

日本医科大学 先端医学研究所紀要

第3巻 平成29年度



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

Vol. 3 (2017)

日本医科大学
先端医学研究所紀要

第3卷 平成29年度

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

Vol. 3 (2017)



平成29年 9月 武蔵小杉病院講堂にて

目 次

第3巻発刊によせて	先端医学研究所・所長 南 史朗	1
新任教授挨拶	教授 岩 井 佳 子	2
I. 病態解析学部門		
1. 研究概要		5
2. 研究業績		7
3. 研究紹介		11
II. 細胞生物学部門		
1. 研究概要		19
2. 研究業績		22
3. 研究紹介		25
III. 遺伝子制御学部門		
1. 研究概要		31
2. 研究業績		38
3. 研究紹介		39
IV. 生体機能制御学部門		
1. 研究概要		51
2. 研究業績		53
3. 研究紹介		55
V. 武蔵小杉地区動物実験室		63
VI. 平成29年度(2017年度)先端医学研究所セミナーおよびリサーチ・コロキウム		65
VII. 平成29年度(2017年度)先端医学研究所年間行事		75
VIII. 平成29年度(2017年度)競争的研究資金獲得状況		78
IX. 先端医学研究所・教職員、研究者等氏名		80

紀要第3巻の発刊によせて

所長 南 史 朗

先端医学研究所紀要第3巻をお送り申し上げます。本紀要は、平成29年度の本研究所の研究業績を中心にまとめたものです。

早いもので、2015年4月に「先端医学研究所」と名称を改めてからすでに3年が経ちました。その間に、当研究所の病態解析学部門（分子細胞構造学分野）が福原茂朋教授のもとに新たに立ち上がり、細胞生物学部門（細胞生物学分野）にも岩井佳子教授を迎えることができ、躍動感を感じています。

医学研究は、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ると思います。当研究所は日本医科大学武蔵小杉病院の中にあって、病院と一体化した研究所の特徴を生かしつつ医学研究に勤しんでまいりました。ここにきて武蔵小杉病院の新築移転計画が具体化し、当研究所は東京都文京区根津の大学院棟に移転する予定となりました。

これまで当研究所においては、自由な研究活動の場、開かれた研究施設として広範な学際的医学研究ができることを目指してきたつもりです。しかしながら、医学部の卒後教育として専門医制度が主体となり目標ともなってきた今日、基礎研究を中心とした医学研究に傾倒する者は激減していることも事実です。今後、当研究所をどのように発展させてゆくか、研究所員が結束して考えてゆくべき時かと思っています。

今後とも、皆様の変わらぬご指導、ご鞭撻を、何卒よろしくお願い申し上げます。

新任教授挨拶

教授 岩井佳子

新任のご挨拶

このたび2017年10月1日付で日本医科大学先端医学研究所細胞生物学部門大学院教授を拝命いたしました。私は東京医科歯科大学医学部を卒業後、京都大学大学院医学研究科に進学(本庶佑教授に師事)し、研究者を志しました。大学院生としてはじめて行った研究は幸運にも新しいがん免疫療法の開発に結びつきました。開発した免疫チェックポイント阻害剤PD-1抗体(ニボルマブ)は2014年に世界に先駆けて本邦で悪性黒色腫の治療薬として承認され、続いて非小細胞肺癌、腎細胞癌、ホジキンリンパ腫、頭頸部癌、胃癌が適応となり、現在、世界中でさまざまながんに対する第Ⅲ相臨床試験が進められています。

Tリンパ球に発現するPD-1の研究を進めるうちに、Tリンパ球の運命決定に重要な樹状細胞という細胞に興味を持ち、樹状細胞の発見者であるロックフェラー大学のRalph M. Steinman教授の元に留学しました。Steinman教授は2011年にノーベル生理医学賞を受賞するわずか3日前にご逝去されましたが、最後まで研究者としてワクチン開発に情熱を傾けられていたお姿に心を打たれました。

帰国後は東京医科歯科大学の特任講師・准教授、2013年からは産業医科大学医学部分子生物学教授として研究室を立ち上げる機会に恵まれました。がん免疫療法の鍵を握る免疫学的記憶に関する研究を進める一方で、地方大学の厳しい現状も知りました。免疫チェックポイント阻害剤は新しいがん治療薬として期待されていますが、奏効率は約20%で効かない患者さんも多くいます。今後は、有効な患者さんを見分ける診断法や、無効な患者さんに対する新たな治療法を開発したいと考えております。基礎医学は地道な努力が必要ですが、研究の楽しさや喜びも伝えながら次世代の人材育成にも力を尽くす所存です。今後ともご指導ご鞭撻を賜りますようどうぞよろしくお願い申し上げます。

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、体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、血管はホルモンなどのメッセージ物質を運搬することで臓器間ネットワークを構築し生体恒常性を維持している。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イメージング技術を駆使して、細胞機能やそれら機能を制御する分子活性を生きた個体で解析する“in vivo 細胞生物学研究”を確立し、“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。平成 29 年度は、上記解析に加え、ゼブラフィッシュを用いた解析から得られた知見を哺乳動物で確認するため、マウスを用いた実験系を立ち上げた。下記に平成 29 年度に実施した研究項目と成果を示す。

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、内皮細胞の前後軸極性と動態は、前後の内皮細胞との間に働く力学的相互作用(引張力と圧縮力)によって制御されていることを示唆した。また、上記仮説を確認するため、内皮細胞の前後軸極性における引張力及び圧縮力の効果を解析するための in vitro 実験系を確立した。

2. 創傷治癒における血管新生の制御機構の解明 (野一色・弓削)

創傷治癒における血管新生の制御機構を解明するため、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た。正常皮膚組織の毛細血管では、内皮細胞・ペリサイトが休止状態にあり安定な血管構造を維持しているが、創傷により内皮細胞は迅速に活性化し血管新生を誘導すること、また、創傷治癒における血管新生では非損傷血管からの出芽に加え、損傷血管の活発な伸長により損傷部位に新生血管が構築されることが分かった。さらに、内皮細胞の増殖により新生血管は蛇行し一時的に過形成を誘導したが、その後、徐々に内皮細胞が減少し血管が正常化することが示された。

創傷治癒の血管新生におけるペリサイトの動態についても解析を行った。これまで血管新生では、ペリサイトが血管壁から乖離することで内皮細胞が出芽すると考えられてきたが、内皮細胞が出芽する際、ペリサイトの乖離は見られなかった。逆に血管が過形成する際、内皮細胞の増殖と相関してペリサイトも数を増やし、蛇行血管を被覆することを発見した。本知見は、これまで考えられてきた血管新生におけるペリサイトの役割と矛盾するものであり、今後、血管新生におけるペリサイトの機能について詳細に解析を進めていく。

3. 内腔圧による血管新生の制御機構の解明 (弓削)

これまでに、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てきた。また、そのメカニズムとして、内腔圧が血管新生における血管伸長を抑制していることを見出した。本年度は、内腔圧が血管伸長を抑制するメカニズムについて解析を行い、内腔圧は血管を拡張することで内皮細胞に伸展刺激を負荷すること、また、この伸展刺激が内皮細胞のアクチン重合と一方向移動に必要な前後軸極性を消失することで、内皮細胞の移動を抑え、血管伸長を阻害していることを明らかにした。以上の結果より、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。

4. 血管から造血幹細胞が発生するメカニズムの解明 (Rho)

これまでに、Ras スーパーファミリーに属する低分子量 G 蛋白質 *rap1b* を欠損したゼブラフィッシュの解析から、*Rap1b* が造血性内皮細胞の発生を介して造血幹細胞の発生を制御していることを発見してきた。本年度はそのメカニズムについて解析を進め、*Rap1b* は Integrin $\beta 1$ 接着を増強することで、後部側板中胚葉と Notch リガンドを発現する体節の接着を促進すること、また、それにより後部側板中胚葉の Notch シグナルが活性化し、後部側板中胚葉が造血性内皮細胞へと分化することを明らかにした。

5. 腎血管の発生機序の解明 (西村)

ゼブラフィッシュでは、胎生初期に前腎が形成され数週間に渡って腎機能を果たすが、その後は数百個のネフロンからなる中腎が形成され、生涯に渡って腎機能を担っている。本年度は、前腎糸球体に血管網が構築されるメカニズムについて蛍光ライブイメージングにより解析を行った。その結果、背側大動脈から出芽した血管が、血管新生により腎臓原基に侵入し糸球体血管網を構築すること、また、ポドサイトはその後、血管周囲で発生することを発見した。また、哺乳動物における後腎血管の形成機構を理解するため、本年度は後腎血管を構築する内皮細胞の起源について解析を開始した。

6. 生体内における Rap1 の機能解析 (友利・Rho)

Ras スーパーファミリーに属する低分子量 G 蛋白質 *Rap1* が血管内皮細胞間接着及び血管透過性を制御するメカニズムを解明するため、*rap1aa* および *rap1ab* 欠損ゼブラフィッシュの樹立を試みた (ゼブラフィッシュには、*rap1aa*、*rap1ab*、*rap1b* の3つのアイソフォームがあり、*rap1b* 欠損フィッシュについては既に樹立している)。現在、各遺伝子のヘテロ欠損フィッシュの樹立に成功している。また、*Rap1* の血管における機能を解析するため、ゼブラフィッシュにおけるコンディショナルノックアウト法の開発を行った。

7. 共同研究

- ・呼吸器内科との共同研究で、薬剤性肺障害を誘発する薬剤が肺血管透過性を亢進する分子メカニズムについて解析を行った。
- ・愛媛大学 東山繁樹先生との共同研究で、血管新生におけるユビキチンリガーゼの機能について研究を行った。

【研究業績】

〈原著論文〉

1. Takara K., Eino D., Ando K., Yasuda D., Naito H., Tsukada Y., Iba T., Wakabayashi T., Muramatsu F., Kidoya H., Fukuhara S., Mochizuki N., Ishii S., Kishima H., Takakura N. Lysophosphatidic acid receptor 4 activation augments drug delivery in tumors by tightening endothelial cell-cell contact. *Cell Reports* 20 (9) : 2072-2086 (2017). doi: 10.1016/j.celrep.2017.07.080.
2. 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.
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.

〈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.* 84 (4): 148-159 (2017). doi: 10.1272/jnms.84.148.
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, 89(3): 368-376, 2017
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, 53(6): 79-82, 2017

〈国内外学会発表等〉

1. 福原茂朋、若山勇紀、藤原正和、園井理恵、望月直樹、演題名「血管新生における内皮細胞の集団運動を制御する分子メカニズム」第95回日本生理学会大会、公募シンポジウム「集団的細胞運動 - その分子細胞生理学と疾患 -」、高松、平成30年3月28日、口頭発表
2. 福原茂朋、演題名「これまでの血管研究を振り返って」第4回日本血管生物医学会若手研究会、特別講演、熊本大学薬学部宮本記念館、平成30年3月2日、口頭発表
3. 福原茂朋、演題名「蛍光イメージングが解き明かす血管構築メカニズム」愛媛大学プロテオサイエンスセンター PROS セミナー & 大学院特別講義、愛媛大学、平成30年2月7日、口頭発表
4. Shigetomo Fukuhara. "Intravascular pressure restricts angiogenesis through mechanical stretching of endothelial cells." 3rd International Symposium on Mechanobiology: AMED-CREST/PRIME Special Session II-Mechanobiology of muscles and blood vessels. Singapore. December 13, 2017. Oral presentation.

5. 弓削進弥、有馬勇一郎、花田三四郎、若山勇紀、横川隆司、三浦岳、望月直樹、西山功一、福原茂朋 演題名「ゼブラフィッシュの蛍光ライブイメージングを用いた内腔圧による血管新生制御機構の解明」心血管代謝週間 CVMW2017、YIA セッション、大阪国際交流センター、平成 29 年 12 月 9 日、口頭発表
6. 福原茂朋、演題名「創傷治癒における血管新生のライブイメージングにより明らかになった新たな血管新生の制御機構」心血管代謝週間 CVMW2017 合同シンポジウム 2「心血管系の発生分化と再生研究の新たなアプローチ」、大阪国際交流センター、平成 29 年 12 月 9 日、口頭発表
7. 福原茂朋、演題名「創傷治癒過程の血管新生における内皮細胞・ペリサイト動態のライブイメージング」ConBio2017 “血管周囲細胞群の分子生物学 - 基礎から臨床応用にかけて -”、神戸ポートアイランド、平成 29 年 12 月 7 日、口頭発表
8. 福原茂朋、演題名「蛍光生体イメージングによる血管新生研究」第 5 回細胞凝集研究会 2017、倉敷アイビースクエア、平成 29 年 11 月 17 日、口頭発表
9. 福原茂朋、演題名「蛍光イメージングが解き明かす血管構築メカニズム」関西血管生物研究会 2017、TKP ガーデンシティ大阪梅田、平成 29 年 10 月 28 日、口頭発表
10. 福原茂朋、演題名「血管形成と血管構造の安定化を司るシグナル伝達機構」第 22 回 近畿血栓症研究会、大阪市北浜フォーラム、平成 29 年 10 月 28 日、口頭発表
11. 福原茂朋、演題名「生理的・病的血管新生の生体イメージング」アステラス病態代謝研究会 第 48 回研究報告会、東京日本工業倶楽部、平成 29 年 10 月 21 日、口頭発表
12. 弓削進弥、有馬勇一郎、花田三四郎、若山勇紀、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蛍光生体イメージングによる創傷皮膚での血管新生機構の解明」第 88 回日本動物学会、富山（富山県民会館）2017 年 9 月 21-23 日、口頭発表
13. 弓削進弥、有馬勇一郎、花田三四郎、若山勇紀、横川隆司、三浦岳、望月直樹、西山功一、福原茂朋 演題名「内腔圧による血管新生の新たな制御機構の解明」Molecular Cardiovascular Metabolic Conference 2017、神戸、2017 年 9 月 1-2 日、ポスター発表
14. 福原茂朋、演題名「蛍光生体イメージングによる血管構築メカニズム」第 59 回日本平滑筋学会総会学会企画シンポジウム 2「先端可視化技術による臓器機能研究の新展開」、福岡大学、平成 29 年 8 月 25 日、口頭発表
15. Shigetomo Fukuhara. “Live imaging of wound angiogenesis uncovers a novel inhibitory role of intravascular pressure in angiogenesis.” 15th Japan-Korea Joint Symposium of Vascular Biology. Muju, Korea. August 24, 2017. Oral presentation.
16. Rho, S-S., and Fukuhara, S. “The small GTPase Rap1 regulates hematopoietic stem cell development by promoting Notch-dependent specification of hemogenic endothelium” 15th Japan-Korea Joint Symposium of Vascular Biology. Muju, Korea. August 24, 2017. Poster presentation.
17. 福原茂朋、演題名「血管新生の蛍光生体イメージング」第 32 回 NMS 金曜会、日本医科大学大学院棟、平成 29 年 7 月 28 日、口頭発表
18. 福原茂朋、演題名「蛍光生体イメージングにより明らかになった内腔圧による血管新生の新たな制御機構」Research Planet 2017、京都ブライトンホテル、平成 29 年 6 月 25 日、口頭発表
19. Rho, S-S., and Fukuhara, S. “The small GTPase Rap1 regulates hematopoietic stem cell development by promoting Notch-mediated specification of hemogenic endothelium” 第 69 回日本細胞生物学会大会、仙台、2017 年 6 月 13-15 日、口頭発表
20. 藤原正和、若山勇紀、小栗エリ、山田達也、作村諭一、池田和司、望月直樹、福原茂朋 演題名「血管新生における内皮細胞の集団細胞移動を制御する仕組みの解明」第 69 回日本細胞生物学会大会、仙台、2017 年 6 月 13-15 日、ポスター発表
21. 弓削進弥、有馬勇一郎、若山勇紀、横川隆司、三浦岳、望月直樹、西山功一、福原茂朋 演題名「内

腔圧が血管新生を調節する—ゼブラフィッシュ成魚皮膚のライブイメージングによる発見」第69回
日本細胞生物学会大会、仙台、2017年6月13-15日、ポスター発表

<受賞>

1. 弓削進弥：心血管代謝週間 /CVMW2017（大阪）
日本血管生物医学会 YIA 最優秀賞
2. Seung-Sik Rho：15th Japan-Korea Joint Symposium of Vascular Biology（Muju, Korea）、Poster Award
3. Seung-Sik Rho：Travel Award for the 15th Japan-Korea Joint Symposium of Vascular Biology（Muju, Korea）

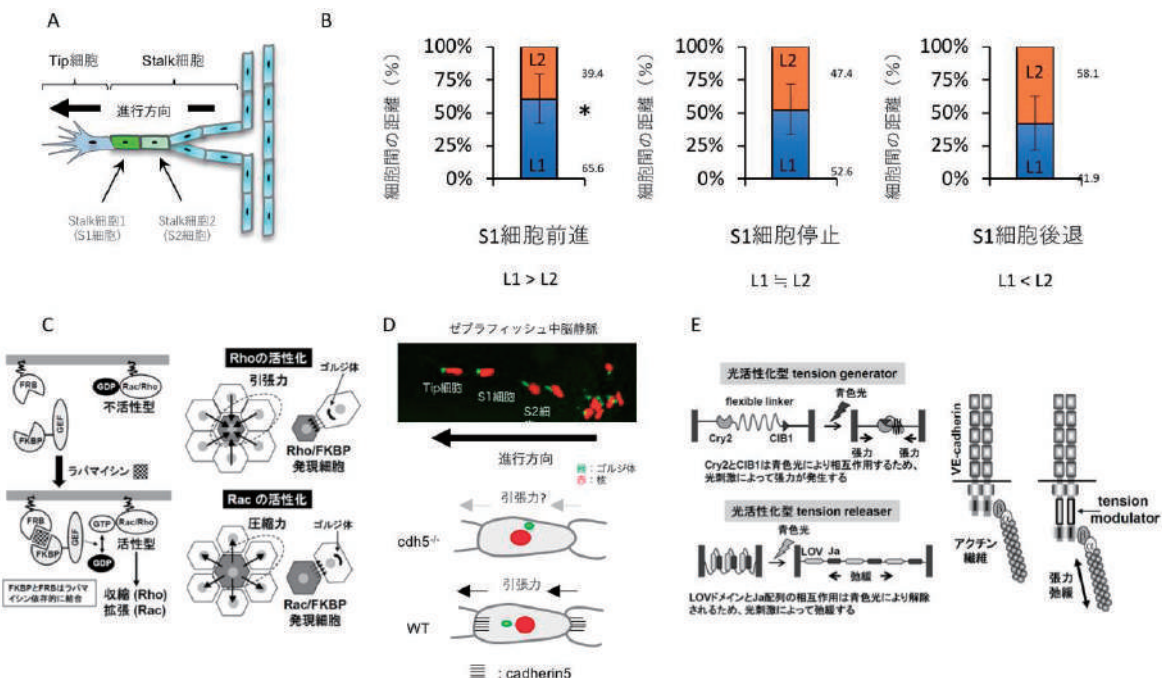
【研究紹介】

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

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現象を血管新生という。血管新生において、内皮細胞は接着を保ったまま、集団で一方向に進むことが知られている(図 A)。このような細胞の運動を集団細胞移動と呼ぶが、血管新生における内皮細胞の集団細胞移動の分子機構については依然として不明な点が多い。我々はこれまでにゼブラフィッシュを用いた蛍光イメージング解析によって、伸長する血管の先端にある内皮細胞(Tip細胞)とその後方に続く内皮細胞(Stalk細胞)の位置関係と細胞動体に注目し、Stalk1細胞は前方細胞(Tip細胞)との距離(L1)が長く、後方細胞(Stalk2細胞)との距離(L2)が短いときに前進することを見出している(図 B)。



