

日本医科大学 先端医学研究所紀要

第2巻 平成28年度



*Institute for Advanced Medical Sciences
Nippon Medical School
Year Book*

Vol. 2 (2016)

日本医科大学
先端医学研究所紀要

第2卷 平成28年度

Institute for Advanced Medical Sciences
Nippon Medical School
Year Book

Vol. 2 (2016)



平成28年4月 中庭にて

目 次

第2巻発刊によせて	先端医学研究所・所長 南 史朗	1	
I. 病態解析学部門			
1. 研究概要		5	
2. 研究業績		6	
3. 研究紹介		9	
II. 細胞生物学部門			
1. 研究概要		15	
2. 研究業績		16	
3. 研究紹介		19	
III. 遺伝子制御学部門			
1. 研究概要		25	
2. 研究紹介		31	
3. 研究業績		40	
IV. 生体機能制御学部門			
1. 研究概要		43	
2. 研究業績		45	
3. 研究紹介		47	
V. 武蔵小杉地区動物実験室			53
VI. 平成28(2016)年度先端医学研究所公開セミナー			55
VII. 平成28(2016)年度研究補助金、助成金等受け入れ			58
VIII. 教職員, 研究者名簿			60

紀要第2巻の発刊によせて

所長 南 史 朗

先端医学研究所紀要第2巻をお送り申し上げます。本紀要は、平成28年度の本研究所の研究業績を中心にまとめたものです。

2015年4月1日より、1954年から続いてきた老人病研究所の名称を変更し、「先端医学研究所」となりました。医学研究の進歩がめざましい今日、研究所の機能強化と社会のニーズに答えることを目的とし、自由な研究活動の場、開かれた研究施設として広範な医学研究ができるようにしてゆきたいと考えています。

医学研究とは、いたって基礎的な研究と臨床との谷間を埋めるべきものと理解しています。基礎研究から臨床応用まで連続して追求する、また、臨床上の問題点から新たな基礎研究が生まれる、そういったところに医学研究の意義があります。

当研究所は日本医科大学武蔵小杉病院の中にあります。病院と一体化した研究所の特徴を生かし、臨床に直結した研究、あるいは臨床応用できる基礎研究に注力してゆきたいと思っています。

新しいものを生み出すには、医学のみならず広い領域の専門家が協力して取り組むのが一番よいことは言うに及びません。これからの研究所は、このような多種の研究者が集って協力して取り組めるような場所でありたいと願っています。

表紙の写真の大きな楠は、日本医科大学武蔵小杉キャンパスの中にあり、私が入学した43年前には、病院玄関横にほんの小さな木として植わっていました。今では見上げるほどに立派な大木となりました。当研究所も、この楠のごとく成長してゆきたいと思います。

今後とも、ご指導、ご鞭撻のほど、何卒よろしくご願い申し上げます。

I . 病態解析学部門

Department of Molecular Pathophysiology

病態解析学部門

(大学院 分子細胞構造学分野)



教授 福原 茂朋

【研究概要】

全身を張り巡らす血管は、からだのすべての細胞に酸素や栄養を供給する“生命維持に必須のライフライン”である。また、血管は多臓器間ネットワークを構築することで生体恒常性維持にも寄与している。このため血管の機能異常は、多岐に渡る疾患の発症・進展、さらには加齢に伴う老化とも密接に関連している。当研究室では、ゼブラフィッシュをモデル脊椎動物として用いた蛍光生体イメージング技術を駆使して、“血管が如何に形作られ機能しているのか? ”、また“血管機能の破綻が如何に様々な病気を発症するのか?”といった疑問を分子レベルで明らかにすることを目的に研究を推進している。それにより、血管に関わる疾患の予防法・治療法開発に向けた分子基盤の構築を目指している。本研究目標を達成するために、平成28年度に実施した研究の成果を下記に示す。

1. 血管新生における内皮細胞動態を制御する分子メカニズムの解明 (藤原)

血管新生における内皮細胞の一方向集団運動を制御する分子機構について解析を行い、内皮細胞の動態は、前後の内皮細胞との間に働く力学的相互作用によって制御されることを示唆した。

2. 創傷治癒における血管新生の制御機構の解明 (弓削、野一色)

ゼブラフィッシュ成魚皮膚に傷害を加え、創傷治癒に伴う血管新生過程をライブで観察し、以下のことを見出した。(1)創傷部では切断された血管枝が伸長するとともに、傷害部位周囲の血管から新たな血管枝が出芽・伸長し血管網を構築すること、(2)組織収縮に伴って、筋肉層の血管網が創部に移動し、傷害部位の血管と吻合することでより複雑な血管網が構築されること、(3)血管網が構築された後も、内皮細胞は増殖を続け、血管の過形成を誘導するが、その後、一部の内皮細胞は消失し正常な血管構造が構築されることを明らかにした。これにより、創傷治癒に伴う血管新生の誘導と収束は、厳密に制御されていることが示唆された。

3. 血管新生における力学的刺激の役割の解明 (弓削)

創傷治癒において損傷血管が修復する際、血流に対して下流側の血管のみが伸長し、上流側の血管は伸長しないことを発見し、内腔圧が血管新生における血管伸長を抑制する可能性を示唆した。

4. 血管から造血幹細胞が発生するメカニズムの解明 (Rho)

Ras スーパーファミリーに属する低分子量G蛋白質 Rap1 を欠損するゼブラフィッシュを樹立し、Rap1 が造血発生を制御することを発見した。

【研究業績】

〈原著論文〉

1. Ando K., Fukuhara S. (Co-corresponding author), Izumi N., Nakajima H., Fukui H., Kelsh R.N., Mochizuki N. Clarification of mural cell coverage of vascular endothelial cells by live imaging of zebrafish. *Development* 143 : 1328-1339(2016). doi: 10.1242/dev.132654.
2. Chávez-Vargas L., Adame-García S.R., Cervantes-Villagrana R.D., Castillo-Kauil A., Bruystens J.G.H., Fukuhara S., Taylor S.S., Mochizuki N., Reyes-Cruz G., Vázquez-Prado J. Protein kinase A (PKA) Type I interacts with P-Rex1, a Rac guanine nucleotide exchange factor: Effect on PKA localization and P-Rex1 signaling. *J. Biol. Chem.* 291: 6182-6199(2016). doi: 10.1074/jbc.M115.712216
3. Nakajima H., Yamamoto K., Agarwala S., Terai K., Fukui H., Fukuhara S., Ando K., Miyazaki T., Yokota Y., Schmelzer E., Belting H.-G., Affolter M., Lecaudey V., Mochizuki N. Flow-dependent endothelial YAP regulation that contributes to vessel maintenance. *Dev. Cell* 40(6): 523-536(2017). doi: 10.1016/j.devcel.2017.02.019.
4. Chiba A., Watanabe-Takano H., Terai K., Fukui H., Miyazaki T., Uemura M., Hashimoto H., Hibi M., Fukuhara S., Mochizuki N. Osteocrin, a peptide secreted from the heart and other tissues, contributes to cranial osteogenesis and chondrogenesis in zebrafish. *Development* 144 : 334-344 (2017). doi: 10.1242/dev.143354.
5. Miura K., Nojiri T., Akitake Y., Ando K., Fukuhara S., Zenitani M., Kimura T., Hino J., Miyazato M., Hosoda H., Kangawa K. CCM2 and PAK4 act downstream of atrial natriuretic peptide signaling to promote cell spreading. *Biochem. J.* 474: 1897-1918 (2017). doi: 10.1042/BCJ20160841.

〈総説〉

1. Rho S., Ando K., Fukuhara S. (Corresponding author). Dynamic regulation of vascular permeability by vascular endothelial cadherin-mediated endothelial cell-cell junctions. *J. Nippon Med. Sch.* In press.
2. 福原茂朋. 血管透過性のダイナミックかつ巧妙な制御を可能にするシグナル伝達系, 「生化学」89-3号近畿支部企画『基礎と臨床をつなぐ血液・血管生物学』, 生化学会 In press
3. 弓削進弥, 藤原正和, 福原茂朋. 血管新生のメカノバイオロジー, 医薬ジャーナル, 6月号特集「新しい医療を拓くメカノバイオロジー」, 医薬ジャーナル社 In Press

〈国内外学会発表等〉

1. 福原茂朋、望月直樹、演題名「血管新生におけるメカノトランスダクション機構の役割」第55回日本生体医工学会大会、オーガナイズドセッション「血管メカノバイオロジー研究の最前線」、富山国際会議場、平成28年4月28日
2. 福原茂朋、望月直樹、演題名「血管新生の蛍光イメージング」第37回日本炎症・再生医学会、シンポジウム9「炎症と血管・リンパ管新生」、京都市勤業館 みやこめっせ、平成28年6月17日
3. Shigetomo Fukuhara. “Live imaging of vascular development in zebrafish” New Era of Angiogenesis Research (Organized by Japan Vascular Biology and Medicine Organization). Grand Front Osaka. July 7, 2016

4. Seung-Sik Rho, Shigetomo Fukuhara, Naoki Mochizuki. "The Small GTPase Rap1 Regulates Hematopoietic Stem Cell Development" 6th Molecular Cardiovascular Conference II, Tokyo, September 2, 2016
5. 弓削進弥、國田樹、有馬勇一郎、望月直樹、西山功一、福原茂朋、演題名「ゼブラフィッシュ成魚で確立した長時間ライブイメージング法による損傷血管再生過程の解明」6th Molecular Cardiovascular Conference II、東京、平成 28 年 9 月 2 日
6. 福原茂朋、演題名「血管新生の蛍光生体イメージング」第 84 回日本医科大学医学会総会、日本医科大学橋桜会館、平成 28 年 9 月 3 日
7. 福原茂朋、演題名「創傷治癒に伴う血管新生のライブイメージング」日本血管生物医学会秋期シンポジウム、東京医科歯科大学、平成 28 年 9 月 10 日
8. 福原茂朋、若山勇紀、望月直樹、演題名「血管新生における内皮細胞の一方向性移動を制御する分子機構」第 89 回日本生化学会大会、シンポジウム「膜動態を介した細胞間・細胞外環境との相互作用の制御」、東北大学川内北キャンパス、平成 28 年 9 月 25 日
9. 弓削進弥、國田樹、有馬勇一郎、横川隆司、三浦岳、望月直樹、西山功一、福原茂朋、演題名「創傷治癒に伴う血管新生のライブイメージングから明らかになった血管新生の新たな制御機構」生理学研究所研究会 2016「心臓・血管系の包括的な機能統合研究」、九州大学 馬出（病院地区）キャンパス、平成 28 年 10 月 24 日
10. Shinya Yuge, Itsuki Kunita, Yuichiro Arima, Ryuji Yokokawa, Takeshi Miura, Naoki Mochizuki, Koichi Nishiyama, and Shigetomo Fukuhara. "Live-imaging of angiogenesis in wound healing uncovers a novel role of intravascular pressure in regulation of angiogenesis" 2nd Kumamoto IRCMS International Symposium and 17th Kumamoto AIDS Seminar, Kumamoto, October 31, 2016
11. 福原茂朋、安藤康史、望月直樹、演題名「血管壁細胞の *in vivo* ライブイメージング」第 39 回日本分子生物、シンポジウム「ペリサイトを認識し研究することの重要性」、パシフィコ横浜、平成 28 年 11 月 30 日
12. 弓削進弥、國田樹、有馬勇一郎、横川隆司、三浦岳、望月直樹、西山功一、福原茂朋、演題名「ゼブラフィッシュ成魚の長時間ライブイメージングにより明らかになった血管新生の新たな制御機構」第 39 回日本分子生物、シンポジウム、パシフィコ横浜、平成 28 年 12 月 2 日



病態解析学部門
助教 藤原正和

血管新生における内皮細胞の集団運動を司る分子メカニズムの解明

略歴

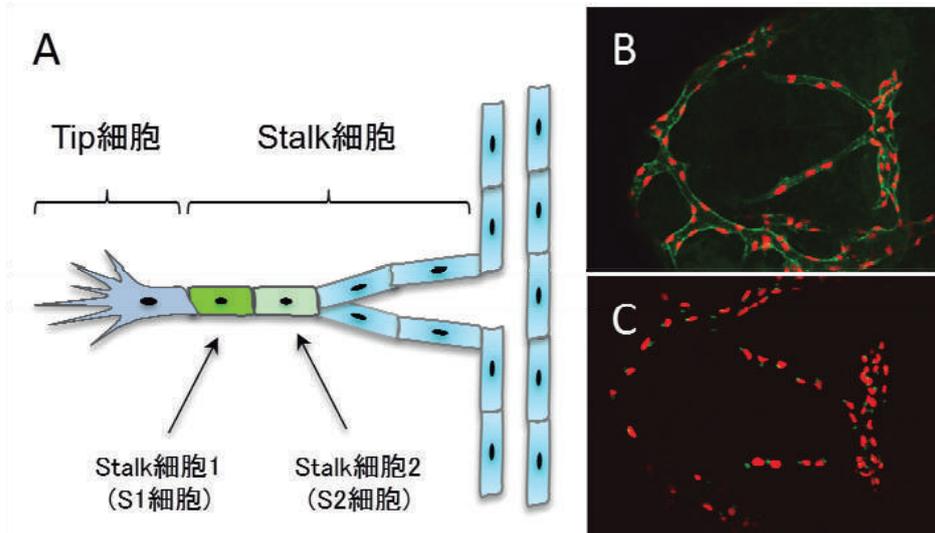
筑波大学バイオシステム研究科修士課程 (1995-1997)
アポトーシス抑制因子 Bcl-2 と Bcl-x_L の機能の違い

日本医科大学老人病研究所 助教 (1998-2016)
血管内皮細胞の形態・表現型・機能の多様性についての研究

博士 (医学) 日本医科大学にて論文により学位取得 (2004)

2016年より病態解析学部門で現在のテーマで研究を始める。

抱負 血管新生のメカニズムは未だ明らかになっていない点が多い。今まで明らかになっていない新規メカニズムを1つでも多くみつけてみたい。



集団運動による新生血管の構築

血管新生では先頭を移動する Tip 細胞とそれに連なる Stalk 細胞の協調的な細胞の集団運動によって血管が形成される (図 A)。これらの内皮細胞は接着を保ったまま一方向性に移動する。ゼブラフィッシュの内皮細胞を蛍光バイオセンサーにて可視化した (図 B, C)。核は H2B-mCherry で細胞の位置を (図 B, C: 赤)、ミオシンは Myl12.1-eGFP で細胞移動の駆動タンパク質として (図 B: 緑)、ゴルジ体は Golgi-eYFP で細胞の前後軸極性獲得 (図 C: 緑) のマーカーとして血管新生における集団運動の解析をおこなった。

血管新生では既存の血管から血管枝が出芽・伸長し、新たな血管網が構築される。これまでの報告から血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) が血管新生のシグナル上流で主要な役割を果たしていることが明らかになったが、直接血管の管腔形成に関わるシグナル下流のメカニズムについては未だ不明な点が多い。

血管新生において、内皮細胞は接着を保ったまま、一方向に進むことが知られている。この際、先頭を誘導する細胞を Tip 細胞、その後方に続く細胞を Stalk 細胞と呼ぶ (図 A)。このような細胞の集団運動は胎生期の組織形成、創傷治癒、がん転移などにおいてもみられ、複雑な組織の形成に関わっていることが知られている。そこで、本研究では複雑な構造を持つ血管がどのような内皮細胞の集団運動によって構築されるのか、細胞の集団運動を制御する分子機構を明らかにすることを目的に研究を進めている。

血管新生の形成過程は蛍光バイオセンサーを内皮細胞特異的に発現するトランスジェニックゼブラフィッシュを用いて行っている。内皮細胞の移動は核を、細胞の駆動はミオシン・アクチンを、細胞の前後軸極性はゴルジ体を可視化することによって解析を行っている。現在は Tip 細胞と Stalk 細胞の距離と細胞動態に着目し、血管新生における集団運動を司る分子機構の解明を進めている。

主要論文

Fujiwara M, Hasebe T, Kajita M, Ishizuya-Oka A, Ghazizadeh M, Kawanami O. J Vasc Res. Vol. 48 104:18 (2011)
Fujiwara M, Ghazizadeh M, Kawanami O. Vasc Med. Vol 11 115-21, Review (2006)
Fujiwara M, Jin E, Ghazizadeh M, Kawanami O. J Histochem Cytochem. Vol. 53 1121-9 (2005)

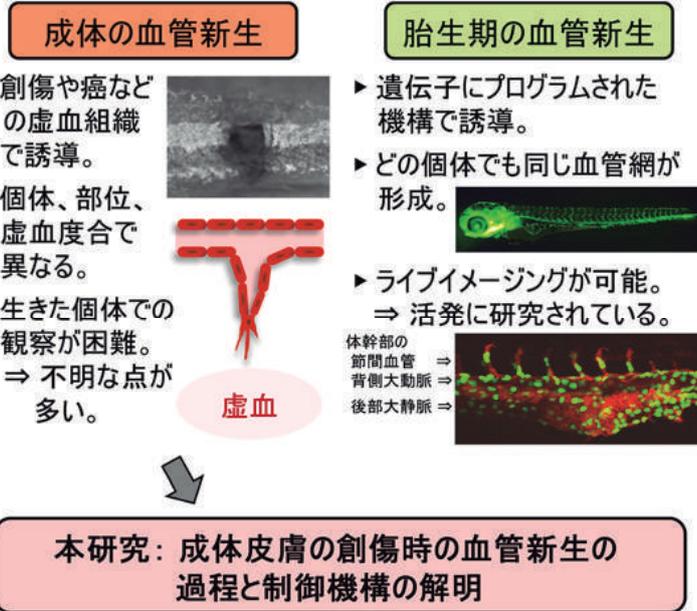


病態解析学部門
助教 弓削 進弥

成体のライブイメージングによる、皮膚創傷時の血管新生の制御機構の解明

略歴

2001年早稲田大学教育学部理学学科生物学専修卒業（学士）、2003年東京大学大学院理学系研究科生物学専攻修士課程卒業、2006年同博士課程卒業（理学博士）。2006-2008年ミズーリ大学コロンビア校医学部放射線医薬学部門にて博士研究員、2009-2013年ミシガン州立大学農学天然資源研究科水産野生生物学部門にて博士研究員、2013-2016年国立循環器病研究センター研究所細胞生物学部にて流動研究員、2016年より現職。専門は、元、比較内分泌学・比較生理学・海洋生命科学、そして現在は、血管生物学・イメージング生物学。非医学系と医学系の経験を生かして、医学に貢献できる基礎研究と生命科学全体の基礎となる研究を目指しています。



図：血管新生の成体と胎生期での違い、および本研究の取組みの概略：『血管新生』とは、既存の血管から新たな血管が出芽・伸長する現象である。血管新生は成体と胎生期で異なるが、成体の血管新生の制御機構には不明な点が多く残されている。本研究は、成体の血管新生の研究に挑み、特に皮膚創傷治癒に伴う血管新生の過程と制御機構の解明に取り組んできている。

血管は全身の組織・器官に栄養・酸素を送り込むために必須であり、全身の多くの病気・傷害に関与している。血管が全身に張り巡らされるためには、既存の血管から新しい血管が出芽する『血管新生』という生命現象が起きる。血管新生は、成体と胎生期で異なる（上図参照）。胎生期の血管新生の制御機構は、ライブイメージングにより活発に研究されてきている。いっぽう成体では、個体を長時間生きたまま固定して研究することが困難であったため、その血管新生の制御機構には不明な点が多く残されている。

私たちは、成体の血管新生を研究するために、ゼブラフィッシュ成魚を長時間ライブイメージングする技術を独自に開発し、皮膚の創傷治癒に伴う血管新生の制御機構を解明する研究に挑んでいる。成魚の皮膚の血管網の基本構造の同定に取り組み、創傷治癒の主要な過程それぞれにおける血管新生の動態を解析し、血管が修復される過程とその制御機構の解明に取り組んできた。さらに創傷の程度（表皮～真皮の傷、筋肉層までの傷など）による血管新生の過程と制御機構の解明にも取り組み始めている。

私たちは、世界に先駆けて、成体のライブイメージングにより、創傷治癒に伴う血管新生の過程と制御機構の研究に取り組んできており、今後は、創傷血管のみならず周辺の創傷組織も合わせてライブイメージングで研究していく。

主要論文

- Fukuhara, S., Zhang, J., Yuge, S., et al. *Dev. Biol.* 393(1): 10-23, 2014.
Yuge, S., Richter, C.A., et al. *Comp. Biochem. Physiol. B* 163(2): 193-202, 2012.
Yuge, S., Yamagami, S., et al. *Gen. Comp. Endocrinol.* 149 (1): 10-20, 2006.
Yuge, S., Inoue, K., et al. *J. Biol. Chem.* 278 (25): 22726-22733, 2003.



