

Medical Research Institute / Tokyo Medical and Dental University

ANNUAL REPORT 2024

Annual Report 2024



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

<https://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

2024

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2023年1月から12月までの研究と教育などに関する活動報告です。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を含む「未来生命科学研究部門」「病態制御科学研究部門」「バイオデータ科学研究部門」の3部門（2022年4月改組）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、単一細胞オミクス解析室、共同利用共同研究拠点・学際領域展開ハブ形成プロジェクト推進室、若手研究者育成推進室、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。

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っています。また、九州大学生体防御医学研究所、熊本大学発生医学研究所、徳島大学先端酵素学研究所とネットワークを組み、「高深度トランスオミクス医学研究拠点」の活動も開始しています。

さらに、2023（令和5）年度からは共同利用・共同研究システム形成事業「学際領域展開ハブ形成プログラム」に採択され（事業名：多階層ストレス疾患の克服）、本学医学部精神科や東京都医学総合研究所、国立精神・神経医療研究センターと連携し、実施しています。

これらの拠点活動は全国の研究者コミュニティのためだけでなく、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。多くの皆様に注目され尊敬される難治疾患研究所となれるよう、ご指導ご鞭撻のほどよろしくお願い申し上げます。

難治疾患研究所長 仁科博史

Contents

1. 所在地	3
2. 組織	4
3. 職員及び学生数	5
4. 難治疾患共同研究拠点	6～8
5. 高深度オミクス医学研究拠点整備事業	10～11
6. 共同利用・共同研究システム形成事業学際領域展開ハブ形成プログラム「多階層ストレス疾患の克服」	12
7. シンポジウムおよび市民公開講座	13～14
8. プレスリリース	15～16
9. 受賞および特許	17
10. 学位取得者	18
11. 難研セミナー	19

難治疾患研究所

未来生命科学研究部門

1. 医化学分野 22～23
2. 病態生理化学分野 24～25
3. 発生再生生物学分野 26～27
4. 分子細胞生物学分野 28～29
5. 幹細胞制御分野 30～31
6. 恒常性医学分野 32～33

病態制御科学研究部門

1. 機能分子病態学分野 36～37
2. 生体防御学分野 38～39
3. 神経病理学分野 40～41
4. 分子神経科学分野 42～43
5. 病態細胞生物学分野 44～45
6. 神経炎症修復学分野 46～47

バイオデータ科学研究部門

1. 分子構造情報学分野 50～51
2. ゲノム機能情報分野 52～53
3. ゲノム機能多様性分野 54～55
4. 計算システム生物学分野 56～57
5. 先端ナノ医工学分野 58～59

- ・ジョイントリサーチ部門 未病制御学研究部門 62～63
- ・難病基盤・プロジェクト室 64～65
- ・大学院教育研究支援実験室 66～69

職員学生名簿…………… 70～72

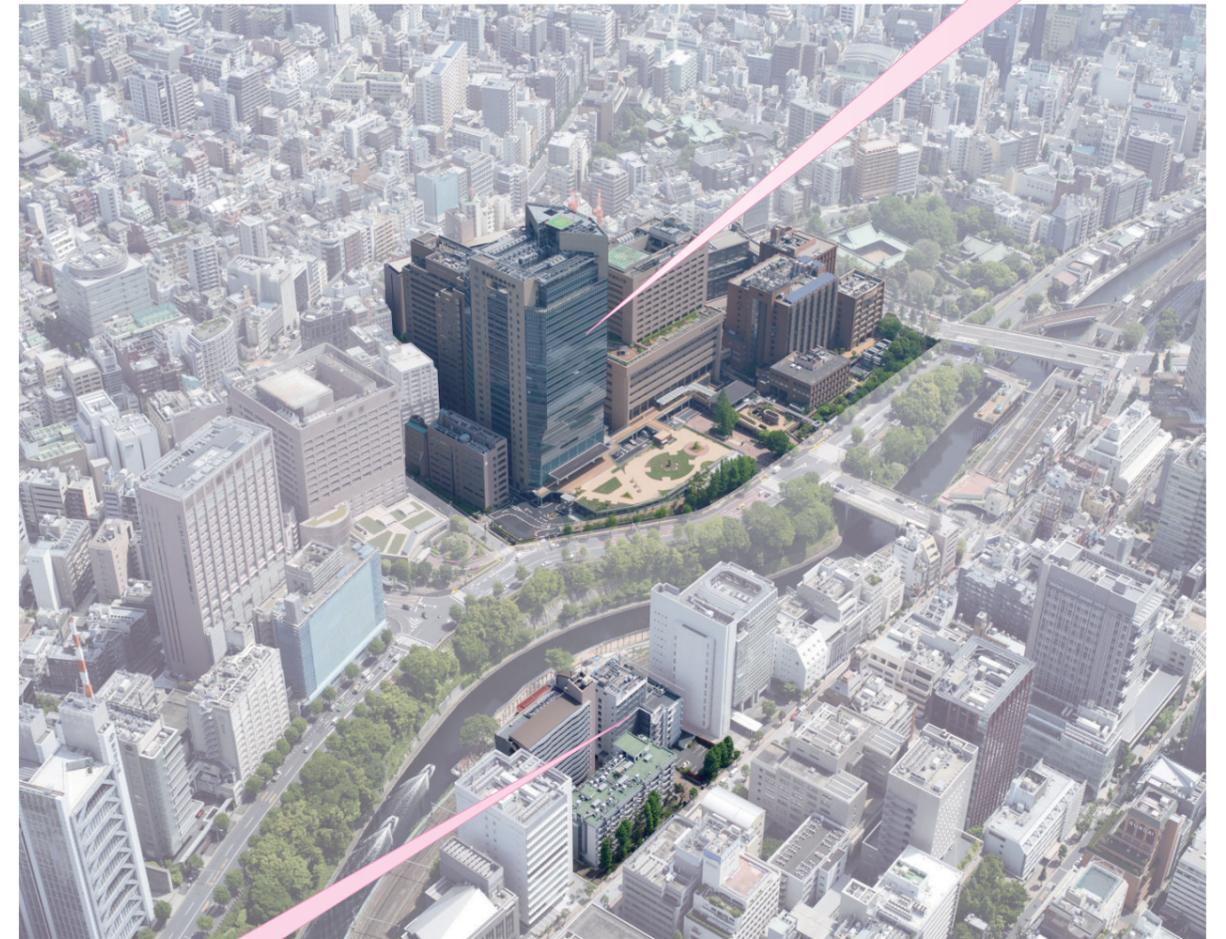
案内図…………… 73

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、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、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、計算システム生物学分野、先端ナノ医工学分野、恒常性医学分野、神経炎症修復学分野、免疫制御学分野、計算創薬科学分野、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

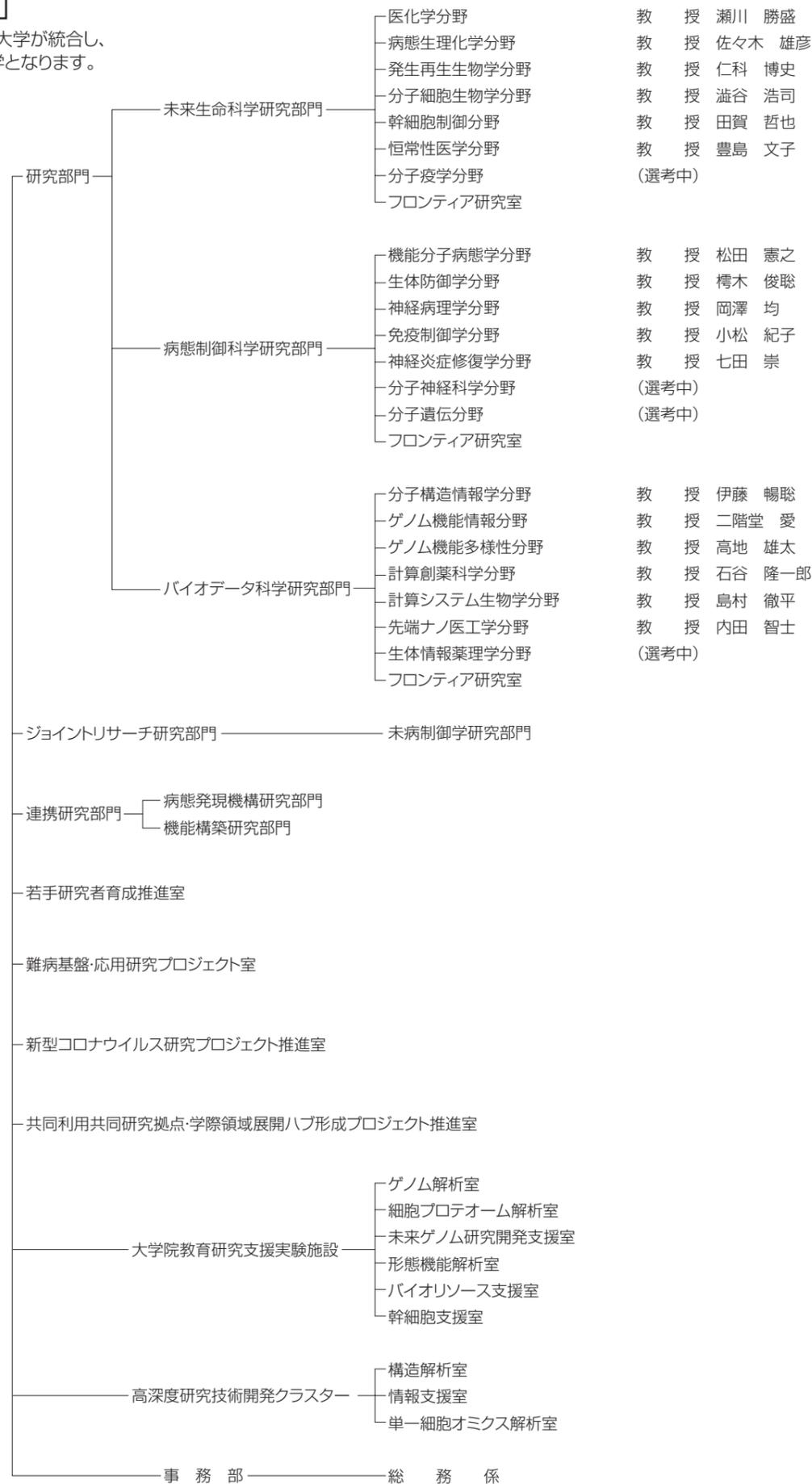
難治疾患研究所

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

東京医科歯科大学と東京工業大学が統合し、
2024年10月に東京科学大学となります。

所長 (併)教授 仁科 博史
副所長 (併)教授 高地 雄太 佐々木 雄彦
教授会



2024年4月1日現在

教授 瀬川 勝盛
教授 佐々木 雄彦
教授 仁科 博史
教授 澁谷 浩司
教授 田賀 哲也
教授 豊島 文子
(選考中)

教授 松田 憲之
教授 樽木 俊聡
教授 岡澤 均
教授 小松 紀子
教授 七田 崇
(選考中)
(選考中)

教授 伊藤 暢聡
教授 二階堂 愛
教授 高地 雄太
教授 石谷 隆一郎
教授 島村 徹平
教授 内田 智士
(選考中)

職員及び学生数

●学生数

2024年3月1日現在

	研究部門名	分野名等	大学院生			大学院 研究生
			修士	博士 医歯学	博士生命	
難治疾患研究所	未来生命科学部門	医化学分野				1
		病態生理化学分野	7	3		
		発生再生生物学分野			6	
		分子細胞生物学分野				
		幹細胞制御分野		3		
		分子疫学分野				
		恒常性医学分野				
	病態制御科学部門	機能分子病態学分野	3			
		生体防御学分野	1	1		1
		神経病理学分野		3		
		分子神経科学分野				
		病態細胞生物学分野		2		
		免疫制御学分野 【2024.4.1～】				
		神経炎症修復学分野	1			
	バイオデータ科学部門	分子構造情報学分野	4		3	1
		ゲノム機能情報分野	1		2	
		ゲノム機能多様性分野	2	4		
		生体情報薬理学分野				
		計算創薬学分野 【2024.1.1～】				
		計算システム生物学分野				
	先端ナノ医工学分野	1				
	計	20	18	11	3	

●職員数

区分	教 員							その他職員					合計	
	教授	准教授	講師	助教	特任准教授 講師	特任 助教	計	ポストドク	技術系職員		事務系職員			計
									常勤	非常勤	常勤	非常勤		
現 員	18	9	5	12	6	4	54	0	9	49	8	8	74	128

●日本学術振興会特別研究員数

区分	PD	DC1	DC2	SPD	RPD
現 員	2	1	0	0	0

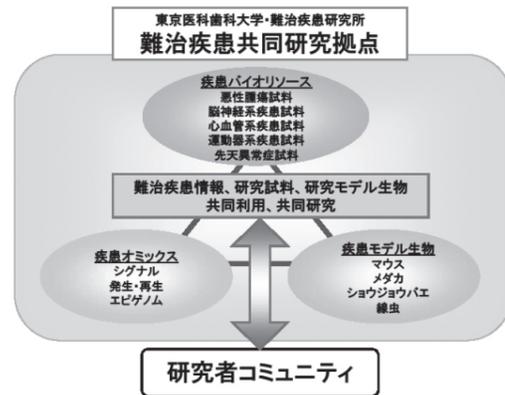
※外国人特別研究員 1名

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。



2023年度採択課題

1) 戦略的課題 3件

申請者	職名	所属機関	研究題目
鈴木 聡	教授	神戸大学 大学院医学研究科	Hippo-YAP 経路を標的とする肝がん治療薬・予防薬の開発
中村 由和	准教授	東京理科大学 理工学部	細胞膜構成リン脂質による老化制御機構の解明
長井 淳	チームリーダー	理研・脳神経科学研究センター	行動特異的なアストロサイト活動集団を全脳標識する遺伝子改変マウスの開発

2) 重点的課題 3件

申請者	職名	所属機関	研究題目
増田 隆博	教授	九州大学 生体防御医学研究所	脳内マクロファージを標的とした新規遺伝子操作ツールの開発
森 良之	教授	自治医科大学 医学部歯科口腔外科学	新規ヒト舌がんオルガノイドライブラリーを用いた抗がん剤抵抗性獲得機構の解明と治療基盤の確立
小内 伸幸	教授	金沢医科大学 医学部免疫学講座	革新的細胞系譜追跡システムを用いた自然造血における貪食細胞分化起源の解明と急性骨髄性白血病の新規治療法の創出

3) 一般的課題 40件

申請者	職名	所属機関	研究題目
並木 剛	准教授	東京医科歯科大学 大学院歯学総合研究科 皮膚科学分野	ヒト皮膚自己免疫病の発症起点となるマクロファージ集団同定
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ミトコンドリア品質管理の役割
石濱 泰	教授	京都大学 大学院薬学研究所	末端プロテオームと sQTL の統合による免疫疾患の病因解明
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
備前 典久	准教授	新潟大学 大学院歯学総合研究科	神経幹細胞ニッチ機能性合成ポリマーの開発による神経幹細胞の維持に寄与するシグナルネットワークの探索
織田 昌幸	教授	京都府立大学 大学院生命環境科学研究科	CD28 受容体とシグナル伝達タンパク質の結合を制御する化合物の構造ベース創薬
小泉 修一	教授	山梨大学 医学部薬理学	ミクログリア P2Y6 受容体を介する貧食による脳及び眼機能の制御に関する研究
大島 正伸	教授	金沢大学 がん進展制御研究所 ナノ生命科学研究所	人口微小環境ポリマライブラリーを用いた大腸がん悪性化にともなうがん細胞表面・微小環境物性変化の解析
廣明 秀一	教授	名古屋大学 大学院創薬科学研究科	ウイルス粒子形成と骨芽細胞分化を制御する PDZ 足場タンパク質を標的とした論理的創薬
信久 駿夫	教授	中村学園大学 栄養科学部	造血幹細胞の発生と維持を制御する転写因子 Sox17 の発現制御機構の解明
及川 司	講師	北海道大学 大学院医学研究院	癌的遺伝子発現可塑性における核膜脂質の役割の解析
馬淵 洋	特任准教授	順天堂大学	基底状態における間葉系幹細胞亜集団の細胞特性解析
寺井 崇二	教授	新潟大学 大学院歯学総合研究科	選択的細胞死誘導法による新規肝がん治療法開発のための基盤研究
村川 泰裕	チームリーダー	理化学研究所	ミクログリアエンハンサーを起点とした脳機能低下・変容機構の解明
吉田 秀郎	教授	兵庫県立大学 大学院理学研究科	遺伝子破壊マウスを用いたゴルジ体ストレス応答の解析と抗がん剤開発への応用
伊東 進	教授	昭和薬科大学	Apc 遺伝子変異に伴う消化管腫瘍を抑制する TMEPAI 遺伝子の機能解析
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
大澤 毅	特任准教授	東京大学 先端科学技術研究センター	高深度オミクス解析によるアミノ酸欠失に関わる新たな感知・適応システムの解明
曾根 雅紀	准教授	東邦大学 理学部	神経変性疾患モデルショウジョウバエの統合的解析
岩坪 威	教授	東京大学 医学系研究科 神経病理学	高カロリーが及ぼすリン酸化シグナル変化のアルツハイマー病における病態意義の解明
和泉 自泰	准教授	九州大学 生体防御学医学研究所	ホスファチジルコリンの膜動態がプロテオスタシスとリポスタシスに与える影響の解析
西澤 知宏	教授	横浜市立大学	リン脂質動態制御分子が遺伝子発現に及ぼす影響の解析
柴田 茂	教授	帝京大学 医学部	高血圧・慢性腎臓病の発症・進展におけるミネラルコルチコイド受容体の役割に関する遺伝学的検討
宮井 尊史	准教授	東京大学 医学部附属病院	ロングリードシーケンシング技術を用いた眼科感染症のメタゲノム解析
森本 充	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	肺発生の単一細胞トランスクリプトーム解析
秀 拓一郎	准教授	北里大学 医学部脳神経外科	術後遺残がん幹細胞による再発時ニッチ形成を標的とする膠芽腫根治療法の開発
栗崎 晃	教授	奈良先端科学技術大学院大学	胃組織幹細胞の領域特異的分化を規定する分子機構の解明
阿部 芳憲	助教	日本医科大学	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
西田 満	教授	福島県立医科大学 医学部生化学講座	癌細胞クラスターにおける Rif の細胞内局在と機能の制御機構
佐藤美由紀	教授	群馬大学 生体調節研究所	線虫を用いたオートファジー関連因子 BCAS3-C1Gorf70 複合体の生理機能解析
仁科 幸子	診療部長	国立成育医療研究センター 眼科	斜視家系に見出された遺伝子変異の機能解析
岡本 浩二	准教授	大阪大学 大学院生命機能研究科	ユビキチン様タンパク質 Atg8 の脂肪滴関連機能の解析
三森 功士	教授	九州大学病院 別府病院 外科	腺腫から癌化へいたる過程における腫瘍微小環境の解明
木戸屋浩康	教授	福井大学 学術研究院医学系部門	脳の老化性変化に関するアンジオクラインファクターの同定
吉田 英行	上級研究員	理化学研究所	リン脂質動態制御分子が遺伝子発現に及ぼす影響の解析
阿部 洋	教授	名古屋大学 大学院理学研究科	PureCap mRNA を用いた感染症・がんワクチンの基盤技術開発
岩城 光宏	主任研究員	国立研究開発法人 情報通信研究機構 未来 ICT 研究所	DNA フォースセンサを用いた細胞-基質間張力の基質剛性依存症の解析
山本 拓也	准教授	京都大学 iPS 細胞研究所	妊娠皮膚リモデリングにおける多細胞集団の単一細胞トランスクリプトーム解析
Cabral Horacio	准教授	東京大学	mRNA を基盤とする生体内免疫細胞改変療法の開発
斉藤 貴志	教授	名古屋市立大学 認知症科学分野	脳卒中・認知症の併発による難治性の神経修復不全状態を解除する治療開発

4) 国際共同研究 9件

申請者	職名	申請者所属機関	研究題目
Mark Bradley	Professor	School of Chemistry, The University of Edinburgh	Biofunctional hydrogel s based elucidation of extracellular niche network for tackling cancer stem cell s CSC s
Zhang, Fan	Assistant Professor	University of Colorado School of Medicine	Single-cell multiomics study of preclinical rheumatoid arthritis
Mitchell, Christina A. McGrath, Meagan J	Dean of Medicine. Senior Research Fellow.	Monash Biomedicine Discovery Institute, Monash University, Australia.	Investigation of phosphoinositide control of mitochondrial dynamics.
Penninger, Josef	Director & Professor	Life Science Institute, University of British Columbia	MKK7-deficiency in mature neurons impairs liver homeostasis in mice
Sudol, Marius	Adjunct Associate Professor	Adjunct Faculty at the Icahn School of Medicine at Mount Sinai	Mouse model of the Golabi-Ito-Hall (GIH) syndrome of intellectual disability phenocopies severe autism
Steven Finkbeiner	Director. Professor	Center for Systems and Therapeutics & Taube/Koret Center for Neurodegenerative Disease, Gladstone Institutes (Director), Departments of Neurology and Physiology, University of California, San Francisco, CA 94158, USA	AI-based morphological analysis and prediction of neuronal cell death and organelle change
Hiroki Kato	Professor	University Bonn Clinic	Mechanisms for suppression of inflammatory responses on apoptotic-cell engulfment and digestion
Abbasi, Saed	Postdoctoral Research Fellow	The Johns Hopkins University School of Medicine	Evaluating functionalities of PEG alternatives in mRNA nanomedicines
Kazuhide Hayakawa	Assistant Professor of Radiology	Department of Radiology, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School	Clarification of brain brain-immune cell interactions to develop therapeutics for stroke

5) 研究集会 2件

申請者	職名	申請者所属機関	研究題目
田村 康	教授	山形大学 理学部	オルガネラゾーン研究セミナー
村松里衣子	部長	国立精神・神経医療センター	「脳修復」学術領域を構築する研究会

6) 新型コロナウイルス 特別研究採択課題 2件

申請者	職名	申請者所属機関	研究題目
森田 英嗣	准教授	弘前大学	SARS-CoV-2 粒子形成・分泌に関する宿主因子の解析
久場 敬司	教授	九州大学	高病原性ウイルス呼吸器感染症の重症化・後遺症の病態解明

高深度オミクス医学研究拠点整備事業

東京医科歯科大学難治疾患研究所は、2022年度から高深度オミクス医学研究拠点整備事業を九州大学生体防御医学研究所、熊本大学発生医学研究所及び徳島大学先端酵素学研究所との連携により開始した。この事業では、生命現象や疾患発症のメカニズムを単一細胞・単一分子レベルの高解像度・高分解能で計測し、それらのピックデータを統合する高深度オミクス研究を実施する。

【事業の背景】

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・共同研究を推進した。2022年より第三期の全国共同利用・共同研究拠点「難治疾患共同研究拠点」に認定され、共同利用・共同研究を引き続き推進する。

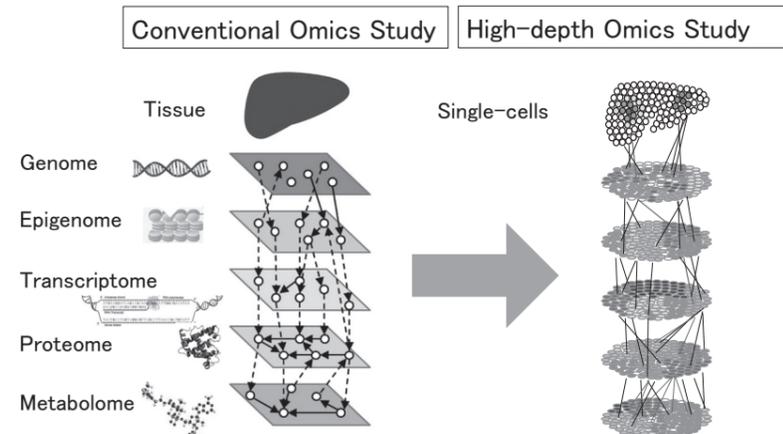
【事業の目的】

この事業では、生命現象や疾患発症のメカニズムを単一細胞・単一分子レベルの高解像度・高分解能で計測し、それらのピックデータを統合する高深度オミクス研究を実施する。ヒトのからだはたくさんの細胞種類から構成されており、その細胞組成や特性が正しく調整されていることは健常な発生や健康の維持にとって重要である。複雑な臓器や組織に含まれる細胞種類を同定したり、その特性を計測するには、細胞内でどのような遺伝子がど

のぐらい働いているかを調べる必要がある。どの遺伝子がどのぐらい働いているかを調べるには細胞内に存在するRNAを網羅的に解析する必要がある。このような技術はトランスクリプトーム解析と呼ばれる。しかし、これまでのトランスクリプトーム解析では、臓器・組織レベルでの計測が行われており、臓器・組織を構成する細胞組成や特性の変化を捉えることができなかった。

臓器・組織が含まれているすべての細胞種類と細胞内で働いている全遺伝子の働きを正確に捉えるには、単一細胞でのトランスクリプトームをハイスループットに計測できる技術が必要になる。難治疾患研究所が理化学研究所などの共同研究グループと開発した世界最高性能の単一細胞トランスクリプトーム技術 Quartz-Seq2 は、臓器や組織を構成する単一細胞を数千から数万個に渡ってトランスクリプトームを高精度に計測できる技術である。この技術により、ガンや精神疾患などの難治疾患の原因解明を飛躍的に発展させることが期待され、再生医療・生殖医療に必須である組織内の細胞組成や特性の情報を提供することが可能となる。

本研究所は高深度オミクス医学研究拠点ネットワークを通じて、科学者コミュニティへの Quartz-Seq2 を始めとする単一細胞オミクス技術の普及を図りつつ、難治疾患研究所が強みとするゲノム多型機能解析、リポドミクス、クライオ電子顕微鏡などのデータを統合し、日本のゲノム医学研究を大きく推進することを目指す。



【2023年度の活動】

・単一オミクス解析室の運営と共同研究の実施
 本事業の推進の中核として、単一細胞オミクス解析室を設置した。単一細胞オミクス解析室はゲノム機能情報分野と統合研究機構研究基盤クラスターと協力して運営されている。本年度は実験室のセットアップ、ロングリードシーケンサーの導入、共同研究を進めた。教員2名からなる運営会議を4回実施した。また学内4件、学外9

