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

哺乳類に存在する LTR レトロトランスポゾンに由来する遺伝子群は哺乳類の進化に大きな寄与したと考えています。上記の *Peg10*、*Peg11* は sushi-ichi レトロトラ

ンスポゾン由来の *SIRH* 遺伝子群の代表例ですが、これに属する総ての遺伝子の機能解析を東海大学の金児・石野教授と進め、*Peg10*、*Peg11/Rtl1*、*Sirh7/Ldoc1* が胎盤形成に、*Sirh11/Zcchc16* が脳の認知機能へ重要な寄与を果たしたことを明らかにしています。現在、睡眠/覚醒の制御に関わる *Sirh3/Ldoc1*、*Sirh8/Rgag4* の解析を進めています。

3. ヒト受精胚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ます。それには染色体異常の影響が大きいと考えられています。次世代シーケンスによるヒト受精胚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ました。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おり、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ます (Sci Rep 2018)。

4. 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ます。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ても、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ます。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ました (Genes Cells 2018)。

5. ゲノムのメチル化状態を解析する新技術開発

遺伝子発現調節に重要な役割を果たす DNA メチル化ですが、ヒドロキシメチル化状態に変換されるとその機能が変わると考えられています。ゲノム中のメチル化関係の修飾を配列レベルで解析できる EnIGMA 法を開発し報告しました。この手法を用いて個体発生やガンにおけるエピジェネティック解析を進めています。

ハイライト

なぜレトロトランスポゾン由来の獲得遺伝子は X 染色体上に多いのか? (Kaneko-Ishino et al. *In Evolutionary Biology* 2017)

哺乳類には LTR レトロトランスポゾン由来の 30 個以上の遺伝子が知られている。当分野では sushi-ichi に近縁のレトロトランスポゾンに由来する *SIRH* (sush-ichi-related retrotransposon homologues) 遺伝子群の体系的な解析から、*Peg10* および *Peg11/Rtl1* 胎盤形成や機能維持 (Nat Genet 2006, 2008)、*Sirh7/Ldoc1* が胎盤細胞の成熟/分化 (Development 2014)、*Sirh11/LZcchc16* が脳の認知機能にそれぞれ関わること (PLoS Genet 2015) を実証し、哺乳類の胎生や脳機能の進化に LTR レトロトランスポゾンが極めて重要な役割を果たしたことを世界で初めて明らかにした (Proc Jpn Acad Sci Ser B 2015)。

これらのレトロトランスポゾン由来の遺伝子群は性染色体である X 染色体に集中して存在している。私たちは、それには哺乳類特異的なエピジェネティック機構である X 染色体不活性化が関わっていると考えている。哺乳類では、性染色体の組み合わせが XX の場合はメス、XY ではオスになる。しかし、通常メスの 2 本のうち 1 本は不活性化されていて、オスの 1 本の X と遺伝子発現量と合わせている。どちらの X が不活性化されるかは細胞ごとにランダムに決定される。しかし、レトロウイルスが個体に感染した際には、有害な作用を及ぼす。そのため、常染色体上に挿入された場合、感染個体はオス、メス問わず死亡する (a)。しかし X 染色体を 2 本もつメスの場合、そのうち片方にレトロウイルスが挿入された場合、致死性に関わる細胞においてそちらが不活性化されれば、個体としては生存できることになる (b)。このようにして、メスを介して X 染色体上に挿入されたレトロウイルスは、オスとの交配によっても一部のメスを通して維持される。この場合でも、オスはすべて死亡する。こ

のように有害な DNA 配列が挿入されても生存可能なメスが存在することによって、その後の進化上の運命は大きく変わる。長期間ゲノムに留まる間に多数の変異によって、この配列は致死性を失い、しかも別の機能を持つものも生まれてくる可能性がある。もしも、それが生存に有利に働くのであれば、ダーウィンが提唱した自然選択説に従って、この配列は集団に広がり、将来的には固定され、内在性遺伝子になることが可能である。

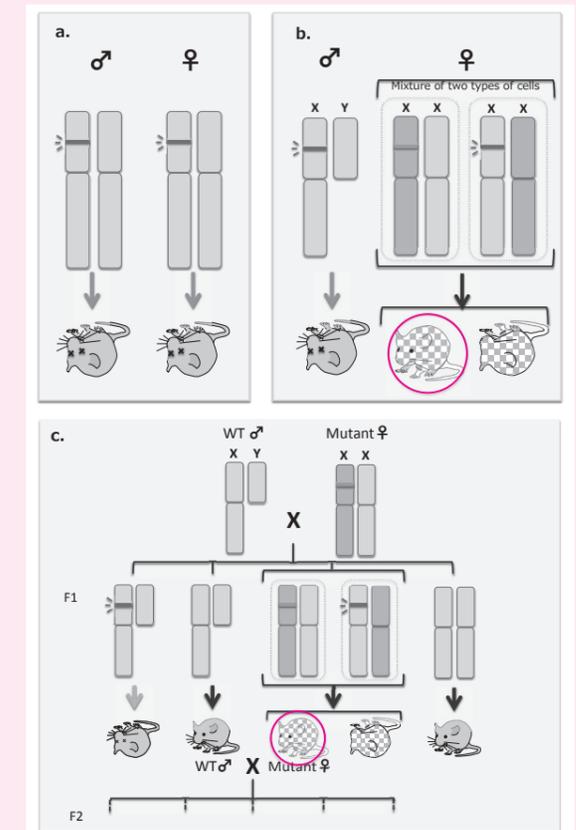


図 1 レトロウイルスの染色体への挿入の影響
a: 常染色体に挿入された場合 b: X 染色体に挿入された場合 メスではランダムな X 染色体不活性化により、たまたま致死に関わる細胞で不活性化された個体は生存することができる (赤丸)。C: X 染色体に挿入されたレトロウイルスの次世代への伝達様式 メスの生存個体がいることで、非常に有害なレトロウイルス由来の配列は、集団の一部に残り続ける。

業績目録

原著論文

1. Kawasaki Y, Kuroda Y, Suetake I, Tajima S, Ishino F and Kohda T. A novel method for the simultaneous identification of methylcytosine and hydroxymethylcytosine at a single base resolution. Nucl Acids Res 45(4):e24 (2017). doi: 10.1093/nar/gkw994
2. Kitazawa M, Tamura M, Kaneko-Ishino T*

- and Ishino F*. Severe damage to the placental fetal capillary network causes mid to late fetal lethality and reduction of placental size in *Peg11/Rtl1* KO mice. Genes Cells 22(2), 174-188 (2017). doi: 10.1111/gtc.12465
3. Wakayama S, Kamada Y, Yamanaka K, Kohda T, Suzuki H, Shimazu T, Motoki, N. Tada M N, Osada I, Nagamatsu A, Kamimura S, Nagatomo H, Mizutani E, Ishino F, Yano S, Wakayama T. Healthy offspring from freeze-dried mouse spermatozoa held on the International Space

- Station for 9 months. Proc Natl Acad Sci USA 114(23):5988-5993 (2017). doi: 10.1073/pnas.1701425114
4. Kaneko-Ishino T, Irie M and Ishino F. Mammalian-specific traits generated by LTR retrotransposon-derived *SIRH* genes. *In* Evolutionary Biology: Self/NonSelf Evolution, Species and Complex Traits Evolution, Methods and Concepts (ed. Pontarotti P), Springer International Publishing, pp.129-145 (2017). doi: 10.1007/978-3-19-61569-1_7

