



筑波大学

生存ダイナミクス研究センター

Life Science Center for Survival Dynamics, Tsukuba Advanced Research Alliance (TARA)

University of Tsukuba



令和元年度年報

Annual Report 2019

まえがき

当センターは 1973 年のノーベル物理学賞受賞者である江崎玲於奈 筑波大学学長（当時）の発案により、1994 年 5 月 20 日に筑波先端学際領域研究センター（Tsukuba Advanced Research Alliance Center；TARA センター）として発足しました。その後、対象とする研究領域を自然科学全般から生命領域学際研究に特化した大規模な改組再編を 2010 年 10 月 1 日に行い、さらに 2018 年 4 月 1 日からは名称を生存ダイナミクス研究センターと改めました^{注1)}。



細胞・個体・種が達成した動的生存戦略の解明

今回の改名の背景には、「ゲノム情報ビッグバン」といわれる近年の生命科学分野の大変革があります。ヒトを含む多くの生物のゲノム^{注2)}が次々に解読されたことに端を発し、膨大なゲノム情報の発現調節機構と生命現象との関連性を研究する分野が急速に進展し始めました。私たちは生命現象の中で特に環境変動に動的に適応する細胞や個体や種の生存戦略とその多様性に焦点を当てた基礎研究を牽引し、社会が要請する「人類の調和のとれた持続的発展」に貢献します。

先端機器の共同利用も提供できる共同研究拠点形成

このような生物の動的生存戦略（生存ダイナミクス）とその多様性を解明するためには、次世代シーケンサー、質量分析、クライオ電顕、非破壊イメージングなどの先端機器を駆使し、膨大なゲノム関連情報と複雑な生命現象を的確に情報処理することが必須です。当センターは、これらを活用した共同利用・共同研究拠点を形成することで世界をリードする先端的基礎研究を推進します。さらに、大規模国際共同研究を実行できる組織体制への発展も目指しています。

プロジェクト制を支える若手教員の任期制（最長 10 年）

当センター最大の特徴はプロジェクト制の運用です^{注3)}。この制度の第一の魅力は国際的研究実績を挙げた研究者をプロジェクト教授として選考し、その研究を複数の任期制若手教員がサポートする点です。第二の魅力はプロジェクト教授の退職と同時にプロジェクトを解散し、その研究分野は継承せず（伝統に捉われず）、将来進展が期待される分野を新たに選定し直し新規プロジェクトを発足させる点で、これらにより常に世界トップレベルの研究成果を発信してきました。

ところが 2013 年の労働契約法の改正で若手教員の任期を 5 年以上延長できなくなり、当センターが採用してきたローリングテニュア制（審査で任期を更新できる任期制）も違法となつたため、これを廃止しテニュア制へ移行しました。しかしこの制度では審査に合格すればプロジェクト解散後も当該プロジェクトの若手教員の雇用を継続しなければなりません。このため当センターの魅力の一つであるプロジェクト解散後の完全なリニューアルが危惧される事態になりました。

そこで昨年7月から新任若手教員に対しテニュア制ではなく最大10年の任期制を適用することにしました^{注4)}。任期を最大10年にできるのは、大学でのプロジェクト制には「科学技術・イノベーション創出の活性化に関する法律」による「労働契約法の特例」が適用されるからです。これにより若手教員から長期的なサポートが得られ、彼らにプロジェクトの期間に合わせた任期を付すことでプロジェクト教授の退職と同時にプロジェクトのリニューアルが可能になりました。

私たちは現在この任期制を学内プロジェクト^{注5)}にも活用する案を検討中です。例えば系に所属し、生存ダイナミクス分野の研究をしている教員の中から将来性のある研究課題を申請した教員を選考し、当センターの助教ポストを3年間提供して共同研究を推進したいと考えています。

2020年8月



国立大学法人筑波大学
生存ダイナミクス研究センター
センター長 林 純一

脚注

注1) 当センターの略称はこれまで親しまれてきた「TARAセンター」を変更せずに使用しています。また、発足時に制定された当センターのロゴも変更しません。ちなみにこのロゴは、白（透明）が筑波大学の地図、茶色が大地、青が空（宇宙）を表しています。

注2) 核酸を素材とする生物の設計図。

注3) 「1. センター組織と構成員」の項参照：2019年度は丹波隆介教授が新しいプロジェクト（生理ダイナミクス）の教授として着任し、合計6プロジェクトでの編成になりました。現在さらに1つのプロジェクトを公募する計画です。

注4) この任期制は丹羽隆介教授の新しいプロジェクトを支える新規採用の助教（2020年度着任）に初めて適用されました。

注5) 学内プロジェクトとは、TARAセンター発足時に導入された制度で、一部のプロジェクト教授は当時の学系（現在の系に相当）に所属したままで、TARAセンターから研究費、研究スペースに加え任期付教員のポストが提供されました。その後、TARAセンターから生命領域学際研究センターへの改組再編に伴い学内プロジェクトは廃止になりましたが、現在全く新しい制度として復活させることを検討しています。

目 次

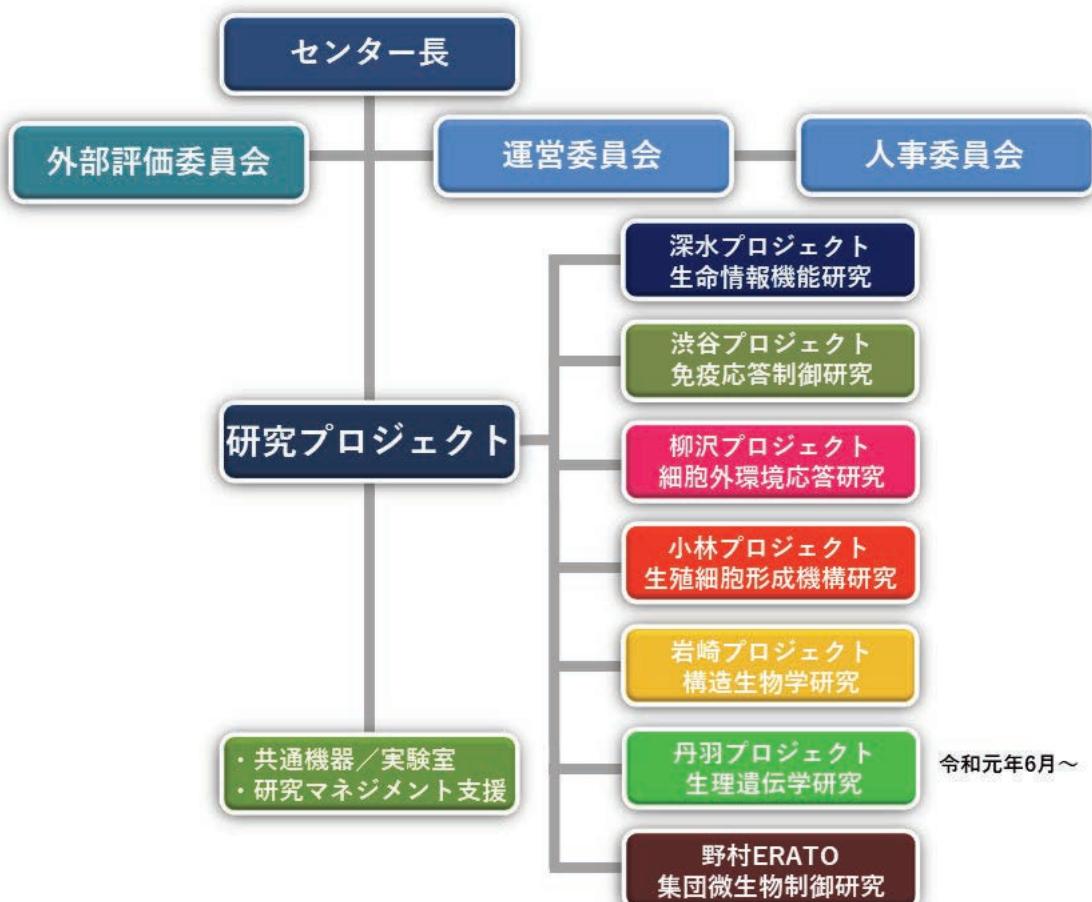
まえがき

生存ダイナミクス研究センター長 林 純一

1. センター組織と構成員	1
2. プロジェクト活動報告	
専属プロジェクト	
生命情報機能研究／代謝ダイナミクス	(深水プロジェクト) 6
免疫応答制御研究／免疫ダイナミクス	(渋谷プロジェクト) 17
細胞外環境応答研究／循環ダイナミクス	(柳沢プロジェクト) 31
生殖細胞形成機構研究／生殖ダイナミクス	(小林プロジェクト) 44
構造生物学研究／構造ダイナミクス	(岩崎プロジェクト) 55
生理遺伝学研究／生理ダイナミクス	(丹羽プロジェクト) 70
連携プロジェクト	
集団微生物制御研究	(野村ERATO) 81
3. プレスリリース	99
4. 公募型研究プロジェクト (TARA プロ)	163
5. アウトリーチ活動	
TARA セミナー	168
TARA 見学	172

1. センター組織と構成員

生存ダイナミクス研究センター組織図



組織人員・教員一覧リスト

センター長

林 純一

副センター長

深水 昭吉

外部評価委員会

※令和元年度設置せず

運営委員会

委員長 林 純一
委員 深水 昭吉
委員 濵谷 彰
委員 柳沢 裕美
委員 小林 悟
委員 岩崎 憲治
委員 丹羽 隆介
委員 山本 泰彦 (数理物質系)
委員 馬場 忠 (生命環境系)
委員 谷本 啓司 (生命環境系)
委員 野村 暢彦 (生命環境系)
委員 高橋 智 (医学医療系)
委員 島野 仁 (医学医療系)
委員 牧野 昭二 (システム情報系)

人事委員会

委員長 林 純一
委員 深水 昭吉
委員 濵谷 彰
委員 津村 義彦 (生命環境系)
委員 馬場 忠 (生命環境系)
委員 野村 暢彦 (生命環境系)
委員 杉山 文博 (医学医療系)
委員 高橋 智 (医学医療系)
委員 牧野 昭二 (システム情報系)

研究プロジェクト ※TARA プロ採択による客員研究員はまとめて掲載

深水プロジェクト

教授 深水 昭吉
講師 石田 純治、大徳 浩照
助教 金 俊達
研究員 田島 達也、陸 偉哲
客員教授 水上 春樹

澁谷プロジェクト

教授 澁谷 彰
講師 田原 聰子
助教 鍋倉 宰、佐藤 和貴
研究員 林 杏子、王 亜秋、Anh Van Vo
客員研究員 本多 伸一郎

柳沢プロジェクト

教授 柳沢 裕美
助教 佐田 亜衣子（R1.10.1～客員准教授）、山城 義人
研究員 Erna Raja
客員教授 館野 浩章

小林プロジェクト

教授 小林 悟
助教 林 誠、林 良樹、島田 裕子
研究員 浅岡 美穂、太田 龍馬、森田 俊平

岩崎プロジェクト

教授 岩崎 憲治
助教 宮崎 直幸、堀越 直樹

丹羽プロジェクト

教授 丹羽 隆介（R1.6.1 着任）

TARA プロジェクト採択に伴う客員研究員

今井 祐記 (愛媛大学)
鈴木 芳代 (量子科学技術研究開発機構)
廣田 恵子 (東京女子医科大学)
藤間 祥子 (奈良先端科学技術大学)
柏谷 善俊 (千葉大学)
杉浦 秀和 (東京女子医科大学)
常住 淳 (横浜市立大学)

林 立申 (茨城県立こども病院)
小川 毅彦 (横浜市立大学)
重信 秀治 (自然科学研究機構)
吉崎 悟朗 (東京海洋大学)
尾畠 やよい (東京農業大学)
大原 裕也 (静岡県立大学)
波平 昌一 (産業技術総合研究所)
禾 晃和 (横浜市立大学)
小野 肇 (京都大学)

2. プロジェクト活動報告

専属プロジェクト

生命情報機能研究／代謝ダイナミクス	(深水プロジェクト)
免疫応答制御研究／免疫ダイナミクス	(渋谷プロジェクト)
細胞外環境応答研究／循環ダイナミクス	(柳沢プロジェクト)
生殖細胞形成機構研究／生殖ダイナミクス	(小林プロジェクト)
構造生物学研究／構造ダイナミクス	(岩崎プロジェクト)
生理遺伝学研究／生理ダイナミクス	(丹羽プロジェクト)

連携プロジェクト

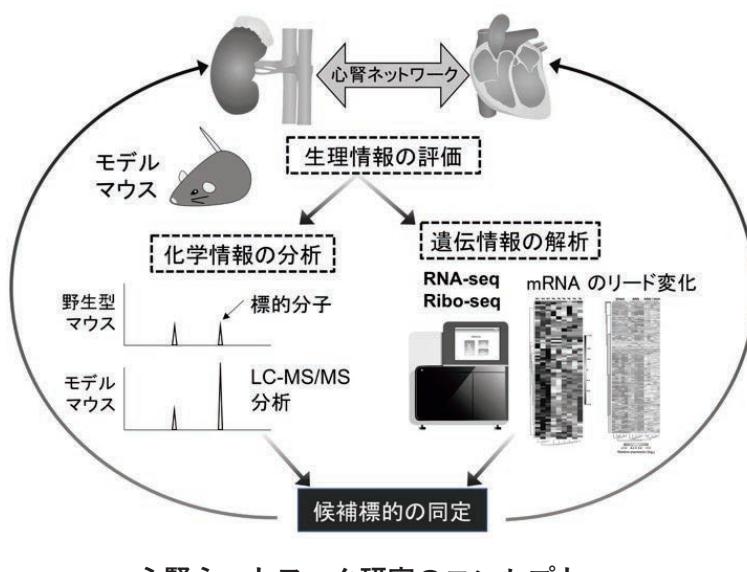
集団微生物制御研究	(野村 ERATO)
-----------	------------

代謝ダイナミクス

「遺伝情報から読み解く心腎機能」

心臓・血管・腎臓の臓器間ネットワークには、細胞に信号を伝達する「化学情報」として、ホルモンや代謝物質などが働いている。例えば、昇圧ホルモン・アンジオテンシン II、アミン類（カテコールアミン等）、メチルアミノ酸誘導体、一酸化窒素（NO）や活性酸素種（ROS）などは生体の恒常性維持に重要な役割を果たしている。2019年度に我々は、心臓と腎臓の機能低下が相互に影響を及ぼす高血圧誘導性の心腎連関の改善にヒスタミン受容体に対するアゴニストが有効であることなど、新しいモデルマウスの作製・解析から得られる「生理情報」の変動の意義について、変化する心臓・腎臓の「遺伝情報」を定量的に解析することで明らかにしてきた。

The cardiovascular (heart and kidney) interorgan network contains chemical information that transmits signals to cells, and such as hormones and metabolic and other substances are acting to regulate the homeostasis of our body. For example, angiotensin II, amines (e.g., catecholamines), methyl amino acid derivatives, nitric oxide (NO) and reactive oxygen species (ROS) are used to maintain biological homeostasis. In 2019, we have found that an agonist for a histamine receptor is effective in improving the hypertension-induced cardiorenal damages and revealed the significance of the changes in physiological information obtained from new mouse models by a combination of quantitative and comprehensive analyses of genetic information.



2019年度 深水研究室集合写真

プロジェクトメンバー

教授

深水 昭吉

講師・助教

石田 純治

大徳 浩照

金 俊達

加香 孝一郎 (生命環境系)

生命環境科学研究所

博士後期課程

権 哲源

安藝 杏梨

藤高 啓右

矢野 秀法

齊藤 航

岡村 浩

陸 健哲 (HPB)

博士前期課程

中島 実咲

中原 大輔

田原 早央莉

林 岳宏

霍 思全

室町 直人 (フロンティア医科学)

生物資源学類

岸川 奈那

染谷 百香

中村 夏奈子

春木 陽香理

森 遙佳

姚 遠 (G30)

談 韋倫 (G30)

張 文瑜 (Japan Expert)

秘書

飯島 美穂

川崎 結子

研究概要

【心腎不全モデルマウスの遺伝情報解析による抗炎症作用の同定】

心不全などの心血管疾患や、慢性腎臓病による腎不全は主要な死因の一つである。「心腎連関」（図1）は、心臓血管病患者では高率に腎機能障害を併発し、心臓血管病患者にとって慢性腎臓病併発が最も強力な予後不良因子であることが疫学的に認められたことや、慢性腎臓病患者は心不全に代表される心臓血管病を高率に合併することなど、心臓血管病と腎臓病は密接に関与して相互に影響しあうことから認識された概念である。治療へのアプローチや心腎病態のメカニズムを理解する要素として、レニン-アンジオテンシン系、交感神経系、酸化ストレスや炎症などが挙げられているが、有用な病態モデル動物の開発や創薬標的の検証が進展していなかったため、心腎連関の根底にある分子の仕組みは明らかになっていなかった。

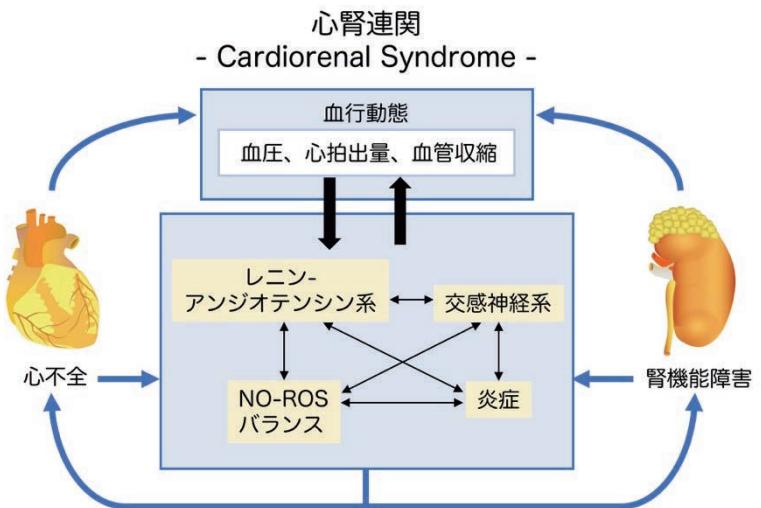


図1 心腎連関の概念図

心不全の患者3人のうち1人に中等度以上の腎機能の低下が生じ、さらに、急性心不全で入院・治療を受けた患者の2~3割が急性腎障害を起こしている。このように“心腎連関症候群”の臨床的知見が蓄積され、心臓病と腎臓病の個別研究から臓器間ネットワーク研究へと展開する機が熟している中、本研究では、アンジオテンシンII（血圧上昇ホルモン）投与(A)、片腎摘出(N)、食塩水負荷(S)によって心機能低下や心肥大といった心不全を呈するマウス(ANSマウス)について、腎臓の機能変化を詳細に解析した。その結果、ANSマウスには心不全に加え、腎尿細管障害や糸球体の構造異常が認められ、タンパク尿を伴う慢性腎臓病の所見を示したことから、ANSマウスが心腎連関病態を解析する上で有用なモデルであることを明らかにした。

次いで、ANSマウスの血中成分を質量分析で解析したところ、有意な増加を示した低分子アミンとしてヒスタミンを同定した。ヒスタミンはアレルギーや炎症反応に関与することで知られているが、心腎連関での役割は未解明である。そこで、ANSマウスへのヒスタミン受容体の阻害剤投与や、遺伝的にヒスタミンを合成できないノックアウトマウスを利用してANSモデルを作出したところ、心腎病態が悪化することが判明した。一方で、ヒスタミンH3受容体のアゴニスト(Imm)の投与で心臓と腎臓の病態が改善したことから、ImmがANSマウスの心臓と腎臓の機能障害に保護的に作用することを見出した。

さらに、次世代シークエンサーを用いた腎臓の網羅的遺伝情報解析から、ANS マウスで炎症関連遺伝子群の発現亢進を認め、実際に ANS マウスの血液中で炎症マーカータンパク質が増加していることを確認した。それらは Imm で抑制されたことから、Imm は ANS マウスに対して抗炎症作用を発揮することが明らかになった。ANS マウスと Imm を用いた本研究の結果は、心腎連関仲介因子としてのヒスタミンの役割や、Imm の抗炎症作用による心腎病態改善の可能性を示している。

本研究の成果について、認知機能障害やてんかん発作を標的として開発されたヒスタミン受容体のアゴニストに心腎連関の病態を改善するポテンシャルがあり、ドラッグリポジショニングへの発展の可能性を示した点が評価され、掲載雑誌 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA) の COMMENTARY (117, 5550-5552, 2020) に取り上げられ論評された。

【受容体間の機能的相互作用による血管収縮機構の解明】

血圧の維持には、血管平滑筋細胞と血管内皮細胞による血管の収縮と弛緩の調節が重要である。本研究グループは、血管組織の平滑筋細胞と内皮細胞の両者に発現するホルモン受容体 APJ について、APJ が一酸化窒素の産生を介して血管を弛緩することを明らかにしてきた。一方で、APJ は血管を収縮させることができていたが、その作用の詳細については、不明な点が多く残されていた。

本研究では、血管平滑筋細胞にて APJ 遺伝子を過剰発現するマウス (SMA-APJ マウス) を作製し、血管の収縮機能を解析したところ、APJ リガンドであるアペリン (ペプチド) の刺激によって SMA-APJ マウスの血圧が上昇した。さらに、SPRING-8 での *in vivo* (生体内) 血管イメージング解析から、アペリン刺激が SMA-APJ の血管を収縮させることを明らかとした。次いで、SMA-APJ マウスからの単離血管を用いた解析によって、APJ は $\alpha 1A$ アドレナリン受容体との同時刺激で、血管を強力に収縮すること、また、APJ と $\alpha 1A$ アドレナリン受容体がヘテロダイマーを形成することを見出した。

これまで知られていなかった APJ と $\alpha 1A$ アドレナリン受容体による血管平滑筋の収縮機構を明らかにし、ホルモン受容体 APJ による血管収縮には、 $\alpha 1A$ アドレナリン受容体との機能的な協調作用が重要であることを示した (図 2)。

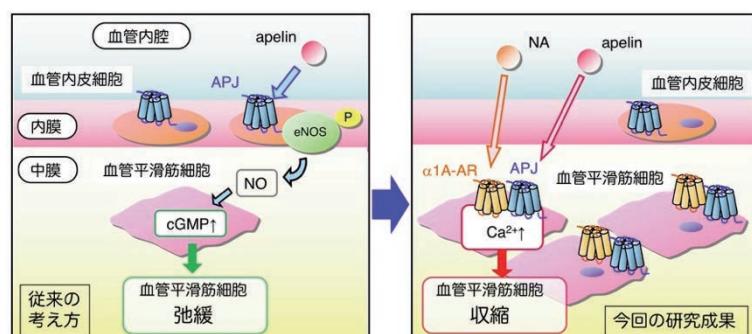
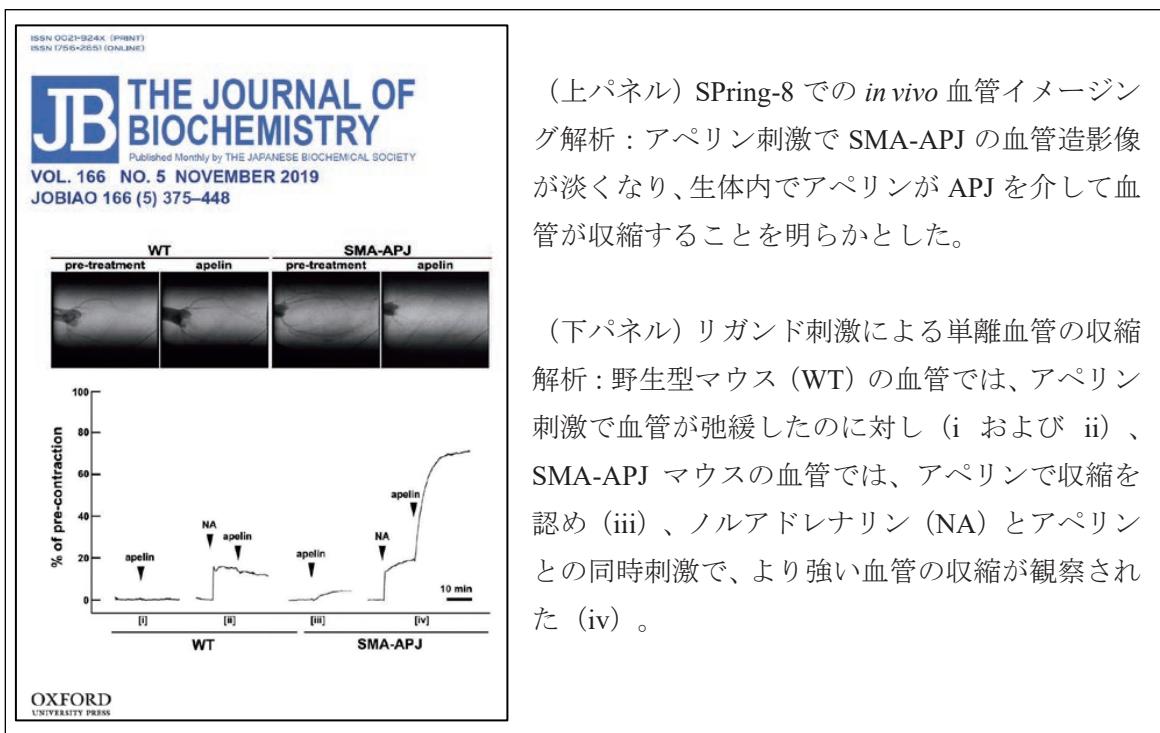


図2 受容体間相互作用による血管収縮

血管の収縮や狭窄の新しい仕組みを提唱する本論文の重要な図が、The Journal of Biochemistry の掲載号の表紙（下図）に採用された。



(上パネル) SPring-8 での *in vivo* 血管イメージング解析：アペリン刺激で SMA-APJ の血管造影像が淡くなり、生体内でアペリンが APJ を介して血管が収縮することを明らかとした。

(下パネル) リガンド刺激による単離血管の収縮解析：野生型マウス (WT) の血管では、アペリン刺激で血管が弛緩したのに対し (i および ii) 、SMA-APJ マウスの血管では、アペリンで収縮を認め (iii) 、ノルアドレナリン (NA) とアペリンとの同時刺激で、より強い血管の収縮が観察された (iv) 。

【これからの展開】

化学情報・生理情報・遺伝情報の融合研究の開拓

心臓と腎臓は相互に生理機能をクロストークすることで恒常性維持に必須の役割を果たし、心腎病態の悪化は虚血性心疾患、脳梗塞や腎不全などの疾患リスクを高めるため、心腎連関の詳細な発症・制御機構の解明に向けて「心腎機能を連携システムとして捉える」ことが必要である。血管平滑筋の著しい収縮は、血管の狭窄の原因となり、虚血性心疾患や脳梗塞など、心血管疾患のリスクを高めるが、血管収縮の詳細な制御機構の解明は途上である。本研究で開発した SMA-APJ マウスは、正常な血管の収縮の制御の仕組みや、血管狭窄の発症メカニズムを探るための有用なモデル動物になると期待される。血管の内皮細胞と平滑筋細胞、また、心腎連関を含む組織間や臓器間の連携の研究は大きく発展する分野として注目されるが、生理学・薬理学的・遺伝学的な解析に加え、遺伝子発現の全体像を把握するバイオインフォマティクスの情報とリンクさせながら「病態モデル動物の作製と評価」、「生理活性物質の分析探索」と「遺伝情報解析」を組合せる本研究のようなアプローチは、時空間的な病態進展機序の理解や治療法の開発のヒントとなる波及効果が期待できる。

近年、急速な少子高齢化が進む我が国にとって、高齢者の健康維持や疾病予防を実現す

る「健康寿命の延伸」は重要な課題である。昨年度に引き続き、加齢に伴い変化するメチル化の生理機能を理解するため、線虫の 246 個のメチル化酵素の siRNA ライブラリーの作製やノックダウン (KD) スクリーニングを行い、tRNA や rRNA のメチル化酵素を同定するなど、メチル化マシンナーと寿命延伸の関連性についても研究を進めている。マウスや線虫の動物モデルの作製と解析の視点から、老化や疾患の基本原理に関する化学情報、生理情報、遺伝情報から得られる智見を、横断的そして縦断的に深化、俯瞰して研究を進めることで、生体恒常性の基本原理の理解や、創薬・ドラッグリポジショニングへの応用に対して、今までにないヒントが得られるものと期待している。また、食品から摂取される栄養調節という側面からも新しい情報が提供できると考えている。今後も「代謝ダイナミクス」プロジェクトでは、線虫とマウスというモデル動物を活用しながら、生物の生存戦略の重要性を解き明かし、国民の健康維持に貢献していきたい。

(参考) 以上の研究は、2019 年度に筑波大学からプレスリリースされた。

<http://www.tsukuba.ac.jp/attention-research/p202001280500.html>

<http://www.tsukuba.ac.jp/attention-research/p201910241400.html>

2019 年度研究業績

原著論文（全て査読あり）

M. Hashimoto, Y. Hirata, C. Yonekawa, K. Takeichi, A. Fukamizu, T. Nakagawa, and Y. Kizuka (2020)

Region-specific upregulation of HNK-1 glycan in the PRMT1-deficient brain. **Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.** 1864, 129509.

K. Noguchi, J. Ishida, JD. Kim, N. Muromachi, H. Mizukami, W. Lu, T. Ishimaru, S. Kawasaki, S. Kaneko, J. Usui, K. Yamagata, and A. Fukamizu (2020)

Histamine receptor agonist alleviates severe cardiorenal damages by eliciting anti-inflammatory programming. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 117, 3150-3156.

K. Otani, T. Tokudome, CA. Kamiya, Y. Mao, H. Nishimura, T. Hasegawa, Y. Arai, M. Kaneko, G. Shioi, J. Ishida, A. Fukamizu, T. Osaki, C. Nagai-Okatani, N. Minamino, T. Ensho, J. Hino, S. Murata, M. Takegami, K. Nishimura, I. Kishimoto, M. Miyazato, M. Harada-Shiba, J. Yoshimatsu, K. Nakao, T. Ikeda T, and K. Kangawa (2020)

Deficiency of cardiac natriuretic peptide signaling promotes peripartum cardiomyopathy-like remodeling in the mouse heart. **Circulation** 141, 571-588.

K. Nagano, C. Kwon, J. Ishida, T. Hashimoto, JD. Kim, N. Kishikawa, M. Murao, K. Kimura, Y. Kasuya, S. Kimura, YC. Chen, H. Tsuchimochi, M. Shirai, J. Pearson, and A. Fukamizu (2019) Cooperative action of APJ and α 1A-adrenergic receptor in vascular smooth muscle cells induces vasoconstriction. **J. Biochem.** 166, 383-392.

W. Lu, JD. Kim, S. Tabara, C. Kwon, H. Mizukami, K. Kimura, and A. Fukamizu (2019) The N-terminal sequence of murine PRMT5 variant 2 is required for Hsp70 interaction and CHIP ligase-mediated degradation. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 514, 1185-1191.

H. Mizukami, JD. Kim, S. Tabara, W. Lu, C. Kwon, M. Nakashima, and A. Fukamizu (2019) KDM5D-mediated H3K4 demethylation is required for sexually dimorphic gene expression in mouse embryonic fibroblasts. **J. Biochem.** 165, 335-342.

総説

なし

学会発表等 (国際学会＊、招待講演＊＊)

＊、＊＊深水昭吉

“A Protein is Multilingual:New Metabolic Pathway of Phospholipid in the Brain”

2019 Gwanak Symposium IMBG Auditorium, Seoul National University (韓国) 2019年5月

＊、＊＊深水昭吉

“Biochemical modification and protein functions linked to mitochondria:lysine acetylation and arginine methylation”

KSBMB International Conference ICC JEJU (韓国) 2019年6月

権哲源、中村夏奈子、田原早央莉、金俊達、石田純治、深水昭吉

“妊娠高血圧/ α 1A-AR-KO マウスの肥大心臓では、Hmgcs2 の発現が変化する”

2019年度日本生化学会関東支部例会 東京工業大学(神奈川) 2019年6月

林岳宏、大徳浩照、中島実咲、加香孝一郎、深水昭吉

“線虫ヒストンにおける新規ヒスチジンメチル基転移酵素の探索”

2019年度日本生化学会関東支部例会 東京工業大学(神奈川) 2019年6月

田原早央莉、金俊達、森遙佳、陸偉哲、深水昭吉

“PRMT8 が有するアルギニンメチル化活性の生物学的意義に関する研究”

2019年度日本生化学会関東支部例会 東京工業大学(神奈川) 2019年6月

野口和之、石田純治、室町直人、金俊達、加香孝一郎、山縣邦弘、深水昭吉

“心腎連関病態モデルマウスの確立と解析”

第62回 日本腎臓学会学術総会 名古屋国際会議場(愛知) 2019年6月

* Chulwon Kwon, Kanako Nakamura, Saori Tabara, Jun-Dal Kim, Junji Ishida, Akiyoshi Fukamizu.

“The Role of α 1A-Adrenergic Receptor on Cardiac Function in Pregnancy-Associated Hypertensive Mice”

KMB2019. ICC JEJU(Korea) 2019年6月

加香孝一郎、石田純治、金俊達、室町直人、深水昭吉

“高血圧誘導性心不全モデルマウス(ANSマウス)におけるヒスタミンの定量”

第23回 活性アミンに関するワークショップ 学術総合センター(東京) 2019年8月

星川紗更、池本光志、有本光江、加香孝一郎、深水昭吉、繁森英幸

“アルツハイマー型認知症予防を指向したカフェオイルキナ酸の機能解明”

日本農芸化学会関東支部 2019年度大会 筑波大学(茨城) 2019年9月

福島寛乃、有本光江、加香孝一郎、深水昭吉、繁森英幸

“ブドウ種子由来ポリフェノールによるアミロイドポリペプチド凝集阻害”

日本農芸化学会関東支部 2019年度大会 筑波大学(茨城) 2019年9月

＊＊深水昭吉

“遺伝情報(転写-翻訳-代謝)から読み解く心腎連関モデルマウスからのアプローチ”

第一回健都国循研究所セミナー 国立開発法人国立循環器病研究センター(大阪) 2019年9月

深水昭吉

“生物種を超えたアルギニンメチル化酵素の機能的重要性と多様性”

第 92 回日本生化学会大会 パシフィコ横浜(神奈川)2019 年 9 月

権哲源、永野克将、金俊達、石田純治、深水昭吉

“血管平滑筋細胞のアペリン受容体が誘導する毛感攣縮の解析”

第 92 回日本生化学会大会 パシフィコ横浜(神奈川)2019 年 9 月

室町直人、石田純治、野口和之、金俊達、深水昭吉

“ヒスタミン H3 受容体アゴニストの心腎病態での抗炎症遺伝子プログラミング”

第 92 回日本生化学会大会 パシフィコ横浜(神奈川)2019 年 9 月

陸偉哲、金俊達、田原早央莉、権哲源、深水昭吉

“Hsp70/CHIPs による PRMT5 バリアン 2 の N 末端配列依存的な分解機構”

第 92 回日本生化学会大会 パシフィコ横浜(神奈川)2019 年 9 月

石田純治、金俊達、霍思全、中島実咲、深水昭吉

“妊娠高血圧胎仔 FGR の遺伝子発現プロファイリング”

第 92 回日本生化学会大会 パシフィコ横浜(神奈川)2019 年 9 月

室町直人、石田純治、野口和之、金俊達、深水昭吉

“ヒスタミン H3 受容体アゴニストの心腎病態での抗炎症遺伝子プログラミング”

第 92 回日本生化学会大会 パシフィコ横浜(神奈川)2019 年 9 月

林岳宏、大徳浩照、中島実咲、田島達也、加香孝一郎、深水昭吉

“*In vivo* スクリーニング系による新規ヒスチジンメチル基転移酵素の探索”

第 92 回日本生化学会大会 パシフィコ横浜(神奈川)2019 年 9 月

田原早央莉、金俊達、森遙佳、陸偉哲、深水昭吉

“PRMT8 が有する 2 つの酵素活性に対する特異的不活性マウスの作製と解析”

第 92 回日本生化学会大会 パシフィコ横浜(神奈川)2019 年 9 月

権哲源、永野克将、金俊達、石田純治、深水昭吉

“血管平滑筋細胞のアペリン受容体が誘導する血管攣縮の解析”

第 92 回日本生化学会大会 パシフィコ横浜(神奈川)2019 年 9 月

権 哲源、中村 夏奈子、田原 早央莉、金 俊達、石田 純治、深水 昭吉

“妊娠高血圧モデルの肥大心を用いた網羅的遺伝子発現解析と α 1A-AR の役割の解明”

第 40 回日本妊娠高血圧学会学術集会 埼玉県県民健康センター(埼玉)2019 年 9 月

野口 和之、石田 純治、山縣 邦弘、深水 昭吉

“H3 受容体アゴニストは抗炎症作用を介して心腎病態に保護的に作用する”

第 42 回日本高血圧学会総会 京王プラザホテル (東京) 2019 年 10 月

* * 深水昭吉

“One protein with two activities, methyltransferase and lipase”

第 6 回 リトニア-日本合同生命科学シンポジウム 帝京大学 霞が関キャンパス(東京)

2019年10月

権哲源、永野克将、岸川奈那、石田純治、金俊達、深水昭吉
“血管平滑筋細胞のアペリン受容体とα1A受容体による協調的な血管収縮メカニズムの解析”
第23回日本心血管内分泌代謝学会学術総会 神戸国際会議場(神戸) 2019年12月

室町直人、石田純治、野口和之、金俊達、深水昭吉
“心腎連関病態に対するヒスタミンH3アゴニストの保護的作用と遺伝子発現プロファイリング”
第23回日本心血管内分泌代謝学会学術総会 神戸国際会議場(神戸) 2019年12月

加香孝一郎、石田純治、金俊達、室町直人、深水昭吉
“高血圧誘導性心腎病態モデルマウス(ANSマウス)におけるヒスタミンの分析”
第22回 日本ヒスタミン学会 広島大学(広島)2020年2月

受賞

権 哲源 (生命環境科学研究科 生物機能科学専攻)

2019年度 日本生化学会関東支部例会 優秀発表賞

権 哲源 (生命環境科学研究科 生物機能科学専攻)

第92回 日本生化学会大会 若手優秀発表賞

Wataru Yokoyama, Keiko Hirota, Huahua Wan, Naoaki Sumi, Mai Miyata, Sho Araoi, Naoto Nomura,
Koichiro Kako, Akiyoshi Fukamizu

“rRNA adenine methylation requires T07A9.8 gene as *rram-1* in *Caenorhabditis elegans*”

第27回日本生化学会 JB論文賞

陸 偉哲 (ヒューマンバイオロジー学位プログラム)

第92回 日本生化学会大会 若手優秀発表賞

室町直人(人間総合科学研究科 フロンティア医科学専攻)

Tsukuba Conference 2019 Outstanding Poster Award

権哲源 (生命環境科学研究科 生物機能科学専攻)

2019年度 茗渓会賞受賞

アウトリーチ

深水昭吉

米軍子弟教育高大連携プロジェクト STEMinars 2019 (令和元年9月10-11日)

深水昭吉

高大連携事業 大学講義体験「寿命：病気と遺伝子 未来のバイオテクノロジー」 新潟県立佐渡中等教育学校 (令和元年 7 月 29 日)

深水昭吉

出張講義「遺伝子が教えてくれる、人類の過去と未来」 静岡県立三島北高等学校 (令和元年 11 月 20 日)

学会および社会的活動

深水昭吉

日本心血管代謝内分泌代謝学会・理事、日本生化学会・評議員と日本高血圧学会・評議員
東北大学 学際科学フロンティア研究所（運営協議会委員）

独立行政法人大学改革支援・学位授与機構（国立大学教育研究評価委員会専門委員）

筑波大学 医学医療系トランスポーダー医学研究センター（評価委員会委員）

公益財団法人 山口内分泌疾患研究振興財団（研究助成審査委員）

公益財団法人 日本応用酵素協会（選考委員）

公益財団法人 東京生化学研究会（選考委員）

公益財団法人 国際科学振興財団（兼任研究員）

一般社団法人 キヤノン財団研究助成（選考委員）

科学研究費補助金・外部資金獲得状況

深水昭吉

研究種目名：基盤研究(A)

研究課題名：RNA メチル化を介した栄養情報と生物寿命

課題番号：17H01519

研究期間：2017 年度～2020 年度

深水昭吉

研究種目名：産学協同実用化開発事業（NexTEP）

研究課題名：炎症性腸疾患における新たなバイオマーカーの検討

研究期間：2014 年度～2020 年度

深水昭吉

研究種目名：共同研究費（宇部興産）

研究課題名：部材を用いる細胞培養に関する研究

研究期間：2014 年度～2020 年度

深水昭吉

研究種目名：奨励金・研究助成（内藤記念科学振興財団）

研究課題名：宇宙環境（微小重力）における心臓の応答機構と次世代への影響

研究期間：2019 年度～2021 年度

石田純治

研究種目名：基盤研究（C）

研究課題名：アルギニンメチル化が担う胎児期の血管形成メカニズムの解明

課題番号：17K07131

研究期間：2017 年度～2019 年度

大徳浩照

研究種目名：基盤研究（C）

研究課題名：アセチル CoA を接点としたグルコース代謝と FOXO1 アセチル化の制御機構の
解明

課題番号：17K08193

研究期間：2017 年度～2019 年度

金 俊達

研究種目名：基盤研究（C）

研究課題名：一酵素・二活性（PRMT8）の生物学的意義の解明

課題番号：18K05429

研究期間：2018 年度～2020 年度

加香孝一郎

研究種目名：基盤研究（C）

研究課題名：タンパク質アルギニンメチル化修飾の個体機能の解明

課題番号：17K01942

研究期間：2017 年度～2020 年度

免疫ダイナミクス

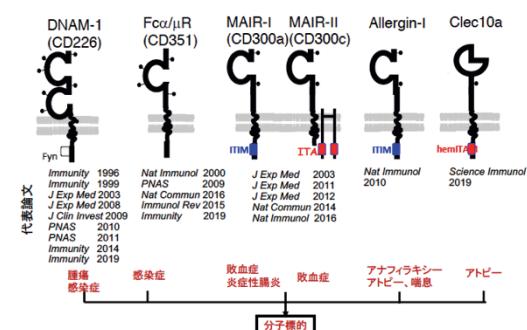
「免疫システムの解明から疾患制御に挑む」

ヒトは病原微生物に対する生体防御機構として精緻に統合された免疫系を築き上げてきた。エイズや結核などを例に取るまでもなく、感染症は現代に至ってもなお人類にとっての最大の脅威である。一方で、免疫システムの異常は自己免疫疾患やアレルギーといった難治疾患の病因である。また、がんや臓器移植における拒絶反応なども免疫系が直接関与する課題である。これら疾患の克服は、免疫系の未知の基本原理を明らかにしていく事から始まる。本研究室では、我々が世界に先駆けて発見した種々の免疫受容体について、疾患モデルマウスなどを用いて分子・細胞・個体レベルで解析を行い、免疫系の新しい基本原理を明らかにし、難治疾患の制御に挑戦する。このために、大学発創薬ベンチャーを起業するとともに、本研究室が中心となつて、革新的創薬開発研究センターを発足した。

Human beings have evolved an exquisitely integrated immune system against pathogenic microorganisms. However, infectious diseases, e.g. AIDS, tuberculosis, are still the greatest threats to us. At the same time, the pathogenies of incurable autoimmune and allergic diseases is attributed to the dysregulation of the immune system. Furthermore, the immune system is deeply involved in cancer prevention and transplant rejection. We aim to elucidate the roles of a variety of immune receptors which we have identified by molecular, cellular, and organismal approach using disease model mice, and reveal previously undescribed basic principles of immune system to provide important insights into the development of therapeutic modulation of immune responses. To this end, we started a university-based drug discovery venture, and established the R & D Center fo Innovative Drug Discovery at the University.