件（うち2は企業）の共同研究を実施し、8報の論文が出版された。

・シンポジウム等の開催
 第2回 高深度オミクス医学研究拠点整備事業シンポジウム
 日時：2023年10月5-6日
 場所：東京医科歯科大学

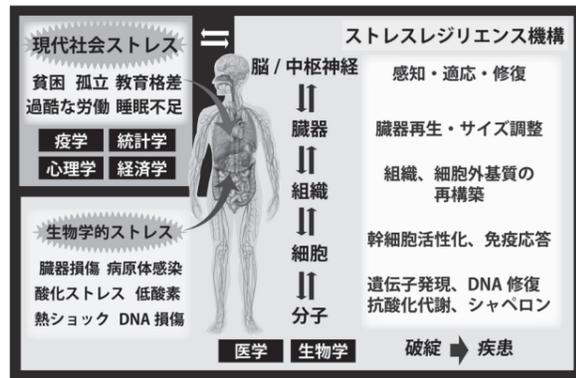
共同利用・共同研究システム形成事業 学際領域展開ハブ形成プログラム 「多階層ストレス疾患の克服」

東京医科歯科大学難治疾患研究所は、2023年に共同利用・共同研究システム形成事業 学際領域展開ハブ形成プログラムに採択され、難治疾患共同研究拠点を中核として東京都医学総合研究所、国立精神・神経医療研究センターとの連携により、学際領域展開ハブ「多階層ストレス疾患の克服」を開始した。この事業では、基礎医学・生命科学と精神医学・心理学を融合させるための新たな連携体制の構築を通じて、遺伝子・細胞から精神・ヒト社会までの多階層にわたるストレス疾患の病因・病態形成機構解明と診断・予防・治療法の開発を推進し、ストレス社会における人類の健康増進に資する新しい医療や提言に向けた基盤構築を目指す。

事業の目的

生体は、外界から受ける多様なストレスを感知し適応・修復する機構を備えている。このような生物が持つしなやかさは、ストレスに対するレジリエンス機構（復元力・耐久力）と呼ばれ、多彩な環境下での生存を可能とする生物戦略として積極的に研究が進められてきた。一方、ヒトの現代社会においては、自然界からの生物学的なストレスだけではなく、過労、運動・睡眠不足、家庭・教育環境など、従来生物が直面してこなかったヒト固有の社会的ストレスが急速に蔓延しており、社会的ストレスによって引き起こされる様々な疾患が全世界的な問題となっている。従って、ヒト個体としてのストレスレジリエンスとその破綻による疾患機序を理解するためには、末梢の細胞・組織・臓器の各階層におけるストレスレジリエンス機構と脳・神経系による社会的ストレス感知機構との連携を明らかにする必要がある。

本事業では、生物学的ストレス性疾患研究に資する様々な研究試料・研究手法・多元的情報・基礎研究を提供・推進してきた難治疾患共同研究拠点を基礎として、国内最大級レベルの精神・神経疾患リソースを有し診断・治療・予防法の開発とコホート研究を推進してきた東京都



医学総合研究所ならびに国立精神・神経医療研究センターとの連携体制を形成することにより、従来の生物学的ストレス研究を現代社会型ストレス研究に展開するための学際研究ハブを構築する。国内・国外研究者や研究機関・学会との共同研究・共催シンポジウムを通して、遺伝子・細胞から個体・社会まで一貫貫した多階層ストレス疾患学際研究領域の全国的な底上げを図り、階層横断型のストレス研究推進を担う次世代研究者の教育・育成を行うとともに、人類の健康増進に資する新しい医療や行政施策への提言基盤の形成を目指す。

2023年度の活動

- ・ 難治疾患研究所に学際領域展開ハブ運営委員会を設置した（構成：所長、内部委員5名、外部委員4名）
- ・ 各参画機関の事業参加者を確定した
- ・ 各機関が保有する公共リソースを整理・共有し、展開ハブHPからアクセスできる体制を整えた。
- ・ 難治疾患研究所内に3機関連携推進を担う支援室を開設した。
- ・ 本事業を推進するためのプロジェクト助教、技術補佐員を公募した。
- ・ 難治疾患研究所の若手研究者を対象とした所内助成研究を公募し、3課題を採択した。

シンポジウムおよび市民公開講座

第21回駿河台国際シンポジウム・第18回生命医科学研究者ネットワーク国際シンポジウム・第2回高深度オミクス医学研究拠点整備事業シンポジウム
(2023年10月5日及び6日開催)

「多階層ストレス疾患の克服」キックオフシンポジウム
(2024年2月27日開催)

難治疾患研究所市民公開講座

最先端生命科学講座シリーズ第34回

(2023年6月23日開催)

東京医科歯科大学 難治疾患研究所
難研50周年記念 市民公開講座
— 最先端生命科学講座シリーズ 第34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・血管病、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年から、文部科学大臣により難治疾患の全国共同研究拠点を認定されています。本市民公開講座では、最先端の研究内容を一般の方々にわかりやすく紹介します。
※本公開講座は医療講演ではありません。

日時 2023年 6月23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 幹細胞の生存戦略
講師 田賀 哲也 (難治疾患研究所 教授)

幹細胞は、様々な細胞へと分化する多分化能を発揮しながらも自身が維持されるための自己複製能を併せ持ちます。西洋建築で壁をくぼませて大切な梁などを置くために作った空間をニッチと呼びますが、幹細胞の研究分野でも自己複製に重要な微小環境をニッチと表現します。本講演では最近明らかになってきた、幹細胞が自身にとって居心地のよいニッチを自ら構築するという生存戦略の仕組みも交えて、幹細胞について考察します。

講演2 細胞内シグナルから疾患発症メカニズムを解く
講師 溢谷 浩司 (難治疾患研究所 教授)

細胞の運命決定は細胞外に存在する様々なシグナルを個々の細胞が細胞内シグナル伝達を介して行われています。このシグナル伝達経路の理解がさまざまな疾患の発症機構を明らかにすることにつながると考えられています。本講演では、この細胞内シグナル伝達経路がなぜ疾患発症の理解に結びつくのか、解説します。

●6/19(月)23:59まで：定員50名・参加費無料・15歳以上対象(中学生を除く)
公益財団法人文京アカデミーHP (<https://www.b-academy.jp/manabi/lecture/science.html>) からお申し込みください。
03-5803-0003 文京区春日1-16-21 アカデミー文京 学術推進課 TEL: 03-5803-1119 (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、学習院大学、北里大学と連携し、地域のみならず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35回

(2023年10月27日開催)

東京医科歯科大学 難治疾患研究所
難研50周年記念 市民公開講座
— 最先端生命科学講座シリーズ 第35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・血管病、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年から、文部科学大臣により難治疾患の全国共同研究拠点を認定されています。本市民公開講座では、最先端の研究内容を一般の方々にわかりやすく紹介します。
※本公開講座は医療講演ではありません。

日時 2023年 10月27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 AIで解き明かす！微小世界のスリリングな細胞の戦いと協力の物語
講師 島村 徹平 (難治疾患研究所 教授)

近年の人工知能 (AI) の進化は目を見張るものがありますが、それが生命の神秘を解明する手助けとなっているのをご存知でしょうか。本講演では、AIと最先端のシングルセル解析を駆使して明らかとなった、私たちの体の中で繰り返される細胞たちの舞台裏の物語について紹介します。

講演2 新型コロナウイルスとその先にあるmRNAワクチンの未来
講師 内田 智士 (難治疾患研究所 教授)

新型コロナウイルスに対して高い有効性を示した mRNA ワクチンは、他の感染症に対するワクチンのほか、がん細胞を攻撃するための免疫を誘導するがんワクチンとしても期待されています。一方で、強い副反応など課題もあります。本講演では、mRNA ワクチンの未来を楽しく研究開発について紹介します。

●10/23(月)23:59まで：定員50名・参加費無料・15歳以上対象(中学生を除く)
公益財団法人文京アカデミーHP (<https://www.b-academy.jp/manabi/lecture/science.html>) からお申し込みください。
03-5803-0003 文京区春日1-16-21 アカデミー文京 学術推進課 TEL: 03-5803-1119 (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、学習院大学、北里大学と連携し、地域のみならず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36回

(2024年2月22日開催)

東京医科歯科大学 難治疾患研究所
難研50周年記念 市民公開講座
— 最先端生命科学講座シリーズ 第36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・血管病、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年から、文部科学大臣により難治疾患の全国共同研究拠点を認定されています。本市民公開講座では、最先端の研究内容を一般の方々にわかりやすく紹介します。
※本公開講座は医療講演ではありません。

日時 2024年 2月22日(木) 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 脳が燃える！？ 脳の病気と炎症のはなし
講師 七田 泰 (難治疾患研究所 教授)

脳の病気は回復が難しく、治療方法が少ないことが知られています。脳神経や精神の病気では、脳の炎症が関係していることが分かっていますが、このような炎症を引き起こすのは免疫細胞たちです。それでは、どのようにして免疫細胞は脳内の炎症を引き起こすのでしょうか、一緒に考えてみましょう。

講演2 母体の不思議～妊娠期の体の変化を細胞レベルで理解する～
講師 豊島 文子 (難治疾患研究所 教授)

妊娠期には、母体の様々な器官が形態と機能を変化させます。子宮・乳房・胎盤といった生殖器官だけでなく、脳・腸・皮膚・肝臓などの非生殖器官も大きく変化し、胎児の成長を支える母体環境を整えます。本講演では、妊娠期における非生殖器官のリモデリング機構と胎児発生の関係性について紹介します。

●2/19(月)23:59まで：定員50名・参加費無料・15歳以上対象(中学生を除く)
公益財団法人文京アカデミーHP (<https://www.b-academy.jp/manabi/lecture/science.html>) からお申し込みください。
03-5803-0003 文京区春日1-16-21 アカデミー文京 学術推進課 TEL: 03-5803-1119 (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、学習院大学、北里大学と連携し、地域のみならず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 (難治疾患研究所の主な成果)

主な研究者*	研究テーマ	論文名	掲載誌
清水重臣 教授 (病態細胞生物学分野) 辻岡政経 プロジェクト講師 (同上)	DNA 損傷ストレスによる新たな細胞応答メカニズムの解明 —がん悪性化を促進する細胞接着のストレス応答—	Identification of a novel type of focal adhesion remodelling via FAK/FRNK replacement, and its contribution to cancer progression	Cell Death & Disease
二階堂愛 教授 (ゲノム機能情報分野) 笹川洋平 准教授 (同上)	最前線で胃を守れ —胃粘膜を保護する幹細胞分化制御のしくみを解明—	Single-cell transcriptomics uncovers EGFR signaling-mediated gastric progenitor cell differentiation in stomach homeostasis	Nature Communications
二階堂愛 教授 (ゲノム機能情報分野)	芽を生み出すかどうか、植物カルス細胞の分化を運命づける因子をつきとめた植物の器官再生能力を制御する新たな仕組みを発見 —農作物の組織培養効率を飛躍的に改善する技術開発に期待—	WUSCHEL-RELATED HOMEBOX 13 suppresses de novo shoot regeneration via cell fate control of pluripotent callus	Science Advances
清水重臣 教授 (病態細胞生物学分野)	オートファジー活性測定が可能な蛍光試薬の開発 —オートファジーや GOMED の進行度を可視化できる新手法の開発—	Development of small fluorescent probes for the analysis of autophagy kinetics	iScience
内田智士 教授 (先端ナノ医学分野)	「くし型 mRNA」の創成と、がん mRNA ワクチンとして新たながん治療に繋がるその細胞性免疫について —米国科学アカデミー紀要 PNAS に掲載—	Comb-structured mRNA vaccine tethered with short double-stranded RNA adjuvants maximizes cellular immunity for cancer treatment	Proceedings of the National Academy of Science in USA (PNAS)
七田 崇 教授 (神経炎症修復学分野) 酒井誠一郎 助教 (同上) 中村朱里 大学院生 (同上)	脂肪酸代謝を介した脳の修復メカニズムを発見 —脂質を投与することにより脳梗塞後の神経症状が改善—	PLA2G2E-mediated lipid metabolism triggers brain-autonomous neural repair after ischemic stroke	Neuron
岡澤 均 教授 (神経病理学分野) 藤田慶太 非常勤講師 (同上)	パーキンソン病原因タンパク質・ α シヌクレインの新しい伝播様式 —脳内リンパ系による非凝集 α シヌクレインの速い拡散—	Mutant α -synuclein propagates via the lymphatic system of the brain in the monomeric state	Cell Reports
清水重臣 教授 (病態細胞生物学分野) 鳥居 暁 プロジェクト准教授 (同上)	PARK22 遺伝子変異によるパーキンソン病の発症メカニズムの解明 —異常な α -シヌクレインのリン酸化を誘導する新たな経路—	Involvement of casein kinase 1 epsilon/delta (Csnk1e/d) in the pathogenesis of familial Parkinson's disease caused by CHCHD2	EMBO Molecular Medicine
田賀哲也 教授 (幹細胞制御分野) 信久幾夫 非常勤講師 (同上) Melig Gerel 大学院生 (同上)	胎生期の造血幹細胞の増殖・維持に寄与する新規遺伝子の同定 —造血幹細胞を生体外で増殖する技術開発への期待—	A Sox17 downstream gene Rasip1 is involved in the hematopoietic activity of intra-aortic hematopoietic clusters in the midgestation mouse embryo	Inflammation and Regeneration
仁科博史 教授 (発生再生生物学分野) 小藤智史 講師 (同上) 岡本好海 助教 (同上) Jing Pu 特任助教 (同上)	原始線条形成制御因子としてセラミドを同定 —ノックアウトマウスデータベースと in vitro 細胞分化誘導系の活用—	Lethal phenotype-based database screening identifies ceramide as a negative regulator of primitive streak formation	Stem Cells
岡澤 均 教授 (神経病理学分野)	脊髄小脳失調症の DNA 損傷修復における 2 つの仕組み —Rpa1 による遺伝子治療の基盤メカニズムを解明—	Antagonistic roles of canonical and alternative RPA in tandem CAG repeat diseases	Cell
梶 康一 講師 (幹細胞制御分野) 室田吉貴 助教 (同上)	膵がん幹細胞の生存環境を擬態するバイオ機能性ハイドロゲルの開発に成功 —がん微小環境の新たな標的探索手法として様々ながん種への応用に期待—	A niche-mimicking polymer hydrogel-based approach to identify molecular targets for tackling human pancreatic cancer stem cells	Inflammation and Regeneration
岡澤 均 教授 (神経病理学分野) 本間秀典 プロジェクト准教授 (同上) 田中ひかり 講師 (同上) 吉岡優希 大学院生 (同上) ジュリアナ 谷口 ボッソ 大学院生 (同上)	シャルコー・マリー・トゥース病のゲノム編集による治療法シーズを開発 —ゲノム編集で PMP22 遺伝子領域の重複を正常化する—	AAV-mediated editing of PMP22 rescues Charcot-Marie-Tooth disease type 1A features in patient-derived iPSC Schwann cells	Communications Medicine
松田憲之 教授 (機能分子病態学分野) 山野晃史 准教授 (同上) 澤田百葉 大学院生 (同上)	損傷ミトコンドリアがオートファジーで選択的に分解される作用機序を解明 —ALS の原因タンパク質がオートファジーの初期膜形成に必須—	Optineurin provides a mitophagy contact site for TBK1 activation	EMBO Journal

島村徹平 教授 (計算システム生物学分野) 小嶋泰弘 連携研究員 (同上)	深層生成モデルを活用した細胞共局在ネットワーク解析ツール「DeepCOLOR」を開発 —細胞間コミュニケーションの全体像解明から、創薬・疾患の超早期予測への応用にも期待—	Single-cell colocalization analysis using a deep generative model	Cell Systems
内田智士 教授 (先端ナノ工学分野) 持田祐希 講師 (同上)	脾臓に mRNA を送り届け、ワクチンへ応用 —核酸工学を応用した mRNA 送達システムの開発—	Poly (ethylene glycol) (PEG) -oligoRNA hybridization to mRNA enables fine-tuned polyplex PEGylation for spleen-targeted mRNA delivery	Small Science

*職名・所属：研究当時



各種受賞

2023 年難治疾患研究所優秀論文賞

最優秀論文賞

中村 朱里 (神経炎症修復学分野)

PLA2G2E-mediated lipid metabolism triggers brain-autonomous neural repair after ischemic stroke

Neuron

七田 崇

優秀論文賞

鳥居 暁 (病態細胞生物学分野)

Involvement of casein kinase 1 epsilon/delta (Csnk1e/d) in the pathogenesis of familial Parkinson's disease caused by CHCHD2

EMBO Molecular Medicine

金山 剛士 (生体防御学分野)

Myeloid-like B cells boost emergency myelopoiesis through IL-10 production during infection

Journal of Experimental Medicine

特許

神経炎症修復学分野

発明の名称：脳損傷の治療用の医薬組成物

出願番号：特願 2023-44551

発明者・出願人：津山 淳、七田 崇

出願日：2023 年 3 月 27 日

学位取得者

分子構造情報学分野

全熙斌

「Studies on the Crystal Structure and Molecular Recognition Mechanism of human CD72-CTLD」

神経病理学分野

金美花

「Tau activates microglia via the PQBP1-cGAS-STING pathway to promote brain inflammation」

金曉岑

「PQBP5/NOL10 maintains and anchors the nucleolus under physiological and osmotic stress conditions」

分子神経科学分野

Zhao Di

「Elimination of CTG repeat expansions using CRISPR-Cas3 in cellular models of myotonic dystrophy type 1」

生体防御学分野

泉湧太

「An antibody-drug-conjugate that selectively targets human monocyte progenitors for anti-cancer therapy」

病態細胞生物学分野

小川千奈見

「肝臓特異的 Beclin1 ノックアウトマウスの解析」

難研セミナー

2023年度大学院生研究発表会・若手研究者研究発表会

2024年3月12日

莊 兆輝 (ゲノム機能多様性分野)

Double homeobox protein 4 (DUX4) 遺伝子の新しいジェノタイプング方法の確立

川越 凜 (ゲノム機能情報分野)

ヒト iPS 細胞を用いたマイクロエキソン検出系の確立

岡 風吹 (病態生理化学分野)

イノシトールリン脂質の新規合成経路の発見

菊池 雄翔 (病態生理化学分野)

「Heat Shock Lipid」の探索

島田 康介 (医化学分野)

自然炎症制御機構の解明を目指したマクロファージ細胞株の確立

2023年度難治疾患研究所研究助成採択者講演会

2024年3月12日

小島 和華 (機能分子病態学分野)

新規オートファジー関連因子を原因とするヒト神経疾患の発症メカニズム解明

佐藤 卓 (代理講演者: 梶木俊聡) (生体防御学分野)

CRISPR スクリーニングによる治療抵抗性ヒト扁平上皮癌の新規治療標的探索

仁部 洋一 (病態細胞生物学分野)

Golgi membrane-associated degradation (GOMED) の異常に起因する超早期発症型炎症性腸疾患の治療開発

申 珉京 (病態細胞生物学分野)

新規オートファジーの異常による神経変性疾患の同定と解析

鳥居 暁 (病態細胞生物学分野)

家族性パーキンソン病 (PARK22) 変異による発症メカニズムの解明と治療化合物の開発研究

上田 真保子 (ゲノム機能多様性分野)

ロングリードシーケンシングによる新規疾患関連コーディング遺伝子の同定

小松谷 史香 (機能分子病態学分野)

p97/VCP 関連因子によるペルオキシソームの新奇品質管理機構の解明

小藤 智史 (発生再生生物学分野)

神経機能低下を原因とする加齢依存的な肝再生不全の分子機構の解明

金山 剛士 (生体防御学分野)

造血幹前駆細胞の機能獲得を可能にする新規メカニズムの解明

田中 ひかり (神経病理学分野)

高カロリー食負荷がシナプス関連転写調節分子 PQBP1 を介した認知機能制御にもたらす影響

2023年難治疾患研究所優秀論文賞受賞者講演会

2024年3月12日

金山 剛士 (生体防御学分野)

Myeloid-like B cells boost emergency myelopoiesis through IL-10 production during infection

鳥居 暁 (病態細胞生物学分野)

Involvement of casein kinase 1 epsilon/delta (Csnk1e/d) in the pathogenesis of familial Parkinson's disease caused by CHCHD2

中村 朱里 (神経炎症修復学分野)

PLA2G2E-mediated lipid metabolism triggers brain-autonomous neural repair after ischemic stroke

難研セミナー／難治疾患共同研究拠点セミナー

第629回／第205回

高松 信彦

(北里大学)

シマリスを用いた哺乳動物の冬眠の研究の紹介

2023/5/12

第630回／第206回

嘉藤 洋陸

(東京慈恵会医科大学 医学部)

生物機能を活用した難治性疾患治療の新時代

2023/5/25

第631回／第207回

神元 健児

(Washington University in St. Louis, Department of developmental Biology)

Single cell omics データからの遺伝子ネットワークの構築による細胞の運命制御の解析

2023/7/31

第632回／第208回

永田 雅大

(CECAD Research Center, University of Cologne)

Function of pore forming proteins in caspase-8-mediated cell death and inflammation

2023/7/13

第638回／第214回

John Silke

(The Walter and Eliza Hall Institute)

Cell death, inflammation, wounds and hypoxia

2023/11/16

第639回／第215回

山田 幸司

(東京慈恵会医科大学)

小胞体を起点とした新規細胞質タンパク質分泌 CUPS の発見と肝がん研究

2024/2/5

未来生命科学研究部門

Division of Visionary Life Science

未来生命科学研究部門は、生命現象の基本的なメカニズムの研究を通じて、新しい医療を切り拓くことを理念とします。この理念に基づいて、疾患 ES 細胞／iPS 細胞、がん幹細胞、オルガノイドや疾患モデル動物、質量分析技術を含む最先端の生物試料や手法を開発・駆使することで、難治疾患の病因の発見、病態の解明、ならびに、診断法・治療法・予防法の開発基盤を築きます。疾患の学理と応用の研究を展開し、本学の指定国立大学法人化に伴い掲げられた「創生医学研究」の推進に貢献します。未来生命科学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す。

[医化学分野]

- 細胞膜リン脂質の分布を制御する新しい膜脂質移層分子の同定
- 同定した膜脂質移層分子の Cryo-EM 構造の決定

[病態生理化学分野]

- マウス骨格筋のホスホイノシタイドプロファイルが老化に伴い変化することを見出した
- 肝臓がんの発症に関わるリン脂質代謝酵素を見出した

[発生再生生物学分野]

- ヒト眼発生に必須な新規転写複合体因子を発見した

[分子細胞生物学分野]

- GID 分子が β -カテニンの分解を介して Wnt シグナル制御に関与することを明らかにした

[幹細胞制御分野]

- 神経幹細胞ニッチ機能性合成ポリマーの開発
- 胎生期の造血幹細胞の増殖・維持に寄与する新規遺伝子 Rasip1 の同定
- ニッチ擬態性ポリマーハイドロゲルを用いた膵がん幹細胞標的分子の同定

[恒常性医学分野]

- 妊娠中期の門脈域肝細胞の増殖が妊娠糖尿病の回避に重要であることを見出した

未来生命科学研究部門 医化学分野

教授：瀬川勝盛 助教：宮田佑吾 外国人特別研究員：Sultan Cheryl Sophia
技術補佐員：栗林梨沙、西本萌恵 秘書：澤田千賀子

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。医化学分野では、細胞のさまざまな膜脂質移層分子を同定し、その生理機能とヒトにおける病態学的意義を明らかにする研究を進めている。また、自然免疫細胞がもつ自己分子寛容機構についての研究も進めている。

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。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、名古屋大学の阿部一啓博士らのグループとの共同研究により 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。また、2021 年には東北大学小児科、呉繁夫教授らとの共同研究により、神経学的退行を示す患者に発見されたフリッパーゼ ATP11A の点変異を見出し、点変異によりフリッパーゼの基質特異性が変化し、変異体が PtdCho をフリップすることを報告した。このことは、構成的な細胞膜 PtdCho の移層が個体にとって有害となることを示唆した。

2. 4 つのフリッパーゼによる細胞膜 PtdSer の非対称分布維持機構

P4-ATPase は酵母では 5 種類、ヒトやマウスでは 14-15 種類のファミリーメンバーで構成される。これらのメンバーの中で、PtdSer や PtdEtn を移層するフリッパーゼ活性がリコンビナントタンパク質と細胞を用いたアッセイの両方で検出されているのは ATP8A1、ATP8A2、ATP11A、ATP11B、ATP11C の 5 つである。ATP8A2、ATP11A、ATP11C は細胞膜に、ATP8A1 と ATP11B は主にエンドソームやゴルジ体に局在する。また、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、ATP8A1、ATP11A、ATP11B、ATP11C は全身の臓器にユビキタスに発現する。これらのメンバーは CDC50A と結合することで初めて、細胞膜やエンドソームへと移行し、PtdSer と PtdEtn を細胞質側へ移層することができる。一方で、PtdSer や PtdEtn 以外の膜脂質を一方向に移層するフリッパーゼも報告されつつある。ATP8B1 は、家族性肝内胆汁うっ滞症の原因となる遺伝子であるが、PtdCho やリゾ PtdCho を移層する可能性が報告されている。また、ATP10A も PtdCho を移層する活性が報告されている。2022 年に、我々は、ATP8A1-ATP11A-ATP11B-ATP11C を四重欠損した T 細胞株では、一過的に露出した PtdSer は 37 度において数時間もの間全く内層へ移層されないことを報告した。この四重欠損細胞に、細胞膜フリッパーゼの ATP11A や ATP11C を発現させる

と、露出した PtdSer は 37 度においても 15 度においても 5 分以内にすべてが速やかに内層へ戻され、非対称分布が再構築された。対照的に、エンドソーム局在する ATP8A1 や ATP11B を発現させた場合、露出した PtdSer は 15 度では内層に戻らず、37 度において 30-60 分をかけて非対称分布が構築された。この再構築活性は、ダイナミンの阻害剤で抑制されたことから、ATP8A1 と ATP11B はエンドサイトーシスなどの膜輸送を介して細胞膜 PtdSer の非対称性を再構築することが明らかとなった。多くの細胞では、エンドソームと細胞膜のフリッパーゼを合わせもつことから、細胞膜 PtdSer の非対称分布は二つの独立したシステムで維持されていることが示唆された。酵母においては、Drs2p が PtdSer を移層するフリッパーゼであり、主にエンドソームやゴルジ体に局在する。哺乳動物において Drs2p のオルソログは ATP8A1 であるが、進化の過程でさらに ATP11A、や ATP11C を獲得してきた。哺乳動物の複雑な高次機能を保障するために、ユビキタスに発現する細胞膜常在タイプのフリッパーゼ、あるいは PS 露出の後に非対称性をすみやかに再構築する活性が必要になってきたと想定される。実際に、細胞膜フリッパーゼの欠損や変異がマウスやヒトに重篤かつ多様な疾患を発症させることから、すみやかな非対称性の再構築が生理的に極めて重要であることが示されている。あるいは、ATP8A1 や ATP11B は、細胞膜フリッパーゼの喪失 (5 分以内に PS の非対称分布を樹立する機能) を代償できないことを示している。一方、この四重欠損細胞は、細胞膜 PtdSer の非対称分布は保持されていた。この結果は、細胞膜とエンドソームのフリッパーゼに依存しない経路で、細胞膜 PtdSer の非対称分布が構築されていることを示唆した。

