

# Annual Report 2022

ANNUAL REPORT 2022



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

Tokyo Medical and Dental University

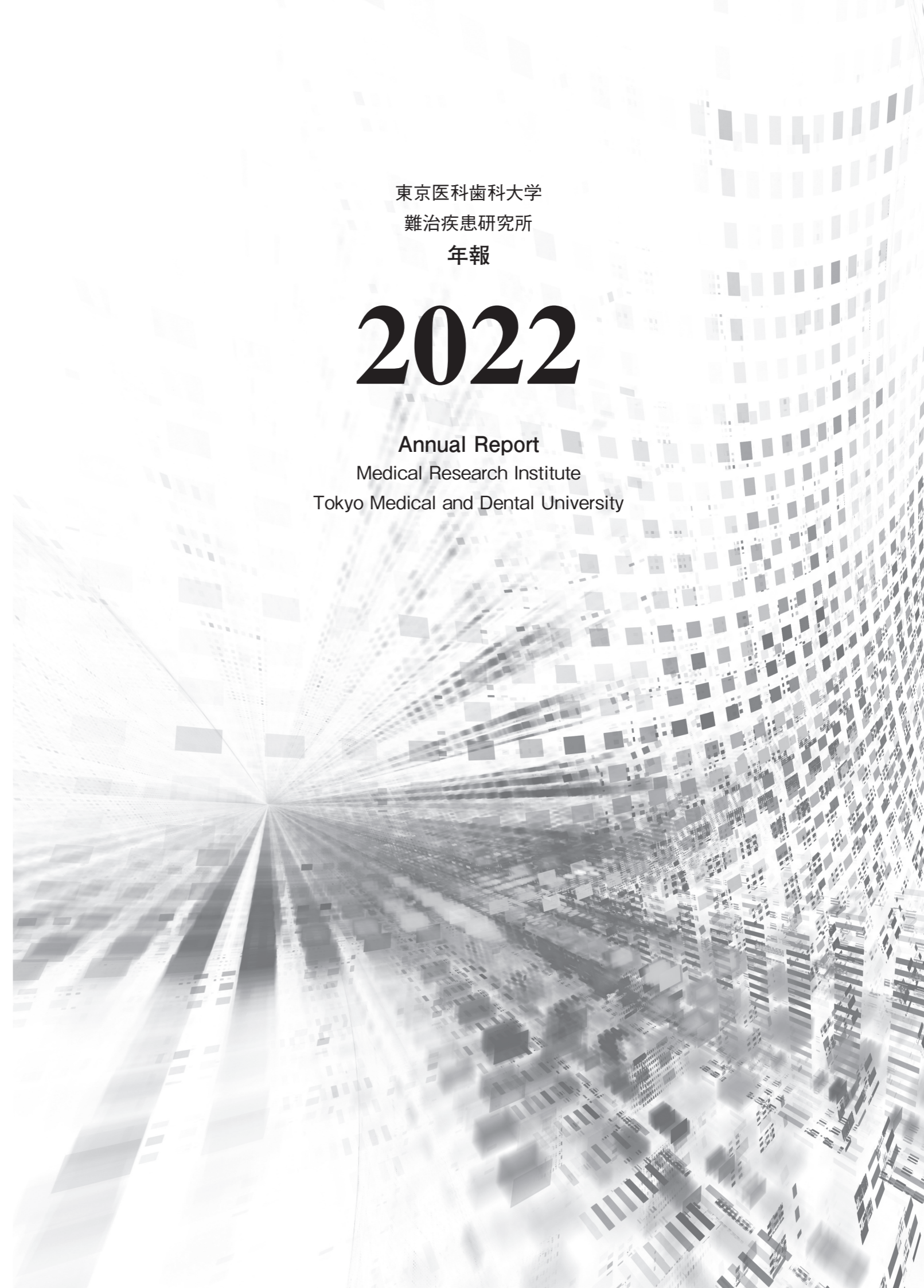
年報  
東京医科歯科大学難治疾患研究所



東京医科歯科大学  
難治疾患研究所  
年報

# 2022

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2021年1月から12月までの研究と教育などに関わる活動報告です。本研究所では「難治疾患」を「病因・病態が明らかにされていないために未だ有効な診断法、治療法、予防法が確立されていない疾患」と定義し、その克服のため基礎から応用まで幅広い研究活動を展開しています。教授が主催する分野と准教授が主催するフロンティア研究室に加えて、連携研究部門、難病基盤・応用研究プロジェクト室、大学院教育研究支援実験施設、新型コロナウイルス研究プロジェクト推進室、事務部などからなる全国的に見ても大規模の研究所です。2021年度には単一細胞オミクス解析室と若手研究者育成推進室を設置しました。

2009（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、2022（令和4）年度からは第三期目の拠点活動を行います。また、九州大学生体防御医学研究所、熊本大学発生医学研究所、徳島大学先端酵素学研究所とネットワークを組み、「高深度トランスオミクス医学研究拠点」の活動も開始します。これらの拠点活動は全国の研究者コミュニティのためだけでなく、指定国立大学法人（2022年度）の指定を受けた医療系総合大学である東京医科歯科大学の機能強化という目的もあります。そのため、各支援実験施設は学内外の多くの研究者のニーズに応える活動をしています。

独創的な発想と最先端の機器から生み出される研究成果は、大学広報を通じて、国内外の研究者のみならず社会に発信されています。我が国の生命科学の発展の一翼を担っています。  
難治疾患研究所長 仁科博史

## Contents

1. 所在地	3
2. 組織	4～5
3. 職員及び学生数	6
4. 難治疾患共同研究拠点	7～9
5. トランスオミクス医学研究拠点ネットワーク形成事業	10～11
6. シンポジウムおよび市民公開講座	12～13
7. プレスリリース	14
8. 受賞および特許	15
9. 学位取得者	16
10. 難研セミナー	17

## 難治疾患研究所

### 先端分子医学研究部門

1. 医化学分野 20～21
2. 分子細胞生物学分野 22～23
3. 分子神経科学分野 24～25
4. 生体防御学分野 26～27
5. 生体情報薬理学分野 28～29
6. 幹細胞制御分野 30～31
7. 分子構造情報学分野 32～33

### 難治病態研究部門

1. 神経病理学分野 36～37
2. 病態生理化学分野 38～39
3. 病態細胞生物学分野 40～41
4. 発生再生生物学分野 42～43
5. 免疫疾患分野 44～45

### ゲノム応用医学研究部門

1. 分子細胞遺伝学分野 48～49
2. 分子遺伝学分野 50～51
3. 分子疫学分野 52～53
4. ゲノム機能情報分野 54～55
5. ゲノム機能多様性分野 56～57
6. 医科学数理分野 58～59

- ・ジョイントリサーチ部門 62～63
- ・病態発現機構研究部門 64～65
- ・難病基盤・応用研究プロジェクト室 66～69
- ・大学院教育研究支援実験室 70～73

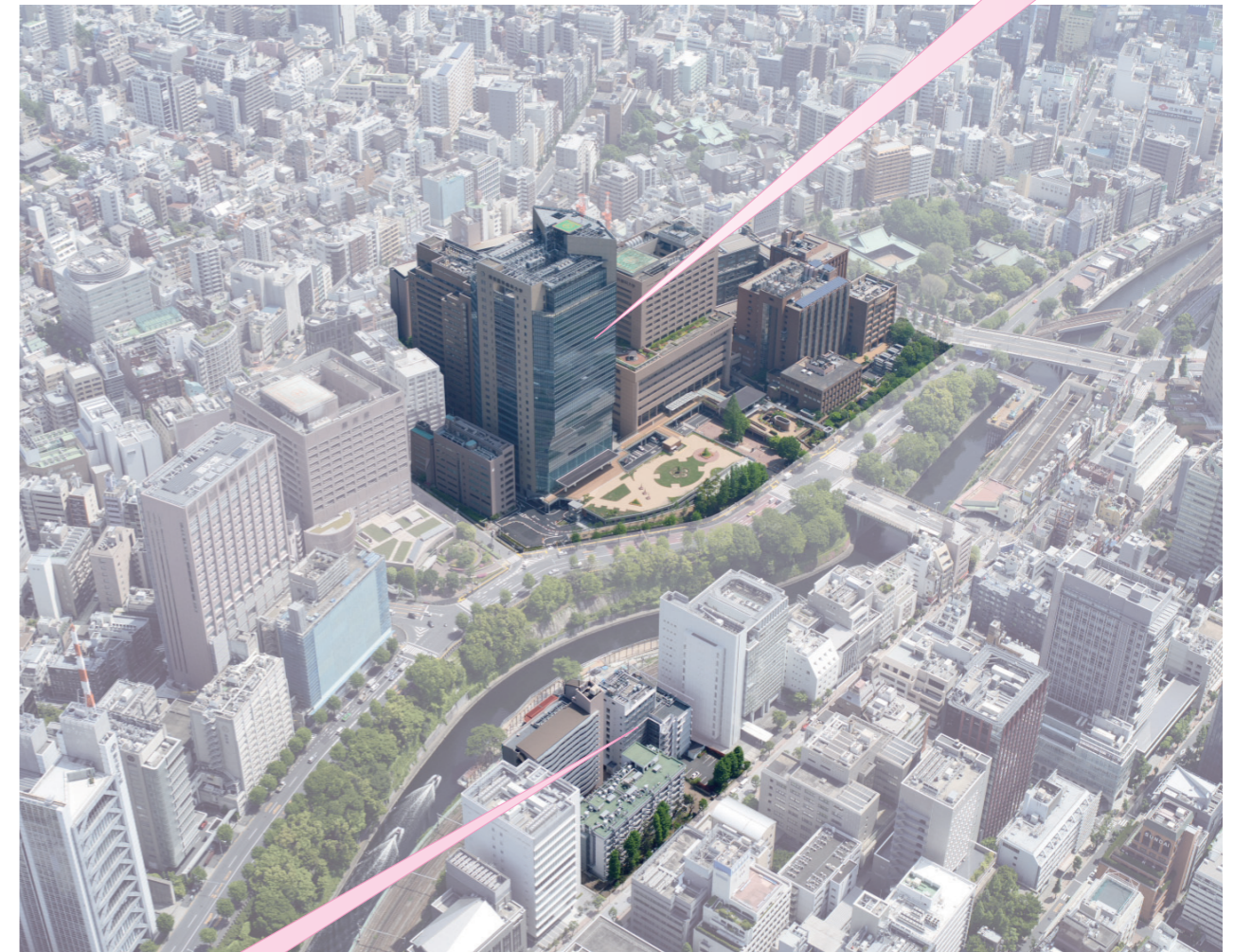
職員学生名簿	74～77
諮問委員名簿	78
案内図	79

## 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、病態細胞生物学分野、生体防御学分野、ゲノム機能情報分野、ゲノム機能多様性分野、病態生理化学分野、医化学分野、機能分子病態学分野、事務部



## 駿河台地区

〒101-0062  
東京都千代田区神田駿河台2-3-10

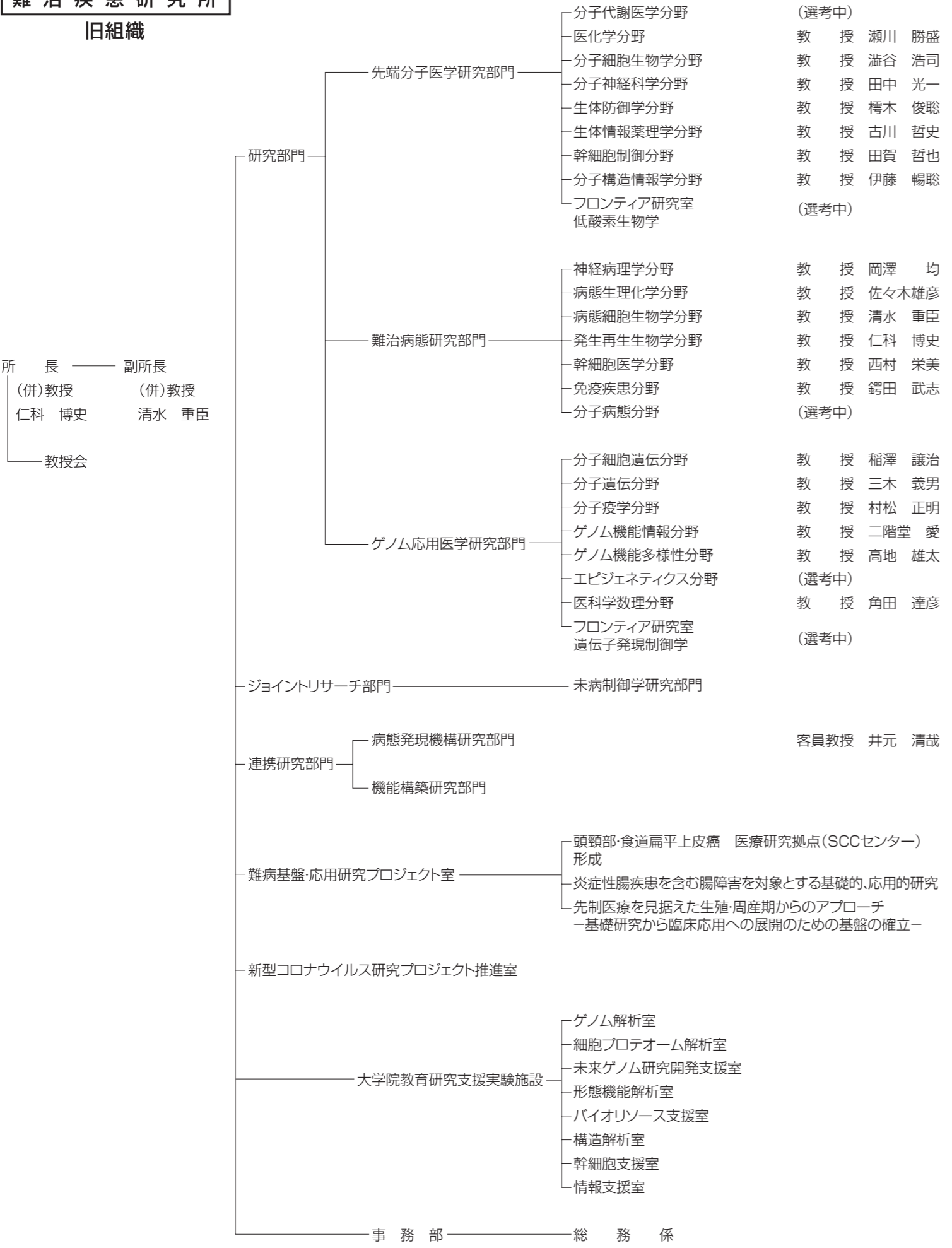
### 難治疾患研究所

ジョイントリサーチ未病制御学研究部門、未来ゲノム研究開発支援室



難治疾患研究所

旧組織



難治疾患研究所

新組織





# 職員及び学生数

## ●学生数

2022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	
先端分子医学研究部門	医化学分野	0	0	0	0
	分子細胞生物学分野	0	0	1	0
	分子神経科学分野	2	0	0	0
	生体防御学分野	2	3	0	0
	生体情報薬理学分野	0	0	1	0
	幹細胞制御分野	3	4	0	1
	分子構造情報学分野	1	0	3	0
難治病態研究部門	神経病理学分野	0	5	0	0
	病態生理化学分野	6	1	0	0
	病態細胞生物学分野	0	5	0	0
	発生再生生物学分野	6	0	4	1
	幹細胞医学分野	0	1	0	0
	免疫疾患分野	6	0	2	1
	機能分子病態学分野	0	0	0	0
ゲノム応用医学研究部門	分子細胞遺伝学分野	1	3	0	0
	分子遺伝学分野	2	3	0	0
	分子疫学分野	1	3	0	0
	ゲノム機能情報学分野	0	0	0	0
	ゲノム機能多様性分野	1	1	0	2
	エピジェネティクス分野	0	0	0	0
	医科学数理分野	0	0	0	0
計		31	29	11	5

## ●職員数

区分	教 員						計	ポストク	その他職員				計	合計
	教授	准教授	講師	助教	特任准教授 講師	特任 助教			技術系職員		事務系職員			
									常勤	非常勤	常勤	非常勤		
現 員	18	11	3	19	6	8	65	0	5	23	4	10	42	107

## ●日本学術振興会特別研究員数

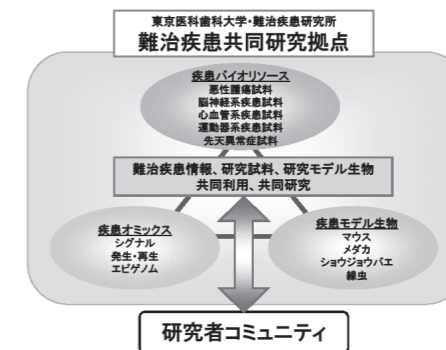
区分	PD	DC1	DC2	SPD	RPD
現 員	1	0	4	0	1

# 難治疾患共同研究拠点

東京医科歯科大学難治疾患研究所は、2009年6月25日に、文部科学大臣により、全国共同利用・共同研究拠点「難治疾患共同研究拠点」に認定され、2010年4月1日より難治疾患に関する研究を行っておられる研究者コミュニティの方々と共に本拠点のミッションにより、共同利用・共同研究を推進しております。

## 拠点のミッション

- ・難治疾患の病因・病態形成機構解明と診断・予防・治療法開発の基盤形成に資する共同利用・共同研究拠点構築を目的とする。
- ・「疾患バイオリソース」、「疾患モデル動物」、「疾患オミックス」の3つの難治疾患研究リソースを活用した公募型の戦略的難治疾患克服共同プロジェクトを推進する。
- ・国内外の研究者に、上記のリソース群へのアクセスや現有する先端解析支援施設の利用機会の提供を行ない、本邦の難治疾患研究の広範な発展に貢献する。
- ・難治疾患研究に携わる若手研究者の育成・支援システムを整備する。
- ・シンポジウム等の開催により、難治疾患研究の啓発と最先端情報の発信に努める。



## 2021年度採択課題

### 1) 戦略的課題 4件

申請者	職名	所属機関	研究題目
奥山 輝大	准教授	東京大学定量生命科学研究所	自閉症スペクトラム障害における社会性記憶異常の神経メカニズムの解析
鈴木 聡	教授	神戸大学大学院医学研究科	細胞間コミュニケーションを標的にした新規がん先制医療の開発
岩田 淳	神経内科部長	東京都健康長寿医療センター病院	認知症の新規サロゲートマーカーの開発
村川 泰裕	チームリーダー	理化学研究所	老化およびアルツハイマー病ミクログリアの時空的転写制御変容機構の解明

### 2) 挑戦的課題 3件

申請者	職名	所属機関	研究題目
水島 恒和	寄附講座教授	大阪大学大学院医学系研究科炎症性腸疾患治療学	オートファジー活性を介した腸炎緩和能を有する生薬成分の炎症性腸疾患患者由来検体に対する炎症緩和能に関する研究
織田 昌幸	教授	京都府立大学大学院生命環境科学研究科	CD28ファミリー細胞内領域 SH2 結合の特異的制御化合物の探索と結合解析
笹野 哲郎	教授	東京医科歯科大学医歯学総合研究科循環制御内科学	DNAメチル化による心房リモデリングの進展メカニズム解明と、新たな治療標的の探索



3) 一般的課題 41 件

申請者	職名	所属機関	研究題目
森 良之	教授	自治医科大学医学部歯科口腔外科学	ヒト舌がんオルガノイドバイオバンクを用いた新規舌がんリスク分類手法の確立
家田 真樹	教授	筑波大学医学医療系循環器内科	心室一心房筋・血管内皮細胞への分化転換機構の基盤研究
三枝 理博	教授	金沢大学医薬保健研究域医学系	中枢体内時計の神経機構の解明
石谷 太	教授	大阪大学微生物病研究所	モルフォゲン勾配を介した細胞品質管理機構の解析
西頭 英起	教授	宮崎大学 医学部機能生化学	脂肪萎縮症におけるオルガネラ連携の役割の解明
寺井 崇二	教授	新潟大学 大学院歯学総合研究科	肝脂肪化・線維化・発がんの病態研究
岩坪 威	教授	東京大学医学系研究科神経病理学	アルツハイマー病におけるリン酸化シグナル変化への環境因子の影響
青木 淳賢	教授	東京大学大学院 薬学系研究科 衛生化学教室	リゾソームノシタイトを基盤としてがんの病態解明
小内 伸幸	教授	金沢医科大学医学部免疫学講座	血液細胞分化経路解明と急性骨髄性白血病の新規治療法の創出
田中 信之	教授	日本医科大学先端医学研究所	がん幹細胞発生機構の解析とそれを標的とした治療法の開発
宮井 尊史	講師	東京大学医学部付属病院	角膜炎の遺伝子解析による疾患メカニズムの研究
猪狩 勝則	特任教授	東京女子医科大学 整形学科	マルチオミクス解析による MTX-LPD の危険因子の同定
三橋 弘明	准教授	東海大学工学部	骨格筋疾患に関わる内在性レトロウイルス由来配列の同定
西口 康二	教授	名古屋大学医学系研究科眼科学	CRISPR activation を用いた統合的遺伝子診断プラットフォームの確立
宮坂 尚幸	教授	東京医科歯科大学大学院生殖機能協同学	超音波検査および多遺伝子リスクコア併用による個別化周産期管理方法の開発
大村谷昌樹	教授	兵庫医科大学医学部	生体における Beclin 1 遺伝子の機能解析
秀 拓一郎	准教授	北里大学医学部脳神経外科	膠芽腫幹細胞ニッチを標的とした治療法の開発
信久 幾夫	教授	中村学園大学栄養科学部	胎生期の造血幹細胞維持に関与する転写因子 sox17 の下流遺伝子 Gimap6 の解析
備前 典久	助教	新潟大学大学院歯学総合研究科	神経幹細胞におけるグリア細胞分化能獲得の分子機構解明
金丸 和典	准教授	日本大学医学部	膵β細胞イメージングを基盤とする糖尿病の新規治療戦略創出
藤井 晋也	准教授	東京医科歯科大学生体材料工学研究所 薬化学	核内受容体と新規リガンド分子の相互作用における分子基盤の解析
赤尾 幸博	特任教授	岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科	MYC を制御する癌抑制型マイクロ RNA の探索
中村 由和	准教授	東京理科大学理工学部	形質膜リン脂質による上皮性の決定とその制御
江面 陽一	教授	帝京平成大学	遺伝性溶骨症の病因病態解明
浅野 正岳	教授	日本大学 歯学部	Allograft inflammatory factor-1 のレセプターの同定
矢野 憲一	教授	熊本大学産業ナノマテリアル研究所	DNA 損傷型抗がん剤の感受性増幅機構の解明とその臨床応用に関する共同研究
廣明 秀一	教授	名古屋大学大学院創薬科学研究科	Wnt シグナルを正負に制御する PDZ ドメイン阻害剤の合理的分子設計
西田 満	教授	福島県立医科大学医学部生化学講座	集団的癌細胞浸潤における Rif 低分子量 G タンパク質の機能解明
松井 秀彰	教授	新潟大学脳研究所	加齢依存性肝疾患の解析
津田 均	教授	防衛医大病態病理部	癌細胞の代謝特性を標的とした新たな癌治療戦略の確立
平沢 晃	教授	岡山大学 臨床遺伝子医療学	がん抑制型 microRNA-X のバイオマーカーの探索
曾根 雅紀	准教授	東邦大学理学部	モデルショウジョウバエを用いた神経変性疾患の分子遺伝学的解析
菊池 秀彦	教授	尚絅大学短期大学部食物栄養学科	ヒストンアセチル化関連酵素群の生理機能と発がん制御の解明
松本 佳則	研究准教授	岡山大学大学院歯学総合研究科腎・ 免疫・内分泌代謝内科学	自己免疫性疾患の新規病態メカニズムの解明
千葉奈津子	教授	東北大学加齢医学研究所腫瘍生物学	乳癌発がんにおける BRCA1/2 タンパク機能の統合的理解
長田 重一	特任教授 / 栄誉教授	大阪大学免疫学フロンティア研究センター 免疫生化学分野	リン脂質の膜動態と疾患
藤原 裕展	チームリーダー	理化学研究所生命機能科学研究センター	毛包幹細胞の起源に関する 1 細胞オミクス解析
加藤 忠史	主任教授	順天堂大学大学院医学研究科精神・ 行動科学 / 医学部精神医学講座	精神疾患の 1 細胞オミクス解析
岡部 泰賢	特任准教授	大阪大学免疫学フロンティア研究センター 恒常性免疫学分野	死細胞の貪食がマクロファージの転写ネットワークに及ぼす影響の解析
宮道 和成	チームリーダー	理化学研究所生命機能科学研究センター	ニューロンの個性と接続パターンの 1 細胞解析
山崎 晶	教授	大阪大学微生物学研究所分子免疫制御分野	C 型レクチン受容体 Mincle の自己由来リガンドの探索

4) 国際共同研究 12 件

申請者	職名	所属機関	研究題目
Mark Bradley	Professor	School of Chemistry, The University of Edinburgh	Niche mimicking polymer biomaterial-based cancer stem cell (CSC) regulation
Masako Suzuki	Assistant Professor	Albert Einstein College of Medicine	Vitamin D deficiency/insufficiency during pregnancy alters epigenetic profiles of the mother
Penninger, Josef, M	Director & Professor	Life Science Institute, University of British Columbia	MKK7-deficiency in mature neurons impairs parental behavior in mice
Steven Finkbeiner	Director	Center for Systems and Therapeutics & Taube/Koret Center for Neurodegenerative Disease, Gladstone Institutes	AI-based morphological analysis and prediction of neuronal cell death and organelle change
Makoto Inoue	Assistant Professor	University of Illinois at Urbana-Cham- paign	Early-life trauma induces neuropsychiatric disorders in autoimmune disease via altered immune system
Yoshinori Takahashi	Assistant Professor	Penn State College of Medicine	The role of Bif-1 in alternative autophagy
Yong-Sang Song	Professor	Department of Obstetrics and Gynecol- ogy, Seoul University College of Medicine	Genomics, bioinformatics and systems medicine to facilitate therapy of ovarian cancer
SUDOL, Marius	Adjunct Associate Professo	Icahn School of Medicine at Mount Sinai	Mouse model of the Golabi-Ito-Hall (GIH) syndrome of intellectual disability phenocopies severe autism
Takamitsu, Kato, A	Associate Professor	Department of Environmental & Radiologi- cal Health Sciences, Colorado State University	Development of novel DNA double-strand break repair inhibitors for cancer therapy
Liu Jun	Research fellow	Department of Immunology, Fudan University	Role of the lysosomal protein LAPTM5 in B cell tolerance
Hajime Hirase	Professor	Center for Translational Neuromedicine, University of Copenhagen	Chronic monitoring of cell and tissue metabolites in the mouse nervous system
Peter St George- Hyslop	Professor	Cambridge Institute for Medical Research, University of Cambridge	Profiling the Lysosomal Membrane Landscape in Neurodegenerative Disease

5) 研究集会 1 件

申請者	職名	所属機関	研究題目
田中 正人	教授	東京薬科大学	第 2 回 細胞死コロキウム

6) 新型コロナウイルス 特別研究採択課題 3 件

申請者	職名	所属機関	研究題目
久場 敬司	教授	秋田大学大学院医学系研究科	COVID-19 重症化・後遺症発症に対する ACE2 様酵素の治療応用
森田 英嗣	准教授	弘前大学農学生命科学部分子生命科学科	コロナウイルス細胞内増殖機構の解析とウイルス増殖阻害化合物スクリーニング系 の確立
秋吉 一成	教授	京都大学大学院工学研究科	ブルーランの免疫増強作用と COVID19 予防ワクチンへの応用についての研究



# トランスオミクス医学研究拠点ネットワーク形成事業

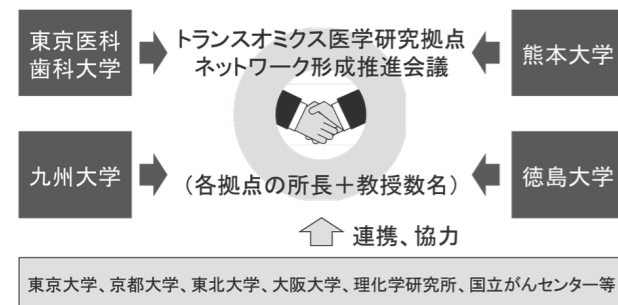
東京医科歯科大学難治疾患研究所は、平成 28 年 4 月より、トランスオミクス研究教育拠点の構築を目指し、文部科学省の支援を受けて九州大学、熊本大学、徳島大学の共同利用・共同研究拠点と協力して「トランスオミクス医学研究拠点ネットワーク形成事業」を推進しています。

## 【事業の目的】

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

## 【参加共同利用・共同研究拠点】

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

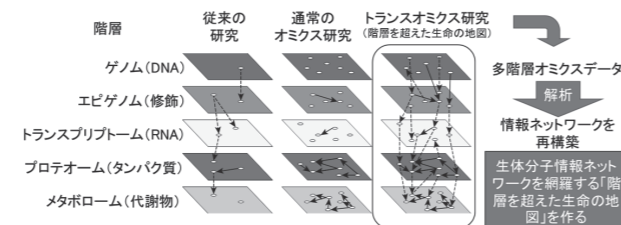


## 【令和3年度の活動内容】

- ・合同研究シンポジウム  
第 6 回トランスオミクス医学研究拠点ネットワークシンポジウム  
New Technologies Meet Biology  
■日時：2022 年 1 月 18 日 - 19 日  
■実施方法：オンライン開催

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。



## 【低発現タンパク質の生体内発現部位の検出法を用いたレトロウイルス由来遺伝子の同定】

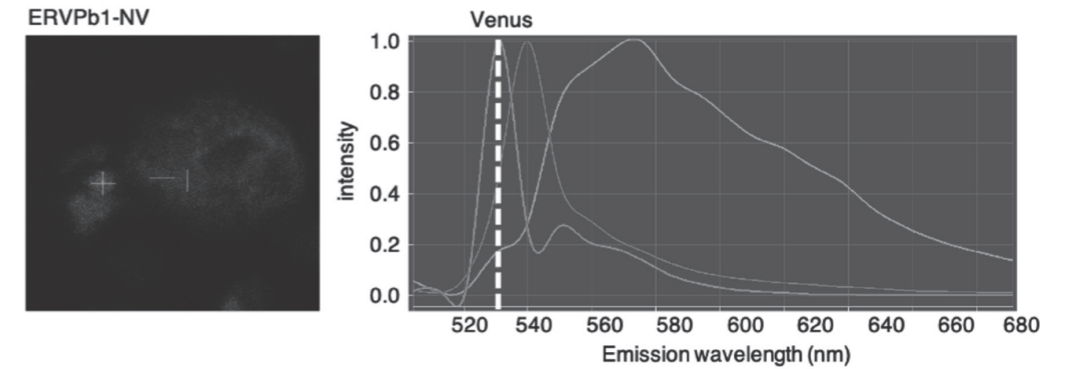
タンパク質の発現解析には抗体を用いた検出方法が多く使われているが、目的遺伝子に対する抗体の特異性が不十分なことは多い。また、リボソームが結合している RNA 領域をシーケンスすることで、翻訳領域の ORF を特定するリボソームプロファイリングという技術も近年広まっているが、一過性の低発現タンパク質は見落とされやすい。以上の理由から、発現が低いために解析の対象外になっている遺伝子がまだ多数存在することと考え、今回、CRISPR/Cas9 システムで蛍光タンパク質を目的遺伝子に導入する手法を開発した。本手法は、Venus や mCherryなどを融合した目的タンパク質を蛍光検出することで、生体内における目的タンパク質を特異的に検出するだけでなく、その発現の局在、そして経時的な観察も可能にする。観察には、蛍光スペクトル分

離機能を搭載した蛍光顕微鏡を使用することで、非常に微量な発現のタンパク質でもバックグラウンド中から検出することが可能である。

この方法を活用することで、レトロウイルスの envelop 由来とされる ERVPb1 配列が、実際にタンパク質として翻訳される真の遺伝子であることを同定した。ERVPb1 は真猿型下目特異的な遺伝子であり、その発現はマクロファージへの分化系で一時的に起きると

いうものであった。また、ERVPb1 は LPS 刺激により発現が上昇することから、自然免疫応答に関与している可能性が示唆されている。

Matsuzawa A. *et al.* HERV-Derived Ervpb1 Is Conserved in Simiiformes, Exhibiting Expression in Hematopoietic Cell Lineages Including Macrophages. *Int J Mol Sci.* (2021) 22(9):4504.