1) 基礎研究

世界に先駆けて重要な免疫受容体を発見、トップジャーナルに発表
がん、アレルギー、炎症疾患、感染症病態における機能の解明



2) 基礎研究から開発研究へ



プロジェクトメンバー

教授 渋谷 彰

准教授 渋谷 和子

講師 田原 聰子

助教 小田 ちぐさ
鍋倉 宰
金丸 和正
佐藤 和貴

研究員 林(大岡)杏子
Anh Van Vo
王 亜秋

客員研究員 本多 伸一郎

ヒューマンバイオロジー
学位プログラム
Haojun Xu
林 育仙
村田 力斗
呂 文新

人間総合科学研究科
博士課程生命システム
医学専攻

永山(長谷川)裕子
藤山聰

中澤 優太

奥村 元紀

柴垣 翔平

中村(新谷)優歩

Mariana Silva Almeida
松尾 知平
金兼 史佳

人間総合科学研究科
修士課程フロンティア
医科学専攻
西山(村上)奈菜子
松尾 壮一
Hanna Tagomori
Elfira Amalia Deborah
原 彩香

技術補佐員 廣近 玲

共同研究員
金丸(山下)由美
阿部 史枝
井口 研子
中村 貴之

秘書 梶原 智子
古堅 久子
斎藤 和歌子

研究概要

【免疫受容体 DNAM-1 とそのリガンドを標的とした病態制御】

免疫システムでは、種々の免疫細胞が互いに情報を伝達しあい、活性化または抑制する事によって免疫応答を構築している。この細胞間の情報伝達には、免疫細胞上に発現する免疫受容体が重要な役割を担っている。当研究室の渋谷らが同定した DNAM-1 (CD226) は、T 細胞、NK 細胞をはじめとして種々の免疫細胞に発現する免疫受容体である (Shibuya *et al.*, *Immunity* 1996)。また、私たちは DNAM-1 のリガンドが CD155 と CD112 の 2 分子である事を同定した (Tahara-Hanaoka *et al.*, *Int Immunol* 2004)。これまでに私たちは DNAM-1 とリガンドとの結合が活性化シグナルを伝達し、CD8⁺T 細胞や NK 細胞の細胞傷害活性を惹起する事や、Th1 型免疫応答を促進する事などを明らかにしてきた (Shibuya K, *et al.* *Immunity* 1999, Shibuya K, *et al.* *J Exp Med*, 2003, Tahara-Hanaoka, *et al.* *Blood* 2006, Iguchi-Manaka *et al.* *J Exp Med* 2008, Nabekura *et al.* *PNAS* 2010, Yamashita-Kanemaru Y. *et al.* *J Immunol* 2015, Takenaka E. *et al.* *Sci Rep*.2018)。さらに、最近私たちは可溶型 CD155 が DNAM-1 による腫瘍免疫応答を抑制し、腫瘍の免疫逃避を促進していることを示した (Okumura G. *et al.* *J Exp Med* 2020)。また、私たちは免疫応答を抑制する特殊な細胞集団である制御性 T 細胞にも DNAM-1 が発現している事を見出した。しかし、いまだ制御性 T 細胞上の DNAM-1 の機能の詳細は不明であり、現在解析を進めている。

また、私たちは DNAM-1 とそのリガンドのがん、自己免疫病などの炎症性疾患など病態への関与を検討するために、DNAM-1 ならびにリガンドの遺伝子欠損マウスを樹立、これらマウスに疾患モデルを誘導し、病態における DNAM-1 とリガンドの機能を解析している。これらの研究をもとに、将来的には DNAM-1 を標的とした難治性免疫関連疾患の新規治療法の開発を目指す。

【免疫応答の活性化と抑制を制御する CD300 ファミリー分子群の機能解析】

当研究室では骨髄球系細胞の免疫応答をと負に制御する新規受容体分子として、CD300 分子群 (Myeloid-associated immunoglobulin like receptor; MAIR) を同定し、その機能を報告してきた (Yotsumoto *et al.* *J Exp Med* 2003, Okoshi *et al.* *Int Immunol* 2004, Nakahashi-Oda *et al.* *J Immunol* 2007, Nakano *et al.* *Mol Immunol* 2008, Can *et al.* *J Immunol* 2008, Nakano *et al.* *J Exp Med* 2011, Totsuka *et al.* *Nature Commun* 2014, Miki *et al.* *J Immunol* 2015, Udayanga *et al.* *Int Immunol* 2017)。CD300 分子群は細胞外に免疫グロブリン様ドメインをひとつ持つ I 型膜貫通型糖タンパク質である。細胞外領域が互いに類似する分子群でファミリーを形成している事が判明しており、ヒトでは 7 分子、マウスでは 11 分子が同定されている。そのうち、CD300a (MAIR-I) は、その細胞内領域に ITIM モチーフを有する抑制性受容体であるが、我々はこれまでに肥満細胞上の CD300a が敗血症の病態に深く関与している事 (Nakahashi-Oda *et al.* *J Exp Med* 2012)、樹状細胞上の CD300a が制御性 T 細胞の制御を介し

て組織の恒常性の維持に関与している事などを見出し (Nakahashi-Oda *et al.* *Nat Immunol* 2016)、現在は、マクロファージ上の CD300a の機能解析を進めている。一方で、CD300c2 (MAIR-II) は、アダプター分子と会合する活性化受容体であり、これまでに、炎症性単球上の CD300c2 が組織への遊走に関与して敗血症の病態を制御している事を明らかにしてきた。現在は CD300c2 の炎症性サイトカインの産生を制御する機構について解析を進めている。これら、骨髄球系に発現する CD300 受容体群の免疫応答に対する新たな制御機構を明らかにしていく事で、炎症性疾患の制御法の開発を目指している。

【アレルギー抑制性受容体 Allergin-1 の生理的役割の解明】

花粉症、気管支喘息、アトピー性皮膚炎、食物アレルギーなどの I 型アレルギー疾患は、世界の成人の約 3 割が罹患しており、根治療法や予防法の開発は社会的急務である。I 型アレルギーは、アレルゲン特異的な IgE 抗体が主な要因であり、この IgE 抗体が肥満細胞上の高親和性 IgE 受容体に結合した後、再び同じアレルゲンに暴露されると肥満細胞の脱顆粒反応が起こり、顆粒に含まれるケミカルメディエーターがアレルギー症状を引き起こす。このため、IgE 抗体産生および IgE 受容体のシグナル経路は治療標的となる。

当研究室では、免疫グロブリンスーパーファミリーに属し、細胞内領域に抑制性シグナルを伝達する Immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif (ITIM) を有する受容体、Allergin-1 (アラジン-1) を新しく同定した。Allergin-1 は肥満細胞や好塩基球に強く発現する他、樹状細胞および単球・マクロファージに発現しており、肥満細胞および好塩基球上では IgE 受容体のシグナルを阻害する事で全身性および局所性アナフィラキシーに加え、経口摂取した食物抗原によるアナフィラキシーショックを抑制する事を発見した (Hitomi K, *et al.* *Nature Immunol* 2010, Lin YH *et al*, *Int Immunol*, 2019)。さらに、Allergin-1 が Toll-like receptor (TLR) シグナルを抑制することでアトピー性皮膚炎や喘息の病態に重要な役割を担うことを見出している (Tsurusaki S, *et al*, *Int Immunol* 2016, Hitomi K, *et al*, *Int Immunol* 2018, Miki H, *et al*, *J Immunol* 2020)。現在 Allergin-1 を標的とした I 型アレルギーの治療法確立の基盤研究を展開している。

【グループ 1 リンパ球による生体防御機構の解析】

がんとウイルス感染症はそれぞれ先進国と途上国で最も生命を奪っている疾患である。グループ 1 自然リンパ球には、がん細胞やウイルス感染細胞を直接認識し細胞傷害活性を示しインターフェロン- γ を産生するナチュラルキラー (NK) 細胞と、表現型は NK 細胞に酷似するが細胞傷害活性を示さない 1 型自然リンパ球 (ILC1) が存在する。しかしながら、グループ 1 リンパ球の機能・増殖・分化を制御する分子機序は完全には明らかになっていない。グループ 1 リンパ球はがんや感染症の制御に極めて重要な役割を果たしている事が示されている為、NK 細胞や ILC1 の細胞機能の制御機構の解明は極めて重要な意義を持つ。近年、NK 細胞がサイトメガロウイルス感染後に記憶 NK 細胞に分化する事が示された。我々

は NK 細胞特異的・時期特異的レポーターマウスを用い、記憶 NK 細胞分化の制御因子の同定を試みている。また、ILC1 は肝臓に特に多く存在するが、その生理的病理的意義は未だ完全には明らかになっていない。我々は肝障害マウスマodelを用い、ILC1 が急性肝障害に応答し、IFN- γ の産生を介して軽快に寄与する事を見出した。現在、その詳細な分子機序の解明を目指している。

【アトピー性皮膚炎における C 型レクチン受容体の機能の解析】

アトピー性皮膚炎の病態の全容は未だ解明されていない。NC/Nga マウスはアトピー性皮膚炎モデルマウスであり、主要アレルゲンであるハウスダストマイト (HDM) への感受性が高い。我々は NC/Nga マウスでは、糖鎖を認識する C 型レクチン受容体である Clec10a をコードする遺伝子にナンセンス変異が存在し、Clec10a 遺伝子の変異が皮膚炎の増悪要因である事を見出した。更に、Clec10a が HDM に対する抑制性受容体であり、HDM 構成成分であるムチン様分子をリガンドとして認識し、ムチン様分子をマウスの皮膚に塗布すると皮膚炎が軽快する事を明らかにした。本研究はこれまで役割が不明であったアレルゲン糖鎖成分の、アトピー性皮膚炎の病態における抑制的役割を示した (Kanemaru K, et al. *Sci Immunol* 2019)。現在、ムチン様分子に含まれアトピー性皮膚炎に対し抑制的機能を有する糖鎖の同定を試みており、達成されれば HDM 関連アレルギー性疾患に対する特異的治療法の開発に繋がる可能性がある。

2019 年度研究業績

原著論文

Hideyuki Y, Lareau CA, Ramirez RN, Rose SA, Maier B, Wroblewska A, Desland F, Chudnovskiy A, Mortha A, Dominguez C, Tellier J, Kim E, Dwye D, Shinton S, Nabekura T, Qi YL, Yu B, Robinette M, Kim K-W, Wagers A, Rhoads A, Nutt SL, Brown BD, Mostafavi S, Buenrostro JD, Benoist C, and the Immunological Genome Project. The cis-regulatory atlas of the mouse immune system *Cell*, 176:897-912, 2019

Wang Y, Nakahashi-Oda C, Okayama Y, Shibuya A
Autonomous regulation of immunoglobulin E-mediated mast cell degranulation and immediate hypersensitivity reaction by an inhibitory receptor CD300a.
Journal of Allergy and Clinical Investigations, 144(1), 323, 2019.

Noval Rivas M, Wakita D, Franklin MK, Carvalho TT, Abolhesn A, Gomez AC, Fishbein MC, Chen S, Lehman TJ, Sato K, Shibuya A, Fasano A, Kiyono H, Abe M, Tatsumoto N, Yamashita M, Crother TR, Shimada K, Arditi M. Intestinal Permeability and IgA Provoke Immune Vasculitis Linked to Cardiovascular Inflammation. *Immunity*, 51(3):508-521, 2019
(DOI: 10.1016/j.immuni.2019.05.021) 2019.8.27 (Epub)

Nagayama-Hasegawa Y., Honda S, Shibuya A., Shibuya K. Expression and function of DNAM-1 on human B-lineage cells. *Clinical Cytometry*, 2019.
PMID: 31782891 DOI: 10.1002/cyto.b.21859

Kanemaru K, Noguchi E, Tahara-Hanaoka S, Mizuno S, Tateno H, Denda-Nagai K, Irimura T, Matsuda H, Sugiyama F, Takahashi S, Shibuya K, Shibuya A, Clec10a regulates mite-induced dermatitis. *Science Immunology*, 4 (42) 6908, 2019

Nakazawa Y, Ohtsuka S, Nakahashi-Oda C, Shibuya A. Cutting Edge: Involvement of the immunoreceptor CD300c2 on alveolar macrophages in bleomycin-induced lung fibrosis. *Journal of Immunology*, 2019 203(12):3107-3111, 2019

Nabekura T, Riggan L, Hildreth AD, O'Sullivan TE, Shibuya A. Type 1 innate lymphoid cells protect mice from acute liver injury via interferon-g secretion for upregulating Bcl-xL expression in hepatocytes, *Immunity*, 52(1):96-108.e9, 2020

Lin YH, Tahara-Hanaoka S, Nagai K, Yoshikawa S, Kubo M, Shibayama S, Karasuyama H, Shibuya A. Selective suppression of oral allergen-induced anaphylaxis by Allergin-1 on basophils in mice. *International Immunology*, 32(3):213-219, 2020

Iguchi-Manaka A, Okumura G, Ichioka E, Kiyomatsu H, Ikeda T, Bando H, Shibuya A, Shibuya K. High expression of soluble CD155 in estrogen receptor-negative breast cancer. *Breast Cancer*, 27(1) : 92-99, 2020

Miki H, Tahara-Hanaoka S, Almeida MS, Hitomi K, Shibagaki S, Kanemaru K, Lin YH, Iwata K, Miyake S, Shibayama S, Sumida T, Shibuya K, Shibuya A. Allergin-1 immunoreceptor suppresses house dust mite-induced allergic airway inflammation. *Journal of Immunology*, 204(4):753-762, 2020

Okumura G, Iguchi-Manaka A, Murata R, Yamashita-Kanemaru Y, Shibuya A, Shibuya K. Tumor-derived soluble CD155 inhibits DNAM-1-mediated antitumor activity of natural killer cells. *Journal of Experimental Medicine*, 217(4):e20191290, 2020

Goshima Y, Nakaoka S, Ohashi K, Sakamaki H, Shibuya K, Shibuya A. A mathematical model for dynamics of soluble form of DNAM-1 as a biomarker for graft-versus-host disease, *PLOS ONE*, 15(2):e0228508, 2020

総説

中澤 優太、小田 ちぐさ、渋谷 彰 (2019)
粘膜上皮細胞死による制御性T細胞数の制御
医学のあゆみ, 268(13), 1140-1144.

学会発表等（国際学会＊）

招待講演

渋谷 彰

“抑制性免疫受容体によるアレルギー炎症応答の制御”
日本生化学会大会 パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）2019.9.19

渋谷 彰

“免疫難病の克服を目指した基礎研究から創薬開発研究へ”
第7回ヤング・サイエンティスト・シンポジウム 筑波大学 東京キャンパス（東京都文京区）2019.11.16

渋谷 彰

“粘膜免疫を基盤とした予防・治療戦略”

第6回総合アレルギー講習会 パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）2019.12.14

渋谷 和子

“免疫系受容体による炎症病態制御”.

第21回日本免疫学会サマースクール 今治国際ホテル（愛媛県今治市）2019.8.1

一般発表

渋谷 彰

“虚血ストレスによる炎症誘導機構の解明とその制御”

新学術領域【炎症細胞社会】班会議・ワークショップ しいの木迎賓館（石川県金沢市）

2019.5.24（口頭発表）

佐藤 和貴、金丸 由美、阿部 史枝、中村 優歩、村田 力斗、伊藤 守、村谷 匡史、
渋谷 彰、渋谷 和子

“活性化受容体 DNAM-1 は炎症時の制御性 T 細胞の機能を抑制する”

第34回自己免疫研究会 京王プラザホテル（東京都新宿区）2019.7.27（口頭発表）

Wang Y.

“Autonomous regulation of mast cell degranulation through an inhibitory receptor CD300a”

第84回日本インターフェロン・サイトカイン学会 神戸国際会議場（兵庫県神戸市）2019.8.2

（口頭・ポスター発表）

*Deborah EA, Nabekura T, and Shibuya A

“Elucidation of the role of C1orf38 in human NK cells”

Tsukuba Conference (TC) 2019, Ibaraki, October 2019

*Matsuo S, Nabekura T, and Shibuya A

“The role of in Concanavalin A-induced acute liver injury”

Tsukuba Conference (TC) 2019, Ibaraki, October 2019

*Okumura G

“Tumor-derived soluble CD155 interferes with DNAM-1 for Natural Killer cell-mediated tumor immunity”

The 18th Meeting of the Society for Natural Immunity, Alvisse Parc Hotel, Luxembourg,

Luxembourg, 2019.10.1 (ポスター発表)

* Wang Y, Nakahashi-Oda C, Shibuya A

“Autonomous regulation of mast cell degranulation through an inhibitory receptor CD300a.”.

17th International Congress of Immunology, China National Convention Center, Beijing, China,
2019.10.21 (ポスター発表)

* Vo A.V, Takenaka E, Yamashita-Kanemaru Y, Shibuya A, Shibuya K.

“Selective expression of DNAM-1 (CD226) is required for small peritoneal macrophages to prime CD4⁺ T cell.”

17th International Congress of Immunology, China National Convention Center, Beijing, China,
2019.10.21 (ポスター発表)

Yuta Nakazawa, Chigusa Nakahashi-Oda, Akira Shibuya

“Involvement of the immunoreceptor CD300c2 on alveolar macrophages in bleomycin-induced lung fibrosis.”

9th international DAMPs and Alarmins symposium 岡山大学鹿田キャンパス内 J ホール(岡山県鹿田町)2019.11.8(ポスター発表)

* Kazumasa Kanemaru^{1,5}, Emiko Noguchi², Satoko Tahara-Hanaoka^{1,4,5}, Seiya Mizuno⁶, Hiroaki Tateno^{4,9}, Kaori Denda-Nagai¹⁰, Tatsuro Irimura¹⁰, Hiroshi Matsuda¹¹, Fumihiro Sugiyama⁶, Satoru Takahashi^{3,6,7,8}, Kazuko Shibuya^{1,5}, Akira Shibuya

“Clec10a regulates mite-induced dermatitis.”

1st International Symposium on Inflammation Cellular Sociology Location. Sanjo Conference Hall, The university of Tokyo(7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo)2019.11.26(ポスター発表)

Okumura G, Iguchi-Manaka A, Murata R, Yamashita-Kanemaru Y, Shibuya A, Shibuya K

“Tumor-derived soluble CD155 inhibits DNAM-1-mediated antitumor activity of natural killer cells.”

第 48 回日本免疫学会学術集会 アクトシティ浜松 (静岡県浜松市) 2019.12.11-13 (口頭・ポスター発表)

Oh-oka K, Shibuya A, Shibuya K.

“Involvement of CD96 in imiquimod (IMQ)-induced psoriasis through upregulation of IL-17 production by $\gamma\delta$ T cells.”

第 48 回日本免疫学会学術集会 アクトシティ浜松 (静岡県浜松市) 2019.12.11-13 (口頭・ポスター発表)

Sato K, Yamashita-Kanemaru Y, Abe F, Nakamura Y, Murata R, Ito M, Shibuya A, Shibuya K.
“DNAM-1 limits suppresses Foxp3 stability of regulatory T cells in a TIGIT dependent manner.”
第48回日本免疫学会学術集会 アクトシティ浜松（静岡県浜松市）2019.12.11-13（口頭・ポスター発表）

Kanemaru K., Tahara-Hanaoka S., Denda-Nagai K., Irimura T., Takahashi S., Shibuya K., Shibuya A.
“Clec 10a regulated mite-induced dermatitis.”
第48回日本免疫学会学術集会 アクトシティ浜松（静岡県浜松市）2019.12.11-13（口頭・ポスター発表）

Tsukasa Nabekura, Akira Shibuya.
“Protective role of type 1 innate lymphoid cells acute liver injury.”
第48回日本免疫学会学術集会 アクトシティ浜松（静岡県浜松市）2019.12.11-13（口頭・ポスター発表）

Yuta Nakazawa, Chigusa Nakahashi-Oda, Akira Shibuya.
“An inhibitory immunoreceptor CD300a suppresses tumor infiltrating Treg cells and tumor development through binding to phosphatidylserine on tumor-derived exosome”
第48回日本免疫学会学術集会 アクトシティ浜松（静岡県浜松市）2019.12.11-13（口頭・ポスター発表）

Lin Yu-Hsien, Satoko Tahara-Hanaoka, Soichiro Yoshikawa, Shiro Shibayama, Hajime Karasuyama, Akira Shibuya.
Selective Suppression of oral allergen-induced anaphylaxis by Allergin-1.
第48回日本免疫学会学術集会 アクトシティ浜松（静岡県浜松市）2019.12.11-13（口頭・ポスター発表）

受賞

三宅 翔太

H30年度フロンティア医科学専攻の修士論文選考優秀発表賞，2019年4月

渋谷 和子

Best Teacher's Award、国立大学法人 筑波大学医学群医学類，2019年4月

Yaqiu Wang

第84回日本インターフェロン・サイトカイン学会優秀演題賞を受賞, 2019年8月

奥村 元紀

日本免疫学会 Tadamitsu Kishimoto トラベルアワード、2019年9月

中澤 優太

ベストプレゼンテーションアワード、第48回日本免疫学会学術集会総会, 2020年2月

金丸 和正

ベストプレゼンテーションアワード、第48回日本免疫学会学術集会総会, 2020年2月

佐藤 和貴

ベストプレゼンテーションアワード、第48回日本免疫学会学術集会総会, 2020年2月

渋谷 彰

Best Faculty Member、国立大学法人 筑波大学, 2020年2月

五島 祐樹

卒業証書受領と同時に筑波大学学長表彰を受賞、国立大学法人 筑波大学, 2020年3月

Yaqiu Wang

筑波大学グローバル教育院長賞を受賞、国立大学法人 筑波大学, 2020年3月

特許

発明者：渋谷 彰, 金丸 和正

発明の名称：アレルギー疾患を処置することに用いるための組成物

出願人：国立大学法人 筑波大学

出願日：2019年4月26日

出願番号：特願 2019-086233

新聞記事

QLife Pro（医療情報総合サイト）「肥満細胞が自己制御してアレルギーを抑える仕組みを発

見、根治療法開発に期待—筑波大」2019年5月

NHKニュース「体内細胞がアレルギー発症抑制」が放映 2019年5月

産経新聞 朝刊 22面 「アレルギー症状 細胞が自ら抑制」2019年6月

日経産業新聞 朝刊 6面 「アレルギー抑制 細胞に仕組み」2019年6月

医療 NEWS「薬剤性急性肝障害を、肝臓に少数存在の1型自然リンパ球が抑制することを発見—筑波大」2019年12月

つくばサイエンスニュース「肝臓内の特殊なリンパ球細胞が急性肝障害を抑制—薬剤の副作用による肝障害の予防法開発に道：筑波大」2020年1月

筑波大学新聞 7面「ダニによるアトピーを抑制、副作用少ない治療を目指す」2020年1月

アウトリーチ活動

渋谷 彰

寧夏回族自治区青年科学技術者交流団、大学訪問：筑波大学（2019年11月12日）

田原 聰子

「日本免疫学会主催 免疫ふしぎ未来」 実行委員：日本科学未来館に来場した一般客が免疫学会会員と対話したり、実際に実験したりする事で学会活動の理解・支援と科学への興味を持つ事を促す体験型アウトリーチ活動。

日本科学未来館（2019年8月4日）

学会および社会的活動

渋谷 彰

日本免疫学会 理事、評議員

日本血液疾患免疫療法学会 理事、評議員

日本血液学会 評議員

科学研究費審査委員会専門委員

日本医療研究開発機構審査委員会専門委員

東京医科歯科大学非常勤講師

TNAX Biopharma Corp, CSO

渋谷 和子

日本免疫学会 評議員

日本免疫学会 研究構想推進委員

日本免疫学会 選挙管理委員（委員長）

日本インターフェロン・サイトカイン学会 推薦幹事

自己免疫研究会 幹事

田原 聰子

日本免疫学会 評議員

日本免疫学会 免疫ふしぎ未来実行委員

科学研究費審査委員会 専門委員

小田 ちぐさ

日本免疫学会 評議員

鍋倉 宅

日本免疫学会 評議員

科学研究費補助金・外部資金獲得状況

科学研究費補助金

渋谷 彰 (代表)

研究種目名：科学研究費補助金 基盤研究 (S)

研究課題名：抑制性免疫受容体による自然免疫応答の制御機構の解明

課題番号：16H06387

研究期間：2016 年度～2020 年度

渋谷 彰 (代表)

研究種目名：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究課題名：虚血ストレスによる炎症誘導機構の解明路その制御

課題番号：18H05022

研究期間：2018 年度～2019 年度

渋谷 彰 (分担)

研究種目名：科学研究費補助金 基盤研究 (B)

研究課題名：アレルゲン免疫療法のシングルセルおよび bulk 遺伝子発現情報による病態解明

課題番号 : 19H03696

研究期間 : 2019 年度～2020 年度

小田 ちぐさ (代表)

研究種目名 : 科学研究費補助金 基盤研究 (B)

研究課題名 : 死細胞の食食制御による脳虚血疾患の新規治療コンセプトの提唱

課題番号 : 19H03766

研究期間 : 2019 年度～2021 年度

鍋倉 宰 (代表)

研究種目名 : 科学研究費補助金 若手研究 (A)

研究課題名 : 記憶ナチュラルキラー細胞分化におけるマスター制御因子の同定

課題番号 : 17H05071

研究期間 : 2017 年度～2019 年度

金丸 和正 (代表)

研究種目名 : 科学研究費補助金 若手研究 (B)

研究課題名 : アトピー性皮膚炎における C 型レクチン受容体の機能の解明

課題番号 : 19H03695

研究期間 : 2019 年度～2021 年度

本多 伸一郎 (代表)

研究種目名 : 科学研究費補助金 基盤研究 (B)

研究課題名 : アラジン-1 を標的とした新規敗血症治療法の開発

課題番号 : 17H04362

研究期間 : 2017-2019 年度

佐藤 和貴 (代表)

研究種目名 : 科学研究費補助金 若手

研究課題名 : 移植片対宿主病における DNAM-1 を介した制御性 T 細胞の活性化制御機構の解明

課題番号 : 19K16599

研究期間 : 2019-2020 年度

産学連携共同研究経費

渋谷 彰 (代表)

免疫受容体を標的とした創薬の開発 (国内外企業 3 社)

その他

田原 聰子

研究種目名：内藤記念科学奨励金・研究助成

研究課題名：腸管上皮バリア機能における抑制性免疫受容体アラジン-1 の役割解明

研究期間：2019 年度

田原 聰子

研究種目名：AMED 免疫アレルギー疾患実用化事業

研究課題名：食物抗原誘導性アナフィラキシーにおける好塩基球活性化制御機構の解明

研究期間：2019 年度～2021 年度

鍋倉 宰

研究種目名：内藤記念科学振興財団 次世代育成支援研究助成

研究課題名：急性肝障害におけるグループ 1 自然リンパ球が発現する DNAM-1 の役割

研究期間：2018 年度～2020 年度

鍋倉 宰

研究種目名：加藤記念バイオサイエンス財団 研究助成

研究課題名：急性肝障害における DNAM-1 の役割

研究期間：2018 年度～2019 年度

渋谷 和子

研究種目名：橋渡し研究戦略推進プログラム シーズ A

研究課題名：可溶型 CD155 を標的としたがんの新規治療法の開発

研究期間：2019 年度

金丸 正和

研究種目名：ナノテクキャリアアップアライアンス (Nanotech CUPAL)

研究課題名：「Clec10a 受容体アゴニストの開発と、アトピー性皮膚炎における作用機序の
解明」

研究期間：2019 年度～2021 年度

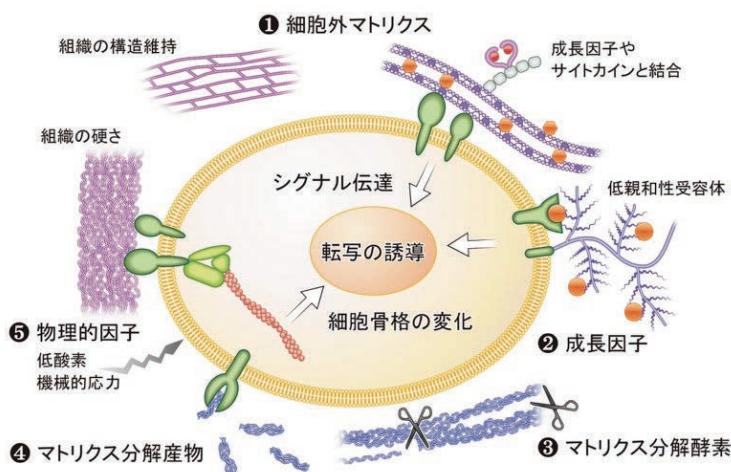
循環ダイナミクス

「細胞外環境応答から生物の生存戦略を探る」

細胞外環境の構成要素には、コラーゲンやエラスチンなどの細胞外マトリクスとよばれる高分子複合体、成長因子、マトリクス分解酵素、マトリクス分解産物、低酸素やpH、機械応力などの化学的・物理的因子がある。それらの因子が細胞と適切な相互作用を保つことで、細胞は正常に発生し維持される。私たちは、生物の生存戦略を細胞外環境と細胞との相互作用から捉え、細胞外からのシグナルが、どのようにして細胞の機能を調節し、あるいは転写を誘導するか、血管細胞や組織幹細胞に着目して研究を行なっている。また、この相互作用の破綻がどのように疾患に至るかを研究している。

Cells in our body constantly receive cues from extracellular environments and respond by changing cytoskeletal organization and cellular functions as well as initiating transcriptional program, thereby maintaining homeostasis. To understand the interactions between cells and extracellular microenvironments is a key to unravel survival strategies of living organisms. Our laboratory aims to molecularly dissect cellular responses to alterations of extracellular environments and to find a potential link to dysfunction of tissues, focusing on blood vessel cells and tissue stem cells.

細胞と細胞外環境の相互作用



2019年度 柳沢研究室集合写真

プロジェクトメンバー

教授

柳沢 裕美

助教

山城 義人

助教

客員准教授（10月1日-）

佐田 亜衣子

客員教授

館野 浩章

客員研究員

Erna Raja

HBP 学位プログラム

杉山 夏緒里

Lalhaba Oinam

Karina Ramirez

Yen Xuan Ngo

Nguyen Vu Tram Anh

人間総合科学研究科

生命システム医学

博士課程

Changarathil Gopakumar

石井 柳太郎

フロンティア医科学

修士課程

Huynh Thuy Hang

生命環境科学研究科

博士後期課程

辛 承宰

医学群医学類

霜田 智成

研究生

Chang Liu

技術職員

Keerthana Ranganathan

事務職員

東 真理子

研究概要

【大動脈瘤形成におけるメカノトランダクション機構の解明と疾患への応用】

血管壁のメカニカルストレスには、血圧、周方向応力、軸方向応力、血管内皮細胞へのずり応力などがある（図1）。血管の伸び縮みを制御し、メカニカルストレス応答に重要な役割を担う弾性線維は、30以上の弾性線維結合因子によって形成されている。私たちの研究室では、fibulin-4 という弾性線維に結合する細胞外マトリクスを血管平滑筋細胞に特異的に欠損させて、生後発症の胸部大動脈瘤のマウスモデル (*Fbln4^{SMKO}*マウス) を作製した (Huang et al. Circ Res 2010)。このマウスを使った実験から、大動脈瘤の発症には、血管平滑筋細胞におけるメカニカルストレスの感知・伝達の異常が関与していること、その結果、アンギオテンシンIIをはじめとする、細胞内のさまざまなシグナル経路が活性化されることわかつてきた (Huang et al. Sci Transl Med 2013, Yamashiro et al. Sci Sig 2015)。

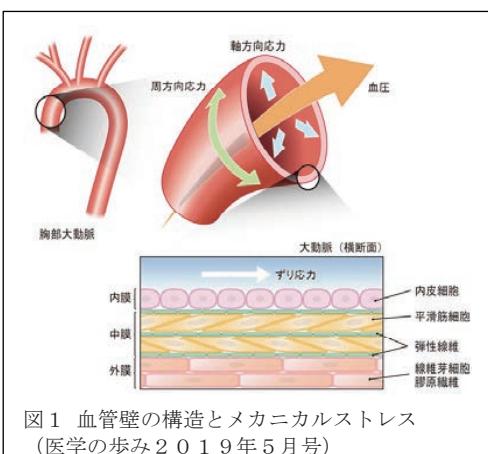


図1 血管壁の構造とメカニカルストレス
(医学の歩み2019年5月号)

私たちは、*Fbln4^{SMKO}*マウス大動脈瘤の発症初期に、トロンボスponディン1 (Thbs1) というマトリセルラータンパク質が、内皮細胞と内皮細胞近傍の平滑筋細胞で高発現していることを見出した（図2）。血管平滑筋細胞を使った実験から、アンギオテンシンI型受容体 (AT1R) -PKC-MEK/ERK又はAT1R-Arrb2シグナルによってThbs1の発現が制御されている可能性が示された。また、Thbs1は周期的伸展刺激により発現が誘導され、Arrb2非依存的にメカニカルストレス応答転写因子Early growth response 1 (Egr1) を介していることが明らかとな

った。さらに、*Fbln4^{SMKO}*において、Thbs1を遺伝的に欠損させると、病変部で見られた弾性線維と平滑筋細胞の結合障害や細胞骨格の異常なリモデリングが改善され、大動脈瘤の形成が抑止されることを見出した (Yamashiro et al. Circ Res 2018)。興味深いことに、胸部大動脈瘤患者の血管ではThbs1が高発現していることから、Thbs1の抑制が大動脈瘤の治療に有効である可能性が示された。今年度はこの大動脈瘤のモデルを用いて、Thbs1の発現を制御するEgr1を中心としたシグナル経路の解析と、Thbs1のメカニカルストレスにおける働き、特にメカニカルストレス応答転写因子との関連について研究を進めた。

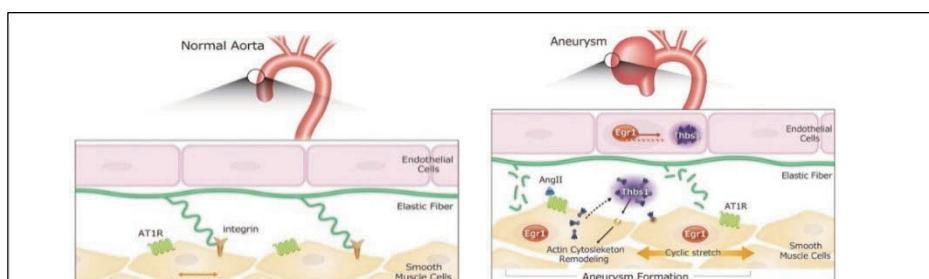


図2 正常大動脈（左）と大動脈瘤（右）の血管平滑筋細胞内のシグナル経路を示す。
大動脈瘤では、Thbs1の発現増加を認める。（医学のあゆみ2019年5月号）

【マウス皮膚幹細胞の老化メカニズムの解明】

近年、加齢に伴う個体の機能低下の一因として、分化細胞の供給源である幹細胞の機能低下（幹細胞の老化）が提唱されている。しかし幹細胞の老化に関する知見の多くは、特定の組織や分子に着目した個別研究であり、幹細胞老化を統合的に理解するための基盤が不足している。我々は、マウス皮膚をモデルとし、幹細胞の加齢変化を細胞・分子レベルで比較解析することで、幹細胞老化の共通原理を探る研究をすすめている。また、幹細胞を支えるニッチの研究を行なっており、細胞外基質や糖鎖の修飾が、老化と共に幹細胞の増殖や分化をどのように制御しているか、いくつかの候補分子を中心に、遺伝子改変マウスを用いて個体レベルでの研究を行なっている。また、表皮幹細胞のみならず、前眼部の上皮細胞（角膜や結膜）の幹細胞の挙動の解析を行なっている。

2019年度研究業績

原著論文（全て査読あり）

Burger J, van Vliet N, van Heijningen P, Kumra H, Kremers G-J, Alves M, van Cappellen G, Yanagisawa H, Reinhardt DP, Kanaar R, van der Pluijm I, and Essers J: Fibulin-4 deficiency differentially affects cytoskeleton structure and dynamics as well as TGF β signaling.