集団運動による新生血管の構築と機械的力の関与

血管新生では先端を移動するTip細胞とそれに連なるStalk細胞の協調的な集団運動によって形成される(図A)。この協調的な細胞の動きはS1細胞においては、前後の細胞との距離によって制御されていることが分かってきた(図B)。本年度はRho・Rac活性化による引張力と圧縮力の発生(図C)、引張力への以上を予想したcadherin5 KOゼブラフィッシュを用いた解析(図D)、光遺伝学を用いた張力調節因子の開発(図E)について解析を行った。

本年度は Stalk1 細胞の動体を制御する細胞間の位置関係 L1 と L2 がどのように細胞へ情報を伝達しているのかについて解析を行った。私たちは細胞間の力学的相互作用、即ち前方にある細胞による“引張力”や後方にある細胞による“圧縮力”によって内皮細胞が情報を獲得し、前後軸極性などを獲得することによって協調的な集団運動が行われるという仮説を立て、以下の実験を行った。

① Rho・Rac 活性化による“引張力”と“圧縮力”の発生が及ぼす内皮細胞の前後軸極性獲得への影響(図 C)

FK506 binding protein (FKBP)/mTOR 由来 FKBP rapamycin binding domain (FRB)システムを用いて、内皮細胞にかかる引張力・圧縮力が細胞の前後軸極性形成に関与すること

を調べている。このシステムではラパマイシン依存的に低分子量 G タンパク質 Rho・Rac を活性化し、細胞を収縮・拡張させることができる。これによって隣接する細胞に引張力・圧縮力を負荷させ、力による前後軸極性への影響をみる。現在、データの収集と解析を行っている。

② **内皮細胞間接着因子 VE-cadherin 欠損ゼブラフィッシュによる集団運動における引張力の役割の解析(図 D)**

内皮細胞の細胞間接着因子で細胞間の引張力に関与すると考えられる VE-cadherin を欠損したゼブラフィッシュを用いて、引張力によって細胞の前後軸極性が決定され、集団運動が制御されていることを明らかにする。細胞の極性は核に対するゴルジ体の位置で判断する。現在、データの収集と解析を行っている。

③ **光遺伝学の技術を利用した光活性型張力調節因子の開発(図 E)**

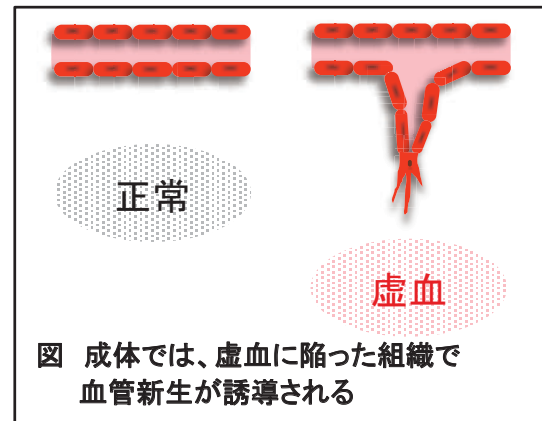
青色光の照射によって立体構造が変化する光応答性タンパク質 CRY2 や LOV2 を細胞間接着因子 VE-cadherin などに組み込み、細胞内で人為的に張力を発生させたり弛緩させたりすることが可能な因子を開発する。この力によって細胞が一方向性の運動に必要な前後軸極性を獲得することを示す。これまでに光刺激によって LOV2 の立体構造が解け、張力を解除する可能性がある分子を FRET により確認している。

以上の解析を行い、接着を維持したまま集団で移動する細胞の間に生じると考えられる機械的力が内皮細胞間で情報を伝達し、秩序だった細胞の集団細胞移動に必要であることを今後明らかにしていきたい。

ゼブラフィッシュの蛍光ライブイメージングにより明らかにした新たな血管新生制御機構

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、全身に張り巡らされるために、既存の血管から新しい血管が出芽する『血管新生』を起こす。血管新生は、成体と胎生期で異なる。胎生期では、遺伝子にプログラムされた機構により、どの個体でも同じ血管網の構築をもたらす。いっぽう成体では、創傷や癌などで虚血に陥った組織で誘導され（図）、虚血の程度、個体、部位などによって異なる。しかし、成体を生きたまま解析するのが困難であったため、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。

私たちは、独自に開発した、ゼブラフィッシュ成魚の長時間蛍光ライブイメージング法を用いて、生きた成体で創傷時の血管新生を解析し、新たな血管新生の制御機構を見出してきた。平成 29 年度は以下に取り組んだ。①創傷時の血管新生は成魚と稚魚で同様な場合があったため、稚魚での創傷時血管新生解析実験系を二光子レーザー顕微鏡を用いて開発し、発見した血管新生制御機構のメカニズムを 3 つ明らかにした。②創傷部位の虚血が周りの血管新生にどのぐらい影響を及ぼすかを、ゼブラフィッシュ成魚の皮膚の虚血を検出する実験系を開発し、明らかにした。③血管内皮培養細胞を用いて in vitro で研究する実験系を開発し、発見した血管新生制御機構のメカニズムを 1 つ明らかにしつつある。④③のために必要な遺伝子導入に用いるレンチウイルスの扱いを最適化した。⑤皮膚の組織を蛍光ライブイメージングで解析できるトランスジェニックゼブラフィッシュを樹立した。⑥皮膚の創傷時血管新生のさまざまな前実験を行ない、大学院生の研究・大学生の体験研究（研究配属）の基礎を築き、彼らの指導も行った。現在これらの成果を論文にまとめるとともに、まだ未解明な創傷時の血管新生の過程とメカニズムの解明を引き続き試みている。



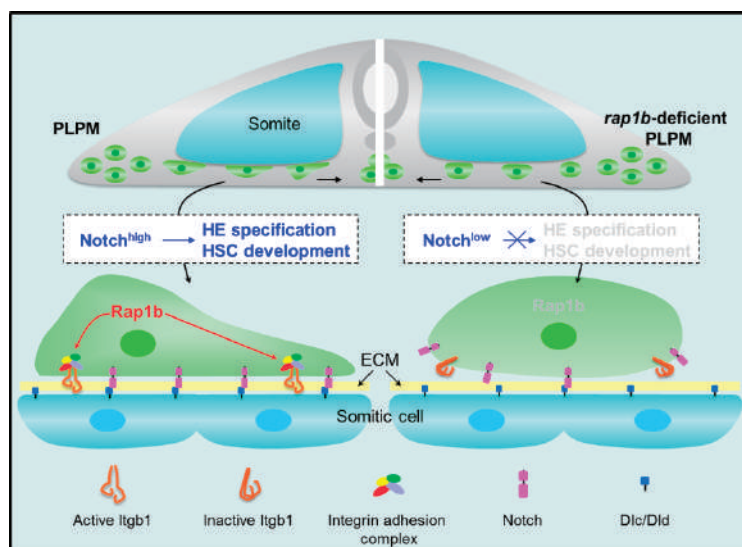
自身の研究以外では、前述の大学院生・大学生の研究指導に加え、先端医学研究所セミナーを、運営委員の 1 人として、1 年間開催・指揮した。私を含む講師・助教が中心になって、形式を大幅に変更して、年 1 回の全体の公式の会（先端医学研究所公開セミナー）、年 3 回の希望者による勉強会（Research Colloquium of I-AMS 一肴の会）を開催した。私は、これらの会は以前よりも活気を帯びて大成功だったと考えており、またそういう会を運営する中心になれたのは貴重な経験であった。

1 年を振り返ると、まず自身の研究面では、ある程度の成果を得られたものの、実験系の開発と結果の解析に予想以上に時間がかかってしまった。前者では、新しいことに挑戦する以上何とか自分で工夫して取り組むしかなく、後者では、生きた個体を使っている以上、結果が大きくばらつくことも少なくなく解釈と解析に慎重にならざるをえなかった。研究以外では、セミナーの大幅な変更や運営に携われた経験は今後の財産になると考えている。いっぽう、自身の研究 >> 研究活動の会 > 親睦のみの会という優先順を捉えながら日々研究に励むことが重要だと再認識した。たとえば、私は親睦のバーベキューの幹事も行ったが、それより研究所セミナー、さらにそれよりはるかに自身の研究を進めていくことが重要である（もちろん親睦も大事ですが）。

次年度は、自身の研究の成果をまとめて論文を出すこと、大学院生の研究をまとめることに貢献すること、自身が開発した実験系でさらに創傷治癒を研究していくことを最上位の目標とし、セミナー等の研究活動では、運営には携わらなくても引き続き質疑応答・議論に積極的にに関わり、自身の視野を広げ、他者の研究との交流を活発にしたい。

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

Hematopoietic stem cells (HSCs) emerge from hemogenic endothelium (HE) within the ventral part of dorsal aorta during vertebrate development. In zebrafish, Notch signaling induces HE specification from posterior lateral plate mesoderm (PLPM) as they migrate over the ventral surface of the somite. During migration, PLPM cells make close contact with Notch ligand-expressing somitic cells, thereby acquiring the HE identity.



Rap1 is a small GTPase that belongs to the Ras subfamily and is known to promote cell-extracellular matrix adhesions by controlling the expression level and activity of integrin proteins. In endothelial cells, Rap1 potentiates vascular endothelial-cadherin-mediated cell adhesions by dynamically reorganizing the

actin cytoskeleton and induces integrin activation to regulate cell adhesion, thereby enhancing endothelial barrier function. Therefore, we generated zebrafish *rap1b* mutants to clarify the *in vivo* role of Rap1 in the formation and maintenance of blood vessels.

In this year, H29, we found that *rap1b* mutant exhibited normal vascular structures as observed in wild type fish, indicating that Rap1b is dispensable for vascular development in zebrafish. However, we unexpectedly found that Rap1b regulates HSC development by potentiating Notch signal-mediated HE specification in zebrafish. The zebrafish *rap1b* mutant exhibited defective HE specification and decreased formation of HSCs, indicating a crucial role of Rap1b in HSC development. By investigating the underlying mechanism, we showed that Rap1b stimulates integrin β 1-mediated spreading and migration of PLPM cells, which facilitates their adhesion to the Notch ligand-expressing somitic cells, thereby promoting Notch signal-mediated HE specification. Thus, we have revealed an unexpected role of Rap1-induced integrin-mediated cell adhesion in HSC development.

Future plan

I would like to investigate that Rap1 regulates HSC development in mammals and that Rap1b regulate vascular integrity cooperatively with other Rap1 isforms, Rap1aa and Rap1ab.

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 岩井 佳子

【研究概要】

PD-1抗体をはじめとする免疫チェックポイント阻害剤の登場により、がん治療のパラダイムシフトが起こりつつある。本研究室では、オブジーボ（PD-1抗体、ニボルマブ）の開発に携わった経験と、がん拠点病院である本学の特徴を生かして、がん免疫療法の新しい診断および治療法の開発を目標に研究活動を行っている。

1. 免疫チェックポイント阻害剤 PD-1 抗体の開発

がん免疫療法の歴史は古く、1891年にWilliam Coley博士が腫瘍内に細菌を注射する治療を行ったのがはじまりと言われている。その後、サイトカイン療法、ペプチド療法、活性化リンパ球療法、樹状細胞療法など、さまざまな免疫療法が登場したが、その効果については長い間疑問視されてきた。これまで免疫療法が効果を上げられなかった原因の一つに、免疫系を抑制する“免疫チェックポイント”の存在とその重要性が知られていなかったことがあげられる。免疫システムには、アクセル（共刺激分子）とブレーキ（共抑制分子）が存在し、前者にはCD28やICOSなど、後者にはCTLA-4やPD-1などが含まれる。後者は「免疫チェックポイント」として機能し、自己への不適切な免疫応答や過剰な炎症反応を抑制して、組織傷害から生体を守る重要な役割を担っている。

PD-1遺伝子は1992年に京都大学医学部医化学第一教室（本庶佑研究室）においてクローニングされた。PD-1は活性化T細胞に発現し、生理的なりガンド（PD-L1およびPD-L2）が結合するとT細胞の増殖やエフェクター機能を抑制して免疫寛容を誘導する。同研究室において岩井らはがんやウイルス感染細胞がPD-1シグナルを利用して宿主の免疫監視から逃れるメカニズムを発見し、PD-1シグナル阻害ががんや感染症の治療に有効であることを動物モデルで示し、さらにヒトへの臨床応用を目指して抗ヒトPD-1モノクローナル抗体を作製した。その後、完全ヒト型抗ヒトPD-1抗体（ニボルマブ、商品名オブジーボ）が開発され、2014年に世界に先駆けて本邦で悪性黒色腫の治療薬として承認され、現在さまざまな種類のがんへ適応が拡大しつつある。

2. 免疫チェックポイント阻害剤によるがん治療の現状

PD-1抗体は既治療進行性末期がん患者の約20%で治療効果を認め、画期的な新薬として期待されているが、残りの約80%の症例では効果がみられない。PD-1抗体の作用機序は、新しいエフェクターT細胞を産生するのではなく、既存のエフェクターT細胞や記憶T細胞を増やすことで免疫応答を増強しており、患者さん自身の“免疫力”や“免疫記憶”に依存している。従ってがん特異的T細胞がそもそも存在しない個体にPD-1抗体を投与しても治療効果は期待できない。

免疫応答には個体差があり、遺伝的要因や環境要因が関与する。例えば、インフルエンザウイルスやがんに対して、免疫応答の強い人もいれば弱い人もいる。ワクチンの原理となる免疫記憶に関しても、長期間安定して持続する人もいれば、免疫記憶ができない人や持続しない人もいる。PD-1欠損マウスはさらに興味深い表現型を示す。PD-1欠損マウスは遺伝的背景によって、さまざまな自己免疫疾患を発症する。さらに同じ遺伝的背景であっても自己免疫疾患を発症するマウスと発症しないマウスがいる。最後の例は、免疫応答の個体差が遺伝的要因より環境などの外的要因によることを示唆する。外的要因

としては感染や食事（栄養）などが考えられるが、これらのストレスにより細胞内代謝の変化が生じて免疫担当細胞の分化に影響を及ぼす可能性がある。

3. 今後の課題と展望

本研究室では「免疫応答の個体差」に注目して、個体の T 細胞免疫機能を評価し得る臨床検査法の開発と、がん免疫療法の鍵を握る「免疫学的記憶」形成のメカニズムの解明を目標としている。免疫応答の個体差が生まれるステップとしては、1) 外的ストレスによる細胞内代謝の変化と、2) 細胞内代謝による免疫担当細胞の分化制御、に分けることができるが、特に 2) についてはよくわかっていない。

ナイーブな T 細胞は抗原に出会うと活性化されエフェクター T 細胞へと分化するが、その大部分は細胞死に至り、一部の細胞が生き残って記憶 T 細胞へと分化する。エフェクター T 細胞と記憶 T 細胞では、エネルギー代謝の面で正反対の現象が起こっている。エフェクター T 細胞では機能を発揮するために蛋白合成が促進し、必要なエネルギーを短時間で供給するために解糖系が亢進する。一方、記憶 T 細胞はきたるべき抗原の再刺激にそなえて、増殖とエフェクター化を休止し、エネルギー消費をおさえて長期生存する。

これまでの研究で岩井らは bioinformatics を利用して、エフェクター T 細胞と記憶 T 細胞で発現の異なる BATF という転写因子を見出し、BATF が Sirtuin の発現を介して、クロマチンリモデリングと同時に ATP 産生を制御することでエフェクター T 細胞の分化を促進することを明らかにした。BATF 欠損マウスは多様な慢性炎症性疾患を発症するが、個体による生体防御反応や炎症応答の差が大きいため、外的ストレスに対する「免疫応答の個体差」の解析に適した理想的な動物モデルと考えられる。

一方、旧細胞生物学部門（太田研究室）ではミトコンドリア研究の蓄積がある。さまざまなストレス刺激によって免疫担当細胞を含む各種細胞から活性酸素が産生される。活性酸素は過剰に産生されると老化あるいは認知症、糖尿病、動脈硬化などの疾患の原因となるが、生理的な条件下では細胞分化などにおいて重要なシグナル伝達物質として働くことがわかってきている。太田教授のもと作製された roGFP transgenic mice は酸化還元状態に応答して蛍光が変化する緑色蛍光タンパク質を発現する。このマウスを用いた生体内イメージング技術により、これまで困難だった in vivo における酸化還元状態の測定が可能となり、代謝研究の強力なツールとなり得る。

新研究室ではミトコンドリア研究と免疫学的研究の融合により、細胞内代謝による免疫担当細胞の分化制御機構と免疫応答の個体差が生まれるメカニズムを解明して、がん免疫療法の診断や治療に結びつけたい。具体的には次のような課題に取り組んでいる。

研究テーマ：

- (1) T 細胞免疫応答バイオマーカーの探索
 - ・ 癌患者における免疫チェックポイント阻害剤の効果予測因子の探索
 - ・ 移植における拒絶反応予測因子の探索
- (2) 活性酸素による免疫担当細胞分化の制御機構
 - ・ 自然免疫および獲得免疫の制御機構
 - ・ 免疫学的記憶形成のメカニズム
- (3) 慢性炎症の病態解析
 - ・ 炎症性腸疾患発症のメカニズム
 - ・ 脂肪 / 結合組織バランス破綻のメカニズム
 - ・ うつ病発症のメカニズム
 - ・ 創傷治癒のメカニズム

【平成 29 年度の活動状況】

平成 29 年 3 月にご退官された太田教授の後任として、平成 29 年 10 月に岩井が着任し、新体制を発足させた。本年度の新規大学院生の受け入れはない。今年度の研究活動は以下のとおりである。

＜太田研究室プロジェクト＞

- (1) 酸化ストレスモニターマウスを用いた活性酸素と炎症発症機構の解析(上村)

p25-26 参照

- (2) Oxidative stress in skeletal muscle exercise and injury (Wolf)

p27-28 参照

- (3) 脂質ラジカル連鎖反応への水素分子の関与(西楨)

脂質酸化の際のフリーラジカル連鎖反応における水素分子の効果を調べるため、生体膜に多く含まれる不飽和脂肪酸の一種のリン脂質(PAPC:1-パルミトイル-2-アラキドノイル-sn-グリセロ-3-ホスファチジルコリン)をフリーラジカル連鎖反応で酸化すると、水素分子存在下では過酸化脂質生成が抑制され、Ca シグナルが抑制された。以上の結果から水素分子による抗炎症作用は Ca シグナルを介する可能性が示唆された。

- (4) 水素分子の虚血再灌流障害後の予後改善効果と作用機序の解明(横田)

心停止蘇生後に対する唯一の治療として低体温療法があるが、その効果は十分ではなく生命予後は不良である。一方、活性酸素などによる酸化ストレスは中枢神経系に悪影響を及ぼし特に hydroxyl radical や Peroxynitrite は毒性が高いことが知られている。水素分子は急性網膜障害における神経の保護や心停止蘇生後の脳機能・心機能回復に効果を有することから、ラット心肺停止モデルにおいて水素分子が関与する生体内代謝経路を同定するため、トランスクリプトーム、プロテオームなどの網羅的解析を行っている。

＜岩井研究室プロジェクト＞

- (5) PD-1 結合能を指標とした可溶性 PD-L1 測定法の開発(産業医科大学との共同研究)

本研究では血中に存在する可溶性 PD-L1 (soluble PD-L1: sPD-L1) に着目して、PD-1 受容体に対する結合能をもった可溶性 PD-L1 (PD-1 binding sPD-L1: bsPD-L1) を検出する新規 ELISA システムを開発した。従来型の ELISA システムでは、“抗原-抗体反応”を介して、固相化された捕捉抗体(抗 PD-L1 抗体)により s PD-L1 を捕捉するが、新型 ELISA システムでは、“リガンド-受容体反応”により bsPD-L1 を捕捉するために、固相化抗 PD-L1 抗体を固相化 PD-1-Ig 融合蛋白質に置換した。この新型 ELISA を用いて、非小細胞肺癌患者血漿 75 検体について bsPD-L1 を測定したところ、新型 ELISA は従来型 ELISA に比べて検出頻度およびシグナル強度が著しく増強し、非小細胞肺癌患者 29 検体 (38.6%) で bsPD-L1 が検出された。さらに患者検体を脱グリコシル化処理するとシグナル強度が減弱することから、sPD-L1 の糖鎖修飾が PD-1 への結合に重要な役割を果たしていることが示唆された。bsPD-L1 と肺癌予後、免疫チェックポイント阻害剤感受性との関連について現在解析を進めている。