3. 新規リン脂質移層分子の同定

これまでの研究から、二つのタイプのリン脂質移層分子や経路の存在が予想された。一つは細胞膜 PtdCho の分布を制御する分子の存在であり、もう一つは細胞膜とエンドソームのフリッパーゼに依存しない、PtdSer 非対称分布の樹立機構である。本年度、これらの分子の同定を試みた。先述の通り (1)、ATP11A-Q84E 変異体による PtdCho の構成的な移層は細胞と個体に有害である。我々は、この独自の系を用いて細胞膜の PtdCho の移層に関与する分子の同定を試みた。ATP11A-Q84E を発現する細胞の遺伝子を CRISPR-Cas9 システムを用いてランダムに欠損させ、セルソーターを用いて細胞膜の PtdCho の取り込み速度を測定し、取り込み速度が大き

く上昇した細胞を回収した。この変異細胞で欠損している遺伝子を deep sequencing 法で解析した結果、細胞膜 PtdCho の移層に関与する新規遺伝子を同定することに成功した (Miyata et al, in revision)。この分子は、細胞膜リン脂質の組成変化を伴った膜構造の曲率や膜圧の変化によって、自身の構造を変化させ PtdCho を移層した (Miyata et al, in revision)。さらに、同定した遺伝子を欠損させたリンパ球系細胞は、細胞膜外層の PtdCho が減少し、逆に SM が増加していた。この結果は、同定した分子が、細胞膜の PtdCho と SM の分布を制御する分子であることを示唆した。現在、同定した分子が細胞において、いつ、どのようなタイミングで活性化し PtdCho と SM の分布を調節しているのか、その詳細な分子機構の解析を進めている。

もう一つは、細胞膜とエンドソームのフリッパーゼに依存しない PtdSer 非対称分布樹立機構の解明である。先述の通り (2)、細胞膜とエンドソームのフリッパーゼ四重欠損細胞は、一過的に細胞表面に PtdSer を露出するとその後、数時間に渡り PtdSer を露出し続ける。一方、四重欠損細胞は定常状態では細胞膜 PtdSer の非対称分布を維持していた。そこで、四重欠損細胞の遺伝子を CRISPR-Cas9 システムを用いてランダムに欠損させ、セルソーターを用いて細胞膜に定常状態で PtdSer を露出した細胞を回収した。この変異細胞で欠損している遺伝子を deep sequencing 法で解析した結果、細胞膜 PtdSer の非対称分布に関与する新規遺伝子を同定することに成功した。この分子は多重膜貫通タンパク質で、小胞体に局在していた。現在、同定した分子が小胞体において、どのように細胞膜 PtdSer の非対称分布を制御するのか、その分子機構の解析を進めている。

4. 自然免疫細胞がもつ自己分子寛容機構の解析

リン脂質移層分子の研究に加え、自然免疫についての研究を進めている。マクロファージなどの自然免疫細胞は、自己と非自己の生体物質をさまざまな分子を用いて認識し、非自己に特異的に反応する。ところが最近、非自己を認識する分子は、さまざまな局面で自己の分子にも反応することが知られつつある。生体内のマクロファージは、常に死を遂げた自己の細胞や細胞に由来する小胞などを大量に貪食し、リソソームにおいて処理しているが、免疫反応を惹起させることはない。これは、自己分子に対しての寛容機構と考えることも可能である。現在、一型インターフェロンレポーターを安定発現したマイクログリア株を樹立し、自己分子寛容機構の解析を進めている。

人事異動

転入:白木 優 (短期交流学生)、長田 紋耶 (短期交流学生)、西村 萌 (短期交流学生)
転出:なし

未来生命科学 研究部門 病態生理化学分野

教授：佐々木雄彦 教授（キャリアアップ）：佐々木純子
 助教：長谷川純矢 技術補佐員：山本利義
 プロジェクト助教：徳田恵美、森岡真 学振特別研究員：柳井翔吾

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おり、また、老化と加齢性疾患の病態におけるホスホイノシタイド代謝の意義を研究している（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“phosphoinositide regioisomer measurement by chiral column chromatography and mass spectrometry”（PRMC-MS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}P 無機リン酸や ^3H イノシトールでラベルした培養細胞からの抽出リン脂質を解析対象として、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

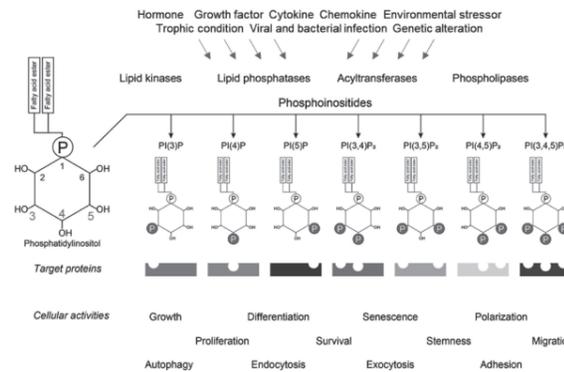


図1 ホスホイノシタイド

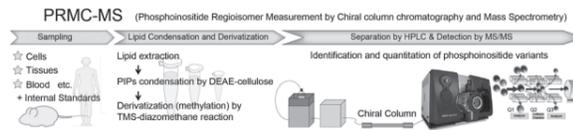


図2 ホスホイノシタイド包括測定技術

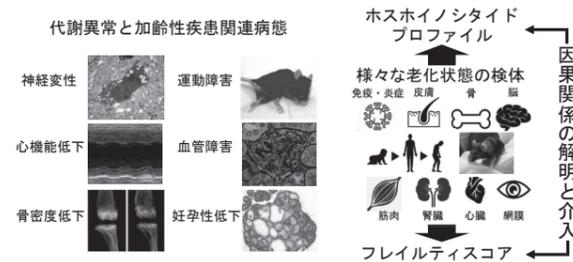


図3 Aging Hallmarkとしてのホスホイノシタイドの探求

タイドの濃縮、化学修飾による安定性の向上、異なる原理のカラムクロマトグラフィー、質量分析計の高感度化といった技術要素を積み重ねることで、リン酸化パターンの違いによって生ずる8クラスのホスホイノシタイドの測定方法が世界で初めて確立した（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. 細胞・個体老化におけるホスホイノシタイド変容の意義

老化は様々な生命現象に影響を与え、疾患発症リスクを高める。同様に、ホスホイノシタイドも多様な細胞機能と病態に関与する。一部のホスホイノシタイド代謝酵素遺伝子がカロリー制限による寿命延伸に関与することが示されている。例えば、ホスホイノシタイド3-キナーゼ α は線虫の長寿遺伝子 *age-1* として古くに同定されている。しかしながら、ホスホイノシタイド代謝系を包摂した老化研究は進んでおらず、老化制御性リン脂質分子も発見されていない。ホスホイノシタイドはリン酸化パターンとアシル基構造に多様性をもつ数百種類の分子種からなる生理活性リン脂質群である。生体内の様々な要因で各分子種の存在量に変化し、細胞・組織の機能が

人事異動

転入：佐々木純子（職位変更：教授（キャリアアップ））、柳井翔吾（職位変更：日本学術振興会特別研究員PD）、徳田恵美（職位変更：プロジェクト助教）、磯崎雅子（修士課程）、岡風吹（修士課程）、菊池雄翔（修士課程）、樊宇博（修士課程）、富樫ユリナ（研究生：本学3年）、堤智聖（研究生：慶應義塾大3年）、劉子齊（研究生：東京理科大4年）
 転出：王天（修士課程）、黄俊傑（修士課程）

研究業績

1. Chessa TAM *et al.*: PLEKHS1 drives PI3Ks and remodels pathway homeostasis in PTEN-null prostate. *Mol Cell* **83**, 2991-3009, 2023
2. Tran DM *et al.*: Attenuated cerebellar phenotypes in *Inpp4a* truncation mutants with preserved phosphatase activity. *Dis Model Mech* **16**(7): dmm050169, 2023
3. Kiyoki Y *et al.*: The fatty acid elongase *Elovl6* is crucial for hematopoietic stem cell engraftment and leukemia propagation. *Leukemia* **37**, 910-913, 2023

4. Iguchi A *et al.*: INPP5D Modulates TREM2 Loss-of-Function Phenotypes in a Mouse Model of Alzheimer Disease. *iScience* **26**, 106375, 2023
5. Miyake T *et al.*: Minimal upstream open reading frame of *Per2* mediates phase fitness of the circadian clock to day/night physiological body temperature rhythm. *Cell Rep.* **42**, 112157, 2023
6. Arihisa W *et al.*: Lipid-correlated alterations in the transcriptome are enriched in several specific pathways in the postmortem prefrontal cortex of Japanese patients with schizophrenia. *Neuropsychopharmacol Rep.* **43**, 403-413, 2023

未来生命科学研究部門 発生再生生物学分野

教授：仁科博史 講師：小藤智史 助教：岡本好海
プロジェクト助教：金山敬子 特任助教：Jing Pu（～9月）
技術補佐員：草場みずぎ、中川道子（4月～）、田村真統（7月～）
秘書：小藤香織 派遣職員：許梨香（～6月）

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経路がマウス脳の恒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

原始線条形成制御因子としてセラミドを同定

脊椎動物の初期胚では、すべての組織・器官は外胚葉、中胚葉、内胚葉の3つの胚葉から形成される。中胚葉と内胚葉は、胚盤葉上層が原始線条と呼ばれる細胞溝が形成されることで発生する。しかし、原始線条は一過性の微小組織であるため、その形成の分子メカニズムは不明な点が多い。本研究では、原始線条形成機構の制御因子を同定することを目的とした。原始線条形成不全が胎生致死であることに着目し、2種類のノックアウトマウスデータベースを活用した包括的スクリーニングを行った。その結果、原始線条形成を制御する可能性のある812種類の遺伝子を同定した。その中で最も多くの遺伝子（103遺伝子）が含まれたカテゴリーは「物質代謝」であった。それらの遺伝子を機能面で分類すると、グルコース代謝、ミトコンドリア代謝、核酸代謝、そして脂質代謝を制御する遺伝子だった。我々は以前の研究においてメバロン酸代謝を阻害すると、スフィンゴミエリンやスフィンゴシンといったスフィンゴ脂質の量が変化することを見出していたが、その生物学的意味は不明だった。スクリーニングによって得られた遺伝子の中にはスフィンゴ脂質代謝関連酵素が3つ含まれていた。そこで、本研究では、このスフィンゴ脂質代謝に着目した。生体内で原始線条を解析することは実験的にも、動物愛護の観点からも困難であったため、*in vitro* マウス

ES細胞分化誘導系を用いて、原始線条形成におけるセラミド代謝の役割を調べた。胚様体を細胞膜透過性のセラミドで処理し、細胞内のセラミド量を上昇させたところ、胚様体の心筋細胞への分化が抑制され、また同時に神経細胞への分化が促進された。本分子機構を調べるために、遺伝子発現解析を行ったところ、セラミドが原始線条形成に必須な遺伝子の発現を抑制し、代わりに神経分化関連遺伝子の発現を誘導した。また、セラミド処理の細胞内代謝物への影響を調べたところ、セラミド処理が細胞内の代謝物の量を顕著に変化させることが明らかとなった。このうち、最も変化した代謝経路は近接するスフィンゴ脂質代謝とグリセロリン脂質代謝だった。以上の結果より、セラミドが遺伝子発現や細胞内代謝を変化させることで原始線条形成を抑制すること、また、原始線条形成抑制の結果、神経分化を誘導することが示唆された（図1）。

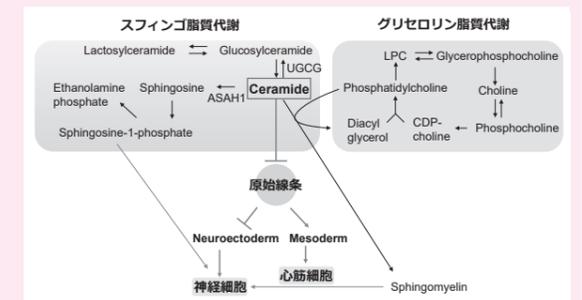


図1 セラミドによる原始線条形成制御のモデル図

人事異動

転入：中川道子（4月～）、田村真統（7月～）
転出：許梨香（～6月）

業績目録

原著論文

1. Jing Pu, Satoshi Kofuji, Yoshimi Okamoto-Uchida, Keiko Danzaki, Ruoxing Yu, Akira Suzuki, Satoshi Kitajima and Hiroshi Nishina

(2023) Lethal phenotype-based database screening identifies ceramide as a negative regulator of primitive streak formation. *Stem Cells* 41(12):1142-1156. doi: 10.1093/stmcls/sxad071.
2. Noriyuki Azuma, Tadashi Yokoi, Taku Tanaka, Emiko Matsuzaka, Yuki Saida, Sachiko Nishina, Miho Terao, Shuji Takada, Maki Fukami, Kohji Okamura, Kayoko Maehara, Tokiwa Yamasaki, Jun Hirayama, Hiroshi Nishina, Hiroshi Handa, and Yuki Yamaguchi (2023) Integrator complex subunit 15 controls mRNA splicing and is critical for eye

development. *Human Molecular Genetics* 32(12):2032-2045. doi: 10.1093/hmg/ddad034.
3. Hajime Tajima Sakurai, Hidefumi Iwashita, Satoko Arakawa, Alifu Yikelamu, Mizuki Kusaba, Satoshi Kofuji, Hiroshi Nishina, Munetaka Ishiyama, Yuichiro Ueno, and Shigeomi Shimizu (2023) Development of small fluorescent probes for the analysis of autophagy kinetics. *iScience* 26(7): 107218.

著書・総説

1. 仁科博史：分子細胞生物学 第9版（Lodish et al.）（翻訳分担）東京化学同人（2023）

未来生命科学研究所 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

WNK1は腎臓において下流のシグナル分子であるSPAK/OSR1を介してイオン濃度を調節している。WNK1遺伝子の変異は当経路の過剰な活性化を引き起こし、排出すべきイオンを再吸収してしまうことで、偽性低アルドステロン症Ⅱ型(PHAⅡ)とよばれる遺伝性高血圧症の原因となる。興味深いことに、一部のがんではWNK1の発現が転移や再発、生存率の低下と相関関係にあることも知られているが、その分子機構は不明な点が多い。一方、WNK1遺伝子には神経特異的に発現するアイソフォームWNK1/HSN2が存在し、WNK1/HSN2の変異は遺伝性感覚自律ニューロパチーⅡ型(HSANⅡ)と呼ばれる神経障害を引き起こす。これまで本疾患の患者において多くの変異体が報告されているが、その機能および発症機構は全く分かっていない。当分野では、以上のようなWNK1の多岐に渡る生物学的機能の解明を目的としている。

研究紹介

HSANⅡは痛み、温度、触覚などの感覚が失われる遺伝性の神経障害であり、大部分の患者が手足の関節が変形する症状を発症する。また、感覚の喪失から傷の痛みを感じることができないため、早期の治療を行わないことが原因で潰瘍を伴うことも知られている。本疾患は神経特異的に発現するWNK1/HSN2遺伝子の変異が原因とされ、多くのWNK1/HSN2変異体が報告されているにも関わらず、その機能不全については全く分かっていない。そのためHSANⅡの発症機構を明らかにし、治療法を確立するためにも、患者由来WNK1/HSN2変異体の機能の解明が急務となっている。本研究では、実際の患者で報告されているWNK1/HSN2変異体の生化学的機能および神経分化に対する影響を解析した。

1. WNK1/HSN2変異体は、正常なWNK1やWNK1/HSN2および下流因子SPAK/OSR1との結合が阻害されることで、WNK1シグナル伝達経路を抑制する。

現在、HSANⅡ患者で報告されているWNK1/HSN2変異は約20種類であり、WNK1遺伝子に神経特異的に

挿入されるエクソン領域に生じることで、大部分のC末側を欠失したdeletion mutantを産生することが知られている。一方、WNK1はC末端のドメインを介してホモ二量体を形成し、自己リン酸化することで活性化することが報告されている。そこで、WNK1/HSN2変異体の生化学的機能を明らかにするため、正常なWNK1やWNK1/HSN2との結合を免疫沈降により調べたところ、WNK1/HSN2変異体はWNK1やWNK1/HSN2との結合が阻害されることが示された。また、下流因子であるSPAKおよびOSR1との結合も同様に阻害され、これらの結果からWNK1/HSN2変異体は神経においてWNK1シグナル伝達経路を活性化できないと推測される。そこで、マウス神経膠芽腫細胞Neuro2AにWNK1/HSN2変異体を発現させた際のSPAK/OSR1のリン酸化を調べたところ、NGF処理によるSPAK/OSR1のリン酸化レベルの増大が抑制された。したがって、WNK1/HSN2変異体は正常なWNK1やWNK1/HSN2およびSPAK/OSR1との結合が阻害されることで、WNK1シグナル伝達経路を不活化することが明らかとなった。

2. WNK1/HSN2変異体は、神経突起の伸長や神経分化を抑制する。

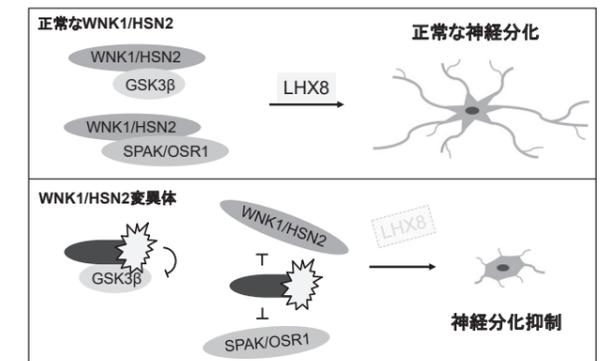
当分野の先行研究により、WNK1が神経分化を誘導することを明らかにしている(Sato A *et al.* PLoS One, 2013)。実際に、Neuro2A細胞にWNK1を発現することで、NGF処理による神経突起の伸長およびLhx8、ChATなどのコリン作動性神経分化マーカーの発現が促進され、WNK1/HSN2を発現させた際にも同様の結果が得られた。一方、WNK1/HSN2変異体を発現すると、NGFによる神経突起の伸長と神経分化マーカーの発現が抑制されることが示された。また、マウス胎児から回収した脳皮質ニューロンを用いて神経突起の伸長を解析したところ、Neuro2Aと同様の結果が得られた。よって、神経膠芽腫だけでなく正常な神経においてもWNK1やWNK1/HSN2が神経分化を促進し、一方でWNK1/HSN2変異体は神経分化を抑制することが明らかとなった。

3. WNK1/HSN2変異体は、GSK3βと優先的に結合しその機能を阻害するドミナントネガティブ変異体として機能する。

当分野の先行研究では、GSK3βがWNK1と共に神経分化を促進することも報告している(PLoS One, 2018)。そこで、GSK3βに対するWNK1/HSN2変異体の効果を調べた。まずGSK3βとの結合を調べると、WNK1およびWNK1/HSN2とGSK3βの結合が確認でき、WNK1/HSN2変異体はより強固にGSK3βと結合することが示された。また、WNK1およびWNK1/HSN2とGSK3βの結合はWNK1/HSN2変異体を発現させることで有意に減少したことから、WNK1/HSN2変異体はGSK3βと優先的に結合することで、正常なWNK1やWNK1/HSN2とGSK3βの結合を阻害すると示唆される。そこで、GSK3βによる神経分化の促進にWNK1/HSN2変異体が影響するのか解析を行った。先行研究でも報告したように、GSK3βをNeuro2A細胞に発現することで神経突起の伸長およびコリン作動性神経分化マーカーの発現が促進されたが、WNK1/HSN2変異体を発現させることでこれらの現象が抑えられることが示され

た。また、マウス胎児から回収した脳皮質ニューロンを用いても同様の結果が得られ、WNK1/HSN2変異体はGSK3βと優先的に結合することで、神経分化促進機能を阻害するドミナントネガティブ変異体として機能することが明らかとなった。

以上のように、本研究によりHSANⅡを引き起こすWNK1/HSN2変異体の神経分化における生化学的機能が明らかとなり、HSANⅡ発症機構の解明に寄与すると共に、新規治療薬開発の一助となることが期待される。



WNK1/HSN2変異体による神経分化抑制機構

研究業績

1. Goto, T., Michiue, T. and Shibuya, H. (2023). *ccl19* and *ccl21* affect cell movements and

differentiation in early *Xenopus* development. *Dev. Growth Differ.* 65, 175-189.

2. Nishita, M., Kamizaki, K., Hoshi, K., Aruga, K., Nishikaku, I., Shibuya, H., Matsumoto, K. and

Minami, Y. (2023). Rho family small GTPase Rif regulates Wnt5a-Ror1-Dvl2 signaling and promotes lung adenocarcinoma progression. *J. Biol. Chem.* 299, 105248.

未来生命科学研究部門 幹細胞制御分野

教授：田賀哲也 講師：梶康一 助教：室田吉貴 事務補佐員：牧野まや
技術補佐員：野寺真里花 技術補佐員：石川徹 (2023年8月から)

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. 神経幹細胞ニッチ機能性合成ポリマーの開発

神経幹細胞はニューロンおよびグリア細胞の前駆細胞として、中枢神経系の発生・発達および高次機能維持に不可欠であり、その枯渇や分化異常は様々な難治性神経疾患の要因となる。神経幹細胞はニッチと呼ばれる微小環境に存在し、ニッチから神経幹細胞維持のためのシグナルが伝えられるが、極めて複雑かつ多岐にわたるために、その分子基盤の包括的理解には至っていない。

本研究では、神経幹細胞ニッチを擬態する合成ポリマーを開発し、その疑似ニッチに配置された神経幹細胞が受ける細胞内シグナルを網羅的に同定するという新たな切り口でこの課題に取り組み、これまでにロンドン大学クイーン・メアリー校のMark Bradley教授との共同研究で、本来神経幹細胞の維持が困難な無血清かつ増殖因子無添加の培地においてもマウス神経幹細胞の維持を可能にする新規合成ポリマー PA518[MEMA:DEAEMA:St = 40:

30:30]の同定に成功している。

PA518による神経幹細胞維持の根底にある分子基盤を解明するための様々な実験系を構築するには、培養規模の拡大が必須である。そこで神経幹細胞の接着性や効率の自己複製の観点から、PA518モノマーの含有率を調節することでポリマー合成法の改良を行ったところ、特定のモノマー含有率で神経幹細胞の接着性と未分化性が向上することがわかった。本研究により、今後のPA518による神経幹細胞の未分化性維持作用の根底にあるシグナル経路の特定を行うツールを得ることができた。また、ポリマー合成法を改良することでニッチ機能がさらに向上する可能性につながる良好な端緒を得たことで、神経幹細胞の効率的な増幅技術の開発が期待できる。(図1)。

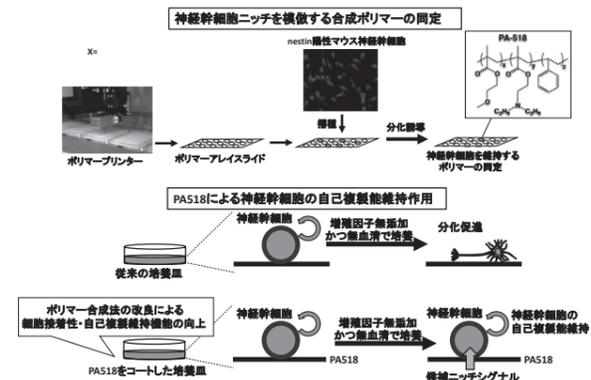


図1 神経幹細胞ニッチ模倣合成ポリマーの同定とヒットポリマーによる神経幹細胞自己複製能維持作用 (ポリマーの構造詳細は本文)

2. 胎生期の造血幹細胞の増殖・維持に寄与する新規遺伝子 Rasip1 の同定

哺乳類において、胎生期に最初に造血幹細胞が生じるのは、大動脈に存在する血液細胞と血管内皮細胞の共通の起源細胞から大動脈内腔に出芽するように形成される血液細胞塊である。我々は転写因子 Sox17 をこの血液細胞塊の構成細胞に導入すると培養皿上で細胞塊を形成しつつ造血幹細胞を維持できること、また、この現象には Sox17 が様々な遺伝子の発現を上昇させることが必要であることを報告したが、まだ未解明の部分が多く残されていた。本研究では、Sox17 が発現を誘導する遺伝子を同定することを目的として、血液細胞塊の Sox17

発現細胞および非発現細胞を回収し、遺伝子の発現を網羅的に解析した。その結果、Sox17 が発現している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として Ras interacting protein 1 (Rasip1) を見出した。Rasip1 は、マウスの胎仔において大動脈血液細胞塊の細胞膜に発現し、それらの一部の細胞では核内に Sox17 が共に発現していた。さらに、Sox17 が Rasip1 遺伝子の発現制御領域に直接結合して発現を誘導すること、また、Sox17 遺伝子を導入した血液細胞塊構成細胞に対して Rasip1 遺伝子の発現を減少させると、造血能が低下した一方で、血液細胞塊構成細胞に Rasip1 遺伝子を強制発現すると造血能の亢進が認められた。これらの結果から、Sox17 により発現が亢進した Rasip1 が、造血幹細胞を含む血液細胞塊形成および造血能維持に寄与することを示した(図2)。本研究の成果が、骨髄の造血幹細胞を生体外で増殖させ応用する技術開発への展開が期待される。

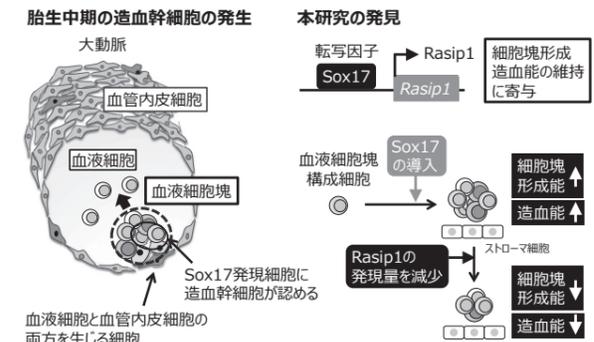


図2 Rasip1 が胎生期において造血幹細胞が最初に生じる血液細胞塊における細胞塊形成と造血能の維持に寄与することを明らかにした

3. ニッチ擬態性ポリマーハイドロゲルを用いた膵がん幹細胞標的分子の同定

ニッチは血管構成細胞や免疫細胞などの生物学的要素のみならず、酸素や pH などの化学的要素や足場の硬度や弾性などの物理的要素が複雑に絡み合って構成されており、これら複合要素を包括的に模倣する新たな解析手法の開発が喫緊の課題である。一方、従来より再生医

療分野において免疫原性の少ない生体適合性ポリマーが生体材料(バイオマテリアル)として開発されてきたが、ヒト ES・iPS 細胞やマウス成体造血幹細胞などの正常な幹細胞に対してニッチとして機能するポリマー(ニッチミミクリー)が存在する。本年度は、膵がんのがん幹細胞に対するニッチミミクリーを開発しその特性を解明することで、治療標的となり得る未知のニッチ因子を探索した(図3)。膵がん細胞株に存在しているがん幹細胞と非がん幹細胞を用いたポリマー microarray スクリーニングを実施した結果、がん幹細胞の特異的増殖を支持するアクリル系ポリマー PA531 が同定された。さらに PA531 を構成するモノマーの濃度や水の有無など各種反応条件を変化させた様々なハイドロゲルを合成してニッチ機能の最適化を行うことで、最終的に高活性のハイドロゲル PA531-HG4 を開発した。次にこの PA531-HG4 の作用機序を明らかにするためにゲル結合タンパク質の網羅的な解析を行ったところ、甲状腺ホルモン輸送タンパク質 SERPINA7 のような既知のがん関連分子に加えて、シスタチンスーパーファミリー分子 Fetuin-B や血圧調整酵素 Angiotensinogen などこれまでに報告のなかった新規の液性因子が複数同定された。特に術後検体における Fetuin-B と AGT の発現レベルは膵がん患者の予後と有意に相関しており、臨床的意義の高い治療標的候補と考えられた。

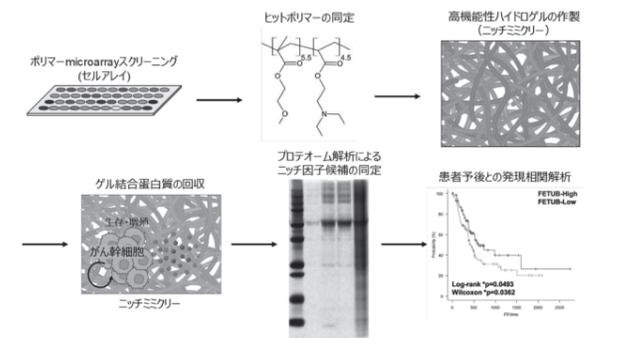


図3 がん微小環境を擬態するバイオ機能性マテリアルの開発とそれを用いた細胞外標的分子群の探索

研究業績

原著論文

Kashiwagi T, Takazawa Y, Kagawa T, Taga T. Organization of self-advantageous niche by neural stem/progenitor cells during development via autocrine VEGF-A under hypoxia. Inflamm

Regen 43(1):8, 2023

Melig G, Nobuhisa I, Saito K, Tsukahara R, Itabashi A, Kanai Y, Kanai-Azuma M, Osawa M, Oshima M, Iwama A, Taga T. A Sox17 downstream gene Rasip1 is involved in the hematopoietic activity of intra-aortic hematopoietic clusters in the midgestation mouse embryo.