Cell Signal.

Sugiyama K, Horigome H, Lin L, Murakami T, Shiono J, Yamashiro Y, Matsuura H, Yoda H, Yanagisawa H: Novel ELN mutation in a Japanese family with a severe form of supravalvular aortic stenosis. **Mol Genet Genomic Med.** (11):e986 (2019).

Changarathil G, Ramirez K, Isoda H, Sada A, Yanagisawa H:
Wild-type and SAMP8 mice show age-dependent changes in distinct stem cell compartments of the interfollicular epidermis. **PLoS One.** 14(5):e0215908 (2019).

Kumra H, Nelea V, Hakami H, Pagliuzza A, Djokic J, Xu J, Yanagisawa H, and Reinhardt DP:
Fibulin-4 exerts a dual role in LTBP-4L mediated matrix assembly and function. **Proc Natl Acad Sci. USA.** 116(41):20428-20437 (2019).

石川伸行、堀米仁志、村上卓、高橋実穂、野崎良寛、林立申、塩野淳子、平松祐司、柳沢裕美：左単一冠動脈の拡張を伴い、SHOC2 遺伝子異常が認められた Noonan 症候群の 1 例. **日本小児循環器学会雑誌.** 35(2): 127-131 (2019).

総説

Shin SJ, Yanagisawa H: Recent updates on the molecular network of elastic fiber formation. **Essays Biochem.** 63(3):365-376 (2019).

Yanagisawa H. and Wagenseil J: Elastic fibers and biomechanics of the aorta: Insights from mouse studies. **Matrix Biology.** Jan;85-86:160-172 (2020). Epub 2019 Mar 15.

L. Oinam, G. Changarathil, Yen Xuan Ngo, H. Yanagisawa and A. Sada:
Epidermal stem cell lineages. In **Advances in Stem Cells & their Niches.** Volume 3, chapter 2 (2019)

山城義人、柳沢裕美

大動脈瘤形成に関与するメカノトランスダクション 機構

医学のあゆみ Vol. 269 (7) 552-553 (2019).

学会発表等 (国際学会*、招待講演**)

柳沢裕美

* * Hiromi Yanagisawa: Dual role of thrombospondin-1 in aortic remodeling and disease, FASEB SRC on the matricellular proteins in tissue remodeling and inflammation (リスボン・ポルトガル)
2019年7月17日 (国際)

* * Hiromi Yanagisawa: Contribution of matrix mechanotransduction in vascular remodeling, Gordon Research Conference on Elastin, Elastic fibers and Microfibrils (メイン・アメリカ)
2019年7月24日 (国際)

柳沢裕美：平滑筋メカノトランスダクションにおけるThrombospondin-1の役割
MatriCell フォーラム（仙台）2019年8月31日 (国内)

* * 柳沢裕美：血管壁のメカノトランスダクションと弾性線維
エラスチン・関連分子研究会（大阪）2019年12月1日 (国内)

山城義人

* * 山城義人：マトリクスマカノトランスダクションと血管リモデリング
CardioVascular and Metabolic Week 2019 (第27回 日本血管生物医学学会学術集会)
(神戸) 2019年12月14-15日 (国内)

* * 山城義人：メカノジャックで紐解く、血管のリモデリング
第42回 日本分子生物学会年会 ワークショッピング「生物情報はいかにして細胞の未来を紡ぐのか？」(福岡) 2019年12月5日 (国内)

* * Yoshito Yamashiro : Matrix mechanotransduction mediated by thrombospondin-1/integrin/YAP signaling pathway in the remodeling of vessel wall. The 3rd JCS Council Forum on Basic CardioVascular Research (Tokyo) Poster 2019年9月6-8日 (国際)

* Yoshito Yamashiro, Bui Quoc Thang, Karina Ramirez, Seung Jae Shin, Tomohiro Kohata, Shigeaki Ohata, Tram Anh Vu Nguyen, Sumio Ohtsuki, Kazuaki Nagayama and Hiromi Yanagisawa: Matrix

mechanotransduction mediated by thrombospondin-1/integrin/YAP signaling pathway in the remodeling of vessel wall. NAVBO: Vascular Biology (Monterey, USA) Short talk and Poster
October, 2019 (国際)

* Yoshito Yamashiro, Bui Quoc Thang, Karina Ramirez, Seung Jae Shin, Tomohiro Kohata, Shigeaki Ohata, Tram Anh Vu Nguyen, Sumio Ohtsuki, Kazuaki Nagayama and Hiromi Yanagisawa: Matrix mechanotransduction mediated by thrombospondin-1/integrin/YAP signaling pathway in the remodeling of vessel wall. Gordon Research Conference: Fibronectin and related molecules (Bacca, Italia) Poster May, 2019 (国際)

佐田亜衣子

＊＊佐田亜衣子：マウス表皮における幹細胞ダイナミクス解析 「皮膚科学と数理科学の接点」研究集会（北海道大学電子科学研究所）2019年10月3-5日（国内）

＊＊佐田亜衣子：幹細胞と糖鎖：レクチン技術の利用と将来展望 N.I.P コース令和元年 TIA ナオバイオサマースクール（糖鎖・レクチン）（東京）2019年9月3-4日（国内）

＊＊佐田亜衣子：表皮の再生と老化を担う幹細胞ダイナミクス 内分泌・代謝学 共同利用
共同研究拠点セミナー（群馬大学・生体調節研究所）2019年6月21日（国内）

佐田亜衣子：組織の再生と老化を担う上皮幹細胞のはたらき Epithelial stem cells in tissue regeneration and aging

第42回分子生物学会年会（福岡）シンポジウム演者 2019年12月3-6日（国内）

佐田亜衣子：皮膚再生と老化を担う分子基盤の解明 第4回 LLPS 研究会・ASUKA 若手交流会 2019（奈良）口頭&ポスター発表 2019年12月9日（国内）

佐田亜衣子：皮膚の再生と老化を担う幹細胞のはたらき

静岡大学グリーン科学技術研究所講演会（静岡）講演 2019年12月19日（国内）

佐田亜衣子：老化皮膚における幹細胞の糖鎖プロファイリングと分子基盤の解明

第38回日本糖質学会年会（名古屋）口頭発表 2019年8月19-21日（国内）

＊＊Aiko Sada: Maintenance of heterogeneous epidermal stem cell populations by the distinct niche.
Japan-Singapore International Skin Conference 2019 (Singapore) April 10-12, 2019 (国際)

* Aiko Sada: Elucidating the cellular and molecular regulation of epidermal stem cell dynamics: from homeostasis to aging. KU-KAIST Joint Symposium (韓国) 口頭発表 November 11-12, 2019 (国際)

Lalhaba Oinam, Gopakumar Changarathil, Jun Tsuneyumi, Hiromi Yanagisawa, Aiko Sada: Maintenance of heterogeneous epidermal stem cell populations by the distinct niche. 第 17 回幹細胞シンポジウム (淡路) ポスター発表 2019 年 5 月 24-25 日 (国内)

* Lalhaba Oinam, Gopakumar Changarathil, Jun Tsuneyumi, Hiromi Yanagisawa, Aiko Sada: Maintenance of heterogeneous epidermal stem cell populations by the distinct niche. Gordon Research Conference, Epithelial Differentiation and Keratinization (米国) ポスター発表 July 7-12, 2019 (国際)

学生発表

杉山夏緒里、堀米 仁志, 村上 卓, 林 立申, 野崎 良寛, 塩野 淳子, 松裏 裕行, 緒方公平, 柳沢 裕美: 家族性大動脈弁上狭窄症における新規エラスチン遺伝子変異の同定と解析. 122 回日本小児科学会学術集会 (金沢) ポスター発表 2019 年 4 月 19 日-21 日 (国内)

* Kaori Sugiyama, Julia Marzi, Eva Brauchle, Masahiro Ando, Yoshito Yamashiro, Katja Schenkel-Layland, Hiromi Yanagisawa : Label-free Raman imaging for non-invasive diagnostic tools of thoracic aortic aneurysm. Gordon Research Conference on Elastin, Elastic fibers and Microfibrils (米国) ポスター発表 2019 年 7 月 21 日-28 日 (国際)

Karina Ramirez, Nguyen Vu Tram Anh, Yoshito Yamashiro, Aiko Sada, Hiromi Yanagisawa: Contribution of PDGFR α -positive cell populations during vascular remodeling. 第 3 回日本循環器学会基礎研究フォーラム (東京) ポスター発表 2019 年 9 月 6-8 日 (国内)

Nguyen Vu Tram Anh, Huynh Thuy Hang, Caroline Antunes Lino, Bui Quoc Thang, Juliano Vilela Alves, Yoshito Yamashiro and Hiromi Yanagisawa: Cell-specific function of fibulin-4 in progression of ascending aortic aneurysm in mice. 第 3 回日本循環器学会基礎研究フォーラム (東京) ポスター発表 2019 年 9 月 6-8 日 (国内)

Seung Jae Shin, Yoshito Yamashiro, Thang Bui Quoc, Yuji Hiramatsu, Hiromi Yanagisawa: Role of PAR1-Egr1 in the initiation of thoracic aortic aneurysm. 第 3 回日本循環器学会基礎研究フォーラム (東京) ポスター発表 2019 年 9 月 6-8 日 (国内)

* Seung Jae Shin, Yoshito Yamashiro, Thang Bui Quoc, Yuji Hiramatsu, Hiromi Yanagisawa: Role of PAR1-Egr1 in the initiation of thoracic aortic aneurysm. North American Vascular Biology Organization (米国) ポスター発表 2019年10月27-31日 (国際)

杉山夏緒里, Julia Marzi, Eva Brauchle, 安藤正浩、山城義人, Katja Schenke-Layland, 柳沢裕美 : ラマン分光法と多変量解析を用いた胸部大動脈瘤に特異的な生体分子指紋の同定. エラスチン・関連分子研究会（大阪）口頭発表 2019年11月30日-12月1日 (国内)

杉山夏緒里, Julia Marzi, Eva Brauchle, 安藤正浩、山城義人, Katja Schenke-Layland, 柳沢裕美 : ラマン分光法と多変量解析を用いた胸部大動脈瘤に特異的な生体分子指紋の同定. 日本分光学会生細胞分光部会（筑波）ポスター発表 2019年12月12日 (国内)

辛 承宰, ヒョン スイ ハン, 山城 義人, タン ブイ クウオ, 平松 祐司, 柳沢 裕美 : Role of PAR1-Egr1 in the initiation of thoracic aortic aneurysm. 日本血管生物医学会（大阪）ポスター発表 2019年12月14-15日 (国内)

* Lalhaba Oinam, Gopakumar Changarathil, Kae Kawazoe, Hiroaki Tateno, Aiko Sada, Hiromi Yanagisawa: Differential surface protein modifications during epidermal stem cell aging The 19th International Joint Mini-Symposium on Molecular and Cell Biology (Tainan, Taiwan) 口頭発表 May 3-4, 2019 (国際)

* Lalhaba Oinam, Gopakumar Changarathil, Yen Xuan Ngo, Hiroaki Tateno, Hiromi Yanagisawa, Aiko Sada: Differential glycosylation patterns during epidermal stem cell aging Cold Spring Harbor Laboratory Meeting, Stem cell biology (米国) 口頭発表 September 17-21, 2019 (国際)

* Lalhaba Oinam, Gopakumar Changarathil, Yen Xuan Ngo, Hiromi Yanagisawa, Aiko Sada, Hiroaki Tateno: Differential glycosylation patterns during epidermal stem cell aging 11th ACGG Conference (韓国) 口頭&ポスター発表 November 11-14, 2019 (国際)

* Gopakumar Changarathil, Karina Ramirez, Hiroko Isoda, Hiromi Yanagisawa, Aiko Sada: Wild-type and SAMP8 mice show age-dependent changes in distinct stem cell compartments of the interfollicular epidermis Gordon Research Conference, Epithelial Differentiation and Keratinization (米国) 口頭&ポスター発表 July 7-12, 2019 (国際)

Kaori Sugiyama, Julia Marzi, Eva Brauchle, Masahiro Ando, Yoshito Yamashiro, Bhama Ramkhelawon, Katja Schenke-Layland, Hiromi Yanagisawa: Identification of biomolecular fingerprints specific for thoracic aortic aneurysm by Raman microspectroscopy combined with multivariate data analysis

日本化学会第 100 春季年会 (2020) (東京理科大野田キャンパス) 2020 年 3 月 22~25 日

受賞

山城義人

2019 年 日本結合組織学会 大高賞

2019 年 日本応用酵素協会 Vascular Biology Innovation Conference
優秀プレゼンテーション賞

2019 年 国立大学法人筑波大学 若手教員奨励賞

佐田亜衣子

2019 年 令和元年度熊本大学女性研究者賞表彰

2019 年 第 17 回幹細胞シンポジウム、ポスター賞

2019 年 科学技術人材育成のコンソーシアム構築事業「次世代研究者育成プログラム」
/Nanotech CUPAL N.R.P コース、平成 30 年度 CUPAL 優秀活動賞

学生の受賞

Lalhaba Oinam

2019 年 11 月 第 11 回 Asian Community of Glycoscience and Glycotechnology Conference ポスター賞

Nguyen Vu Tram Anh

2019 年 12 月 第 3 回 日本循環器学会基礎研究フォーラム ポスター賞

新聞記事

柳沢裕美

つくコム 45 2019 「血管の異常を引き起こすシグナルを探して」

アウトリーチ活動

Hiromi Yanagisawa : Lessons from the reverse culture shock: My 24 years of experience in the US research Institution, 2019 年 Tsukuba Conference

柳沢裕美

2019 年 9 月 17 日

東京都立科学技術高等学校 (JST さくらサイエンスプランの交流事業で訪日のパキスタンの Cadet College Hasan Abdal の高校生含む) の皆さんへ研究紹介

2019年11月15日

群馬県立前橋女子高等学校の皆さんへ研究紹介

山城義人

2019年2月～2019年8月

Summer Research Program in Tsukuba 2019 筑波大学

2020年1月

The 2nd University of Tsukuba-University of Science Joint Young Researcher Meeting in Biomedical Science ベトナム・ホーチミン

学会および社会的活動

柳沢裕美

2019年～(現在) 日本血管生物医学会 評議員

2018年～(現在) GenTAC Alliance Basic/Translational Science Working Group member

2017年～(現在) 日本結合組織学会 評議員

2016年～(現在) エラスチン関連分子研究会 幹事

山城義人

2018年4月～2022年3月 日本血管生物医学会 評議員

佐田亜衣子

2018年4月～2021年3月 日本研究皮膚科学会 評議員

科学研究費補助金・外部資金獲得状況

柳沢裕美

研究種目名：基盤研究（B）（代表）

研究課題名：メカニカルストレス応答の破綻に着目した大動脈瘤形成メカニズムの解明

課題番号：17H04289

研究期間：2017年度～2020年度

研究種目名：喫煙科学研究財団・研究助成（代表）

研究課題名：喫煙が大動脈瘤の自然発症に及ぼす影響

研究期間：2016年度～2020年度

研究種目名：先進医薬研究振興財団・研究助成(代表)

研究課題名：ラマン分光イメージング法を用いた切迫大動脈瘤の時空間的解析と破裂予測

研究期間：2019年度～2020年度

研究種目名：東京生化学研究会・研究助成(代表)

研究課題名：表皮幹細胞の接着と増殖を担う Fibulin-7 の生化学特性の解明

研究期間：2019年度～2020年度

研究種目名：SPRINT（筑波大学・FAPESP 共同研究プロジェクト）(代表)

研究課題名：大動脈瘤形成における内皮細胞機能不全の関与の研究

Contribution of endothelial dysfunction in progression of aortic aneurysm

研究期間：2018年11月～2019年度

山城義人

研究種目名：科学研究費助成事業・若手研究（代表）

研究課題名：血管壁のメカノセンシングを起点とした新しい大動脈瘤発生メカニズムの解明

課題番号：18K15057

研究期間：2018年度～2020年度

研究種目名：日本応用酵素協会・若手研究助成（代表）

研究課題名：血管壁の機械刺激応答と病態形成を誘導するシグナル分子の解析

研究期間：2016年度～2022年度

研究種目名：武田科学振興財団・医学系研究奨励（代表）

研究課題名：大動脈瘤発生に関するマトリセルラータンパク質の血管壁における機能解析

研究期間：2018年度～2019年度

研究種目名：MSD 生命科学財団・研究奨励（代表）

研究課題名：大動脈瘤の新規治療法開発のための基盤解析

研究期間：2018年度～2019年度

研究種目名：上原記念生命科学財団・研究奨励（代表）

研究課題名：血管壁のメカニカルストレス応答機構の解明

研究期間：2018年度～2019年度

研究種目名：日本心臓財団・入澤宏彩記念研究奨励（代表）
研究課題名：大動脈瘤マウスモデルを用いた血管壁の機械刺激応答メカニズムの解明
研究期間：2018年度～2019年度

佐田亜衣子
研究種目名：AMED/AMED-PRIME（代表）
研究課題名：「上皮幹細胞の老化プロセスの包括的理 解：分裂頻度の異なる幹細胞に着眼して」
課題番号：18gm6110016h0001
研究期間：2018年度～2021年度（3.5年間）

研究種目名：科学研究費助成事業/若手研究（代表）
研究課題名：「組織の凹凸に着眼した上皮幹細胞の局在・機能制御とその加齢変化の解明」
研究期間：2018年度～2019年度（2年間）

研究種目名：三菱財団/第50回（2019年度）自然科学研究助成「若手助成」（代表）
研究課題名：「糖鎖プロファイリング技術を利用した幹細胞老化バイオマーカーの同定とその応用」
研究期間：2019年度（1年間）

研究種目名：住友財団/2019年度基礎科学研究助成（代表）
研究課題名：「糖鎖工学と幹細胞生物学の融合アプローチによる機能的老化マーカーの創出」
研究期間：2019年度（1年間）

研究種目名：金原一郎記念医学医療振興財団/基礎医学医療研究助成金（代表）
研究課題名：「角結膜再生に向けたin vivo幹細胞ダイナミクス解析」
研究期間：2019年度（1年間）

研究種目名：群馬大学生体調節研究所・内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究公募（代表）
研究課題名：「超短命魚ターコイズキリフィッシュを用いた幹細胞老化関連代謝因子の探索」
研究期間：2019年度（1年間）

研究種目名：京都大学ウイルス・再生医学研究所/平成29年度共同研究課題（代表）
研究課題名：「皮膚の恒常性維持における表皮幹細胞のダイナミクス解析」
研究期間：2019年度（1年間）

研究種目名：内藤記念科学振興財団/2016年度女性研究者研究助成金（代表）

研究課題名：「成体血管の再生メカニズムの解明」、

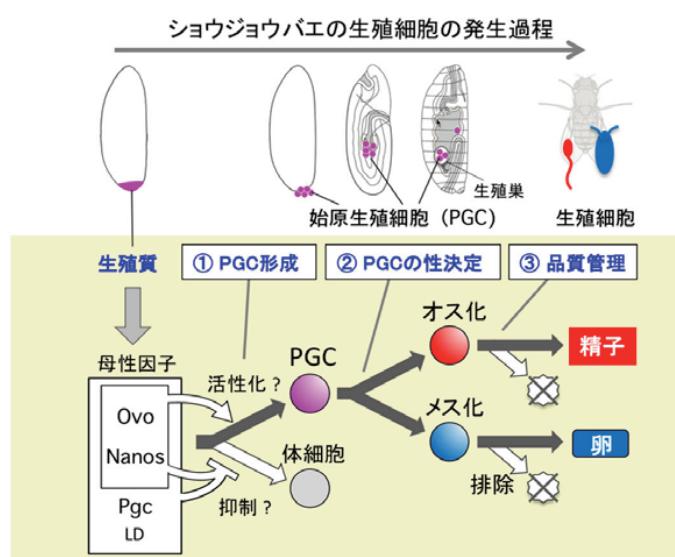
研究期間：2017年度-2019年度（3年間）

生殖ダイナミクス

「生殖細胞形成メカニズムの解明に挑む」

次代の生命を生み出すためには卵や精子である生殖細胞が必要である。一方、体細胞は、筋肉や神経などの体のパーツを作り上げ個体の生命を支えているが、やがて個体の死とともにその役割を終えてしまう。ショウジョウバエ卵の後端には生殖質と呼ばれる特殊な細胞質があり、この細胞質を取り込む始原生殖細胞のみが生殖細胞に分化する。生殖質の中には、生殖細胞の形成の引き金を引く分子がそろっていることが、生殖質の移植実験により明らかにされている。そこで、このような分子の実体を明らかにすることにより、生殖細胞形成メカニズムの全貌を解明することができると考えている。さらに、生殖系列の性の決定機構や品質管理機構に関しても研究を行っている。

Germ cells are specialized cells that can transmit genetic materials from one generation to the next in sexual reproduction. All of the other cells of the body are somatic cells. This separation of germ and somatic cells is one of the oldest problems in developmental biology. In many animal groups, a specialized portion of egg cytoplasm, or germ plasm, is inherited by the cell lineage which gives rise to germ cells. It has been demonstrated that the germ plasm contains maternal factors required and sufficient for germline development. Our laboratory aims to find the molecular mechanisms for germline development, germline sex determination and germline quality control in *Drosophila*.



ショウジョウバエにおける生殖細胞形成過程および研究のポイント



2019年度 小林研究室集合写真

プロジェクトメンバー

教授

小林 悟

助教

島田 裕子

林 良樹

林 誠

博士研究員

浅岡 美穂

太田 龍馬

森田 俊平

生命科学研究科

博士前期課程

香山 瑞生

三浦 博樹

生物学類

海野 太一

古賀 結花

萩久保 朝香

増川 広樹

ARE

小園 康広

技術補佐員

松川 洋美

渡邊 满美子

研究概要

ショウジョウバエ卵後端の「生殖質」を、体細胞に分化する卵前端の細胞に取り込ませると、その細胞は体細胞に分化することをやめ、始原生殖細胞となり生殖細胞に分化する。このことは、生殖質中には、体細胞分化を抑制する分子（母性因子）と、生殖細胞への分化を活性化する母性因子が存在していることを物語っている。これまでに、体細胞分化を抑制する母性因子として Nanos タンパク質と Polar granule component(Pgc) ペプチドが同定されている。一方、始原生殖細胞中で生殖細胞系列特異的な遺伝子（生殖系列遺伝子）を活性化し、生殖細胞に分化するように運命づける働きを持つ母性因子の一つとして Ovo タンパク質を同定した。これら母性因子の機能解析を中心として、始原生殖細胞の発生運命決定機構を明らかにすることを試みている。

【体細胞性遺伝子の発現を抑制する機構】

体細胞性遺伝子の発現抑制に関わる母性因子として、Nanos タンパク質と Pgc ペプチドが知られている。Pgc は、初期胚の始原生殖細胞で一過的に RNA polymerase II 依存的な転写を抑制することで、体細胞性遺伝子の転写を低く抑えている。一方、Nanos は、転写因子の核移行に関わる Importin α -2 の産生を翻訳レベルで抑制することで、体細胞性遺伝子の転写を抑えている。しかし、これら 2 つの母性因子による体細胞性遺伝子の発現抑制機構を解除した場合に、始原生殖細胞にどのような変化が見られるのかは解析されていなかった。そこで本研究では、Nanos のターゲットである Importin α -2 タンパク質の過剰発現 (Imp α 2 OE) と同時に pgc の機能も欠失 (pgc-) させた胚 (pgc- / Imp α 2 OE) の始原生殖細胞にどのような形態学的变化が見られるのかを解析した。その結果、正常胚では、すべての始原生殖細胞が丸い形態を示すのに対し、pgc- / Imp α 2 OE 胚では始原生殖細胞が太い細胞突起を伸ばすことを見出した。この表現型は胚発生ステージ 5~6 という短い間でのみ観察された。また、この異常な形態を示す始原生殖細胞の割合は、Imp α 2 OE や pgc- 胚と比較して、pgc- / Imp α 2 OE 胚で有意に高かった。この細胞突起を有する始原生殖細胞の形態は、休眠神経幹細胞の形態とよく類似している。以上の結果から、休眠神経幹細胞の形成に関わる体細胞性遺伝子が pgc- / Imp α 2 OE 胚の始原生殖細胞中で脱抑制されたのではないかと考えている。実際に、pgc- / Imp α 2 OE 胚の始原生殖細胞において、神経で発現する体細胞性遺伝子が脱抑制され、その機能阻害により、細胞突起を有する始原生殖細胞の割合が減少した。今後、pgc- / Imp α 2 OE 胚の始原生殖細胞の発生運命を解析する予定である。

【生殖系列遺伝子の発現を活性化する機構】

母性 Ovo タンパク質は、Zn フィンガードメインを有する転写制御因子として知られてお

り、始原生殖細胞で高発現する遺伝子群の転写活性化に機能することを見出していた。しかし、母性 Ovo タンパク質の機能を阻害した始原生殖細胞は発生過程で消失してしまうため、生殖細胞分化過程における母性 Ovo タンパク質の機能は明らかになっていない。そこで、マイクロアレイ解析により、母性 Ovo タンパク質が始原生殖細胞中で転写を活性化することが明らかになっている 401 遺伝子に着目して解析を行った。まず、*in situ* ハイブリダイゼーション法により後期胚の始原生殖細胞において高発現する遺伝子を 38 個同定した。次に、これらの遺伝子の機能を RNA 干渉法を用いて始原生殖細胞中でノックダウンしたところ、卵巣と精巣の退縮が観察される遺伝子を 8 遺伝子同定した。また、卵巣特異的に成熟卵の形成が阻害される遺伝子を 2 遺伝子同定した。これら 10 遺伝子は生殖系列の細胞の維持や、卵成熟に機能していることが示唆された。さらに、遺伝子の機能を阻害することにより次世代の孵化率が有意に低下する遺伝子を 9 遺伝子同定した。これら 9 遺伝子は、機能的な卵や精子の產生に機能していることが明らかになった。現在、これら遺伝子の機能解析を継続している。

【始原生殖細胞の性差形成機構】

ショウジョウバエは X 染色体が一本ならばオス、二本ならばメスとなる。ショウジョウバエ体細胞系列では、オス特異的に形成される、Male-Specific Lethal (MSL)と呼ばれる複合体が、ヒストン H4K16 のアセチル化を行うことで、X 染色体遺伝子の発現が倍加され、オス/メス間における X 染色体遺伝子の発現の性差が補償される。この現象を、遺伝子量補償と呼ぶ。本研究では、この遺伝子量補償の機構が始原生殖細胞において欠如していることを初めて示すことができた。これまでの研究から、ショウジョウバエ始原生殖細胞は、X 染色体の数に依存して性が決定されると考えられてきたが、未だその機構は不明である。上記解析から明らかとなった、始原生殖細胞における遺伝子量補償の欠如は、オスとメスの始原生殖細胞間における X 染色体遺伝子の発現の性差を生み出すことから、これにより生殖系列の性が決定されるのではないかと考えた。この点を明らかにするため、XY 型のオス始原生殖細胞に遺伝子量補償を付与し、X 染色体遺伝子の発現を倍加させた XY 型のオス始原生殖細胞が、メス化するのかを明らかにする研究を現在行っている。

【生殖系列の品質管理機構】

トランスポゾンの人為的活性化などによりゲノムに損傷が生じた生殖系列の細胞を排除する品質管理機構が存在するかは、生殖生物学分野において重要な問題である。これまでの研究から、DNA 型のトランスポゾンである P 因子の転移が起きた生殖系列は、発生過程においてその細胞数が著しく減少することが知られていた。本研究では、1) P 因子の転移を起こした生殖系列において Myc タンパク質の発現が低下すること、2) Myc をノックダウンした生殖系列は、P 因子の転移が起きた場合と同様に細胞数が減少すること、3) P 因子

の転移による細胞数の減少は、生殖系列における *Myc* の強制発現によりレスキューされることを見出した。さらに、*Myc* 強制発現のレスキューにより形成された配偶子では、P 因子の転移を起こした個体の配偶子に比べ、変異率が上昇することもわかった。以上の結果から、P 因子の転移が起きた生殖系列では、*Myc* の発現が低下し、それによりゲノム DNA に損傷を有する生殖系列が排除されることが強く示唆される（2020 年度論文発表）。

【生殖系列の代謝的性質とその役割】

細胞内代謝は全ての細胞が均一にもつ“ハウスキーピング”な役割を果たすと考えられてきた。一方、近年のがん細胞や哺乳類多能生幹細胞の研究を通じて、細胞内代謝は細胞種ごとに異なり、細胞固有の代謝状態が細胞の性質を左右し得るという知見が得られつつある。しかし、これまでの多くの研究は哺乳類培養細胞より得られた知見がもとになっており、生体内の各組織を構築する細胞の代謝状態およびその役割の多くは不明であった。そこでショウジョウバエ生殖系列をモデルとして、生殖系列が固有の代謝状態をもつかを検証した。生殖系列を対象としたメタボロミクスおよび遺伝子発現解析の結果、生殖系列の代謝的特徴の一つとして、S-アデノシルメチオニン（SAM）の低産生状態を見出した。SAM は細胞内の主要なメチル基供与体として知られる重要な代謝物質である。生殖系列における SAM の低産生状態の意義の解明を試みた結果、SAM の低産生状態はゲノム DNA のメチル化（N6mA 修飾）を低く保つことで、レトロトランスポゾンの発現を抑制することを見出した。この結果は、細胞内代謝の制御によりレトロトランスポゾンを抑制し、生殖系列のゲノム損傷を抑制するという、生殖系列の新規品質保持機構の一端を明らかにしたものであると考える。現在、他の代謝経路の働きも含め、SAM の低産生状態の意義をさらに深く研究している。

【個体の発育と成熟を司る神経内分泌機構】

個体が「こども（幼若期）」から「おとな（成熟期）」へ成長する過程において、脳神経系機能と代謝・内分泌環境が協調的に調節される必要がある。ヒトを含む哺乳類では、思春期に脳の視床下部から生腺刺激ホルモン放出ホルモン（Gonadotropin releasing hormone, GnRH）が放出され、卵巣や精巣でステロイドホルモン生合成が促進されることにより、生殖機能が発達することが知られている。しかし、適切なタイミングでステロイドホルモン生合成を促す神経支配の分子機構には、不明な点が多く残されている。

本研究では、昆虫ステロイドホルモンであるエクジステロイドの生合成調節において、セロトニン産生神経 SE0 や性腺刺激ホルモン放出ホルモンに属する神経ペプチド Corazonin (Crz) を分泌する神経の機能解析を行っている。本研究により、個体の発育段階によって変化する神経支配機構が明らかになりつつあり、個体の成長から成熟への変遷過程を分子レベルで理解することを目指している。

2019 年度研究業績

原著論文（全て査読あり）

M. Asaoka, K. Hanyu-Nakamura, A. Nakamura, and S. Kobayashi (2019)

Maternal Nanos inhibits Importin- α 2/Pendulin-dependent nuclear import to prevent somatic gene expression in the *Drosophila* germline. *PLoS Genetics*, 15, e1008090.

M. Kutsukake, M. Moriyama, S. Shigenobu, X-Y Meng, N. Nikoh, C. Noda, S. Kobayashi, and T. Fukatsu (2019)

Exaggeration and co-option of innate immunity for social defence. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 116, 8950-8959.

S. Nakamura, S. Hira, M. Fujiwara, N. Miyagata, T. Tsuji, A. Kondo, H. Kimura, Y. Shinozuka, M. Hayashi, S. Kobayashi, and M. Mukai (2019)

A truncated form of a transcription factor Mamo activates vasa in *Drosophila* embryos.

Communications biology, 2: 422.

K. Ichida, W. Kawamura, M. Miwa, Y. Iwasaki, T. Kubokawa, M. Hayashi, R. Yazawa, and G.

Yoshizaki (2019)

Specific visualization of live type A spermatogonia of Pacific bluefin tuna using fluorescent dye-conjugated antibodies. *Biology of Reproduction*, 100, 1637-1647.

M. Hayashi, K. Ichida, S. Sadaie, M. Miwa, R. Fujihara, Y. Nagasaka, and G. Yoshizaki (2019)

Establishment of novel monoclonal antibodies for identification of type A spermatogonia in teleosts.

Biology of Reproduction, 101, 478-491.

K. Ichida, M. Hayashi, M. Miwa, R. Kitada, M. Takahashi, R. Fujihara, S. Boonanuntasarn, and G. Yoshizaki (2019)

Enrichment of transplantable germ cells in salmonids using a novel monoclonal antibody by magnetic-activated cell sorting. *Mol. Reprod. Dev.*, 86, 1810-1821.

S. Morita, R. Ota, M. Hayashi and S. Kobayash (2020)

Repression of G1/S transition by transient inhibition of miR-10404 expression in *Drosophila* primordial germ cells. *iScience*, 23, 100950.

W. Kang, Y. Harada, K. Yamatoya, N. Kawano, S. Kanai, Y. Miyamoto, A. Nakamura, M. Miyado, Y. Hayashi, Y. Kuroki, H. Saito, A. Umezawa, K. Miyado (2020)

Extra-mitochondrial citrate synthase initiates calcium oscillation and suppresses age-dependent dysfunction. *Lab. Invest.*, 100, 583-595.

総説

Y. Hayashi, Y. Yoshinari, S. Kobayashi, R. Niwa (2020)
The regulation of *Drosophila* ovarian stem cell niches by signaling crosstalk.
Current Opinion in Insect Science, 37, 23-29.

学会発表等（国際学会＊、招待講演＊＊）

＊＊ 小林悟

“ショウジョウバエ遺伝学に関する講演”
静岡大学附属浜松中学校（浜松）2019年6月

＊＊ 太田龍馬、小林悟（演者）

“ショウジョウバエ生殖系列の品質管理機構”
遺伝学会・新学術「配偶子インテグリティ」共催シンポ：「個体を潜り抜けるための遺伝戦略」
日本遺伝学会第91回大会（福井）2019年9月

浅岡美穂、香山瑞生、羽生-中村賀津子、中村輝、小林悟

“ショウジョウバエ始原生殖細胞における Nanos と Pgc タンパク質による体細胞性遺伝子抑制機構”

日本動物学会第90回大阪大会（大阪）2019年9月

香山瑞生、浅岡美穂、森田俊平、林誠、小林悟

“ショウジョウバエ始原生殖細胞における体細胞性遺伝子抑制機構の役割”
日本動物学会第90回大阪大会（大阪）2019年9月

太田龍馬、小林悟

“ショウジョウバエにおける Myc を介した生殖系列の品質管理機構”
日本動物学会第90回大阪大会（大阪）2019年9月

林良樹、小林悟

“メチオニン代謝制御による生殖系列におけるトランスポゾン抑制機構”

日本動物学会第90回大阪大会（大阪）2019年9月

中村翔一、近藤茜、平誠司、小林悟、小島麻琴、鈴木みのり、政所重智、向正則

“ショウジョウバエ生殖細胞性遺伝子 vasa 遺伝子の異所的発現が体細胞に与える影響”

日本動物学会第90回大阪大会（大阪）2019年9月

三浦博樹、太田龍馬、林誠、小林悟

“ショウジョウバエ始原生殖細胞の性決定に関与する新規遺伝子の探索”

日本動物学会第90回大阪大会（大阪）2019年9月

* Makoto Hayashi, Yoshiko Iwasaki, Tetsutaro Hayashi, Masashi Ebisawa, Yohei Sasagawa, Mika Yoshimura, Kensuke Ichida, Itoshi Nikaido, Goro Yoshizaki

“Identification of the molecular markers preferentially expressed in spermatogonial stem cells in fish.”

Marine Biotechnology Conference 2019 (Shizuoka, JAPAN) 2019年9月

* Kensuke Ichida, Makoto Hayashi, Surintorn Boonanuntasarn, Goro Yoshizaki

“Specific visualization of type A spermatogonia using a fluorescence-conjugated antibody in *Salmo* species.”