# シンポジウムおよび市民公開講座

第19回駿河台国際シンポジウム  
(2021年9月3日開催)

**19th Surugadai International Symposium**

## Understanding COVID-19 from Biological Perspectives

Fri 3 Sep 2021 09:00-12:10 via Zoom

08:00	<b>Opening Remarks</b> Dr. Hiroshi Nishida (Director, Medical Research Institute, TMDU)
09:05	<b>Session 1 09:05-10:25</b> <b>Chair:</b> Dr. Hiroshi Okazawa (Medical Research Institute, TMDU)
09:05	<b>What is a Virus? When Could We Predict its Emergence Like Weather Forecast?</b> Dr. Yongshen Zhang (Shanghai Public Health Clinical Center, Fudan University)
09:45	<b>ACE2, From Fly Hearts to the Heart of a Pandemic</b> Dr. Josef Penninger (The University of British Columbia)
10:25	<b>10:25-10:45 Coffee Break</b>
10:45	<b>Enhancing and Neutralizing Antibodies in SARS-CoV-2 Infection</b> Dr. Hisashi Arase (Osaka University)
11:15	<b>Immunogenic Peptides Derived from SARS-CoV-2</b> Dr. Takeshi Tsubata (TMDU)
11:30	<b>A Human Papillomavirus Vaccine (a Cervical Cancer Vaccine) Inhibits HIV Infection via Induction of Interleukin-27 (IL-27): The Potential of IL-27 in Immunotherapy for Virus Infection</b> Dr. Tomozumi Imamichi (Fritz Haber National Laboratory for Cancer Research)
12:05	<b>Closing Remarks</b> Dr. Takehiko Sasaki (Division of Infectious Diseases, TMDU)

Organizing Committee: Fumi Nakamura, Hiroshi Mabino, Hiroshi Okazawa, Shigeharu Shinohara, Takeshi Tsubata, Takehiko Sasaki

Register to join by scanning this QR code

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

第16回生命医科学研究所ネットワーク国際シンポジウム  
(2021年11月11~12日開催)

The 16th International Symposium of the Institute Network for Biomedical Sciences  
KEY FORUM 2021 International Symposium

## The Front Lines of Biomedical Research on the Nervous System

Date: **Nov 11(Thu)-12(Fri), 2021**  
Venue: **Conference Room, 6F, Honjo North 2, Medical Education & Library Building, Kumamoto University, Kumamoto, Japan**

**Guest Speakers**  
Denis Jabaudon (Univ. of Geneva, Switzerland)  
Ryoichiro Kageyama (CBS, RIKEN)  
Kumi Kuroda (CBS, RIKEN)  
Fumio Matsuzaki (BDR, RIKEN)  
Hideyuki Okano (Keio Univ.)  
Pierre Vanderhaeghen (VIB KULeuven Center for Brain & Disease Research, Belgium)  
Ki-Jun Yoon (KAIST, Korea)

Network Members:  
Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University  
Institute for Development, Aging and Cancer, Tohoku University  
The Institute of Medical Science, The University of Tokyo  
Medical Research Institute, Tokyo Medical and Dental University  
Institute for Molecular and Cellular Regulation, Gunma University  
Cancer Research Institute, Kanazawa University  
Institute for Frontier Life and Medical Science, Kyoto University  
Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University  
Institute for Protein Research, Osaka University  
Institute of Advanced Medical Science, Tokushima University  
Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University  
Institute of Molecular Embryology and Genetics, Kumamoto University

熊本大学発生活医学研究所 主催

Contact: KEY Forum 2021 office E-mail: [key-forum@jimu.kumamoto-u.ac.jp](mailto:key-forum@jimu.kumamoto-u.ac.jp) Tel: 096-373-6577  
Institute of Molecular Embryology and Genetics, Kumamoto University  
2-2-1 Honjo, Chuo-ku, Kumamoto 860-0811, Japan

2021年度難治疾患共同研究拠点シンポジウム  
(2022年1月21日開催)

東京医科歯科大学  
難治疾患研究所

## 2021年度 難治疾患共同研究拠点シンポジウム

### プログラム

2022年1月21日(金)  
10:00-11:30 (オンライン開催)

10:00-10:05	開会の辞 仁科 博史 所長 (東京医科歯科大学)
10:05-10:25	西口 康二 先生 (名古屋大学) 「網膜シストロフィに対するゲノム編集遺伝子治療の開発」
10:25-10:45	村川 泰裕 先生 (京都大学/理化学研究所) 「エンハンサー同定によるヒト疾患メカニズムの理解」
10:45-11:05	萩野 崇之 先生 (大阪大学) 「オートファジー誘導物質による新規炎症性腸疾患治療薬開発に向けた取り組み」
11:05-11:25	笹野 哲郎 先生 (東京医科歯科大学) 「心房細動の発症・進展メカニズム解明と先制医療」
11:25-11:30	開会の辞 高地 雄太 部門長 (東京医科歯科大学)

難治疾患研究所市民公開講座  
最先端生命科学講座シリーズ第29回  
(2021年10月22日開催)

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 市民公開講座  
最先端生命科学講座シリーズ 第29回

東京医科歯科大学難治疾患研究所は、「難治疾患に挑む。」をミッションに掲げる研究所であり、がん、心・血管系、神経疾患、骨・関節疾患、感染症・免疫病、生活習慣病など、幅広い領域にわたって研究しています。2009年には、文部科学大臣により難治疾患の全国共同研究拠点到認定されました。本市民公開講座では、最先端の研究内容を一般の方々によりわかりやすくご紹介します。※本公開講座は医療講演ではありません。

日時: **2021年10月22日(金) 午後7時~9時**  
開催方法: **オンライン (Zoom)**  
共催: **東京医科歯科大学・文京区・公益財団法人文京アカデミー**

**講演1 個体の大きさ、臓器の大きさ**  
講師: **仁科 博史** (難治疾患研究所 所長・教授)  
ヒトを含む動物は進化の過程で生態域に最適化しつつ、個体や臓器の大きさを多様化させてきました。この多様性は代謝や寿命などの生理機能と関連しているのでしょうか？個体や臓器の大きさの観点から動物の特性を考えます。また、環境・再生医療における大きさの重要性についてもお話しいたします。

**講演2 遺伝子と栄養環境の影響を理解して子々孫々の健康を守る**  
講師: **佐藤 燕子** (難治疾患研究所 准教授)  
人生100年時代を生きる子々孫々には、できるだけ長く健康でいてほしいものです。健康寿命を定める代表的な疾患は高血圧、糖尿病があります。これらの疾患の遺伝的発症に関与する最新の知見を紹介し、子孫の健康を守るためにプレママ、プレパパの健康的な生活がなぜ重要なのかをお話しいたします。

みなさまのご参加をお待ちしております (定員80名・参加費無料・9/25受付開始)  
※対象: 15歳以上 (中学生を除く)  
※申込: 10月15日(水) 23:59まで 公財財団法人文京アカデミーHP (<https://www.b-academy.jp/>) からお申し込みください。  
※申込: 6月15日(水) 23:59まで ※お申し込みの申し込みは、電話でもお受けいたします。  
アカデミー・文京区事務局 TEL: 03-5803-1119 (平日9:00~17:00)

学際生命科学東京コンソーシアムは、東京医科歯科大学、お茶の水女子大学、筑波大学、北里大学と連携し、地域のみならずと産官学連携によるイノベーションの推進に貢献します。

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28回  
(2021年6月25日開催)

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 市民公開講座  
最先端生命科学講座シリーズ 第28回

東京医科歯科大学難治疾患研究所は、「難治疾患に挑む。」をミッションに掲げる研究所であり、がん、心・血管系、神経疾患、骨・関節疾患、感染症・免疫病、生活習慣病など、幅広い領域にわたって研究しています。2009年には、文部科学大臣により難治疾患の全国共同研究拠点到認定されました。本市民公開講座では、最先端の研究内容を一般の方々によりわかりやすくご紹介します。※本公開講座は医療講演ではありません。

日時: **2021年6月25日(金) 午後7時~9時**  
開催方法: **オンライン (Zoom)**  
共催: **東京医科歯科大学・文京区・公益財団法人文京アカデミー**

**講演1 生物進化に関わる新規遺伝子の獲得機構**  
講師: **石野 史敬** (東京医科歯科大学 名誉教授 (前 難治疾患研究所 所長))  
「ヒトの遺伝子はたったの2万個」「ヒトとチンパンジーのゲノム相違性は98.5%」本当にこれらは正しいのでしょうか？ヒトがヒトであることを考えるため、ヒトゲノムに潜むウイルス由来の獲得遺伝子についてお話し致します。

**講演2 ヒトゲノムの多様性と疾患~新型コロナはなぜ重症化するのか~**  
講師: **高地 雄太** (難治疾患研究所 教授)  
新型コロナ肺炎は、風邪症状で終わる人もいれば、集中治療室での管理が必要になるような人もいますが、なぜでしょうか？その理由の一つは、個人のゲノム配列の違い (遺伝子多型) があります。この遺伝子多型と疾患がどう関係するかについて、お話しできればと思います。

みなさまのご参加をお待ちしております (定員50名・参加費無料)  
※対象: 15歳以上 (中学生を除く)  
※申込: 6月15日(水) 23:59まで 公財財団法人文京アカデミーHP (<https://www.b-academy.jp/>) からお申し込みください。  
※申込: 6月15日(水) 23:59まで ※お申し込みの申し込みは、電話でもお受けいたします。  
アカデミー・文京区事務局 TEL: 03-5803-1119 (平日9:00~17:00)

学際生命科学東京コンソーシアムは、東京医科歯科大学、お茶の水女子大学、筑波大学、北里大学と連携し、地域のみならずと産官学連携によるイノベーションの推進に貢献します。

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30回  
(2022年2月25日開催)

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 市民公開講座  
最先端生命科学講座シリーズ 第30回

東京医科歯科大学難治疾患研究所は、「難治疾患に挑む。」をミッションに掲げる研究所であり、がん、心・血管系、神経疾患、骨・関節疾患、感染症・免疫病、生活習慣病など、幅広い領域にわたって研究しています。2009年には、文部科学大臣により難治疾患の全国共同研究拠点到認定されました。本市民公開講座では、最先端の研究内容を一般の方々によりわかりやすくご紹介します。※本公開講座は医療講演ではありません。

日時: **2022年2月25日(金) 午後7時~9時**  
開催方法: **オンライン (Zoom)**  
共催: **東京医科歯科大学・文京区・公益財団法人文京アカデミー**

**講演1 健康のためにデータ科学でヒトのすべての細胞を調べ尽くす**  
講師: **二階堂 愛** (難治疾患研究所 教授)  
私たちのからだには数億種類の細胞があると知られていますが、これらの細胞が何を原動力に活動しているのかを調べるにはどのような方法があるのでしょうか？ヒトのすべての細胞を調べ尽くすための最新技術についてお話しします。

**講演2 寝たきりの5人に1人は不整脈による脳梗塞が原因! -AIを用いたその予防の取り組み-**  
講師: **古川 哲史** (難治疾患研究所 教授)  
日本の寝たきり5人に1人が「心臓機能と関係する心臓の不整脈を原因とする、特に心房細動」といわれる心房細動 (心房が正常に収縮しない) に合併する脳梗塞が大きなリスクです。今回、AIを用いた心房細動と脳梗塞の関連性、人工知能(AI)を用いた心臓機能を見つめ、寝たきりを予防するための取り組みをご紹介します。

1/5(水)受付開始・2/21(月)23:59(木) まで 申込80名・参加費無料・13歳以上 (中学生を除く)  
公財財団法人文京アカデミーHP (<https://www.b-academy.jp/>) からお申し込みください。  
※申込: 10月15日(水) 23:59まで 公財財団法人文京アカデミーHP (<https://www.b-academy.jp/>) からお申し込みください。  
※申込: 6月15日(水) 23:59まで ※お申し込みの申し込みは、電話でもお受けいたします。  
アカデミー・文京区事務局 TEL: 03-5803-1119 (平日9:00~17:00)

学際生命科学東京コンソーシアムは、東京医科歯科大学、お茶の水女子大学、筑波大学、北里大学と連携し、地域のみならずと産官学連携によるイノベーションの推進に貢献します。



# プレスリリース

## 免疫グロブリン A の欠損により回腸特異的に炎症が自然発症することを発見

—炎症性腸疾患の病因・病態解明や治療法開発に期待—  
安達貴弘（未病制御学研究部門）  
Immunoglobulin A-specific deficiency induces spontaneous inflammation specifically in the ileum  
Gut **2022 Mar**;71(3):487-496. doi: 10.1136/gutjnl-2020-322873.

## 代謝産物が RNA のメチル化を介して代謝酵素の量をフィードバック制御する

—代謝酵素の量を一定に保つ遺伝子発現の新しい制御機構—  
黒柳秀人（フロンティア研究室（遺伝子発現制御学））  
m6 A-mediated alternative splicing coupled with nonsense-mediated mRNA decay regulates SAM synthetase homeostasis  
The EMBO Journal **2021 Jul 15**;40(14):e106434. doi: 10.15252/embj.2020106434.

## 高脂肪食などによる肥満が薄毛・脱毛を促進するメカニズムの解明

—幹細胞における炎症・再生シグナルの異常が毛包の萎縮を引き起こす—  
西村栄美（幹細胞医学分野）  
Obesity accelerates hair thinning by stem cell-centric converging mechanisms  
Nature **2021 Jul**;595(7866):266-271. doi: 10.1038/s41586-021-03624-x.

## スーパーエンハンサーを標的とする miRNA を用いた核酸抗癌薬の可能性

稲澤譲治、玄泰行（分子細胞遺伝分野）  
miR-766-5p Targets Super-Enhancers by Downregulating CBP and BRD4  
Cancer Research **2021 Oct 15**;81(20):5190-5201. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-21-0649.

## 妊婦の遺伝的高血圧リスクは胎盤への影響を介して児の出生体重を低下させる

—低出生体重児の生活習慣病発症原因についての理解に新たな方向性—  
佐藤憲子（分子疫学分野）  
Placenta mediates the effect of maternal hypertension polygenic score on offspring birth weight: a study of birth cohort with fetal growth velocity data  
BMC Medicine **2021 Nov 4**;19(1):260. doi: 10.1186/s12916-021-02131-0.

## 認知症の原因タンパク質が脳炎症を起こす仕組みを解明 —脳のミクログリアはタウ蛋白をウイルスと間違える？— 岡澤均（神経病理学分野）

Tau activates microglia via the PQBP1-cGAS-STING pathway to promote brain inflammation  
Nature Communications **2021 Nov 15**;12(1):6565. doi: 10.1038/s41467-021-26851-2.

## 焦点性てんかんの新しいモデルマウスの作成に成功

—てんかんの病態解明と新たな治療法開発に期待—  
田中光一（分子神経科学分野）  
Dorsal telencephalon-specific Nprl2- and Nprl3-knockout mice: novel mouse models for GATORopathy  
Human molecular genetics **2021 Nov 20**;ddab337. doi: 10.1093/hmg/ddab337.

## 疾患関連リン脂質の新規測定技術の開発

—リン脂質代謝を標的とした治療法と診断技術の開発へ—  
佐々木雄彦、佐々木純子（病態生理化学分野）  
A mass spectrometric method for in-depth profiling of phosphoinositide regioisomers and their disease-associated regulation  
Nature Communications **2022 Jan 10**;13(1):83. doi: 10.1038/s41467-021-27648-z.

## ポリジェニックリスクスコアは関節リウマチの関節破壊進行を予測する

—関節リウマチのゲノムオーダーメイド医療へ向けて—  
高地雄太（ゲノム機能多様性分野）  
Association of Polygenic Risk Scores With Radiographic Progression in Patients With Rheumatoid Arthritis  
Arthritis & Rheumatology **2022 Jan 20**. doi: 10.1002/art.42051.

## 抗体産生不全を呈する免疫不全症での内在性機能回復の仕組みの発見

—免疫不全症の病態の解明と新規治療標的の発見—  
鏑田武志（免疫疾患分野）  
The inhibitory coreceptor CD22 restores B cell signaling by developmentally regulating Cd45 -/- immunodeficient B cells  
Science Signaling **2022 Mar**;15(723):eabf9570. doi: 10.1126/scisignal.abf9570.

# 受賞および特許

## 各種受賞

### 免疫疾患分野

Amin Alborzian Deh Sheikh  
第 85 回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会  
“A Guillain-Barré syndrome-associated SIGLEC10 rare variant impairs its recognition of gangliosides”  
ベストプレゼンテーション賞（銅賞）

### 松村佳奈

第 94 回日本生化学会大会  
“多糖に対する抗体産生のメカニズムの解明”（ポスター）  
若手優秀発表賞

### 鏑田武志

日本プロテインホスファターゼ研究会功労賞

### 神経病理学分野

本間秀典  
第 13 回 CBIR/ONSA/ 大学院セミナー共催若手インスパイアシンポジウム  
「動的分子ネットワーク解析を用いた FTLD-AD 間における共通コア病態の予測」  
CBIR 若手インスパイアシンポジウム優秀賞

### 藤田慶大

第 40 回日本認知症学会学術集会  
「胎児期神経幹細胞の DNA 損傷が早期神経細胞ネットワークを介して FTLD 発症を運命付ける」  
日本認知症学会奨励賞

### 分子細胞遺伝分野

玄泰行  
第 25 回日本がん分子標的治療学会学術集会  
優秀演題賞受賞

## 2021 年難治疾患研究所優秀論文賞 最優秀論文賞

松村寛行（幹細胞医学分野）  
Distinct types of stem cell divisions determine organ regeneration and aging in hair follicles  
Nature Aging

### 金美花（神経病理学分野）

Tau activates microglia via the PQBP1-cGAS-STING pathway to promote brain inflammation  
Nature Communications

### 優秀論文賞

佐藤憲子（分子疫学分野）  
Placenta mediates the effect of maternal hypertension polygenic score on offspring birth weight: a study of birth cohort with fetal growth velocity data  
BMC Medicine

## 特許

### 分子細胞遺伝分野

〈特許取得—国内〉  
2021 年 3 月 26 日  
出願番号：特願 2021-052697  
「腫瘍細胞の評価方法」  
稲澤譲治・井上純・岸川正大  
国立大学法人東京医科歯科大学



# 学位(博士)取得者

## 幹細胞制御分野

板橋歩未

「造血幹・前駆細胞の Sox17 導入による細胞塊形成能は発生の進行により低下する」

古作瑛菜

「合成ポリマーを用いた軟部肉腫の抗がん剤感受性予測診断法の開発に関する研究」

## 発生再生生物学分野

進 匡

「MKK7 deficiency in mature neurons impairs parental behavior in mice」

伊克拉木 阿力甫 (Alifu Yikelamu)

「Circadian clock regulation of behavioral activity in zebrafish」

## 分子疫学分野

Zong Yuan

「D-amino acid oxidase (DAO) rare genetic missense variant p.Pro103Leu and gastric cancer. 」

Tong Daike

「COL17A1 germline variant p.Ser1029Ala and mucosal malignant melanoma: An autopsy study.」

勝田江朗

「Sub Gene-Ontology によるセマンティックな類似度を用いた Clonal mosaicism の遺伝的機能解析の研究」

## 免疫疾患分野

Yang Hongrui

「B-cell-excluded CD72 Deficiency in Mice Contributes to Amelioration of Lymphocytic Choriomeningitis Virus Clone 13-induced Chronic Infection by Intraperitoneal Route」

## 分子遺伝分野

東条陽

「BRCA2 phosphorylated by AKT1 interacts to 14-3-3 $\gamma$  and participates in the checkpoint mechanism for maintaining S-phase centrosomes cohesion.」

Enkhbat Gerelmaa

「The BRCA2 missense mutation K2497R suppressed self-degradation and increased ATP production and cell proliferation」

福田未緒

「BRCA2 represses the transcriptional activity of pS2 by E2-Era」

## 分子細胞遺伝分野

岸川正広

「Augmentation of lenvatinib efficacy by topical treatment of miR-634 ointment in anaplastic thyroid cancer.」

# 難研セミナー

2021 年度大学院生研究発表会・若手研究者研究発表会  
2022 年 3 月 8 日

Huang Yuming (免疫疾患分野)  
Study on the mechanism of T cell-independent antibody production to bacterial polysaccharides  
Long Wang (免疫疾患分野)  
Development of an antibody that expands regulatory B cells, and its application in the treatment of type 1 diabetes, allograft rejection and arthritis  
長岡 勇也 (発生再生生物学分野)  
YAP 活性化細胞が周囲正常細胞へ及ぼす影響  
長尾 裕志 (生体防御学分野)  
四塩化炭素肝傷害に対する神経細胞特異的 MKK7 欠損マウスの応答

2021 年度難治疾患研究所基礎研究奨励費採択者講演会  
2022 年 3 月 8 日

山口 啓史 (病態細胞生物学分野)  
Wipi3 分子による新規オートファジー機構 (GOMED) の制御とインスリン分泌への影響  
平岡 優一 (分子神経科学分野)  
小脳アストロサイト Direct conversion による機能的神経再生法の開発  
金山 剛士 (生体防御学分野)  
単球特異的なレポーターマウスの樹立と単球由来細胞の同定

2021 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  
2022 年 3 月 8 日

仁部 洋一 (病態細胞生物学分野)

新規オートファジー関連分子 WIPI3 の異常に起因する超早期発症型炎症性腸疾患の病態解析と創薬開発研究  
鳥居 暁 (病態細胞生物学分野)  
Park22/CHCHD2 変異によるパーキンソン病モデルマウスの解析と治療化合物の開発  
藤田 慶大 (神経病理学分野)  
SCA1 患者由来 iPS 細胞を用いた、ブルキンエ細胞形成前異常の解析  
佐藤 卓 (生体防御学分野)  
皮膚繊維症を引き起こす免疫細胞の同定とその分子基盤の解明  
Bi Haining (分子神経科学分野)  
Pathogenesis of cerebellar-induced motor disorders including ataxia, tremor, and dystonia without neurodegeneration

2021 年難治疾患研究所優秀論文賞受賞者講演会

2022 年 3 月 8 日  
松村 寛行 (幹細胞医学分野)  
Distinct types of stem cell divisions determine organ regeneration and aging in hair follicles  
金 美花 (神経病理学分野)  
Tau activates microglia via the PQBP1-cGAS-STING pathway to promote brain inflammation  
佐藤 憲子 (分子疫学分野)  
Placenta mediates the effect of maternal hypertension polygenic score on offspring birthweight: a study of birth cohort with fetal growth velocity data

難研セミナー／難治疾患共同研究拠点セミナー  
第 621 回 / 第 196 回

岡本 一男 特任准教授  
(東京大学大学院医学系研究科骨免疫学寄附講座)  
異種細胞間コミュニケーションに基づく、炎症・がん・筋骨格系疾患の病態解明  
2021 年 7 月 21 日

第 622 回 / 第 197 回

菅波 孝祥 教授  
(名古屋大学環境医学研究所分子代謝医学分野)  
慢性炎症に着目した生活習慣病の新たな治療戦略の開発  
～病態メカニズムに根ざした医工連携イノベーションの取り組み～  
2021 年 7 月 21 日

第 623 回 / 第 198 回

松田 憲之 プロジェクトリーダー  
(東京都医学総合研究所 ユビキチンプロジェクト)  
遺伝性パーキンソン病の原因遺伝子産物 PINK1, Parkin, DJ-1 が示す新たなオルガネラ蛋白質の動態  
2021 年 7 月 21 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。

### 医化学

- 重度心身障害患者におけるリン脂質フリッパーゼの点変異の同定とその病態メカニズムの解明。
- ATP 受容体 P2X7 に制御されるリン脂質スクランブラーゼの同定。

### 分子細胞生物学

- 発がん性の RAS 遺伝子変異により幹細胞因子 SOX2 の発現が誘導され、SOX2 ががん幹細胞の発生に必須な因子であることを示した。
- SOX2 の発現誘導には細胞周期調節因子 CDK1 の活性化とタンパク質の O-GlcNAc 修飾増大が重要であることを示した。

### 分子神経科学

- NPRL1 および NPRL3 を欠損させたマウスが焦点性てんかん患者と同じ症状を示すことを明らかにした。
- CaMKII-CREB シグナルを活性化することが網膜神経節細胞を興奮毒性から保護することを示した。
- グルタミン酸輸送体 GLT1 を 80%欠損するマウスが注意欠如・多動症に似た症状を示すことを明らかにした。

### 生体防御学

- 抗体-薬剤複合体 (ADC) を用いて、私たちの研究室で同定したヒト単球前駆細胞 (cMoP) を標的とした、新規がん治療法の基盤を確立した。
- ヒト扁平上皮がん (主に舌がん、食道がん) オルガノイドライブラリーを樹立した。

### 生体情報薬理学

- セルフリー DNA による心房細動における全身性炎症惹起への寄与を明らかにした。
- 先天性心疾患発症と過増殖による腫瘍化の共通メカニズムの解明。

### 幹細胞制御

- In vitro において増殖因子無添加かつ無血清条件下で神経幹細胞の自己複製能を維持する合成ポリマーの開発
- 胎生中期マウス大動脈において最初に造血幹細胞が生じる血液細胞塊の造血能維持に関与する Rasip1 の同定と機能解析
- がん幹細胞による宿主赤血球産生の遠隔的制御を介するニッチの自己構築の発見

### 分子構造情報学

- ヘモグロビンの酸素非結合型と酸素結合型の間状態の結晶構造を複数決定し、ヘモグロビンの特徴である協同性の詳細を明らかにした。
- 酸化還元酵素の立体構造を超高分解能で X 線と中性子線の双方で決定し、酵素反応の詳細について水素原子を含む構造情報から解析した。



# 先端分子医学研究部門 医化学分野

教授：瀬川勝盛 助教：宮田佑吾

## 研究内容

哺乳類細胞の細胞膜は非対称に分布するリン脂質二重層で構成される。すなわち、アミノリン脂質であるホスファチジルセリン (PtdSer) やホスファチジルエタノールアミン (PtdEtn) は細胞質側の内層に局在するのに対し、ホスファチジルコリン (PtdCho) やスフィンゴミエリン (SM) は主に外層に分布する。細胞はダイナミックに細胞膜リン脂質の分布を変化させることで、生体の恒常性を維持する。リン脂質を移層させる分子として、3つのタイプの膜脂質移層分子 (フリッパーゼ、フロッパーゼ、スクランブラーゼ) が存在する。本研究分野では、細胞のさまざまな膜脂質移層分子を同定し、その生理機能と病態学的意義を明らかにする研究を進めている。

## 研究紹介

### 1. これまでの研究

フリッパーゼは、PtdSer や PtdEtn を特異的かつ ATP 依存的に、脂質二重膜の外層から内層へ一方向に移層 (フリップ) することで、非対称分布を樹立・維持すると考えられてきた。これまで 10 回膜貫通タンパク質である IV 型 P-type ATPase (P4-ATPase) ファミリー分子に属する ATP8A2 と ATP11A と ATP11C が哺乳動物細胞の細胞膜で機能するフリッパーゼであることを見出してきた。これらのメンバーは、ファミリーに共通するサブユニットである CDC50A と結合することで安定なフリッパーゼ複合体を形成、細胞膜へと移行し PtdSer と PtdEtn を ATP 依存的に外層から内層へ移層する。ATP8A2 は神経や精巣などの臓器に特異的に発現するのに対し、ATP11A と ATP11C は全身性に発現する。細胞や精製タンパク質を用いたフリッパーゼ活性の評価では、3つのメンバーがおおよそ同等の活性をもつことが示された。実際、ATP11A と ATP11C を二重に欠損した T リンパ球系細胞は、細胞膜のフリッパーゼ活性が消失し、細胞表面に曝露した PtdSer を内層に戻すことができず露出し続ける。このことは、細胞膜フリッパーゼやフリッパーゼ活性が PtdSer の非対称分布の再樹立に必須であることを示している。また最近、名古屋大学の阿部一啓博士らのグループが ATP11C の構

造を決定した。この構造により、1 番目の膜貫通領域のアミノ酸 (Q79) を含むいくつかのアミノ酸と PtdSer の頭部が塩橋を形成することで、フリッパーゼ分子内に PtdSer が保持されること、その後の ATP の加水分解に伴うフリッパーゼ分子の構造変化により、PtdSer が外層から内層へ移層されることが示唆された。

### 2. 神経学的退行を示す患者に発見されたフリッパーゼ ATP11A の点変異

フリッパーゼは生体において多様な生理機能をもつ。ATP11C を欠損したマウスは、B 細胞欠損症、胆汁うっ滞症、貧血、難産などの病態を示し、ヒトにおいても ATP11C に変異をもつ貧血の患者が見出されている。一方、ATP11A の変異も多くの疾患を発症させる。ATP11A 欠損マウスは、胎盤の形成異常により胎生致死となる。最近、東北大学小児科、呉繁夫教授らにより ATP11A に点変異をもつ患者が見出された。この患者は、出生後にてんかんを発症し、幼児期から大脳萎縮と髄鞘形成不全を伴う神経学的退行を示した。健常の両親と患者とでトリオエクソーム解析を行った結果、ATP11A 遺伝子にヘテロ接合性の点変異が同定された (c.250C>G, p.Q84E)。実際、この点変異を導入したヘテロ接合性ノックインマウスは、生後 1 週間で 80% 以上の個体が致死となり、生存した個体も加齢に伴った重篤な神経学的退行の症状を示した。この結果は、Q84E 変異が顕性の原因変異であることを示した。では Q84E 変異はフリッパーゼにどのような影響を与えるのであろうか？ヒト ATP11A の 84 番目のグルタミン残基は、上述した PtdSer と塩橋を形成する ATP11C の Q79 に相当したことから、PtdSer の取り込みや基質特異性に変化が生じている可能性が考えられた。そこで、ATP11A と ATP11C を二重欠損した細胞に ATP11A-Q84E 変異体を安定発現させ、細胞膜上のフリッパーゼ活性を定量した。その結果、Q84E 変異体は、本来の基質である PtdSer と PtdEtn を移層する活性を失うことなく、PtdCho を移層することが明らかとなった。Q84E 変異体による PtdCho の移層メカニズムを解析するために ATP11C の三次構造と PtdCho で分子動力学シミュレーション解析を行ったところ、PtdCho 頭部の窒素原子が、

変異したグルタミン酸と静電相互作用することで結合エネルギーが上昇し、PtdCho がフリッパーゼ分子内に保持されやすいことが明らかとなった。次いで、Q84E 変異体を発現させた T リンパ球系細胞の遺伝子発現をマイクロアレイ法で解析した。その結果、スフィンゴミエリン合成酵素 (SGMS1) の遺伝子発現が約 20 倍増加していた。質量分析法で解析した結果、細胞全体の SM が 2 倍に増加していた。C<sup>14</sup>-コリンを用いて細胞内の PC と SM を放射性標識し、細胞膜外層の脂質を解析すると、変異体発現細胞では PC が著減し SM が増加していることが明らかとなった。この変異体を発現した T リンパ球系細胞では、細胞増殖能の低下、細胞サイズの低下、細胞外スフィンゴミエリナーゼによる細胞破裂など、通常の細胞ではみられない特性が観察された。このことは、細胞膜外層の PC と SM の組成比は細胞の恒常性や生存に極めて重要であることを示している。最後に、イメージング質量分析法を用いて、Q84E ヘテロノックインマウスの胎児を解析した結果、変異マウスの体内、特に脳や肺などにおいて SM が増加していることを確認した。

### 3. 細胞外 ATP の下流で作用するスクランブラーゼの同定

PtdSer や PtdEtn の非対称分布はフリッパーゼにより維持される。一方で、このリン脂質の非対称性は、アポトーシスなどの局面で崩壊し PtdSer が細胞表面へと露出され “eat me” シグナルとして作用することが知られている。このリン脂質の非対称性の崩壊はスクランブラーゼと呼ばれる膜タンパク質が実行する。これまでに、

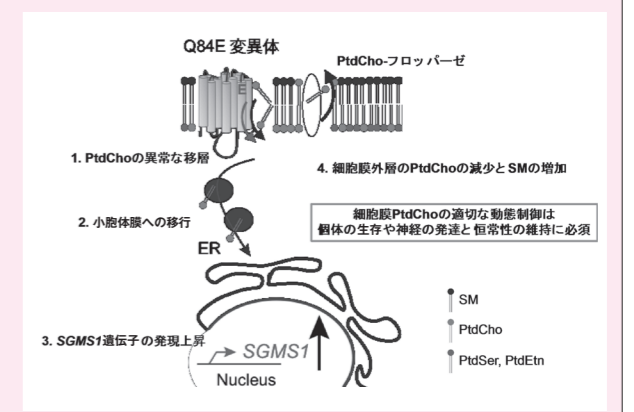
大阪大学長田重一教授らのグループによりアポトーシス時に働く Xkr8 や血小板活性化時に働く TMEM16F などがスクランブラーゼとして同定されてきた。一方で、さまざまな局面で細胞が PtdSer を露出することが知られており、未知のスクランブラーゼが存在することが想定される。

細胞外の ATP 濃度は組織の損傷や炎症に伴う細胞死によって上昇し、ATP 受容体：P2X7 を介して免疫細胞であるマクロファージや制御性 T 細胞を活性化する。特に高濃度の ATP に暴露された制御性 T 細胞は PtdSer を露出しながら、速やかに細胞死を遂げる。長田教授らとの共同研究により、ATP によって活性化された T 細胞の細胞膜におけるリン脂質スクランプリングの責任分子を同定するため、CRISPR/Cas9 法を用いたゲノムワイドスケールの遺伝子スクリーニングを行い、神経有棘赤血球症の原因遺伝子として知られる Xk と Vps13a を同定した。Xk はスクランブラーゼ Xkr8 と同じ Xk-related ファミリーに属する分子であり、Vps13a は脂質輸送活性をもつ細胞質タンパク質として報告されていた。実際、Xk あるいは Vps13a を欠損させた T 細胞株は、ATP 刺激による P2X7 依存的なスクランプリング活性が減弱していた。また、高濃度の ATP 刺激による細胞死も Xk や Vps13a の欠損で抑制された。生化学的解析と共焦点顕微鏡観察により、Xk と Vps13a が複合体を形成し、細胞膜に局在することが示された。以上より、細胞膜に存在する Xk-Vps13a 複合体は、ATP により活性化した P2X7 の下流でリン脂質のスクランプリングを起こすと結論した。

## ハイライト

### ATP11A-Q84E 変異の病態モデル

Q84E 変異が引き起こす病態の概略図。通常では PtdCho フロッパーゼが PtdCho を外層へ移層する。移層された PtdCho は小胞体へ移行し、スフィンゴミエリン合成酵素 (SGMS1) の遺伝子発現を上昇させる。結果として、細胞膜外層の PtdCho が減少し、SM が増加する。PtdCho の異常な膜動態は、個体に致死性の発達障害と神経学的退行を引き起こす。



## 人事異動

転入：瀬川勝盛 (教授)、宮田佑吾 (助教)

## 業績目録

### 原著論文

1. A sublethal ATP11A mutation associated

with neurological deterioration causes aberrant phosphatidylcholine flipping in plasma membranes. Segawa K, Kikuchi A, Noji T, Sugiura Y, Hiraga K, Suzuki C, Haginoya K, Kobayashi Y, Matsunaga M, Ochiai Y, Yamada K, Nishimura T, Iwasawa S, Shoji W, Sugihara F, Nishino K, Kosako H, Ikawa M, Uchiyama Y, Suematsu M, Ishikita H, Kure S, Nagata S. *J Clin Invest*. 131 (18) :148005, 2021.

2. Requirement of Xk and Vps13a for the P2X7-mediated phospholipid scrambling and cell lysis in mouse T cells. Ryoden Y, Segawa K, Nagata S. *Proc Natl Acad Sci U S A*. in press.

### 著書・総説

1. Sensing and clearance of apoptotic cells. Nagata S, Segawa K. *Curr Opin Immunol*. 68:1-8, 2021.



# 先端分子医学研究部門 分子細胞生物学分野

教授：澁谷浩司 准教授：後藤利保 助教：清水幹容

## 研究内容

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

## 研究紹介

がん原遺伝子や腫瘍抑制遺伝子の変異といった発がん性のシグナルは、分化した体細胞をCSCsにリプログラミングすることで、腫瘍形成につながる可能性が指摘されている。したがって、リプログラミングに関与する初期化因子の解析がCSCs発生機構の解明に寄与すると考えられる。しかし、がんは多段階の発症プロセスで次々と特徴的ながん能力を獲得することで発症するため、確立されたがん細胞株を用いてCSCs発生における初期化因子の機能を解析することは困難である。そこで、本研究では正常な細胞に発がん性の遺伝子変異を導入することで、CSCs発生における初期化因子の解析を行った。

1. 初期化因子SOX2は発がん性RAS遺伝子変異によるCSCsの発生に重要である。

発がん性シグナルによるCSCs発生に関与する初期化因子を特定するため、P53遺伝子を欠損したマウス線維芽細胞 (p53<sup>-/-</sup>MEF) にHRAS<sup>V12</sup>変異体を発現させた細胞 (p53<sup>-/-</sup>MEF-HRAS<sup>V12</sup>) を作製した。RASはヒトのがん細胞で最も頻繁に変異する遺伝子の1つであり、p53<sup>-/-</sup>MEF-HRAS<sup>V12</sup>をヌードマウスに皮下移植することで腫瘍を形成するため、CSCsの関与が疑われる。そこでCSCs発生の指標となるスフェロイド形成を行ったところ、p53<sup>-/-</sup>MEFでは形成されなかったスフェロイドがp53<sup>-/-</sup>MEF-HRAS<sup>V12</sup>において形成され、CSCsの発生が確認された。このときリプログラミング

に関わる初期化因子の発現を調べると、p53<sup>-/-</sup>MEFと比べてp53<sup>-/-</sup>MEF-HRAS<sup>V12</sup>細胞でのSOX2の発現がmRNAレベル、タンパク質レベルで著しく増大することが明らかとなった。そこでCSCs発生におけるSOX2の影響を調べるため、CRISPR-Cas9システムを使用してp53<sup>-/-</sup>MEF-HRAS<sup>V12</sup>のSOX2遺伝子をKOしたところ、スフェロイド形成が阻害されると共に、ヌードマウスへの皮下注射時の腫瘍形成が完全に抑制された。以上のことから、発がん性のRAS遺伝子変異はSOX2の発現増大を介してCSCsを生じさせると考えられる。

2. RAS遺伝子変異はRAF/MAPK経路を介してCDK1を活性化することで、SOX2発現を促進する。

細胞内におけるRASタンパク質はRAF/MAPK経路およびPI3K/AKT経路を活性化する。そこで、それぞれの経路の阻害剤でp53<sup>-/-</sup>MEF-HRAS<sup>V12</sup>を処理した際のSOX2発現を調べたところ、RAF/MAPK経路を阻害することでSOX2の発現減少が確認されたが、PI3K/AKT経路を阻害してもSOX2の発現量に変化は見られなかった。また、恒常的活性化型のBRAF変異体をp53<sup>-/-</sup>MEFに発現することで、HRAS<sup>V12</sup>変異体と同様のSOX2の発現増大が確認できたことから、RAS変異体はRAF/MAPK経路を介してSOX2の発現を誘導すると考えられる。

RAF/MAPK経路で機能するERKは、CDK1、CDK2の活性化や、サイクリンD1の発現増大によるCDK4/6の活性化など、細胞周期の制御に重要な機能を有している。そこでSOX2の発現に対するこれらの細胞周期調節因子の影響を調べるため、CDK1/2阻害剤DinaciclibまたはCDK4/6阻害剤Palbociclibで処理したところ、PalbociclibではSOX2の発現に大きな変化は見られなかったが、Dinaciclibで処理することでSOX2の発現が著しく抑制された。また、このときのスフェロイド形成を調べると、Dinaciclibで処理したp53<sup>-/-</sup>MEF-HRAS<sup>V12</sup>はスフェロイド形成できなくなることが判明した。さらに、siRNAを用いてCDK1またはCDK2をノックダウンした結果から、RAS変異によるSOX2の発現増大とCSCs発生にはCDK1の活性化が重要であることが明らかとなった。

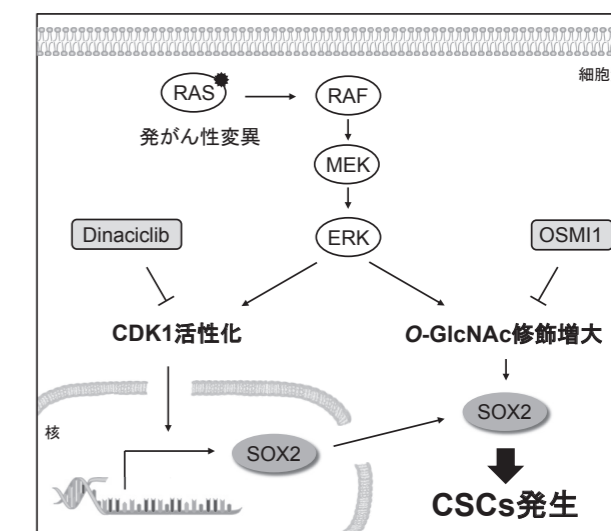
3. RAS遺伝子変異はCDK1活性化によるタンパク質のO-GlcNAc修飾増大を介してSOX2発現を促進することで、がん幹細胞の発生を制御する。

O-GlcNAc修飾は翻訳後修飾のひとつであり、タンパク質のセリンまたはスレオニン残基にN-アセチルグルコサミン (GlcNAc) が付加されることで、そのタンパク質の活性や安定化を制御している。以前の研究結果から、SOX2の発現にタンパク質のO-GlcNAc修飾レベルが重要であることがわかっているため、RAS変異によるSOX2の発現増大に対する影響を検証した。まずp53<sup>-/-</sup>MEF-HRAS<sup>V12</sup>におけるO-GlcNAc修飾レベルを調べるとp53<sup>-/-</sup>MEFに比べて増大しており、このときO-GlcNAc修飾阻害剤OSMI1で処理することでO-GlcNAc修飾レベルの減少に伴いSOX2の発現減少が確認された。興味深いことにSOX2のmRNA量には大きな変化がみられず、またユビキチン/プロテアソーム阻害剤MG132と共に処理することでSOX2の発現減少が回復したことから、タンパク質のO-GlcNAc修飾レベルは翻訳後の段階でSOX2の発現を制御すると推測される。さらに、OSMI1で細胞を処理することでスフェロイド形成が完全に抑制されたことから、RAS変異はO-GlcNAc修飾レベルの増大を介してSOX2発現を促進することで、がん幹細胞の発生を制御すると考えられる。

最後にRAS変異によるSOX2の発現増大に重要であることが示されたCDK1の活性化がO-GlcNAc修飾レベルに関与しているのか検証を行った。p53<sup>-/-</sup>MEF-HRAS<sup>V12</sup>をDinaciclibで処理することでタンパク質のO-GlcNAc修飾レベルが減少し、CDK1をノックダウン

することでも同様の結果が得られた。また、RAS遺伝子に変異をもつ複数のがん細胞株 (大腸がん細胞: HCT116・DW480・DLD1、肺がん細胞: H460・A549) をDinaciclibで処理すると、p53<sup>-/-</sup>MEF-HRAS<sup>V12</sup>と同様にO-GlcNAc修飾レベルおよびSOX2発現の減少が確認された。

以上の結果から、発がん性のRAS遺伝子変異はMAPK経路を介してCDK1活性化とタンパク質のO-GlcNAc修飾レベル増大を誘導し、最終的にSOX2の発現を促進することでがん幹細胞を発生させることが明らかとなった。したがって、がん幹細胞の制御機構として、本機構ががん幹細胞治療の標的となることが期待できる。



発がん性シグナルによるがん幹細胞 (CSCs) 発生機構

## 研究業績

Shimizu M, Shibuya H, Tanaka N. Enhanced

O-GlcNAc modification induced by the RAS/MAPK/CDK1 pathway is required for SOX2 protein expression and generation of cancer stem cells. *Scientific Reports* 12, Article number: 2910 (2022).