Inflamm Regen 43(1):41, 2023

Murota Y, Nagane M, Wu M, Santra M, Venkateswaran S, Tanaka S, Bradley M, Taga T, Tabu K. A niche-mimicking polymer hydrogel-based approach to identify molecular targets for tackling human pancreatic cancer stem cells Inflamm Regen 43(1):46, 2023

未来生命科学研究部門 恒常性医学分野

教授：豊島文子

研究内容

生体内の各臓器は、ライフステージの進行に伴い形態と機能を変化させる。例えば妊娠期には、母体の様々な臓器がリモデリングされ、胎児の成長を支えるための母体環境を整える。老化や肥満では、慢性炎症を伴う病的な臓器リモデリングが誘発される。当分野では、体の生理的な変化やストレスに応答した臓器リモデリング機構を解明し、体の恒常性を維持する仕組みとその破綻による疾患発症の理解を目指す。また、生体に備わる臓器リモデリング機構を利用した再生医療やアンチエイジング技術の開発を進めている。

研究紹介

1. 妊娠期において母体腹部皮膚が広がる仕組み

妊娠期には、母体の様々な臓器のサイズが変化する。この臓器サイズの変化は、妊娠期特有の代謝機能の獲得や胎児の発生を支える母体機能に必須であるが、その調節機構は不明である。近年、妊娠期には、神経幹細胞、乳腺幹細胞、造血幹細胞など、母体の様々な組織幹細胞の増殖・分化が亢進することが明らかとなり、母体の臓器サイズ調整における組織幹細胞の役割が注目されつつある。

当研究室では、胎児の成長に伴う母体腹部の皮膚伸展機構について研究を進めてきた。これまでに、妊娠マウスの腹部皮膚において、表皮幹細胞から高い増殖能を持つ細胞が表皮基底層に産生されることを見出した。この細胞群は、転写因子 Tbx3 を発現しており、腹部表皮特異的に Tbx3 をノックアウト (Tbx3cKO) すると高増殖性細胞が減少し、妊娠に伴う皮膚伸展が顕著に抑制された。この Tbx3 陽性基底細胞は、妊娠期に真皮で増加する α -SMA/vimentin 陽性細胞からの分泌シグナル (Igfbp2 など) によって誘導されることから、真皮-表皮の相互作用による皮膚の伸展機構の存在が明らかとなった。さらに、Tbx3 陽性基底細胞は血管依存的に幹細胞性を維持する特徴があり、妊娠期には体表血管の増加に依存して出現し、出産後には血管退縮とともに分化して表皮から排出されることが分かった。また、皮膚に張力負荷をかけると、非妊娠においても体表血管が増加し、それに依存して Tbx3 陽性基底細胞が誘導されたこ

とから、血管と張力が皮膚伸展のトリガーとなることが明らかとなった (図1)。

現在、血管と組織内力場が皮膚リモデリングを誘導するメカニズムの解明を目指し研究を進めている。また、この機構を利用した皮膚再生医療技術の開発を進めている。

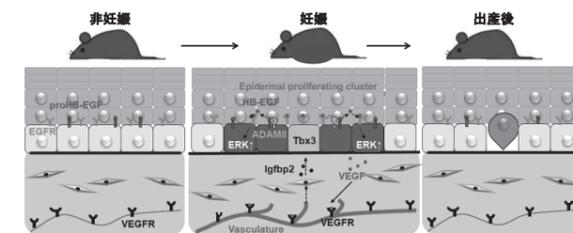


図1 妊娠期における腹部皮膚のリモデリング機構

2. 血管退縮がもたらす真皮の硬化と表皮幹細胞の加齢変容

皮膚の恒常性維持には表皮の新陳代謝が必須であり、これには表皮幹細胞の増殖と分化の制御機構が重要である。表皮幹細胞は加齢によって機能が低下し、基底膜との接着が弱くなり細胞分裂の方向性も異常になることが知られている。この表皮幹細胞の加齢変容は、酸化ストレスなどによって生じる DNA 損傷など細胞内部の変化が要因であることが報告されていた。しかし、表皮幹細胞を取りまく周囲の環境の加齢変化やそれが表皮幹細胞に及ぼす影響については未解明であった。

本研究では、加齢マウスの足底部皮膚では真皮が顕著に硬化しており、それが原因となって表皮幹細胞のメカノセンサー Piezo1 が持続的に活性化し、カルシウムが細胞内に過剰に流入して表皮幹細胞の機能低下が誘発されることを示した。また、加齢による真皮の硬化は体表血管の退縮が原因であり、体表血管を人為的に誘導すると、加齢に伴う真皮の硬化や表皮幹細胞の機能低下が抑制されることが明らかとなった。さらに、体表血管の退縮は加齢皮膚の線維芽細胞から分泌される Pentraxin 3 (Ptx3) が原因因子の一つであり、Ptx3 KO マウスでは加齢に伴う真皮の硬化や表皮幹細胞の機能低下が抑制されることを示した。以上の結果から、加齢に伴い真皮線維芽細胞から Ptx3 の発現が上昇し、それが血管の減少と真皮の硬化を誘導し、Piezo1 を介したカルシウムの

長期流入による表皮幹細胞の加齢変容を誘発するという新たな皮膚老化機構が明らかとなった (図2)。

ヒトにおいても、高齢者の皮膚では若齢者の皮膚よりも Ptx3 が真皮に多く蓄積していたことから、ヒトの皮膚老化の原因の1つとなっている可能性がある。Ptx3 を標的としたシース開発を実施することで、老化による創傷治癒遅延を回復させる技術や医薬品の開発につながる事が期待される。

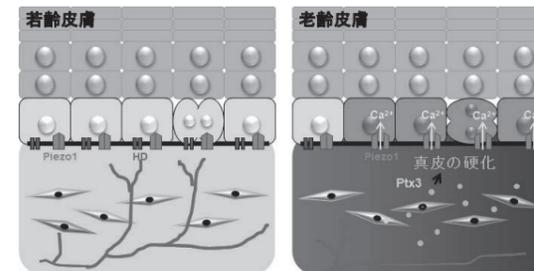


図2 血管退縮による真皮の硬化が表皮幹細胞の加齢変容を誘導する

3. 母体肝臓リモデリングによる糖代謝制御と胎児発生

妊娠期には母体の肝臓が顕著に肥大化することが知られているが、そのメカニズムや母体代謝・胎児発生との関連は不明である。我々は、妊娠期において肝細胞の増殖が時空間的に制御されていることを見いだした。すなわち、マウスの妊娠中期 (妊娠8日目) には門脈域の肝細胞が一過的に増殖し、妊娠後期 (妊娠16日目) には中心静脈域の肝細胞の増殖が昂進していた。AAV8-p21 を用いて妊娠中期から肝細胞増殖を抑制すると、妊娠後期に母体の血糖値の上昇、耐糖能の低下、胎仔の巨大化といった、妊娠糖尿病様の症状が誘発された。このマウスの肝臓では、糖代謝に関連する遺伝子の発現が変動しており、肝臓グリコーゲン量の低下と、それに相反した

胎盤グリコーゲン量の上昇が認められた。一方で、妊娠12日目から肝細胞増殖を抑制した場合には、これらの症状は認められなかった。また、妊娠中期における門脈域の肝細胞増殖に必要な因子として、ヒアルロン酸レセプターの補助因子である Hmnr を同定し、Hmnr を肝細胞でノックダウンすると妊娠糖尿病様の症状が認められた。これらの結果から、妊娠中期における Hmnr 依存的な門脈域の肝細胞増殖が妊娠後期における糖代謝制御遺伝子の発現に必要であり、母体肝臓のグリコーゲン貯蔵能を亢進させることにより母体の糖代謝を制御することが明らかとなった (図3)。

妊娠中の糖代謝異常による血糖値の上昇は、胎児にも高血糖・高インスリン血症を引き起こし発生異常や合併症を誘発する。妊娠期の糖代謝制御機構については、胎盤から分泌されるインスリン抑制ホルモンやインスリン分解が知られているが、母体肝臓リモデリングに着目した研究はなされていない。妊娠期肝臓リモデリングを誘導する生体システムを明らかにすることで、妊娠糖尿病に対する新たな予防法の開発が期待される。

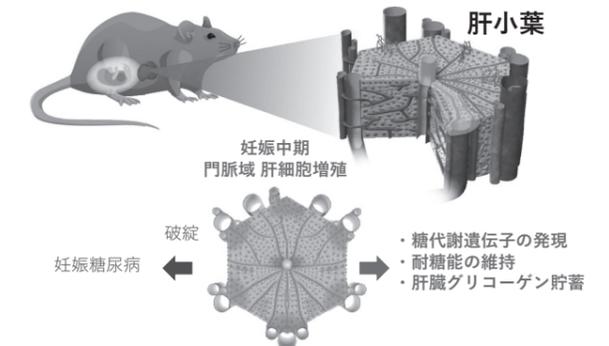


図3 妊娠中期の門脈域の肝細胞増殖が妊娠糖尿病の回避に重要

人事異動	研究業績	
転入：豊島文子 (教授)	原著論文 Satoshi Kozuki, Mio Kabata, Satoko Sakurai,	Keiko Iwaisako, Tomomi Nishimura, Masakazu Toi, Takuya Yamamoto, Fumiko Toyoshima. Periportal hepatocyte proliferation at midgestation governs maternal glucose homeostasis in mice. <i>Commun. Biol.</i> 6, 1226, 2023

病態制御科学研究部門

Advanced Pathophysiological Science

難治疾患とは、病因や病態形成機序が不明であり、有効な予防法や治療法がない疾患の総称である。病態制御科学研究部門では、難治疾患の病因・病態形成機序の解明を通じて、生命現象の基本メカニズムの理解を深めるとともに、新たな診断法、治療法、予防法の開発を行っている。本研究部門は現在5つの分野から構成されており、指定国立大学に認定された本学の重点研究領域「難治疾患研究」「口腔科学研究」に貢献している。本年の成果は以下の通りである。

機能分子病態学

- TBK1 キナーゼが損傷ミトコンドリアの排除に必要であることが示唆されていたが、その分子機構は不明であった。我々はオートファジーアダプター的一种 Optineurin (OPTN) が損傷ミトコンドリアとオートファジー膜の接触部位を形成し、TBK1 を活性化することを発見した。また、OPTN と TBK1 の相互作用を阻害する人工抗体が TBK1 の活性化と損傷ミトコンドリアの分解を抑制することも見出した。
- 遺伝性神経発達疾患 HEMARS の原因遺伝子産物 BCAS3 が伸長中の隔離膜に局在するオートファジー関連因子であること、および HEMARS の疾患関連変異によって BCAS3 の隔離膜局在性が失われることを発見し、モデル生物を用いた解析を続けている。

生体防御学

- 全身感染時に新たな調節性 B 細胞が出現することを見出し、同細胞が産生する IL-10 が感染初期の自然免疫細胞供給を亢進させることを明らかにした。
- 当分野で樹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用いて、化学療法剤抵抗性獲得機構の解明を進めている。

神経病理学

- 脳内リンパ系を介した神経変性疾患タンパク質の新たな伝播様式が存在することを見出した。
- 遺伝子編集技術を用いて Charcot Marie Tooth 病 1 型をゲノムから治療する新たな方法を開発した。

分子神経学

- グリア細胞が記憶形成過程に関与することを示した。
- Prokineticin2 陽性ニューロン特異的に遺伝子操作可能なマウスを開発した。
- Astrotactin2 欠損マウスが精神疾患様行動異常を示した。

病態細胞生物学

- 家族性パーキンソン病 (CHCHD2 遺伝子変異) の発症にカゼインキナーゼ $1\epsilon/\delta$ が関与していることを発見した。
- 新たなタンパク質分解機構 GOMED を可視化する新規手法を開発した。

神経炎症修復学

- ジホモγリノレン酸の代謝物が、脳損傷後の神経修復を開始させることを発見した。
- 脳修復を終結させる分子機構を解明し、脳機能回復を持続させる薬剤を開発した。

病態制御科学研究部門 機能分子病態学分野

教授：松田憲之 准教授：山野晃史 助教：小松谷（小谷野）史香

研究内容

概要

細胞内には様々なオルガネラが存在するが、その一部は機能を果たす過程でダメージを受けて、損傷オルガネラになってしまう。細胞内のオルガネラ機能を維持するためには、このような損傷オルガネラを選択的オートファジーによって除去して、オルガネラの新陳代謝を行う必要がある。そのためには、ダメージを受けたオルガネラのみを認識・識別して分解しなければいけない。近年、選択的オルガネラ分解の実行因子や生理的意義の理解が進み、ユビキチンとオートファジーアダプターの重要性や、神経変性疾患との関連性が明らかとなった。われわれは、2010年頃より遺伝性潜在性パーキンソン病(PD)の原因遺伝子産物であるPINK1やParkinが損傷ミトコンドリアをユビキチンで標識して、その後のオートファジー分解(マイトファジー)に導くメカニズムの解析を進めてきた。現在も、選択的オルガネラ分解の分子メカニズムの解明と、その病態生理学的意義の理解を目指して研究を進めている。

研究紹介

1. マイトファジーに必要なTBK1のリン酸化と活性化の“場”はOPTNによって供給される：

OPTN (Optineurin) はユビキチン結合活性を有するオートファジーアダプタータンパク質であり、分解標的に付加されたユビキチンとオートファジー関連因子の橋渡しをすることで、標的のオートファジー分解を促進する。我々は、OPTNとオートファジー必須因子ATG9が相互作用することを発見し、このプロセスがParkin依存性のマイトファジーに重要であることを明らかにした(Yamano, *J. Cell Biol.*, 2020)。しかしながら、マイトファジーにおけるOPTNの役割は完全に理解されているわけではなく、さらなる解析が必要である。

TBK1 (Tank-binding kinase 1) は、様々な細胞内プロセスに関与するSer/Thrキナーゼである。TBK1はマイトファジーにおけるオートファジーアダプターのリン酸化に関与するが(Heo, *Mol Cell* 2015など)、マイトファジーの過程でTBK1がどのように活性化される

かは殆どわかっていなかった。

我々はTBK1の活性化に必要な自己リン酸化(pS172)がマイトファジー誘導時に30分程度で一過的に上昇した後に、2-3時間で速やかに減弱すること、この「TBK1自己リン酸化の減弱」がリソソーム阻害薬で抑圧されることを見出した。OPTNのKOはTBK1(pS172)のレベルを劇的に減少させた一方で、OPTNと類似したオートファジーアダプターであるNDP52のKOはTBK1(pS172)に殆ど影響しなかった。これらの結果は、活性化したTBK1がオートファジー経路を介してリソソーム中で速やかに分解されること、OPTNがマイトファジーによって惹起されるTBK1活性化の律速因子であることを示している。

次に我々は、マイトファジー誘導時にOPTNが損傷ミトコンドリアと隔離膜のコンタクトサイト(以降はMt-AP CSと記載する)に集積することを見出した。この知見は、OPTNが損傷ミトコンドリアのユビキチンと隔離膜のオートファジー関連因子の橋渡しをしていることを細胞内局在のレベルで示唆している。興味深いことに、OPTNのMt-AP CS局在はTBK1の活性化に必須であった。つまり、OPTNに4LAやF178Aなどの変異を導入して、その局在をMt-AP CSからミトコンドリア全体に変化させると、マイトファジーによって誘導されるTBK1の活性化が顕著に阻害された。同様に、オートファジーの隔離膜形成に必要な遺伝子を破壊してMt-AP CS自体を消失させても、マイトファジー誘導性のTBK1活性化が阻害された。これらの結果は、TBK1の完全な活性化にはOPTNがミトコンドリアと会合するだけでは不十分であり、隔離膜とミトコンドリアの接点に局在化しなければいけないことを示している。さらに、OPTNとTBK1のどちらが上流因子として機能するのかを検討する過程で、両者が相互に依存したpositive feedback loopを形成していることを明らかにした。これらの結果は、OPTNとTBK1が複雑な相互作用を介して損傷ミトコンドリア表面でオートファゴソームの形成を開始する仕組みを明らかにしている(ハイライトの模式図を参照)。なお本研究は2023年末の時点でEMBO J.のunder revisionである。

2. その他の研究テーマ：

上述の研究以外にも、選択的オルガネラ分解やパーキンソン病と関連した下記のテーマを研究している。

(1) 新規オートファジー制御因子の単離と機能解析：我々はマイトファジー誘導時に損傷ミトコンドリア近傍の隔離膜に移行する新規因子としてBCAS3-C16Orf17複合体を単離した(Kojima, *Autophagy* 2021)。この複合体が新規のオートファジー関連因子であることが明らかになりつつある。現在は、その分子機能と生理学的な意義を研究している。

(2) 遺伝性PDの原因因子DJ-1の機能解析：DJ-1は遺伝性潜在性PDの原因遺伝子産物であるが、その分子機

能は諸説あって未だに研究者間でのコンセンサスが得られていない。われわれはDJ-1のオキソアルデヒド解毒活性に着目して、その分子機能を解析している。

(3) ペキソファジーの解析：ペルオキシソーム特異的なオートファジー(ペキソファジー)においてもユビキチン化が重要であることを見出しており、ユビキチン修飾がペキソファジーのシグナルに変換されるメカニズムを解析している。

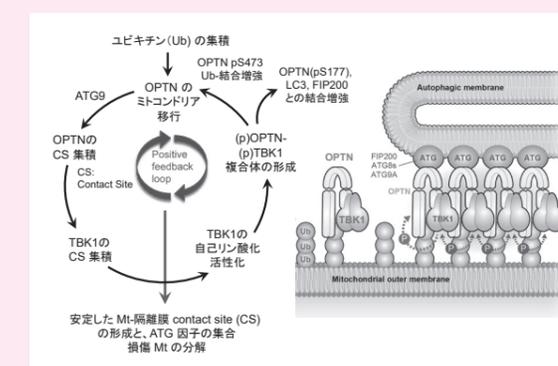
今後も、選択的オルガネラ分解の分子メカニズムの理解と、遺伝性PDに着目した疾患発症メカニズムの解明を目指した研究を進める予定である。

ハイライト

マイトファジー誘導時にOPTN依存的にTBK1が活性化されるメカニズム

PINK1とParkinが協調することで損傷ミトコンドリア表面にユビキチン(Ub)の短鎖が付加されて、それがユビキチン結合活性を有するOPTNによって認識される。従来の仮説では、TBK1がOPTNをリン酸化し、OPTNがオートファジー関連因子(ATG)との結合を介して隔離膜をミトコンドリア近傍でde novoに合成すると考えられていた。本研究から、TBK1のリン酸化と活性化には隔離膜の形成そのもの(あるいはミトコンドリアと隔離膜によって形成されるニッチ)が必要であり、この領域におけるTBK1

とOPTNの相互作用がTBK1の活性化と、その下流のマイトファジーの進行に重要であることが示された。



人事異動

転入：渡辺藍子(プロジェクト研究員)、荻原禪(特別研究学生)、澤田百葉・遠藤龍・保科智之(修士課程)

研究業績

1. Akabane, S., Watanabe, K., Kosako, H., Yamashita, S.I., Nishino, K., Kato, M., Sekine, S., Kanki, T., Matsuda, N., Endo, T., and Oka, T. TIM23 facilitates PINK1 activation by safeguarding against OMA1-mediated degradation in damaged mitochondria. *Cell*
2. Hayashida, R., Kikuchi, R., Imai, K., Kojima, W., Yamada, T., Iijima, M., Sesaki, H., Tanaka, K., Matsuda, N., Yamano, K. Elucidation of ubiquitin-conjugating enzymes that interact with RBR-type ubiquitin ligases using a liquid-liquid phase separation-based method. *J. Biol Chem* 299, 102822 (2023).

病態制御科学研究部門 生体防御学分野

教授：樗木俊聡 准教授：佐藤卓（～9/30）、金山剛士（10/1～）
助教：金山剛士（～9/30） 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：林豊貴（～3/31）、始関紀彰（～10/31）、赤司孝子（4/1～）
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、血液や上皮の組織幹細胞・がん幹細胞を研究対象として、免疫系、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応答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 だけを大量に産み出す“DC 前駆細胞”をマウスで同定し、共通 DC 前駆細胞 (Common DC Progenitor, CDP) として報告した (*Immunity* 2013; *Nat Immunol* 2007)。CDP は、M-CSF 受容体 (M-CSFR) 発現の有無を指標に 2 種類に分類される。M-CSFR⁺CDP は主に cDC を生み出すが、M-CSFR⁻CDP は pDC への分化能に優れていた。また、pDC は、CDP 由来のものよりも共通リンパ系前駆細胞 (Common Lymphoid Progenitor, CLP) 由来のものが数的に優位であるが、CLP 由来 pDC は抗原提示能に乏しく DC の条件を満たさないため、むしろ自然リンパ球に分類すべきであることを国際共同提言として報告した (*Nat Rev Immunol* 2023) (図 1)。

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

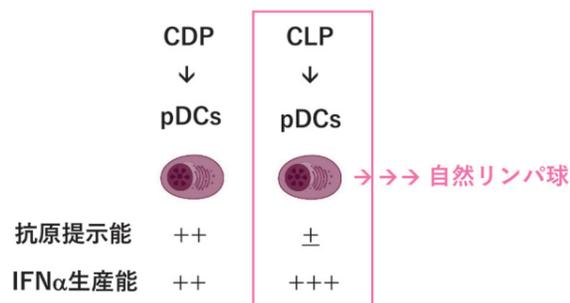


図 1 pDC の自然リンパ球としての再分類
Ziegler-Heitbrock L, Ohteki T, Ginhoux F et al., *Nat Rev Immunol* 2023

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れ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病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)。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・再生や貪食能に優れ恒常性維持に積極的に貢献しているが、加齢に伴い徐々に炎症形質が顕著になり、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 領域を同定した。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。

3) 感染時ミエロイド細胞増産機構の解明

全身的な感染症では、体内に侵入した病原体を速やかに排除するためにミエロイド系細胞の産生が著しく亢進し自然免疫を増強する (Emergency Myelopoiesis, EM)。私たちの研究グループは、感染時に出現する調節性 B 細胞の産生するインターロイキン 10 (IL-10) がミエロイド系細胞の供給を増強することを見出した (*J Exp Med* 2023) (図 2)。

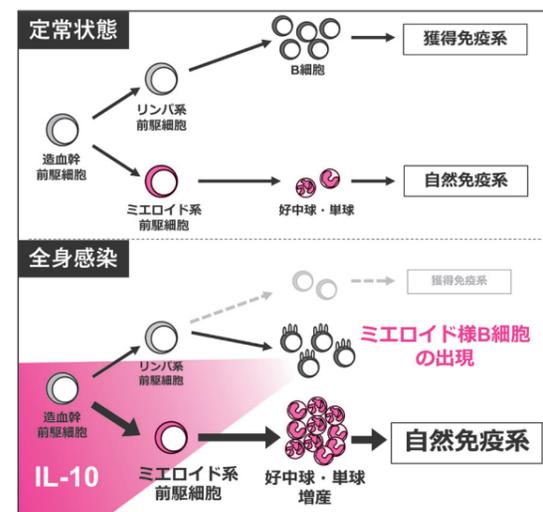


図 2 感染時に出現する新規 B 細胞亜群による自然免疫細胞の増産
Kanayama M et al., *J Exp Med* 2023 Graphic Abstract を改変引用

2. 組織幹細胞・がん幹細胞の研究

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 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)。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)。さらに皮膚においても I 型 IFN シグナルの慢性化によって脱毛や繊維化等の異常が誘導されることを見出し、ヒト自己免疫疾患や自己炎症疾患との関連を含め詳細に検討中である (未発表)。

腸上皮損傷後の再生起点細胞が数種類報告されているが、それらの上皮再生における貢献度の軽重は不明である。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) ヒト扁平上皮がんオルガノイドパイオバンクの構築と化学療法剤抵抗性機構の解明

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 24 症例、未発表)。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数症例樹立している。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 (論文投稿中)。

人事異動

佐藤 卓 日本医科大学医学部 (生化学・分子生物学) 教授として異動 (2023.10.1.)
山田悠貴 修士課程学生 (東京薬科大学より) として参加 (2023.4.1.)
藤内 城 特別研究学生 (自治医科大学博士課程) として参加 (2023.6.1.)
赤司貴子 技術補佐員として参加 (2023.4.1.)
石川 駿 大学院研究生として参加 (2023.4.1.)
泉 湧太 博士課程修了 (2023.3.31.)
大梁恵梨子 修士課程修了 (2023.3.31.)