Marine Biotechnology Conference 2019 (Shizuoka, JAPAN) 2019年9月

* Yoshiki Hayashi, Arisa Sugiyama, Keisuke Kamimura, Satoru Kobayashi

“The role of heparan sulfate proteoglycans in *Drosophila* germline stem cell niche”

Proteoglycans 2019 – New frontiers in the biology of proteoglycan research (Kanazawa, JAPAN)

2019年9月

* * 林良樹

“メタボロミクスから見えてきたショウジョウバエ生殖系列の代謝的性質とその役割”

首都大学東京・教室セミナー（八王子）2019年9月

* * 小林悟

“ショウジョウバエの生殖細胞の発生を制御する遺伝子群”

山口県高等学校教育研究会生物教育研究大会（下松）2019年10月

林良樹、日野信次朗、櫻尾宗志郎、佐藤哲也、野田千代、三浦正幸、中尾光善、小林悟

“メタボロミクスから見えてきたショウジョウバエ生殖系列の代謝的性質とその役割”

第13回メタボロームシンポジウム（つくば）2019年10月

浅岡美穂、酒巻由梨奈、福元達也、田中大介、小林悟

“ショウジョウバエ始原生殖細胞の凍結保存技術”

Cryopreservation Conference 2019（つくば）2019年11月

林良樹

“始原生殖細胞の発生過程における細胞内代謝の役割”

第3回がんと代謝研究会・若手の会（熊本）2019年11月

林良樹、日野信次朗、櫻尾宗志郎、齋藤都暁、三浦正幸、中尾光善、小林悟

“メチオニン代謝制御による生殖系列におけるレトロトランスポゾンの抑制”

第42回日本分子生物学会年会（福岡）2019年12月

林良樹（シンポジウム選定演者）

“メチオニン代謝制御による生殖系列におけるレトロトランスポゾンの抑制”

第42回日本分子生物学会年会（福岡）2019年12月

中村翔一、近藤茜、平誠司、小林悟、小島真琴、鈴木みのり、政所重智、向正則

“ショウジョウバエ生殖細胞生遺伝子 *vasa* 遺伝子の異所的発現が体細胞に与える影

響” 第42回日本分子生物学会年会（福岡）2019年12月

* * 小林悟

“ショウジョウバエの生殖細胞形成機構と生殖細胞の利用”

農学生命科学部研究推進セミナー 弘前大学（弘前）2019年12月

* * 林良樹

“メタボロミクスから見えてきたショウジョウバエ生殖系列の代謝的性質とその役割”

九州大学理学研究院・生物科学部門セミナー（福岡）2019年12月

林良樹

“ショウジョウバエ生殖系列の発生過程における細胞内代謝の役割”

第7回メタボローム勉強会（鶴岡）2020年2月

海野太一、藤原亮、水谷波南香、吉崎悟朗、小林悟、林誠

“宿主生殖腺への高い生着能を有する精原細胞濃縮法の開発”

令和2年度日本水産学会春季大会（品川）2020年3月

受賞

小園康広

優秀賞

筑波大学 先導的研究者体験プログラム研究発表会（1月20日）

小林悟

2019 Best Faculty Member 表彰

筑波大学（2月10日）

Yuko Shimada-Niwa

第36回 World Cultural Council (2019) Special Recognition

海野太一

筑波大学 生物学類長表彰（3月25日）

古賀結花

筑波大学 生物学類長表彰（3月25日）

アウトリーチ活動

小林悟、林良樹、林誠

愛知県立岡崎北高等学校 コスモサイエンスツアーア「Tsukuba Science Tour」での講義および見学

TARAセンター（7月24日）

小林悟

茨城県立竹園高等学校 筑波大学研究室体験学習での講義

TARAセンター（7月26日および8月6日）

小林悟、林誠

愛知県立岡崎高等学校 SSH特別課外活動 研究施設・企業訪問研修での講義および見学
TARAセンター（8月27日）

林良樹

“つくば市科学フェスティバル”における「生物広場」の企画・運営

つくばカピオ（11月16-17日）

学会および社会的活動

小林悟

茗渓学園中学校高等学校SSH運営指導委員

愛知県立時習館高等学校SSH評価委員

愛知県立岡崎高等学校SSH運営指導委員

公益財団法人大隅基礎科学創成財団 理事

自然科学研究機構生命創成探求センター 運営委員会委員

林良樹

日本発生生物学会 理事（キャリア支援担当）

科学技術・学術政策研究所 科学技術動向研究センター専門調査委員

生化学誌 企画協力委員

科学研究費補助金・外部資金獲得状況

小林悟

研究種目名：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究課題名：生殖細胞発生過程における選択機構の解明

課題番号：18H05552

研究期間：2018年度～2022年度

島田裕子

研究種目名：基盤研究（C）

研究課題名：内部寄生蜂が宿主ショウジョウバエ幼虫に誘導する組織特異的細胞死シグナル経路の解析

課題番号：18K05670

研究期間：2018年度～2020年度

公益財団法人武田科学振興財団「ライフサイエンス研究助成」

研究課題名：「セロトニン生合成不全が個体発育と老化に与える影響の遺伝学的追究」

研究期間：2019年度～2022年度

科学技術振興機構 さきがけ「生体における微粒子の機能と制御」領域

研究課題名：「宿主内環境を支配する寄生蜂由来生体微粒子の機能解析」

研究期間：2019 年度～2022 年度

林良樹

研究種目名：基盤研究（C）

研究課題名：生殖系列のメチオニン代謝制御によるレトロトランスポゾンの抑制機構の解明

課題番号：18K06240

研究期間：2018 年度～2020 年度

助成制度：TIA 連携プログラム探索推進事業「かけはし」

課題名：抗老化製薬を目指した組織老化における S-アデノシルメチオニンの役割の解明

課題番号：TK19-023

研究期間：2019 年度

林誠

研究種目名：基盤研究（C）

研究課題名：母性 Ovo タンパク質によって制御される生殖細胞形成機構の解析

課題番号：18K06308

研究期間：2018 年度～2020 年度

太田龍馬

研究種目名：若手研究

研究課題名：ショウジョウバエ生殖系列における遺伝子量補償の欠如による自律的な性決定機構の解明

課題番号：18K14739

研究期間：2018 年度～2020 年度

構造ダイナミクス

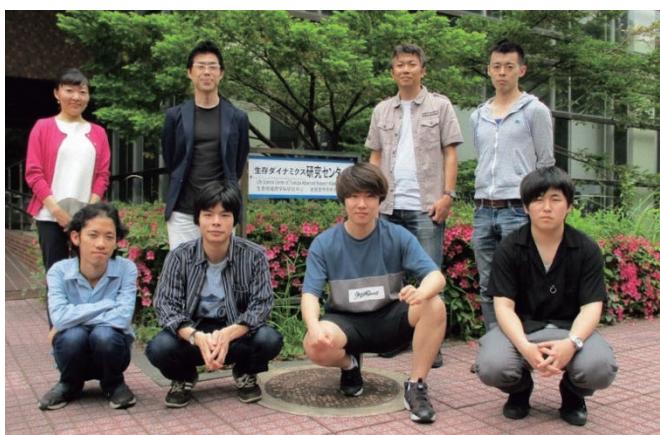
「原子から化学の目で生命を理解する」

生命は、タンパク質やDNA、RNA、脂質、ホルモンなど様々な分子から構成されています。タンパク質は、基本的にはわずか20種類のアミノ酸から構成されており、化学者にはまねのできない温和な条件で巧みな化学反応を行う酵素を作ります。この仕組みを理解するためには、生体分子の構造を原子の座標として理解することが必須になります。そうして初めて電子の状態から生命の仕組みを理解することができるようになります。また、生体分子の構造を明らかにすることで、薬の開発に役立つことができます。このような背景をもとに病気の原因となる、分子、ウイルス等の構造をクライオ電子顕微鏡、X線結晶構造解析を行っています。

Living organisms are made up of such components as proteins, DNA, RNA, lipids, and hormones. Although proteins are essentially made from a maximum of only 20 amino acids, they form various kinds of enzymes that can catalyze a variety of chemical reactions under very subtle conditions that cannot always be imitated by chemists. To understand the functions of proteins, it is essential to determine their atomic coordinates. Once we know these coordinates we can understand and explain the mechanisms of proteins—their electronic states—from a chemist's perspective. Moreover, the structures of biological molecules are useful for drug discovery through the process of structure-based drug design (SBDD). From this perspective, we have been studying disease-causing molecules—including viruses—by using cryo-EM and x-ray crystallography.



2018年度導入された透過型電子顕微鏡システム



2019年度メンバー

プロジェクトメンバー

教授

岩崎 憲治

助教

宮崎 直幸

堀越 直樹

秘書

宮本 真実

化学類 4年次生

稻橋 敦俊

神谷 亮佑

鯉渕 航

山口 亮佑

研究概要

【創薬を目指した疾患関連分子の構造解析】

軟部肉腫の原因となる融合タンパク質の構造研究

悪性腫瘍である滑膜肉腫は、軟部肉腫の一つであり、全軟部肉腫の約 10%を占める。希少がんであり、製薬企業により遺伝子治療薬の開発も行われている一方でそのメカニズムは未解明のままである。SS18-SSX1, SS18-SSX2 は、滑膜肉腫の確定診断に使われている融合遺伝子である。18 番目の染色体と X 染色体との転座 t(X;18) (p11. 2;q11. 2) によって生じ、滑膜肉腫のドライバー遺伝子であることが予測されている。その産物である融合タンパク質については、クロマチンリモデリング因子と結合し、そのエピジェネティクス調節に異常をきたすことが報告されている。従って、本融合タンパク質をターゲットとして創薬研究を行う合理性があることから、2018 年度 10 月 1 日に着任後、研究室の主要な課題として掲げた。本研究は、大阪がんセンター整形外科（骨軟部腫瘍科）部長竹中聰博士との共同研究として開始した課題である。本年度は、スタンフォード大学において堀越助教、神谷、鯉渕ら化学類 4 年次生によって SS18-SSX1 および 2 の発現系の構築がなされ、さらに構造解析に耐えうる高精度の精製プロトコールの確立を目指した研究を開始した。

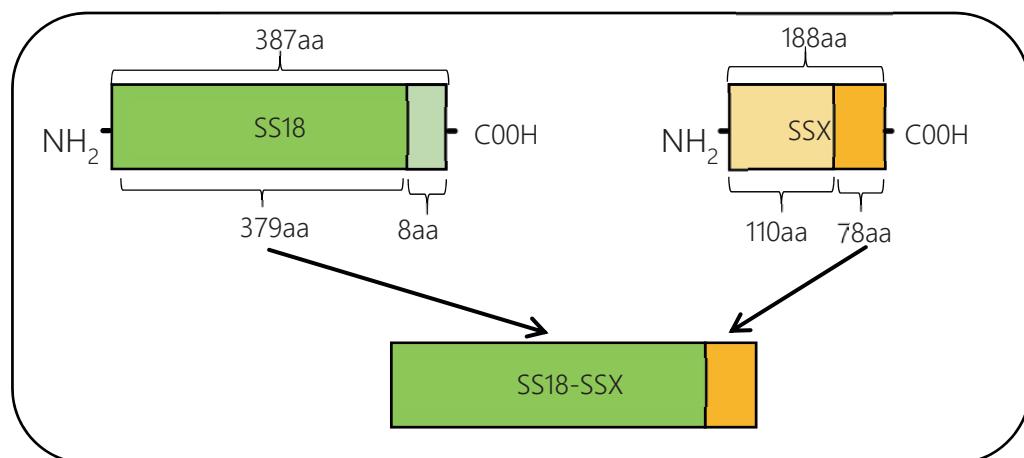


図 1 SS18-SSX 融合タンパク質は転座 t(X;18) によって生じる

【TEMによる生体分子構造解析技術の改良】

自動粒子ピックアッププログラムの開発

現在、自動化が進んでいるクライオ電子顕微鏡単粒子解析の技術であるが、自動撮影による画像データ数の増加と統計・推定を駆使した解析の発達において最初のステップである粒子自動ピックアップの精度改善は課題となっている。特に深層学習の適応が直接改善につ

ながることは明確で、報告も複数あるが、実績を見る限り普及には至っていない。このようなアプローチとは一線を画すアイデアをもって（バイオネット特許取得済）、（株）バイオネットとともに自動粒子ピックアッププログラムの開発を行った。本年度はその実データへの適用を行い、非常に良い成果を収めた。さらに、クライオ電子顕微鏡単粒子解析の最大の弱点であり、現在課題となっている粒子の配向指向性による、角度分布におけるバイアスの問題への応用を試みた。つまり、非常にポピュレーションの少ない配向をもった粒子画像は、普及している自動粒子ピックアッププログラムでは、認識ができない。100万粒子画像を扱う現在の単粒子解析では、マニュアルによるピックアップは非現実的である。そこで、本プログラムをそのような実データに応用することを目的として新たなるプロトコルの開発に取り組んだ。

【光センター器官の光応答メカニズムの解明】

ミドリムシ光センサーPFBの光応答のメカニズム解明

ミドリムシの光応答に関しては、その行動から大きく3種類に分類でき、1世紀以上研究されてきた。しかし、その分子がPFBと呼ばれる細胞小器官から単離され生化学的に明らかにされたのは、2002年であり、日本人の手によるものだった。それは、光驚動反応と呼ばれる光応答のうちさらにステップアップ光反応と呼ばれる現象を担っているフラビン分子だった。

PACと名付けられたこの光センサー分子は、青色光に応答して、アデニル酸シクラーゼ活性を上昇させる。しかし、その三次元構造は未だ不明である。発現系の構築に複数のグループが挑んだが、確かな成功例はなく、そのため野生型ミドリムシから単離精製するしかない。しかし、ミドリムシは高密度培養が困難であることはよく知られた事実である。大阪大学蛋白質研究所の廣瀬未果特任研究員、杉田征彦特任研究員との共同研究によって、10から $3\mu\text{g}$ 精製できるまでに培養法および精製法の改良に成功し、ついにクライオ電子顕微鏡解析に挑めるようになった。分子全体の原子モデル構築が可能なほど三次元再構成像が得られた一方で、ヘテロ4量体の中心領域は、明らかに分解能の低い構造を示していた。そこで、宮崎助教、化学類4年次生の稻橋を中心に、ヘテロ4量体中心領域の再構成像改善に挑んだ（図3）。結果的にFSC分解能の値は大きくなってしまったが、視認による等値面表示による形状改善は明らかであり、ヘテロ4量体会合の仕組みを議論できるだけの構造が得られた結果となった。

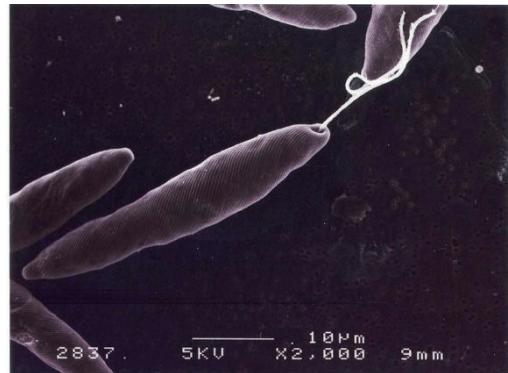


図2 ミドリムシのSEM像

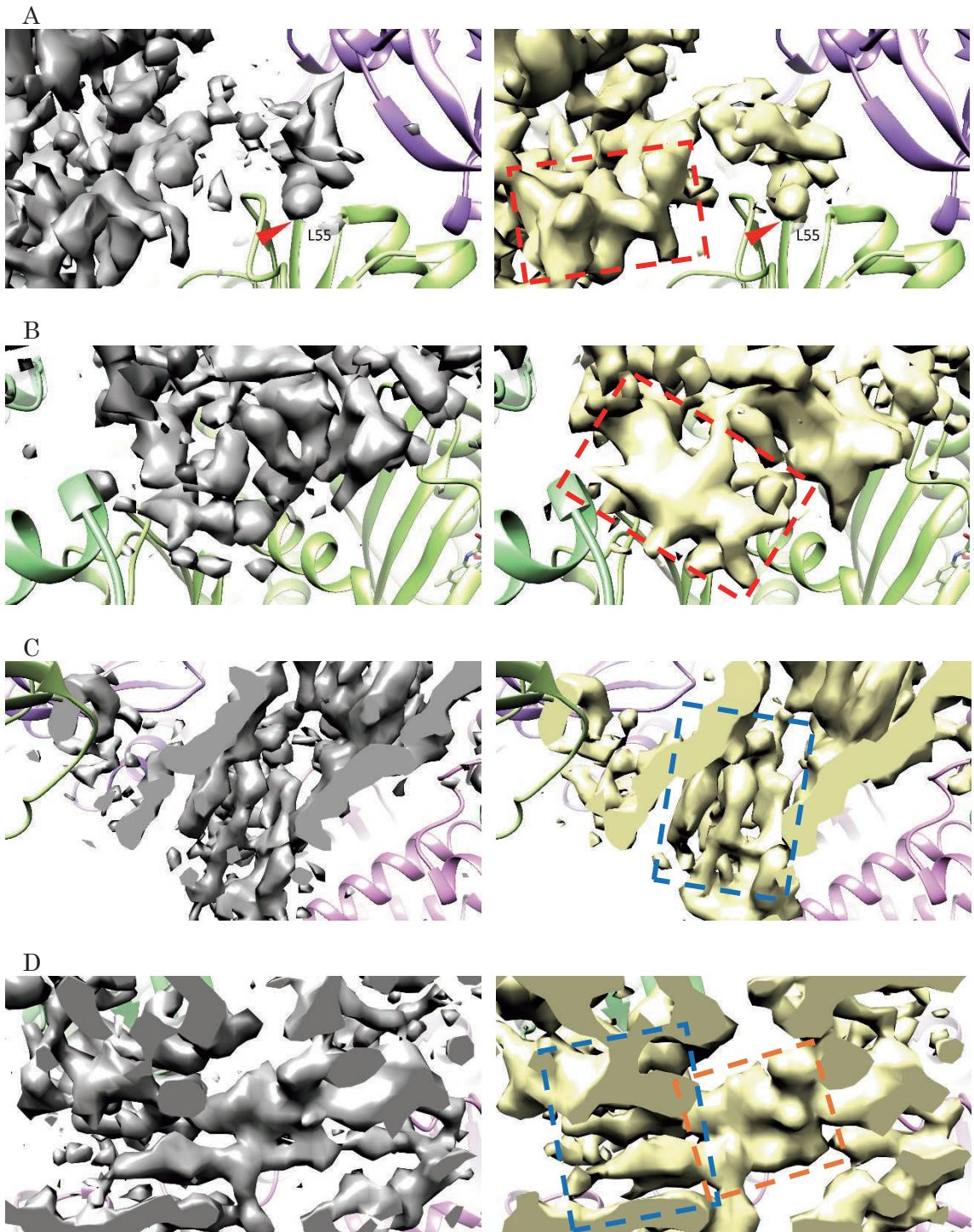


図 3 最初の再構成時（左）と局所三次元クラス分類後（右）の中心領域密度図 赤枠は α ヘリックス、青枠は β シートと予想される構造。橙色枠は中心領域内部の平面状構造。C は xy 面、D は xz 面で中央を切断した図。

【宮崎直幸助教グループ】

【バクテリオファージの感染・増殖機構の解明】

黄色ブドウ球菌ファージの構造解析

細菌感染症では、抗菌薬（抗生物質）の過剰投与による薬剤耐性菌の蔓延が医療および畜産分野において問題となっている。特に、黄色ブドウ球菌では、日本の入院患者から分離される 50～70%が多剤耐性のメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）であると報告され、日本国内だけでも毎年約 1000 人が MRSA により死亡している。その上、新規の抗菌薬を開発しても、すぐにその耐性菌が出現するために、抗菌薬による治療は困難に直面している。それゆえ、抗菌薬に依存しない治療法が強く望まれており、その代替療法として最も有望視されているものが、細菌に感染するウイルス（バクテリオファージ）の溶菌活性を利用するファージ療法である。溶菌性ファージは、特定の宿主細菌に感染し、細菌内部で増殖した後に、細菌を死滅させながら、細胞外へ放出され、次の感染に移行する。このファージの感染・増殖のサイクルは、宿主となる病原体が存在する限り続き、患者の体内から病原細菌を消滅させることができる。このファージの作用機序は、既存の抗菌薬とは全く異なるので、薬剤耐性菌においても作用する。しかし、ファージの感染機構・増殖機構に対する知識の欠如により、ファージ療法は、未だ実用化に至っていない。そのため、我々は黄色ブドウ球菌ファージの宿主認識・感染機構を明らかにするために、主にクライオ電子顕微鏡を用いた構造生物学的手法を用いて研究を行っている。これまでの研究において、短い非収縮性の尾部をもつ小型（全長約 90 nm）の黄色ブドウ球菌ファージ S13' の粒子構成タンパク質のほぼすべての原子モデルの構築に成功し、その構造からファージの宿主認識およびファージゲノムの宿主への注入に関わる構造変化に関する知見を得ることに成功した。さらに、S13' とは異なるウイルス科に属する収縮性の尾部をもつ全長約 400 nm におよぶ巨大ファージ S6 の構造解析にも取り組んでいる。異なるウイルス科のファージの構造を解明することにより、黄色ブドウ球菌ファージの宿主認識における共通性や相違性が明らかになってくると期待できる。

ピロリ菌ファージの構造解析

ピロリ菌の除菌には、抗菌薬が用いられているが、薬剤耐性菌の出現により近年除菌効率が低下の傾向にある。そのため、我々はピロリ菌の治療法として、薬剤耐性菌にも効果のあるファージ療法に注目している。ピロリ菌ファージ KHP30 は、ピロリ菌感染者から単離されたピロリ菌株から発見された新規のピロリ菌ファージである。このファージは、ゲノム DNA を収納する直径約 700 Å の正二十面体対称の頭部と宿主への感染を担う非収縮性の短い尾部で構成されている。我々は、このファージの宿主認識・感染機構や粒子安定化機構を調べるために、クライオ電子顕微鏡による構造解析に取り組んでいる。これまでに、最先端クライオ電子顕微鏡を用いて、ファージ粒子の画像を取得し、それを解析することにより、頭部

の構造を 2.7 \AA 分解能で決定することに成功した。頭部は、主要キャプシドタンパク質(gp14)およびキャプシド補強タンパク質(gp15)がそれぞれ540サブユニットから構成されていた。前者のgp14は、5量体および6量体が構成単位となり、DNAを収納する閉じた球殻構造を構築していた。そのタンパク質の構造は、2つのドメイン(AドメインとPドメイン)、Eループ、長く伸びたN末端領域のループからなる4つの基本構造から構成され、他のファージと類似性がみられた。しかし、ファージKHP30のgp14には、他のファージには見られない粒子安定化に関わると考えられる新規の構造的特徴も見られた。後者のgp15では、3量体が構成単位となり、gp14が構築する球殻構造の外側表面に結合していた(図4)。このgp15は、gp14の構成単位間(5量体と6量体間、6量体と6量体間)の境界面をまたぐように結合していることから、キャプシド全体の安定性向上に寄与していることが示唆された。今後は、尾部の構造解析に取り組み、ファージの宿主認識・感染機構の解明をおこなう予定である。

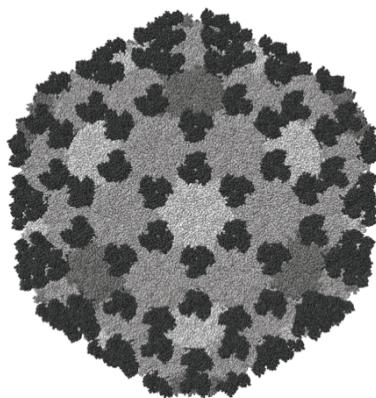


図4 KHP30の頭部の全体構造

【堀越直樹助教グループ】

【小児血液疾患原因タンパク質の構造解明と創薬化学研究】

急性骨髓性白血病細胞にて高発現する転写因子CREBの阻害剤探索

急性白血病は小児がんの中で最もも多い割合を占めており、特に急性骨髓性白血病(acute myeloid leukemia: AML)は最も治療が困難な小児がんの一つとして考えられている。近年、次世代シーケンシング技術などを用いた高精度のゲノム解析及び遺伝子発現解析によって、各種がんの特異性とクロマチン制御因子の異常との関連がわかってきてている。共同研究者であるKathleen M. Sakamoto博士(スタンフォード大学・教授)らの先行研究によって、転写因子の一つであるcyclic AMP Response element binding(CREB)がAML細胞にて高発現しており、CREBの発現量と予後の悪化との関連が明らかになった。また、CREB遺伝子の抑制は、AMLの細胞増殖を著しく抑制とともに、正常細胞においてはほとんど影響を及ぼさないことが明らかになっている。CREBは、CREと呼ばれるヌクレオチド配列を認識してプロモーター領域に結合し、活性化因子CREB binding protein(CBP)を呼び込み、RNAポリメラーゼII複合体をプロモーター領域に集積させることで転写活性化に寄与する。この転写活性化には、CREBのkinase inducible domain(KID)とCBPのKID interacting domain(KIX)との相互作用が必須である。これらのことから、KIDとKIXに対する阻害剤の開発がAMLの新規の治療薬につながることが期待された。そこで、本研究では、CREB-CBPの阻害剤の

開発を目的として、KID-KIX に対する阻害剤スクリーニング系を確立した。スタンフォード大学の化合物ライブラリーを用いて、KID-KIX に対する阻害剤のスクリーニングを行った。新規の化合物のスクリーニングと並行して、既知の CREB 阻害化合物に対する structure-activity relationships (SAR) 解析を行い、その類縁化合物が CREB-CBP の活性阻害、AML 細胞のアポトーシス誘導、CREB 依存的な遺伝子の発現抑制を示すことを明らかにした(Chae H. - D., et al, 2019)。

グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ欠乏症の原因変異体の構造解析

グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ (glucose-6-phosphate dehydrogenase: G6PD) は、グルコース代謝経路の一つである、ペントースリン酸経路の主要な酵素である。G6PD は、グルコース代謝を通じて核酸、脂質、ホルモンなどの合成に必要であると同時に、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸(NADP⁺)を NADPH に還元することで、生体内の活性酸素の除去に必須であることが知られている。特に、ミトコンドリアを持たない赤血球においては、G6PD が NADPH 産生の大部分を担っており、G6PD の活性低下は、活性酸素の増加による溶血性貧血の原因となる。特に新生児においては、赤血球の崩壊により大量に放出されたビリルビンが黄疸や脳障害の原因となる。世界中においておよそ 4 億人が G6PD 遺伝子に変異を有することが示唆されており、変異箇所によって、酵素活性や溶血性貧血の程度が異なることが分かっている。本研究は、Daria Mochly-Rosen 博士(スタンフォード大学・教授)及び若槻壮市博士(スタンフォード大学・教授)との共同研究であり、野生型 G6PD の活性の 10%程度かつ慢性の溶血性貧血を引き起こす Class I と呼ばれる 6 種類の変異について立体構造を明らかにし、酵素活性低下のメカニズム解明を目指した。Class I 変異の多くは、G6PD が有する 2 つの NADP⁺結合部位のうち、活性中心から離れた方の NADP⁺結合部位 (Structural NADP⁺) 周辺に多く集積しており、それらの変異による酵素活性低下が全く予測できていなかった。本研究による 6 種類の Class I 変異体の X 線結晶構造解析の結果、共通した活性低下のメカニズムが明らかになった。Class I 変異によって Structural NADP⁺ の安定な結合が失われると、Structural NADP⁺ を支持していたベーターシートの一部が変性し、Class I 特異的な二量体が形成されることが分かった。さらに、βシートが変性したことにより、βシートと相互作用していた活性中心近くの α ヘリックスが構造変化を起こし、結果として基質である G6P の結合できなくなることが示唆された。これらの一連の構造変化は、解析した全ての Class I 変異体に共通しており、Structural NADP⁺ を失うことによる共通の活性低下メカニズムを提案した (Horikoshi N.、et al、論文投稿中)。

2019 年度研究業績

原著論文（全て査読あり）

Tomohito Yamada, Toru Yoshida, Akihiro Kawamoto, Kaoru Mitsuoka, Kenji Iwasaki, Hideaki Tsuge.

(2020)

Cryo-EM structures reveal translocation unfolding in the clostridial binary iota toxin complex. **Nature Struct. Mol. Biol.**, 27(3), 288-296. doi:10.1038/s41594-020-0388-6.

Tatsuki Kunoh, Kana Morinaga, Shinya Sugimoto, Shun Miyazaki, Masanori Toyofuku, Kenji Iwasaki, Nobuhiko Nomura, Andrew S. Utada. (2019)

Polyfunctional Nanofibril Appendages Mediate Attachment, Filamentation, and Filament Adaptability in *Leptothrix cholodnii*. **ACS Nano.**, 14 (5), 5288-5297. doi:10.1021/acsnano.9b04663.

Kyoko Hanawa-Suetsugu, Yuzuru Itoh, Maisarah Ab Fatah, Tamako Nishimura, Kazuhiro Takemura, Kohei Takeshita, Satoru Kubota, Naoyuki Miyazaki, Wan Nurul Izzati Wan Mohamad Noor, Takehiko Inaba, Nhung Thi Hong Nguyen, Sayaka Hamada-Nakahara, Kayoko Oono-Yakura, Masashi Tachikawa, Kenji Iwasaki, Daisuke Kohda, Masaki Yamamoto, Akio Kitao, Atsushi Shimada, Shiro Suetsugu. (2019)

Phagocytosis is mediated by two-dimensional assemblies of the F-BAR protein GAS7. **Nature Commun.**, 10(1), 4763. doi:10.1038/s41467-019-12738-w.

Kouta Mayanagi, Kazumi Saikusa, Naoyuki Miyazaki, Satoko Akashi, Kenji Iwasaki, Yoshifumi Nishimura, Kosuke Morikawa, Yasuo Tsunaka. (2019)

Structural visualization of key steps in nucleosome reorganization by human FACT. **Sci. Rep.**, 9(1), 10183. doi:10.1038/s41598-019-46617-7.

Kenta Tsutsumi, Ryo Yonehara, Etsuko Ishizaka-Ikeda, Naoyuki Miyazaki, Shintaro Maeda, Kenji Iwasaki, Atsushi Nakagawa, Eiki Yamashita. (2019)

Structures of the wild-type MexAB-OprM tripartite pump reveal its complex formation and drug efflux mechanism. **Nature Commun.**, 10(1), 1520. doi:10.1038/s41467-019-09463-9.

Ali D. Malay, Naoyuki Miyazaki, Artur Biela, Soumyananda Chakraborti, Karolina Majsterkiewicz, Izabela Stupka, Craig S. Kaplan, Agnieszka Kowalczyk, Bernard M. A. G. Piette, Georg K. A. Hochberg, Di Wu, Tomasz P. Wrobel, Adam Fineberg, Manish S. Kushwah, Mitja Kelemen, Primoz Vavpetic, Primoz Pelicon, Philipp Kukura, Justin L. P. Benesch, Kenji Iwasaki, Jonathan G. Heddle. (2019)

An ultra-stable gold-coordinated protein cage displaying reversible assembly. **Nature**, 569 (7756),

438-442. doi:10.1038/s41586-019-1185-4.

【宮崎直幸助教グループ】

Michihiro Suga, Shin-Ichiro Ozawa, Kaori Yoshida-Motomura, Fusamichi Akita, Naoyuki Miyazaki, YUichiro Takahashi. (2019)

Structure of the Green Algal Photosystem I Supercomplex With a Decameric Light-Harvesting Complex I. *Nat. Plants*, 5 (6), 626-636. doi: 10.1038/s41477-019-0438-4.

Ryo Nagao, Koji Kato, Takehiro Suzuki, Kentaro Ifuku, Ikuo Uchiyama, Yasuhiro Kashino, Naoshi Dohmae, Seiji Akimoto, Jian-Ren Shen, Naoyuki Miyazaki, Fusamichi Akita. (2019)

Structural Basis for Energy Harvesting and Dissipation in a Diatom PSII-FCPII Supercomplex. *Nat. Plants*, 5 (8), 890-901. doi: 10.1038/s41477-019-0477-x.

Yukiyo Sato, Naoyuki Miyazaki, Satoko Kanematsu, Jiatao Xie, Said A. Ghabrial, Bradley I.

Hillman, Nobuhiro Suzuki, ICTV Report Consortium. (2019)

ICTV Virus Taxonomy Profile: Megabirnaviridae. *J. Gen. Virol.*, 100 (9), 1269-1270. doi: 10.1099/jgv.0.001297.

Koji Kato, Toshiyuki Shinoda, Ryo Nagao, Seiji Akimoto, Takehiro Suzuki, Naoshi Dohmae, Min Chen, Suleyman I. Allakhverdiev, Jian-Ren Shen, Fusamichi Akita, Naoyuki Miyazaki, Tatsuya Tomo. (2020)

Structural Basis for the Adaptation and Function of Chlorophyll F in Photosystem I. *Nat. Commun.*, 11 (1), 238. doi: 10.1038/s41467-019-13898-5.

Takahiro Furuta, Nicholas E. Bush, Anne En-Tzu Yang, Satomi Ebara, Naoyuki Miyazaki, Kazuyoshi Murata, Daichi Hirai, Ken-Ichi Shibata, Mitra J. Z. Hartmann. (2020)

The Cellular and Mechanical Basis for Response Characteristics of Identified Primary Afferents in the Rat Vibrissal System. *Curr. Biol.*, 30 (5), 815-826. doi: 10.1016/j.cub.2019.12.068.

【堀越直樹助教グループ】

Mariko Dacher, Hiroaki Tachiwana, Naoki Horikoshi, Tomoya Kujirai, Hiroyuki Taguchi, Hiroshi Kimura, Hitoshi Kurumizaka. (2019)

Incorporation and Influence of Leishmania Histone H3 in Chromatin. *Nucleic Acids Res.*, 47 (22), 11637-11648. doi:10. 1093/nar/gkz1040.

Mika Saotome*, Naoki Horikoshi*, Kazuki Urano*, Tomoya Kujirai, Hidetaka Yuzurihara, Hitoshi

Kurumizaka, Wataru Kagawa. (2019)

Structure Determination of the Nucleosome Core Particle by Selenium SAD Phasing. **Acta Crystallogr. Sect. D**, 75 (Pt 10), 930-936. doi:10.1107/S2059798319012713. *Co-first authors

Hee-Don Chae, Nick Cox, Samanta Capolicchiob, Jae Wook Lee, Naoki Horikoshi, Sharon Kam, Andrew A. Ng, Jeffrey Edwards, Tae-Leon Butler, Justin Chan, Yvonne Lee, Garrett Potter, Mark C Capece, Corey W. Liu, Soichi Wakatsuki, Mark Smith, Kathleen M. Sakamoto. (2019)

SAR optimization studies on modified salicylamides as a potential treatment for acute myeloid leukemia through inhibition of the CREB pathway. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, 29 (16), 2307-2315. doi: 10.1016/j.bmcl.2019.06.023.

Naoki Horikoshi, Tomoya Kujirai, Koichi Sato, Hiroshi Kimura, Hitoshi Kurumizaka. (2019)

Structure-based design of an H2A.Z.1 mutant stabilizing a nucleosome in vitro and in vivo. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 515 (4), 719-724. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.06.012.

Andrew G. Raub, Sunhee Hwang, Naoki Horikoshi, Anna D. Cunningham, Simin Rahighi, Soichi Wakatsuki, Daria Mochly-Rosen. (2019)

Small-Molecule Activators of Glucose-6-phosphate Dehydrogenase (G6PD) Bridging the Dimer Interface. **ChemMedChem**, 14 (14), 1321-1324. doi:10.1002/cmdc.201900341.

総説

岩崎憲治. (2019). 単粒子構造解析は創薬に役立つか. 顕微鏡, vol. 54, No. 3, pp. 131-137. (査読有)

分担著書

堀越直樹. (2019). エボラウイルスの複製阻害物質の同定と薬剤への応用, 公益社団法人日本薬学会, ファルマシア 55巻 7号 pp701.

学会発表等 (国際学会 *, 招待講演 **)

山田等仁, 吉田徹, 川本晃大, 光岡薰, 岩崎憲治, 津下英明

“ウェルシュ菌二成分毒素：膜孔複合体の単粒子解析”

2019 年度生理研研究会「クライオ電子顕微鏡によるタンパク質の高分解能単粒子構造解析～みんなのクライオ電顕～」, 岡崎コンファレンスセンター, Nov 26-27, 2019.

吉田徹, 山田等仁, 川本晃大, 光岡薰, 岩崎憲治, 津下英明

“クライオ電顕初心者がマップからモデルを構築してみた”

2019 年度生理研研究会「クライオ電子顕微鏡によるタンパク質の高分解能単粒子構造解析
～みんなのクライオ電顕～」，岡崎コンファレンスセンター，Nov 26–27, 2019.

坂本美織，金森崇，廣瀬未果，杉田征彦，高木淳一，Lee-Wei Yang，横山武司，岩崎憲治
“Cryo-EM analysis of *E. coli* ribosome complexed with mRNA containing slippery and
pseudoknot region”

2019 年度生理研研究会「クライオ電子顕微鏡によるタンパク質の高分解能単粒子構造解析
～みんなのクライオ電顕～」，岡崎コンファレンスセンター，Nov 26–27, 2019.

鯉渕航，内山淳平，松崎茂展，村田和義，岩崎憲治，宮崎直幸
“巨大黄色ブドウ球菌ファージ S6 の構造解析”
2019 年度生理研研究会「クライオ電子顕微鏡によるタンパク質の高分解能単粒子構造解析
～みんなのクライオ電顕～」，岡崎コンファレンスセンター，Nov 26–27, 2019.

神谷亮佑，内山淳平，松崎茂展，村田和義，岩崎憲治，宮崎直幸
“ピロリ菌ファージ KHP30/KHP40 の構造解析”
2019 年度生理研研究会「クライオ電子顕微鏡によるタンパク質の高分解能単粒子構造解析
～みんなのクライオ電顕～」，岡崎コンファレンスセンター，Nov 26–27, 2019.

山口絢平，川口敦史，宮崎直幸，宮下治，Ashutosh Srivastava，Florence Tama，川本晃
大，廣瀬未果，松本淳，岩崎憲治
“高病原性化機構の解明を目指したインフルエンザ RNA ポリメラーゼの構造研究”
2019 年度生理研研究会「クライオ電子顕微鏡によるタンパク質の高分解能単粒子構造解析
～みんなのクライオ電顕～」，岡崎コンファレンスセンター，Nov 26–27, 2019.

Chihong Song, Reiko Todaka, Masaru Yokoyama, Naoyuki Miyazaki, Kenji Iwasaki,
Kazuhiro Katayama, Kazuyoshi Murata.
“Dynamic Structural Change of Norovirus Revealed by Cryo-electron Microscopy”
2019 年度生理研研究会「クライオ電子顕微鏡によるタンパク質の高分解能単粒子構造解析
～みんなのクライオ電顕～」，岡崎コンファレンスセンター，Nov 26–27, 2019.

ソンチホン，戸高玲子，横山勝，宮崎直幸，岩崎憲治，片山和彦，村田和義
“クライオ電子顕微鏡により明らかになったノロウイルスの動的構造変化”
第 57 回日本生物物理学会年会，宮崎県シーガイアコンベンションセンター，Sep 24–26,
2019.

Tomohito Yamada, Toru Yoshida, Akira Kawamoto, Kaoru Mitsuoka, Kenji Iwasaki, Hideaki Tsuge.

“クロストリジウム属 2 成分毒素輸送チャネル 1b ポアのクライオ電子顕微鏡構造解析
Cryo-EM structure of clostridial binary toxin translocation channel 1b-pore”
第 57 回日本生物物理学会年会, 宮崎県シーガイアコンベンションセンター, Sep 24-26, 2019.

Shunsuke Kita, Kazuhiro Mio, Mika Hirose, Kenji Iwasaki, Naruhiko Adachi, Toshio Moriya, Masato Kawasaki, Katsumi Maenaka.

“Single particle analysis of silkworm lipid transfer protein complex, lipophorin”
第 57 回日本生物物理学会年会, 宮崎県シーガイアコンベンションセンター, Sep 24-26, 2019.

Raymond N. Burton-Smith, Jun Tsunoda, Yu Yamamori, Naoyuki Miyazaki, Fabiana L. Imai, Chihong Song, Kentaro Tomii, Kenji Iwasaki, Junichi Takagi, Hiroshi Ueno, Takeshi Murata, Ryota Iino, Kazuyoshi Murata.