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 穣

研究内容

革命的に進展中のゲノム・オミックス観測技術を医学応用すること、特にそれらを用いて個別化医療を推進することが、期待されています。従来の治療法では個々の患者を十分には見ることができませんでした。しかし、患者の個人間の多様性を診断し、各患者に合わせた適切な種類と量の治療を施すことや、健康な状態からの発症の予防を実現することが必要です。本研究分野では、そのような医科学の課題を、数学や計算科学を使って克服します。現在、病院等の医療機関から、ゲノム・オミックスデータ、臨床情報など、医療・医学のビッグデータが蓄積されつつありますが、それらから難病の原因を発見します。次に、分子プロファイルに基づくクラスタリングにより病気を分類し、また疾患メカニズムを全体のシステムとして理解します。そして、機械学習等の方法論を用いて、新しい患者の来院時に適切な治療法や予防法の予測を行うことが、実現できるようになります。

研究紹介

1. 医学・医療ビッグデータ解析によるプレジジョン医療

オーダーメイド医療の確立をめざし、オミックス・臨床データと分子DBを統合してビッグデータを構成し、最先端の統計学・情報学を駆使した統合解析、そして医療ビッグデータの解析基盤を支える新たな解析手法を提案しています(図1a)。それらの手法をもとに、関節リウマチの解析(*Nature Genetics*, 2017)、肝がん300例のオミックスプロファイルによるクラスタリング結果と予後などの臨床情報との強い相関(*Nature Genetics* 2016)や多発性の解析(*Journal of Hepatology* 2017)、川崎病、コレステロール・トリグリセリド値や腎機能などのそれぞれに関わる遺伝子群を発見するなど、一連の成果が見いだされています(*Cancer Medicine*, 2017; *Journal of Human Genetics*, 2017; *Human Molecular Genetics*, 2017; *Nature Communications*, 2016)。また、国際ぜん息コンソーシアムにて全世界的共同研究を行い、新たな5つのぜん息関連遺伝子領域を発見しました(図1b, *Nature Genetics*, 2018)。それらは、自己免疫疾患や炎症性疾患の座位と大きく重なっており、同時に

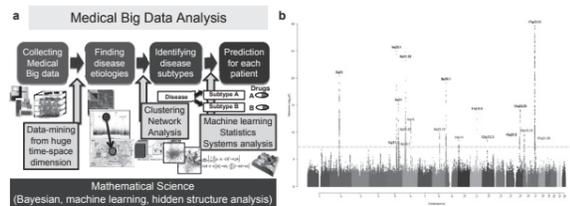


図1 医学・医療ビッグデータ解析によるプレジジョン医療 (a) 解析のステップと方法論。(b) ぜん息関連遺伝子発見 (*Nature Genetics*, 50, 42-53 (2018))。

免疫関係の制御を担っている可能性も示されました。

2. 先天性疾患の原因遺伝子の探索と同定

近年私たちは先天性の神経疾患(小頭症、皮質形成異常症、水頭症、脳梁欠損症、小脳形成不全、巨脳症、等)および難聴の疾患原因変異の探索および同定と臨床診断への応用を目指し、日本各地の主に小児科の病院と研究機関との間でコンソーシアムを立ち上げました。実験解析手法としては全遺伝子のexon領域をターゲットとしたwhole-exome sequencing(WES)の手法を用いて次世代シーケンサー(NGS)で読解を実施し、解析パイプラインも開発しました。また、我々は通常のWESでは原因が見つけられない検体への解決策の一つとして、既存のWESに加え、selective circularization-based target enrichment法を組み合わせる方法を確立させました。これまで多数の新規を含む疾患原因変異の同定に至り、新規変異に関しては*in vitro*細胞培養系等での機能解析により変異タンパク質の機能の変調についても複数実証しました(*Scientific Reports*, 2017; *BMC Medical Genetics*, 2017; *International Journal of Ophthalmology & Eye Science*, 2017; *American Journal of Medical Genetics Part A*, 2017a; *American Journal of Medical Genetics Part A*, 2017b; *Journal*

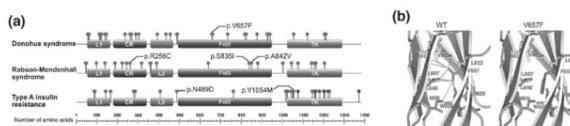


図2 糖尿病原因変異とタンパク質ドメインおよび立体構造との関連解析 (a) ゲノム上の変異は、重症度の違いにより位置に偏りがあり、最重症度を示すDonohue症候群ではINSR遺伝子のFibronectin type-IIIドメイン(FnIII)に統計学的有意に集積が見られることがわかりました。(b) 野生型(WT)と本論文研究で新規同定したV657F変異体とはタンパク質立体構造解析でも大きな違いがあることが確認されました。(図は*Diabetes*, 2017より一部改変)

of Human Genetics, 2017a; *Journal of Human Genetics*, 2017b; *Journal of Neurochemistry*, 2017)。また、遺伝性糖尿病を症例として、ゲノム上の変異箇所がコードするタンパク質ドメインと、疾患の重症度の関連をエンリッチメント解析で同定し、タンパク質立体構

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. Sharma R, Raicar G, Tsunoda T, Patil A, Sharma A. OPAL: Prediction of MoRF regions in intrinsically disordered protein sequences. *Bioinformatics*, doi: 10.1093/bioinformatics/bty032 (2018).
3. 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).
4. 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).
5. Tamai K, et al. Fetal ultrasonographic findings including cerebral hyperechogenicity in a patient with non-lethal form of Raine syndrome. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 176, 682-686 (2018).
6. Ikeda Y, Nishiguchi KM, Miya F, Shimozawa N, Funatsu H, 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).
7. Ishigaki K, Kochi Y, Suzuki A, Tsuchida Y, Tsuchiya H, Sumitomo S, Yamaguchi K, Nagafuchi Y, Nakachi S, Kato R, Sakurai K, Shoda H, Ikari K, Taniguchi A, Yamanaka H, Miya F, Tsunoda T, Okada Y, Momozawa Y, Kamatani Y, Yamada R, Kubo M, Fujio K, Yamamoto K. Polygenic burdens on cell-specific pathways underlie the risk of rheumatoid arthritis. *Nature Genetics*, 49, 1120-1125 (2017).
8. Shigemizu D, Iwase H, Yoshimoto M, Suzuki Y, Miya F, Boroevich KA, Katagiri T, Zembutsu H, Tatsuhiko Tsunoda. The prediction models for postoperative overall survival and disease-free survival in patients with breast cancer. *Cancer Medicine*, 6, 1627-1638 (2017).
9. Hosoe J+, Kadowaki H+, Miya F+, Aizu K, Kawamura T, Miyata I, Satomura K, Ito T, Hara K, Tanaka M, Ishiura H, Tsuji S, Suzuki K, Takakura M, Boroevich KA, Tsunoda T, Yamauchi T, Shojima N, Kadowaki T. Structural Basis and Genotype-Phenotype Correlations of INSR Mutations Causing Severe Insulin Resistance. *Diabetes*, 66, 2713-2723 (2017).
10. Lysenko A, Boroevich KA, Tsunoda T. Arete - candidate gene prioritization using biological network topology with additional evidence types. *BioData Mining*, 10, 22 (2017).

