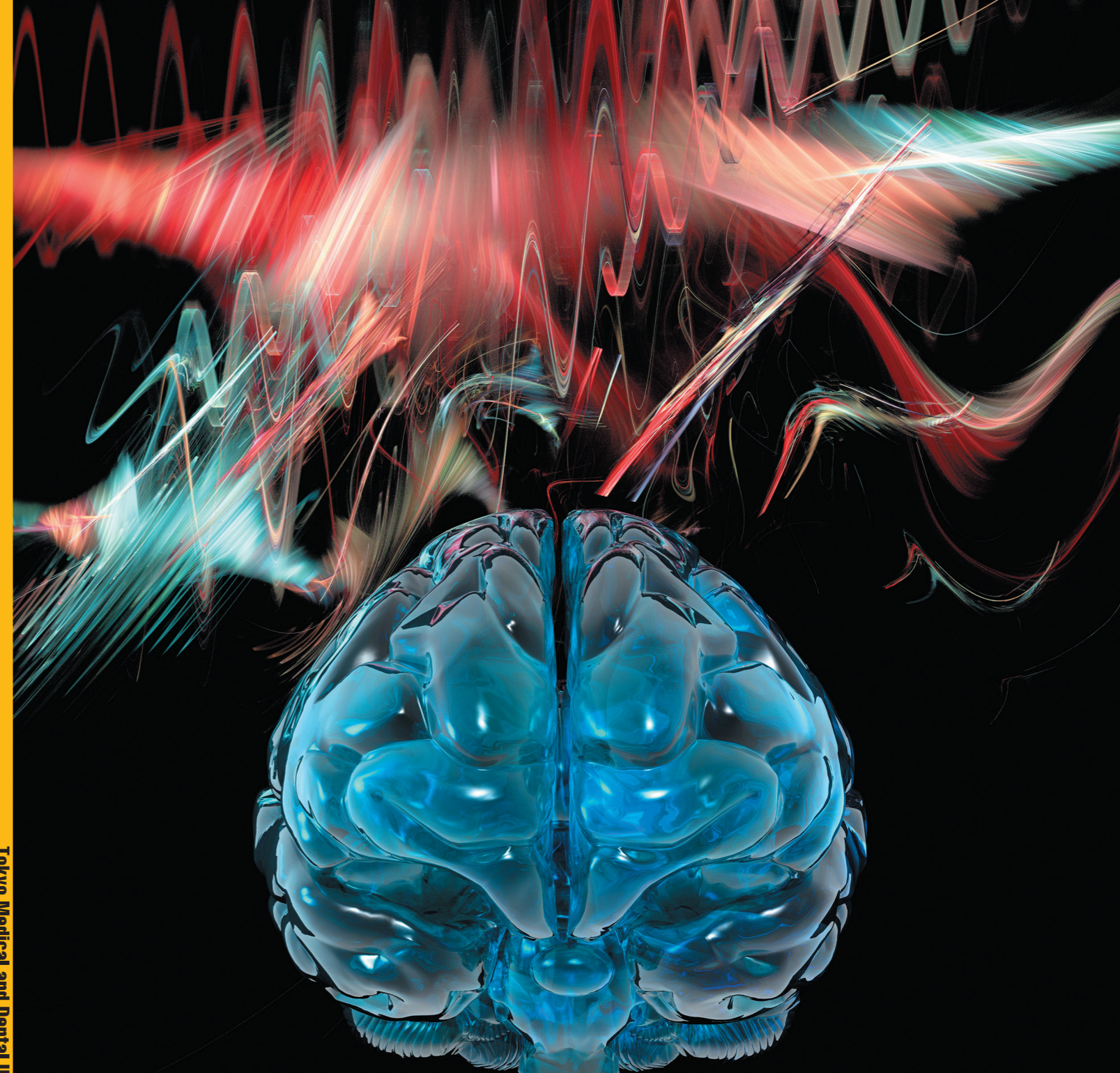


Annual Report 2017



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

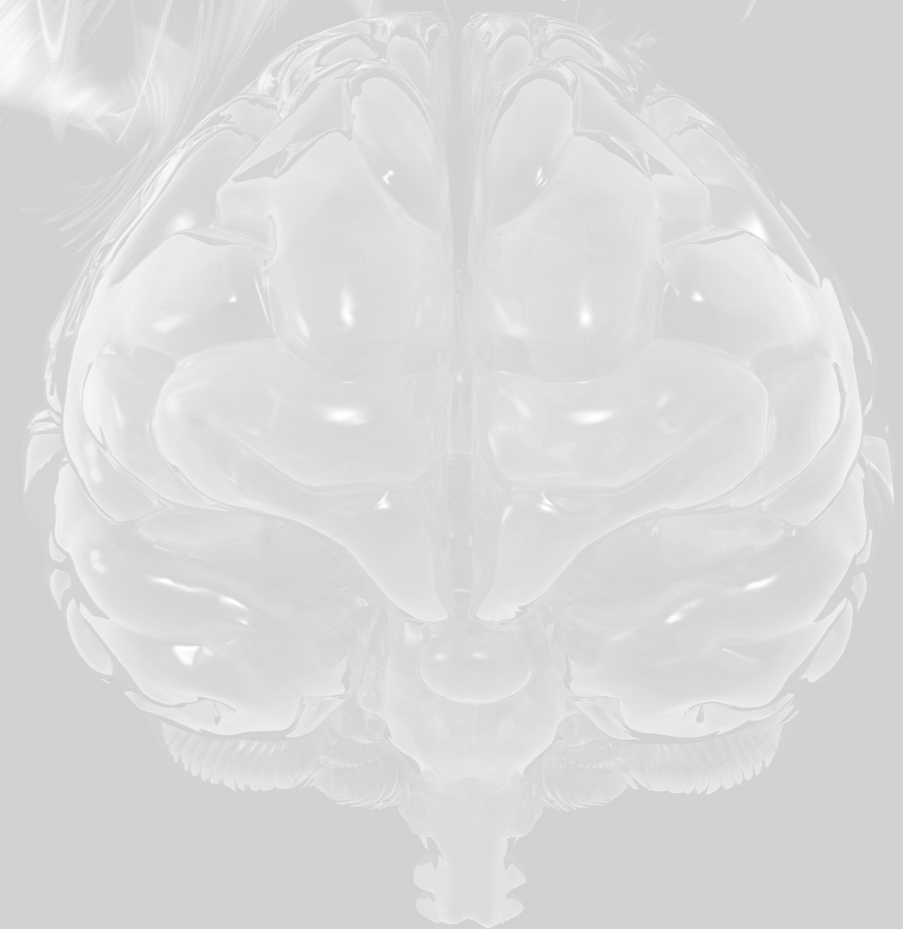
年報

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

2017

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2016年1月から12月までの研究と教育などに関わる活動報告です。本研究所では「難治疾患」を「病因・病態が明らかにされていないために未だ有効な診断法、治療法、予防法が確立されていない疾患」と定義し、その克服のため基礎から応用まで幅広い研究活動を繰り広げております。平成21年には文部科学大臣に全国共同利用・共同研究拠点「難治疾患共同研究拠点」に認定され、平成28年度からは第二期目の拠点活動を行なっています。それと同時に、九州大学生体防御医学研究所、熊本大学発生医学研究所、徳島大学先端酵素学研究所とネットワークを組み、トランスオミクス医学研究拠点活動も開始しています。この年報には、これらの拠点活動の状況や研究所内の分野を超えた研究活動である難病基盤・応用研究プロジェクトについても記載しています。

今後は、これらの拠点活動を全国の研究者コミュニティだけでなく、大学の機能強化にも貢献できるように各支援室の体制を整えているところです。最先端の研究活動で生み出した成果を、拠点活動により多くの方に利用していただけるよう、これからも鋭意活動を続けていきたいと考えておりますので、宜しくお願い致します。

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 ~ 74
- ・大学院教育研究支援 実験施設 75 ~ 77

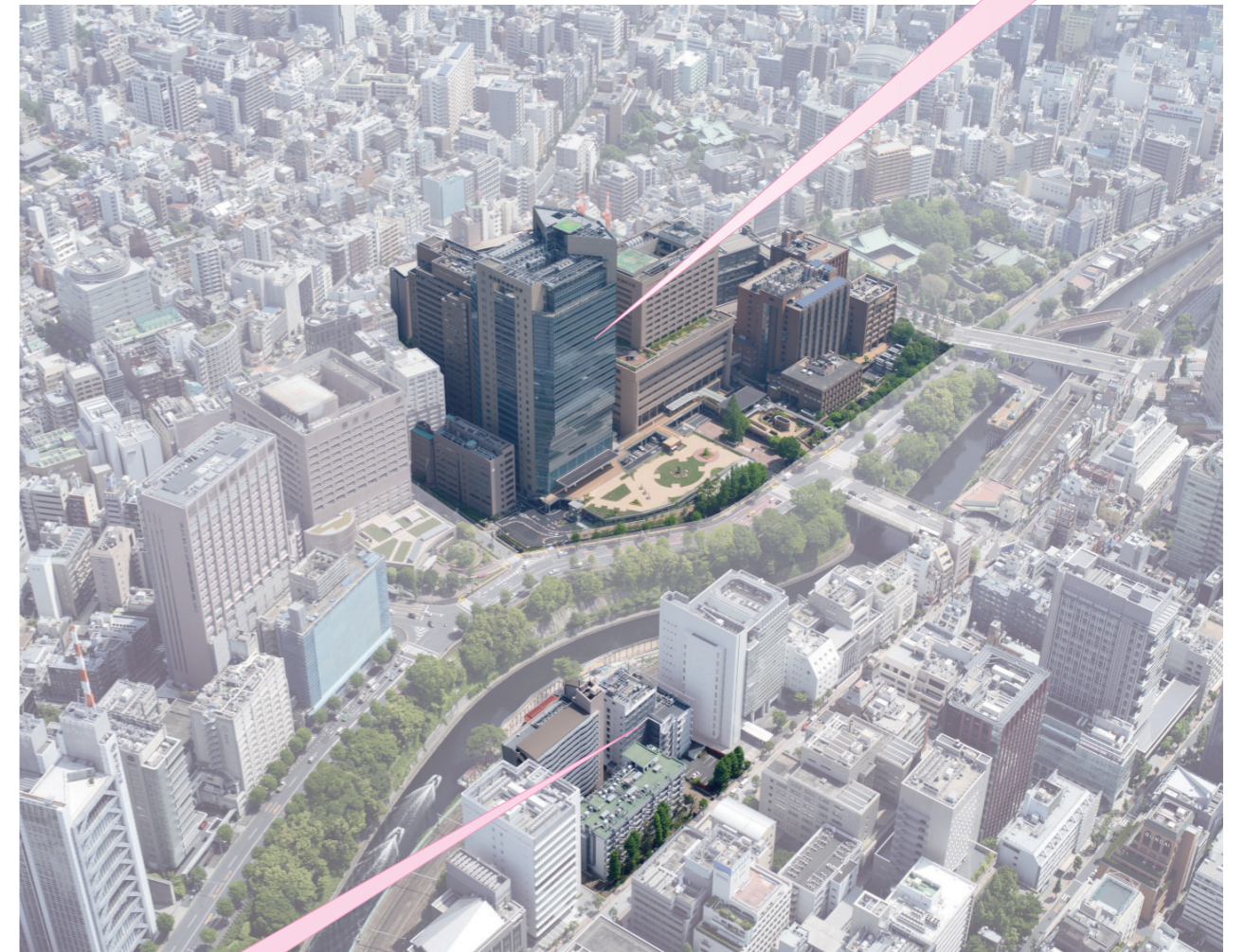
職員学生名簿	79 ~ 83
諮問委員名簿	84
案内図	85

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、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レドックス応答細胞生物学、テニュアトラック研究室細胞分子医学分野、プロジェクト研究室、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



職員及び学生数

●学生数

平成 29 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	0	0	
		生体防御学分野	1	1	0	1	
		生体情報薬理学分野	3	1	1	0	
		幹細胞制御分野	5	3	0	0	
		分子構造情報学分野	1	0	1	0	
		フロンティア研究室 低酸素生物学	0	0	0	0	
		フロンティア研究室 骨分子薬理学	0	0	0	0	
		テニュアトラック研究室 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	1	0	0
			病態生化学分野	0	0	0	0
	病態細胞生物学分野		2	5	0	0	
	発生再生生物学分野		5	1	6	0	
	幹細胞医学分野		1	2	0	0	
	免疫疾患分野		7	0	2	0	
	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	3	1	0	0
			分子遺伝学分野	3	0	1	1
			分子疫学分野	3	8	1	2
		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	0	2	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	0	0	0	0		
	計			42	28	13	7

●職員数

区分	教 員							その他職員					合計	
	教授	准教授	講 師	助 教	特任 講師	特任 助教	計	ポストドク	技術系職員		事務系職員			計
									常勤	非常勤	常勤	非常勤		
現 員	18	17	4	25	5	17	86	2	12	30	5	18	67	153

●日本学術振興会特別研究員数

区分	PD	DC1	DC2	SPD	RPD
現 員	2	2	0	1	1

ハイライト

なぜ年をとると毛が薄くなるのか～老化の新コンセプト～
Hair follicle aging is driven by transepidermal elimination of stem cells via COL17A1 proteolysis. Science, 351 (6273):575-589, 2016

薄毛や白髪は誰でも起こる加齢現象

なぜ年をとると薄毛や白髪になるのか、そのしくみはよくわかっていない。毛は「毛包」という器官でつくられる。毛包では、「毛包幹細胞」が分裂して、毛をつくるのに必要な細胞を供給している。毛は常につくられているわけではなく、毛包は、成長期→退縮期→休止期という周期（ヘアサイクル）を繰り返しており、成長期に毛包幹細胞は活性化して毛をつくる細胞を生み出す。

通常、毛包幹細胞は、分裂の際に自己複製すると同時に毛を作る細胞を生み出す。そのため、毛包幹細胞が枯渇することなく、毛の産生を維持できる。にもかかわらず、年をとると、男女を問わず毛包の数や毛の本数が少なくなり、矮小化（ミニチュア化）した毛包が散見されるようになる。なぜこのようなことが起こるのだろうか。マウスでも加齢による同様の変化が見られる。人では遺伝や環境の影響による個人差が大きいため、純系のC57BL6/Nマウスを用いて同じ飼育環境のもと調べた。

毛包幹細胞の運命を追跡

マウスの毛包は、加齢に伴い一部の毛包から毛包幹細胞の数が減りはじめ、毛包がミニチュア化ようになる。加齢に伴って毛包幹細胞の運命がいかに変化していくのか、Cre-LoxPシステムという方法を用いて、毛包幹細胞を蛍光標識した遺伝子改変マウスを作製し、脱毛へと至るまでの毛包幹細胞の運命と動態を追跡した。通常、毛包幹細胞は、毛包の上部にあるバルジ領域という部位に存在し、成長期になると毛をつくる細胞を産生する。こうしてできた細胞は、毛包の下部に移動して毛の再生に働く。

しかし、年をとったマウスでは、蛍光標識された細胞が、バルジ領域より上側に見られ、さらに、皮膚の表面にまで上がってくる像が見られた。こうしたマウスを調べると、バルジ領域にあった毛包幹細胞は自己複製をしなくなり、毛をつくる細胞を生み出すかわりに表皮の角化細胞に運命を変え、皮膚表面に移動してフケや垢とし

て剥がれ落ちることがわかった。毛包幹細胞の減少にともなって、毛包はミニチュア化して最終的にはなくなってしまふのだ。毛包幹細胞が単に細胞死をしたり、増殖を止めたりするのではなく、角化細胞へと運命を変えて失われるというのは、予想外の結果であった。

幹細胞を中心とした老化プログラムが明らかに

では、なぜ加齢によって毛包幹細胞の運命が変わるのだろうか。ヒントになったのは、普通の人より何倍も早く老化してしまう早老症候群である。例えば、ウェルナー症候群やロスメントムソン症候群などがよく知られているが、DNA損傷をうまく修復できずゲノム不安定性を生じ、若くして脱毛や白髪が起こりやすい。マウスに

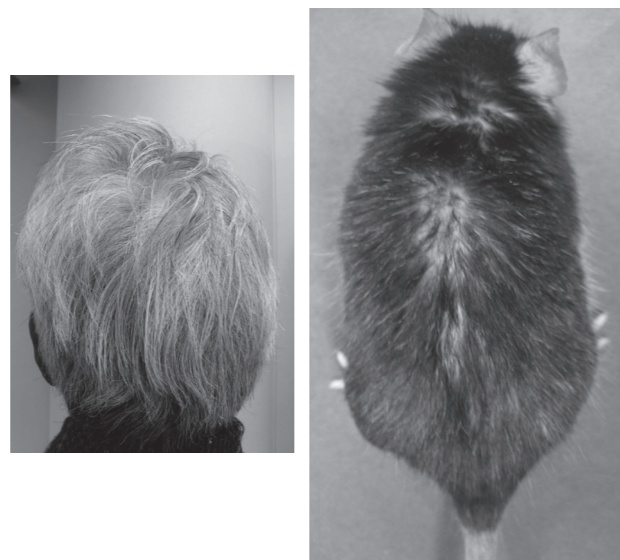


図1 加齢したヒトとマウスに見られるびまん性の脱毛症

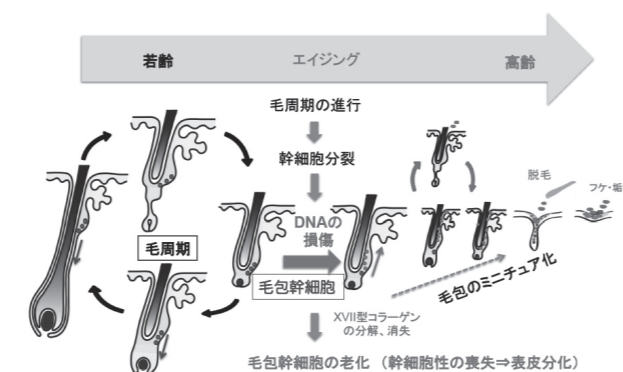


図2 加齢による毛包老化と脱毛の仕組み

おいてもゲノム不安定性を示す早老症候群モデルマウスにおいて、白毛化や脱毛が早発性におこりやすい。そこで、加齢による脱毛も、加齢に伴うDNA損傷応答反応が原因になっているのではないかと考え、マウスで毛包幹細胞のDNA損傷を調べると、若いマウスより加齢したマウスの方が有意にDNA損傷の蓄積が見られた。さらなる解析により、「好中球エラスターゼ」という酵素が毛包幹細胞におけるDNA損傷に反応して誘導され、毛包幹細胞の維持に必須の分子である「17型コラーゲン」を分解していることもわかった。17型コラーゲンが分解されることで、毛包幹細胞から幹細胞性が失われ、表皮角化細胞へと運命を変えていく。そのために毛包が矮小化するのである。こうした現象はヒトの毛包でも確認できた。

老化のメカニズムについては、活性酸素による細胞毒性やテロメア長の短縮、代謝や炎症の関与などさまざまな説があるが、組織や臓器レベルでの老化プログラムが存在することを明らかにしたのは今回が初めてである。他の臓器や組織の加齢変化の理解にもつながるのではないかと期待している。また、中高年に見られる脱毛症の治療薬の開発や、抗がん剤や放射線治療による脱毛症の予防・治療へとつながるよう今後も尽力していきたい。

(幹細胞医学分野 西村栄美)

自己免疫疾患全身性エリテマトーデス(SLE)の発症抑制メカニズムを解明

免疫疾患分野の鐮田武志教授と赤津ちづる特任助教らの研究グループおよび分子構造情報学分野の伊藤暢聡教授と沼本修孝助教らの研究グループは、代表的な自己免疫疾患の1つ全身性エリテマトーデス(SLE)の発症を抑制するメカニズムの解明に成功した。この研究は文部科学省科学研究費補助金の支援のもとでおこなわれたもので、その研究成果は、国際科学誌 The Journal of Experimental Medicine に発表された。

SLEは自己免疫疾患の中では有病率が高く、わが国での患者数は数万人に上る。SLEの発症には、核抗原への自己抗体産生が重要な役割を果たす。主にステロイド剤や免疫抑制剤による治療が行われているが、これらの治療法は免疫の全般的な抑制や代謝の異常などの種々の副作用をきたすため、疾患の病態に則した副作用のない治療法が開発が待ち望まれている。

B細胞をはじめ種々の免疫細胞には核酸を認識して細胞の活性化を誘導する種々の受容体(核酸センサー)が存在する。核酸センサーはウイルスなどの微生物感染の際に微生物由来の核酸を認識し、微生物に対する免疫応

答の誘導に関わる。一方、核酸センサーは自己の核酸を認識し、核抗原への自己抗体産生を介してSLEの発症にも関わる。とりわけRNAを認識するTLR7はSm/RNPを認識して、抗Sm/RNP抗体産生を誘導することでSLE発症において中心的な役割を果たす。

本研究成果では、Bリンパ球に発現する抑制性受容体CD72がSm/RNPに結合し、Bリンパ球がSm/RNPを抗原として認識した際のTLR7依存的な活性化を抑制することで、抗Sm/RNP抗体産生を阻害するし、SLEの発症を防止していることを明らかにした。

TLR7はエンドソームに局在するが、この細胞内局在により自己核酸と病原体核酸を識別する。自己死細胞から漏出した核酸のほとんどは体液中のヌクレアーゼにより分解されるためTLR7には認識されない。一方、病原体の核酸は、病原体の内部に存在するため、細胞に貪食されてエンドソームに移行してはじめて病原体から遊離し、TLR7により認識される。しかし、自己核酸でもSm/RNPのように核酸とタンパク質の複合体はヌクレアーゼに耐性で、エンドソームまで到達してTLR7により認識される。今回の知見は、自己核酸と病原体核酸の識別でこれまでに不明であったヌクレアーゼ耐性自己核酸への応答を抑制するメカニズムを明らかにしたものである。さらに、このメカニズムはSLE発症に関わるヌクレアーゼ耐性自己核酸への応答を抑制するが、感染免疫など他の免疫応答の制御には関わらない。このため、今回明らかになったヌクレアーゼ耐性自己核酸への免疫応答抑制機構は、特異的なSLE治療法の開発の際の良い標的となる。

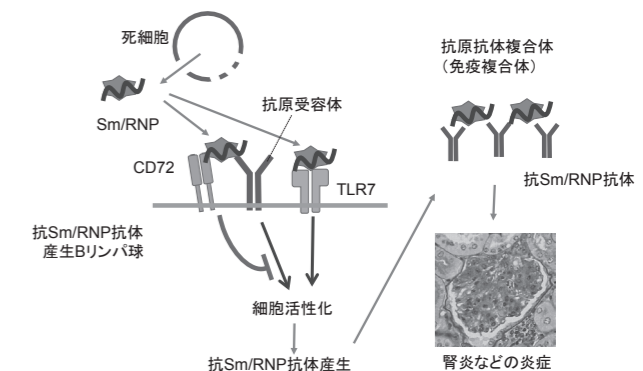


図 CD72分子はSLE発症で重要なSm/RNP自己抗原への免疫応答を特異的に阻害する。死細胞から漏出した核酸タンパク質複合体Sm/RNPは、この複合体への抗体を産生するBリンパ球を刺激して抗Sm/RNP抗体産生を誘導し、抗Sm/RNP抗体は免疫複合体を介してSLEの発症を引き起こす。今回、Bリンパ球に発現する抑制性レセプターCD72がSm/RNPに結合することで、Bリンパ球の抗Sm/RNP抗体産生のみを抑制し、SLEの発症を防止することを明らかにした。

(免疫疾患分野 鐮田武志)

細胞内のタンパク質を分解する新しい仕組み GOMED を発見

Golgi membrane-associated degradation pathway in yeast and mammals. H. Yamaguchi, S. Arakawa, T. Kanaseki, T. Miyatsuka, Y. Fujitani, H. Watada, Y. Tsujimoto, S. Shimizu **EMBO J** 35:1991-2007, 2016

【ポイント】

- 細胞内のタンパク質を分解する機構は、難病との関連があり非常に重要なものの、未解明な点が多く残されています。
- 本研究では、細胞内のタンパク質を分解する新しい仕組み (GOMED と命名) を発見しました。
- この仕組みは、新しいタイプのオートファジーに分類されます。

【研究の背景】

インスリン等のホルモンや種々のサイトカインは、細胞内のゴルジ体から細胞膜に輸送されて分泌されます。この分泌は、様々な内的外的要因によって抑制されることがあります。例えば、血糖値が急に低下すると、膵β細胞内のインスリン分泌が抑制されます (これは、インスリンが分泌し続けると、さらに血糖値が低下することを防ぐための防御反応です)。このように分泌が抑制された時に、細胞の中では、分泌されるべき分子が分解されます。この時に、どのような機構が働いているかは不明でした。

【研究成果の概要】

様々な方法で、ゴルジ体から細胞膜への分泌を阻害したところ、全ての場合に同様のゴルジ体の変形とゴルジ体タンパク質の分解が活性化していることがわかりました。このことから、この現象は、分泌されずに細胞内に貯留したタンパク質を分解するために機能しているものと考えられ、私達はこの新しい機構を Golgi membrane-associated degradation pathway (GOMED) と名付けました。

この GOMED は、酵母細胞だけでなく、哺乳動物細胞でも同様に観察されます。そこで、ゴルジ体を経由して分泌されるタンパク質として有名なインスリンの挙動に、この GOMED が関与するか否かを検討しました。インスリンは、膵臓のインスリン分泌細胞 (β細胞) で合成分泌されますが、低血糖状態になると、インスリン分泌は抑制されます (更なる低血糖を防ぐため)。この時に、β細胞内に貯留したインスリンの一部は、GOMED を介して分解されることを見出しました。即ち、GOMED はインスリンの分泌制御などに関わっている

重要なタンパク質分解機構であることが明らかとなりました。なお、GOMED は私たちが解析を続けている alternative autophagy の 1 重型に属します。

【研究成果の意義】

今回の研究成果から、酵母細胞および動物細胞において、新しい細胞内タンパク質分解システム GOMED の存在が明らかになりました。さらに、生体内では、不要になったインスリンを分解していることがわかりました。

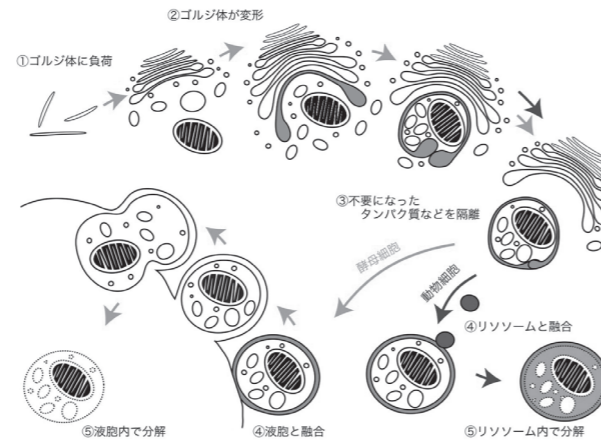


図1 GOMED の模式図

(病態細胞生物学分野 清水重臣)

第15回駿河台国際シンポジウム・第6回難治疾患共同研究拠点シンポジウムの開催

15回目を迎えた駿河台国際シンポジウムは、平成28年11月29日に鈴木章夫記念講堂にて開催されました。今回のテーマは「Current Status and Future of Drug Discovery」で、民間製薬企業を含めた内外の研究機関から講演者を招待して、医学のみならず合成化学、構造生物学、計算生物学といった創薬に関連する様々な研究分野の現状について講演と討論が行われました。

引き続き、文部科学省支援事業である全国共同利用・共同研究拠点「難治疾患共同研究拠点」事業の一環として第6回難治疾患共同研究拠点シンポジウムが開催されました。採択された公募共同研究の中から6つのグループが講演を行い、同事業の成果の一端が披露されました。

講演者と講演タイトルは以下のとおりです(講演順)。

◆第15回駿河台国際シンポジウム

Dr. Masatoshi Hagiwara (Kyoto University Graduate School of Medicine)

“New chemical therapeutics of genetic diseases by manipulating transcriptome.”

Dr. Takeshi Tsubata (Medical Research Institute,

TMDU)

“Development of a novel glycomimetic with unique immunological activity.”

Dr. Hitoshi Okazawa (Medical Research Institute, TMDU)

“Therapeutics development of Alzheimer’s disease targeting on Phase 0.”

Dr. Hiroki Shirai (Bioscience Research Laboratories, Astellas Pharma Inc.)

“Informatics for antibody drug discovery.”

Dr. Harren Jhoti (Astex Pharmaceuticals)

“Fragment-based Drug Discovery - a decade of thinking small.”

Dr. Hirokazu Tamamura (Institute of Biomaterials and Bioengineering, TMDU)

“Mid-sized drugs based on peptide mimetics.”

Dr. Nobutoshi Ito (Medical Research Institute, TMDU) “Influences of drug binding to protein structure and flexibility.”

Dr. Yoshifumi Fukunishi (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology)

“Computer-aided drug design assisted by docking, affinity prediction and synthetic accessibility prediction.”

Dr. J.B. Brown (Kyoto University Graduate School of Medicine)

“Do you really need big data for drug discovery and repurposing? A critical investigation.”

◆第6回難治疾患共同研究拠点シンポジウム

川村 俊輔 研究支援者(難治疾患研究所 生体防御学分野) 「ヒト共通単球前駆細胞の同定」

辻 典子 上級主任研究員 (国立研究開発法人産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門)

「プロバイオティクスによる消化管免疫の活性化」

織田 昌幸 准教授 (京都府立大学大学院生命環境科学研究所)



「各種アダプター分子 SH2 の 1Å 分解能での CD28 結合構造」

木村 太一 特任助教 (北海道大学大学院医学研究科)

「滑膜肉腫幹細胞の同定と制御・維持メカニズムに関わる分子の探索」

榎原 伊織 助教 (愛媛大学プロテオサイエンスセンター) 「アンドロゲンによる骨格筋増強機構」

大澤 匡範 教授 (慶應義塾大学薬学部)

「Gating modifier toxin による電位依存性 K⁺ チャンネル阻害の構造基盤」

(分子構造情報学分野 伊藤暢聡)

各種受賞

テニユアトラック研究室細胞分子医学分野

大石由美子

第39回日本分子生物学会年会 優秀ポスター賞

対象論文名: マクロファージの免疫応答は細胞代謝と連携して制御される

林 晋一郎

第7回 Molecular Cardiovascular Conference II ベストアブストラクト賞

対象論文名: 骨格筋発生における Klf5 の機能解析

分子神経科学分野

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

石田紗恵子

平成28年度学長裁量優秀若手研究者奨励賞

生体防御学分野

川村俊輔

第24回マクロファージ分子細胞生物学国際シンポジウム、若手研究者賞

発表演題名等: Identification of cMoP and bona fide GMP in human umbilical cord blood. Shunsuke Kawamura, Nobuyuki Onai, and Toshiaki Ohteki.

免疫疾患分野

赤津ちづる

平成28年度日本生化学会関東支部例会ポスター賞

演題名「B細胞に発現する抑制性分子 CD72 による自己免疫疾患発症制御メカニズム」

分子細胞遺伝学分野

藤原直人
東京医科歯科大学医科同窓会第 29 回研究奨励賞受賞

Daniela Tiaki Uehara
平成 28 年度学長裁量優秀若手研究者奨励賞受賞

2016 年難治疾患研究所優秀論文賞

最優秀論文賞
松村寛行、毛利泰彰（幹細胞医学分野）
Hair follicle aging is driven by transepidermal elimination of stem cells via COL17A1 proteolysis
Science

赤津ちづる、沼本修孝（免疫疾患分野、分子構造情報学
分野）
CD72 negatively regulates B lymphocyte responses to
the lupus-related endogenous Toll-like receptor 7
ligand Sm/RNP.
The Journal of Experimental Medicine

優秀論文賞
本田真也（病態細胞生物学分野）
Autophagy controls centrosome number by degrading
Cep63.
Nature Communications

梶 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
Stem Cells

山口啓史（病態細胞生物学分野）
Golgi membrane-associated degradation pathway in
yeast and mammals.
The EMBO Journal

川崎佑季（エピジェネティクス分野、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
Nucleic Acids Research

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 日開催）受賞者
大学院生

1 位
Yu Ruoxing（発生再生生物学分野）
The mevalonate pathway regulates primitive streak
formation via protein farnesylation

2 位
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

3 位、難治疾患研究賞
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

萌芽賞
Lian Liu（生体情報薬理学分野）
Genetic risk of atrial fibrillation in a Japanese popula-
tion

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

Medzhidov Nazim（免疫疾患分野）
Distinct Ubiquitination and Sorting of the B cell
Receptor.

若手研究者
1 位
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

特許申請

神経病理学分野
名称：脊髄小脳変性症を予防又は治療するための薬剤
出願人：国立大学法人東京医科歯科大学
発明者：岡澤均
優先権基礎出願（日）：特願 2013-214155(2013/10/11)、
特願 2015-541657
国際出願番号（日）：PCT/JP2014/077258(2014/10/10)
移行国：ヨーロッパ

出願番号：14852695.7
移行日：2016/04/26

生体防御学分野
特願出願番号：2016-080779
出願日：2016 年 4 月 14 日

免疫疾患分野
発明者：熊澤利彦、西村篤寿、浅井紀之、安達貴弘
出願番号：特願 2016-178072
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
出願人：国立大学法人東京医科歯科大学、イチビキ株式
会社
出願日：平成 28 年 9 月 12 日

分子細胞遺伝学分野
〈特許取得 - 海外(US)〉
2016 年 1 月 5 日、特許第 9229003 号、「甲状腺癌の検出
方法」、稲澤譲治・井本逸勢・石原孝也・津田均、国立
大学法人東京医科歯科大学・富士フィルム株式会社、
12/503,434

〈特許取得 - 海外(EP)〉
2016 年 6 月 1 日、特許第 2319938 号、「先天性異常症の

染色体欠失の検出方法」、
・富士フィルム株式会社、09803072.9

2016 年 8 月 24 日、2261370 号、特許「核酸マイクロア
レイの異常スポットを検出する方法」、稲澤譲治・井本
逸勢、国立大学法人東京医科歯科大学・富士フィルム株
式会社、10164051.4

病態細胞生物学分野
発明の名称：ベンゾチオフェン化合物、該化合物を有
効成分とするオルタナティブオートファジー誘導剤及び
抗癌剤、並びに抗癌活性を有する化合物をスクリーニン
グするための方法
出願日：2013/02/07
出願番号：特願 2013-557579
出願人：国立大学法人東京医科歯科大学
発明者：清水重臣、細谷孝充、室橋道子、吉田 優

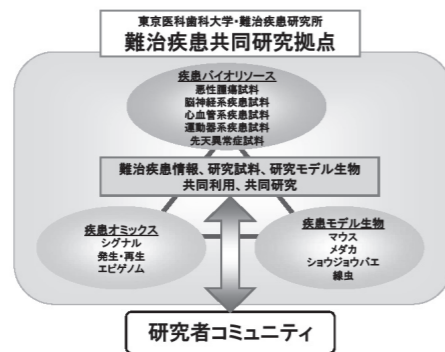
幹細胞医学分野
日本特許出願番号：特願 2015-230477
出願日：2016 年 1 月 12 日
発明の名称：『脱毛および白毛化を抑制もしくは改善
するための組成物ならびにその使用』
発明者：西村栄美、松村寛行
特許出願人：国立大学法人 東京医科歯科大学

難治疾患共同研究拠点

東京医科歯科大学難治疾患研究所は、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 28 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) 仁科 博史 教授(発生再生生物学分野)	異常な細胞の除去を誘導する新たな仕組みの解明に成功	MDCK cells expressing constitutively active Yes-associated protein (YAP) undergo apical extrusion depending on neighboring cell status. <i>Scientific Reports</i> . 2016 Jun 21;6:28383.
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)	「細胞内のタンパク質を分解する新しい仕組み GOMED を発見」— 糖尿病罹患者の血糖調節への関与の可能性 —	Golgi membrane-associated degradation pathway in yeast and mammals. <i>The EMBO Journal</i> . 2016 Sep 15;35(18):1991-2007.
Zhihong Liu 講師(中国医科大学) 鐔田 武志 教授(免疫疾患分野)	「自己免疫疾患全身性エリテマトーデス (SLE) の発症抑制メカニズムの解明」— 副作用のない新規治療法開発に道—	CD72 negatively regulates B lymphocyte responses to the lupus-related endogenous toll-like receptor 7 ligand Sm/RNP. <i>The Journal of Experimental Medicine</i> . 2016 Nov 14;213(12):2691-2706.
真鍋 一郎 教授(千葉大学大学院医学研究院) 大石由美子 准教授(細胞分子医学分野)	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	SREBP1 Contributes to Resolution of Pro-inflammatory TLR4 Signaling by Reprogramming Fatty Acid Metabolism. <i>Cell Metabolism</i> . 2017 Feb 7;25(2):412-427.
宮脇 教史 副センター長(理科学研究所脳科学総合研究センター) 辻 典子 上級主任研究員(産業技術総合研究所) 安達 貴弘 准教授(免疫疾患分野)	食シグナルの生体内での可視化に成功 〜プロバイオティクスによるシグナルを検出〜	Visualization of Probiotic-Mediated Ca ²⁺ Signaling in Intestinal Epithelial Cells In Vivo. <i>Frontiers in Immunology</i> . 2016 Dec 16.