# 先端分子医学研究部門 分子神経科学分野

教授：田中光一 助教：平岡優一、大西哲生

## 研究内容

### 概略

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

## 研究紹介

### 1. グルタミン酸トランスポーターの脳機能における役割

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

グルタミン酸トランスポーターは、神経終末から放出されたグルタミン酸を取り込み、神経伝達物質としての作用を終わらせ、細胞外グルタミン酸濃度を低く保つ機能的分子である。現在まで脳のグルタミン酸トランスポーターには、グリア型2種類 (GLT1, GLAST) と神経型2種類 (EAAC1, EAAT4) の計4種類のサブタイプが知られている。グリア型グルタミン酸輸送体の機能障害は、多くの精神神経疾患 (筋萎縮性側索硬化症、アルツハイマー病、脳梗塞・脳外傷、てんかん、統合失調症、うつ病、自閉症など) で報告されており、神経細胞の機能障害および変性・脱落に関与する共通した機序だと考えられています (図1)。

本年度は、グルタミン酸トランスポーター GLT1 を80%欠損するマウスを作成し、そのマウスが注意欠如・多動症に似た行動異常を示すことを明らかにした。

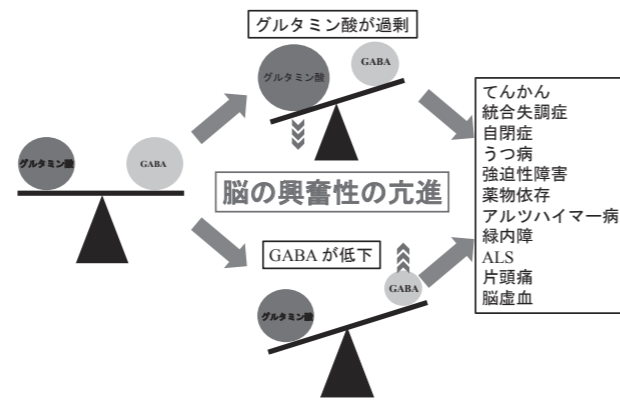


図1 グルタミン酸トランスポーターの機能異常による興奮と抑制のアンバランスが様々な精神神経疾患を引き起こす

### 2. CaMKIIの活性化による網膜神経節細胞の保護法の開発

網膜神経節細胞の細胞死は、緑内障・眼球虚血・糖尿病性網膜症などで起き、失明の主要な原因になっている。しかし、網膜神経節細胞死を抑制し、視覚機能を保つことは難しかった。我々は、網膜神経節細胞死において、CaMKII-CREBシグナル伝達が低下することを見つけた。恒常活性化型CAMKIIをアデノ随伴ウイルスベクターを用い眼球に注入し、CaMKII-CREBシグナル伝達を活性化することにより、網膜神経節細胞を保護できることを明らかにした。

### 3. 焦点性てんかんの新規モデル動物の開発

焦点性てんかんは、脳の一部の神経細胞が異常に興奮することによって引き起こされるてんかんで、異常興奮が起こる脳部位や発症の特徴によって様々な種類に分類されています。近年、様々な種類の焦点性てんかん患者さんからNPRL2、NPRL3、DEPDC5の変異が発見されており、これらの変異は、焦点性てんかんの最も頻繁に認められる遺伝的な原因となっています。焦点性てんかんの解明には、ヒトと同様に遺伝子変異を持ち、患者さんに似た症状を示すモデルマウスが役立ちます。これまで、DEPDC5変異を有するてんかんモデルマウスを用いた研究は行われてきましたが、NPRL2およびNPRL3に変異を持つてんかんモデルマウスは作製され

ていませんでした。そこで研究グループは、最新のゲノム編集技術CRISPR/Cas9システムを用い、大脳皮質の細胞でのみNPRL2およびNPRL3を欠損させたマウスを作製しました。NPRL2およびNPRL3欠損マウスは、患者さんと同様に、自発性てんかん発作を起こし、発作特有の脳波異常を示しました。また患者さんに認められる、巨大な神経細胞の出現も再現されました。

### 4. 精神疾患に関与する新しい遺伝子発現調節系の解析

統合失調症は幻覚妄想に代表される陽性症状、うつ様症状の陰性症状に加えて認知機能障害が現れる代表的な精神疾患である。その発症には環境要因に加えて遺伝要

因が大きく寄与しているが、その全貌はいまだ明らかではない。我々は、染色体異常をもつまれな症例を起点にその原因遺伝子候補としてLDB2を同定してきた。Ldb2 KOマウスは統合失調症様の行動異常を示し、その症状の一部は統合失調症治療薬の投与により改善された。そのような行動異常が生じるメカニズムとして、LDB2の転写調節因子としての機能が関連することを明らかにした。重要なことに、LDB2は、すでに我々が統合失調症関連遺伝子として報告していたEGR (early growth response) 遺伝子群と協調して、シナプス動態を調節することを明らかにした。

## ハイライト

### 「焦点性てんかんの新規モデル動物の開発」

DEPDC5、NPRL2、NPRL3の遺伝子変異は、遺伝性の焦点性てんかん患者さんに最も多く認められる遺伝子変異です。また、焦点性てんかんには、既存の抗てんかん薬が効きにくい難治性てんかんが多いです。今回、研究グループは、NPRL2およびNPRL3遺伝子変異によるてんかんのモデルマウスを作製し、それらが患者さんと同様に、自発性てんかん発作を起こし、発作特有の脳波異常を示しました。また患者さんに認められる、巨大な神経細胞の出現も再現されました。患者さんの病態を再現することを明らかにしました (図2)。さらに、NPRL2、NPRL3、DEPDC5の変異を持つ焦点性てんかん患者さんでは、遺伝子の転写やタンパク質の合成を担うmTORC1経路の過剰な活性化が認められます。そのため、mTORC1の抑制剤であるラパマイシンが新たな抗てんかん薬として期待されています。そこで、NPRL2およびNPRL3欠損マウスにラパマイシンを長期間投与したところ、てんかん発作の回数発が有意に抑制されました (図3)。これらの結果は、NPRL2およびNPRL3欠損マウスは焦点性てんかんの病態モデルとして有用であり、今

後、これらのマウスを利用した病態解明研究が進むと期待されます。

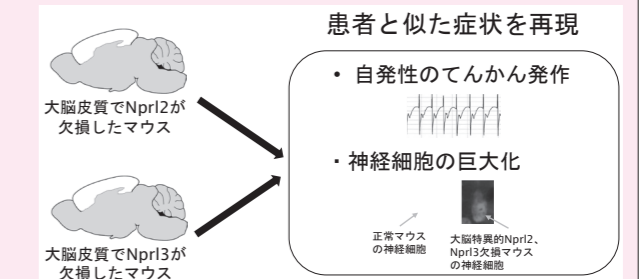


図2 大脳皮質特異的Nprl2、Nprl3欠損マウスは焦点性てんかん患者と同じ異常を示す

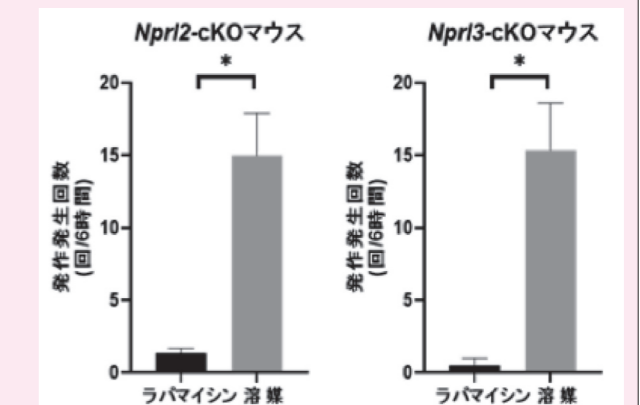


図3 ラパマイシンの抗てんかん作用 (\*p < 0.05)

## 人事異動

転入：大西哲生 (助教) 生、松野弘和 (研究実践プログラム)  
転出：加藤美波、松浦稜 (修士課程)、松野弘和 (研究実践プログラム)

## 業績目録

### 発表論文

- Ishida, S., et al., Dorsal telencephalon-specific Nprl1- and Nprl3-knockout mice: novel mouse models for GATORopathy. *Hum Mol Genet* doi: 10.1093/hmg/ddab337. 2021.
- Nagaishi, T., et al., Immunoglobulin

- A-specific deficiency induces spontaneous inflammation specifically in the ileum. *Gut* 71. 487-496, 2022.
- Uchida, M., et al., Early postnatal inhibition of GLAST causes abnormalities of psychobehaviors and neuronal morphology in adult mice. *Neurochem Int* 150. 105177, 2021.
- Eshiba, S., et al., Stem cell spreading dynamics intrinsically differentiate acral melanomas from nevi. *Cell Rep* 36. 109492, 2021.
- Guo, X., et al., Preservation of vision after CaMKII-mediated protection of retinal ganglion cells. *Cell* 184. 4299-4314, 2021.
- Hiraoka, Y., et al., Mice with reduced glutamate transporter GLT1 expression exhibit behaviors related to attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biochem. Biophys. Res.*

- Commun* 567. 161-165, 2021.
- Balan, S., et al., A loss-of-function variant in SUV39H2 identified in autism-spectrum disorder causes altered H3K9 trimethylation and dysregulation of protocadherin  $\beta$ -cluster genes in the developing brain. *Mol Psychiatry*, epub ahead of print, doi: 10.1038/s41380-021-01199-7, 2021.
- Balan, S., et al., Role of an atypical cadherin gene, Cdh23 in prepulse inhibition, and implication of CDH23 in Schizophrenia. *Schizophr. Bull* 47. 1190-1200, 2021.
- Ohnishi, T., et al., Cooperation of LIM domain-binding 2 (LDB2) with EGR in the pathogenesis of schizophrenia. *EMBO Mol. Med.* 13. e12574, 2021.



# 先端分子医学研究部門 生体防御学分野

教授：樗木俊聡 准教授：佐藤卓 助教：金山剛士  
 非常勤講師：小内伸幸（金沢医科大学）、村川泰裕（京都大学）  
 技術補佐員：始関紀彰、林豊貴 事務補佐員：上岡寿子

## 研究内容

### 概略

私たちの分野では「生体の防御と恒常性維持機構の解明」に焦点をあて、それらを担う免疫細胞や組織幹細胞の分化・機能を、正常および疾患病態において理解することを目的としている。樹状細胞・マクロファージなどのミエロイド系細胞や、血液・腸・皮膚などの組織幹細胞を研究対象として、免疫系、組織幹細胞系、さらにはそれら異系間相互作用による恒常性維持機構とその破綻による病態構築機序の解明に取り組んでいる。また、それら成果に基づき、難治性疾患の予防法・治療法の開発へ繋がる応用研究への糸口が得られるよう研究を推進している。

## 研究紹介

### 1. ミエロイド系細胞の分化・機能研究

#### 1) 樹状細胞・マクロファージ前駆細胞の同定と関連病態解明・治療法開発

樹状細胞 (Dendritic Cell, 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<sup>+</sup>CDP は主に cDC を生み出すが、M-CSFR<sup>-</sup>CDP は pDC への分化能に優れていた。

単球は、定常状態においても腸や真皮に異動して組織マクロファージに分化するが、感染や損傷に伴い、それ以外の組織にも積極的に流入してマクロファージに分化、炎症や組織修復に関与する。単球の源である共通単球前駆細胞 (Common Monocyte Progenitor, cMoP) は、マウスにおいて最初に同定されたが、ヒト cMoP は未同定であった。私たちの研究グループは、ヒト臍帯血や骨髄を用いてヒト cMoP の同定に成功し、ヒト単球分化経路を明らかにした (*Immunity* 2017; *Int Immunol* 2018)。ヒト cMoP は、単球・マクロファージへの優

た分化能を示す一方、他の血液細胞へは分化しなかった。単球は、慢性骨髄単球性白血病 (CMML) に関与するため、製薬企業との共同研究として、ヒト cMoP を効果的に除去できる抗体-薬剤複合体 (ADC) を作製して、CMML PDX モデルに投与したところ、骨髄や末梢血中から白血球細胞がほぼ完全に消滅した。また、単球は腫瘍の増殖進展を促す腫瘍関連マクロファージ (TAM) に分化するため、担がんヒト化マウスに ADC を投与したところ、末梢血単球に加えて腫瘍内 TAM が消滅し、腫瘍塊の有意な縮小が認められた (*Front Immunol* 2021) (図 1)。単球は様々な炎症性疾患にも関与するため、ヒト単球系列特異的な ADC の適応拡大も期待される。

#### 2) ミクログリアによる脳恒常性維持・低下機構の解明

脳のマクロファージであるミクログリアは、若齢期には神経組織形成・再生や食能に優れ恒常性維持に積極的に貢献しているが、加齢に伴い徐々に炎症形質が顕著になり、脳機能が徐々に低下していく。私たちの研究グループは、当該ミクログリア形質転換プロセスの原因となる転写制御変容を、細胞機能変化の最も初期に起こるエンハンサーの活性化を指標に解明することを目指している。理化学研究所で開発された一塩基レベルで活性化エンハンサー領域を計測可能な新技術 NET-CAGE 法を用いて、新規ミクログリア活性化エンハンサー 36,320 領域、加齢に伴い発現が増減するエンハンサー 937 領域の同定に成功、さらにクロマチン高次構造解析により当該エンハンサーにより調節されるコード領域を解析中である。エンハンサーの活性化は細胞種特異的であるため、プロモーターやコード領域を標的にする場合と異なり、ミクログリア特異的機能制御法の開発につながる可能性が期待される。

## 2. 組織幹細胞の研究

### 1) 免疫系—組織幹細胞系の連関による組織恒常性の維持と破綻

何ら感染の起きていない個体においても、I 型インターフェロン (IFN) は微量ではあるが持続的に産生されている。私たちの研究グループは、この生理レベルの I 型

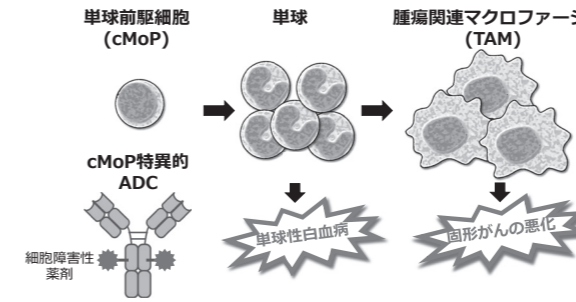


図 1 単球前駆細胞を標的とした新規がん治療戦略

IFN シグナルが造血幹細胞 (Hematopoietic Stem Cell, HSC) ストレスとして働き、同細胞の幹細胞性低下の原因になることを報告した (*Nat Med* 2009)。この成果に基づき、当該 I 型 IFN シグナルの小腸上皮幹細胞 (Intestinal Stem Cell, ISC) への影響を検討したところ、HSC 同様、ISC の数や機能を低下させること、その結果、分泌系前駆細胞への分化が促されることが判明した (*Nat Cell Biol* 2020) (図 2)。大腸上皮幹細胞 (Colonic Stem Cell, CSC) でも同様に幹細胞性が低下しており、DSS 腸炎モデルにおいて全個体が死亡した (*Sci Rep* 2020)。

腸上皮損傷後の再生起点細胞が数種類報告されている



図 2 ヒト舌がん・食道がんオルガノイドライブラリーの樹立

が、それらの上皮再生における貢献度の軽重は不明である。私たちの研究グループは、細胞運命追跡技術を用いて、放射線照射による腸損傷後に生き残った細胞のシングルセル解析を行い、腸損傷後の主たる再生起点細胞の同定に成功した (*Sci Rep* 2020)。

### 2) ヒト舌癌オルガノイドバイオバンクの構築と治療法開発

扁平上皮がんは、口腔、食道、肺、子宮頸部などの扁平上皮組織に生じるがんである。舌がんは口腔がんのおよそ 6 割を占め、進行がんでは 5 年生存率が 42% と極めて低く、根治治療後の再発率も高い。同様に、日本を含むアジア諸国に特徴的な食道扁平上皮がんも、根治治療後の再発率は非常に高い。私たちの研究グループは、多施設共同研究として、これまでに報告のないヒト舌がん及びヒト食道扁平上皮がんに特化したオルガノイドライブラリーの構築に成功している (舌がん 34 症例、食道がん 18 症例、継続中) (図 2)。また、実際に臨床治療に用いられる抗がん剤に抵抗性を示すがんオルガノイドを各々 4 症例樹立している。これら独自のリソースを用いて、抗がん剤耐性獲得機構の解明と創薬探索を進めている。

## 人事異動

梶田美穂子 立命館大学へ助教として異動 (2021.4.1.)  
 佐藤元 自治医科大学博士課程から特別研究学生として参加 (2021.4.1.)  
 大梁恵梨子、中川舞 東京薬科大学から本学修士課程入学 (2021.4.1.)

## 業績目録

### 原著

1. Adachi A, Honda T, Dainichi T, Egawa G, Yamamoto Y, Nomura T, Nakajima S, Otsuka A, Maekawa M, Mano N, Koyanagi N, Ohteki T, Nagasawa T, Ikuta K, Kitoh A, Kabashima K. Prolonged high-intensity exercise induces fluctuating immune responses to herpes simplex

virus infection via glucocorticoids. *J Allergy Clin Immunol* 148, 1575-1588 (2021). doi: 10.1016/j.jaic.2021.04.028.  
 2. Izumi Y, Kanayama M, Shen Z, Kai M, Kawamura S, Akiyama M, Yamamoto M, Nagao T, Okada K, Kawamata N, Toyota S, Ohteki T. An antibody-drug conjugate that selectively targets human monocyte progenitors for anti-cancer therapy. *Front Immunol* 12, 618081 (2021). Doi: 10.3389/fimmu.2021.618081.



# 先端分子医学研究部門 生体情報薬理学分野

教授：古川哲史 准教授：竹内純 助教：井原健介

## 研究内容

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

## 研究紹介

### 1. セルフリー DNA と心房細動

心房細動は臨床最もあり頻度の高い不整脈疾患であり、半身麻痺や寝たきりを引き起こす重篤な脳梗塞の重要な原因疾患で、その疾患メカニズムの理解は新たな治療戦略開発に重要である。炎症の存在が心房細動発症に寄与していることが知られており、逆に心房細動自体も炎症を惹起することが知られ、炎症を介した“AF begets AF”（心房細動が心房細動を惹起する）という概念が広く受け入れられている。しかし、心房細動が炎症を惹起するメカニズムは不明のままであった。我々は本学循環制御内科学分野と共同研究を行い、心房細動患者の血中セルフリー DNA に着目しセルフリー DNA と心房細動および炎症の関係を検討した（Yamazoe M, et al. Sci Rep. 2021）。セルフリー DNA はリキッドバイオプシーとして癌診療分野で広く研究されているが、心房細動における意義は不明であった。我々の検討では心房細動患者において血中セルフリー DNA は健常者と比較して増加しており、特に核由来ではなく、ミトコンドリア由来のセルフリー DNA のコピー数が心房細動の有無とより相関していた。培養細胞を用いた研究では核由来ではなくミトコンドリア由来のセルフリー DNA のみがマクロファージにおける炎症性サイトカインの産生を促し、そ

の効果はメチル化を受けていないミトコンドリア由来セルフリー DNA が TLR9 を介して炎症反応を惹起していると考えられた。本研究はセルフリー DNA が心房細動診断のバイオマーカーとしての有用性を示すだけでなく、心房細動が炎症を惹起するメカニズムとしてセルフリー DNA の関与を示唆する重要な研究である。

### 2. 先天性心疾患発症と過増殖による腫瘍化の共通メカニズムの解明

*Tbx5* 遺伝子はヒト Holt-Oram 症候群の責任遺伝子であり、その遺伝子変異は上肢欠損と心疾患を発症する。我々のグループは *Tbx5* の転写環境に着目することで、先天性心疾患発症メカニズムの理解と心臓運命の決定機構の理解を目指している。今まで左室・心房特異的に機能する *Tbx5* 陽性細胞の単離は難しいとされてきたが、トランスクリプトーム解析によって世界で初めて特異的な表面抗原 GPC5 を単離した。GPC5 は *Tbx5* によって誘導され、恒常的に Shh-FGF シグナルを細胞内に伝える捕レセプターとして機能していることを明らかにした。このことは、なぜ未解明であったヒト心疾患で心房中隔欠損・心室中隔欠損率が高いのか示す知見となる。さらに、筆者らは *Tbx5* 亢進が見られる腫瘍性細胞を用いて本研究を行った。腫瘍化を起こしやすい未分化細胞が細胞分化過程で過剰な GPC5 発現は細胞増殖亢進し腫瘍化を誘発することが明らかとなった（Takeuchi et al. *PLOS ONE* 2021）。今後、GPC5 が腫瘍化幹細胞が腫瘍化するスイッチとして機能するメカニズムと、心筋増殖過程においても局在が見受けられる GPC5 が心筋成熟につれて抑制されるメカニズムを明らかにしていくことが期待される。

## 人事異動

転入：なし  
転出：なし

## 業績目録

### 原著論文

1. Yamazoe M, Sasano T, Ihara K, Takahashi T, Nakamura W, Takahashi N, Komuro H, Hamada S, Furukawa T. Sparsely Methylated Mitochondrial Cell free DNA Released from Cardiomyocytes Contributes to Systemic Inflammatory Response Accompanied by Atrial

Fibrillation. Sci Rep. 2021. 11: 5837. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85204-7>  
2. Takeuchi M, Takeuchi K, Monobe Y, Takai T., Yamaguchi R., Furukawa T., Akagi K., [Takeuchi JK](#). Subcellular localization of glypican-5 is associated with dynamic motility of the human mesenchymal stem cell line U3DT. *PLOS ONE* doi.org/10.1371/journal.pone.0226538 2021 \*: correspondence to this work

# 先端分子医学研究部門 幹細胞制御分野

教授：田賀哲也 講師：榎康一 助教：室田吉貴 事務補佐員：牧野まや  
技術補佐員：松丸武渡

## 研究内容

### 概要

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

## 研究紹介

### 1. 人工幹細胞ニッチを用いた神経幹細胞の自己複製能維持機構の解明

神経幹細胞 (NSC) の自己複製は、中枢神経系の発生、恒常性維持、再生に不可欠であり、その微小環境であるニッチからの複数のシグナルによって厳密に制御されている。しかし、神経幹細胞ニッチは、その生物学的、化学的、物理化学的要素が複雑に交錯していることから、完全には解明されていない状況にある。我々はエジンバラ大学の Bradley 教授らとの共同研究で、多種多様な合成高分子（ポリマー）を用いて作製した「ポリマーマイクロレイ」に基づく独自のハイスループットスクリーニングシステムを確立し、神経幹細胞ニッチを擬態するポリマーを探索した。本研究では、アクリレート系、アクリルアミド系、ウレタン系の 376 種類のポリマーをスクリーニングし、増殖因子を含まない無血清培地で

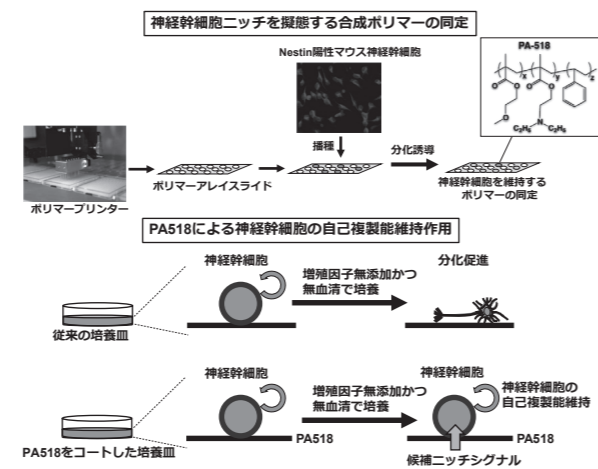


図1 神経幹細胞ニッチ擬態合成ポリマーの同定とヒットポリマーによる神経幹細胞自己複製能維持作用

NSC の自己複製能と多能性を維持する NSC ニッチ擬態ポリマーとして、アクリレート系のポリマー PA518 を同定した。マイクロレイのドットサイズから 6 cm プレートのサイズに規模を拡大してヒットポリマー PA518 をコートした培養皿に播種した神経幹細胞においても、増殖因子無添加かつ無血清の条件下で神経幹細胞の未分化マーカー nestin の発現、増殖指標の BrdU 標識率、自己複製能を示すニューロスフェア形成能が有意に保持された (図1)。また、ヒットポリマーに結合する神経幹細胞由来タンパクを同定するため銀染色を行ったところ、複数の候補タンパクを検出した。これらの結果は、PA518 が神経幹細胞ニッチの包括的理解のための有用なツールであることを示しており、PA518 結合タンパクの今後の同定とさらなる PA518 の特性解明は、NSC の制御に関する新たな知見を提供するものと期待される。

### 2. 胎生中期マウス大動脈で最初に造血幹細胞が生じる血液細胞塊の造血能維持に対する Rasip1 の関与

マウスの発生において、造血幹細胞は胎生中期の大動脈の血管内皮細胞に接する血液細胞塊に最初に生じることが知られている。この血液細胞塊を形成する細胞の幹細胞維持に寄与する分子として転写因子 Sox17 が明らかとなっている。転写因子 Sox17 は血液細胞塊において発現しており、前年までの実験により、Sox17 の発現

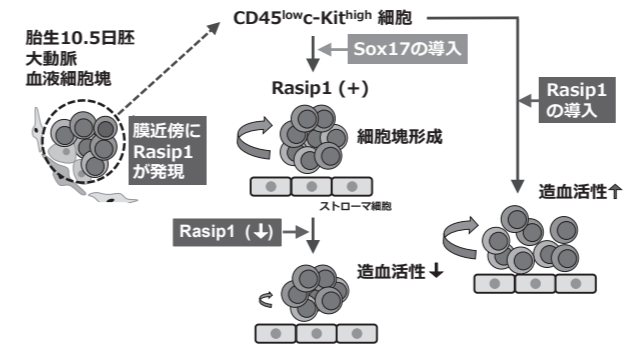


図2 造血幹細胞が生じる血液細胞塊の造血能の維持における転写因子 Sox17 による Rasip1 の発現の関与

量と細胞塊形成能および造血能に正の相関があることを示した。転写因子 Sox17 による幹細胞維持の分子機構としては Notch シグナルの活性化や接着分子の発現亢進が重要であるが、まだ不明な点も多い。そこで、転写因子 Sox17 の下流で造血幹細胞の維持に関わる新規の分子探索及び機能解析を行った。Sox17 プロモーターの下流に GFP を接続したマウス胎仔を用いて、胎生中期の血液細胞塊において Sox17 発現細胞と非発現細胞を分画し、Sox17 発現血液細胞塊構成細胞において発現が亢進している遺伝子について RNA sequence により調べたところ、Sox17 発現細胞集団において Ras interacting protein 1 (Rasip1) が高発現していた。Rasip1 は、血管特異的に GTPase 活性を制御するタンパク質で、細胞の構造や接着に関わることが知られている。そこで、まず血液細胞塊における Rasip1 の発現をホールマウント免疫蛍光染色により解析したところ、細胞の膜付近に発現を認めた。さらに、血液細胞塊構成細胞に Rasip1 を導入すると造血能が維持される一方で、Sox17 導入細胞に Rasip1 に対する shRNA を導入して発現量を低下させると造血能が低下することを見出した。このことは Rasip1 の発現量と造血能に正の相関があることを示している。さらに、転写因子 Sox17 により直接 Rasip1 の発現が誘導されるかを解析するため、Rasip1 遺伝子上流に認める Sox17 結合配列を含む領域についてルシフェラーゼアッセイを行ったところ、Sox17 が結合配列に作用することで Rasip1 遺伝子の発現を上昇させること明らかにした。以上の結果より、Rasip1 が造血幹細胞を含む血液細胞塊の幹細胞性維持に機能することが強く示唆された。(図2)。

## 研究業績

### 原著論文

Suzuki I, Yoshida S, Tabu K, Kusunoki S, Matsumura Y, Izumi H, Asanoma K, Yagi H,

Onoyama I, Sonoda K, Kohno K, Taga T, Takeda S, Kato K. YBX2 and cancer testis antigen 45 contribute to stemness, chemoresistance and a high degree of malignancy in human endometrial cancer Scientific Reports, 11(1): 4220, 2021

### 総説

榎康一, 田賀哲也. 合成ポリマーを用いた癌幹細胞ニッチの特性解明別冊「医学のあゆみ「治療標的としてのがん幹細胞」, 122-126, 2021

### 3. がん幹細胞による宿主赤血球産生の遠隔的制御を介するニッチの自己構築

がん組織中に存在するがん幹細胞 (cancer stem cell) は、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おり診断・治療法の開発にあたり考慮すべき重要な細胞である。以前より当分野では、グリオーマのがん幹細胞が各種サイトカインを分泌して単球・マクロファージ (Mφ) を誘導し、ニッチを自ら構築することでがん再発に寄与することを報告してきた (図3)。さらにその Mφ が腫瘍内に出血した赤血球を貪食することでがん幹細胞の生存に有益な鉄を貯蔵していることを担瘤マウスで示し、宿主のミエロイド系細胞を巧みに利用するがん幹細胞の生存戦略を明らかにした。しかし、このようなグリオーマの進展において赤血球系細胞ががん幹細胞によって制御されるかどうかについては不明である。そこで本年度は、マウス胎仔肝臓由来の前赤芽球 (proE) の初代培養系を用いて、膠芽腫患者由来細胞 (patient-derived cell; PDC) 株を含むグリオーマ細胞の馴化培地が proE へと及ぼす影響を検証し、癌幹細胞および非癌幹細胞由来の液性因子が proE の赤芽球への分化を有意に促進することを見出した。重要なことに、脳内がん幹細胞移植担瘤マウスの骨髄において、赤芽球の分化促進と赤血球産生数の増加が確認された。さらに、膠芽腫 PDC のスフィア形成能は低酸素培養条件下および鉄キレート剤の存在下において大幅に抑制されることが明らかとなり、酸素と鉄ががん幹細胞の自己複製と増殖に不可欠であると考えられた。以上の結果は、宿主の赤血球産生を遠隔的に利用するがん幹細胞の新しい生存戦略を示唆している。

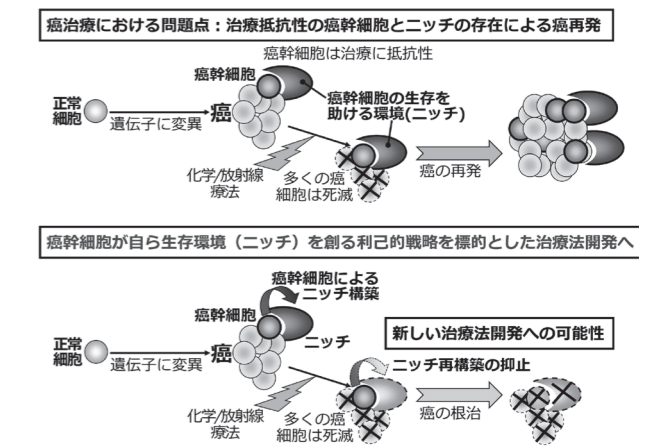


図3 癌幹細胞によるニッチの自己構築と、それを標的とした癌根治の可能性



# 先端分子医学研究部門 分子構造情報学分野

教授：伊藤暢聡 准教授：沼本修孝 助教：花園祐矢

## 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18万を超える生体高分子の立体構造情報（原子座標）が蓄積されており、これと情報科学を結ぶデータベースの構築にも寄与している。こうした研究がこれらのタンパク質を標的とした創薬に結びつくことを目標としている。

## 研究紹介

### 1. ヘモグロビンのアロステリック中間体の構造基盤

実用的な血液代替物の開発は現在においても成功しておらず、赤血球の代わりとしてヘモグロビン (Hb) をPEG化する方法や多量体化させる方法など、その分子量を大きくする方法が検討されている。また、現在の輸血用血液は、保存中に徐々に自動酸化が生じ、Hbの酸素運搬能力が失われることが問題となっている。一方で、環形動物などの無脊椎動物の血液中には、ヒトのHbの数倍から数十倍におよぶ巨大分子量のHbの存在が知られており（図1A）、その分子構造に興味もたれていた。また、これらの巨大Hbのなかには、ヒトのHbと比べて著しく自動酸化がされにくいという特徴を有するものも存在している。すなわち、巨大Hbの立体構造と酸素運搬の作用機構、また抗自動酸化の分子機構が詳細に解明されれば、血液代替物の開発に有用な情報となることが期待される。

私たちはこれまでに巨大Hbの酸素結合型 (oxy型)