11. Kumar S, Sharma A, Tsunoda T. An improved discriminative filter bank selection approach for motor imagery EEG signal classification using mutual information. *BMC Bioinformatics*, 18(Suppl 16), 545 (2017).
12. Sharma A, Kamola PJ, Tsunoda T. 2D-EM clustering approach for high-dimensional data through folding feature vectors. *BMC Bioinformatics*, 18(Suppl 16), 547 (2017).
13. Sharma A, López Y, Tsunoda T. Divisive hierarchical maximum likelihood clustering. *BMC Bioinformatics*, 18(Suppl 16), 546(2017).
14. 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 (2017).
15. Ueki M, Maeda M, Sugiyama T, Kohmoto R, Kojima S, Ikeda T, Harada A, Kanemura Y, Miya F, Tsunoda T, Yamasaki M. A Case of Dandy-Walker Malformation Complicated by Axenfeld-Rieger Syndrome. *International Journal of Ophthalmology & Eye Science*, S1:02:001, 1-3 (2017).
16. Kim JJ, et al. A genome-wide association analysis identifies NMNAT2 and HCP5 as susceptibility loci for Kawasaki disease. *Journal of Human Genetics*, 62, 1023-1029 (2017).
17. Okamoto N, Tsuchiya Y, Miya F, Tsunoda T, Yamashita K, Boroevich KA, Kato M, Saitoh S, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Kitagawa D. A novel genetic syndrome with STARD9 mutation and abnormal spindle morphology. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 173, 2690-2696 (2017).
18. Okamoto N, Miya F, Hatsukawa Y, Suzuki Y, Kawato K, Yamamoto Y, Tsunoda T, Kato M, Saitoh S, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K. Siblings with optic neuropathy and RTN4IP1 mutation. *Journal of Human Genetics*, 173, 2690-2696 (2017).
19. Hori I, Otomo T, Nakashima M, Miya F, Negishi Y, Shiraishi H, Nonoda Y, Magara S, Tohyama J, Okamoto N, Kumagai T, Shimoda K, Yukitake Y, Kajikawa D, Morio T, Hattori A, Nakagawa M, Ando N, Nishino I, Kato M, Tsunoda T, Saito H, Kanemura Y, Yamasaki M, Kosaki K, Matsumoto N, Yoshimori T, Saitoh S. Defects in autophagosome-lysosome fusion underlie Vici syndrome, a neurodevelopmental disorder with multisystem involvement. *Scientific Reports*, 7, 3552 (2017).
20. Kato K+, Miya F+, Hori I, Ieda D, Ohashi K, Negishi Y, Hattori A, Okamoto N, Kato M, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Saitoh S. A novel missense mutation in the HECT domain of NEDD4L identified in a girl with periventricular nodular heterotopia, polymicrogyria and cleft palate. *Journal of Human Genetics*, 62, 861-863 (2017).
21. Kawamura S, Onai N, Miya F, Sato T, Tsunoda T, Kurabayashi K, Yotsumoto S, Kuroda S, Takenaka K, Akashi K, Ohteki T.

造解析結果との関連性を同定する手法も確立しました(図2, *Diabetes*, 2017)。さらに最近では、WESからwhole-genome sequencing(WGS)へと探索手法を拡大し、遺伝性疾患原因変異を探索する手法も開発中です。

- Identification of a Human Clonogenic Progenitor with Strict Monocyte Differentiation Potential: A Counterpart of Mouse cMoPs. *Immunity*, 46, 835-848 (2017).
22. Dehzangi A, López Y, Lal SP, Taherzadeh G, Michaelson J, Sattar A, Tsunoda T(co-last), Sharma A(co-last). PSSM-Suc: Accurately predicting succinylation using position specific scoring matrix into bigram for feature extraction. *Journal of Theoretical Biology*, 425, 97-102 (2017).
23. Okamoto N, Miya F, Tsunoda T, Kato M, Saitoh S, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K. Novel MCA/ID syndrome with ASH1L mutation. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 173, 1644-1648 (2017).
24. López Y, Dehzangi A, Lal SP, Taherzadeh G, Michaelson J, Sattar A, Tsunoda T*, Sharma A*. SucStruct: Prediction of succinylated lysine residues by using structural properties of amino acids. *Analytical Biochemistry*, 527, 24-32(2017).
25. Spracklen CN, et al. Association analyses of East Asian individuals and trans-ancestry analyses with European individuals reveal new loci associated with cholesterol and triglyceride levels. *Human Molecular Genetics*, 26, 1770-1784 (2017).
26. Negishi Y, Miya F, Hattori A, Johmura Y, Nakagawa M, Ando N, Hori I, Togawa T, Aoyama K, Ohashi K, Fukumura S, Mizuno S, Umemura A, Kishimoto Y, Okamoto N, Kato M, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Nakanishi M, Saitoh S. A combination of genetic and biochemical analyses for the diagnosis of PI3K-AKT-mTOR pathway-associated megalencephaly. *BMC Medical Genetics*, 18, 4 (2017).
27. Hamada N, Negishi Y, Mizuno M, Miya F, Hattori A, Okamoto N, Kato M, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Tabata H, Saitoh S, Nagata KI. Role of a heterotrimeric G-protein, Gi2, in the corticogenesis: Possible involvement in periventricular nodular heterotopia and intellectual disability. *Journal of Neurochemistry*, 140, 82-95 (2017).
28. Furuta M, et al. Whole genome sequencing discriminates hepatocellular carcinoma with intrahepatic metastasis from multicentric tumors. *Journal of Hepatology*, 66, 363-373 (2017).
29. Sharma A, Boroevich KA, Shigemizu D, Kamatani Y, Kubo M, Tsunoda T. Hierarchical Maximum Likelihood Clustering Approach. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 64, 112-122 (2017).
30. Fujimoto A, et al. Whole genome mutational landscape and characterization of non-coding and structural mutations in liver cancer. *Nature Genetics*, 48, 500-509 (2016).
31. Pattaro C, et al. Genetic associations at 53 loci highlight cell types and biological pathways relevant for kidney function. *Nature Communications*, 7, 10023 (2016).

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

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・発生段階依存的にプロセシングされて多様な成熟 mRNA となるための「細胞暗号」の解明を目指して研究を展開している。

1. 蛍光選択的プロセシングレポーターによる組織特異的・発生段階依存的選択的プロセシング制御機構の解明

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)。

このレポーター系を、遺伝学的解析に適したモデル多細胞動物線虫 *C. elegans* に応用して、(1) 線維芽細胞成長因子受容体遺伝子 *egl-15* の筋特異的なエクソン選択性を可視化し、RBFOX ファミリー RNA 結合タンパク質 ASD-1 および FOX-1 と筋特異的 RNA 結合タンパク質 SUP-12 が協働して筋芽細胞のスプライシングを制御することで FGF 受容体のリガンド特異性の制御に関わることを見出した (Nat Meth 2006; Mol Cell Biol, 2007)。(2) コラーゲン遺伝子 *let-2* の発生段階依存的なエクソン選択性を可視化し、発生段階依存的な制御因子として STAR ファミリー RNA 結合タンパク質 ASD-2 を同定した。さらに、選択的スプライシングによる mRNA 前駆体の運命決定に重要なイントロン除去の順

序を明らかにした (Genes Dev, 2008; Nat Protoc, 2010)。(3) 2種類のコフィリンをコードする *unc-60* 遺伝子の筋特異的な mRNA プロセシングパターンの切り替えを SUP-12 と ASD-2 が協働して制御することを見出した (PLoS Genet, 2012)。(4) V-ATPase の a サブユニットをコードする *unc-32* 遺伝子の2組の相互排他的エクソンが組織特異的に選択されることを示し、両組の神経系特異的エクソンの選択に必須な制御因子として神経系特異的 CELF ファミリー RNA 結合タンパク質 UNC-75 を同定した (図1) (PLoS Genet, 2013)。(5) アクチン結合タンパク質のトロポミオシンをコードする *lev-11* 遺伝子に新たな選択的エクソン 7a を見出し、7a 型が頭部体壁筋細胞に特異的に発現すること、エクソン 7a 特異的なアミノ酸置換変異は殺虫剤の成分でもあるアセチルコリン受容体アゴニストのレバミゾールに頭部特異的に耐性を示すことを明らかにした (Mol Biol Cell, 2018)。(6) 線虫の相互排他的選択的エクソンについて、選択性や構造の網羅的な解析を行い、特徴を明らかにした (Worm, 2014)。