平成 28 年度採択課題

1) 戦略的課題 4 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	メカニカルストレスを利用した抗炎症・抗老化治療法開発の基盤形成
宮脇 教史	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

2) 挑戦的課題 4 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
菅波 孝祥	教授	名古屋大学環境医学研究所	新規動物モデルを用いた代謝性肝細胞癌の治療戦略の開発

3) 一般的課題 55 件

代表者	職名	所属機関	研究題目
小倉 淳郎	室長	理化学研究所バイオリソースセンター	哺乳類初期胚のアレル別発現解析
金児 - 石野知子	教授	東海大学健康科学部	レトロエレメント由来の真獣類特異的遺伝子群の解析
石川 智則	助教	東京医科歯科大学医学系研究科	ヒト体外受精胚培養液の解析
築地 信	准教授	星薬科大学・薬学部	IgM 陽性記憶 B 細胞の機能解析
佐藤 俊朗	特任准教授	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
高橋 恭子	准教授	日本大学生物資源科学部	マクロファージの制御を介した IBD 治療戦略
前田 大地	准教授	秋田大学大学院医学系研究科	間質性膀胱炎のゲノム病理学的検討
末水 洋志	部長	公益財団法人実験動物中央研究所	研究リソースの少ない腫瘍に対するマウス異種移植モデルの確立と性状解析
大澤 光次郎	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幹細胞の運命付け
柏木 太一	助教	東京医科大学	海馬成体神経幹細胞解析基盤を応用したグリオーマ幹細胞発生機構解明
近藤 亨	教授	北海道大学遺伝子病制御研究所	分泌因子 Ecrq4 のマウス胎仔由来の神経幹細胞に対する効果
木村 太一	特任助教	北海道大学大学院医学研究科	滑膜肉腫幹細胞の維持・制御メカニズムの解明と新規治療的探索
片岡 直行	特任准教授	東京大学農学生命科学研究科	低酸素性のがん・神経疾患に特異的な選択的スプライシング機構の解明
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
関田 洋一	准教授	北里大学理学部生物科学科	エピジェネティック編集技術による疾患モデルマウスの作出
片桐 豊雅	教授	徳島大学疾患ゲノム研究センター	日本人女性の乳がん発生リスク予測モデルの構築
相澤 秀紀	教授	広島大学医歯薬保健学研究院	治療抵抗性片頭痛の病態解明へ向けたモデル動物の開発
松井 広	准教授	東北大学大学院医学系研究科	病態脳アストロサイト活動の暴走過程を可視化・制御する方法の開発
伊東 進	教授	昭和薬科大学	TGF-β/Smad シグナル系を制御する分子標的医薬品開発
石谷 太	准教授	九州大学生体防御医学研究所	組織恒常性維持を支える Wnt シグナル制御機構の解析
眞鍋 一郎	教授	千葉大学大学院医学研究院	マクロファージ多様性を制御する動的エピゲノム変動の解析
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
榊原 伊織	助教	愛媛大学プロテオサイエンスセンター	サルコペニアを治療的とした、筋衛星細胞の機能維持におけるアンドロゲン作用の解明
須藤 カツ子	兼任講師	東京医科大学	ヒト臨床に即したモデルマウスによる周産期リスクの仔ゲノムに与える影響の解析
永石 宇司	助教	東京医科歯科大学医学部附属病院	バイオセンサーマウスを用いた IBD モデル発症過程と病態の解析
楠 進	教授	近畿大学医学部	ギラン・バレー症候群で同定された Sinlec10 変異体の機能解析
竹松 弘	准教授	京都大学医学研究科	B 細胞機能制御のための Siglec2/CD22 シスリガンドの役割解明
吉川 宗一郎	助教	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科	カルシウムインディケーター YC3.6 を用いた好塩基球のカルシウムシグナル解析
小野寺 大志	主任研究官	国立感染症研究所	SLE 発症機序における液性免疫記憶とその免疫寛容破綻の関与の解明
辻 典子	上級主任研究員	産業技術総合研究所	食品成分による腸管活性化のバイオイメージングに関する研究
大村谷 昌樹	教授	兵庫医科大学	IPMN 発症過程におけるアポトーシスの役割
廣明 秀一	教授	名古屋大学大学院創薬科学研究科	次世代医薬品開発を志向した創薬標的蛋白質の相互作用の精密解析
織田 昌幸	准教授	京都府立大学大学院生命環境科学研究科	抗原と抗体および CD28 ファミリーとアダプター分子との相互作用解析
岡本 伸彦	主任部長	大阪府立母子保健総合医療センター 遺伝診療科	小脳脳幹部低形成の包括的な病態解析研究
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
市川 大輔	准教授	京都府立医科大学	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
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
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
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ーシス制御機構の解明
大澤 匡範	教授	慶應義塾大学薬学部	心臓イオンチャネルの分子認識機構の構造基盤

代表者	職名	所属機関	研究題目
大木 理恵子	主任研究員	国立がん研究センター研究所	心肥大・心不全における Akt 抑制因子である PHLDA3 遺伝子の機能解析
永森 収志	准教授	大阪大学大学院医学系研究科	網羅的タンパク質間相互作用解析による心筋チャネルバッチー発症機序の解明
湯浅 慎介	講師	慶應義塾大学医学部	動物モデルを用いた筋ジストロフィー治療法の開発
平山 謙二	教授	長崎大学熱帯医学研究所	マラリア感染に関連する HLA 領域ゲノム多様性の探索
山本 健	教授	久留米大学医学部	加齢感受性エペグノムの病的意義の解明
寺尾 知可史	特任助教	京都大学学際融合教育研究推進センター	全ゲノム関連解析を用いた高安静脈炎疾患感受性遺伝子の同定と治療標的の同定
武谷 立	教授	宮崎大学医学部	FHOD3 心筋発現変異の探索と機能的解析
久場 敬司	教授	秋田大学大学院医学系研究科	新規の心機能調節ネットワーク遺伝子群の心不全病態における機能解析
松永 達雄	室長	国立病院機構東京医療センター	耳鳴苦痛度に関連する遺伝的背景の検討
田中 雅嗣	部長	東京都長寿健康医療センター	難治性病態に繋がる老人性疾患のフェノーム相関解析 (PWAS)
金井 正美	教授	東京医科歯科大学実験動物センター	胎生期に造血幹細胞における転写因子 Sox17 の機能解析
越阪部 奈緒美	教授	芝浦工業大学システム理工学部	ポリフェノール化合物による消化管センシングの解明
並木 剛	講師	東京医科歯科大学大学院医学歯学総合研究科	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
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 QT 延長症候群関連遺伝子の探索
常盤 広明	教授	立教大学理学部化学科	Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α (PPAR α) 複合体の構造・熱的解析

4) 国際共同研究 6件

代表者	職名	所属機関	研究題目
Frédéric Relaix	Director Professor	UPEC - Paris Est-Creteil University-INSERM IMRB U955	An evo-devo molecular analysis of conserved and divergent function of Pax3 and Pax7 during development <i>in vivo</i> .
Kinya Otsu	BHF Chair of Cardiology	King's College London	Characterization of a mitophagy receptor, Bcl2-like protein13, a mitophagy receptor.
Mark Bradley	Professor	School of Chemistry, The University of Edinburgh	Development of three-dimensional biomaterials that mimic cancer stem cell (CSC) niche
Jurgen Wienands	Professor	Institute for Cellular and Molecular Immunology, Georg-August University of Goettingen	Analysis of endosomal localization of the BCR and its impact on BCR signalling.
Philipp Yu	Principal Investigator	Institute of Immunology, Philipps-University Marburg	Analysis of the Calcium Signaling capacity of IgE <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i>
Kaur Gurvinder	Senior Scientist	All India Institute of Medical Sciences	Identification of HIV/AIDS-associated human genome diversities in Japanese and Asian Indians

5) 研究集会 2件

代表者	職名	所属機関	研究題目
永森 収志	准教授	大阪大学医学系研究科	「新時代の循環器研究を考える」医工連携国際シンポジウム 2016
中神 啓徳	寄附講座教授	大阪大学大学院医学系研究科	能動免疫療法シンポジウム - 抗体医薬に代わる治療ワクチンの開発研究 -

難治疾患研究所市民公開講座 - 最先端生命科学講座シリーズ

開催日	講師	演題
第15回 / 平成28年6月17日	仁科 博史 教授	メダカに学ぶ再生医療の基礎
	稲澤 譲治 教授	がんの増殖を抑える小さな分子、マイクロ RNA
第16回 / 平成28年10月21日	清水 重臣 教授	体の中のゴミ処理機構とその異常による病気
	鍋田 武志 教授	抗体とお薬
第17回 / 平成29年2月17日	木村 彰方 教授	ゲノムの多様性と医療：組織適合性抗原と移植、自己免疫病、感染症、アレルギー、ワクチンとの関わり
	角田 達彦 教授	ゲノムビッグデータと人工知能による未来の医療

第15回駿河台シンポジウム / 第7回難治疾患共同研究拠点シンポジウム (H28.11.29 開催)

第11回研究所ネットワーク国際シンポジウム (H29.1.26 ~ 27 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15回 (H28.6.17 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16回 (H28.10.21 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17回 (H29.2.17 開催)

「新時代の循環器研究を考える」医工連携国際シンポジウム 2016 (H28.7.11 ~ 13 開催)

能動免疫療法シンポジウム - 抗体医薬に代わる治療ワクチンの開発研究 - (H29.2.22 開催)

トランスオミクス医学研究拠点ネットワーク形成事業

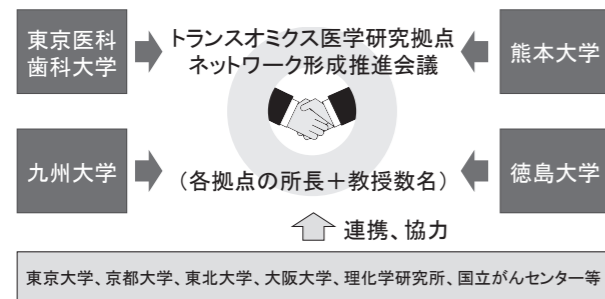
東京医科歯科大学難治疾患研究所は、平成 28 年 4 月より、トランスオミクス研究教育拠点の構築を目指し、文部科学省の支援を受けて九州大学、熊本大学、徳島大学の共同利用・共同研究拠点と協力して「トランスオミクス医学研究拠点ネットワーク形成事業」を推進しています。

【事業の目的】

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

【参加共同利用・共同研究拠点】

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



【平成 28 年度の活動内容】

- ・ネットワーク形成推進会議
 - 第 1 回会議（キックオフ会議）
 - 日時：2016 年 6 月 25 日
 - 場所：九州大学 生体防御医学研究所
 - 第 2 回会議
 - 日時：2016 年 11 月 2 日

■場所：九州大学 病院キャンパス総合研究棟サイエンスカフェ

第 2 回会議（拡大会議）

■日時：2016 年 11 月 2 日

・合同研究シンポジウム

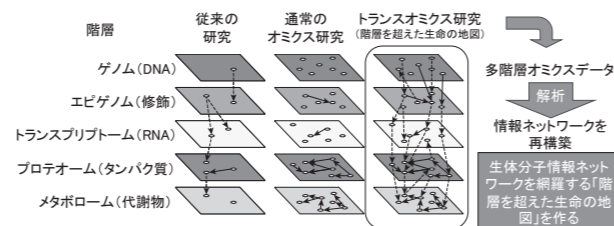
第 1 回シンポジウム 「Trans-Omics: New Approaches in Biology and Medicine」

■日時：2016 年 11 月 2 日～ 3 日

■場所：九州大学 病院キャンパスコラボステーション 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。



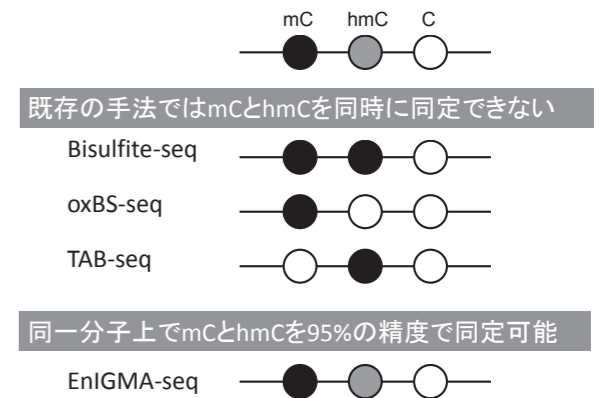
新規エピゲノム解析手法の開発

遺伝子発現調節の要であるエピゲノムの正確な情報の取得はマルチオミクス研究においても重要なレイヤーである。ゲノム DNA のシトシンのメチル化修飾の解析はその大きな柱の一つである。近年メチルシトシン(mC)が Tet 酵素によってヒドロキシメチルシトシン(hmC)に酸化されること、これ能動的脱メチル化過程の重要な中間体であることが明らかにされ、さらに hmC 自身も転写調節に重要な役割を担っている可能性を示唆する報告も増えている。従ってこれからのシトシン修飾解析は、hmC を含めた解析手法に移行する必要がある。しかしながら、これまで 1 塩基解像度で hmC を同定する手法として提案されている oxBS や Tab-seq といった技術では同一分子上で同時に mC と hmC を同定することができない。したがって通常の bisulfite 法の結果と比較することで mC との比を推定することはできるが、直接これら 3 つの修飾状態を解析することはできないため、定量性をはじめとして不十分な点が多かった。

そこで、本研究では mC、hmC、及び非修飾のシトシン (C) を同時に 1 塩基単位で同定する新しい原理に基づく実験法を開発することを目的とし、開発を行った。

維持メチル化酵素である DNMT1 が hemi-mC の逆鎖のシトシンのみをメチル化する特異性を利用し、mC と hmC を区別する手法を考案し、Enzyme-Assisted Identification Genome Modification Assay (EnIGMA) 法と命名した。実際、mC、hmC 及び C を同時に同一分子上で 95%以上という高い正確性で解析可能であることを示した。

Kawasaki Y. *et al.* A novel method for the simultaneous identification of methylcytosine and hydroxymethylcytosine at a single base resolution. *Nucleic Acids Res*(2017)45(4): e24.



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」

生体情報薬理学分野

小泉 章子

「Genetic defects in a His-Purkinje system transcription factor, IRX3, cause lethal cardiac arrhythmias」

杉山 浩一

「Oxidative stress induced ventricular arrhythmia and impairment of cardiac function in Nos1ap deleted mice」

高橋健太郎

「High-fat diet increases vulnerability to atrial arrhythmia by conduction disturbance via miR-27b」

医科学数理分野

宮 冬樹

「次世代シーケンサーを用いた先天性神経疾患原因変異の探索と同定」

(筑波大学大学院 人間総合総合科学研究科 医学系専攻)

神経病理学分野

Ying Mao

「The hnRNP-Htt axis regulates necrotic cell death induced by transcriptional repression through impaired RNA splicing.」

免疫疾患分野

高田俊太郎

「Role of Endosome in B Cell Antigen Receptor Signaling and Activation by Polysaccharide Antigens」

Mohanmmad, Aslam

「Study of the regulation of self-reactive B cells using anti-DNA heavy chain transgenic mice」

唐 森

「Role of Endosomal Reactive Oxygen Species in B Cell Antigen Receptor Signaling」

分子細胞遺伝学分野

Daniela Tiaki Uehara

「SNP array screening of cryptic genomic imbalances in 450 Japanese subjects with intellectual disability and multiple congenital anomalies previously negative for large rearrangements.」

Nuylan Michelle Loyola

「Down-regulation of LAPTM5 in human cancer cells.」

森下 真紀

「Chromothripsis-like chromosomal rearrangements induced by ionizing radiation using proton microbeam irradiation system.」

谷中 淑光

「miR-544a induces epithelial-mesenchymal transition through the activation of WNT signaling pathway in gastric cancer.」

分子疫学分野

サリヤ・デチャメターゲン

「Associations between the CDKN2A/B, ADTRP and PDGFD polymorphisms and the development of coronary atherosclerosis in Japanese patients.」

フロンティア研究室 骨分子薬理学(旧・分子薬理学分野)

川崎真希理

「TGF- β Suppresses Ift88 Expression in Chondrocytic ATDC5 Cells」

幹細胞制御分野

國分 康博

「Induction of protumoral CD11c[high] macrophages by glioma cancer stem cells through GM-CSF」

須藤 元輝

「Increase of GFAP-positive astrocytes in histone demethylase GASC1/KDM4C/JMJD2C hypomorphic mutant mice.」

エピジェネティクス分野

北澤 萌恵

「Severe damage to the placental fetal capillary network causes mid to late fetal lethality and reduction of placental size in Peg11/Rtl1 KO mice.」

難研セミナー

平成 27 年度大学院生研究発表会・若手研究者研究発表会

平成 28 年 3 月 3 日

高橋 寛吉 (分子細胞遺伝学分野)

オートファジー阻害による急性リンパ性白血病の新たな治療戦略の確立

虞 若星 (発生再生生物学分野)

A Modified Murine Embryonic Stem Cell Test for Evaluating the Teratogenic Effects of Drugs on Early Embryogenesis

千葉 恭敬 (発生再生生物学分野)

活性型 YAP 誘導性細胞競合現象の解析

Aslam MOHAMMAD (免疫疾患分野)

Study of the regulation of self-reactive B cells using anti-DNA heavy chain transgenic mice

高橋 健太郎 (生体情報薬理学分野)

High-Fat Diet Increases Vulnerability to Atrial Arrhythmia by Conduction Disturbance via miR-27b

Daniela Tiaki Uehara (分子細胞遺伝学分野)

SNP array screening of copy number variants in 450 Japanese subjects with intellectual disability (ID) and multiple congenital anomalies (MCA) unveiling rare small variants

杉山 浩二 (生体情報薬理学分野)

Oxidative Stress Induced Ventricular Arrhythmia and Impairment of Cardiac Function in Nos1ap Deleted Mice

王 文茜 (幹細胞制御分野)

Iron-dependent decrease of intracellular protoporphyrin IX in glioma stem cells (GSCs): implications for GSC detection and elimination

毛利 泰彰 (幹細胞医学分野)

ニッチ由来の因子がストレス下にある色素幹細胞の運命を制御する

平成 26 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 28 年 3 月 3 日

佐藤 憲子 (分子疫学分野)

胎生期環境ストレスが痕跡的に Hsp90-Hsp70 分子シャペロン活性に与える影響の解析

相田 知海 (分子神経科学分野)

【代理講演：杉山 香織】

弧発性 ALS の細胞死機序

中山 恒 (フロンティア研究室 (低酸素生物学))

難治性トリプルネガティブ乳癌における微小環境構築機構の解明

高岡 美帆 (分子遺伝学分野)

遺伝性乳がん原因遺伝子産物 BRCA2 タンパクの分裂期染色体における役割

林 晋一郎 (テニュアトラック研究室細胞分子医学)

サルコペニアの原因となる加齢に伴う骨格筋幹細胞の恒常性破綻分子機構の解明

村松 智輝 (分子細胞遺伝学分野)

新規がん治療標的として見出した hypusine 経路の被翻訳遺伝子の探索

李 知英 (エピジェネティクス分野)

ゲノムインプリンティング記憶消去における DNA 脱メチル化機構の解明

平成 27 年度難治疾患研究所優秀論文賞受賞者講演会

平成 28 年 3 月 3 日

相田 知海 (分子神経科学分野)

Cloning-free CRISPR/Cas system facilitates functional cassette knock-in in mice

小泉 章子 (生体情報薬理学分野)

Genetic defects in a His-Purkinje system transcription factor, IRX3, Cause lethal cardiac arrhythmias

入江 将仁 (エピジェネティクス分野)

Cognitive Function Related to the Sirh11/Zcchc16 Gene Acquired from an

LTR Retrotransposon in Eutherians

藤原 直人 (分子細胞遺伝学分野)

miR-634 Activates the Mitochondrial Apoptosis Pathway and Enhances Chemotherapy-Induced Cytotoxicity

難研セミナー／難治疾患共同研究拠点セミナー

第 547 回／第 120 回

Robert Feil

(Institute of Molecular Genetics(IGMM),

University of Montpellier, Montpellier, France)

Epigenetic mechanisms in mammalian genomic imprinting

平成 28 年 5 月 13 日

第 548 回／第 121 回

成田 匡志

(University of Cambridge, Cancer Research UK Cambridge Institute, Senior Group Leader)

Cell-cell communication in cellular senescence

平成 28 年 7 月 12 日

第 549 回／第 122 回

Manfred Kopf

(ETH Zurich Inst. f. Molecular Health Sciences Professor)

Redox biology of T cell responses

平成 28 年 7 月 19 日

第 550 回／第 123 回

野島 孝之

(Sir William Dunn School of Pathology, University of Oxford, UK)

Catch RNA polymerase II in act; Genome-wide analysis of nascent RNA in mammalian cells.

平成 28 年 7 月 25 日

第 551 回／第 124 回

Frederic Relaix

(フランス UPEC-Paris Est-Creteil University-

INSERM IMRB U955)

Molecular and cellular mechanisms regulating satellite cell quiescence and growth arrest

平成 28 年 11 月 10 日

第 552 回／第 125 回

柳 茂

(東京薬科大学生命科学部分子生化学研究室 教授)

ミトコンドリアダイナミクスの破綻と老化疾患

平成 28 年 11 月 8 日

第 553 回／第 126 回

Robert Gifford

(MRC-University of Glasgow Centre for Virus Research, Senior Research Fellow)

Using endogenous retroviral (ERV) fossils data to explore the co-evolutionary relationships of retroviruses and vertebrates

平成 28 年 10 月 27 日

第 554 回／第 127 回

Yann Barrandon

(スイス連邦工科大学ローザンヌ校)

Crossing Fate Boundaries: From Thymus to Skin

平成 28 年 11 月 17 日

第 555 回／第 128 回

金山 剛士

(デューク大学医学部 免疫学講座)

真菌感染症における自然免疫恒常の維持機構

平成 29 年 1 月 13 日

第 556 回／第 129 回

沖 真弥

(九州大学大学院医学研究院 発生再生医学分野 助教)

公共 ChIP-seq データの網羅的かつ統合的な解析

平成 29 年 3 月 17 日

第 557 回／第 130 回

Narinder K. Mehra

(All India Institute of Medical Sciences (全インド医科学研究所))

Phylogenetic analysis of promoter regions of HLA class I genes: relevance in genetics of HIV infection

平成 29 年 2 月 27 日

第 558 回／第 131 回

Philipp Yu

(Philipps-Universitat Marburg Germany)

IgE Regulation: Then and Now

平成 29 年 3 月 30 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

- 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。
- WNK シグナル伝達経路が Lhx8 遺伝子の発現を介して神経分化に関与することを示した。

分子神経科学

- MMEJ 活性を亢進させることによるノックインマウス作成の効率化。
- 脊髄小脳変性症 5 型モデルマウスの後部ブルキンエ細胞の変性はグルタミン酸輸送体 GLAST の欠損により悪化する。

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。
- 炎症性腸疾患誘導性マクロファージ亜集団を同定し、同細胞の分化機構を解明した。

生体情報薬理学

- 疾患ヒト iPS 細胞から分化した心筋細胞を用いてブルガダ症候群の病態発現機構を明らかにした。
- 日本人心房細動患者の遺伝的リスクを解析し、ゲノムリスクスコアを算出した。
- 突然死関連遺伝子として同定された Nos1ap が酸化ストレスを介して不整脈発現に関与することを明らかにした。

幹細胞制御

- 神経発達症群に類する行動異常を示すヒストン脱メチル化酵素遺伝子低発現変異マウスの 2.5 ヶ月齢の脳におけるスパイン密度の増加を見出した。
- 胎生中期の造血の場である AGM 領域において造血幹細胞を包含する細胞塊の維持に寄与し転写因子 Sox17 による発現制御を受ける接着分子の関与を示唆した。
- C6 グリオーマの癌幹細胞集団が、術中診断薬 5-アミノレプリン酸による検出を免れる特性を持つことを発見し、さらに鉄キレート剤によるその回避方法を見出した。

分子構造情報学

- B細胞抑制性因子 CD72 の結晶構造を明らかにし、自己抗原との反応について相互作用部位についての知見を得た。
- ハンチントン病の治療薬シーズの探索を目的に、特定の低分子化合物が原因タンパク質の凝集速度に与える影響を明らかにした。

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

ツメガエルを用いた canonical Wnt シグナル伝達経路の解析

Wnt シグナル伝達経路は種々の生物において高度に保存されたシグナル伝達経路であり、ガンや胚発生において重要な役割を担っている。Wnt シグナル伝達経路はその作用機序から3つに分類される。(1) β -catenin/TCF を介した転写活性化経路 (canonical)、(2)カルシウム流入を介したシグナル経路 (non-canonical)、(3) Rho, JNK を介し、細胞極性に関わる PCP 経路 (non-canonical)。canonical Wnt シグナル伝達経路は、リガンドである Wnt と膜タンパク質である Frizzled 及び LRP との結合により誘起される。定常状態において APC/Axin/GSK-3 β 複合体の存在下で、CK1、GSK-3 β により β -catenin はリン酸化され、その後ユビキチン化され、プロテアソームにおいて分解される。一方、Wnt 刺激は DVL を介して、この β -catenin を分解する働きを有する APC/Axin/GSK-3 β 複合体を不活化する。その結果、蓄積した細胞質中の β -catenin は核内へ移行し、転写因子 Tcf や c-jun と結合し、Wnt の下流 (標的) 遺伝子の転写を活性化する。

ツメガエルの胚発生では、canonical Wnt シグナル伝達は初期胚の背腹運命の決定など重要な役割を有しており、原腸胚期の背側における canonical Wnt シグナルの活性化が背側組織を誘導する Wnt 標的遺伝子 (*Xnr3*, *Siamois*, *Xtwn* など) の転写を活性化する、また、発生

後期の神経胚期では頭部での canonical Wnt シグナル伝達の抑制が頭部形成に必要となる。このようにツメガエル胚は canonical Wnt シグナル伝達の解析に適したモデル動物である。

これまでに canonical Wnt シグナル伝達経路における β -catenin の核内移行に関して、足場タンパク質である IQGAP1 が Importin- β 5 と Ran との共作用により、DVL2/IQGAP1/ β -catenin が複合体を形成し、 β -catenin の核内移行を促進することで、IQGAP1 が canonical Wnt シグナル伝達に正に作用することを明らかにしてきた。

最近我々は canonical Wnt シグナル伝達経路における β -catenin の分解機構を解明することを目的とし、 β -catenin の分解複合体を形成するタンパク質の一つである Axin1 に結合するタンパク質の単離を試み、質量分析計解析 (LC-MS/MS) を行った。その結果、Axin1 と結合するタンパク質として WDR26 を同定した (図 1A、培養細胞を用いた WDR26 による Axin1 の免疫沈降)。WDR26 はタンパク質間の相互作用に関する LisH、CTLH、WD40 Repeat-ドメインを有し、複数のタンパク質との結合が予測されるタンパク質である。さて、出芽酵母において、9つの glucose-induced degradation-deficient (GID) が単離されており、GID6を除いた GID 複合体を形成し、ポリユビキチン化酵素として機能している。脊椎動物における GID 遺伝子のホモログ遺伝子は以下の通りである。GID1/RanBP9; GID2/Rmnd5; GID3/UBE2H; GID4/C17ors39; GID5/ARMC8; GID7/WDR26; GID8/TWA1; GID9/MAEA。したがって、WDR26 がタンパク質の分解に関与していることが推測されるが、脊椎動物での分解機能に関する知見はまだ報告されていない。

以上のような背景から、我々は WDR26 を介した β -catenin の分解機構の解析を進め、下記のような知見を得ることができた。

1. WDR26 は LisH-ドメインを介して Axin1 と結合していることが明らかとなった。また、Axin1 は GSK-3 β 結合ドメインを含むタンパク質の中央部分で WDR26 と

結合することが明らかとなった。

2. ツメガエルにおける WDR26 の発現は初期神経胚期以後に頭部に局在することが分かった (図 1A、ツメガエルの Whole mount *in situ* hybridization)。

3. ツメガエル胚において、WDR26 のモルフォリノオリゴ (xWDR26-MO) のマイクロインジェクションによる頭部領域でのノックダウンにより、頭部形成不全が確認できた (図 1B、ツメガエルの xWDR26-MO のインジェクション胚、尾芽胚期)。これは WDR26 のノックダウンにより頭部領域での canonical Wnt シグナル伝達が抑制されていないことを示唆する。

4. ツメガエルの原腸胚期に背側で発現する Wnt 標的遺伝子は *Xwnt-8* の mRNA の腹側への発現によって誘導される。*Xwnt-8* により腹側に誘導された Wnt 標的遺伝子は WDR26 の発現により減少し、WDR26 のノックダウン (xWDR26-MO) により増加することが分かった。これは WDR26 が canonical Wnt シグナル伝達を負

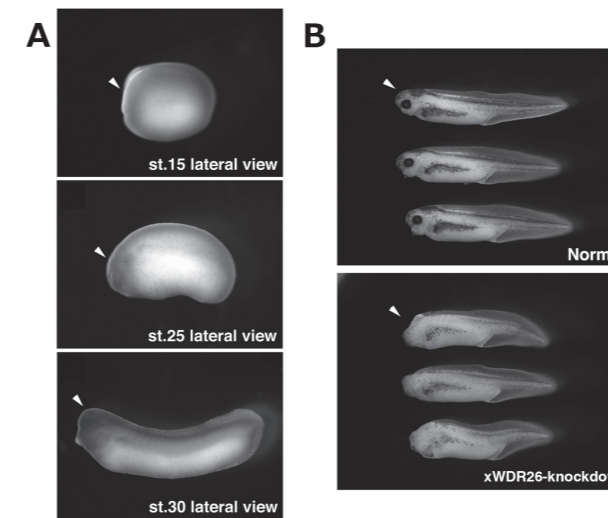


図 1

業績目録

1. Fukuzono, T., Pastuhov, S. Iv., Fukushima, O., Li, C., Hattori, A., Iemura, S., Natsume, T., Shibuya, H., Hanafusa, H., Matsumoto, K. and Hisamoto, N. (2016). Chaperone complex BAG2-HSC70 regulates localization of *Caenorhabditis elegans* leucine-rich

repeat kinase LRK-1 to the Golgi. *Genes Cells* 21, 311-324.

2. Kii, I., Sumida, Y., Goto, T., Sonamoto, R., Okuno, Y., Yoshida, S., Kato-Sumida, T., Koike, Y., Abe, M., Nonaka, Y., Ikura, T., Ito, N., Shibuya, H., Hosoya, T. and Hagiwara, M. (2016). Selective inhibition of the kinase DYRK1A by

に制御することを示唆する。

5. 培養細胞系の解析において、WDR26 の発現により β -catenin のタンパク質は分解され、siRNA による WDR26 のノックダウンにより β -catenin のタンパク質は安定化することが分かった。

6. WDR26 は β -catenin とは直接結合しないことから、Axin1 を介して β -catenin の分解に関わっていることが示唆された。このことは Axin1 との結合ドメインを欠損した WDR26-delta-LisH のコンストラクトではツメガエルの Wnt 標的遺伝子の発現抑制が確認できず、また、培養細胞系の解析により、WDR26-delta-LisH では β -catenin の分解が起らなかったことから示唆された。

7. 培養細胞系の解析において、WDR26 は Axin1 との共作用によって β -catenin のユビキチン化を促進していることが明らかになった。

以上の結果より、WDR26 と Axin1 の相互作用により β -catenin が分解されることを明らかとし、canonical Wnt シグナル伝達経路での新たな作用機序が示唆された (図 2)。

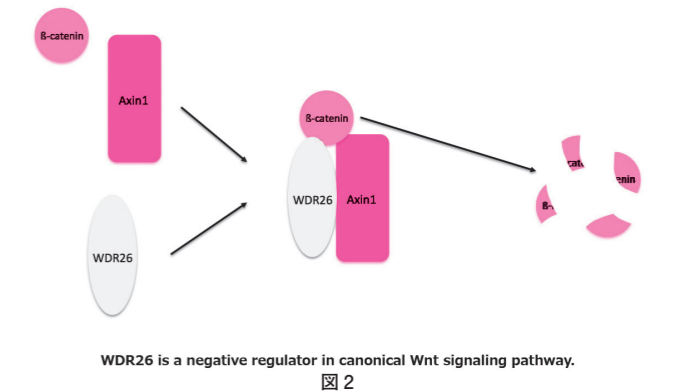


図 2

targeting its folding process. *Nat Commun.* 22, 11391.

3. Goto, T., Matsuzawa, J., Iemura, S., Natsume, T. and Shibuya, H. (2016). WDR26 is a new partner of Axin1 in the canonical Wnt signaling pathway. *FEBS Lett.* 590, 1291-1303.