【研究業績】

<原著論文>

1. 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.* 7, 46240, 2017
2. Yuya Nakashima, Shigeo Ohta, Alexander M. Wolf Blue light-induced oxidative stress in live skin. *Free Radical Biology and Medicine* 108, 300-310, 2017
3. Watanabe M, Kamimura N, Iuchi K, Nishimaki K, Yokota T, Ogawa R, Ohta S. Protective Effect of Hydrogen Gas Inhalation on Muscular Damage using a Mouse Hind Limb Ischemia Reperfusion Injury Model. *Plast Reconstr Surg.* 140, 1195-1206, 2017
4. Nishimaki K, Asada T, Ohsawa I, Nakajima E, Ikejima C, Yokota T, Kamimura N, Ohta S. Effects of molecular hydrogen assessed by an animal model and a randomized clinical study on mild cognitive impairment. *Curr Alzheimer Res.* 2018
5. Takeuchi M, Doi T, Obayashi K, Hirai A, Yoneda K, Tanaka F, Iwai Y. Soluble PD-L1 with PD-1-binding capacity exists in the plasma of patients with non-small cell lung cancer. *Immunol Lett.* in press

<総説>

1. 岩井佳子：免疫チェックポイント分子の機能－ PD-1/PD-L1 と CTLA-4 を中心に－ カレントセラピー, 35 巻 2 号, 106-112, 2017

<招待講演>

1. 岩井佳子：がん免疫療法の新しいパラダイム：免疫チェックポイント阻害剤 第 90 回日本内分泌学会学術総会, 2017 年 4 月, 京都
2. 岩井佳子：PD-1 を標的としたがん免疫療法の開発 第 4 回日本がんと炎症・代謝研究会学術総会・講演会, 2017 年 6 月, 京都
3. 岩井佳子：PD-1 を標的としたがん免疫療法の開発 第 2 回 Immuno-oncology seminar in sakurayama, 2017 年 7 月, 名古屋
4. 岩井佳子：PD-1 を標的としたがん免疫療法の開発 第 6 回関東 Lung Cancer Study Meeting, 2017 年 10 月, 東京
5. 岩井佳子：PD-1 を標的としたがん免疫療法の開発 第 6 回日本免疫・細胞治療学会学術総会, 2017 年 12 月, 東京

<学会発表>

1. 横田 隆、野村浩一、永島幹夫、上村尚美：高脂肪食投与 ApoE 欠損マウスの脂肪肝および動脈硬化病変に対するフコイダンの軽減作用 第 71 回日本栄養・食糧学会大, 2017 年 5 月, 沖縄
2. Alexander M. Wolf, Shigeo Ohta : In vivo recording of epidermal stem cell redox state, Keystone Symposia Aging and Mechanisms of Aging-Related Disease, 2017 年 5 月, 横浜
3. 上村尚美、Alexander M Wolf、西槇貴代美、横田隆、一宮治美、井内勝哉、太田成男：In vivo 酸化ストレスモニターマウスを用いた糖尿病モデルマウスの酸化ストレス測定と分子状水素の効果 第 17 回日本抗加齢医学会総会, 2017 年 6 月, 東京
4. Wolf Alexander M、太田成男：表皮幹細胞生体内酸化ストレスイメージング, 第 17 回日本抗加齢医学会総会, 2017 年 6 月, 東京

5. Wolf Alexander M、太田成男：表皮幹細胞生体内酸化ストレスイメージング 第42回日本化粧品学会, 2017年6月, 東京
6. Naomi Kamimura, Alexander M Wolf, Kiyomi Nishimaki, Takashi Yokota, Harumi Ichimiya, Katsuya Iuchi, Shigeo Ohta: In vivo measurement of mitochondrial redox state in type 2 diabetes model mice. EUROMIT2017 International Meeting on Mitochondrial Pathology, June 2017, Cologne (ドイツ)
7. Kiyomi Nishimaki, Naomi Kamimura, Ikuroh Ohsawa I, Takashi Yokota, Shigeo Ohta: Drinking hydrogen water prevents the progression of dementia in transgenic model mice with age-dependent memory impairment. EUROMIT2017 International Meeting on Mitochondrial Pathology, June 2017, Cologne(ドイツ)
8. Taku Amo, Naomi Kamimura, 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. EUROMIT2017 International Meeting on Mitochondrial Pathology, June 2017, Cologne (ドイツ)
9. Alexander M. Wolf, Shigeo Ohta : In vivo recording of epidermal stem cell redox state. OCC World Congress 2017 and Annual SFRR-E Conference, June 2017, Berlin(ドイツ)
10. Wolf Alexander M、太田成男：In vivo recording of epidermal stem cell redox state, 第70回日本酸化ストレス学会学術集会, 2017年6月, つくば
11. Katsuya Iuchi, Naomi Kamimura, Kiyomi Nishimaki, Takashi Yokota, Hisashi Hisatomi, Shigeo Ohta: Oxidized arachidonic acid activates an anti-inflammatory pathway and a pro-cell death signal. ICBL2017 58th International Conference on the Bioscience of Lipids, September 2017, Zurich(スイス)
12. Takashi Yokota, Katsuya Iuchi, Naomi Kamimura: Sulfated polysaccharide (Fucoidan) from brown seaweeds alleviates dyslipidemia and atherosclerosis in ApoEshl mice deficient in apolipoprotein E expression. ICBL2017 58th International Conference on the Bioscience of Lipids, September 2017, Zurich (スイス)
13. 井本明美、黒崎祥史、Wolf Alexander M、市岡匡睦、横場正典、竹中恒夫、片桐真人、石井直仁：近位尿細管上皮細胞においてグルコースおよびアルブミン負荷がミトコンドリア機能低下を誘発する 第57回日本臨床化学会, 2017年10月, 北海道
14. 竹内雅大、土井知光、大林邦衣、米田和恵、田中文啓、岩井 佳子：PD-1 結合能を指標とした血中 PD-L1 測定法の開発 第58回日本肺癌学会学術集会, 2017年10月, 横浜
15. 永島幹夫、脇いずみ、横田 隆：市販サプリメントを用いたアトピー性皮膚炎に対する改善効果の検討 第24回日本未病システム学会学術総会, 2017年11月, 横浜
16. 上村尚美、Alexander M Wolf、西槇貴代美、横田隆、井内勝哉、太田成男：糖尿病モデルマウスの in vivo 酸化ストレス解析 第40回日本分子生物学会年会 / 第90回日本生化学会大会, 2017年12月, 神戸
17. 横田隆、Alexander M Wolf、上村尚美、小原澤英彰、五十嵐勉、高橋浩、太田成男：青色光照射後の酸化ストレスによるマウス網膜組織への影響 第40回日本分子生物学会年会 / 第90回日本生化学会大会, 2017年12月, 神戸
18. Yoko Funasaka, Alexander M. Wolf, Naomi Kamimura, Yoichi Yabuki, Fumino Oda, Shigeo Ohta, Hidehisa Saeki : UVA and UVB-induced oxidative stress in live mouse skin - lack of XPA prolongs recovery from oxidative stress -, 第42回日本研究皮膚科学会年次学術大会・総会, 2017年12月, 高知

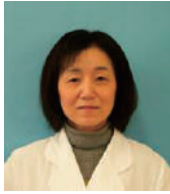
<特許出願>

発明者：岩井佳子、竹内雅大、土井知光

発明の名称：免疫機能評価方法およびその為の ELISA システム

基礎出願番号：特願 2017-172593

【研究紹介】



細胞生物学部門
准教授 上村 尚美

酸化ストレスモニターマウスを用いた活性酸素と炎症発症機構の解析

私は、これまでの研究において、ミトコンドリアが関連した加齢に伴う生命現象や疾患発症のメカニズムの解明、さらに疾患の改善・予防に繋がる研究を行ってきた。ミトコンドリアは、電子伝達系による酸化的リン酸化による ATP 産生や TCA 回路、 β 酸化などのエネルギー代謝の中心的な役割を担っており、さらに、ステロイドの合成や細胞内カルシウム濃度の調節、細胞周期やアポトーシスの調節にも大きく関わっている。ミトコンドリア内にはミトコンドリア DNA があり、電子伝達系に含まれるタンパク質をコードしている。ミトコンドリア DNA の変異が様々なタイプのがんで報告されており、ミトコンドリア DNA 中の「OriB variant」という領域の中の変異が抗がん剤シスプラチン耐性に寄与することを報告した (図 1) (Sci Rep.,2017)。

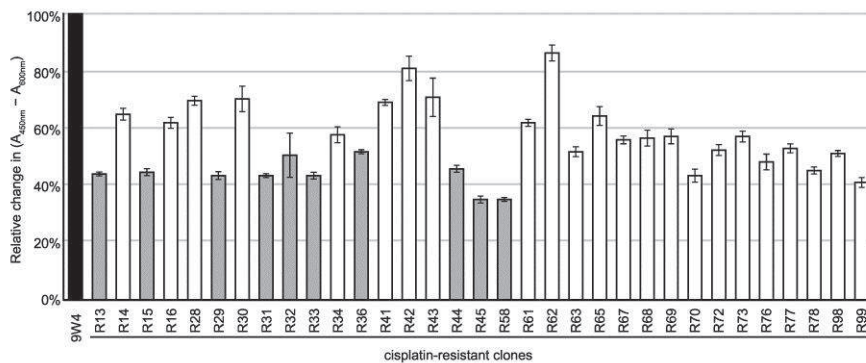


図 1. シスプラチン耐性株のミトコンドリア脱酸素酵素活性

野生株 (9W4) とシスプラチン耐性株を比較したところ、シスプラチン耐性株のミトコンドリア脱酸素酵素活性が低かった。特に活性の低い 10 クローン (グレーで表示) を選んで全ミトコンドリア DNA 配列を決定した。すべてのクローンに共通の変異を探索し、その変異の解析を行った。(Sci Rep., 2017 より引用)

また、ミトコンドリアは活性酸素の主要な発生源にもなっている。過剰な活性酸素産生は、老化あるいは糖尿病や動脈硬化などの生活習慣病の原因として生体にとっては有害な物質でありながらも細胞の分化等で重要なシグナル伝達物質であることが分かっている。私たちの研究室では、新しい抗酸化物質として水素分子を見出し、酸化ストレスが関与する疾患の改善効果があることを報告した。一つは、マウス後肢虚血再灌流モデルを用いた研究で、虚血再灌流時に水素ガスを吸引することにより筋組織損傷や炎症が抑制され、歩行機能が回復することを報告した (図 2) (Plast Reconstr Surg.,2017)。もう一つは、アルツハイマー病モデルマウスを用いた研究で、水素水を飲用水として長期間投与することで神経変性を抑制し、認知機能が回復することを報告した (Curr Alzheimer Res., 2018)。

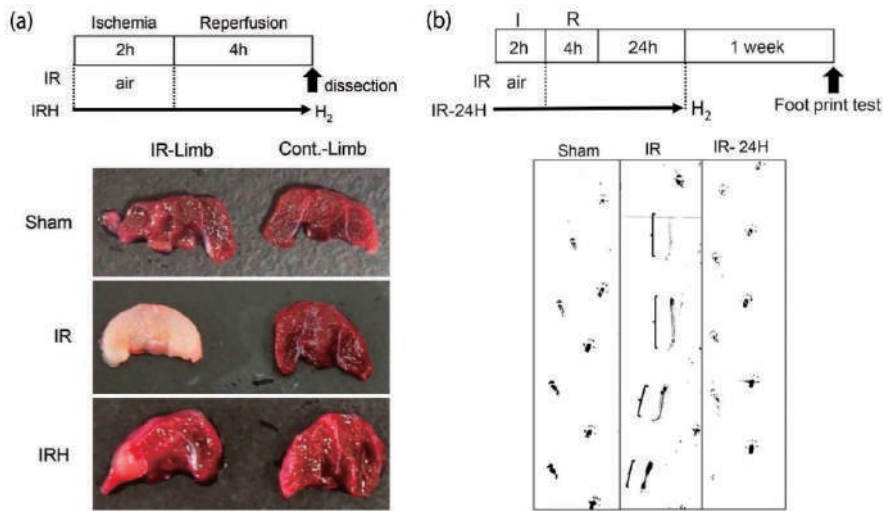


図2. 後肢虚血再灌流に対する水素ガス吸引の効果

(a) マウスの一方の後肢を2時間虚血し、4時間再灌流を行うモデルを作製した (IR-Limb)。虚血を行わなかったもう一方の後肢を対照とした (Cont-Limb)。虚血を行わなかった群 (Sham)、虚血群 (IR)、2%水素ガス投与群 (IRH) の後肢筋肉の梗塞巣を TTC 染色にて評価したところ、水素ガス投与群で顕著な改善がみられた。(b) 虚血再灌流1週間後に歩行テストを行った。虚血群では歩行機能が低下したため足跡の引きずり跡が記録されたが、水素投与群では綺麗な足跡が記録されたため歩行機能が回復したことが示された。(Plast Reconstr Surg., 2017 より改変して引用)

私たちの研究室では、酸化還元状態に応答して蛍光が変化する緑色蛍光タンパク質 (roGFP) を発現するトランスジェニックマウスを作製し、生体内の活性酸素を測定する生体イメージング技術の開発を行ってきた。roGFP マウスは2系統作製しており、一つは細胞全体の酸化還元状態を測定する系統 (CRO マウス)、もう一つは、roGFP にミトコンドリア局在シグナルを付加しておりミトコンドリアの酸化還元状態を測定する系統 (MRO マウス) である。この MRO、CRO マウスと2型糖尿病モデルマウス (db/db) の交配を行い、roGFP を発現する糖尿病モデルマウスを作製した。膵臓、肝臓、骨格筋、腎臓の酸化還元状態について解析したところ、対照マウスと比較し db/db マウスでは肝臓のミトコンドリアが酸化ストレスへの感受性が顕著に増加していることが明らかとなった。(抗加齢医学会、分子生物学会、EUROMIT2017 にて発表)

10月に岩井教授が着任されてからは、様々な免疫応答の局面におけるミトコンドリア制御とシグナルとしての活性酸素の解析に着手した。ミトコンドリアから発生する活性酸素は、病原体などの感染を感知した際に免疫細胞から産生され、生体の防御機構のために必要である。さらに免疫細胞の分化等への活性酸素の関与を示唆する報告もあるがその制御機構には不明な点が多い。そこで、MRO、CRO マウスを用いて免疫細胞の解析に取り組んでいる。これまでは、このマウスを用いて肝臓や筋肉等の臓器での解析を行っていたが、免疫細胞の解析は行っていなかったため、まずは免疫細胞における活性酸素解析の予備的な実験を行った。MRO、CRO マウスともに脾臓、リンパ節、胸腺において良好な roGFP の発現を確認し、組織切片や組織から単離した免疫細胞での酸化還元測定条件を設定した。来年度以降は、この MRO、CRO マウスを利用して、免疫学的記憶形成のメカニズム、自然免疫および獲得免疫の違いの解明に取り組みたいと思っている。

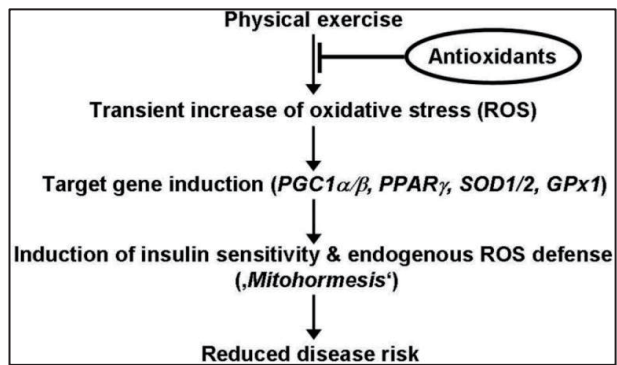


細胞生物学部門

講師 Wolf Alexander

Oxidative stress in skeletal muscle exercise and injury
骨格筋の運動や損傷における酸化ストレスの役割

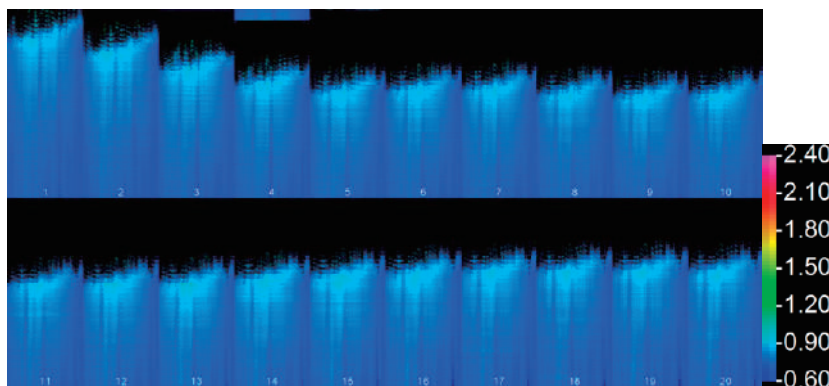
There is a long controversy whether oxidative stress plays a significant role in skeletal muscle during exercise. Physical exercise enhances physical fitness and overall health and wellness. Bouts of aerobic and anaerobic exercise induce an acute state of oxidative stress caused by an increase in reactive oxygen species (ROS) production as indicated by an increased presence of oxidized molecules in a variety of tissues.



Recent research shows an essential role for exercise-induced ROS formation in promoting insulin sensitivity in humans. This induction involves the ROS-dependent transcriptional co-activators PGC1 α and PGC1 β , and the transcription factor PPAR γ and downstream targets. Changes in gene expression and increased insulin sensitivity following physical exercise could be almost completely abrogated by ingestion of antioxidant vitamins.

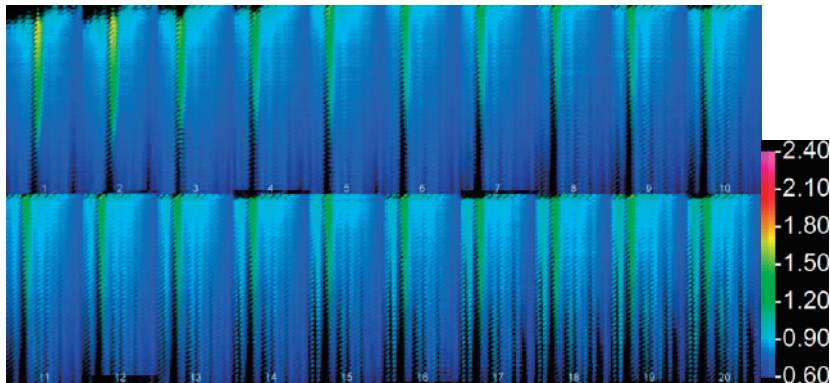
Many attempts to directly measure oxidative stress during or after exercise were, however, unsuccessful, or concluded that there is no oxidative stress induced by exercise. Other investigators report oxidative stress after exercise, including glutathione redox state changes in skeletal muscle.