このように、線虫 *C. elegans* は選択的 mRNA プロセシングの制御機構やスプライスバリエーションの機能の違いを個体レベルで解析するのに適した実験系であり、mRNA プロセシング研究のモデル生物としての有用性を総説としてまとめた (WIREs RNA, 2017)。

2. トランスクリプトーム解析による選択的スプライシング制御因子の標的遺伝子の網羅的探索

上述の遺伝学的研究で得られた選択的スプライシング制御因子の変異体線虫と野生型線虫の mRNA を大規模

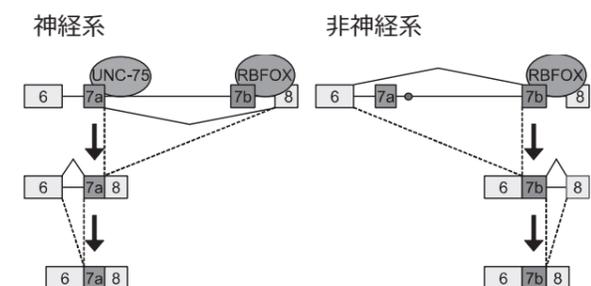


図1 *unc-32* 遺伝子の組織特異的スプライシング制御機構

シーケンス解析して生物情報学的手法で比較することにより、選択的スプライシングパターンに差がある遺伝子を網羅的に探索し、制御因子の標的遺伝子の同定を行っている。これまでに、UNC-75 の制御の標的となる合計24個の選択的スプライシング事象を同定した。さらに、スプライシングレポーター線虫の作製により、これらの標的エクソンがさまざまな組織特異的制御を受けること、UNC-75 はシスエレメント (G/U)UGUUGUG 配列を介して神経系特異的な制御に関わること、シスエレメントの位置により影響が異なる「位置効果」を示すことを見出した (Nucleic Acids Res, 2013)。

3. アミノ酸の毒性に対する食餌の影響

近年、哺乳動物の腸内細菌叢のはたらきが宿主にさまざまな影響を与える事例が多数報告されている。

当研究室では、実験室で大腸菌を餌として飼育している線虫の表現型に対して大腸菌の遺伝子のはたらきが影響を与える可能性について検討し、高濃度のトリプトファンの線虫に対する毒性が大腸菌の存在に依存していること、ある種の遺伝子欠損大腸菌株を食餌とした場合はトリプトファンが毒性を示さないことを見出した (図

2)。これは、トリプトファン自体に毒性があるのではなく、大腸菌がトリプトファンを代謝した何らかの化合物が線虫に対して毒性を示すことを意味しており、そのために必要な大腸菌の遺伝子や毒性物質の特定を行っている。

この研究は、一般に食餌と捕食者として捉えられていた細菌と線虫の関係について、線虫と大腸菌の両方の遺伝子発現を考慮して線虫の表現型を解釈し直す必要性を示すものである。この両者は腸内細菌叢が宿主に与える影響を遺伝学的に解析するための有用なモデル生物系であると考えられることから、今後のさらなる展開が期待される。

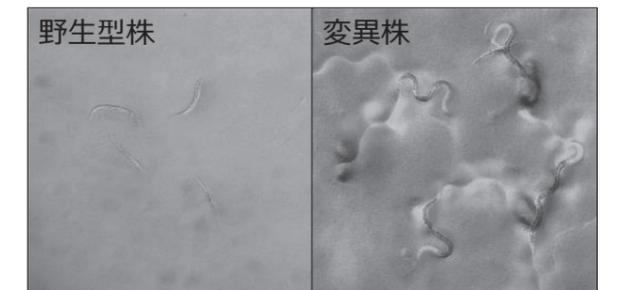


図2 線虫に対するアミノ酸の毒性は大腸菌の遺伝子発現の影響を受ける

人事異動 他

2017年1月、渡辺毅 (歯学部附属病院) が参加
2017年3月、黒柳秀人准教授が University of California, Los Angeles (UCLA) の Visiting Associate Professor を兼任
2017年4月～7月、齋藤ますみ (大学院歯学総合研究科) が参加

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. doi: 10.1091/mbc.E17-03-0152, 2018

総説等

1. 黒柳秀人. 第9章第4節「転写と転写後プロセシングの共役」. 遺伝子発現制御機構—クロマチン, 転写制御, エピジェネティクス (田村隆明・浦 聖恵 編著, 東京化学同人), 2017年.
2. Wani, S. and Kuroyanagi, H. An emerging model organism *Caenorhabditis elegans* for alternative pre-mRNA processing *in vivo*. WIREs RNA. e1428. doi: 10.1002/wrna.1428, 2017.

教育活動

黒柳秀人: 大学院歯学総合研究科、医学部保健衛生学科
和仁翔太郎: 歯学部歯学科

競争的研究費

黒柳秀人 (代表). 新学術領域研究「転写サイクル」公募研究「転写産物の高精細プロファイリングによる転写と転写後プロセシングの共役機構の解明」
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 (代表). 基盤研究(B)「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「転写産物の高精細プロファイリングによる転写と転写後プロセシングの共役機構の解明」
黒柳秀人 (代表). 国際共同研究加速基金 (国際共同研究強化)「mRNA 前駆体の組織特異的転写後プロセシングの制御機構の解明」
黒柳秀人 (代表). 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「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」

アウトリーチ活動

みらいふプラス (<https://www.milive-plus.net/newleader/049/>) に研究内容等を紹介

プロジェクト研究室

ゲノム応用医学研究部門

准教授：窪田道典

従来、大脳皮質機能局在の考えから、聴覚野や視覚野などの一次、二次の感覚野は、一種類の感覚だけから入力を受けていると考えられてきた。しかし、近年、脳機能画像法や、電気生理学および解剖学的研究により、これまで一種類の感覚だけを処理しているとされてきた一次感覚野や二次感覚野においても、他の感覚からの入力があるということが明らかになりつつある。しかし、この他種感覚入力の応答様式や時間的空間的性質などは、よく分かっていない。そこで我々は、多数の部位から同時に神経活動を記録できるという、優れた特徴を持つ光学的計測法を大脳皮質聴覚野に適用し、他種の感覚（視覚）からの影響を調べた。

記録方法として、時間的空間的な解像度に優れている電位感受性色素（RH795）を用いたオプティカルイメージング法を適用し、モルモット大脳皮質聴覚野から応答を記録した。音刺激としては広域ノイズを用い、視覚刺激としてはフラッシュ光を用いて、音刺激のみ、光刺激のみ、及び両方の刺激を同時に与えた場合を調べた。

その結果、聴覚野の各部位は、一次聴覚野、二次聴覚野共に視覚入力を受けていて、この入力は興奮とその後続く抑制からなり、特に抑制性の入力が強かつ持続時間が長いことが明らかになった。さらに、この視覚入力の強さと潜時は聴覚野の各部位で異なっており、主に、一次聴覚野より二次聴覚野で強かった。しかし、二次聴覚野の中でも視覚入力の強さは異なり、特に、後背側にあるP領域とDCB領域での応答は、二次聴覚野の腹側にあるVCB領域より強かつ早く生じた。視覚刺激と聴覚刺激を同時に与えた時には、聴覚刺激単独の時と比較して、P領域とDCB領域では、一次聴覚野やVCB領域より強く抑制された。そのため、他種の感覚入力に加わることにより、聴覚刺激単独の時と比較して、各領域間の応答のコントラストが増大するという結果が得られた。心理学的実験から、一種類の感覚よりも複数の感覚を用いた方が、刺激の検知力が増大することが知られており、この検知力の増大に、複数感覚入力による各領域間の応答コントラストの増大が関与している可能性がある。

業績目録

Kubota M, Sugimoto S, Hosokawa Y, Ojima H,

Horikawa J. Auditory-visual integration in fields of the auditory cortex. *Hearing Research* 346, 25-33 (2017).