“The off-axis rotor of Enterococcus hirae V-type ATPase by Volta phase contrast cryo-EM”

第 57 回日本生物物理学会年会, 宮崎県シーガイアコンベンションセンター, Sep 24-26, 2019.

Kenta Tsutsumi, Ryo Yonehara, Etsuko Ishizaka-Ikeda, Naoyuki Miyazaki, Shintaro Maeda, Kenji Iwasaki, Atsushi Nakagawa, Eiki Yamashita.

“クライオ電子顕微鏡による多剤排出ポンプ複合体 MexAB-OprM の構造解析 The wild-type structures of MexAB-OprM multidrug efflux pump revealed by cryo-electron microscopy”
第 57 回日本生物物理学会年会, 宮崎県シーガイアコンベンションセンター, Sep 24-26, 2019.

* * 岩崎憲治

“BINDS で培ったクライオ電顕技術の高度化とその成果”
BINDS バイオインダストリーセミナー, 第 92 回日本生化学会大会, パシフィコ横浜, Sep 18-20, 2019.

* * 宮崎直幸, 内山淳平, 松崎茂展, 村田和義, 岩崎憲治

“黄色ブドウ球菌ファージ S13’ のクライオ電顕単粒子解析”
第 19 回日本蛋白質科学会年会・第 71 回日本細胞生物学会大会 合同年次大会, 神戸国際

会議場・神戸国際展示場, Jun 24-26, 2019.

* * 津中康央, 真柳浩太, 七種和美, 宮崎直幸, 明石知子, 岩崎憲治, 西村善文, 森川耿右
“電子顕微鏡構造から FACT を介したクロマチンリモデリングの分子構造にせまる”
第 19 回日本蛋白質科学会年会・第 71 回日本細胞生物学会大会 合同年次大会, 神戸国際
会議場・神戸国際展示場, Jun 24-26, 2019.

三好賢一, 田村梨沙子, 高貴一徳, 廣瀬未果, 大井里香, 金子美華, 加藤幸成, 岩崎憲治, 木
晃和
“電子顕微鏡単粒子解析に向けた抗体断片の結合による標的タンパク質のサイズと形状の
最適化”
第 19 回日本蛋白質科学会年会・第 71 回日本細胞生物学会大会 合同年次大会, 神戸国際
会議場・神戸国際展示場, Jun 24-26, 2019.

堤研太, 米原涼, 池田悦子, 宮崎直幸, 前田真太朗, 岩崎憲治, 中川敦史, 山下栄樹
“The complex formation and drug efflux mechanism of MexAB-OprM multidrug efflux
pump revealed by cryo-electron microscopy”
第 19 回日本蛋白質科学会年会・第 71 回日本細胞生物学会大会 合同年次大会, 神戸国際
会議場・神戸国際展示場, Jun 24-26, 2019.

* * 宮崎直幸, 内山淳平, 松崎茂展, 村田和義, 岩崎憲治
“黄色ブドウ球菌ファージ S13' のクライオ電顕単粒子解析”
日本顕微鏡学会第 75 回学術講演会, 名古屋国際会議場, Jun 17-19, 2019.

堤研太, 米原涼, 池田悦子, 宮崎直幸, 前田晋太朗, 岩崎憲治, 中川敦史, 山下栄樹
“対称性不一致な多剤排出ポンプ複合体 MexAB-OprM の単粒子解析”
日本顕微鏡学会第 75 回学術講演会, 名古屋国際会議場, Jun 17-19, 2019.

宋致弘, 戸高玲子, 横山勝, 宮崎直幸, 岩崎憲治, 片山和彦, 村田和義
“クライオ電子顕微鏡により明らかになったノロウイルスの動的構造変化”
日本顕微鏡学会第 75 回学術講演会, 名古屋国際会議場, Jun 17-19, 2019.

角田潤, ソンチホン, 薬師寺 Lica Fabiana, 村田武士, 上野博士, 宮崎直幸, 岩崎憲治,
高木淳一, 山守優, 富井健太郎, 飯野亮太, 村田和義
“腸球菌 V-ATPase の位相差クライオ電子顕微鏡による単粒子構造解析”
日本顕微鏡学会第 75 回学術講演会, 名古屋国際会議場, Jun 17-19, 2019.

* * 岩崎憲治

“クライオ電子顕微鏡をもちいた構造生物学”

藤芳研究室セミナー, 東京工業大学, 南5号館, May 14, 2019.

* * 岩崎憲治

“構造解析用クライオ電顕の高効率運営”

日本学術振興会「計測分析プラットフォーム第193委員会」, 第4回研究会, 堀場製作所
東京セールスオフィス2階プレミアムホール, May 8, 2019.

Naoki Horikoshi, Fatemeh Jabbarpour, Sunhee Hwang, Andrew G. Raub, Daria Mochly-Rosen, Soichi Wakatsuki.

“Structural basis of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency”

第92回日本生化学会大会, パシフィコ横浜, Sep 18-20, 2019.

Naoki Horikoshi

“Structural basis of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency associated with the non-catalytic NADP⁺”

2019 Stanford University School of Medicine, Structural Biology Retreat, Chaminade Resort & Spa, Santa Cruz, California, USA, October 30-31, 2019.

特記すべき事項

【報道】

丈夫かつ開閉可能タンパク質ケージ 筑波大など開発, in 科学新聞. 2019, 科学新聞社
タンパク質でできたアルキメデスの立体. Nature ダイジェスト. 16(8): p. 3

【堀越直樹助教グループ】

筑波大学 研究基盤支援プログラムAタイプ（若手研究者研究奨励費）採択

学会および社会的活動

特にナシ

科学研究費補助金・外部資金獲得状況

岩崎憲治

天然3D結晶型光センサーホルガネラのアーキテクチャー(2019年度～2021年度), 代表, 科学研究費補助金基盤研究(B)

シグナル伝達の制御に向けた膜内タンパク質切断における基質特異性決定因子の探索

(2019 年度～2021 年度) , 分担 (代表 : 禾晃和) , 科学研究費補助金基盤研究(B)

宮崎直幸

原子構造に基づく黄色ブドウ球菌ファージ S13' の感染マシンアリーの解明 (2018 年度～2020 年度) , 代表, 科学研究費補助金基盤研究 (C)

着せ替え可能なオンデマンド多機能ウイルス様ナノ粒子の開発 (2019 年度～2021 年度) , 分担 (代表 : 中道優介) , 科学研究費補助金基盤研究 (C)

クライオ電子顕微鏡を用いた光化学系 II 複合体の反応中間体の構造解析 (2019 年度～2020 年度) , 分担 (代表 : 秋田総理) , 科学研究費補助金挑戦的研究 (萌芽)

堀越直樹

溶血性貧血の原因となる代謝疾患 G6PD 欠乏症の構造基盤 (2019 年度～2020 年度) , 代表, 研究活動スタート支援

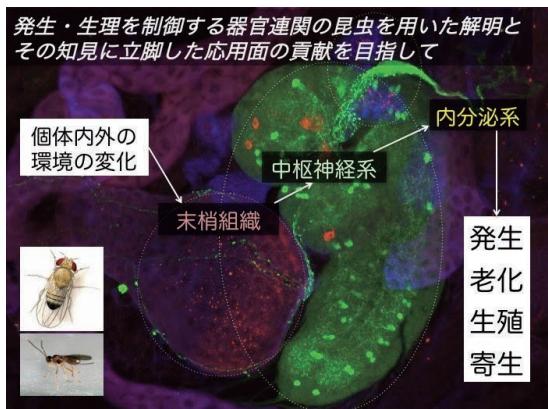
溶血性貧血の原因となる代謝疾患 G6PD 欠乏症における酵素活性化と活性化機構の解明 (2020 年度～2021 年度) , 代表, 若手研究

生理ダイナミクス

「多臓器連環による生命現象の制御」

自然界において生命体は、時々刻々と変化する環境にさらされながら生きている。そして生命体は、環境の変化に対しても自身の状態を一定に保つ恒常性（ホメオスタシス）と、逆に環境の変化に応じて自身を変えていく変容性（トランジスタシス）のメカニズムを有する。近年の研究の進展によって、ホメオスタシスとトランジスタシスの制御に際して、個体を構成する様々な器官の間で神経やホルモンを介した信号が交され、多くの器官が複雑な情報交信をしていることが明らかにされている。こうしたネットワークのことは「器官連関」あるいは「多臓器円環」とも呼ばれ、このネットワーク構造の破綻が病気の発症とも密接に関連することが示唆されつつある。私たちのグループは、器官間の相互作用とその意義の解明を目指し、キイロショウジョウバエを主なモデル生物とした研究を行っている。

In the natural world, organisms live while being exposed to ever-changing environments. To adapt to such environmental changes, organisms develop the mechanism of homeostasis, which keeps their state constant, and also that of transistasis, which properly change themselves according to environmental changes. Recent progress in research has revealed the complicated signal cross-talks via nerves and hormones between various organs that make up an individual in the control of homeostasis and transistasis. It has also been suggested that the failure of this interorgan communication often leads to the onset of diseases. Our group aims to elucidate the interorgan communication and its significance in homeostasis and transistasis. Our main model organism is the fruit fly *Drosophila melanogaster*, the excellent model organism of genetics.



発生・生理を制御する器官連関（多臓器円環）の昆虫を用いた解明と
その知見に立脚した応用面の貢献を目指して



2019年度 生理ダイナミクス集合写真

プロジェクトメンバー

教授

丹羽 隆介

外国人特別研究員

Sun Wei (重庆大学)

生命環境科学研究所 博士後期課程

稻葉 和恵

井村 英輔

上山 拓己

吉成 祐人

博士前期課程

海老原 佳奈

黒木 祥友

藤井 美月

星野 涼

生物学類

阿部 真生子

金谷 彩

清家 和樹

水野 陽介

技術補佐員

木瀬 玲子

秘書

古堅 久子

飯田 昌子

研究概要

生理ダイナミクス分野は令和元年度6月よりスタートした。令和元年度に発表できた原著論文はなかったが、主に以下に記載する6つのテーマの研究を実施しており、成果を挙げつつあると自負している。

【生殖幹細胞の増殖と維持のメカニズム】

卵は次世代に生命を継承する役割を担っており、その形成過程が適切に制御されることはヒトを含むあらゆる種の繁栄に重要である。ショウジョウバエにおいて、卵が質と量の両面において安定的に供給されるためには、卵の大本となるメス生殖幹細胞 (Female Germline Stem Cell; fGSC) の適切な増殖と維持が鍵である。従来、fGSC の増殖と維持には、fGSC 周囲の細胞によって構成されるローカルな環境「ニッチ」から出るシグナル、いわゆるニッチシグナルが重要であることが、多くの研究から示されてきた。

一方で近年、ニッチとは異なる組織や器官に由来する遠距離シグナルが、ニッチを構成する体細胞によって受容されること、そしてその下流のシグナリングが fGSC の増殖と維持に必須であることが近年新たに見出されている (Ameku & Niwa *PLOS Genet.* 2016; Ameku et al. *PLOS Biol.* 2018; Yoshinari et al. *Curr. Opin. Insect Sci.* 2019; 図 1)。

我々は、fGSC 制御に影響を及ぼす新たな遠距離シグナルをさらに同定することに成功すると共に、既知因子を含めた複数のシグナルのクロストークがどのように fGSC の増殖や維持を調節しているのかを追究している。本研究は、ショウジョウバエ fGSC に限らず、幹細胞一般における遠距離シグナルの意義の解明につながる。

【栄養とエネルギーの代謝メカニズム】

生命活動を支えるエネルギー源を確保し、またそのエネルギー源を生体内で用いられる形で生成・蓄積・消費していくことは、あらゆる生物において根本的である。生命におけるエネルギー媒介物質であるアデノシン三リン酸 (ATP) の生成において、特に顕著な役割を担う原材料が糖と脂質である。食餌から摂取された糖は消化器を経て細胞内に取り込まれ、その後に解糖系とクエン酸回路を経て ATP が生み出される。一方、必要なエネルギー量を超えた過剰な糖を摂取した場合には、動物はその糖を脂質に変換し、脂肪細胞に蓄え、飢餓に備える。これらのシステムの破綻は生命体に

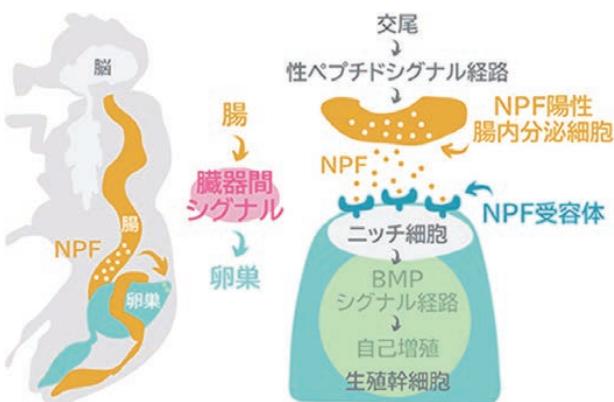


図 1：メス生殖幹細胞 (fGSC) の増殖を制御するシグナルの一例。腸内分泌細胞由来の Neuropeptide F(NPF)が卵巢に働きかけ、fGSC 増殖を促す (Ameku et al. *PLOS Biol.* 2018)。

様々な弊害をもたらし、特にヒトにおいては肥満などの生活習慣病に直結する。

我々は、この糖摂取に依存した脂質蓄積のメカニズムを制御する新たな制御因子の解明を目指している。これまでに、腸内分泌細胞由来のペプチドホルモンが糖依存的脂質代謝に必須の役割を果たすことを見出した。また、従来からヒトにおける抗肥満効果が提唱されている食品に注目し、この食品中のある種の成分がショウジョウバエにおいて脂肪蓄積や寿命に影響を及ぼすことを発見した。現在、さらなる解析を進めている。

【低温時に誘導される生殖休眠のメカニズム】

休眠は、生存に不利な環境下でエネルギー消費を減らすため、発生や生殖を一定期間抑制する生存戦略である。休眠は多くの動物で知られており、一部の昆虫では生殖に適さない冬季に卵巣などの生殖器官を著しく縮退させる生殖休眠が見られる。この生殖休眠の制御において中心的な役割を果たすホルモンが幼若ホルモン (Juvenile Hormone:以下、JH) である。JH は非休眠条件下では脂肪体に作用し、卵黄タンパク質の発現を誘導する。卵黄タンパク質は卵巣に輸送され、生殖細胞に蓄積する。一方で、低温、飢餓、あるいは短日条件といった冬季特異的な環境刺激にさらされた個体では、JH 量が低下し卵巣発達が抑制され生殖休眠が引き起こされる。しかし、環境刺激をアラタ体に伝え生殖休眠を制御するメカニズムは不明な点が多く残されている。

このような中で我々は、JH 生合成を低温依存的に調節するために必要な器官間相互作用のシステム、特に上位制御神経系の有力候補を同定した。昆虫生理学の長い歴史の中で、生殖休眠について多くの研究が展開されてきたが、我々の発見は外環境依存的な JH 生合成の調節メカニズムに大きな貢献をするものと期待できる。

【昆虫ステロイドホルモン生合成の調節メカニズム】

昆虫のステロイドホルモンであるエクジステロイドは、昆虫の広範な発生現象と生理現象、特に脱皮と変態に必須の役割を持つ (Uryu et al. *Zoolog. Lett.* 2015)。我々は先年、エクジステロイド生合成に関与する酵素群の同定を機能解析 (Niwa & Niwa. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2014)、生合成調節に関する転写調節メカニズムの解明 (Komura-Kawa et al. *PLOS Genet.* 2015; Uryu et al. *Genetics* 2018)、そして生合成の上位制御神経系の発見 (Shimada-Niwa & Niwa *Nature Commun.* 2014; Niwa & Niwa *Dev. Growth Differ.* 2016) などで本研究領域に貢献してきた。

生理ダイナミクス分野においては、新たな転写調節因子や神経経路がエクジステロイド生合成に果たす役割をさらに研究している。また、エクジステロイド生合成活性を前胸腺と脳神経系などとの間の器官間相互作用の解明を進め、特に栄養と発生の関係 ("Nutri-Developmental Biology") に興味を持っている。並行して、生合成とは逆に、一度作られた活性型エクジステロイドを不活化させるシステムにも関心を持っている。

【昆虫発生・生理学の基礎的知見を活かした創農薬のケミカルバイオロジー】

我々は、昆虫発育に関与する分子を効率よく阻害する化合物を探索することで、環境調和型の農薬の開発という萌芽的研究に挑戦している。

上述のエクジステロイドは、哺乳類のステロイドホルモンと化学構造的に異なり、脊椎動物はエクジステロイドの生合成や作用に関わる分子群の多くを持たない。よって、エクジステロイドの生合成や作用の研究は、害虫に対する高い殺傷能・成長阻害能を示しつつも、昆虫以外の生物に対して副作用のない殺虫剤の開発においても重要な位置を占める（丹羽. *化学と生物* 2016）。しかし、我々を含めた世界の諸グループによってエクジステロイド生合成に関わる分子自体が見出されたのは、過去 15 年程度と比較的最近のことであり、生合成過程に注目した昆虫成長制御剤の成功はいまだ報告はない。

我々は、先年同定された酵素の 1 つである Noppera-bo (Enya et al. *Sci. Rep.* 2014) を阻害する化合物の同定と作用機序の研究を行っている。現在、東京大学創薬機構や高エネルギー加速器研究機構などとの共同研究によって、大規模化合物ライブラリーを用いたケミカルスクリーニングや X 線結晶構造解析を進めている。将来的には、我々が同定した化合物から、環境に優しい新たな殺虫剤のシーズを提案することを目指す。

【寄生蜂と宿主の相互作用】

寄生蜂とは、特定の生物種を宿主として、宿主から栄養を得て成長するハチ目昆虫の総称である。寄生蜂は、その種数において全昆虫種の約 20%を占めると推定されており、地球上で最も成功・繁栄している動物群の 1 つと考えられている。多くの場合、寄生蜂は宿主を直ちに殺すのではなく、寄生者と宿主が共に成長した挙句、寄生者にとって都合の良いタイミングで捕食する。このような「飼い殺し型捕食寄生」の実現のため、寄生蜂は宿主の発生過程を巧妙に操作するための生理活性物質や分子機構を数多く有している。しかしながら、その動物群としての重要性にも関わらず、生化学的・分子発生生物学的アプローチによる研究が大きく立ち後れている。

そこで我々は、遺伝学的解析に適したショウジョウバエと、これを宿主とする寄生蜂ニホンアソバラコマユバチ *Asobara japonica* に着目し、宿主の発生に与える影響を調べている。我々は現在までに、寄生蜂由来の毒腺に由来する何らかの成分が、ショウジョウバエの器官の細胞分裂や細胞死に大きな影響を及ぼすことを見出した。そこで、この毒成分の特定を目指し、この毒成分の作用の解明を通じて寄生蜂と宿主との分子レベルでの相互作用の解明を目指す。

本研究は、生殖ダイナミクス分野の島田裕子助教との共同研究である。

2019 年度研究業績

原著論文

該当なし

総説

Yoshinari Y, Kurogi Y, Ameku T, Niwa R

Endocrine regulation of female germline stem cells in the fruit fly *Drosophila melanogaster*.

Current Opinion in Insect Science 31: 14-19 (2019) DOI: 10.1016/j.cois.2018.07.001

黒木 祥友, 星野 涼, 丹羽 隆介 (2019)

ショウジョウバエにおいて環境依存的に生殖幹細胞増殖を制御する神経内分泌メカニズム。

生化学 91: 246-249 (2019) DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2019.910246

学会発表等（国際学会＊、招待講演＊＊）

稻葉和恵、小祝孝太郎、今村理世、塩谷天、荒井怜奈、小島宏建、岡部隆義、長野哲雄、井上英史、藤川雄太、湯本史明、千田俊哉、丹羽隆介

“新規農薬開発に向けた昆虫グルタチオン S- 転移酵素 Noppera-bo の阻害剤探索”

第 19 回日本蛋白質科学会年会 第 71 回日本細胞生物学会大会 合同年次大会、神戸国際会議場・神戸国際展示場（兵庫県神戸市）

2019 年 6 月

小祝孝太郎、稻葉和恵、諸橋香奈、塩谷天、荒井怜奈、藤川雄太、井上英史、小島宏建、岡部隆義、長野哲雄、湯本史明、千田俊哉、丹羽隆介

昆虫特異的グルタチオン S 転移酵素による発生・分化制御機構の解明

第 19 回日本蛋白質科学会年会 第 71 回日本細胞生物学会大会 合同年次大会、神戸国際会議場・神戸国際展示場（兵庫県神戸市）

2019 年 6 月

＊＊Ryusuke Niwa

“Neuroendocrine control of gremlin stem cell proliferation and energy homeostasis in the fruit fly *Drosophila melanogaster*”

MRC London Institute of Medical Science Ad hoc Seminar, Medical Research Council London Institute of Medical Science (イギリス・ロンドン)

2019 年 6 月

、 * Kotaro Koiwai, Kazue Inaba, Kana Morohashi, Sora Enya, Riyo Imamura, Takayoshi Okabe, Hirotatsu Kojima, Tetsuo Nagano, Kaoru Fukazawa, Ryunosuke Yoshino, Takatsugu Hirokawa, Hideshi Inoue, Youth Fujikawa, Fumiaki Yumoto, Toshiya Senda, Ryusuke Niwa

“Combined experimental and computational approaches reveal a unique structural property of the Halloween glutathione Stransferase Noppera-bo”

4th International Insect Hormone Workshop, Orthodox Academy of Crete (ギリシャ・コリムバ)

2019年7月

* Eisuke Imura, Takashi Nishimura, Yuya Ohhara, Hsin Kuang Lin, Shu Kondo, Hiromu Tanimoto, Ryusuke Niwa, Yuko Shimada-Niwa

“Corazonin neurons negatively control systemic body growth by regulating basal ecdysteroid biosynthesis via PTTH neurons in *Drosophila*”

4th International Insect Hormone Workshop, Orthodox Academy of Crete (ギリシャ・コリムバ)

2019年7月4日

* Yuto Yoshinari, Ryo Hoshino, Shu Kondo, Yuko Shimada-Niwa, Hiromu Tanimoto, Ryusuke Niwa

“Sugar sensing midgut endocrine cells coordinate energy homeostasis through Adipokinetic hormone signaling in adult *Drosophila*”

4th International Insect Hormone Workshop, Orthodox Academy of Crete (ギリシャ・コリムバ)

2019年7月

* Kazue Inaba, Kotaro Koiwai, Kana Morohashi, Sora Enya, Kana Ebihara, Riyo Imamura, Hirotatsu

Kojima, Takayoshi Okabe, Tetsuo Nagano, Hideshi Inoue, Yuuta Fujikawa, Fumiaki Yumoto, Toshiya

Senda, Ryusuke Niwa

“Identification and characterization of chemical inhibitors of the Halloween glutathione Stransferase

Noppera-bo from the fruit fly *Drosophila melanogaster* and the yellow fever mosquito *Aedes aegypti*”

4th International Insect Hormone Workshop, Orthodox Academy of Crete (ギリシャ・コリムバ)

2019年7月

* Takumi Kamiyama, Naoki Tani, Akira Nakamura, Ryusuke Niwa

“Poly(A) Binding Protein regulates spok expression through nuclear translocation of its transcription factor Molting defective in *Drosophila*”

4th International Insect Hormone Workshop, Orthodox Academy of Crete (ギリシャ・コリムバ)

2019年7月

、 * Ryusuke Niwa

“Neuroendocrinal control of female germline stem cell proliferation in the fruit fly *Drosophila melanogaster*”

The 4th International Conference of Insect Genomics (ICIG) and the 7th International Symposium on Insect Physiology, Biochemistry and Molecular Biology (IPBMB), YueLai International Convention Center (中華人民共和国・重慶市)

2019年7月

* * Ryusuke Niwa

“Interorgan communication between the gut, the ovary, and the endocrine gland: A lesson from the gut-derived Neuropeptide F in the fruit fly *Drosophila melanogaster*”

Southwest University Academic Report, 西南大学 (中華人民共和国・重慶市)

2019年7月

、 * Ryusuke Niwa

“Neuroendocrine control of female germline stem cell proliferation in the fruit fly *Drosophila melanogaster*”

19th HFSP Awardees Meeting、つくば国際会議場 (茨城県つくば市)

2019年7月

* * 丹羽隆介

“寄生蜂の生存戦略と細胞死”

第28回 Cell Death 学会学術集会、東京大学山上会館 (東京都文京区)

2019年7月

丹羽隆介

“キイロショウジョウバエの交尾依存的な生殖幹細胞増殖の神経-内分泌制御”

日本動物学会第90回大阪大会、大阪市立大学杉本キャンパス (大阪府大阪市)

2019年9月

星野涼、吉成祐人、近藤周、谷本拓、丹羽隆介

“キイロショウジョウバエ交尾後の生殖幹細胞増殖における栄養と腸ホルモンの役割”

日本動物学会第90回大阪大会、大阪市立大学杉本キャンパス (大阪府大阪市)

2019年9月

黒木祥友、井村英輔、溝口明、近藤周、谷本拓、丹羽隆介

“キイロショウジョウバエの低温条件に応答した生殖休眠を制御する神経-内分泌メカニズムの解析”

日本動物学会第 90 回大阪大会、大阪市立大学杉本キャンパス（大阪府大阪市）

2019 年 9 月

小祝孝太郎、稻葉和恵、湯本史明、丹羽隆介、山田悠介、千田俊哉

“Automated X-ray crystallographical inhibitors screening against an insect embryogenesis regulator, Noppera-bo”

CBI 学会 2019 年度大会、タワーホール船堀（東京都江戸川区）

2019 年 10 月

小野肇、豊福美和子、藤永大輝、稻葉和恵、船橋智輝、藤川雄太、井上英史、片岡宏誌、丹羽隆介

“ステロール代謝およびエクダイソン生合成を介した植物トリテルペノイド cucurbitacin 類がショウジョウバエの発育に及ぼす影響”

日本農薬学会第 45 回大会（新型コロナウイルス感染症のため、みなし開催）

2020 年 3 月

黒木祥友、井村英輔、溝口明、近藤周、谷本拓、丹羽隆介

“キイロショウジョウバエの生殖休眠を制御する神経-内分泌メカニズムの解析”

日本動物学会関東支部第 72 回大会（新型コロナウイルス感染症のため、みなし開催）

2020 年 3 月

阿部真生子、渡辺佳織、服部佑佳子、上村匡、丹羽隆介

“ショウジョウバエの食性に影響を与える遺伝的要因と栄養的要因”

日本動物学会関東支部第 72 回大会（新型コロナウイルス感染症のため、みなし開催）

2020 年 3 月

海老原佳奈、稻葉和恵、小祝孝太郎、高谷大輔、渡邊千鶴、藤川雄太、井上英史、佐久間知佐子、嘉糠洋陸、本間光貴、千田俊哉、丹羽隆介

“蚊（ネッタイシマカ）を標的とした昆虫ステロイドホルモン生合成制御因子 Noppera-bo の阻害剤探索”

日本動物学会関東支部第 72 回大会（新型コロナウイルス感染症のため、みなし開催）

2020 年 3 月

島田裕子、上山拓己、片山南美、田中裕之、豊田敦、伊藤武彦、丹羽隆介
“ショウジョウバエを宿主とする内部寄生蜂 *Asobara japonica* のゲノムシーケンシング”
第 64 回日本応用動物昆虫学会大会（新型コロナウィルス感染症のため、みなし開催）
2020 年 3 月

Maiko Abe, Kaori Watanabe, Yukako Hattori, Tadashi Uemura, Ryusuke Niwa
“Genetic and nutritional factors affecting high sugar tolerance in *Drosophila*”
第 64 回日本応用動物昆虫学会大会（新型コロナウィルス感染症のため、みなし開催）
2020 年 3 月

Yoshitomo Kurogi, Eisuke Imura, Akira Mizoguchi, Shu Kondo, Hiromu Tanimoto, Ryusuke Niwa
“Neuronal control of reproduction dormancy under a cold condition in the fruit fly *Drosophila melanogaster*”
第 64 回日本応用動物昆虫学会大会（新型コロナウィルス感染症のため、みなし開催）
2020 年 3 月

小野肇、豊福美和子、藤永大輝、稻葉和恵、船橋智輝、藤川雄太、井上英史、片岡宏誌、丹羽隆介
“植物トリテルペノイド cucurbitacin B によるエクダイソン生合成の阻害”
第 64 回日本応用動物昆虫学会大会（新型コロナウィルス感染症のため、みなし開催）
2020 年 3 月

受賞

稻葉和恵（生命環境学群 生物学類）
平成 31 年度 生命環境学群長表彰 受賞

阿部真生子（生命環境学群 生物学類）
平成 31 年度 生命環境学群長表彰 受賞

特許

該当なし

アウトリーチ活動

丹羽隆介

土浦日本大学中等教育学校向け 出前授業およびTARAセンター研究室(令和元年9月17日、24日)

丹羽隆介

筑波大学附属駒場中学校向け特別講座（令和2年2月6日）

学会および社会的活動

丹羽隆介

日本発生生物学会・生物科学学会連合担当委員

日本応用動物昆虫学会・第64回日本応用動物昆虫学会/プログラム委員長

日本応用動物昆虫学会・編集委員

日本医学会・「奇形」を含む医学用語の置換えに関するワーキンググループ／委員

第4期ナショナルバイオリソースプロジェクト「ショウジョウバエ」・運営委員

International Insect Hormone Workshop・Organizing committee member（運営委員）

日本ショウジョウバエ研究会・世話人会代表

Scientific Reports (Nature Publishing Group)・Editorial Board（編集委員）

Frontiers in Experimental Endocrinology (Frontiers)・Review Editorial Board（査読編集委員）

Current Opinion in Insect Science (Elsevier)・Special Section Editor（特別号編集委員）

科学研究費補助金・外部資金獲得状況

丹羽隆介

研究種目名：新学術領域研究（公募研究）

研究課題名：生殖幹細胞インテグリティ制御におけるホルモンと神経伝達物質の役割の解明

研究期間：2019年度～2020年度

丹羽隆介

研究種目名：挑戦的研究（萌芽）

研究課題名：構造生物学的着想に基づく昆虫グルタチオンS-転移酵素Noboの内在性基質の同定

研究期間：2018年度～2019年度

丹羽隆介（分担）

研究種目名：国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）/革新的先端研究開発支援

事業「全ライフコースを対象とした個体の機能低下機構の解明」

研究課題名：成長期の栄養履歴が後期ライフステージに与える機能低下のメカニズム

研究期間：2017 年度～2022 年度

丹羽隆介（分担）

研究種目名：基盤研究(A)

研究課題名：微生物を介した植物の間接誘導防衛機構の解明にもとづく次世代昆虫制御物

質の創出

研究期間：2017 年度～2020 年度

丹羽隆介

研究種目名：公益財団法人武田科学振興財団 2017 年度ライフサイエンス研究奨励

研究課題名：病原菌感染に伴う生殖幹細胞増殖の分子メカニズムの解明

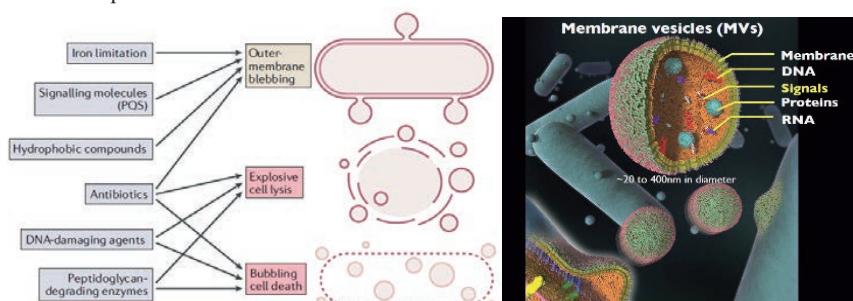
研究期間：2017 年度～2019 年度

集団微生物制御プロジェクト -野村ERATO プロジェクト-

「微生物制御 3.0」

微生物は、地球上のほぼすべての環境で見られます。ほとんどの微生物は“一匹オオカミ”ではなく、環境中でバイオフィルムを形成して多種生物と共に生息しています。その豊富さと遍在により、感染症の抑制、腸内細菌叢の調整、微生物による水処理、食品生産、化粧品、医薬品を含む多くの分野で、微生物の行動を「制御」(防止、抑制、調整)する技術が求められています。しかし、栄養、pH、酸素供給の変化など工学的アプローチのみに基づく微生物の制御は、急速に限界に達しつつあります。したがって、多種生物から成るバイオフィルムの新しい理論に基づく革新的な制御技術は非常に重要となります。バイオフィルム内では、細胞間相互作用と非常に大きな不均一性があり、それらの原因を解明することにより、独自の環境中における微生物叢の制御方法をより深く理解することができます。

Microorganisms are found in nearly every environment on earth. Contrary to the “lone wolf” idea, most microorganisms exist as multi-species biofilms in the environment. Due to their abundance and ubiquity, the ability to “control” (prevent, suppress, modulate) the behavior of microorganisms is important in many areas including suppression of infectious diseases, modulating intestinal flora, microbe-mediated water treatment, food production and handling, cosmetics, and pharmaceuticals. Biofilm control based solely on an engineering approach, such as changing the nutrient, pH, and/or oxygen supply, however, is rapidly reaching its limit. Therefore, innovative control technology based on a new theory for multi-species biofilms is of vital importance. Within biofilms, there is both intercellular interaction as well as tremendous heterogeneity. Clarification of the mechanisms of these interactions and the sources of this heterogeneity will lead to a greater understanding of microbial communities and how they may be controlled, within their own unique environments.



2019年度 野村研究室集合写真

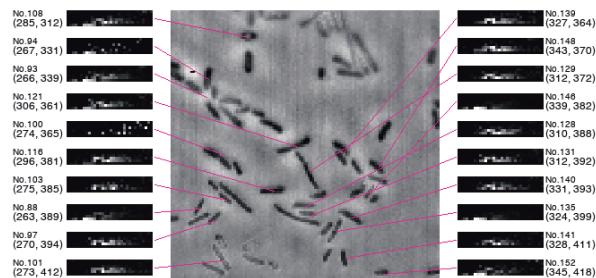
プロジェクトメンバー

生命環境系教授	伊藤 菜々子
野村 暢彦	鈴流 香織
	平山 智弘
准教授	田伏 義彦
Utada Andrew. S.	中島 梨花
豊福 雅典	天野 雄太
別役 重之	堀江 千絵
久能 樹	山本 千佳
	川本 大輝
助教	長谷川 優太
八幡 穂	
尾花 望	生命環境学群
	中嶋 勇人
博士研究員	矢野 真弓
山本 達也	菊池 薫
石賀 貴子	臼倉 雄紀
Prasad Manoj	濵澤 薫
安部 公博	上原 礼佳
岡野 千草	奥田 真由
永久保 利紀	小野 絵里香
高部 韶介	川島 花雪
渡邊 美穂	佐野 千佳穂
徳納 吉秀	中山 瑞鵬
Laura Wolter	野村 佳祐
	宮川 大
Zhang Yiyun	
生命環境科学研究科	
博士後期課程	技術職員
Bac Vu Giang Nguyen	中山 裕子
坂本 幸子	別役 恵理子
永沢 亮	萩原 陽子
安田 まり奈	尾花 悠
	八幡 志央美
生命環境科学研究科	廣木 亜由美
博士前期課程	
尾形 朋美	
武藤 真輝	
岩本 瑞生	
須澤 由希	
相馬 隆光	
奥脇 韶	
久知良 桃花	
兼松 周作	
高橋 晃平	

研究概要

【多数の細胞の性質を非破壊で同時に分析する手法を開発】

八幡穣助教、野村暢彦教授らの研究グループは、多数の細胞の自家蛍光を同時に解析するテクノロジーCRIF (Confocal reflection microscopy-assisted single-cell innate fluorescence analysis) を開発しました。ほぼ全ての細胞は自家蛍光を持っており、後天的な蛍光標識を施さなくても、励起光を当てることで蛍光を放ちます。こうした自家蛍光は、それぞれの細胞内の多様なコンポーネントや代謝産物が放つ特徴的な特性をもった蛍光の集合体であり、その特徴（自家蛍光シグネチャー）は、細胞の種類や生理状態を敏感に反映します。そのため、細胞の自家蛍光シグネチャー解析は、細胞の分析を非破壊、非侵襲、無処理で行える手段として広い分野で注目を集めつつあります。



しかしながら、これまでの自家蛍光シグネチャー解析は、細菌コロニーや培養液などの蛍光を、蛍光分光器などで測定する形で行われており、多数の細胞からなる細胞集団の平均値のみに着目していたことから、一度に少数のデータしか得ることができませんでした。

本研究では、形態と位置情報を認識する共焦点反射顕微鏡技術 COCRM (Continuous-optimizing confocal reflection microscopy) と、超高感度蛍光スペクトル共焦点顕微鏡技術、画像処理技術を組み合わせることで、多数の細胞の自家蛍光を同時に解析し、「自家蛍光ビッグデータ」を生成することが可能になりました。さらに、その情報から AI (機械学習モデル) を利用して、個々の細胞の性質や種類が予測できることが分かりました。

本技術は、細胞にダメージを与えずにその性質を分析できることから、細胞の品質管理技術などに応用されることが期待されます。

本研究の成果は 2019 年 8 月 29 日付「Applied and Environmental Microbiology」誌で公開されました。また、成果の一部について、特許「データ作成方法及びデータの使用方法」(JPW02018117273A1) を取得済みです。

本研究は、卓越研究員事業（八幡）、科研費新学術領域研究（八幡）、科学技術振興機構 戰略的創造研究推進事業 ERATO（野村）の助成によって実施されました。

論文 : Yawata. Y, T. Kiyokawa, Y. Kawamura , T. Hirayama , K. Takabe , N. Nomura. Intra and inter species variability of single-cell innate fluorescence signature of microbial cell. **Applied and Environmental Microbiology**, 85, 18, e00608-19. DOI: 10.1128/AEM.00608-19.