中川 舞 同上
林 豊貴 技術補佐員 退職 (2023.3.31.)
始関紀彰 技術補佐員 満期退職 (2023.10.31.)

業績目録

原著

1. Abe S, Asahi T, Hara T, Cui G, Shimba A, Tani-Ichi S, Yamada K, Miyazaki K, Miyachi H, Kitano S, Nakamura N, Kikuta J, Vandenbon A, Miyazaki M, Yamada R, Ohteki T, Ishii M, Sexl V, Nagasawa T, and Ikuta K. Hematopoietic cell-

derived IL-15 supports NK cell development in scattered and clustered localization within the bone marrow. *Cell Rep* 42: 113127 (2023).
2. Kanayama M, Izumi Y, Akiyama M, Hayashi T, Atarashi K, Roers A, and Ohteki T. Myeloid-like B cells boost emergency myelopoiesis through IL-10 production during infection. *J Exp Med* 220:e20221221 (2023).
3. Ziegler-Heitbrock L, Ohteki T, Ginhoux F, Shortman K, and Spits H. Reclassifying plasmacytoid dendritic cells as innate lymphocytes. *Nat Rev Immunol* 23:1-2 (2023).

病態制御科学研究部門 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、藤田慶大
プロジェクト准教授：本間秀典 講師：田中ひかり 助教：猪爪舞子

研究内容

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

研究紹介

1. パーキンソン病原因タンパク質・ α シヌクレインの新しい伝播様式 ―脳内リンパ系による非凝集 α シヌクレインの速い拡散―

パーキンソン病は、代表的な神経変性疾患であり、日本には約20万人の患者さんがいると言われています。病理学的には脳の中の神経細胞の中に α シヌクレインというタンパク質が沈着・凝集することが特徴です。 α シヌクレインは腸の神経細胞に発症早期から沈着・凝集することから、腸から脳に α シヌクレインが伝播するという仮説があります。2008年には、Nature Medicineに掲載された2つの論文(Jia-Yi Li et al, Nat Med 2008; Jeffrey H Kordower et al, Nat Med 2008)が、パーキンソン病患者に移植した胎児ニューロンに α シヌクレインの大きな凝集体(封入体:レヴィー小体)が見られることから、患者の細胞から移植された胎児細胞に α シヌクレインが伝わる仮説(伝播仮説もしくはプリオン様伝播仮説)を提示しました。また2012年には、ペンシルバニア大学のVirginia Lee教授のグループが体外で α シヌクレインの凝集体(preformed fibril, PFF)を作成し、正常なマウスの脳に注入したところ、レヴィー小体が形成され、パーキンソン病様症状を発症したことも、伝播仮説の根拠とされています。その後の研究も、体の外で凝集体(PFF)を作ってモデル動物に注射する実験を採用し、これらの結果は、凝集体が神経細胞(ニューロン)から次のニューロンへ伝わりとの仮説を支持してきました。しかし、PFF以外の実験系での伝播に関する研究は極めて稀でした。

今回、私たちは脳内の狭い領域にAAVウイルスベクターを感染させて、特定の場所に長期間 α シヌクレインを発現させるマウスモデルを作成して、 α シヌクレインがどのように脳内で拡散するかを調べました。その結

果、予想に反して、2週間後には感染領域から遠く離れた脳部位に α シヌクレインが広がっていること、拡散した α シヌクレインは凝集体ではなくモノマーであること、 α シヌクレインは脳内リンパ系により拡散していること、遠位の脳神経細胞において α シヌクレインはモノマー状態で取り込まれた後に凝集体を細胞内で形成することを示しました。この結果は、ウィルスベクターではない、蛍光標識した α シヌクレインの注入実験でも再確認できました。

今回の研究成果は、従来言われてきた『凝集状態の疾患タンパク質がニューロンからニューロンへと伝播する』という様式以外に、『非凝集状態(モノマー状態)の疾患タンパク質が脳内リンパ系により離れた場所のニューロンへと伝播する』という新たな様式が存在することを示したものです。

2. 脊髄小脳失調症のDNA損傷修復における2つの仕組み ―RpA1による遺伝子治療の基盤メカニズムを解明―

脊髄小脳失調症1型は、常染色体優性の家族性の神経変性疾患です。Ataxin-1 (Atxn1)という遺伝子の中のCAG塩基配列の繰り返し数(CAGリピート数)が多くなる(CAGリピート伸長)が原因です。日本では非常に稀な疾患で700人から2,000人程度の患者さんが罹患しているのではと言われています。現時点では、根本的な治療法は確立していませんが、私たちは、HMGB1の遺伝子治療が有効であることを発見しています(Qi et al, Nature Cell Biol 2007; Ito et al, EMBO Mol Med 2015)。

さらに、脊髄小脳失調症1型の原因遺伝子(変異Atxn1)を発現する疾患モデルショウジョウバエに、病態に影響を及ぼす可能性があるDNA損傷修復遺伝子を同時に発現させて、寿命、運動機能などへの影響を調べる、病態修飾遺伝子スクリーニングから、RpA1が最も強力な寿命延長ならびに症状改善効果を持つことを発見しました(Barclay et al, Hum Mol Genet 2014)。さらに、変異Atxn1ノックインマウスにおいてAAV-RpA1が症状改善効果を持つことを報告しています(Taniguchi et al, Hum Mol Genet 2016)。一方、RpA1はRpA2, 3, 4と3量体(複合体)を形成することが知られており、

今後の治療開発のためにも、RpA1の関与する病態機能のさらに詳細な解析が待たれていました。

今回、私たちは、トロント大学・小児病院のChristopher Pearson教授グループらと共同研究を行い、RpA1が他のRpAファミリー分子とともに形成する複合体において、正規型RpA1複合体(canonical RpA)と代替型RpA1複合体(Alternative-RpA1)の間で機能が異なること、すなわち、正規型RpA1はDNA損傷修復を促進して脊髄小脳失調症の原因であるCAGリピートを維持もしくは短縮するのに対して、代替型RpA1はDNA損傷修復を阻害してCAGリピート伸長につながることを明らかにしました。

また、変異Atxn1ノックインマウス小脳においてAAV-RpA1がCAGリピートを短縮し、症状改善につながることも改めて確認されました。

加えて、Pearson教授グループが中心となって、RpAファミリー(RpA1, 2, 3, 4)の病態下の遺伝子発現、インタラクトームについても詳細な解析を行いました。その結果、正規型RpA1複合体と代替型RpA1複合体では、DNA損傷認識後の一連の複合体形成に違いがあり、最終的にCAGリピートへの影響が異なると考えられました。

今回の研究成果は、主に二つの点で意義があると考えられます。第一には、RpA1によるDNA損傷修復とCAGリピート体細胞変異の関係がより明確になったことです。正規型RpA1複合体と代替型RpA1複合体では、DNA損傷認識後の一連の複合体形成に違いがあり、最終的にCAGリピートへの影響が異なると考えられました。第二には、RpA1の治療効果が再度確認されたということです。AAV-RpA1による遺伝子治療は、主に正規型RpA1複合体を活性化し、これによってCAGリピート伸長を抑制することが改めて確認されました。

3. シャルコー・マリー・トゥース病のゲノム編集による治療法シーズを開発 ―ゲノム編集でPMP22遺伝子領域の重複を正常化する―

シャルコー・マリー・トゥース病(CMT1A)は、代表的な末梢神経変性疾患であり、日本には1万人に1人

程度の患者さんがいると言われています。厚生労働省の指定難病(指定難病10)にもなっています。17番染色体上にあるPMP22(peripheral myelin protein 22)という遺伝子を含む長いゲノム領域(1.5Mbゲノム領域)が重複して2つ存在するために、PMP22タンパク量が増加し、このタンパクの機能が必要であるシュワン細胞が機能失調を起こすのではないかと考えられています。シュワン細胞は、脳脊髄から手足の筋肉に運動の指令を伝えたり、手足の感覚を脳脊髄に伝える末梢神経の働きに必須な細胞です。

現時点では、根本的な治療法はなく、近年では、shRNA、miRNAあるいは核酸医薬などの治療法も実験的に提案されています。しかし、1.5倍程度のPMP22の発現増加を適切なレベルに正常化することは難しく、根本的治療薬の開発が待たれていました。ちなみに、PMP22の遺伝子変異による機能低下も同様に常染色体優性の遺伝性末梢神経疾患(Hereditary neuropathy with liability to pressure palsies, HNPP)を発症させることから、治療による過度なPMP22発現抑制は症状悪化につながると考えられます。

今回、私たちは、ゲノム編集技術を用いて、患者さんのシュワン細胞では3つある1.5Mbゲノム領域を、2つに戻して正常化することができないかと考えました。そこで、重複する2つのゲノム領域に共通する特異配列(guide RNA:gRNA)を選び、異常なゲノムでは2箇所切れ目を入れて、その間にある余分なゲノム領域が切り出されることを狙いました。その結果、15-40%の確率で、重複ゲノムの切り出しが狙い通りに生じることを見いだしました。次に、その特異配列gRNAとゲノム編集酵素を同時に発現する遺伝子治療ベクターを作成し、これをシャルコー・マリー・トゥース病患者さん由来のiPS細胞あるいはiPS細胞由来シュワン細胞に投与することで、これらの病的変化が軽減しました。

今回の研究成果は、シャルコー・マリー・トゥース病について、これまで開発が試みられてきた治療法とは全く異なる、ゲノム正常化という新しいコンセプトの治療法の可能性を示したものとと言えます。

研究業績	monomeric state. <i>Cell Reports</i> , August 29, 2023, 42(8):112962. doi: 10.1016/j.celrep.2023.112962.	2. 田中ひかり,*岡澤 均, DNA損傷と神経疾患, <i>BIO Clinica</i> , 2023年8月10日発行, 38巻, 9号, pp.12-16.
原著	4. *Shiwaku H, et al. Analyzing schizophrenia-related phenotypes in mice caused by autoantibodies against NRXN1 α in schizophrenia. <i>Brain Behav Immun</i> , July, 2023, 111:32-45. doi: 10.1016/j.bbi.2023.03.028.	3. 岡澤 均, DNA損傷と修復の疾患病態における役割, <i>BIO Clinica</i> , 2023年8月10日発行, 38巻, 9号, pp.4-5.
	5. Jin X, et al. PQBP5/NOL10 maintains and anchors the nucleolus under physiological and osmotic stress conditions. <i>Nat Commun</i> , January 4, 2023, 14(1):9. doi: 10.1038/s41467-022-35602-w.	4. 田中ひかり,*岡澤 均, 神経変性疾患における自然免疫応答, <i>臨床免疫・アレルギー科</i> , 2023年7月25日発行, 80巻, 1号, pp.56-62.
	2. Gall-Duncan T, et al. Antagonistic roles of canonical and Alternative-RPA in disease-associated tandem CAG repeat instability. <i>Cell</i> , October 26, 2023, 186(22):4898-4919.e25. doi: 10.1016/j.cell.2023.09.008.	5. 藤田慶大,*岡澤 均, 脊髄小脳失調症1型, 遺伝子治療開発研究ハンドブック第2版, 2023年4月30日発行, pp.524-530.
	3. Fujita K, et al. Mutant α -synuclein propagates via the lymphatic system of the brain in the	6. 金 美花,*岡澤 均, ウイルス感染症と類似する神経変性疾患の炎症応答メカニズム, 炎症と免疫, 2023年4月20日発行, Vol.31, No.3, pp.26-33.

病態制御科学研究部門 分子神経科学分野

教授：田中光一 助教：平岡優一

研究内容

概略

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

研究紹介

1. グルタミン酸トランスポーターの脳機能における役割

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

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

2. グリア細胞の記憶形成過程における役割

記憶が成立する過程には、経験を積んでいる最中に即座に上達するオンライン学習と、休憩中や翌日にかけて、知らず知らずのうちにじわじわと身に着くオフライン学

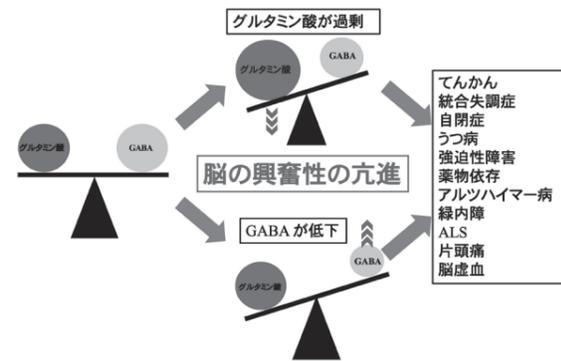


図1 グルタミン酸トランスポーターの機能異常による興奮と抑制のアンバランスが様々な精神神経疾患を引き起こす

習の二つの過程がある。本研究では、水平視機能性眼球運動 (HOKR) の運動学習を用い、グリア細胞のオンライン学習やオフライン学習の形成過程における役割を解析した。HOKRに重要な小脳のバーグマングリア細胞からのグルタミン酸放出を抑制・促進すると、オンライン学習は亢進・阻害された。一方、訓練後の休息期間のオフライン学習は、オンライン学習の成果とは関係なく、独立して進行することを明らかにした。これらの結果は、オンライン学習とオフライン学習は並行に進行する、独立した学習過程であることを示している。さらに、オンライン学習の成立のしやすさは、グリア細胞からのグルタミン酸の放出の多寡により影響を受けること示唆している。本研究成果は、効率的な学習法の開発などに繋がることが期待される。

3. Prok2 陽性神経細胞の概日リズム形成における役割を解析する新規ツールの開発

視交叉上核 (SCN) は哺乳類の中枢時計として機能する。SCNは、様々なタイプのニューロンにより構築され、Prolineticin2 (Prok2) 産生ニューロン (Prok2ニューロン) もその一つである。Prok2ニューロンは、SCNの出力系として機能し、概日行動リズムを制御する可能性が考えられている。しかし、Prok2ニューロンの神経活動の概日リズムは明らかになっておらず、概日行動との関係性も不明である。本研究では、Prok2ニューロンの個体レベルでの機能解析に役立つ新しいツールを開発した。Prok2の転写開始コドンの下流にテトラサイクリ

ン依存性転写因子 (tTA) をノックインしたマウスを、クローニングフリー CRISPR/Cas9 法を用いて作成した (図2A)。作成した Prok2^{tTA} マウスとレポーターマウスである Actb-tetO-EGFP マウスと交配し、EGFPの発現を調べたが、Prok2ニューロンが局在する SCNにおいてEGFP陽性ニューロンが観察された (図2B)。SCN Prok2ニューロンの細胞内 Ca²⁺濃度を計測するため、Prok2^{tTA} マウスの SCN に tTA 依存性の AAV ウイルスベクターを注入し、Prok2ニューロン特異的にカルシウムセンサーである jGCaMP7s を発現させた。Prok2ニューロンの細胞内 Ca²⁺濃度は、行動リズムの活動期には低く、休息期にピークに達することが明らかになっ

た。この結果から、休息期では Prok2ニューロンが活性化することでマウスの行動を抑制すると考えられる。

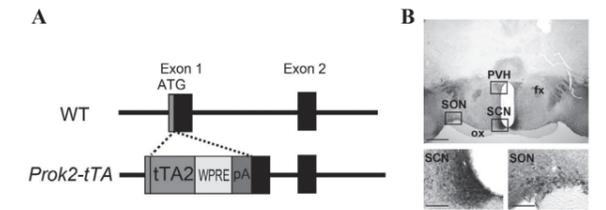


図2 Prok2^{tTA} マウスの作成
A: テトラサイクリン依存性転写因子 (tTA) を Prok2の転写開始コドンの下流にノックイン
B: Prok2^{tTA} マウス / Actb-tetO-EGFP マウスにおける EGFP 陽性細胞の脳内局在

ハイライト

「グリア細胞の記憶形成過程における役割」

記憶が成立する過程には、経験を積んでいる最中に即座に上達するオンライン学習と、休憩中や翌日にかけて、知らず知らずのうちにじわじわと身に着くオフライン学習の二つの過程があります。本研究では、オンライン学習とオフライン学習とは、独立・並行して進行する記憶形成過程であるのか、さらに、これらふたつの学習過程にグリア細胞は関与するのか、という疑問に答えるために行いました。本研究では、運動学習を担う小脳に着目し、水平視機能性眼球運動 (HOKR) の学習を用いて2つの学習過程の解析を行った。縦縞模様を左右に振れる画像をマウスに見せると、初めはうまく追従できませんが、繰り返し視覚刺激を提示すると、次第に眼の左右への動きの振幅は増えていき、正確に画像を追従できるようになります (図3A)。小脳の主要なグリア細胞であるバーグマングリア細胞は、グルタミン酸を放出し、HOKRの学習過程に影響を及ぼす可能性が示唆されています。本研究では、光遺伝学技術を用い、バーグマングリア細胞からのグルタミン酸放出を制御し、2つの学習過程に及ぼす影響を解析しました。バーグマングリアに発現させたチャンネルロドプシン2 (ChR2) を光刺激し、グルタミン酸放出を促進させると、オンライン学習は亢

進しました (図3B)。逆に、バーグマングリアに発現させたアーキオロドプシン (ArchT) を光刺激し、グルタミン酸放出を抑制すると、オンライン学習は抑制されました (図3B)。しかし、いずれの場合も、オフライン学習に影響はありませんでした。これらの結果は、オンライン学習とオフライン学習は並行に進行する、独立した学習過程であることを示している。さらに、オンライン学習の成立のしやすさは、グリア細胞からのグルタミン酸の放出の多寡により影響を受けること示唆している。本研究成果は、効率的な学習法の開発などにつながることを期待される。

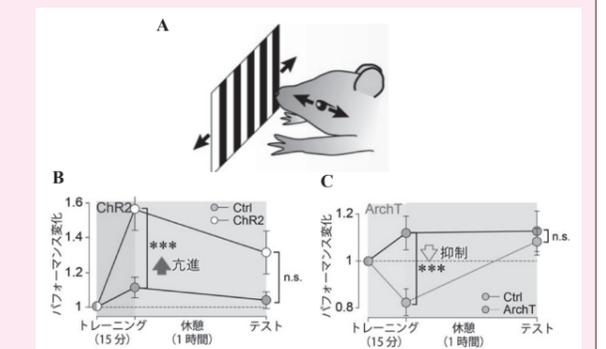


図3 オンライン学習におけるグリア細胞の役割
A: 水平視機能性眼球運動学習
B: グリア細胞からのグルタミン酸放出促進はオンライン学習を亢進
C: グリア細胞からのグルタミン酸放出抑制はオンライン学習を抑制

人事異動

転入：大橋祐仁 (研究実践プログラム)
転出：平岡優一 (助教)、大西哲生 (助教)、Di Zhao (博士課程)、中川道子 (技術補佐員)

業績目録

発表論文

1. Onodera, K., Tsuno, Y., Hiraoka, Y., Tanaka, K., Maejima, T., Mieda, M. In vivo recording of the circadian calcium rhythm in Prokineticin 2 neurons of the suprachiasmatic nucleus. *Sci Rep* 13. 16974. 2023.

2. Kanaya, T., Ito, R., Morizawa, Y.M., Sasaki, D., Yamao, H., Hiraoka, Y., Tanaka, K., Matsui, K. Glial modulation of the parallel memory formation. *Glia* 71. 2401-2417. 2023.
3. Ito, T., Hiramatsu, Y., Aida, T., Kushima, I., Yoshida, M., Yoshimi, A., Tanaka, K., Ozaki, N., Noda, Y. Astrotactin2 (ASTN2) regulates emotional and cognitive functions by affecting neuronal morphogenesis and monoaminergic systems. *J Neurochem* 165. 211-229. 2023.

病態制御科学研究部門 病態細胞生物学分野

教授：清水重臣 プロジェクト准教授：鳥居暁
 講師：本田真也 プロジェクト講師：辻岡政経 助教：仁部洋一
 プロジェクト助教：申珉京

研究内容

概略

当研究室では、①自らが発見した細胞機能であるゴルジ体関連分解 Golgi-membrane-associated degradation (GOMED) 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の異常に端を発する疾患研究を3つの柱として研究を行っている。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. GOMED の分子機構と生理機能解析

GOMED は、オートファジーと類似の構造体によって実行されるタンパク質分解機構である。ただし、誘導刺激、実行分子、分解タンパク質の種類などが、オートファジーとは大きく異なる。また、オートファジーが小胞体膜を利用して実行されるのに対し、GOMED はゴルジ体膜を利用して実行される (図1)。

GOMED 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)。さらに、その下流では Wipi3 分子が機能している。Wipi3 分子は、通常は細胞質中に局在するが、GOMED のシグナルが細胞に加わると、ゴルジ体に移動し、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。

通常のオートファジーと GOMED 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、GOMED 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、GOMED が誘導され

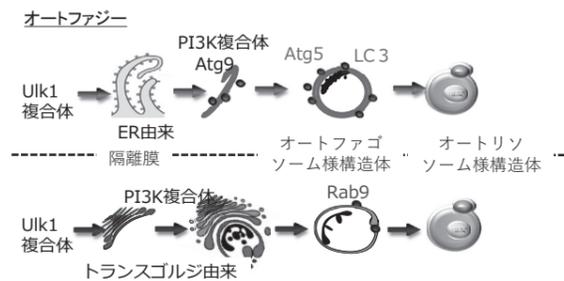


図1 オートファジーと GOMED の比較
 オートファジーは、Atg5 に依存した反応で、小胞体 (ER) 膜を利用して進行する (上段)。一方、GOMED は、Atg5 に依存しない反応であり、トランスゴルジ膜を利用して進行する。(下段)。



図2 GOMED の分子機構
 GOMED 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。この後、Uik1 はゴルジ体に移動し、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様構造体が形成される。



図3 GOMED の機能
 GOMED 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。

てインスリンの滞留が緩和されるのである。また、GOMED 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 GOMED 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。

2. 細胞死の解析

生体で起こる主な細胞死はアポトーシスであるが、近年の解析によって非アポトーシス細胞死の重要性が明らかにされつつある。当研究室では、これらに先駆けて、オートファジー細胞死やミトコンドリア経由ネクロ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 (アノイキス) の新たな実行メカニズムを発見した。

ハイライト

GOMED やオートファジーの進行度を可視化できる新手法の開発

同仁化学研究所と共同研究により DAPGreen、DAPRed、DALGreen の三種の蛍光試薬を開発し、GOMED やオートファジーの、どのステージから標識するかを詳細に調べた。その結果、① DAPGreen はオートファジーの最初期から全ての構造を緑色蛍光で標識すること、② DAPRed は中期のステージ以降の構造を赤色蛍光で標識すること、③ DALGreen は後期の構造のみを緑色蛍光で標識することを見出した (図4A)。また、④ DAPGreen と DAPRed を併用することでオートファジー初期の構造を緑色単色で、以降の構造を赤色・緑色の混合色で分離検出できること (図4B)、⑤

3. オルガネラの異常に端を発する疾患研究

家族性パーキンソン病のひとつである *PARK22/CHCHD2* 変異によるパーキンソン病の発症メカニズムを解析し、CHCHD2 のミトコンドリアからの逸脱やカゼインキナーゼ 1 (CK1) の活性化が関わっていること、カゼインキナーゼ 1 の阻害剤によって病態が改善されることを見いだした。

DALGreen と DAPRed を併用することで中期の構造を赤色で、後期の構造を赤色・緑色の混合色で分離検出できること (図4c) を見出した。これにより、GOMED やオートファジーの進行度を動的に計測できるようになった。



図4 各蛍光試薬で標識されるオートファジー構造
 緑色蛍光と赤色蛍光の組み合わせでオートファジーの進行度を容易に評価できる。

ハイライト

PARK22 遺伝子変異によるパーキンソン病の発症メカニズムの解明

CHCHD2 は、本来ミトコンドリア内に局在するタンパク質であるが、家族性パーキンソン病の原因遺伝子変異タンパク質 (*CHCHD2*^{T61I}) は細胞質に局在することを、Neuro2a 細胞を用いて見出した。さらに、この *CHCHD2*^{T61I} は、CK1ε/δ をリクルートすることで、そのキナーゼ活性により α-シヌクレインをリン酸化し、その後の神経細胞死を誘導することも見出した。これらの結果は、*Chchd2*^{T61I} ノックインマウス、患者 iPS 細胞由来ドーパミン作動性ニューロン、死後脳においても確認された。また、CK1ε/δ 阻害剤を細胞やマウスに投与す

ると、α-シヌクレインのリン酸化、ドーパミン作動性ニューロン細胞死が抑制され、*Chchd2*^{T61I} ノックインマウスの運動異常が改善した (図5)。

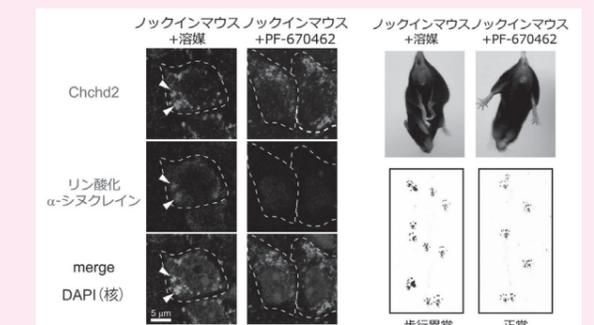


図5 CK1ε/δ 阻害剤によるパーキンソン病モデルマウスの表現型改善

研究業績

主な論文

1. Identification of a novel type of focal adhesion remodelling via FAK/FRNK replacement, and its contribution to cancer progression. *M. Tsujioka, K. Miyazawa, M. Ohmura, et al.* Cell Death Dis. 14, Article number: 256, 2023