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（2016年5月1日～）

研究内容

概略

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

研究紹介

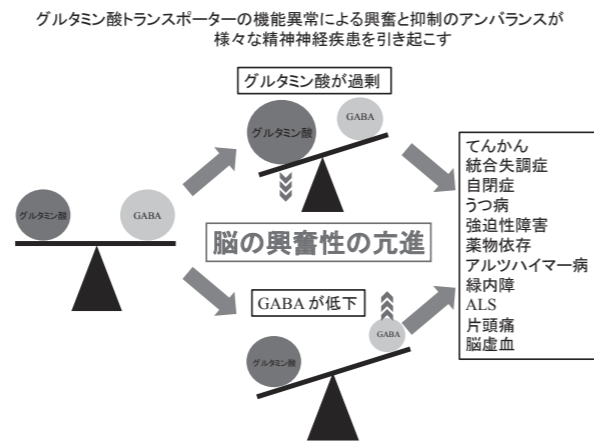
1. グルタミン酸トランスポーターの脳機能における役割

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

グルタミン酸トランスポーターは、神経終末から放出されたグルタミン酸を取り込み、神経伝達物質としての作用を終わらせ、細胞外グルタミン酸濃度を低く保つ機能的分子である。現在まで脳のグルタミン酸トランスポーターには、グリア型2種類（GLT1, GLAST）と神経型2種類（EAAC1, EAAT4）の計4種類のサブタイプが知られている。

小脳プルキンエ細胞は、グルタミン酸の興奮毒性に脆弱であることが知られている。また、プルキンエ細胞が変性する脊髄小脳変性症のモデル動物においてGLASTあるいはEAAT4の発現が減少することが報告されている。GLASTは小脳のバークマングリア、EAAT4は小脳のプルキンエ細胞に局在するグルタミン酸トランスポーターである。本年度は、脊髄小脳変性症5型(SCA5)モデルマウスとEAAT4欠損マウス・GLAST欠損マウスを交配し、表現型に及ぼす影響を解析することにより、

GLAST及びEAAT4のSCA5における役割を明らかにした。SCA5モデルにおける初期のプルキンエ細胞の変性にはEAAT4が、後期のプルキンエ細胞の変性にはGLASTが重要な役割を果たすことを明らかにした(Perkins et al., 2016)。また、geranylgeranylacetone (GGA)が、HSP70の発現を上昇させることにより、GLAST欠損マウスで見られる網膜神経節細胞の変性を抑制することを見つけた(Dong et al., 2016)。



2. ゲノム編集を用いた遺伝子改変技術の開発

遺伝子改変動物、中でも特定の遺伝子を働かなくしたノックアウトマウスや、ヒト疾患の遺伝子変異あるいは蛍光タンパク質等の機能分子を挿入したノックインマウスは、医学生物学発展の原動力となってきた。従来このような遺伝子改変マウスを作製するためには、ES細胞を用いて、少なくとも1年以上の期間、数百万円以上の費用をかけた複雑な作業が必要であった。この状況は、どのような生物のどのような遺伝子配列も自在に改変可能なゲノム編集技術の登場により一変した。我々は以前からマウス受精卵内で直接遺伝子改変を行う、in vivoゲノム編集の開発を進めて来た。本年度は、昨年度開発したクローニングフリーCRISPR/Cas9システムに、以下の2つの改良を加えた。

A. PITCh法によるドナーベクター作成の簡便化

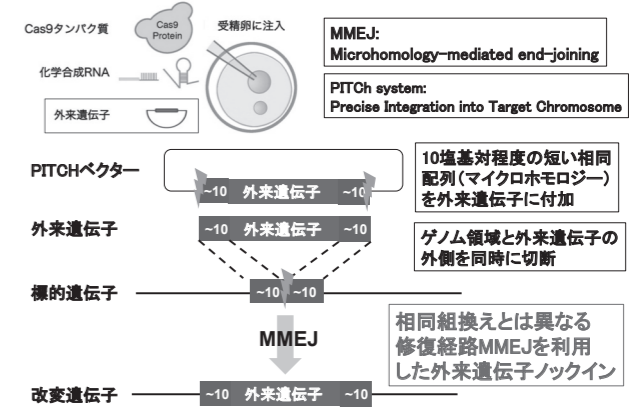
PITCh (Precise Integration into Target Chromosomes)法は、相同組換えやNHEJ (non-homologous end joining) と異なるDNA二本鎖切断の修復機構であるマイクロホモロジー媒介末端結合 (microhomology

mediated end-joining; MMEJ) を利用した外来遺伝子のノックイン法である。従来の相同組換えを利用した遺伝子挿入法では、挿入効率を上げるため外来遺伝子の両側に500～1000塩基対の相同配列を付加したドナーベクターを作成する必要があった。しかし、PITCh法では相同配列の長さが約20塩基対でよく、ドナーベクターの作成を簡便化できる。PITCh法で作成したドナーベクターを使い、クローニングフリーCRISPR/Cas9システムを用いノックインマウスの作成に成功した。

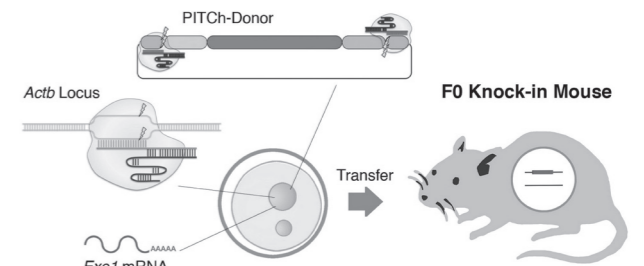
B. MMEJの効率を増加させる遺伝子 exonuclease 1 (Exo1) の同定とそれを用いたノックインマウス作成の高効率化

In vitroのスクリーニングによりMMEJの効率を高める遺伝子としてExo1を同定した。PITCh法で作成したドナーベクターを使い、クローニングフリーCRISPR/Cas9システムを用いノックインマウスを作成する際に、Exo1のmRNAを同時に受精卵に注入することにより、ノックインマウスの作成効率が3倍に増加した。本成果は、ドナーベクターの作成を簡便化し、遺伝子改変マウス特にノックインマウスの作製をより高効率化した。

ゲノム編集とMMEJを用いた外来遺伝子ノックイン



Exo1遺伝子によるPITCh法の効率化



人事異動

転入：石田紗恵子（助教）、平岡優一（助教）、半田剛久（博士課程）、瀧川遥、小川恕（修士課程）

転出：なし

業績目録

発表論文

- Aida, T., Nakade, S., Sakuma, T., Ishikubo, H., Usami, T., Aizawa, H., Yamamoto, T., Tanaka, K. Gene cassette knock-in in mammalian cells and zygotes by enhanced MMEJ. *BMC Genomics* 17:979, 2016.
- Dong, Z., Shinmei, Y., Dong, Y., Inafuku, S., Fukuhara, J., Ando, R., Kitaichi, N., Kanda, A., Tanaka, K., Noda, K., Harada, T., Chin, S., Ishida, S. Effect of geranylgeranylacetone on the protection of retinal ganglion cells in a mouse model of normal tension glaucoma. *Heliyon* 2. e00191,

- Perkins, EM., Suminaite, D., Clarkson, YL., Lee, SK., Lydon, AR., Rothstein, JD., Wyllie, DJ., Tanaka, K., Jackson, M. Posterior cerebellar Purkinje cells in an SCA5/SPARCA1 mouse models are especially vulnerable to the synergistic effect of loss of β -III spectrin and GLAST. *Hum Mol Genet* 25. 4448-44461, 2016.
- Marsan, E., Ishida, S., Schramm, A., Weckhuysen, S., Muraca, G., Lecas, S., Liang, N., Treins, C., Pende, M., Roussel, D., Le Van Quyen, M., Mashimo, T., Kaneko, T., Yamamoto, T., Sakuma, T., Mahon, S., Miles, R., Leguern, E., Charpier, S., Baulac, S. Depdc5 knockout rat: A novel model of mTORopathy. *Neurobiol Dis* 89. 180-189, 2016.

総説

- 相田知海, 田中光一 CRISPR/Cas でマウスゲノムを自在に操る 生化学 88, 119-123 2016
- 田中光一: グルタミン酸輸送体機能障害と精神疾患、日本臨床、74、163-173, 2016

研究費

- 石田紗恵子: Depdc5 コンディショナルノックアウトマウスを用いた神経精神疾患発症機序の解明 文部科学省科学研究費補助金、研究活動スタート支援 代表
- 石田紗恵子: 新規てんかん・精神疾患原因遺伝子、DEPDC5 障害による病態発症機序の解明 学長裁量優秀若手研究者奨励賞 代表
- 相田知海: 超高速ノックインシステムの開発 文部科学省科学研究費補助金・基盤研究 (C) 代表
- 田中光一: 霊長類ノックイン技術の開発 大学共同利用機関法人自然科学研究機構委託費 代表
- 田中光一: アストロサイトによる体温調節機序の解明 文部科学省科学研究費補助金、新学術領域研究・公募研究 代表
- 田中光一: アストロサイトの多様性の分子基盤解明 文部省科学研究費補助金、基盤研究 (B) 代表

先端分子医学研究部門 生体防御学分野

教授: 樺木俊聡 講師: 小内伸幸 (12/14 まで、12/15 ~非常勤講師 (金沢医科大学教授))
 非常勤講師 (さきがけ専任研究員): 佐藤 卓 (1/15 まで、1/16 ~講師)
 難病基盤・応用研究プロジェクト室助教: 中西祐輔
 プロジェクト助教: 浅野純平、梶田美穂子 SONY 特別研究員: 中村友彦
 研究支援員: 川村俊輔 技術補佐員: 黒田聖子、始関紀彰、中村瑠美子
 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発見

1968年、Ralph van Furth, Zanvil A. Cohnにより、単球とマクロファージをまとめて単核球系貪食細胞 (Mononuclear Phagocyte) と呼ぶことが提唱された。1973年、Ralph M. Steinman, Zanvil A. Cohnによって樹状細胞 (Dendritic Cell, DC) が同定されたことに伴い、DCも単核球系貪食細胞に分類され現在に至っている。今日、マクロファージ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、さらにはがん組織形成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りつつある (図1)。一方、DCは、感染など緊急時における免疫応答の発動のみならず、免疫寛容の誘導維持に必要な不可欠な細胞とされている。

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の同定に成功した (論文投稿中、特許申請済)。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 (図2)。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。

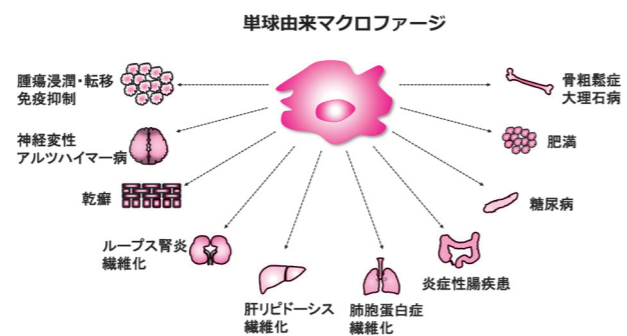


図1 単球由来マクロファージの疾患関与

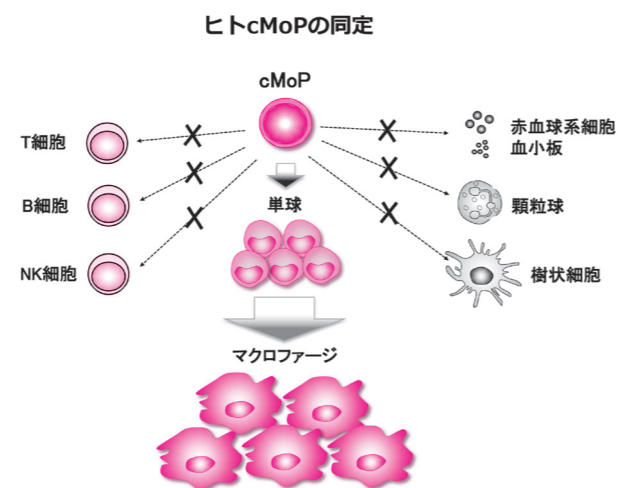


図2 ヒトcMoPは単球・マクロファージだけを産み出し、他の細胞へは分化しない

2) 炎症性腸疾患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 \rightarrow 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 (論文投稿中)。

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おり、詳細な分子基盤を追求中である。

3. 他施設共同研究

理化学研究所との共同研究として、腸マイクロビーム解析を行った。例えば、腸上皮特異的にIFNシグナルが過剰に入るマウスでは腸幹細胞性が低下するが、同マウスの腸内常在菌叢は正常であることから、腸幹細胞性の低下は腸内常在菌叢とは無関係に誘導されていることが明らかとなった (投稿準備中)。

人事異動

金沢医科大学免疫学講座教授 (平成28年12月15日付)、小内伸幸

業績目録

原著

1. Yokoi T, Yokoi K, Akiyama K, Higuchi T, Shimada Y, Kobayashi H, Sato T, Ohteki T, Otsu

M, Nakauchi H, Ida H and Ohashi T. Non-myeloablative preconditioning with ACK2 (anti-c-Kit antibody) is efficient in bone marrow transplantation for murine models of mucopolysaccharidosis type II. *Mol Genet Metab* 119, 232-8 (2016).

2. Onai N, Ohteki T. Isolation of dendritic cell progenitor and bone marrow progenitor cells from mouse. *Methods Mol Biol* 1423, 53-9 (2016).

3. Liu J, Guo YM, Onai N, Ohayagi H, Hirokawa M, Takahashi N, Tagawa H, Ubukawa K, Kobayashi I, Tezuka H, Minamiya Y, Ohteki T

and Sawada K. Cytosine-phosphorothionate-guanine oligodeoxynucleotides exacerbates hemophagocytosis by inducing tumor necrosis factor- α production in mice after bone marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 22, 627-36 (2016).

受賞

第24回マクロファージ分子細胞生物学国際シンポジウム若手研究者賞、川村俊輔 (研究支援員)

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：黒川洵子（2015年10月まで）、竹内 純（2015年11月から）
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

心房細動の全ゲノム相関解析（GWAS）で、第2期GWAS（610K SNPsを対象）で同定された13の心房細動関連SNPsを用いて、心房細動発症予測のweighed Genetic Risk Score（GRS）を算出し、すべてのSNPsを複合して得られたオッズ比が5.58、感度・特異度がそれぞれ60%、61%であった（Can. Heart J. 2017 [in press]; J. Cardiol. 2017 [in press]）。第3期GWASでは1,000K SNPsを対象とした解析を行い、合計16の心房細動感受性SNPsが同定され、すべてのSNPsを複合して得られたオッズ比は7であった（Nat. Genet. in press）。

ハイライト

心臓誘導と心臓再生メカニズムの研究

ヒトiPS細胞を含めた多様性幹細胞からの心筋分化技術は年々向上している（森田ら2016）。しかしながら、ヒトiPS細胞から分化させた心筋は長期的な培養を要しても、成熟し安定に拍動した分化心筋の樹立は容易ではなく、生理学的解析・創薬研究が難しいとされている。我々はこの課題点を解消する技術として、先行研究で独自に樹立した2つの既存技術を融合したデバイス（サイトカイン無添加心筋誘導法+神経接続法）を作製し、長期間安定的な拍動心筋を開発した（Morita et al., *JMCC* 2016 [表紙]; Morita et al., 論文投稿中）（図1）。この技術開発は後天性心疾患発症原因解明及び心臓再生へのアプローチの一つとなり得る（Nakamura et al., *Develop. Growth. Differ.* 2016）。後天的疾患として心筋梗塞—心不全による死

2. Pannexinの研究

Pannexinは、ギャップ結合チャネルファミリーの一員で、細胞間でギャップ結合チャネルを形成することはなく、細胞表面でヘミチャネルとして存在し、ATP放出チャネルとして機能する。心臓では、心筋梗塞を発症する前に虚血発作（狭心症）を認める場合は梗塞範囲が小さくて済むことが知られており、虚血プレコンディショニング ischemic preconditioning と呼ばれる。これには細胞外ATPが重要であることが知られているが、このATPの起源は不明であった。Pannexin KOマウスでは虚血によりATPが放出されず、虚血プレコンディショニングかからないことから、pannexinがATPのソースであることが明らかとなった（論文投稿中）。

3. ヒトiPS細胞由来心筋細胞と計算科学を用いた心毒性評価系の開発

薬物性不整脈に関するICH非臨床安全性試験に、ヒトiPS細胞由来心筋細胞を利用していくという流れが整いつつある。その流れの中で、計算科学的方法（in silico）を用いることで、in vitroアッセイ法による心毒性評価法の予測精度を向上するための研究を行っている。

亡率は16%（第2位）であるが、男女間での発症率は2倍以上の差が見受けられる。我々は、ゲノムワイドな解析を用いてヒト成人男女間における心不全発症にはエピゲノムの発現量・レスポンス能の差がある結果を見出した（Tsuji et al., *PLOS ONE revised* 2017; Hori et al., *BMC Genomics submitted* 2017）。

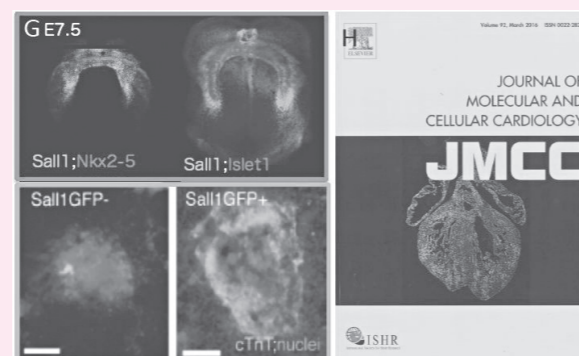


図1 新たな心臓未分化細胞：Sall1陽性細胞

ヒトiPS細胞由来心筋モデル構築を目指して、国立医薬品食品衛生研究所関野祐子博士、諫田泰成博士、滋賀医科大学芦原貴司博士、大阪大学医学部永森收志博士、古谷和

春博士と共同でと共同で、ヒトiPS細胞由来心筋細胞を用いた心毒性評価システムの構築とその検証を行っている（論文投稿中）。

人事異動

転入：竹内純（准教授）、石井 修平（修士課程）
転出：黒川洵子（静岡県立大学薬学部教授）、伊藤 紗季（修士課程）、林英里奈（修士課程）

業績目録

原著論文

1. Yoshioka S, Usami T, Kikuta J, Ishii M, Sasano T, Sugiyama K, Furukawa T, Nakasho E, Takayanagi H, Tedder T, Karasuyama H, Kiyawami A, Adachi T. Intravital imaging of Ca²⁺ signals in lymphocytes of Ca²⁺ biosensor transgenic mice: indication of autoimmune diseases before the pathological onset. *Sci. Rep.* 2016;18738.
2. Takahashi K, Sasano T, Sugiyama K, Kurokawa J, Tamura N, Soejima Y, Sawabe M, Isobe M, Furukawa T. High-fat diet increases vulnerability to atrial arrhythmia by conduction disturbance via miR-27b. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2016;90:38-46.
3. Sugiyama K, Sasano T, Kurokawa J, Takahashi K, Okamura T, Kato N, Isobe M, Furukawa T. Oxidative stress induced ventricular arrhythmia and impairment of cardiac func-

- tion in Nos1ap deleted mice. *Intern. Heart J.* 2016;57(3):341-349.
4. Koizumi A, Sasano T, Kimura W, Miyamoto Y, Aiba T, Ishikawa T, Nogami A, Fukamizu S, Sakurada H, Takahashi Y, Nakamura H, Ishikura T, Koseki H, Arimura T, Kimura A, Hirao K, Isobe M, Shimizu W, Miura N, Furukawa T. Genetic defects in a His-Purkinje system transcription factor, IRX3, cause lethal cardiac arrhythmias. *Eur. Heart J.* 2016;37(18):1469-1475.
 5. Lopez-Redondo F, Kurokawa J, Nomura F, Kaneko T, Hamada T, Furukawa T, Yasuda K. A distribution analysis of action potential parameters obtained from patch-clamped human stem cell-derived cardiomyocytes. *J. Pharmacol. Sci.* 2016;131(2):141-145.
 6. Hasegawa Y, Hamada S, Nishimura T, Sasaki T, Ebana Y, Kawabata M, Goya M, Isobe M, Koyama T, Furukawa T, Hirao K, Sasano T. Novel dielectric coagulation identifies hypercoagulability in patients with a high CHADS2 score without atrial fibrillation. *PLoS One* 2016;11:e0156557.
 7. Okata S, Yuasa S, Suzuki T, Ito S, Makita N, Yoshida T, Li M, Kurokawa J, Seki T, Egashira T, Aizawa Y, Kodaira M, Motoda C, Yozu G, Shimojima M, Hayashiji N, Hashimoto H, Kuroda

- Y, Tanaka A, Murata M, Aiba T, Shimizu W, Horie M, Kamiya K, Furukawa T, Fukuda K. Embryonic type Na⁺ channel β -subunit, *SCN3B* masks the disease phenotype of Brugada syndrome. *Sci. Rep* 2016;6:34198.
8. Nagamori S, Wiriyasermkul P, Espino Guarch M, Okuyama H, Nakagomi S, Tadagaki K, Nishinaka Y, Bodoy S, Takafuji K, Okuda S, Kurokawa J, Ohgaki R, Nunes V, Palacin M, Kanai Y. Novel cystine transporter in renal proximal tubule identified as a "missing partner" of cystinuria-related SLC3A1 (rBAT). *Proc Natl Acad Sci U.S.A.*, 2016;113:775-780.
 9. Morita Y., Andersen P., Hotta A., Tsukahara Y., Sasagawa N., Hayashida N., Koga C., Nishikawa M., Saga Y., Evans SM., Koshiba-Takeuchi K., Nishinakamura R., Yoshida Y., Kwon C, Takeuchi JK. Sall1 transiently marks undifferentiated heart precursor and regulates their fate. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 92; 158-162. 2016
 10. Nakamura R., Koshiba-Takeuchi K., Tsuchiya M., Kojima M., Miyazawa A., Ito K., Ogawa H., Takeuchi JK. Expression analysis of Baf60c during heart regeneration in axolotls and neonatal mice. *Dev. Growth Differ.* 58(4):367-382. 2016

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、癌の再発に關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. ヒストンメチル化修飾によるエピジェネティック制御の脳機能構築における役割に関する研究

エピジェネティック制御が中枢神経系の機能的構築に果たす役割については幾つもの報告があるが、それらは主としてDNAメチル化の関わるものであり、ヒストンメチル化制御の関与については未解明な点が多い。本研究では、扁平上皮がんにおいて遺伝子増幅が見られる遺伝子として難治疾患研究所分子細胞遺伝分野の稲澤教授らにより見出され、その後遺伝子産物がヒストンH3の9番目のリジンの脱メチル化酵素であることが報告されたGASC1に着目した(図1)。稲澤教授から供与された*Gasc1* 遺伝子座にLacZ 遺伝子が挿入されたホモ変異接合体マウス (*Gasc1* 低発現変異マウス) を用いて、これまでに *Gasc1* が主に大脳皮質や海馬のニューロンに発現することを見出し、さらに網羅的行動試験で多動性および運動学習や空間学習の低下を呈することを明らかにしたことで神経発達症群のモデルマウスになり得るとした。本年に主として実施した研究では、変異型と対照型の海馬領域をゴルジ染色し、シナプスの存在指標である樹状突起スパイン密度の経時変化を解析した。変異型におけるスパイン密度は対照型に比べて、生後1ヶ月齢で

は有意に低く、行動解析を始めた生後2.5ヶ月齢では逆転して有意に高くなったのち、生後7.5ヶ月齢では同程度であった。機能的に成熟したスパインについて考察するために形態的に成熟型と非成熟型に分類して解析し、変異型での成熟型スパイン密度は、生後2.5ヶ月齢において対照型のスパイン密度より高くなっていることが確認された。これらの結果は、神経発達症群の発症機構を解明する上で重要な示唆を与えることが期待される。

ヒストン脱メチル化酵素GASC1による遺伝子発現促進

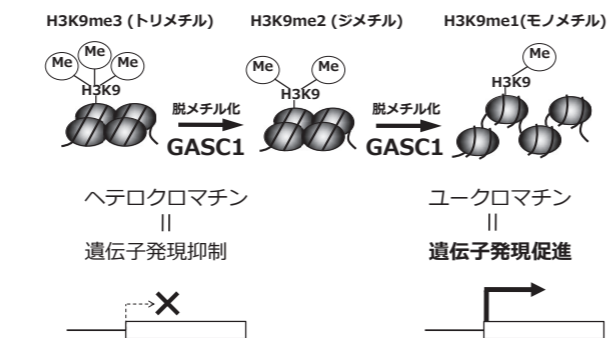


図1

2. 胎生期造血幹細胞の維持に寄与する接着分子の検討

マウス胎生中期において大動脈-生殖原基-中腎 (aorta-gonad-mesonephros, AGM) 領域で最初の成体型造血を担う造血幹細胞が生じる。この時期の造血幹細胞は大動脈内腔の血管内皮細胞に隣接する血液細胞塊中に存在する。この血液細胞塊の構成細胞である CD45^{low}c-Kit^{high} 細胞に転写因子 Sox17 を強制発現し、造血の場を支持する間質細胞と共培養すると in vitro において未分化性を有する血球系細胞塊の形成が再現され、長期造血再建能が維持されることを示した。そこで、未分化血液細胞塊形成に対する Sox17 導入により発現が亢進される接着分子 vascular endothelial-cadherin (VE-cad) と endothelial cell-selective adhesion molecule (ESAM) の関与について検討を行った(図2)。VE-cad と ESAM はマウス胎生中期の大動脈の血管内皮細胞、血液細胞塊、および血液細胞塊構成細胞 CD45^{low}c-Kit^{high} 細胞において発現を認めた。CD45^{low}c-Kit^{high} 細胞に Sox17 を強制発現した細胞集団において VE-cad と ESAM の発現は亢進しており、Sox17 強制発現細胞のなかでも VE-cad と ESAM の発現は細胞塊において高く、これら VE-cad あるいは ESAM 陽性細胞は in vitro において高い造血能を示した。さらに、タモキシフェン依存的に Sox17 が核内外へ移行する系を用いると、Sox17 が核内に存在す

るときに VE-cad と ESAM の高発現が認められ、Sox17 が直接 VE-cad と ESAM の遺伝子プロモーター領域に結合し転写を活性化することを明らかにした。また、Sox17 強制発現細胞において VE-cad と ESAM の発現量を減少させると細胞塊の形成能が低下した。以上の結果から、マウス胎生中期における大動脈内腔の造血幹細胞を含む未分化血球系細胞塊の形成と維持には、Sox17 によって発現が誘導されるこれらの接着分子が関与することが示唆された。

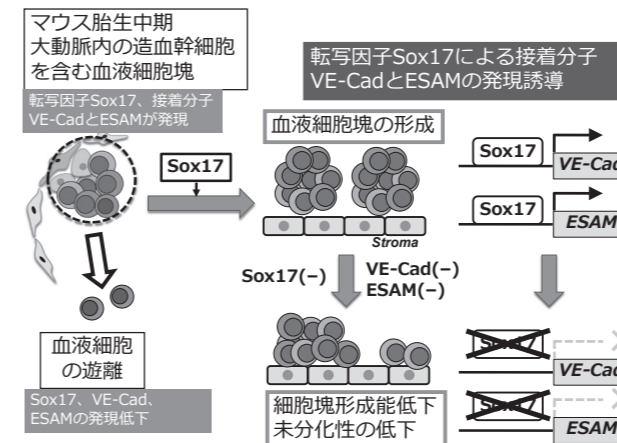


図2

3. 癌幹細胞の代謝特性の解析と診断・治療への応用に関する研究

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た。これを踏まえ、本年度は癌幹細胞に特異的な代謝特性の解明と、それに基づく癌幹細胞検出法の開発を目指して研究を実施した。初めに C6 細胞を細胞内ミトコンドリア量と活性酸素量の指標となる蛍光プローブで染色したところ SP 細胞が低い蛍光強度を示した。しかしこの低い蛍光強度は SP 細胞に発現する ABC transporter によるプローブの排出が一因であることが明らかとなり、外因性物質を用いた癌幹

細胞の代謝解析には注意を要することが示された。次に SP 細胞で発現の高い遺伝子として鉄の取り込みを担うトランスフェリン受容体が同定され、癌幹細胞において鉄代謝が亢進していることが考えられた。そこでその代謝経路に鉄の深く関与するプロトポルフィリン IX (PpIX) -ヘム代謝経路に着目した研究を行った。PpIX は内因性のアミノ酸である5-アミノレブリン酸 (5-ALA) から代謝され、鉄と結合することでヘムに変換される。光感受性物質である PpIX は腫瘍細胞特異的に蓄積することから、5-ALA は現行のグリオーマ術中診断薬として頻用されている。しかしながら、癌幹細胞が5-ALA を用いて検出・除去できているのかは十分に検証されてこなかった。C6 細胞を5-ALA で処理後に PpIX の蛍光強度を測定したところ SP 細胞は低い PpIX の蓄積性を示し、癌幹細胞は通常の大多数の癌細胞よりも検出が困難であることが明らかとなった(図3上段)。このことは現行の術中診断法でグリオーマの癌幹細胞が検出・摘出できていない可能性を指摘しており、臨床診断学的に大きな示唆を与える発見となった。この SP 細胞における PpIX の蓄積低下には ABC transporter による5-ALA の排出は関与しておらず、一方で鉄キレート剤デフェロキサミン (DFO) の処理により SP 細胞における PpIX の蓄積レベルが劇的に改善したことから、癌幹細胞では鉄を消費する PpIX-ヘム代謝経路が亢進していることが示された。これらは代謝を標的とした癌の再発リスクを抑える新たな診断法と治療法の開発に道を拓く成果である(図3下段)。

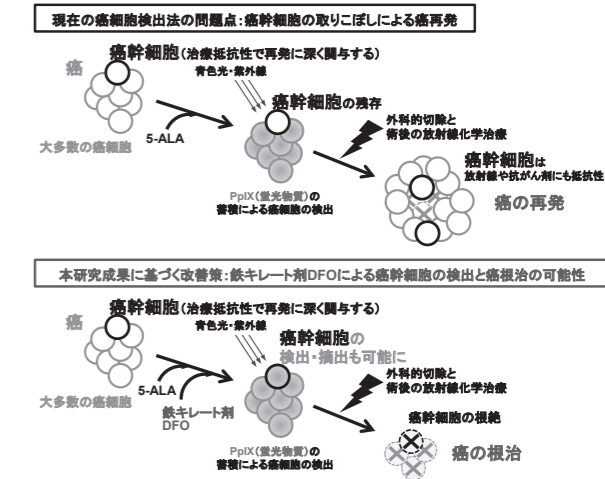


図3 癌幹細胞の取りこぼしによる癌再発と改善策の発見

研究業績

原著論文

- Sudo G, Kagawa T, Kokubu Y, Inazawa J, and Taga T. Increase of GFAP-positive astrocytes in histone demethylase GASC1/KDM4C/JMJ2C hypomorphic mutant mice. *Genes to Cells*, 21:218-225, 2016
- Kokubu Y, Tabu K, Wang W, Muramatsu N, Murota Y, Nobuhisa I, Jinushi M, and Taga T. Induction of protumoral CD11c[high] macrophages by glioma cancer stem cells through GM-CSF. *Genes to Cells*, 21:241-251, 2016
- Kimura T, Wang L, Tabu K, Tsuda M,

- Tanino M, Maekawa A, Nishihara H, Hiraga H, Taga T, Oda Y, and Tanaka S. Identification and analysis of CXCR4-positive synovial sarcoma-initiating cells. *Oncogene*, 35:3932-3943, 2016
- Inagaki T, Kusunoki S, Tabu K, Okabe H, Yamada I, Taga T, Matsumoto A, Makino S, Takeda S, Kato K. Up-regulation of lymphocyte antigen 6 complex expression in side-population cells derived from a human trophoblast cell line HTR-8/SVneo. *Human Cell*, 29:10-21, 2016
- Tabu K, Muramatsu N, Mangani C, Wu M, Zhang R, Kimura T, Terashima K, Bizen N, Kimura R, Wang W, Murota Y, Kokubu Y, Nobuhisa I, Kagawa T, Kitabayashi I, Bradley M, and Taga T. A synthetic polymer scaffold re-

- veals the self-maintenance strategies of rat glioma stem cells by organization of the advantageous niche. *Stem Cells*, 34:1151-1162, 2016
- Murota Y, Tabu K, and Taga T. Requirement of ABC transporter inhibition and Hoechst 33342 dye deprivation for the assessment of side population-defined C6 glioma stem cell metabolism using fluorescent probes. *BMC Cancer*, 16:847, 2016
- Wang W, Tabu K, Hagiya Y, Sugiyama Y, Kokubu Y, Murota Y, Ogura SI, Taga T. Enhancement of 5-aminolevulinic acid-based fluorescence detection of side population-defined glioma stem cells by iron chelation. *Scientific Reports* in press

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12万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. B細胞抑制性因子CD72の構造機能相関

自己免疫疾患は、体内で抗体産生を担うB細胞が過剰に応答し、自己抗体を産生することが原因のひとつである。われわれはB細胞上に発現している抑制性の補助因子CD72に着目し、そのリガンド結合ドメインの結晶構造を、放射光施設を用いたX線結晶構造解析の手法により、1.2 Å分解能という非常に高い精度で決定した(Akatsu et al., J. Exp. Med., 2016)。さらに、CD72が核内自己抗原Sm/RNP（核酸と核タンパク質の複合体）に特異的に結合することを明らかにし、これにより代表的な自己免疫疾患である全身性エリテマトーデスの発症を抑止していることを示した。

われわれが今回解明した正常型であるCD72^aのリガンド結合ドメインについてその分子表面の電荷分布を調べたところ、強く正に帯電した領域が存在した(図1)。一方でSm/RNPのような核酸をもつ分子はリン酸骨格に由来する強い負電荷を豊富に持つため、このCD72^a

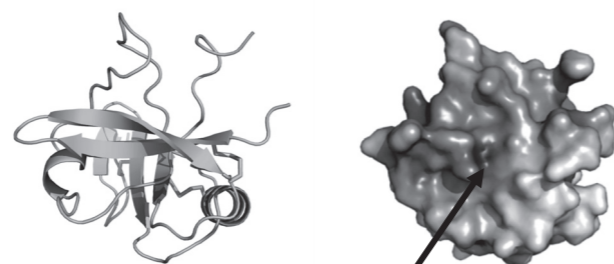


図1 CD72^aのリガンド結合ドメインの結晶構造。リボン図(左)と分子表面を表したモデル図(右)を、同じ方向から描いたもの。正電荷に富む領域を矢印で示す。

の正電荷の領域はSm/RNPの結合に強く関連するものと示唆された。また、自己免疫疾患のモデルマウスにおけるCD72のアリルであるCD72^bについてホモロジーモデリングの手法を用いて構造モデルを作成したところ、CD72^bでは正に帯電した(すなわちSm/RNP結合部位と予想される)領域の表面電荷分布が、逆に負電荷に富むものとなっており、Sm/RNPの負電荷と静電的な反発により結合に不利であることが推測された。実際にCD72^bではSm/RNPへの結合親和性が低下しており、このことにより自己免疫疾患を誘発しているものと考えられる。したがって、CD72の分子表面の電荷分布はSm/RNPの認識、結合を制御するうえで重要な役割を担っていると考えられた。これらの結果を踏まえ、CD72のリガンド結合についてのより詳細な分子機構を解明するため、CD72^aのリガンド結合ドメインの結晶構造解析などを進めている。将来的にCD72の機能を利用した新しい自己免疫疾患の治療法の確立を目指し、CD72の機能を制御する新規分子の合理的設計などに向けて、非常に有用な知見が得られるものと期待される。

本研究は、免疫疾患分野の鏗田武志教授との共同研究である。

2. ハンチントン病の治療薬シーズの探索

ハンチントン病は、特定疾患に認定されている指定難病であり、舞踏運動などの不随意運動、精神症状、行動異常、認知障害などを主症状とする慢性進行性神経変性疾患である。これまでに、当研究所の岡澤教授らは、ハンチントン病疾患タンパク質である変異型ハンチンチンがDNA損傷修復タンパク質Ku70に結合して機能障害

を引き起こすことを明らかにしてきた。そこで本研究は、変異型ハンチンチンとKu70の結合を阻害する低分子化合物を見出し、それを治療薬シーズとすることを目的として進めた。

目的化合物の探索は、本学の化合物ライブラリと仮想化合物ライブラリ中の低分子化合物を対象に行った。ヴァーチャルスクリーニングとin vitroスクリーニングによって絞込んだ後、ハンチントン病モデルショウジョウバエの寿命延長効果の解析とハンチントン病モデルマウスの運動機能改善および体重減少抑制効果の解析によって、最終的に、3個の候補化合物を得ることに成功した。これらは、いずれも数個のアミノ酸からなる短いペプチドであり、最も効果のあったのはヒスチジンが7個連続したペプチド7Hだった。