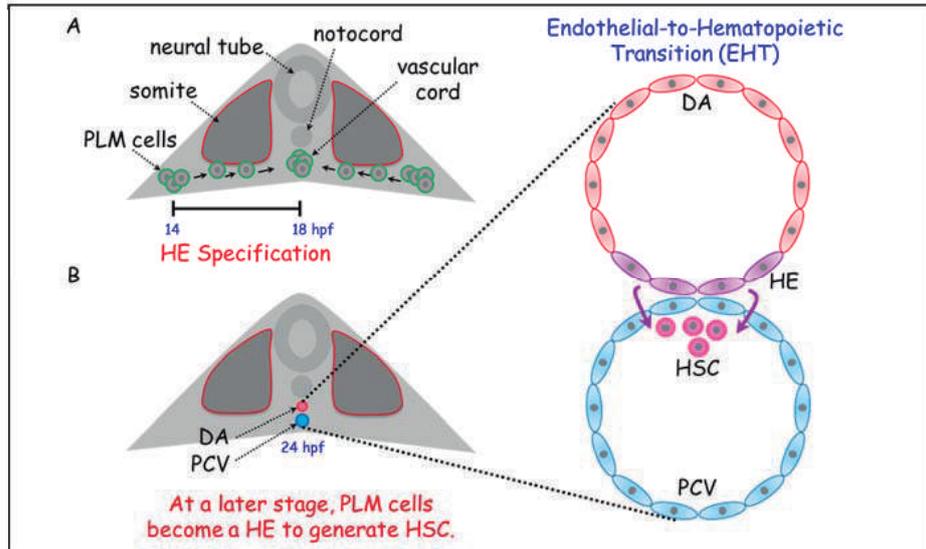
病態解析学部門
助教 盧承湜 (Seung-Sik Rho)

造血幹細胞の発生における Rap1 低分子量 G タンパク質の役割の解明.

略歴

2001.03 ~ 2005.02
B.S., Dept. of Mol. Biol., Natl. Pusan Univ., Busan, Korea
2005.09 ~ 2012.02
Ph.D., Dept. of Biochem., Yonsei Univ., Seoul, Korea.
2012.03 ~ 2013.02
Postdoc., Dept. of Biochem., Yonsei Univ., Seoul, Korea.
2013.04 ~ 2016.03
Postdoc., Dept. of Cell Biol., Natl. Cerebr. & Cardiovasc. Ctr. Res. Inst., Osaka.
2016.04 ~
Assistant Prof., Dept. of Mol. Pathophysiol., Inst. Adv. Med. Sci., Nippon Med. Sch., Kawasaki.

I hope that I become a researcher giving some help in human society.



Schematic diagram of hemogenic endothelium (HE) specification to generate hematopoietic stem cells (HSCs).

A. HSC precursors are specified from posterior lateral plate mesoderm (PLM) during their migration to the midline before the formation of dorsal aorta (DA). **B.** At a later stage, PLM cells become a HE to generate HSC. During the embryogenesis, the HSCs arise from HE, specialized endothelial cells (ECs) located in the ventral part of DA. PCV, posterior cardinal vein.

Rap1 is small GTPase that belong to Ras subfamily and is originally identified as an antagonist of Ras-induced transformation.

HSCs are multipotent and self-renewing cells that give rise to all blood cell types through the entire life.

We previously reported that Rap1 regulates EC-EC junctions mediated by vascular endothelial-cadherin (Fukuhara et al. *Mol Cell Biol* 2005; Noda et al. *Mol Biol Cell* 2010; Ando et al. *J Cell Biol* 2013). Recently, it has been reported that cell-cell adhesion between PLM cells and somatic cells promotes HE specification through high Notch signal transmission (Kobayashi et al. *Nature* 2014). Therefore, we decided to investigate the role of Rap1 *in vivo*.

First, we analyzed the expression patterns of zebrafish orthologs about human *RAP1A/B*. There are three types of *rap1* in zebrafish organism, *rap1aa*, *rap1ab* and *rap1b*. Among them, *rap1b* was predominantly expressed in blood vessels. Therefore, we generated zebrafish *rap1b* mutant (*rap1b^{-/-}*) to clarify the role of Rap1b *in vivo* and unexpectedly found a defect in HSC development in this mutant. Currently, we have been investigating the molecular mechanisms by which Rap1b regulates HSC development in zebrafish organism.

主要論文

1. Rho SS, Ando K, Fukuhara S. Dynamic regulation of vascular permeability by vascular endothelial cadherin-mediated endothelial cell-cell junctions. *J Nippon Med Sch.* *in press* (2017)
2. Lee S, Rho SS, Park H, Park JA, Kim J, Lee LK, Koh GY, Mochizuki N, Kim YM, Kwon YG. Carbohydrate-binding protein CLEC14A regulates VEGFR-2- and VEGFR-3-dependent signals during angiogenesis and lymphangiogenesis. *J Clin Invest.* 127(2):451-471 (2017)
3. Rho SS, Choi HJ, Min JK, Lee HW, Park H, Park H, Kim YM, Kwon YG. Clec14a is specifically expressed in endothelial cells and mediates cell to cell adhesion. *Biochem Biophys Res Commun.* 404: 103-108 (2011)

II. 細胞生物学部門

Department of Biochemistry and Cell Biology

細胞生物学部門

(大学院 細胞生物学分野)



教授 太田 成男

【研究概要】

この12年間は、ミトコンドリア病の改善薬の開発と分子状水素（分子式はH₂）の医学的効果を中心として研究を進めている。

2007年に私たちがNature Medicineに論文を発表して以来、現在までに分子状水素の生物に対する効果については、実験動物と農作物へ対して、世界各国から500報以上の論文が発表されている。モデル動物と、植物（農作物）に対する分子状水素の効果は揺ぎないものとなった。従来の医薬品とは異なり、全く異なる150もの非常に多くの疾患モデルで分子状水素の効果が明らかにされている。

人を対象とした臨床研究に関しても20以上の論文が発表されているが、医薬品として承認されるまでには至っていない。そこで、以下の3つの視点から、研究および研究環境の整備にあたっている。

- (1) 実際の治療や予防に実際に応用できるようにすることが重要である。水素ガスは医薬品として承認される方向で臨床研究が進められているので、その支援活動に努めた。
- (2) また、研究の内容を広げるためにアカデミックなレベルで研究を推進するための国内および国際的なコミュニティの構築に努めた。
- (3) さらに、水素医学の社会的な啓発にも努めた。

- (1) 分子状水素の投与方法としては、水素ガスの吸入と水素水(分子状水素を溶解した水)の飲用がある。救急医療には、水素ガスの吸入、慢性疾患には、水素水の飲用が有効であるとの考えで、臨床研究を進めている。

慶応義塾大学とは共同研究で、心肺停止後の蘇生時にラットに水素ガスを吸入させると生命を護るだけでなく、脳も護ることを明らかにした(Circulation. 2015;132(11):e148)。この基礎研究を臨床試験に発展させるために、慶応義塾大学附属病院で、最初の心肺停止後の蘇生時における水素ガスの吸入効果が5例においてなされた。5人中4人が2週間内の退院できるという結果であった(Circ J. 2016 Jul 25;80(8):1870-3)。

さらに、ランダム化された脳梗塞患者50人への水素ガスの吸入効果については、印刷中である(西島病院との共同研究)。25人が水素吸入、25人が従来の治療。

慢性疾患としては、軽度認知症障害の対象者74人を対象とした水素水の飲用効果については、現在論文投稿中である。

- (2) 国内・国際的なアカデミックコミュニティの構築

国内では、日本分子状水素医学生物学会を設立し、理事長として学術集会を開催した。国外では、中国、韓国の水素関連学会に出席し、親睦を深めた。

- (3) 啓発活動では、小学館から「ここまでわかった水素水；最新 Q&A」を出版した。

ミトコンドリア病の改善薬については、2015年1月に第3相の治験が終了し、保険適用薬としての承認申請をしているが、この間にも基礎研究を行っている。ミトコンドリア病のサブタイプのMELASは、ミトコンドリア tRNA のタウリン修飾の欠損が原因であることを発見し、大量投与によってMELASの病態が改善することが判明している。老化にともなって、ミトコンドリア tRNA の

タウリン修飾が低下するので、ミトコンドリア病の改善薬としてでなく、老化の抑制にも貢献できる可能性が開けた。

【研究業績】

〈原著論文〉

- (1) Iuchi, K., Imoto, A., Kamimura, N., Nishimaki, K., Ichimiya, H., Yokota, T., Ohta, S.:Molecular hydrogen regulates gene expression by modifying the free radical chain reaction-dependent generation of oxidized phospholipid mediators. *Sci Rep.* 2016;6:18971.
- (2) Kamimura, N., Ichimiya, H., Iuchi, K., Ohta, S.: Molecular hydrogen stimulates the gene expression of transcriptional coactivator PGC-1 α to enhance fatty acid metabolism. *npj aging mech. dis.* 2016;2:16008.
- (3) Robert Settineri, Jin Ji, Chunlan Luo, Rita R. Ellithorpe, Gonzalo Ferreira de Mattos, Steven Rosenblatt, James LaValle, Antonio Jinenez, Shigeo Ohta and Garth L. Nicolson. Effects of Hydrogenized Water on Intracellular Biomarkers for Antioxidants, Glucose Uptake, Insulin Signaling and SIRT 1 and Telomerase Activity. *American Journal of Food and Nutrition.* 2016; 4 (6):161-168.
- (4) Ono T, Kamimura N, Matsushashi T, Nagai T, Nishiyama T, Endo J, Hishiki T, Nakanishi T4, Shimizu N, Tanaka H, Ohta S, Suematsu M, Ieda M, Sano M, Fukuda K, Kaneda R. The histone 3 lysine 9 methyltransferase inhibitor chaetocin improves prognosis in a rat model of high salt diet-induced heart failure. *Sci Rep.* 2017 Jan 4;7:39752.
- (5) Tamura T, Hayashida K, Sano M, Suzuki M, Shibusawa T, Yoshizawa J, Kobayashi Y, Suzuki T, Ohta S, Morisaki H, Fukuda K, Hori S. Feasibility and Safety of Hydrogen Gas Inhalation for Post-Cardiac Arrest Syndrome - First-in-Human Pilot Study. *Circ J.* 2016 Jul 25;80(8):1870-3.
- (6) Nakashima Y, Ohta S, Wolf AM, Blue light-induced oxidative stress in live skin. *Free Radic Biol Med.* 2017 Mar 15;108:300-310.
- (7) Uwaya A, Lee H, Park J, Lee H, Muto J, Nakajima S, Ohta S, Mikami T. Acute immobilization stress following contextual fear conditioning reduces fear memory: timing is essential. *Behav Brain Funct.* 2016 Feb 24;12(1):8.
- (8) Yokota T, Nomura K, Nagashima M, Kamimura N. Fucoidan alleviates high-fat diet-induced dyslipidemia and atherosclerosis in ApoE (sh1) mice deficient in apolipoprotein E expression. *J Nutr Biochem.* 2016 Jun;32:46-54.
- (9) Amo T, Kamimura N, Asano H, Asoh S, Ohta S. Cisplatin selects short forms of the mitochondrial DNA OriB variant (16184-16193 poly-cytosine tract), which confer resistance to cisplatin. *Sci Rep.* in press.

〈総説〉

- (1) Nicolson, GL., Mattos, GF., Settineri, R., Costa, C., Ellithorpe, R., Rosenblatt, S., Valle, JL., Jimenez, A., Ohta, S.: Clinical Effects of Hydrogen Administration:From Animal and Human Diseases to Exercise Medicine. *Int J Clin Med.*2016;7:32-76.
- (2) 太田成男：老化制御と疾患—エイジング研究の進歩— 日本臨床 2016

〈出版〉

太田成男：ここまでわかった 水素水最新 Q&A: 続・水素水とサビない身体 小学館 2017

〈海外講演〉

- (1) Shigeo Ohta: The molecular mechanism by which H₂ regulates gene expression. What is the primary target of H₂? (招待講演) 3rd Symposium of Chinese Hydrogen Biomedical Association. Taian City(China), 2016.09.25-26.
- (2) Shigeo Ohta: Introduction of Japanese of Hydrogen and current situation of hydrogen in Japan. (招待講演) Seoul(KOREA), 2016 KORIA International Symposium on Hydrogen. 2016.11.25.

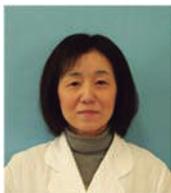
〈国内講演〉

1. 太田成男：分子状水素による遺伝子発現制御。(招待講演) 日本分子状水素医学生物学会設立記念大会 (第6回年会). ワークピア横浜(神奈川) 2016.5.28-29.
2. 太田成男：水素研究の up-to-date. (招待講演) 第16回日本抗加齢医学会総会. パシフィコ横浜(神奈川) 2016.6.10-12.
3. 太田成男：水素医学の創始、展開、応用とメカニズム。(招待講演) NPO 法人国際医科学研究会第12回フォーラム. フクラシア品川(東京). 2016.6.19.
4. 太田成男：細胞死を制御する分子状水素。(招待講演) 第25回日本 Cell Death 学会学術集会. きゅりあん(東京). 2016.9.9-10.
5. 太田成男：分子状水素による酸化ストレス軽減と遺伝子発現制御。(招待講演) 日本臨床検査自動化学会第48回大会. パシフィコ横浜(神奈川). 2016.9.22-24.
6. 太田成男：ミトコンドリアからみた認知症予防。(招待講演) 睡眠・認知症予防シンポジウム3. 中部大学(愛知). 2016.7.25.
7. 太田成男：分子状水素の可能性。(招待講演) 第33回スパズム・シンポジウム. 大阪国際会議場(大阪). 2017.3.16.
8. 上村尚美、太田成男：水素水による脳機能維持効果と健康増進への展望(シンポジウム) 第71回日本体力医学会. いわて県民情報交流センター(岩手県・盛岡市) 2016.9.23-25.

〈一般学会講演〉

1. 上村尚美、一宮治美、井内勝哉、太田成男：水素分子は転写活性化コアクチベーターである PGC-1 α 遺伝子の発現を誘導することにより脂肪酸代謝を高める. 第6回日本分子状水素医学生物学会年会. ワークピア横浜(神奈川) 2016.5.28-29.
2. 井内勝哉、井本明美、上村尚美、西槇貴代美、一宮治美、横田隆、太田成男：分子状水素はフリーラジカル連鎖反応に介入して酸化脂質メディエーターを改変することを介して遺伝子発現を制御する. 第6回日本分子状水素医学生物学会年会. ワークピア横浜(神奈川) 2016.5.28-29.
3. 上村尚美、一宮治美、井内勝哉、太田成男：糖尿病モデルマウスにおいて水素分子により誘導される脂肪酸代謝メカニズムの解明. 第39回日本分子生物学会年会. パシフィコ横浜(神奈川). 2016.11.30-12.2.
4. 西槇貴代美、井内勝哉、上村尚美、横田隆、太田成男：水素分子は多価不飽和脂肪酸のフリーラジカル連鎖反応に介入しジエン生成を抑制する. 第39回日本分子生物学会年会. パシフィコ横浜(神奈川). 2016.11.30-12.2.
5. 中嶋裕也、Alexndaer Wolf、太田成男：ブルーライト照射による皮膚への酸化ストレス誘導 第39回日本分子生物学会年会. パシフィコ横浜(神奈川). 2016.11.30-12.2.

6. Naomi Kamimura, Harumi Ichimiya, Katsuya Iuchi, Shigeo Ohta: Molecular hydrogen induces expression of the PGC-1 α gene, followed by stimulation of the PPAR α pathway that regulates FGF21, and the fatty acid and steroid metabolism. 第90回日本薬理学会年会. 長崎ブリックホール(長崎県・長崎市) 2017.3.15-17.
7. Katsuya Iuchi, Hyunjin Lee, Kiyomi Nishimaki, Harumi Ichimiya, Takashi Yokota, Naomi Kamimura & Shigeo Ohta: Anti-inflammatory and pro-cell death effects of oxidized arachidonic acid in RAW264.7 cells. 第90回日本薬理学会年会. 長崎ブリックホール(長崎県・長崎市) 2017.3.15-17.



細胞生物学部門
准教授 上村 尚美

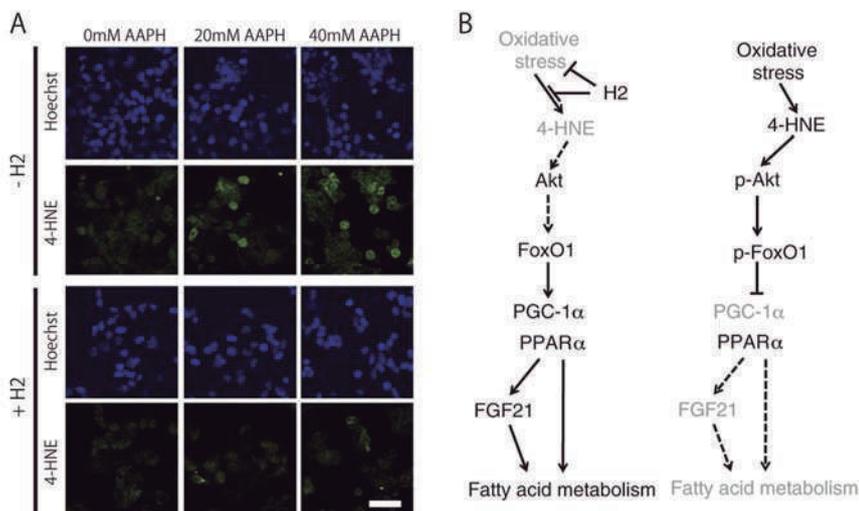
ミトコンドリアと酸化ストレスを起点とした疾患や老化のメカニズムの解明

略歴

1996年東京大学大学院医学系研究科博士課程修了。博士（医学）取得。

日本学術振興会特別研究員、大阪大学微生物病研究所助手、国立遺伝学研究所 COE 講師、日本医科大学ポストドクター、助手、米国 NIH/NIA visiting scientist、日本医科大学助教、講師を経て、2013年より現職。

ミトコンドリアや酸化ストレスが関連する生活習慣病など様々な疾患や老化のメカニズムの解明と予防法・治療法の開発を目指している。



HepG2 細胞を用いた H2 による遺伝子発現誘導メカニズムの解析

(A) HepG2 細胞を AAPH 処理して酸化ストレスを誘導し、細胞内で発生する 4-HNE 量を測定したところ、H2 添加により細胞内の過酸化脂質である 4-HNE の発生が抑制された。(B) H2 による遺伝子発現誘導メカニズムの模式図。H2 は細胞内の 4-HNE の発生を抑えるが、4-HNE の下流のシグナル因子である AKT や FoxO1 のリン酸化へは影響を及ぼさなかった。従って、H2 は 4-HNE の発生に作用し PGC-1α の遺伝子発現を誘導し PPARα パスウェイを活性化することが示された。(npj Aging Mech Dis, 2016 より引用)

(1) 抗酸化剤 H2 による脂質代謝促進メカニズムの解析

これまでの研究により糖尿病モデルマウスにおいて、H2 水を摂取することにより糖尿病や肥満の改善効果が得られることを報告した (Obesity, 2011)。この結果を踏まえ、H2 による脂質代謝メカニズムの解析を行い、H2 は肝臓で PGC-1α の遺伝子発現を誘導することによって PPARα パスウェイを活性化し効果を発揮することを明らかにした (上図) (npj Aging Mech Dis, 2016)。

(2) 高血圧ラットの心不全とミトコンドリア機能解析

ヒストンメチル化は心肥大および心不全に関連していることが知られているため、ヒストンメチルトランスフェラーゼ阻害剤であるケトシンの効果を高血圧モデルラットで解析した。その結果、機能不全の心臓では、ミトコンドリア遺伝子部位の過剰なヘテロクロマチン化が遺伝子のサイレンシングをもたらし心機能を損なうこと、ケトシンの長期投与によりミトコンドリア機能が回復し寿命が延びることを明らかにした (Sci Rep, 2017)。

(3) ミトコンドリア脳筋症 (MELAS) を対象とした多施設共同試験

これまでの研究により MELAS モデル培養細胞にタウリンを添加すると、ミトコンドリア機能を改善し、MELAS 患者へのタウリン経口投与により脳卒中様発作が抑制されることを報告した (Int Med, 2012)。この結果を踏まえ、多施設共同治験として MELAS 患者に対するタウリン療法時の患者血中細胞のミトコンドリアの解析を行った (論文投稿中)。

主要論文

Kamimura N., et al., *npj Aging Mech Dis.* 2, 16008 (2016).