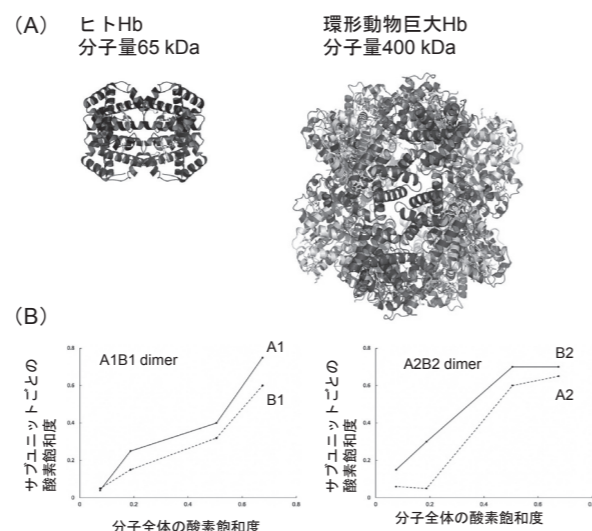


図1 (A) ヒトHbと環形動物巨大Hb。(B) 巨大Hbの各サブユニットにおける酸素飽和度の遷移。

と酸素非結合型 (deoxy型) の双方について結晶構造を決定した。さらにその過程で、巨大Hbのoxy型結晶から、結晶の状態を保ったままdeoxy型へと連続的に変化させることが可能であることを見出し、この性質を応用して酸素が解離する中間過程の構造解析に成功した。これにより、Hb内に複数ある酸素結合部位が協同的に働き、効率よく酸素の結合、運搬、放出を行う分子機構の詳細を、中間体構造に基づいて考察できるようになった。これは、Hbの長い研究の歴史の中でも初めて達成されたことである。得られた中間体の結晶構造から、隣接するサブユニットで形成される二量体構造で強い相関をもって酸素の解離が起こっていることがわかった（図1B）。さらに、局所的な構造変化が先行するものの、分子全体にわたる大きな四次構造変化はおよそ半数の酸素が解離した際に生じることも明らかになった。

本研究は、京都大学、金沢大学、理化学研究所、高輝度光科学研究センターとの共同研究である。

### 2. 酸化還元タンパク質の超高分解能構造解析

タンパク質中の全原子のうち約半分は水素原子で占められており、水素原子の位置を決定することは、タンパク質の分子機能を明らかにする上で非常に重要である。また、構造ベース創薬 (Structure-based drug design) の観点からも、水素原子の情報は必須である。しかしな

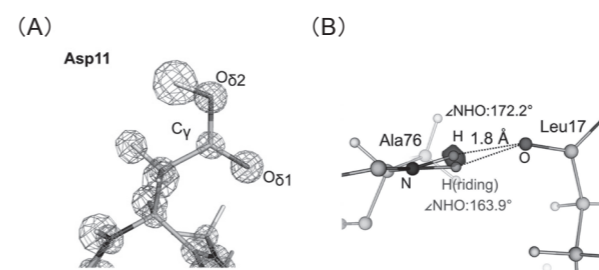


図2 (A) HiPIPの電子密度および核密度図。(B) アミドプロトンのペプチド平面からの乖離。

がら、電子を1つしか持たない水素原子の位置を決定することは通常のX線結晶構造解析やクライオ電子顕微鏡構造解析では困難であり、1 Åを超える高分解能X線構造解析や中性子構造解析が必要となる。また、外殻電子 (遷移金属のd電子や共役二重結合の $\pi$ 電子など) の密度形状や電荷、精密な結合長や結合角などを実験的に決定することによって、タンパク質の反応メカニズムの本質を捉えることができる。

今回、高電位鉄硫黄タンパク (HiPIP) のX線回折データを0.66 Å、中性子回折データを1.2 Åの分解能でそれぞれ収集し、タンパク質の中では非常に高分解能な回折データを得ることができた（図2A）。一般にタンパク質のX線や中性子による構造精密化では、水素原子の結合長や結合角はライディングモデルとして拘束して精密化を行うが、アミドプロトンの座標を幾何学的な拘束なしに精密化するのに十分なデータを得ることができたため、拘束なしで精密化を行った。その結果、アミドプロトンがペプチド平面から離れた位置に存在し、アクセプターとなる原子に引き寄せられていることが明らかになった（図2B）。また、ペプチド結合内のH-N-C=O平面の崩れは、窒素原子のピラミッド化が主な要因で起こ

## 研究業績

### 原著論文

- Yoshihara A, Kawasaki H, Masuno H, Takada K, Numoto N, Ito N, Hirata N, Kanda Y, Ishizawa M, Makishima M, Kagechika H, Tanatani A. Lithocholic acid amides as potent vitamin D receptor agonists. *Biomolecules*, **12**, 130, 2022.
- Oda M, Sano T, Kamatari YO, Abe Y, Ikura T, Ito N. Structural analysis of hen egg lysozyme refolded after denaturation at acidic pH. *Protein J.*, **41**, 71-78, 2022.
- Fujioka T, Numoto N, Akama H, Shilpa K, Oka M, Roy PK, Krishna Y, Ito N, Baker D, Oda M, Tanaka F. Varying the directionality of protein catalysts for aldol and retro-aldol reactions. *ChemBiochem*, **23**, e202100435, 2022.
- Lensink MF, Brysbaert G, Mauri T, Nadzirin N, Velankar S, Chaleil RAG, Clarence T, Bates PA, Kong R, Liu B, Yang G, Liu M, Shi H, Lu X, Chang S, Roy RS, Quadir F, Liu J, Cheng J, Antoniak A, Czaplewski C, Gieldoń A, Kogut M, Lipska AG, Liwo A, Lubecka EA, Maszota-Zieleniak M, Sieradzian AK, Ślusarz R, Wesolowski PA, Zieba K, Del Carpio Muñoz CA, Ichiishi E, Harmalkar A, Gray JJ, Bonvin AMJJ, Ambrosetti F, Vargas Honorato R, Jandova Z, Jiménez-García B, Koukos PI, Van Keulen S, Van Noort CW, Réau M, Roel-Touris J, Kotelnikov S, Padhorny D, Porter KA, Alekseenko A, Ignatov M, Desta I, Ashizawa R, Sun Z, Ghani U, Hashemi N, Vajda S, Kozakov D, Rosell M, Rodriguez-Lumbreras LA, Fernandez-Recio J, Karczynska A, Grudinin S, Yan Y, Li H, Lin P, Huang SY, Christoffer C, Terashi G, Verburt J, Sarkar D, Aderinwale T, Wang X, Kihara D, Nakamura T, Hanazono Y, Gowthaman R, Guest JD, Yin R, Taherzadeh G, Pierce BG, Barradas-Bautista D, Cao Z, Cavallo L, Oliva R, Sun Y, Zhu S, Shen Y, Park T, Woo H, Yang J, Kwon S, Won J, Seok C, Kiyota Y, Kobayashi S, Harada Y, Takeda-Shitaka M, Kundrotas PJ, Singh A, Vakser IA, Dapkūnas J, Olechnovič K, Venclovas C, Duan R, Qiu L, Xu X, Zhang S, Zou X, Wodak SJ. Prediction of protein assemblies, the next frontier: The CASP14-CAPRI experiment. *Proteins*, **89**, 1800-1823, 2021.
- Numoto N, Kawano Y, Okumura H, Baba S, Fukumori Y, Miki K, Ito N. Coarse snapshots of oxygen-dissociation intermediates of a giant hemoglobin elucidated by determining the oxygen saturation in individual subunits in the crystalline state. *JUCrj.*, **8**, 954-962, 2021.

- Tanaka H, Kondo K, Fujita K, Homma H, Tagawa K, Jin X, Jin M, Yoshioka Y, Takayama S, Masuda H, Tokuyama R, Nakazaki Y, Saito T, Saïdo T, Murayama S, Ikura T, Ito N, Yamamori Y, Tomii K, Bianchi ME, Okazawa H. HMGB1 signaling phosphorylates Ku70 and impairs DNA damage repair in Alzheimer's disease pathology. *Commun Biol.*, **4**, 1175, 2021.
- Kondo K, Ikura T, Tanaka H, Fujita K, Takayama S, Yoshioka Y, Tagawa K, Homma H, Liu S, Kawasaki R, Huang Y, Ito N, Tate SI, Okazawa H. Hepta-Histidine Inhibits Tau Aggregation. *ACS Chem Neurosci.*, **12**, 3015-3027, 2021.
- Inoue Y, Hanazono Y, Noi K, Kawamoto A, Kimatsuka M, Harada R, Takeda K, Kita R, Iwamasa N, Shibata K, Noguchi K, Shigeta Y, Namba K, Ogura T, Miki K, Shinohara K, Yohda M. Split conformation of Chaetomium thermophilum Hsp104 disaggregase. *Structure*, **29**, 721-730, 2021.
- Emori M, Numoto N, Senga A, Bekker GJ, Kamiya N, Kobayashi Y, Ito N, Kawai F, Oda M. Structural basis of mutants of PET-degrading enzyme from *Saccharomonospora viridis* AHK190 with high activity and thermal stability. *Proteins*, **89**, 502-511, 2021.

り、アクセプター原子がアミドプロトンを誘引することによって平面性が決定されることが示された。

本研究は、京都大学、量子科学技術研究開発機構、茨城大学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18万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。

# 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

- 前頭側頭葉変性症胎児期の DNA 損傷が数十年後の発症に影響することを報告（神経病理学）
- ペプチド中分子、ヘプタ・ヒスチジンによるタウ凝集阻害を発見（神経病理学）
- スパコンを駆使したビッグデータ解析によるアルツハイマー病と前頭側頭葉変性症に共通する病態の解明（神経病理学）
- 神経変性が加速する分子メカニズムを解明（神経病理学）
- ホスホイノシタイド分子種特異的なシグナル伝達機構の解明（病態生理化学）
- 新規病態関連リン脂質群の探索（病態生理化学）
- 新規オートファジー誘導化合物によってポリグルタミン病モデルマウスの異常が改善することを見出した（病態細胞生物学）
- クローン病の病変部位にニッケルが蓄積しており、病態の悪化に関わっていることを発見した（病態細胞生物学）
- リン酸化酵素 MKK7 がマウスの育児行動の制御に関与していることを発見した（発生再生生物学）
- 転写共役因子 YAP 誘導性の細胞競合においてイノシトールリン脂質代謝が関与していることを発見した（発生再生生物学）
- 表皮が老化幹細胞を選択的に皮膚表面から排除する仕組みを解明（幹細胞医学）
- 免疫不全 B リンパ球が分化の過程で機能回復する仕組みを明らかにした（免疫疾患）
- 特異抗体産生を増強するワクチン用担体を開発した（免疫疾患）



# 難治病態研究部門 神経病理学分野

教授：岡澤 均  
講師：藤田慶大

特任講師 / 非常勤講師：井上治久、曾根雅紀  
特任講師：本間秀典 助教：田中ひかり

## 研究内容

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

## 研究紹介

### 前頭側頭葉変性症胎児期のDNA損傷が数十年後の発症に影響する

前頭側頭葉変性症の新しいモデルマウス(KIマウス)を4種類用いて、その胎児期から成体(大人のマウス)に至る経過を詳細に調べました。特に、最新のプロテオーム解析法を用いて、胎児期の脳組織中のタンパク質変化を網羅的に調べました。そして、検出されたタンパク質変化が出生後のモデルマウスの病態とどのように関わるかを調べ、さらに、患者から提供された剖検脳を用いて、モデルマウスで推定された新規病態を確認しました。

このような研究手法から、前頭側頭葉変性症胎児期のDNA損傷が数十年後の発症に影響することを明らかにしました(Honma et al. Life sc: Alliance 2021)。

### スパコンを駆使したビッグデータ解析によるアルツハイマー病と前頭側頭葉変性症に共通する病態の解明

本研究では、アルツハイマー病モデルマウス5種類(1種類のノックイン(KI)マウスと4種類のトランスジェニックマウス)、前頭側頭葉変性症のモデルマウス4種類(すべてKIマウス)を用いて、その新生児期から成体(大人のマウス)に至る経過で脳組織をサンプリングして、網羅的プロテオーム解析によりタンパク質の変化を詳細に調べました。得られたビッグデータから、検出された全てのタンパク質がどのような相互関係(分子ネットワーク)を形成して発症につながるのかを、スパコンを駆使した解析によって調べ、アルツハイマー病と前頭側頭葉型認知症の共通性を抽出しました(Jin et al. Commun Biol 2021)。

本研究によって得られた結果の多くは、これまで研究グループが、2つの認知症(アルツハイマー病と前頭側頭葉型認知症)に関して、数々の基礎研究、ゲノム研究、

臨床研究で報告してきた複数の分子経路を、さらに支持するものでした。すなわち、シナプス、細胞骨格、熱ショック、転写、RNA代謝、DNA損傷修復に関連する機能を共通病態として予測しました。そして、加えて今回の研究成果は、HMGB1-TLRシグナル伝達経路、小胞体安定性が、2つの認知症の共通病態のトリガー(引き金)として重要であることを予測しました。

### 神経変性が加速する分子メカニズムを解明

社会の高齢化が進む日本では、神経変性に起因する認知症はより大きな問題となっています。既に高齢者のほぼ5人に1人が認知症に罹患していると言われ、その半分以上は、神経変性による認知症の代表格であるアルツハイマー病が原因です。さらに、前頭側頭葉変性症、レビー小体型認知症と呼ばれる変性性認知症も知られています。また、筋萎縮性側索硬化症(ALS)、ハンチントン病、脊髄小脳失調症などの変性疾患も、類似の病態を持つ「神経変性疾患」です。

神経変性の特徴は、①老化の始まる中高年に発症すること、②神経細胞あるいはグリア細胞に異常なタンパク質やRNAが蓄積し神経細胞機能が低下すること、③最終的に神経細胞が死ぬこと(神経細胞死)、です。

②については、国内外で非常に多くの研究がなされてきましたが、①と③が、どのような関係にあるかは、大きなナゾでした。

本研究(Tanaka et al. Commun Biol 2021)では、アルツハイマー病において加齢とともに神経細胞死が加速的に増加するメカニズムを解明し、それを仲介する最重要因子がHMGB1であることを同定しました。細胞外HMGB1から惹起される細胞内リン酸化シグナルが、Ku70のDNA損傷修復機能を阻害し、神経細胞の細胞死(TRIADネクロシス)を誘導することを発見しました。また、細胞外HMGB1で誘導されるTRIAD細胞死が、老化の最終形としての細胞死と同一であることも明らかになりました。前者は、HMGB1抗体治療等のアルツハイマー病あるいは他の認知症を含む神経変性疾患全般を対象とする根本治療へ発展することが期待されます。岡澤教授グループは日本医療研究開発機構の支援

を受けて、実用化を目指した研究開発を開始しています。一方、後者は、神経変性と老化の関係という、重要な科学的テーマに発展することが期待できます。また、神経細胞一次繊毛のアルツハイマー病態への関与を示唆する結果を得ました。

### 認知症の原因タンパク質が脳炎症を起こす仕組みを解明

本研究では、ウイルス感染症と神経変性疾患が、それぞれの代表的疾患病態(エイズとタウ関連疾患)において、同じ分子メカニズムを介してミクログリア炎症を引き起こしていることが明らかになりました(Jin et al. Nature Commun 2021)。ウイルス感染症と神経変性疾患は、ともに細胞内封入体を作ることがある、スローウイルス感染症の臨床症状が神経変性疾患と共通している、日本脳炎後にパーキンソン病様の症状になることがある、など共通性に関する断片的な知識が蓄積しています。しかし、両者の詳細な関係はよくわかっておらず、今回の研究のように、原因物質レベルでウイルス感染症と神経変性疾患の分子メカニズム(ミクログリアの感知システム)が共通していることを示したのは、初めての

ケースかもしれません。

一方、近年では、アルツハイマー病のもう一つの原因物質であるアミロイドが、病原体をトラップする自然免疫系の防御物質であるという仮説(Moir et al. Alzheimer's & Dementia 2018)も提唱されています。近年、抗体などの獲得免疫系が進化する前から身体に備わっていた自然免疫系と、神経変性疾患との関係についての研究が急速に進歩しており、今回の研究成果が契機となって、ウイルス感染症と神経変性疾患が互いにどのように影響を与えるのかについての理解が進むことが期待されます。

また、今回の研究成果から、PQBPIのミクログリアにおける病態機能が解明されました。先行研究では、アルツハイマー病態下のニューロンにおけるPQBPIの機能が明らかになっています(Tanaka et al. Mol Psychiatry 2018)。したがって、脳のそれぞれの細胞でPQBPI機能を適切に調節することが、神経変性疾患病態からの回復、さらには生理的狀態での脳機能活性化につながる可能性も生まれました。これらの知見が将来的に革新的な治療法に発展することも期待できます。

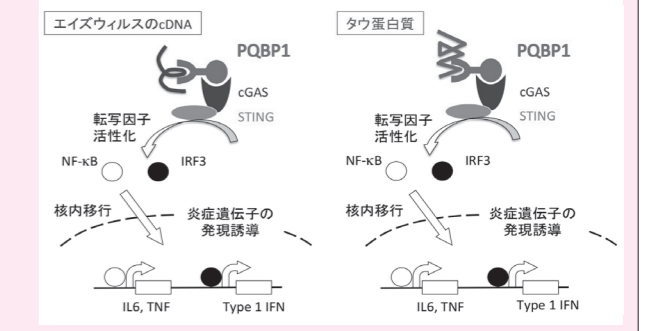
## ハイライト

### 脳のミクログリアはタウ蛋白をウイルスと間違える？

ミクログリアにおいて、エイズウイルスへの反応とタウ蛋白質に対する反応は同じメカニズムを用いている

ミクログリアは、エイズウイルスcDNAを感知する細胞内受容体としてPQBPIを用いて、炎症性遺伝子の発現を誘導する(左図)。まったく同様な仕組みを用いて、ミクログリアはタウ蛋白質を感知して、炎症を惹起する(右図)。これは、あたかも自分由来の蛋白質であるタウ蛋白質を外来性病原体であるウィル

スと「間違えて」反応しているようにも見える(Jin et al. Nature Commun 2021)。



## 研究業績

Jin, M., Shiwaku, H., Tanaka, H., Obita, T., Ohuchi, S., Yoshioka, Y., Jin, X., Kondo, K., Fujita, K., Homma, H., Nakajima, K., Mizuguchi, M. & Okazawa, H. (2021) Tau activates microglia via the PQBP1-cGAS-STING pathway to promote brain inflammation. *Nat. Commun.* 15 November 2021, 12 (1), 6565. doi: [10.1038/s41467-021-26851-2](https://doi.org/10.1038/s41467-021-26851-2)

Tanaka, H., Kondo, K., Fujita, K., Homma, H., Tagawa, K., Jin, X., Jin, M., Yoshioka, Y., Takayama, S., Masuda, H., Tokuyama, R., Nakazaki, Y., Saito, T., Saido, T., Murayama, S., Ikura, T., Ito, N., Yamamori, Y., Tomii, K., Bianchi, M. E. & Okazawa, H. (2021) HMGB1 signaling phosphorylates Ku70 and impairs DNA damage repair in Alzheimer's disease pathology. *Commun. Biol.* 11 October 2021, 4 (1), 1-23. doi: [10.1038/s42003-021-02671-4](https://doi.org/10.1038/s42003-021-02671-4)

Jin, M., Jin, X., Homma, H., Fujita, K., Tanaka, H., Murayama, S., Akatsu, H., Tagawa, K. &

Okazawa, H. (2021) Prediction and verification of the AD-FTLD common pathomechanism based on dynamic molecular network analysis. *ACS Chem. Neurosci.* 28 July 2021, 12 (16), 3015-3027. doi: [10.1021/acscchemneuro.1c00164](https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.1c00164)

Kondo, K., Ikura, T., Tanaka, H., Fujita, K., Takayama, S., Yoshioka, Y., Tagawa, K., Homma, H., Liu, S., Kawasaki, R., Huang, Y., Ito, N., Tate, S. & Okazawa, H. (2021) Hepta-Histidine Inhibits Tau Aggregation. *ACS Chem. Neurosci.* 28 July 2021, 12 (16), 3015-3027. doi: [10.1021/acscchemneuro.1c00164](https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.1c00164)

Homma, H., Tanaka, H., Jin, M., Jin, X., Huang, Y., Yoshioka, Y., Bertens, C. J., Tsumaki, K., Kondo, K., Shiwaku, H., Tagawa, K., Akatsu, H., Atsuta, N., Katsuno, M., Furukawa, K., Ishiki, A., Waragai, M., Ohtomo, G., Iwata, A., Yokota, T., Inoue, H., Arai, H., Sobue, G., Sone, M., Fujita, K. & Okazawa, H. (2021) DNA damage in embryonic neural stem cell determines FTLTDs' fate via early-stage neuronal necrosis.

*Life Sci. Alliance* 15 June 2021, 4 (7), e202101022. doi: [10.26508/lsa.202101022](https://doi.org/10.26508/lsa.202101022)

Okazawa, H. (2021) Intracellular amyloid hypothesis for ultra-early phase pathology of Alzheimer's disease. *Neuropathology: official journal of the Japanese Society of Neuropathology*, 20 April 2021, 41 (2)93-98. doi: [10.1111/neup.12738](https://doi.org/10.1111/neup.12738)

Saito, M., Nakayama, M., Fujita, K., Uchida, A., Yano, H., Goto, S., Okazawa, H., Sone, M. (2021) Role of the Drosophila YATA protein in the proper subcellular localization of COPI revealed by in vivo analysis. *Genes Genet. Syst.*, 13 February 2021, 95 (6):303-314. doi: [10.1266/ggs.20-00027](https://doi.org/10.1266/ggs.20-00027)

Klionsky, DJ., et al. (2021) Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition)1. *Autophagy*, January 2021, 17 (1) 1-382. doi: [10.1080/15548627.2020.1797280](https://doi.org/10.1080/15548627.2020.1797280)



# 難治病態研究部門 病態生理化学分野

教授：佐々木雄彦 准教授：佐々木純子 助教：長谷川純矢  
 技術補佐員：山本利義 技術補佐員：森岡真  
 学振特別研究員：徳田恵美

## 研究内容

### 概要

脂質は、膜形成による細胞の区画化、エネルギーの貯蔵、細胞内外のシグナル伝達に利用されている。私たちの研究室では特に、ホスホイノシタイドと呼ばれるリン脂質群（図1）に着目している。約40種類のホスホイノシタイドキナーゼやホスファターゼの遺伝子改変マウスを作製し、がん、炎症性疾患、神経変性疾患をはじめとする難治疾患の病態研究に利用している。また、ホスホイノシタイドの質量分析技術を新たに開発し、病態モデルマウスやヒト疾患サンプルに適用することで、遺伝子異常や環境因子によって病態が発現する機構をリン脂質分子レベルで理解することに取組んでいる（図2）。これらの方法で、リン脂質による生体調節機構の理解を深め、難治疾患の治療標的の提示や、薬剤感受性予測マーカー、疾患層別化マーカーなどの開発を目指している（図3）。ホスホイノシタイド研究と並行して、新規構造を持つリン脂質の探索に取り組んでいる。見出したいくつかのリン脂質の生理活性、合成・分解酵素、標的タンパク質の同定を進めている。

## 研究紹介

### 1. ホスホイノシタイド包括測定技術の開発

ホスホイノシタイドの新しい測定技術 PRMC-MS (phosphoinositide regioisomer measurement by chiral column chromatography and mass spectrometry) 法を開発した。従来法では、サンプルの放射性同位体標識が必要で、多くの場合は  $[^{32}\text{P}]$  無機リン酸や  $[^3\text{H}]$  イノシトールでラベルした培養細胞からの抽出リン脂質を解析対象として、試料を陰イオン交換カラムクロマトグラフィーで分離・定量する。一方、新しい方法では、質量分析計を用いる。放射性同位体標識が不要となり、ヒトや実験動物の組織、血液、尿など様々な試料を解析することが可能となった。質量分析計による解析はこれまででも試みられてきたが、細胞内のホスホイノシタイドが極めて微量であることや不安定な物性をもつことなどが原因となり困難であった。生体試料からのホスホイノシタイドの濃縮、化学修飾による安定性の向上、異なる原理のカラムクロマトグラフィー、質量分析計の高感度化

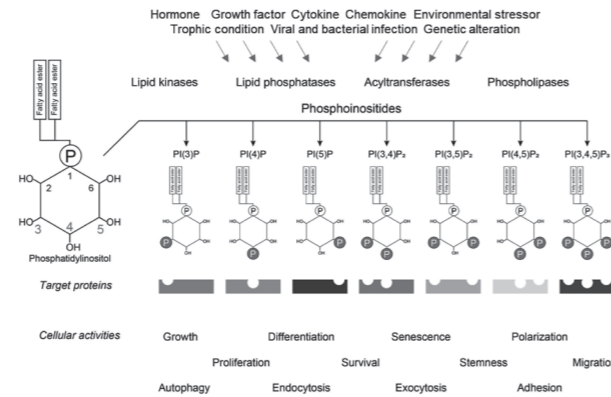


図1 ホスホイノシタイド

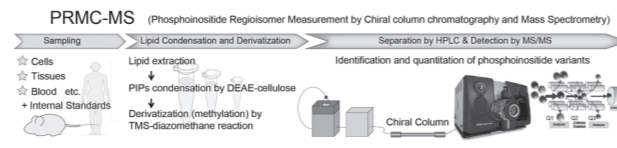


図2 ホスホイノシタイド包括測定技術

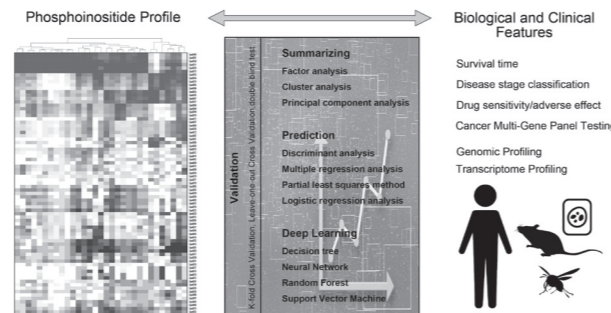


図3 ホスホイノシタイドが担う病態生理機能の解明

といった技術要素を積み重ねることで、リン酸化パターンの違いによって生ずる8クラスホスホイノシタイドの測定方法が世界で初めて確立された（図3）。また、従来法で必須であった脱アシル化操作が不要となり、脂肪酸部分の構成が異なるバリエーションの一斉解析が可能となった点も大きな進歩である。

ホスホイノシタイド代謝酵素（キナーゼ、ホスファターゼ、ホスホリパーゼ、アシルトランスフェラーゼ等）が種々の難治性疾患の病態形成に関与することが、ヒトやマウスの遺伝学的解析によって提示されている。しかしながら、どのホスホイノシタイドバリエーションが、健康な状態と比べて病的な状態で蓄積あるいは欠乏しているのかは不明なままである。新技術を活用した病態研究が進めば、疾患の原因となったり、疾患を反映したりするホ

スホイノシタイドバリエーションが特定され、難治性疾患の医療の進歩につながる可能性がある。また、そのような研究は、脂質が司る生命現象の本態解明に寄与するものと考えられる。

### 2. 卵巣の性維持におけるホスホイノシタイドの役割

哺乳動物の性は、Y染色体上の精巣決定遺伝子 Sry (Sex-determining region Y) の発現の有無により決定される。すなわち、性的に未分化な胎児性腺の支持細胞において、Sryが発現した場合は雄型のセルトリ細胞に、発現しない場合は雌型の顆粒膜細胞に分化する。その後、生殖細胞を含む種々の細胞の性分化が誘導され、精巣または卵巣が発達する。近年、この発生過程で決定した支持細胞の性は、出生後もそのまま安定し続けるわけではないことが明らかになってきた。出生後の顆粒膜細胞では Foxl2 (Forkhead 型転写因子) やエストロゲン受容体が、セルトリ細胞では Dmrt1 (DM ドメイン転写因子)

### 人事異動

転入：崎原知子(博士課程)、釘井雄基(修士課程)、黄俊傑(国費留学生)、毛塚康平(研究生：東京理科大)、大村実果里(研究生：歯学部4年)、磯崎雅子(研究生：慶應義塾大3年)、菊池雄翔(研究生：医学部3年)  
 転出：池田拓海(修士課程)

### 研究業績

1. Hashimoto D, Hirashima T, Yamamura H,

Kataoka T, Fujimoto K, Hyuga T, Yoshiki A, Kimura K, Kuroki S, Tachibana M, Suzuki K, Yamamoto N, Morioka S, Sasaki T, Yamada G: Dynamic erectile responses of a novel penile organ model utilizing TPEM. *Biol Reprod.* 104, 875-886, 2021  
 2. Huang M, Koizumi A, Narita S, Nakanishi H, Sato H, Jagsuna S, Nara T, Kanda S, Numakura K, Saito M, Satoh S, Nanjo H, Sasaki T, Habuchi T.: Altering phosphoinositides in high-fat diet-associated prostate tumor xenograft growth. *Med Comm.* 2, 756-764, 2021

3. Kawasaki A, Sakai A, Nakanishi H,

や Sox9 (HMG ボックス型転写因子) が、互いの発現を抑制しながら出生後の支持細胞の性を維持しており、実際にこれらの転写因子の遺伝子を成体で欠損あるいは過剰発現した場合には、顆粒膜細胞がセルトリ細胞様細胞へ、セルトリ細胞が顆粒膜細胞様細胞へと性転換することが報告されている。我々が作出した組織特異的 PIP<sub>3</sub> 代謝酵素欠損マウスは、雄は妊性であるが、雌は不妊であることに気が付いた。組織化学的解析の結果、精巣は正常であるものの卵巣の異常が認められ、卵巣顆粒膜細胞層にセルトリ細胞様細胞が出現することを見出した。さらにレポーターマウスを用いた解析により、出生直後の卵巣に一過性に出現する卵巣男性化の責任細胞を見出した。これまでに、卵巣の性制御におけるリン脂質代謝の関与については全く知られておらず、本研究で、成体支持細胞の性維持における新たな機序の解明を目指している。

Hasegawa J, Taguchi T, Sasaki J, Arai H, Sasaki T, Igarashi M and Nakatsu F: PI4P/PS countertransport by ORP10 at ER-endosome membrane contact sites regulates endosome fission. *J Cell Biol.* in press  
 4. Morioka S, Nakanishi H, Yamamoto T, Hasegawa J, Tokuda E, Hikita T, Sakihara T, Kugii Y, Oneyama C, Yamazaki M, Suzuki A, \*Sasaki J and Sasaki T: A mass spectrometric method for in-depth profiling phosphoinositide regioisomers and their disease-associated regulation. *Nature Commun.* in press



# 難治病態研究部門 病態細胞生物学分野

教授：清水重臣 准教授：荒川聡子  
 プロジェクト准教授：鳥居暁 プロジェクト講師：辻岡政経、本田真也  
 助教：山口啓史 プロジェクト助教：申珉京、桜井一、仁部洋一、野口沙央理、遠藤葉月

## 研究内容

### 概略

当研究室では、①オートファジー分子機構とその生理的、病理的意義の解明、②細胞死機構の解析とその破綻に由来する疾患の治療薬開発、③ミトコンドリアやゴルジ体で代表されるオルガネラの新たな機能の探索、を3つの柱として研究を行っている。オートファジーに関しては、当研究室で発見したゴルジ体膜を用いた新しいメカニズムによるオートファジーの分子機構やその生理的、病理的意義を解析している。また、細胞死に関しては、哺乳動物個体の中で細胞死システムが如何に機能しているかを探索している。特に、オートファジー細胞死に代表される非アポトーシス細胞死を解析している。オルガネラに関しては、ミトコンドリアやゴルジ体の新たな機能の解明、他のオルガネラとの情報交換の基本原則の解明を目指している。最終的には、これらの知見を基盤に生命の動作原理の本質を解明することを目指している。

## 研究紹介

### 1-1. 新しいオートファジー機構の分子機構と生理機能解析

オートファジーには、多くの研究者が対象としている Atg5 に依存し小胞体膜を利用するオートファジーと、私たちが発見した Atg5 に依存せずゴルジ体膜を利用するオートファジー（以下、新規オートファジー）が存在する（図1）。両方のオートファジーは、1つの細胞の中で共存しており、細胞に加わった刺激の種類によって、あるいは分解する基質の種類によって、使い分けられており、生体での役割は全く異なっている。

新規オートファジーの分子機構は、酵母から哺乳動物細胞までよく保存されており、初期段階においては Uik1 や Beclin 1 などの分子が重要となる（図2）。Uik1 に関しては、リン酸化反応が重要であり、① Uik1 の 637 番目のセリンの脱リン酸化、② 746 番目のセリンのリン酸化、③ゴルジ体膜への移動、の順番でシグナルが活性化される。さらに、その下流では Wipi3 分子が機能している。Wipi3 分子も、通常は細胞質中に局在するが、新規オートファジーのシグナルが細胞に加わると、

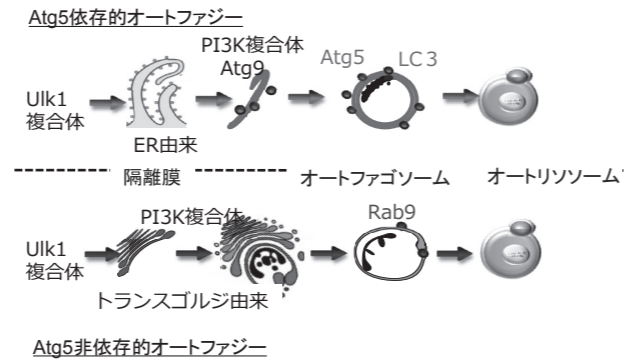


図1 オートファジーの模式図  
 オートファジーには、Atg5 に依存した反応（上段）と依存しない反応（下段）が存在する。従来型オートファジーの場合には、小胞体膜を利用してオートファゴソーム形成が進行し、新規オートファジーの場合には、トランスゴルジ膜を利用して進行する。

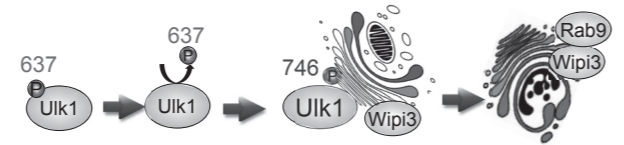


図2 新規オートファジーの分子機構  
 新規オートファジーは、Uik1 の脱リン酸化反応から始まり、引き続いて別のアミノ酸がリン酸化される。その後、Uik1 はゴルジ体へ移動し、下流のシグナルを活性化する。下流では、まず Wipi3 が活性化し、Rab9 を用いてオートファゴソームが形成される。

ゴルジ体へ移動し、ゴルジ体膜の変形にかかわる。湾曲したゴルジ体膜は、細胞質成分やゴルジ体中のタンパク質を包み込み、最終的にリソソーム酵素で分解する（図2）。

通常のオートファジーと新規オートファジーの最大の違いは、分解基質が異なる点にある。通常のオートファジーは、p62 や LC3 などの細胞質タンパク質を主に分解する。一方で、新規オートファジーは、ゴルジ体を経由して運搬される分子が基質分子となる（図3）。このような GOMED 機能の代表的なものとして、インスリン分泌制御がある。インスリンは、膵臓のインスリン分泌細胞（β細胞）で合成されゴルジ体を介して分泌されるが、細胞周囲のグルコース濃度が低下する（即ち血糖値が下がる）と、さらなる低グルコースを防ぐためにインスリン分泌が抑制される。この時、β細胞内では、新規オートファジーが誘導されてインスリンの滞留が緩和

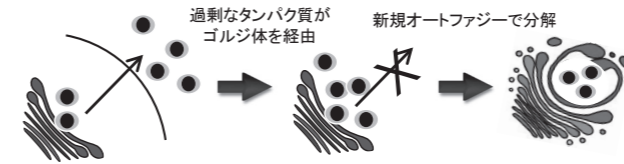


図3 新規オートファジーの機能  
 新規オートファジーは、ゴルジ体を経由して分泌されるタンパク質、細胞膜に局在するタンパク質の量的、質的制御を行なっている。

されるのである。また、新規オートファジーは、神経細胞の恒常性維持にも関わっている。この知見は、神経細胞特異的に Wipi3 遺伝子を欠損させたマウスにおいて、小脳のプルキンエ細胞が変性脱落し、行動異常が出現したことより明らかである。この時の新規オートファジーは、鉄輸送タンパク質であるセルロプラスミンの恒常的分解に寄与しており、この分解が起こらないと、鉄沈着性の神経変性疾患を発症することとなるのである。

### 1-2. ケミカルバイオロジーを応用した創薬開発研究

新規オートファジーの変調が、神経変性疾患などを起こすことより、逆に新規オートファジーを活性化させることにより、神経変性疾患の治療が可能ではないかと考えた。実際に、新規オートファジー誘導化合物を探索し、ポリグルタミン病のモデルマウスに投与したところ、ポリグルタミン蓄積の緩和、神経変性の改善、行動異常の

### 人事異動

退職：野口沙央理、遠藤葉月（プロジェクト助教）

### 研究業績

#### 原著論文

1. Homeostatic p62 levels and inclusion body formation in CHCHD2 knockout mice. S. Sato, S. Noda, S. Torii, T. Amo, A. Ikeda, M. Funayama,