動的光散乱法により、これらの3種類のペプチドが変異型ハンチンチンの凝集に及ぼす効果を検証したところ、いずれのペプチドも凝集を阻害する効果はなかったものの、凝集スピードの変化をもたらし、最終的には凝集量を増やすことを明らかにした(図2)。このことは、毒性のある中間凝集状態から無害の高凝集状態への移行を促進する化合物もまた、治療薬としての可能性を有することを示唆している。

本研究は、当研究所神経病理学分野の岡澤教授、東北大、慶応大、産総研、グラッドストーン研究所との共同研究である。

3. Protein Data Bankの改善

世界的な構造ゲノム科学の進展に伴いX線結晶構造解析や核磁気共鳴(NMR)の手法の高度化がなされ、また近年の電子顕微鏡の急激な発展により、今日では12万を超える生体高分子の立体構造が蓄積され、日々増加している。この膨大な立体構造情報はバイオインフォマティクスなどの分野での貴重な情報源となっている。構造生物学が成立した早い時期からProtein Data

Bank (PDB) がこうした成果の主たるアーカイブとして機能してきた。現在は、米国Rutgers大学を中心としたResearch Collaboratory of Structural Bioinformatics (RCSB)、ヨーロッパのEuropean Bioinformatics Institute (EBI)、そして大阪大学蛋白質研究所を中心とした日本のProtein Data Bank Japan (PDBj, <http://www.pdbj.org>)の三者からなるworld-wide PDB (wwPDB) が連携してPDBの維持・運営にあたっている。本研究室はPDBjの一員としてPDBの活動に参加している。そのひとつに、研究の社会還元の一環としてPDBjが作成している、生体高分子立体構造の教育用データベース、Encyclopedia of Protein Structures (eProtS)がある。これは高校生以上を対象にしたものであるが、教育的な目的だけではなく、健康に関して一般の人々の関心が高まっていることもあり、そうした社会的に関心の高いタンパク質についてその生体構造中心に性質や機能を紹介している。

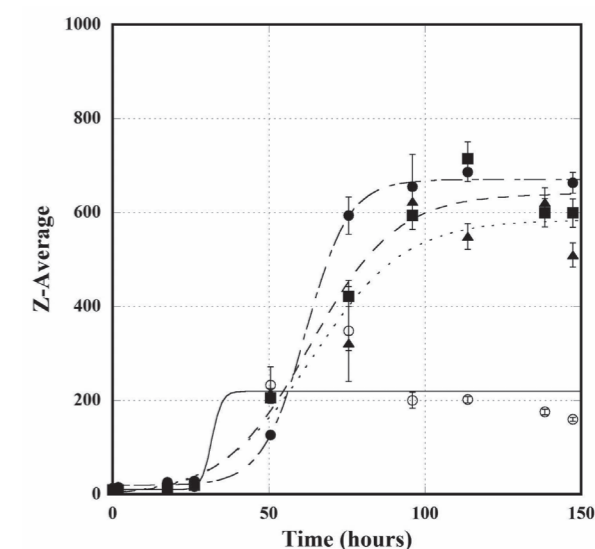


図2 3種類のペプチドが変異型ハンチンチンの凝集に及ぼす影響の動的散乱解析。縦軸の値は凝集量に対応している。(○)：ペプチドなし、(●)：ペプチド7Hの添加、(■)：ペプチドAngIIIの添加、(▲)：ペプチドLH-RH断片の添加

人事異動

転出：服部美智子(技術補佐員)、品川健朗(博士研究員)

研究業績

原著論文

1. Isao Kii, Yuto Sumida, Toshiyasu Goto, Rie Sonamoto, Yukiko Okuno, Suguru Yoshida, Tomoe Kato-Sumida, Yuka Koike, Minako Abe, Yosuke Nonaka, Teikichi Ikura, Nobutoshi Ito, Hiroshi Shibuya, Takamitsu Hosoya, Masatoshi Hagiwara. Selective inhibition of the kinase DYRK1A by targeting its folding process. Nat Commun. 2016; 7: 11391

2. Manjiri R Kulkarni, Nobutaka Numoto, Nobutoshi Ito, Yutaka Kuroda. Modeling and experimental assessment of a buried Leu-Ile mutation in dengue envelope domain III. Biochem. Biophys. Res. Commun. 2016.02; 471(1); 163-168
3. Akira Nakamura, Jun Ohtsuka, Tatsuki Kashiwagi, Nobutaka Numoto, Noriyuki Hirota, Takahiro Ode, Hidehiko Okada, Koji Nagata, Motosuke Kiyohara, Ei-Ichiro Suzuki, Akiko Kita, Hitoshi Wada, Masaru Tanokura. In-situ and real-time growth observation of high-quality protein crystals under quasi-microgravity on earth. Sci Rep. 2016.02; 6: 22127
4. Tomomi Imamura, Kyota Fujita, Kazuhiko Tagawa, Teikichi Ikura, Xigui Chen, Hidenori Homma, Takuya Tamura, Ying Mao, Juliana Bosso Taniguchi, Kazumi Motoki, Makoto

Nakabayashi, Nobutoshi Ito, Kazunori Yamada, Kentaro Tomii, Hideyuki Okano, Julia Kaye, Steven Finkbeiner, Hitoshi Okazawa. Identification of hepta-histidine as a candidate drug for Huntington's disease by in silico-in vitro- in vivo-integrated screens of chemical libraries. Sci Rep. 2016.09; 6: 33861

5. Chizuru Akatsu, Kenro Shinagawa, Nobutaka Numoto, Zhihong Liu, Ayse Konuskan Ucar, Mohammad Aslam, Shirly Phoon, Takahiro Adachi, Koji Furukawa, Nobutoshi Ito, Takeshi Tsubata. CD72 negatively regulates B lymphocyte responses to the lupus-related endogenous toll-like receptor 7 ligand Sm/RNP. J. Exp. Med. 2016.11; 213(12); 2691-2706

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が認められ、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細胞内エネルギー代謝機構の解析

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が示唆されています。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。今後、PHD3 を高発現するなどの方法でがん細胞内の PDH 活性を高めて、がんの解糖系に高度に依存した状態を解消することを試み、新たながん抑制法に結びつけることをめざしていきたいと思います。また、引き続き、複合体構成分子の機能解析を進めて、細胞内酸素センサー機構の解明をめざします（図1）。

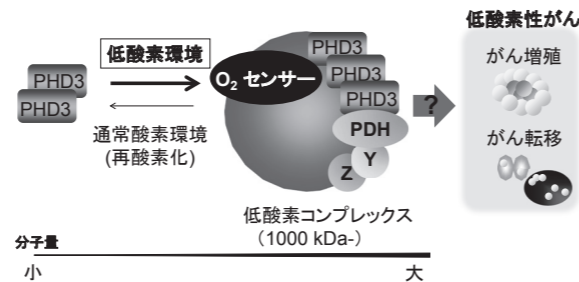


図1 低酸素応答における低酸素コンプレックスの役割

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ていきたいと考えています。

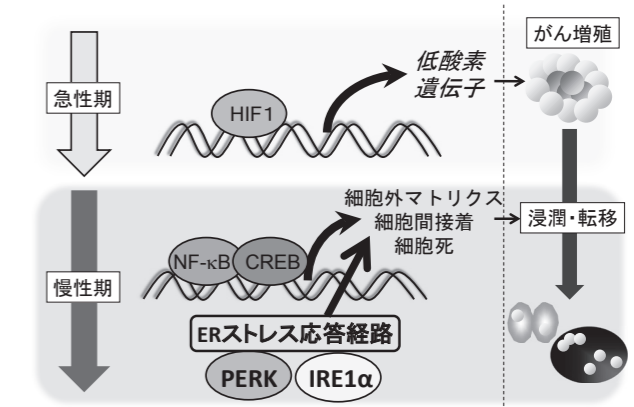


図2 慢性期低酸素応答における ER ストレス応答経路と CREB の協調

ハイライト

難病基盤・応用研究プロジェクト「難治低酸素性乳がんのエピジェネティック制御による悪性化機構の解明」

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-oxoglutarate 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たいと考えています（図3）。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（難病基盤・応用研究プロジェクトの難治低酸素性乳がん研究プロジェクトのページも参照して下さい）。

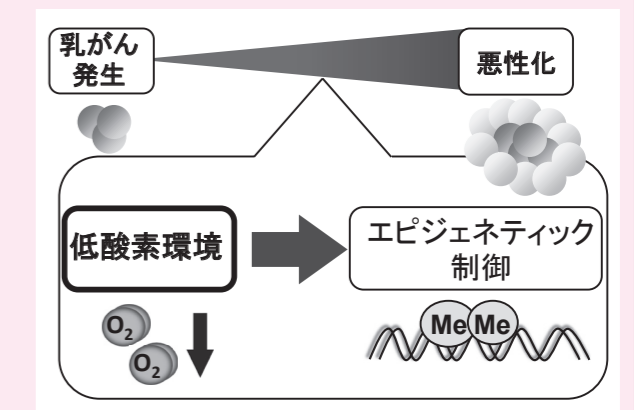


図3 難病基盤研究の概略

業績目録

発表論文

- Kikuchi D., Tanimoto K., and Nakayama K.* CREB is activated by ER stress and modulates the unfolded protein response by regulating the expression of IRE1 α and PERK. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 469, 243-250. (2016).
- Katsuta E., Tanaka S., Mogushi K., Shimada S.,

Akiyama Y., Aihara A., Matsumura S., Mitsunori Y., Ban D., Ochiai T., Kudo A., Fukamachi H., Tanaka H., Nakayama K., Arii S., Tanabe M. CD73 as a therapeutic target for pancreatic neuroendocrine tumor stem cells. *Int. J. Oncol.* 48, 657-669. (2016).

国際学会

Koh Nakayama
CREB regulates the expression of PERK and IRE1 α , and controls unfolded protein response

under hypoxic conditions. *Experimental Biology 2016 (ASBMB annual meeting)* 4月3日 San Diego, USA

国内学会

中山 恒
低酸素環境における解糖系に依存したエネルギー代謝を制御する新たな分子機構の解析 第39回日本分子生物学会年会 シンポジウム発表 11月30日 横浜

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 助教：林 晋一郎、早川清雄
技術補佐員：星野由紀子、鈴木裕美

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、生活習慣病の発症や進展を防ぐ予防・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(図1)。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、

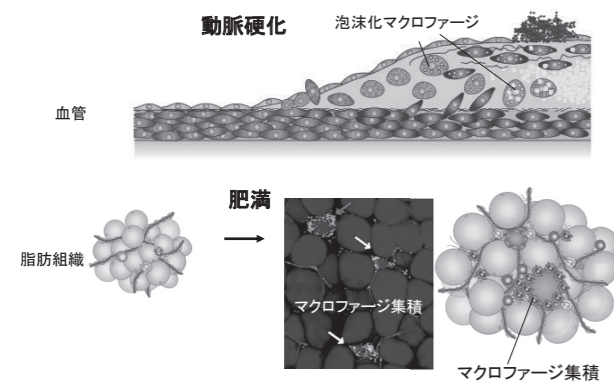


図1 肥満・動脈硬化の病態形成にマクロファージが重要である

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。すなわち、マクロファージが炎症刺激を受けると、炎症応答の初期には解糖系が優位となって炎症を進めるが、炎症応答の後期には脂質代謝を亢進させて炎症収束形質を示した(図2)。このメカニズムについて研究をすすめ、マクロファージの機能変化は、炎症後期における sterol regulatory element binding protein (SREBP)の活性化など、転写による制御と、エピゲノム制御によって支えられていることを見いだした(Oishi et al. *Cell Metab* 2017)。

このように、マクロファージの主要な細胞機能としての免疫応答は、細胞内脂質代謝と密接に連携している。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要因となると想定される。現在は、細胞代謝を是正し、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。

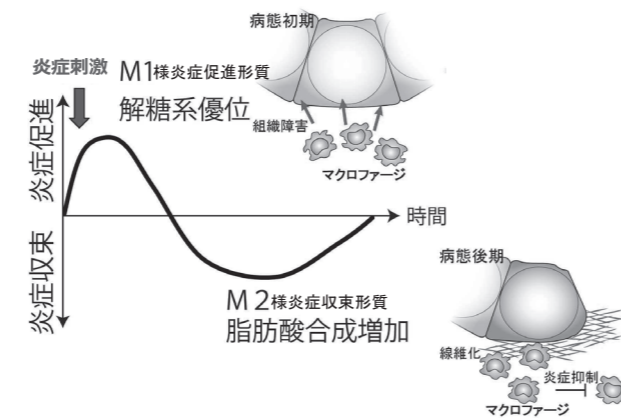


図2 マクロファージは炎症応答の初期には炎症促進形質(M1様)を示すが、後期には脂肪酸合成を増加させて炎症収束形質(M2様)に変化する

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(図3)。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^{flax/flax}*) では筋損傷後の修復が著明に遅延した(図4)。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

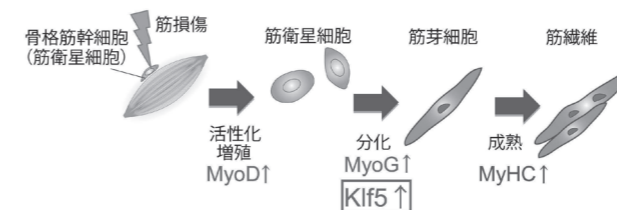


図3 転写因子 Klf5 は MyoD と協調して筋分化と再生を制御する

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。

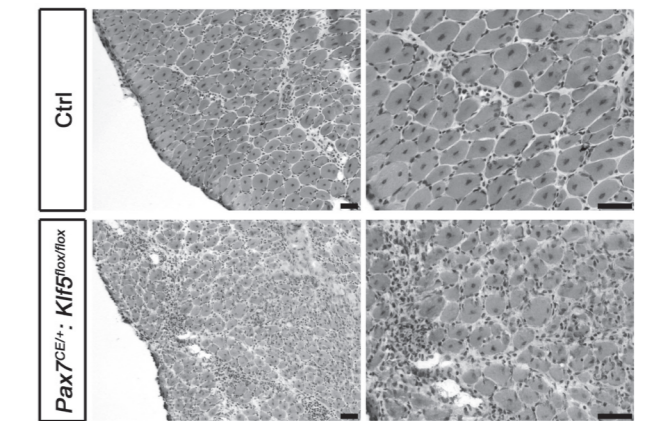


図4 筋衛星細胞特異的 Klf5 ノックアウトマウスでは筋損傷後の修復が遅延する

人事異動

転入：大塚千聖(修士課程)、劉琳(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
- Hayashi S, Manabe I, Suzuki Y, and Oishi Y. Klf5 regulates muscle differentiation by directly targeting muscle specific genes in cooperation

with MyoD in mice. *eLife*. DOI: <http://dx.doi.org/10.7554/eLife.17462>, 2016.

- Hachiya, R, Shiihashi T, Shirakawa I, Iwasaki Y, Matsumura Y, Oishi Y, Nakayama Y, Miyamoto Y, Manabe I, Tanaka M, Goda N, Sakai J, Suganami T, and Ogawa Y. The H3K9methyltransferase Setdb1 regulates TLR4-mediated inflammatory responses in macrophages *Sci Rep* 2016; 28;6:28845
- Yamada T, Horimoto H, Kameyama T, Hayakawa S, Yamato H, Dazai M, Takada A, Kida H, Bott D, Zhou AC, Hutin D, Watts TH, Asaka M, Matthews J, Takaoka A. Constitutive aryl hydrocarbon receptor signaling constrains type I interferon-mediated antiviral innate defense. *Nat Immunol*. 2016 Jun;17(6):687-94

総説

- Oishi Y and Manabe I. Macrophages in age-related chronic inflammatory diseases. *Aging and Mechanisms of Disease*, 2016 : doi:10.1038/npjamd.2016.18
- Oishi Y and Manabe I. Integrated regulation of cellular metabolism and function of immune cells in adipose tissue inflammation *Clin Exp Pharmacol Physiol* 43:294-303, 2016
- Hayakawa S, Saito K, Miyoshi N, Ohishi T, Oishi Y, Isemura M, and Nakamura Y. Anti-Cancer Effects of Green Tea by Either Anti- or Pro- Oxidative Mechanisms. *Asian Pac J Cancer Prev* 17(4): 1649-54, 2016

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

本研究室は骨粗鬆症を含む骨格系疾患の治療ならびに予防法確立に寄与する知見を獲得することに重点を置き、生体のカルシウム調節系に関わる器官および組織における細胞応答の分子制御について解明を目指している。

研究紹介

1. FGF2は骨芽細胞におけるPoldip2発現を抑制する(勝村早恵ほか)

骨代謝制御における骨芽細胞の遊走性は近年明らかにされつつある重要な側面である。Poldip2は血管平滑筋細胞などの遊走性と血管新生に重要な機能を指摘される分子であるが、骨芽細胞における機能は未解明である。そこで本研究は、培養骨芽細胞株MC3T3-E1細胞を用いてPoldip2の発現および機能制御について検討した。骨芽細胞におけるPoldip2発現は初代骨芽細胞およびMC3T3-E1で確認され、血管新生の促進因子bFGFはその発現を約24時間後に抑制した。bFGFによるPoldip2発現抑制は時間および濃度依存的であり、2次的な蛋白質合成を介して抑制された。Poldip2発現はまたデキサメタゾンで促進されたが、bFGFはその作用に打ち克ってPoldip2発現を抑制した。生体内の骨組織(マウス大腿骨)において、加齢に伴うPoldip2発現亢進が確認され、骨代謝制御への関与が推察された。遺伝子改変マウスを解析している。

2. 培養骨芽細胞のLgr4発現は過酸化水素によって抑制される(Chantida Pawaputanon Na Mahasarakamほか)

Lgr4は骨格形成と骨疾患への関与の指摘されるG蛋白質共役型受容体分子であり、骨芽細胞機能への関与が推定されるが、加齢性骨粗鬆症の病態発生に関わる酸化ストレスのLgr4に及ぼす影響は未解明である。本研究

は、培養骨芽細胞株MC3T3-E1細胞を用いてその影響を検討した。高濃度の過酸化水素負荷はLgr4発現を有意に抑制し、12時間から48時間までの持続的発現抑制をもたらしたが、この発現抑制は転写後制御と新たな蛋白質合成を要求するものであった。我々が先に報告したように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あると考えられた。

3. 間葉系間質細胞の石灰化制御と細胞外ピロリン酸制御(林欣ほか)

様々な組織に発生して臨床的問題を生じる異所性骨化の発症には、組織損傷に応答した間葉系前駆細胞などの働きが関与する。筋肉内へのBMP2投与は異所性骨化を誘導するが、インターロイキン1はこれを増幅することが報告され、培養ヒト間葉系細胞へのインターロイキン1 β は石灰化を促進することが近年報告された。ENPP1の発現抑制がそのメカニズムとして提唱されたが、本研究はこの現象にENPP1以外の因子が関わる可能性を、多種類の間葉系間質細胞の培養系で検証した。その結果、ヒトおよびマウスの間葉系間質細胞において共通して見られる現象は、ANKH(マウスAnk)およびENT1(マウスEnt1)の発現抑制であり、石灰化促進に貢献する可能性が示された。アルカリホスファターゼ発現抑制に代表される骨芽細胞の分化抑制もほぼすべての培養系で観察される共通現象であり、石灰化促進に対抗すると考えられた。一方、ENPP1の抑制を介した細胞外ピロリン酸レベルの抑制はヒト間葉系幹細胞のみ見られる特異的作用であることが明らかにされた。

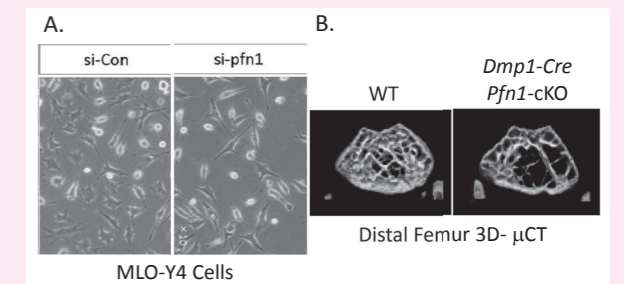
ハイライト

プロフィリン1は骨細胞の細胞突起および運動性制御から骨量維持に寄与する(林婉婷ほか)

アクチン・フィラメントのリモデリング制御因子であるプロフィリン1は骨系細胞の機能にも重要な働きを持つ。研究室では枝芽間葉系細胞におけるプロフィリン1が胎生期における胸郭閉鎖と長管骨の軟骨成長に重要な機能を担うことを明らかにしてきたが(2012年JBC)本研究では、生後の骨代謝制御に重要な、骨細胞におけるプロフィリン1の機能について検討した。

骨細胞株MLO-Y4におけるプロフィリン1発現は培養経過に伴い増加傾向を示し、骨芽細胞株MC3T3-E1細胞とは反対の傾向を示したが、本細胞において発現が漸減するALP発現と逆転する点は一致した。プロフィリン1をsiRNAでノックダウンしたMLO-Y4細胞の突起形状は損なわれ(図A)、遊走性アッセイにおける運動性が障害されたが、ノックダウン細胞におけるBMP2応答性のALP発現誘導は促進されたことから、この誘導経路に関する抑制因子としての機能が推定された。生体内の骨細胞は長期生存する細胞であり、加齢に伴う酸化ストレスに曝される。骨細胞における活性酸素の及ぼす影響を検討する

ため、培養MLO-Y4に過酸化水素を負荷するとプロフィリン1発現の増強とALP発現の抑制が見られた。プロフィリン1は初代培養における骨細胞においても骨芽細胞より高い発現が見られ、高齢化に伴う骨細胞の機能変調に寄与する可能性が示唆された。このような骨細胞におけるプロフィリン1の発現と機能制御が、生体の骨代謝制御にどのように寄与するかは未だ不明であるが、プロフィリン1を骨細胞特異的に欠損させたコンディショナルノックアウトマウスは骨量減少症を呈し(図B)、本分子を介した細胞突起の運動性とBMP応答性の制御が生体骨代謝制御に重要な役割を果たす可能性が初めて示された。



プロフィリン1は骨細胞の細胞形態維持と骨量維持に欠かせない
A. 培養MLO-Y4細胞におけるプロフィリン1ノックダウンは細胞突起の形成を障害した。
B. 骨細胞特異的にプロフィリンを欠損するコンディショナルノックアウトマウスの大腿骨骨量は有意に減少した。

業績目録

原著論文

- 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.* [in press]
- Katsumura S, Izu Y, Yamada T, Griendling K, Harada K, Noda M, Ezura Y. FGF Suppresses Poldip2 Expression in Osteoblasts. *J Cell Biochem.* [in press]
- 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.* [in press]
- Kawasaki M, Izu Y, Hayata T, Ideno H, Nifuji A, Sheffield VC, Ezura Y, Noda M. Bardet-Biedl

- Syndrome 3 regulates development of cranial base midline structures. *Bone.* [in press]
- Ezura Y, Lin X, Hatta A, Izu Y, Noda M. Interleukin-1 β Suppresses the Transporter Genes Ank and Ent1 Expression in Stromal Progenitor Cells Retaining Mineralization. *Calcif Tissue Int.* 2016 Aug;99(2):199-208.
 - Izu Y, Ezura Y, Koch M, Birk DE, Noda M. Collagens VI and XII form complexes mediating osteoblast interactions during osteogenesis. *Cell Tissue Res.* 2016 Jun;364(3):623-35.
 - Moriya S, Izu Y, Arayal S, Kawasaki M, Hata K, Pawaputanon Na Mahasarakham C, Izumi Y, Saftig P, Kaneko K, Noda M, Ezura Y. Cathepsin K Deficiency Suppresses Disuse-Induced Bone Loss. *J Cell Physiol.* 2016 May;231(5):1163-70.
 - Nakamoto T, Izu Y, Kawasaki M, Notomi T, Hayata T, Noda M, Ezura Y. Mice Deficient in CIZ/NMP4 Develop an Attenuated Form of K/BxN-Serum Induced Arthritis. *J Cell Biochem.*

- 2016 Apr;117(4):970-7.
- Pawaputanon Na Mahasarakham C, Ezura Y, Kawasaki M, Smriti A, Moriya S, Yamada T, Izu Y, Nifuji A, Nishimori K, Izumi Y, Noda M. BMP-2 Enhances Lgr4 Gene Expression in Osteoblastic Cells. *J Cell Physiol.* 2016 Apr;231(4):887-95.
 - Lin W, Ezura Y, Izu Y, Aryal SA, Kawasaki M, Chantida PN, Moriyama K, Noda M. Profilin Expression Is Regulated by Bone Morphogenetic Protein (BMP) in Osteoblastic Cells. *J Cell Biochem.* 2016 Mar;117(3):621-8.
 - Katsumura S, Ezura Y, Izu Y, Shirakawa J, Miyawaki A, Harada K, Noda M. 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.* 2016 Feb;231(2):496-504.

難治病態研究部門

Division of Pathophysiology

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

難治病態研究部門における主な研究成果

- アルツハイマー病の新たな抗体治療法を開発した（神経病理学）
- ハンチントン病の新しいタイプのネクロシスを発見した（神経病理学）
- 中心体数の制御にオートファジーを介したCep63分解が関わっている事を発見した（病態細胞生物学）
- ゴルジ膜を利用した新たなタンパク質分解系路（GOMED）を発見した。（病態細胞生物学）
- 異常な細胞の除去を誘導する新たな仕組みを解明した（発生再生生物学）
- 発生初期の器官形成の鍵となる組織の分化に必要な代謝経路を解明した（発生再生生物学）
- 加齢に伴う脱毛の仕組みを解明した（幹細胞医学）
- ヒト皮膚の表皮や真皮の幹細胞の新しい同定法を開発した（幹細胞医学）
- 全身性エリテマトーデス(SLE)の発症を抑制する新規自己核酸識別機構を解明した（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の糖鎖依存的制御因子を同定する手法を開発した（免疫疾患）
- MHCクラスI遺伝子多型は種分化や系統をトレースする有用な遺伝マーカーであることを明確にした(分子病態)
- Lp-PLA2阻害剤による心血管系イベント抑制効果がなかった理由は、Lp-PLA2多型が心血管疾患のリスクでないことにあることを明確にした（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
プロジェクト特任講師：津田浩史 助教：藤田慶大
特任助教：陳 西貴、本間秀典、本木和美、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、を行っている。

研究紹介

1. アミロイド凝集前の病態シグナルを分子標的とした抗体治療の可能性

アルツハイマー病をはじめとする神経変性疾患は、細胞内外に異常タンパク質が蓄積することを病理学的特徴とする。アルツハイマー病では、アミロイドベータ(Aβ)が細胞外に蓄積する(老人斑)と、細胞内にタウタンパク質が凝集する神経原線維変化の2種である。これまで優勢を占めてきたアミロイド仮説に基づき、細胞外アミロイド凝集の除去が現在まで続く臨床試験の治療戦略であった。ところが、アミロイド抗体療法は、脳内のアミロイド除去に成功こそしたものの、臨床症状の改善を認めなかった。現在は凝集前に抗体を投与するか、凝集前の超早期(phase 0期)に生じる脳内分子変化に着目した新たな分子標的治療法の開発が求められるようになってきている。

私達は先行研究において、超早期(phase 0期)に生じる脳内分子変化について、最新の網羅的リン酸化プロテオーム解析を行い、結果として超早期から凝集、発症にかけて変化する17個の主要リン酸化タンパク質と、特に超早期変化を示した3個のリン酸化タンパク質を同定した。そのひとつであるMARCKSは、PKCの基質として知られているが、PKCによるリン酸化部位のみならず、多数のリン酸化部位で、リン酸化変化を捉えていた。そこで、本研究では、どの部位が病態に関与するかを、モデルマウスでの変動時期・ヒト死後脳との比較によって検証したところ、Ser46が超早期から上昇し、この部位に対するリン酸化抗体が脳内アミロイド斑周囲の変性神経突起を染色することを認めた(Fujita et al., 2016)。Ser46のリン酸化は、MARCKSと細胞骨格タンパク質actinとの結合を弱め、興奮性シナプス後部構造であるスパイン形成・維持に悪影響をもたらす可能性も

でてきた。MARCKSのSer46リン酸化は、AβではなくHMGB1という、ダメージシグナル分子(DAMPs: damage-associated molecular pattern)の一つによって起こることが分かった。また、進行の早いヒト患者髄液中のHMGB1が高値を示す傾向にあることから、pSer46-MARCKSの増加がヒトADにおいても同様の病態意義をもつ事が伺える。最後に、細胞外からのHMGB1刺激を抑制するHMGB1中和抗体を用いてアルツハイマー病モデルマウスに治療実験を行ったところ、脳内pSer46-MARCKSの増加を抑え、スパイン減少を回復させ、認知機能障害を改善することが示された。HMGB1は、死細胞からの漏出のみならず、生きたニューロンが過興奮状態にあると放出される。このことから、HMGB1抗体は、アミロイド沈着が起きる前の超早期病態を抑制し、AD発症を食い止める可能性も期待できる。こうしたアミロイド仮説以外の仮説の探索と治療応用への試みが、世界レベルでも進みつつあり、我々も臨床応用へ向けて今後も研究を進めていきたいと考えている。

2. 第3の細胞死を標的とするハンチントン病の新しい治療戦略

アルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、脊髄小脳失調症、筋萎縮性側索硬化症といった神経変性疾患は、数年から数十年かけて緩徐に進行することが重要な特徴である。神経細胞の機能低下と細胞死の緩徐進行性は、脳梗塞や脳出血など、数分から数時間で症状が完成する脳疾患のそれとは明らかに性質を異にする。神経細胞死がどのようなものであるかは、いまだ議論が続いている。細胞死といえば、アポトーシスやネクローシスが代表例であるが、そのほかにも、オートファジー細胞死、ネクロプトーシス、さらには我々が以前発見したTRIAD(transcriptional repression-induced atypical cell death、転写抑制性非典型的細胞死)など、複数の細胞死が存在する。TRIADは、転写の基本分子であるRNA polymerase IIの特異的阻害による緩慢なネクローシス様細胞死の事であり、アポトーシスの形態学的・生化学的特徴を持たず、オートファゴソームの拡大・増加もなく、小胞体の顕著な膨張が形態学的特徴である。また、網羅的発現解析から得た候補分子YAPの関与が疑

われた(Hoshino et al., 2006)。今回我々は、ショウジョウバエライブラリーを用いてTRIADに影響する細胞死関連分子をスクリーニングし、得られた分子をタンパク質間相互作用のデータにマッチングさせるバイオインフォマティクス解析と併せて、TRIADのシグナルネットワークを包括的に探索した。その結果、hnRNPというRNA結合分子、ハンチンチンというハンチントン病原因遺伝子がTRIADに関わっていることを報告した(Mao et al., 2016a)。

これとは逆に、変異ハンチンチン(ポリグルタミン配列が異常伸長した変異型;変異Htt)を発現した神経細胞では、アポトーシスやネクローシスではなく、不均一な細胞質膨張を特徴とする細胞死が増加していることを見出した(ハイライト図A)。この細胞質膨張は小胞体の膨張であり(ハイライト図B)、二光子顕微鏡を用いた観察から、生きたハンチントン病モデルマウス脳においても、同様の小胞体の不安定化や膨張が見られた(Mao

et al., 2016b)。

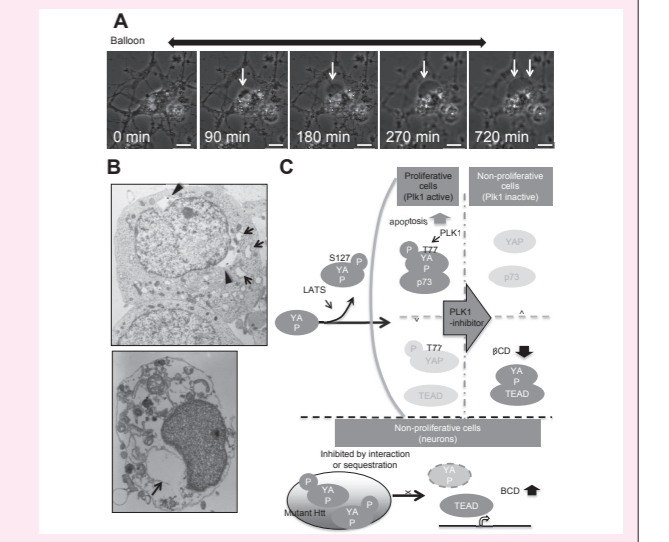
TRIADを導く細胞内シグナルを解析すると、YAP-TEADによる生存シグナルの喪失が主原因であり、Hippo経路の活性化はYAPの核内移行を妨げ、Plk1によるYAPのリン酸化はYAP/p73の結合を高め、変異HttはYAPと結合して封入体内へ取り込むこと、これらいずれも生存シグナル喪失に関わる要因と考えられる(ハイライト図C)。最後に、核内YAPを増やす方向に働く、SIPによるHippo経路の抑制が、ハンチントン病モデルマウスの運動機能を改善し、小胞体サイズ変動を改善することがわかった。さらに、モデルマウスのみならず、ハンチントン病患者の死後脳において、電子顕微鏡下での小胞体の膨張を認めた他、生化学的・組織学的解析からhippo経路の活性化が認められた(Yamanishi et al., 2017)。以上より、TRIADのシグナル経路を標的とする治療法がハンチントン病態の治療に有効であることが考えられる。

ハイライト

第三の細胞死、TRIADと神経変性疾患

アポトーシスでもない、オートファジー細胞死でもない、非典型的な細胞死の形態があることを、我々は2006年に報告した。TRIAD、すなわち転写抑制性非典型的細胞死は、alpha-amanitinというRNA polymerase II特異的阻害剤によって非常に緩慢な細胞死が起こることを発見したことに端を発する。さらに、電子顕微鏡で細胞を観察すると、小胞体の膨張が見られた。RNA polymerase IIはゲノムDNAからmRNAを転写する上での基本転写マシナリーに必須であるが、神経変性疾患では、核機能異常、とりわけ転写機能異常を示唆する病態が10数年前より数多く報告されている。我々も、ポリグルタミン病原因遺伝子に見られるポリグルタミン配列が、核転写機能異常に関係することをいち早く予見し、例えばPQBPI(polyglutamine binding protein 1)の発見などの報告を重ねて来た。その研究過程で、転写機能不全による細胞死についての解析からTRIADを発見した。今回ハンチントン病原因遺伝子Httを発現する培養ニューロンで、図Aのようなballoon様の細胞体膨張が認め

られ、電子顕微鏡やオルガネラマーカでの確認から、小胞体膨張というTRIADと同等の形態学的異常を認めた(図B)。ハンチントン病モデルでは、以前から細胞体膨張を伴う非典型的な細胞死は複数報告されていたが、我々は変性疾患原因遺伝子によるTRIAD誘導を示し、その細胞内シグナルの詳細を報告し(図C)、これまで未知であった神経変性疾患とTRIADとの関係性の理解を、前進させることができたと考えている。



研究業績

1. Mao, Y., Tamura, T., Yuki, Y., Abe, D., Tamada, Y., Imoto, S., Tanaka, H., Homma, H., Tagawa, K., Miyano, S., Okazawa, H. (2016a) *Cell Death and Disease*. Vol.7: e2207. doi:10.1038/cddis.2016.101.
2. Mizuguchi, M., Obita, T., Kajiyama, A., Kozakai, Y., Nakai, T., Nabeshima, Y. and Okazawa, H. (2016) *FEBS Lett*. Vol.590(14): 2221-31. doi:10.1002/1873-3468.12256.
3. Taniguchi, JB, Kondo, K, Fujita, K, Chen, X, Homma, H., Sudo, T., Mao, Y., Watase, K., Tanaka, T., Tagawa, K., Tamura, T., Muramatsu, SI, Okazawa, H. (2016) *Hum Mol Genet*. pii: dddw272. doi: 10.1093/hmg/ddw272.
4. Fujita, K., Motoki, K., Tagawa, K., Chen, X., Hama, H., Nakajima, K., Homma, H., Tamura, T., Watanabe, H., Katsuno, M., Matsumi, C., Kajikawa, M., Saito, T., Saido, T., Sobue, G., Miyawaki, A., Okazawa, H. (2016) *Scientific Reports*. 6:31895. doi: 10.1038/srep31895.
5. Mao, Y., Chen, X., Xu, M., Fujita, K., Sasabe, K., Homma, H., Murata, M., Tagawa, K., Tamura, T., Kaye, J., Finkbeiner, S., Blandino, G., Sudol, M., Okazawa, H. (2016b) *Hum Mol Genet*. pii:

6. Imamura, T., Fujita, K., Tagawa, K., Ikura, T., Chen, X., Homma, H., Tamura, T., Mao, Y., Taniguchi, JB, Motoki, K., Nakabayashi, M., Ito, N., Yamada, K., Tomii, K., Okano, H., Kaye, J., Finkbeiner, S., Okazawa, H. (2016) *Scientific Reports* 6:33861. doi: 10.1038/srep33861.
7. Yamanishi, E., Hasegawa, K., Fujita, K., Ichinose, S., Yagishita, S., Murata, M., Tagawa, K., Akashi, T., Eishi, Y., Okazawa, H. *Acta Neuropathologica Communications*, 5:19. DOI: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、藤掛伸宏、桜井 一 特任助教：砂田麻理子、申 珉京
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、Atg5 依存的オートファジーの新たな役割として以下の3つを発見した。即ち、① Cep63 と呼ばれる中心体分子を分解することによって、中心体の数を正常数（1個もしくは2個）に調節し、発がんを抑制していること (*Nature Communications*)、② GEF-H1 と呼ばれる rho ファミリー関連分子を分解して、細胞運動を制御していること (*OncoTarget*)、③ Noxa と呼ばれるアポトーシス分子を分解して、DNA 傷害による細胞死を抑制していること (*EMBO Report*) を見出した。最後の論文では、これまで未解

明であった DNA 傷害による Atg5 依存的オートファジーの誘導機構も明らかにした。即ち、PPM1D という p53 依存的な脱リン酸化酵素が、Ulk1 分子（オートファジー機構の開始分子）を脱リン酸化することによってオートファジーが誘導されることを見出したのである。一方、新規オートファジーに関しては、④ゴルジ体からのタンパク質分泌系に障害が生じた時に、蓄積した分泌タンパク質を分解するために機能していること、この機構は酵母から哺乳動物まで保存されていることを見出した (*EMBO Journal*)。

2. 細胞死の解析

多くの細胞はアポトーシスと呼ばれる自殺装置を内包しており、必要に応じ積極的にそのスイッチを入れ死に至る。アポトーシスの on/off を決定しているのは、ミトコンドリア外膜に局在する Bak 分子（あるいはホモログの Bax 分子）が調節するミトコンドリア膜の透過性である。

今年度は、Bak がどのようにしてミトコンドリア膜の透過性を制御しているかを超解像度顕微鏡（PALM）を用いて解析した。その結果、Bak 分子がミトコンドリア膜上の1カ所に集積すること、50～100分子のBakが会合することによって膜の透過性が亢進することを見出した。

3. ミトコンドリア機能異常に基づく疾患の解析

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

今年度は、ゴルジ体にストレスが加わった時に、ミトコンドリアとゴルジ体が接着し、お互いの分子を相互交換していることを見出した。現在、この機能が何をしているかを解析している。

ハイライト

1. ゴルジ体を経由して分泌されるタンパク質の分解に新規オートファジーが関わっていることを発見した。

インスリン等のホルモンをはじめとする種々の分泌タンパク質は、細胞内のゴルジ体から細胞膜に輸送されて分泌される。この分泌は、様々な内的外的要因によって抑制される（例えば、血糖値が急に低下すると、膵β細胞からのインスリン分泌が抑制される）。このように分泌が抑制された時に、細胞の中では、分泌され損なったタンパク質が分解される。我々は、この分解機構が新規オートファジーを介していることを発見した。まず酵母細胞を用いて、様々な方法で、ゴルジ体から細胞膜への分泌を阻害したところ、全ての場合に(1)ゴルジ体に変形し、(2)トランスゴルジ膜からオートファゴソーム膜が形成され、(3)ゴルジ体タンパク質はこのオートファジーによって分解されていた（図1）。我々は、このゴルジ膜を介した新規オートファジーを特別に、Golgi membrane-associated degradation pathway (GOMED) と名付けた。このGOMEDは、酵母細胞だけでなく、哺乳動物細胞でも同様に観察された。例えば、膵β細胞周囲の血糖が低くなると、更なる低血糖を防ぐために、β細胞内のインスリンが分解されるが、これはGOMEDを介して為されていた（図2）。

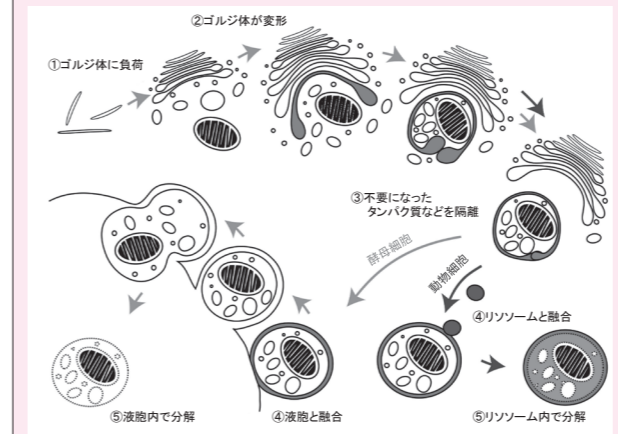


図1 ゴルジ体に負荷がかかると、変形したゴルジ体からオートファゴソームができ、分泌され損なったタンパク質を分解する。このオートファジーは、新規オートファジーであり、特別にGOMEDと命名した。

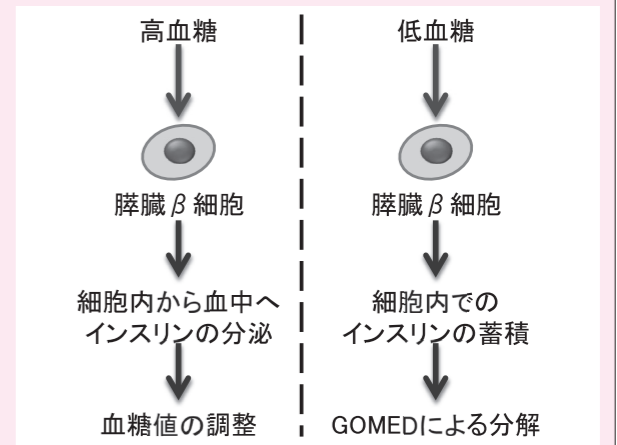


図2 低血糖時に膵β細胞で機能するGOMED

2. オートファジーはCep63の分解を介して、中心体数を制御している。

中心体は、均等な染色体分配に必要な細胞小器官であり、その異常は発がんの原因となる。これまで、中心体数はユビキチン-プロテアソーム系により制御されているものと考えられてきたが、本年我々は、オートファジーも中心体数を制御していることを見出した。即ち、中心体タンパク質Cep63は、普段からオートファジーによって分解されており、オートファジーに不具合が生じると中心体数が増加することを見出したのである（図3）。オートファジーの変調からがんが発生することは良く知られているが、その一因としてこの中心体数の増加が関係しているものと思われた。

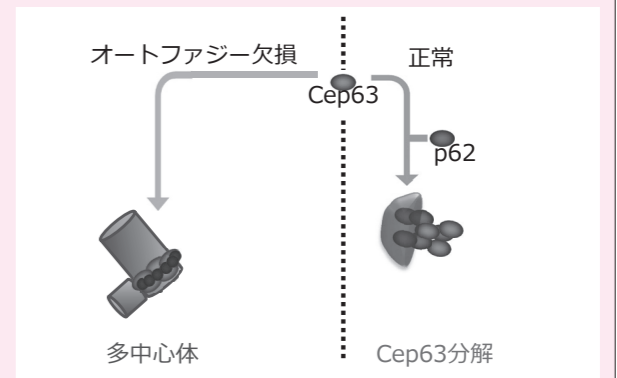


図3 オートファジーは、Cep63の分解を介して中心体数を調節している

人事異動

転入：中名生幾子（技術補佐員）
職名変更：辻岡政経、鳥居暁（特任講師からプロジェクト講師）、室橋道子、藤掛伸宏、桜井 一（特任助教からプロジェクト助教）
転入：遠藤薬月（大学院医歯学総合研究科修士から大学院生命理工研究科博士課程入学）、吉田朋世（大学院医歯学総合研究科入学）
転出：砂田麻理子、辻村恭子（退職）

研究業績

原著論文

1. Autophagy suppresses cell migration by degrading GEF-H1, a RhoA GEF. *T. Yoshida, M.*

Tsujioka, S. Honda, S. Shimizu OncoTarget 7:34420-9, 2016
2. In Situ Characterization of Bak Clusters Responsible for Cell Death Using Single Molecule Localization Microscopy. *Y. Nasu, A. Benke, S. Arakawa, G. Yoshida, G. Kawamura, S. Manley, S. Shimizu, T. Ozawa Scientific Reports* 6, Article number: 27505, 2016
3. Golgi membrane-associated degradation pathway in yeast and mammals. *H. Yamaguchi, S. Arakawa, T. Kanaseki, T. Miyatsuka, Y. Fujitani, H. Watada, Y. Tsujimoto, S. Shimizu EMBO J* 35:1991-2007, 2016
4. TRF2 Interacts with Core Histones to Stabilize Chromosome Ends. *H. Konishi, T. Izumi, S. Shimizu J. Biol. Chem.* 291(39):20798-810, 2016
5. Identification of PPM1D as an essential Ulk1

phosphatase for genotoxic stress-induced autophagy. *S. Torii, T. Yoshida, S. Arakawa, S. Honda, A. Nakanishi, S. Shimizu EMBO R* 11:1552-1564, 2016
6. Autophagy controls centrosome number by degrading Cep63. *Y. Watanabe, S. Honda, A. Konishi, S. Arakawa, M. Murohashi, H. Yamaguchi, S. Torii, M. Tanabe, S. Tanaka, E. Warabi, S. Shimizu Nature Commun* 7:13508, 2016
7. Mitochondrial damage elicits a TCDD-inducible poly (ADP-ribose) polymerase-mediated antiviral response. *T. Kozaki, J. Komano, D. Kanbayashi, M. Takahama, T. Misawa, T. Satoh, O. Takeuchi, T. Kawai, S. Shimizu, Y. Matsuura, S. Akira, T. Saitoh PNAS in press*

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
技術補佐員：赤川裕美 事務補佐員：田中和子

研究内容

概略

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？」という課題を解明することを目的としています。哺乳動物のマウスおよび小型魚類のメダカとゼブラフィッシュをモデル生物に用いて、それぞれの長所を活かして、上記の課題に取り組んでいます。難治性疾患に対する再生療法の開発や創薬のためには、精緻な分子細胞生物学の構築が必須です。

研究紹介

1. 肝臓や脳の形成（発生と再生）を担うシグナル伝達経路に関する研究

細胞の生死を制御するリン酸化カスケードである JNK シグナル伝達経路や Hippo シグナル伝達経路は、個体発生に必須の役割を果たしています。我々は、ノックアウトマウスを作出し、JNK 経路が肝臓や脳の形成に必須であること、また、小型魚類のメダカやゼブラフィッシュを用いて、Hippo 経路が初期胚発生に必須であることを明らかにしてきました。現在は、これらシグナル伝達経路の成体における役割について研究しています。

2. 恒常性維持破綻によって生じるがん発症に関する研究

Hippo 経路は、細胞の数を規定し、「器官のサイズ」や「発がん抑制」を制御します。本シグナル経路の破綻は、ヒトの多様ながんの発症や悪性化に関与することが知られています。我々は、Hippo 経路の標的分子である転写共役因子 YAP がリン酸化以外にアセチル化やメチル化の翻訳後修飾を受けること、また、細胞増殖や細胞分化の制御に加えて細胞張力の制御も行うことを見出

してきました。現在は、本シグナル経路が肝臓の細胞社会を如何に監視し、発がん抑制を如何に制御しているかを研究しています。

3. 脊椎動物の初期胚発生と薬剤の発生毒性に関する研究

胚性幹（ES）細胞は、器官や組織を構成するすべての細胞に分化する能力を有しています。それ故、発生生物学を基盤にしている再生医学の研究にも用いられています。我々は、ES 細胞とケミカルバイオロジーの手法を用いて、脊椎動物の初期胚発生および催奇性薬剤の発生毒性の解明を行ってきました。現在は、脊椎動物の初期胚における物質代謝について研究しています。

4. 個体発生に伴う概日リズム形成に関する研究

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、生物に内在する分子時計により形成されます。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

不適切な細胞を除去する細胞競合を誘導する因子の同定に成功 (Scientific Reports 6, 28383, 2016)

生態系を構成する多様な生物個体が、限られた生息域内で互いに生存を賭けて争い、その結果「競合による適者生存」が起こることは広く知られています。同様に、生物個体を構成する細胞社会においても、異なる性質を持った細胞間で多彩な「競合」現象が生じることが近年の研究によって明らかになってきました。「細胞競合」と名付けられたこの現象は、個体発生における組織構築過程、優良な幹細胞の選別、前がん細胞の排除やがん細胞による正常細胞の排除など、多様な生命過程に関わっています。しかしながら、細胞競合の分子機構についてはまだほとんど未解明のままです。

我々は、接着や張力刺激に応答する転写共役因子 YAP 分子に着目し、哺乳動物の細胞競合を観察できる培養細胞の実験系を確立しました。その結果、活性化 YAP 細胞は、隣接する正常な細胞から排除されることを見出しました。この過程には、YAP 依存性の遺伝子発現が必要であること、アクチン骨格系の変化が必要であること、代謝に関与する PI3K や mTOR,

S6K などの分子が重要な働きをすることが判明しました。また、隣接正常細胞による活性化 YAP 細胞の排除には、隣接正常細胞中のフィラミンやビメンチンが関与すること、さらに、正常細胞内で別のがん原性遺伝子である Ras や Src が活性化されると、この細胞排除現象は抑制されることが示されました。すなわち、がん原性細胞が排除されるか否かは周辺細胞の状態に依存するということです。上述した細胞競合の分子機構に対して一定の回答を与える研究成果です(図 1)。

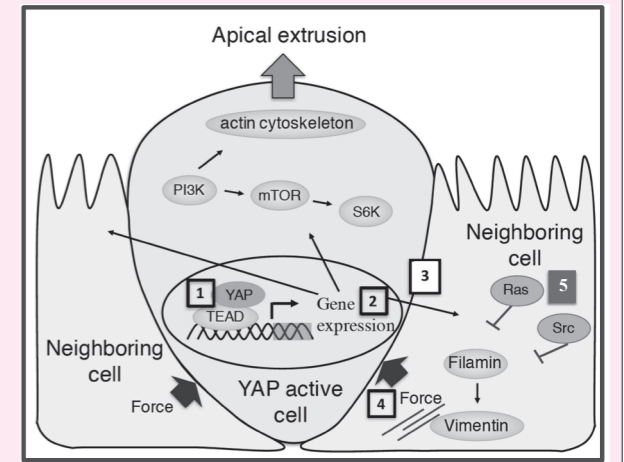


図 1 YAP 活性化異常細胞が隣接する正常細胞から排除される機構

人事異動

転入：Yikelamu Alifu (修士課程入学)、長岡勇也 (北里大学、研究従事者)、赤川裕美 (技術補佐員)
転出：千葉恭敬 (博士修了)、濱部凜、鹿野優佳 (修士修了)、三浦良太 (早稲田大学博士課程中退、就職)

業績目録

1. Yoshimi Okamoto-Uchida, Ruoxing Yu, Norio Miyamura, Norie Arima, Mari Ishigami-Yuasa, Hiroyuki Kagechika, Suguru Yoshida, Takamitsu Hosoya, Makiko Nawa, Takeshi Kasama, Yoichi Asaoka, Reiner Wimmer Alois, Ulrich Eling, Josef M. Penninger, Sachiko Nishina, Noriyuki Azuma and Hiroshi Nishina (2016) The mevalonate pathway regulates primitive streak formation via protein farnesylation. *Scientific Reports* 6, 37697. Press release
2. Takanori Chiba¹, Erika Ishihara¹, Norio Miyamura, Rika Narumi, Mihoko Kajita, Yasuyuki Fujita, Akira Suzuki, Yoshihiro Ogawa and Hiroshi Nishina (2016) Active form of YAP expressing MDCK cells are extruded apically depending on neighboring cells status. *Scientific Reports* 6, 28383. Press release
3. Yoichi Asaoka, Yoko Nagai, Misako Namae, Makoto Furutani-Seiki and Hiroshi Nishina (2016) SLC7 family transporters control the establishment of left-right asymmetry during or-

- ganogenesis in medaka by activating mTOR signaling. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 474, 146-153.
4. Miki Nishio, Keishi Sugimachi, Hiroki Goto, Jia Wang, Takumi Morikawa, Yosuke Miyachi, Yusuke Takano, Hiroki Hikasa, Tohru Itoh, Satoshi O Suzuki, Hiroki Kurihara, Shinichi Aishima, Andrew Leask, Takehiko Sasaki, Toru Nakano, Hiroshi Nishina, Yuji Nishikawa, Yoshitaka Sekido, Kazuwa Nakao, Kazuo Shin-ya, Koshi Mimori and Akira Suzuki (2016) Dysregulated YAP/TAZ and TGFβ signaling mediate hepatocarcinogenesis in Mob1a/1b-deficient mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 113, E71-E80.
 5. Yusuke Nasu, Yoichi Asaoka, Misako Namae, Hiroshi Nishina, Hideaki Yoshimura and Takeaki Ozawa (2016) Genetically Encoded Fluorescent Probe for Imaging Apoptosis in vivo with Spontaneous GFP Complementation. *Analytical Chemistry* 88, 838-844.
 6. Shunta Nagashima, Junichi Maruyama, Shodai Kawano, Hiroaki Iwasa, Kentaro Nakagawa, Mari Ishigami-Yuasa, Hiroyuki Kagechika, Hiroshi Nishina and Yutaka Hata (2016) Validation of chemical compound library screening for transcriptional co-activator with PDZ-binding motif inhibitors using GFP-fused transcriptional co-activator with PDZ-binding motif. *Cancer Science* 107, 791-802.
 7. Koichi Fujisawa, Shuji Terai, Taro Takami, Naoki Yamamoto, Takahiro Yamasaki, Toshihiko

Matsumoto, Kazuhito Yamaguchi, Yuji Owada, Hiroshi Nishina, Takafumi Noma and Isao Sakaida (2016) Modulation of anti-cancer drug sensitivity through the regulation of mitochondrial activity by adenylate kinase 4. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 16, 35 (1), 48.

1. 石原えりか、仁科博史：メカノトランスダクションにおける Hippo-YAP/TAZ シグナル伝達経路の役割 *CLINICAL CALCIUM* Vol 26, No 12, 101-106 (2016)
2. 石原えりか、仁科博史：Hippo-YAP/TAZ シグナルによる幹細胞・前駆細胞の分化制御 実験医学増刊「組織幹細胞」34, 62-67 (2016)
3. 石原えりか、仁科博史：Hippo-YAP/TAZ シグナル伝達経路とメカノトランスダクション 医学のあゆみ 257: 1037-1042 (2016)
4. 宮村憲央、仁科博史：器官サイズを制御する Hippo-YAP/TAZ シグナル伝達経路 ライフサイエンス 領域融合レビュー (2016)
5. 石原えりか、仁科博史：Hippo-YAP シグナル伝達経路を介した細胞競合 医学のあゆみ 257: 16108-16112 (2016)
6. 石原えりか、千葉恭敬、仁科博史：活性型 YAP 発現によって誘導される哺乳動物細胞の排除現象：生体の科学、Vol 67, No 2, 107-110 (2016)
7. 仁科博史：細胞のシグナル伝達 第1版 (Lim et al.) (翻訳分担) メダカル・サイエンス・インターナショナル (2016)
8. 仁科博史：分子細胞生物学 第7版 (Lodish et al.) (翻訳分担) 東京化学同人 (2016)

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
特任助教：毛利泰彰 日本学術振興会特別研究員（SPD）：森永浩伸
特任研究員：加藤靖子 プロジェクト助教：福田 誠

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と加齢によるその変遷の研究を通じて、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。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、2002年にマウス成体の毛包のバルジーサブバルジ領域内にはじめて同定し報告し（Nishimura EK. et al, Nature, 2002.）、最近、類似した性状を持った色素幹細胞を皮膚の汗腺の分泌部に発見し、メラノーマの発生との関連を示した（Okamoto N et al. PCMR, 2014）。毛包幹細胞、および表皮幹細胞については、幹細胞集団における不均一性と細胞運命についても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、最も典型的な老化現象の一つでもある。我々はこれまでに加齢マウスの髭毛包やヒト毛包において、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、白毛化が起こるを見い出している（Nishimura EK et al. Science 2005）。最近、毛包幹細胞も加齢によって自己複製せずに表皮へと運命をかえて分

化すること、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おり（Matsumura H et al. Science 2016）、組織幹細胞システムにおいて普遍的なメカニズムが存在していると考えられる。

3. ゲノム損傷下における組織幹細胞の運命制御と組織の老化・癌化のメカニズム

早老症候群など、ゲノムの不安定性によって早発性の白毛症（若白髪）や脱毛が高頻度に見られる。我々は、色素幹細胞は白髪を誘発するタイプのDNA損傷ストレスを受けると、ニッチの中で異所性に分化すること、その結果として幹細胞プールが枯渇し白髪となることを明らかにしてきた。さらに、そこで幹細胞を未分化のまま維持するか、分化させるかを決定する“自己複製のチェックポイント”（ステムネスチェックポイント）が存在することを明らかにしている（Inomata K. et al. Cell 2009）。最近、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ており（Matsumura H et al. Science 2016）その分子実体を解明すべく研究をすすめている。

4. 毛包が再生・老化する仕組み

我々の体を構築する組織や臓器の多くが、加齢に伴って特有の加齢変化を示しながら小型化し、その機能も低下する。しかし、その変化の仕組みについては殆ど明らかにされていない。われわれは、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。加齢に伴って毛包は再生を繰り返すが、その折に幹細胞分裂を余儀なくされる。若い個体では幹細胞が自己複製したり毛包になる細胞を供給したりするのに対して、加齢に伴って毛包幹細胞においてDNA損傷応答が遷延して認められるようになり、表皮の角化細胞へと分化する子孫細胞を生み出し、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縮小し、毛包自体がミニチュア化するため薄毛となることが明らかになった。その分子メカニズムとして加齢に伴うDNA損傷応答によって毛包幹細胞に誘導される好中球エラストラーゼ（ELANE）によって幹細胞の維持に必須のXVII型コラーゲン

（COL17A1）が失われ、毛包幹細胞が自己複製せずに表皮へと運命づけられることをマウスで見出し、ヒトにおいてもその傍証を得た。さらに、マウスの毛包幹細胞においてXVII型コラーゲンの枯渇を抑えると、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、また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）。

5. 表皮の再生機構の解明、幹細胞を用いた皮膚再生技術の開発、および幹細胞制御による再生技術の開発

ヒト表皮角化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、ヒト幹細胞を用いた再生医療の実例として認知されている。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、品質管理も不十分である。また、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、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、位相差顕微鏡を用いたタイムラプス観察とその画像解析から、培養ヒト表皮角化幹細胞を非侵

襲の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）。本研究成果は、非襲的にヒト表皮角化幹細胞を認識する手法として再生医療用の細胞生産での応用が期待される。より局所的な皮膚の再生戦略の開発に向けては、生体内に残存する毛包幹細胞や表皮幹細胞を標的として、生体内の幹細胞を直接に制御することによって難治性皮膚潰瘍の上皮化や脱毛症を治療する技術を開発中である。

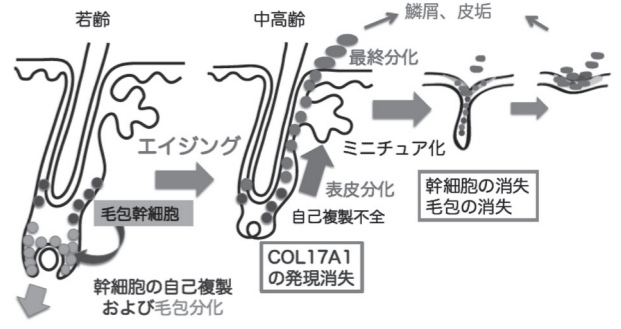


図 毛包の老化とそのメカニズム
加齢によって毛包幹細胞においてCOL17A1が消失すると毛包幹細胞が自己複製しなくなり、表皮分化と消失がひきおこされ、毛包がミニチュア化し消失して行くため、薄毛、脱毛がおこる。

業績目録	
原著論文	15日 西村栄美：ニッチ由来のKITLは色素幹細胞の自己複製において必須である：第27回日本色素細胞学会総会：（岐阜：岐阜大学サテライトキャンパス）2016年11月12-13日 西村栄美：Stem Cells orchestrates hair follicle aging program:第1回日仏交流ワークショップ：（京都：京都COOPINNホテル）2016年10月31-11月2日 西村栄美：Melanocyte stem cells in eccrine sweat glands: a potential origin of acral melanoma：第12回日独皮膚科学会：（長野：軽井沢プリンスホテルウエスト）2016年10月12-14日 西村栄美：組織の老化プログラムとは？：Molecular Cardiovascular Conference II 2016：（東京：東京ドームホテル）2016年9月2-3日 西村栄美：Environmentally induced extrinsic skin aging:JST・ライブニッツ協会共催ワークショップ”Healthy Ageng”：（東京：有明がんセンター研究所）2016年6月20-22日 西村栄美：毛包の老化と幹細胞の運命制御：第68回日本細胞生物学会大会：（京都：京都テルサ）2016年6月15-17日 西村栄美：色素幹細胞と皮膚の色素異常症：第115回日本皮膚科学会総会：（京都：国立京都国際会館）2016年6月3-5日 難波大輔：A mechanistic principle of multilayered epithelial formation from single human epidermal stem cells：日本生物物理学会第54回年会：（茨城：つくば国際会議場）2016年11月25日 難波大輔：A mechanistic principle of multilayered structure formation from single human epidermal stem cells：第27回CDBミーティング”Body Surface Tactics”：（兵庫：理化学研究所多細胞システム形成研究センター）2016年11月15日
国内学会招待講演	西村栄美：加齢による脱毛の仕組みから臓器の老化を考える：脳心血管抗加齢研究会2016：（東京：秋葉原UDX）2016年12月17-18日 西村栄美：毛包のエイジング：第24回毛髪科学研究会：（福岡：北九州国際会議場）2016年12月3日 西村栄美：幹細胞制御と毛包の老化：第39回日本分子生物学会年回：（バシフィコ横浜）2016年11月30-12月2日 西村栄美：組織、臓器の老化プログラム：第3回Geroscience Initiative Japan in Sendai～健康長寿を目指す老化医生物学～：（宮城：東北大学医学部）2016年11月26日 西村栄美：Stem cells orchestrates hair follicle aging program：第27回CDBミーティング”Body Surface Tactics”：（兵庫：理化学研究所多細胞システム形成研究センター）2016年11月
日本特許出願番号	特願2015-230477 出願日：2016年1月12日 発明の名称：『脱毛および白毛化を抑制もしくは改善するための組成物ならびにその使用』

発明者：西村栄美 松村寛行
特許出願人：国立大学法人東京医科歯科大学

国際学会招待講演

Emi K. Nishimura：New Insights in Stem Cell Research & Age-related Changes in Skin and Hair Pigmentation：46th Annual ESDR Meeting：（Munich, Germany）September 7-10, 2016
Emi K. Nishimura：Stem cell aginga clue to understand hair thinning and graying：1st International Symposium on Stem Cell Aging and Disease:（Tokyo: Ito Hall, The University of Tokyo）June 29, 2016

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』

外部資金獲得状況

- 1) 文部科学研究費補助金・基盤研究(S) 西村栄美（代表）(H26-30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』
- 2) 文部科学研究費補助金・新学術領域研究 西村栄美（代表）(H26-H30年度)『色素幹細胞における老化ストレスと幹細胞の運命制御』
- 3) 創薬支援推進事業・創薬総合支援事業（新規）西村栄美（代表）(H27年度)『組織再生に向けた表皮幹細胞制御分子発現調節剤の探索—HTSアッセイ系の確立』
- 4) 科学研究費補助金・基盤研究C（継続）難波大輔（代表）(H26-28年度)『ヒト表皮多層化に伴う細胞動態とアクチン繊維動態の全系譜解析』
- 5) 科学研究費補助金・若手研究B（新規）松村寛行（代表）(H26-28年度)『毛包幹細胞の分裂制御におけるヘミデスマソーム構成因子の役割とその仕組みの解明』

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
特任助教：赤津ちづる 特任講師：王継揚
特任研究員：唐森、高田俊太郎、Mohammad Aslam
技術補佐員：久留圭幸江、中野成子 事務補佐員：内藤宏美、澤田千賀子

研究内容

正常な免疫系では、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。非タンパク抗原への免疫応答のメカニズムはタンパク抗原への応答と根本的に異なるが、非タンパク抗原への応答や、非タンパク抗原での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については未解明の領域が多い。したがって、非タンパク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) 糖鎖、糖脂質および核酸関連抗原への抗体産生のメカニズムの解明
- 2) 全身性エリテマトーデス (SLE) や免疫性神経疾患におけ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膜輸送やタンパク質分解など細胞生物学的プロセスの役割の解明
- 5) 新規医薬品の開発

研究紹介

1. SLEの発症に関わる自己抗体産生制御メカニズムについての研究

SLEの発症にはRNA関連自己抗原であるSm/RNPへの自己抗体が重要な役割を果たす。抗DNA抗体産生B細胞が骨髄の未熟B細胞段階で除去などのトレランスを受けるのに対し、我々は、抗Sm/RNP抗体産生B細胞 (Sm/RNP反応性B細胞) を組織やフローサイトメトリーで同定する手法を開発し、Sm/RNP反応性B細胞が骨髄未熟B細胞でのトレランスを受けずに末梢リンパ組織に出現し、細胞死をおこすことを明らかにした (Kishi et al. PNAS 2012)。また、我々はB細胞で発現する抑制性受容体CD72を欠損マウスが中等度のSLE

を自然発症し、Fas欠損マウスとの交配で重症のSLEを発症することを示している (Xu et al. J. Immunol. 2013)。そこで、Sm/RNP反応性B細胞がSLE発症の際にどのようにしてトレランスを回避するのかを明らかにするために、CD72欠損マウスを用いた解析を行った。CD72欠損マウスの末梢リンパ組織のB細胞では、顕著にSm/RNP反応性B細胞が増加していたが、抗Sm/RNP抗体は産生しなかった。一方、CD72とFasの二重欠損により抗Sm/RNP抗体の産生がおこった。この知見は、CD72がSm/RNP反応性B細胞のトレランスに関わるが、CD72以外のトレランスの破綻との共存が自己抗体産生に必須であることを示している。さらに、我々は、CD72によるSLE発症防止メカニズムの解明を行い、CD72がSm/RNPを特異的に認識し、抗Sm/RNP抗体産生B細胞 (Sm/RNP反応性B細胞) の活性化を抑制することで、抗Sm/RNP抗体産生を阻止し、SLE発症を予防していることを明らかにした (Akatsu et al. J. Exp. Med. 2016, ハイライト参照)。

2. CD22結合シアル酸誘導体の開発とCD22糖鎖シスリガンドによるBリンパ球活性化の制御

CD22はSiglec2とも呼ばれる主にB細胞に発現する膜分子で、シアル酸を認識するとともに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抑制性の受容体である。CD22を含め、多くの細胞表面の糖鎖認識分子 (レクチン) は、同じ細胞が発現する糖鎖リガンド (シスリガンド) と会合し、シスリガンドによる制御を受けている。我々はCD22に高い親和性で結合する合成シアル酸誘導体を開発した。この化合物によりCD22と糖鎖シスリガンドの反応を阻害するとBCRシグナル伝達が抑制されることから、CD22がシスリガンドにより機能抑制を受けていることが明らかである。CD22はこれまでにCD45などと会合することが示されている。CD45は血液細胞で幅広く発現するフォスファターゼで、多量の糖鎖修飾を受けている。そこで、CD45欠損B細胞を用いて、CD45がシスリガンドとしてCD22の機能を制御するかの解析を行った。

3. BCRのエンドサイトーシスと分解

BCRが抗原に反応すると、抗原とともにエンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれる。受容体が細胞表面から消失することで受容体シグナル伝達が抑制されるとされている。細胞内に取り込まれた抗原は、エンドソームで分解され、抗原ペプチドがクラス2MHC分子 (MHCII) と会合し、MHCIIとともに細胞表面に運ばれる。このMHCIIと抗原ペプチドの複合体がT細胞によって認識されることで、T細胞によるB細胞のヘルプが始動する。受容体のエンドサイトーシスはEGF受容体などで詳細に解析され、エンドソームに移行した受容体

ハイライト

SLE発症に関わる核抗原Sm/RNPへの抗体産生を抑制するメカニズム—自己核酸と微生物核酸の識別の新たな分子機構—の解明

全身性エリテマトーデスは代表的な全身性自己免疫疾患で、種々の核抗原への自己抗体産生がおこるが、RNAと核タンパク質の複合体Sm/RNPへの自己抗体産生が疾患発症で重要な役割を果たすことが知られている。我々は、Bリンパ球にもっぱら発現する抑制性受容体CD72がSm/RNPに特異的に結合することで、抗Sm/RNP抗体産生B細胞での抗原受容体シグナル伝達を抑制し、抗Sm/RNP抗体産生を阻害することを明らかにした (図)。

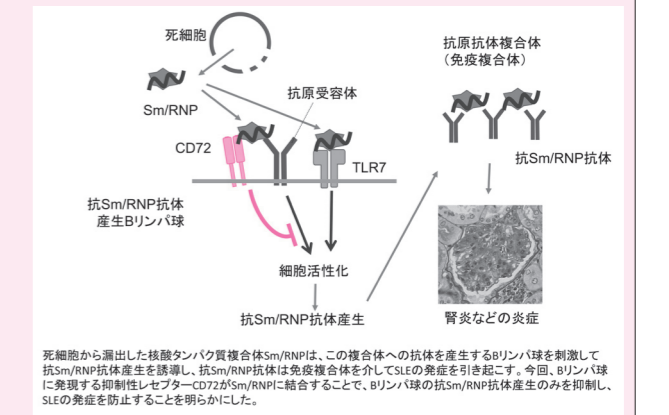
B細胞をはじめ種々の免疫細胞には核酸を認識して細胞の活性化を誘導する種々の受容体 (核酸センサー) が存在する。核酸センサーはウイルスなどの微生物が侵入した際に微生物由来の核酸を認識して、微生物に対する免疫応答をおこす。一方、核酸センサーは自己の核酸を認識し、核抗原への自己抗体産生を介してSLEの発症にも関わる。とりわけRNAを認識するTLR7はSm/RNPを認識して、抗Sm/RNP抗体産生を誘導することでSLE発症に関わる。

エンドソームにはTLR7やTLR9などの核酸センサーが存在する。自己の核酸はもっぱら死細胞から漏出したものだが、このような核酸は体液中のヌクレアーゼにより分解されるため、エンドソームにまでは

はintraluminal vesicles (ILV) を形成し、リソソームでの分解を受けるか、エクソソームとなって細胞外に放出されることが知られている。我々は、B細胞株にEGF受容体を発現させたところ、B細胞でもEGF受容体はEGFとの反応によりエンドソームへと移行し、ILVを形成して速やかに分解された。一方、BCRが架橋されるとBCRも速やかに細胞内に取り込まれ、エンドソームに移行したが、ILVを形成せず、エンドソームに長時間とどまることが明らかとなった。また、BCRが局在するエンドソームにはMHCIIも局在し、このことで抗原提示が効率的におこることが示唆された。

到達できない。一方、病原体の核酸は病原体内部に存在するため体液中のヌクレアーゼでは分解できず、細胞に貪食されてエンドソームで核酸センサーにより認識される。自己核酸であってもSm/RNPのような核酸とタンパク質の複合体はヌクレアーゼに耐性であるため、エンドソームの核酸センサーを介して細胞を活性化する。今回の我々の成果は、タンパク質と複合体を形成した自己核酸を病原体の核酸と識別するための仕組みとして、自己核酸とタンパク質複合体を認識する抑制性受容体の存在を明らかにしたものである。

また、CD72の機能を増強できると、SLEでの自己免疫応答のみを抑制することができるため、SLEの画期的な治療法になると期待される。



人事異動

転入：米水龍也 (大学院修士課程)、Yang, Hongrui (大学院修士課程)、Li, Xuexin (大学院修士課程)、澤田千賀子 (事務補佐員)
転出：唐森 (特任研究員)、内藤宏美 (事務補佐員)、高田俊太郎 (特任研究員)

業績目録

原著論文

1. Tsubata, T. (2016): CD22 and CD72 are inhibitory receptors dominantly expressed in B lymphocytes and regulate systemic autoimmune diseases. *Z. Rheumatol.* 75: 86-89.
2. Li, Y., Takahashi, Y., Fujii, S., Suzuki, A., Tsubata, T., Hase, K. and Wang, J.-Y. (2016):

- EAF2 mediates germinal center B cell apoptosis to suppress excessive immune responses and prevent autoimmunity. *Nat. Commun.* 7: 10836.
3. Akatsu, C., Shinagawa, K., Numoto, N., Liu, Z., Konuscan, A.U., Aslam, M., Phoon, S., Adachi, T., Furukawa, K., Ito, N. and Tsubata, T. (2016): CD72 negatively regulates B lymphocyte responses to the lupus-related endogenous Toll-like receptor 7 ligand Sm/RNP. *J. Exp. Med.* 213: 2691-2706.
4. Tsubata, T. (2017): B cell tolerance and autoimmunity. *F1000Research (F1000 Faculty Rev.)* (in press).