Kanamaru T, *Kamimura N., et al., *Neurosci Lett.* 587, 126-131 (2015). *corresponding author

Kanamaru T, *Kamimura N., et al., *Brain Res.* 1605, 49-58 (2015). *corresponding author



細胞生物学部門
講師 Wolf Alexander

活性酸素の生体内測定と抗加齢医学への応用

略歴

1998年
ゲッティンゲン大
学卒
(物理学修士)

2002年
マギル大学卒
(経営学修士)

2004年
ミュンヘン工科大
学卒
(理学博士)

1999年～2002年
2005年～2006年
理化学研究所 脳
科学総合研究セン
ター(BSI)

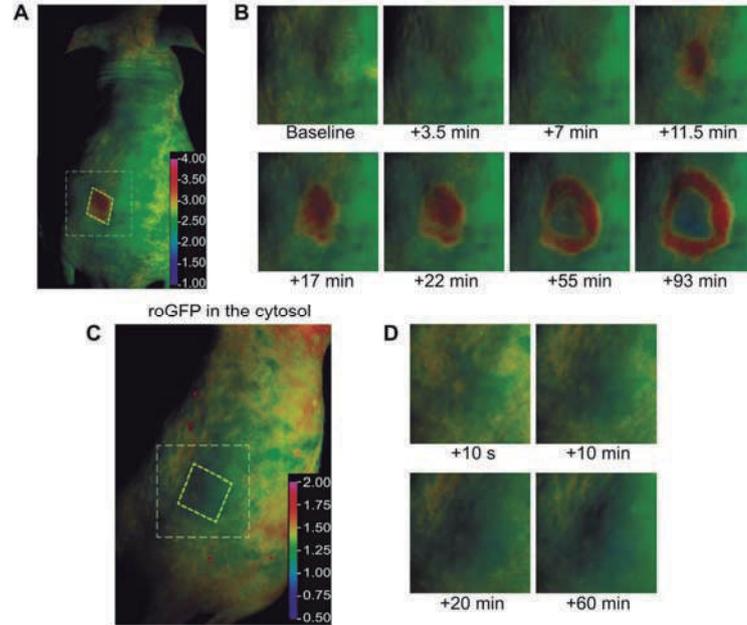
2006年～
日本医科大学
老人病研究所・先
端医学研究所

抱負・研究目標：

老化の分子的メカ
ニズムの解明

紫外線による酸化ストレスの生体内測定

酸化還元状態検出マウスを用いたヘアレスマウス皮膚の酸化ストレス測定(詳しくは主要論文の①)



活性酸素と酸化ストレスがDNA損傷を引き起こすことで老化と癌化の大きな要因と考えられているが生体内の酸化還元状態の測定が難しい。当研究室にて作製した酸化還元状態を蛍光蛋白を発現する遺伝子組み換え酸化還元状態検出マウスを用いて酸化ストレスのさまざまな生理的役割と酸化ストレスを標的にした治療法の効果を検証する。酸化ストレスの生体内イメージングが将来的に抗加齢治療法開発の強力なツールになる。

主要論文

- ① Wolf AM, Nishimaki K, Kamimura N, Ohta S. (2014) Real-Time Monitoring of Oxidative Stress in Live Mouse Skin. *J Invest Dermatol.* 134(6):1701-9.
- ② Nakashima Y, Ohta S, Wolf AM. (2017) Blue light-induced oxidative stress in live skin. *Free Radic Biol Med* 2017 July; 108:300-310



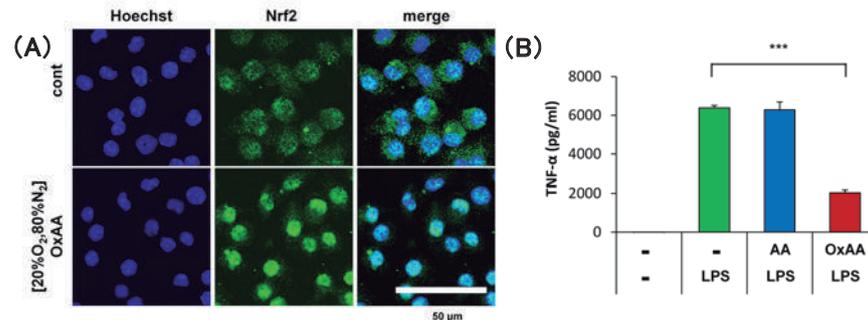
細胞生物学部門
助教 井内 勝哉

抗炎症作用を持つ酸化アラキドン酸に関する研究

略歴

2009年関西学院大学大学院博士課程後期課程修了。博士(理学)取得。

ERATO 袖岡生細胞分子化学プロジェクト博士研究員を経て、2012年より日本医科大学先端医学研究所細胞生物学部門助教。



酸化アラキドン酸による Nrf2 活性化と抗炎症作用:

(A) Raw264.7 細胞を 25 μg/ml 酸化アラキドン酸 (OxAA) で 1 時間処理し、免疫染色により Nrf2 の核移行をコンフォーカル顕微鏡により観察した。(B) Raw264.7 細胞を 25 μg/ml AA または OxAA で 1 時間前処理した後、培地を取り除き 1 μg/ml LPS 入りの培地で 24 時間処理した。培地中に分泌した TNF-α は、Mouse TNF-α ELISA kit (BD OptEIA) を用いて測定した。****P* < 0.001

多価不飽和脂肪酸のひとつであるアラキドン (AA) は、酵素的反応によって酸化されるだけでなく、非酵素的な反応によっても酸化される。アテローム性の動脈硬化病巣では、非酵素的に酸化された AA が蓄積することから炎症性疾患に重要な役割を果たしていると考えられる。また、生体内の酸化ストレスで非酵素的な反応によって生じる酸化脂肪酸がメディエーターとしての機能をもつことから、脂肪酸の非酵素的な酸化の研究が注目されている。しかし、非酵素的反応によって生じる酸化脂肪酸の炎症に対する影響について明らかになっていない。本研究では、非酵素的に酸化したアラキドン酸 (OxAA) と炎症や細胞死との関係性を確かめるために、マウスマクロファージ様細胞である Raw264.7 細胞を用いて OxAA の影響を確かめた。その結果、25 μg/ml の OxAA で前処理することにより、LPS 誘導性の炎症が抑制された (Figure 1B)。また、Figure 1A のように、25 μg/ml の OxAA 処理により、Nrf2 の細胞内局在が細胞質から核へ移行し、ヘムオキシゲナーゼ 1 (HO-1) の発現が増加した。しかし、75 μg/ml OxAA 処理した細胞では、HO-1 のタンパク質発現が増加することなく細胞死が誘導された。また、LPS 誘導性の NF-κB の核移行は、低濃度の OxAA によって抑制されなかったことから、OxAA は Nrf2/HO-1 シグナルを活性化することにより、LPS 誘導性の炎症を抑制する可能性が示唆された。これらの結果より、OxAA の濃度依存的に抗炎症シグナルと細胞死誘導シグナルを活性化することが明らかとなった。

主要論文

Kamimura, N., et al., npj Aging Mech Dis, 2016. 2: p. 16008.
Iuchi, K. and T. Yagura, Exp Cell Res, 2016. 342(2): p. 135-44.
Iuchi, K., et al., Sci Rep, 2016. 6: p. 18971.



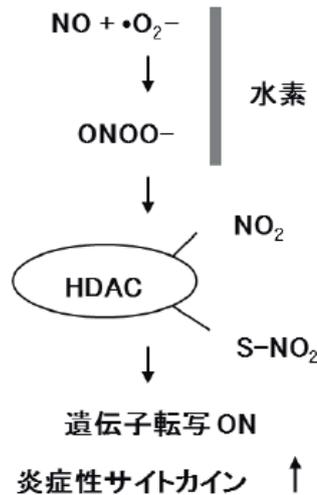
細胞生物学部門
 ポストドクター 李 炫漆

エピジェネティクス制御からみた水素の抗炎症作用のメカニズム

略歴

2009年日本体育大学大学院体育科学研究科健康科学・スポーツ医学修士課程修了、2013年日本医科大学大学院医学研究科博士課程修了、2014年より現職。

運動と認知科学から、ポストドクターでは、抗酸化物質である水素の抗炎症効果に対するメカニズムを研究致しました。私ができる研究テーマを広げて、健康増進に寄与する研究成果を上げて社会貢献したいと思っております。



予想される水素の抗炎症作用

水素が酸化ストレス環境下で多様な機能を発揮するメカニズムについて作業仮説を設定した。本研究ではこの作業仮説を検証し証明する。

[作業仮説]：水素が炎症におけるエピジェネティクスを調節して炎症性遺伝子発現を抑制する

水素分子 (H_2) は新しい概念の抗酸化物質であることが証明され、水素を用いる治療・予防のための水素医学が注目されている。水素を用いた論文は世界中から発表され、水素の生体への抗酸化作用とその他の様々な作用が確立された。水素には当初想定していた短時間の抗酸化作用だけでなく、長時間にわたり抗酸化作用を維持し、炎症抑制作用、抗アレルギー作用があり、さらにエネルギー代謝促進作用があることが判明した。これらの作用は、健康増進と疾病の予防に寄与することが予想される。そこで、本研究では、水素が多機能を発揮する分子メカニズムをエピジェネティクスに着目して解明する

主要論文

1. Acute immobilization stress following contextual fear conditioning reduces fear memory: timing is essential; Akemi Uwaya, **Hyunjin Lee**, Jonghyuk Park, Hosung Lee, Sanae Nakajima, Shigeo Ohata, Toshio Mikami, 2016, Behavioral and Brain Functions, DOI10.1186/s12993-016-0092-1
2. Intense exercise enhances the hippocampal proliferation of progenitor cells via activating the Flk1 signaling cascade in mice; **Hyunjin Lee**, Taku Kiuchi, Junko Muto, Shigeo Ohta, Toshio Mikami, 2014, Gazzetta Medica Italiana, Vo.173,329-340

Ⅲ. 遺伝子制御学部門

Department of Molecular Oncology

遺伝子制御学部門 (大学院 遺伝子制御学分野)



教授 田中 信之

【研究概要】

1. 研究の背景とこれまでの研究の概要

1-1. p53 研究について

我々は、がん抑制因子 p53 の解析を進めることで、がん化及びがん抑制の分子機構を解明することを目的に研究を続けており、まずその背景を述べる。p53 は多くのヒトがん細胞で遺伝子変異がつかっている代表的ながん抑制遺伝子であり、p53 遺伝子欠損マウスが極めて高い頻度で腫瘍が発生することから、強力ながん抑制機能を有していることが実験的にも証明されている。また、若年性に多臓器にがんを発症する Li-Fraumeni 症候群で遺伝的な p53 の変異が見つまっている。p53 タンパクは DNA の損傷や様々なストレスに応答して活性化し、核内で様々な遺伝子の発現を誘導する転写活性化因子として機能している。この p53 が誘導する遺伝子の解析から、p53 は細胞周期の停止、アポトーシスの誘導、DNA 修復の促進等を行っていると考えられている。このことから、p53 は DNA 損傷を受けた細胞で活性化され、細胞周期を停止して DNA 修復を促すと共に、修復しきれない細胞をアポトーシスによって排除することで、遺伝子の変異が蓄積しないように働く、すなわちゲノムの守護神 (guardian of the genome) として働いていると考えられていた。その後、p53 は積極的にがん遺伝子が活性化して細胞増殖制御に異常を来した細胞を排除することで、がん化を抑制しているということが理解されるようになってきた。正常の繊維芽細胞は、DNA 損傷が起こると p53 依存性に細胞周期が停止するが、*c-myc* 等のがん遺伝子を発現させた細胞は、p53 によって速やかにアポトーシスが誘導される。また、がん遺伝子 *ras* を発現させた細胞は、1 週間以上培養すると、p53 依存的に細胞の老化が起こって、増殖が停止することが実験的に示された。細胞は、様々な遺伝子の変異原にさらされており、細胞増殖の誘導に働く原がん遺伝子に変異が入ってがん遺伝子に変わることも起こる、このような変異を有する細胞は、がん細胞に形質転換するリスクが極めて高い。p53 はこのような異常細胞に対して積極的にアポトーシスや老化を誘導して排除することでがん化を抑えているのではないかと、言い換えると p53 によるがん化の監視機構が存在するのではないかと考えられるようになってきた。実際に多くのがんでは遺伝子の変異により p53 の機能 (転写誘導活性) が失われており、また様々な要因で p53 の機能が抑制されている。例えば、ほとんどの子宮頸がんはパピローマウイルスによって誘導されるが、p53 はパピローマウイルスの E6 タンパクによって分解が亢進している。従って、ほとんどのがんが発生する際に p53 によるがん化の監視機構が抑制され、このことによってがん化のリスクが高まるのではないかと考えられる。

1-2. これまでの研究の流れ

私は日本医科大学を卒業し、同第三内科学教室で主に血液内科グループに所属していたが、1985 年に東京大学医学部生化学教室の村松正實教授の下で、大学院生として遺伝子の転写制御機構の研究を開始した。研究はリボソーム遺伝子の基本転写因子を、ヒトリボソーム遺伝子が正確にプロモーター上の

転写開始点から転写を開始する機構の中心となる TFID(現在では TATA 結合因子 TBP を含むタンパク複合体であることが明らかとなっている)を *in vitro* での正確な転写開始活性を指標に精製し、その機能を解析するものであった。この研究で TFID がプロモーターの特定部位に結合することは明らかした。しかし、毎日低温室にこもって転写開始活性を持つタンパクを、キログラム単位の HeLa 細胞から銀染色でバンドが確認出来るまで精製したものの、質量分析法のない時代であり、エドマン分解法でアミノ酸配列を確実に決定するまでのタンパク量(数百マイクログラム~ミリグラム)を精製することは出来なかった。一方で、この当時の研究は解析する方法を手探りで開発しなければならず、多くの人達と議論しながら新しい方法を考えて行ったこと、現在のクロマチンモディファイアの解析まで繋がる転写制御の研究の初期段階から研究を開始したことは、その後の研究を進めていく上で大いに役立つ経験であった。

1999 年に大学院を卒業し、大阪大学細胞工学センターの谷口維紹教授の研究室に移った。当時の谷口研では、インターフェロン β 遺伝子の転写制御因子の候補である IRF-1 のクローニングに成功したばかりであり、私は IRF-1 を中心に研究を始めた。この研究を進めていくうちに、IRF-1 が細胞増殖を抑制すること、アポトーシスを誘導することを発見した(Tanaka, Cell 1994; Tanaka Nature 1996)。そこで、IRF-1 が当時研究の進み始めていた p53 と同じようながん抑制因子ではないかと考えて、報告されたばかりの p53 欠損マウスを供与してもらって解析を進めた。この解析で、p53 欠損マウスから調整した胎児線維芽細胞が、がん遺伝子 *ras* 単独でトランスフォームしてヌードマウスに腫瘍を作る能力を獲得することを見だし、IRF-1 の解析と合わせて報告した(Tanaka, Cell 1994)。当時は、p53 の機構についての詳細な分子機構は明らかではなかったが、p53 のがん抑制の機構、即ち DNA の変異を防ぐ、あるいは異常細胞を排除するという防御的・排除的な機構が解明されてからも、なぜ p53 が機能しないと積極的に腫瘍を作る能力を獲得しやすくなるのかは説明出来なかった(後述)。

1-3. p53 によるアポトーシスの制御

その後、谷口教授が東京大学医学部免疫学教室に移動したのに伴い、1997 年に助教授として東大に移動した。IRF-1 に関しては、p53 と同時に欠損させたマウスは p53 単独欠損マウスに比較してより腫瘍が出来やすいことを見出したが(Nozawa, Genes Dev 1999)、ヒトのがんでの遺伝子変異はほとんど見つけられなかった。そこで、研究の中心を p53 に移して、p53 の標的遺伝子の同定を進め、p53 によるアポトーシスの実行分子 Noxa を同定した(Oda, Science 2000)。Noxa は DNA 損傷に反応して p53 依存性に発現が誘導し、p53 によって Noxa 遺伝子のプロモーターの p53 認識配列を介して直接転写が誘導された。Noxa はアポトーシス制御に重要な Bcl-2 ファミリーの中で、アポトーシスを誘導する BH3 only 因子に属する新たな分子であった。実際、Noxa の強制発現により多くの細胞種でアポトーシスの誘導が見られ、BH3 ドメインのアミノ酸配列を置換した変異体ではアポトーシスの誘導が見られなかった。更に、p53 によるアポトーシスは Noxa mRNA の発現を抑えることにより抑制される事から、Noxa は p53 によるアポトーシスの制御に働く新たな因子であると考えられ、これを報告した。更に、Noxa 遺伝子欠損マウスを作製し、Noxa が p53 依存性のアポトーシスの誘導に重要であることを明らかにした(Shibue, Genes Dev 2003)。我々の Noxa の発見の後、Noxa と同じ BH3 only 因子に属する新たな p53 誘導性因子 PUMA が同定され、p53 によるアポトーシスの誘導機構の概要が明らかになりつつある。一方で、我々の解析を含めて、これらのアポトーシス誘導分子の欠損マウスは、p53 誘導性の細胞周期抑制因子 p21 欠損マウスと同様に、p53 欠損マウスのような非常に高頻度な腫瘍の発生を認めることはない。従って、この研究からも p53 によるがん化の抑制、言い換えると p53 の機能欠損によるがん化の促進には、これらの機構とは別の機構が関与しているのではないかと考えられた。

1-4. p53 によるエネルギー代謝の制御とがん抑制

現在の研究所に移動してから、引き続き p53 の解析を中心に研究を開始したが、p53 欠損細胞を解析する過程で、p53 欠損マウスの胎児線維芽細胞では転写因子 NF- κ B の DNA 結合能及び転写活性化能が恒常的に活性化していることを見出した。更に、この細胞では NF- κ B の抑制因子 I κ B をリン酸化する酵素 IKK α 及び β の活性が恒常的に高いこと、この NF- κ B の活性化は IKK α 及び β の活性化によることを明らかにした。同じ現象は、正常の胎児線維芽細胞に p53 の変異体を遺伝子導入した時にも観察されたことから、p53 の機能が無くなると IKK-NF- κ B 経路が活性化すると考えられた。NF- κ B の恒常的な活性化は多くの種類のがんで報告されており、がんへの関わりが指摘されていたことから、前述の p53 欠損細胞ががん遺伝子 *ras* 単独でトランスフォームする現象に NF- κ B の活性化が関与するのではないかと想像した。そこで、p53 に加えて NF- κ B を形成するサブユニットの一つの p65 を同時に欠損した胎児線維芽細胞にがん遺伝子 *ras* を発現させたところ、p53 が機能しないにも関わらずトランスフォームして軟寒天培地中でコロニーを形成することはなかった。一方で、細胞増殖能に関しては p53 欠損細胞と p53/NF- κ Bp65 両欠損細胞では差はみられなかった。それでは、NF- κ B ががん化にどのように働いているのであろうか。