Generating transgenic mice expressing redox-sensitive green fluorescent protein (roGFP) under control of the actin promoter resulted in strong expressing of roGFP in skeletal muscle. However, activation of skeletal muscle is always accompanied by changes in muscle blood flow, which is low at rest and can increase up to 80-fold during activation. Confocal recording of roGFP fluorescence from the outer surface of skeletal muscle permits the recording of roGFP redox state without interference from changes in blood flow (which prevent unambiguous epifluorescence ratio recording). Leg muscle redox state is recorded in live mice under gas anesthesia and skeletal muscle



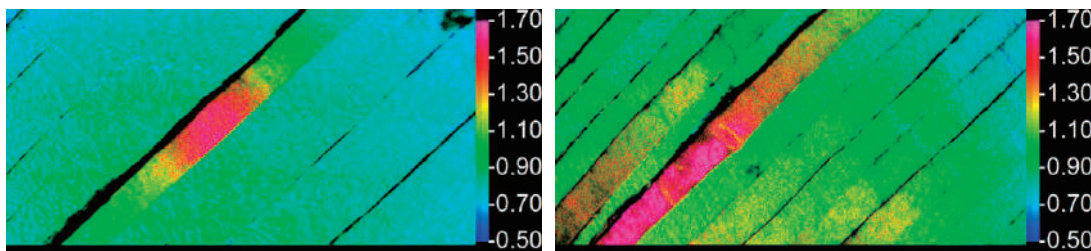
stimulated electrically.

Above example of cytosolic redox state recording in leg muscle during electrical stimulation (0.8mA, 0.5ms, 20 Hz for 10s every 2.5 minutes, total duration of 50 min) shows no redox change.



This example shows gradual oxidation around a previously oxidized muscle fiber. This single oxidized muscle fiber seemed to be injured by what resembled a puncture (shown below):

<Redox state prior to electric stimulation> <After electric muscle stimulation (1h



later) >

This points towards the possibility that damaged muscle fibers release a signaling molecule that is necessary to induce oxidative stress in adjacent muscle fibers. Candidates for such molecules have been called DAMPs (Damage associated molecular patterns), and include ATP released from damaged cells.

The combination of muscle activation and DAMP release might be necessary for oxidative stress induction, as might be the case during strenuous exercise. Previous reports indicate that muscle injury can boost the effects of training. Our research might explain why damaging exercise (such as eccentric muscle contraction) is so effective in building muscle mass and strength, i.e. because some muscle fiber injury is necessary for induction of skeletal muscle redox signaling.

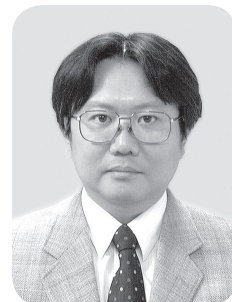
Major recent publications:

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

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いる。p53 は多くのヒトがん細胞で遺伝子変異が見つかった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 の変異が見つかった。p53 タンパクは DNA の損傷や様々なストレスにตอบสนอง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感染が原因となっているが、p53 はパピローマウイルス E6 タンパクによって分解されている。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第三内科学教室に所属していたが、1985 年に東京大学医学部生化学教室 (村松正實教授) で大学院生として、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基本転写因子 (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、低温室にこもって *in vitro* での正確な転写開始活性を指標に精製していた。

大学院卒業後、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、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、作成されたばかりの p53 欠損マウスの解析を進めた。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衛的・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。

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 損傷に応答して 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。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 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となった。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 をリン酸化して分解促進に導く酵素 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、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することはなかった。一方、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 B p65 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、好気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が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 *GLUT3* 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 *GLUT3* 遺伝子を解析したところ、*GLUT3* 遺伝子は NF- κ B によって直接発現誘導されることを見出した。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 B p65 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. p53 による炎症の微小環境の制御とがん抑制

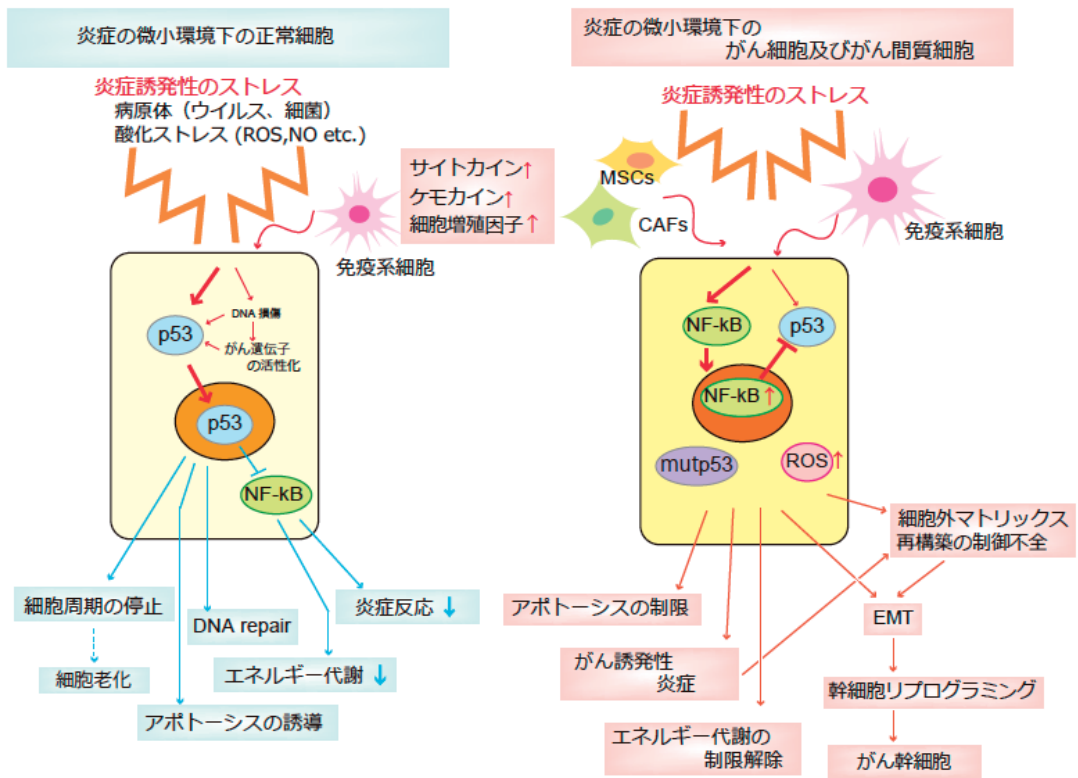
がん組織の中には少数の幹細胞の性質を持つがん幹細胞が存在している。このがん幹細胞はそれ自身の増殖は遅いが、自己複製をながら一定数維持されており、この細胞からより増殖の早いがん細胞が作られると考えられている。がん幹細胞は増殖が遅いことやそれに加えて様々な機構によって抗がん剤に抵抗性を示し、この細胞が化学療法に対して抵抗性を示して残存するために、がんが再発すると考えられている。正常の幹細胞と同様に、がん幹細胞は微小環境内の特定の niche と呼ばれる領域に存在していると考えられている。また、慢性的な炎症ががんを誘発することは実験的にも臨床解析からも広く知られており、炎症の微小環境ががんの発生、すなわちがん幹細胞の出現に重要であることは十分に考えられる。実際、1986年に Harold F. Dvorak が *New Engl. J. Med.* の総説 “Tumors: Wounds that do not heal” で示したように、がんは創傷に対する生体応答と同じような環境に存在している。創傷の応答の初期段階では免疫系細胞の浸潤、間葉系ストローマ細胞 (MSCs) の浸潤・増殖・分化、さらにそれに伴って組織の破壊と再構築が行われる。がん組織でも免疫系細胞、腫瘍関連 MSCs、がん関連線維芽細胞 (CAFs) などががん組織に浸潤しており、これらの細胞からは様々な炎症性サイトカインや細胞増殖因子などが産生されている。これらの細胞やその産生物ががんの微小環境を形成しており、がん幹細胞の niche となっていると想像されている。同時に、炎症ががんを誘発することから考えて、これらの微小環境ががん幹細胞を発生させるように働いていることが想像される。がんは組織中の幹細胞から発生するという現象が大腸がんなどのいくつかのモデルマウスで示されているが、がん遺伝子の導入やがん抑制遺伝子の破壊を組み合わせることで分化した正常細胞から腫瘍性性能を獲得したがん細胞を作ることが可能なことから、分化した細胞から iPS 細胞のようにエピジェネティックなリプログラミングによってがん幹細胞が形成されることがあると想像される。それではどのような機構が働いているのであろうか。

創傷治癒過程では正常の上皮系の細胞が炎症性サイトカインや細胞増殖因子などによって上皮間葉転換 (Epithelial-mesenchymal transition; EMT) を起こし、細胞極性を持たない間葉系細胞に変化し、この細胞が移動性を獲得して創傷組織の再構築が起こる。EMT ががん幹細胞の産生に働いているのではないかとということが Robert A. Weinberg らのグループから示されており、炎症の微小環境で産生される炎症性サイトカインや細胞増殖因子などががん幹細胞の産生に寄与していることは十分に考えられる。これらの環境要因が細胞内のがん遺伝子やがん抑制遺伝子の変異による増殖シグナルの異常などと合わさってエピジェネティックなリプログラミングを起こしてがん幹細胞が出来るのではないかと想像される。

この環境要因における p53 の役割を考えてみる。炎症誘発腫瘍のモデル系の解析から、多くのサイトカインや細胞増殖因子の産生や応答に重要な転写制御因子 NF- κ B やその活性化経路ががんの発生に重要であることが Michel Karin のグループによって示されている。一方、p53 と NF- κ B は相互抑制することが多く報告されており、我々も p53 が核内で転写活性のある NF- κ B-IKK 複合体のうちの IKK β と置き換わって NF- κ B の転写活性を抑制することを報告しており (Kawauchi, BBRC 2008)、上記の p53 欠損細胞で NF- κ B が恒常的に活性化している現象と合わせて、細胞内では p53 と NF- κ B がお互いの動きを制限してバランスを取っていると考えられる。従って、炎症の微小環境では p53 が NF- κ B の活性を制限することでがん化に対して抑制的に働いているのではないかと考えられる。実際、p53 欠損マウスは炎症を起こしやすいこと、自己免疫疾患モデルと組み合わせるとより重篤な症状を示すことが報告されている。さらに、炎症組織では我々が示した NF- κ B (上記) や低酸素による HIF-1 の活性化によるエネルギー代謝の変化ががんの発生やがん幹細胞の維持に働いていることも考えられる。

次のがん幹細胞の発生自体に対する p53 の役割を考えてみる。iPS 細胞は 4 つの転写因子 (c-Myc,

Klf4, Sox2, Oct3/4) の強制発現によるリプログラミングによって産生される。巨近江あることに2009年のNatureに山中伸弥博士の論文を含む5報の連報によってp53の不活性化がiPS細胞産生を促進することが示された。この現象がなぜ起こるのかについてはまだ完全には明らかではない。c-Mycがp53の活性化を介してアポトーシスを誘導することは広く知られており、また我々はc-Mycの他のいくつかのリプログラミング因子がp53の活性化を介してアポトーシスや細胞老化を誘導することを見出しており、p53がリプログラミング因子の活性化した細胞を排除することは考えられる。また、様々な幹細胞の維持にグルコース代謝の亢進が必要なことが示されており、我々の発見したp53がグルコース代謝を抑制する事と合わせて考えると、p53による代謝の制御が幹細胞へのリプログラミングに抑制的に働いていることも想像される。しかしがん抑制のマスターレギュレーターとしてのp53の役割を考えると、p53が全体的に、あるいはクロマチンの特定の部位に配置されたp53が局所的にクロマチンモディファイアーに作用して、がん幹細胞へのリプログラミングに対する障壁となっている可能性もあるのではないかと考えている。



3. 現在の研究の概要

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。さらに上記の研究の流れから、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。

この観点から、本年度は清水の研究が進展したのでまず紹介する。清水は大腸がんや肺がんの細胞株に含まれる幹細胞様の細胞自体が産生するサイトカイン・ケモカインを解析し、白血球遊走因子として知られるIL-8 (CXCL8: C-X-C motif chemokine ligand 8) がこれらのがん幹細胞から特異的に産生されていることを見出した。そこでがん細胞に対するIL-8の作用を調べたところ、IL-8がGLUT3の発現を誘導することでグルコースの取り込みを増加させることを見出した。一方で、IL-8によるピルビン酸や乳酸の産生の増加は見られず、ATPの量にも変化はなかった。そこで取り込まれたグル

コースが何に使われているかを解析した結果、グルコース代謝をヘキソサミン生合成経路へと進める GFAT (glucosamine fructose-6-phosphate aminotransferase) の発現を誘導して O-GlcNAc 修飾を亢進させることを見出した。この IL-8-GLUT3/GFAT-O-GlcNAc 化の経路がリプログラミング因子である Sox2 の発現を誘導すること、この経路のいずれかを抑制するとがん幹細胞数が減少すること及びヌードマウスでの造腫瘍能が低下することから、この経路ががん幹細胞の維持に重要であることを見出した。更に O-GlcNAc 修飾の抑制剤で細胞を処理するとがん幹細胞が枯渇し、ヌードマウスでの造腫瘍能が見られなくなることを見出した。このことから、この経路を標的とすることでがんの治療、特に再発の防止に有効ではないかということが推測された。

阿部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たが、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 と複合体を作り、GLI1 が自身のメチル化を介して活性化されることを見出した。この機構は Hedgehog シグナルによる GLI1 の活性化に重要であるが、興味あることに MEP50 と PRMT5 の両者は転写因子 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によっても GLI1 が活性化することを見出している。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よって維持されていることが推測されている。この様な環境下では STAT3 を介して MEP50/PRMT5/Gli1 の経路が活性化しており、この経路を抑制するとがん幹細胞数が現象することから、炎症性のがん微小環境でのがん幹細胞の維持に重要であることを見出している。本年度は、特にこの経路ががん幹細胞の発生に重要であるかの解析と、様々ながんでの重要性について解析している。特に、この経路が KRas の下流で活性化されることを見出し、膵臓がんなどの通常の化学療法に抵抗性のがんに対する新たな治療法の開発につながる研究に進んでいる。同時に形成外科の土佐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。

谷村は炎症誘発がんの発生メカニズムを、大腸がんを中心に解析している。大腸がんは大腸の粘膜防御の破綻による細菌感染が引き金となって発生するモデルが提唱されており、実際に家族大腸線腫瘍のモデルマウスでは抗生剤投与による腸内細菌の除去や、細菌感染に応答する自然免疫系の主体である TLRs (Toll-like Receptors) のシグナル伝達分子 MyD88 を欠損させると、腫瘍の発生が抑制されることが見出されている。そこで MyD88 のがん化に及ぼす影響を、p53 欠損細胞を用いて検討した。p53 欠損細胞に MyD88 の活性化型変異体を発現させると、NF- κ B の活性化が起こることは知られていたが、新たに NF- κ B が転写因子 HIF-1 α の転写活性化及び翻訳効率の増加を介して HIF-1 を活性化とそれによるグルコース代謝の亢進を引き起こすことを見出した。更に、変異体 MyD88 を発現させた p53 欠損細胞はヌードマウスでの造腫瘍性を獲得すること、この造腫瘍性の獲得には NF- κ B-HIF-1 の活性化経路が必須であることを見出した。この研究は、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研究であると考えている。

岩渕は EGFR 陽性非小細胞肺癌細胞株を EGFR の分子標的薬である Gefitinib によって処理すると 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 を発現させたところ、Gefitinib に対して耐性を獲得することを見出した。この耐性獲得にはアポトーシス抑制因子 BCL-XL 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、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。更に、谷村の解析からも HIF-1 が造腫瘍性の獲得、言い換えるとがん幹細胞の発生に重要であることから考えて、HIF-1 による代謝の制御が細胞のリプログラミングの制御に

関与しているのではないかと推測し、現在これらの解析を中心に行っている。

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。同時に p53 欠損細胞では異常な DNA 複製によって細胞質内の DNA が増加し、これによって細胞内 DNA センサーである cGAS-STING 経路が活性化して I 型 IFN を産生することも見出している。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 とがん細胞自らが産生する I 型 IFN によってがん幹細胞が維持されているのではないかと考えられる。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することも考えられ、現在解析を進めている。

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、乳腺外科、病理学教室及び血液内科と共同で研究を行なっている。

【研究業績】

〈原著〉

- 1) Shimizu, H., Tanaka, N. IL-8-induced O-GlcNAc modification via GLUT3 and GFAT regulates cancer stem cell-like properties in colon and lung cancer cells. *Oncogene*, 2018, doi; 10.1038/s41388-018-0533-4
- 2) Sharma K, Vu TT, Cook W, Naseri M, Zhan K, Nakajima W, Harada H. p53-independent Noxa induction by cisplatin is regulated by ATF3/ATF4 in head and neck squamous cell carcinoma cells. *Molecular oncology* 2018, 12(6). 788-798

〈総説〉

- 1) Abe, Y., Tanaka, N. Roles of the hedgehog signaling pathway in epidermal and hair follicle development, homeostasis, and cancer. *J. Dev. Biol.*, 2017, 5, 12, doi; 10.3390/jdb5040012
- 2) Nakajima, W., Tanaka, N. The anti-apoptotic protein MCL1, a novel target of lung cancer therapy. *J. Cancer Treat. Diag.*, 2018, 2, 54-58.
- 3) Uehara, I., Tanaka, N. Role of p53 in the Regulation of the Inflammatory Tumor Microenvironment and Tumor Suppression. *Cancers (Basel)*. 2018, 10(7), 219, doi; 10.3390/cancers10070219

〈学会発表〉

- 1) 阿部芳憲、田中信之：The molecular mechanism of PRMT5-mediated colon cancer development. 第76回日本癌学会学術総会、2017年9月、横浜
- 2) 阿部芳憲、田中信之：The analysis of CRISPR/Cas9-mediated GLI1 knockout lung adenocarcinoma cells. 第40回日本分子生物学会年会、2017年12月、神戸
- 3) 中嶋 亘、浅野由ミ、武井寛幸、田中信之：Analysis of Paclitaxel-induced apoptosis in triple-negative breast cancer. 第40回日本分子生物学会年会、2017年12月、神戸
- 4) 上原郁野、田中信之：Effect of type I interferon in cancer stem cell and tumorigenesis. 第40回日本分子生物学会年会、2017年12月、神戸
- 5) 谷村篤子、中里 茜、田中信之：MyD88-activated form induces oncogenesis via NF κ B-HIF1 α . 第40回日本分子生物学会年会、2017年12月、神戸
- 6) 清水 幹容、田中 信之：IL-8 supports development of cancer stem cells via glucose metabolism. 第40回日本分子生物学会年会、2017年12月、神戸
- 7) 中道真仁、中嶋 亘、田中信之：Cisplatin-induced apoptosis in non-small cell lung cancer cells. 第40回日本分子生物学会年会、2017年12月、神戸

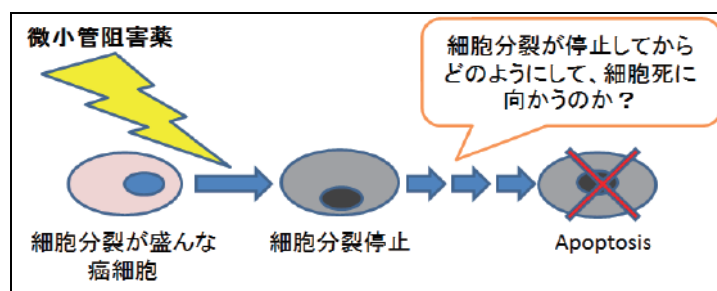
【研究紹介】

【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。

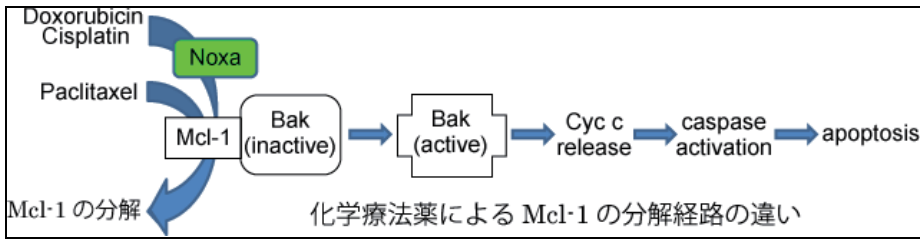
今日、外科療法が困難な癌に対しては抗癌剤を用いた化学療法が主流となっていますが、その効果は癌の種類や段階によって大きく異なるのが現状です。通常、抗癌剤投与によって癌細胞に細胞死（apoptosis）を誘導することでその効果が期待されますが、癌細胞の種類によってはそのapoptosis誘導効果が著しく乏しく、単にQOLの低下のみを招くこともあります。したがって化学療法の治療前に効果がどの程度見込めるのかを客観的に判断する為の、有効なバイオマーカーの同定が望まれます。微小管重合促進剤パクリタキセルやDNA損傷誘導抗癌剤であるシスプラチンは古くから用いられてきた抗癌剤で、現在も世界で最も多く使われて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9報の原著論文を報告をしてきました。