5. Adachi T, Kakuta S, Aihara Y, Kamiya T, Watanabe Y, Osakabe N, Hazato N, Miyawaki A, Yoshikawa S, Usami T, Karasuyama H, Kimoto-Nira H, Hirayama K, Tsuji NM. (2016): Visualization of Probiotic-Mediated Ca2+ Signaling in Intestinal Epithelial Cells In Vivo. *Front Immunol.* 7:601. doi: 10.3389/fimmu.2016.00601. PMID: 28018362 Free PMC Article
6. Yoshikawa S, Usami T, Kikuta J, Ishii M, Sasano T, Sugiyama K, Furukawa T, Nakasho E, Takayanagi H, Tedder TF, Karasuyama H, Miyawaki A, Adachi T. (2016): Intravital imaging of Ca(2+) signals in lymphocytes of Ca(2+) biosensor transgenic mice: indication of autoimmune diseases before the pathological onset. *Sci Rep.* 6:18738. doi: 10.1038/srep18738.

総説・著書

1. 鏑田武志 (2017) : 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(2) : 209-215.
2. 安達貴弘 (2016) : B細胞内のカルシウム伝達機構 第5回 B細胞カルシウムシグナル. *炎症と免疫.* 24(1) : 67-73.

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、不整脈、バージャー病、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件報告した (Oikawa, et al. BMC Cardivasc Discord 16: 84, 2016; Kawai, et al. Int Heart J 57: 507, 2016)。また、これまでの心筋症遺伝子研究に関する体系的総説を発表した (Kimura, J Hum Genet 61: 40, 2016)。

2. 冠状動脈硬化症関連遺伝子群の検索

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を作製し、動脈硬化病態を検討している。一方、Lp-PLA2 阻害剤は、心血管疾患の治療薬として開発され、大規模臨床試験が行われたが効果がなかったと最近報告されている。我々は、Lp-PLA2 遺伝子の Loss-of-function 多型が心血管疾患と関連しないこ

とを以前に報告していたが、さらなる大規模国際共同に参加し、Lp-PLA2 遺伝子の複数の活性喪失多型のいずれもが心血管疾患と関連しないことを明確にした (Gregson, et al. Eur J Prev Cardiol, In Press)。

3. 難治性不整脈の病因究明

難治性不整脈の病因と病態解明に関連する共同研究として、QT 延長症候群、Brugada 症候群、洞不全症候群などについて、候補遺伝子アプローチによる新規不整脈原因遺伝子の探索を実施している。本年は、共同研究に参加し、IRX3 遺伝子変異が新たな不整脈原因遺伝子であることを明らかにした (Koizumi, et al. Eur Heart J 37: 1469, 2016)。

4. 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。昨年までに引き続き、HLA 領域内の自己免疫関連遺伝子である NFKBIL1 による選択的スプライシング制御と HIV 感染との関連を検討している。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、アカゲザルワクチン個体の解析から、CTL 誘導と抗体誘導の相乗効果や、MHC に依存したエピトープ別の CTL サイズの違いを明確に示した (Iseda, et al. J Virol 90: 6276, 2016; Ishii, et al. Sci Rep 6: 30153, 2016)。また、ペンギン属の MHC クラス I 遺伝子の全構造を決定するとともに、フンボルトペンギン個体群における遺伝的多様性を検討することで、ペンギン属集団における特徴的な分岐を明らかにした (Kikkawa, et al. Immunogenetics, In Press)。

5. エイズ感受性・抵抗性関連遺伝子の探索

HIV 感染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大きな個人差が存在する。このような HIV/AIDS への感受性・抵抗性に関わるヒトゲノム多様性について、進化学的観点から検討している。本年は、APOBEC3H 多型が HIV-1 感染感受性制御に寄与することを明らかにした (Naruse, et al. J Hum Genet 61 : 263, 2016)。

ハイライト

フンボルトペンギンの MHC クラス I 遺伝子多様性 (Kikkawa, et al. Immunogenetics, In Press)

MHC 遺伝子は免疫学的な自己・非自己の認識を担うが、中でも MHC クラス I 遺伝子はウイルス感染細胞の排除に関わる。MHC クラス I 遺伝子には著明なゲノム多様性が認められ、とりわけウイルス抗原ペプチドの提示に関わる領域に多様性が集中していることから、これらの多様性は宿主とウイルスとの競合進化の結果として形成されたものと考えられている。ペンギン属は南半球に広く分布しているが、南極から赤道直下までの多様な環境に適応してそれぞれの地域で特異な進化を果たして来たものと考えられる。そこで、ペンギン属の代表としてフンボルトペンギンを取り上げ、MHC クラス I 遺伝子の全構造を決定するとともに、多数の個体を対象として多型解析を行った。さらに、それらのデータを用いて、鳥類の進化系統におけるペンギン属の位置づけを検討するとともに、フンボルトペンギンにおける MHC クラス I 遺伝子の多様性形成機序を検討した。その結果、鳥類は MHC クラス I 遺伝子が重複した群と重複していない群の大きく 2

群に大別され、ペンギン属は後者に属すること、遺伝子重複は前者において種分化の後に独立して生じたことが推定された (図)。さらに、フンボルトペンギン内における MHC クラス I 遺伝子の多様性は 8 つの祖先型に分類できることが判明した。また、哺乳類と同様に、MHC クラス I 遺伝子多型は抗原ペプチドの結合に関わる領域に特に集中しており、ここに進化選択圧がかかったことが示唆される。

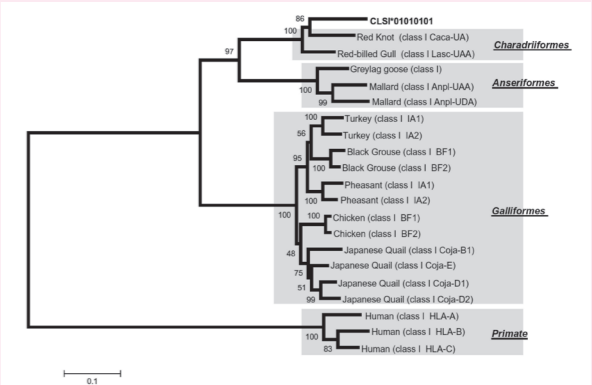


図 MHC クラス I 遺伝子を指標にした鳥類の系統樹。鳥類における MHC クラス I 遺伝子の重複分岐を示すが、最上部にフンボルトペンギンを配置している。MHC クラス I 遺伝子は鳥類の一部 (ニワトリ、日本ライチョウ、七面鳥等) でのみ重複しているが、この重複はそれぞれの種分岐の後に独立して生じたものと考えられる。

人事異動

転入：9月に研究補助員の大久保奈菜が退職。
転出：12月に研究補助員の佐藤美佐子が入職。

業績目録

1. Tanaka T, Kimura A. Cardiovascular Genetics. J Hum Genet. 2016; 61(1): 1.
2. Kimura A. Molecular genetics and pathogenesis of cardiomyopathy. J Hum Genet. 2016; 61(1): 40-51.
3. Koizumi A, Sasano T, Kimura W, Miyamoto Y, Aiba T, Ishikawa T, Nogami A, Fukamizu S, Sakurada H, Takahashi Y, Nakamura H, Ishikura T, Koseki H, Arimura T, Kimura A, Hirao K, Isobe M, Shimizu W, Miura N, Furukawa T. Genetic defects in a His-Purkinje system transcription factor, IRX3, cause lethal cardiac arrhythmias. Eur Heart J. 2016; 37(18): 1469-1475.
4. Naruse TK, Sakurai D, Ohtani H, Sharma G, Sharma SK, Vajpayee M, Narinder KM, Kaur G, Kimura A. APOBEC3H polymorphisms and susceptibility to HIV-1 infection in an Indian popu-

lation. J Hum Genet. 2016; 61(3): 263-265.
5. Iseda S, Takahashi N, Poplimont H, Nomura T, Seki S, Nakane T, Nakamura M, Shi S, Ishii H, Furukawa S, Harada S, Naruse TK, Kimura A, Matano T, Yamamoto H. Biphasic CD8+ T-cell defense in elite SIV control by acute-phase passive neutralizing antibody immunization. J Virol. 2016; 90(14): 6276-6290.
6. Oikawa M, Sakamoto N, Kobayashi A, Suzuki A, Yoshihisa A, Yamaki T, Nakazato K, Suzuki H, Saitoh S, Kiko Y, Nakano H, Hayashi T, Kimura A, Takeishi Y. Familial hypertrophic obstructive cardiomyopathy with the GLA E66Q mutation and Zebra body. BMC Cardiovasc Disord. 2016; 16(1): 83.
7. Kawai H, Morimoto S, Takakuwa Y, Ueda A, Inada K, Sarai M, Arimura T, Mutoh T, Kimura A, Ozaki Y. Hypertrophic cardiomyopathy accompanied by spinocerebellar atrophy with a novel mutation in troponin I gene. Int Heart J. 2016; 57(4): 507-510.
8. Ishii H, Matsuoka S, Nomura T, Nakamura M, Shiino T, Sato Y, Iwata-Yoshikawa N, Hasegawa H, Mizuta K, Sakawaki H, Miura T, Koyanagi Y, Naruse TK, Kimura A, Matano T. Association of lymph-node antigens with lower Gag-specific

central memory and higher Env-specific effector-memory CD8+ T-cell frequencies in a macaque AIDS model. Sci Rep. 2016; 6: 30153.
9. Kikkawa E, Tanaka M, Naruse TK, Tsuda TT, Tsuda M, Murata K, Kimura A. Diversity of MHC class I alleles in *Spheniscus humboldti*. Immunogenetics, In Press
10. 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, 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. がんのゲノム・エピゲノム解析によりマイクロRNAを含む癌関連遺伝子を同定し病態形成機構を明らかにするとともに、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CQとL-aspの併用治療法のドラッグリポジショニング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. 乳がん発生機構の解明を目指して、乳がん原因遺伝子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、BRCA2の中心体制御、細胞質分裂に於ける新規機能を同定した。
2. BRCA遺伝子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ている。
3. エストロゲン(E2)およびエストロゲン受容体(ER)によるBRCA2の発現制御機構の解明を進めている。
4. BRCA2は、細胞周期のS期にヒストンH3に結合して、メチルトランスフェラーゼ活性を制御することを見出し、この新規機能の解析を進めている。

【分子疫学】

1. DNA修復酵素CHD4の非同義置換pD140Eが発癌リスクと関連していることを明らかにした。
2. 多因子疾患の遺伝子検査結果を医師の説明を介して回付した場合、被験者の健康観・疾病観に与える影響についての研究を進めている。

【エピジェネティクス】

1. LTRレトロトランスポゾン由来の*SIRH*遺伝子群が、哺乳類でもヒトおよびマウスを含む真獣類のグループに多数存在することを報告し、そのうち*Peg10*、*Peg11/Rtl1*、*Sirh7*の3つの遺伝子が胎盤形成に関わる様々な機能、*Sirh11*が脳の認知機能に必須な役割をはたしていることを明らかにした。
2. 哺乳類におけるLTRレトロトランスポゾン由来の遺伝子の分布を調べると、上記の*SIRH*遺伝子群およびもう一つの*PNMA*遺伝子群は、胎生の哺乳類のグループ(真獣類と有袋類)にのみ存在し、真獣類に多く存在していることが明らかになった。これら*SIRH*および*PNMA*遺伝子群は、真獣類と有袋類の分岐やそれぞれの進化に重要な機能を果たしていると考えられる。
3. 体外受精や顕微授精といった生殖補助医療技術が、個体発生に与える影響を、マウスモデルとともにヒト受精卵をもちいて解析している。

【ゲノム病理学】

1. 癌のXenograftモデルを用いて並列型シーケンサーによる包括的遺伝子発現解析により癌-間質相互作用のプロファイルを行うソフトウェアを開発し公開した。臨床腫瘍組織を直接免疫マウスに移植したPatient-Derived-Xenograft(PDX)についても解析を行っている。
2. がん免疫治療のバイオマーカーの探索を目的として腫瘍浸潤リンパ球の免疫ゲノミクス解析を行っている。
3. 機械学習技術を用いて、デジタル病理画像より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開始した。

【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、300例の肝がんの全ゲノムを解析し、ゲノム変化をもとに6つの亜病態分類ができ、かつそれぞれ全く異なる予後であることを示しました。とくに、再発が大変起こりにくい、新規遺伝子にゲノム変異を持つクラスターの存在を発見しました。
2. QT延長症候群の20%の症例は原因が不明ですが、全エクソーム解析とタンパク質間相互作用ネットワーク解析により、新たな原因を発見し、かつ、その半数がカルモジュリン分子と相互作用することを見出しました。
3. 4つの最新のエクソーム実験キットを比較し、またハロプレックス法と統合することでカバー率を上げ、先天性神経疾患や難聴の新たな原因遺伝子を発見しました。

ゲノム応用医学研究部門 分子細胞遺伝分野

教授：稲澤謙治 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展開する「トランスレーションリサーチ」に多大な期待が寄せられている。私たちは、ゲノム構造変化、エピゲノム遺伝子制御機構、体系的遺伝子発現解析など統合的ゲノム解析研究を推進し、がん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、未だ不明な点が多い。がんの浸潤・転移を制御するハイブシン経路の分子機構を解明した。当該成果はタンパク質翻訳機構を標的とした新たながん治療法への応用が期待される (Muramatsu T et al., *Oncogene* 2016)。さらに、マイクロRNA-1246 は DENND2D を標的とすることで口腔扁平上皮癌細胞の移動および浸潤に深く関与する可能性を見出した。(Sakka S et al. *Scientific Report* 2016)。

② オートファジー活性を指標としたがん個別化医療

オートファジーは、がん細胞の生存・薬剤耐性に寄与する。しかし、各がんにおいて、オートファジー活性が異なるため、その活性に基づいたがんの治療戦略が重要になる。2016 年度には、急性リンパ性白血病 (ALL) における L-アスパラギナーゼ (L-asparaginase; L-asparaginase) 投与時のオートファジー作用を解明した。これにより、オートファジーを標的とした急性リンパ性白血病に対する新規治療法の可能性が期待される。具体的には、ALL 治療において L-asparaginase 治療にオートファジー阻害薬クロロキン (Chloroquine; CQ) を併用することで、p53 依存的な細胞死が惹起されるこ

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 CQ と L-asparaginase 併用治療法のドラッグリポジショニングによる効果的な小児 ALL 治療法の新展開が期待される (Takahashi H et al. *Oncogene* 2017)。

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、13 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。

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 の探索および最適化 DDS の開発を実施している。

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 645 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。その成果として、原因不明とされていた日本人先天異常症 645 例のうち、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) をみつけだすことができた (ハイライト) (Uehara DT et al. *J Hum Genet.* 2016)。

ハイライト 1

小児急性リンパ性白血病 (acute lymphoblastic leukemia; ALL) に対する治療法として、古くから L-アスパラギナーゼ (L-asparaginase; L-asparaginase) がゴールドスタンダードとして使用されてきた。しかし、一部の患児は、L-asparaginase に低感受性であり、L-asparaginase 治療の根本的な生理作用の理解に基づいた L-asparaginase 感受性の増強による、ALL 治療の新戦略が必須であった。

そのような状況において、ALL 細胞は、① L-asparaginase

処理によりオートファジーによる傷害ミトコンドリアの除去が活性化すること、②オートファジー阻害薬クロロキン (CQ) を併用することにより、L-asparaginase 感受性が増強されること、③それら併用の効果が、p53 依存的細胞死に起因することを明らかにした。p53 遺伝子変異検出によるコンパニオン診断および既存薬 CQ のドラッグリポジショニングによる小児 ALL の新たな治療戦略が期待される (Takahashi H et al. *Oncogene* 2017)。

業績目録

原著論文

1. Takahashi H, Inoue J, Sakaguchi K, Tanakagi M, Mizutani S, and Inazawa J. Autophagy is required for cell survival under L-asparaginase-induced metabolic stress in acute lymphoblastic leukemia cells. *Oncogene* 2017 in press.
2. Sakha S, Muramatsu T, Ueda K, Inazawa J: Exosomal microRNA miR-1246 induces cell motility and invasion through the regulation of DENND2D in oral squamous cell carcinoma. *Sci Rep.* 6:38750. 2016
3. Oikawa Y, Morita KI, Kayamori K, Tanimoto K, Sakamoto K, Katoh H, Ishikawa S, Inazawa J, Harada H: Receptor tyrosine kinase amplification is predictive of distant metastasis in patients with oral squamous cell carcinoma. *Cancer Sci.* Nov. 2016 [Epub ahead of print]
4. Tumurkhuu T, Fujiwara T, Komazaki Y, Kawaguchi Y, Tanaka T, Inazawa J, Ganburged G, Bazar A, Ogawa T, Moriyama K: Association between maternal education and malocclusion in Mongolian adolescents: a cross-sectional study. *BMJ Open.* 6:e012283. 2016
5. Shiraishi K, Okada Y, Takahashi A, Kamatani Y, Momozawa Y, Ashikawa K, Kunitoh H, Matsumoto S, Takano A, Shimizu K, Goto A, Tsuta K, Watanabe S, Ohe Y, Watanabe Y, Goto Y, Nokihara H, Furuta K, Yoshida A, Goto K, Hishida T, Tsuboi M, Tsuchihara K, Miyagi Y, Nakayama H, Yokose T, Tanaka K, Nagashima T, Ohtaki Y, Maeda D, Imai K, Minamiya Y, Sakamoto H, Saito A, Shimada Y, Sunami K, Saito M, Inazawa J, Nakamura Y, Yoshida T, Yokota J, Matsuda F, Matsuo K, Daigo Y, Kubo M, Kohno T: Association of variations in HLA class II and other loci with susceptibility to EGFR-mutated lung adenocarcinoma. *Nat Commun.* 7:12451. 2016
6. Ozawa N, Sago H, Matsuoka K, Maruyama T,

- Migita O, Aizu Y, Inazawa J: Cytogenetic analysis of spontaneously discharged products of conception by array-based comparative genomic hybridization. *Springerplus.* 5:874. 2016
7. Nuylan M, Kawano T, Inazawa J, Inoue J: Down-regulation of LAPTM5 in human cancer cells. *Oncotarget.* 7:28320-8. 2016
8. Muramatsu T, Kozaki K, Imoto S, Ymaguchi R, Tsuda H, Kawano T, Fujiwara N, Morishita M, Miyano S, Inazawa J: The hypusine cascade promotes cancer progression and metastasis through the regulation of RhoA in squamous cell carcinoma. *Oncogene* 35:5304-5316. 2016
9. Okada Y, Muramatsu T, Suita N, Kanai M, Kawakami E, Iotchkova V, Soranzo N, Inazawa J, Tanaka T: Significant impact of miRNA-target gene networks on genetics of human complex traits. *Sci Rep.* 6:22223. 2016
10. Morishita M, Muramatsu T, Suto Y, Hirai M, Konishi T, Hayashi S, Shigemizu D, Tsunoda T, Moriyama K, Inazawa J: Chromothripsis-like chromosomal rearrangements induced by ionizing radiation using proton microbeam irradiation system. *Oncotarget* 7:10182-92. 2016
11. Sudo G, Kagawa T, Kokubu Y, Inazawa J, Taga T: Increase in GFAP-positive astrocytes in histone demethylase GASC1/KDM4C/ JMJD2C hypomorphic mutant mice. *Genes Cells.* 21:218-25 2016
12. Uehara DT, Hayashi S, Okamoto N, Mizuno S, Chinen Y, Kosaki R, Kosho T, Kurosawa K, Matsumoto H, Mitsubuchi H, Numabe H, Saitoh S, Makita Y, Hata A, Imoto I, Inazawa J: SNP array screening of cryptic genomic imbalances in 450 Japanese subjects with intellectual disability and multiple congenital anomalies previously negative for large rearrangements. *J Hum Genet* 61:335-43. 2016

各種受賞

1. 高橋寛吉：平成 27 年度難治疾患研究所大学院生部門 1 位受賞。

2. Daniela Tiaki Uehara：平成 27 年度難治疾患研究所難治疾患研究賞受賞
3. 藤原直人：2015 年難治疾患研究所優秀論文賞受賞
4. 藤原直人：東京医科歯科大学医科同窓会第 29 回研究奨励賞受賞
5. Daniela Tiaki Uehara：平成 28 年度学長裁量優秀若手研究者奨励賞受賞

学位 (博士) 取得者

1. Daniela Tiaki Uehara: SNP array screening of cryptic genomic imbalances in 450 Japanese subjects with intellectual disability and multiple congenital anomalies previously negative for large rearrangements.
2. Nuylan Michelle Loyola: Down-regulation of LAPTM5 in human cancer cells.
3. 森下真紀: Chromothripsis-like chromosomal rearrangements induced by ionizing radiation using proton microbeam irradiation system.
4. 谷中淑光: miR-544a induces epithelial-mesenchymal transition through the activation of WNT signaling pathway in gastric cancer.

特許取得

〈特許取得 - 海外 (US)〉

1. 2016 年 1 月 5 日、特許第 9229003 号、「甲状腺癌の検出方法」、稲澤謙治・井本逸勢・石原孝也・津田均、国立大学法人東京医科歯科大学・富士フィルム株式会社、12/503,434

〈特許取得 - 海外 (EP)〉

1. 2016 年 6 月 1 日、特許第 2319938 号、「先天性異常症の染色体欠失の検出方法」、稲澤謙治・林深・井本逸勢、国立大学法人東京医科歯科大学・富士フィルム株式会社、098030729
2. 2016 年 8 月 24 日、2261370 号、特許「核酸マイクロアレイの異常スポットを検出する方法」、稲澤謙治・井本逸勢、国立大学法人東京医科歯科大学・富士フィルム株式会社、101640514

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

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。この機能は、発がんを予防する守護者である一方で、がん組織内では抗がん剤による DNA 損傷を修復し細胞死誘導を低下させ治療抵抗性をもたらす。また、BRCA1・2 は、それ以外にも DNA 安定性を維持する多くの機能を有し、それらの機能障害も同じく乳腺発がんを誘導する。そこで、BRCA1・2 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. 中心体結合における BRCA2 の生理的役割

遺伝性乳がんの原因遺伝子産物 BRCA2 は、テロメア恒常性維持、中心体動態制御など、ゲノム安定性に深く関与することが報告されている。BRCA2 は中心体局在化シグナル (centrosomal localization signal: CLS) を介して中心体に局在するが、その詳細は明らかにされていない。我々は、CLS と相互作用するタンパクを同定し CLS の中心体移行メカニズムの解明を試みた。HA-CLS-DsRed を細胞で発現後、細胞溶解液を免疫沈降し、その免疫沈降物を直接トリプシン消化して質量分析 (QTRAP 5500 LC/MS/MS システム) で解析した結果、細胞質ダイニン 1 の構成タンパクである重鎖 1 と中間軽鎖 2 を同定した。これは、BRCA2 が CLS を介して細胞質ダイニンに結合して中心体に輸送されることを示すものである。

2. エストラジオール誘導による BRCA2 遺伝子発現機構の解析

BRCA2 遺伝子変異が乳がんや卵巣がんの発症を誘導することから、BRCA2 タンパク機能とエストロゲンとの関連性が強く示唆されている。近年、エストロゲン (エストラジオール: E2) が結合したエストロゲン受容体 (ER) が、BRCA2 の転写因子として報告され、BRCA2 発現は、DNA 損傷及び細胞周期 S 期における転写因子 USF1/2、NF- κ B、E1f1 に、E2 に応じて増加する E2-ER (E2 と ER の複合体) を加えた 4 つの転写因子が関与している。特に、E2 刺激時には、E2-ER 及び細

胞周期依存的転写因子 USF1/2 の 2 種が BRCA2 発現に関わる。そこで、E2-ER と USF1/2 の BRCA2 の発現機構を解析した。E2-ER と USF1/2 は、BRCA2 プロモーター領域の sp1 及び E-box モチーフに結合することが報告されている。そこで、E-box モチーフを含む領域 A (-49+129) と -491 から +129 の領域 B のプロモーター活性を解析し、領域 A のプロモーター活性は、細胞周期 M 期に比べて S 期で有意に増加したが E2 添加で差は認められなかった。一方、領域 B のプロモーター活性は、M 期に比べ S 期の増加と E2 添加による増加がみとめられた。これは、BRCA2 発現は、異なる 2 つの転写因子によって制御されている可能性を示唆するものである。

3. H3K4 ヒストンメチル化機構における BRCA2 の新規機能解析

RIME 法 (Rapid Immunoprecipitation Mass spectrometry of Endogenous proteins) を用いたインタラクトーム解析、ヒストンペプチドアレイ解析から、染色体上に局在する BRCA2 の相互作用候補分子として、ヒストン H3 トリメチルリジン 9 (H3K9me3) を同定した。そこで、BRCA2 の直接的な H3K9me3 への結合を調べたが、陰性であったため、H3K9me3 への結合が報告されているヘテロクロマチンタンパク 1 γ (HP1 γ) を介して相互作用する可能性を考え検討した。その結果、BRCA2 の HP1 γ を介した H3K9me3 への相互作用を明らかにした。さらに BRCA2 が、ヒストン H3 の 4 番目のリジン (H3K4) を標的とするメチル化酵素 MLL1 と相互作用し、BRCA2、HP1 γ のノックダウンにより H3K4 のトリメチル化レベルが低下することを確認した。これらの結果から、BRCA2 は、MLL1 をヒストン H3K9 にリクルートして、ヒストン H3K4 のメチル化、さらに転写活性を制御する可能性を明らかにした。

4. FKBP51 の RhoA シグナル経路を通じた細胞の遊走能、浸潤能の制御

FKBP51 (FK506 結合タンパク 51) は、種々のシグナル経路、発がん及び薬剤耐性に関与すること、その発現がメラノーマや膵臓がんの転移に関わること等が報告

されているが、そのメカニズムは明らかでない。我々は、FKBP51 の新規パートナーとして DLC1・DLC2 を同定した。両分子は RhoGTPase 活性化タンパク (RhoGAP) として知られ、種々のがんが発現低下がみられており、RhoGAP の低下は活性化型 Rho の蓄積を誘導する。我々は、FKBP51 の過剰発現による DLC1・DLC2 への結合増加が、RhoGAP である DLC1・DLC2 機能を抑制し、

RhoA 活性を上昇させ、その結果、Rho-ROCK シグナルが亢進し細胞の遊走能や浸潤能が促進することを明らかにした。これらは、FKBP51 の発現亢進が RhoA、ROCK を活性化し、細胞の遊走・浸潤能を亢進させ、がんの転移・悪性化に寄与している可能性を示すものである。

ハイライト

BRCA2 は、細胞質ダイニンによって中心体に輸送されて、S 期中心体の結合を制御する (Malik S. *et al.* Cell Cycle 15, 2016)

BRCA2 や CDK2 のリン酸化酵素活性を誘導するサイクリン E は、中心体局在化シグナル (centrosomal localization signal: CLS) を介して中心体に局在する。今回、BRCA2 が、CLS を介して細胞質ダイニンの中間軽鎖 2 と結合して中心体に移行することを見出した。さらに、CLS を含むポリペプチド (HA-CLS-DsRed) の発現、siRNA によるダイニンの発現抑制、EHNA によるダイニンの活性阻害は、2 個の S 期中心体を引き離した。また、BRCA2 と C-Nap1 の同時発現抑制は、C-Nap1 単独の発現抑制と比較してより中心体を引き離した。この結果から S 期中心体の結合は、C-Nap1/Rootletin による中心小体の結合と中心体表面を取り巻く BRCA2 を介した中心体結合の 2 つの異なるシステムによって制御されていることが示唆された (図)。また、BRCA2 の中心体への移行阻害は、Cdk2-cyclin

A の活性阻害による G1 arrest を引き起こし BRCA2 の中心体における機能が重要であることを示唆する結果が示された。

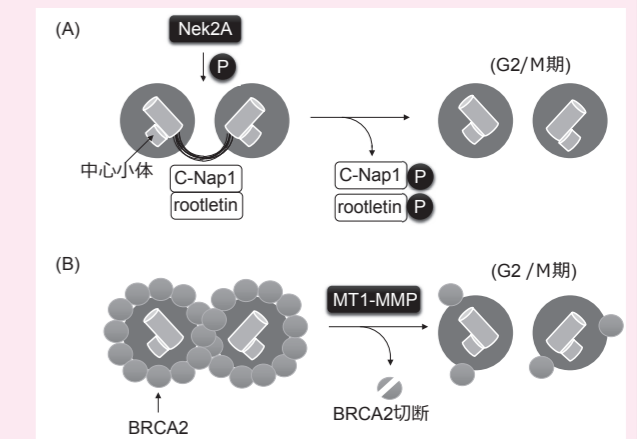


図 S 期から G2/M 期移行における中心体の結合・分離機構
2 個の S 期中心体は、その内外両面から厳密に繋ぎ止められている。(A) S 期中心体は、C-Nap1/rootletin が中心小体を繋ぎとめている。M 期移行に伴い、Nek2A が C-Nap1/rootletin をリン酸化して中心小体から脱落して 2 つの中心体が離れる。(B) S 期において BRCA2 は、中心体の周りに局在して中心体の周囲から 2 つの中心体を繋ぎとめている。M 期に MT1-MMP によって BRCA2 は切断されて中心体から脱落して 2 つの中心体が離れる

人事異動

転入: 佐藤亜美 (修士課程)、山田翔太 (修士課程)、鄧宇 (大学院研究生)
転出: 伊藤俊 (修士課程)、梅垣麻里子 (修士課程)、佐藤玄 (修士課程)

業績目録

原著論文

- 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* doi:10.1007/s12253-016-0175-1, 2017.
- Khanom R, Nguyen CT, Kayamori K, Zhao X, Morita K, Miki Y, Katsube K, Yamaguchi A, Sakamoto K. Keratin 17 Is Induced in Oral Cancer and Facilitates Tumor Growth. *PLoS One* 11:e0161163, 2016.
- Malik S, Saito H, Takaoka M, Miki Y, Nakanishi A. BRCA2 mediates centrosome cohesion via an interaction with cytoplasmic dynein. *Cell Cycle* 15:2145-2156, 2016.
- 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* doi:10.1111/jop.12485, 2016.
- Osumi H, Shinozaki E, Suenaga M, Matsusaka S, Konishi T, Akiyoshi T, Fujimoto Y, Nagayama S, Fukunaga Y, Ueno M, Mise Y, Ishizawa T, Inoue Y, Takahashi Y, Saiura A, Uehara H, Mun M, Okumura S, Mizunuma N, Miki Y, Yamaguchi T. RAS mutation is a prognostic biomarker in colorectal cancer patients with metastasectomy. *Int J Cancer* 139:803-811, 2016.
- Pal SK, Nguyen CT, Morita KI, Miki Y, Kayamori K, Yamaguchi A, Sakamoto K. THBS1 is induced by TGF β 1 in the cancer stroma and promotes invasion of oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 45:730-739, 2016.

- Takaoka M, Ito S, Miki Y, Nakanishi A. FKBP51 regulates cell motility and invasion via RhoA signaling. *Cancer Sci* doi:10.1111/cas.13153, 2016.

- Wang J, Ding Q, Fujimori H, Motegi A, Miki Y, Masutani M. Loss of CtIP disturbs homologous recombination repair and sensitizes breast cancer cells to PARP inhibitors. *Oncotarget* 7:7701-7714, 2016.