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

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) 安 健博(難治病態・分子病態・助教) 浅野純平(先端分子・生体防御学・特任助教) 成瀬妙子(難治病態・分子病態・プロジェクト助教) *中西祐輔(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) 大石由美子(先端分子・細胞分子医学・准教授) 林晋一郎(先端分子・細胞分子医学・助教) 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) 與那城亮(プロジェクト専任助教)
【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) 朝蔭孝宏(医学部・頭頸部外科・教授) 原田浩之(歯学部・顎口腔外科・教授) 村松智輝(プロジェクト専任助教)
【先制医療実現化 DOHaD 研究プロジェクト】 先制医療を見据えた生殖・周産期からのアプローチ-基礎研究から臨床応用への展開のための基盤の確立	○佐藤憲子(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・生殖機能協同学・教授) 和泉雄一(歯学部・歯周病学・教授) 今井千裕(ゲノム応用・分子疫学・助教) 片桐さやか(歯学部・歯周病学・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。

IBD 難病基盤・応用研究プロジェクト室

教授：清水重臣、教授：木村彰方

教授：樗木俊聡

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

した。その結果、①DSS誘導性腸炎において、大腸組織マクロファージのMKL1発現量が亢進していること、②マクロファージ特異的にMKL1を高発現させたマウス(MKL1-Tg)を作製したところ、IBD様症状と呈し、DSS誘導性腸炎への感受性が亢進すること、③MKL1-Tgにおいて大腸組織マクロファージの炎症抑制機能が低下し、骨髄由来マクロファージが炎症誘導型となることなどを発見した(論文1)。

2、ヒト共通単球前駆細胞の発見：近年、マウスにおいて単球に限局した分化能を持つ共通単球前駆細胞(cMoP)が同定された。本研究では、ヒト臍帯血及び骨髄中の従来型顆粒球—単球前駆細胞(cGMP)を亜集団に分画し、CLEC12A^{hi}CD64^{hi}がヒトcMoPであることを見出した。ヒトcMoPは単球のみに分化する細胞であった。また、cGMP中の亜集団に樹状細胞やリンパ球系細胞への分化能を持たない修正型顆粒球—単球前駆細胞が存在することにも成功した(論文2)。

3、腸上皮幹細胞維持におけるオートファジーの重要性を発見：本研究では、腸上皮細胞(iECs)特異的なAtg5欠損マウス(*Atg5^{ΔIEC}*マウス)を作成し、以下の事実を見いだした。即ち、①腸上皮幹細胞(ISC)数が少ないこと、②放射線照射後の腸上皮再生に障害が見られ、この障害は抗酸化剤投与によって緩和すること、などである。これらの結果は、ISCの恒常性には、オートファジーによる過剰なROS産生の低下が重要であることを示唆している(論文3)。

4、DSS腸炎における炎症誘導メカニズムを解明：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IBDを誘導する。この病態を解析し、①DSS誘導性腸炎モデルにおいて、大腸局所のLy6c⁺細胞集団が*TNF-α*と*iNOS*を強く発現していること、②IFN- γ -Stat1経路が腸炎惹起性マクロファージの誘導に必要であること、③IFN- 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を見いだした(論文4)。

業績

1. An J, Nagaishi T, Watanabe T, Naruse TK, Watanabe M, Kimura A. "MKL1 expressed in macrophages contributes to the development of murine colitis." *Sci Rep*. 2017; 7: 13650.
2. Kawamura S, Onai N, Miya F, Sato T, Tsunoda T, Kurabayashi K, Yotsumoto S, Kuroda S, Takenaka K, Akashi K and Ohteki T. "Identification of a human clonogenic progenitor with strict monocyte differentiation potential - a counterpart of mouse cMoPs." *Immunity* 2017; 46: 835.
3. Asano J, Sato T, Ichinose S, Kajita M, Onai N, Shimizu S and Ohteki T. "Intrinsic autophagy in intestinals stem cells is required for their maintenance and for irradiation-induced intestinal regeneration." *Cell Reports* 2017; 20, 1050.
4. 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 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)

大石由美子・林 晋一郎(細胞分子医学)

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、心臓では、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変異は、RNA結合タンパク質RBM20の遺伝子にも報告されている。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につながると考えられているが、患者の変異がRBM20の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(論文revision中)。現在は、*Rbm20*モデルマウスの表現型におけるタイチン比率の重要性を確認する解析を進めている。

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：

與那城 亮（難病基盤応用研究プロジェクト・助教）

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）

石野史敏（エピジェネティクス分野・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、これまでにがんにおける急性期・慢性期の低酸素応答の分子機構の解析を進めて、新たな転写や代謝制御機構を明らかにしてきました。本プロジェクトでは、これまでの研究成果を基に、新た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に迫ります。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-oxo-glutarate dependent dioxygenase (2-OG) 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ますし、悪性度の高い乳がんはメチル化レベルが亢進していることも判明していますが、低酸素とメチル化の関連は明らかではありません。本研究により、これまでに別個に研究されてきた「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」と呼ぶことのできる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。

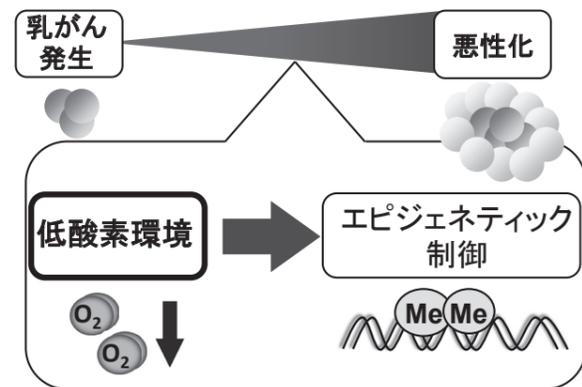


図 難治低酸素性乳がん研究プロジェクトの概略

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）

共同研究者：石川俊平（ゲノム病理・教授）

角田達彦（医科学数理・教授）

村松智輝（プロジェクト専従助教）

研究成果の概要：

頭頸部がんおよび食道扁平上皮がん（ESCC）は、比較的早期にリンパ節転移が起きやすく、予後不良の原因である。また、上記疾患における外科的手術は、外見の変化や食餌の摂取を困難にさせることから QOL の低下に直結する。当該年度は、以上のことからがん転移の解析に焦点を当て、がん転移関連マイクロ RNA (miRNA) およびがん転移の予測を可能とするバイオマーカーの探索を行った。近年、がん転移においてがん細胞が放出する小胞の一つであるエクソソームの機能に関心が高まっている。エクソソームは、直径 30-100nm ほどの小胞であり、脂質二重膜を有し、その中には miRNA や様々なタンパク質が内包されている。がんにおけるその機能は、がん転移先のニッチ形成や免疫細胞の教育など多岐にわたる。我々は、がん転移におけるエクソソームと miRNA に着目し、口腔扁平上皮がん細胞株（HOC313）を用いて解析を行った。以前の研究において、HOC313 から *in vivo* selection を用いて高転移性を有した細胞株（HOC313-LM）の樹立に成功した。上記の低転移性および高転移性細胞株から放出されるエクソソームを回収し、miRNA 発現アレイを用いて内包されている miRNA の探索を行った。その結果、高転移性細胞株由来のエクソソーム中に *miR-1246* が多く含まれていることを同定した。*miR-1246* を細胞に導入すると細胞の移動能、浸潤能を亢進させることを明らかにした。また、miRNA は多くの標的遺伝子を持っており、その標的遺伝子の発現および翻訳を mRNA に直接結合することにより抑制する機能を持っていることから、*miR-1246* の直接的な標的遺伝子を標的予測データベース (TargetScan) を用いて探索した。標的予測データベースの結果を基に、*miR-1246* の直接の標的として *DENND2D* を同定した。さらに、*DENND2D* の発現を抑制することにより、細胞の移動・浸潤が亢進することを明らかにした。したがって、miR-1246 は、*DENND2D* に直接結合し、その発現を抑制することにより、がん細胞の移動・浸潤能を亢進させることから、*miR-1246* はがん転移関連 miRNA であることが明らか