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 29 年度は、頭頸部癌において、DNA damage agent によって p53 非依存的に誘導されるアポトーシス促進因子 Noxa を誘導する転写因子 ATF3/4 を同定し、Molecular Oncology 誌に報告しました。現在は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。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明

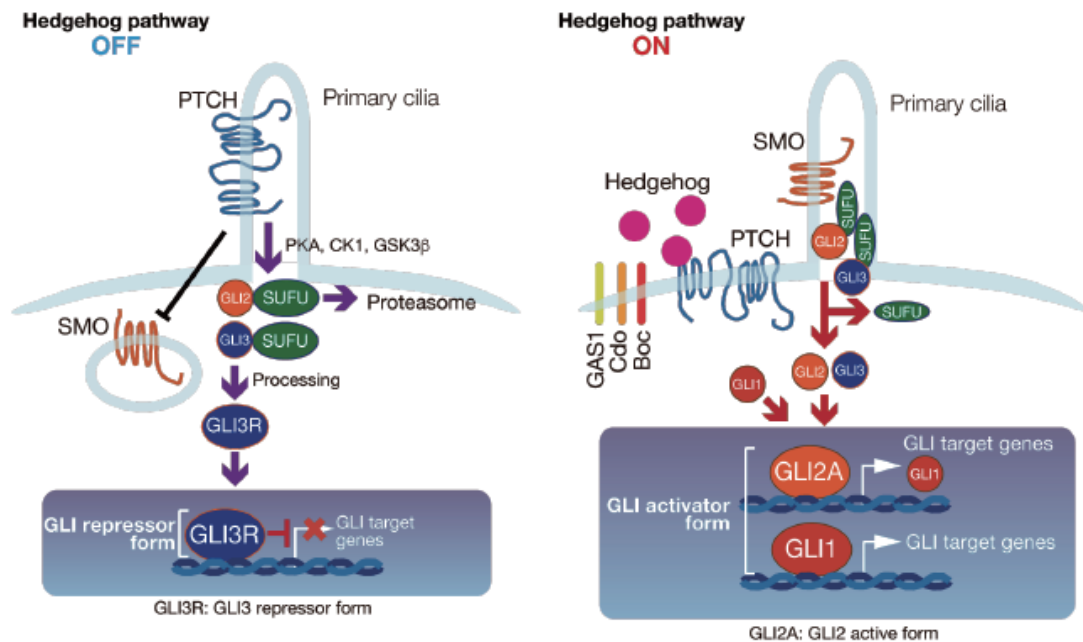


図 1: Hedgehog シグナル伝達経路:

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)が活性化する。Hedgehog シグナルの強弱によって GLI ファミリーの標的遺伝子が変化し、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る。これが、器官形成や幹細胞維持など様々な場面で hedgehog 経路に関わる機構と考えられている。さらに hedgehog 経路制御機構の破綻は癌をはじめとして、様々な疾患の発症に関わることが分かってきた。

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取りながら、個体の生体恒常性の維持を行なっている。また、必要のなくなった細胞群は細胞死が誘導され、排除される。これらのことは様々なシグナル伝達経路が厳密に制御されることで維持されている。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る。

私が焦点を当てているhedgehogシグナル伝達経路（図1）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た。

私は遺伝子制御学部門に来てから一貫して、hedgehogシグナル伝達経路の制御機構の破綻による癌発症の分子メカニズムの解明を目指した研究を行っている。これまでhedgehogシグナル伝達経路の恒常的活性化がp53の機能を抑制することが、細胞の癌化に重要な役割を果たすことを見出した（主要論文2）。その後、hedgehogシグナル伝達経路の制御に関わる新規分子としてPRMT5-MEP50複合体を同定した。

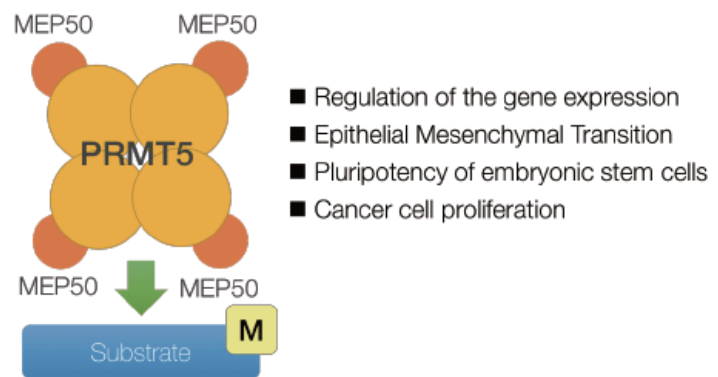


図 2: PRMT5-MEP50 複合体

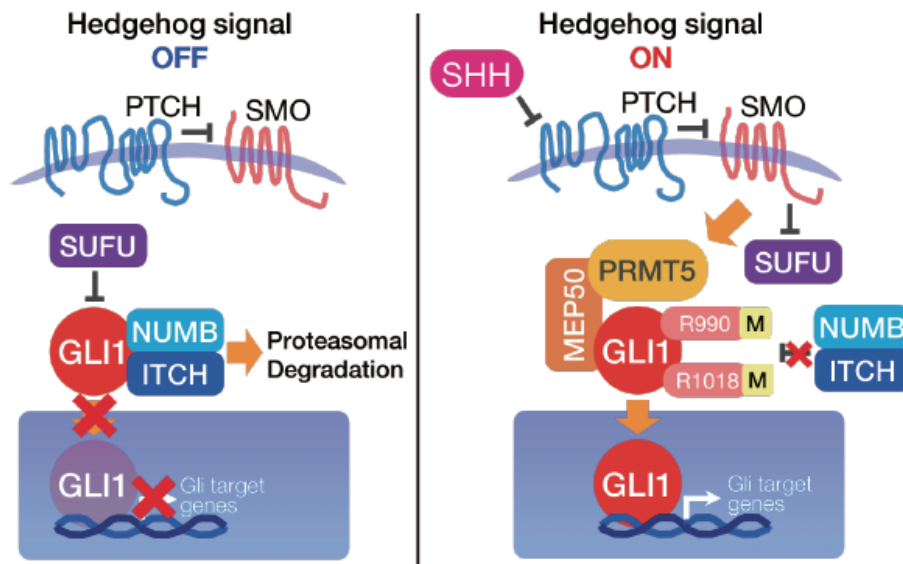


図 3: PRMT5-MEP50 複合体を介した新しい GLI1 活性化機構

Hedgehog シグナルが OFF の時、GLI1 は SUFU や E3 ligase 複合体である Itch-Numb 複合体によってユビキチン化され分解される。一方 Hedgehog シグナルが ON になると PRMT5-MEP50 複合体は MEP50 を介して GLI1 と複合体を形成し、PRMT5-MEP50 複合体は GLI1 の特定のアルギニン残基をメチル化する。GLI1 の 990 番目と 1018 番目のアルギニン残基がメチル化されると Itch-Numb 複合体と GLI1 の結合が抑制され、GLI1 が安定化して活性化へと向かう。

PRMT5はアルギニンメチル基転移酵素の一つで、ヒストンのメチル化を介して転写制御に関わることなどが知られている(図2)。私はPRMT5-MEP50複合体がhedgehog経路下流で機能する転写制御因子GLI1の活性化に関わることを見出した(図3: レビュー中)。

その後、hedgehog シグナル伝達経路非依存的にPRMT5-MEP50 複合体を介したGLI1 活性化経路は癌幹細胞維持に重要な役割を果たすことを見出し、現在論文投稿の準備を進めている。さらにこの経路を抑制することが、KRAS 変異を持つ癌治療のための新たな標的になる可能性も見出し、解析を進めている。また共同研究を通して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に関与する可能性も見出し、解析を進めている。

主要論文

1. Abe Y. and Tanaka N. BioMed Research International Vol. 5 E12 (2017).
2. Abe Y. and Tanaka N. BioMed Research International Vol. 2016 1-11 (2016).
3. Abe Y., et al. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. Vol. 105 4838-4843 (2008)
4. Abe Y., et al. FEBS letters Vol. 580 782-788 (2006)

【上原郁野】

I型インターフェロン (IFN- α/β) による癌への影響

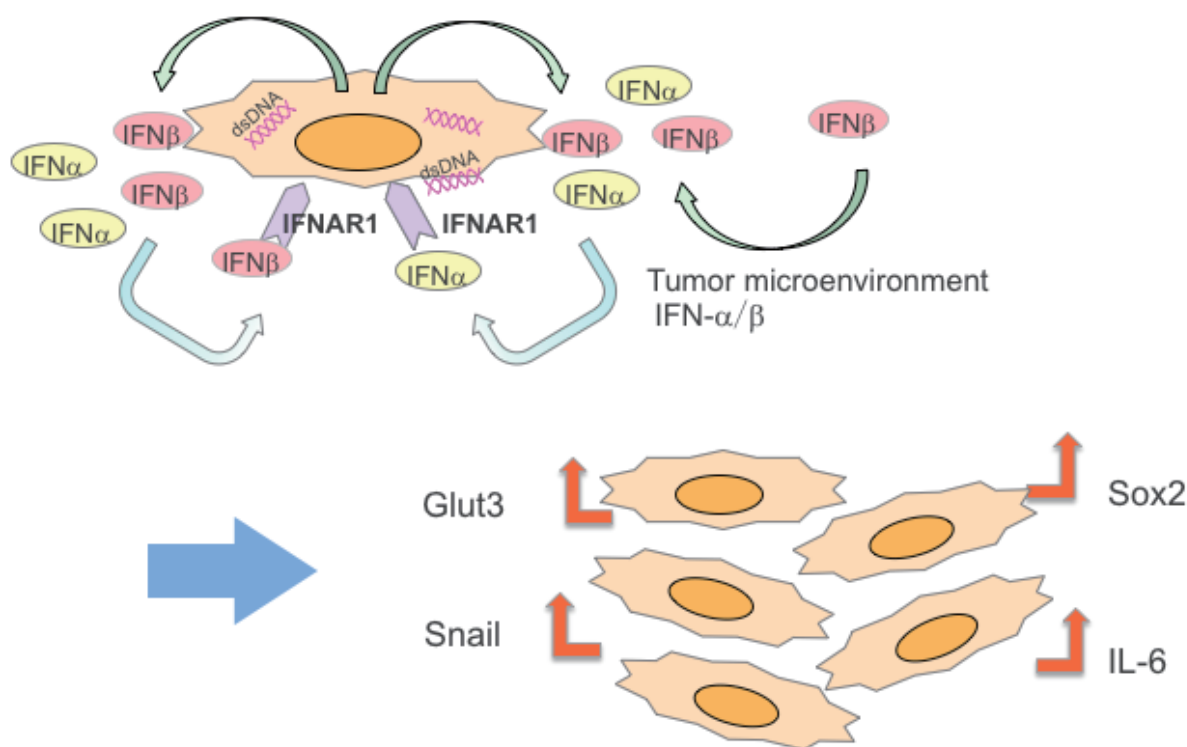
IFN- α/β は、生体内へ侵入するウイルス感染に応答し、その増殖を抑制するために体内で作られる因子であり、B型、C型肝炎の治療薬として現在多くの患者に有効に使用されている。さらに、腫瘍細胞増殖抑制作用もあり、慢性骨髄性白血病、腎癌、膠芽種など一部の癌治療薬として承認されている。

具体的な感染防御経路の1つとして、DNAウイルス感染時には、細胞内にウイルスが取り込まれると、自然免疫機構により細胞質DNAセンサーであるcGAS-STING経路の活性化が起き、IFNや炎症性サイトカインが産生され、抗ウイルスタンパク質や免疫細胞の誘導がおこる。最近の研究で、細胞老化により核膜成分が消失し、一部のクロマチンDNAが細胞質にfragmentとして放出された際にも、細胞質DNAセンサーであるcGAS-STING経路の活性化が起き、炎症性サイトカインやケモカイン、細胞外マトリクス分解酵素など炎症や発がん促進作用のあるタンパク質を分泌し、SASP (Senescence-associated secretory phenotype) が引き起こされる機構が解明されてきている。しかしながら、この機構でSASPが起きる際は、同時にcGAS-STING経路で誘導されるIFN- α/β の発現も上昇するはずだが、この時のIFN- α/β の作用については、ほとんど解明されていない。

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 の発現が亢進する機構は、DNAウイルス感染や細胞老化時と同様に、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、cGAS-STING経路を介してIFN- α/β の発現を亢進していることがわかった。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-a 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がわかった。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 IFN- α/β 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。さらに mIFNAR1 を発現させた腫瘍自体は、幹細胞マーカーの一部やグルコーストランスポーターの発現が上昇していることも確認できたため、マウス個体を使用した実験でも IFN- α/β は腫瘍形成に影響を与えることが示唆された。

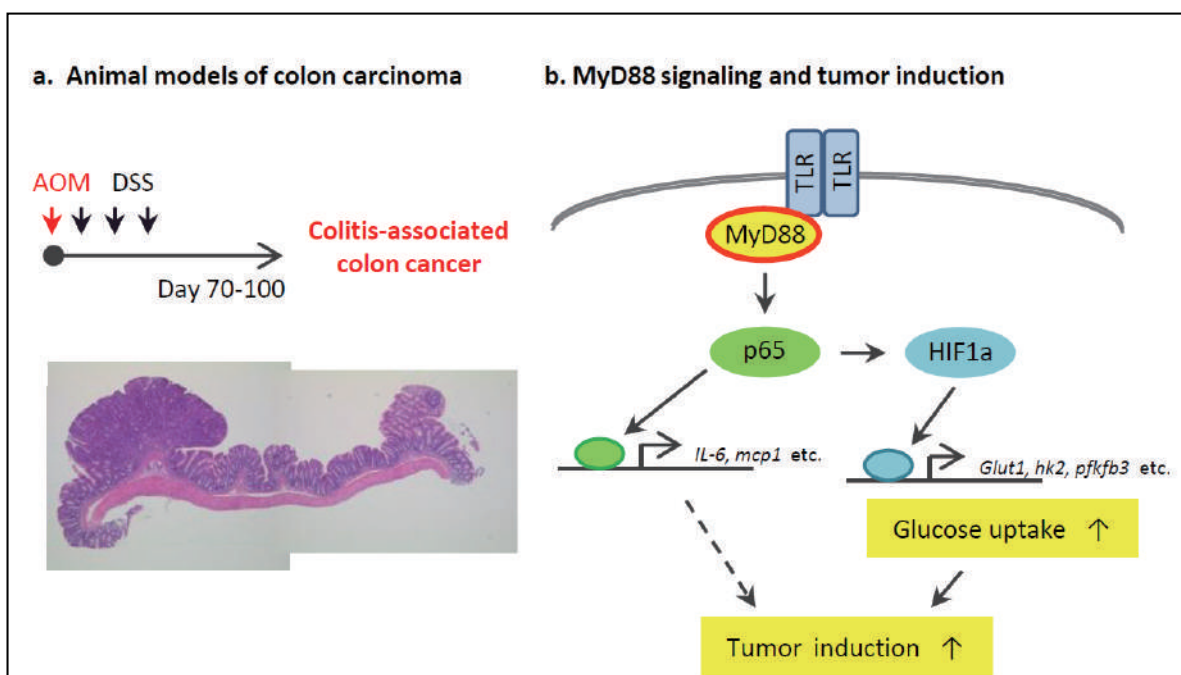
【谷村篤子】

炎症部位における癌発生機序の解明

炎症が発癌に関与していることは広く知られており、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時間で大腸に腫瘍を発生させることが出来る (図 a)。炎症がどのように発癌を促進するのかとい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芽を引き起こすか？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-kappa 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 経路の異常な活性化が直接発癌に関与するのか調べるため、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 MyD88 発現細胞では NF- κ B を含む MyD88 の下流シグナルの活性化が確認され、さらに糖代謝の亢進が認められた。糖代謝の亢進は癌細胞で見られる代謝の特徴である。糖代謝の亢進が何に起因するものなのを検討した所、解糖系遺伝子群の転写を制御する低酸素誘導因子 HIF-1 α (Hypoxia-inducible factor-1 α) の発現亢進が認められた。また、HIF-1 α を抑制すると糖代謝はコントロールと同程度まで減少した。MyD88 発現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 発現細胞では腫瘍を形成した。また、NF- κ B または HIF-1 α をノックダウン法により抑制した MyD88 発現細胞は腫瘍を



形成しなかった。以上より、MyD88はNF- κ Bを介して転写因子HIF-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が明らかになった(図b)。

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事から、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。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】

癌幹細胞(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、多くの固形癌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、癌の転移や再発といった悪性化に対して、CSCsの重要性が指摘されている。よってCSCsの発生を阻止することが出来れば非常に有用な癌治療法となることが期待される。

当研究室は、これまでにグルコース輸送体であるGLUT3の発現が癌を悪性化させることを明らかにしている。おそらく癌微小環境内において、サイトカイン・ケモカイン等の液性因子によりGLUT3の発現が誘導され、解糖系を含むグルコースの代謝を制御することでCSCsの発生に関与すると推測されるが、その分子基盤は不明な点が多い。このような背景から、本研究はGLUT3によるCSCsの制御機構の解明を目的としており、これまでに「炎症性ケモカインIL-8によるGLUT3を介したグルコース代謝制御機構がCSCs機能に重要であること」を明らかにしたので、以下に概要を述べる。

大腸癌細胞(HCT116)および肺癌細胞(HCC827)を用いて、CSCsの形成・維持における解糖系関連遺伝子の発現を調べたところ、GLUT3の発現が有意に高いことが示された。また、CSCsに発現しているサイトカイン・ケモカインを網羅的に解析したところ、炎症性ケモカインであるIL-8が特に高発現していることが明らかとなった。IL-8は炎症性の刺激に応じて免疫系の細胞や炎症部位の細胞から分泌される液性因子であり、CXCR1/2受容体を介して様々な遺伝子発現変化と細胞応答を引き起こす(図1)。そのためIL-8の発現は厳密に制御され

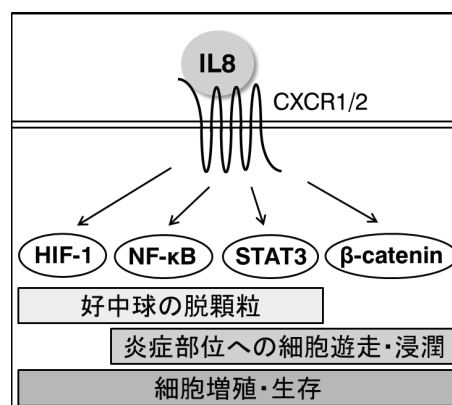


図1：炎症部位でのIL-8による遺伝子誘導と細胞応答

ており、正常な組織では検出できないほど非常に低い。一方でIL-8は、ほぼ全ての固形癌で高発現しており、その発現量は癌の転移や再発、生存率と相関関係があることが報告されている。以上の点から、IL-8はGLUT3の発現を制御することで、CSCsの形成・維持に関与しているのではないかと仮定した。