総説

- 三木 義男; 編集: 最新遺伝性腫瘍・家族性腫瘍研究と遺伝カウンセリング (遺伝子医学 MOOK 別冊: 最新遺伝医学研究と遺伝カウンセリング シリーズ 1 メディカルドゥ), (2016.09)
- 三木 義男; Basic Science と外科 次世代シケンサーによるがんゲノム研究の最前線. *日本外科学会雑誌* 117 巻 6 号, 616-618, (2016.11)
- 青木 大輔, 富田 尚裕, 中村 清吾, 三木 義男, 武藤 香織; 【遺伝性腫瘍-実地臨床での対応を目指して】 遺伝性腫瘍 本邦における診療基盤の確立を考える. *日本医師会雑誌* 145 巻 4 号 Page677-689 (2016.07.01)

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 Diseases) の発症・進展と遺伝子および環境因子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をする。基本的には疫学フィールドや臨床サンプルを持つ研究グループとの共同研究のもとで、疾患の発症に及ぼす遺伝子および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の解析を行う。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、慢性閉塞性肺疾患 (COPD) などである。これらの日常的疾患は多因子疾患であり、遺伝子-環境因子、遺伝子-遺伝子の交互作用の影響を包括的に捉えるためバイオインフォマティクス研究も進めている。また日常的慢性疾患の発症には出生前環境要因も関連し、Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD) という概念が提唱されているが、その分子メカニズムはまだ明らかではない。日常的慢性疾患を生殖周産期に遡り先制的に予防することを将来可能にすることを目的として、我々は子宮内環境変化が児に与える影響をマルチオミックス解析により検討している。

研究紹介

1. TAP2 遺伝子多型と肺結核症の関連研究

Transporter associated with antigen processing gene 2 (TAP2) は抗原提示反応を司る細胞内パスウェイを構成することにより、結核菌の免疫反応に関連していることが知られている。TAP2 の遺伝子多型が結核と関連している報告が、インド、コロンビア、韓国からあるが、日本ではまだない。本研究では、(都)健康長寿医療センターが運営している JG-SNP にある連続剖検例 (n=1850) のデータベース及びサンプルを用いて調べた。剖検時の結核肉芽種を持つものは 289 人、持たないものは 1529 人いた。TAP2 領域の単一塩基多型 (SNP) を 24 個を DNA チップ法 (イルミナ Human Exome Beads Chip Array) で解析したデータを用いた。24 個の SNP のうち rs4148871, rs4148876 (R651C), および rs2857103 が粗解析で有意な相関を認め、優性モデルに

おいて、性・年齢・喫煙の有無で調整後も有意を認めた。ハプロタイプ解析を行ったところ、TAP2* 0103 アレルは肺結核のリスクを上げ (OR=1.48, p=0.0008) TAP2*0201 アレルは肺結核のリスクを下げる (OR=0.73, p=0.0007) ことが解った。以上のことより TAP2 遺伝子多型は日本人の肺結核と関連していることが示された。

2. ZFHx3 遺伝子多型と心房細動、脳梗塞、肺塞栓との関連研究：高齢者連続剖検例による解析

ZFHx3 遺伝子の SNP rs2106261 は心房細動のリスク多型としてゲノムワイド関連解析 (GWAS) により見出された。本研究ではこの SNP の再現性及びフェノーム解析を、高齢者連続剖検例である JG-SNP データベース及びサンプルを用いて行った。タイピングは DNA チップを用い、年齢・性・喫煙等を調整因子とし、多重ロジティック解析を行った。その結果、rs2106261 と心房細動との関連の再現性を確認する事が出来た (OR=1.51, 95% CI:1.16 ~ 1.97, p=0.02)。さらに 42 の病理診断及び 26 の臨床診断を用いたフェノーム解析においては、80 歳未満の脳梗塞 (OR=1.57, 95% CI:1.09 ~ 2.26, p=0.01)、及び全年齢における肺塞栓 (OR=1.99, 95% CI:1.31 ~ 3.01, p=0.001) との関連を新たに見出した。心房細動は脳梗塞の原因として良く知られている一方、肺梗塞は心房細動の稀な原因として報告されている。今回、統計モデルによる因果解析を行ったところ、この三つの形質はいずれも独立して遺伝子多型と関連していることが示唆された。ZFHx3 が免疫細胞の転写因子パスウェイ上にあることを考えると、三つの形質に共通した炎症性の基盤がある可能性が考えられた。今後さらに ZFHx3 及び心房細動、脳梗塞、肺塞栓の関連を研究する必要がある。

3. 胎生期栄養変化の影響は若齢でも肝臓絶食応答に現れる

げっ歯類母獣低タンパク質給餌は、仔獣の脂肪肝や生活習慣病発症を誘導する DOHaD の代表的な動物実験モデルである。しかし仔獣の疾患形質やそれに関連した遺伝子・タンパク質発現変化、エピゲノム変化は若齢では

認められず、12 ヶ月零を越えた高齢の仔獣で明白となる。出生前という昔の環境曝露がエピジェネティックに記憶されるのではないかという仮説も提唱されているが、出生前環境曝露によるエピゲノム変化が生涯にわたり継承される現象が一般的に認められるわけではない。これに対し、ストレス応答のような生体システム調節が過去の環境曝露により修飾される可能性があるが、その検討はあまりなされていない。そこで、母獣低タンパク質食が定常状態では無症候性の若齢の仔獣の絶食ストレスに対する肝臓の応答に与える影響をマルチオミックス

人事異動
転入：今井千裕 (助教) 退室：サリヤ・デチャメターグン (博士課程修了)
業績目録
原著論文

- Thu KS, Sato N, Ikeda S, Naka-Mieno M, Arai T, Mori S, Sawabe M, Muramatsu M, Tanaka M. Association of polymorphisms of the transporter associated with antigen processing (TAP2) gene with pulmonary tuberculosis in an elderly Japanese population. APMIS. 124:675-80. (2016)
- Zhou H, Mori S, Ishizaki T, Tanaka M, Tanisawa K, Mieno MN, Sawabe M, Arai T, Muramatsu M, Yamada Y, Ito H. J Bone Miner Metab. 34:685-691 (2016)
- Dechamethakun S, Muramatsu M. Long non-coding RNA variations in cardiometabolic diseases. J Hum Genet. 62:97-104 (2016)
- Zaw KT, Sato N, Ikeda S, Thu KS, Mieno MN, Arai T, Mori S, Furukawa T, Sasano T, Sawabe M, Tanaka M, Muramatsu M. Association of ZFHx3 gene variation with atrial fibrillation, cerebral infarction, and lung thromboembolism: An autopsy study. J Cardiol. [Epub ahead of print] (2016)
- Tanisawa K, Arai Y, Hirose N, Shimokata H, Yamada Y, Kawai H, Kojima M, Obuchi S,

Hirano H, Yoshida H, Suzuki H, Fujiwara Y, Ihara K, Sugaya M, Arai T, Mori S, Sawabe M, Sato N, Muramatsu M, Higuchi M, Liu YW, Kong QP, Tanaka M. Exome-wide Association Study Identifies CLEC3B Missense Variant p. S106G as Being Associated With Extreme Longevity in East Asian Populations. J Gerontol A Biol Sci Med Sci. [Epub ahead of print] (2016)

学会発表等

- Thu KS, Sato N, Ikeda S, Naka-Mieno M, Arai T, Mori S, Sawabe M, Muramatsu M, Tanaka M. Association of polymorphisms of the transporter associated with antigen processing (TAP2) gene with pulmonary tuberculosis in an elderly Japanese population. 2016.12.1 日本分子生物学会 横浜
- Zaw KT, Sato N, Ikeda S, Thu KS, Mieno MN, Arai T, Mori S, Furukawa T, Sasano T, Sawabe M, Tanaka M, Muramatsu M. Association of ZFHx3 gene variation with atrial fibrillation, cerebral infarction, and lung thromboembolism 2016.12.1 日本分子生物学会 横浜
- Sato N, Takimoto H, Kyaw TZ, Htun NC, Imai C, Igarashi A, Tsubota Y, Tajirika-Shirai R, Yago S, Aoyama T, Okamitsu M, Miyasaka N. "Cohort profile: Birth Cohort- Gene and Environment Interaction Study of TMDU (BC-GENIST)", 2016. 7. 23-24, 第 5 回日本 DOHaD 研究会、東京
- 佐藤憲子「出生前栄養要因によって生活習慣病が発症する仕組みを理解するために」2016.9.8 第 63 回日本栄養改善学会学術総会シンポジウム

解析により調べた。その結果、タンパク質恒常性に関わる Hsp70, Hsp90 と PPAR α のリガンド生成に関わる酵素の絶食による遺伝子発現誘導が損なわれていた。肝臓の中性脂肪の脂肪酸プロファイルも高飽和度で長鎖の割合が増加し、PPAR α シグナルの主経路である脂肪酸酸化活性が損なわれていた。出生前曝露環境が生体応答の反応性に影響を与えることが示唆された。このような生体応答の反応性の違いが晩年に発症する疾患の感受性と関係している可能性があると考えられた。

講演、青森

- 神崎晶、渡部高久、松永達雄、佐藤憲子、村松正明、大石直樹、藤岡正人、鈴木法臣、松崎佐栄子、粕谷健人、小川都「耳鳴り苦痛度に関連する遺伝子の SNP について」2016.10.20. 第 61 回聴覚医学会、盛岡
- 岡光基子、佐藤憲子、瀧本秀美、矢郷哲志、テイザチョウ、ネチトン、今井千裕、五十嵐麻子、坪田惟里、田尻下一白井玲子、青山友子、宮坂尚幸「包括的出生前コホート-母親のメンタルヘルスとその関連要因—」2016.11.22 第 14 回日本周産期メンタルヘルス学会、東京
- Takimoto H, Okamitsu M, Sato N, Kyaw TZ, Htun NC, Imai C, Tsubota Y, Tajirika-Shirai R, Yago S, Aoyama T, Miyasaka N. "Dietary intakes and depressive symptoms among pregnant participants in the Birth Cohort- Gene and Environment Interaction Study of TMDU (BC-GENIST)", 2017. 1.27. 第 27 回日本疫学会学術総会、山梨

学外教育活動

村松正明：北里大学薬学部非常勤講師

研究費取得

- 村松正明 (代表) 基盤 C 「パーソナルゲノムの生活習慣病予防への応用に関する研究」
- 佐藤憲子 (代表) バブリックヘルスリサーチセンター共同研究費「次世代の健康を見据えた発生発達期環境要因と疾患発症に関する研究」
- 今井千裕 (代表) 研究活動スタート支援「発育期低栄養及び食環境で獲得されるエピゲノム変化による消化管機能の攪乱」

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解析のなかから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。

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、血管やリンパ管を構成する細胞、線維芽細胞など多様な細胞により構成されている。これら腫瘍細胞を除く細胞は間質細胞と言われ腫瘍微小環境を構築している。これまで腫瘍悪性化における微小環境の役割は良くわかっていなかったが近年、リンパ球、マクロファージをはじめとする炎症・免疫細胞や線維芽細胞が癌の浸潤や転移に寄与していることが示されてきた。また、腫瘍間質の形成は、癌細胞への抗癌剤のデリバリーや効果に影響することも知られている。このような知見から腫瘍間質は、新たな治療標的としても注目されている。

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複数細胞により構成される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 (CASTIN : <https://github.com/tmd-gpat/CASTIN>)。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

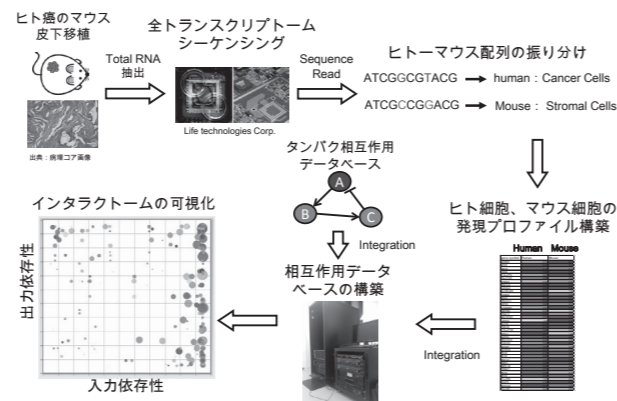


図1 がん-間質インタラクトームの網羅的解析

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. 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。我々は外科手術によって切除されたびまん性胃癌 (スキルス胃癌) において高深度の全エクソーム解析により、スキルス胃癌症例の約 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、スキルス胃癌における 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。この他にも、多種のがん検体をはじめとするさまざまな難治性疾患に対するゲノミクスのアプローチを進めている。

3. 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 (Tumor Infiltrating Lymphocytes) 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 (図2)。スキルス胃癌は、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。

4. Functional Genomic Screening

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

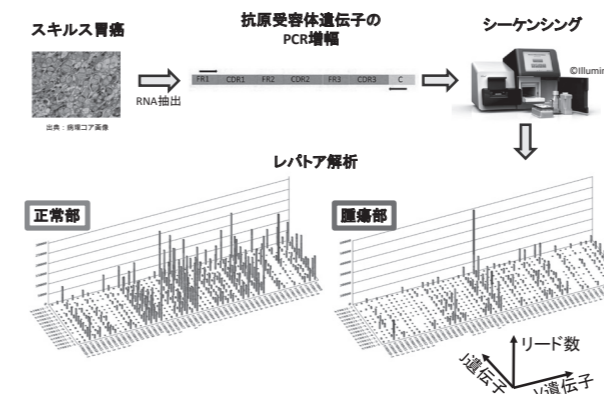


図2 腫瘍浸潤リンパ球の抗原受容体レパトア解析

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 (図3)。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の遺伝子候補を同定することができた。今後も、網羅的 shRNA ライブラリを用いた機能ゲノミクス・スクリーニングを行っていくことで、新規性のあるがん治療標的分子の同定を試みる。

5. デジタル病理画像解析

腫瘍組織は正常組織とは異なる細胞・構造形態をとるが、それは主に腫瘍ゲノムの異常が原因で生じた結果と考えられている。腫瘍におけるゲノムの異常と組織形態との関係性を調べることで、临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 Deep learning 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。

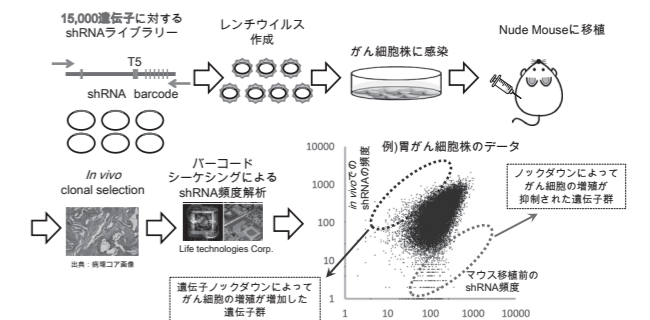


図3 Functional Genomic Screening を用いた新しいがん治療標的の遺伝子の探索

研究業績

原著論文

- Oikawa Y, Morita KI, Kayamori K, Tanimoto K, Sakamoto K, **Katoh H**, **Ishikawa S**, Inazawa J, Harada H. Receptor tyrosine kinase amplification is predictive of distant metastasis in patients with oral squamous cell carcinoma. *Cancer Sci.* 2016 Nov 27. doi: 10.1111/cas.13126. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 27889930.
- Komura D**, Isagawa T, Kishi K, **Suzuki R**, **Sato R**, Tanaka M, **Katoh H**, Yamamoto S, Tatsuno K, Fukayama M, Aburatani H, **Ishikawa S**. CASTIN: a system for comprehensive analysis of cancer-stromal interactome. *BMC Genomics.* 2016 Nov 9;17(1):899. PubMed PMID: 27829362; PubMed Central PMCID: PMC5103609.
- Ito T, Matsubara D, Tanaka I, Makiya K, Tanei ZI, Kumagai Y, Shiu SJ, Nakaoka HJ,

- Ishikawa S**, Isagawa T, Morikawa T, Shinozaki-Ushiku A, Goto Y, Nakano T, Tsuchiya T, Tsubochi H, **Komura D**, Aburatani H, Dobashi Y, Nakajima J, Endo S, Fukayama M, Sekido Y, Niki T, Murakami Y. Loss of YAP1 Defines Neuroendocrine Differentiation of Lung Tumors. *Cancer Sci.* 2016 Oct;107(10):1527-1538. doi:10.1111/cas.13013. PubMed PMID: 27418196.
- Ichimura T, Abe H, Morikawa T, Yamashita H, **Ishikawa S**, Ushiku T, Seto Y, Fukayama M. Low density of CD204-positive M2 type tumor-associated macrophages in Epstein-Barr virus-associated gastric cancer: a clinicopathological study with digital image analysis. *Hum Pathol.* 2016 Oct;56:74-80. doi:10.1016/j.humpath.2016.06.002. PubMed PMID: 27342912.
- Matsusaka K, Ushiku T, Urabe M, Fukuyo M, Abe H, **Ishikawa S**, Seto Y, Aburatani H, Hamakubo T, Kaneda A, Fukayama M. Coupling CDH17 and CLDN18 markers for comprehensive membrane-targeted detection of human gastric cancer.

Oncotarget. 2016 Sep 27;7(39):64168-64181. doi: 10.18632/oncotarget.11638. PubMed PMID: 27580354.

- Matsusaka K, **Ishikawa S**, Nakayama A, Ushiku T, Nishimoto A, Urabe M, Kaneko N, Kunita A, Kaneda A, Aburatani H, Fujishiro M, Seto Y, Fukayama M. Tumor Content Chart-Assisted HER2/CEP17 Digital PCR Analysis of Gastric Cancer Biopsy Specimens. *PLoS One.* 2016 Apr 27;11(4):e0154430. doi:10.1371/journal.pone.0154430. eCollection 2016. PMID: 27119558.

総説

- Katoh H**, **Ishikawa S**. Genomic pathobiology of gastric carcinoma. *Pathol Int.* 2016 Dec 22. doi: 10.1111/pin.12493. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 28004449.
- Ishikawa S**. Opposite RHOA functions within the ATLL category. *Blood.* 2016 Feb 4;127(5):524-5. doi: 10.1182/blood-2015-12-683458. PMID:26847067

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 非常勤講師：小林 慎
事務補佐員：前田伊久子

研究内容

概略

エピジェネティクス分野では、遺伝・個体発生・進化等のさまざまな生命現象を、ゲノム機能という立場から総合的に理解することを目指しています。現在の研究の主要テーマは、1) 哺乳類特異的なゲノム機能であるゲノムインプリンティングの分子機構・生物学的意義の解明、2) レトロトランスポゾンなど外来DNAによるゲノム機能進化と哺乳類の進化の関係の解明、3) 体細胞クローン動物や生殖補助医療を含む発生工学的手法による個体発生におけるエピジェネティック過程の解明です。ヒトを含む哺乳類を対象に据え、遺伝学とエピジェネティクスを統合した研究により哺乳類に共通する特徴的なゲノム機能解明をめざしています。これにより、ヒトの生物学(哺乳類の生物学)の再構築と、それに基づくエピジェネティック医療実現のための基盤づくりに貢献したいと考えています。

研究紹介

1. 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。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) の原因解明と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。

3. 受精直後の胚における父親・母親由来のゲノム機能の差異

受精直後から着床までの間の父親・母親由来のゲノム機能の差異はこれまで解析されてきませんでした。次世代シーケンス技術により初期胚における雌雄ゲノムからの遺伝子発現の詳細を解析しています。さらに体細胞クローン技術やヒトの生殖医療技術である顕微授精の遺伝子発現に与える影響も調べています。これらの研究から、年齢と卵子の受精能の関係などが明らかになって来ています (投稿中)。

4. 哺乳類における半数体細胞株の樹立と特性解析

哺乳類半数体細胞株は変異体分離による遺伝学的解析を飛躍的に進めると期待されています。これらの細胞を安定培養する技術開発や、哺乳類に特異的なX染色体不活性化機構やゲノムの倍数性と細胞分化の関係など生物学的な重要な問題の解明に向けた研究を進めています。

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(トランスオミックス医学研究拠点ネットワーク形成事業の項参照)。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

レトロトランスポゾン由来の遺伝子 *Sirh11/Zcchc16* は哺乳類の脳機能の分化に関係したか? (Irie et al. Front Chem 2016)

哺乳類には2種類の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。一つが *sushi-ichi* に近縁のレトロトランスポゾンに由来する *SIRH* (sushi-ichi-related retrotransposon homologues) 遺伝子群で、他方が *gypsy_12DR* に近縁のレトロトランスポゾンに由来する *PNMA* (paraneoplastic Ma antigen) 遺伝子群である。当分野では、これまで *SIRH* 遺伝子に関する、体系的な解析から、*Peg10/Sirh1* および *Peg11/Rtl1/Sirh2* が哺乳類特異的臓器である胎盤形成や機能維持に必須の機能をもつこと (Nat Genet 2006, 2008)、*Sirh7/Ldoc1* が胎盤細胞の成熟/分化に関係すること (Development 2014)、さらに *Sirh11/LZcchc16* が脳の認知機能に関わること (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)。

脳機能に関係する *Sirh11/Zcchc16* はマウスではノルアドレナリン (NA) の量の制御を通じて種々の行動に関係しているが、南米に生息する異節類 (アルマ

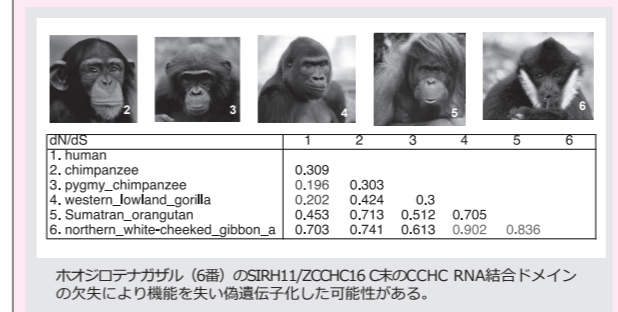


図1 ホオジロテナガザルの SIRH11/ZCCH16 のアミノ酸配列の保存性 (C末機能ドメイン欠失例) テナガザルはヒト上科に属しヒトに近い霊長類である。しかしヒト、チンパンジー、ゴリラなどヒト科に属する霊長類と比べてアミノ酸の保存率 (dN/dS) が低い。これは遺伝子が機能を失っているか、大幅に変わっている可能性を示唆している。実際、C末に起きた変異によりRNA結合ドメインを欠失したため正常な機能を失ったと考えられる。*保存性はdN/dSが0に近いほど高く、1に近いほど低くなる。1を超える場合は新規機能を獲得した可能性も示唆される。

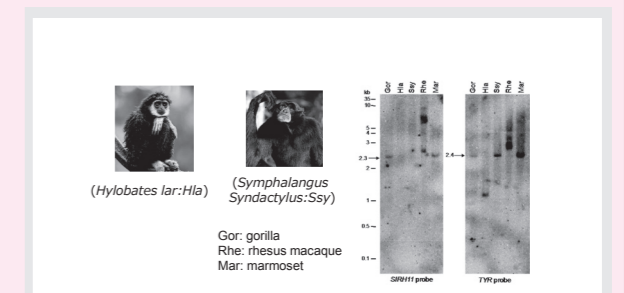
業績目録

原著論文

- Irie M, Koga A, Kaneko-Ishino T* and Ishino F*. An LTR retrotransposon-derived gene displays lineage-specific structural and putative

species-specific functional variations in eutherians. Front Chem 4:26 (2016).
2. Kobayashi S, Hosoi Y, Shiura H, Yamagata K, Takahashi S, Fujihara Y, Kohda T, Okabe M and Ishino F. Live imaging of X chromosome reactivation dynamics in early mouse development can discriminate naïve from

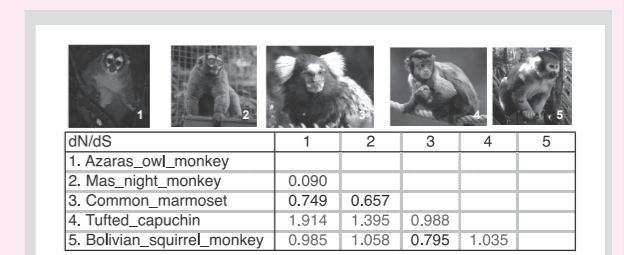
ジロやナマケモノ) では偽遺伝子化していた。大変興味ふかいことに、90近くの真獣類種で調べてみると、系統ごとに異なる変化をしていることが明らかになった。N末の半分を欠失する変異とC末の機能性ドメイン (RNA結合ドメイン) を欠失する変異の2種類で、これらの例は霊長類にも見られる。これは遺伝子として真獣類の共通祖先に獲得された後、その環境に応じて系統特異的に機能した可能性があり、真獣類の多様化に関係した遺伝子の一つとも考えられる (図1、2 ヒト上科におけるオナガザル (C末変異) の影響、図3、新世界ザル (N末変異) 内での保存性の変化。



シロテナガザル (左: Hla) とフクロテナガザル (右: Ssy) では遺伝子自体がゲノムから消失している。C末の機能ドメインの欠失が偽遺伝子化を引き起こした結果と考えられる。

図2 他の2種のテナガザル SIRH11/ZCCH16 の保存性

調べたオナガザル3種のうち2種 (シロテナガザルとフクロテナガザル) では、遺伝子そのものがゲノムから失われていた (右のサザンハイブリダイゼーションの図参照)。ホオジロテナガザルについては図1を参照。



新世界ザル (広鼻猿類) では、共通して SIRH11/ZCCH16 の N末の欠失が見られる。その結果、種間で大きな機能分化が起きている可能性が高い。

図3 新世界ザル SIRH11/ZCCH16 のアミノ酸配列の保存性 (N末欠失例)

新世界ザルは南米に生息する霊長類で、独自の進化を遂げていると考えられている。新世界ザルは共通して SIRH11/ZCCH16 の N末の半分を失っているため、アフリカから漂流した共通祖先においてすでにこの変異が起きていたと考えられる。面白いことに、これらは種間でアミノ酸の変化率が大きく変わっており、この遺伝子が全く機能を失っているか、大きく機能変化を起こしている可能性が示唆された。

primed pluripotent stem cells. Development 143 (16), 2958-2964 (2016).
3. 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).

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：重水大智 助教：宮 冬樹

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、それらからデータマイニングを行うことで、がんや生活習慣病、神経変性疾患をはじめとする難病の原因を発見します。次に、分子プロフィー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。このような形で、ゲノム・オミックスデータや臨床情報に基づく、発症や進行の知見が蓄積されます。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、患者ごとに、適切な治療法や予防法の予測を行うことが、各医療機関で実現できるようになります。

研究紹介

1. 医学・医療における臨床・全ゲノム・オミックスのビッグデータの解析に基づく疾患の原因探索・亜病態分類とリスク予測の研究 (科学技術振興機構 CREST で採択)

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解析技術の開発研究を行っています。その計画は、①ビッグデータの標準化と統合、管理、②疾患の複合因子の探索、③疾患の亜病態分類、④個人毎の病態・治療応答性の予測、からなります。データのリソースは、①全ゲノムデータと臨床情報を持つバイオバンク、②がん患者の多層オミックスと臨床情報、③肝がん全ゲノム配列と臨床情報、④薬剤投与例の豊富な肝炎ゲノム前向き観察コホート、⑤薬剤投与経過の詳細なりウマチ前向き観察ゲノム時系列コホート、などです。背景として、個々の患者での医薬品の適

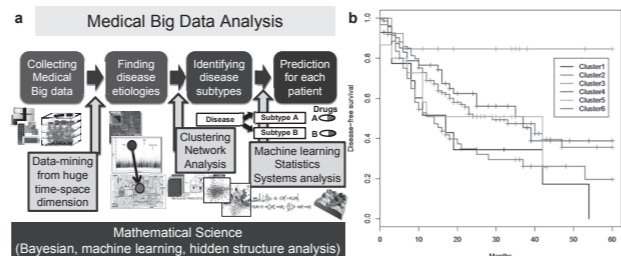


図 医学・医療ビッグデータ解析によるプレジジョン医療 (a) 解析のステップと方法論。(b) 肝がん 300 症例の全ゲノム・オミックスデータに私たちの独自の方法を適用したところ、6つのクラスターが浮かび上がりました。再発までの期間がクラスターによって有意に異なり、ほとんど再発しない症例のクラスターも見られました (Nature Genetics, 48, 500-509(2016))。

正使用、医療費削減、薬害防止に必要な、オーダーメイド医療と先制医療の実現と、新規治療標的開発という社会的・経済的課題があります。本学では、これらの新たな解析手法を提案しています。それらの手法をもとに、肝内胆管がんの解析や、肝がん 300 例のオミックスプロフィー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が見いだされるなど、成果が見いだされています。

2. ゲノムシーケンス解析による心疾患の新規原因遺伝子候補の発見

心疾患の一つ、不整脈に関し、SCN5A における変異が関連していることが知られています。しかし、SCN5A のプロモーター領域や制御領域における変異が不整脈疾患に関与しているかよくわかっていません。そこで私たちは、1298 例のさまざまな不整脈患者に対して SCN5A のプロモーター領域や制御領域のシーケンスを行いました。その結果、SCN5A のプロモーターや制御領域における変異は、様々な不整脈疾患の転写レベルを変えていることが実証されました。

同様に、ANK2 における変異が、さまざまな不整脈疾患を引き起こすことが知られています。しかし、その多くが白人集団における報告で、日本人における報告がほとんどありません。そこで私たちは次世代シーケンサーによって 535 のさまざまな不整脈患者の ANK2 のシーケンスを行い、ANK2 の変異を網羅的に調べました。その結果、日本人集団においても後天性 QT 延長症候群、心室性頻脈性不整脈を含むさまざまな不整脈疾

患に ANK2 が関与していることが示されました。

3. 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 targeted resequencing、whole-exome sequencing (WES) の手法を用いて次世代シーケンサー

研究業績

1. Fujimoto A+, Furuta M+, Totoki Y+, Tsunoda T+, Kato M+ (+: co-first), Shiraishi Y, Tanaka H, Taniguchi H, Kawakami Y, Ueno M, Gotoh K, Ariizumi S, Wardell CP, Hayami S, Nakamura T, Aikata H, Arihiro K, Boroevich KA, Abe T, Nakano K, Maejima K, Sasaki-Oku A, Ohsawa A, Shibuya T, Nakamura H, Hama N, Hosoda F, Arai Y, Ohashi S, Urushidate T, Nagae G, Yamamoto S, Ueda H, Tatsuno K, Ojima H, Hiraoka N, Okusaka T, Kubo M, Marubashi S, Yamada T, Hirano S, Yamamoto M, Ohdan H, Shimada K, Ishikawa O, Yamaue H, Chayama K, Miyano S, Aburatani H, Shibata T, Nakagawa H. Whole genome mutational landscape and characterization of non-coding and structural mutations in liver cancer. *Nature Genetics*, 48, 500-509 (2016).
2. Furuta M, Ueno M, Fujimoto A, Hayami S, Yasukawa S, Kojima F, Arihiro K, Kawakami Y, Wardell CP, Shiraishi Y, Tanaka H, Nakano K, Maejima K, Sasaki-Oku A, Tokunaga N, Boroevich KA, Abe T, Aikata H, Ohdan H, Goto K, Kubo M, Tsunoda T, Miyano S, Chayama K, Yamaue H, Nakagawa H. Whole genome sequencing discriminates hepatocellular carcinoma with intrahepatic metastasis from multicentric tumors. *Journal of Hepatology*, 66, 363-373 (2017).
3. Fujimoto A, Okada Y, Boroevich KA, Tsunoda T, Taniguchi H, Nakagawa H. Systematic analysis of mutation distribution in three dimensional protein structures identifies cancer driver genes. *Scientific Reports*, 6, 26483 (2016).
4. Morishita M, Muramatsu T, Suto Y, Hirai M, Konishi T, Hayashi S, Shigemizu D, Tsunoda T, Moriyama K, Inazawa J. Chromothripsis-like chromosomal rearrangements induced by ionizing radiation using proton microbeam irradiation system. *Oncotarget*, 7, 10182-10192 (2016).
5. Okamoto N, Miya F, Tsunoda T, Kato M, Saitoh S, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K. Novel MCA/ID syndrome with ASHL mutation. *American Journal of Medical Genetics* (in press, 2017).
6. 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 ge-

- netic and biochemical analyses for the diagnosis of PI3K-AKT-mTOR pathway-associated megalencephaly. *BMC Medical Genetics*, 18, 4 (2017).
7. 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).
8. Tsutsumi M, Yokoi S, Miya F, Miyata M, Kato M, Okamoto N, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Saitoh S, Kurahashi H. Novel compound heterozygous variants in PLK4 identified in a patient with autosomal recessive microcephaly and chorioretinopathy. *European Journal of Human Genetics*, 24, 1702-1706 (2016).
9. Hori I, Miya F, Ohashi K, Negishi Y, Hattori A, Ando N, Okamoto N, Kato M, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Saitoh S. Novel splicing mutation in the ASXL3 gene causing Bainbridge-Ropers syndrome. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 170, 1863-1867 (2016).
10. Nozaki F, Kusunoki T, Okamoto N, Yamamoto Y, Miya F, Tsunoda T, Kosaki K, Kumada T, Shibata M, Fujii T. ALDH18A1-related cutis laxa syndrome with cyclic vomiting. *Brain Development*, 38, 678-684 (2016).
11. Ichikawa M, Aiba T, Ohno S, Shigemizu D, Ozawa J, Sonoda K, Fukuyama M, Itoh H, Miyamoto Y, Tsunoda T, Makiyama T, Tanaka T, Shimizu W, Horie M. Phenotypic Variability of ANK2 Mutations in Patients With Inherited Primary Arrhythmia Syndromes. *Circulation Journal*, 80, 2435-2442 (2016).
12. Yagihara N, Watanabe H, Barnett P, Duboscq-Bidot L, Thomas AC, Yang P, Ohno S, Hasegawa K, Kuwano R, Chatel S, Redon R, Schott JJ, Probst V, Koopmann TT, Bezzina CR, Wilde AA, Nakano Y, Aiba T, Miyamoto Y, Kamakura S, Darbar D, Donahue BS, Shigemizu D, Tanaka T, Tsunoda T, Suda M, Sato A, Minamino T, Endo N, Shimizu W, Horie M, Roden DM, Makita N. Variants in the SCN5A Promoter Associated With Various Arrhythmia Phenotypes. *Journal of American Heart Association*, 5, pii: e003644. doi: 10.1161/JAHA.116.003644 (2016).
13. Konta A, Ozaki K, Sakata Y, Takahashi A, Morizono T, Suna S, Onouchi Y, Tsunoda T,

(NGS) で解読しました。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 capture hybridization 法と呼ばれる WES に加え、別の selective circularization-based target enrichment 法と呼ばれる手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。

- Kubo M, Komuro I, Eishi Y, Tanaka T. A functional SNP in FLT1 increases risk of coronary artery disease in a Japanese population. *Journal of Human Genetics*, 61, 435-441 (2016).
14. Shimizu C, Eleftherohorinou H, Wright VJ, Kim J, Alphonse MP, Perry JC, Cimaz R, Burgner D, Dahdah N, Hoang LT, Khor CC, Salgado A, Tremoulet AH, Davila S, Kuijpers TW, Hibberd ML, Johnson TA, Takahashi A, Tsunoda T, Kubo M, Tanaka T, Onouchi Y, Yeung RS, Coin LJ, Levin M, Burns JC. Genetic Variation in the SLC8A1 Calcium Signaling Pathway Is Associated with Susceptibility to Kawasaki Disease and Coronary Artery Abnormalities. *Circulation: Cardiovascular Genetics*, 9, 559-568 (2016).
15. Chang SW, McDonough CW, Gong Y, Johnson TA, Tsunoda T, Gamazon ER, Perera MA, Takahashi A, Tanaka T, Kubo M, Pepine CJ, Johnson JA, Cooper-DeHoff RM. Genome-wide association study identifies pharmacogenomic loci linked with specific antihypertensive drug treatment and new-onset diabetes. *Pharmacogenomics Journal*, 2016 Sep 27. doi: 10.1038/tpj.2016.67. [Epub ahead of print]
16. Sharma A, Shigemizu D, Boroevich KA, López Y, Kamatani Y, Kubo M, Tsunoda T. Stepwise iterative maximum likelihood clustering approach. *BMC Bioinformatics*, 17, 319 (2016).
17. Sharma A, Boroevich KA, Shigemizu D, Kamatani Y, Kubo M and Tsunoda T. Hierarchical Maximum Likelihood Clustering Approach. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 64, 112-122 (2016).
18. Saini H, Lal SP, Naidu VV, Pickering VW, Singh G, Tsunoda T, Sharma A. Gene masking - a technique to improve accuracy for cancer classification with high dimensionality in microarray data. *BMC Medical Genomics*, 9(Suppl 3), 74 (2016).
19. Sharma R, Kumar S, Tsunoda T, Patil A, Sharma A. Predicting MoRFs in protein sequences using HMM profiles. *BMC Bioinformatics*, 17 (Suppl 19), 504 (2016).
20. Lyons J, Paliwal KK, Dehzangi A, Heffernan R, Tsunoda T, Sharma A. Protein fold recognition using HMM-HMM alignment and Dynamic Programming. *Journal of Theoretical Biology*, 393, 67-74 (2016).
23. 重水 大智, 桃沢 幸秀, 久保 充明, 角田 達彦. 目的にあったエクソーム濃縮キットの選択ポイント. *実験医学*, 34, 955-960 (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：ハサン・シャーミン（2016年7月まで）、和仁翔太郎（2016年4月より）

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利用して、(1) 線虫のFGF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) 線虫のコラーゲン遺伝子 *let-2* の発生段階依存的なエクソン選択性を可視化し、発生段階依存性の制御因子として 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) 線虫の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) 線虫のV-ATPaseのα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 (PLoS Genet, 2013)。