【微生物が狭い空間でも集団を拡張する仕組み】

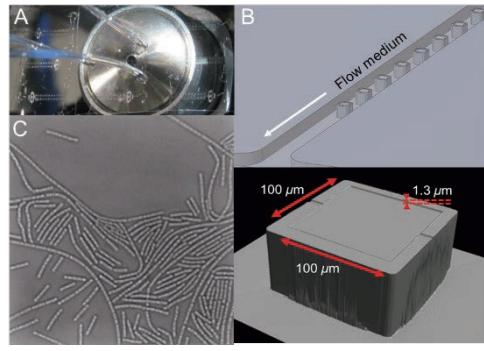
～ナノ纖維の分泌により細胞フィラメントの伸長を制御し、環境に適応する～

久能樹准教授、Utada A. S. 准教授、野村暢彦教授らの研究グループは、東京慈恵会医科大学 杉本真也准教授、筑波大学生存ダイナミクス研究センター 岩崎憲治教授との共同研究により、鉄酸化細菌*Leptothrix*属が分泌するナノ纖維が、表面接着、および細胞フィラメントの伸長や方向を制御することを明らかにしました。

*Leptothrix*属細菌は、ナノ纖維を分泌することで細胞フィラメントを覆うチューブ原基を形成します。これが酸化鉄粒子に覆われたチューブとなり、集団（バイオマット）を構築して生息しています。しかしながら、なぜナノ纖維を分泌するかは、不明なままでした。本研究では、特殊なマイクロ流路デバイスを用いることで、細胞フィラメント形成初期段階のリアルタイム観察に成功し、分泌ナノ纖維の新たな機能を発見しました。これらは、細胞フィラメントや酸化鉄チューブ形成に対する重要な基礎的知見を提供するものであると同時に、顔料、電極、触媒、農薬など、*Leptothrix*属細菌のつくるチューブの応用利用に向けた、材料特性の向上に役立つと期待されます。

本研究の成果は、2019年12月6日付「ACS Nano」で公開されました。

本研究は、国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）の戦略的創造研究推進事業 ERATO「野村集団微生物制御プロジェクト」および CREST「元素戦略を基軸とする物質・材料の革新的機能の創出」の一環で行われました。また科学研究費補助金、筑波大学生存ダイナミクス研究センター共同利用・共同研究の助成を受けました。



論文： Kunoh T, Morinaga K, Sugimoto S, Miyazaki S, Toyofuku M, Iwasaki K, Nomura N, Utada A.S. (2020) Polyfunctional Nanofibril Appendages Mediate Attachment, Filamentation, and Filament Adaptability in *Leptothrix cholodnii*. ACS Nano 14, 5, 5288–5297. DOI:10.1021/acsnano.9b04663.

【ナノサイズの細胞外膜小胞の物性イメージングに成功

～細菌は不均一な性質の膜小胞を放出する～】

金沢大学ナノ生命科学研究所の田岡東准教授らと筑波大学生命環境系・微生物サステイナビリティ研究センターの野村暢彦教授らの研究グループは、共同研究により細菌が環境中に放出する微小な袋状の膜構造体（メンブレンベシクル：MV（※1））の物理的性質を原子間力顯微鏡（※2）と呼ばれる顕微鏡技術を用いて調べる方法を開発しました。

近年の国内外の研究では、MVは、細菌間の情報伝達やタンパク質の輸送、遺伝子の水平伝播に関与し、抗生物質やファージ（※3）への「おとり」として働き細菌の生存を助けるなど、細菌の生存戦略に深く関わる重要な因子であることが報告されています。しかしながら、

細菌が放出するMVの大きさは直径20～400nm(※4)程度と非常に小さいこと、リン脂質膜(※5)というとても柔らかく脆い構造でつくられていることから、MV粒子1つ1つの性質を個別に調べる方法は開発されておらず、MVの詳しい実態はこれまで不明でした。

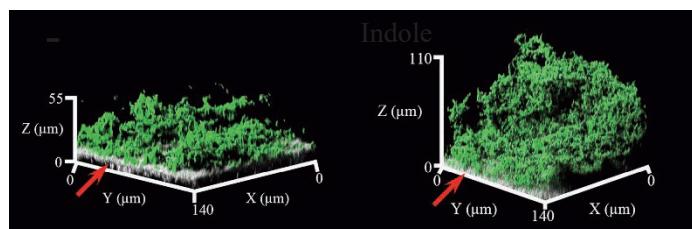
本研究グループでは、溶液中でMV1粒子の物理的性質を定量的に調べる方法を開発し、4種類の細菌が放出したMVの性質を比較しました。その結果、一種類の細菌が物理的性質の異なる多様な性質のMVを放出すること、また細菌種ごとに放出するMVに種特異的な性質の違いがあることを見出しました。MV1粒子の解析を可能にしたこの手法は、MVの実態解明や、MVを介した生命現象のメカニズムの解明に貢献することが期待されます。本研究の成果は、2020年3月23日付「Nanoscale」でオンライン公開されました。

論文： kikuchi Y, Obana N, Toyofuku M, Kodera N, Soma T, Ando T, Fukumori Y, Nomura N, Taoka A. (2020) Diversity of physical properties of bacterial extracellular membrane vesicles revealed through atomic force microscopy phase imaging. *Nanoscale*, 12, 14, 7950–7959.

DOI: 10.1039/c9nr10850e.

【インドールによる細胞間コミュニケーションを介したバイオフィルム形成誘導】

ヒトの口腔内は100種を超える細菌が存在しており、口腔細菌は複数の細菌種から成る口腔バイオフィルムを形成して生息しています。複合系口腔バイオフィルム中における細菌間相互作用は、う蝕（虫歯）や歯周病といった口腔バイオフィルムが原因となる疾患の発生に深く寄与すると考えられています。しかしながら、口腔内における異種細菌間相互作用については不明な点が多いままです。*Streptococcus mutans* は歯面に強固なバイオフィルムを形成することにより、う蝕の原因となるう蝕原生細菌の一種である。我々は芳香族化合物であるインドールが *S. mutans* のバイオフィルム形成に関与することを見出しました。インドールは *S. mutans* を除く様々な細菌が産生するトリプトファンの代謝産物であり、同種内の細胞間シグナルとしての機能が報告されています。実際にヒトの口腔内からもインドールが検出されることから、我々はインドールが口腔内における異種細菌間相互作用に関与することを予想しました。インドールを添加して培養したところ、*S. mutans* のバイオフィルム形成が増強されました。インドール存在下ではバイオフィルム中の細胞外DNA量が増加したことから、インドールは *S. mutans* の細胞外DNA産生活性を増強させることによってバイオフィルム形成を増強させると予想されました。また、インドールによるバイオフィルム量の増加には、*S. mutans* の同種内コミュニケーション機構である *comCDE-sigX* 経路が必要でした。これらのことでよりインドールは *S. mutans* の細胞間コミュニケーション経路を調節する異菌種間シグナル分子と



して機能することが示唆されました。本研究の結果は、口腔複合系バイオフィルム形成時に *S. mutans* とインドール生産菌が相互作用している可能性を示しています。インドールによるバイオフィルム形成制御機構の詳細を明らかにすることによって、様々な細菌から構成される複合系口腔バイオフィルムの生態の理解や、口腔疾患の防除につながる知見となることが期待されます。

論文 : Inaba T, Obana N, Habe H, Nomura N. (2020) Biofilm Formation by *Streptococcus mutans* is Enhanced by Indole via the Quorum Sensing Pathway. *Microbes and Environments* 35, 2, ME19164. DOI: 10.1264/jsme2.ME19164.

2019 年度研究業績

原著論文（全て査読あり）

Brumley DR, Carrara F, Hein AM, Yawata Y, Levin SA, Stocker R. (2019) Bacteria push the limits of chemotactic precision to navigate dynamic chemical gradients. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 116, 22, 10792–10797.

Mizokami Y, Sugiura D, Watanabe CKA, Betsuyaku E, Inada N, Terashima I. (2019) Elevated CO₂-induced changes in mesophyll conductance and anatomical traits in wild type and carbohydrate metabolism mutants of *Arabidopsis thaliana*. **J. Exp. Bot.** 70, 18, 4807–4818.

Ogura M, Sato T, Abe K. (2019) *Bacillus subtilis* YlxR, which is involved in glucose-responsive metabolic changes, regulates expression of tsaD for protein quality control of pyruvate dehydrogenase. **Front. Microbiol.** 10, 923.

Tokunou Y, Okamoto A. (2019) Geometrical changes in the hemes of bacterial surface c-type cytochromes reveal flexibility in their binding affinity with minerals. **Langmuir** 35, 23, 7529–7537.

Shimada T, Betsuyaku S, Inada N, Ebine K, Fujimoto M, Uemura T, Takano Y, Fukuda H, Nakano A, Ueda T. (2019) Enrichment of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate in the extra-invasive hyphal membrane promotes *Colletotrichum* infection of *Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell Physiol.** 60, 7, 1514–1524.

Yawata Y, Kiyokawa T, Kawamura Y, Hirayama T, Takabe K, Nomura N (2019) Intra- and interspecies variability of single-cell innate fluorescence signature of microbial cell. **Appl. Environ. Microbiol.** 85, 18, e00608-19.

Sakata N, Ishiga T, Saito H, Nguyen, VT, Ishiga Y. (2019) Transposon mutagenesis reveals *Pseudomonas cannabina* pv. *alisalensis* optimizes its virulence factors for pathogenicity on different hosts. **PeerJ** 7, e7698.

Shuster B, Khemmani M, Nakaya Y, Holland G, Iwamoto K, Abe K, Imamura D, Maryn N, Driks A, Sato T, and Eichenberger P. (2019) Expansion of the spore surface polysaccharide layer in *Bacillus subtilis* by deletion of genes encoding glycosyltransferases and glucose modification enzymes. **J. Bacteriol.** 201, 19, e00321–19.

Kunoh T, Morinaga K, Sugimoto S, Miyazaki S, Toyofuku M, Iwasaki K, Nomura N, Utada A.S. (2020) Polyfunctional nanofibril appendages mediate attachment, filamentation, and filament adaptability in *Leptothrix cholodnii*. **ACS Nano** 14, 5, 5288–5297.

Ishiga T, Iida Y, Sakata N, Ugajin T, Hirata T, Taniguchi S, Hayashi K, Ishiga Y. (2019) Acibenzolar-S-methyl activates stomatal-based defense against *Pseudomonas cannabina* pv. *alisalensis* in cabbage. **J. Gen. Plant Pathol.** 86, 1, 48–54.

Suzuki S, Yoshikawa M, Imamura D, Abe K, Eichenberger P, Sato T (2019) Compatibility of site-specific recombination units between mobile genetic elements. **iScience** 23, 1, 100805.

Carrara F, Brumley DR, Hein AM, Yawata Y, Salek MM, Lee KS, Sliwerska E, Levin SA, Stocker R. (2019) Generating controlled, dynamic chemical landscapes to study microbial behavior. **J. Vis. Exp.** 155, e60589.

Kikuchi Y, Obana N, Toyofuku M, Kodera N, Soma T, Ando T, Fukumori Y, Nomura N, Taoka A. (2020) Diversity of physical properties of bacterial extracellular membrane vesicles revealed through atomic force microscopy phase imaging. **Nanoscale** 12, 14, 7950–7959.

Inaba T, Obana N, Habe H, Nomura N. (2020) Biofilm Formation by *Streptococcus mutans* is Enhanced by Indole via the Quorum Sensing Pathway. **Microb. Environ.** 35, 2, ME19164.

総説・書籍

山本達也、野村暢彦、豊福雅典. (2019) 第 18 回日本油化学会オレオサイエンス賞受賞に寄せて—「見る」ことで明らかとなったベシクルの新奇形成機構—. オレオサイエンス, 19(8) 339.

Toyofuku M. (2019) Bacterial communication through membrane vesicles. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** 83, 9, 1599–1605

Nagakubo T, Nomura N, Toyofuku M. (2019) Cracking open bacterial membrane vesicles. **Front. Microbiol.** 10, 3026.

Morinaga K, Yoshida K, Takahashi K, Nomura N, Toyofuku M. (2019) Peculiarities of biofilm

formation by *Paracoccus denitrificans* and associated factors. **Appl. Microbiol. Biotech.** 104, 6, 2427–2433.

Abe K, Nomura N, Suzuki S. (2019) Biofilms: Hot spots of horizontal gene transfer (HGT) in aquatic environments, with a focus on a new HGT mechanism. **FEMS Microbiol. Ecol.** 96, 5, fiaa031.

Toyofuku M, Tashiro Y, Nomura N, Eberl L. (2019) Function of MVs in inter-bacterial communication, Springer (in press)

田伏義彦、尾花望、野村暢彦. (2019) クオラムセンシングによるバイオフィルムの不均一性と形態制御. **Bacterial Adherence Biofilm** (in press)

学会発表等（国際学会＊、招待講演＊＊）

＊＊野村暢彦 “細菌はバイオフィルム形成により多様性が促進され、死ぬことでMVにDNAがストレージされる” 第92回日本細菌学会総会 日本細菌学会・日本微生物生態学会共催シンポジウム、札幌、2019年4月

＊＊尾花 望、野村暢彦 “グラム陽性細菌によるメンブレンヴェシクルの能動的な産生機構とワクチンプラットフォームへの応用” 第92回日本細菌学会総会 日本細菌学会・日本微生物生態学会共催シンポジウム、札幌、2019年4月

永沢 亮、尾花 望、野村 暉彦 “Quorum sensingにより制御される *Streptococcus mutans* 細胞死のsingle-cell level 解析” 第92回日本細菌学会総会 日本細菌学会・日本微生物生態学会共催シンポジウム、札幌、2019年4月

高部響介、野村暢彦、八幡穰 “Construction of analysis method for monitoring individual cells in biofilm” 第92回日本細菌学会総会 日本細菌学会・日本微生物生態学会共催シンポジウム、札幌、2019年4月

平山智弘、八幡志央美、高部響介、川村優樹、岡野千草、野村暢彦、八幡穰 “自家蛍光シグネチャー評価による新規スクリーニング法：酵母の油脂代謝性をモデルとして” 日本農芸化学会 2019年度大会、東京 2019年4月

八幡 穧 “マイクロ流体テクノロジー、ロボティクス、低侵襲細胞イメージング評価技術の融合” 日本農芸化学会 2019年度大会、東京 2019年4月

* * 野村暢彦 “微生物制御 3.0 に向けて～サイエンスとテクノロジーの双輪～” 早稲田大学理工学術院 竹山研究室主催セミナー、東京、2019 年 5 月

* * 野村暢彦 “細菌における新奇 DNA の備蓄・伝播機構” 愛媛大学 環境薬剤体制菌研究会、松山、2019 年 5 月

* * * 野村暢彦 “Bacterial communication and membrane vesicle” 8th International Weigl Conference、Poland、2019 年 6 月

* * * Utada A. S. “Intro to MiCS” Waterloo University、CANADA、2019 年 6 月

* Yasuda M. “Phage gene may stimulate bacterial communication in *Paracoccus denitrificans*” 1st Global Innovation Workshop、東京、2019 年 6 月

* Nguyen B. V. G “Sophorolipids: possible applied to prevent and disrupt *Pseudomonas aeruginosa* PA01 biofilm” 1st Global Innovation Workshop、東京、2019 年 6 月

* * 豊福雅典 “ベシクルを介した細菌の化学コミュニケーション” 第 14 回化学生態研究会、函館、2019 年 6 月

久能 樹、森永 花菜、杉本 真也、豊福 雅典、野村 暢彦、Utada A. S. “*Leptothrix* 属細菌の分泌する有機物ナノ纖維の新たな機能” 環境バイオテクノロジー学会 2019年度大会、吹田、2019 年 6 月

* * 野村暢彦 “生体内小分子はどのように細胞間を移動しているのだろうか？～微生物間コミュニケーションの新たな展開～” 東京、2019 年 7 月

* * 野村暢彦 “微生物も群れて会話する～単細胞と不均一性～” 関東非線形非平衡バイオソフトマターセミナー、東京、2019 年 7 月

高部響介、野村暢彦、八幡穣 “バイオフィルム内の個々の細胞が発する自家蛍光の不均一性” 第 33 回日本バイオフィルム学会学術集会、久留米、2019 年 7 月

岡野千草、平山智弘、野村暢彦、八幡穣 “共焦点反射顕微鏡法による固体-細胞インターフ

エースの非破壊 3D 解析” 第 33 回日本バイオフィルム学会学術集会、久留米、2019 年 7 月

田伏義彦、尾花望、野村暢彦 “クオラムセンシングによるバイオフィルムの不均一性と形態制御” 第 33 回日本バイオフィルム学会学術集会、久留米、2019 年 7 月

永沢 亮、尾花 望、Utada A. S.、野村 暉彦 “*Streptococcus mutans* のクオラムセンシングに応答した細胞外 DNA 産生” 第 33 回日本バイオフィルム学会学術集会、久留米、2019 年 7 月

* * 德納吉秀 “微生物天然分子エレクトロニクスの生体環境中配向追跡” 新進気鋭の若手研究者による融合先導化学の展開、福岡、2019 年 7 月

Muto N, Obana N, Nomura N. “A norvel conserved protein complex regulator controls sporulation and toxin production in *Clostridium perfringens*” Clostpath11、オランダ、2019 年 8 月

平山智弘、高部響介、野村暢彦、八幡 穂 “一細胞自家蛍光シグネチャーに基づいた細胞集団の不均一生ダイナミクス” 微生物生態学会 第 33 回大会、甲府、2019 年 8 月

兼松周作、豊福雅典、野村暢彦 “細胞集団中に出現するペプチドグリカンの分解された細胞の解析” 第 13 回細菌学若手コロッセウム、仙台、2019 年 8 月

* * * 豊福雅典 “How do bacteria “really” communicate?” Marine Biotechnology Conference 2019、静岡、2019 年 9 月

* * 野村暢彦 “細菌が構築するバイオフィルムのイメージング” 第 162 回日本獣医学会学術集会 微生物学分科会「微生物研究のイメージング戦略」、つくば、2019 年 9 月

* * 清水将文・別役重之 “植物のマーカー遺伝子群の可視化技術を活用した有用植物微生物の機能解析および高効率スクリーニング法の開発” 日本微生物生態学会 第 33 回大会シンポジウム「植物微生物研究で共創する未来」、甲府、2019 年 9 月

* * 別役重之 “植物-病原細菌相互作用の時空間的動態” 第 35 回 個体群生態学会大会シンポジウム「生物や生態系全体の動態をとらえる網羅的実験の新展開」、京都、2019 年 9 月

* * * Utada A. S. “Visualization of bacteria motility strategies and biofilm formation in tight microfluidic environments.” 第 57 回日本生物物理学会年会、宮崎、2019 年 9 月

久能 樹、森永花菜、杉本真也、豊福雅典、野村暢彦、Utada A. S. “*Leptothrix* 属細菌の分泌ナノ纖維は連鎖状菌体に環境適応性を付与する” 第 71 回 日本生物工学会大会、岡山、2019 年 9 月

平山智弘、八幡志央美、高部響介、風間春香、高久洋暁、野村暢彦、八幡穢 “自家蛍光シグネチャーに基づく新規スクリーニング技術開発：酵母の油脂生産性を一細胞レベルで評価する” 第 71 回 日本生物工学会大会、岡山、2019 年 9 月

岩本瑞生・舛尾俊介・野村暢彦・別役重之 “ファイトアレキシン合成酵素遺伝子 *PAD3* の時空間的機能解析” 日本植物学会第 82 回大会、広島、2019 年 9 月

尾形朋美、別役重之、野村暢彦 “シロイヌナズナにおける ACCELERATED CELL DEATH 6 (*ACD6*) の機能解析” 令和元年度日本植物病理学会関東部会、東京、2019 年 9 月

別役重之・別役恵理子・野村暢彦 “植物免疫を制御するサリチル酸・ジャスモン酸の時空間的相互作用の解析” 日本植物学会第 82 回大会、広島、2019 年 9 月

田伏義彦、尾花望、野村暢彦 “クオラムセンシングによるバイオフィルム中の不均一性と形態制御” 令和元年度グラム陽性菌ゲノム機能会議、つくば、2019 年 9 月

* * * 野村暢彦 “Biofilms and membrane vesicles” Asian Synthetic Biology Association Meeting、中国、2019 年 10 月

* Tokunou Y, Hattori S, Clarke TA, Shi L, Ishii K, Okamoto A. “*In Vivo*-specific deca-heme rearrangement in bacterial surface cytochromes revealed by whole-cell circular dichroism difference spectroscopy” 7th International Society for Microbial Electrochemistry and Technology (ISMET7)、沖縄、2019 年 10 月

* * 野村暢彦 “集団微生物制御への展開そしてポスト ERATO を見据えて” JST ERATO 深津共生進化機構プロジェクト キックオフシンポジウム、つくば、2019 年 10 月

* * 豊福雅典 “細菌のメンブレンベシクル形成機構と機能” 愛媛微生物学ネットワーク

(NAME)、愛媛、2019年10月

田伏義彦、尾花望、野村暢彦 “嫌気性病原性細菌におけるクオラムセンシングによるバイオフィルムの不均一性と形態制御” 第102回日本細菌学会関東支部総会、東京、2019年10月

伊藤菜々子、尾花 望、渡辺宏紀、稲葉智大、宮野泰征、野村暢彦 “海洋単離株 FT01 の鉄イオン濃度に応じたバイオフィルム形成および金属腐食” 第53回ビブリオシンポジウム 第56回細菌学会中部支部、名古屋、2019年10月

* * * Utada A. S. “Microfluidic visualization of bacteria to enable analysis of motility, growth, and biofilm formation.” Invited departmental seminar at Tianjin University、中国、2019年11月

* * Yawata Y. “Single-cell innate fluorescence signatures of microorganisms” The 31st Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conference、タイ、2019年11月

* * Nomura N. “Microbial Control Ver. 3.0” The 31st Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conference、タイ、2019年11月

* * 野村暢彦 “「一細胞～集団における生体機能の可視化の最前線---バイオフィルムから生命科学分野まで---」” 花王株式会社 講演、東京、2019年11月

* * 野村暢彦 “サステナブルな社会へ向けた微生物の役割と可能性” 住友重機械工業 基調講演、東京、2019年11月

* * 野村暢彦 “食・健康・環境にかかる微生物の制御を目指して～微生物も群れて会話する～” 広島醸酵会・日本技術士会、広島、2019年11月

* Ito N, Obana N, Watanabe H, Inaba T, Miyano Y, Nomura N “Metal corrosion by a marine isolated bacterium in response to environmental changes” EAST ASIA & PACIFIC AREA CONFERENCE、横浜、2019年11月

* * 豊福 雅典 “細菌の生き様を捉える” 生化学若い研究者の会、長岡、2019年11月

* * 別役 重之 “感染シグナルの長距離移行と今後の展開” 理研 BRC シンポジウム「接木を使ったシロイヌナズナ研究の新展開」、つくば、2019年11月

Yawata Y、Takabe K、Nomura N “Single-cell innate fluorescence analysis by confocal microspectroscopy” 日本顕微鏡学会第62回シンポジウム、埼玉、2019年11月

* * 野村 暁彦 “課題創造学” 筑波大学 STEAM リーダーシッププログラム講座、つくば、2019年12月

* * 野村 暁彦 “健康・食・環境に関わる微生物制御技術の新展開 ～微生物集団の全貌解明と制御に向けて～” 第36回JBDAバイオベンチャーフォーラム、東京、2019年12月

久知良 桃花、Abeyasinghe G、榎尾 俊介、萩原 大祐、高谷 直樹、野村 暁彦、尾花 望、竹下 典男 “空間的・代謝的な相互作用を介した細菌と真菌の新たな相利共生戦略” 日本農芸化学会2019年度関東支部例会、東京、2019年12月

* * 野村 暁彦 “細胞が放つ細胞外膜粒子（メンブレンベシクル(MV)）” JST CREST「細胞外微粒子に起因する生命現象の解明とその制御に向けた基盤技術の創出」2019年度領域会議、東京、2020年1月

* * 別役 重之 “植物免疫と病原細菌感染の時空間ダイナミクス” 岩手生物工学研究センター第249回セミナー、岩手、2019年11月

* * 野村 暁彦 “微生物の個・集団・共生が支える持続可能な社会” Mics シンポジウム、つくば、2020年2月

* * 豊福 雅典 “MV形成機構におけるパラダイムシフトとその応用” 第93回日本細菌学会総会、名古屋、2020年2月

兼松 周作、豊福 雅典、野村 暁彦 “細胞集団中に出現するペプチドグリカンの分解された細胞の解析” 第93回日本細菌学会総会、名古屋、2020年2月

菊池 洋輔、市中 佑樹、豊福 雅典、尾花 望、野村 暁彦、田岡 東 “高速AFMの位相モードを用いた細菌表面物性の生細胞イメージング” 第93回日本細菌学会総会、名古屋、2020年2月

兼松 周作、豊福 雅典、野村 暁彦 “緑膿菌の細胞集団内に出現するスフェロプラスト状細胞の解析” 第54回緑膿菌感染症研究会、岐阜、2020年2月

* * 豊福 雅典 “微生物が放出する多様なベシクル” 高分子と水・分離に関する研究会および2019年度界面動電現象研究会、東京、2020年3月

* * 豊福 雅典 “Bacterial membrane vesicle formation through cell death” 日本農芸化学会2020年度大会、福岡、2020年3月

* * 野村 暁彦 “多様性を基盤にした微生物研究の最前線” 日本農芸化学会2020年度大会、福岡、2020年3月

* * Betsuyaku S. “Spatiotemporal dynamics of the salicylate and jasmonate signaling pathways regulating plant immune and wound responses.” 第61回日本植物生理学会(国際シンポジウム)、大阪、2020年3月

* * Betsuyaku S, Katou S, Takebayashi Y, Sakakibara H, Nomura N, Fukuda H. “PCP Award: Salicylic Acid and Jasmonic Acid Pathways are Activated in Spatially Different Domains Around the Infection Site During Effector-Triggered Immunity in *Arabidopsis thaliana*.” 第61回日本植物生理学会、大阪、2020年3月

* * 久能 樹 “*Leptothrix* 属細菌の糸状増殖の制御” 岡山大学 BIOX 研究会、岡山、2020年3月

徳納 吉秀、野村 暁彦、豊福 雅典 “Acceleration of bacterial extracellular electron transfer based on inter-species interaction” 日本化学会第100回春季年会、野田、2020年3月

徳納 吉秀、野村 暁彦、豊福 雅典 “鉄還元細菌由来メンブレンベシクルを介した緑膿菌の細胞外電子移動” 日本農芸化学会2020年度大会、福岡、2020年3月

田伏 義彦、尾花 望、野村 暁彦 “嫌気性細菌ウェルシュ菌の形成するバイオフィルム中におけるクオラムセンシング機構の解析” 日本農芸化学会2020年度大会、福岡、2020年3月

受賞

岩本 瑞生 2019 年度日本植物病理学会大会学生優秀発表賞.

伊藤 菜々子 ASME 2019 Poster Award

安田 まりな ASME 2019 Poster Award

安田 まりな 1st Global Innovation Workshop 優秀賞

伊藤 菜々子 環境バイオテクノロジー学会 2019 年度大会 優秀ポスター賞

中島 梨花 環境バイオテクノロジー学会 2019 年度大会 優秀ポスター賞

徳納 吉秀 第 33 回日本バイオフィルム学会学術集会 若手優秀発表賞

永沢 亮 第 33 回日本バイオフィルム学会学術集会 トラベルアワード

山本 達也 20th International Conference on Bacilli and Gram-Positive Bacteria Financial assistance

兼松 周作 第 1 3 回若手コロッセウム ASM poster prize

尾形 朋美 令和元年度日本植物病理学会関東部会 学生優秀発表賞

Laura Wolter Symposium of Aquatic Microbial Ecology (SAME) 16 Travel Awards

久知良 桃花 令和元年度グラム陽性菌ゲノム機能会議 優秀ポスター賞

山本 達也、野村 暢彦、豊福 雅典 日本油化学会第 1 8 回オレオサイエンス賞

Kobayashi S, Hira D, Yoshida K, Toyofuku M, Shida Y, Ogasawara W, Yamaguchi T, Araki N, Oshiki M
2018 年度 M&E 論文賞

坂本 幸子、Nobu, Masaru Konishi、眞弓 大介、玉澤 聰、五十嵐雅之、若山樹、前田 治男、坂
田 将、鎌形 洋一、玉木 秀幸 日本農芸化学会 2020 年度大会 優秀発表賞

徳納 吉秀 一般財団法人総合研究会 奨励賞

田伏 義彦 第93日本細菌学会総会 優秀発表賞

Betsuyaku S, Katou S, Takebayashi Y, Sakakibara H, Nomura H, Fukuda H. 2020年PCP論文賞

特許

発明者 : 野村暢彦、Utada A. S. 、Nguyen B. V. G.

発明の名称 : 洗浄および防汚組成物並びにバイオフィルムの除去および形成抑制用組成物

出願日 : 2019年10月4日

出願番号 : 2019-184173

アウトリーチ活動

野村 暢彦 (ERATO 野村集団微生物制御プロジェクト研究総括)

筑波大学 科学技術週間 キッズ・ユニバーシティ「微生物も会話する」

2019年4月20日(土)

野村 暢彦 (ERATO 野村集団微生物制御プロジェクト研究総括)

筑波大学付属高等学校来訪者 11名 レクチャー：プロジェクト研究概要の説明

2019年6月20日(木)

野村 暢彦 (ERATO 野村集団微生物制御プロジェクト研究総括)

筑波大学キッズ・ユニバーシティ ちょこっと探求クラブ 2019 筑波大学東京キャンパス文
京校舎 講演：飲みものの中の糖分（ぶどう糖）量を見てみよう

2019年8月26日(月)

学会および社会的活動

野村 暢彦

日本環境バイオテクノロジー学会, 理事

日本バイオフィルム学会, 副理事長

緑膿菌感染症研究会, 運営委員

日本微生物生態学会, 評議委員

マクロライド新作用研究会, 世話人

Microbes and Environments, Editor

Applied Environmental Microbiology (ASM), Editorial Board Member

科学研究費補助金・外部資金獲得状況

野村暢彦

研究種目名：JST 戰略的創造研究推進事業 ERATO タイプ（代表）

研究課題名：野村集団微生物制御プロジェクト

研究期間　：2015 年度～2020 年度

研究種目名：基盤研究(S)（分担）

研究課題名：フロッキュレーション解析に基づく環境界面工学の展開

研究期間　：2016 年度～2020 年度

研究種目名：基盤研究(A)（分担）

研究課題名：多剤耐性遺伝子の環境中残存機構と人への暴露リスク評価

研究期間　：2016 年度～2020 年度

研究種目名：JST CREST（分担）

研究課題名：新たな光機能や光物性の発現・利活用を基軸とする次世代フォトニクスの基盤技術領域 単一光子スペクトル計測による細胞機能 vizualizer の創成

研究期間　：2017 年度～2022 年度

研究種目名：NEDO（分担）

研究課題名：植物等の生物を用いた高機能品生産技術の開発事業

研究期間　：2019 年～2020 年度

研究種目名：新学術領域研究(研究領域提案型)（分担）

研究課題名：複合生物系を形作るポストコッホ微生物

研究期間　：2019～2023 年度

3. プレスリリース

2019年5月17日 岩崎プロジェクト

丈夫かつ開閉可能なタンパク質ケージを開発

～特異な形状と性質を有する網かご状ナノ粒子～

2019年5月17日 小林プロジェクト

生殖細胞が作られる過程では、体を作る細胞の生成が抑制される

～次世代の生命を生み出すしくみ～

2019年5月30日 渋谷プロジェクト

細胞が自らのアレルギーの発症を抑える仕組みを発見

2019年8月29日 野村ERATOプロジェクト

多数の細胞の性質を非破壊で同時に分析する手法を開発

2019年10月24日 深水プロジェクト

受容体間の機能的相互作用による血管収縮機構を解明

2019年11月8日 林センター長研究グループ

老化を誘発する仕組みを解明

～グリシン摂取が老化の緩和に有効である可能性～

2019年12月4日 渋谷プロジェクト

薬剤性急性肝障害を予防する新しい細胞の働きを発見

2019年12月7日 渋谷プロジェクト

ダニによるアトピー性皮膚炎を抑制する分子の発見

2019年12月9日 野村ERATOプロジェクト

微生物が狭い空間でも集団を拡張する仕組み

～ナノ纖維の分泌により細胞フィラメントの伸長を制御し、環境に適応する～

2020年1月27日 深水プロジェクト

ヒスタミン受容体アゴニストが心腎連関障害を改善する

～心腎不全モデルマウスの遺伝情報解析による抗炎症作用の同定～

2020年3月10日 岩崎プロジェクト

細菌毒素タンパク質の膜透過機構の一端を解明

2020年3月12日 小林プロジェクト

生殖細胞が作られる過程で細胞分裂サイクルが停止する機構を解明

2020年4月7日 野村ERATOプロジェクト（論文掲載日2020年3月23日）

ナノサイズの細胞外膜小胞の物性イメージングに成功

～細菌は不均一な性質の膜小胞を放出する～



筑波大学
University of Tsukuba



大阪大学
OSAKA UNIVERSITY



国立研究開発法人
日本医療研究開発機構

2019年5月17日

報道関係者各位

国立大学法人 筑波大学

国立大学法人 大阪大学

国立研究開発法人 日本医療研究開発機構

丈夫かつ開閉可能なタンパク質ケージを開発 ～特異な形状と性質を有する網かご状ナノ粒子～

研究成果のポイント

1. 新規網かご状タンパク質を開発し、その構造が特異な正多面体形状であることを明らかにしました。
2. この網かご状タンパク質は、丈夫で安定でありながら、閉じたり開いたりすることが可能です。
3. この化合物には2種類の鏡像関係にある会合様式があり、1:1の割合で生成することがわかりました。

国立大学法人筑波大学生存ダイナミクス研究センター（TARA） 岩崎憲治教授、宮崎直幸助教（研究当時、大阪大学蛋白質研究所）、ヤギエウォ大学（ポーランド） Jonathan G. Heddle 教授らの研究グループは、新たに開発した網かご状タンパク質について、最新鋭のクライオ電子顕微鏡^{注1)} を用いた単粒子解析^{注2)} により、その構造を明らかにしました。

TRAPと呼ばれる11量体のタンパク質に変異を入れ、金誘導体を加えたところ、非常に特異な、閉じた網かご状の正多面体（ケージ）の形成に成功しました。このケージは、加熱や変性剤にも強い反面、還元剤を加えるとバラバラになります。このように丈夫で安定な上に、閉じたり開いたりできるケージは、これまでありませんでした。さらに、このケージには鏡像の関係にある2種類の会合様式が存在し、それらが1:1の割合で溶液中に作られることもわかりました。本化合物を使って、薬剤の輸送などの応用が期待されます。

本研究の成果は、2019年5月9日付 英国科学誌「Nature」でオンライン公開されました。

* 本研究は、日本医療研究開発機構（AMED）の創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業（PDIS）「創薬等支援のためのタンパク質立体構造解析総合技術基盤プラットフォームによる支援と高度化」（研究期間：2012～2016年度）及び創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業（BINDS）「創薬等ライフサイエンス研究のための相関構造解析プラットフォームによる支援と高度化（創薬等ライフサイエンス研究のための多階層構造生命科学解析技術の支援と高度化）」（研究期間：2017～2021年度）の支援によって実施されました。

研究の背景

タンパク質からなる、天然には存在しない閉じた網かご状の構造（ケージ）を人工的に作る試みは、これまで研究者の興味をかき立ててきました。しかし、ここには2つ問題がありました。一つは、閉じた集合体を作るための幾何学的要件を満たしたタンパク質がなかなか存在しないこと、もう一つは、ケージを作る多くのタンパク質が、複雑な化学結合のネットワークを形成するため、その構造を予測したり、シミュレーションすることが困難なことです。そのため、ケージのデザイン自体が非常に難しくなります。

本研究グループは、これら2つの問題をクリアしたケージの開発に成功し、その構造を、最新のクライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析によって明らかにし、ケージがもつ類い希なる特性の仕組みを明らかにしました。

研究内容と成果

本研究グループは、金原子1個を「ホッチキス」として使うことで、タンパク質ケージ開発の問題を克服しました。リング状の11量体を形成するTRAPと呼ばれるタンパク質のブロックを、ホッチキスで留めることで直径22nmという非常に小さなケージを作製しました（図1）。このケージについて、クライオ電子顕微鏡単粒子解析を行ったところ、非常に特異な、11回対称をした形状の正多面体を形成していました。しかも、解析を進めていくと、ケージ構造が鏡像対称の関係にある、2種類の会合様式があることが判明し、双方の構造解析にも成功しました（図2）。さらに、このケージは、「閉じたり、開いたりの操作が可能」という特徴的な性質を持っていることが明らかとなりました。すなわち、いったんケージができれば、95°Cで3時間加熱しても壊れず、通常のタンパク質では変成してしまう7Mの尿素条件にも耐える類い希な安定性も有する一方で、還元剤を加えるとバラバラになってしまいます。このような、タンパク質でできたナノ粒子の開発は、世界で初めてです。

今後の展開

このようなケージは、薬剤の輸送など、ナノサイズのオープン・クローズが必要なカプセル開発の基盤となる技術です。正多面体を形成しないと考えられていた形状のタンパク質を使って、ケージ作製に成功したということは、これまで検討されなかったタンパク質もケージを構成できる可能性があり、さらに薬剤輸送などに適したケージの開発が期待されます。

参考図

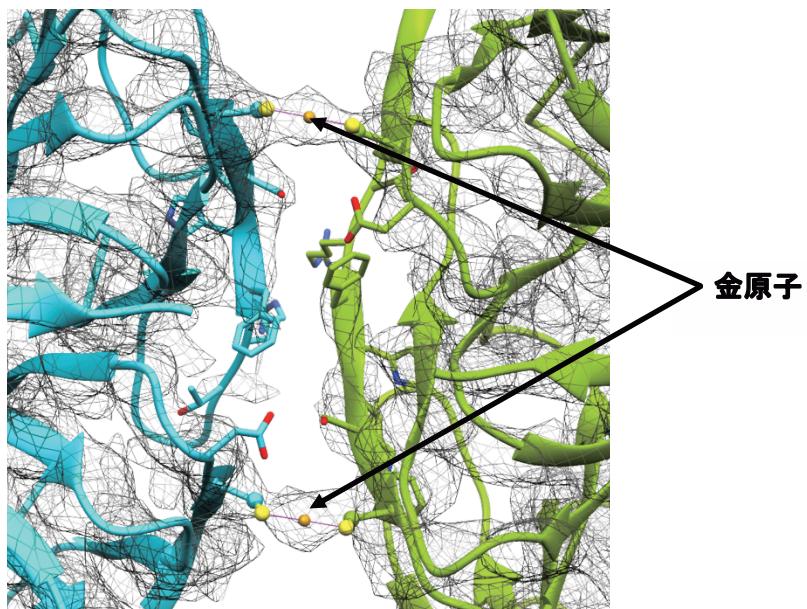


図1 金原子によるホッチキス
青と黄緑は隣接するTRAP11量体リングの一部

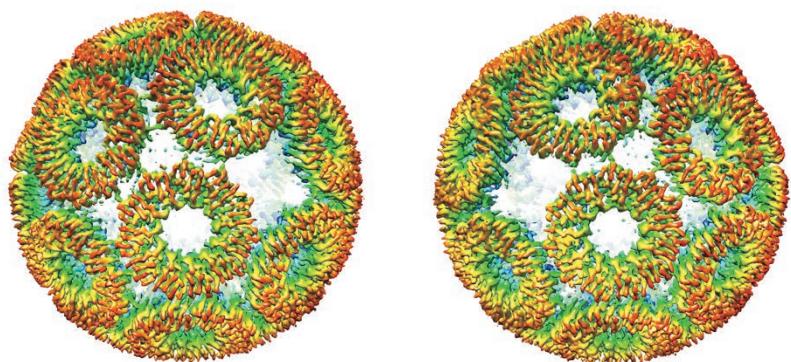


図2 鏡像対称のケージ
同一試料溶液中にほぼ1:1の割合で形成される。

用語解説

注1) クライオ電子顕微鏡

ガラス状の氷に固定した試料を冷却したまま透過型電子顕微鏡で撮影する技法。

注2) 単粒子解析

精製した生体分子を透過型電子顕微鏡で撮影し、その画像（投影像）から元の分子構造を再構築する技法。数千から100万枚を超える多数の分子投影像を扱う。

掲載論文

【題名】 An ultra-stable gold-coordinated protein cage displaying reversible assembly
(可逆的に集合可能な金でつなぎとめられた超安定タンパク質ケージ)