そこで様々な解析を試みた結果、p53 欠損細胞では正常細胞に比べてグルコース消費量、即ち解糖系が亢進していること、この増大は p53/NF- κ Bp65 両欠損や NF- κ Bp65 の発現を抑制すると抑えられることを見出した。がん細胞での代謝系の変化、特に解糖系を主なエネルギー源としていることはワールブルグ効果と呼ばれ 1920 年代ごろから解析されている。細胞に取り込まれたグルコース 1 分子からは解糖系によりピルビン酸と 2 分子の ATP が産生され、好氣的な条件下ではミトコンドリアで酸素を消費する呼吸によってピルビン酸から 36 分子の ATP が産生される。一方で、がん細胞では代謝経路の変化により解糖系によるエネルギー産生が亢進して、ミトコンドリアでの呼吸が低く抑えられている。この現象は、エネルギー産生の面からは非効率的なシステムであるが、血管から離れて酸素分圧が低くなったところでも酸素の消費を抑えてがん細胞が塊として大きくなることのできるという利点をもっている。同時に、解糖系の亢進によるプロトンの産生やピルビン酸から作られる乳酸の産生増加は、がん組織周辺の微小環境でのアシドーシスを引き起こす。正常の細胞が酸性の状態にさらされると細胞死が誘導されるが、がん細胞、特に p53 の機能が欠損した細胞は細胞死に抵抗性になっている。従って、がん組織周辺では正常の細胞や細胞外マトリックスが障害を受け、それに伴って腫瘍の増大やがん細胞の浸潤が容易になると考えられている。ワールブルグ効果と p53 に関しては、p53 がミトコンドリアでの呼吸に必要なシトクロム c 酸化酵素複合体の制御因子である SCO2 (synthesis of cytochrome c oxidase 2) の発現に関わっていること、p53 欠損細胞では SCO2 の発現が低下する為に、ミトコンドリアでの酸素消費量が低下することが報告された。我々の解析でも p53 欠損細胞の酸素消費量は正常細胞に比べて減少していたが、p53/NF- κ Bp65 両欠損細胞での酸素消費量は p53 欠損細胞とほとんど変わらなかった。これらのことを考え合わせると、p53 欠損細胞ががん遺伝子 *ras* 単独でトランスフォームする現象には NF- κ B による解糖系の亢進が重要であると考えられた。それでは、NF- κ B がどのような標的遺伝子を活性化してグルコース代謝を増大させているのであろうか。p53 欠損細胞ではグルコースの取り込み自体が増加しているという結果から解析を進めて、グルコーストランスポーター *GLUIT3 mRNA* の発現が、p53 欠損細胞で上昇しており、p53/NF- κ Bp65 両欠損細胞では正常細胞のレベルまで低下していることを見いだした。グルコースの細胞内への取り込みは、細胞膜に発現するグルコーストランスポーター (GLUT) ファミリー分子によって行われており、特に GLUT1 と GLUT3 は生体内に広く発現し、グルコースに対する親和性が高く、グルコース輸送の基礎を担っている。そこで *GLUIT3* 遺伝子を解析したところ、イントロン 1 に NF- κ B 結合配列が存在し、実際に p53 欠損 MEF で NF- κ B が結合していることをクロマチン免疫沈降法で検出したことから、*GLUIT3* 遺伝子は NF- κ B によって直接発現誘導されると考えられた。更に、GLUT3 の発現を抑制すると、

p53 欠損細胞でのグルコース消費量の増大は抑えられると共に、がん遺伝子 *ras* による軟寒天培地でのコロニー形成も抑制された。逆に、p53 欠損細胞で NF- κ Bp65 の発現を抑制すると *ras* による軟寒天培地でのコロニーの形成が抑えられるが、この細胞に GLUT3 を強制発現すると、コロニー形成能が回復した。従って、GLUT3 の誘導が p53 の機能が無い細胞でのグルコース代謝の増大と癌化の起こりやすさに関与していると考えられた (Kawauchi, Nat Cell Biol 2008)。

以上の結果から、p53 は NF- κ B の機能を制限することで、グルコース代謝を制御しており、p53 の機能が失われると IKK-NF- κ B 経路の恒常的な活性化によってグルコース代謝の亢進が起こると考えられる。面白いことに、p53 欠損細胞での IKK の活性の亢進は、NF- κ B の活性を抑制すると見られなくなること、解糖系の阻害剤を用いると IKK の活性が抑制されること、即ち、p53 の機能が無い状態では IKK-NF- κ B-グルコース代謝のポジティブフィードバックによるグルコース代謝の亢進が起こっていることを見いだした。この機構を使って、がん細胞では自己増幅的にグルコース代謝の増大が起こり、エネルギーを膨大に作り出す機構が働いていることが考えられた。このポジティブフィードバックの機構として、我々は IKK β の 733 番目のセリンが O-GlcNAc (O-linked-N-acetylglucosamine) 修飾を受けることを見いだした (Kawauchi, PNAS 2009)。この修飾部位はリン酸化を受けることで IKK β の活性が抑制される部位であり、O-GlcNAc 修飾を受けることでこのリン酸化が阻害されて恒常的な活性化を来すのではないかと考えられる。O-GlcNAc 修飾自体は解糖系が亢進すると増大するものであり、p53 が機能欠損してグルコース代謝が亢進すると機能しだすのではないかと考えられる。おそらく、このような機構を介して、癌細胞はエネルギーを作り出しているのではないかと考えられた。

2. 現在の研究の概要

以上の研究の流れを踏まえて、我々は「p53 が機能しないとなぜがんが出来るのか」を明らかにするために研究を進めている。これに加えて現在我々が注目していることは、がん幹細胞がいかに発生して維持されているか、更にはがん幹細胞を効果的に治療する方法を開発することにある。

多くのがん細胞では p53 の遺伝子変異が起こっているが、大腸がんの多段階発がんモデルやマウス発がん実験系などでは、がんが発生する初期の段階では p53 は正常に機能しており、p53 の変異が加わるとがんの悪性化(プログレッション)に関わると考えられている。それでは、発がんの初期の段階でどのような機構が働いて p53 の監視機構をオーバーライドするのかを明らかにしようと考えた。そこで、最初に実験的大腸がん発生モデルであるマウス Azoxymethane (AOM)/dextran sulfate sodium salt (DSS) 誘発性大腸炎-発癌モデルを用いて解析を行ったが、発生した腫瘍ではほとんど p53 の変異は見られなかった。この系では DSS 腸炎が腫瘍発生の必須条件であり、炎症が p53 の監視機構を免れる要因となっているのではないかと考えられた。一方我々は、p53 が正常に働いていても、炎症性サイトカイン、特に IL-6 が転写因子 STAT3 を介して解糖系酵素の発現を誘導し、グルコース代謝を亢進させることを見いだしている。前記の川内らの研究で、p53 欠損細胞がグルコーストランスポーターの強制発現のみでトランスフォームすることを見いだしており、炎症組織では p53 の機能が抑制されれば癌化しやすい状態にあると考えられる。そこで谷村が中心となり大腸がん発生モデルでの p53 の機能を解析した結果、DSS 腸炎を起こしたマウス大腸上皮細胞では、DNA 損傷刺激に伴う p53 の発現誘導は見られるものの、腸上皮幹細胞が存在する大腸腸陰窩 (crypt) 細胞の細胞増殖の抑制やアポトーシスの誘導といった p53 依存性の機構が抑制されていることを見出した。谷村は現在このメカニズムを解析しているところである。本年度はこれに加えて平行して行っていた炎症反応に重要な TLRs (Toll-like Receptors) のシグナル伝達分子である MyD88 による発がん誘発の分子機構の解析がほぼ終了している。この研究も、炎症がなぜがん化を引き起こすかの重要な手がかりとなる重要な研究であると考えている。

解糖系の亢進がなぜがん化に繋がるかについてこれまでいくつかの系で解析していたが、今年度は清水のがん幹細胞発生の研究から解糖系の亢進がヘキソサミン合成経路を活性化し、それによる O-GlcNAc 化の促進ががん幹細胞の形成・維持に必須であることを見出した。

がん組織中には少数の幹細胞の性質を持つがん幹細胞が存在し自己複製を行っているが、この細胞が分化して増殖の速いがん細胞となり腫瘍を形成すると考えられている。がん幹細胞は増殖が遅く、多くの抗がん剤に抵抗性を示す。これによって、化学療法で腫瘍が消失しても残存するがん幹細胞によってがんが再発する。従って、がん幹細胞をいかに除去するかが、がん治療の重要な課題となっている。清水は p53 ががん幹細胞発生を抑制する機及びそのシグナルを明らかにすると共に、がん幹細胞が発生するメカニズムを明らかにしつつある。この研究はまだ進行中であるが、大腸がんや肺がん細胞でのがん幹細胞でのグルコース代謝を解析し、がん細胞が産生する IL-8 が GLUT3 の発現を誘導し、それによって起こる解糖系の亢進ががん幹細胞の形成・維持に重要であることを見出した。更に、この作用は解糖系によるエネルギー代謝の亢進ではなく、ヘキソサミン合成経路を活性化から O-GlcNAc 化の促進が、がん幹細胞の形成・維持に必須であることを見出し、現在論文をまとめようとしている。この機構はがん幹細胞を標的とした治療の開発につながるものである。これに加えて、がん幹細胞発生の分子機構を解析している。

阿倍は肺癌や胃癌等の多くの癌で恒常的に活性化している Hedgehog シグナルが、転写因子 Gli1 を介して p53 の分解を促進することで癌化の誘導に働くことを見出している (Abe, PNAS, 2008) が、この Gli1 の制御機構を解析する過程で、Gli1 がアダプター分子 MEP50 を介してアルギニンアルギニンメチル基転移酵素 PRMT5 と複合体を作って Gli1 活性化することを見出した。興味あることに MEP50 と PRMT5 の両者は STAT3 によって転写誘導され、EGF や HGF 等の細胞増殖因子や IL-6 等の炎症性サイトカイン刺激で Gli1 が活性化した。更に EGFR に変異のある非小細胞肺癌の培養細胞を解析した結果、がん幹細胞が MEP50, PRMT5, Gli1 の経路によって維持されていること、炎症性サイトカイン、細胞増殖因子、炎症刺激などによってこの経路依存的にがん幹細胞数が増加することを発見している。がんの微小環境では炎症と組織再構築が行われており、がん幹細胞が腫瘍内に浸潤するマクロファージ等の免疫系細胞やがん間質線維芽細胞が産生する炎症性サイトカインや細胞増殖因子にさらされているが、この環境下では MEP50/PRMT5/Gli1 の経路を介してがん幹細胞が維持されていると考えられた。更に、非小細胞肺癌細胞の移植腫瘍は EGFR の分子標的薬 Gefitinib 治療による退縮の後に再発するが、この経路を抑制すると腫瘍の再発は見られなかった。これに加えて、Gli1 遺伝子をゲノム編集法によってノックアウトすると非小細胞肺癌の造腫瘍性が喪失することから、肺がんのがん幹細胞の発生にこの経路が重要であることを見出している。

上原は p53 と IFN- α/β 受容体 (IFNAR1) を同時に欠損させたマウスは p53 欠損マウスに比べて腫瘍の自然発生が遅れるという現象を発見した。この I 型 IFN の発がん促進効果について解析した結果、I 型 IFN ががん幹細胞の維持に関わっていることを発見した。IFN- α/β はマウスとヒトで互換性がないことから、ヒトがん細胞にマウス IFN- α/β 受容体を発現させてヌードマウスに移植すると腫瘍の増大がみられ、またゲノム編集で IFNAR1 をノックアウトしたヒトがん細胞は移植腫瘍の成長が抑制される結果を得ている。従って、がんの微小環境では炎症細胞やがん間質細胞から産生された I 型 IFN だけでなくがん細胞自らが産生する I 型 IFN もがん幹細胞の維持に重要であると考えられる。I 型 IFN はがん細胞の増殖を抑制することから、細胞増殖や代謝の抑制によってがん幹細胞の stemness を維持しているのではないかとことも考えられ、非常に興味を持たれるところである。

岩淵は EGFR 陽性非小細胞肺癌細胞株を Gefitinib によって処理すると転写因子 HIF-1 α の分解が促進することから、VHL を介した分解を受けない安定型 HIF-1 α を発現させた Gefitinib に対して耐性を獲得することを発見した。この耐性獲得にはアポトーシス抑制因子 BCL-X_L と Mcl-1 発現誘導が重要なことを明らかにした。HIF-1 はがん幹細胞の維持にも重要なこと、HIF-1 は炎症によっても誘導されることから、がん微小環境では HIF-1 を介してがん幹細胞がアポトーシスを免れていることが考えられる。

阿部や清水によるがん幹細胞の発生機序の解析、上原による I 型 IFN による stemness の維持、岩渕によるがん幹細胞のアポトーシス抑制の解析は全体的に繋がっていると考えられ、これらの研究を合わせることで、がん化の分子機構を明らかにしていこうと考えている。

更に、中嶋は一貫してアポトーシスの分子機構の解明、抗がん剤によるアポトーシス誘導の分子機構、抗がん剤感受性を規定する因子の同定を進めて多くの成果をあげており、特に本年度は乳がん細胞に対する微小管重合阻害薬の感受性を規定する因子の同定を中心に研究を進めている。中嶋の研究は有効ながん治療の方法の開発や治療抵抗性のがんに対する新たな治療法を開発を、これまでに積み上げたアポトーシス誘導の分子メカニズムの研究から行うものであり、臨床及び病理学教室と共同で研究を行なっている。また、大学院生の鈴木は、肺がん細胞では生存因子 MCL1 がシャペロン介在性オートファジーによって選択的安定化しており、このことが肺がん細胞の生存を維持していることを発見し、学位論文としている。これらの研究に加えて、研究生の林は、内耳の感染防御機構の解析、形成外科の土佐は阿部と共同でケロイドの発生機構、新たな治療法の開発に関する研究を行なっている。

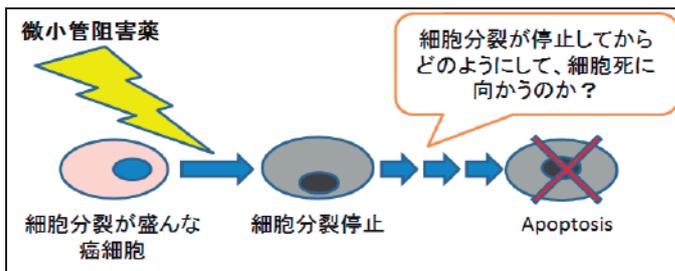
以上が我々の研究室の研究の概要であり、以下に各自の研究の紹介を記す。

【中嶋 亘】

2009年に老人病研究所免疫部門（現在は先端医学研究所遺伝子制御学部門）に助教として赴任してから、一貫してプログラム細胞死（アポトーシス）の研究を続けてきました。ミトコンドリアを介するアポトーシスは Bcl-2 ファミリー分子と呼ばれる遺伝子群によって制御されており、アポトーシス実行因子である Bax と Bak の2つの分子が活性化することでアポトーシスが実行されることが知られています。しかしながら、Bax および Bak の活性化機構は未だに不明な点が多く、これらの Bax、Bak の活性化機構を理解することはアポトーシスを理解するうえで必要不可欠であり、癌化学療法でよく報告される抗癌剤耐性機構を深く知るのに非常に有意義であると考え、研究を続けてきました。

特に 2012 年以降はアポトーシス研究を応用し、実際に医療の現場に貢献できるような研究をしたいと考え、抗癌剤の作用機序をより詳しく調べる事から薬剤の効き方を意識して研究を行ってまいりました。

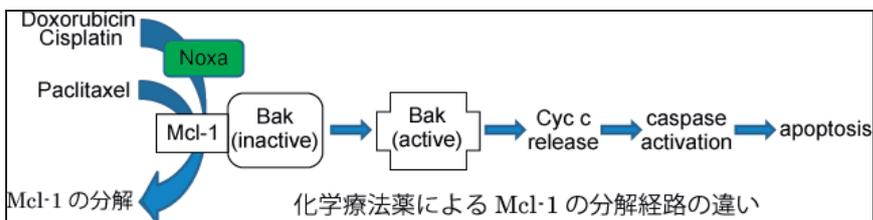
今日、外科療法が困難な癌に対しては抗癌剤を用いた化学療法が主流となっていますが、その効果は癌の種類や段階によって大きく異なるのが現状です。通常、抗癌剤投与によって癌細胞に細胞死（apoptosis）を誘導することでその効果が期待されますが、癌細胞の種類によってはその apoptosis 誘導効果が著しく乏しく、単に QOL の低下のみを招くこともあります。したがって化学療法の治療前に効果がどの程度見込めるのかを客観的に判断する為の、有効なバイオマーカーの同定が望まれます。微小管重合促進剤パクリタキセルや DNA 損傷誘導抗癌剤であるシスプラチンは古くから用いられてきた抗癌剤で、現在も世界で最も多く使われている抗癌剤の一つです。



微小管阻害薬によるアポトーシス誘導

エリブリンや、パクリタキセルと言った微小管阻害薬は細胞分裂を阻害することでアポトーシスを誘導するが、細胞分裂を阻害された癌細胞がどのような分子機構でアポトーシスが引き起こされるのかはよくわかっていない

これら、パクリタキセルやシスプラチンを培養細胞株へ処理すると、どちらの薬剤も感受性株では最終的にはアポトーシス抑制遺伝子 Mcl-1 が分解されることでアポトーシスが誘導されますが、抗癌剤耐性株では抗癌剤処理を受けてもアポトーシス抑制遺伝子 Mcl-1 が分解を免れることでアポトーシスが誘導されず、感受性株と抵抗性株との違いを決定づける分子機構の一端となっていることがわかってきました。しかしながらこの一連のアポトーシス抑制遺伝子 Mcl-1 の分解機構は未だに不明な点が多く残されており、この Mcl-1 の分解機構を詳細に知ることが抵抗性株での薬剤効果の改善を図るうえでもとても重要となってきます。我々のこれまでの分子生物学的手法を用いた解析によって、パクリタキセルやシスプラチン処理時に誘導される Mcl-1 分解の詳細な分子機構を解明し、学術論文として 2014 年より数えて 8 報の原著論文を報告してきました。



各化学療法薬により Mcl-1 が分解されると、Bak が活性化しミトコンドリアから Cytochrome c の放出を経て Caspase が活性化しアポトーシスが誘導される。

平成28年度は、これまでの成果を応用した研究を行うことが可能となってきたと同時に、日本医科大学の臨床部門（乳腺科）と連携し、共同研究に着手しております。現在は、乳癌において化学療法薬の効果事前予測の精度を高めることができるのではないかと考え、日夜研究を行っています。

【阿部芳憲】

Hedgehog シグナル伝達経路を中心とした癌発症に関わる新しいシグナル伝達機構の解析

Hedgehog シグナル伝達経路

生体内では様々な機能を持った細胞群が互いにコミュニケーションをとりながら、個体の生体恒常性を維持しています。また、必要のなくなった細胞群は細胞死が誘導され、排除されていきます。これらのことは様々なシグナル伝達経路によって厳密に制御されています。しかしその制御機構が破綻すると、癌や免疫疾患など様々な病気の発症に関わることも知られています。

私は大学生だった頃から巧みに制御された細胞内シグナル伝達機構に興味を持ち、大学4年次の卒業研究から一貫して、細胞内シグナル伝達機構の研究を行って来ました。

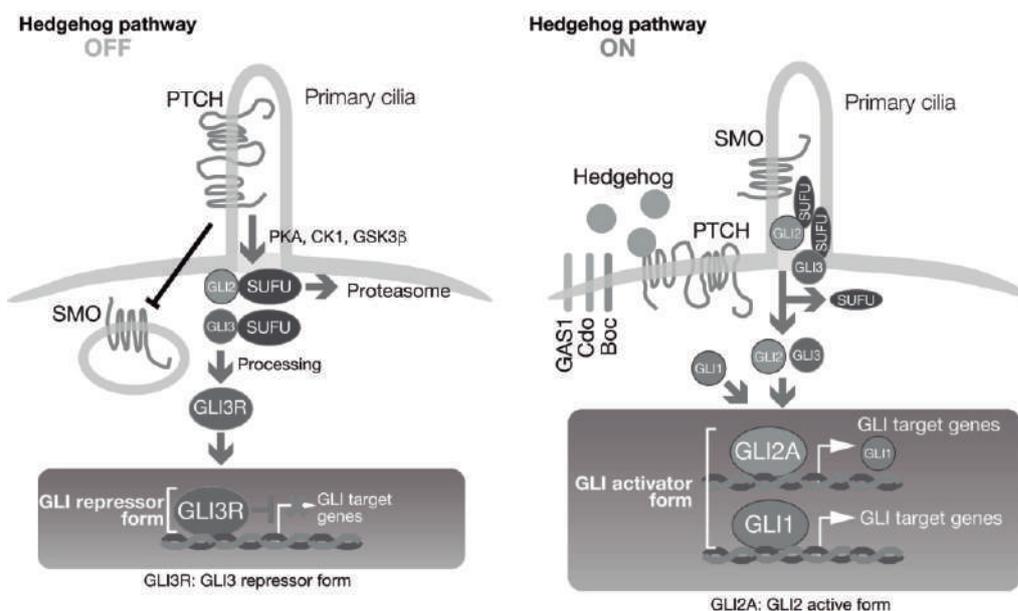


図1: Hedgehog シグナル伝達経路

Patched (PTC) ヘリガンドである hedgehog が結合すると、Smoothend (SMO) が活性化し、転写制御因子 GLI ファミリー (GLI1, GLI2, GLI3) が活性化します。Hedgehog シグナルの強弱によって GLI ファミリーの標的遺伝子を変化し、それによってバリエーションに富んだアウトプットが実現すると考えられています。このことが、器官形成や幹細胞維持など様々な場面で hedgehog 経路が関与する機構の1つと考えられます。

そして2003年に遺伝子制

御学部門に来て、hedgehog シグナル伝達経路と出会いました。図1に示すように、hedgehog シグナル伝達経路は、様々な器官形成やその維持だけでなく、細胞増殖や分化など様々な場面で重要な役割を果たしています。さらに hedgehog シグナル伝達経路の制御機構の破綻は様々な部位で細胞の癌化に関わることも分かって来ました。私は hedgehog シグナル伝達経路が担う様々な役割の中で、特に hedgehog 経路と細胞の癌化に焦点を当てた研究を行っています。