- J. Yamaguchi, T. Fukuda, H. Kondo, N. Tada, S. Arakawa, N. Watanabe, Y. Uchiyama, S. Shimizu, N. Hattori. *Human Molecular Genetics* 30: 443-453, 2021
2. Oxidized phospholipids and neutrophil elastase coordinately play critical roles in NET formation. T. Tokuhira, A. Ishikawa, H. Sato, S. Takita, A. Yoshikawa, R. Anzai, S. Sato, R. Aoyagi, M. Arita, Y. Aratani, S. Shimizu, M. Tanaka, S. Yotsumoto. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9:718586, 2021
3. Nickel particles are present in Crohn's

- disease tissue and exacerbate intestinal inflammation in IBD susceptible mice. H. Matsuda, Y. Nibe-Shirakihara, A. Tamura, E. Aonuma, S. Arakawa, K. Otsubo, Y. Nemoto, T. Nagaishi, K. Tsuchiya, S. Shimizu, A. Ma, M. Watanabe, M. Uo, Ryuichi Okamoto. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 592, 74-80, 2022
4. Molecular mechanisms and biological roles of GOMED. S. Noguchi and S. Shimizu. *FEBS J.* doi: 10.1111/febs.16281, 2021

正常化が認められた。現在、神経変性疾患以外の疾患への応用を検討している。

## 2. 細胞死の解析

生体で起こる主な細胞死はアポトーシスであるが、近年の解析によって非アポトーシス細胞死の重要性が明らかにされつつある。当研究室では、これらに先駆けて、オートファジー細胞死やミトコンドリア経路ネクロシスを発見しており、アポトーシスを含めてこれら3つの細胞死を中心に解析を行っている。最近、細胞接着性の喪失による細胞死（アノイーキス）の新たな実行メカニズムを発見した。

## 3. オルガネラの新たな機能の探索

従来、ミトコンドリアやゴルジ体などのオルガネラは、細胞内で各々独自の機能を発揮していると考えられてきた。しかしながら、超解像顕微鏡の開発によりオルガネラ間（ミトコンドリアと小胞体の間など）に接触面が存在し、接触面において様々な細胞機能が発揮されていることが明らかになりつつ有る。

今年度、我々は、ゴルジ体とミトコンドリア、ゴルジ体と小胞体との間にクロストークが存在することを見出し、ゴルジ体によるミトコンドリア調節や小胞体調節の詳細なメカニズムを解析している。

# 難治病態研究部門 発生再生生物学分野

教授：仁科博史 講師：小藤智史 助教：中野泰博（～10月）  
プロジェクト助教：田中卓（6月～） 特任助教：Jing Pu（10月～）、金山敬子（12月～）  
技術補佐員：草場みずぎ 秘書：小藤香織

## 研究内容

動物は生存に必要な生命活動のために、個体サイズに応じて一定の大きさを有する諸器官を持っています。しかしながら、器官サイズの決定機構や恒常性維持機構の全貌は未解明です。当研究室では、情報のやり取り（シグナル伝達）の視点から、発生工学・遺伝学・細胞生物学・生化学・分子生物学などの幅広い実験手法を駆使して、「高次の細胞社会である器官がどのような仕組みで形成され、そして機能発現体として維持されるのか？」という課題に取り組んでいます。モデル生物として、哺乳動物マウスおよび小型魚類メダカとゼブラフィッシュ、また、マウスおよびヒトのESとiPS細胞を用いており、それぞれの長所を活かした実験を行っています。難治性疾患に対する治療法の開発や創薬のための基盤研究を行っています。

## 研究紹介

### 1. 初期胚形成に関する研究

哺乳動物の受精卵は、細胞分裂を繰り返し、器官の基となる外・中・内の三胚葉を形成します。外胚葉は胚盤葉上層から形成され、中胚葉と内胚葉は原始線条からダイナミックな細胞移動と細胞分化などを経て形成されます。それ故、原始線条は“細胞分化の入り口”と呼ばれ、個体発生を運命づける極めて重要な組織です。しかしながら、原始線条は妊娠マウス子宮内の微小な組織であり、その解析は困難です。それ故、原始線条の形成の分子機構は不明な点が多く残されています。我々は、マウスES細胞を用いて、原始線条様細胞集団を誘導し、拍動する心筋細胞（中胚葉由来）やアルブミンを産生する肝細胞（内胚葉由来）、軸索を伸ばす神経細胞を分化誘導

する実験系を確立しました。本実験系を用いて、原始線条形成に必要なシグナル分子や代謝産物の同定を行っています。

### 2. 器官形成に関する研究

地球上の生物の個体サイズや形は重力に大きな影響を受けています。しかし、生物が重力に抵抗して個体を形成する仕組みはほとんど未解明です。また、個体内の諸器官は、適切なサイズで整然と配置されることで、機能を発揮します。しかし、これらの分子機構もほとんど不明です。我々は、これら重大な課題を解決するためには、適切なモデル生物を用いることが重要であると考えています。そのため、重力感受性のメダカ変異体の単離や、ノックアウトマウスの作出を行い、これら課題の解決に取り組んできました。その結果、重力感受性メダカ変異体の単離から、Hippo-YAP経路が3次元の器官形成に必須の役割を果たしていることを見出しました。肝臓形成におけるHippo-YAP経路の役割を解析しています。

### 3. 器官の恒常性維持に関する研究

損傷細胞や老化細胞は、がんなどの疾患の原因となります。それ故、器官の恒常性維持のためにはこれら異常細胞は排除される必要があります。しかしながら、異常細胞排除機構はほとんど未解明です。我々は、マウス肝臓やイヌ腎臓培養細胞を用いて、Hippo-YAP経路が異常細胞排除に関与することを見出しました。また、MKK7-JNK経路がマウス脳の高常的な機能発現に必須の役割を果たしていることを見出しました。肝臓や脳の恒常性維持におけるこれらシグナル伝達経路の役割を解析しています。

## ハイライト

成熟神経細胞特異的にMKK7を欠損する雌マウスは育仔行動を放棄する

我々は、タンパク質リン酸化酵素カスケードMKK7-JNKシグナル伝達経路が哺乳類の脳形成時から致死となるまで恒常的に活性化状態にあること、発生期の脳形成や成体の運動機能の制御に必須の役割を果たすことを明らかにしてきた。しかしながら、MKK7-JNKシグナル経路の社会行動における役割は不明である。本研究では、成熟神経細胞特異的にMKK7を欠損するMkk7<sup>flax/flax</sup>Syn-Cre (KO)メスマウスが正常数の仔を出産するが、その後の育仔行動に異常を示すことを見出した。1)マウス行動試験を実施した結果、KOマウスは正常な認知能力と運動機能を示す一方で、うつ様行動を示すこと、2)脳組織のcDNAマイクロアレイ解析から、KOマウスはコントロールマウスと比較して、神経細胞のシグナル伝達経路やカルシウムチャネルなど

に関連した遺伝子の発現が変動すること、3)MKK7が欠損していないオリゴデンドロサイトにおいても遺伝子の発現変動が誘導されること、を見出した。これらの結果は、成熟神経細胞内のMKK7が遺伝子発現制御を介して、うつ様行動の抑制と育仔行動の促進を担うことを示唆する(図1)。

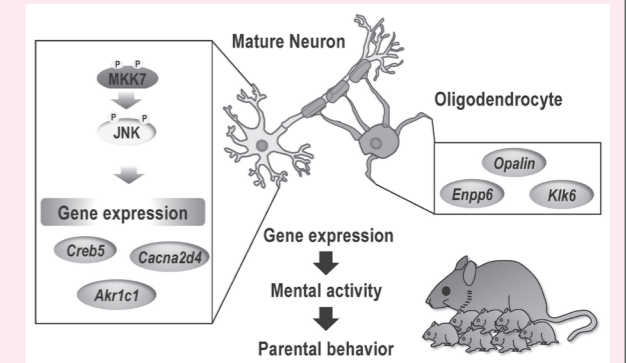


図1 育仔行動を制御するMKK7-JNKシグナル伝達経路

## 人事異動

転入：田中卓（6月～）、Jing Pu（10月～）、金山敬子（12月～）

転出：Alifu Yikelamu（博士課程修了）、進 匡（博士課程修了）、Jing Pu（博士課程修了）、中野泰博（10月末退職）

## 業績目録

### 原著論文

1. Sachi Sunaga, Satoshi Kofuji and Hiroshi Nishina (2021) YAP drives cell competition by activating choline metabolism. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 572, 178-184.
2. Tadashi Shin, Yuichi Hiraoka, Tokiwa Yamasaki, Jamey D. Marth, Josef M. Penninger, Masami Kanai-Azuma, Kohichi Tanaka, Satoshi Kofuji & Hiroshi Nishina (2021) MKK7-deficiency in mature neurons impairs parental behavior in mice. *Genes to Cells* 26, 5-17.
3. Yikelamu Alifu, Satoshi Kofuji, Sachi Sunaga, Mizuki Kusaba, Jun Hirayama, and Hiroshi Nishina (2021) The light-inducible genes Per2, Cry1a, and Cry2a regulate oxidative status in zebrafish. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 44, 1160-1165.
4. Takako Ooshio, Masahiro Yamamoto, Kiyonaga Fujii, Bing Xin, Kenji Watanabe, Masanori Goto, Yoko Okada, Akira Suzuki, Josef M. Penninger, Hiroshi Nishina, and Yuji Nishikawa (2021) Hepatocyte MKK7 Contributes to Restoration of the Liver Parenchyma Following Injury. *Hepatology* 73, 2510-2526.
5. Shoko Miyata, Noriaki Saku, Saeko Akiyama, Palaksha Kanive Javaregowda, Kenta Ite, Nagisa Takashima, Masashi Toyoda, Kei Yura, Tohru Kimura, Hiroshi Nishina, Atsuko Nakazawa, Mureo Kasahara, Hidenori Nonaka, Tohru Kiyono, Akihiro Umezawa (2021) Puromycin-based purification of cells with high expression of the cytochrome P450 CYP3A4 gene from a patient with drug-induced liver injury (DILI) *Stem Cell Research & Therapy* DOI : 10.1186/s13287-021-02680-4
6. Joshua Agbemeffa Kuleape, Shakhawoat Hossain, Caleb Kwame Sinclear, Takanobu Shimizu, Hiroaki Iwasa, Junichi Maruyama, Kyoko Arimoto-Matsuzaki, Hiroshi Nishina, and Yutaka Hata (2021) DNA damage triggers the nuclear accumulation of RASSF6 tumor suppressor protein via CDK9 and BAF53 to regulate p53-target gene transcription. *Mol. Cell Biol.* DOI: 10.1128/MCB.00310-21
7. Keisuke Nakatani, Tomohiko Maehama, Miki Nishio, Junji Otani, Keiko Yamaguchi, Miki Fukumoto, Hiroki Hikasa, Shinji Hagiwara, Hiroshi Nishina, Tak Wah Mak, Teruki Honma, Yasumitsu Kondoh, Hiroyuki Osada, Minoru Yoshida and Akira Suzuki (2021) Alantolactone is a natural product that potently inhibits YAP1/TAZ via promotion of ROS accumulation *Cancer Science* doi: 10.1111/cas.15079.
8. Shunta Nagashima, Junichi Maruyama, Kaori Honda, Yasumitsu Kondoh, Hiroyuki Osada, Makiko Nawa, Ken-ichi Nakahama, Mari Ishigami-Yuasa, Hiroyuki Kagechika, Haruhiko Sugimura, Hiroyuki Iwasa, Kyoko Arimoto-Matsuzaki, Hiroshi Nishina, and Yutaka Hata (2021) CSEIL promotes nuclear accumulation of transcriptional coactivator TAZ and enhances invasiveness of human cancer cells. *J. Biol. Chem.* 297(1) 100803
9. Xinliang Jiang1, Junichi Maruyama, Hiroaki Iwasa1, Kyoko Arimoto-Matsuzaki, Hiroshi Nishina, Yutaka Hata (2021) Heat shock induces the nuclear accumulation of YAP1 via SRC. *Exp Cell Res* 399, 112439
10. Mayu Morishita, Kyoko Arimoto-Matsuzaki, Masami Kitamura, Kyohei Niimura, Hiroaki Iwasa, Junichi Maruyama, Yuichi Hiraoka, Kohei Yamamoto, Masanobu Kitagawa, Norio Miyamura, Hiroshi Nishina, Yutaka Hata (2021) Characterization of mouse embryonic fibroblasts derived from Rassf6 knockout mice reveals the implication of Rassf6 in the regulation of NF-κB signaling. *Genes Cells.* 26(12):999-1013. doi: 10.1111/gtc.12901. Epub 2021 Nov 1.

### 著書・総説

1. 小藤智史 がんにおける代謝変化 臨床免疫・アレルギー科 76(2) 190 - 195(2021)



# 難治病態研究部門 免疫疾患分野

教授：鏑田武志 助教：赤津ちづる、Sultan Cheryl, Sophia  
 特任講師：王継揚 特任研究員：Alborzian Deh Sheikh, Amin  
 技術補佐員：赤澤美圭子 事務補佐員：澤田千賀子

## 研究内容

糖鎖や核酸など非タンパク質抗原への抗体産生は感染防御や自己免疫疾患で重要な役割を果たす。しかし、教科書的な抗体産生のメカニズムは抗原がタンパク質の場合に限定されており、糖鎖や核酸への抗体産生のメカニズムには不明の点が多い(図1)。本研究室では、非タンパク質抗原への抗体産生と自己トレランスのメカニズムの解明を行っている。また、制御性B細胞と呼ばれる免疫抑制作用をもつBリンパ球(B細胞)を標的とした免疫疾患などの治療法の開発や抗体産生を介したがんの治療ワクチンおよびCOVID-19(新型コロナウイルス感染症)の予防ワクチンの開発を行っている。

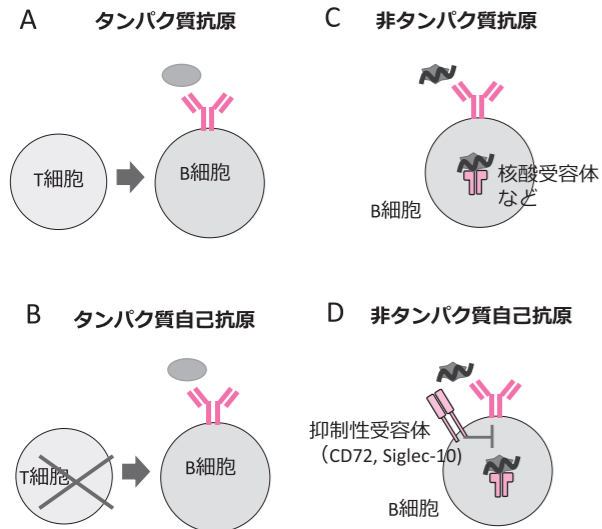


図1 B細胞の非タンパク質抗原への免疫応答とトレランス  
 B細胞がタンパク質抗原に反応する際には、同じ抗原を認識したT細胞からのヘルプによりB細胞は活性化し、抗体を産生する(A)。通常は自己反応性T細胞が欠如するため、B細胞は自己タンパク質抗原に反応しない(B)。核酸や多糖などの非タンパク質抗原は、核酸受容体などの何らかのT細胞非依存的なメカニズムにより、T細胞ヘルプがなくてもB細胞を活性化し、抗体産生を誘導する(C)。T細胞ヘルプの欠如に代わって、CD72やSiglec-10などの抑制性受容体が非タンパク質自己抗原を認識し、B細胞の活性化を抑制する。このことで、非タンパク質自己抗原へのトレランスが保たれる。

## 研究紹介

### 1. 非タンパク質抗原への免疫応答と自己トレランスの仕組みの解明

全身性エリテマトーデス(SLE)では核酸や核酸関連抗原への自己抗体が産生され、免疫性ニューロパチーであるギラン・バレー症候群では、シアル酸を含む糖脂質であるガングリオシドへの自己抗体が産生される。これ

らの非タンパク質抗原への自己抗体は、それぞれの疾患の発症に関わる。B細胞には種々の抑制性受容体を発現するが、本研究室では、抑制性受容体が非タンパク質自己抗原を認識することで、これら自己抗原に反応するB細胞の活性化を抑制し、非タンパク質自己抗原へのトレランスを維持することを明らかにしてきた(Tsubata Immunol Rev 2022)。抑制性受容体CD72がRNAを含む自己抗原Sm/RNPを認識し、Sm/RNAに特異的なB細胞の活性化を抑制することで、自己抗体産生を抑制することを明らかにした(Akatsu et al. JEM 2016)。さらにCD72がリボソームや補体成分C1qも認識し、これらの自己抗原へのB細胞の応答を抑制することを明らかにした。リボソームはRNAを含み、C1qはアポトーシス細胞と結合して核酸を含む複合体を形成し、B細胞の核酸受容体を介してT細胞非依存的にB細胞を活性化する。リボソームおよびC1qはSm/RNPとともにSLE特異的な自己抗体の標的分子であり、CD72がSLE特異的な自己抗原をはば広く認識して自己トレランスを誘導し、SLE発症を抑制することが明らかとなった(Akatsu et al. 投稿準備中)。また、B細胞に発現する抑制性受容体の1つSiglec-10はシアル酸を認識することが知られている。ギラン・バレー症候群患者でのSiglec-10遺伝子の解析を行い、Siglec-10がガングリオシドを認識することでガングリオシドへの自己抗体産生を抑制し、ギラン・バレー症候群の発症を抑制することを示す知見を得た(Alborzian Deh Sheikh et al. 2021)。

### 2. 細胞表面糖鎖層内での分子間相互作用によるB細胞制御の解明

細胞の表面には脂質やタンパク質に結合した糖鎖が多量に存在し、糖鎖の被殻(Glycocalyx)を形成している。Glycocalyx内では糖鎖を介した膜分子の相互作用により細胞機能が制御されるがその詳細は不明である。B細胞が発現する抑制性受容体CD22はシアル酸を認識するレクチンで、同じB細胞の表面でシアル酸で修飾された糖タンパク質や糖脂質(シスリガンド)と会合する。シスリガンドとの会合によりCD22の機能が制御され、B細胞が抗原に反応した際に反応性が優れたB細胞が準備されるというクオリティーコントロールに関わるこ

とを明らかにした。さらに、この仕組みにより免疫不全B細胞の機能回復を誘導することを明らかにした(Akatsu et al. Science Signaling 2022, Alborzian Deh Sheikh et al. J Immunol. 2021 ハイライト参照)。

### 3. ワクチンおよび自己免疫疾患新規治療薬の開発

B細胞の一部はIL-10などの抑制性サイトカインを産生して免疫応答を抑制する。このようなB細胞は制御性B細胞と呼ばれる。本研究室では、世界に先駆けて制御性B細胞を増多する抗体を作製し、この抗体を種々

の自己免疫疾患マウスモデルに投与すると自己免疫疾患を抑制することを明らかにした。また、標的分子の一部と免疫誘導能の高いキャリア分子をコンジュゲートすることで、標的分子の特定の部分への抗体産生を効率よく誘導する技術を開発している。多糖をキャリアとして用いることで、樹状細胞での抗原の保持を延長し、免疫応答を増強することを明らかにした(Long et al. Vaccine 2021) さらに、この技術を用いて、がん治療ワクチンや新型コロナウイルスへの変異株にも有効なワクチンの開発を行っている。

## ハイライト

### B細胞抑制性受容体CD22による免疫不全B細胞の機能回復

CD22はSiglec-2とも呼ばれる抑制性受容体で、細胞外領域のレクチンドメインでシアル酸を認識する。CD22は同じB細胞の表面でCD22のシアル酸と会合し、CD22同士のクラスターを形成するとともに、B細胞抗原受容体(BCR)ともシアル酸を介して会合する。本研究室では、この同じ細胞上のリガンド(シスリガンド)との会合により、B細胞の分化過程でCD22がB細胞のシグナル伝達を強く抑制し、その結果、抗原への反応性に優れたB細胞が選択的に成熟するというクオリティーコントロールの存在を示した。B細胞のシグナル異常による免疫不全症では、こ

のクオリティーコントロールがより強く働き、細胞表面に抗原受容体を多く発現することでシグナル機能を増強したB細胞が選択的に成熟し、B細胞のシグナル機能が回復することを明らかにした(図2)(Akatsu et al. Science Signaling 2022)。

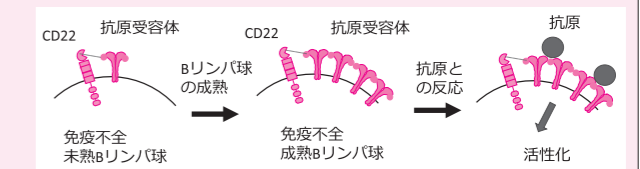


図2 CD22による免疫不全Bリンパ球(B細胞)の機能回復  
 B細胞は細胞表面の抗原受容体に抗原が結合すると活性化し、抗体産生細胞に分化する。抗原受容体からのシグナル伝達に関わる分子の欠損などで免疫不全症をきたす。免疫不全B細胞では、その成熟過程で細胞表面の抗原受容体の量が増加することで、機能回復がおこる。この過程では、抑制性の受容体CD22が抗原受容体の糖鎖を認識することが必要である。

## 人事異動

転入: 常重貴裕(短期交流学生)、Walakulu Gamage Hashadi Nadeesha(大学院生)、徐継軒(大学院研究生)  
 転出: Alborzian Deh Sheikh Amin(特任研究員)、安達貴弘(准教授)、高嶋航(共同研究員)、Yang Hongrui(大学院生)

## 業績目録

### 原著論文

- Alborzian Deh Sheikh, A., Gomaa, S., Li, X., Routledge, M., Saigo, K., Numoto, N., Angata, T., Hitomi, Y., Takematsu, H., Tsuiji, M., Ito, N., Kusunoki, S. and Tsubata, T. (2021) : A Guillain-Barré syndrome-associated SIGLEC10 rare variant impairs its recognition of gangliosides. J. Autoimmun. 116: 102571.
- Tsugawa, N., Yamada, D., Watabe, T., Onizawa, M., Wang, S., Nemoto, Y., Oshima, S.,

- Tsubata, T., Adachi, T., Karasuyama, H., Watanabe, M., Blumberg, R., Okamoto, R., and Nagaishi, T. (2021) : CEACAM1 specifically suppresses B cell receptor signaling-mediated activation. Biochem. Biophys. Res. Commun. 535: 99-105.
- Ballet, R., Brennan, M., Brandl, C., Feng, N., Berri, J., Cheng, J., Ocon, B., Alborzian Deh Sheikh, A., Marki, A., Bi, Y., Abram, C. L., Lowell, C. A., Tsubata, T., Greenberg, H. B., Macauley, M. S., Ley, K., Nitschke, L., Butcher, E. C. (2021) : CD22-Shp1 phosphatase axis controls integrin  $\beta 7$  display and B cell function in mucosal immunity. Nat. Immunol. 22:381-390.
- Alborzian Deh Sheikh, A., Akatsu, C., Abdu-Allah, H. H. M., Suganuma, Y., Imamura, A., Ando, H., Takematsu, H., Ishida, H. and Tsubata, T. (2021) : The protein tyrosine phosphatase SHP-1 (PTPN-6) but not CD45 (PTPR-C) is essential for the ligand-mediated regulation of CD22 in BCR-ligated B cells. J. Immunol. 206: 2544-2551.
- Long, W., Kunitake, S., Sawada, S., Akiyoshi, K. and Tsubata, T. (2021) : Protein antigen

- conjugated with cholesteryl amino-pullulan nanogel shows delayed degradation in dendritic cells and augmented immunogenicity. Vaccine 39: 7526-7530. doi: 10.1016/j.vaccine.2021.11.047
- Li, Y., Tang, Y., Liu, J., Meng, X., Wang, Y., Min, Q., Hong, R., Tsubata, T., Hase, K., and Wang, J.-Y. (2022) : Glia maturation factor- $\alpha$  is involved in SIP-induced marginal zone B cell chemotaxis and optimal T-independent type II antigen-induced IgM production. Int. Immunol. 34: 35-43. doi: 10.1093/intimm/dxab097
- Akatsu, C., Alborzian Deh Sheikh, A., Matsubara, N., Takematsu, H., Schweizer, A., Abdu-Allah, H. H. M., Tedder, T. F., Nitschke, L., Ishida, H. and Tsubata, T. (2022) : Inhibitory coreceptor CD22 restores B cell signaling by developmentally regulating Cd45-/- immunodeficient B cells. Science Signaling (eabf 9570)
- Tsubata, T. (2022) : Role of inhibitory B cell co-receptors in B cell self-tolerance to non-protein antigens. Immunological Reviews. online ahead of print doi/10.1111/imr.13059

# ゲノム応用医学研究部門

## *Division of Medical Genomics*

### 【研究の理念と概要】

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

### 【部門の主な研究成果】

- 妊婦の遺伝的高血圧リスクによる出生体重低下は、母体高血圧ではなく、血管臓器である胎盤の発育低下を介して引き起こされることを明らかにした（分子疫学分野）。
- ゲノムワイド関連解析データから計算されたポリジェニックリスクスコアが、関節リウマチの関節破壊と関連することを世界で初めて示した（ゲノム機能多様性分野）。
- 日本人食道扁平上皮癌のエクソーム解析を行い、食道癌の予後に関連する遺伝子やその変異を同定した。  
また、PDHX は、ミトコンドリアでの PDH 複合体の活性を介したエネルギー産生に関与しており、その発現は食道扁平上皮癌の細胞増殖に必要であることを同定した（分子細胞遺伝分野）。
- miRNA の一つである miR-766-5p がスーパーエンハンサー活性の抑制を介して MYC の発現を癌細胞特異的に抑制し、抗腫瘍効果を発揮することを見出した（分子細胞遺伝分野）
- ヌクレオソームを超遠心し複数の疎密の段階に分離し、そこに含まれる DNA をシーケンスする手法を開発した。  
また、ヌクレオソームが密になると RNA ポリメラーゼが結合しにくくなり、周辺の RNA の転写量が下がることを明らかにした（ゲノム機能情報分野）。



# 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 准教授：井上 純 助教：玄 泰行、村松智輝

## 研究内容

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

## 研究紹介

### 1. マイクロ RNA を用いた核酸抗癌薬の開発

#### ① 癌抑制型 *miR-634* 核酸抗癌薬の開発

マイクロ RNA (microRNA; miR) は、約 22 塩基からなる機能性 RNA であり、複数の標的遺伝子の転写産物に直接結合することで、遺伝子発現を抑制する。癌抑制型 miR は、複数の癌促進遺伝子群を同時に標的とするため、核酸抗癌薬の創薬シーズとして注目されている。これまで我々は、癌抑制型 miR である *miR-634* の癌細胞への導入は、細胞保護プロセスに関連する複数の遺伝子群を同時に標的とすることにより、効率的に細胞死を誘導することを明らかにしてきた。さらに、合成 2 本鎖 *miR-634* を創薬シーズとした miR 核酸抗癌薬（全身投与製剤および局所投与用軟膏製剤）を開発し、担瘤マウスを用いて、それらの製剤の治療有効性と安全性を実証してきた。

本年度において、口腔扁平上皮癌（Oral squamous cell carcinoma; OSCC）細胞株への *miR-634* の導入は、シスプラチンに対する感受性を顕著に増強することを見出した。さらに、*miR-634* の新たな標的遺伝子として、抗アポトーシス作用に働く *cIAP1* 遺伝子を同定した。シスプラチン耐性細胞において、*cIAP1* は遺伝子増幅を伴って高発現しており、*miR-634* の導入は、*cIAP1* を含む複数の標的遺伝子群の発現抑制を介して、シスプラチン耐性を克服することを明らかにした。また、OSCC 細胞株担瘤マウスモデルにおいて、*miR-634* 軟膏製剤の腫瘍への局所投与とシスプラチンの全身投与は、相乗的な抗腫瘍効果を発揮することを明らかにした（ハイライト図）。シスプラチンを使用した化学療法は、切除不能な局所進行症例および高齢や口腔機能的な理由により手術不適応となる症例に対して適応される。そのような OSCC 症例において、腫瘍への *miR-634* 軟膏製剤の局所投与は、シスプラチンによる治療効果を最大限

に引き出すための新しい治療モダリティとなることが期待される (Tran PX et al. Mol Ther - Oncolytics 2022)。

#### ② 神経芽腫における *miR-3140-3p* 核酸抗癌薬創生

神経芽腫 (NB) は小児の固形腫瘍の中で脳腫瘍に次いで頻度が高く、国際神経芽腫リスク分類 (INRG リスク分類) において、高リスク群は化学療法抵抗性予後不良の難治がんとして知られている。*MYCN* 癌遺伝子は、高リスク群 NB の約半数で遺伝子増幅し、NB の増殖に決定的な役割を果たしている。BET 阻害剤 (BETi) が *MYCN* 転写制御を阻害することから NB 治療薬として期待されている。しかし、BETi は薬剤耐性化が起りやすく、その薬剤耐性克服が大きな課題となっている。今回の研究において、NB 細胞における BETi 耐性の機序を明らかにするとともに、核酸抗癌薬シーズ *miR-3140-3p* を用いた NB 細胞に対する新しい治療戦略の可能性を示した。*miR-3140-3p* は BRD4 と MAP3K3-ERK 経路を抑制することで、転写レベルおよびタンパクの安定性のレベルにおいて *MYCN* を抑制し、BETi に対して抵抗性を持つ NB 細胞においても抗腫瘍効果を発揮することを明らかにした。*miR-3140-3p* による核酸抗癌薬は *MYCN* 増幅 NB に対する新たな治療戦略として期待される (Liu C et al. Mol Ther - Nucleic Acids 2021)。

#### ③ 新規癌抑制型 *miRs* の探索 *miR-766-5p* について

新たな核酸抗がん薬のシーズとして *miR-766-5p* を同定した。*miR-766-5p* は BRD4 と CBP を抑制することで、スーパーエンハンサーを制御し、がん細胞特異的に *MYC* の発現を抑制した。*miR-766-5p* を用いた核酸抗がん薬は *MYC* が活性化している癌に対する新たな治療戦略となる可能性が期待される。特に、*miR-766-5p* は希少難治性扁平上皮がんである NUT 正中線がん (NMC) のドライバー BRD4-NUT 融合タンパクの発現を抑制することから、NMC の新規核酸抗癌薬開発への応用が期待される (Gen Y et al. Cancer Res. 2021)。

### 2. 小頭症及び低身長の新規原因遺伝子 *NUF2* の同定

2005 年から全国 23 の小児医療施設とコンソーシアムを形成し、診断未確定の多発奇形を伴う発達遅滞 (MCA-ID) の 645 症例を対象に原因探索を進めてきた。その結果、これまでに、24% (155/645) に病因性のコピー数変化

(CNV) を検出した (Hayashi S et al., J Hum Genet. 2011; Uehara DT et al., J Hum Genet. 2016)。さらに病因性 CNV が陰性の 104 症例を対象に、ID/MCA 既知原因遺伝子 75 種類を含むカスタムパネルを用いた遺伝子変異解析を行い、19% (20/104) に病因性点変異 (SNV) を検出した。今回、カスタムパネル解析で陰性の 6 症例のトリオ全エクソーム解析の結果、*NUF2* 遺伝子の *de novo* ヘテロ接合性ミスセンス変異 (c.371T>G, p.Ile124Ser) を同定した。*NUF2* は、動原体ヘテロ四量

体の *NDC80* 複合体 (*NUF2*、*NDC80*、*SPC24*、*SPC25*) の構成要素であり *NDC80* と複合体を形成し、微小管と直接結合することで染色体分裂および紡錘体形成チェックポイントを制御する。*in vitro* 実験において p.Ile124Ser 変異は *NUF2* の CH ドメインでの疎水性相互作用喪失を惹起し、*NDC80-NUF2* 複合体の安定性阻害が確認された。以上より、小頭症及び低身長の新規原因遺伝子として、動原体の構成要素である *NUF2* 遺伝子を同定した。

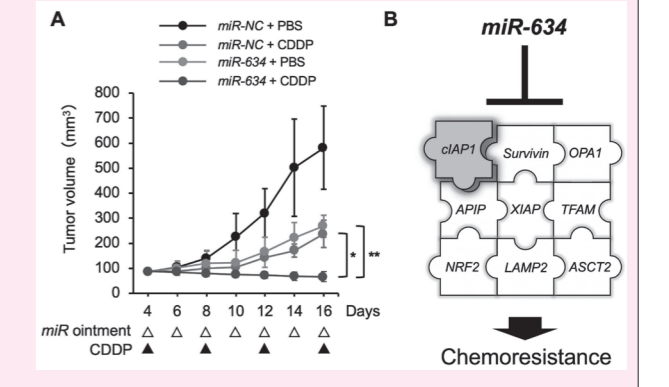
## ハイライト

### 癌抑制型 *miR-634* 核酸抗癌薬によるシスプラチンの治療効果の増強

A. 担瘤マウスを用いた *miR-634* 軟膏とシスプラチン (CDDP) の併用投与による相乗的な抗腫瘍効果: OSCC 細胞株の皮下移植 4 日後から、*miR* ointment (*miR-NC*; negative control または *miR-634* 軟膏製剤) の経皮投与 (2 日毎) および CDDP の腹腔内投与 (4 日毎) を実施した。グラフは、経時的な腫瘍の大きさの変化を示す (\**P* = 0.0409, \*\**P* = 0.0254)。

B. *miR-634* による化学療法に対する耐性能の克服: OSCC 細胞への *miR-634* の導入は、細胞保護プロセスに関連する複数の遺伝子群を同時に標的とすること

により、シスプラチン耐性を克服し感受性を増強することができる。本研究において、抗アポトーシス作用の中心的役割を果たす *cIAP1* が *miR-634* の標的になることを新たに同定した。



## 業績目録

### 原著論文

- Tran PX, Inoue J, Harada H, Inazawa J: Potential for reversing *miR-634*-mediated cytoprotective processes to improve efficacy of chemotherapy against oral squamous cell carcinoma. Mol Ther - Oncolytics. 2022. in press.
- Akamatsu S, Terada N, Takata R, Kinoshita H, Shimatani K, Momozawa Y, Yamamoto M, Tada H, Kawamorita N, Narita S, Kato T, Nitta M, Kandori S, Koike Y, Inazawa J, Kimura T, Kimura H, Kojima T, Terachi T, Sugimoto M, Habuchi T, Arai Y, Yamamoto S, Matsuda T, Obara W, Kamoto T, Inoue T, Nakagawa H, Ogawa O: Clinical Utility of Germline Genetic Testing in Japanese Men Undergoing Prostate Biopsy. JNCI Cancer Spectr. 2022 Jan 9:6. doi: 10.1093/jncics/pkac001. eCollection 2022 Feb.
- Zhang M, Sugita I, Komura D, Katoh H, Shimada S, Inazawa J, Tanaka S, Ishikawa S: Genomic landscape of a mouse model of diffuse-type gastric adenocarcinoma. Gastric Cancer. 2022 Jan 25 : 83-95. doi: 10.1007/s10120-021-01226-0. Epub 2021 Aug 13
- Gen Y, Muramatsu T, Inoue J, Inazawa J: *miR-766-5p* targets super-enhancers by downregulating CBP and BRD4. Cancer Res. 2021 Oct 15. 81:5190-5201. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-21-0649. Epub 2021 Aug 5.
- Takemoto A, Tanimoto K, Mori S, Inoue J, Fujiwara N, Noda T, Inazawa J: Integrative genome-wide analyses reveal the transcriptional aberrations in Japanese

- esophageal squamous cell carcinoma. Cancer Sci. 2021 Oct. 112:4377-4392. doi: 10.1111/cas.15063. Epub 2021 Aug 12.
- Liu C, Gen Y, Tanimoto K, Muramatsu T, Inoue J, Inazawa J: Concurrent targeting of MAP3K3 and BRD4 by *miR-3140-3p* overcomes acquired resistance to BET inhibitors in neuroblastoma cells. Mol Ther - Nucleic Acids 2021 May 11. 25:83-92. doi: 10.1016/j.omtn.2021.05.001. eCollection 2021 Sep 3.
- Kishikawa M, Inoue J, Hamamoto H, Kobayashi K, Asakage T, Inazawa J: Augmentation of lenvatinib efficacy by topical treatment of *miR-634* ointment in anaplastic thyroid cancer. Biochem Biophys Rep. 2021 May 9. 26:101009. doi: 10.1016/j.bbrep.2021.101009. eCollection 2021 Jul.
- Inoue J\*, Kishikawa M\*, Tsuda H, Nakajima Y, Asakage T, Inazawa J: Identification of PDHX as a metabolic target for esophageal squamous cell carcinoma. Cancer Sci. 2021 Jul. 112:2792-2802. doi: 10.1111/cas.14938. Epub 2021 May 24. \*equally contributed
- Nishino K, Yoshimatsu Y, Muramatsu T, Sekimoto Y, Mitani K, Kobayashi E, Okamoto S, Ebana H, Okada Y, Kurihara M, Suzuki K, Inazawa J, Takahashi K, Watabe T, Seyama K: Isolation and characterisation of lymphatic endothelial cells from lung tissues affected by lymphangioliomyomatosis. Sci Rep. 2021 Apr 16. 11:8406. doi: 10.1038/s41598-021-88064-3.
- Uehara DT, Mitsubuchi H, Inazawa J: A missense variant in *NUF2*, a component of the kinetochore *NDC80* complex, causes impaired chromosome segregation and aneuploidy

- associated with microcephaly and short stature. Hum Genet. 2021 Jul; 140:1047-1060. doi: 10.1007/s00439-021-02273-4. Epub 2021 Mar 15.
- Beck DB, Basar MA, Anthony J, Asmar AJ, Thompson JJ, Oda H, Uehara DT, Saida K, Pajusalu S, Talvik I, D'Souza P, Bodurtha J, Mu W, Barañano KW, Miyake N, Wang R, Kempers M, Tamada T, Nishimura Y, Okada S, Kosho T, Dale R, Mitra A, Macnamara E, Undiagnosed Diseases Network, Matsumoto N, Inazawa J, Walkiewicz M, Öunap K, Tiftt CJ, Aksentijevich I, Kastner DL, Rocha PP, Werner A: Linkage-specific deubiquitylation by OTUD5 defines an embryonic pathway intolerant to genomic variation. Sci Adv. 2021 Jan 20. 7: eabe2116. doi:10.1126/sciadv.abe2116.
- Xu B, Muramatsu T, Inazawa J: Suppression of MET signaling mediated by pitavastatin and capmatinib inhibits oral and esophageal cancer cell growth. Mol. Cancer Res. 2021 Apr. 19:585-597. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-20-0688. Epub 2020 Dec 22.