【著者名】 Ali D. Malay, Naoyuki Miyazaki, Artur Biela, Soumyananda Chakraborti, Karolina Majsterkiewicz, Izabela Stupka, Craig S. Kaplan, Agnieszka Kowalczyk, Bernard M. A. G. Piette, Georg K. A. Hochberg, Di Wu, Tomasz P. Wrobel, Adam Fineberg, Manish S. Kushwah, Mitja Kelemen, Primož Vavpetič, Primož Pelicon, Philipp Kukura, Justin L. P. Benesch, Kenji Iwasaki & Jonathan G. Heddle

【掲載誌】 Nature (DOI: 10.1038/s41586-019-1185-4)

問合わせ先

岩崎 憲治 (いわさき けんじ)
筑波大学 生存ダイナミクス研究センター (TARA) 教授

(AMED 事業について)

日本医療研究開発機構 (AMED) 創薬戦略部 医薬品研究課
E-mail: 20-DDLSG-16@amed.go.jp
Tel: 03-6870-2219

2019年5月17日

報道関係者各位

国立大学法人 筑波大学

生殖細胞が作られる過程では、体を作る細胞の生成が抑制される ～次世代の生命を生み出すしくみ～

研究成果のポイント

1. 卵や精子などの生殖細胞が作られる過程で、*nanos*（ナノス）と呼ばれる遺伝子が、体を作るために働く遺伝子（体細胞性遺伝子）を抑制する機構を初めて明らかにしました。
2. *nanos* に加えて、*pgc* と呼ばれる遺伝子も体細胞性遺伝子を抑制しており、生殖細胞形成過程で体細胞性遺伝子が発現しないように、*nanos* と *pgc* が強固に二重のロックをかけていることを発見しました。
3. *nanos* は、多くの動物の生殖細胞形成過程で働くことが知られており、これが体細胞性遺伝子の抑制に関わることがショウジョウバエで明らかになったことから、他の動物でも同様の機構が機能するか、すなわち、生殖細胞を生み出す共通原理を知る第一歩となると期待されます。

国立大学法人筑波大学 生存ダイナミクス研究研究センター（TARA）浅岡美穂研究員および小林悟教授は、熊本大学 羽生-中村賀津子研究員、中村輝教授と共同で、生殖細胞の形成過程において体細胞性遺伝子が*nanos*遺伝子により抑制される機構を明らかにしました。

「生殖細胞」は、生物個体の体を作る「体細胞」と呼ばれる細胞とは異なり、次世代を生み出すことができる唯一の細胞です。生殖細胞から次世代の個体ができる過程で、再び生殖細胞が作られ、さらに次世代が生み出される。この過程が連続と繰り返されることにより、生物種の存続が初めて可能になります。すなわち、体細胞が個体の死と共に消滅するのに対して、生殖細胞には次世代を生みだす特殊な能力が備わっているのです。この違いを生み出す機構に関して、生殖細胞が作られる過程で、体を作るために働く遺伝子（体細胞性遺伝子）の機能が抑制されていることが多くの動物で知られていました。また、生殖細胞形成過程において*nanos*と呼ばれる遺伝子が発現することも報告されてきました。さらにショウジョウバエでは、*nanos*の機能が喪失すると、生殖細胞が、その形成途中で体細胞になってしまふことも明らかとなっていました。

本研究では、生殖細胞形成過程において、*nanos*とともに*Pgc*と呼ばれる遺伝子が共同して、体細胞性遺伝子を抑制する、つまり、生殖細胞の形成過程で体細胞性遺伝子が発現しないように、強固に二重のロックをかけていることが明らかとなりました。*nanos*遺伝子は動物種間で保存されていることから、この発見は、多くの動物の生殖細胞形成に共通する体細胞性遺伝子の抑制機構の存在を示唆しており、生殖細胞形成の共通原理を導く第一歩になると期待されます。

本研究の成果は、2019年5月15日付「PLOS Genetics」で公開されました。

* 本研究は、科学研究費補助金 新学術領域研究 「配偶子產生制御」（研究期間：平成25～29年度）および「配偶子インテグリティの構築」（研究期間：平成30～24年度）によって実施されました。

研究の背景

卵や精子である生殖細胞は、生き物が生存する上で活躍することはありません。もしも体のパーツがなくなったらとても不便ですが、生殖細胞がなくても支障なく生きることができます。体を作る細胞は「体細胞」と呼ばれており、個体の最期とともに死を迎えます。一方、生殖細胞は次の世代を生み出すことができます。生殖細胞から次世代の個体が出来る過程で、再び生殖細胞が作られ、さらに次世代が生み出される。この過程が連綿と繰り返されることにより、生き物は絶えることなく世代交代を続けてきました。すなわち、体を作る体細胞とは異なり、生殖細胞には次世代を生み出せる特殊な能力が備わっているのです。この違いを生み出す機構はどのようなものでしょうか？多くの動物において、生殖細胞が作られる過程で、体を作るために働く遺伝子（体細胞性遺伝子）の発現が抑制されていることが知られていました。また、ショウジョウバエの生殖細胞の形成にnanosと呼ばれる遺伝子が関わる事を報告した本研究グループの論文を皮切りに（参考文献1）、多くの動物の生殖細胞形成過程においてnanosが発現することも報告されてきました。さらに、nanosの機能が失われると、生殖細胞はその形成途中で体細胞になってしまう事も明らかにしています（参考文献2）。これらのことから、本研究グループは、nanosが体細胞性遺伝子の抑制に関わるのでは、という考えに至りました。

研究内容と成果

本研究では、以下の諸点を明らかにしました。

- ① 細胞は、遺伝子が含まれる「核」とそれを取り巻く「細胞質」で構成されています。本研究グループは、nanosが、フシタラズ(ftz)と呼ばれる体細胞性遺伝子の転写(mRNAの合成)に必要なタンパク質(転写因子)を細胞質から核へ移送する働きを抑制することを発見しました。nanos遺伝子から作られるNanosタンパク質が、この転写因子の核への移送に関わるインポーティン(Importin- α 2)タンパク質の合成を妨げていたことがわかりました。
- ② nanosの機能を失わせると、生殖細胞の形成過程で体細胞性遺伝子ftzが発現すると予想されます。しかし実際には、nanosの機能を失わせただけでは、体細胞性遺伝子ftzは完全に発現はしませんでした。そこで注目したのは、生殖細胞形成過程において、遺伝子の転写に関わるRNAポリメラーゼIIの活性を低く抑える働きを持つPgcと呼ばれるタンパク質です（参考文献3）。このタンパク質の働きを失わせても、体細胞性遺伝子ftzは発現しませんが、同時にnanosの機能も失わせると、体細胞性遺伝子ftzが生殖細胞形成過程で発現することを見出しました。

以上のことから、生殖細胞形成過程における体細胞性遺伝子の抑制にnanosが関わること、さらに、そこにはnanosだけでなくPgcも関わっており、体細胞性遺伝子が発現しないよう、二重のロックがかけられていることが明らかになりました（図）。

今後の展開

生殖細胞形成過程における体細胞性遺伝子の抑制に、動物種間で保存されているnanos遺伝子が関わることが、ショウジョウバエで発見されたことは、他の動物における生殖細胞形成に共通する、体細胞性遺伝子抑制機構の存在を示唆します。今後、他の動物についてもnanosの働きを明らかにすることにより、生殖細胞形成の共通原理があぶり出されるものと期待されます。

参考図

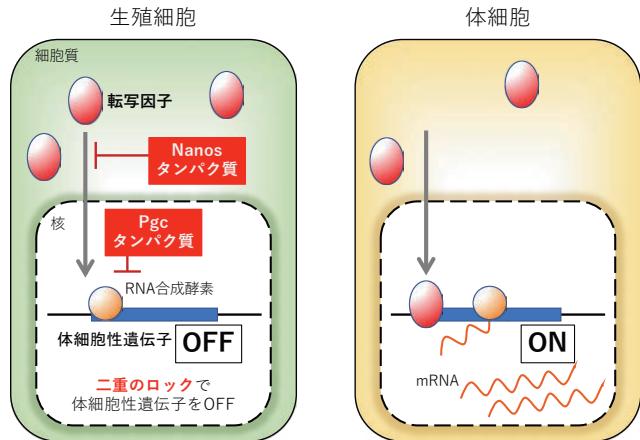


図 生殖細胞における Nanos および Pgc の役割

Nanos は、体細胞性遺伝子（青丸）の転写に必要な転写因子（赤丸）の細胞質から核への移送を抑制し、Pgc は、RNA 合成酵素（オレンジ丸）の働きを抑制する。このような二重のロックにより体細胞性遺伝子の発現が強固に抑制される。一方、体細胞では、Nanos および Pgc による抑制がないため、転写因子が体細胞性遺伝子上流に結合し、RNA 合成酵素が mRNA（赤波線）を転写する（体細胞性遺伝子の活性化）。

参考文献

1. S. Kobayashi, M. Yamada, M. Asaoka and T. Kitamura (1996) Essential role of the posterior morphogen nanos for germline Development in *Drosophila*. *Nature*, 380, 708-711.
2. Y. Hayashi, M. Hayashi and S. Kobayashi (2004) Nanos suppresses somatic cell fate in *Drosophila* germline. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 101, 10338-10342.
3. K. Hanyu-Nakamura, H. Sonobe-Nojima, A. Tanigawa, P. Lasko and A. Nakamura (2008) *Drosophila* Pgc protein inhibits P-TEFb recruitment to chromatin in primordial germ cells. *Nature*, 451, 730-733.

掲載論文

【題名】 Maternal Nanos inhibits Importin- α 2/Pendulin-dependent nuclear import to prevent somatic gene expression in the *Drosophila* germline
(ショウジョウバエ生殖系列において、母性ナノス・タンパク質は、インポーティン α 2に依存した核移行を抑制することで体細胞性遺伝子の発現を抑制している)

【著者名】 Miho Asaoka, Kazuko Hanyu-Nakamura, Akira Nakamura and Satoru Kobayashi

【掲載誌】 PLoS Genetics (DOI: 10.1371/journal.pgen.1008090)

問合わせ先

小林 悟 (こばやし さとる)

筑波大学 生存ダイナミクス研究センター 教授

2019年5月30日

報道関係者各位

国立大学法人 筑波大学

細胞が自らアレルギーの発症を抑える仕組みを発見

研究成果のポイント

- 死細胞に特徴的なフォスファチジルセリンの細胞膜上の発現が、生きた肥満細胞でも見られるという常識を破る現象を発見しました。
- 生きた肥満細胞膜上に発現するフォスファチジルセリンは、肥満細胞自身の活性化を抑制し、アレルギー症状を早く軽快させることを見出しました。
- 新しい発想の革新的なアレルギー治療法の開発が期待されます。

国立大学法人筑波大学生存ダイナミクス研究センター（TARA） 渋谷 彰教授、医学医療系 小田 ちぐさ助教らの研究グループは、アレルギー発症の原因となる肥満細胞の活性化を肥満細胞が自ら抑制し、アレルギーを抑える仕組みがあることを世界で初めて発見しました。

アレルギー反応は、アレルギーの原因となる抗原と IgE と呼ばれる抗体が体内で結合し、これらが全身に分布するマスト細胞上の IgE 受容体に結合することによって引き起こされます。肥満細胞上の IgE 受容体に抗原と IgE 抗体が結合すると、肥満細胞が活性化し、ヒスタミンを代表とする種々の化学物質が肥満細胞から放出され、アレルギー症状が出現します。これは、どのアレルギー疾患の発症にも共通の基本的なメカニズムです。これまでアレルギーに対しては、ヒスタミンの働きを抑える薬剤を中心とする治療がなされてきましたが、対症療法の域を出ないため効果も限定されていました。

本研究では、はじめに、死細胞に特徴的なフォスファチジルセリンというリン脂質の細胞膜上への出現が、アレルギー発症の原因となる生きている肥満細胞でも見られるという、これまでの常識を覆す現象を発見しました。また、フォスファチジルセリンが、肥満細胞の細胞膜上有CD300aというタンパク分子と結合し、肥満細胞からのアレルギーを誘導する化学物質の放出を抑えることを見出しました。さらに、重篤な全身性アレルギーの一種であるアナフィラキシーを、フォスファチジルセリンと結合したCD300aが抑制することがわかりました。

これらの結果から、CD300aの働きを増強する薬剤の開発が、これらのアレルギー疾患の革新的な治療につながると期待されます。

本研究成果は、2019年5月30日付米国科学誌「*Journal of Allergy and Clinical Immunology*」のオンライン速報版で公開されます。

研究の背景

花粉症、喘息、アトピー性皮膚炎、食物アレルギーなどをはじめとするアレルギー性疾患は、近年、日本のみならず世界的にも増加の一途を辿っており、世界中のおよそ25%以上の人々が何らかのアレルギー性疾患に罹患しているとされています。これらの患者は、慢性的なアレルギー症状に悩まされるばかりでなく、生命の危機にさえさらされることも稀ではありません。また花粉症をひとつとっても、これによる医療費や労働効率の低下による経済的損失は、本邦では年間3,000億円にも昇ると試算されています。

アレルギー反応は、アレルギーの原因となる抗原とIgEと呼ばれる抗体が体内で結合し、これが全身に分布する肥満細胞上のIgE受容体に結合することによって引き起こされます。肥満細胞上のIgE受容体に抗原とIgE抗体が結合すると、肥満細胞が活性化し、炎症反応を誘導するヒスタミンを代表とする種々の化学物質が肥満細胞から放出され、アレルギー症状が出現します。これは、どのアレルギー疾患にも共通するアレルギー発症の基本的なメカニズムです。これまでアレルギーに対しては、ヒスタミンの働きを抑える薬剤を中心として治療がなされてきましたが、対症療法の域を出ないため効果も限定され、より根本的な治療法の開発が望まれていました。

研究内容と成果

リン脂質であるフォスファチジルセリン(PS)は、細胞膜の内側に局在する細胞膜構成成分で、いったん細胞が死ぬと細胞膜外側に表出してくることが知られており、死細胞の特異的なマーカーとして考えられてきました(図1)。しかし今回、アレルギー抗原と結合し活性化した肥満細胞では、活性化後10分程度経過すると、生きている状態でもフォスファチジルセリンが細胞膜外に現れてくるという、これまでの常識を覆す現象を初めて見出しました(図2)。

本研究グループは、以前に肥満細胞などの細胞膜上に発現する蛋白分子であるCD300aを世界に先駆けて発見しています(参考文献1)。さらにCD300aはPSと結合することを見出していました(参考文献2、3)。そこで、肥満細胞上のCD300aが、活性化した後に細胞膜外に出てくるPSと結合する可能性を検討するために、アレルギー抗原で活性化させた肥満細胞について、FRET(Fluorescence Resonance Energy Transfer、蛍光共鳴エネルギー移動)を用いて解析しました。その結果、肥満細胞において、CD300aとPSが結合することを示す証拠が得られました(図3)。

肥満細胞は、アレルギー抗原で活性化すると、アレルギーの直接の原因となるヒスタミンなどの化学物質を含む顆粒を放出します(図4)。この際、PSと結合したCD300aは、それらの化学物質の放出を減少させました(図5)。さらに、マウス生体内において、CD300aは肥満細胞膜上のPSと結合し、アナフィラキシーを軽快させました(図6)。

今後の展開

以上の結果から、アレルギーの原因細胞である肥満細胞は自らを制御し、アレルギーを抑える仕組みを持っていることを明らかにしました(図7)。今後、CD300aの働きを増強する薬剤を開発することで、これらのアレルギー疾患の革新的な治療につながると期待されます。

参考図

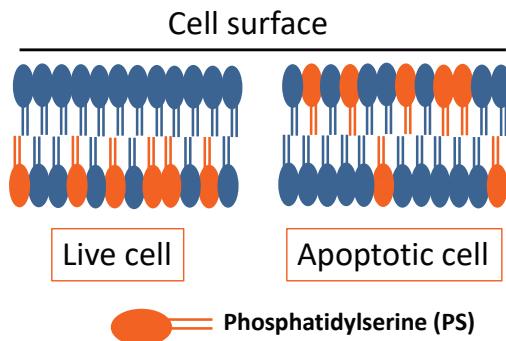


図1. フォスファチジルセリン(PS)は、細胞膜構成成分であるリン脂質である。生細胞(Live Cell)では、細胞膜の内側に局在するが、いったん細胞が死ぬと細胞膜外側に表出してくることが知られ、死細胞(Apoptotic cell)の特異的なマーカーとして考えられてきた。



図2. アレルギー抗原と結合し活性化した肥満細胞では、活性化後10分(600s)程度経過すると、生きている状態でもフォスファチジルセリン(緑色に標識)が細胞膜外に現れてきた。

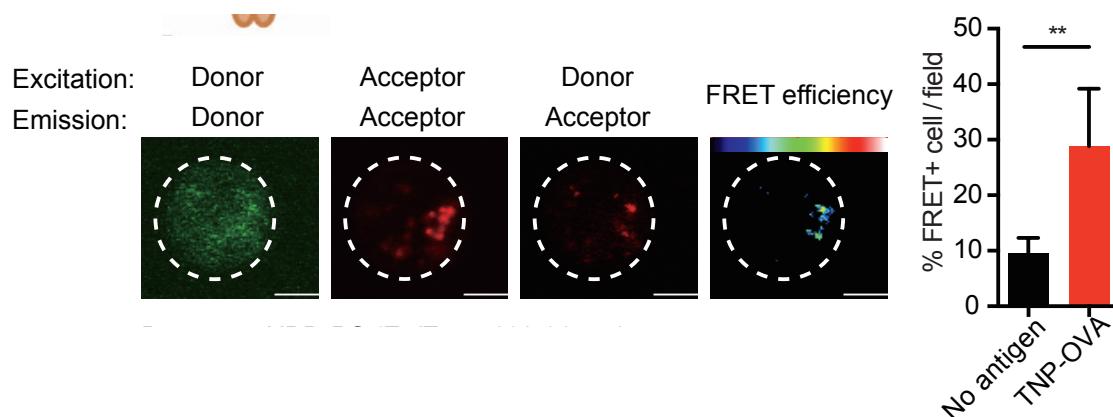


図3. 肥満細胞をアレルギー抗原で活性化させ、FRET を用いて解析した。その結果、CD300a(緑色標識)と PS(赤色標識)は結合すること（緑色と赤色が重なり、青色に変化）が示された（左）。肥満細胞のおよそ30%でこのような現象が見られた（右）。

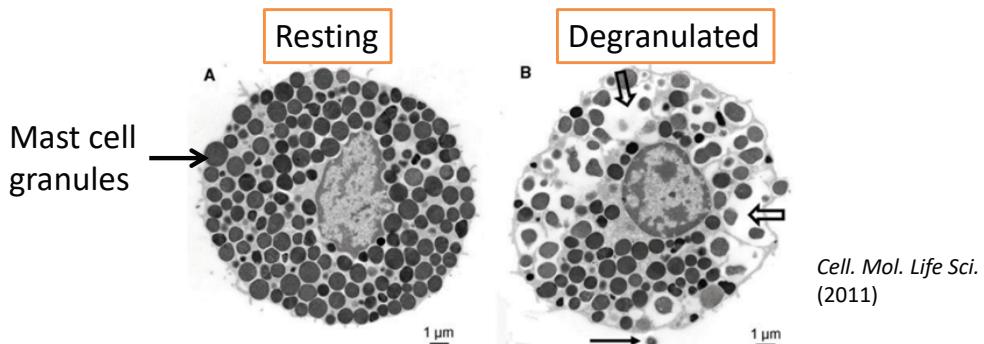


図4. 肥満細胞は細胞質内に多数の大きな顆粒（アレルギーの直接の原因となる化学物質が含まれている）が充満した細胞であることから、肥満細胞と呼ばれている（左）。アレルギーの原因となる抗原が結合すると、顆粒が放出され（右）、アレルギーが発症する。

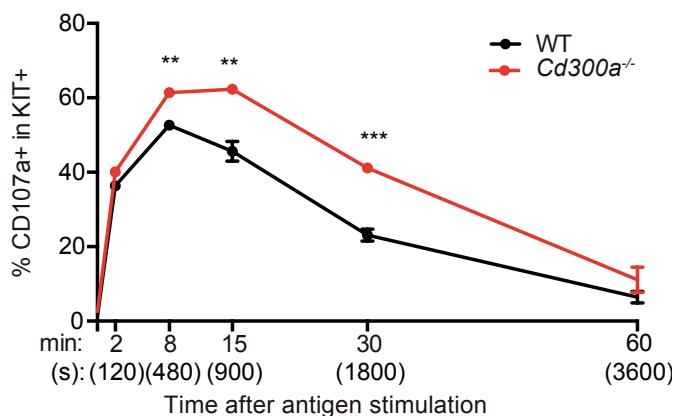


図5. 肥満細胞にアレルギーの原因となる抗原が結合すると、野生型の肥満細胞（黒線）から顆粒（CD107aで標識）が放出されはじめ8分程度でピークを示した（縦軸は顆粒を放出する肥満細胞の割合）。CD300aを欠損する肥満細胞（赤線）では、8分ごろからさらに多くの肥満細胞が顆粒を放出した。この結果は、PSと結合したCD300aは顆粒の放出を抑制したことを示す。

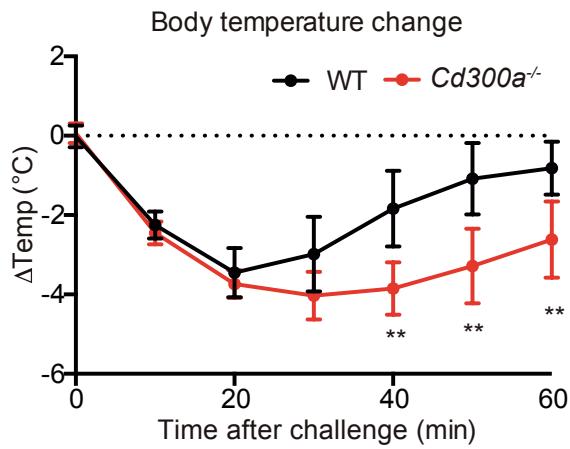


図 6. 重篤な全身性アレルギーであるアナフィラキシーが発症すると、野生型のマウス（黒線）では、体温（直腸温）が急激に低下し、発症後 20 分ごろにピークに達した。CD300a を欠損したマウス（赤線）では、体温低下の回復が著明に遅れた。この結果は、CD300a がアナフィラキシーの症状から早期に回復させていることを示す。

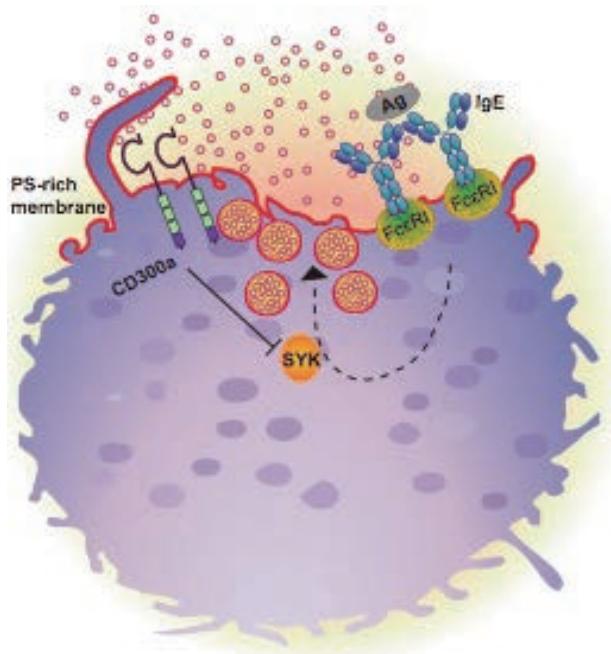


図 7. まとめ

肥満細胞がアレルギー抗原(Ag)と結合すると活性化し顆粒を放出する。この際、細胞表面に PS が出現し CD300a と結合する。PS と結合した CD300a は顆粒を放出させる細胞内シグナル (SYK) に働き、これを抑制することで、顆粒の放出を抑え、アレルギー症状を軽快させる。これは肥満細胞が自律的に顆粒の放出を抑制し、アレルギー症状を終結させる仕組みと言える。

参考文献

1. Yotsumoto, K. Okoshi, Y. Shibuya, K. Yamazaki, S. Tahara-Hanaoka, S. Honda, S. Osawa, M. Kuroiwa, A. Matsuda, Y. Tenen, D. G. Iwama, A. Nakauchi, H. Shibuya, A. Paired activating and inhibitory immunoglobulin-like receptors, MAIR-I and MAIR-II, regulate mast cell and macrophage activation. *J Exp Med*, 198(2):223-233, 2003
2. Nakahashi-Oda C, Tahara-Hanaoka S, Shoji M, Okoshi Y, Nakano-Yokomizo T, Ohkohchi N, Yasui T, Kikutani H, Honda S, Shibuya K, Nagata S, Shibuya A. Apoptotic cells suppress mast cell inflammatory responses via the CD300a immunoreceptor. *J Exp Med*, 209(8):1493-1503, 2012
3. Nakahashi-Oda C, Udayanga KGS, Nakamura Y, Nakazawa Y, Miki H, Iino S, Tahara-Hanaoka S, Shibuya K, Shibuya A. Apoptotic epithelial cells control the abundance of Treg cells at barrier surfaces. *Nature Immunol*, 17(4):441-450, 2016

掲載論文

【題名】 Autonomous regulation of immunoglobulin E-mediated mast cell degranulation and immediate hypersensitivity reaction by an inhibitory receptor CD300a
(CD300a による IgE 誘導性マスト細胞脱顆粒と即時型アレルギーの自己調節機構)

【著者名】 Wang Y, Nakahashi-Oda C, Okayama Y, Shibuya A.

【掲載誌】 *Journal of Allergy and Clinical Immunology*

問合わせ先

渋谷 彰 (シブヤ アキラ)

筑波大学 生存ダイナミクス研究センター (TARA) 教授

2019年8月29日

報道関係者各位

国立大学法人 筑波大学

多数の細胞の性質を非破壊で同時に分析する手法を開発

研究成果のポイント

1. 全ての細胞には先天的な蛍光(自家蛍光^{注1)})があります。本研究では、多数の細胞の自家蛍光を同時に解析するテクノロジー CRIF (confocal reflection microscopy-assisted single-cell innate fluorescence analysis、共焦点顕微鏡による一細胞内在性蛍光分析法)を開発しました。
2. 自家蛍光の情報からAI(機械学習モデル)で一細胞の性質や種類が予測できることが分かりました。また従来の手法では一度に少数のデータしか得られませんでしたが、CRIFでは「自家蛍光ビッグデータ」が得られます。
3. 本技術は、細胞にダメージを与えずにその性質を分析できることから、細胞の品質管理技術などに応用されることが期待されます。

国立大学法人筑波大学 生命環境系 ハ幡穰助教、野村暢彦教授らの研究グループは、多数の細胞の自家蛍光を同時に解析するテクノロジー CRIF (Confocal reflection microscopy-assisted single-cell innate fluorescence analysis、共焦点顕微鏡による一細胞内在性蛍光分析法)を開発しました。

ほぼ全ての細胞は自家蛍光を持っており、後天的な蛍光標識を施さなくても、励起光を当てることで蛍光を放ちます。こうした自家蛍光は、それぞれの細胞内の多様なコンポーネントや代謝産物が放つ特徴的な特性をもった蛍光の集合体であり、その特徴(自家蛍光シグネチャー)は、細胞の種類や生理状態を敏感に反映します。そのため、細胞の自家蛍光シグネチャー解析は、細胞の分析を非破壊、非侵襲、無処理で行える手段として広い分野で注目を集めつつあります。

しかしながら、これまでの自家蛍光シグネチャー解析は、細菌コロニーや培養液などの蛍光を、蛍光分光器などで測定する形で行われており、多数の細胞からなる細胞集団の平均値のみに着目していたことから、一度に少数のデータしか得ることができませんでした。

本研究では、形態と位置情報を認識する共焦点反射顕微鏡技術 COCRM (Continuous-optimizing confocal reflection microscopy)と、超高感度蛍光スペクトル共焦点顕微鏡技術、画像処理技術を組み合わせることで、多数の細胞の自家蛍光を同時に解析し、「自家蛍光ビッグデータ」を生成する事が可能になりました。さらに、その情報からAI(機械学習モデル)を利用して、個々の細胞の性質や種類が予測できることが分かりました。

本技術は、細胞にダメージを与えずにその性質を分析できることから、細胞の品質管理技術などに応用されることが期待されます。

本研究の成果は2019年8月29日付「Applied and Environmental Microbiology」誌で公開される予定です。また、成果の一部について、特許「データ作成方法及びデータの使用方法」(JPWO2018117273A1)を取得済みです。

* 本研究は、卓越研究員事業(八幡)、科研費新学術領域研究(八幡)、科学技術振興機構 戰略的創造研究推進事業 ERATO(野村)の助成によって実施されました。

研究の背景

微生物(細菌、カビ、酵母など)の細胞には、様々な種類や生理状態のものがあります。こうした細胞の性質を見分けたり分析したりする技術は、微生物の有効利用や制御、あるいは生態の解明を行う上で非常に重要です。細胞の分析技術は、たとえば、有用な物質を生産する能力が高い細胞を選抜したり、発酵に用いられる細胞の健康状態を診断したりするなどの場面で必須となってきます。これまで、こうした細胞の分析は、主に培養によって増殖された多数の細胞を破碎し、その内容物(DNA や代謝産物など)を分析することで行われてきました。一方で、微生物の細胞は非常に小さいことから、細胞ごとにその性質を分析したり、細胞が生きたままその性質を分析することは難しくとされてきました。

細胞の性質の一つに「自家蛍光」があります。自家蛍光とは、ほぼ全ての細胞が生まれつき持っている発光性(蛍光)で、それぞれの細胞内の多様なコンポーネントや代謝産物が放つ、特徴的な特性をもった蛍光の集合体であり、そのため細胞自家蛍光の特徴(自家蛍光シグネチャー)は、細胞の種類や生理状態を敏感に反映します。こうした特徴から、細胞の自家蛍光シグネチャー解析は、細胞の分析を非破壊、非侵襲、無処理で行える手段として広い分野で注目を集めつつあります。

しかしながら、これまでの自家蛍光シグネチャー解析は、細菌コロニーや培養液などの蛍光を蛍光分光器などで測定する形で行われており、多数の細胞からなる細胞集団の平均値のみに着目していたことから、一度に少数のデータしか得ることができませんでした。

研究内容と成果

本研究グループは、一細胞が持つ自家蛍光に着目し、生きたまま、その種類や生理状態を予測することができる技術 CRIF (Confocal reflection microscopy-assisted single-cell innate fluorescence analysis、共焦点顕微鏡による一細胞内在性蛍光分析法)を開発しました。

CRIF は、形態と位置情報を認識する共焦点反射顕微鏡技術と、超高感度蛍光スペクトル共焦点顕微鏡技術、画像処理技術を組み合わせることで、多数の細胞の自家蛍光を同時に解析し、「自家蛍光ビッグデータ」を生成することを可能にするものです(図1)。複数の波長(色)のレーザーによる励起と、放出される蛍光の波長特性(スペクトル)の分析を組み合わせ、細胞が放出する様々な種類の自家蛍光を網羅的に取得します。細胞集団を顕微鏡で立体スキャンすることで、どのような自家蛍光シグネチャーを持った細胞が、3 次元空間のどの座標に存在するかをデータベース化することができます(図2)。

本研究ではさらに、自家蛍光の情報から AI(機械学習モデル)を利用して、細胞の性質や種類が予測できることが分かりました(図3)。これにより、細胞の種の分類や、生理状態(増殖段階)の識別が、95%以上の高い精度で予測可能なことが示されました。

今後の展開

本技術は、1)細胞が生きたまま分析できる、2)一細胞ごとに分析できるので細胞を大量培養する必要が無い、といった特徴があります。この特徴を生かして、有用な物質を生産する能力が高い細胞を素早く選抜したり、発酵に用いられる細胞の健康状態を生きたまま診断したりする新しい技術に発展することが期待されます。

参考図

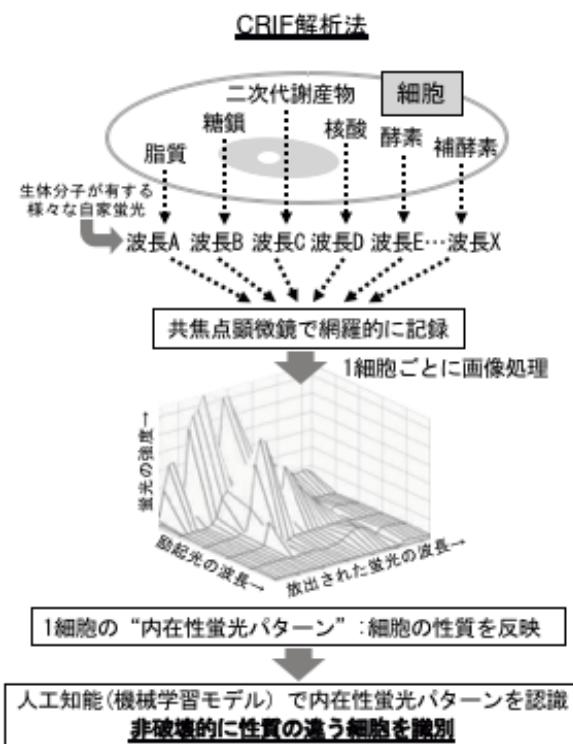


図1 CRIF 法の概念図。個々の細胞から自家蛍光を網羅的に取得し、細胞の性質を分析するフローを示す。

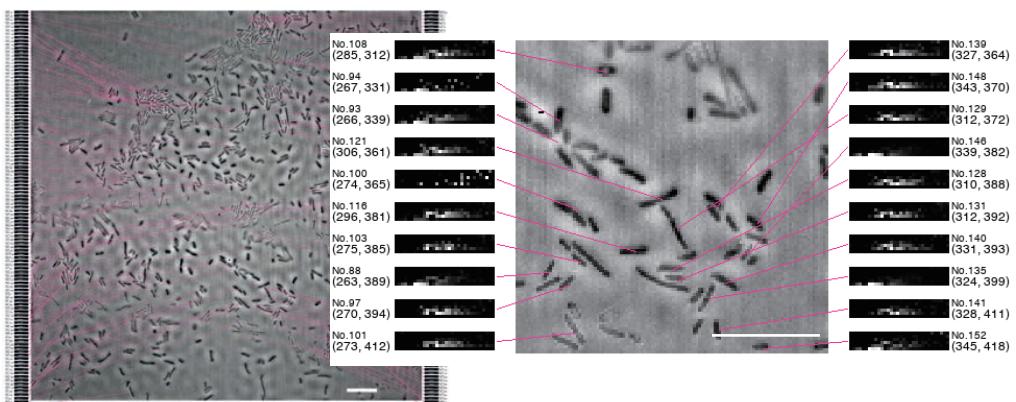


図2 CRIF で得られたデータ(細胞の位置・形態情報とリンクした自家蛍光ハイパースペクトル情報)を可視化した例。図左：細菌集団の個々の細胞（黒い部分）に紐付けられた自家蛍光ハイパースペクトルを表示した画像。図右：左パネルの部分拡大図。個々の細胞に番号が振られ、各細胞の座標情報と自家蛍光ハイパースペクトル情報(二次元バーコード状のもの)が紐付けられている様子を示す。自家蛍光ハイパースペクトルは、縦軸に励起波長、横軸に放出波長、グレイスケールが相対強度を示している。

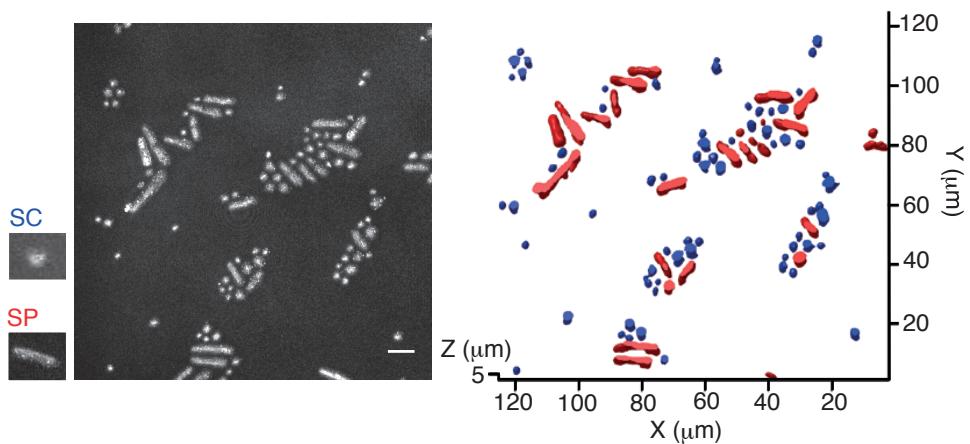


図3 CRIF の応用例(自家蛍光に基づいた Tag-less 細胞種アノテーション)。図左:形態の異なる二種類の酵母の共焦点反射顕微鏡画像。図右:取得した自家蛍光シグネチャーに基づく細胞種の予測。赤と青の色分けが予測の結果。形態の違いと色分けの結果がほぼ一致している。

用語解説

注1) 自家蛍光

後天的な蛍光(例:細胞に対する蛍光タンパク導入、蛍光染色)に対比して、細胞や物質が先天的にもっている蛍光を自家蛍光と呼ぶ。

掲載論文

【題名】 Intra and inter species variability of single-cell innate fluorescence signature of microbial cell
(一細胞自家蛍光の不均一性)

【著者名】 Yawata Y. , T. Kiyokawa , Y. Kawamura , T. Hirayama , K. Takabe , N. Nomura.