2. Lactiplantibacillus plantarum OLL2712 induces autophagy via MYD88 and strengthens tight junction integrity to promote the barrier function in intestinal epithelial cells. *Y. Watanabe-Yasuoka, A. Gotou, S. Shimizu, T. Sashihara.* Nutrients 15, 2655, 2023

3. Development of small fluorescent probes for the analysis of autophagy kinetics. *H. T. Sakurai, H. Iwashita, S. Arakawa, et al.* iScience 26, 107218, 2023

4. Involvement of casein kinase 1 epsilon/delta (Csnk1e/d) in the pathogenesis of familial Parkinson's disease caused by CHCHD2. *S. Torii, S. Arakawa, S. Sato, et al.* EMBO. Mol. Med. 15, e17451, 2023

5. Beclin1 is essential for the pancreas development. *S. Mehanna, S. Arakawa, M. Imasaka, et al.* Developmental Biology. 504, 113-119, 2023

病態制御科学研究部門 神経炎症修復学分野

教授：七田 崇 助教：酒井誠一郎 助教：津山 淳

研究内容

脳卒中や認知症は、要介護・寝たきりになる主要因であり、世界的に患者数の増加が見込まれている。しかしながら脳卒中や認知症に対して、失った脳機能を回復させる治療薬は存在しないことから、失った脳機能を取り戻す手段に乏しい難治疾患の代表例として挙げられる。脳が損傷すると炎症が引き起こされるが、次いで脳内では修復プログラムが発動し、一定の脳機能回復が見込まれる。当分野では、このような脳に備わった自然な回復メカニズムを強化・持続させることによって、脳機能の回復を可能とする治療法の開発を目指している。

研究紹介

脳卒中は、脳の血管が詰まって血流が止まる脳梗塞と脳の血管破れて出血する脳出血に分けられるが、いずれも発症すると神経細胞が傷害されることによって脳機能の障害を生じる。脳卒中によって失われた脳の機能はリハビリテーションによってある程度回復するが、このとき脳の中ではシナプスが新たに作られるなどして、失われた脳の機能を代償するための神経修復が起こっていると考えられている。このように、傷ついた脳は自ら修復する能力を持っているが、脳卒中で生き残った神経細胞がどのようなメカニズムで修復能力を獲得するのかは未解明であった。

組織の損傷によって死んだ細胞からは細胞内のタンパク質などが放出され、免疫細胞を直接的に活性化することにより炎症が引き起こされる。脳卒中においても、細胞死に陥った脳細胞から放出される内在性の分子が炎症を引き起こし、更なる神経傷害の引き金となることが判明している。これら炎症を引き起こす物質が脳内から取り除かれることで炎症が収束し、神経の修復に移行する。また、組織損傷後に産生される様々な脂質代謝物が炎症の制御に関わっていることが知られており、炎症を促進または抑制する脂質代謝物が報告されている。本研究では、脳損傷後の神経修復において重要な脳内の脂質代謝物の生成メカニズムを解明した。

まず脳梗塞モデルマウスを用いて、脳梗塞発症から1週間後までの脳内にどのような脂質代謝物が存在するかを網羅的に解析した。脳梗塞巣周辺部の組織から脂質を

抽出し、質量分析法によりリン脂質代謝物と脂肪酸の種類と量を調べた結果、脳梗塞発症3日から6日後に不飽和脂肪酸の1種であるジホモγリノレン酸の代謝物が増加していた。そこで、細胞膜を構成するリン脂質から不飽和脂肪酸を切り出す酵素ホスホリパーゼ A2 (PLA2) を欠損するマウスにおいて、脳梗塞の症状が変化しているかマウスの行動評価と脳組織の染色によって解析を行った。その結果、ホスホリパーゼ A2 のサブタイプの1つである PLA2G2E を欠損するマウスでは、脳梗塞後の神経症状の悪化と脳梗塞体積の増加が認められた。また、野生型マウスと PLA2G2E 欠損マウスで脳梗塞巣周辺部の遺伝子発現を比較したところ、PLA2G2E 欠損マウスでは神経修復に働く遺伝子の発現量が低下していた。我々は特に、PLA2G2E 欠損マウスの脳梗塞組織においてシトルリン化酵素 PADI4 (Peptidyl arginine deiminase 4) の発現が顕著に低下していることに着目し、脳梗塞モデルマウスおよびヒト脳梗塞患者における PLA2G2E と PADI4 の発現を免疫組織染色によって調べたところ、脳梗塞発症3日から1週間後に脳梗塞巣周辺部に生き残っていた神経細胞で PLA2G2E および PADI4 の発現が認められた。PLA2G2E は細胞外に放出されて働く酵素であり、脳梗塞巣周辺部の神経細胞から PLA2G2E が産生されると、死んだ神経細胞の細胞膜残骸から主にホスファチジルセリンを代謝して、不飽和脂肪酸の代謝物を産生しているものと考えられた。

次に、神経細胞特異的に PADI4 を欠損するマウスを用いて脳梗塞後の神経症状を調べたところ、PADI4 欠損マウスでは野生型マウスと比較して、脳梗塞による神経細胞死が増えており、脳梗塞後の神経症状の悪化と脳梗塞体積の増加が認められた。また、脳梗塞周辺部から神経細胞を単離して、次世代シーケンス解析によって単一細胞レベルで遺伝子発現を調べた結果、脳梗塞発症4日後の野生型マウスでは神経修復に働く遺伝子の発現量が神経細胞で全体的に増加していたが、神経細胞特異的に PADI4 を欠損したマウスでは神経修復に働く遺伝子の発現が認められなかった。ゲノム DNA はヒストンタンパク質に巻き付いたクロマチン構造として核内に収納されているが、PADI4 がヒストンタンパク質をシトルリン化することによってクロマチンの構造が緩み、遺

伝子の転写が活性化されることが他の幹細胞研究などで報告されている。そこで、脳梗塞後の神経細胞における修復遺伝子の発現誘導にも PADI4 によるヒストンのシトルリン化が寄与しているのではないかと考え、ゲノム DNA のどの領域に結合しているヒストンがシトルリン化されているかを、次世代シーケンス解析によって調べた。その結果、神経修復に関連した遺伝子の転写調節領域にあるヒストンが、PADI4 によってシトルリン化されており、ヒストンのシトルリン化された領域では遺伝子の転写が活性化されていることが判明した。

脳梗塞後に増加していた不飽和脂肪酸のうちジホモγリノレン酸の量が PLA2G2E 欠損マウスで低下していたため、Padi4 を介した脳梗塞後の神経修復メカニズムにジホモγリノレン酸の代謝物が関与していることが予想された。そこで、脳梗塞を作製した PLA2G2E 欠損マウスにジホモγリノレン酸を経口投与したところ、脳梗塞巣周辺部の神経細胞において PADI4 の発現が増加し、脳梗塞後の神経症状の改善と脳梗塞体積の縮小が認められた。また、神経細胞株の培地に様々な脂肪酸代謝物を添加して PADI4 の発現量が変化するかどうかを調べたところ、ジホモγリノレン酸の代謝物の一つ 15-HETrE (15-hydroxyeicosatrienoic acid) の添加によって PADI4 の発現量が大きく増加した。15-HETrE を脳梗塞モデル

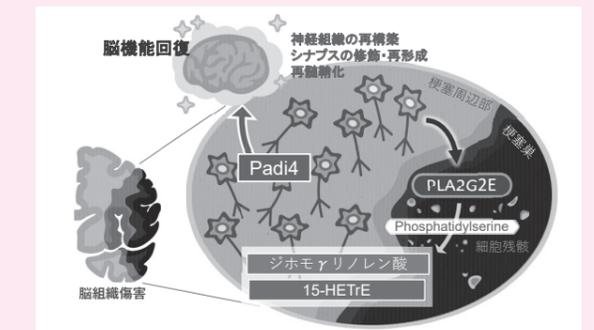
マウスに静脈内投与すると、脳梗塞巣周辺部の神経細胞で PADI4 および神経修復に関連した遺伝子の発現が増加し、脳梗塞後の神経症状の改善と脳梗塞体積の縮小が認められた。以上の結果から、ジホモγリノレン酸およびその代謝物である 15-HETrE には PADI4 を介した神経修復を促進する働きがあることが証明できた。

これまでに、脳損傷後に神経修復が起こることにより、脳機能がある程度回復することは知られていたが、どのような分子メカニズムで神経修復が開始されるのかは未解明であった。本研究では、脳梗塞後の産生される脂肪酸代謝物が神経修復の引き金となり、PADI4 によるヒストンのシトルリン化を介して神経修復に関連した遺伝子発現が誘導される新たな神経修復メカニズムを発見した。本研究により、組織損傷後における脂質の機能として炎症の制御に加えて、神経修復においても脳内の脂質代謝物が重要な役割を担っていることを初めて証明することができた。神経細胞に PADI4 の発現を誘導させる修復性の脂質であるジホモγリノレン酸や 15-HETrE には、神経修復を促進して脳梗塞後の神経症状を改善させる働きが認められた。これらの脳修復的な脂質は食事による摂取が可能であり、脳卒中後の機能予後を改善する新たな治療法に応用されることが期待できる。

ハイライト

脳組織の損傷に伴って、脳内では炎症が惹起され、脳機能障害が引き起こされる。しかしその後は、自然な神経症状の回復が見られることから、脳には一定の修復機能が備わっていると考えられる。脳梗塞に陥った神経細胞から産生されるリン脂質代謝酵素 PLA2G2E は、細胞残骸に含まれるホスファチジルセリンを代謝し、脳修復性の脂質であるジホモγリノレン酸や 15-HETrE を生成する。これらは脳内の機能が未知の脂質であったが、本研究によって脳梗塞周囲で生存している神経細胞に対して転写制御因子 Padi4 を発現誘導することにより、神経組織の再構築、シナプスの形成、再髄鞘化に必要な神経修復性の遺伝

子発現をもたらすことを見出した。ジホモγリノレン酸や 15-HETrE は食事でも摂取できるため、脳を損傷した場合の機能回復を促進する食事療法への応用が期待できる。



人事異動

転入：林花音（短期交流学生）、中村彩夏（短期交流学生）、田中絵梨（短期交流学生）

業績目録

原著論文

- 1 Nakamura A, Sakai S, Taketomi Y, Tsuyama J, Miki Y, Hara Y, Arai N, Sugiura Y, Kawaji H, Murakami M, [Shichita T](#). PLA2G2E-mediated lipid metabolism triggers brain-autonomous neural repair after ischemic stroke. *Neuron*. 111(19):2995-3010 (2023)

総説

- 1 七田 崇：脳卒中後の修復を誘導する免疫メカニズム。最新臨床脳卒中第2版下巻 日本臨牀増刊 81(9):1344-1349 (2023)
- 2 Shichita T, Ooboshi H, Yoshimura A. Neuroimmune mechanisms mediating post-ischemic brain injury and repair. *Nat Rev Neurosci*. 24(5):299-312 (2023)
- 3 Koyama R, [Shichita T](#). Glial roles in sterile inflammation after ischemic stroke. *Neurosci Res*. 187:67-71 (2023)

バイオデータ科学研究部門

Division of Biological Data Science

【研究の理念と概要】

バイオデータ科学研究部門では、ゲノム、トランスクリプトーム、プロテオームなどのオミックスデータや、単一細胞解析、分子構造解析、生体イメージングなどの最新解析技術によって得られるバイオデータを、AIなどの最新のデータサイエンスで統合解析することによって、疾患の病因解明や画期的な治療法の開発につなげることを目指しています。さらに、これらのバイオデータを基に、「病気への罹りやすさ」といった、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とで、個別化医療の実現や、疾患予防法の開発を目指します。

【新規開設分野】

計算創薬科学分野

【分野】

分子構造情報学分野

ゲノム機能情報分野

ゲノム機能多様性分野

計算システム生物学分野

先端ナノ医工学分野

【部門の主な研究成果】

2023年度プレスリリース

- 深層生成モデルを活用した細胞共局在ネットワーク解析ツール「DeepCOLOR」を開発～細胞間コミュニケーションの全体像解明から、創薬・疾患の超早期予測への応用にも期待～（計算システム生物学分野）
- 最前線で胃を守れ～胃粘膜を保護する幹細胞分化制御のしくみを解明～（ゲノム機能情報分野）
- 世界初の高純度キャップ化 mRNA ワクチン製造技術、PureCap 法の確立 ～ Cap2 型 mRNA が低免疫刺激・高翻訳能を有することを明らかに～（先端ナノ医工学分野）

バイオデータ科学研究部門 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21万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. HLA-A*24:02 と改変型 Wilms' Tumor 1 ペプチドの結合機構

ヒト白血球抗原 (HLA) システムは、免疫系において中心的な役割を果たす複雑な遺伝子群である。このシステムに属する HLA 遺伝子は、細胞表面における抗原提示という重要なプロセスを通じて、免疫応答の調節に不可欠である。具体的には、これらの遺伝子は主要組織適合性複合体 (MHC) クラス I およびクラス II 分子のコードに関与しており、細胞がどのようにして自身の表面で抗原ペプチドを提示し、免疫系の監視下に置かかを決定する。MHC クラス I 分子は、全ての核を持つ細胞に存在し、特に細胞内の異物（ウイルスやがん細胞由来の抗原）を提示することで、CD8⁺T 細胞（サイトトキック T 細胞）による監視を強化する。HLA 遺伝子の多様性は非常に高く、個々の遺伝的背景が免疫応答に大きく影響を及ぼす。特に、アジア系民族において高頻度で見られる HLA-A*24:02 アレルは、遺伝的多様性の中で特

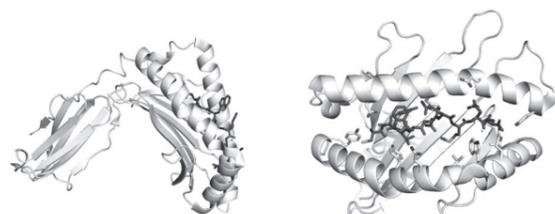


図1 (左) HLA-A24 と mWT1 ペプチド複合体の全体構造。(右) HLA-A24 と mWT1 ペプチドの相互作用

に注目されるものの一つである。HLA-A24 に関連する研究は、自己免疫疾患、感染症、がんとの関係を明らかにしており、このアレルに特異的に結合するペプチドの同定は、免疫療法の設計において非常に重要な情報を提供する。特にがん細胞によって分泌されるペプチドを特定し、これをワクチンのターゲットとすることで、がん細胞を攻撃する T 細胞の誘導が期待される。

本研究では、HLA-A*24:02 アレルと改変型 Wilms' Tumor 1 (mWT1) ペプチドとの間で形成される複合体の構造の結晶構造解析を行った。大型放射光施設 SPring-8 における自動データ収集システムを利用し、回折データを取得した。このデータを基に、2.48 Å 分解能で複合体の構造を明らかにした (図1)。HLA-A24 と mWT1 ペプチド間の結合に関する詳細な親和性と構造的特徴が明らかになり、これは HLA-A24 を標的とするがん免疫療法のための高親和性ペプチドの設計や、異なる MHC クラス I 分子に対する結合メカニズムの理解を深める上で重要な意味を持つ。

本研究は、兵庫県立大学神谷成敏特任教授、京都府立大学織田昌幸教授、東京理科大学小園晴生准教授、大阪大学 Gert-Jan Bekker 特任講師との共同研究である。

2. MD シミュレーションによる SLC26A9 の機能解析

Solute Carrier Transporter 26 family member A9 (SLC26A9) は、主に肺と胃の上皮細胞で発現し、粘液絨毛クリアランスと胃酸の産生に寄与する Cl イオントランスポーターである。SLC26A9 は嚢胞性線維症膜透過調節因子 (CFTR) と相互作用し、Cl イオンの透過性を調節する。嚢胞性線維症はコーカソイドで多く見られる遺伝病であるが、現在のところ有効な治療法は確立さ

れていない。SLC26A9 と CFTR の共局在性と機能的相関から、SLC26A9 は嚢胞性線維症患者の上皮細胞における Cl イオン輸送を復元するための治療標的として注目されている。SLC26A9 は14本の膜貫通ヘリックスと、細胞質側に位置する STAS ドメインから構成されており、二量体を形成する。また、C末端には PDZ ドメインと結合するモチーフを持つ。膜貫通ヘリックスの柔軟性が基質との相互作用を介して輸送運動に関与していることが示唆されているものの、SLC26A9 の輸送メカニズムはまだ完全には解明されていない。さらに、STAS ドメインの変異は膜貫通領域間の相互作用に影響を及ぼし、輸送機能の低下を引き起こす一方で、STAS ドメインが Cl イオン輸送において果たす役割についてはほとんど理解されていない。

本研究では、ヒト SLC26A9 の全長モデル、STAS ドメインを欠損させたモデル、C末端を欠損させたモデルに対して分子動力学 (MD) シミュレーションを行った。MD シミュレーションの結果、ヘリックス 12 が STAS ドメインと塩橋によって相互作用し、曲がった構造から伸びた構造へと変化することが観察され、これが Cl イオンの安定な結合を引き起こすことが示された (図2)。さらに、STAS ドメインの大きな非対称な動きが、膜貫通領域の構造変化を誘発し、Cl イオンの輸送を促進することが示唆された。この研究から得られた知見は、SLC26A9 の機能についての理解を深めるだけでなく、Cl イオン輸送に関連する疾患、特に嚢胞性線維症のための新薬の合理的な設計とより効果的な治療法の開発に重要なステップとなると期待される。

本研究は東北大学木下賢吾教授、西羽美准教授、長浜バイオ大学大森聡特任講師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

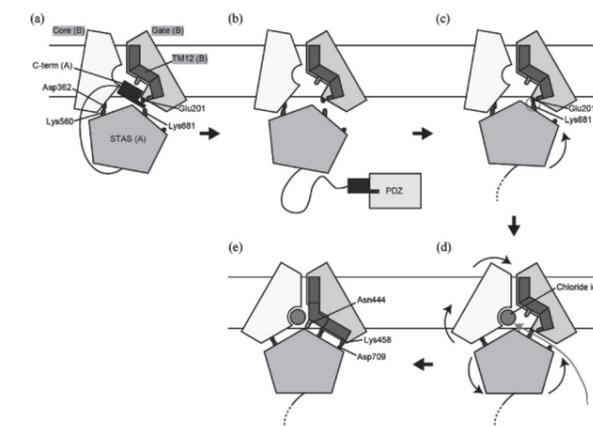


図2 SLC26A9 のトランスポート機構の模式図

近年の電子顕微鏡の急激な発展により、今日では21万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。

研究業績

原著論文

1. Bekker GJ, Numoto N, Kawasaki M, Hayashi T, Yabuno S, Kozono Y, Shimizu T, Kozono H, Ito N, Oda M, Kamiya N. Elucidation of binding mechanism, affinity and complex structure

between mWT1 tumor-associated antigen peptide and HLA-A*24:02. *Protein Science*, 32, e4775, 2023.

2. Kamegawa A, Suzuki S, Suzuki H, Nishikawa K, Numoto N, Fujiyoshi Y. Structural analysis of the water channel AQP2 by single-particle cryo-EM. *J. Struct. Biol.*, 215, 107984, 2023.

3. Kozai D, Numoto N, Nishikawa K, Kamegawa

A, Kawasaki S, Hiroaki Y, Irie K, Oshima A, Hanzawa H, Shimada K, Kitano Y, Fujiyoshi Y. Recognition mechanism of a novel gabapentinoid drug, mirogabalin, for recombinant human $\alpha 2\delta 1$, a voltage-gated calcium channel subunit. *J. Mol. Biol.*, 435, 168049, 2023.

バイオデータ科学研究部門 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

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ます。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します。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ます。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ます。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ます。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ます。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でしょう。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ます。

研究紹介

胃粘膜を保護する幹細胞分化制御のしくみを解明

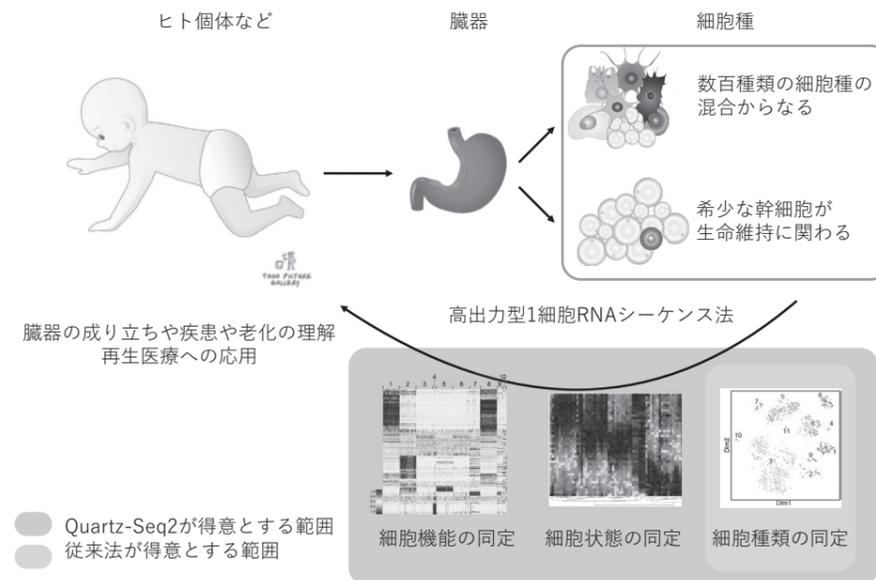
胃の幹細胞の未分化状態を維持するしくみや、胃の表面を保護する粘液を分泌する細胞（表層粘液細胞）への分化のしくみを解明しました [4]。今回の研究では、我々が開発した世界最高精度の1細胞RNAシーケンス法「Quartz-Seq2」を用いてマウスの胃を構成する様々な細胞の遺伝子の発現を1細胞レベルで精密に解析しました。この遺伝子発現解析データを用いることで、胃の幹細胞が分化する過程で活性化するシグナル伝達経路が予測可能になりました。さらに3次元培養した胃の幹細胞に予測されたシグナル経路の促進剤や阻害剤を添加して検証することで、胃が正常な働きを保つ恒常性維持のしくみの一部を解明することに成功しました。本研究成果は、幹細胞制御機構の破綻によって生じる胃癌やその前がん病変である化生の発生メカニズムの理解にもつながると期待されます。

研究業績

1. Koki Tsuyuzaki, Manabu Ishii, Itoshi Nikaido. Sctensor detects many-to-many cell-cell interactions from single cell RNA-sequencing data. BMC bioinformatics, 24(1), 2023年11月7日, 420-420
2. Yasuyuki Shima, Henrik Skibbe, Yohei Sasagawa, Noriko Fujimori, Yoshimi Iwayama, Ayako Isomura-Matoba, Minoru Yano, Takumi Ichikawa, Itoshi Nikaido, Nobutaka Hattori, Tadafumi Kato. Distinctiveness and continuity in transcriptome and connectivity in the anterior-posterior axis of the paraventricular nucleus of the thalamus. Cell reports, 42(10), 2023年10月18日, 113309-113309.
3. Nao Ogura, Yohei Sasagawa, Tasuku Ito, Toshiaki Tameshige, Satomi Kawai, Masaki

- Sano, Yuki Doll, Akira Iwase, Ayako Kawamura, Takamasa Suzuki, Itoshi Nikaido, Keiko Sugimoto, Momoko Ikeuchi. WUSCHEL-RELATED HOMEBOX 13 suppresses de novo shoot regeneration via cell fate control of pluripotent callus Science Advances, 9(27), 2023年7月7日.
4. Hitomi Takada*, Yohei Sasagawa*, Mika Yoshimura, Kaori Tanaka, Yoshimi Iwayama, Tetsutaro Hayashi, Ayako Isomura-Matoba, Itoshi Nikaido †, Akira Kurisaki †. Single-cell transcriptomics uncovers EGFR signaling-mediated gastric progenitor cell differentiation in stomach homeostasis. Nature communications, 14(1), 2023年6月29日, 3750-3750.
5. Koki Tsuyuzaki, Kentaro Yamamoto, Yu Toyoshima, Hirofumi Sato, Manami Kanamori, Takayuki Teramoto, Takeshi Ishihara, Yuichi

- Iino, Itoshi Nikaido. WormTensor: a clustering method for time-series whole-brain activity data from C. elegans. BMC bioinformatics, 24(1), 2023年6月16日, 254-254.
6. Koki Tsuyuzaki, Itoshi Nikaido. nnTensor: An R package for non-negative matrix/tensor decomposition Journal of Open Source Software, 2023年4月23日.
7. Hiromi Nishimura, Yayoi Ikawa, Eriko Kajikawa, Natsumi Shimizu-Mizuno, Sylvain Hiver, Namine Tabata-Okamoto, Masashi Mori, Tomoya Kitajima, Tetsutaro Hayashi, Mika Yoshimura, Mana Umeda, Itoshi Nikaido, Mineo Kurokawa, Toshio Watanabe, Hiroshi Hamada. Maternal epigenetic factors in embryonic and postnatal development. Genes to cells : devoted to molecular & cellular mechanisms, 2023年3月12日.