仮説を証明するために解析を行ったところ、大腸癌および肺癌細胞を IL-8 で処理することで GLUT3 発現誘導とグルコースの取り込み増加、また CSCs 形成が促進された。一方、IL-8 の発現を shRNA でノックダウンすることで GLUT3 発現と CSCs 形成が抑制された。このことから炎症性ケモカイン IL-8 は GLUT3 の発現を制御しグルコースの取り込みを調節することで CSCs の形成・維持に関与していることが明らかとなった。興味深いことに、解糖系の指標となる細胞内 ATP・ピルビン酸・乳酸レベルは IL-8 処理により変化しないことが示され、取り込まれたグルコースは解糖系に使用されていないと推測された。そこで IL-8 処理した際の解糖系以外のグルコース代謝関連遺伝子の発現を調べたところ、解糖系からヘキソサミン経路へと変換する律速酵素である GFAT の発現が誘導されることが明らかとなった。ヘキソサミン経路は、タンパク質への糖付加 (O-GlcNAc 化) を誘導する経路であり、多くの癌の転移や再発と密接に関与している。実際、IL-8 で処理することでタンパク質の O-GlcNAc レベルの増大が確認され、この O-GlcNAc 化が CSCs の形成・維持に必須であり、さらに腫瘍形成能に大きく影響を与えていることが示された。

以上の結果から、癌微小環境内において、IL-8 はグルコース輸送体である GLUT3 と、グルコース消費を解糖系から GlcNAc 合成経路に変換する GFAT の発現を誘導することが示された。これによりグルコース取り込み量の増加と GlcNAc 合成経路の活性化が促進され、最終的にタンパク質の O-GlcNAc 修飾が増大することで CSC の機能が維持されることが明らかとなった(図2)。

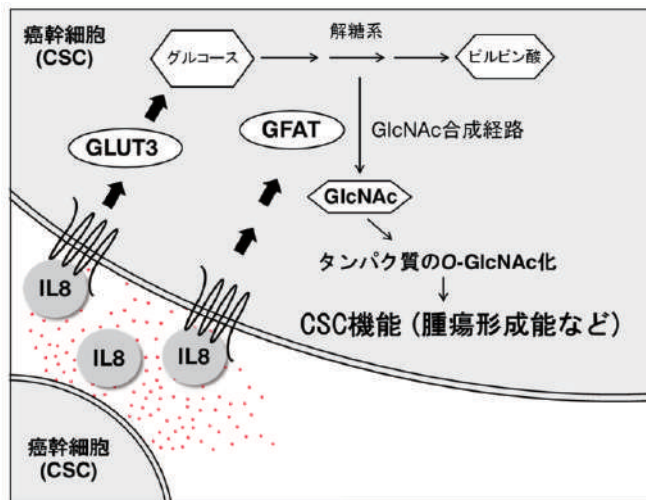


図2 : IL-8による癌幹細胞(CSC)機能の制御機構

【岩渕 (吉田) 千里】

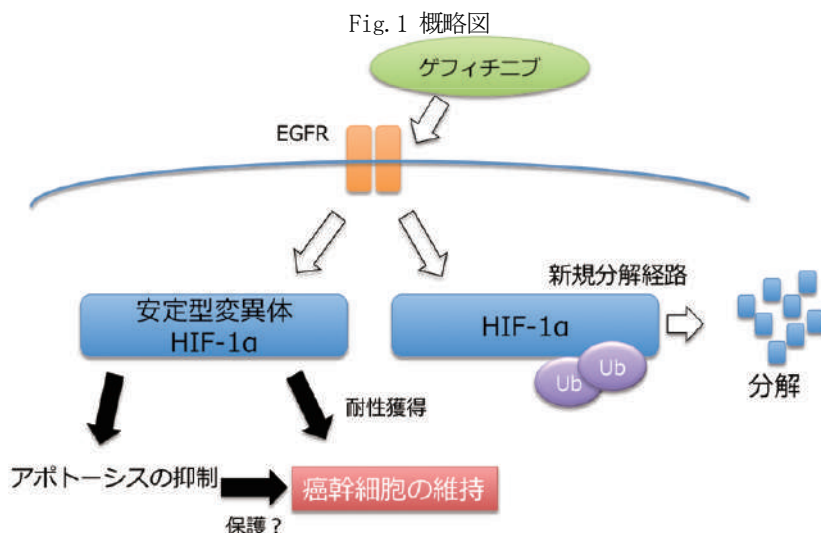
日本人の癌の部位別死亡順位で、肺癌は男性で1位、女性では大腸癌に次ぐ2位であり、その制圧は医学における重要課題の一つである。EGFR 陽性非小細胞肺癌 (NSCLC) ではゲフィチニブ等の分子標的薬による治療が効果を上げているが、これらの治療では再発例に対しての治療は困難である。癌が再発する過程では、残存する癌幹細胞と薬剤耐性獲得が問題となり、効果的な肺癌の治療を目指すためには、これらの機構を解明してそれを標的とする必要がある。本研究では、これらの機構の key 分子を探し、薬剤耐性獲得機構の解明、さらに癌幹細胞への効果的な治療法の開発を目指すことを目的とした。

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 PC 9 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。さらに HIF-1 α の高発現細胞株の癌幹細胞において mRNA の発現比較を行った結果、抗アポトーシス分子

の MCL1、Bcl-XL の発現が上昇していることが示された。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。また、ヌードマウスを用いた治療実験も行い、薬剤の併用投与による効果的な治療法の開発を目指す。



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、生理作用、細胞内シグナル伝達、さらに動物行動を制御する脳の機構などを研究し、病態の解明と治療法の開発に寄与することを目的とする。

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。インスリン作用の発揮に重要なインスリン受容体基質 (IRS)-2 の生理的・病態生理的意義を明らかにする目的で、ゲノム編集技術により作出した IRS-2 ノックアウトラットの解析を行った。その結果、IRS-2 ノックアウトは成長遅滞を起すが、耐糖能は正常であり、インスリン感受性はむしろ亢進していた。これらの現象は、30 週齢まで同様に観察された。したがって、ラットにおいて IRS-2 は正常な成長に重要な役割を果たすことを明らかにした。

また、現在、同じ技術を利用して IRS-1 ノックアウトラットの作出を試みている。

2) 低タンパク質栄養状態におけるインスリン様成長因子 (IGF) -I 抵抗性発症機構の解析

低タンパク質栄養状態では血中 IGF-I 濃度が低下するが、外因性の IGF-I を投与しても IGF-I の生理作用が効果を示さない「IGF 抵抗性」が起きることが報告されている。しかしながら、その発生機序は未詳であったため、成長期のラットに低タンパク質食を給餌し、IGF-I を投与して検討した。その結果、外因性の IGF-I を投与しても内因性 IGF-I 量が減少するため、IGF-I が作用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. 性ステロイドの中樞作用

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(MCH)をcfos発現を指標にして検討し、養育行動の違いによる発現の差が認められた。MCH-Cre リコンビナーゼトランスジェニックマウスを用いて、MCHニューロン特異的な行動解析をDREADD法及び、オプトジェネティクス解析により検討を行っている。

平成 29(2017)年度研究業績

< 原著 >

1. 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. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 490 (3) : 800-805, 2017.
2. Horiuchi M, Takeda T, Takanashi H, Ozaki-Masuzawa Y, Taguchi Y, Toyoshima Y, Otani L, Kato H, Sone-Yonezawa M, Hakuno F, Takahashi S, Takenaka A. Branched-chain amino acid supplementation restores reduced insulinotropic activity of a low-protein diet through the vagus nerve in rats. *Nutrition & Metabolism*, 14: 59 : 1-12, 2017.
3. Uchida K, Tanaka Y, Ichikawa H, Watanabe M, Mitani S, Morita K, Fujii H, Ishikawa M, Yoshino G, Okinaga H, Nagae G, Aburatani H, Ikeda Y, Susa T, Tamamori-Adachi M, Fukusato T, Uozaki H, Okazaki T, Iizuka M. An Excess of CYP24A1, Lack of CaSR, and a Novel lncRNA Near the PTH Gene Characterize an Ectopic PTH-Producing Tumor. *J Endocr Soc*. 1(6): 691-711, 2017

< 学会発表 >

(国際学会)

1. Toyoshima Y, Tokita R, Taguchi Y, Yoshizawa F, Takahashi S, Kato H, Minami S. An increase in 4E-BP1 level mediates to enhance triglyceride accumulation in rat liver under protein malnutrition. IUNS International Congress of Nutrition, 2017, October in Argentina.
2. Nishi H, Yamanaka D, Kamei H, Goda Y, Kumano M, Toyoshima Y, Takenaka A, Chida K, Hakuno F, Takahashi S. Hepatic steatosis induced by amino acid deficiency or by manipulation of the dietary amino acid composition. IUNS International Congress of Nutrition, 2017, October in Argentina.

(国内学会)

1. 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よる肝臓脂質蓄積機構－新規メカニズムの探索－. 第 71 回日本栄養・食糧学会大会, 2017 年 5 月, 沖縄.
2. 石川真由美, 豊村順子, 立花利公, 南 史朗. ラット小腸の上皮幹細胞から誘導分化させたインスリン産生細胞の性状と Akita マウスへの移植の検討. 第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2017 年 5 月, 名古屋.
3. Orikasa C, Kondo Y, Katsumata H, Minami S. Social isolation facilitates maternal care in sexually naive female ddN mice. 第 40 回日本神経科学学会大会, 2017 年 7 月, 幕張メッセ.
4. 中田朋子, 勝又晴美, 時田玲子, 南 史朗. 成長ホルモンはラット肝臓において核内受容体 CAR の発現を抑制する. 2017 年度生命科学系学会合同年次大会、第 40 回日本分子生物学会年会、第 90 回日本生化学会大会, 2017 年 12 月, 神戸.
5. 八木 孝, 大槻昌子, 石川真由美, 南 史朗. 一過性の高度脂肪肝と臍腫大を認めた劇症 1 型糖尿病の 1 例. 第 27 回臨床内分泌代謝 Update, 2017 年 11 月, 神戸.
6. 塩田美桜, 八木 孝, 大槻昌子, 赤須東樹, 石川真由美, 南 史朗. 巨大な副甲状腺腺腫により高カルシウムクレーゼをきたした一例. 第 27 回臨床内分泌代謝 Update, 2017 年 11 月, 神戸.

【研究紹介】



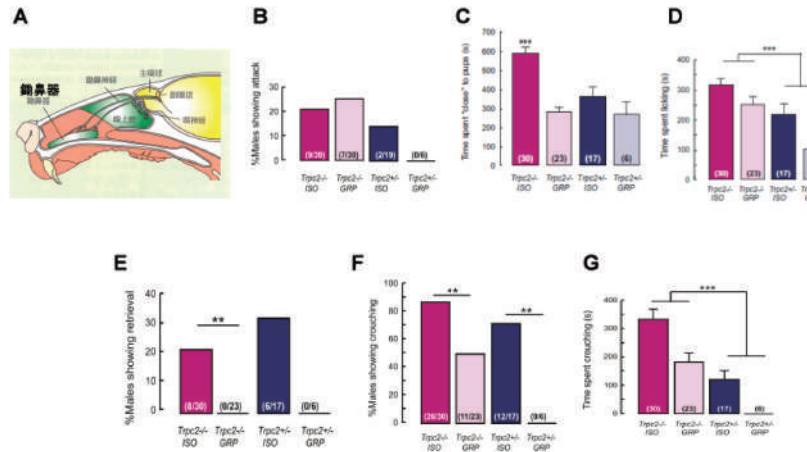
生体機能制御学部門
准教授 折笠千登世

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後、理化学研究所、東大海洋研研究生、東京都神経科学研究所流動研究員を経て、1995年日本医科大学（生理学第一教室）に赴任。この間ロックフェラー大学院（Bruce McEwen教授）に留学。2014年日本医科大学先端医学研究所。

「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す。



フェロモン受容に関わる鋤鼻器の機能的欠損が子育て行動にどのような影響を及ぼすか

【背景】通常雄マウスは仔への攻撃行動をおこすとされているが、その情報は鋤鼻器を経由している。

【実験】げっ歯類の鋤鼻器（図A）特異的に発現するイオンチャネル（TRPC2）のノックアウト（KO）マウスを使って子育て行動に対する影響を調べた。

【結果】TRPC2KOは、攻撃行動に対する影響はないが（図B）、仔の近くにいる、あるいは仔なめ行動をよくするようになった（図C, D）。しかし、TRPC2ノックアウトのいかんにかかわらず、雄マウスの仔運び行動、抱え込み行動は環境要因による影響が大きい（図E-G）と推察された。

養育行動には性差があり、雌に特有の行動であるとされている。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。しかし、先行研究において雄マウスにおいても、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た。養育行動の促進は、フェロモン受容に関わる鋤鼻器を介して起こるものかどうか、飼育環境との相互作用はどうかについて検討した。

上述の結果は、飼育環境の違いがフェロモン受容に関わる鋤鼻器の機能性をかえるものではないという結論につながる。

主要論文

1. Oriyama 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)
2. Oriyama 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* 151: 9-15 (2015)
3. Oriyama C & Sakuma Y “Estrogen configures the sexual dimorphism in the preoptic area of different strain of mice” *The Journal of Comparative Neurology* 518: 3618-3629 (2010)
4. Oriyama 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* 99: 3306-3311 (2002)



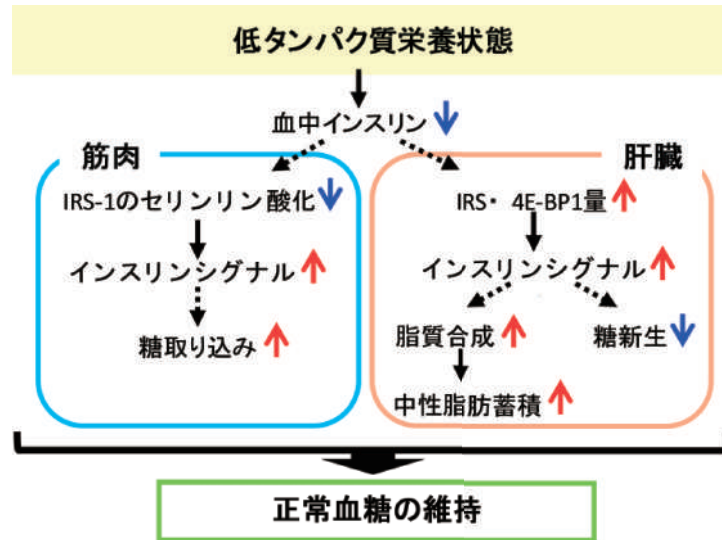
生体機能制御学部門
講師 豊島 由香

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
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、臓器特異的の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、IRS-2 ノックアウトラットの表現型解析を中心に行い、ラットにおいて IRS-2 は正常な成長に重要な役割を果たすことを明らかにした。

主要論文

1. Taguchi Y, Toyoshima Y, et al. 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
2. 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

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。

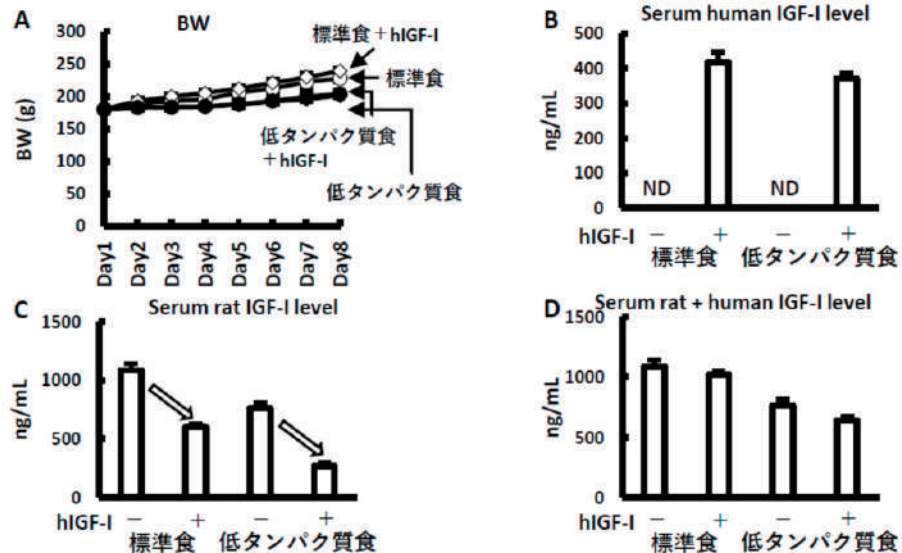


生体機能制御学部門
ポストドクター 田口 雄亮

低タンパク質栄養状態におけるインスリン様成長因子 (IGF) 抵抗性発生機構の解析

略歴

2010年 埼玉大学
大学院理工学研究
科修了 理学博士



低タンパク質食給餌ラットへのhIGF-I投与の効果:

成長期のラットに標準食、または低タンパク質食を給餌し Human (h) IGF-I を投与した。低タンパク質食群では体重の遅滞 (A) と血中 IGF-I 濃度が減少する (C)。hIGF-I を投与すると血中濃度に反映するにも関わらず (B) 体重増加促進作用はない (A)。これは、hIGF-I を投与することで、血中 rIGF-I 濃度を低下させているためと考えられた (C)。この結果は、外因性の IGF-I を投与しても内因性 IGF-I を減少させて、栄養状態に応じた適切な濃度になる機構があることを示している (D)、これが IGF 抵抗性を発生させる一因となっている。

成長期のラットに低タンパク質食を給餌すると、血中インスリン様成長因子 (IGF)-I 濃度が低下し、成長が遅滞する。この際、IGF-I を補充しても成長遅滞が改善しない「IGF 抵抗性」を発生しているという報告があるが、この機序には未知な点が多い。本研究では、Human (h) IGF-I を投与した低タンパク質給餌ラットを用いて、IGF 抵抗性発生機序の検討を行った。

成長期のラットに標準食と低タンパク質食を給餌し、さらに各群のラットを hIGF-I を投与する群としない群に分け、7日間飼育した。hIGF-I を投与した群では、両食餌群ともに血中 hIGF-I 濃度が増加するにも関わらず、体重増加促進効果を認めなかった。そこで、血中 Rat IGF-I 濃度を測定したところ、hIGF-I 非投与群では低タンパク質食群は標準食群に比べて有意に低下していたが、hIGF-I 投与群では両食餌群とも投与によってさらに低下した。

以上から、ラットには外因性 IGF-I を投与しても、内因性 IGF-I 量を減少させて栄養状態に応じた適切な血中 IGF-I 濃度を維持する機構が存在することが明らかとなり、これが IGF 抵抗性の一因である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.
- Horiuchi M, Takeda T, Takanashi H, Ozaki-Masuzawa Y, Taguchi Y, Toyoshima Y, Otani L, Kato H, Sone-Yonezawa M, Hakuno F, Takahashi S, Takenaka A. Branched-chain amino acid supplementation restores reduced insulinotropic activity of a low-protein diet through the vagus nerve in rats. *Nutrition & Metabolism.* 2017. 14: 59
- 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.