となった。

また、ESCC ではリンパ節転移の有無が予後を大きく左右するためリンパ節転移予測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／非腫瘍組織由来 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。選出された 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、先の 67 例とは異なる ESCC の 57 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、新規の ESCC リンパ節転移予測 DNA メチル化マーカーとして最終的に 2 遺伝子（*HOXB2*、*SEPT9*）を絞り込むことができた。今回の研究において見出された 2 種類の ESCC リンパ節転移予測マーカーの臨床応用に期待がかかる。

先制医療実現化 DOHaD 研究プロジェクト

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現在も推進継続中であるが、すでに約 70 以上出産があり、母児エピゲノム多様性を生む環境要因の探索を進めている。その過程で、臍帯血 DNA メチル化解析には、臍帯血に含まれる有核赤血球の含有割合の評価が重要であることを見出した。臍帯血を含む血液標本を用いた DNA メチル化解析に必要な各血球画分の DNA メチル化リファレンスは十分整備されているとは言えないため、現在リファレンス作成から取り組んでいる。

母獣低タンパク質給餌実験、歯周病細菌感染などの動物モデルを用いた関連研究は、複数の研究室間の共同研究として行い、その成果を論文発表した。

業績

1. Sato N, Sudo K, Mori M, Imai C, Muramatsu M, Sugimoto M: Early gestational maternal low-protein diet diminishes hepatic response to fasting in young adult male mice. *Sci Rep.* 2017;08: 7(1): 9812
2. Komazaki R, Katagiri S, Takahashi H, Maekawa S, Shiba T, Takeuchi Y, Kitajima Y, Ohtsu A, Udagawa S, Sasaki N, Watanabe K, Sato N, Miyasaka N, Eguchi Y, Anzai K, Izumi Y. Periodontal pathogenic bacteria, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* affect non-alcoholic fatty liver disease by altering gut microbiota and glucose metabolism. *Sci Rep.* 2017 Oct 24;7(1):13950.
3. Udagawa S, Katagiri S, Maekawa S, Takeuchi Y, Komazaki R, Ohtsu A, Sasaki N, Shiba T, Watanabe K, Ishihara K, Sato N, Miyasaka N, Izumi Y. Effect of *Porphyromonas gingivalis* infection in the placenta and umbilical cord in pregnant mice with low birth weight. *Acta Odontol Scand.* In press

総説

佐藤恵子. 3 章. DOHaD の基礎: DOHaD の分子機構、産婦人科の実践. 2017;08: 66(08): 959-966

大学院教育研究支援実験施設

I. ゲノム解析室

助教：谷本 幸介

技術補佐員：藺部知奈美

技術補佐員：福井 都代

技術補佐員：石田 麗子

本解析室は、難治疾患研究所の教職員・学生および難治疾患共同研究拠点の参加研究者が実施するゲノム解析研究の支援を目的としている。最新機器の原理や使用法の講習会を通じた研究者への技術紹介、知識啓蒙を行っている。さらに、日常業務として、研究所内外からのゲノム情報の受託解析を行い研究の推進を図っており、年間約4万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、本年より本学リサーチコアセンターと連携して研究を支援している。

以下は、2017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38,383、延べ利用人数は3,356名であった。難研外からの依頼サンプル数は22,611となり、全体の6割を占めている。(図)

次世代シークエンサー (Ion torrent PGM) による受託解析サービスについては、本年は27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

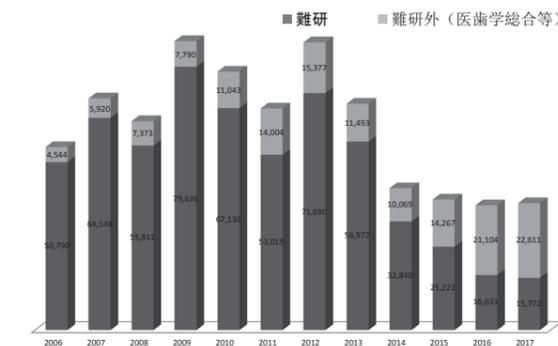


図 キャピラリーシークエンス受託解析サンプル数

117となり、利用の拡大と利便性向上を図っている。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た支援を行っている。

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 Torrent PGM、フローサイトメーター、発光プレートリーダー、Agilent バイオアナライザ、DNA断片化装置 Covaris、蛍光マイクロビーズ検出システム Luminex、サーマルサイクラー 5台、遠心機、遠心濃縮機

3. 説明会等

解析機器技術の紹介及び共通機器利用促進のため、以下の講習会を行った。

5月30日 次世代シークエンス講習会 (基礎編、実践編)

4. 人事異動

転出 伊藤 暁子 (技術補佐員)

転入 石田 麗子 (技術補佐員)

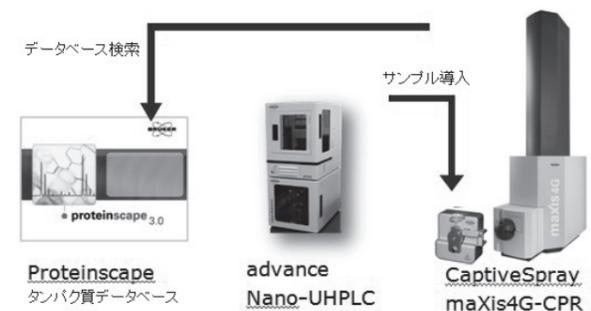
II. 細胞・プロテオーム解析室

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、表面プラズモン共鳴測定装



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



< LC-MSMS 解析 Qtrap5500 使用 ABSCIEX >

置、HPLC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。質量分析計による蛋白質の同定についての受託解析も行っている。特に本年は、新しいLC-MSMS解析システムも始動しているため、同定率の向上が期待される。また、既に学内に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は使い分けが必要である。実際にこうした複数台の機器について、円滑に解析、利用、運営できるように互いに連携を図っている。

2017年度より本学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ます。

III. 遺伝子組換えマウス実験室

技術職員：宇佐美貴子

技術補佐員：石久保春美

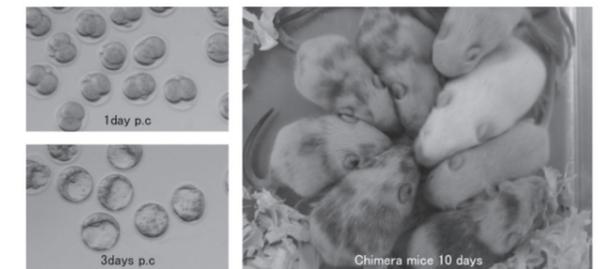
技能補佐員：中村麻衣子

技能補佐員：木崎 未央

技能補佐員 (研究支援推進員)：遠藤 由加

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。本実験室では、技術職員および飼育専任スタッフのサポートにより、組換えマウス作成・特定微生物排除・飼育維持・胚凍結による系統保存を行うことにより、マウス個体を用いた生命科学・難治疾患研究の教育基盤となっている。平成27年度からは、学内向けに、ゲノム編集技術を用いた遺伝子組換えマウス (KO、KI、1塩基置換、flox等) 作製支援サービスも行なっている。