Hedgehog シグナル伝達経路と p53 とのクロストーク

当部門へ来て最初の研究テーマは、正常な細胞が癌細胞へと変化していく過程における分子機構の一端を明らかにすることでした。細胞は様々なストレスによって癌細胞化といった異常な状態へ変化させないような防御システムが備わっています。その中心的な役割を担うのが、p53 と呼ばれるタンパク質です。しかし p53 が正常に機能する状態にもかかわらず、細胞が癌化へと向かう分子機構については不明な点が多く残っていました。私は hedgehog シグナル伝達経路が恒常的に活性化すると細胞増殖能が亢進すると共に、p53 タンパク質の分解が促進することを見出しました。このことが正常に機能する p53 が存在するにもかかわらず、p53 の機能が抑制され、他の癌遺伝子産物の活性化ともあわせて、正常な細胞が癌細胞へと向かっていく分子機構の一端なのではないか、ということ提唱しました(図2)。

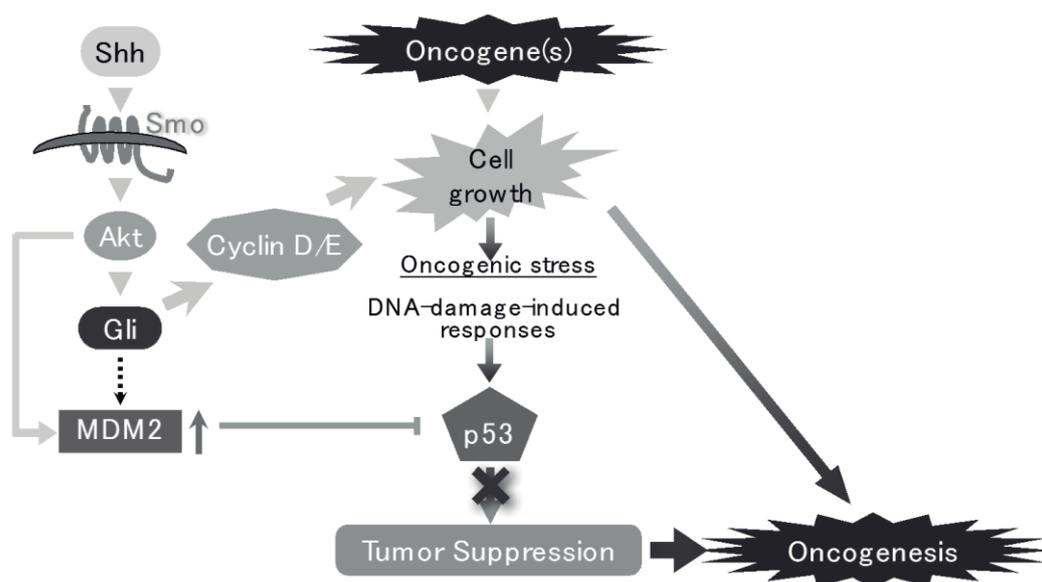


図2: Hedgehog シグナル伝達経路の恒常的活性化に伴う p53 の不活性化

Hedgehog シグナル伝達経路が恒常的に活性化すると、転写制御因子 GLI1 が活性化し、cyclin D/E などの細胞増殖に関わる遺伝子の発現を誘導します。さらに他の癌遺伝子産物の活性化とあわせ、細胞増殖能が亢進します。また、hedgehog 経路の活性化の過程で AKT が活性化します。活性化した AKT は p53 タンパク質を分解して不活性化する MDM2 を活性化します。この一連の流れによって、異常な細胞増殖能を獲得するにも関わらず、異常な細胞を排除する役割を担う p53 が不活性化してしまいます。このことが正常に機能する p53 が存在するにも関わらず、正常な細胞が癌細胞へと変化していく分子機構の一端なのではないかと考えられます。

新しい hedgehog シグナル伝達分子の同定とその役割

ただ、hedgehog シグナル伝達経路に着目した研究を行う中で、ずっと気になっていたことがありました。それは SMO と GLI ファミリー間のシグナル伝達経路はよくわかっていないということです。したがって SMO と GLI ファミリーの間を結ぶ新しいシグナル伝達分子を同定し、その分子を介した GLI ファミリーの制御機構が明らかになれば、新しい hedgehog シグナル伝達機構を提唱できるのではないかと考えました。さらに新しく見つけた hedgehog シグナル伝達分子の機能異常が恒常的な GLI ファミリーの活性化を導く可能性についても言及できるのではないかと考えました。GLI ファミリーの恒常的活性化は細胞の癌化と深く関わっています。そのため hedgehog シグナル伝達経路を介した細胞の癌化における、新しい分子機構を提唱するだけでなく、癌治療法開発のための新たな基

盤的信息を提唱することへもつながります。

そこで GLI ファミリーの中で、もっとも主要な役割を果たし、細胞の癌化とも深く関わる GLI1 の制御に関わる新規分子の探索をスタートしました。具体的には GLI1 を含む複合体を精製し、その複合体構成分子を質量分析装置で同定しました。その結果、GLI1 の機能制御に関わる新規分子として、アルギニンメチル基転移酵素 PRMT5-MEP50 複合体を同定しました (図 3)。そして PRMT5-MEP50 複合体は hedgehog 経路活性化に伴い GLI1 と複合体を形成し、GLI1 の 990 番目と 1018 番目のアルギニン残基をメチル化することを見出しました。さらに PRMT5-MEP50 複合体によってメチル化された GLI1 タンパク質は、GLI1 の分解に関わる ITCH-NUMB 複合体との結合が抑制されて安定化し、活性化へと導かれることが分かりました (図 4)。

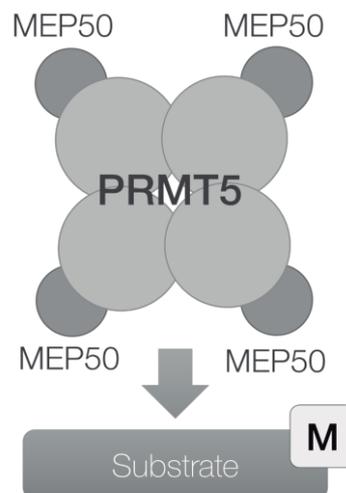


図 3: PRMT5-MEP50 複合体
PRMT5 が酵素本体となり、PRMT5 と基質との仲立ちをするコファクターである MEP50 とのヘテロオクタマーの構造をとります。

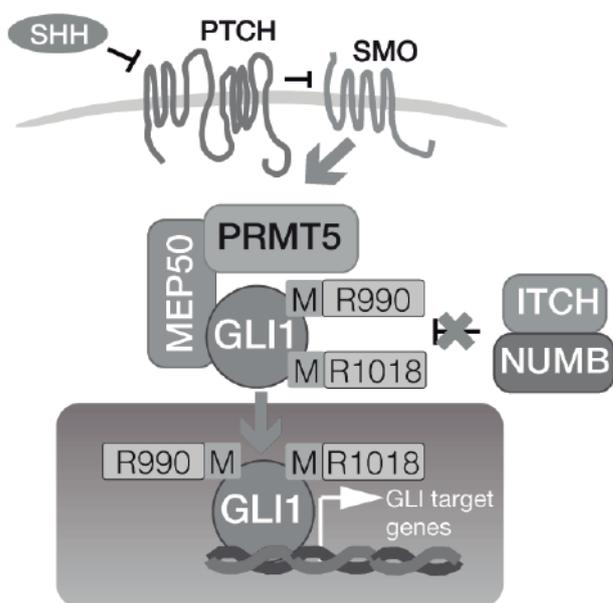


図 4: Hedgehog 経路における PRMT5-MEP50 複合体による GLI1 メチル化の役割

非小細胞癌における PRMT5-MEP50-GLI1 経路の役割

次に、癌における死因の上位に位置する肺癌のうち、85%を占める非小細胞肺癌に着目し、解析を進めました。非小細胞肺癌では GLI1 が恒常的に活性化していることが知られていたものの、GLI1 活性化の分子機構には議論の余地が多く残っていました。解析を進めていくと、SMO 非依存的な PRMT5-MEP50 複合体を介した GLI1 活性化経路が非小細胞肺癌細胞に存在すること、転写制御因子 STAT3 が PRMT5 と MEP50 の両方の遺伝子発現を直接制御すること、STAT3-PRMT5-MEP50-GLI1 経路は非小細胞癌細胞の維持に関わることを見出しました (図 5)。

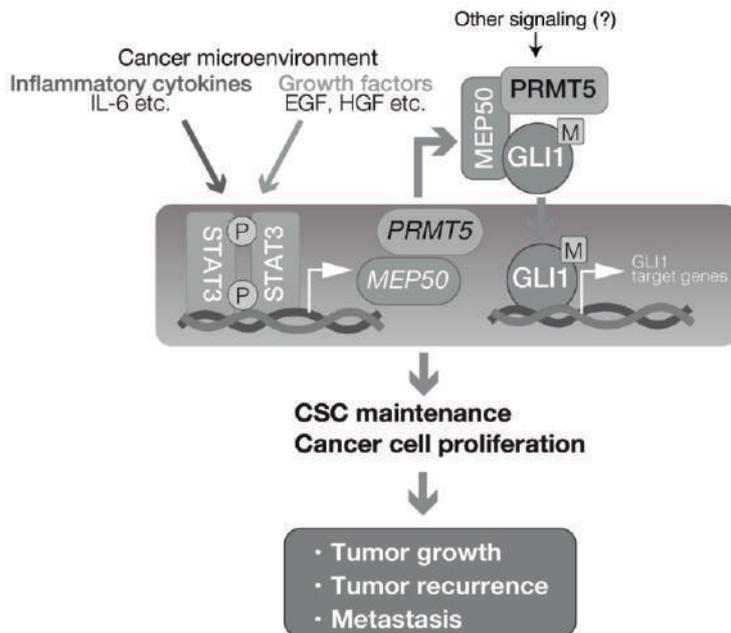


図5: 非小細胞肺癌におけるSTAT3-PRMT5-MEP50-GLI1経路の役割
CSC: cancer stem cell (癌幹細胞)

この1年で明らかになったこと

非小細胞肺癌細胞におけるSTAT3-PRMT5-MEP50-GLI1経路の役割を明らかにする研究について、この1年で明らかになったことを紹介します。

非小細胞肺癌細胞においてCRISPR-Cas9システムを用いて、非小細胞肺癌細胞でGLI1をノックアウトすると、細胞増殖能は保つものの、腫瘍形成能が著しく低下することが分かりました。さらにGLI1ノックアウト細胞では、GLI1が転写制御する癌幹細胞維持に関わる遺伝子の発現が著しく低下していることも分かりました。ここまでの成果は、1日も早く論文という形で世に出すために、最終的な準備をしています。

これから

今後は他の癌、特にKRASに変異の入った癌においてもSTAT3-PRMT5-MEP50-GLI1経路が癌幹細胞の維持を通して腫瘍形成に重要な役割を果たしていることを明らかにしていこうと考えています。最終的にこの経路を遮断することが、KRASに変異の入った癌に対する新しい治療法になり得ることを提唱できたらと考えています。またシグナル伝達経路の解析という観点から、RAS-ERK経路とSTAT3-PRMT5-MEP50-GLI1経路とのクロストークについても新たな知見を提唱できればと思っています。これまで主に培養細胞系での解析が中心でしたが、今後は当部門で所有している発癌モデルマウスを使って、個体レベルでの解析を中心に行う予定です。

また最近、共同研究を通じた解析から、hedgehogシグナル伝達経路の恒常的活性化が、癌以外の難治性疾患の原因になっている可能性を見出しました。こちらについても解析を進めていきます。

【上原郁野】

I型インターフェロン (IFN- α/β) のがん幹細胞及び発がんに対する影響
～IFN- β/α はがん細胞にとって敵？それとも仲間？～

IFN- α/β は、生体内へ侵入するウイルス感染に応答し、その増殖を抑制するために体内で作られる因子であり、B型、C型肝炎の治療薬として現在多くの患者に有効に使用されている。さらに、腫瘍細胞増殖抑制作用もあり、慢性骨髄性白血病、腎癌、膠芽種など一部のがん治療薬として承認されている。

私は今までに IFN- α/β の制御因子及びがん抑制遺伝子 p53 による癌抑制機構の研究を行ってきた。その中で、本来腫瘍細胞の増殖を抑制する IFN- α/β の発現が、がん細胞でも恒常的に見られること、p53 欠損のマウス胎児線維芽細胞(MEF)に DNA 損傷刺激を与えると、野生型と比較して、IFN- α/β や IFN 誘導遺伝子群の発現が亢進することを見出した。

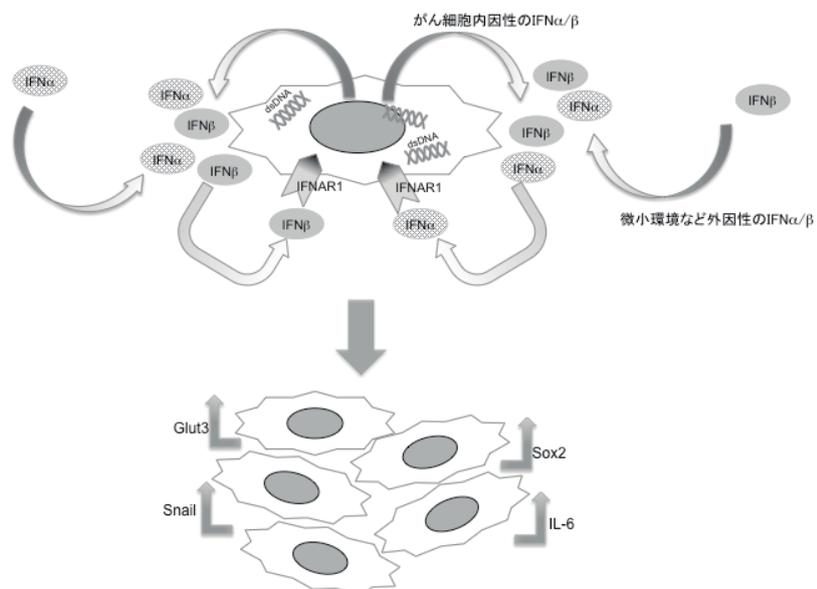
がん細胞や p53 欠損株で IFN- α/β の発現が亢進する理由としては、細胞内に存在する二本鎖 DNA (dsDNA) を認識するセンサーである cGAS とそのアダプター分子 STING の作用によって、DNA ウィルス等に感染した時と同様な自然免疫機構がはたらき、がん細胞や p53 欠損株で細胞質内に蔓延した dsDNA を認識して、IFN- α/β の発現を亢進しているのだろうと考えられた。しかしながら、なぜがん細胞が自身の増殖を妨げるような IFN- α/β をわざわざ産生するのか?が疑問として残った。

まず IFN- α/β ががん細胞にどのような影響を与えるのかを調べるのに、がん細胞自体の増殖が抑制される点に着目し、さらに造血幹細胞の増殖に IFN- α が関与している報告もあったため、がん幹細胞への影響を調べた。その結果、幹細胞の指標となる sphere 形成において、sphere を形成したがん細胞自体が IFN- α/β を産生していることを見出した。そこで、がん細胞に IFN- β を作用させた後、sphere を形成させたところ、通常培養条件では IFN- β を作用させると増殖は悪くなるが、sphere を形成させると安定した大きい sphere を形成するがん細胞があることを見出した。さらに、IFN- β の影響の見られるがん細胞では、IFN- β を作用させると幹細胞マーカー、間葉系マーカー、炎症性サイトカインやグルコース代謝関連遺伝子の mRNA レベルでの発現上昇が見られた。以上のことから、IFN- α/β はがん細胞の増殖は抑制するが、癌幹細胞の維持・安定化に関与し、発がんに影響を与えるのではないかと推測された。

上記実験結果が得られたので、マウス個体を使用した実験も行った。まず、p53 と IFN- α/β 受容

体両欠損マウスを作成し解析したところ、p53 単独欠損マウスに比べて腫瘍の発生が遅く、生存期間が長い傾向があることを見出し、IFN- α/β は発がんや腫瘍促進シグナルに影響していることが推測された。さらに、IFN- β 処理で安定した大きい sphere を形成するがん細胞に、マウスの IFN- α/β 受容体 1 (mIFNAR1) を恒常的に発現させた細胞と、CRISPR-Cas9 手法を用いて、ヒトの IFN- α/β 受容体

1 (hIFNAR1) を欠損させた細胞を作成し、ヌードマウスに移植し腫瘍作成実験を行ったところ、mIFNAR1 を発現させたがん細胞の腫瘍はコントロールと比べて大きく、hIFNAR1 を欠損させた細胞の腫瘍は小さくなる傾向が見られたことから、実際に I 型 IFN がヒトがん細胞の腫瘍増殖を増大させていることがわかった。



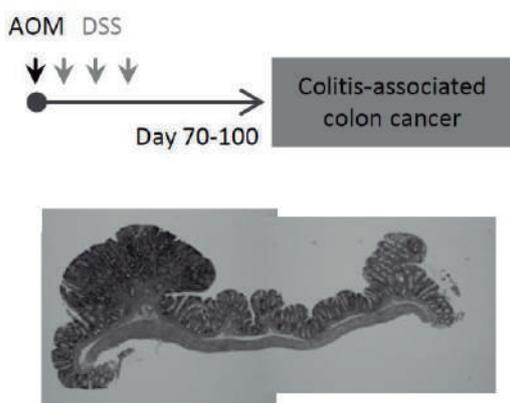
現在、IFN- α/β がどのようなシグナル伝達により腫瘍増大に関与しているのかを、解析中である。

【谷村篤子】

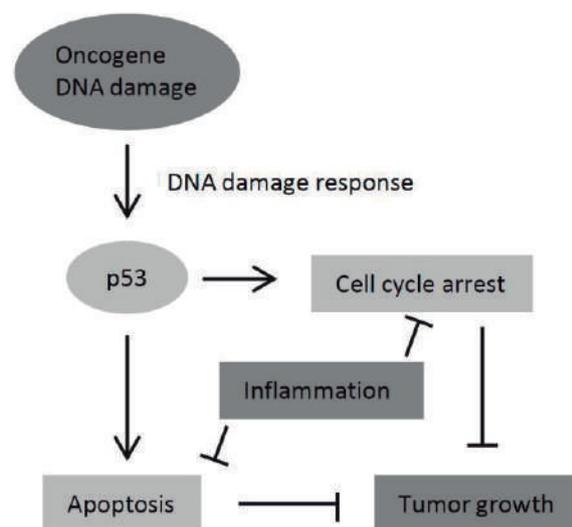
炎症部位における発がん

炎症が発癌に関与していることは広く知られている。実際にヒト大腸癌の罹患リスクは炎症性腸疾患により上昇し、罹患年月とともに増加する。また、実験動物を用いた系では発癌剤投与に引き続き大腸炎を誘導することで、発癌剤の単剤投与より高率かつ短期間で大腸に腫瘍を発生させることが出来る(図 a)。

a. Animal models of colon carcinoma



b. Inflamed colon



炎症がどのように発癌を促進するのかと言う事はとても興味深いテーマである。そこで、炎症と発癌について以下の2つの視点から研究を行っている。

① 異常な炎症シグナルは発癌を引き起こすか？

炎症シグナル自体が発癌のイニシエーターとなり得るのかを検討する。炎症反応は体内に侵入した細菌などの異物を排除する機構である。生体の細菌感染は細胞上の受容体 TLRs (Toll-like Receptors) によって感知され、シグナル伝達によって転写因子 NF- κ B (Nuclear factor- κ B) や IRF (Interferon regulatory factor) を活性化させる。NF- κ B や IRF はサイトカインやケモカインなどの転写を誘導し、獲得免疫や炎症を誘導する。サイトカインは発癌を抑制するという報告がある一方で、TNF α (Tumor Necrosis Factor α) や IL-6 (Interleukin-6) などが発癌を促進するという報告もある。また、TLRs は MAP kinase を活性化させる事が分かっており、細胞の状態に依存して細胞を生存または死の方向に誘導する。そこで、TLRs 経路を活性化させるために TLRs のアダプター分子 MyD88 (Myeloid differentiation primary response gene 88) の活性化型を細胞に発現させた。この細胞をヌードマウスに移植した所、コントロールでは腫瘍を形成しないのに対し、MyD88 発現細胞は腫瘍を形成した。現在の所、MyD88 はNF- κ B を介して転写因子 HIF-1 α (Hypoxia-inducible factor-1 α) を活性化させることで腫瘍形成を誘導していることを明らかにしている。

② 炎症部位において癌抑制機構は正常に働いているのか？

DNA 損傷は常に私達の体で起こっている現象である。活性酸素、紫外線、放射線、化学物質などによって損傷を受けた DNA は DNA 損傷応答によって修復される。また、癌遺伝子の発現によって DNA の異常な増幅が起こった際にも DNA 損傷応答が活性化される事が知られている。DNA が損傷を受けた細胞では、癌抑制因子として知られる p53 が活性化し、細胞周期の停止が起こり DNA 損傷部位の修