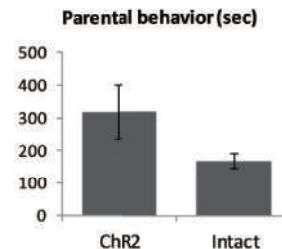
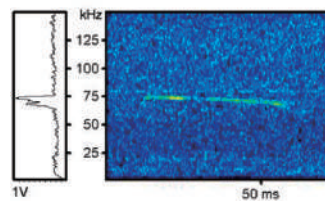
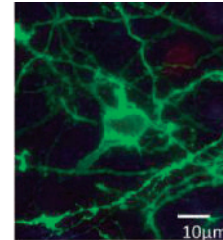
生体機能制御学部門
ポストドクター 加藤 陽子

マウスの養育行動における視床下部機能の寄与

略歴

2010年 東京大学
大学院広域科学専攻
攻修了 学術博士

動物のコミュニケーション行動の神経基盤を明らかにしたい。



オプトジェネティクス（光遺伝学）をもちいた操作的神経機能の解明：

Cre マウスと AAV により光受容体チャネルロドプシン (ChR2) を視床下部領域に誘導し (図右上)、養育行動場面において光刺激を行うことにより (図左上)、視床下部領域の活動の影響を検討した。結果、光刺激によって仔マウスにたいする養育行動量が増加することが示された (図右下)。また、同場面における仔の超音波発声を記録し、養育行動との関連を検討した (図左下)。

【これまでの研究】 音声を介したコミュニケーションはさまざまな動物種でみられる。小型霊長類マーモセットにおけるさまざまな発声パターンと情動状態の対応を検討し、不安を惹起する実験場面では二つのコールタイプの連続パターン、Tsik+egg の増加が観察された。また、Tsik+egg コールは不安惹起薬の投与によっても増加した。一方、恐怖を誘導した実験場面では Tsik 単独の発声が増加した。これによりマーモセット発声パターンから情動状態を推察できることを示した (Kato et. al. 2014)。

【現在の研究】 マウスの仔は巣から離れた際に isolation call と呼ばれる超音波発声を行う。この音声は母マウスの接近行動を誘起することから、養育行動における母子間のコミュニケーションに寄与していると考えられる。仔への養育行動の発露と視床下部の機能的関連を明らかにするため、特定の神経細胞の活動を薬理遺伝学、光遺伝学の手法を用いて制御し、養育行動の定量を行っている。

主要論文

1. Feenders G, Kato Y, Borzeszkowski K, Klump G. Temporal ventriloquism effect in European starlings: evidence for two parallel processing pathways. *Behav Neurosci* 2017. 131(4):337-347.
2. Kato Y, Gokan H, Oh-Nishi A, Suhara T, Watanabe S, and Minamimoto T. Vocalizations associated with anxiety and fear in the common marmoset (*Callithrix jacchus*). *Behav Brain Res* 2014. 275: 43-52.



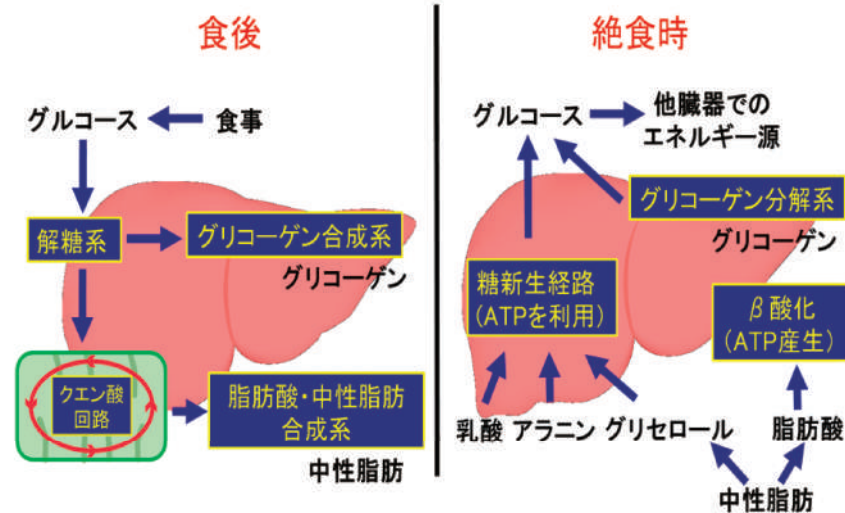
生体機能制御学部門（武蔵小杉病院 内分泌・糖尿病・動脈硬化内科）
大学院生 八木 孝

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

1. 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 signalling module controls hepatic glucose metabolism through a cAMP-induced substrate switch. *Nat Commun.* 2016. 7: 13147.



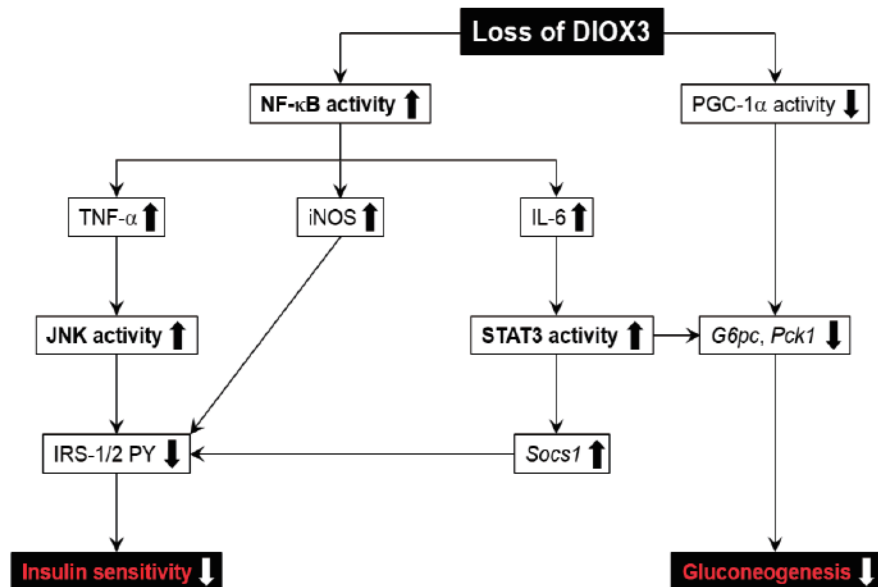
生体機能制御部門
大学院生 矢野宏行

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。



肝臓において DIOX3 は代謝、炎症応答反応に重要な役割を持つ分子である。

肝臓において DIOX3 は NFκB の活性を抑制し、炎症応答を制御する。DIOX3 の機能抑制は炎症応答の活性化を介してインスリンシグナルを障害する。DIOX3 は PGC1α の活性を介して糖新生を抑制する。DIOX3 の機能抑制は、PGC1α の活性化を抑制し糖新生を減弱する。

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きた。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。またこの分子の機能抑制は NFκB を亢進させ、インスリンシグナルを障害する。DIOX3 は糖代謝のみならず NASH/NAFLD などの炎症制御分子としての役割もあると考え、検討を重ねている。

主要論文

1. 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.
2. 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.



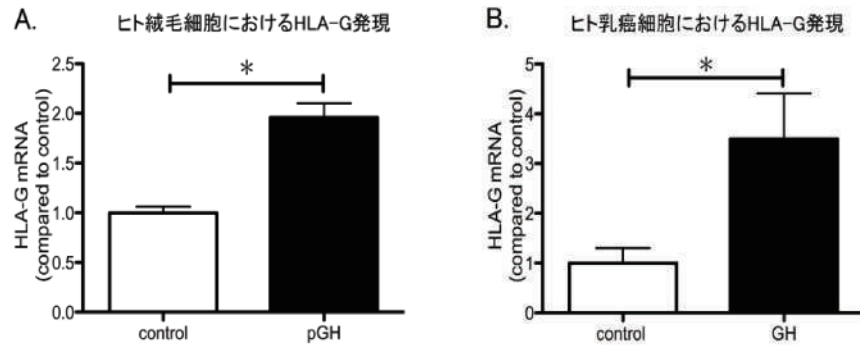
生体機能制御学部門（武蔵小杉病院 内分泌・糖尿病・動脈硬化内科）
講師 石川 真由美

成長ホルモンの HLA-G 発現に対する調節機構の検討

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
2014 年 日本医科大学武蔵小杉病院
内科

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きたい。



GH は HLA-G の mRNA の発現量を増加させる。

ヒト絨毛細胞に GH を作用させ HLA-G の mRNA 発現を検討した (A)。胎盤性 GH(100ng/mL) でヒト絨毛細胞を 12 時間刺激すると、HLA-G の mRNA 発現量が増加した。同様にヒト乳がん細胞株である NABCA 細胞に GH(100ng/mL) を作用させても、HLA-G の mRNA 発現量が増加した (B)。 (* : $p < 0.05$)

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。

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.)。胎盤性 GH が絨毛細胞の HLA-G の mRNA 発現を増加させることがわかり、妊娠の維持に必要な免疫学的寛容の獲得に關与する可能性がある。また GH が乳癌における HLA-G の mRNA 発現も増加させることがわかり、腫瘍が免疫担当細胞からの攻撃から免れる機序の一つであると考えている。

小胞体ストレスに關与する作用

昨年引き続き、GH 単独欠損のある自然発祥矮小ラット (SDR) を用いて、臍島における小胞体ストレスを検討している。

主要論文

1. 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.
2. Ishikawa M, et al. A novel specific bioassay for serum human growth hormone. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000. 85: 4274-4279.
3. 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 29 年 4 月 19 日 午後 1 時 00 分 場所：第一会議室 出席者数：14 名

2. 動物実験新規利用者向け講習会（教育訓練）の開催

日時：平成 29 年 5 月 15 日 午前 10 時 00 分 場所：南所長室 出席者数：6 名

3. 動物実験計画書の申請課題数 38 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 3,197 名

6. 日平均飼育数 マウス 849 匹、ラット 242 匹

7. 年間使用動物数 マウス 3,302 匹、ラット 846 匹

8. SPF 微生物モニタリングの実施

平成 29 年 4 月 10 日、平成 29 年 10 月 23 日、平成 30 年 2 月 26 日

9. 定期清掃の実施

SPF 飼育室 平成 29 年 10 月 17-18 日、平成 30 年 2 月 1-2 日

10. 実験動物慰霊祭への参加

日時：平成 29 年 11 月 10 日午後 5 時 30 分 場所：医学部教育棟講堂 出席者数：17 名

平成29年度(2017年度)先端医学研究所セミナーおよびリサーチ・コロキウム

■ 平成29年度 日本医科大学先端医学研究所公開セミナー

日時：2017年9月27日(水) 13:00-18:00(懇親会 18:30-20:30)

場所：日本医科大学武蔵小杉病院 南館 2F 講堂

主催：日本医科大学 先端医学研究所

事務局：先端医学研究所 病態解析学部門

運営委員：弓削進弥(病態解析学)・藤原正和(病態解析学)・豊島由香(生体機能制御学)、
中嶋 亘(遺伝子制御学)・Alexander Wolf(細胞生物学)

プログラム

- 13:00-13:05 開会の挨拶 先端医学研究所 所長 南 史朗
- 先端研・病院所属の研究者による口頭発表
座長：Wolf, Alexander(細胞生物学部門)
豊島 由香(生体機能制御学部門)
- 13:05-13:30 糖尿病モデルマウスの in vivo 酸化ストレス解析と分子状水素の効果
上村 尚美(細胞生物学部門)
- 13:30-13:55 がん幹細胞発生機構の解析 -ケモカイン IL-8 による新規糖代謝制御-
清水 幹容(遺伝子制御学部門)
- 13:55-14:20 低タンパク質栄養性脂肪肝は亢進したインスリンシグナル非依存的に起きる
田口 雄亮(生体機能制御学部門)
- 14:20-14:30 休憩
- 14:30-14:55 ゼブラフィッシュ蛍光ライブイメージングを用いた、新しい血管新生制御機構の解明
弓削 進弥(病態解析学部門)
- 14:55-15:20 ケロイド発症に関わる新しい分子機構の解析
土佐 眞美子(遺伝子制御学部門)
- 15:20-15:30 休憩
- 特別講演**
- 15:30-16:30 システム間連携による恒常性の維持と病態
真鍋 一郎(千葉大学大学院・医学研究院・長寿医学部門)
座長：福原 茂朋(病態解析学部門)

- 16:30-17:30 先端研・病院所属の研究者によるポスター発表
- P1: 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
折笠 千登世 (生体機能制御学部門)
- P2: CRISPR/Cas9システムを用いて作成したIRS-2ノックアウトラットの解析
豊島 由香 (生体機能制御学部門)
- P3: 成長ホルモンはラット肝臓において核内受容体CARの発現を抑制する
中田 朋子 (生体機能制御学部門)
- P4: 光遺伝学によるマウス養育行動の解析
加藤 陽子 (生体機能制御学部門)
- P5: 低タンパク質食摂餌ラットにおけるエネルギー消費亢進機構の解析
有澤 琴子 (生体機能制御学部門)
- P6: 低タンパク質食給餌ラットにおける血中アディポネクチン増加機構の解明
八木 孝 (生体機能制御学部門)
- P7: 微小管阻害薬の治療効果を決定づける因子の探索と治療効果予測の検討
中嶋 亘 (遺伝子制御学部門)
- P8: PRMT5を介した新しい大腸癌発症の分子機構の解析
阿部 芳憲 (遺伝子制御学部門)
- P9: I型インターフェロンの癌幹細胞及び発がんに対する効果
上原 郁野 (遺伝子制御学部門)
- P10: TLRアダプター分子MyD88による癌化誘導機構の解析
谷村 篤子 (遺伝子制御学部門)
- P11: 非小細胞肺癌細胞株におけるシスプラチンによるアポトーシスの考察
中道 真仁 (遺伝子制御学部門)
- P12: In vivo recording of epidermal stem cell redox state
Wolf, Alexander (細胞生物学部門)
- P13: 血管新生における内皮細胞の集団的な細胞運動の動態とその分子制御機構の解明
藤原 正和 (病態解析学/分子細胞構造学部門)
- P14: The small GTPase Rap1 regulates hematopoietic stem cell development
by promoting Notch-mediated specification of hemogenic endothelium
Rho, Seung-Sik (病態解析学/分子細胞構造学部門)
- P15: 腎臓発生における血管形成
西村 裕介 (病態解析学/分子細胞構造学部門)
- P16: ゼブラフィッシュ成魚の蛍光生体イメージングによる創傷治癒における
血管新生過程の解明
野一色 千景 (病態解析学/分子細胞構造学部門)
- 17:30-17:35 閉会の挨拶 遺伝子制御学部門 田中 信之
- 18:00-20:00 懇親会

平成29年度 日本医科大学 先端医学研究所公開セミナー

日時： 2017年9月27日(水) 13:00-18:00
(懇親会 18:30-20:30)

場所： 日本医科大学武蔵小杉病院 南館2F 講堂
(東急東横線・JR南武線 武蔵小杉駅 歩4分、東急東横線 新丸子駅 歩6分)

プログラム:

特別講演

真鍋 一郎 先生(千葉大学大学院・医学研究院・長寿医学部門)
「システム間連携による恒常性の維持と病態」

先端研・病院所属の研究者による一般口演

上村 尚美 先生(細胞生物学部門)
「糖尿病モデルマウスのin vivo酸化ストレス解析と分子状水素の効果」

清水 幹容 先生(遺伝子制御学部門)
「がん細胞発生機構の解析 - ケモカインIL-8による新規糖代謝制御 -」

田口 雄亮 先生(生体機能制御学部門)
「低タンパク質栄養性脂肪肝は亢進したインスリンシグナル非依存的に起きる」

弓削 進弥 先生(病態解析学部門)
「ゼブラフィッシュ蛍光ライブイメージングを用いた、
新しい血管新生制御機構の解明」

土佐 眞美子 先生(武蔵小杉病院・形成外科)
「ケロイド発症に関わる新しい分子機構の解析」

先端研所属の研究者によるポスター発表(19演題)

★事前登録は不要です。どなたでもご参加いただけます。
懇親会の当日参加には、会費3,000円をお願いいたします。

運営事務局 & 問合せ:

日本医科大学 先端医学研究所 病態解析学部門

所在地: 〒211-8533 神奈川県川崎市中原区小杉町1-396

連絡先電話: 044-733-1821(内線8883)

連絡先Eメール: s-fukuhara@nms.ac.jp

■ 平成 29 年度 先端研リサーチ・コロキウム (Research Colloquium of I-AMS)

第 1 回 先端研リサーチ・コロキウム

日時：2017 年 5 月 11 日 (木) 18:00-20:00 (懇親会 18:30-20:30)

場所：日本医科大学武蔵小杉病院 南館 2F 講堂

演者：豊島 由香 (生体機能制御学部門)

「栄養状態に応答した代謝変動」

第 2 回 先端研リサーチ・コロキウム

日時：2017 年 7 月 20 日 (水) 17:00-19:00 (懇親会 19:30)

場所：日本医科大学武蔵小杉病院 南館 2F 講堂

演者：中嶋 亘 (遺伝子制御学部門)

「アポトーシスとこれまでの研究」

第 3 回 先端研リサーチ・コロキウム

日時：2018 年 2 月 16 日 (金) 17:30-19:30 (懇親会 19:30)

場所：日本医科大学武蔵小杉病院 南館 2F 講堂

演者：Wolf, Alexander (細胞生物学部門)

「Aging and the chemistry of oxygen 老化と酸化ストレス - 因果関係の検証」

【先端医学研究所公開セミナーおよびリサーチ・コロキウムについての感想】

先端医学研究所公開セミナーについての感想

細胞生物学部門 上村 尚美

先端医学研究所公開セミナーは昨年度までは毎月1回各部門の代表1名が発表するというスタイルで行われていました。今年度より年1回全員が発表するというスタイルに変更しました。変更にあたっては、従来のセミナーが慢性化していたこと、セミナー開始時刻が午後3時という中途半端な時間であり実験計画が組みにくいこと、発表者が偏っていたこと等の声が上がっていたと聞いています。このような問題点があった中で、病態解析学部門の福原先生が音頭を取ってくださり先端医学研究所セミナーの改革が行われました。新しくなった先端医学研究所セミナーでは、全員が発表するというスタイルをとりました。各部門の代表1名が口頭発表、他の全員はポスター発表を行いました。また、学外から特別公演の先生をお招きしていただきました。開会の挨拶の際に、南所長が「口頭発表の人は1回の笑いをとること」とおっしゃったのですが、実際に笑いを取れたのは1名だけでした。口頭発表を行った私自身を含め、少し堅苦しい発表だったかもしれません。実際に笑いを取るかどうかは別にしても、もう少しリラックスして発表でき質問できた方が良かったかもしれません。とはいえ、従来のセミナーでは、発表の順番がなかなか回ってこず、同じ研究所にしながらお互いの研究を知る機会が少なかったのですが、毎年全員が発表するセミナー形式に変更することによって研究交流が活性化されたと感じています。先端医学研究所セミナーの開催案内は研究所内だけでなく学内全体に行われたのですが、千駄木にいらっしゃる先生にも聴講に来ていただけて良かったと思います。新しい先端医学研究所セミナーの開催にあたっては、病態解析学部門の弓削先生、藤原先生、生体機能制御学部門の豊島先生、遺伝子制御学部門の中嶋先生、細胞生物学部門のWolf先生がセミナー運営委員となり福原先生の元で改革と方針、そして先端医学研究所をどう盛り上げるか話し合い運営されました。全部門で集まって相談し新しいスタイルを作り上げたことが良かったと思います。セミナー運営委員は年1回の全体セミナーの他にも Research Colloquium of I-AMS (先端研リサーチ・コロキウム) という希望者が自由に参加するセミナーも3回開催してくれました。こちらのセミナーは1名が1時間半の発表を行うという非常に内容の濃いセミナーです。日程調整から事前準備、当日の運営など年間を通じてセミナー運営を行っていただき、その結果、先端医学研究所に改革と活性化をもたらしていただいたことについて、セミナー運営委員の先生方に深く感謝申し上げます。

「先端医学研究所公開セミナーに参加しての感想」

付属病院形成外科、先端医学研究所 遺伝子制御学部門 土佐 眞美子

平成29年9月27日、日本医科大学武蔵小杉病院 南館 2F 講堂において、第1回日本医科大学先端医学研究所公開セミナーが開催されました。公開セミナーということで、先端医学研究所外からも基礎系や臨床の先生方が参加されていました。