### 各種受賞

- 玄泰行助教：第 25 回日本がん分子標的治療学会学術集会 優秀演題賞受賞

### 学位 (博士) 取得者

- 岸川正広：Augmentation of lenvatinib efficacy by topical treatment of *miR-634* ointment in anaplastic thyroid cancer.

### 特許取得

なし



# ゲノム応用医学研究部門 分子遺伝分野

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

## 研究内容

BRCA1・2は、DNA二本鎖切断修復に機能する。この機能は、発がんを予防する守護者である一方で、がん組織内では抗がん剤によるDNA損傷を修復して細胞死誘導を阻害し治療抵抗性を生み出す。これら知見を基盤に合成致死療法が開発され、我々は本治療をさらに進化させる研究を進めている。また、乳がんはエストロゲン依存性に発生し、DNA損傷修復機能不全による生存シグナルの亢進からエストロゲン非依存性増殖能の獲得へと進行する。そこで、エストロゲンとBRCAによるDNA安定化制御機構を追究し、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んでいる。

## 研究紹介

### 1. BRCA2はE2-ER $\alpha$ によってpS2の転写活性を抑制している

BRCA2遺伝子の変異または欠損は、乳腺や卵巣などエストロゲンが作用する組織で発がんのリスクを高める。BRCA2は、エストロゲンの取り込みに加え、細胞周期のS期で発現が増加し、DNA複製の際に生じたDNA損傷修復に大きく寄与していることが分かっている。しかし、エストロゲン誘導におけるBRCA2の役割はまだ不明である。我々は、BRCA2のプロモーター領域内の転写因子USF1、E2F1、NF- $\kappa$ Bの結合配列に変異を導入し、エストラジオールの添加によりBRCA2の活性化を誘導する発現プラスミドを作製した。そして、エストラジオールの添加でBRCA2と相互作用するタンパク質にエストロゲン受容体 $\alpha$  (ER $\alpha$ )を同定した。両タンパク質は、BRCA2のヘリカルドメインとER $\alpha$ の活性化機能領域(AF-2)で結合した。この結合は、転写因子の活性化に必要なコアクチベーターSRC-1の結合を抑制し、エストラジオール-ER $\alpha$ の標的遺伝子であるpS2の転写活性を調節している可能性が示唆された。

### 2. BRCA2ミスセンスバリエーションK2497Rは、自己分解を抑制し、ATP産生と細胞増殖を増加させた

BRCA2は、細胞周期のS期におけるゲノム維持を仲介し、DNA複製ストレス、中心体複製、細胞質分裂に

重要な役割を担っている。今回、エストロゲン処理したMCF-7細胞において、熱ショックタンパク質であるHSP27がBRCA2と相互作用し、その分解に関与していることを明らかにした。BRCA2の分解には、中央からC末端領域のユビキチン化が必要とされているが、そのユビキチン修飾アミノ酸について明らかにされていない。そこで、アミノ酸2241-2940残基内でフラグメントを作製し、シクロヘキシミド(CHX)チェイスアッセイを行ったところ、BRCA2の分解に関与するユビキチン化領域の絞り込みに成功した。その結果、リジン(Lys)2497のユビキチン化が影響を与えることがわかった。このK2497Rは、ClinVarデータベースでBRCA2のミスセンス変異部位として報告されている。さらに、K2497A/R変異型のBRCA2-FLAGを発現させたDLD-1(BRCA2ノックアウト)細胞は、野生型BRCA2-FLAGを発現させた細胞に比べて、ATP産生と細胞増殖能を亢進させた。この結果は、分解を回避したBRCA2の蓄積が、細胞増殖能を亢進させることを示した。

### 3. 治療抵抗性がんを克服する新たな合成致死療法の開発

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

そこで我々は、種々のDNA損傷型抗がん剤との併用により、がん細胞の感受性を亢進(増感)させる新たな因子の探索を目的に、細胞内のDNA二本鎖切断(DSB)を指標にした独自のハイスループットスクリーニング法を開発した。これまでに、機能既知化合物ライブラリを対象にスクリーニングを実施、複数の合成致死療法の組み合わせを同定し、詳細な解析を進めている。代表例と

して、トポソメラーゼII阻害剤のエトポシドの細胞感受性を増強させる因子としてステロイド化合物を同定した。ステロイド単剤では、細胞においてDSBは形成されないが、エトポシドとの併用時においてDSB形成量を増加させることを見出した。この作用機序として、

ステロイドによる転写活性が、エトポシドのDNA損傷性を増強させることが示唆されている。さらに詳細な機構を明らかにするとともに、ドラッグリポジショニング(既存薬再開発)の展開も期待され、臨床応用へ向けた研究を目指す。

## ハイライト

### BRCA2のE2-ER $\alpha$ を通じたpS2転写活性の抑制

- BRCA2はE2誘導を介してER $\alpha$ と相互作用した。
- BRCA2の $\alpha$ -helical domain(HD)はER $\alpha$ に結合している。
- BRCA2はERのactivation function-2(AF-2)ドメインに結合し、E2-ER $\alpha$ を介してpS2の転写活性を阻害した。

本研究では、BRCA2はSRC-1のER $\alpha$ への結合を抑制することにより、pS2の発現をダウンレギュレー

トできることがわかった。その際、BRCA2はE2のER $\alpha$ への結合やE2-ER $\alpha$ のオリゴヌクレオチドへの結合には影響を与えなかった。BRCA2は、DNA損傷修復とE2-ER $\alpha$ による転写活性の抑制で暴走する細胞分裂を制御していることが示唆された。

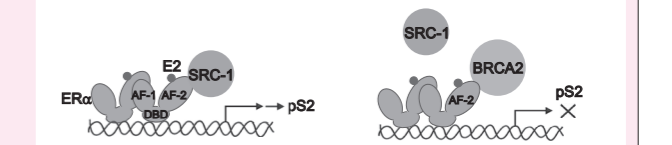


図1 BRCA2はER $\alpha$ とSRC-1の結合を阻害し、それによってpS2の転写活性を抑制した

## 研究業績

### 人事異動

転入：なし  
転出：鄧 宇 (Deng Yu)

### 原著論文

1. Enkhbat G, Nakanishi A, Miki Y. The BRCA2 missense mutation K2497R suppressed self-degradation and increased ATP production and cell proliferation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2022 Jan 29; 590:27-33. doi: 10.1016/j.bbrc.2021.12.073.
2. Fukuda M, Tojo Y, Sato A, Saito H, Nakanishi A, Miki Y. BRCA2 represses the transcriptional

- activity of pS2 by E2-ER $\alpha$ . *Biochem Biophys Res Commun.* 2022 Jan 15; 588:75-82. doi: 10.1016/j.bbrc.2021.12.054.
3. Inazawa J, Miki Y, Nakamura Y. Integrative cancer genomics in the era of precision cancer medicine. *J Hum Genet.* 2021 Sep;66(9):843. doi: 10.1038/s10038-021-00970-6.
  4. Sunada S, Saito H, Zhang D, Xu Z, Miki Y. CDK1 inhibitor controls G2/M phase transition and reverses DNA damage sensitivity. *Biochem Biophys Res Commun.* 2021 Apr 23; 550:56-61. doi: 10.1016/j.bbrc.2021.02.117.
  5. Gharahkhani P, Jorgenson E, Hysi P, Khawaja AP, Pendergrass S, et al. (Biobank Japan project). *Nat Commun.* 2021 Feb 24;12(1):1258. doi:10.1038/s41467-020-20851-4.

- PMID: 33627673; PMCID: PMC7904932.
6. Yoshida R, Hagio T, Kaneyasu T, Gotoh O, Osako T, Tanaka N, Amino S, Yaguchi N, Nakashima E, Kitagawa D, Ueno T, Ohno S, Nakajima T, Nakamura S, Miki Y, Hirota T, Takahashi S, Matsuura M, Noda T, Mori S. Pathogenicity assessment of variants for breast cancer susceptibility genes based on BRCAness of tumor sample. *Cancer Sci.* 2021 Mar;112(3):1310-1319. doi: 10.1111/cas.14803.
  7. Chin YM, Takahashi Y, Chan HT, Otaki M, Fujishima M, Shibayama T, Miki Y, Ueno T, Nakamura Y, Low SK. Ultradeep targeted sequencing of circulating tumor DNA in plasma of early and advanced breast cancer. *Cancer Sci.* 2021 Jan;112(1):454-464. doi: 10.1111/cas.14697.



# ゲノム応用医学研究部門 分子疫学分野

教授：村松正明 准教授：佐藤憲子 助教：今井千裕

## 研究内容

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

## 研究紹介

### 1. コラーゲンタイプ XVIIIA1 (COL17A1) 遺伝子非同義バリエーション p.Ser1029Ala と粘膜悪性黒色腫

COL17A1 は主に表皮基底ケラチノサイトで発現し、癒着複合体であるヘミデスモソームの構成成分である。COL17A1 は種々の皮膚疾患と関連していることが知られており、COL17A1 に対する自己抗体は水疱性類天疱瘡 (Bullous pemphigoid) を引き起こし、COL17A1 遺伝子の生殖細胞系列の変異は種々の表皮水泡症 (Epidermolysis bullosa) の原因となっている。最近マウスを用いた実験により、coll17a1 はメラノサイト幹細胞の生存に必須のニッチを形成する分子であることが新たに明らかにされた。また shedding 部位を欠損させた coll17a1 遺伝子変異はモデルマウス内で悪性黒色腫を進

展させることが報告された。そこで東京都長寿健康医療センターの高齢者連続剖検例 (JG-SNP) データベースにおいて COL17A1 を候補遺伝子として皮膚癌及び他の癌との関連解析を行った。エクソームチップで解析し得た COL17A1 の 53 種の非同義 SNV のうち、細胞外ドメインにある p.Ser1029Ala (rs118166857) と皮膚癌との関連を認めた ( $p=0.002$ , Fisher's exact)。このバリエーションを持つ皮膚癌症例のうち 2 例は粘膜悪性黒色腫 (2/2)、1 例はバジェット病 (1/3) であり、扁平上皮癌、基底細胞癌にはこの SNV は認められなかった。他の癌との関連も検索した所、p.Ser1029Ala は乳がんとも関連が認められた ( $p=0.006$  同)。この 2 例の粘膜悪性黒色腫症例において、更に他の生殖細胞系列変異がないかどうか調べる目的で BRCA1/2, p53 等を含む 55 個の癌関連遺伝子のパネル遺伝子解析を行ったところ、明確な病原性変異は見出せられなかったものの AXIN2, REV3L, ATM, CNYN6 に意義不明のレアバリエーション (VUS) を認めた。以上より COL17A1 外部ドメインの p.Ser1029Ala バリエーションはメラノサイトの微小環境において細胞の競合などに影響を与えることによって発癌を誘発するという作業仮説を提供する。COL17A1 細胞外ドメインの Ser 残基はエクトキナーゼであるカゼインキナーゼ 2 によってリン酸化されて shedding が制御されていることも知られており、COL17A1 p.Ser1029Ala は今後さらに、分子疫学的、生化学的、細胞生物学的な研究が必要である。

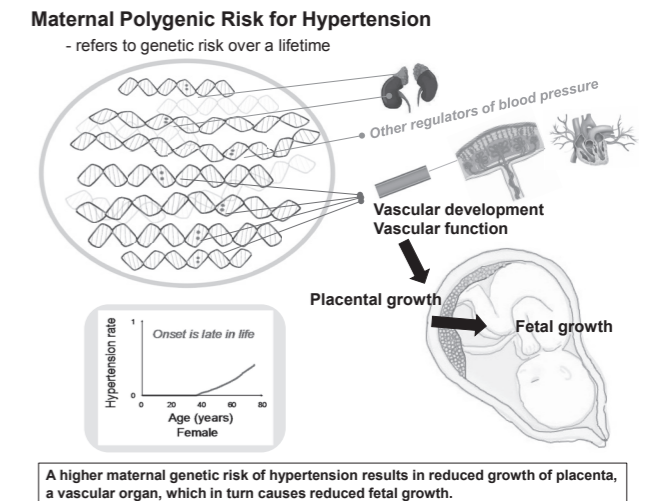
### 2. 妊婦の遺伝的高血圧リスクは胎盤への影響を介して児の出生体重を低下させる

近年、欧州の研究グループは、母の収縮期血圧 polygenic score を用いて母の血圧と児の出生体重とのメンデルランダム化解析を行い、妊婦の血圧上昇が児の出生体重低下を招くと結論した。また、低出生体重児が将来高血圧を発症しやすいのは、児が母から高血圧の遺伝子を遺伝するからであり、子宮内環境によるものではないと結論し、DOHaD 仮説を否定した。しかし、実際の妊婦の血圧と出生体重には負の相関はない。また、行われたメンデルランダム化解析では、満たすべき前提条件が満たされていなかった。

我々は、血圧関連 SNP の多くが血管機能や血管新生と関連することに着目し、母の収縮期血圧 polygenic score の高さは血管系の脆弱性を反映しており、血管臓器である胎盤の発育低下を介して出生体重に影響するという仮説をたて、それを検証した。Polygenic score analysis, バイオインフォマティクス及び媒介分析を用いて、母が血圧上昇に働くアレルを多く持つことにより、妊娠中の血圧上昇ではなく、胎盤成長抑制を介して、出生体重低下を引き起こすことを世界で初めて明らかにした。さらに、母の収縮期血圧 polygenic score は、妊娠後期の胎児成長速度低下に関連することも示した。

妊娠後期に発症する胎児成長の遅延は妊娠の数%にみられ、ほとんどが原因不明で予測困難である。本研究成果は、今後の後期発症胎児発育不全の予測・スクリーニング方法の開発に役立つと考えられる。また、本研究は、母の高血圧リスクが遺伝的に高いために出生体重が低下

している場合は、遺伝的なりスクが児へ継承される経路と、胎盤発育不良による子宮内環境悪化の経路の両方が児の将来の高血圧発症に関与する可能性を示した。



## 人事異動

転出：博士課程修了 Yuan Zong(2021)、Tong Daike(2022)、勝田江朗 (2022)  
修士課程修了 山田楓子(2022)

## 業績目録

### 原著論文

1. Tong D, Tanaka M, Eguchi H, Okazaki Y, Muramatsu M, Arai T. COL17A1 germline variant p.Ser1029Ala and mucosal malignant melanoma: An autopsy study. Mol Clin Oncol. 16 (2):32. 2022
2. Zong Y, Tanaka M, Muramatsu M, Arai T. D-amino acid oxidase (DAO) rare genetic missense variant p.Pro103Leu and gastric cancer. Mol Clin Oncol. 14(3):58 2021
3. Imai C, Takimoto H, Fudono A, Tarui I, Aoyama T, Yago S, Okamitsu M, Sasaki S, Mizutani S, Miyasaka N, Sato N. Application of the Nutrient-Rich Food Index 9.3 and the Dietary Inflammatory Index for Assessing Maternal Dietary Quality in Japan: A Single-Center Birth Cohort Study. Nutrients. 13 (8):2854. 2021.
4. Sato N, Fudono A, Imai C, Takimoto H, Tarui I, Aoyama T, Yago S, Okamitsu M, Muramatsu M, Mizutani S, Miyasaka N. Placenta mediates the effect of maternal hypertension polygenic score on offspring birth weight: a study of birth cohort with fetal growth velocity data. BMC Medicine. 19(1):260, 2021
5. Fudono A, Imai C, Takimoto H, Tarui I, Aoyama T, Yago S, Okamitsu M, Muramatsu M, Sato N, Miyasaka N. Trimester-specific associations between extracellular vesicle microRNAs and fetal growth. J Matern Fetal Neonatal Med. 1 - 7. doi: 10.1080/14767058.2021.2000598. Online ahead of print. 2021
6. Katsuda T, Sato N, Mogushi K, Hase T,

Muramatsu M. Sub-GOFA: A tool for Sub-Gene Ontology function analysis in clonal mosaicism using semantic (logical) similarity. Bioinformatics, 18 (1): 53-60. 2022

### 著書

1. 村松正明：生活習慣病の遺伝子検査 医学のあゆみ 278: 334-339, 2021
2. 佐藤憲子：遺伝子医学 MOOK36号「エピゲノムで新たな解明が進む『先天性疾患』」(副島英伸, 秦健一郎編), 第4章「3. DOHaD 分子疫学」, 182-187, 2021：メディカルドゥ：東京
3. 佐藤憲子：食品免疫学事典 (日本食品免疫学会編), 「9-16. 胎生期の栄養と免疫機能」, 2021年, 朝倉書店, 東京

### 学外教育活動

村松正明 山形大学医学部、北里大学薬学部 (非常勤講師)  
佐藤憲子 日本女子大学家政学部 (非常勤講師)



# ゲノム応用医学研究部門 ゲノム機能情報分野

教授：二階堂愛 准教授：笹川洋平 助教：山根万里子  
技術補助員：前田伊久子

## 研究内容

本分野では新しい大規模ゲノム実験法やデータ解析手法の開発を行っている。これらの技術を利用し難治性疾患の創薬や再生医療の実現を目指す。近年、生命の最小単位である細胞レベルから疾患を理解する研究に注目が集まっている。我々は臓器に含まれる細胞の機能や状態をもれなく計測するために、1細胞ごとのRNAの量や種類を測る1細胞RNA-seq法の開発を行っている。この方法で得られた1細胞ごとのRNAの量や種類のデータを人工知能技術で解析することで、臓器内の細胞の機能や状態、分化系譜、細胞間相互作用などを同定できる。我々は生命情報科学（バイオインフォマティクス）や機械学習、統計科学、計算機科学などを駆使し、1細胞RNA-seqデータから疾患の原因や創薬標的を発見するアルゴリズムを開発している。これらの技術は特定の細胞とターゲットとする薬や特定の細胞を補う再生医療の開発に貢献するだろう。本分野で開発した技術を創薬や再生医療に繋げるべく企業に技術移転することで社会実装を行っている。

## 研究紹介

### (1) 毛包幹細胞の起源を解明

理化学研究所（理研）生命機能科学研究センター細胞外環境研究チームの森田梨津子研究員、藤原裕展チームリーダー、理研生命機能科学研究センターバイオインフォマティクス研究開発チーム（理研BiT）林哲太郎技師、芳村美佳専門職技術員らの研究グループと共同しては、毛包幹細胞の由来を明らかにした[4]。また既知のメカニズムとは異なる形態形成モデル「テレスコープモデル」により毛包が発生することを明らかにした。

研究グループは、1細胞レベルでマウス毛包の発生を経時観察する長期 ex vivo ライブイメージングと、1細胞トランスクリプトーム解析を組み合わせて毛包幹細胞の発生活動の解明を目指した。その結果、発生中の毛包は望遠鏡のように筒状に区画化されており、その区画が伸長することで発生することを明らかにした。幹細胞はそのひとつの区画に由来することを明らかにした。本分野は理研BiTと協力し1細胞RNA-seq実験やそのデータ解析を担当した。

### (2) エピゲノム異常と脳機能不全の解析

本分野は、理化学研究所（理研）開拓研究本部眞貝細胞記憶研究室の山田亜夕美研究員、眞貝洋一主任研究員、理研生命機能科学研究センターバイオインフォマティクス研究開発チーム（理研BiT）林哲太郎技師、芳村美佳専門職技術員、帝京大学理工学部バイオサイエンス学科の平澤孝枝准教授らと共同し、遺伝性精神神経疾患の一つである「クリーフストラ症候群（KS）」の脳機能不全について疾患モデルマウスを利用して研究を行った[1]。KSは発達遅延や知能障害、自閉症様の症状が見られる遺伝性精神神経疾患である。この疾患はエピゲノムに異常が起こり、疾患に関わる遺伝子の転写が正常に起きないため脳機能の不全が起きると考えられているが、その機序は明らかになっていない。

そこで研究チームはKSの原因遺伝子であるヒストンメチル化酵素GLPの遺伝子Ehmt1をヘテロで欠損したマウスをKSのモデルマウスとして解析した。その結果、生後減少しているGLPを補充すれば、活動量の低下や不安感の上昇などの行動異常が改善できることを示した。また、Ehmt1ヘテロ欠損マウスの脳内では、ミクログリアの活性化による炎症状態が引き起こされており、これがKSモデルマウスの脳内表現型の原因の一つであることを1細胞RNA-seq法などにより明らかにした。本分野は理研BiTと協力し1細胞RNA-seq実験やそのデータ解析を担当した。

### (3) 遺伝子の粗密と発現の関係を物理的に計測

藤田医科大学医学部の石原悟講師、大阪大学大学院基礎工学研究科の山下隼人助教らと共同し、本分野は、「遺伝子の働く強さを調節する仕組み」をヒトの細胞を使って解明した[3]。従来、遺伝子は働くか働かないの2パターン、オンとオフの「スイッチ」のもとで調節されていると考えられていた。しかし、その実態は、全く働かない、少しだけ働く、中程度に働く、活発に働くというように、オフから最大値まで無段階に調節される。そこで、その可変調節を可能にする「ダイヤル」の実体の解明に、遺伝子が巻き付いている円柱状の構造物「ヌクレオソーム」に着目し、超遠心分離機を用いたヌクレオソーム解析法を新たに開発した。その解析法により、数

個のヌクレオソームが「密」に集まる時には遺伝子の働きが抑えられ、「疎」に散らばるほど遺伝子が強く働くことが明らかになった。つまり、ヌクレオソームの密集の程度が、遺伝子の働く強さを決める「ダイヤル」であると結論付けられる。遺伝子の正常な働きはヒトの健康に必須な生命活動であり、その異常が様々な病気を引き起こす。したがって、本研究で明らかにされた知見は、ヒトの健康と病気を理解するうえでの新たな方策につながる事が期待される。本分野は理研BiTと協力しシーケンス実験やそのデータ解析を担当した。

### (4) 卵母細胞の老化を解析

理化学研究所（理研）生命機能科学研究センター染色体分配研究チームの北島智也チームリーダー、三品達平基礎科学特別研究員、田畑菜峰ジュニアリサーチアソシエイト（研究当時）、個体パターンニング研究チームの濱田博司チームリーダー、バイオインフォマティクス研究開発チーム（理研BiT）、本分野の研究グループは、生

殖寿命の初期、中期、後期にあたる雌マウス卵母細胞を1細胞レベルで全遺伝子発現（トランスクリプトーム[2]）解析を行い、卵母細胞の老化に伴う遺伝子発現変化を捉えた。その結果から食餌制限（カロリー制限）により卵母細胞の老化が抑制される可能性を明らかにした。

研究グループは、マウス卵子のもとである卵母細胞の加齢に伴う遺伝子発現変化を、1細胞RNAシーケンス法でプロファイリングした。この解析から、卵母細胞では、生殖寿命の後期において大規模な遺伝子発現変化が起きることがわかった。また、個体老化を抑制する食餌制限は、老化に伴う遺伝子の発現に変化を及ぼし、卵母細胞の老化に関わるタンパク質の減少を抑えた。これらの結果から、卵母細胞における老化に伴う変化は母の年齢や食餌制限に影響を受けることが明らかになった。

本研究成果は、卵母細胞の老化の仕組みを理解するための基礎情報を提供し、今後、卵子の染色体数異常を予見する技術などの開発に貢献すると期待できる。

人事異動
転入：笹川洋平（准教授）、山根万里子（助教）、岩山佳美（連携研究員） 転出：なし
業績目録
原著論文
1. Ayumi Yamada, Takae Hirasawa, Kayako Nishimura, Chikako Shimura, Naomi Kogo, Kei Fukuda, Madoka Kato, Masaki Yokomori, Tetsutaro Hayashi, Mana Umeda, Mika Yoshimura, Yoichiro Iwakura, Itoshi Nikaido, Shigeyoshi Itoharu, Yoichi Shinkai. Derepression of inflammation-related genes link to microglia activation and neural maturation defect in a mouse model of Kleeftstra syndrome. iScience. 2021年7月23日 24(7) 102741-102741 2. Tappei Mishina, Namine Tabata, Tetsutaro Hayashi, Mika Yoshimura, Mana Umeda, Masashi Mori, Yayoi Ikawa, Hiroshi Hamada, Itoshi Nikaido, Tomoya S Kitajima. Single-oocyte transcriptome analysis reveals aging-associated effects influenced by life stage and calorie restriction. Aging cell. 2021年7月10日 e13428 3. Satoru Ishihara, Yohei Sasagawa, Takeru Kameda, Hayato Yamashita, Mana Umeda, Naoe Kotomura, Masayuki Abe, Yohei Shimono, Itoshi Nikaido. Local states of chromatin compaction at

transcription start sites control transcription levels. Nucleic acids research. 2021年7月7日  
4. Ritsuko Morita, Noriko Sanzen, Hiroko Sasaki, Tetsutaro Hayashi, Mana Umeda, Mika Yoshimura, Takaki Yamamoto, Tatsuo Shibata, Takaya Abe, Hiroshi Kiyonari, Yasuhide Furuta, Itoshi Nikaido, Hironobu Fujiwara. Tracing the origin of hair follicle stem cells. Nature. 2021年6月9日

### 著書・総説

1. 芳村美佳, 林 哲太郎, 二階堂愛. 実験医学別冊 新世代フローサイトメトリー活用スタンダード 羊土社.

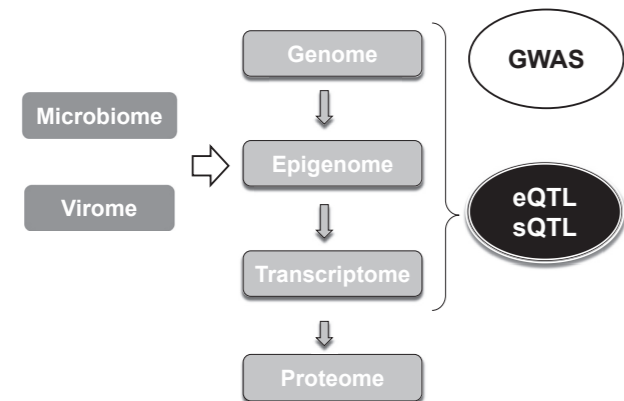


# ゲノム応用医学研究部門 ゲノム機能多様性分野

教授：高地雄太 准教授：三橋里美 助教：上田真保子

## 研究内容

免疫アレルギー疾患・生活習慣病・認知症・癌などの多因子疾患は、個人間の遺伝子配列の違い、すなわち遺伝子多型が積み重なることによって発症に至る。ゲノムワイド関連解析 (genome-wide association study: GWAS) によって、様々な疾患の感受性遺伝子多型が明らかにされたが、病態解明は道半ばである。本分野は、ヒトゲノム、エピゲノム、トランスクリプトームなどの様々なビッグデータを用いた解析に、分子生物学的手法を用いた解析を統合することによって、遺伝子多型によってもたらされるゲノム機能の多様性を理解し、多因子疾患の病態解明を行う。また、個人のゲノム情報に基づいた病態や薬剤応答性の予測法を開発し、いわゆるプレジジョン医療の確立を目指す。



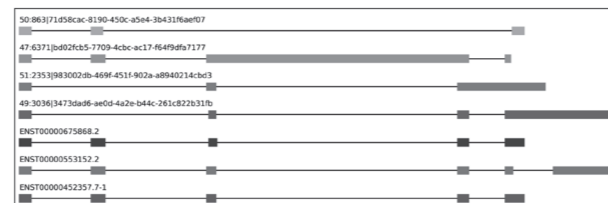
## 研究紹介

### 1. 遺伝子多型の機能解析

多因子疾患の感受性遺伝子領域の多くは、遺伝子多型が発現や選択的スプライシングに影響を与える領域、すなわち expression quantitative trait locus (eQTL) や splicing QTL (sQTL) であると考えられている。したがって、GWASの結果を解釈するためには、GWASとeQTL/sQTLデータの統合解析が必須であるが、我々は日本人の免疫細胞サブセットにおけるQTLカタログの樹立を行ってきた (*Nat Genet* 2017, *Cell* 2021)。

eQTLが、遺伝子機能を量的に変えるのに対して、sQTLはタンパク構造・機能を質的に変えることによって疾患に寄与している可能性がある。しかし、従来の

COVID-19重症化遺伝子であるOAS1のスプライシングアイソフォーム



ショートリード・シーケンサーによる発現解析では、mRNAの全長を明らかにすることができない。本分野ではロングリード・シーケンサーを用いたスプライス・アイソフォーム解析を行うことによって、疾患に関わるsQTLの全貌を明らかにする。

### 2. 多因子疾患 GWAS 候補領域の遺伝子機能解析

GWASは、疾患毎に100を超える感受性遺伝子領域を明らかにしてきた。全遺伝因子に占める個々の遺伝因子の寄与は小さいが、病態の一側面を形成しているのも事実である。したがって、個々の感受性遺伝子の機能を明らかにすることが病態解明の第一歩となる。たとえば、我々は筋無症候性皮膚筋炎 (CADM) のGWASにおいて、*WDFY4* 遺伝子のsQTL効果を持つ多型が疾患と関連することを明らかにしたが、同時にリスクアレルによって増加するC末端欠如型の*WDFY4* タンパクが、RNAウイルス認識受容体であるMDA5のシグナルを増強することを明らかにした (*Ann Rheum Dis* 2018)。このようなGWAS候補遺伝子の詳細な機能解析によって疾患の治療につながる知見を得られる可能性がある。

いっぽうで、ロングリード・シーケンサーは、ヒトゲノム配列の大きな部分を占める、レトロトランスポゾン由来の散在性反復配列の解析を可能とする。これらの配列が転写するRNAの一部は、自然免疫などで機能しており、様々な疾患の原因となっている可能性がある。実際に、我々はアルツハイマー病の候補領域に、ヒト内在性レトロウイルス由来の遺伝子である *Ervpb1* が存在し、LPS刺激によって発現増強されることを明らかにしていた (*Int J Mol Sci*. 2021)。本分野では、ロングリード・シーケンサーを用いた解析によって、これらの未開拓のゲノム配列の機能解析も行う。

### 3. システムズ・アプローチによる疾患の病態理解

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

ツールとして Polygenic Risk Score (PRS) が有望視されているが、我々は東京女子医科大学 IORRA コホートとの共同研究により、GWASのサマリーデータから構築されたPRSが、関節リウマチ患者の骨破壊の程度を予測できることを明らかにした (*Arthritis Rheumatol*. 2022)。このPRSに様々なビッグデータを組み込み、改善することによって、さまざまな多因子疾患の病態予測につなげる。

## 人事異動

転入：稲毛純 (特別研究員PD)、大川美和子 (事務補佐員)

## 研究業績

### 原著論文

1. Honda S, Ikari K, Yano K, Terao C, Tanaka E, Harigai M, Kochi Y. Polygenic risk scores are associated with radiographic progression in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol*. 2022. AOP.
2. Yin X, Kim K, Suetsugu H, Bang SY, Wen L, et al Meta-analysis of 208370 East Asians identifies 113 susceptibility loci for systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 2021;80(5):632-40.
3. Tanaka N, Koido M, Suzuki A, Otomo N,

- Suetsugu H, Kochi Y, et al. Eight novel susceptibility loci and putative causal variants in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2021;148(5):1293-306.
4. Suetsugu H, Kim K, Yamamoto T, Bang SY, Sakamoto Y, et al. Novel susceptibility loci for steroid-associated osteonecrosis of the femoral head in systemic lupus erythematosus. *Hum Mol Genet*. 2021.
5. Ota M, Nagafuchi Y, Hatano H, Ishigaki K, Terao C, et al. Dynamic landscape of immune cell-specific gene regulation in immune-mediated diseases. *Cell*. 2021;184(11):3006-21 e17.
6. Mitsuhashi S, Nakagawa S, Sasaki-Honda M, Sakurai H, Frith MC, Mitsuhashi H. Nanopore direct RNA sequencing detects DUX4-activated repeats and isoforms in human muscle cells. *Hum Mol Genet*. 2021;30(7):552-63.
7. Matsuzawa A, Lee J, Nakagawa S, Itoh J, Takahashi Ueda M, Mitsuhashi S, Kochi Y, Kaneko-Ishino T, Ishino F. HERV-Derived

- Ervpb1* Is Conserved in Simiiformes, Exhibiting Expression in Hematopoietic Cell Lineages Including Macrophages. *Int J Mol Sci*. 2021;22(9).
8. Bing N, Zhou H, Chen X, Hirose T, Kochi Y, et al. Contribution of a European-Prevalent Variant near CD83 and an East Asian-Prevalent Variant near IL17RB to Herpes Zoster Risk in Tofacitinib Treatment: Results of Genome-Wide Association Study Meta-Analyses. *Arthritis Rheumatol*. 2021;73(7):1155-66.