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



IV. 形態機能解析室

技術補佐員 (研究支援推進員)：野村 隆之

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

ウェブサイト：<http://www.tmd.ac.jp/mri/lacfi/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)
- ・ビブラトーム … PRO7 (堂阪イーエム)
- ・自動固定包埋装置 … RH-12DM (サクラファインテック) Excelsior ES (Thermo 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。今年度は2回開催した。

- ・共焦点レーザー顕微鏡講習会（カールツァイスマイクロコピー株式会社）
春季…5月26日、秋季…10月23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. 2017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。2017年の当支援室の利用者数はのべ521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

技術専門職員：小島 智子

バイオリソース支援室は、生命医科学分野における研究・教育の発展に貢献するためのバイオリソースバンクと位置付け、培養細胞株、ゲノム資源等の研究材料を提供するとともに、大学院教育・研究を支援する施設として設置され、活動を行っている。

細胞株の寄託・分譲業務は、汎用性の高い有用な細胞株の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有効活用に取り組んでいる。マイコプラズマ汚染検査は細胞株の安全、適切な保管維持を目指し、PCR法で実施している。Bリンパ球樹立業務は、免疫抑制剤の導入により安定した樹立効率を維持している。また、基礎的研究技術支援として、大学院生、研究初学者を対象に細胞培養講習会を開催し、血清共同購入の窓口業務を実施している。

本年度は外国機関への細胞株分譲を産学連携推進本部と連携して実施した。Bリンパ球樹立業務は学内外から定期的、継続的な受託依頼がある。これらの医学系試料取扱には個人情報保護等の観点から倫理面に一層の配慮を求められる。そのためバイオリソース支援室では運営実施計画を見直し、学内外からの受託を考慮した実施計画を作成し倫理審査申請、承認された。

VII. 構造解析支援室

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



職員学生名簿

分子細胞生物学分野

教 授	澁谷 浩司	非常勤講師	備前 典久
准 教 授	後藤 利保		影山 龍一郎
助 教	佐藤 淳	技術補佐員	柏木 太一
研 究 支 援 員	満友 陽子	大 学 院 生	井上 和子
			Wang Wenqian

分子神経科学分野

教 授	田中 光一		室田 吉貴
准 教 授	相田 知海		齋藤 清香
助 教	石田 紗恵子		Alapati Aimaitijiang
	平岡 優一		横居 優貴
大 学 院 生	赵 卓扬		江石 遥夏
	杉山 香織		高橋 聡美
	半田 剛久		巽 瑠璃子
	瀧川 遥		松永 浩明
	小川 恕		東 康哉
	萩原 くるみ		飯塚 直樹
	Bi Haining		奥野 里彩
事 務 補 佐 員	大野 里美		巳鼻 佑作

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	児玉 昌美		
	山添 正博		
大 学 院 生	東島 佳毅		
	楊 筱茜		
	孫 溢 晗		
	石井 修平		
技 術 補 佐 員	木村 麗子		
	中島 ゆきこ		
事 務 補 佐 員	高倉 由記子		

幹細胞制御分野

教 授	田賀 哲也		
准 教 授	信久 幾夫		
助 教	楯 康一		
連 携 研 究 員	鹿川 哲史		

生体防御学分野

教 授	樗木 俊聡		
講 師	佐藤 卓		
助 教	金山 剛士		
	中西 祐輔		
非 常 勤 講 師	小内 伸幸		
特 任 助 教	浅野 純平		
	梶田 美穂子		
特 任 研 究 員	川村 俊輔		
SONY 特別研究生	山内 康晴		
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		
	英美 奈子		
事 務 補 佐 員	上岡 寿子		

分子構造情報学分野

教授 伊藤 暢 聡
 准教授 伊倉 貞 吉
 助教授 沼本 修 孝
 連携研究員 宮下 由 里 奈

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
 助教授 藤田 慶 大
 特任助教 陳西 貴
 本間 秀 典
 山西 恵 美 子
 事務補佐員 佐藤 しげみ
 藤井 幹 世
 張 雪 梅
 秘書 関 綾 子
 大学院生 Juliana Bosso Taniguchi
 近藤 和
 田中 ひかり
 熊木 友 大
 猪爪 舞 子

病態生理化学分野

教授 佐々木 雄 彦

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
 助教授 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
 秘書 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
 奥野 瞭
 吉田 朋 世

発生再生生物学分野

教授 仁科 博 史
 准教授 平山 順
 助教 宮村 憲 央
 特任助教 石原 えりか
 YU Ruoxing
 事務補佐員 田中和 子
 大学院生 出未 - 有馬 誉 恵
 田村 律 人
 山下 真 梨 子
 進 匡
 則 信 安 里
 ALIF Yikelamu
 大塚 沙 緒 里
 P U J i n g
 長岡 勇 也
 宮田 梢 子
 原 崇
 研究従事者

免疫疾患分野

教授 鏑田 武 志
 准教授 安達 貴 弘
 助教 赤津 ちづる
 特任講師 王 繼 揚
 特任研究員 Medzhidov, Nazim
 研究支援者 神谷 知 憲
 技術補佐員 淀澤 天 斗
 堀田 淑 坤
 事務補佐員 澤田 千 賀 子
 研究従事者 鈴木 彩 加
 大学院生 Feng, Yang-yang
 Alborzian-Deh-Sheikh, Amin
 Rengarajan, Sundararaman
 米水 龍 也
 遠藤 彩 香
 遠藤 萌 恵
 Yang, Hongrui
 Li, Xuexin
 西田 響 子
 Huang, Yuming
 大学院研究生 Long, Wang

分子病態分野

教授 木村 彰 方
 准教授 林 丈 晴
 助教 安 健 博
 プロジェクト助教 成瀬 妙 子
 事務補佐員 佐々木 悦 子
 技術補佐員 植田 由 希 子
 佐藤 美 佐 子
 非常勤講師 布田 伸 一
 大学院生 丸山 智 久
 大学院研究生 藍 智 彦
 山田 佳 代 子
 共同研究者 久場 敬 司
 武谷 立
 寺尾 知 可 史
 Gurvinder Kaur

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
 特任研究員 加藤 靖 子
 顧 潔
 大学院生 高田 亜 希
 劉 楠
 Sally Eshiba
 村口 太 一
 加藤 智 起
 芹澤 直 隆
 松崎 健
 連携研究員 佐藤 宗 範
 早野 元 詞
 技術補佐員 矢嶋 玲 子
 西貝 燕
 難波 富 士 緒
 寺井 梢
 西森 由 里 子
 Tan Li Jing
 秘書 渡邊 郁

分子細胞遺伝学分野

教授 稲澤 讓 治
 講師 井上 純
 助教 村松 智 輝

特任助教 玄 泰 行
 Daniela Tiaki Uehara
 大学院生 古澤 啓 子
 奥田 将 史
 外内 えり 奈
 平林 恭 子
 五木田 憲 太 朗
 Akdemir Burak
 岸川 正 大
 高川 祐 希
 阿部 秀 俊
 大学院研究生 劉 暢
 徐 博

分子遺伝分野

教授 三木 義 男
 准教授 中西 啓
 助教 高岡 美 帆
 プロジェクト助教 砂田 成 章
 大学院生 鄧 宇
 福田 未 緒
 佐藤 亜 美
 山田 翔 太
 東條 陽
 大学院研究生 徐 澤 宇
 ヌセレト イミン

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 テイ・ザ・チョウ
 藤谷 啓 雄
 勝田 江 朗
 メディナ・アブドサタル
 エイ・ココ・ミン
 シルバ・パベッティ・ナット
 縦 媛
 坪田 惟 里
 飛知 和 尚 美
 J I N X I N
 大学院研究生 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
 富 永 健
 小 西 寛 城
 福 田 圭 佑
 鈴木花実
 梅 崎 敏 和
 伊 佐 碩 恭
 連 携 研 究 員 末 吉 国 誉
 山 本 一 樹
 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