私は、千駄木の形成外科で働いている臨床医ですが、現在、先端医学研究所の遺伝子制御学部門にて研究させていただいております。研究の目的はケロイドの特効薬を患者さんに届けることです。臨床をやりながらの研究は簡単ではありませんが、研究室の先生方のご指導のお陰で、少しずつ結果がでてきました。その一部を今回のセミナーで発表いたしました。臨床医の目線では気づくことができない質問や意見を聞くことができ、アットホームな雰囲気の中で、それぞれの所属や専門の枠を超えて自由にディスカッションできる機会は大変貴重であり、とても贅沢な時間でした。懇親会では、たくさんの先生と知り合い、さらに、突っ込んだ討論から、共同研究につながることもあります。病院に併設されている先端医学研究所だからこそ、臨床とのコラボレーションがしやすく、トランスレーショナルリサーチを実現できる環境だと思います。本公開セミナーのような機会が増えて、国内外からの講演者や参加者を迎えて、臨床医と基礎研究者との交流がさらに盛んになることを期待しております。第2回先端医学研究所公開セミナーの開催が今から楽しみです。

研究所セミナー変革への挑戦

生体機能制御学部門 豊島 由香

学会が終わって一息つきかけた6月初旬、突然「先端医学研究所紀要原稿の依頼」という題名のメールが届いた。開けてみると、昨年度の先端研セミナーについて感想を述べよとあった。なぜ、私にご指名なのかと思ったが、変革の発端である南所長の部下ゆえ、依頼を受けることにした。何を書くべきか迷ったが、まず、変革を試みるきっかけから書き始めてみようと思う。

時は遡って一昨年のある日、南所長が、議論のなされない研究所セミナーをどうにかしたいと言ってこられた。当時のセミナーは月1回午後3時から開かれていた。私は実験の調整が下手で遅刻・欠席が多かったので、意見を言える立場にはなかった。ほどなくして、南所長は、研究所の中心を成している30～40代の教職員を集めて、今後の研究所セミナーについて話合いの場を設けられた。しかし、良い意見がでないと嘆いておられた。そこで、遅刻欠席常習犯の私めが、各部門数名の教職員と話し合う旨、提案した。一昨年度末のことである。

数名で話あってみると、同年代ゆえの気安さか、様々な意見が出た。そのうちのいくつかをここに挙げる。

- ・時間をかけて発表準備をしても、質疑がなく、何のフィードバックも得られないのであれば、やる意味が分からない。
- ・議論無く終わってしまうのは、発言しにくい雰囲気の問題があるのではないか。
- ・研究所の教授が全員集まれる時間帯に開催したい。

このように、最初は不満や他力本願的な意見が多かったが、最終的には、形骸化したセミナーを話し手、聞き手、双方に実のあるセミナーに換えたいという意見にまとまった。

これらの意見を携えて、セミナー担当部門の福原教授を含めて再度議論した結果、カジュアルなセミナーとしてResearch Colloquium of I-AMSが誕生した。所員全員参加のフォーマルなセミナーは年に1回とし、半日かけて行われる“プチ学会”形式になった。

Research Colloquium of I-AMSは、より多くの人が発言しやすい雰囲気を作ろうと試みながら、年度内3回行われた。私たちの狙い通りに、議論の活発なセミナーにできたかということ、以前よりは少しましにできたと思う。ただ、質問する人が毎回ほぼ同じであること、勤務時間外では参加できないという意見があったこと等、問題もあった。

研究に携わっている人間は、ともすると視野が狭くなりがちである。それを広げるのに、セミナーは絶好の場所である。私が一昨年から参加している、ある学外セミナーでは、2人の発表者がそれぞれ1時間話した後、議論のためだけの時間が約1時間半設けられている。驚くべきことに、そのセミナーでは、毎回、1時間半では足りないくらい意見交換が盛んになされている。何が違うか。私自身も含めて参加者全員の研究所セミナーに“挑む”心構えが足りないのか。せっかく多様な研究分野の人間が縁あって集っているのに、活発な意見交換がなされないのはもったいない。古くからの慣習を変えるには覚悟と熱意が必要だが、今後の更なる改革と発展に期待したい。

Research Colloquium of I-AMS についての雑感

遺伝子制御学部門 阿部 芳憲

2017年度、先端医学研究所のセミナーが大きく変わりました。”Research Colloquium”というキャッチーなサブタイトルも添えて。忙しい中、新しい形のセミナーを開催する準備に奔走してくれた方々に感謝するとともに敬意を表します。個人的には、一人の演者の話をじっくり聞き、演者の考えや研究についてより深く理解したり、全員が研究内容について発表し、お互いの研究を理解できたりと、有意義な時間だったと思います。ただ、開催時間が夕方からだったため、時間的に参加が難しいなどの意見もあったようです。開催時間については、例えば1年のうち何回かは早い時間帯に、残りは夕方からという風にしても良いのかもしれませんが。そして開催する時間帯や参加人数などによって、例えば30分程度で話を完結する形や、時間を長くにとって演者との対話をより楽しむ形といったように、セミナーの性格を変えても良いのかもしれませんが。ただあまり細かくすると、運営面で難しくなってきましたが・・・。

どういう形であれセミナーは、何かを伝えたい人(演者)とそれに対して興味を持って聞きたい人たち(聴衆)との、心地よい「知のキャッチボール」の時間だという気がします。どちらかがあまりにも無謀なボールを投げたり、あまりボールを受け取る気がなかったりすると成立しません。上手なキャッチボールをする必要はありませんが、楽しくキャッチボールをしようとする姿勢が大事なのだと思います。理想的には、伝えたい人と聴きたい人たちの熱意が同じレベルに高まることなのかもしれません。

先端医学研究所はこじんまりした組織ですが、行われている研究テーマはバラエティーに富んでいます。セミナーを通じ、それぞれの分野で研究を進めている人たちの知識や経験や考え方を知ることで、自分の研究に新たな道筋がつけられるものかもしれません。また、自分が使ったことのないツールが、実は自身の研究を進める上でも、とても有益なことに気づかされるかもしれません。

でもそんな堅苦しいことは抜きにして、自分と異なるフィールドで研究している人たちの話を聞くことは、純粋に知的好奇心をくすぐるものだと感じます。純粋な知的好奇心に駆られ、心地よい「知のキャッチボール」を楽しむ人たちが気楽に集まれば、自然とセミナーは活気ある有意義な時間となるはずです。

そして、この研究所にいる一人一人が持つ知識と経験がこのセミナーで交わり、新しい研究の方向性が生まれるようなことがあれば、この研究所に在籍する人たちの叡智が結集した素晴らしい成果へ昇華されることでしょう。

先端研セミナーの総括・今後 — Research Colloquium of I-AMS in 2017 —

病態解析学部門 弓削 進弥

2017年度、日本医科大学先端医学研究所（以下先端研）セミナーは、私が所属する病態解析学部門が幹事となり、他部門それぞれの代表1名に協力していただき、以下のように大幅に変更して行ないました。

公式の全体の会を、年1回に集中させ、2017年9月27日に講堂にて、『平成29年度日本医科大学先端医学研究所公開セミナー』（以下『全体セミナー』）として開催しました。半日かけて、先端研全部門全研究者（准教授・講師・助教・ポスドク・学生）による口頭発表・ポスター発表、武蔵小杉病院の土佐眞美子先生による先端研との共同研究の発表、さらに千葉大学よりお招きした真鍋一郎教授による特別講演「システム間連携による恒常性の維持と病態」を行ない、最後に同じ講堂で、自分たちで飲食物を買い集めて懇親会を行ないました。

まず各部門と土佐先生の発表では、酸化ストレスと水素、がん、栄養と代謝、血管新生、ケロイドと、先端研ならではの広範な医学研究の発表・議論が活発に行われました。普段分野が違うためお互いの研究の状況が分かりにくい中、こうやって他者の発表をまとめて集中して聴いてみると、お互い頑張っている！という刺激と励みを体感できました。次に真鍋先生の特別講演では、腎臓でKlf5をノックアウトすると心不全が起こる例などを挙げられ、神経や血液が臓器間での病気の連携にも加担しているメカニズムをご紹介いただき感銘を受けました。臓器間の連携と言うと、ナトリウム利尿ペプチド（ANP、BNP）というホルモンが心臓から分泌されて腎臓でナトリウム利尿を促し血圧を降下させるというメカニズムが思い出されます。さらに私は、自身が以前研究していた、腸で高塩分摂取を感知して腎臓でナトリウム利尿を促す連携の可能性（グアニリンというホルモン？）を思い出しました。臓器間の連携の解明は今後ますます重要な課題だと改めて思いました。

希望者による勉強会は、年3回（5月、7月、2月）、『Research Colloquium of I-AMS -肴の会-』（以下『勉強会』）と銘打ち、夕方17時以降に1.5時間程度開催しました。その後簡単な懇親会も行ないました。リラックスした雰囲気、先端研メンバーの1人に、現在の研究だけでなく、自己紹介、過去の研究、今後の展望、科学への興味など自由に話していただき、参加者皆で型に縛られない研究交流を目指しました。豊島由香先生は、栄養と代謝の研究で途中くじけそうになったエピソードを、中島亘先生は、がん研究で理想と現実のはざまでの苦悩を、Wolf, Alex先生は、物理学から生命科学へ転換された研究人生を語って下さいましたが、こういう自由な会も、先端研ならではのものだと感じました。

このような変化に至った背景には、以前の先端研セミナーで質疑応答・議論が不活発、出席者が少ない、何となくやるという状況がありました。以前の毎月1回15-16時開催の形式では、昼間の実験が中断されてしまうこと、病院の先生方が参加できない時間帯であることなどの問題もありました。さらに、セミナーよりもBBQや忘年会などのイベントが盛り上がる状況もありました。

セミナー形式の変更後、全体の会は、年1回に絞ったことで、多くの方が予定を調整して参加しやすくなり、集中して活発な研究交流ができ、活性化しました。参加者が多く、外部の研究者もおられる会で

すから、場もより締まりました。真鍋先生の特別講演では議論の延長でその後のポスター発表と懇親会が遅くなり、手作りの懇親会の準備が幾分スムーズにいかない事態も起きました。しかし、研究議論が盛り上がり過ぎてパーティーが遅くなるというのは研究者にとって悪いことではないと思います。総じて全体の会は大成功だったと確信しております。いっぽう勉強会でも、以前のセミナーよりも質疑応答・議論は活発になりましたし、リラックスした会だからこそ、マウスとラットの違いなど研究のちょっとした雑談も聴くことができるようになりました。そういう雑談から科学の面白さを再認識させられ、新たなモチベーションが生じることもあります。ただ、希望者のみが自由に研究交流するという趣旨がうまく伝わっていなかった点もあり、自由な勉強会は、まだ試行錯誤の段階かもしれないです。

以上のように平成29年度の先端研セミナーは大きく変更しましたが、この変更のきっかけは、年度の最初に先端研の講師2名が病態解析学部門に提案して下さったことでした。そして同部門教授の下、運営や発表の座長などを講師・助教が中心になって行ない、懇親会を先端研の皆で手作りで行ないました。つまり、新しい先端研セミナーを、中堅～駆出しの研究者で盛り上げようとしたのです。その結果、セミナー中「自分たちが何か少しでも発言しないと！」というプレッシャーを感じ、より集中してセミナーに臨めるようになった研究者も増えたと思います。私自身そうでした。さらにもう1つ、先端研の事務の方々も陰ながら協力して下さいました。部屋とスクリーンとプロジェクターをそれとなく準備して下さいました。懇親会の飲食物をお店まで取りに行き下さったりして、本当に感謝しております。事務の方々まで協力して下さいるセミナーを開催できる先端研は、まさに活性化しているのではないのでしょうか？

今後の課題です。このような内部の会でも、質問することは、日本の雰囲気、日本人の性質、もしかしたら特に医学系では、簡単ではないようです。特にポスドクや学生など若手の中にはそう思われる方も少なくないと思います。そこで質問常連者の先生方は、「聞き逃していたら申し訳ないのですが、」「～の研究はよく知らなくて申し訳ないのですが、」などの前置きをすると発言しやすくなるとおっしゃっていました。聞いていなかった、寝ていた、全く分かっていなかったことへ言い訳して幾分気持ちを楽しむそうです。しかしそれでも、質問するために考えて問題提起する努力をしていることは、決して悪いことではないです。さらに私の大学院時代の恩師(現在退官)のお話です。先日学会でお会いした際、「日本人は恥ずかしくて質問しないよな？僕は質問するぞー！」と、分野など関係なくあちこちで質問をされていました。聴衆に苦笑されることもあるほどでした。でもその傍で私は頑張ろうと思いました。偉い先生が、恥も外聞もなく、ただただ研究に向き合っている姿に感銘を受けたからです。こういう雰囲気も大事かもしれません。

先端研セミナーを活性化させることにどんな意義があるかを考えることも大事だと思います。まずは自分の成果を出さなくてはなりません。もしかしたら、先端研で自分と違う分野のセミナーに無理して頻繁に参加するよりも、自分の分野のセミナーに参加した方がよいかもしれません。しかし一般的に、セミナーなどの研究討論・交流が活発な組織は全体として成果も上がっていくようです。

私は、この1年、先端研セミナーを作って盛り上げていく過程に携われて多くのことを学びました。その過程で、周りの研究者の皆様と交流ができました。研究で集まった人々と親しくするには研究活動と一緒にするのが一番です。そして多くの方々にご協力いただきお世話になりました。皆様と、この貴重な機会に深く感謝申し上げます。

平成29年度（2017年度）先端医学研究所年間行事

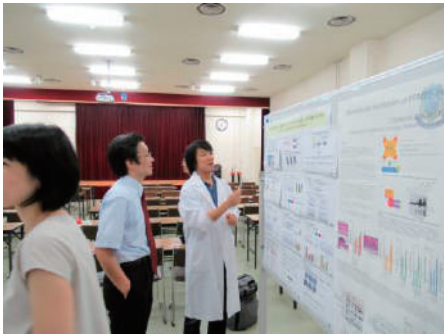
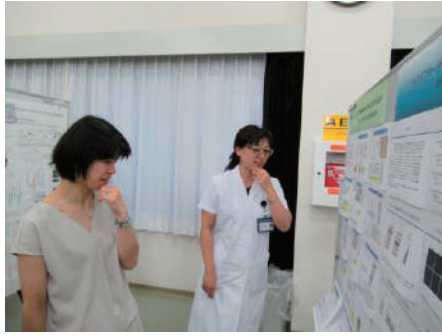
2017/4/1	年度初め
2017/5/11	第1回 先端研リサーチ・コロキウム
2017/7/20	第2回 先端研リサーチ・コロキウム
2017/8/30	先端研暑気払いバーベキュー
2017/9/27	平成29年度 日本医科大学先端医学研究所公開セミナー
2017/10/1	岩井佳子大学院教授着任（細胞生物学部門）
2017/12/22	先端研忘年会
2018/2/16	第3回 先端研リサーチ・コロキウム
2018/2/16	岩井佳子大学院教授歓迎会

先端医学研究所公開セミナー 2017/9/27



千葉大学 真鍋先生にご講演
いただきました。

先端医学研究所公開セミナー



忘年会 2017/12/22

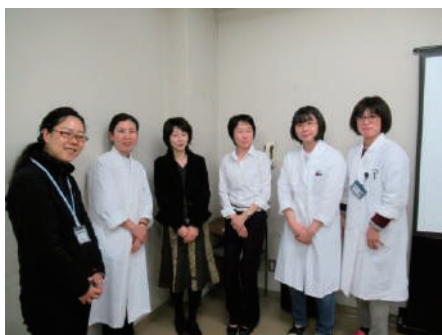


忘年会



岩井大学院教授歓迎会

2018/2/16



平成29年度(2017年度)競争的研究資金獲得状況

【病態解析学部門】

- (1) 日本医療研究開発機構 (AMED) 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」
研究代表者 福原 茂朋
- (2) 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」
研究代表者 福原 茂朋
- (3) 科学研究費補助金 挑戦的研究 (萌芽)
「血管新生における血管内腔圧の新たな機能の解明」
研究代表者 福原 茂朋
- (4) 科学研究費補助金 若手研究 (B)
「ゼブラフィッシュ成魚で確立したライブイメージング法による創傷時血管新生機構の解明」
研究代表者 弓削 進弥
- (5) 武田科学振興財団 2017 年度生命科学助成
「血管新生を収束に導く分子機構とその破綻による疾患発症機構の解明」
研究代表者 福原 茂朋
- (6) 第 49 回 (2017 年度) 内藤記念科学振興財団内藤記念科学奨励金 (研究助成)
「力学的刺激による血管新生の制御メカニズムとその血管再生医療への展開」
研究代表者 福原 茂朋
- (7) 平成 29 年度 (第 49 回) 高松宮妃癌研究基金研究助成金
「腫瘍血管新生と生理的血管新生の違いから新たな癌の分子標的を探索する」
研究代表者 福原 茂朋

【細胞生物学部門】

- (1) 日本私立学校振興・共済事業団学術研究振興資金
「非コード RNA を分子基盤とした包括的がん治療戦略の開発」(代表: 鈴木秀典)
岩井 佳子
- (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)
「水素分子の炎症制御機構解析 - 慢性炎症を基盤とした生活習慣病対策に向けて -」
上村 尚美
- (3) 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)
「Oxidative stress in skeletal muscle exercise and injury」
WOLF Alexander

- (4) 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）
「水素分子の虚血再灌流障害後の予後改善効果と作用機序の解明」

横田 隆

- (5) 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）
「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

【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 基盤研究（B）
「肺がんの成因及び再発に関わるがん幹細胞の発生とがん微小環境での維持機構の解析」

田中信之

- (3) 日本学術振興会科学研究費補助金 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

- (4) 日本学術振興会科学研究費補助金 若手研究（B）
「低酸素応答因子 HIF-1 α による薬剤耐性獲得機構と癌幹細胞維持機構の解析」

岩淵（吉田）千里

【生体機能制御学部門】

- (1) 科学研究費補助金 基盤研究（C）

鈴木（豊島）由香

- (2) 文科省「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30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
ポスト・ドクター	西村 裕介
ポスト・ドクター	園井 理恵
整形外科・助教	友利 裕二
大学院生	野一色千景 (形成外科)
アシスタント・スタッフ	一宮 治美
アシスタントサポート・スタッフ	小栗 エリ
秘書兼技術スタッフ	加藤久充子

II. 細胞生物学部門

大学院教授	岩井 佳子
准教授	上村 尚美
講師	Wolf Alexander Martin
マネジメントサポート・スタッフ	横田 隆
マネジメントサポート・スタッフ	西檜貴代美

III. 遺伝子制御学部門

大学院教授	田中 信之
講師	中嶋 亘
客員講師	川内 敬子
助教	阿部 芳憲
助教	上原 郁野
助教	谷村 篤子
テクニカル・スタッフ	浅野 由ミ
ポスト・ドクター	清水 幹容
ポスト・ドクター	岩渕 (吉田) 千里
ポスト・ドクター	鈴木 淳也
大学院生	中道 真仁
実験補助	枝川 聖子
実験補助	河越 美保
実験補助	高寺 俊美
形成外科・講師	土佐 眞美

IV. 生体機能制御学部門

大学院教授

南 史朗

准教授

折笠千登世

講師

豊島 由香

助教

中田 朋子

マネジメントサポート・スタッフ

勝又 晴美

テクニカル・スタッフ

時田 玲子

ポスト・ドクター

田口 雄亮

ポスト・ドクター

加藤 陽子

ポスト・ドクター

有澤 琴子 (平成29年4月～11月)

大学院生

矢野 宏行

特別研究生

鈴木 信周

研究生

八木 孝

研究生

鈴木るり子

研究生

藤井加代子

研究生

大槻 昌子

パート事務員

大木佳菜子

V. 分子生物学部門

テクニカル・スタッフ

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

IX. 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

X. 事務室

事務室長代理・係長

小川 泰子

事務員 (嘱託)

里見 裕右

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3巻

平成30年9月30日印刷

平成30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