### 著書・総説

1. 高地 雄太. 自己免疫疾患のゲノム・オミックス解析の最前線 遺伝子医学 (1343-0971) 11 巻 2号 p23-27
2. 三橋 里美. ヒト疾患関連の長鎖リポート解析. 実験医学別冊 ロングリード WET&DRY 解析ガイド 2021

# ゲノム応用医学研究部門 医科学数理分野

教授：角田達彦 講師：宮 冬樹

## 研究内容

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

## 研究紹介

### 1. 深層学習による独創的な解析の方法論

深層学習が、画像のみならず、ゲノムやオミクスのデータを解析する能力を極める研究をします。応用例は、病理画像や生体イメージングなどの解析、オミクスデータの解析、それらの統合の解析です。一例として、オミクスデータをうまく変換して画像のように見せ深層学習にかける独自の離れ技を練り出し、がんのオミクスデータでその種類を見分けられるようになりました。さらに深層学習の内部を解析して深層学習が何を見て判別しているのかを見出す技も編み出しました (図) [1]。それにより、がんの個性を示す新たなシグナル伝達系を発見しました。つまり、深層学習で新たな科学的発見ができることを示せました。

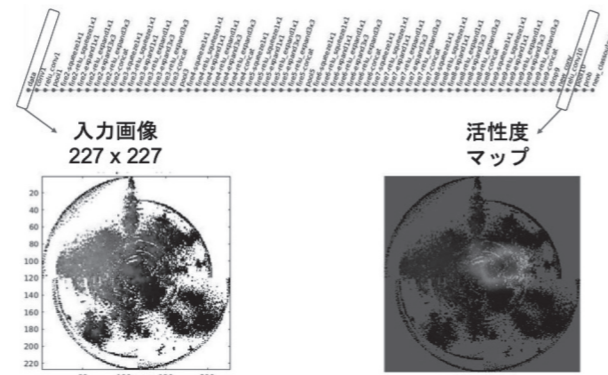


図 がんを判別するとき、深層学習が何をみているかを解析する [1]

### 2. がんとその微小環境との関係の解明

がん細胞集団と、免疫などの微小環境との関係をひもつくことで、個人ごとに治療の奏効や副作用、耐性獲得を予測することを目指しています。今回、私たちは大腸がんで免疫学的な新たなクラスタを発見しました [2]。さらに詳細に解析すると、がん細胞の集団の特性や免疫などの微小環境との関係が、クラスタ間で大きく異なり、がん細胞のネオ抗原の提示能やクローン性が予後に大きな影響を与えることがわかりました。同様に胃がんと腎がんでもがん微小環境が治療奏効や予後に与える影響やバイオマーカーを解明しました [3-6]。

### 3. メンデル遺伝病エクソーム解析

次世代シーケンサーデータ解析の一つは、WES解析です。この方法論により、家系データを用いたメンデル病の研究が大きく進展しました。私たちは、高いカバー率と正確さを同時に達成した独自の実験手法と解析パイプラインによって、神経変性疾患などの難治性疾患の多くの疾患原因遺伝子を同定しました [7-10]。

### 4. その他の研究プロジェクトの成果 [11-18]

## 研究業績

- Sharma A, Lysenko A, Boroevich KA, Vans E, Tsunoda T. DeepFeature: feature selection in nonimage data using convolutional neural network. *Briefings in Bioinformatics*, 22, bbab297 (2021).
- Sugawara T, Miya F, Ishikawa T, Lysenko A, Nishino J, Kamatani T, Takemoto A, Boroevich KA, Kakimi K, Kinugasa Y, Tanabe M, Tsunoda T. Immune subtypes and neoantigen-related immune evasion in advanced colorectal cancer. *iScience*, 25, 1003740 (2021).
- Murakami T, Tanaka N, Takamatsu K, Hakozaiki K, Fukumoto K, Masuda T, Mikami S, Shinojima T, Kakimi K, Tsunoda T, Sawada K, Imamura T, Mizuno R, Oya M. Multiplexed single-cell pathology reveals the association of CD8 T-cell heterogeneity with prognostic outcomes in renal cell carcinoma. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 70, 3001-3013 (2021).
- Hakozaiki K, Tanaka N, Takamatsu K, Takahashi R, Yasumizu Y, Mikami S, Shinojima T, Kakimi K, Kamatani T, Miya F, Tsunoda T, Aimon E, Nishihara H, Mizuno R, Oya M. Landscape of prognostic signatures and immunogenomics of the AXL/GAS6 axis in renal cell carcinoma. *British Journal of Cancer*, 125, 1533-1543 (2021).
- Takamatsu K, Tanaka N, Hakozaiki K, Takahashi R, Teranishi Y, Murakami T, Kufukihara R, Niwa N, Mikami S, Shinojima T, Sasaki T, Sato Y, Kume H, Ogawa S, Kakimi K, Kamatani T, Miya F, Tsunoda T, Aimon E, Nishihara H, Sawada K, Imamura T, Mizuno R, Oya M. Profiling the inhibitory receptors LAG-3, TIM-3, and TIGIT in renal cell carcinoma reveals malignancy. *Nature Communications*, 12, 5547 (2021).
- Takaoka A, Ishikawa T, Okazaki S, Watanabe S, Miya F, Tsunoda T, Kikuchi A, Yamauchi S, Matsuyama T, Tokunaga M, Uetake H, Kinugasa Y. ELF3 Overexpression as Prognostic Biomarker for Recurrence of Stage II Colorectal Cancer. *In Vivo*, 35, 191-201 (2021).
- Isobe K, Ieda D, Miya F, Miyachi R, Otsuji S, Asai M, Tsunoda T, Kosaki K, Hattori A, Saitoh S, Mizuno M. Hemorrhagic shock and encephalopathy syndrome in a patient with a de novo heterozygous variant in KIF1A. *Brain Development*, 2021 Dec 13; S0387-7604(21)00212-6. Online ahead of print.
- Okamoto N, Miya F, Tsunoda T, Kanemura Y, Saitoh S, Kato M, Yanagi K, Kaname T, Kosaki K. Four pedigrees with aminoacyl-tRNA synthetase abnormalities. *Neurological Sciences*, 2021 Sep 28. Online ahead of print.
- Miyatake S, Kato M, Kumamoto T, Hirose T, Koshimizu E, Matsui T, Takeuchi H, Doi H, Hamada K, Nakashima M, Sasaki K, Yamashita A, Takata A, Hamanaka K, Satoh M, Miyama T, Sonoda Y, Sasazuki M, Torisu H, Hara T, Sakai Y, Noguchi Y, Miura M, Nishimura Y, Nakamura K, Asai H, Hinokuma N, Miya F, Tsunoda T, Togawa M, Ikeda Y, Kimura N, Amemiya K, Horino A, Fukuoka M, Ikeda H, Merhav G, Ekhilevitch N, Miura M, Mizuguchi T, Miyake N, Suzuki A, Ohga S, Saito H, Takahashi H, Tanaka F, Ogata K, Ohtaka-Maruyama C, Matsumoto N. De novo ATP1A3 variants cause polymicrogyria. *Science Advances*, 7, eabd2368 (2021).
- Okamoto N, Miya F, Kitai Y, Tsunoda T, Kato M, Saitoh S, Kanemura Y, Kosaki K. Homozygous ADCY5 mutation causes early-onset movement disorder with severe intellectual disability. *Neurological Sciences*, 42, 2975-2978 (2021).
- Hosoe J, Suzuki K, Miya F, Kato T, Tsunoda T, Okada Y, Horikoshi M, Shojima N, Yamauchi T, Kadowaki T. Structural basis of ethnic-specific variants of PAX4 associated with type 2 diabetes. *Human Genome Variation*, 8, 25 (2021).
- Kumar S, Sharma R, Tsunoda T, Kumarevel T, Sharma A. Forecasting the spread of COVID-19 using LSTM network. *BMC Bioinformatics*, 22(Suppl 6), 316 (2021).
- Hosoe J, Kawashima Sonoyama Y, Miya F, Kadowaki H, Suzuki K, Kato T, Matsuzawa F,

- Okada Y, Tsunoda T, Hanaki K, Kanzaki S, Shojima N, Yamauchi T, Kadowaki T. Genotype-Structure-Phenotype Correlations in Disease-Associated IGF1R Variants and Similarities to Those in INSR Variants. *Diabetes*, 70, 1874-1884 (2021).
- Kumar S, Tsunoda T#, Sharma A# (#: co-last). SPECTRA: a tool for enhanced brain wave signal recognition. *BMC Bioinformatics*, 22(Suppl 6), 195 (2021).
- DU R, Xie S, Fang Y, Igarashi-Yokoi T, Moriyama M, Ogata S, Tsunoda T, Kamatani T, Yamamoto S, Cheng CY, Saw SM, Ting D, Wong TY, Ohno-Matsui K. Deep Learning Approach for Automated Detection of Myopic Maculopathy and Pathologic Myopia in Fundus Images. *Ophthalmology Retina*, 5, 1235-1244 (2021).
- Nishiguchi KM, Miya F, Mori Y, Fujita K, Akiyama M, Kamatani T, Koyanagi Y, Sato K, Takigawa T, Ueno S, Tsugita M, Kunikata H, Cisarova K, Nishino J, Murakami A, Abe T, Momozawa Y, Terasaki H, Wada Y, Sonoda KH, Rivolta C, Tsunoda T, Tsujikawa M, Ikeda Y, Nakazawa T. A hypomorphic variant in EYS detected by genome-wide association study contributes toward retinitis pigmentosa. *Communications Biology*, 4, 140 (2021).
- Johnson TA, Mashimo Y, Wu JY, Yoon D, Hata A, Kubo M, Takahashi A, Tsunoda T, Ozaki K, Tanaka T, Ito K, Suzuki H, Hamada H, Kobayashi T, Hara T, Chen CH, Lee YC, Liu YM, Chang LC, Chang CP, Hong YM, Jang GY, Yun SW, Yu JJ, Lee KY, Kim JJ, Park T; Korean Kawasaki Disease Genetics Consortium, Taiwan Kawasaki Disease Genetics Consortium, Taiwan Pediatric ID Alliance, Japan Kawasaki Disease Genome Consortium, Lee JK, Chen YT, Onouchi Y. Association of an IGHV3-66 gene variant with Kawasaki disease. *Journal of Human Genetics*, 66, 475-489 (2021).
- Sharma R, Kumar S, Tsunoda T, Kumarevel T, Sharma A. Single-stranded and double-stranded DNA-binding protein prediction using HMM profiles. *Analytical Biochemistry*, 612, 113954 (2021).



ジョイントリサーチ部門  
連携研究部門  
難病基盤・応用研究プロジェクト室  
大学院教育研究支援実験室

# ジョイントリサーチ部門 未病制御学研究部門

准教授：安達貴弘 教授：仁科博史（兼任）

## 研究内容

子供のアトピーや発達障害、成人してからの生活習慣病も増え、さらには長寿社会となり認知症も社会的問題となっている。これらの原因として遺伝的な要因以外にも環境要因による微細な異常に起因した慢性炎症が、素因となることがわかってきており、相互の疾患に相関があることも指摘されている。病気をより早期に検出できれば、我々により負担が少なく、様々な疾患を未然に防ぐことができ、健康寿命を延ばすことができる。最近では、病気の兆候を示す前（未病）を標的にした“未病の予防・治療”が謳われている。そのためには生体情報を高感度でモニタリングし、早期に微細な異常を検出することが必要である。そこで我々は、より早期に簡便に生体内の微細な異常（超早期未病）を検出し、それを標的として、我々に負担が少ない予防・治療方法の開発を目指した研究に取り組んでいる。

## 研究紹介

### 免疫応答制御機能の解明

免疫細胞の動態のみならず、活性化までを生体内でモニターできる細胞系譜特異的なカルシウムバイオセンサー（YC3.60）マウスを世界に先駆けて樹立し、6D（x、y、z、時間、Ca<sup>2+</sup>シグナリング、細胞標識）生体イメージングを確立してきた。このシステムを利用し、生体内での免疫細胞の活性化、分化の様子をリアルタイムで可視化してみることができる。このシステムを利用して、これまでない次元の詳細な解析により、免疫応答・寛容の解明を目指した研究を行っている。また、このマウスを利用しての細胞内Ca<sup>2+</sup>シグナリングに着目した生体イメージングにより、病態を発症しなくても素因があること（超早期未病）が検出できることを見出している。この系をさらに発展させ、アレルギー、ウイルス感染、自己免疫疾患など免疫に関連する各種疾患の発症、および病態の進行過程で起こっている事象の詳細な解明を目的とした研究を行っている。

## ハイライト

我々の体の中で最も多く存在する免疫グロブリン（抗体）は免疫グロブリンA（IgA）であるが、腸管腔内にIgAが分泌され、病原体の排除に重要なことが知られていた。しかし、ヒトの免疫不全で選択的IgA欠損症が最も頻度が高いものの、重篤な症状は見られず、IgAの機能については不明な点も多かった。我々はIgA欠損マウスではの欠損マウスを作製し、このマウスでは小腸の腸内細菌叢がゆがみ、特に回腸で過剰な免疫応答が起こり、回腸炎を発症することを突き止めた。IgAが小腸の腸内細菌叢の恒常性に寄与していること突き止めた。（Gut 2022）  
（プレスリリース：[https://www.tmd.ac.jp/topics\\_detail/id=20210527-1](https://www.tmd.ac.jp/topics_detail/id=20210527-1)、公開動画：<https://www.youtube.com/watch?v=Z8OYt-9BUSg>）

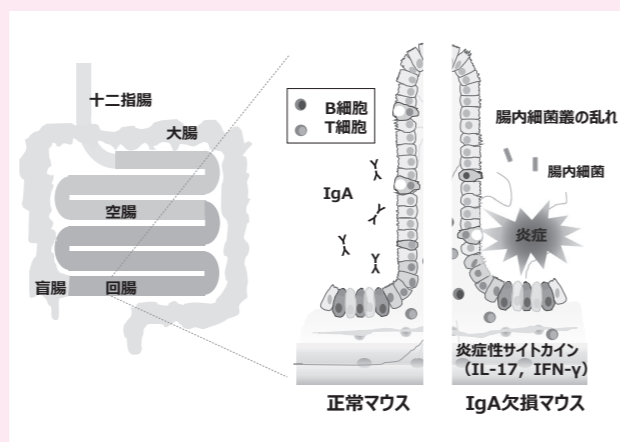


図 IgA欠損による回腸での炎症誘発  
小腸は十二指腸、空腸、および回腸で構成される（左）。IgAの欠損によってとくに回腸における腸内細菌叢の歪みが生じ、それに応じてT細胞やB細胞の過剰な活性化が起こり、炎症をさらに惹起するサイトカインが分泌され、回腸組織が損傷を受ける（右）。

## 腸管センシングネットワークおよび臓器連関の解明

腸管は進化の過程を遡れば、我々、生命体のプロトタイプであり、生命現象の根源をなす重要な器官である。腸管には免疫系、末梢神経系、内分泌系が集中しており、脳腸相関といわれるように中枢神経系とも直接の情報のやり取りをしている。口から摂取した食物、医薬品などが腸管でどのように認識されているのか、これまではブラックボックスだったが、我々が世界で初めて確立した生体イメージングシステムにより、その応答を神経、免疫、あるいは内分泌細胞特異的にリアルタイムで可視化することができる。これら独自に確立してきた技術を基盤として、それぞれのクロストーク、さらには腸-脳、腸-皮膚などの臓器連関を明らかにすることにより、我々が口から摂取したものが生体に及ぼす影響の機序を明らかにすることを目的とした研究を行っている。

## 超早期未病の予防・治療法及びロバストネス増強法の確立

上記2つの研究を組み合わせ、超早期未病を標的とした食品、医薬品の開発、さらにはストレスに強く、病気になりにくい心身の健康を増強する食品、医薬品の開発

を目指している。効果が期待される食品、天然物、並びにそれら由来の成分及び化合物について、我々が確立した評価系を用いて、免疫系、神経系、内分泌を含む腸管上皮への影響を明らかにし、免疫系、腸管・皮膚バリア機能にもともと異常あるいは疾患の素因を持つモデルマウス系や食餌による肥満マウスモデル系を用いて、その予防・治療方法、ロバストネス獲得法を開発している。

## 超早期未病検出器の開発

現在、未病として定義されている段階は、既に病気が起こるところ、あるいはその直後からの自覚症状ないレベルの早期発見をターゲットとしているが、いずれにしても質的な変化（遺伝子発現レベルの変化）が起こった後で、既に発症してしまっている状態である。我々はこれまでの未病という定義よりさらに前の発症にはまだ至っていない微細な変化（超早期未病）の検出方法の確立を目指しており、これらの標的であれば、食品などでも効果的な予防・治療することができると考えられる。上記の基礎研究成果をもとに臨床応用を見据え、ヒトでの生活習慣病、発達障害などの疾患の素因となる微細な異常を簡便に測定できる機器の開発を目指している。

## 人事異動

短期交流学生：東京農業大学・応用生物科学研究科食品安全健康学専攻・生理機能学研究室 修士2年3名、修士1年1名、4年生4名

## 業績目録

### 原著論文

Hirata Y., Nomura K, Daisuke Kato D, Tachibana Y, Niikura T, Uchiyama K, Hosooka T, Fukui Ti, Oe K, Kuroda R, Hara Y, Adach T, Shibasaki K, Wake H, Ogawa W. A Piezo1/KLF15/IL-6 axis mediates immobilization-induced muscle atrophy. J Clin Invest. In press.

Gao P, Adachi T, Okai S, Morita N, Kitamura D, Shinkura R. Integrin CD11b provides a new

marker of pre-germinal center IgA + B cells in murine Peyer's patches. Int Immunol. 2021 Dec 31;dxab113. doi: 10.1093/intimm/dxab113. Online ahead of print.PMID: 34971392

Kotake, K., Kumazawa, T, Nakamura, K, Shimizu, Y, Ayabe, T., Adachi, T. Ingestion of miso regulates immunological robustness in mice. PLoS One, 17(1): e0261680. 2022.

Nagaishi, T, Watabe, T., Kotake, K., Kumazawa, T., Aida, T., Tanaka, K., Ono, R., Ishino, F., Usami, T., Miura, T., Hirakata, S., Kawasaki, H., Tsugawa, N., Yamada, D., Hirayama, K., Yoshikawa, S., Karasuyama, H., Okamoto, R., Watanabe, M., \*Blumberg, R.S. and \*Adachi, T., Immunoglobulin A-specific deficiency induces spontaneous inflammation specifically in the ileum. Gut. 1: 487-496. 2022.

Tsugawa, N., Yamada, D., Watabe, T., Onizawa, M., Wang, S., Nemoto, Y., Oshima, S., Tsubata, T., Adachi, T., Kawano, Y., Watanabe, M., Blumberg, R.S., Okamoto, R., and \*Nagaishi, T., CEACAM1 specifically suppresses B cell receptor signaling-mediated activation. Biochem Biophys Res Commun. 535: 99-105. 2021.

Yokoi, Y., Adachi, T., Sugimoto, R., Kikuchi, M., Ayabe, T., and \*Nakamura, K., Simultaneous real-time analysis of Paneth cell and intestinal stem cell response to interferon-gamma by a novel stem cell niche tracking method. Biochem Biophys Res Commun. 545: 14-9. 2021.

Endo, R., Uchiyama, K., Lim, S.Y., Itakura, M., Adachi, T., and \*Uchida, K., Recognition of acrolein-specific epitopes by B cell receptors triggers an innate immune response. J Biol Chem: 100648. 2021.

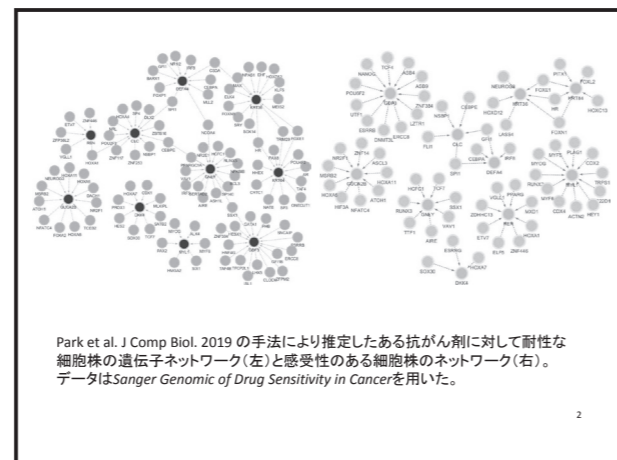
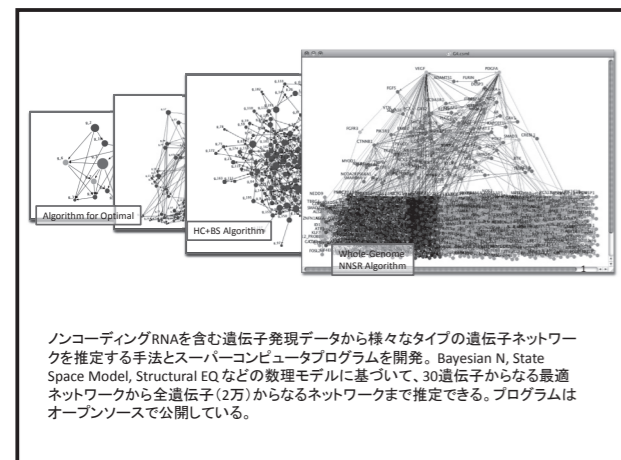


# 連携研究部門 病態発現機構研究部門

客員教授：井元清哉

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

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



## 業績目録

1. Nakano K, Koh Y, Yamamichi G, Yumiba S, Tomiyama E, Matsushita M, Hayashi Y, Wang C, Ishizuya Y, Yamamoto Y, Kato T, Hatano K, Kawashima A, Ujiike T, Fujita K, Kiyotani K, Katayama K, Yamaguchi R, Imoto S, Imamura R, Nonomura N, Uemura M. Perioperative Circulating tumor DNA enables identification of patients with poor prognosis in upper tract urothelial carcinoma. *Cancer Science*, in press.
2. Maeda F, Kato A, Takeshima K, Shibazakia M, Sato R, Shibata T, Miyake K, Kozuka-Hata H, Oyama M, Shimizu E, Imoto S, Miyano S, Adachi S, Natsume T, Takeuchi K, Maruzuru Y, Koyanagi N, Arii J, Kawaguchi Y. Role of the orphan transporter SLC35E1 in the nuclear egress of herpes simplex virus 1. *Journal of Virology*, in press.
3. Tai A-S, Lin R-T, Lin Y-C, Wang C-H, Lin S-H, Imoto S. Genome-wide causal mediation analysis identifies genetic loci associated with uterine fibroids mediated by age at menarche. *Human Reproduction*, in press.
4. Takeda R, Yokoyama K, Fukuyama T, Kawamata T, Ito M, Yusa N, Kasajima R,

Shimizu E, Ohno N, Uchimaru K, Yamaguchi R, Imoto S, Miyano S, Tojo A. Repeated lineage switches in an elderly case of refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia with MLL gene amplification: A case report and literature review. *Frontiers in Oncology*, section Hematologic Malignancies, in press.

5. Koh Y, Nakano K, Katayama K, Yamamichi G, Yumiba S, Tomiyama E, Matsushita M, Hayashi Y, Yamamoto Y, Kato T, Hatano K, Kawashima A, Ujiike T, Imamura R, Yamaguchi R, Imoto S, Shiotsu Y, Nonomura N, Uemura M. Early dynamics of circulating tumor DNA predict clinical response to immune checkpoint inhibitors in metastatic renal cell carcinoma. *International Journal of Urology*. First published: 19 February 2022 <https://doi.org/10.1111/iju.14816>
6. Ozato N, Yamaguchi T, Mori K, Katashima M, Kumagai M, Murashita K, Katsuragi Y, Tamada Y, Kakuta M, Imoto S, Ihara K, Nakaji S. Two Blautia species associated with visceral fat accumulation: a one-year longitudinal study. *Biology* 2022, 11(2), 318. <https://doi.org/10.3390/biology11020318>
7. Kitajima M, Murakami M, Iwamoto R, Katayama H, Imoto S. COVID-19 wastewater

surveillance implemented in the Tokyo 2020 Olympic and Paralympic Village. *Journal of Travel Medicine*. 2022 Feb 3;taac004. doi: 10.1093/jtm/taac004. Online ahead of print.

8. Park H, Yamaguchi R, Imoto S, Miyano S. Uncovering molecular mechanisms of drug resistance via network-constrained common structure identification. *Journal of Computational Biology*. 2022 Jan 21. doi: 10.1089/cmb.2021.0314. Online ahead of print.
9. Kamo M, Murakami M, Imoto S. Effects of test timing and isolation length to reduce the risk of COVID-19 infection associated with airplane travel, as determined by infectious disease dynamics modeling. *Microbial Risk Analysis*. Available online 11 December 2021, <https://doi.org/10.1016/j.mran.2021.100199>
10. Kosaka S, Nadatani Y, Higashimori A, Otani K, Fujimoto K, Ominami M, Fukunaga S, Hosomi S, Kamata N, Tanaka F, Nagami Y, Taira K, Imoto S, Uematsu S, Watanabe T, Fujiwara Y. The ovariectomy-induced dysbiosis may have a minor effect on bone in mice. *Microorganisms*. 2021, 9(12), 2563; <https://doi.org/10.3390/microorganisms9122563>
11. Liu Y, Zhang Y-Z, Imoto S. Discovering

microbe functionality in human disease with a gene-ontology-aware model. *Proc. Biological Sciences*. 2021, 288(1880), 20202537. doi: 10.1098/rspb.2020.2537.

12. Zhang Y-Z, Yamaguchi K, Hatakeyama S, Furukawa Y, Miyano S, Yamaguchi R, Imoto S. On the application of BERT models for nanopore methylation detection. *Proc. IEEE International Conference on Bioinformatics and Biomedicine 2021*. 320-327.
13. Zhang Y-Z, Imoto S, Miyano S, Yamaguchi R. Enhancing breakpoint resolution with deep segmentation model: a general refinement method for read-depth based structural variant callers. *PLoS Computational Biology*. 2021 Oct 11;17(10):e1009186. doi: 10.1371/journal.pcbi.1009186
14. Murakami M, Kitajima M, Imoto S. Applying quantitative microbial risk assessment and wastewater-based epidemiology to mass gathering risk control and communication. *Health Related Water Microbiology Specialist Group Newsletter*. 23, 5(2021)
15. Ogawa M, Yokoyama K, Imoto S, Tojo A. Role of circulating tumor DNA in hematological malignancy. *Cancers*, 2021, 13(9), 2078; <https://doi.org/10.3390/cancers13092078>.
16. Kinoshita K, Ozato N, Yamaguchi T, Sudo M, Yamashiro Y, Mori K, Kumagai M, Sawada K, Katsuragi Y, Imoto S, Ihara K, Nakaji S. The effect of age on the association between daily gait speed and abdominal obesity in Japanese adults. *Scientific Reports*. 2021 Oct 7;11(1):19975. doi: 10.1038/s41598-021-98679-1.
17. Tanaka H, Lee H, Morita A, Chubachi S, Kabata H, Kamata H, Ishii M, Hasegawa N, Norihiro N, Ueda T, Ueda S, Ishiguro T, Arimura K, Saito F, Yoshiyama T, Nakano Y, Mutoh Y, Suzuki Y, Murakami K, Okada Y, Koike R, Kitagawa Y, Tokunaga K, Kimura A, Imoto S, Miyano S, Ogawa S, Kanai T, Fukunaga K. Clinical characteristics of patients with coronavirus disease (COVID-19): preliminary baseline report of Japan COVID-19 Task Force, a nation-wide consortium to investigate host genetics of COVID-19. *International Journal of Infectious Diseases*. 2021 Sep 30;S1201-9712(21)00775-X. doi: 10.1016/j.ijid.2021.09.070. Online ahead of print.
18. Yata E, Kasajima R, Niida A, Imoto S, Miyano S, Miyagi Y, Sasada T, Wada S. Possible Role of cytochrome P450 1B1 in the mechanism of gemcitabine resistance in pancreatic cancer. *Biomedicine* 2021, 9(10), 1396; <https://doi.org/10.3390/biomedicine9101396>
19. Hasegawa T, Yamaguchi R, Kakuta M, Ando M, Songee J, Tokuda I, Murashita K, Imoto S. Application of state-space model with skew-t measurement noise to blood test value prediction. *Applied Mathematical Modeling*. 100: 365-378(2021). <https://doi.org/10.1016/j.apm.2021.08.007>
20. Ishizaka A, Koga M, Mizutani T, Parbie P, Prawisuda D, Yusa N, Sedohara A, Kikuchi T, Ikeuchi K, Adachi E, Koibuchi T, Furukawa Y, Tojo A, Imoto S, Suzuki Y, Tsutsumi T, Kiyono H, Matano T, Yotsuyanagi H. Unique gut

microbiome in HIV patients on ART suggests association with chronic inflammation. *Microbiology Spectrum*. 2021 Aug 11:e0070821. doi: 10.1128/Spectrum.00708-21. Online ahead of print.

21. Mizuno S, Yamaguchi R, Hasegawa T, Hayashi S, Fujita M, Zhang F, Koh Y, Lee S-Y, Yoon S-S, Shimizu E, Komura M, Fujimoto A, Nagai M, Kato M, Liang H, Miyano S, Zhang Z, Nakagawa H, Imoto S. Immunogenomic pan-cancer landscape reveals immune escape mechanisms and immunoediting histories. *Scientific Reports*. 11, Article number: 15713 (2021). doi: 10.1038/s41598-021-95287-x.
22. Yasui H, Kobayashi M, Sato K, Kondoh K, Ishida T, Kaito Y, Tamura H, Honda H, Tsukune Y, Sasaki M, Komatsu N, Tanaka N, Tanaka J, Kizaki M, Kawamata T, Makiyama J, Yokoyama K, Imoto S, Tojo A, Imai Y. Circulating cell-free DNA in the peripheral blood plasma of patients is an informative biomarker for multiple myeloma relapse. *International Journal of Clinical Oncology*. 2021 Nov;26(11):2142-2150. <https://doi.org/10.1007/s10147-021-01991-z>
23. Saiki R, Momozawa Y, Nannya Y, Nakagawa M, Ochi Y, Yoshizato T, Terao C, Kuroda Y, Shiraiishi Y, Chiba K, Tanaka H, Niida A, Imoto S, Matsuda K, Morisaki T, Murakami Y, Kamatani Y, Matsuda S, Kubo M, Miyano S, Makishima H, Ogawa S. Combined landscape of single-nucleotide variants and copy number alterations in clonal hematopoiesis. *Nature Medicine* (2021). Jul 8. doi: 10.1038/s41591-021-01411-9. Online ahead of print.
24. COVID-19 Host Genetics Initiative. Mapping the human genetic architecture of COVID-19. *Nature*. 2021 Dec;600(7889):472-477. doi: 10.1038/s41586-021-03767-x. Epub 2021 Jul 8.
25. Yuki Y, Nojima M, Hosono O, Tanaka H, Kimura Y, Satoh T, Imoto S, Uematsu S, Kurokawa S, Kubo M, Miyano S, Makishima H, Ouchida R, Uchida Y, Marui T, Yoshikawa N, Nagamura F, Fujihashi K, Kiyono H. Assessment of Oral MucoRice-CTB vaccine for the safety and microbiota-dependent immunogenicity in humans: A Randomized Trial. *The Lancet Microbe*, online first, doi:10.1016/S2666-5247(20)30196-8.
26. Murakami M, Yasutaka T, Onishi M, Naito W, Shinohara N, Okuda T, Fujii K, Katayama K, Imoto S. Living with COVID-19: Mass gatherings and minimizing risk. *QJM: An International Journal of Medicine*. 114(7), July 2021, 437-439. <https://doi.org/10.1093/qjmed/hcab163>
27. Konishi H, Yamaguchi R, Yamaguchi K, Furukawa Y, Imoto S. Halyon: an accurate basecaller exploiting an encoder-decoder model with monotonic attention. *Bioinformatics*. 2021 Jun 9;37(9):1211-1217. doi: 10.1093/bioinformatics/btaa953.
28. Wang Y, Coudray N, Zhao Y, Li F, Hu C, Zhang YZ, Imoto S, Tsirigos A, Webb GI, Daly RJ, Song J. HEAL: an automated deep learning framework for cancer histopathology image analysis. *Bioinformatics*. 2021 May 19;btab380. doi: 10.1093/bioinformatics/btab380. Online ahead of print.

29. Yamaguchi K, Kasajima R, Takane K, Hatakeyama S, Shimizu E, Yamaguchi R, Katayama K, Arai M, Ishioaka C, Iwama T, Kaneko S, Matsubara N, Moriya Y, Nomizu T, Sugano K, Tamura K, Tomita N, Yoshida T, Sugihara K, Nakamura Y, Miyano S, Imoto S, Furukawa Y, Ikenoue T. Application of targeted nanopore sequencing for the screening and determination of structural variants in patients with Lynch syndrome. *J Hum Genet*. 2021 May 6. doi: 10.1038/s10038-021-00927-9. Online ahead of print.
30. Parbie PK, Mizutani T, Ishizaka A, Kawana-Tachikawa A, Runtuwene LR, Seki S, Abana C Z-Y, Kushitor D, Bonney EY, Ofori SB, Uematsu S, Imoto S, Kimura Y, Kiyono H, Ishikawa K, Kwabena W, Matano T. Dysbiotic fecal microbiome in HIV-1 infected individuals in Ghana. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2021 May 18;11:646467. doi: 10.3389/fcimb.2021.646467.
31. Murakami M, Miura F, Kitajima M, Fujii K, Yasutaka T, Iwasaki Y, Ono K, Shimazu Y, Sorano S, Okuda T, Ozaki A, Katayama K, Nishikawa Y, Kobashi Y, Sawano T, Abe T, Saito MM, Tsubokura M, Naito W, Imoto S. COVID-19 risk assessment at the opening ceremony of the Tokyo 2020 Olympic Games. *Microbial Risk Analysis*. 2021 Dec;19:100162. doi: 10.1016/j.mran.2021.100162. Epub 2021 Mar 21.
32. Suzuki M, Kasajima R, Yokose T, Ito H, Shimizu E, Hatakeyama S, Yokoyama K, Yamaguchi R, Furukawa Y, Miyano S, Imoto S, Yoshioka E, Washimi K, Okubo Y, Kawachi K, Sato S, Miyagi Y. Comprehensive molecular analysis of genomic profiles and PD-L1 expression in lung adenocarcinoma with a high-grade fetal adenocarcinoma component. *Translational Lung Cancer Research*. 2021 Mar;10(3):1292-1304. <http://dx.doi.org/10.21037/tlcr-20-1158>
33. Park H, Imoto S, Miyano S. Automatic sparse principal component analysis. *The Canadian Journal of Statistics*. 49(3), 2021, 678-697.
34. Fujimoto K, Kimura Y, Allegritti JR, Yamamoto M, Zhang Y-Z, Katayama K, Tremmel G, Kawaguchi Y, Shimohigoshi M, Hayashi T, Uematsu M, Yamaguchi K, Furukawa Y, Akiyama Y, Yamaguchi R, Crowe SE, Ernst PB, Miyano S, Kiyono H, Imoto S, Uematsu S. Functional restoration of bacteriomes and viromes by fecal microbiota transplantation. *Gastroenterology*. 2021 May;160(6):2089-2102.e12. doi: 10.1053/j.gastro.2021.02.013.
35. Johmura Y, Yamanaka T, Omori S, Wang T-W, Sugiura Y, Matsumoto M, Suzuki N, Kumamoto S, Yamaguchi K, Hatakeyama S, Takami T, Yamaguchi R, Shimizu E, Ikeda K, Okahashi N, Mikawa R, Suematsu M, Arita M, Sugimoto M, Nakayama K, Furukawa Y, Imoto S, and Nakanish M. Senolysis by glutaminolysis inhibition ameliorates various age-associated disorders. *Science*. 15 Jan 2021;371(6526):265-270. doi: 10.1126/science.abb5916



# 難病基盤・応用研究プロジェクト室

プロジェクト室長：清水重臣

## 難病 IBD プロジェクト3

### 炎症性腸疾患を含む腸障害を対象とする基礎的、応用的研究

研究代表者 清水重臣（病態細胞生物・教授）

共同研究者 樗木俊聡（生体防御学・教授）

荒川聡子（病態細胞生物・講師）

佐藤 卓（生体防御学・講師）

仁部洋一（病態細胞生物・プロジェクト助教）

桜井 一（プロジェクト専従・助教）

### 研究内容

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

### 研究紹介

**成果1**：新規オートファジー実行分子のノックアウトマウスを作成したところ、DSS誘導性腸炎に対する感受性が極めて高いことを見出した。当該マウス由来のオルガノイドを作製し、そのメカニズムを解析している。

**成果2**：新規オートファジー活性化による腸炎の改善が可能であると考えられたため、約3万化合物から、新規オートファジー誘導化合物をスクリーニングし、20種類の高活性化化合物の取得に至った。

**成果3**：クローン病の病巣にニッケルが集積していること、これにより炎症が増悪していることを見出した。

### 業績

- Nickel particles are present in Crohn's disease tissue and exacerbate intestinal inflammation in IBD susceptible mice. H. Matsuda, Y. Nibe-Shirakihara, A. Tamura, E. Aonuma, S. Arakawa, K. Otsubo, Y. Nemoto, T. Nagaishi, K. Tsuchiya, S. Shimizu, A. Ma, M. Watanabe, M. Uo, Ryuichi Okamoto. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 592, 74-80, 2022
- Molecular mechanisms and biological roles of GOMED. S. Noguchi and S. Shimizu. *FEBS J.* doi: 10.1111/febs.16281, 2021

## 頭頸部・食道扁平上皮がん精密医療研究拠点形成プロジェクト

研究代表者：稲澤譲治（分子細胞遺伝）

共同研究者：朝蔭孝宏（頭頸部外科・教授）

池田 通（口腔病理・教授）

北川昌伸（包括病理・教授）

角田達彦（医科学数理・教授）

田中敏博（疾患多様性遺伝・教授）

原田浩之（顎口腔外科・教授）

三宅 智（腫瘍センター・教授）

藤原直人（食道外科・准教授）

池田貞勝（腫瘍内科・特任部長）

森田圭一（顎顔面外科・講師）

竹本 暁（疾患バイオリソースセンター・特任助教）

谷本幸介（ゲノム解析支援室・助教）

村松智輝（難病基盤・応用研究プロジェクト室・助教）

### 研究内容

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

### 研究成果の概要

・HNSCC・ESCC 臨床検体のバイオリソース収集状況

本研究では、重複がんを含めた良質なSCCバイオリソースの収集・保存を進めてきた。2021年12月末までのバイオバンク収集状況は、食道がん302症例、頭頸部がん309症例、口腔がん（歯学部附属病院）400症例が、各々包括的同意に基づいて検体収集されている。

・クリニカルシーケンスの進行状況

2017年8月より医学部附属病院において開始されたクリニカルシーケンスは、2021年12月末日までに495例である。そのうち、食道がんが21例、頭頸部がんが48例含まれる。