復が速やかに行われる。また、この損傷が修復できない時はアポトーシスによって細胞自体が排除される。しかし炎症部位で発癌が多く見られることから、炎症部位では DNA 損傷応答が正常に働いていないのではないかと考えられる (図 b)。特に、転写因子 NF- κ B は IAPs, FLIP, Bcl-xL, Bfl1, survivin など抗アポトーシスに関する分子の遺伝子発現を促進する事が知られているため、炎症部位における NF- κ B の活性化が DNA 損傷応答を抑制している可能性が考えられる。そこで、化学的に炎症を誘導したマウスに DNA 損傷刺激を与え解析した。すると炎症組織では p53 の発現には変化がないものの、細胞周期の停止が起こらない上、アポトーシスも抑制されていた。今後、詳細にこれらの機構を解明する予定である。

【清水幹容】

がん幹細胞 (Cancer Stem Cells, CSCs) は、腫瘍形成モデルの一つとして提唱されている細胞集団である。1997 年に急性骨髄性白血病で初めてその存在が同定され、その後、多くの固形がんにも存在することが報告されてきた。CSCs は腫瘍形成能、自己複製能、薬剤耐性能をもつとされ、近年、がんの転移や再発といった腫瘍の悪性化に対して、CSCs の重要性が指摘されている。したがって、CSCs の発生を阻止することが出来れば非常に有用ながん治療法となることが期待される。

腫瘍形成を引き起こす遺伝子変異は、主ながん抑制遺伝子の機能不全およびがん原遺伝子の活性化である。特ながん抑制遺伝子 p53 の機能不全とがん原遺伝子 Ras の活性化は多くのがんにみられる遺伝子変異であり、Ras の活性化はがん全体の 16%、p53 の機能不全はがん全体の 50%以上に及ぶ。当研究室は、これまでに p53 機能不全と Ras 活性化がグルコース代謝を制御することで腫瘍を悪性化することを明らかにしている。従って、これらの遺伝子変異はグルコースの代謝制御を含む特定の機能を発揮することで、CSCs の発生に関与すると推測されるが、その分子基盤は明らかにされていない。そこで、本研究は CSCs の発生機構の解明を目的としており、これまでに①「ケモカインによる新たな糖代謝制御機構が CSCs 発生に関与すること」、②「p53 機能不全と Ras 活性化により誘導される特定の転写因子が CSCs の発生に重要であること」がわかってきたので、以下にそれぞれの概要を述べる。

① 大腸がん細胞(HCT116)、肺がん細胞(H460, HCC827)を用いて、CSCs の形成・維持におけるグルコース代謝関連遺伝子の発現を調べたところ、グルコースの取り込みを制御する GLUT3 の発現が有意に増大した。また、GLUT3 の発現誘導にはケモカイン IL-8 が関与しており、IL-8-GLUT3 の経路が CSCs の形成・維持に重要であることがわかった。さらに解析を進めると、IL-8 は GLUT3 の発現誘導を介して、解糖系の活性化ではなく、ヘキソサミン合成経路を活性化し O-GlcNAc 化を亢進していることが明らかとなった。また、O-GlcNAc 化が CSCs の形成・維持に必須であり、腫瘍形成能に大きく影響を与えていることが示された。今後は、CSCs の発生に重要な O-GlcNAc 化タンパク質を特定し、その機能解析を進めていく予定である。

② p53機能不全とRas活性化を再現したマウス線維芽細胞をヌードマウスに皮下注射すると、移植後1週間という非常に早い期間で腫瘍が形成され、またCSCsの実験的指標であるSphere形成能を獲得した。また、これらの変異により特定の転写因子群の発現が有意に増大し、これらの転写因子群の発現をノックアウトしたクローンを作製すると、生じた腫瘍形成能およびSphere形成能が完全に消失した。従って、p53機能不全とRas活性化により誘導される特定の転写因子群がCSCsの発生に必須であることが明らかとなった。今後は、この転写因子群に焦点を当て、CSCs発生を担う分子基盤の解析を進めていく。

【岩淵 (吉田) 千里】

日本人の癌の部位別死亡順位で、肺癌は男性で1位、女性では大腸癌に次ぐ2位であり、その制圧は医学における重要課題の一つである。EGFR 陽性非小細胞肺癌 (NSCLC) ではゲフィチニブ等の分子標的薬による治療が効果を上げているが、これらの治療では再発例に対しての治療は困難である。癌が再発する過程では、残存する癌幹細胞と薬剤耐性獲得が問題となり、効果的な肺癌の治療を目指すためには、これらの機構を解明してそれを標的とする必要がある。本研究では、これらの機構の key 分子を探し、

薬剤耐性獲得機構の解明、さらに癌幹細胞への効果的な治療法の開発を目指すことを目的とした。

ゲフィチニブは EGFR 変異 NSCLC の分子標的薬として高い奏功性を示す。しかし投与後、薬剤耐性を示す患者が現れることも多数報告されており、治療において大きな障壁となっている。我々は EGFR 陽性 NSCLC 細胞株 HCC827 や PC9 細胞で、ゲフィチニブ処理により低酸素応答因子 HIF-1 α の発現が抑制されることを見出した。HIF-1 α は低酸素応答に加えて代謝のリプログラミング、癌細胞の増殖や転移、癌幹細胞の維持等に関わることが知られており、HIF-1 α を標的とした薬剤の開発も進められている。

HIF-1 α は、通常酸素濃度ではユビキチンリガーゼと結合し分解される。そこでユビキチンリガーゼ結合部位に変異を加えた安定型変異体 HIF-1 α 発現細胞株を作製し、ゲフィチニブに対する感受性を調べた。その結果、ゲフィチニブに対する IC50 が顕著に高くなることを見出した。また、HIF-1 α をノックダウンした細胞株も作製し、ゲフィチニブに対する感受性を調べると通常細胞株よりも IC50 が低くなるという結果も得ている。これよりゲフィチニブ耐性獲得に HIF-1 α が重要であることが示唆された。さらに、安定型変異体 HIF-1 α 発現株でのアポトーシス関連因子の発現変化を調べると抗アポトーシス分子として知られている MCL1、Bcl-XL の発現が安定型変異体で上昇している事とアポトーシスマーカー因子の活性型 caspase3 の発現が抑制されていることを見出した。これより HIF-1 α が安定的に発現することによりアポトーシスを抑制し、薬剤耐性を獲得していることが示唆された。薬剤耐性機能を持つ癌幹細胞では HIF-1 α が高発現している事が知られており、HIF-1 α の発現が癌幹細胞の維持に重要であることは既に報告されている。そこでまず、安定型変異体 HIF-1 α 発現細胞株と通常の細胞株での癌幹細胞の数を比較した。その結果、安定型変異体 HIF-1 α 発現細胞株では有意に癌幹細胞が増加した。また、安定型変異体 HIF-1 α に転写活性を抑える変異を加え、癌幹細胞数の比較を行った結果、顕著に癌幹細胞の数が減少したことから HIF-1 α の転写活性が癌幹細胞の維持・作製にきわめて重要であることが示唆された。また、HIF-1 α はグルコース代謝を亢進させて低酸素状態に対応することが知られており、低酸素状態でも癌幹細胞の生存を可能とさせている。我々は、癌幹細胞でグルコース代謝が亢進していること、および、癌幹細胞数は高グルコース培地で培養すると増加し、解糖系の阻害剤によって低下する結果を得ている。これらのことを考えて、現在 HIF-1 α による癌幹細胞の維持機構の解析を細胞内代謝変化の観点から解析すること、今回得られた HIF-1 α の高発現により抗アポトーシス分子 MCL1、Bcl-XL の発現が上昇することが癌幹細胞の形成や維持にも関与するのかを解析していく。

【研究業績】

〈原著〉

Suzuki J, Nakajima W, Suzuki H, Asano Y, Tanaka N. Chaperone-mediated autophagy promotes lung cancer cell survival through selective stabilization of the pro-survival protein, MCL1. *Biochem Biophys Res Commun.* 22, 1334-1340, 2017

〈総説〉

田中信之 p53 とがんの代謝 *実験医学 増刊 がん代謝 ワールブルグを超えて全容解明に挑む.* 35, 1570-1574, 2017

〈学会発表〉

- 1) 中嶋 亘、浅野由ミ、武井寛幸、田中信之：BRCAness 乳癌細胞株の微小管阻害薬パクリタキセルに対する抵抗性機構の解析 第 39 回 日本分子生物学会年会、2016、横浜
- 2) 阿部芳憲、谷村篤子、上原郁野、田中信之：アルギニンメチル基転移酵素 PRMT5 を介した大腸癌発症の分子機構 第 39 回 日本分子生物学会年会、2016、横浜
- 3) 上原郁野、田中信之：I 型インターフェロンの癌幹細胞での役割と発がんに対する影響 第 39 回 日本分子生物学会年会、2016、横浜
- 4) 谷村篤子、田中信之：マウス大腸炎症組織における DNA 損傷応答の抑制 第 39 回 日本分子生物学会年会、2016、横浜
- 5) 岩渕(吉田)千里、武内 進、田中 信之：転写因子 HIF-1 α による肺癌での抗癌剤耐性獲得の分子機構 第 39 回 日本分子生物学会年会、2016、横浜
- 6) 清水幹容、田中信之：IL-8 は糖代謝を制御することでがん幹細胞の発生に関与する 第 39 回 日本分子生物学会年会、2016、横浜
- 7) 鈴木淳也、中嶋 亘、田中信之：オートファジーによるアポトーシスの抑制機構の解析 第 39 回 日本分子生物学会年会、2016、横浜
- 8) 江畑貴弘、上原郁野、平田宏聡、小野寺啓吾、町山祐亮、藤田英明、三井靖雅、奥崎大介、中嶋 亘、田中信之、川内敬子：新規 p53 標的遺伝子によるアクチン細胞骨格の調節を介したアポトーシス誘導機構 第 39 回 日本分子生物学会年会、2016、横浜

〈特許出願〉

- 1) 田中信之、林 裕史、上原郁野、中嶋 亘、鈴木英紀 発明の名称:内耳疾患治療剤 特許出願番号:特願 2016-232704

IV. 生体機能制御学部門

Department of Bioregulation

生体機能制御学部門

(大学院 生体機能制御学分野)



教授 南 史朗

【研究概要】

生体の個体としての機能とその制御機構の解明をめざし、ホルモン・生理活性物質を対象として生理学的研究を行っている。ホルモンの分泌調節機構、作用機序、細胞内シグナル伝達機構を研究し、病態の解明をめざす。

I. 栄養状態と細胞内シグナリング

動物は、栄養状態に応答して物質代謝を変動し、恒常性を維持する巧妙な仕組みを持つ。体内の様々なホルモン分泌を変化させると共に、組織ごとに細胞内のシグナル伝達因子を変動させることで物質代謝を調節すると考えられる。私たちは、タンパク質・アミノ酸栄養状態に着目し、それによって変動するホルモン（インスリン、インスリン様成長因子、成長ホルモン、アディポネクチンなど）の分泌調節機構、およびこれらホルモンの細胞内シグナル伝達系を介した代謝調節機構の解明を目指している。

1) インスリンシグナル因子の変化がもたらす脂質代謝調節機構の解明

これまでに、低タンパク質栄養状態のラットの肝ではインスリンシグナリングが増強すること、中性脂肪含量が増加すること、インスリン作用の発揮に重要な IRS-2 や翻訳抑制因子 4E-BP1 の量が増加することを見出してきた。肝臓特異的に 4E-BP1 の発現を抑制したラットを作成して検討した結果、4E-BP1 が低タンパク質栄養状態による脂肪肝の生成に必須な因子であり、肝中性脂肪含量の調節に重要な役割を果たすことを明らかにした。

さらに、IRS-2 の病態生理的意義を明らかにする目的で、ゲノム編集技術の一つである CRISPR/Cas9 法により IRS-2 ノックアウトラットの作出を試み、成功した。

2) 中性脂肪合成に対するインスリンシグナル増強の関与

インスリンは中性脂肪合成を促進するため、低タンパク質栄養状態の肝臓におけるインスリンシグナルの増強が脂質蓄積を誘導すると推測された。私たちは単離肝細胞を用いて検討を行い、当初の推測に反して、低タンパク質栄養状態のラット肝の中性脂肪合成亢進にはインスリンシグナルの増強は関与しないことを明らかにした。

II. 成長ホルモンの新たな生理作用と作用機序

成長ホルモン(GH)は雄ラットでは3時間ごとに分泌されるのに対し雌では不規則に分泌される。この分泌リズムの違いが様々な遺伝子発現の雌雄差を作っていることが知られているが、その機序や意義はよく解明されていない。私たちは、ラット GH 分泌の雌雄差をマーカーとして GH の新たな生理作用を検討してきた。

1) AKR1D1 はステロイド核の4位の二重結合を還元する酵素であり、ステロイドホルモンの代謝や胆汁酸の合成に働く。ラット肝の AKR1D1 の mRNA・タンパク量には雌雄差があり、GH 依存的に変動することを明らかにした。また、AKR1D1 と異物を認識する核受容体 CAR の mRNA 量に相関があることから、GH の肝におけるステロイド代謝調節機序の解明、および異物認識(解毒作用)機序の解明につながると期待される。

III. メタボリック症候群の糖・脂質代謝系の分子機構の研究

糖尿病や脂肪肝などの代謝異常は、医学的・社会的に重大な問題である。私たちは、栄養状態の変化に対応する肝における糖・脂質代謝異常の機序を解明するために、国際医療センター分子代謝制御研究部(松本道宏博士)と共同研究を行い、脂肪合成酵素 FAS および絶食シグナルで誘導される分子 DIOX3 などに焦点をあてて研究を進めてきた。

1) 肥満・2型糖尿病における肝 FAS の意義

内性脂肪酸合成 (de novo lipogenesis : DNL) を触媒するリポジェニック酵素群の活性は食後や2型糖尿病肝で亢進している。DNL の鍵となる脂肪酸合成酵素 (FAS) は、グルコースからパルミチン酸を合成するリポジェニック酵素であり、その病態生理的意義は不明である。そこで、脂肪肝合併2型糖尿病モデルである ob/ob マウスの遺伝的背景を導入した肝特異的 FAS 欠損マウス (ob/ob LKO) を作製し、検討した。その結果、肥満・糖尿病肝における FAS の発現亢進は、DNL・糖新生・ β 酸化・肝糖取り込みの制御を介して絶食-摂食サイクルにおける血糖値の変動、すなわち空腹時の血糖低下や摂食後の高血糖を軽減し、血糖の恒常性維持に寄与する可能性を提唱した。

2) 非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) の病態における FAS の役割

炎症・線維化をきたした食餌誘導 NASH の病態における FAS の役割は明らかでない。そこで、ob/ob LKO を、トランス脂肪酸やフルクトースおよびコレステロールを多量に含む NASH 誘導食により飼育し、代謝表現型解析を行った。肝 FAS 欠損によって、通常食飼育では脂肪肝の著明な改善と肝機能障害の悪化を認めた。NASH 誘導食飼育では肝中性脂肪含量の軽度な低下と、肝機能障害の軽減、炎症関連遺伝子の発現低下や線維化の著明な抑制を認めた。FAS は NASH の病態形成の促進因子であり、その寄与は食餌内容によって異なると考えられた。

3) 肝における糖新生の分子メカニズムの解明

肝細胞において絶食シグナルで誘導される分子 DIOX3 を同定し、その機能に着目し研究を進めている。この分子を肝細胞でノックダウンすると絶食シグナルで誘導される糖新生系酵素の発現が減弱し、細胞から産生されるグルコース量は減少した。またこの分子はインスリンシグナルや炎症応答にも関与することが分かり、非アルコール性脂肪肝炎などの炎症制御分子として作用する可能性を検討している。

IV. 性ステロイドの中枢作用

性ステロイドは全身性に作用して、動物の生殖機能のみならず、生理機能を維持する役割を担っている。また、性ステロイドが周生期の脳に作用することによって性差を含む脳の機能的分化をもたらす。私たちは、性ステロイドが、統合中枢である脳機能の分化および維持にどのように関与するのか、分子レベルで研究している。

1) ラットの養育行動の神経回路の解析

養育行動は、生存を脅かす様々な要因から仔をまもる行動であり、自然界ではもちろん、人工的に飼育する実験環境においても容易に認められる。本研究の目標は、養育行動関連の神経回路の特定を行い、その回路発現に関わる分子基盤を明らかにすることにある。私たちは、飼育環境の違いによって雄マウスによる仔への養育行動が変化することを示し、雄による仔への行動反応を定量化する手法を見いだしている。(Orikasa et al. *Physiol Behav* 2015)。雄の養育行動を制御する遺伝子の候補としてメラニン凝集ホルモンに焦点をあて、cfos 発現を指標にして検討してきた。

【研究業績】

< 原著 >

1. Yamanaka D, Akama T, Chida K, Minami S, Ito K, Hakuno F, Takahashi S. Phosphatidylinositol 3-kinase-associated protein (PI3KAP)/XB130 crosslinks actin filaments through its actin binding and multimerization properties in vitro and enhances endocytosis in HEK293 cells. *Front Endocrinol(Lausanne)*. 7: 89, 2016
2. Zhou H, Mori S, Ishizaki T, Takahashi A, Matsuda K, Koretsune Y, Minami S, Higashiyama M, Imai S, Yoshimori K, Doita M, Yamada A, Nagayama S, Kaneko K, Asai S, Shiono M, Kubo M, Ito H. Genetic risk score based on the prevalence of vertebral fracture in Japanese women with osteoporosis. *Bone Reports* 5: 158-172, 2016
3. Oriyasa C, Kondo Y, Katsumata H, Terada M, Akimoto T, Sakuma Y, Minami S. Vomeronasal signal deficiency enhances parental behavior in socially isolated male mice. *Physiol & Behav* 168: 98-102, 2017

< 学会発表 >

(国際学会)

1. Ishikawa M, Toyomura J, Taguchi Y, Tachibana T, Nakata T, Toyoshima Y, Minami S. Role of Growth Hormone to Maintain Islet Structure through Aging By Suppression of ER Stress. ENDO 2016, April 1-4 in Boston

(国内学会)

1. 石川真由美、豊村順子、田口雄亮、立花利公、中田朋子、豊島由香、南 史朗。成長ホルモンの膵島における小胞体ストレスの抑制作用の検討。第 89 回日本内分泌学会学術総会、2016 年 4 月、京都
2. 前岡理利子¹、丸山二美子²、海野麻祐美³、田沼里衣子⁴、野口周作¹、笠原英城¹、石川真由美⁵、南 史朗。インスリン治療中の 2 型糖尿病患者に対するリラグルチド併用の有用性について。第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会、2016 年 5 月、京都
3. 田沼里衣子¹、八木 孝^{4,5}、南 史朗^{4,5}、蓮田加奈子²、横関知子¹、黒川美子³、廣木とよ子²、井上宏司。肥満 2 型糖尿病に食事指導と持続性エキセナチド製剤(ビデュリオン)によって良好な血糖コントロールを得た 2 症例。第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会、2016 年 5 月、京都
4. 福永ヒトミ、金子佳世、望月瑠美、芳賀尚子、大槻昌子、八木 孝、石川真由美、石原嗣郎、米山剛一、南 史朗。妊娠糖尿病看護外来による療養指導が母体および出生児に与える効果の検討。第 32 回日本糖尿病・妊娠学会年次学術集会、2016 年 11 月、岡山
5. 田口雄亮、豊島由香、時田玲子、加藤久典、高橋伸一郎、南 史朗。低タンパク質食給餌ラットから単離した肝細胞で起こる脂質合成亢進はインスリン非依存的である。第 70 回日本栄養・食糧学会大会、2016. 5 月、神戸

6. 豊島由香、時田玲子、田口雄亮、高橋伸一郎、加藤久典、南史朗。低タンパク質栄養に応答して起こる褐色脂肪組織の脱共役タンパク質 UCP1 量の増加とエネルギー消費の亢進。第 70 回日本栄養・食糧学会大会、2016. 5 月、神戸
7. 折笠千登世、近藤保彦、勝又晴美、寺田節、秋元敏雄、佐久間康夫、南史朗。単飼飼育条件下における TRPC2 遺伝子欠損雄マウスの養育行動。第 39 回日本神経科学大会、2016 年 7 月、横浜
8. 豊島由香 「低タンパク質栄養によるインスリン活性増強機構とその生理的意義」 日本アミノ酸学会 10 周年記念大会・2016 年度科学・技術賞受賞講演、2016 年 9 月 東京