また、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)。

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. 2つのRNA結合タンパク質による標的RNAの協働的認識機構の構造生物学的解析

mRNAプロセシングを組織特異的に正確に行うためには、mRNA前駆体の塩基配列を特異的に認識して結合しプロセシングを制御するRNA結合タンパク質のはたらきが不可欠である。しかし、個々のRNA結合タンパク質のRNA結合ドメインが認識する配列は短く特異性も低いため、RNA結合タンパク質がなぜ標的遺伝子を組織特異的に正確に制御できるのか、不明な点も多い。

当研究室では、RNA結合ドメインを1つずつもつ線虫の2つのRNA結合タンパク質 ASD-1 と SUP-12 が線維芽細胞成長因子受容体遺伝子 *egl-15* の配列を協働的に認識する分子機構を、武蔵野大学の武藤裕教授らのゲ

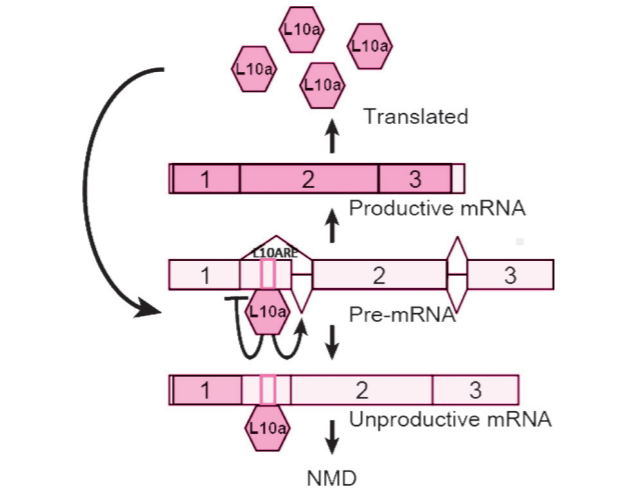


図 リボソームタンパク質 L10a による選択的スプライシングの自己制御。NAR, 2016より改変。

ループなどとともに明らかにした (Nat Struct Mol Biol, 2014)。この成果は、分子間で特定の塩基をサンドイッチすることにより全体として安定な複合体を形成して特定の塩基配列を認識する分子機構を初めて明らかにしたもので、今後のさまざまなRNA結合タンパク質の組み合わせによる協働性の解析につながるものと期待される。

4. リボソームタンパク質による選択的 mRNA スプライシングの自己制御

多細胞生物の選択的スプライシングでは、mRNAの途中に終止コドンを含み、品質管理機構で速やかに分解されるノンコーディングmRNAを作る例がある。この品質管理機構が欠損している線虫 *smg-2* 変異体のトランスクリプトーム解析を行って野生型株と比較し、品質管理機構の標的となる天然のノンコーディングmRNA

ハイライト

難病基盤・応用研究プロジェクト室「難病筋疾患」タイチン遺伝子のスプライシング異常と拡張型心筋症

拡張型心筋症は、心筋壁が薄く伸展することによって心室の内腔が拡大しポンプ機能が障害されて機能不全に陥るものであり、根本的な治療法が確立されていない。近年、拡張型心筋症患者の遺伝子解析により、心筋サルコメアを構成し筋収縮に関連するさまざまなタンパク質の遺伝子変異が相次いで報告されている。タイチンもその1つであり、サルコメアが伸展した際に受動張力を発揮して過伸展を防ぐ。心臓では、タイチンをコードする *TTN* 遺伝子の選択的スプライシングにより短い N2B 型とやや長い N2BA 型のタイチンが発現するが、拡張型心筋症心筋では、張力が大きい N2B 型の比率が減少し張力が小さい N2BA 型の比率が増加する。拡張型心筋症患者の約 25% で *TTN* 遺伝子の短縮変異やミスセンス変異が見つかるが、これらの変異の機能的意義は必ずしも明らかではない。一方、RNA結合タンパク質 RBM20 の欠損ラットが心筋で *Ttn* 遺伝子のスプライシング異常を示して心筋症を自然発症することが近年報告された。

当プロジェクトでは、*TTN* 遺伝子の二色蛍光スプライシングレポーターミニ遺伝子を作製し、RBM20

を産生する遺伝子を探索した。その結果、リボソームタンパク質をコードする計8個の遺伝子でノンコーディングmRNAを同定した。そして、これらの遺伝子では選択的スプライシングの制御により発現量が自己制御されることを見出した。このうち60SサブユニットのL10aタンパク質をコードする遺伝子では、L10aが自身のmRNA前駆体のイントロンにあるL10ARE領域に直接かつ特異的に結合することで選択的スプライシングを自己制御すること(図参照)、L10AREの配列や位置が線虫の *rpl-1* 遺伝子から哺乳類の *RPL10A* 遺伝子にまでよく保存されており、哺乳類でもL10aによるL10AREを介した選択的スプライシングの自己制御があることを見出した (Nucleic Acids Res, 2016)。この研究成果は、スプライシング制御因子として機能するという、後生生物リボソームタンパク質の進化的に保存された新たなリボソーム外での機能を明らかにしたものである。

による *TTN* 遺伝子の心筋型スプライシング制御を解析する実験系を構築した。そして、拡張型心筋症患者で変異が集中して報告されている RBM20 の RSRSP 配列中の Ser635 残基と Ser637 残基がともにリン酸化されること、それが RBM20 の核移行に必須であることを見出した。

当プロジェクトのメンバーである分子病態分野の木村彰方教授らは、木村ら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に新たに RBM20 の R634W 変異を見出している。また、欧米人患者では、D888N、G1031X、P1081R、E1206K などのミスセンス変異やナンセンス変異が報告されている。そこで、上述のレポーターミニ遺伝子を利用して、これらの変異が RBM20 のスプライシング制御能に与える影響を順次解析中である。また、タイチンの N2B 型と N2BA 型の発現比率の変化と心筋症の因果関係の実験的に検証するための遺伝子改変マウスや、*Rbm20* 遺伝子に患者型のアミノ酸置換変異を導入するモデルマウスの作製を並行して進めている。当プロジェクトにより拡張型心筋症と *TTN* 遺伝子のスプライシング制御機構の関連が明らかになることで、拡張型心筋症の病態解明や治療標的の開発につながることを期待される。

人事異動 他

2016年4月、和仁翔太郎特任助教が着任
7月、ハサン・シャーミン特任助教が退職
8月、研究室が22号館からM&Dタワーに移転
2017年1月、渡辺毅(歯学部附属病院)が参加
2017年2月、齋瀬ますみ(医学部保健衛生学科)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

業績目録

原著論文

1. Takei S, Togo-Ohno M, Suzuki Y, Kuroyanagi H. Evolutionarily conserved autoregulation of alternative pre-mRNA splicing by ribosomal protein L10a. Nucleic Acids Research. 44: 5585-5596, 2016.

2. Tomioka M, Naito Y, Kuroyanagi H, Iino Y. Splicing factors control *C. elegans* behavioural learning in a single neuron by producing DAF-2c receptor. Nat Commun. 7: 11645, 2016.

総説等

1. 黒柳秀人. 第26章「デコイ非コードRNA」。ノンコーディングRNA—RNA分子の全体像を俯瞰する—(廣瀬哲郎・泊幸秀編、化学同人、2016年。
2. 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。

教育活動

黒柳秀人：大学院医歯学総合研究科、医学部保健衛生学科、東京大学非常勤講師(教養学部後期課程)
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)。挑戦的萌芽研究「タイチンアイソフォームの発現比率と拡張型心筋症の関係の解明」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(代表)。新学術領域研究「ノンコーディングRNAネオタクソノミ」公募研究「代謝酵素遺伝子ノンコーディングmRNAの食餌による発現制御機構の解明」黒柳秀人(支援依頼者)。新学術領域研究「ゲノム支援」大規模ゲノム情報生産支援「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」

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

解熱鎮痛剤として有名なアスピリンの元となるサリチル酸は、内耳にある外有毛細胞に作用し、難聴を引き起こすことが知られている。今回、サリチル酸によって起こされた難聴の効果を見るため、繰り返し音刺激に対するニューロン応答に及ぼす効果を調べた。

記録方法として、時間的空間的な解像度にすぐれている電位感受性色素を用いたオプティカルイメージング法を適用し、左右のモルモット大脳皮質から応答を記録した。刺激には、純音（8kHz、持続時間：25ms、75dB SPL）あるいはクリック音を用い、4-20Hz間で繰り返し頻度を変化させた。実時間オプティカルイメージング法のために、蛍光性電位感受性色素である RH795 を用いて染色した後、左右の一次聴覚野（AI野）から記録

を行った。サリチル酸投与前と投与後（200mg/kg）8時間経過した動物を用い、応答パターンを計測した。

サリチル酸投与前では、純音に対する繰り返し率伝達関数のうち2番目、3番目、4番目の応答ピークの強度は、6Hzに最大値を持つバンドパス特性を示した。一方、クリック音に対する繰り返し率伝達関数は、8Hzあるいは10Hzに最大値を持つバンドパス特性を示し、それ以上の繰り返し頻度では急激な減少を示した。サリチル酸投与8時間後の動物では、純音に対する繰り返し率伝達関数の4番目のピークは6-8Hzの繰り返し率で大きくなり、16Hzでも小さなピークを示した。この特性は、特に右の大脳皮質で頻繁に観察された。この結果は、繰り返し刺激の頻度特性は、外有毛細胞の特性も反映している可能性を示唆している。

業績目録

Hosokawa Y, Kubota M, Sugimoto S, Horikawa J.

Salicylate-induced changes of the neural activity to repetitive sounds in the primary auditory cortex of guinea pigs observed by optical re-

ording. J Physiol Sci, Vol. 66, Suppl. 1, S174 (2016).

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・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) *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)
【頭頸部・食道扁平上皮がん精密医療プロジェクト】 頭頸部・食道扁平上皮がん精密医療に向けた基盤研究拠点形成	○稲澤譲治(ゲノム応用・分子細胞遺伝・教授) 石川俊平(ゲノム応用・ゲノム病理・教授) 角田達彦(ゲノム応用・医科学数理・教授)
【先制医療実現化 DOHaD 研究プロジェクト】 先制医療を見据えた生殖・周産期からのアプローチ-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。なお、難病筋疾患研究プロジェクト2の研究概要は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)および先端分子医学研究部門フロンティア研究室(細胞分子医学)、難治低酸素性乳がん研究プロジェクトの主要な研究概要は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)にそれぞれ記載している。

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、助教：中西祐輔

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。IBDの患者には、ステ

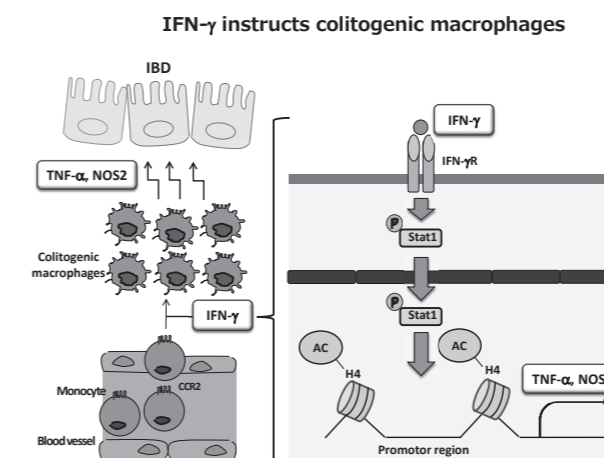
ロイドの投与、食餌療法、抗炎症薬の投与といった治療が行われているが、未だ、それらの治療法において効果が認められない患者が一定数存在することから、新規治療法の開発が求められている。本研究プロジェクトは、IBDの病態形成メカニズムの解析と本疾患を対象とした新規の創薬開発を目的としている。

研究紹介

マクロファージは、脳のマイクログリア、骨の破骨細

胞、肝臓のクッパー細胞に代表されるように組織特異的表現型を示す。一方、マクロファージの機能不全・異常と、癌、メタボリックシンドローム、自己免疫疾患、心筋梗塞といった様々な疾患との関連性が報告されており、マクロファージが組織の恒常性維持において重要な役割を果たしていることが示唆されている。我々は、デキストラン硫酸塩(DSS)誘導性の潰瘍性大腸炎モデルを用いて、マクロファージのIBD発症における役割について検討してきた。その結果、炎症時に浸潤してくる骨髄単球由来のマクロファージが、TNFやiNOSといった炎症メディエーターを積極的に産生する大腸炎惹起性細胞であることを明らかにした(*Mucosal Immunology*, 2015)。しかし、大腸炎惹起性マクロファージがどのような機構で誘導されるのかについて、その詳細は明らかになっていなかった。

マクロファージを標的としたIBDの治療法を開発する目的で、炎症時のマクロファージおよび定常時のマクロファージをそれぞれ精製し、マイクロアレイによって遺伝子の発現パターンを比較した。その結果を解析したところ、Ly6C⁺のマクロファージがTNFやiNOSを高産生するマクロファージの亜集団であることが明らかになった。更には、これらのLy6C⁺腸炎惹起性マクロファージの分化・発生には、転写因子Stat1とそのStat1を活性化するサイトカインであるIFN- γ が必須であることを明らかにした。実際に、Stat1欠損マウスやIFN- γ の中和抗体を投与したマウスでは、大腸炎の病態形成が抑制された。次に、IFN- γ の作用について詳細に検討したところ、TNFやiNOSといった炎症性サイトカインのプロモーター領域のアセチル化を促進し、mRNAの発現を増強していることを明らかにした。これらの結果から、IFN- γ を介したヒストンのアセチル化が、TNFやiNOSを産生するLy6C⁺の大腸炎惹起性マクロファージの誘導に重要であることが明らかになった。以上のことから、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の治療法になりう



ることが示唆され、今後の研究の進展が期待される。

業績

Nakanishi Y, Sato T, and Ohteki T. Commensal Gram-positive bacteria initiates colitis by inducing monocyte/macrophage mobilization. *Mucosal Immunology* 2015.152-60.

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)

研究成果の概要：

当該年度は、食道扁平上皮がん(ESCC)を対象に、がん部・非がん部が揃うペア検体を用いて、統合的オミックス解析を実施することにより、ESCCの標的治療分子やリンパ節転移予測バイオマーカーの候補を見出し、新規治療薬開発への応用を図ることを目的に研究を行った。東京医科歯科大学 医学部附属病院にて外科切除を受け、術後4年以上経過したESCCペア検体を含むⅢ期ESCC49例のペア検体の全エクソシーケンス解析を実施した。現在、ESCCをはじめ扁平上皮がん免疫チェックポイント阻害薬の著効が報告されてきている。現在、効果群の層別化バイオマーカーの開発は喫緊の課題となっており、一部のがん種でマイクロサテライト不安定性(microsatellite instability, MSI)陽性の腫瘍において免疫チェックポイント阻害薬の有効性が示唆されている。このような背景のもと、MSIに関して腫瘍部(T)、非腫瘍部(N)の全エクソシーケンスデータを比較解析した。その結果、MSIの反復回数の低頻度(MSI-low)症例から高頻度(MSI-high)症例が広汎に分布して検出された。反復回数とSNV/Indel数との相関は認められず、MSIとSNV/Indelのゲノム構造異常は異なる機構で惹起されることが示唆された。

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。このためにリンパ節転移予測マーカーの開発を目指した。67例を対象に外科切除のESCC腫瘍/非腫瘍組織由来DNAを用いてピ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。先の67例とは異なるESCC57症例の検証コホートのN/Tペア検体を用いて候補10遺伝子を対象に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(Gene-1、Gene-9)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。また、本案件は論文投稿ならびに特許申請中である。

先制医療実現化 DOHaD 研究プロジェクト

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。

BC-GENIST は約 200 の研究協力者を目標にした前向

きコホート研究で、現在約 50 の同意を得ている。妊婦の平均年齢は 33 歳を上回り、3 日間の食事調査で算出された平均摂取エネルギーが 1700 kcal/日以下であり、比較的親は高齢で、また妊娠に必要な食事が十分摂取できているとは言えないことがわかった。(http://hikumano.hama-med.ac.jp/dspace/handle/10271/3130)

妊婦健診における胎児発育の軌跡をマルチレベル分析により解析し、発育パターンと出生時及びその後の体格、新生児の DNA メチル化レベルとの間の関係を解析している。また遺伝要因(近傍の SNP)と環境要因(母体の生活環境、体格、栄養、メンタルヘルスなどの要因など)の違いによって新生児 DNA メチル化レベルの個人差がどのように生まれるのかを解析している。今後は、母体血清の small RNA プロファイルとそれに関連する環境要因の解析にも取り組む。

臨床に即したマウスモデルとしては、①親の高齢化が、妊娠や子孫の健康に及ぼす影響が危惧されるため、若い♂♀ペアと、齢をとらせて生殖能力が低下しかけた♂♀ペアの人工授精胚の遺伝子発現プロファイルを比較する実験を進めている。②歯周病細菌感染により妊娠リスクが高まり早産が認められているため、歯周病細菌感染による代謝への影響及び、胎盤・臍帯の遺伝子発現プロファイルに与える影響を解析している。

大学院教育研究支援実験施設

I. ゲノム解析室

助教：谷本 幸介
技術補佐員：伊藤 暁子
技術補佐員：藺部知奈美
技術補佐員：福井 都代

本解析室は、難治疾患研究所の教職員・学生および難治疾患共同研究拠点の参加研究者が実施するゲノム解析研究の支援を目的としている。最新機器の原理や使用法の講習会を通じた研究者への技術紹介、知識啓蒙を行っている。さらに、日常業務として、研究所内外からのゲノム情報の受託解析を行い研究の推進を図っており年間約 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ルラボの管理も行っている。

以下は、2016 年の実績である。

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

今年のキャピラリーシーケンスサービスのサンプル依頼数は 37,737、延べ利用人数は 2,999 名であった。難研外からの依頼サンプル数は 21,004 となり、全体の 6 割を占めている。

次世代シーケンサー (Ion torrent PGM) による受託解析サービスについては、本年は 24 ラン (内難研外 3 ラン) 行った。またライブラリ作製のサンプル数は 24 となり、利用の拡大と利便性向上をはかっている。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

キャピラリーシーケンサー 3130xl 2 台、次世代シーケンサー 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・6月1日 フローサイトメーター講習会 (日本ベクトン・ディッキンソン株式会社)
- 6月15日 ルミノメーター講習会(ベルトルドジャパン株式会社)
- 7月26日 次世代シーケンス講習会(サーモフィッシュャーサイエンティフィック株式会社)

4. 人事異動

なし

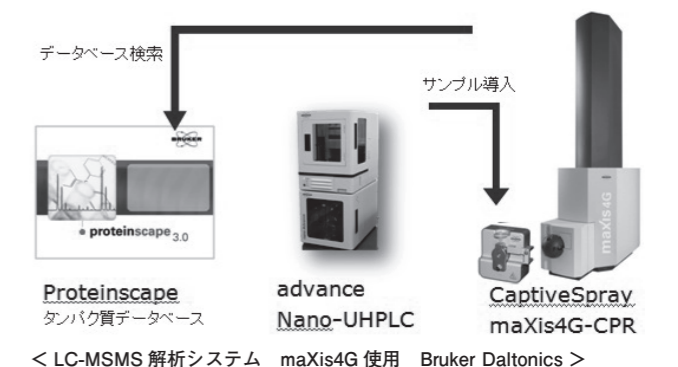
II. 細胞・プロテオーム解析室

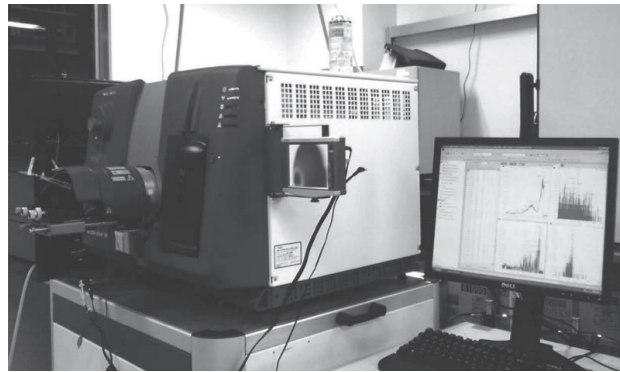
技術専門職員：名和真希子

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、運営できるよう互いに連携を図っている。





< LC-MSMS 解析 Qtrap5500 使用 ABCIEX >

Ⅲ. 遺伝子組換えマウス実験室

技術職員：宇佐美貴子

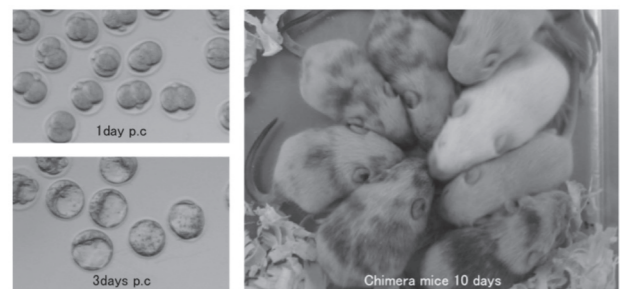
技術補佐員：石久保春美

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、組換えマウス作製・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・教育の基盤となっている。2016年度からは、学内向けに、ゲノム編集技術を用いた遺伝



子組換えマウス作製支援サービスも開始した。

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/lacf/index.html>

<設置機器>

- ・共焦点レーザー顕微鏡 … LSM710、LSM510META (Carl Zeiss)
- ・凍結ミクロトーム … CM3050s (Leica)
- ・ロータリーミクロトーム … HM-325E, HM-335E (Microm)
- ・ビブラトーム … PRO7 (堂阪イーエム)
- ・自動固定包埋装置 … RH-12DM (サクラファインテック) Excelsior ES (Thermo 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)
- ・X線照射装置 … RX-650 (Faxitron)
- ・実体顕微鏡 … SZX-16 (Olympus)

<講習会>

共焦点レーザー顕微鏡・レーザーマイクロダイセクションの2種を利用する者には、正しい機器の使用法を体得してもらうため、事前にメーカーによる講習会を受講することを義務づけている。今年度はそれぞれ2回ずつ開催した。

- ・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…6月2日・6月3日、秋季…11月16日
- ・レーザーマイクロダイセクション講習会（ライカマイクロシステムズ株式会社）
春季…4月27日、秋季…11月29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。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、学外からの利用者も受けている。

3. 2016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、10月に申込者数にあわせて合計3回行った。支援室の利用案内や講習会の開催案内、機器予約の管理は、主にホームページで行った。2016年の当支援室の利用者数はのべ424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
准教授 後藤利保
助教 佐藤淳
研究支援員 満友陽子

分子神経科学分野

教授 田中光一
准教授 相田知海
助教 石田紗恵子
助教(2016年5月1日～)
大学院生 平岡優一
趙卓揚
杉山香織
半田剛久
田中萌子
楠木未菜
瀧川遥
小川恕
事務補佐員 大野里美

生体情報薬理学分野

教授 古川哲史
准教授 竹内純
助教 井原健介
ポスドク(RPD) 児玉昌美
ポスドク(PD) 林地のぞみ
ポスドク 高橋健太郎
大学院生 山添正博
劉鍾
揚筱茜
福田俊
石井修平
孫溢哈
技術補佐員 安東朋子
木村麗子
事務補佐員 山口邦子

幹細胞制御分野

教授 田賀哲也

准教授 信久幾夫
助教授 梶康一
連携研究員 鹿川哲史
備前典久
非常勤講師 影山龍一郎
柏木太一
技術補佐員 井上和子
大学院生 須藤元輝
國分康博
王文茜
室田吉貴
齋藤清香
野本駿希
横居優貴
江石遥夏
高橋聡美
巽瑠璃子
松永浩明

生体防御学分野

教授 樗木俊聡
講師(~2016年12月14日)
非常勤講師(2016年12月15日～)
非常勤講師(さきがけ専任研究員)
助教(難病基盤・応用研究プロジェクト室)
プロジェクト助教 浅野純平
プロジェクト助教 梶田美穂子
SONY特別研究生 中村友彦
研究支援員 川村俊輔
大学院生 稲澤美奈子(皮膚科)
南出夏奈
今村周平
技術補佐員 黒田聖子
始関紀彰
中村瑠美子
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 沼 本 修 孝

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
 プロジェクト特任講師 津 田 浩 史
 助 教 藤 田 慶 大
 特 任 助 教 陳 西 貴
 本 間 秀 典
 本 木 和 美
 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
 M a o Y i n g
 星 野 絵 莉 子
 田 中 ひ か り
 熊 木 友 大

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
 藤 掛 伸 宏
 桜 井 一
 特 任 助 教 申 珉 京
 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
 後 藤 佑 太
 中 井 美 由 紀
 遠 藤 葉 月
 望 月 啓
 奥 野 瞭

特 別 研 究 学 生 吉 田 朋 代
 川 田 真 大

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
 技 術 補 佐 員 赤 川 裕 美
 事 務 補 佐 員 田 中 和 子
 大 学 院 生 出 耒 - 有 馬 誉 恵
 石 原 え り か
 田 村 律 人
 YU Ruoxing
 清 宮 遼 太 郎
 則 信 安 里
 ALIF Yikelamu
 大 塚 沙 緒 里
 P U J i n g
 研 究 従 事 者 原 崇
 長 岡 勇 也

免疫疾患分野

教 授 鏝 田 武 志
 准 教 授 安 達 貴 弘
 助 教 松 原 直 子
 特 任 講 師 王 繼 揚
 特 任 助 教 赤 津 ち づ る
 特 任 研 究 員 Mohanmmad, Aslam
 技 術 補 佐 員 久 留 主 幸 江
 中 野 成 子
 事 務 補 佐 員 澤 田 千 賀 子
 研 究 従 事 者 野 本 真 菜
 大 学 院 生 Medzhidov, Nazim
 Feng, Yang-yang
 Alborzian-Deh-Sheikh, Amin
 Rengarajan, Sundararaman
 米 水 龍 也
 Yang, Hongrui
 Li, Xuexin

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

大 久 保 奈 菜
 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
 吉 川 枝 里
 共 同 研 究 者 山 本 健
 久 場 敬 司
 武 谷 立
 平 山 謙 二
 寺 尾 知 可 史

幹細胞医学分野

教 授 西 村 栄 美
 准 教 授 難 波 大 輔
 助 教 松 村 寛 行
 プロジェクト助教 毛 利 泰 彰
 福 田 誠
 日 本 学 術 振 興 会 特 別 研 究 員 (SPD) 森 永 浩 伸
 特 任 研 究 員 加 藤 靖 子
 大 学 院 生 高 田 亜 希
 劉 楠
 Sally Eshiba
 村 口 太 一
 松 崎 健
 連 携 研 究 員 佐 藤 宗 範
 技 術 補 佐 員 矢 嶋 玲 子
 西 森 由 里 子
 西 貝 燕
 難 波 富 士 緒
 寺 井 梢
 秘 書 渡 邊 郁

分子細胞遺伝分野

教 授 稲 澤 讓 治
 講 師 井 上 純
 助 教 村 松 智 輝
 玄 泰 行
 特 任 助 教 Daniela Tiaki Uehara
 大 学 院 生 Sujata Sakha
 高 橋 寛 吉
 平 本 秀 一
 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
 阿 部 秀 俊

分子遺伝分野

教 授 三 木 義 男
 准 教 授 中 西 啓
 助 教 高 岡 美 帆
 大 学 院 生 ウ カ ル コ ス ス カ ン ア イ シ ュ
 大 塚 菜 央
 佐 藤 亜 美
 山 田 翔 太 宇
 鄧 宇
 卒 研 生 東 條 陽
 事 務 補 佐 員 戸 部 秀 子

分子疫学分野

教 授 村 松 正 明
 准 教 授 佐 藤 憲 子
 助 教 今 井 千 裕
 大 学 院 生 カ ウ ン シ ー ・ ト ッ
 キ ン ・ テ テ ・ ゴ ー
 前 田 裕 子
 藤 谷 啓 雄
 勝 田 江 朗
 佐 竹 紀 彦
 メ デ イ ナ ・ ア ブ ド サ タ ル
 エ イ ・ コ コ ・ ミ ン
 シ ル バ ・ バ ベ ッ テ ィ ー ナ ッ ト
 縦 媛
 鈴 木 健 司
 坂 本 大 和
 坪 田 惟 里
 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
 非 常 勤 講 師 小 林 慎
 大 学 院 生 高 木 清 考
 北 澤 萌 恵
 松 沢 歩
 細 井 勇 輔
 酢 谷 明 人
 共 同 研 究 者 黒 田 友 紀 子

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	佐藤玲子 山本麻未 鈴木良平 富永健 小西寛城 福田圭佑
非常勤講師	永井純正
事務補佐員	田向美春
大学院生	香田弘知 渥美振一郎

医科学数理分野

教授	角田達彦
講師	重水大智
助教	宮冬樹
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
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
学部学生	齋藤ますみ
歯学部附属病院研修医	渡辺毅

フロンティア研究室 骨分子薬理学

准教授	江面陽一
大学院生	勝村早恵
	ハチノヘチカチカハチノヘチカチカ
	林婉婷
	林欣

テニユアトラック研究室細胞分子医学分野

テニユアトラック准教授	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 鈴木裕美
大学院生	今野太貴 大塚千聖
大学院研究生	劉琳

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

客員教授	宮野悟
客員教授	井元清哉

難病基盤・応用研究プロジェクト室

難病 IBD 研究プロジェクト

助教	中西祐輔
----	------

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	福井都代
技術補佐員(研究支援推進員)	伊藤暁子
技術補佐員(研究支援推進員)	藺部知奈美

細胞プロテオーム解析室

技術専門職員	名和真希子
--------	-------

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	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

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	齋藤佳子
技術補佐員(研究支援推進員)	豊田麻美

支援室

技術専門職員	馬場裕子
--------	------

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
-----	------

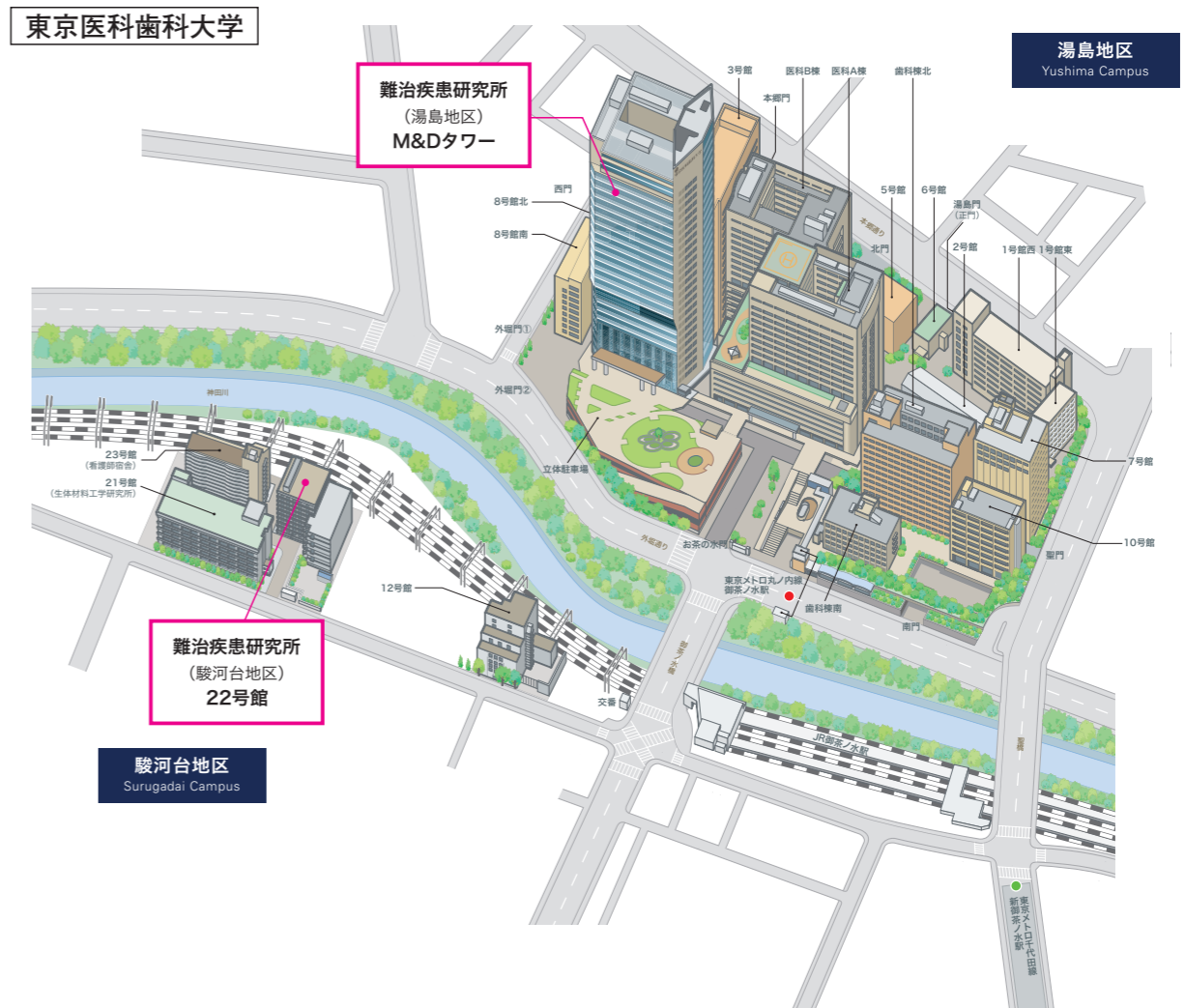
事務長補佐	渡邊剛志
総務係長(兼)	渡邊剛志
総務係主任	小林俊彦
総務係員	林健策
総務係員	青木明日加
総務係員	木下清隆
事務補佐員	中村展子
事務補佐員	高橋将貴

難治疾患研究所運営諮問委員会委員

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

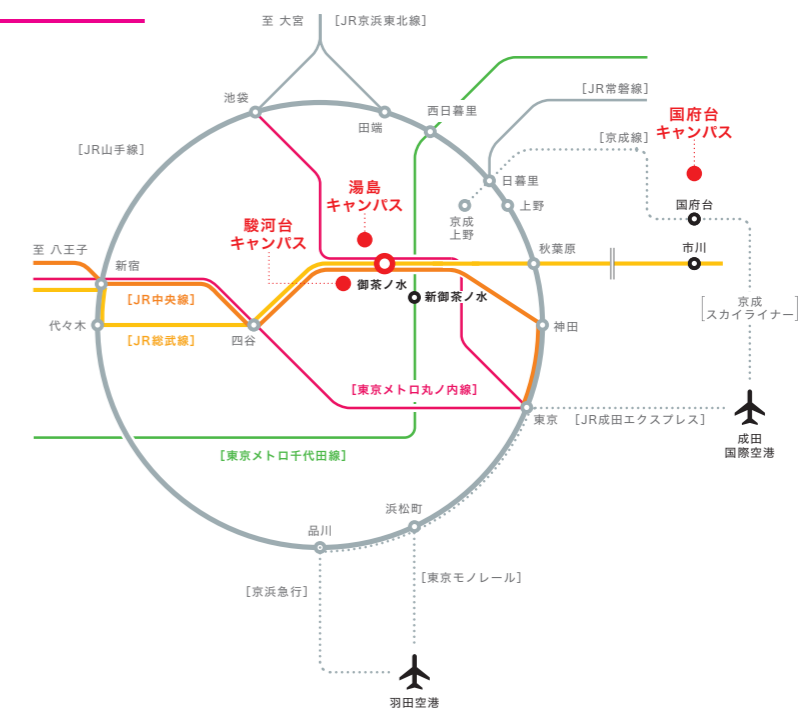
(50音順)

案内図



最寄駅

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



年報 2017

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