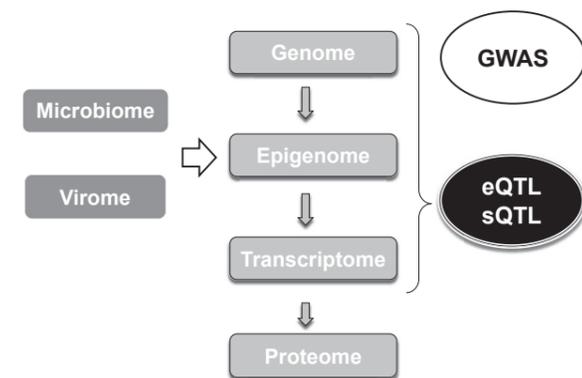
© 2016 DBCLS TogoTV / CC-BY-4.0

バイオデータ科学研究部門 ゲノム機能多様性分野

教授：高地雄太 准教授：西田奈央 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。

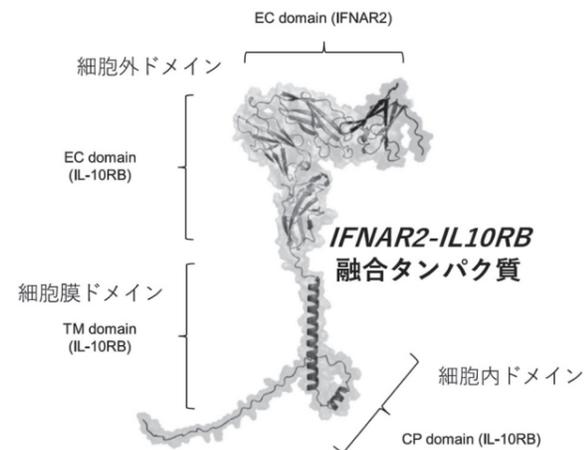


研究紹介

1. 遺伝子多型の機能解析による病態解明

多因子疾患の感受性遺伝子領域の多くは、遺伝子多型が発現量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



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。

まず、sQTL のうち、遺伝子のタンパク質の配列を変化させるものを網羅的に明らかにする手法として、integrated-isoform ratio QT (ⁱr-QTL) 解析法を開発した (*Nat Commun* 2022)。また、免疫細胞 28 サブセットにおけるロングリード・シーケンサーによる網羅的発現解析 (RNA-seq) を行い、免疫細胞におけるアイソフォームのアトラス (Immune Isoform Atlas) を作成するとともに (*bioRxiv* 2022)、COVID-19 の重症化に関与する、IFNAR2-IL10RB 融合トランスクリプト・アイソフォームを同定した (*Immunity* 2023)。このように、選択的スプライシングに注目した解析によって、免疫が関連する様々な病態解明が進むものと考えられる。

2. 疾患感受性遺伝子の探索

これまで行われてきた GWAS の結果として、集団における遺伝因子の違いも少なからず存在することが明らかになっている。我々は、関節リウマチのゲノム解析を目的とした国際共同研究グループ (Rheumatoid Arthritis Consortium International: RACI) において、世界中の様々な集団の GWAS データのメタ解析を行う

ことによって、あらたに 34 の遺伝子領域が疾患と関連することを明らかにした (*Nat Genet* 2022)。また 2022 年度より、診断未確定段階の関節炎患者における診断・予後予測を可能にすることを目的に、全ゲノムシーケンスによる網羅的なゲノム解析プロジェクトを開始している (AMED 免疫アレルギー疾患実用化研究事業)。

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：邱淑君 (技術補佐員)

研究業績

原著論文

1. Chang S, Torii S, Inamo J, Ishikawa K, Kochi Y, et al. Uncovering the Localization and Function of a Novel Read-Through Transcript 'TOMM40-APOE'. *Cells*. 13. 2023.
2. Fujitani H, Eguchi H, Kochi Y, Arai T, Muramatsu M, et al. Rare germline variants in pancreatic cancer and multiple primary cancers:

an autopsy study. *Eur J Cancer Prev.* 32. 286-97. 2023.

3. Iwasaki Y, Takeshima Y, Nakano M, Okubo M, Ota M, et al. Combined plasma metabolomic and transcriptomic analysis identify histidine as a biomarker and potential contributor in SLE pathogenesis. *Rheumatology (Oxford)*. 62. 905-13. 2023.

4. Mitsui Y, Suzuki T, Kuniyoshi K, Inamo J, Yamaguchi K, et al. Expression of the readthrough transcript CiDRE in alveolar macrophages boosts SARS-CoV-2 susceptibility and promotes COVID-19 severity. *Immunity*. 56. 1939-54 e12. 2023.

5. Ono C, Tanaka S, Myouzen K, Iwasaki T, Ueda M, et al. Upregulated Fcrl5 disrupts B cell

anergy causes autoimmune disease. *Front Immunol.* 14. 1276014. 2023.

6. Otomo N, Khanshour AM, Koido M, Takeda K, Momozawa Y, et al. Evidence of causality of low body mass index on risk of adolescent idiopathic scoliosis: a Mendelian randomization study. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 14. 1089414. 2023.

7. Takada K, Ueda MT, Shichinohe S, Kida Y, Ono C, et al. Genomic diversity of SARS-CoV-2 can be accelerated by mutations in the nsp14 gene. *iScience*. 26. 106210. 2023.

著書・総説

1. 高地 雄太, 関節リウマチの遺伝素因, 日本内科学会雑誌 第 112 巻第 10 号, 2023

バイオデータ科学研究部門 計算システム生物学分野

教授：島村徹平 准教授：林 周斗 プロジェクト講師：阿部 興 助教：廣瀬遥香
技術補佐員：岡 陽子、西尾真由美、山田麻衣

研究内容

計算システム生物学分野では、最先端のバイオインフォマティクス、データサイエンス、深層学習を駆使し、疾患をシステム的な観点から包括的に捉えてデータを解析するデータ駆動型の方法論について、理論と実践の双方の観点から研究を行っています。次世代シーケンサーから得られるオミクス（ゲノム、エピゲノム、トランスクリプトーム、プロテオーム、メタボロームなど）データや生体内イメージングデータから、背後に隠された生命現象の動作原理をシステムとして読み解くことにより、疾患の発症機構や病態の解明、疾患バイオマーカーの同定、治療効果の高精度予測、革新的な治療標的の発見を目指しています。

具体的には、生命現象の制御システムの解明及びモデル化を通して、生命を理解することを目的に、以下の3つのテーマに関する研究を行っています。

オミクス解析

ゲノム、エピゲノム、トランスクリプトーム、プロテオーム、メタボロームに至る網羅的な分子情報（オミクスデータ）から、生命システムの動作原理をボトムアップに調べ、がん、感染症、精神疾患などの病態解明に繋げる研究を行っています。最近では、一細胞レベルで複数のモダリティのオミクスを同時計測する技術（一細胞マルチオミクス解析）や空間情報を加味したトランスクリプトーム計測技術（空間トランスクリプトーム解析）などの最新の計測技術に合わせた独自の解析技術を開発しています。

イメージング解析

時間発展的に変動する組織・細胞・生体分子間の相互作用ネットワークを計測した動画像情報（イメージングデータ）から、深層学習や統計モデルを活用して解析し、これらネットワークのダイナミクスを数理科学的に定量化、可視化、モデル化する研究を行っています。

創薬・構造解析

生体内反応や生体機能を理解するために、分子構造を解析することで分子レベルで分子間相互作用を調べ、

様々な疾患症状を改善するための創薬（生体反応制御、分子設計）に繋げる研究を行っています。特に、理論科学的なアプローチ（分子動力学、量子化学、分子ドッキング）と情報解析（トポロジカルデータ解析、統計解析、機械学習）を融合することで、『構造と機能』の関係性を明らかにするための新規技術開発に取り組んでいます。

研究紹介

2023年の研究成果は以下の通りです。

1. データの形式や構造に制限されない多次元オミクスデータ解析のための統一行列因子分解モデルの開発

多次元オミクスデータから有用なパターンを抽出するための新しい統計的フレームワーク unified nonnegative matrix factorization (UNMF) を開発しました。UNMFの特徴は以下の通りです。

- データの形式や構造に制限されずに、多様なデータ構造やフォーマットを统一的に扱うことが可能
- 欠測値や繰り返し測定を含むテンソルデータにもシームレスに適用可能
- 変分ベイズ法を用いて、効率的な学習アルゴリズムを開発

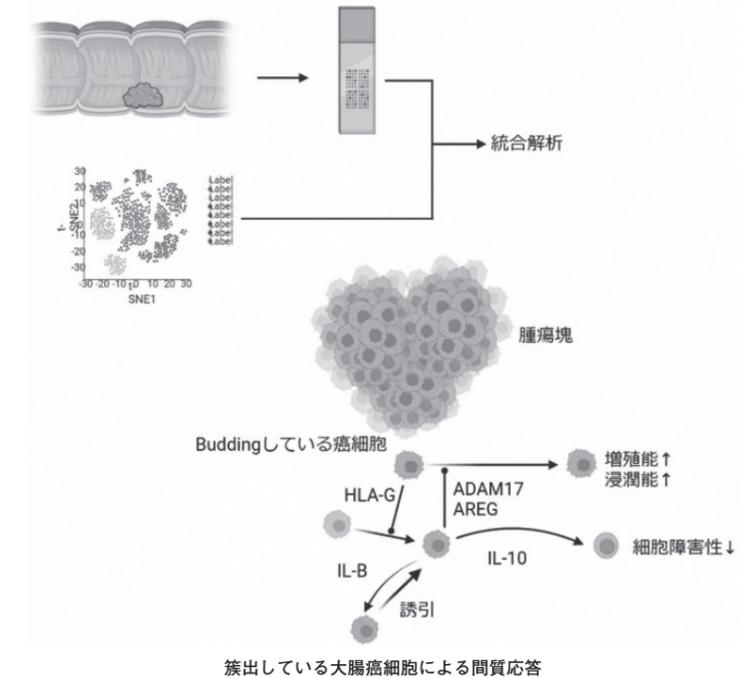
提案手法の有用性を示すために、いくつかの多次元オミクスデータへの適用例を示しました。メタゲノム解析では、提案手法がケースとコントロールの違いを効果的に特定できることを示しました。遺伝子発現の例では、提案手法が解釈可能性を維持しつつ、合理的な予測を行えることを示しました。

2. タンパク質構造および分子間・分子内相互作用の変化解析技術の開発

アミノ酸変異によるタンパク質構造および分子間/分子内相互作用の変化を解析するための、新たな解析フレームワーク「DAIS」を開発しました。提案手法は、分子動力学シミュレーション (MD) とトポロジカルデータ解析 (TDA) の一手法であるパーシステントホモロジー法を組み合わせることで、以下のようなことを可能にしました。

- アミノ酸変異に伴う構造変化や水素結合の変化を検出
- アミノ酸変異によって変化するタンパク質間相互作用の多様性を解析

SARS-CoV-2 スパイクタンパク質の変異体と野生型を比較解析し、D614G 変異によって引き起こされる構造変化と水素結合の変化を抽出しました。また、スパイクタンパク質のレセプター結合ドメイン (RBD) と ACE2 受容体の結合構造を BA.1、BA.2、BA.2.75、BA.5 などの変異体と比較し、変異パターンによる結合の多様性を明らかにしました。本手法は、アミノ酸変異がタンパク質構造や機能に与える影響を予測する上で強力なツールとなります。例えば、ウイルス感染においては変異による病原性の変化を、創薬ターゲットタンパク質においては変異による薬剤耐性の出現を予測できる可能性があります。



業績目録

原著論文

- Fujino S, et al: Metastases and treatment-resistant lineages in patient-derived cancer cells of colorectal cancer. Commun Biol. 6, 1191, 2023
- Li M, et al: FXYD3 functionally demarcates an ancestral breast cancer stem cell subpopulation with features of drug-tolerant persisters. J Clin Invest. 133, e166666, 2023
- Kato M, et al: Acidic extracellular pH drives accumulation of N1-acetylspermidine and recruitment of protumor neutrophils. PNAS Nexus. 2, pgad306, 2023
- Nakahara R, et al: Hypoxia activates SREBP2 through Golgi disassembly in bone marrow-derived monocytes for enhanced tumor growth. EMBO J. 42, e114032, 2023
- Abe K, Shimamura T: UNMF: a unified non-negative matrix factorization for multi-dimensional omics data. Brief Bioinform. 24, bbad253, 2023
- Takeuchi S, et al: Plucked scalp hair follicle samples are useful RNA sources for mRNA analysis of most genodermatosis-associated genes. J Dermatol Sci. 111, 68-70, 2023
- Koseki J, et al: Topological data analysis of protein structure and inter/intra-molecular interaction changes attributable to amino acid mutations. Comput Struct Biotechnol J. 21, 2950-2959, 2023
- Kitagawa A, et al: Convergent genomic diversity and novel BCAA metabolism in intrahepatic cholangiocarcinoma. Br J Cancer. 128, 2206-2217, 2023
- Torii S, et al: Increased flexibility of the SARS-CoV-2 RNA-binding site causes resistance

3. 大腸癌浸潤先進部がん微小環境における情報交換を一細胞レベルで解明

本研究では、アジア人大腸がん患者のシングルセル RNA-seq データと空間トランスクリプトームデータを用いて統合解析を実施し、がん細胞由来の HLA-G 分子が、腫瘍の悪性化に大きく関わる SPP1+ マクロファージの誘導に関与することを示しました。さらに、これらの解析結果は、大腸癌検体 20 例に対する免疫組織化学染色、並びにマウスへの大腸癌 HLA-G ノックアウト細胞の移植実験により、その再現性を確認しました。今回の発見は第 2 の免疫チェックポイントと言われる悪性マクロファージを標的にした治療法の提案であり、大腸癌致死数減に繋がる新たな治療アプローチとなることが期待されます。

- remdesivir. PLoS Pathog. 19, e1011231, 2023
- Ozato Y, et al: Spatial and single-cell transcriptomics decipher the cellular environment containing HLA-G+ cancer cells and SPP1+ macrophages in colorectal cancer. Cell Rep. 42, 111929, 2023

著書・総説

- 島村徹平、小嶋泰弘：変分自己符号化器を用いた細胞状態遷移のゆらぎ解析と未病研究への応用、生体の科学 Vol.74 No.2 2023 年 04 月号、118-122.
- 島村徹平：シングルセルマルチモーダル解析の最新技術—同一細胞・異なる細胞のモダリティ統合に向けてのアプローチ、実験医学増刊 Vol.41 No.15, 2423-2329.
- 三森功士、北川彰洋、島村徹平：オミクス解析が明らかにする治療標的としてのがん代謝機構、実験医学増刊 Vol.41 No.15, 2501-2508.

バイオデータ科学研究部門 先端ナノ医工学分野

教授：内田智士 講師：持田祐希

研究内容

新型コロナウイルス感染症に対して、メッセンジャーRNA (mRNA) ワクチンが優れた有効性、安全性を示し、既にヒトに対して何十億回の接種が行われた。その実績を背景として、他の感染症の予防ワクチン、がん治療ワクチンやがん免疫治療、遺伝性疾患や再生医療分野におけるタンパク質補充治療、ゲノム編集治療といった様々な医療応用を目指し、世界中で研究開発が加速している。このような応用では、標的組織、細胞に対して、安全かつ効率的に mRNA を送達するためのナノサイズの薬物送達システム (ナノ Drug Delivery System、ナノ DDS) が基盤となる。当研究分野では、ナノ DDS 開発から、その疾患治療応用まで、幅広く研究を進めている。

研究紹介

1. ナノ DDS 開発

表面がポリエチレングリコール (PEG) で覆われた高分子ミセルを基盤として、ナノ DDS 開発を進めてきた。高分子ミセルに mRNA を搭載すると、細胞内での mRNA の自然免疫受容体による認識が回避され(図1)、炎症反応を伴うことなく mRNA を送達できる。一方で、高分子ミセルでは生体内での mRNA の酵素分解が課題となっていた。

ナノ DDS の開発では、主に高分子や脂質の設計が行われてきたが、内田は mRNA の設計に着目したナノ DDS 開発を独自に立ち上げた。mRNA 設計では、従来、シュードウリジン修飾のように mRNA 分子への直接修飾が行われてきたが、この方法では、修飾によりタンパク質翻訳過程が障害される懸念があり、自由な修飾が困難であった。そこで、安定化修飾を行った相補鎖 RNA を mRNA にハイブリダイズすることを着想した(図2)。この mRNA 工学を基盤として、mRNA のコレステロール修飾、mRNA とポリマーの環境応答性架橋、mRNA への立体構造の付与といった戦略で、高分子ミセルの安定化に成功した (*Adv Drug Deliv Rev* 199, 114972, (2023))。

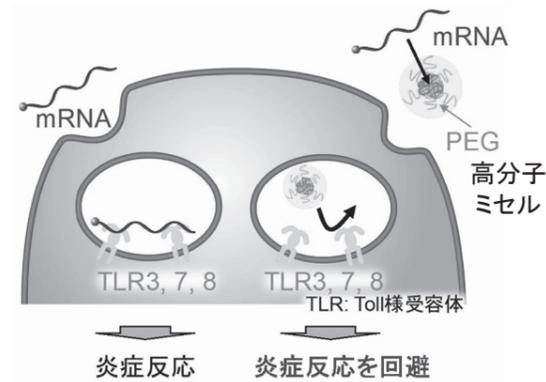


図1 高分子ミセルによる免疫刺激の回避

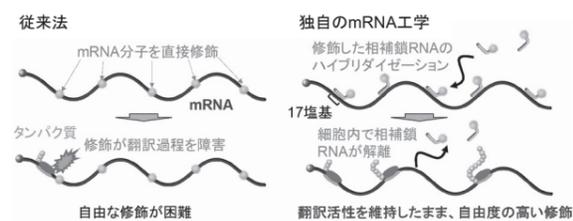


図2 mRNA 工学

2. mRNA ワクチン・医薬品の応用

1) 感染症予防ワクチン

脂質性ナノ粒子からなる承認された mRNA ワクチンでは、比較的強い副反応が課題である。パンデミック時の数回程度の接種は許容されるものの、新型コロナウイルス感染症に対する繰り返しのブースター接種や、他の感染症への適応を考慮すると、より安全なプラットフォームが必要となる。この課題に対して、免疫刺激作用を有する脂質を用いない mRNA 単体によるワクチンを開発した。その際、抗原提示細胞が豊富な皮膚組織を標的としたほか、ジェットインジェクターを用いて mRNA 送達効率を向上させた。すると、マウスにて全身性の副反応を伴うことなく、優れた抗体産生が得られ、新型コロナウイルス感染モデルに対しても有意な予防効果が得られた。さらに、サルにおいても、マウスと同程度の抗体産生が誘導された。現在、企業主導で臨床開発を進めている。

2) がんワクチン

感染症予防ワクチンでは安全性の向上が課題であるのに対して、がんワクチンでは効果の向上が課題となる。がんワクチンは自己由来の抗原を標的とすること、がんは免疫抑制的な微小環境を有することから、強力なワクチン効果が必要となる。そこで、上述の mRNA 工学を応用して、mRNA に免疫賦活化作用を持つ 2 本鎖 RNA を搭載し、ワクチンのアジュバント活性を向上させた。この mRNA を搭載することで、既存の複数の mRNA ワクチンの効果が向上した (ハイライト参照) (*PNAS* 120, e2214320120, (2023))。

3) タンパク質補充治療・ゲノム編集

mRNA は、治療用タンパク質やゲノム編集酵素を生体内で発現させるための方法としても期待されている。

一方、このような応用では、mRNA 送達により炎症反応が惹起されると、副作用を引き起こすだけでなく、標的組織の治療過程が障害される懸念がある。このような応用において、上述の高分子ミセルは、免疫刺激性の弱い優れたシステムである (図1)。実際に、mRNA 搭載高分子ミセルを用いることで、抗アポトーシス因子の mRNA を用いた劇症肝炎の治療、神経栄養因子の mRNA を用いた脳虚血性疾患や脊髄損傷の治療、アミロイドβに対する単鎖抗体の mRNA を用いたアルツハイマー病治療、軟骨形成因子の mRNA を用いた変形性関節症や椎間板変性の治療、さらには RNA を用いた CRISPR/Cas9 の生体内導入による脳のゲノム編集において、有望な成果が得られている。

ハイライト

くし型 mRNA を用いたがんワクチン

現在主流である脂質性ナノ粒子を基盤とした mRNA ワクチンでは、脂質が mRNA を分解から保護し標的組織、細胞に送達する役割と、自然免疫応答を活性化するアジュバントとしての役割を併せ持っている。しかし、これら二つの機能の両立は難しく、アジュバント機能は必ずしも最適ではない。そこで、現在のシステムに足りないアジュバント活性を、mRNA に付与して補うことを着想した。ここでは、自然免疫活性化作用を持つ 2 本鎖 RNA を mRNA にハイブリダイズさせたくし型 mRNA を設計した (図3)。2 本鎖 RNA の本数により免疫刺激の強度を制御することで、過度の免疫活性化を防ぐことができる。2 本鎖 RNA 部分は自然免疫受容体 RIG-I を標的として設計、最適化を行った。がんワクチンの臨床試験で用いられている脂質性ナノ粒子にこのくし型 mRNA を搭載し

たところ、抗原特異的な細胞傷害性 T 細胞の誘導活性が向上した。結果的に、マウスの悪性黒色腫の腫瘍関連抗原を標的としたワクチンにて、優れた抗腫瘍効果が得られた。さらに、くし型 mRNA は、新型コロナウイルスワクチンで実用化された脂質性ナノ粒子や高分子ミセルとの併用でも有用性を示した。

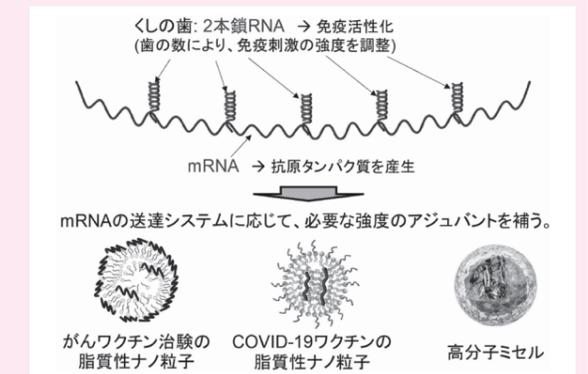


図3 がんワクチンのためのくし型 mRNA

人事異動

転入：内田智士 (教授)、持田祐希 (講師)、白鳥玲子 (研究支援者)、Naiya Ruzzama (修士課程)

研究業績

原著論文

M Inagaki, N Abe, Z Li, Y Nakashima, S Acharyya, K Ogawa, D Kawaguchi, H Hiraoka, A Banno, Z Meng, M Tada, T Ishida, P Lyu, K Kokubo, H Murase, F Hashiya, Y Kimura, S

Uchida, H Abe, Cap analogs with a hydrophobic photocleavable tag enable facile purification of fully capped mRNA with various cap structures, *Nature communications* 14, 2657, (2023)
T A Tockary, S Abbasi, M Matsui-Masai, A Hayashi, N Yoshinaga, E Boonstra, Z Wang, S Fukushima, K Kataoka, S Uchida, Com-structured mRNA vaccine tethered with short double-stranded RNA adjuvants maximizes cellular immunity for cancer treatment, *Proceedings of the National Academy of Sciences* 120, e2214320120, (2023)
M Oba, M Shibuya, Y Yamaberi, H Yokoo, S Uchida, A Ueda, M Tanaka, An Amphipathic

Structure of a Dipropylglycine-Containing Helical Peptide with Sufficient Length Enables Safe and Effective Intracellular siRNA Delivery, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 71, 250-256, (2023)
W Yang, T Miyazaki, Y Nakagawa, E Boonstra, K Masuda, Y Nakashima, P Chen, L Mixich, K Barthelmes, A Matsumoto, P Mi, S Uchida, H Cabral, Block cationomers with flanking hydrolyzable tyrosinate groups enhance in vivo mRNA delivery via pi-pi stacking-assisted micellar assembly, *Sci Technol Adv Mater* 24, 2170164, (2023)

ジョイントリサーチ部門
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 未病制御学部門

准教授：安達貴弘 教授：仁科博史（兼任）
技術補佐員：飛田めぐみ、傅舒桐、加納颯人、福原陸翔 共同研究員：林卓人

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することと、“未病の予防・治療”方法の開発が必要である。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、Ca²⁺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（ハイライト）。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。また、このマウスを利用しての細胞内Ca²⁺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（図1）。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ている。

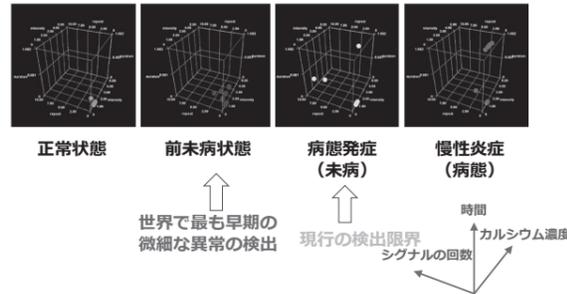


図1. 健康状態の高感度モニタリングシステム
細胞系譜特異的なカルシウムバイオセンサーマウスを用いた生体イメージングによる免疫細胞のCa²⁺シグナリングを、正常な状態から基にして、病態発症前の素因となる微細な異常を検出できる。このシステムで、病態発症から慢性疾患への進行も高感度に検出でき、生体の健康状態をモニタリングすることができる。

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、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。

ハイライト

- 細胞系譜特異的なカルシウムバイオセンサーマウスを樹立
- 免疫細胞の6D（x、y、z、時間、カルシウムシグナリング、細胞標識）生体イメージングを確立
- 食シグナルによる腸管（上皮・免疫・神経）センシングの生体イメージングによる可視化システムを確立
- 生体内の食シグナルによる腸脳相関を同時リアルタイムで可視化システムを確立



図 細胞系譜特異的なカルシウムバイオセンサーマウスによる6D生体イメージング
細胞系譜特異的なカルシウムバイオセンサー（Yellow Cameleon3.60）を樹立し、x、y、z、時間、細胞標識、Ca²⁺シグナリングの6つのパラメーターが測定できる6D生体イメージング系を確立。生体内の免疫細胞について動態のみならず、活性化もリアルタイムでモニターできる。

人事異動

連携研究員：吉川宗一郎（順天堂大学医学部）
難研研究従事者：水野美歩（順天堂大学医学部）
長尾 圭（順天堂大学医学部）
共同研究員：林 卓人（東亜薬品工業）
特別研究学生：李 金成（九州大学・博士課程2年）

業績

Kawamoto S, Uemura K, Hori N, Takayasu L, Konishi Y, Katoh K, Matsumoto T, Suzuki M, Sakai Y, Matsudaira T, Adachi T, Ohtani N, Standley DM, Suda W, Fukuda S, Hara E. Bacterial induction of B cell senescence promotes age-related changes in the gut

microbiota. Nat Cell Biol. 2023 Jun;25(6):865-876. doi: 10.1038/s41556-023-01145-5.