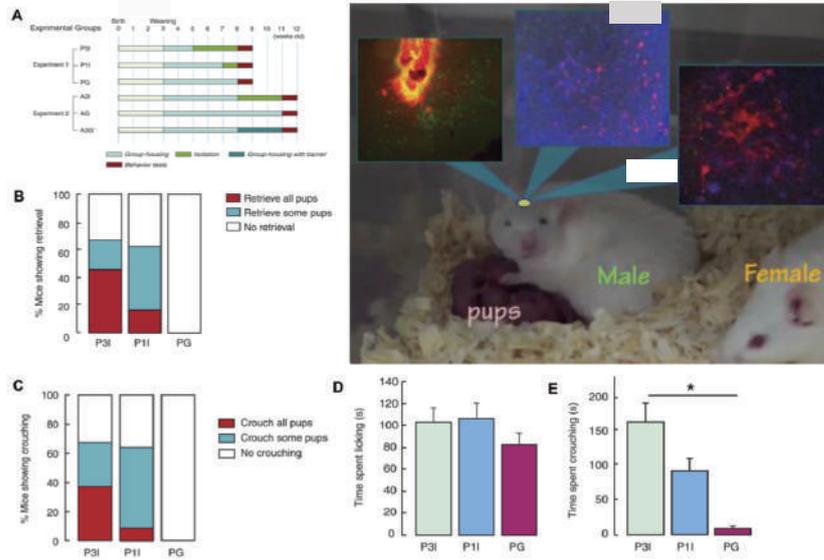
生体機能制御学部門
准教授 折笠千登世

雄の養育行動における神経基盤の解明

略歴

東大大学院博士課程修了
理化学研究所、東大海洋研、東京都神経科学研究所、日本医科大学生理学、ロックフェラー大学院 (Bruce McEwen 教授)
2014年 日本医科大学先端医学研究所講師
2016年より現職

「脳と行動」をテーマに雄の養育行動を制御する神経基盤の解明をめざして研究に取り組んでいる。



動物は社会的環境の変化に対応して行動をかえる

- (A) 養育行動解析の実験手順
 - (B) 単独飼育による雄の仔運び行動の活性化
 - (C) 単独飼育による雄の抱え込み行動の活性化
 - (D) 仔なめ行動に対する影響はない
 - (E) 単独飼育による雄の抱え込み行動持続時間上昇
- (写真) DREADD 法による神経特異的な遺伝子発現制御による解析
脳内神経細胞の発現を蛍光免疫染色により検討

人を含めた哺乳類では、未熟な状態で生まれる子の生命を維持するためには、養育行動が不可欠である。生後間もない幼若な仔マウスは、自らの体温を恒常的に保つことができないため、雌の親マウスによる抱え込み行動が重要となってくる。雄マウスではこのような養育行動を示すことはむしろ稀であり、仔への攻撃行動(喰殺行動)を示すことがよく知られている。我々は、ddN 系統の雄マウスが、飼育環境の変化によって養育行動の促進が認められることを明らかにしている。cFos 発現を指標にして、養育行動にかかわる脳領域の解析を行い、その結果から、環境の変化に対応して行動の変化をもたらす脳の責任部位および投射経路を解明する。

研究には、Cre リコンビナーゼを神経特異的に発現するトランスジェニックマウスを用い、神経特異的な発現制御を可能にする DREADD 法、チャンネルロドプシン法により行動解析を試みる。

主要論文

- Orikasa C, Nagaoka K, Katsumata H, Sato M, Kondo Y, Minami S, Sakuma Y.** Social isolation prompts maternal behavior in sexually naïve male ddN mice. *Physiol Behav.* 2015. 151;9-15.
- Orikasa C & Sakuma Y.** Estrogen configures the sexual dimorphism in the preoptic area of different strain of mice. *J Comp Neurol.* 2010. 518;3618-3629.
- Orikasa C, Kondo Y, Hayashi S, McEwen BS, Sakuma Y.** Sexually dimorphic expression of estrogen receptor β in the anteroventral periventricular nucleus of the rat preoptic area: Implication in luteinizing hormone surge. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002. 99;3306-3311.



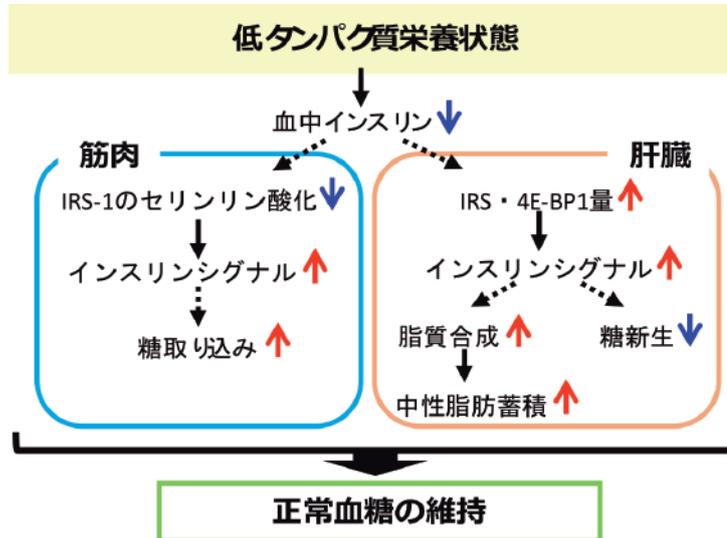
生体機能制御学部門
講師 豊島 由香

タンパク質・アミノ酸栄養に応答した代謝調節機構の解明

略歴

2002年 東京大学
大学院農学生命科学
学研究科修了 農
学博士
2002年 米国
NIH, NIDDK,
Diabetes Branch.
Postdoctor
2005年 日本学術
振興会特別研究員
2008年 日本医科
大学先端医学研究
所助教
2014年より現職

座右の銘：失敗は
成功のもと・人事
を尽くして天命を
待つ



低タンパク質栄養によるインスリン感受性増強機構

低タンパク質栄養状態は、臓器特異的様式でインスリンシグナルの増強を引き起こす。その結果、骨格筋では糖取り込みを促進し、肝臓では糖新生を抑制し、脂質合成を亢進する。この機構の稼働が血糖値の正常な維持を可能としていると考えている。

動物は、食事から栄養素を摂取する。食事内容によって栄養状態は変動し、それに応じて代謝を適切に調節し、生体恒常性を維持している。これを代謝調節機構といい、その種類は栄養状態に応じて多岐に渡るが、詳細は未知な部分が多い。私たちは、栄養素のうち、タンパク質・アミノ酸に着目し、タンパク質・アミノ酸栄養状態に応じた代謝調節機構の解明を目指している。

これまでに私たちは、タンパク質・アミノ酸栄養状態に応答して、インスリンの分泌や活性が変化することを見出してきた。特に、低タンパク質栄養状態では、インスリンの分泌量は低下するのにもかかわらず、肝臓や骨格筋におけるインスリン感受性が亢進することを明らかにした。さらに、低タンパク質栄養状態の肝臓では、インスリンの細胞内シグナル因子である、インスリン受容体基質（IRS）-2 と翻訳抑制因子 4E-BP1 の量が増加し、中性脂肪量（TG）が顕著に増加することがわかってきた。

これらの知見に基づき、ウイルスベクターを用いた遺伝子導入やゲノム編集によって作製した遺伝子改変動物を用いて、以下の点を検討している。

- ・ 低タンパク質栄養によるインスリン活性増強の生理的意義
- ・ 低タンパク質栄養による血中アディポネクチン増加機構
- ・ 低タンパク質栄養による肝臓 4E-BP1 増加が肝臓脂質蓄積に果たす役割
- ・ 低タンパク質栄養によるエネルギー消費亢進機構
- ・ 低アミノ酸栄養状態における IRS の生理機能

昨年度は、低タンパク質栄養による肝 TG 量の増加には、肝 4E-BP1 量の増加が

主要論文

Toyoshima Y, et al. Tissue-specific effects of protein malnutrition on insulin signaling pathway and lipid accumulation in growing rats. *Endocr J.* 2014. 61(5):499-512.

Toyoshima Y, et al. Dietary protein deprivation upregulates insulin signaling and inhibits gluconeogenesis in rat liver. *J Mol Endocrinol.* 2010. 45(5):329-340.

Toyoshima Y, et al. The role of insulin receptor signaling in zebrafish embryogenesis. *Endocrinology.* 2008. 149(12):5996-6005.



生体機能制御学部門

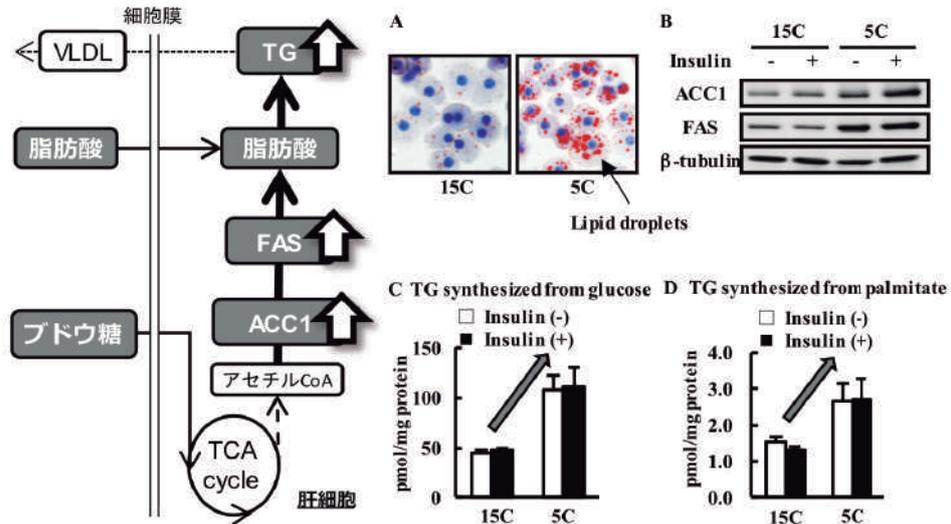
ポストドクター 田口 雄亮

低タンパク質栄養状態における脂肪肝発症機序の解明

略歴

2010年 埼玉大学
大学院理工学研究
科修了 理学博士

社会のニーズに応
えられるような研
究に取り組みた
い。



低タンパク質栄養状態の肝臓における中性脂肪(TG)合成の模式図:

細胞内に取り込まれたブドウ糖は、インスリンによって発現が制御される脂質合成酵素 Acetyl-CoA carboxylase(ACC)1 と Fatty acid synthase(FAS)によって脂肪酸を合成する。(細胞内に取り込まれたものを含む)脂肪酸はエステル化されて中性脂肪(TG)となる。低タンパク質食給餌ラット(5C)の肝細胞では、対照群(15C)に比べて顕著な脂肪滴の蓄積が認められる(A)。また、5CではACC1とFASの発現量の増加(B)、ブドウ糖(C)、および脂肪酸(D)を由来としたTG合成量も増加していたが、これらはインスリン非依存的であった。

低タンパク質栄養状態では脂肪肝を発症することが知られている。これまで、低タンパク質栄養性の脂肪肝では、肝臓の中性脂肪(TG)を細胞外に放出するために必要なアポリポタンパク質を合成することができないことで、血中へTGを分泌できず脂肪蓄積がおこるとされてきた。しかしながら近年、単にアポリポタンパク質の合成低下だけが原因ではないことが示唆されており、脂肪肝発症機序の詳細は未詳であった。

低タンパク質栄養状態のラットの肝臓では、インスリンシグナルが増強していることを私たちは明らかにしてきた。インスリンは肝臓において脂質合成関連酵素の遺伝子発現量を亢進する作用を有するため、低タンパク質栄養状態の肝細胞では、インスリンシグナルの増強が脂肪合成を促進させて、細胞内TG量を増加させている可能性が考えられた。

この仮説を検証するために、インスリンに応答したTG合成量と脂質合成に関与する酵素群の発現量について、低タンパク質食を給餌したラットから単離した肝細胞を用いて解析した。その結果、脂肪酸合成酵素 Acetyl-CoA carboxylase (ACC) 1 と Fatty acid synthase (FAS) タンパク質量の増加、糖、および脂肪酸からTGへの合成量の増加がおこっていたが、インスリンシグナルの増強には依存しないことを明らかにした。

主要論文

Taguchi Y, Toyoshima Y, Tokita R, Kato H, Takahashi S, Minami S. Triglyceride synthesis in hepatocytes isolated from rats fed a low-protein diet is enhanced independently of upregulation of insulin signaling. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017. 490(3):800-805.

Toyoshima Y, Tokita R, **Taguchi Y**, Akiyama-Akanishi N, Takenaka A, Kato H, Chida K, Hakuno F, Minami S, Takahashi S. Tissue-specific effects of protein malnutrition on insulin signaling pathway and lipid accumulation in growing rats. *Endocr J.* 2014. 61(5):499-512.



生体機能制御学部門（武蔵小杉病院 内分泌・糖尿病・動脈硬化内科）

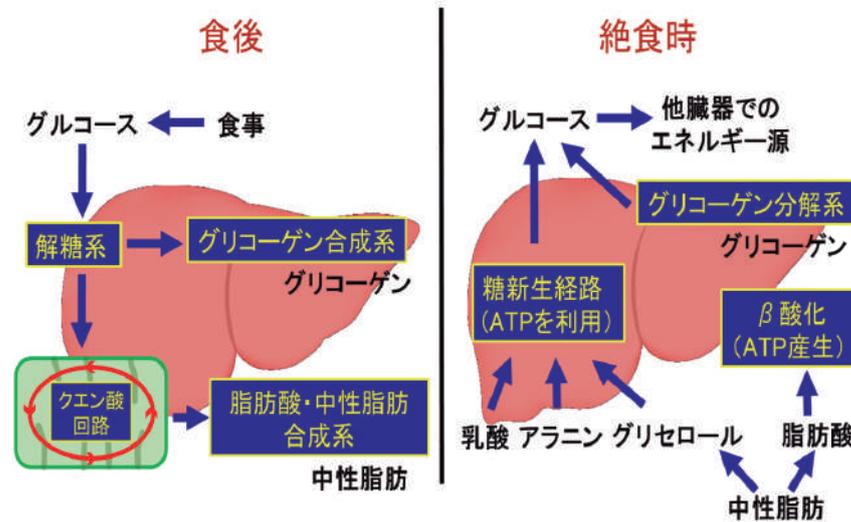
大学院生 八木 孝

肥満・2型糖尿病合併 NAFLD の病態における肝臓での脂肪酸合成酵素の役割の解明

略歴

2008年 日本医科大学卒業

患者さんの治療につながる研究に取り組みたい。



糖代謝における肝臓の役割

肝臓は食後にはグルコースを取り込みグリコーゲン・中性脂肪として貯蔵する一方、睡眠中など絶食時にはグルコース以外の基質から糖新生によってグルコースを産生し、他臓器のエネルギー源として供給しており、絶食・摂食サイクルにおける糖代謝に重要な役割を果たしている。

非アルコール性脂肪性肝炎(NAFLD)は肥満・2型糖尿病に高率に合併し、インスリン抵抗性を基盤に起こるメタボリックシンドロームの肝臓における表現型と考えられている。NAFLDにおける中性脂肪蓄積の原因の一つにグルコースから脂肪酸の新規合成(*de novo* lipogenesis; DNL)の亢進があげられる。

本経路の中心的酵素である脂肪酸合成酵素(FAS)の肥満・糖尿病の病態における役割を肝臓特異的 FAS 欠損 *ob/ob* マウス(KO)の代謝表現型解析によって検討した。KO では *ob/ob* に比べ脂肪肝と耐糖能は改善していたが、随時高血糖を呈した。肝臓のメタボローム解析などから、経口摂取されたグルコースは *ob/ob* では解糖・DNL・グリコーゲン合成に利用されるのに対し、KO ではグリコーゲン合成でしか利用できないため、自由摂食時にグリコーゲン蓄積が限界となると KO では肝糖取り込み障害がおり高血糖をきたすと推察された。また絶食時には FAS 欠損による(1)β酸化の低下による ATP 産生障害と G6Pase の発現低下による糖新生の抑制、(2)Glucokinase の発現増加により肝糖取り込みが亢進し、耐糖能が改善すると考えられた。肥満・糖尿病肝における FAS の発現亢進は、絶食-摂食サイクルにおける血糖値の変動を軽減し、糖代謝の恒常性維持に寄与することが示唆された。

主要論文

Sakai M, Tuiimura-Havakawa T, Yagi T, Yano H, Mitsushima M, Unoki-Kubota H, Kaburagi Y, Inoue H, Kido Y, Kasuga M, Matsumoto M. The GCN5-CITED2-PKA signalling module controls hepatic glucose metabolism through a cAMP-induced substrate switch. *Nat Commun*. 2016. 7:13147.

生体機能制御学部門

助教 中田朋子

成長ホルモンの新たな生理作用と機序

略歴

大阪大学大学院理学研究科修了(理学博士)

主に GH の作用について研究している。

成長ホルモン(GH) は筋肉や骨など様々な組織で働き、標的細胞の増殖、分化、代謝を調節している。GH 受容体はサイトカイン受容体ファミリーに属し、JAK-STAT 系を活性化し、c-fos 等の発現を誘導する。また、GH は雄ラットでは 3 時間ごとに分泌されるのに対し雌では不規則に分泌される。この分泌リズムの違いが様々な遺伝子発現の雌雄差を作っていることが知られているが、その機序は未だ不明な点が多い。これまでに私たちは、GH が作用する主要な組織である肝臓で GH によって早期に発現誘導される新たな遺伝子を検索し、その発現調節機構と作用を検討してきた。そして雄ラットの肝臓では小胞体ストレスで活性化される転写因子 X-box binding protein 1 (XBP1) の mRNA およびタンパク量が GH によって調節され、シャペロン発現を誘導すること、Xbp1 mRNA 発現には GH によってリン酸化される転写因子が関与していることなどを明らかにした。また、ラットの肝臓に於いて、ステロイド核の 4 位の二重結合を還元する酵素でステロイドホルモンの代謝や胆汁酸の合成に働くことが知られているタンパクの量と mRNA に雌雄差があること、それらは GH によって調節されることを明らかにした。GH の作用は多様であり、新たな生理作用について検討を重ねている。

生体機能制御学部門

大学院生 矢野宏行

肝臓における糖新生の分子メカニズムの解明

略歴

2006 年 日本医科大学卒業

日本医科大学老年内科で糖尿病学を研鑽

2014 年 日本医科大学大学院入学

老化・糖代謝を中心に基礎研究を重ね、実臨床へのフィードバックをライフワークとしていきたい。

2 型糖尿病は脂肪細胞の増大や、末梢組織におけるインスリン抵抗性が惹起されることでインスリンの作用障害を呈し、慢性高血糖へと繋がる。また肝臓におけるインスリン抵抗性は、G6pc や Pck1 などの糖新生系酵素の発現を増加させる。これは肝糖新生の亢進に基づく高血糖を引き起こす原因の一つである。そこで、肝臓における糖新生の分子メカニズムを解明し、新たな治療ターゲットとなり得るかを探索している。今までに肝細胞において絶食シグナルで誘導される分子 DIOX3 を同定し、その機能に着目し研究を進めている。この分子を肝細胞でノックダウンすると絶食シグナルで誘導される糖新生系酵素の発現が減弱し、細胞から産生されるグルコース量は減少した。またこの分子はインスリンシグナルや炎症応答にも関与することが分かり、糖代謝だけではなく非アルコール性脂肪肝などの炎症制御分子としての役割もある可能性を考え、検討を重ねている。

主要論文

Sakai M, Tujimura-Hayakawa T, Yagi T, **Yano H**, Mitsushima M, Unoki-Kubota H, Kaburagi Y, Inoue H, Kido Y, Kasuga M, Matsumoto M. The GCN5-CITED2-PKA module controls metabolism through a cAMP-induced substrate switch. *Nat Commun*, 2016. 7:13147.

Suzuki K, Watanabe K, Futami-Suda S, **Yano H**, Motoyama M, Matsumura N, Igari Y, Suzuki T, Nakano H, Oba K. The effects of postprandial glucose and insulin levels on postprandial endothelial function in subjects with normal glucose tolerance. *Cardiovasc Diabetol*, 2012. 11:98.