・ESCCの治療標的としての代謝関連分子PDHXの同定  
PDHX (pyruvate dehydrogenase [PDH] component X) は、ミトコンドリアでのPDH複合体の活性を介したエネルギー産生に関与しており、その発現はESCCの細胞増殖に必要であることを同定した。ヒト11番染色体11p13領域において、*PDHX* 遺伝子はがん幹細胞マーカー *CD44* 遺伝子と隣接して座位しており、共遺伝子増幅によって発現が亢進し、協調的に機能することでがん幹細胞の増殖に寄与することを明らかにした。ESCC 担がんマウスモデルにおいて、PDH阻害剤CPI-613の投与により、腫瘍増殖が顕著に抑制されることを明らかにした。本成果は、ESCCに対する新たながん個別化治療法の開発に繋がること期待される (Inoue J, Kishikawa M et al. *Cancer Sci.* 2021)。

・スーパーエンハンサーを標的とするmiRNAを用いた核酸抗癌薬の開発

新たな核酸抗がん薬のシーズとして *miR-766-5p* を同定した。*miR-766-5p* はBRD4とCBPを抑制することで、スーパーエンハンサーを制御し、がん細胞特異的にMYCの発現を抑制した。*miR-766-5p* を用いた核酸抗がん薬はMYCが活性化している癌に対する新たな治療戦略となる可能性が期待される。特に、*miR-766-5p* は希少難治性扁平上皮がんであるNUT正中線がん(NMC)のドライバーBRD4-NUT融合タンパクの発現を抑制することから、NMCの新規核酸抗がん薬開発への応用が期待される (Gen Y et al. *Cancer Res.*2021)。

・日本人ESCCのゲノム・エピゲノム・トランスクリプトーム異常の解明

日本人ESCCのゲノム、エピゲノム・トランスクリプトームを統合的に解析することで、がん特異的な対立遺伝子の発現不均衡 (Allelic Expression Imbalance; AEI) とプロファイルを明らかにした。FAT1やFAT2などAEIが生じた遺伝子は、遺伝子機能の低下などの異常をきたす可能性がある。今後、AEIによるESCCの発症メカニズムの解明や、新たな治療標的遺伝子やバイオマーカーの探索が進展し、がんの遺伝子異常に基づいて治療方針を決定する個別化医療（がんゲノム医療）が前進すると期待できます (Takemoto A et al. *Cancer Sci.* 2021)。

・悪性頭頸部がんに対するマイクロRNA核酸創薬

頭頸部がんである甲状腺未分化がんおよび口腔扁平上皮がんの各担がんマウスモデルを用いて、がん抑制型

*miR-634* 軟膏製剤の局所投与による治療有効性を実証した。さらに、*miR-634* 軟膏製剤の局所投与は、腫瘍細胞で細胞保護プロセスに関与する複数の遺伝子群を標的とすることにより、チロシンキナーゼ阻害剤レンパチニブ（甲状腺未分化がん）またはシスプラチン（口腔扁平上皮がん）による抗腫瘍効果を顕著に増強することを見出した。*miR-634* 軟膏製剤は、悪性頭頸部がんにおいて、化学療法による治療効果を最大限に引き出すための新しい治療モダリティとなることが期待される (Kishikawa M et al. *Biochem Biophys Rep.* 2021, Tran PX et al. *Mol Ther. -Oncolytics.* 2022. in press)。

### 業績

- Tran PX, Inoue J, Harada H, Inazawa. Potential for reversing miR-634-mediated cytoprotective processes to improve efficacy of chemotherapy against oral squamous cell carcinoma. *Mol Ther Oncolytics.* 2022 (in press)
- Gen Y, Muramatsu T, Inoue J, Inazawa J: miR-766-5p targets super-enhancers by downregulating CBP and BRD4. *Cancer Res.* 2021 Oct 15. 81:5190-5201. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-21-0649. Epub 2021 Aug 5.
- Takemoto A, Tanimoto K, Mori S, Inoue J, Fujiwara N, Noda T, Inazawa J: Integrative genome-wide analyses reveal the transcriptional aberrations in Japanese esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Sci.* 2021 Oct. 112:4377-4392. doi: 10.1111/cas.15063. Epub 2021 Aug 12.
- Liu C, Gen Y, Tanimoto K, Muramatsu T, Inoue J, Inazawa J: Concurrent targeting of MAP3K3 and BRD4 by miR-3140-3p overcomes acquired resistance to BET inhibitors in neuroblastoma cells. *Mol Ther Nucleic Acids* 2021 May 11. 25:83-92. doi: 10.1016/j.omtn.2021.05.001. eCollection 2021 Sep 3.
- Kishikawa M, Inoue J, Hamamoto H, Kobayashi K, Asakage T, Inazawa J: Augmentation of lenvatinib efficacy by topical treatment of miR-634 ointment in anaplastic thyroid cancer. *Biochem Biophys Rep.* 2021 May 9. 26:101009. doi: 10.1016/j.bbrep.2021.101009. eCollection 2021 Jul.
- Inoue J\*, Kishikawa M\*, Tsuda H, Nakajima Y, Asakage T, Inazawa J: Identification of PDHX as a metabolic target for esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Sci.* 2021 Jul; 112:2792-2802. doi: 10.1111/cas.14938. Epub 2021 May 24. \*equally contributed

## 先制医療実現化 DOHaD 研究プロジェクト

研究代表者：佐藤憲子（分子疫学・准教授）

共同研究者：宮坂尚幸（医学部・生殖機能協関学・教授）

今井千裕（分子疫学・助教）

不殿絢子（医学部・生殖機能協関学・大学院生）

### 研究内容

低出生体重児は将来加齢性慢性疾患を発症するリスクが高い。日本は超高齢化社会である上に、先進諸国の中でも、最も低出生体重児の出生割合が高い。そのため加齢性慢性疾患有病率の爆発的増加が懸念されている。そこで、出生前環境が胎児の発育過程に影響することによって疾患形質と関連するという Developmental Origin of Health and Disease (DOHaD) 概念に基づき、生殖・周産期からのアプローチによって将来の疾患発症を予防できるのではないかと期待されている。本プロジェクトは、DOHaDの基本的考えに基づき、胎児の発育過程に遺伝、環境の様々な因子がどのように影響を及



ばすのかを解析することを目的としている。特に、集団内の異質性も丁寧に考慮し、様々な因子の影響と疾患要因との関係を調査し、疾患発症リスクを抑える周産期要件の科学的根拠の提示を目指している。

具体的には、東京医科歯科大学の出生前コホート (Birth Cohort-Gene Environment Interaction Study in TMDU, BC-GENIST) を基軸に、DOHaD 研究を推進している。

## 研究の紹介

1. 日本の妊婦には痩せの割合が多く、適切な栄養状態にないことが危惧されている。そこで、高栄養食品指数 NRF9.3 と食事炎症指数 DII という2つの指標を用いて、栄養素摂取量をもとに総合的に妊婦の「食事の質」を評価した。NRF9.3を用いた妊婦の食事の質の評価は本研究が初めてとなる。その結果、日本人妊婦の食事の質の個人差に大きく貢献する栄養素はビタミンや食物繊維であり、食品群としては野菜類、果実類であることが示された。しかし、食事の質が体重関連形質と単純に関連しているわけではなかった。
2. 近年、欧州の研究グループは、妊婦の血圧上昇のポリジェニックスコア (PGS) と児出生体重との負の関連性をメンデルランダム化法で解析し、妊婦の血圧上昇が児の出生体重低下を招くと結論した。しかし、実際の妊婦の血圧と出生体重には負の相関はない。我々は、血圧関連 SNP の多くが血管機能や血管新生と関連することに着目し、胎盤が関与していると着想した。PGS 解析、バイオインフォマティクス、Causal mediation analysis 等を用いて、母血圧上昇 PGS の児出生体重低下効果は、母体高血圧ではなく、胎盤発育低下を媒介として、引き起こされることを明らかにした。さらに、妊婦の遺伝的高血圧リスクが胎児の成長速度を減速させる時期は、妊娠後期終盤に限定されていることもつきとめた。この結果は、現在予測ができないとされている胎児発育不全の高リスク群を母の血圧上昇多遺伝子スコアを加えてスクリーニングできる可能性も示唆して

おり、臨床的に意義が大きい。

3. 妊娠中には、循環血中の細胞外小胞 (Extracellular Vesicle: EV) のうち胎盤由来の EV の割合が増加する。EV に内包される核酸、特に miRNA (EV-miRNA) のレベルは胎児・胎盤発育を反映するマーカーとして有用であると考えられている。我々は、主要な発現由来組織が胎盤であり、かつ血中レベルが比較的高い2つの EV-miRNA (miR127-3p, miR-26b-5p) に着目し、正期産の健常経膈分娩におけるそれらの EV-miRNA の妊娠中期、後期のレベルと胎児・胎盤発育との関連について調べたところ、EV-miR-127-3p と BWGA z-score の間の負の関連性、miR-26b-5p と児の出生体重と正の関連性が妊娠中期の miRNA レベルでは見られるが、妊娠後期では消失するか弱くなることを見出し、胎児・胎盤発育との関連には時期特異性があることを示唆した。

## 業績

### 原著論文

1. Imai C, Takimoto H, Fudono A, Tarui I, Aoyama T, Yago S, Okamitsu M, Sasaki S, Mizutani S, Miyasaka N, Sato N. Application of the Nutrient-Rich Food Index 9.3 and the Dietary Inflammatory Index for Assessing Maternal Dietary Quality in Japan: A Single-Center Birth Cohort Study. *Nutrients*. 13(8):2854. 2021.
2. Sato N, Fudono A, Imai C, Takimoto H, Tarui I, Aoyama T, Yago S, Okamitsu M, Mizutani S, Miyasaka N. Placenta mediates the effect of maternal hypertension polygenic score on offspring birth weight: a study of birth cohort with fetal growth velocity data. *BMC Medicine*. 19(1):260. 2021
3. Fudono A, Imai C, Takimoto H, Tarui I, Aoyama T, Yago S, Okamitsu M, Muramatsu M, Sato N, Miyasaka N. Trimester-specific associations between extracellular vesicle microRNAs and fetal growth. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 1-7. doi: 10.1080/14767058.2021.2000598. Online ahead of print. 2021

### 著書

1. 佐藤憲子: 遺伝子医学 MOOK36 号「エピゲノムで新たな解明が進む『先天性疾患』」(副島 英伸, 秦健一郎編), 第4章「3. DOHaD 分子疫学」, 182-187. 2021. メディカル ドゥ, 東京
2. 佐藤憲子: 食品免疫学事典 (日本食品免疫学会 編), 「9-16. 胎生期の栄養と免疫機能」, 2021 年, 朝倉書店, 東京

### プレスリリース

1. 「妊婦の遺伝的高血圧リスクは胎盤への影響を介して児の出生体重を低下させる」【佐藤憲子 准教授】: <https://www.tmd.ac.jp/press-release/2021.11.05-1/>
2. EurekAlert! The Global Source for Science News. 2021.12.03. "The placenta-the smoking gun in cardiovascular disease": <https://www.eurekalert.org/news-releases/936785>

# 大学院教育研究支援実験室

## I. ゲノム解析室

助教：谷本 幸介

技術補佐員：藺部 知奈美

技術補佐員：植田 由希子

技術補佐員：田村 祐美子

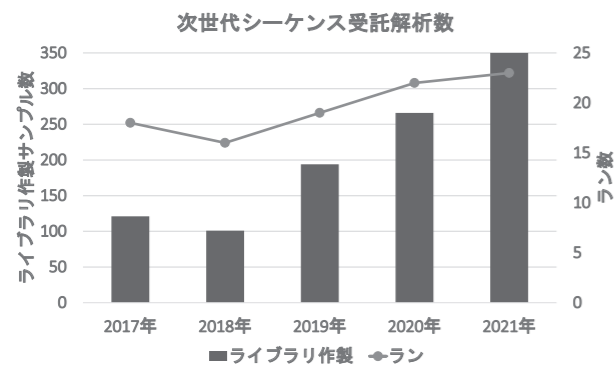
本解析室は、難治疾患研究所の教職員・学生および難治疾患共同研究拠点の参加研究者が実施するゲノム解析研究の支援を目的としている。最新機器の原理や使用法の講習会を通じた研究者への技術紹介、知識啓蒙を行っている。さらに、日常業務として、研究所内外からのゲノム情報の受託解析を行い研究の推進を図っており、年間約2万件の解析実績を持っている。また、所内研究者、学生が共通して利用できる研究機器を配置するとともに、各分野にある共通性の高い機器を登録したヴァーチャラボの管理も行っている。なお、2017年より本学リサーチコアセンターと連携を行っている。

以下は、2021年の実績である。

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

本年のキャピラリーシーケンスサービスのサンプル依頼数は12,506延べ利用人数は1,441名であった。難研外からの依頼サンプル数は7,699となり、全体の約6割を占めている。

次世代シーケンス（Ion PGM・Ion S5）による受託解析サービスについては、本年はコロナ禍にもかかわらず需要が伸びており、23ラン（うち難研外1ラン、学外21ラン）を行った。またライブラリ作製のサンプル数は382（学外）となった。次世代シーケンス解析に



ついてはデータ解析を含めたサポートを行うことで、利用者の個別のニーズに対応し利便性の高い支援を行っている。

### 2. 設置機器

キャピラリーシーケンス 3130xl 2台、次世代シーケンス Ion PGM・Ion S5、フローサイトメーター、発光プレートリーダー、マイクロ流路電気泳動装置 バイオアナライザ、DNA断片化装置 Covaris、蛍光マイクロビーズ検出システム Luminex、サーマルサイクラー 5台、遠心機、遠心濃縮機

## II. 細胞プロテオーム解析室

技能専門職員：名和 眞希子

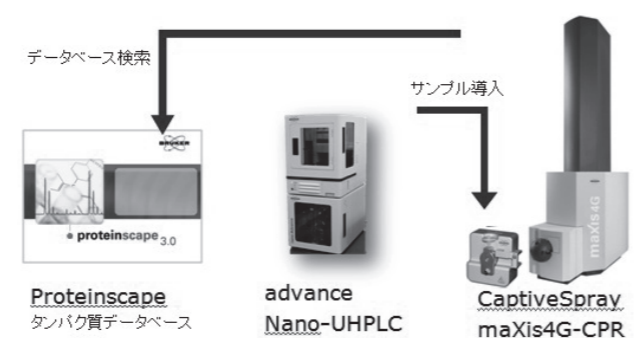
ホームページ <http://www.tmd.ac.jp/mri/lcpr/Top.html>

細胞プロテオーム解析室は、プロテオミクスに関する研究のサポートをしている。

特に質量分析装置を用いた LC-MSMS 解析では受託解析も行っている。

### <設置機器>

- 質量分析計 定性分析向き装置 高感度高性能 maXis4G
  - 質量分析計 定量分析向き装置 iTRAQ,TMT ラベル対応 QTRAP5500
  - 分子間相互作用解析装置 MicrocalorimetryTC200
  - インジェクションシステム Eppendorf InjectMan NI2、Leica M165FC
- 上記装置の管理を行っている。



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

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

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

### <支援成果>

1. Short DNA/RNA heteroduplex oligonucleotide interacting proteins are key regulators of target gene silencing

Ken Asada, Fumika Sakaue, Tetsuya Nagata, Ji-chun Zhang, Kie Yoshida-Tanaka, Aya Abe, Makiko Nawa, Kazutaka Nishina, and Takanori Yokota *Nucleic Acids Res.* 2021 May 21; 49(9): 4864-4876.

2. CSEIL promotes nuclear accumulation of transcriptional coactivator TAZ and enhances invasiveness of human cancer cells

Shunta Nagashima,<sup>1</sup> Junichi Maruyama,<sup>1,\*</sup> Kaori Honda,<sup>2</sup> Yasumitsu Kondoh,<sup>2</sup> Hiroyuki Osada,<sup>2</sup> Makiko Nawa,<sup>3</sup> Ken-ichi Nakahama,<sup>4</sup> Mari Ishigami-Yuasa,<sup>5</sup> Hiroyuki Kagechika,<sup>5,6</sup> Haruhiko Sugimura,<sup>7</sup> Hiroaki Iwasa,<sup>1</sup> Kyoko Arimoto-Matsuzaki,<sup>1</sup> Hiroshi Nishina,<sup>8</sup> and Yutaka Hata<sup>1,9,\*</sup>

*J Biol Chem.* 2021 Jul; 297(1): 100803.

## III. 未来ゲノム研究開発支援室

助教：鈴木 亨

技術職員：宇佐美 貴子

技術補佐員：木崎 美央

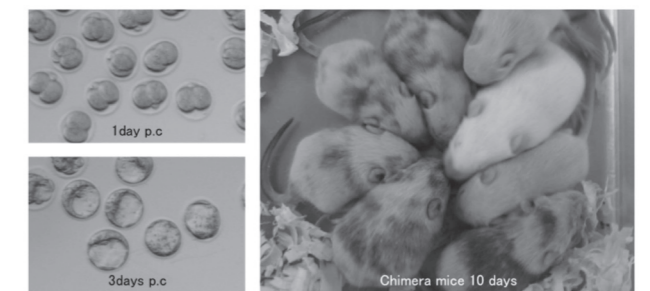
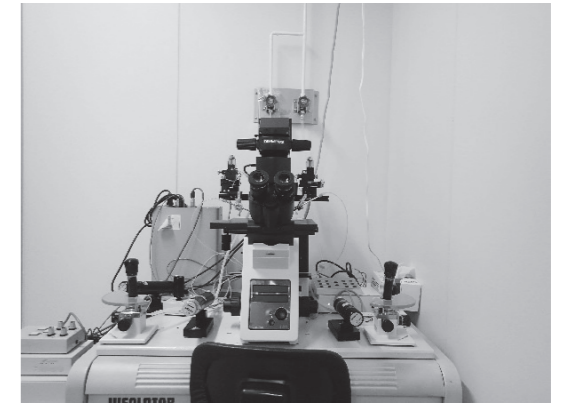
技術補佐員：石久保 春美

技術補佐員：橋野 一美

遺伝子組換えマウスは、遺伝子操作により外来遺伝子の導入、内在性の遺伝子を改変したマウスで、現在、医学・生命科学分野における大学院教育・研究には欠かせない材料となっている。難治疾患研究の分野においても、疾患モデルとして利用できるなど、病因や病態、新たな診断法・治療法の開発に必須である。本支援室では、技術職員および飼育専任スタッフのサポートにより、組換えマウス作成・特定微生物排除・飼育維持・胚凍結による系統保存を行うことにより、マウス個体を用いた生命科学・難治疾患研究の教育基盤となっている。平成27年度からは、学内向けに、ゲノム編集技術を用いた遺伝子組換えマウス（KO、KI、1塩基置換、floxed等）作製支援サービスも行なっている。

本実験室は、難治疾患研究所の大学院教育支援施設と

して、教授若干名からなる運営委員会が管理・運営にあたり、新規利用者への教育、新たな組換えマウスの樹立や搬入の審査などの適正な利用をはかっている。



## IV. 形態機能解析室

技術補佐員：野村 隆之

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

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

### <設置機器>

- 共焦点レーザー顕微鏡 … LSM710、LSM510META (Carl Zeiss)
- 凍結マイクロトーム … CM3050S (Leica)
- ロータリーマイクロトーム … HM-325、HM-335E (Micom)
- ビブラトーム … PRO7 (堂阪イーエム)
- 自動固定包埋装置 … RH-12DM(サクラファインテック) Excelsior ES (Thermo Fisher Scientific)
- パラフィンブロック作成装置 … Histostar (Thermo Fisher Scientific)
- リアルタイム PCR システム … 7500、7900HT (Applied biosystems)



- ・レーザーマイクロダイセクション … LMD7000(Leica)
- ・実体顕微鏡 … SZX-16 (Olympus)

<講習会等>

共焦点レーザー顕微鏡およびレーザーマイクロダイセクションを利用する者には、正しい機器の使用方法を体得してもらうため、事前にメーカーによる講習会を受講することを義務づけている。今年度の開催日程は以下の通りである。

- ・共焦点レーザー顕微鏡講習会(カールツァイス株式会社)  
5月12日、11月30日
- ・レーザーマイクロダイセクション講習会(ライカマイクロシステムズ株式会社)  
4月28日

## V. 幹細胞支援室

技術専門職員：齊藤 佳子

技術補佐員：英 美奈子

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

難治疾患研究所の大学院教育研究支援施設のひとつ幹細胞支援室は、2009年12月に設置され、2010年に入り実質的な整備が開始された。当支援室は、組織幹細胞、胚性幹細胞 (ES 細胞)、iPS 細胞など、組織・臓器の成り立ちの解明、疾患の理解、再生医療の開発などにおいて重要な役割を果たす幹細胞研究あるいは幹細胞由来の分化した細胞群の研究を支援するため、関連研究者が利用できる機器の整備と供用化に対応するべく活動している。その運営は、幹細胞支援室運営委員会により審議を重ねつつ、難研教授会の協力を得ながら行っている。また、2017年から本学のリサーチコアセンターとの連携がスタートした。管理スタッフは技術専門職員1名が管理業務全般を、技術補佐員1名が高速セルソーターのオペレーター業務を担当している。

### 1. 設置機器

幹細胞支援室はM&Dタワー24階において、下記の主要機器を研究者の利用に供している。

高速セルソーター MoFlo XDP (ベックマン・コールター)

共焦点レーザー顕微鏡タイムラプス撮影システム FV10i-w (オリンパス)

共焦点レーザー顕微鏡撮影システム FV10i-DOC (オリンパス)

倒立型電動リサーチ顕微鏡 IX81 (オリンパス)

ハイブリオープン (TAITEC)

超音波破砕器 (BRANSON)

### 2. 受託サービス

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

### 3. 2021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。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。2021年の当支援室の利用者数はのべ257人であった。今後も利用者のニーズに合った支援室となるよう、既存の機器の維持管理やサービス向上等に努めていく。

## VI. バイオリソース支援室

技術補佐員：高岡 美帆

バイオリソース支援室は、生命医科学分野の大学院教育・研究について、バイオリソースの面から学内外に対して支援活動を行っている。

細胞株の寄託・分譲業務は、コンプライアンス遵守した細胞株の提供に取り組んでいる。当該年、国内の2大学から分譲依頼があり、産学連携研究センターを介してMTA手続きが行われ、支援室より細胞株を分譲した。また、研究所内の分野から、頸部リンパ節転移巣由来のZA株が寄託された。EBVトランスフォームによる末梢血Bリンパ芽球細胞株化の支援業務については、安定した樹立効率が維持されており、本学臨床分野をはじめ学内外の研究機関から継続的に依頼を請け負っている(図1)。細胞株のマイコプラズマ汚染検査も行っている。大型液体窒素タンク(図2)を利用した生体試料保存サービスは、学内の分野から継続の依頼があった。

今年度、運営委員長の交代があったが、支援室業務は適切に運営されている。

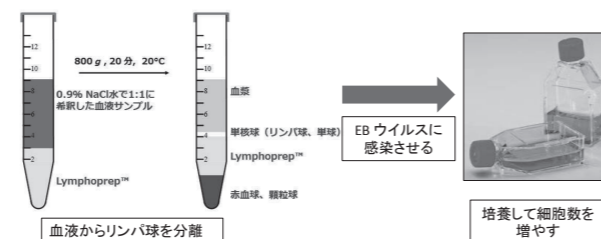


図1 EBVによるリンパ芽球の不死化



図2 大型液体窒素タンク G430-S (太陽日酸)

## VII. 構造解析支援室

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

# 職員学生名簿

## 医化学分野

教授 瀬川勝盛  
助教 宮田佑吾

## 分子細胞生物学分野

教授 澁谷浩司  
准教授 後藤利保  
助教 清水幹容  
大学院生 渡辺藍子  
技術補佐員 井古田千英

## 分子神経科学分野

教授 田中光一  
助教 平岡優一  
大学院生 大西哲生  
Bi Haining  
Zhao Di  
河合耀瑠  
光増真広

## 生体情報薬理学分野

教授 古川哲史  
准教授 竹内純  
助教 井原健介  
大学院生 孫溢哈  
事務補佐員 押切明美

## 幹細胞制御分野

教授 田賀哲也  
講師 榊康一  
助教 室田吉貴  
連携研究員 鹿川哲史  
信久幾夫  
備前典久  
非常勤講師 影山龍一郎  
柏木太一  
事務補佐員 牧野まや  
技術補佐員 松丸武渡  
大学院生 Aimaitijiang Alapati

Liu Wenyu  
Melig Gerel  
Zhang TingTing  
永根まり子  
Deng Shenghuan  
坂井優太  
Zengye Zongpei  
大学院研究生

大学院研究生

## 生体防御学分野

教授 樗木俊聡  
准教授 佐藤卓  
助教 金山剛士  
非常勤講師 小内伸幸  
村川泰裕  
大学院生 石川駿  
泉湧太  
秋山めぐみ  
佐藤元  
中川舞  
大梁恵梨子  
技術補佐員 始関紀彰  
林豊貴  
事務補佐員 上岡寿子

## 分子構造情報学分野

教授 伊藤暢聡  
准教授 沼本修孝  
助教 花園祐矢  
大学院生 全熙斌  
周崇震  
Narasimhe Mudiyaseselaje Hansaka

## 神経病理学分野

教授 岡澤均  
特任講師/非常勤講師 井上治久  
曾根雅紀  
講師 藤田慶大  
特任講師 本間秀典  
助教 田中ひかり

事務補佐員 張雪梅  
秘書 田中麻里絵  
大学院生 近藤和  
金ミカ  
金キョウシン  
吉岡優希  
黄勇  
学部生 高山すみれ  
高田真緒

## 病態生理化学分野

教授 佐々木雄彦  
准教授 佐々木純子  
助教 長谷川純矢  
技術補佐員 山本利義  
森岡真  
坂本尚子

事務補佐員 小藤香織  
学振特別研究員 徳田恵美  
大学院生 崎原知子

佐藤太一  
高橋恒一郎  
張易欣  
王天  
釘井雄基  
黄俊傑  
研究従事者 毛塚康平  
磯崎雅子  
学部生 大村実果里  
菊池雄翔

## 病態細胞生物学分野

教授 清水重臣  
准教授 荒川聡子  
プロジェクト准教授 鳥居暁  
プロジェクト講師 辻岡政経  
助教 本田真也  
山口啓史  
プロジェクト助教 申珉京  
桜井一  
仁部洋一  
秘書 深堀仁美  
大学院生 関豊和  
吉田朋世  
大島和馬  
小川千奈見

## 発生再生生物学分野

教授 仁科博史  
講師 小藤智史  
プロジェクト助教 田中卓  
特任助教 Jing Pu  
金山敬子  
技術補佐員 草場みずき  
秘書 小藤香織  
大学院生 長岡勇也  
須永沙智  
長尾裕志  
Yiming Qian  
遠藤賢生  
Junjie Chen

## 免疫疾患分野

教授 鏑田武志  
助教 赤津ちづる  
SULTAN Cheryl Sophia  
特任講師 王継揚  
技術補佐員 赤澤美圭子  
事務補佐員 澤田千賀子  
大学院生 Long Wang  
爲廣(西田)響子  
Huang Yuming  
國武慎治  
崔揚  
丁一  
大亀綾香  
松村佳奈  
大隅瑞基  
Yang Tianyi  
WALANTUT GAMANG HANSHADI NADENNA

大学院研究生 徐継軒  
インターン 清田顕之介  
短期交流学生 常重貴裕

## 分子細胞遺伝学分野

教授 稲澤譲治  
准教授 井上純  
助教 村松智輝  
玄泰行  
大学院生 岸川正大  
劉暢  
徐博  
Tran Xuan Phuon



**分子遺伝分野**

教 授 三 木 義 男  
 准 教 授 中 西 啓  
 助 教 砂 田 成 章  
 プロジェクト助教 Ji Shuting  
 特 別 研 究 員 仁 平 直 江  
 技 術 補 佐 員 戸 部 秀 子  
 大 学 院 生 福 田 未 緒  
 Enkhbat Gerelmaa  
 東 條 陽  
 Zhang DouDou  
 Zhao Ying  
 Guo QianQian  
 平 山 栞  
 Li Zi

**分子疫学分野**

教 授 村 松 正 明  
 准 教 授 佐 藤 憲 子  
 助 教 今 井 千 裕  
 大 学 院 生 Z ong Yuan  
 Tong Daike  
 勝 田 江 朗  
 藤 谷 啓 雄  
 山 田 楓 子  
 卒 研 生 大 野 慶 輝

**ゲノム機能情報分野**

教 授 二 階 堂 愛  
 准 教 授 笹 川 洋 平  
 助 教 山 根 万 里 子  
 技 術 補 助 員 前 田 伊 久 子

**ゲノム機能多様性分野**

教 授 高 地 雄 太  
 准 教 授 三 橋 里 美  
 助 教 上 田 真 保 子  
 特 別 研 究 員 P D 稲 毛 純  
 連 携 研 究 員 山 口 健 介  
 小 林 香 子  
 研 究 従 事 者 本 田 卓  
 大 学 院 生 西 田 農 也  
 加 藤 大 輝  
 大 学 院 研 究 生 荘 兆 輝  
 劉 育 菡  
 事 務 補 佐 員 大 川 美 和 子

**医科学数理分野**

教 授 角 田 達 彦  
 講 師 宮 冬 樹

**連携研究部門 病態発現機構研究部門**

客 員 教 授 宮 野 悟  
 井 元 清 哉

**ジョイントリサーチ部門 未病制御学研究部門**

准 教 授 安 達 貴 弘  
 技 術 補 佐 員 赤 澤 美 圭 子

**大学院教育研究支援実験室****ゲノム解析室**

助 教 谷 本 幸 介  
 技 術 補 佐 員 蘭 部 知 奈 美  
 植 田 由 希 子  
 吉 田 泉

**細胞・プロテオーム解析室**

技 術 専 門 職 員 名 和 眞 希 子

**未来ゲノム研究開発支援室**

助 教 鈴 木 亨  
 技 術 職 員 宇 佐 美 貴 子  
 木 崎 美 央  
 石 久 保 春 美

**形態機能解析室**

技 術 補 佐 員 野 村 隆 之

**幹細胞支援室**

技 術 専 門 職 員 齊 藤 佳 子  
 技 術 補 佐 員 英 美 奈 子

**バイオリソース支援室**

技 術 補 佐 員 高 岡 美 帆

**大学院教育研究支援実験施設**

事 務 補 佐 員 秋 元 文 乃

**事務部**

事 務 長 渡 邊 剛 志  
 副 事 務 長 清 水 満  
 総 務 係 長 三 原 智 樹  
 総 務 係 主 任 梅 津 綾 子  
 長 崎 州 宏

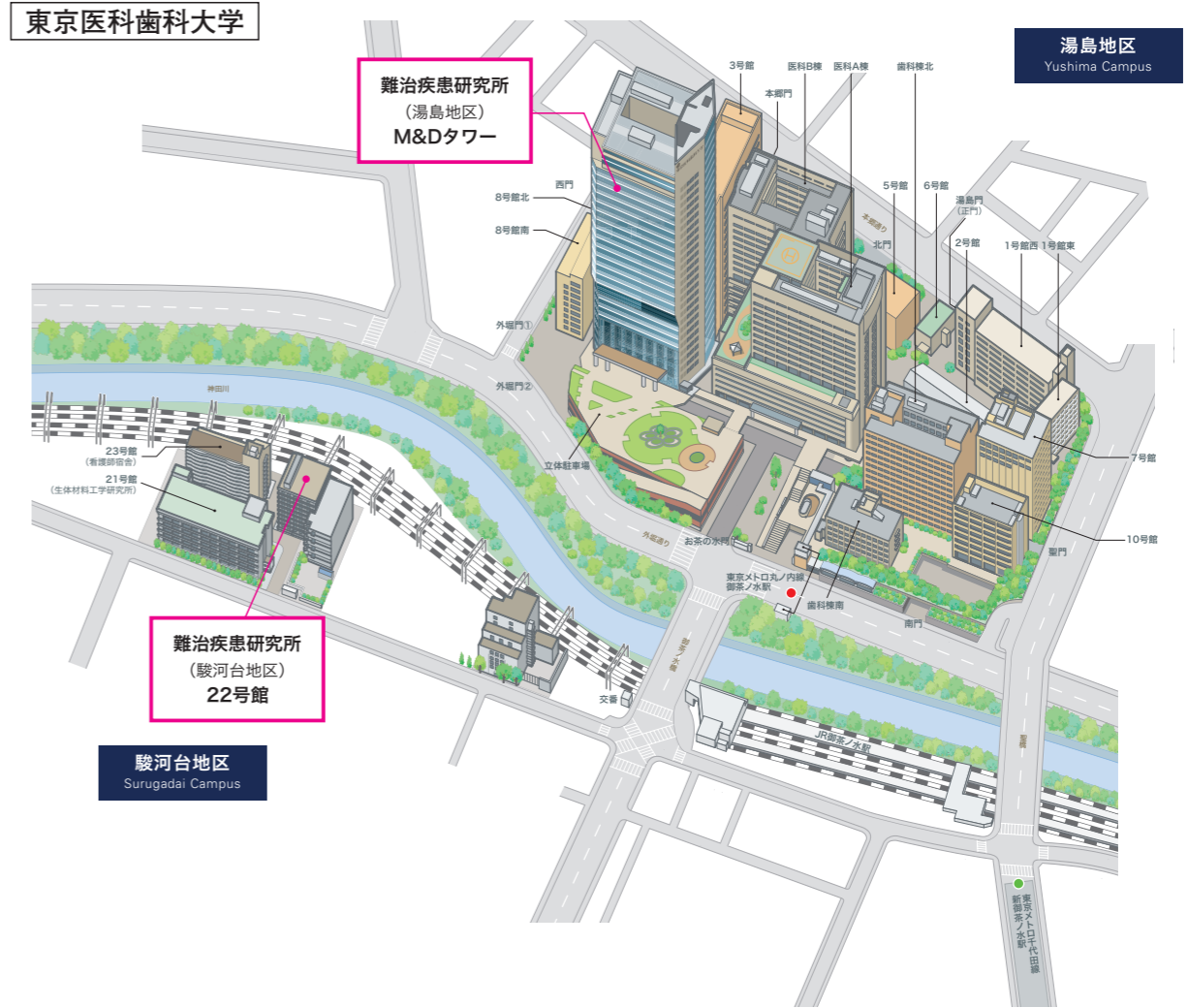
特 定 業 務 事 務 職 員 近 江 有 里  
 事 務 補 佐 員 高 橋 将 貴  
 派 遣 職 員 長 久 保 潤 子

# 難治疾患研究所運営諮問委員会委員

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

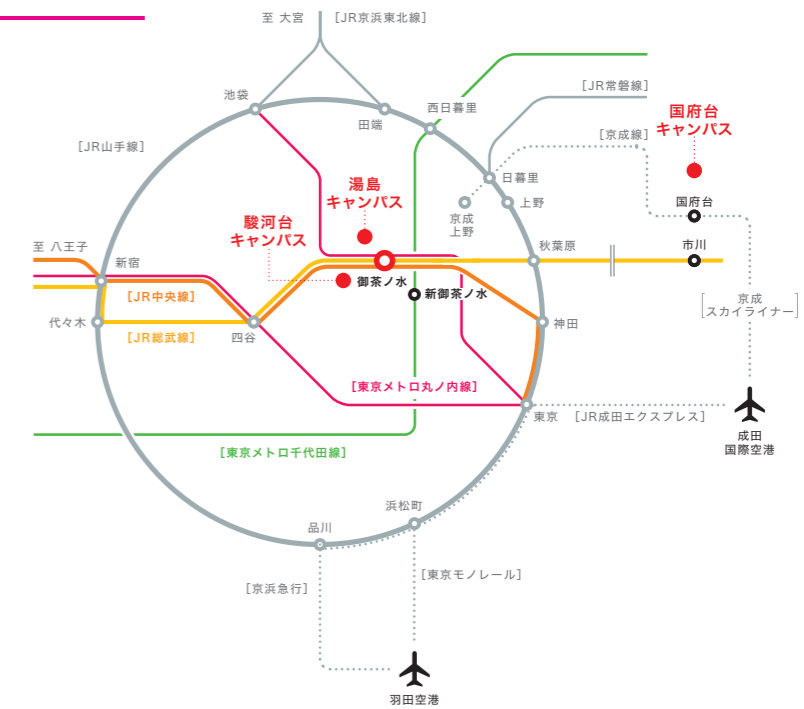
(50音順)

## 案内図



## 最寄駅

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





年報 2022

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 株式会社広済堂ネクスト