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
 日 本 学 術 振 興 会 外 国 人 特 別 研 究 員 Yosvany Lopez-Alvarez
 学 部 学 生 置 地 竜 一
 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
 特 任 助 教 和 仁 翔 太 郎
 技 術 補 佐 員 大 野 麻 理 奈
 大 学 院 生 渡 部 栄 地
 医 歯 学 総 合 研 究 科 歯 科 心 身 医 学 分 野 ・ 医 員 渡 辺 毅
 学 部 学 生 岩 寄 利 菜

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

テニュアトラック研究室細胞分子医学分野

テニュアトラック准教授 大石由美子
 助 教 林 晋 一 郎
 早 川 清 雄
 技 術 補 佐 員 星 野 由 紀 子
 大 学 院 生 大 塚 千 聖
 劉 琳
 大 学 院 研 究 生 成 英 瀾

プロジェクト研究室

准 教 授 窪 田 道 典

連携研究部門 病態発現機構

教 授 宮 野 悟
 教 授 井 元 清 哉

難病基盤・応用研究プロジェクト室

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

助 教 村 松 智 輝
 難 治 が ん エ ピ ゲ ノ ム 研 究 プ ロ ジ ェ ク ト
 助 教 川 崎 佑 季
 難 治 低 酸 素 性 乳 が ん 研 究 プ ロ ジ ェ ク ト
 助 教 與 那 城 亮

大学院教育研究支援実験施設

ゲノム解析室

助 教 谷 本 幸 介
 技術補佐員(研究支援推進員) 伊 藤 暁 子
 藺 部 知 奈 美
 石 田 麗 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

遺伝子組み換えマウス実験室

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
 遠 藤 由 加
 技 能 補 佐 員 佐 藤 美 恵 子
 木 崎 未 央
 中 村 麻 衣 子
 派 遣 ス タ ッ フ 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 小 関 航 太

バイオリソース支援室

技 術 専 門 職 員 小 島 智 子

事務部

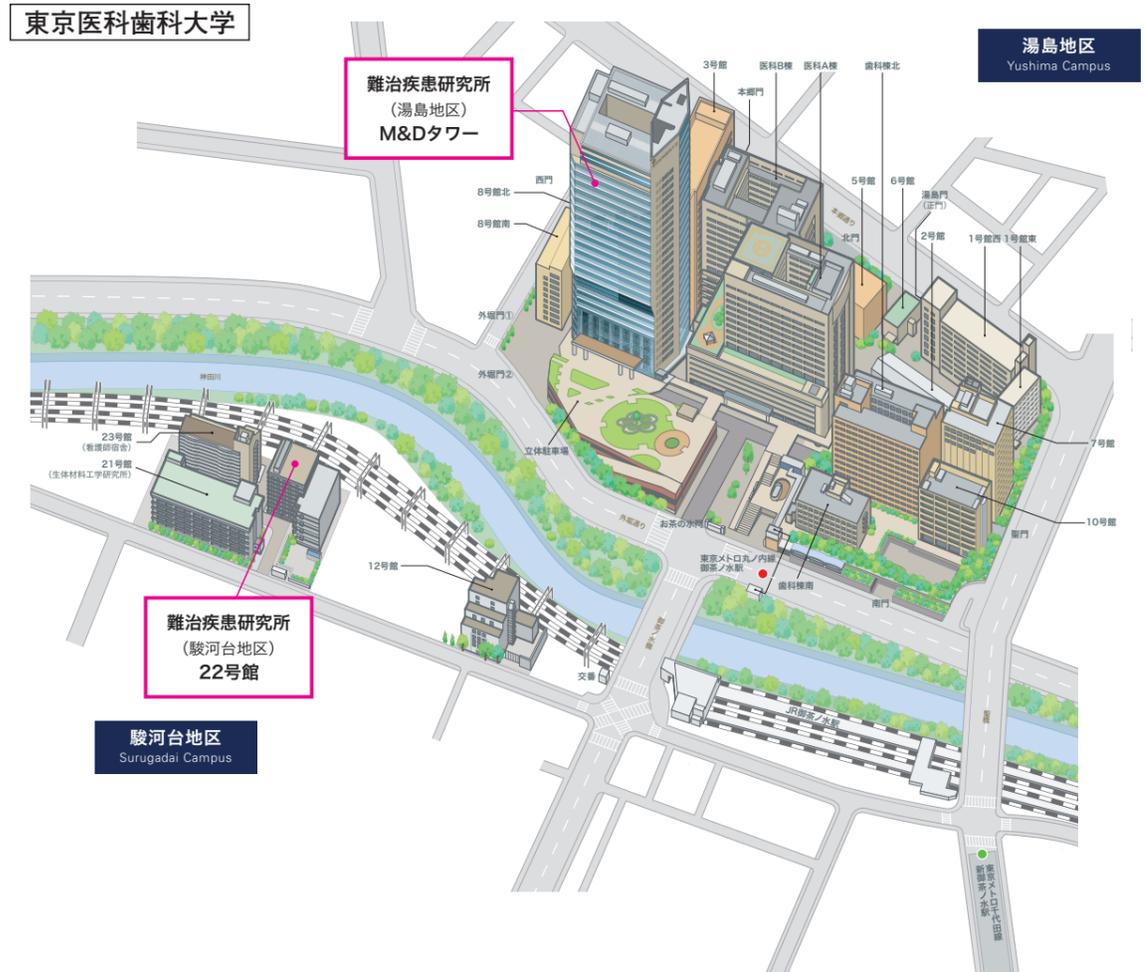
事 務 長 坂 入 幸 雄
 事 務 主 事 渡 邊 剛 志
 総 務 係 長 (兼) 渡 邊 剛 志
 総 務 係 主 任 小 林 俊 彦
 総 務 係 員 青 木 明 日 加
 木 下 清 隆
 林 健 策
 矢 吹 南 実
 事 務 補 佐 員 近 江 有 里
 高 橋 将 貴
 濱 野 文 博
 矢 野 幸 代

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

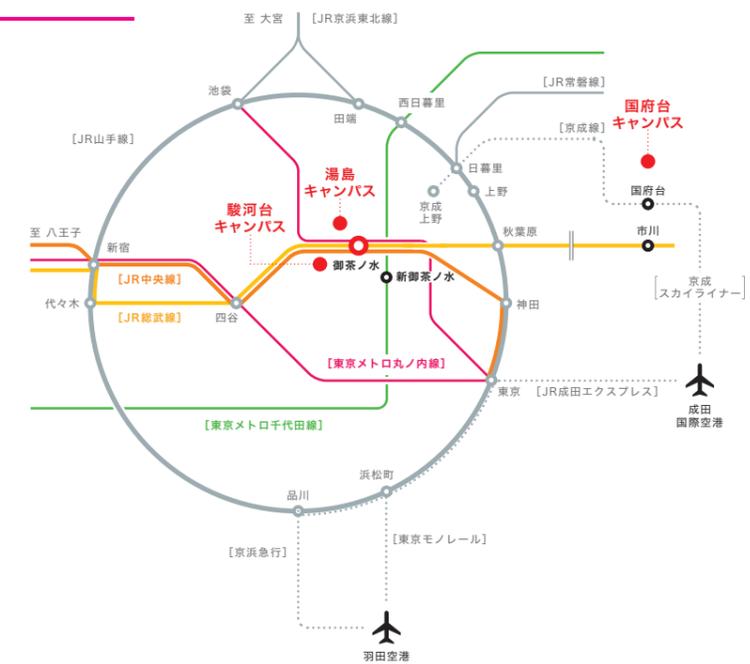
(50音順)

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 2018

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