難病基盤・応用プロジェクト室

プロジェクト室長：樗木俊聡

新規ヒト扁平上皮がんオルガノイドライブラリーを用いた基盤・応用研究

研究代表者 樗木俊聡 (生体防御学)

共同研究者 佐藤 卓 (生体防御学)

絹笠祐介 (消化管外科学)

原田浩之 (顎口腔外科学)

森 良之 (自治医科大学・歯科口腔外科学)

野口忠秀 (自治医科大学・歯科口腔外科学)

研究紹介

舌がんは口腔がんの約6割を占め、進行がんでは5年生存率が42%と極めて低く、術後根治治療後も24～48%の患者で再発を認める。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30～50%と高い。私たちは独自の手法を用いて、ヒト舌がん及びヒト食道がんオルガノイドライブラリーの構築に成功した(舌がんオルガノイド28症例、食道がんオルガノイド24症例)(図1)。この中には、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症例が含まれていた(舌がんオルガノイド4症例、食道がんオルガノイド6症例)。これらを用いて以下の研究を推進している。

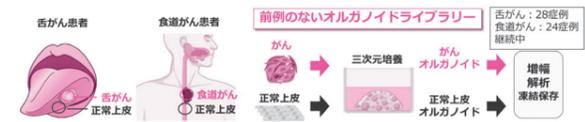


図1 ヒト舌がん・食道がんオルガノイドライブラリーの樹立

1. 扁平上皮がんオルガノイドを用いた抗がん剤耐性獲得機構の解明

化学療法剤耐性が生じる分子基盤を明らかにする目的で、化学療法剤耐性舌がんオルガノイド株と、化学療法剤感受性の舌がんオルガノイド株の遺伝子発現プロファイルと比較し、前者で有意に活性化または不活性化する生物学的経路(パスウェイ)を同定した。化学療法剤耐性舌がんオルガノイド株で活性化している特定のパスウェイを低分子化合物により阻害することによって同オルガノイド株の生存が著しく低下すること、反対に、化学療法剤感受性舌がんオルガノイド株で活性化されている特定のパスウェイを不活性化することで、化学療法剤抵抗性が高まることを見出している。食道扁平上皮がん

オルガノイドについても化学療法剤抵抗性に関わる可能性の高いパスウェイを特定しており、現在、この化学療法剤抵抗性の中核を担う転写因子をノックダウンした化学療法剤耐性がんオルガノイド株を作成し解析を進めている。

2. 抗がん剤耐性がんを標的とする既存薬の探索

本研究では、臨床応用の実現可能性を鑑み、FDAやPMDAなどの機関が承認済みの薬剤(低分子化合物)を対象とした。その結果、各舌がんオルガノイド株および食道扁平上皮がんオルガノイド株の増殖・生存を、実際の臨床で使用されている化学療法剤よりも有意に抑制しうる薬剤を複数同定することに成功している。現在、これらの薬剤の標的分子ノックダウン株を作製し、生存・増殖への影響を検証するとともに、がんオルガノイドPDXモデルを用いて*in vivo*における効果を検証中である。

ゲノム情報を基盤とした難治免疫疾患におけるスプライシング・アイソフォームの解析

研究代表者：高地雄太(ゲノム機能多様性分野・教授)

共同研究者：山口健介(生体材料工学研究所・特任助教)

佐藤 荘(免疫アレルギー学・教授)

保田晋助(膠原病・リウマチ内科学・教授)

三橋里美(ゲノム機能多様性分野・准教授)

研究内容

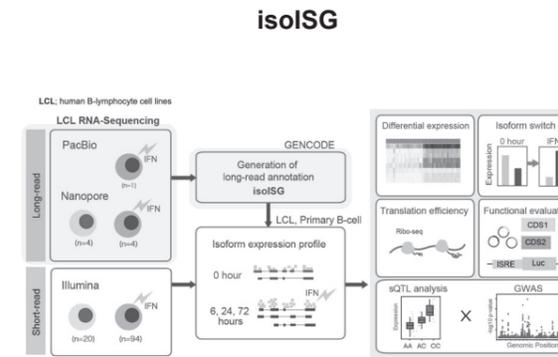
本プロジェクトでは、ゲノム医学、免疫学、膠原病学の専門家が、分野横断的な研究として、膠原病や重症型COVID-19などの難治性免疫疾患の発症に関わる遺伝子に注目し、そのスプライシング・アイソフォームの機能解析、また創薬標的としての評価を行う。

研究成果の概要

1) スプライシング・アイソフォームデータベースの構築

I型インターフェロン(IFN)は自然免疫において重要な炎症性サイトカインであるが、IFN- α によって刺激されたB細胞において、ロングリード・シーケンスによる網羅的発現解析(RNA-seq)を行い、アイソフォームのカタログ(isoISG)を作成した(Ueda MT et al. 論

文投稿中)。このカタログを用いることによって、自然免疫が関連する様々な疾患の病態解明が進むものと考えられる。



2) 疾患におけるスプライシング・アイソフォーム解析

アルツハイマー病のリスク遺伝子領域において同定された *TOMM40-APOE* 融合 transcript の機能解析を行い、本アイソフォームによって翻訳されるタンパク質がミトコンドリアに局在することを確認するとともに、細胞死を誘導することを明らかにした(Chang S et al, *Cells* 2023)。

業績

1. Chang S, Torii S, Inamo J, Ishikawa K, Kochi Y, Shimizu S. Uncovering the Localization and Function of a Novel Read-Through Transcript 'TOMM40-APOE'. *Cells*. 2023;13(1):69.

パーキンソン病発症メカニズムの解明と創薬開発研究

研究代表者：鳥居 暁(病態細胞生物学・プロジェクト准教授)

共同研究者：清水重臣(病態細胞生物学・教授)

細谷孝充(生体材料工学研究所・教授)

研究内容

パーキンソン病は50～60代に発症することが多く、手足の震えなどの症状が進行する神経難病である。患者は本邦で14万人以上を数えるが、現在まで根本治療法は存在しない。その発症には、中脳黒質ドーパミン作動性神経細胞の変性・脱落の関与が知られている。本プロ

ジェクトにおいては、この疾患の発症メカニズムの解明と創薬開発を行っている。具体的には、①原因遺伝子の1つである *PARK22* 遺伝子の変異による発症メカニズムの解明を培養細胞、疾患モデルマウスを用いて行う。②低分子化合物から疾患を緩和できる化合物を同定し、創薬開発研究を行う。③得られた知見を他の家族性、孤発性パーキンソン病へと応用し、統合的な理解へと繋ることを目的としている。本年度の成果は以下の通りである。

研究の紹介、成果

成果1：遺伝子変異を有する *PARK22/CHCHD2* 発現細胞でリン酸化 α -シヌクレインとアグリソームの増加が見られた。さらにカゼインキナーゼ1 ϵ が変異タンパク質と結合し α -シヌクレインをリン酸化するキナーゼであることがわかった。*PARK22/CHCHD2* 遺伝子変異を有するノックインマウスを作製して解析した結果、このマウスは運動異常が見られ、さらに中脳黒質において、培養細胞と同様のリン酸化 α -シヌクレインとアグリソームの増加等が見られた。

成果2：*PARK22* 遺伝子変異による異常を緩和できる化合物としてカゼインキナーゼ1 ϵ/δ の阻害剤 PF-670462 を同定した。この化合物により、細胞の異常緩和と、ノックインマウスでの運動機能の改善、神経細胞脱落の緩和が見られた。この改善効果は患者 iPS 細胞由来神経でも観察できた。以上の成果を原著論文1において報告した。

成果3：他の家族性パーキンソン病発症においても *PARK22* 遺伝子の関与があるかどうかの解析を iPS 細胞由来神経を用いて行った。

業績

原著論文

1. Torii S, Arakawa S, Sato S, Ishikawa KI, Taniguchi D, Sakurai HT, Honda S, Hiraoka Y, Ono M, Akamatsu W, Hattori N, Shimizu S. Involvement of casein kinase 1 epsilon/delta (Csnk1e/d) in the pathogenesis of familial Parkinson's disease caused by *CHCHD2*. *EMBO Molecular Medicine*. 15, e17451 (2023)

2. Chang S, Torii S, Inamo J, Ishikawa K, Kochi Y, Shimizu S. Uncovering the Localization and Function of a Novel Read-Through Transcript 'TOMM40-APOE'. *Cells*, 13, 69 (2023)

大学院教育研究支援実験室

I. ゲノム解析室

技術補佐員：藺部 知奈美

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

II. 細胞・プロテオーム解析室

技能専門職員：名和 眞希子（総合研究機構）

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

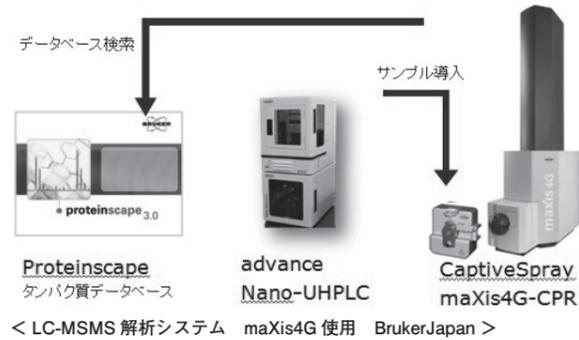
細胞プロテオーム解析室は、プロテオミクスに関する研究のサポートをしている。特に質量分析装置を用いた LC-MSMS 解析では受託解析も行っている。

<設置機器>

1. 質量分析計 定性分析向き装置 高感度高性能 maXis4G
2. 分子間相互作用解析装置 MicrocalorimetryTC200
3. インジェクションシステム Eppendorf InjectMan NI2, Leica M165FC

上記装置の管理を行っている。

本学 RCC リサーチコアセンター内プロテオームユニット部門としても活動している。プロテオームユニット部門内には、異なるタイプの質量分析機器が複数台稼働しており、目的蛋白質の同定・翻訳後修飾等の同定による使い分けをしている。円滑に解析、利用、運営できるよう互いに連携を図っている。



III. 未来ゲノム研究開発支援室

助教 鈴木 亨（総合研究機構）

技術職員：宇佐美 貴子（総合研究機構）

技能補佐員：木崎 未央

技術補佐員：石久保 春美

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

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

<設置機器>

- ・共焦点レーザー顕微鏡 … LSM710, LSM510META (Carl Zeiss)
- ・凍結マイクロトーム … CM3050S (Leica)
- ・ロータリーマイクロトーム … HM-325, HM-335E (Microm)
- ・ピプラトーム … PRO7 (堂阪イーエム)
- ・自動固定包埋装置 … RH-12DM(サクラファインテック) Excelsior ES (Thermo Fisher Scientific)
- ・パラフィンブロック作成装置 … Histostar (Thermo Fisher Scientific)
- ・リアルタイム PCR システム … 7500, 7900HT (Applied biosystems)
- ・レーザーマイクロダイセクション … LMD7000(Leica)
- ・実体顕微鏡 … SZX-16 (Olympus)

<講習会等>

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15日、6月13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)

9月19日

V. 幹細胞支援室

技術専門職員：齊藤 佳子（総合研究機構）

技術補佐員：英 美奈子（2023年3月まで）

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、下記的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)
- セルソーター FACS Aria Fusion (ベクトン・ディッキンソン)
- 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。

3. 2023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。2023年の当支援室の利用者数はのべ193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、寄託を受け付ける検体について、既存試料のオプトアウトによる受け入れを可能な体制とし、倫理委員会承認を得た。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（図1）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。当該年、臨床分野から新規依頼を1件受け付けた。細胞株のマイコプラズマ汚染検査も行っており、学内分野からの依頼があった。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。

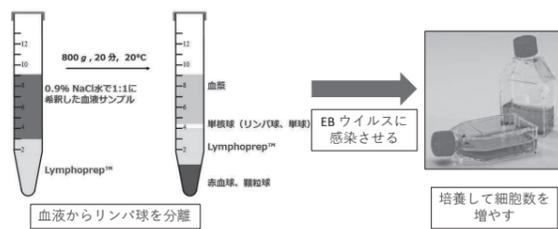


図1 EBVによるリンパ芽球の不死化



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

Ⅷ. 高深度研究開発クラスター

単一細胞オミクス解析室

教授：二階堂 愛

准教授：笹川 洋平

研究支援者：矢野 実

単一細胞オミクス解析室では1細胞レベルの計測技術とデータ解析技術の開発を行っている。またこれらの技術を用いて学内の共同研究を推進する。単一細胞オミクス解析室はゲノム機能情報分野と統合研究機構研究基盤クラスターと協力して運営されている。また難治疾患研究所が推進している高深度オミクス医学研究拠点整備事業の1細胞オミクス解析の中核として事業に貢献しており、より運営体制を強化するために今年度より高深度研究開発クラスターを設置した。

我々は世界最高性能の1細胞RNAシーケンス法 Quartz-Seq2の開発に成功した（Sasagawa Y. et al. Genome Biol. 2013, 2018, Mereu E. et al. Nature Biotech. 2020）。この技術を用いるとたったひとつの細胞に含まれるすべてのRNAの種類と数を正確に計測できる。Quartz-Seq2を用いることで、臓器や組織に含まれるあらゆる細胞種類の特性を計測できる。疾患が起きた臓器・組織内の細胞特性を調べると、疾患の原因の解明や創薬を行うことができる。

本年度はOxford Nanopore社のロングリードシーケンサーを導入した。ロングリードシーケンスとQuartz-Seq2を用いて、多検体の1細胞やバルクRNAをシーケンスする技術の開発を実施した。またゲノム機能情報分野や理化学研究所と共同で、1細胞RNAシーケンスからの細胞相互作用のデータ解析手法を開発しソースコード公開と論文の出版を行った [2, 7]。

2023年度は、学内4件、学外9件（うち2は企業）の共同研究を実施し、7報の論文が出版された。

1. Koki Tsuyuzaki, Manabu Ishii, Itoshi Nikaido. Sctensor detects many-to-many cell-cell interactions

from single cell RNA-sequencing data. BMC bioinformatics, 24(1), 2023年11月7日, 420-420
2. Yasuyuki Shima, Henrik Skibbe, Yohei Sasagawa, Noriko Fujimori, Yoshimi Iwayama, Ayako Isomura-Matoba, Minoru Yano, Takumi Ichikawa, Itoshi Nikaido, Nobutaka Hattori, Tadafumi Kato. Distinctiveness and continuity in transcriptome and connectivity in the anterior-posterior axis of the paraventricular nucleus of the thalamus. Cell reports, 42(10), 2023年10月18日, 113309-113309,
3. Hitomi Takada*, Yohei Sasagawa*, Mika Yoshimura, Kaori Tanaka, Yoshimi Iwayama, Tetsutaro Hayashi, Ayako Isomura-Matoba, Itoshi Nikaido †, Akira Kurisaki †. Author Correction: Single-cell transcriptomics uncovers EGFR signaling-mediated gastric progenitor cell differentiation in stomach homeostasis. Nature Communications, 2023.
4. Nao Ogura, Yohei Sasagawa, Tasuku Ito, Toshiaki Tameshige, Satomi Kawai, Masaki Sano, Yuki Doll, Akira Iwase, Ayako Kawamura, Takamasa Suzuki, Itoshi Nikaido, Keiko Sugimoto, Momoko Ikeuchi. WUSCHEL-RELATED HOMEODOMAIN 13 suppresses de

novo shoot regeneration via cell fate control of pluripotent callus Science Advances, 9(27), 2023年7月7日,
5. Koki Tsuyuzaki, Kentaro Yamamoto, Yu Toyoshima, Hirofumi Sato, Manami Kanamori, Takayuki Teramoto, Takeshi Ishihara, Yuichi Iino, Itoshi Nikaido. WormTensor: a clustering method for time-series whole-brain activity data from C. elegans. BMC bioinformatics, 24(1), 2023年6月16日, 254-254,
6. Koki Tsuyuzaki, Itoshi Nikaido. nnTensor: An R package for non-negative matrix/tensor decomposition Journal of Open Source Software, 2023年4月23日,
7. Hiromi Nishimura, Yayoi Ikawa, Eriko Kajikawa, Natsumi Shimizu-Mizuno, Sylvain Hiver, Namine Tabata-Okamoto, Masashi Mori, Tomoya Kitajima, Tetsutaro Hayashi, Mika Yoshimura, Mana Umeda, Itoshi Nikaido, Mineo Kurokawa, Toshio Watanabe, Hiroshi Hamada. Maternal epigenetic factors in embryonic and postnatal development. Genes to cells : devoted to molecular & cellular mechanisms, 2023年3月12日,

職員学生名簿

医化学分野

教 授 瀬川勝盛
 助 教 宮田佑吾
 外国人特別研究員 Sultan Cheryl Sophia
 技術補佐員 栗林梨沙
 西本萌恵
 秘書 澤田千賀子
 大学院研究生 Xu Jing
 短期交流学生 白木優
 長田紋耶
 西村萌
 学部生 篠田和
 蜂巢頌
 島田康介

病態生理化学分野

教 授 佐々木雄彦
 教授(キャリアアップ) 佐々木純子
 助 教 長谷川純矢
 技術補佐員 山本利義
 プロジェクト助教 徳田恵美
 森岡真
 学振特別研究員 柳井翔吾
 秘書 小藤香織
 技術補佐員 稲森可鈴
 学振 D C 崎原知子
 大学院生 山田楓子
 釘井雄基
 毛塚康平
 精木遥
 張易欣
 磯崎雅子
 菊池雄翔
 岡風吹
 樊宇博
 学部生 大村実果里
 及川堅己
 劉子齊
 堤智聖

発生再生生物学分野

教 授 仁科博史
 講 師 小藤智史
 助 教 岡本好海
 プロジェクト助教 金山敬子
 技術補佐員 草場みずき
 中川道子
 田村真統
 秘書 小藤香織
 大学院生 長尾裕志
 小坂美咲
 畠山大輝
 Chen Junjie

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

幹細胞制御分野

教 授 田賀哲也
 講 師 榊康一
 助 教 室田吉貴
 非常勤講師 信久幾夫
 柏木太一
 連携研究員 鹿川哲史
 備前典久
 事務補佐員 牧野まや
 技術補佐員 野寺真里花
 石川徹
 大学院生 Liu Wenyu
 Melig Gerel
 Zhang TingTing
 Tarapongpun Tanakorn
 Deng Shenghuan
 坂井優太

富樫ユリナ

恒常性医学分野

教 授 豊島文子

機能分子病態学分野

教 授 松田憲之
 准 教 授 山野晃史
 助 教 小松谷(小谷野)史香
 日本学術振興会特別研究員PD 小島和華
 大学院特別研究学生 荻原 禅
 大学院生 保科智之
 遠藤 龍
 澤田百葉
 伊東知哉
 遅澤咲文
 杵 潤 宏 紀

生体防御学分野

教 授 樗木俊聡
 准 教 授 佐藤 卓
 金山剛士
 助 教 金山剛士
 非常勤講師 小内伸幸
 村川泰裕
 大学院生 秋山めぐみ
 佐藤 元
 中川俊作
 藤内 城
 山田悠貴
 石川 駿
 技術補佐員 赤司貴子
 事務補佐員 上岡寿子

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
 藤田慶大
 プロジェクト准教授 本間秀典
 講 師 田中ひかり
 助 教 猪爪舞子
 事務補佐員 張 雪梅
 佐藤しげみ
 秘書 田中麻里絵
 大学院生 吉岡優希
 黄 勇
 高山すみれ
 金 美 花

金 曉 岑

分子神経科学分野

教 授 田中光一
 助 教 平岡優一
 大学院生 Zhao Di

病態細胞生物学分野

教 授 清水重臣
 プロジェクト准教授 鳥居 暁
 講 師 本田真也
 プロジェクト講師 辻岡政経
 助 教 仁部洋一
 プロジェクト助教 申 珉京
 秘書 深堀仁美
 大学院生 吉田朋世
 大島和馬

神経炎症修復学分野

教 授 七田 崇
 助 教 酒井誠一郎
 津山 淳
 研究支援者 過足芳子
 倉林久美子
 大学院生 中村朱里
 大谷健人
 小山龍樹
 学部生 林 花音
 中村彩夏
 田中絵梨
 秘書 吉村真理子

分子構造情報学分野

教 授 伊藤暢聡
 准 教 授 花園祐矢
 大学院生 周 崇震
 Narasinghe Mudiyanselage Hansaka
 Mitu Rani Das
 Purnima Liyanage

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
 研究支援者 相馬淳美
 矢野 実
 技術補佐員/秘書 関 良子

非常勤講師 岩山佳美
 大学院生 中川晴子
 脇田舞子
 田中柚希
 川越凛

Zhao Xin

ジョイントリサーチ部門 未病制御学部門

准教授 安達貴弘
 (兼)教授 仁科博史
 技術補佐員 飛田めぐみ
 傅舒桐
 加納颯人
 福原陸翔
 特別研究学生 李金成

大学院教育研究支援実験室

ゲノム解析室
 技術補佐員 蘭部知奈美

細胞プロテオーム解析室

技術専門職員 名和真希子(総合研究機構)

未来ゲノム研究開発支援室

助教 鈴木亨(総合研究機構)
 技術職員 宇佐美貴子(総合研究機構)
 技能補佐員 木崎未央
 技術補佐員 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 齋藤佳子(総合研究機構)

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

事務局

事務長 清水満
 副事務長 田淵卓矢
 専門職員 山中義一
 湯澤結衣
 総務係長 馬場英寿
 総務係主任 長崎州宏
 総務係員 井深陽子
 今井翔太
 特定業務事務職員 松村美里
 事務補佐員 高橋将貴

ゲノム機能多様性分野

教授 高地雄太
 准教授 西田奈央
 助教 上田真保子
 連携研究員 藤井航
 研究従事者 本田卓
 大学院生 西田晨也
 莊兆輝
 劉育菡
 石憲
 渡邊ゆか
 小曾根瑞希

技術補佐員

井藤理恵
 邱淑君
 岩佐直美

計算システム生物学分野

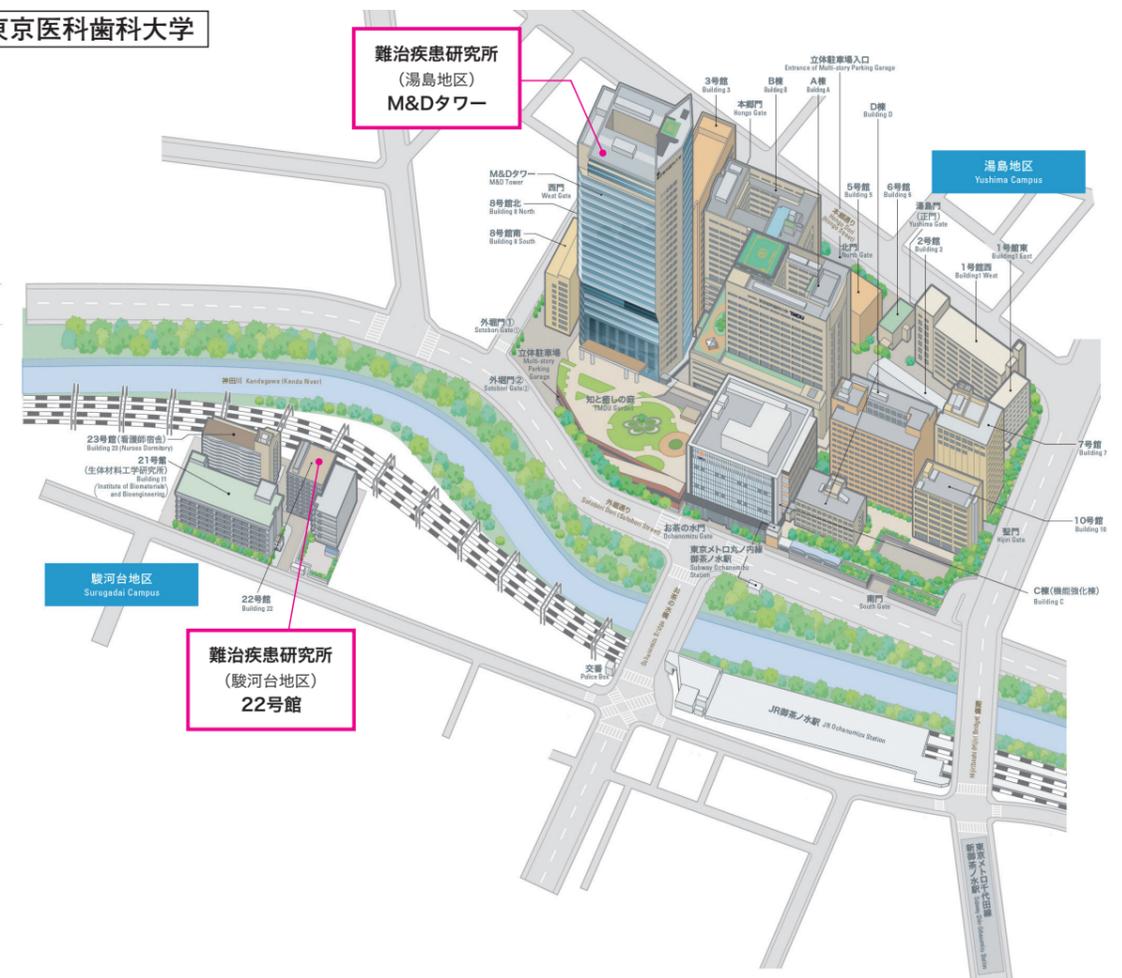
教授 島村徹平
 准教授 林周斗
 プロジェクト講師 阿部興
 小嶋泰弘
 助教 廣瀬遥香
 技術補佐員 岡陽子
 西尾真由美
 山田麻衣
 山畑伊織
 會田晏己

先端ナノ医工学分野

教授 内田智士
 講師 持田祐希
 共同研究員 正井三貴
 研究支援者 白鳥玲子
 技術補佐員 Victor Emanuel Marx
 派遣職員 望月絵里花
 堀井菜緒
 岩砂克紀
 技術補佐員 林知佳子
 大学院生 Naiya Ruzzama
 短期交流学生 Wang Rui
 Bao Wenjing

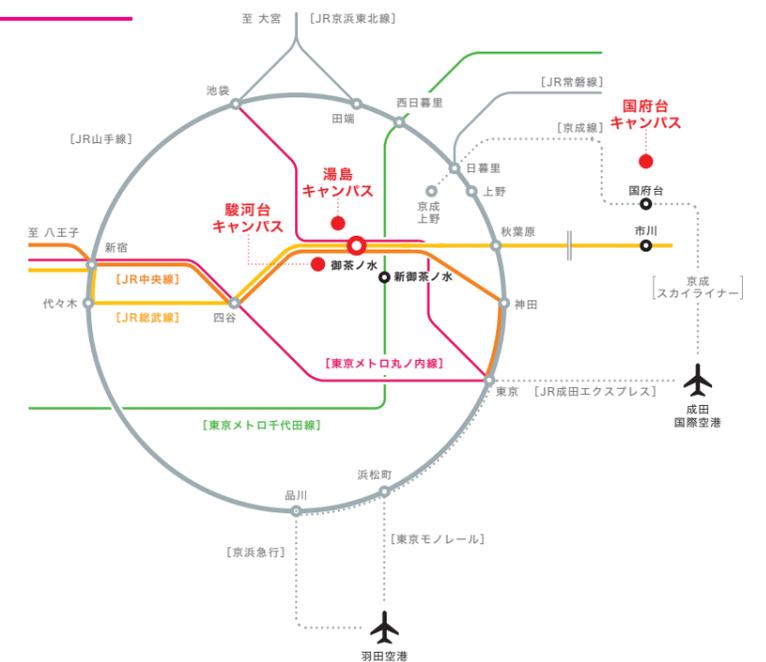
案内図

東京医科歯科大学



最寄駅

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



年報 2024

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