生体機能制御学部門 (武蔵小杉病院 内分泌・糖尿病・動脈硬化内科)

講師 石川 真由美

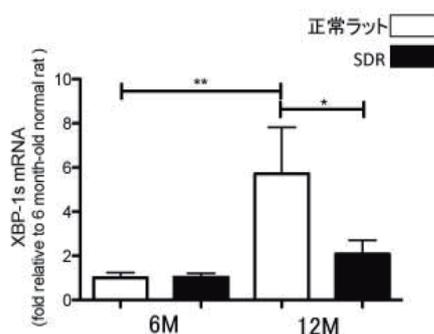
成長ホルモンによる小胞体ストレスの抑制作用の検討

略歴

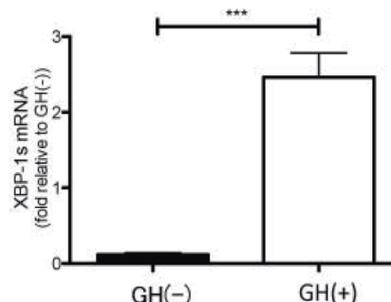
1994年 東邦大学
医学部卒業
2001年 医学博士
2007年 オーストラリア
クイーンズランド大学留学
2009年 東邦大学
大森病院 糖尿病
代謝内分泌科助教
2012年より現職

臨床医であることを生かし、臨床に結びつくような研究を行っていききたい。

A. 膵島のXBP-1sのmRNA発現量における正常ラットとSDRの比較



B. ラット膵β細胞株をGHで刺激した際のXBP-1sの変化



GHはXBP-1のmRNAの発現量を増加させる。

膵臓のXBP-1sのmRNA発現量における正常ラットとGH単独欠損のある自然発症矮小ラット(SDR)の比較(A)。6ヶ月と12ヶ月齢の雄の正常ラットと同齢のSDRを比較したところ、XBP-1sは加齢によって、正常ラットでは増加したが、その増加はSDRでは認められなかった。ラット膵β細胞株(BRIN-BD11)をGH(100ng/mL)で12時間刺激しXBP-1sのmRNA発現量を検討したもの(B)。GHによりXBP-1sの発現量が増加した。(*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$)

成長ホルモン(GH)は細胞内情報伝達経路のJAK2-STAT系を介しインスリン様成長因子-Iの産生を促して成長を促進する作用とJAK2を介さずsrc-erk系を介する作用を持つ。src-erk系を介する作用のうち下記の2つの作用について主に研究をおこなっている。

○小胞体ストレスに關与する作用

GH単独欠損のある自然発症矮小ラット(SDR)の膵臓は正常ラットに比べ形態が崩れ、小胞体でのフォールディング能力を高める活性型のspliced X-Box binding protein(XBP-1s)の発現が低下し、またGHは膵β細胞由来の細胞でXBP-1sの発現を増加させることが解明された(第33回ヒト細胞学会 優秀演題賞受賞、2015年)。

○免疫系に關与する作用

母児接点にある絨毛細胞はnon-classical major histocompatibility class Iの一種であるHLA-Gが表出されており、このHLA-Gをnatural killer(NK)細胞のキラー細胞抑制レセプターが認識し、NK細胞からの攻撃から免れている。GHはこのHLA-Gの発現を、肝部分切除後の残存肝で増加させることを解明した(Ishikawa M, et al. The 5th International Congress of the GRS and the IGF society. New York. Oct 2010.)。現在、胎盤性GHが絨毛細胞のHLA-Gを増加させるかや、乳癌におけるHLA-G発現とGHの關係に関して研究中である。

主要論文

Ishikawa M, et al. Comparison of the somatogenic action of 20KDa- and 22KDa-human growth hormones on spontaneous dwarf rats. *Growth Horm IGF Res.* 2000. 10:199-206.

Ishikawa M, et al. A novel specific bioassay for serum human growth hormone. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000. 85:4274-4279.

Ishikawa M, et al. Metabolic effects of 22KDa- and 20KDa-human growth hormone on adult male spontaneous dwarf rats. *Eur J Endocrinol.* 2001. 145:791-797.

武蔵小杉地区動物実験室

運営委員会委員長 南 史朗

【運営概要】

武蔵小杉地区動物実験室は、日本医科大学の共同利用研究設備として先端医学研究所と武蔵小杉病院が中心となって管理運営を行っている。

1. 動物実験委員会の開催

日時：平成28年4月6日 午後2時00分 場所：第一会議室 出席者数：11名

2. 動物実験講習会（教育訓練）の開催

日時：平成28年4月28日 午後3時30分 場所：第一第二会議室 出席者数：28名

3. 動物実験計画書の申請課題数 31件

4. 感染実験や発がん実験等の注意を要する実験の件数 3件

5. 年間延べ入室者数 4,118名

6. 日平均飼育数 マウス 625匹、ラット 146匹

7. 年間使用動物数 マウス 2,563匹、ラット 1,226匹

8. SPF微生物モニタリングの実施

平成28年4月11日、平成28年10月17日

9. 定期清掃の実施

SPF飼育室 平成28年10月18-19日、平成29年3月28-29日

マウス飼育室 平成29年3月22-23日

ラット飼育室 平成29年3月28日

小動物実験室 平成29年3月30日

一般小動物飼育室 平成29年3月30日

10. 実験動物慰霊祭への参加

日時：平成28年9月16日午後5時30分 場所：医学部教育棟講堂 出席者数：11名

平成 28(2016)年度 先端医学研究所公開セミナー

(平成 28 年 4 月～平成 29 年 3 月)

4 月 28 日

新規 hedgehog シグナル伝達経路 制御分子を介した癌幹細胞維持機構

阿部 芳憲 (遺伝子制御学部門)

癌で恒常的に活性化している分子を標的とした抗癌剤が臨床の場で使用されている。しかしながら抗癌剤で腫瘍を縮小させてもやがて再発する。近年、腫瘍形成や腫瘍再発の原因として、腫瘍にわずかに含まれる癌幹細胞が注目されている。癌幹細胞は癌環境を形成する細胞の一種で自己複製能腫瘍形成能を持ち、既存の抗癌剤に耐性である。さらに最近になって、癌幹細胞にも様々な種類があることも分かってきた。したがって癌幹細胞を標的とした治療法を開発する上で、癌幹細胞維持に必要な分子機構の解明が重要である。我々はこれまで新しい癌幹細胞維持機構の存在を見出し、解析を行ってきた。今回は過去に発表してきた内容を振り返りつつ、最新の知見を紹介したい。

5 月 26 日

蛍光イメージングによる血管形成・維持機構の解明 ～血管が関わる疾患の病態解明を目指して～

福原 茂朋 (病態解析学部門)

全身を張り巡らす血管は、生体恒常性維持に寄与する一方その機能異常は多岐に渡る疾患や老化と密接に関連している。そのため、血管の形成・維持・破綻の分子機構の解明は我が国の健康長寿社会の実現に極めて重要である。私たちはこれまで、モデル脊椎動物としてゼブラフィッシュを用い蛍光イメージング技術を駆使することで生体内の細胞動態や分子活性をライブで解析する技術を確立し、血管の形成・維持・破綻の分子機構の解析を進めてきた。本研究セミナーでは、私たちのこれまでの研究成果を中心に蛍光イメージング技術を駆使した血管研究を紹介する。

6 月 23 日

肝臓の再生の過程における成長ホルモンの役割～成長ホルモンによる免疫寛容の獲得～

石川 真由美 (生体機能制御学部門)

主要組織適合遺伝子複合体 (major histocompatibility complex: MHC) の一種である HLA-G は、ヒトでは胎児由来のトロフォブラストに発現し、母体由来の免疫担当細胞から胎児を守っている。我々はマウスの肝臓の部分切除後に起こる肝再生の一過程で NK 細胞などの免疫担当細胞が残存肝に集まること、それらの免疫担当細胞からの攻撃を免れるために残存肝細胞では成長ホルモン(GH)により H2BI(ヒトにおける HLA-G に相当)が増加することを見出した。従来、GH は小児期の成長促進作用を持つと知られてきた。本セミナーでは新たに発見された GH の免疫寛容の獲得における作用について報告する。

7月28日

ミトコンドリア病の解析方法の開発、原因遺伝子の同定、メカニズムの解明、臨床試験、医師主導型治験、保険薬承認へ:30年の歩み

太田 成男 (細胞生物学部門)

ミトコンドリア異常症が体系化されたのは約30年前であり、従来の疾患とは性質を異にする点が多く、ミトコンドリア病の解析方法の開発が必要であった。1990年にミトコンドリア病の病型のひとつであるMELASの原因変異遺伝子を同定した(自治医科大学時代)。本学に移ってからミトコンドリア tRNA-Leu (UUR)の第3コドンに対応する塩基にタウリンの修飾が欠損している事がMELASの原因である事を2000年に解明した。さらに、タウリン大量投与によりミトコンドリア機能改善することを培養細胞で明らかにし、臨床試験が始められ、医師主導型治験が2015年1月に終了した。得体のしれない病に立ち向かって30年。世界初の改善薬の保険薬としての承認が間近である。

9月29日

I型インターフェロンによるがん幹細胞の維持

~I型インターフェロンはがん細胞の増殖を抑えるがマウス個体では腫瘍増大にはたらく~

上原 郁野 (遺伝子制御学部門)

I型インターフェロン(IFN- α/β)は自然免疫系の活性化により産生され、生体防御反応を行っており、B型C型肝炎の治療に用いられている。またIFN- α/β にはがん細胞の増殖抑制作用もあり、慢性骨髄性白血病、腎臓癌などの治療にも使用されている。我々はIFN- α/β のがん発生における役割を模索している際に、p53欠損マウスよりもI型IFN受容体(IFNAR1)/p53両欠損マウスで腫瘍発生が抑制されることを見出した。さらに、がん幹細胞の指標のsphere assayにおいて、がん幹細胞の維持にIFN- β が関与していること、マウス個体のがん細胞を接種した腫瘍作成実験において、マウス由来のIFN- α/β が腫瘍増大に関わっていること等、新たな知見が得られたので、本セミナーで報告する。

10月27日

肥満・2型糖尿病合併NAFLDの病態における肝臓での脂肪酸合成酵素の役割

八木 孝 (生体機能制御学部門)

非アルコール性脂肪性肝炎(NAFLD)は肥満・2型糖尿病に高率に合併し、インスリン抵抗性を基盤に起こるメタボリックシンドロームの肝臓における表現型と考えられている。NAFLDにおける中性脂肪蓄積の原因の一つにグルコースから脂肪酸の新規合成(de novo lipogenesis)の亢進があげられる。我々は本経路の中心的酵素である脂肪酸合成酵素(FAS)を肝臓特異的に欠損させたマウスを用いて、食餌性あるいは遺伝性に誘導した肥満・2型糖尿病・NAFLDの病態における肝臓のFASの機能を解析してきた。本セミナーではFAS欠損が糖代謝、NAFLDの病態、肝発癌に与える影響についての新たな知見を報告する。

11月24日

ブラフィッシュ成魚で確立した蛍光ライブイメージングにより明らかにした内腔圧による血管新生の制御
弓削 進弥 (病態解析学部門)

血管新生は、既存の血管から血管枝が出芽・伸長して新たな血管網を構築する過程であり、成体では、正常な組織では起こらず、創傷や癌などで虚血に陥った組織で誘導される。しかし、その過程をライブで解析することが難しかったため成体の血管新生の制御機構には不明な点が多い。私たちは、血管を可視化

したゼブラフィッシュ成魚の皮膚血管網を、生きたまま長時間解析できる蛍光ライブイメージング法を開発し、創傷部位での血管新生過程とその制御機構の解明に取り組んだ。その結果、血管の内腔圧による血管新生の新たな制御機構の存在を明らかにした。

1月26日

酒の代謝のための酵素 ALDH2 の真の 役割は酸化ストレスの防御だった

太田 成男 (細胞生物学部門)

ミトコンドリアタンパク質のアルデヒド脱水酵素 2(ALDH2)の遺伝子多型がアルツハイマー病の危険因子であることを同定しました。従来、ALDH2 酵素活性欠損の人は、アセトアルデヒドを分解できないために、いわゆる下戸(お酒に弱い人)であることが知られていましたが、その後の研究によって ALDH2 は、酸化ストレスへの防御機構を担っている事を解明しました。従来は、飲酒との関係でのみ議論されていたのを酸化ストレスへの防御機構として働いているという新しい概念を提出することができました。この研究過程で、酸化ストレスがある程度存在すると、むしろ酸化ストレスに耐性になるメカニズムを解明しました。その後の発展にふれます。

2月23日

免疫特権部位での感染防御機構

田中 信之 (遺伝子制御学部門)

中枢神経、感覚器、生殖器などは全身の免疫系から 隔絶されており、免疫特権 (immune privilege) を有する組織である。これらの組織には血液関門が存在して免疫細胞の通過を阻止しており、これによって広範な免疫反応による組織の損傷を抑えている。中枢神経系では胎生期に卵黄嚢マクロファージが移動して、脳組織でミクログリアとして常在し、脳内の感染や損傷をパトロールしていることが知られているがその他の組織ではあまり解析は進んでいない。我々はこの免疫特権部位での感染防御機構や疾患との関わりを解析しており、それらの結果を紹介する。

3月30日

哺乳類に共通する養育行動発現の神経基盤の解明

折笠 千登世 (生体機能制御学部門)

人を含めた哺乳類では、未熟な状態で生まれる子の生命を維持するためには、養育行動が不可欠である。生後間もない幼若な仔マウスは、自らの体温を恒常的に保つことができないため、雌親マウスによる抱え込み行動が重要となってくる。雄マウスではこのような養育行動を示すことはむしろ稀であり、仔への攻撃行動(喰殺行動)を示すことがよく知られている。我々は、ddN 系統の雄マウスが、飼育環境の変化によって養育行動の促進が認められることを明らかにしている。cFos 発現を指標にして、養育行動にかかわる脳領域の解析を行い、その結果から、環境の変化に対応して行動の変化をもたらす脳の責任部位および投射経路を考察する。

平成28年度(2016)研究補助金、助成金受け入れ

病態解析学部門

- (1) 日本医療研究開発機構(AMED)平成27年度革新的先端研究開発支援事業ソロタイプ(AMED-PRIME)
「細胞接着装置におけるメカノトランスダクションが血管新生・造血発生を制御するメカニズム」
福原 茂朋
- (2) 文部科学省科学研究費補助金 基盤研究 (B)
「生体イメージングによる血管新生の多様性と普遍性の解明」
福原 茂朋
- (3) 公益財団法人アステラス病態代謝研究会平成28年度(第48回)研究助成
「生理的・病的血管新生の生体イメージング」
福原 茂朋
- (4) 第一三共生命科学研究振興財団平成27年度(第33回)研究助成
「血管の安定化・成熟化を制御する分子メカニズムの解明」
福原 茂朋

細胞生物学部門

- (1) 日本学術振興会化学研究費補助金(学術研究助成基金助成金) 挑戦的萌芽研究
「水素ガス吸引によって虚血再灌流障害を複合的に軽減する作用機序の総合的解明」
太田 成男
- (2) 日本学術振興会化学研究費補助金(学術研究助成基金助成金) 基盤研究(B)
「健康増進と疾病予防に寄与する分子状水素の多様な機能を発揮するメカニズムの解明」
太田 成男
- (3) 日本学術振興会化学研究費補助金(学術研究助成基金助成金) 基盤研究(C)
「水素分子の糖尿病改善効果と遺伝子発現誘導における作用機序の解明」
上村 尚美
- (4) 日本学術振興会科学研究費助成事業(学術研究助成基金助成金) 基盤研究(C)
「Oxidative stress in skeletal muscle exercise and injury」
WOLF Alexander
- (5) 日本学術振興会化学研究費補助金(学術研究助成基金助成金) 若手研究(B)
「ミトコンドリア生体分子の化学修飾に着目した水素の抗炎症作用メカニズムの解明」
井内 勝哉
- (6) 日本学術振興会化学研究費補助金(学術研究助成基金助成金) 基盤研究(C)
「脂質ラジカル連鎖反応への水素分子の関与：水素の抗炎症作用メカニズムの解明に向けて」
西槇貴代美

- (7) 日本学術振興会化学研究費補助金（学術研究助成基金助成金） 若手研究(B)
「エピジェネティクス制御からみた水素の抗炎症作用のメカニズム」

Lee Htunjin

- (8) 日本医療研究開発機構 難治性疾患助成基金助成金（分担）
「ミトコンドリア脳筋症 MELAS 脳卒中様発作に対するタウリン療法の開発」

太田 成男

- (9) 日本学術振興会化学研究費補助金（学術研究助成基金助成金）（分担） 基盤研究(C)
「グルココルチコイドは高強度運動による海馬での神経新生の増加を引き起こす要因か否か」

太田 成男

- (10) 日本学術振興会化学研究費補助金（学術研究助成基金助成金）（分担） 基盤研究(C)
「脂肪肝炎～肝発癌の病期に応じた最適な酸化ストレス介入療法の開発」

太田 成男

遺伝子制御学部門

- (1) 私立大学等経常費補助金特別補助「戦略的研究基盤支援」
「Clinical Rebiopsy Bank Project を基盤とした
包括的がん治療開発拠点形」（代表：弦間昭彦）

田中 信之

- (2) 日本学術振興会科学研究費補助金（学術研究助成基金助成金） 基盤研究（C）
「乳癌のサブタイプ別に化学療法の治療効果を
決定づける因子の解析と治療予測効果の検討」

中嶋 亘

- (3) 日本医科大学 丸山記念研究助成金

中嶋 亘

生体機能制御学部門

- (1) 日本学術振興会科学研究費補助金 基盤研究（C）

鈴木（豊島）由香

- (2) 文部科学省「オーダーメイド医療の実現プログラム（第3期）」

南 史朗

先端医学研究所・教職員，研究者等氏名

平成 29 年 3 月 31 日現在

I．病態解析学部門

大学院教授	福原 茂朋
助 教	藤原 正和
助 教	弓削 進弥
助 教	Rho Seung-Sik
テクニカル・スタッフ	枝川 聖子
大学院生	野一色千景
実験補助	小栗 エリ

II．細胞生物学部門

大学院教授	太田 成男
客員教授	鈴木 吉彦
准教授	上村 尚美
講 師	Wolf Alexander Martin
助 教	井内 勝哉
マネジメントサポート・スタッフ	西槇貴代美
アシスタント・スタッフ	一宮 治美
ポスト・ドクター	李 炫溱
大学院生	渡邊 真泉
大学院研究生	上家 明美
大学院研究生	中島 裕也
秘 書	加藤 寸賀
実験補助	武田真由美

皮膚科 教授	船坂 陽子
研 修 生	小田 文乃 (皮膚科)
研 修 生	峰松 尚子 (皮膚科)
研 修 生	矢吹 陽一 (皮膚科)
北里大学 助教	井本 明美
北里大学 助教	黒崎 祥史
国立がん研究センター研究所	中村 康之
国立がん研究センター研究所	山本 真

III．遺伝子制御学部門

大学院教授	田中 信之
講 師	中嶋 亘
助 教	阿部 芳憲

助 教

助 教

非常勤講師

テクニカル・スタッフ

ポスト・ドクター

ポスト・ドクター

大学院生

大学院生

実験補助

実験補助

形成外科・講師

東京医療センター・感覚器センター

上原 郁野

谷村 篤子

川内 敬子

浅野 由ミ

清水 幹容

岩渕 千里

鈴木 淳也

中道 真仁

河越 美保

高寺 俊美

土佐真美子

林 裕史

IV. 生体機能制御学部門

大学院教授

准 教 授

講 師

助 教

マネジメントサポート・スタッフ

テクニカル・スタッフ

ポスト・ドクター

大学院生

大学院生

大学院研究生

パート研究補助員

内科・講師

麻酔科・講師

東京大学・特任助教

横浜中央看護専門学校・非常勤講師

研 修 生

南 史朗

折笠千登世

豊島 由香

中田 朋子

勝又 晴美

時田 玲子

田口 雄亮

八木 孝

矢野 宏行

鈴木るり子

大木佳菜子

石川真由美

鈴木 万三

鈴木 信周

清水 一

藤井加代子 (スポーツ科学)

V. 分子生物学部門

マネジメントサポート・スタッフ

テクニカル・スタッフ

横田 隆

梶田 満子

VI. ゲノム医学部門

Ⅶ. アイソトープ実験室

室 長

田中 信之

放射線取扱主任者

上原 郁野

Ⅷ. 組換え DNA 実験施設

安全主任者

中田 朋子

Ⅹ. 動物実験室

実験動物飼育員

金井祐美子

実験動物飼育員

田口 憲明

Ⅸ. 事務室

事務室長

里見 裕右

主 任

小川 泰子

パート事務員

鈴木 弓子

パート事務員

山田 深雪

先端医学研究所紀要 第2巻

平成 29 年 9 月 30 日印刷

平成 29 年10月 1 日発行（非売品）

発行 日本医科大学

先端医学研究所 紀要委員会

〒211-8533 神奈川県川崎市中原区小杉町1-396

TEL (044) 733-1821

FAX (044) 733-1877

印刷所 栄和印刷株式会社