【掲載誌】 Applied and Environmental Microbiology, Volume 85, Issue 18 (DOI: 10.1128/AEM.00608-19)

問合わせ先

八幡 穂(やわた ゆたか)

筑波大学 生命環境系 助教

野村 暢彦(のむら のぶひこ)

筑波大学 生命環境系 教授

2019年10月24日

報道関係者各位

国立大学法人 筑波大学

受容体間の機能的相互作用による血管収縮機構を解明

研究成果のポイント

1. ホルモン受容体 APJ による血管収縮には、 $\alpha 1A$ アドレナリン受容体との機能的な協調作用が重要であることが明らかとなりました。
2. 血管平滑筋で APJ を過剰発現するマウス(SMA-APJマウス)の解析から、APJ は $\alpha 1A$ アドレナリン受容体との同時刺激で、血管平滑筋の強い収縮を誘導させることを発見しました。
3. 本研究で開発した SMA-APJ マウスは、高血圧や血管攣縮の発症メカニズムを理解するための、有用なツールとなることが期待されます。

国立大学法人筑波大学 生存ダイナミクス研究センター(TARA)の深水昭吉教授らの研究グループは、ホルモン受容体APJ^{注1)}による血管収縮には $\alpha 1A$ アドレナリン受容体^{注2)}との機能的な協調作用が重要であることを明らかにしました。

ホルモン受容体APJは、血管組織で内皮細胞と平滑筋細胞の両者に発現し、内皮細胞のAPJは血管を拡張し血圧を下げる事が知られています^{参考文献1)}。一方、APJは血管を収縮させる作用も示唆されています^{参考文献2, 3)}、その詳細な機構は不明でした。

本研究グループは、血管平滑筋細胞にてAPJ遺伝子を過剰発現するマウス(SMA-APJマウス)を作製し、その機能を解析したところ、本マウスはAPJリガンドであるアペリン^{注1)}の刺激によって血圧が上昇すること、体内で血管を収縮させること、APJと $\alpha 1A$ アドレナリン受容体の同時刺激で単離血管を強力に収縮することを見出しました。また、APJと $\alpha 1A$ アドレナリン受容体がヘテロダイマー(二量体)を形成することを突き止め、これまで知られていなかった、APJと $\alpha 1A$ アドレナリン受容体による血管平滑筋の収縮機構を発見しました。

著しい血管平滑筋の収縮は、血管の狭窄を引き起こし、虚血性心疾患や脳梗塞などのリスクを高めます。従って、本研究で開発したSMA-APJマウスは、正常な血管収縮性制御や血管狭窄の発症メカニズムを探るための有用なツールになると期待されます。

本研究の成果は、2019年9月3日付「The Journal of Biochemistry」でオンライン先行公開され、同誌2019年11月号の表紙に選ばれました。

*本研究は、公益財団法人高輝度光科学研究センター(JASRI:課題番号 2012A1631、SPRING-8 ピームライン BL28B2、実験責任者 深水昭吉)、国立循環器病センター研究所、千葉大学大学院医学研究院、横浜市立大学医学研究科、聖マリアンナ医科大学腎臓高血圧内科、東京高輪病院との共同研究、そして、豪州モナシュ大学(Biomedicine Discovery Institute and Department of Physiology)との国際共同研究により実施されました。また、日本学術振興会の科学研究費補助金(科研費):基盤研究(A)「アルギニンメチル化酵素と栄養補給路の機能的ネットワークの解明」(25252062:深水昭吉)、基盤研究(C)「受容体間相互作用を介した血管平滑筋APJ受容体による血管狭窄メカニズムの解明」(26430086:石田純治)によって実施されました。

研究の背景

血圧の維持には、血管平滑筋細胞と血管内皮細胞による血管の収縮と弛緩の調節が重要です。本研究グループは、血管組織の平滑筋細胞と内皮細胞の両者に発現するホルモン受容体APJについて、APJが一酸化窒素の産生を介して血管を弛緩することを明らかにしてきました。一方で、APJは血管を収縮させることが示唆されていますが、その作用の詳細については、明らかになっていませんでした。

研究内容と成果

本研究では、血管平滑筋細胞にてAPJ遺伝子を過剰発現するマウス(SMA-APJマウス)を作製し、血管の収縮機能の解析を行いました。その結果、APJリガンドのアペリン(ペプチド)の刺激によってSMA-APJマウスの血圧が上昇すること、また、SPRING-8での*in vivo*(生体内)血管イメージング解析から、アペリン刺激がSMA-APJの血管を収縮させることを明らかにしました。さらに、SMA-APJマウスからの単離血管を用いた解析により、APJは α 1Aアドレナリン受容体との同時刺激で、血管を強力に収縮すること(図1)、および、APJと α 1Aアドレナリン受容体がヘテロダイマーを形成することを突き止め、これまで知られていなかったAPJと α 1Aアドレナリン受容体による血管平滑筋の収縮機構を明らかにしました。以上の結果は、ホルモン受容体APJによる血管収縮には、 α 1Aアドレナリン受容体との機能的な協調作用が重要であることを示しています(図2)。

今後の展開

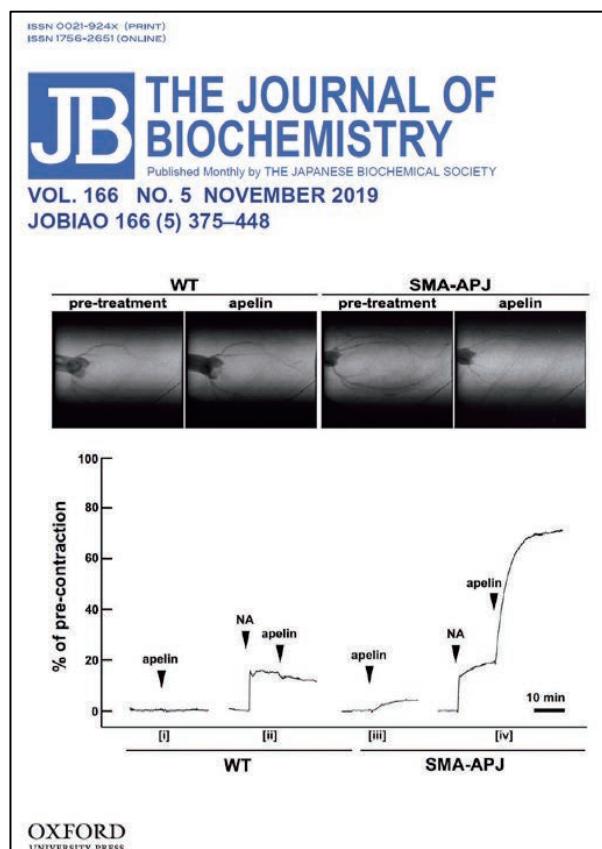
血管平滑筋の著しい収縮は、血管の狭窄の原因となり、虚血性心疾患や脳梗塞など、心血管疾患のリスクを高めますが、血管収縮の詳細な制御機構の解明は途上です。本研究で開発したSMA-APJマウスは、正常な血管の収縮の制御の仕組みや、血管狭窄の発症メカニズムを探るための有用なモデル動物になると期待されます。

参考図

図1: The Journal of Biochemistry 掲載号表紙

【表紙: 上パネル】 高輝度光科学的研究センター SPring-8施設を用いた *in vivo*血管造影:SMA-APJマウスへのAPJ受容体リガンド(apelin)の投与で、心臓冠動脈血管が収縮し、一部の走行血管が消失しました。

【表紙: 下パネル】 リガンド刺激による単離血管の収縮解析: 野生型マウス(WT)の血管では、apelin刺激で血管が弛緩したのに対し(i および ii)、SMA-APJマウスの血管では、apelinで収縮を認め(iii)、ノルアドレナリン(NA)とapelinとの同時刺激で、より強い血管の収縮が観察されました(iv)。



今回の研究成果

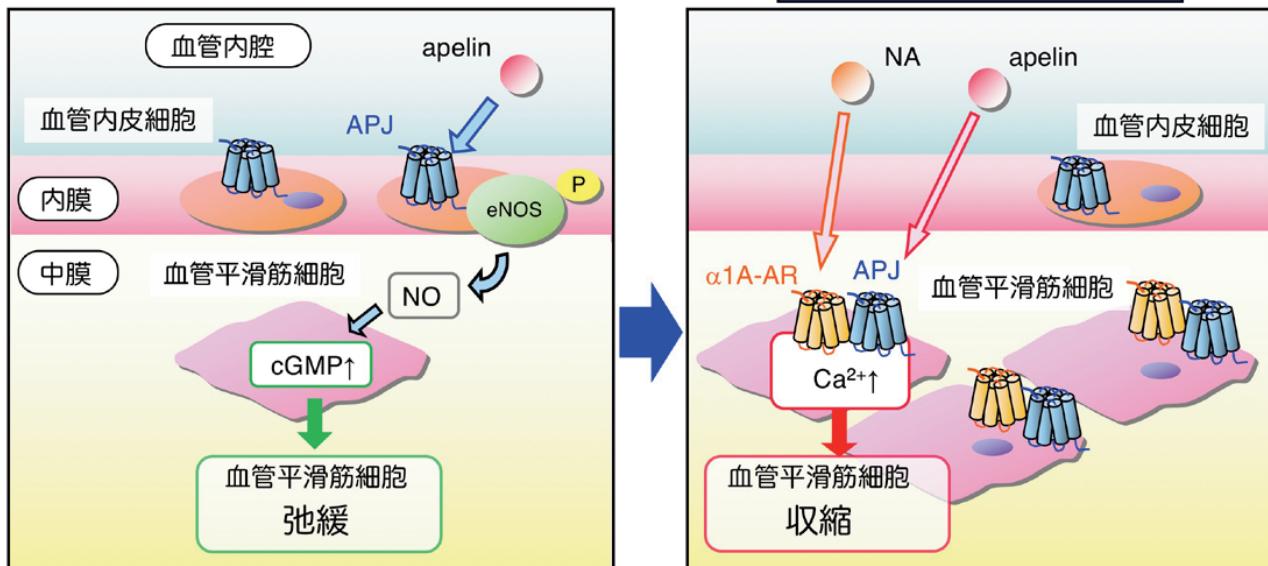


図2: 血管組織での APJ を介した血管収縮の調節

血管の内膜には内皮細胞が、中膜には平滑筋細胞が存在します。血管内皮細胞の APJ は、リガンドである apelin 刺激で一酸化窒素合成酵素(eNOS)によって NO が産生され、cGMP を介して血管を弛緩させることができます(上図:左)。今回の研究から、血管平滑筋細胞の APJ が、 α 1A-アドレナリン受容体(α 1A-AR)と相互作用することで、協調的な血管収縮の調節に重要であることが明らかになりました(上図:右)。

用語解説

注1) ホルモン受容体 APJ (apelin-APJ 系)

APJ は、血圧制御に重要なアンジオテンシンⅠ型受容体(AT1)と高い相同意を有する 7 回膜貫通型受容体で、リガンドとして apelin ペプチドが同定されています。APJ は血管や心臓などの循環器系で高く発現し、血管の収縮や血圧の調節に加え、心臓の機能制御にも重要なホルモン受容体系です。

注2) α 1A アドレナリン受容体

アドレナリン受容体は、アドレナリン、ノルアドレナリン(NA)を始めとするカテコールアミン類によって活性化される 7 回膜貫通型受容体で、 α 1A アドレナリン受容体は、主に血管平滑筋に存在し、リガンド刺激により細胞内の Ca²⁺流入量の増加を介した血管の収縮制御や前立腺の収縮などに関わっています。

参考文献

- 1) Ishida J, et al. J. Biol. Chem. 279: 26274–26279 (2004)
- 2) Hashimoto T, et al., Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 6: 1267–1272 (2006)
- 3) Nagano K, et al., Mol. Med. Rep. 5: 1371–1375 (2013)

掲載論文

【題名】 Cooperative action of APJ and α 1A-adrenergic receptor in vascular smooth muscle cells induces vasoconstriction
(血管平滑筋細胞 APJ は α 1A アドレナリン受容体との協調作用により血管収縮を誘発する)

【著者名】 Katsumasa Nagano[†], Chulwon Kwon[†], Junji Ishida, Tatsuo Hashimoto, Jun-Dal Kim, Nana Kishikawa, Mei Murao, Kenjiro Kimura, Yoshitoshi Kasuya, Sadao Kimura, Yi-Ching Chen, Hirotugu Tsuchimochi, Mikiyasu Shirai, James T. Pearson, and Akiyoshi Fukamizu

† These two authors contributed equally to this work

【掲載誌】 *The Journal of Biochemistry* (2019) (DOI: 10.1093/jb/mvz071)

問合わせ先

深水 昭吉(ふかみず あきよし)

筑波大学生存ダイナミクス研究センター(TARA) 教授

2019年11月8日

報道関係者各位

国立大学法人 筑波大学

老化を誘発する仕組みを解明 ～グリシン摂取が老化の緩和に有効である可能性～

研究成果のポイント

- ヒトの老化に伴うエネルギー欠乏が誘発される仕組みを、*Shmt2*^{注1)}遺伝子破壊マウスで明らかにしました。
- Shmt2*破壊は、マウス胎児肝臓に「エネルギー欠乏による細胞分化^{注2)}遅延」を誘発するだけでなく、「核酸欠乏による細胞分裂遅延」も誘発することがわかりました。
- 細胞分化遅延は、*Shmt2*破壊に伴い、グリシン^{注3)}の枯渇によるタウリン^{注4)}枯渇がエネルギー欠乏を誘発したために、また細胞分裂遅延は、グリシン枯渇によるヌクレオチド^{注5)}枯渇が核酸欠乏を誘発したために生じ、いずれもが胎児貧血の原因となりました。
- ヒトの老化症状の一つであるエネルギー欠乏に加え、細胞分裂遅延にも *SHMT2* 遺伝子が関係し、これらの老化症状の改善にはグリシン摂取が有効である可能性が示唆されました。

筑波大学 生存ダイナミクス研究センター(TARA)の林 純一名誉教授らの研究グループは、ヒトの老化に伴うエネルギー欠乏に、核遺伝子 *SHMT2* が関係していることに注目し、その仕組みを *Shmt2* 遺伝子破壊マウスを用いて解明しました。

本研究グループは、*Shmt2* 遺伝子破壊マウスが 13.5 日胚で貧血を起こし、その後胚致死になることに着目し、以下の 2 点を明らかにしました。

(1) *Shmt2* 遺伝子破壊により、主に胎児肝臓で細胞分化遅延と細胞分裂遅延が誘発され、胎児肝臓の 85% を構成する造血細胞が枯渇し、貧血になること。

(2) この時、胎児肝臓ではグリシンが枯渇し、これがタウリン枯渇とヌクレオチド枯渇を誘発すること、そしてタウリン枯渇はエネルギー欠乏による細胞分化遅延を、ヌクレオチド枯渇は核酸枯渇による細胞分裂遅延を誘発すること。

この結果は、ヒトの老化に伴うエネルギー欠乏のみならず、老化に伴う細胞分裂遅延の回復にも、グリシン摂取が有効である可能性を示唆しています。

本研究の成果は 2019 年 11 月 5 日付「Scientific Reports 電子版」に掲載されました。

* 本研究は、筑波大学とフィンランド・ヘルシンキ大学との国際共同研究によって行われたもので、一部は日本学術振興会の科学研究費補助金(基盤研究 A 課題番号 16H02463; 基盤研究 B 課題番号 19H03141、研究代表者 林 純一)などの支援により実施されました。

研究の背景

ヒトは老化に伴いエネルギー欠乏になりますが、その原因については様々な仮説が提出されています。本研究グループはこれまでに、「ヒトの老化に伴うエネルギー欠乏の原因が、突然変異ではなくゲノム修飾^{注6)}による可逆的な遺伝子発現の変化であり、特に *SHMT2* 遺伝子の発現低下が重要である」という新仮説を提出し^{文献1)}、この遺伝子を破壊したマウスに、胎児貧血と胚致死が誘発されることも明らかにしました^{文献2)}。そして今回、*Shmt2* 遺伝子破壊マウスの胎児組織を用いた質量分析等により、この新仮説の一部を検証しました(図1)。

研究内容と成果

上述の進化説のうち、「ヒトの老化に伴うエネルギー欠乏の原因として、*SHMT2* 遺伝子の発現量低下が重要である」という部分を検証するため、まず *Shmt2* 遺伝子破壊マウスを用いて、胚致死前(13.5 日胚)の肝臓と脳のエネルギー産生能を調べたところ、確かに、肝臓で著しいエネルギー欠乏が生じていました。

エネルギー欠乏は成体の造血組織である骨髄の造血細胞分化を抑制することから、胎児の造血組織である肝臓の造血細胞分化を調べたところ、*Shmt2* 遺伝子破壊マウスの細胞分化も抑制されていました。さらに肝臓の重量も低下しており、肝臓内にある造血細胞の細胞分裂遅延も明らかになりました。マウス 13.5 日胚の肝臓は 85%が造血細胞で構成されていることから、これらの結果は、エネルギー欠乏による造血細胞分化遅延と、造血細胞の分裂遅延が原因で、胎児貧血が誘発されたことを示しています(図2)。

また、*Shmt2* 遺伝子破壊によりどのような仕組みでエネルギー欠乏と細胞分裂阻害になるのかを質量分析等で調べた結果、グリシン枯渇のみならずタウリン枯渇とヌクレオチド枯渇も誘発されていました。タウリンはエネルギー產生に、ヌクレオチドは核酸合成に必須であるため、両者の枯渇が、それぞれエネルギー欠乏と細胞分裂遅延につながったと考えられます(図2)。

Shmt2 遺伝子の働きはセリンからグリシンへの変換であるため(図2)、*Shmt2* 破壊による胎児肝臓でのグリシン枯渇は予想通りでしたが、脳ではグリシン欠乏が見られません。これは *Shmt2* 遺伝子とは別の遺伝子(*Gcat* 等)を使ってスレオニンからグリシンを得ているためです(図3)。一方、この時期の肝臓は、活発な細胞分裂と細胞分化で大量の血球を作るために *Shmt2* 遺伝子の発現を高めており、これが原因で *Shmt2* 遺伝子破壊が胎児貧血を誘発したと思われます。

今後の展開

ヒト *SHMT2* 遺伝子の異常が原因の胎児貧血は、妊婦がグリシンを摂取することで緩和される可能性があります。これについて、*Shmt2* 遺伝子破壊マウスで検証していきます。

また本研究により、ヒト *SHMT2* 遺伝子の発現低下が「ヒトの老化に伴うエネルギー欠乏」のみならず、「ヒトの老化に伴う細胞分裂遅延」の原因である可能性が示唆されました。従って、グリシン摂取がこの両方を緩和することが期待されます。

一方、*SHMT2* 遺伝子の発現抑制はがん細胞の分裂速度も抑制されるという報告もあります。そうだとすれば、ヒトの老化に伴う *SHMT2* 遺伝子の発現抑制は、エネルギー欠乏と細胞分裂遅延を来すという負の側面と同時に、老化とともに発症頻度が高まるがん細胞の増殖(細胞分裂)を抑制し、逆に健全な老化(長寿)に貢献している、つまり老化を促進することでがん化を抑制するという別の側面もあります。グリシン摂取については、今後さらに、がん細胞の増殖を促進する可能性を考慮した研究が必要です。

参考図

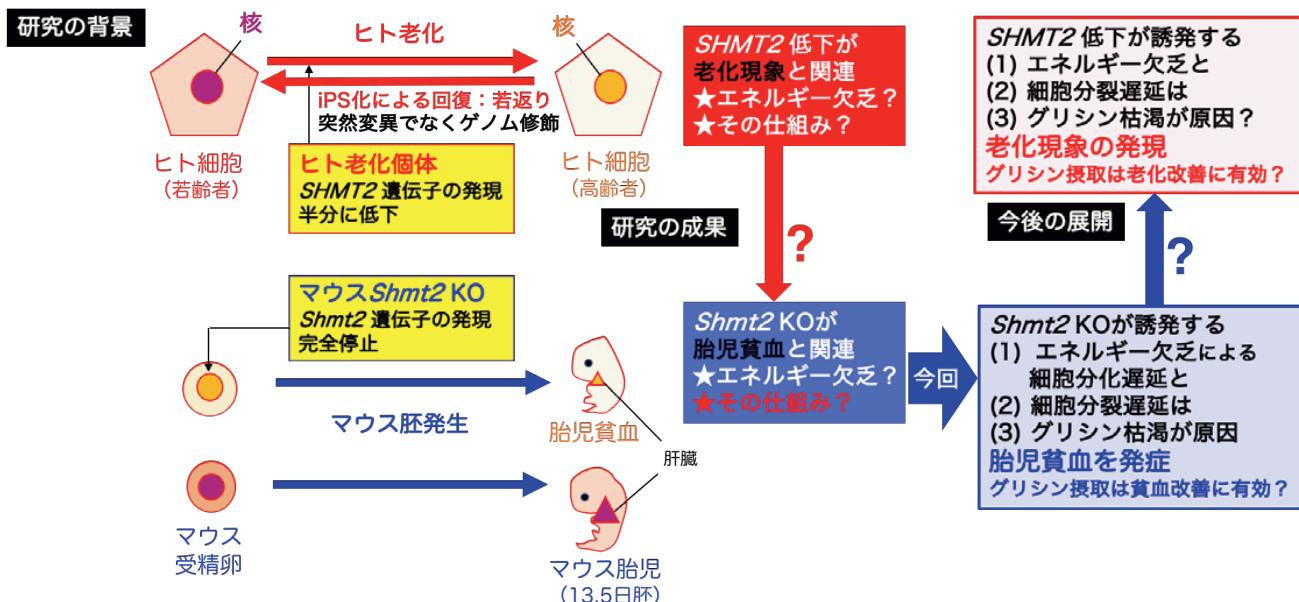


図1 本研究の概要

「ヒト老化に伴うエネルギー欠乏の原因是、*SHMT2*遺伝子の発現量低下が重要な原因である」という新仮説の検証において、*Shmt2*破壊マウス (*Shmt2KO*) は胎児貧血を誘発した。この原因是 *Shmt2*破壊がグリシン欠乏を誘発し、これがエネルギー欠乏と細胞分裂遅延を誘発したことにある。従ってグリシン摂取は、貧血のみならず老化に伴うエネルギー欠乏と細胞分裂遅延にも有効かもしれない。しかし、同時にがん細胞の増殖も誘発する可能性もあるので、今後はその検証が必要である。

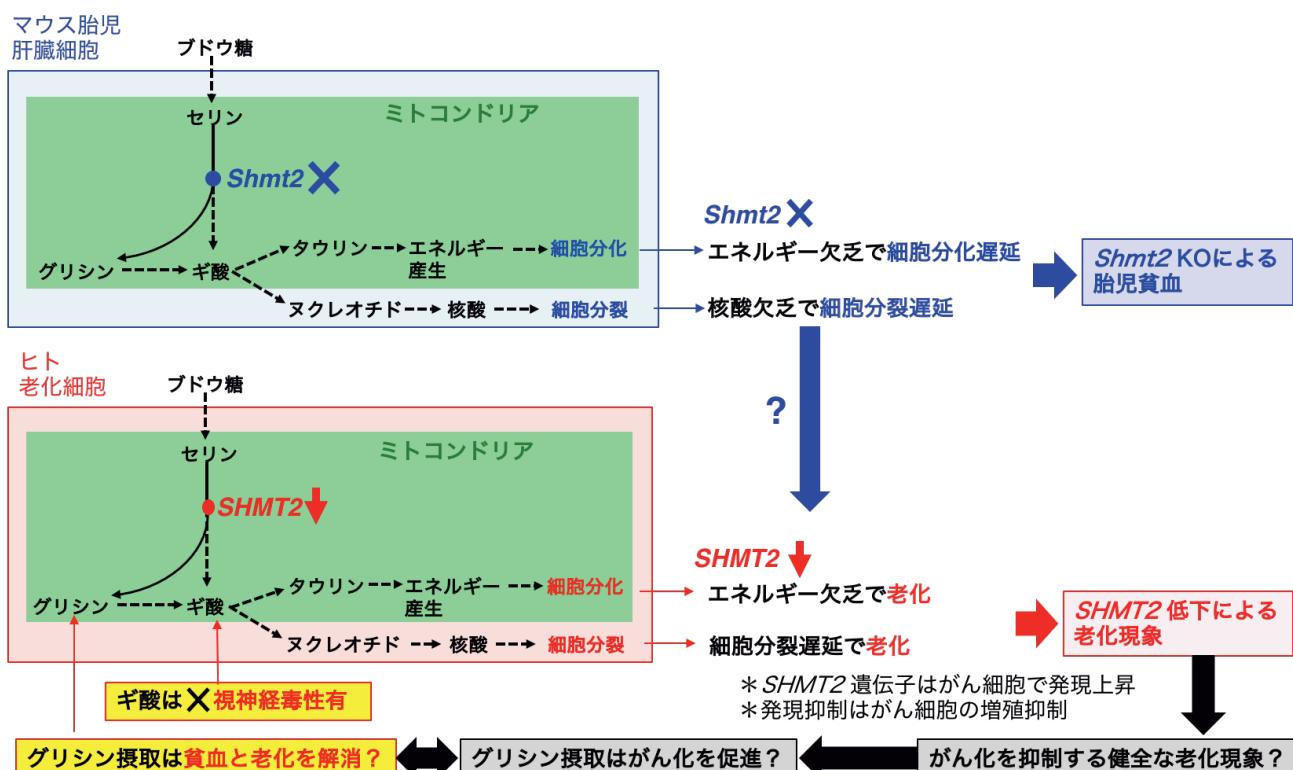


図2 *Shmt2*破壊による胎児貧血発症機構と治療戦略

Shmt2 遺伝子破壊により、胎児肝臓ではまずグリシンが枯済し、これがタウリン枯済とヌクレオチド枯済を誘発する。タウリン枯済はエネルギー欠乏による細胞分化遅延を、ヌクレオチド枯済は核酸枯済による細胞分裂遅延を誘発す

る。これらが胎児貧血の原因となる。このことは妊婦のグリシン摂取が胎児貧血を改善する可能性を示唆している。

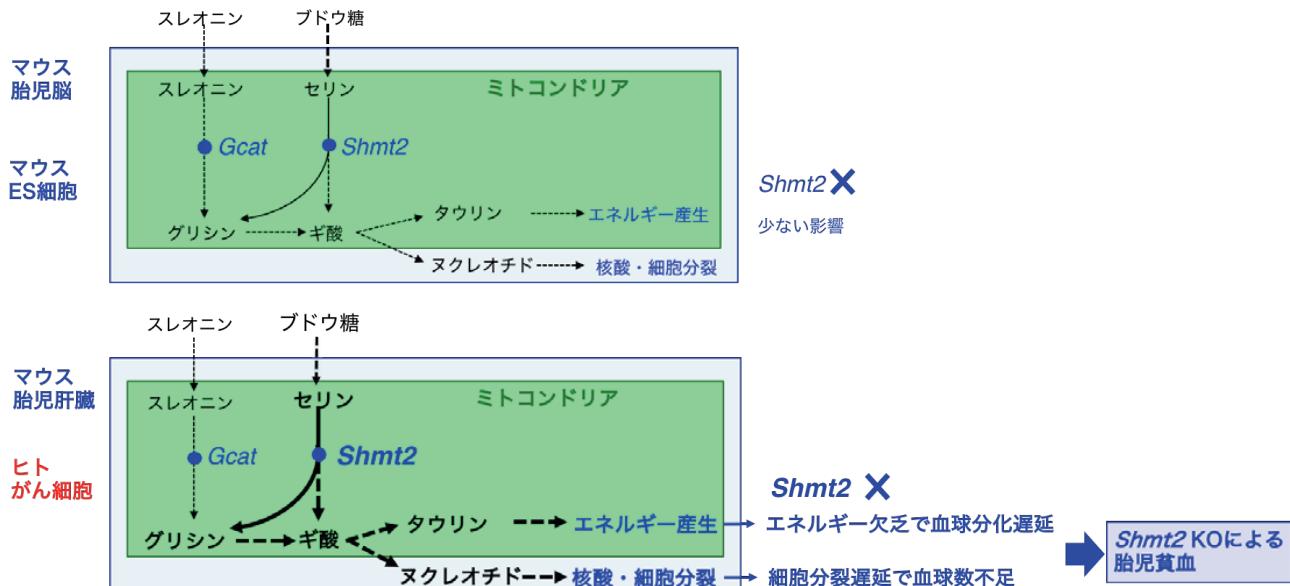


図3 マウス胎児肝臓特異的に代謝異常が発現する仕組み

Shmt2 遺伝子の働きはセリンからグリシンへの変換であるため、*Shmt2* 遺伝子破壊による胎児肝臓でのグリシン欠乏は予想通りだが、胎児脳ではグリシン欠乏が見られない。これは胎児の脳では *Shmt2* 遺伝子とは別の遺伝子を使ってスレオニンからグリシンを得ているためである。胎児肝臓でもこの経路は使われているが、ここではさらに活発な細胞分裂と細胞分化で大量の血球を作るために *Shmt2* 遺伝子の発現を高めており、これが原因で *Shmt2* 遺伝子破壊が胎児貧血を誘発した。

用語解説

注1) SHMT2

アミノ酸の一種であるセリンをグリシンに可逆的に変換(図2)する酵素をコードする遺伝子。遺伝子名はイタリック表記し、ヒトの遺伝子でのみ全て大文字表記(ヒト *SHMT2* 遺伝子、マウス *Shmt2* 遺伝子)。

注2) 細胞分化

未分化な幹細胞が何らかの生理機能を獲得する過程のこと。

注3) グリシン

アミノ酸の一種。今回の研究では、核遺伝子 *Shmt2* を破壊するとグリシン枯渇が誘発され、グリシン枯渇はタウリン枯渇とヌクレオチド枯渇を誘発し、タウリン枯渇はエネルギー欠乏を、ヌクレオチド枯渇は核酸欠乏による細胞分裂遅延を引き起こすことが判明した。従ってグリシン摂取はヒト老化に関連したエネルギー欠乏と細胞分裂遅延を改善する可能性がある。

注4) タウリン

ミトコンドリア内のタンパク質合成に必須なアミノ酸で、これが枯済するとミトコンドリア呼吸酵素複合体が枯済し、エネルギー欠乏を誘発する。

注5) ヌクレオチド

核酸(DNAとRNA)の構成成分で、これが枯済すると核酸欠乏になるため、DNA複製とその後の細胞分裂が遅延する。

注6) ゲノム修飾

遺伝子の転写調節領域等が修飾(メチル化等)されることで、遺伝子発現が制御される。突然変異と異なる

り、ゲノム修飾は修飾が外れる(脱メチル化される)ことで元に戻すこと(初期化)ができる可逆的現象である。

参考文献

- 文献1) Hashizume, O. et al. Epigenetic regulation of the nuclear-coded GCAT and SHMT2 genes confers human age-associated mitochondrial respiration defects. *Sci. Rep.* 5, 10434, 10.1038/srep10434 (2015).
- 文献2) Tani, H. et al. Mice deficient in the Shmt2 gene have mitochondrial respiration defects and are embryonic lethal. *Sci. Rep.* 8, 425, 10.1038/s41598-017-18828-3 (2018).

掲載論文

- 【題名】 Disruption of the mouse Shmt2 gene confers embryonic anaemia via foetal liver-specific metabolomic disorders
(Shmt2 遺伝子破壊はマウス胎児肝臓に特異的な代謝系異常に起因する胎児性貧血を誘発する)
- 【著者名】 Haruna Tani, Takayuki Mito, Vidya Velagapudi, Kaori Ishikawa, Moe Umehara, Kazuto Nakada, Anu Suomalainen, Jun-Ichi Hayashi
谷 春菜、石川 香、梅原 萌、中田 和人、林 純一(筑波大学);三藤 崇行、Vidya Velagapudi、Anu Suomalainen(ヘルシンキ大学)
- 【掲載誌】 *Scientific Reports* (DOI: 10.1038/s41598-019-52372-6)

問合わせ先

林 純一(はやし じゅんいち)
筑波大学名誉教授
生存ダイナミクス研究センター長

2019年12月4日

報道関係者各位

国立大学法人 筑波大学

薬剤性急性肝障害を予防する新しい細胞の働きを発見

研究成果のポイント

1. 肝臓に存在する1型自然リンパ球という極めて少数の細胞が、薬剤による急性肝障害を抑制することを世界で初めて発見しました。
2. 1型自然リンパ球が産生する免疫活性化因子インターフェロン $\gamma^{注1)}$ が、肝細胞の死を抑制することを見出しました。
3. 薬剤の副作用による急性肝障害に対する新しい予防法の開発が期待されます。

国立大学法人筑波大学 生存ダイナミクス研究センター 渋谷彰教授、鍋倉宰助教らは、薬剤の副作用による急性肝障害を抑制する新しい細胞の働きを世界で初めて発見しました。

総合感冒薬（風邪薬）、解熱鎮痛薬、抗生物質、抗がん剤、漢方薬など、普段使われる多くの薬剤の副作用で最もも多いものの一つとして、急性肝障害が知られています。重篤になると死亡するケースも見られることから、早期発見、早期対策が重要です。しかし、薬剤の副作用による急性肝障害がどのように発症するかについては未解明の点が多く、またそれを予防する方法は現在のところありません。

本研究では、肝臓に存在する1型自然リンパ球という極めて少数の特殊な細胞が、薬剤による急性肝障害を抑制することを、世界で初めて発見しました。薬剤により肝細胞に障害が起きると1型自然リンパ球が活性化し、インターフェロン γ が産生され、これが肝細胞の死を抑制することを証明しました。

1型自然リンパ球の活性化を亢進する薬剤を開発することで、急性肝障害の予防が可能になると期待されます。

本研究成果は、2019年12月3日付で米国科学誌「Immunity」のオンライン速報版で公開されました。

研究の背景

肝臓は生命維持に必要なさまざまな働きをする大切な臓器です。薬剤の代謝（化学変化）は肝臓で行なわれることが多く、さまざまな代謝産物が肝臓に出現するため、副作用として肝障害が多いと考えられています。実際に、総合感冒薬（風邪薬）、解熱鎮痛薬、抗生物質、抗がん剤、漢方薬など、普段使われる多くの薬剤の副作用の中で、急性肝障害は最も多いものの一つです。重篤なものでは死亡するケースも見られることから、早期発見、早期対策が重要です。しかし、薬剤の副作用による急性肝障害がどのように発症するかについては未解明の点が多く、またそれを予防する方法は現在のところありません。

一方、最近、肝臓内に1型自然リンパ球と呼ばれる特殊な細胞が存在することがわかつてきました。しかし、その数は肝臓に存在する免疫細胞のおよそ2%前後で（図1）、肝臓を構成する肝細胞のわずか200分の1程度しかありません。しかも、1型自然リンパ球の肝臓における働きはほとんどわかつていませんでした。

研究内容と成果

本研究では、薬物の副作用による急性肝障害の発症の仕組みを明らかにする目的で、1型自然リンパ球(ILC1)に着目しました。急性肝障害を誘導する薬物として四塩化炭素(CCl4)を用いました。CCl4を投与した野生型マウスでは、投与前と比べて ILC1 の割合に変化はありませんでした（図1）。

また、CCl4を投与した野生型マウスでは、肝障害のマーカーである酵素のALTが上昇しましたが、肝臓でILC1が激減しているマウス(*Zfp683^{-/-}*)では、野生型マウスの4倍ほど高いALT値を示し、急性肝障害が顕著に悪化しました（図2）。この結果は、ILC1が薬剤性急性肝障害を抑制することを示しています。

次に、ILC1が薬剤性急性肝障害を抑制するメカニズムを解明するために、ILC1が産生するインターフェロンγに着目しました。薬剤投与後、活性化したILC1は、徐々にインターフェロンγの産生を増加させました（図3A）。一方、インターフェロンγを欠損するマウスでは、野生型マウスに比べて、肝障害がより悪化し（図3B）、同時に、細胞死抑制分子であるBcl-xLの発現も低下しました（図3C）。これらの結果から、ILC1はインターフェロンγを産生し、肝細胞のBcl-xLの発現を亢進させることで、肝障害を抑制していることが示唆されました。

ILC1が薬剤性急性肝障を抑制することをさらに確認するために、ILC1が存在しないマウス(*Rag2^{-/-}/Il2rg^{-/-}*)に薬剤を投与したところ、重篤な肝障害が出現しましたが、このマウスの肝臓の静脈にILC1を移入し、肝臓にILC1を定着させると、薬剤を投与しても肝障害はほとんど起きました（図4）。

以上の結果から、ILC1は薬剤により肝障害が発生するとインターフェロンγを産生し、肝細胞内で細胞死抑制分子であるBcl-xLの発現を増加させ、肝細胞死を低下させることで肝障害を抑制することが明らかとなりました。

今後の展開

本研究は、これまで不明であった肝臓内のILC1の機能、および薬剤性急性肝障害の発症をILC1が抑制することの2点を世界で初めて明らかにしたことで、高い意義があります。今後、ILC1の機能を亢進させる薬剤を開発することにより、薬剤性急性肝障害の予防法の開発につながることが期待されます。

参考図

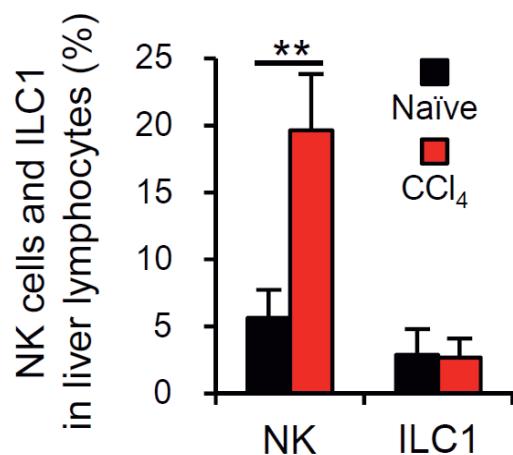


図 1. 肝臓における 1 型自然リンパ球(ILC1)の割合

肝臓に存在する、インターフェロン γ を産生できる NK 細胞^{注2)} と ILC1 の全免疫細胞における割合をフローサイトメーターで解析した。NK 細胞は薬剤 (CCl₄) の投与後に増加したが、ILC1 は変化せず、およそ 2 % 前後で極めて少数であった。

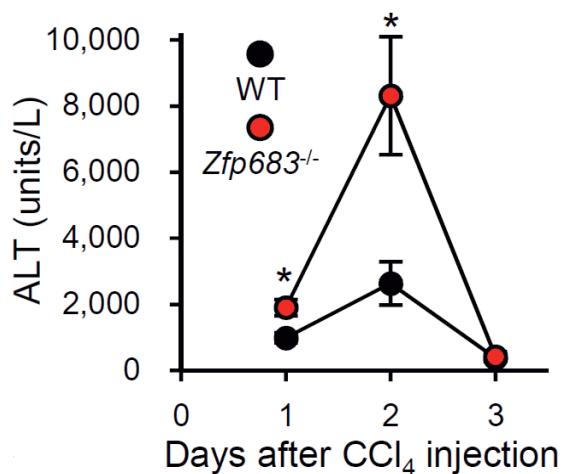


図 2. 薬剤 (CCl₄) 投与後の肝障害の出現

野生型マウスと肝臓で ILC1 が激減しているマウス (*Zfp683^{-/-}*) に薬物を投与し、経時的に肝障害の程度を観察した。野生型マウスでは投与 2 日目に肝障害により ALT が増加した。しかし、*Zfp683^{-/-}* マウスでは、野生型マウスと比較し、そのおよそ 4 倍も上昇した。このことから、ILC1 は薬剤による肝障害を抑制することが明らかとなった。

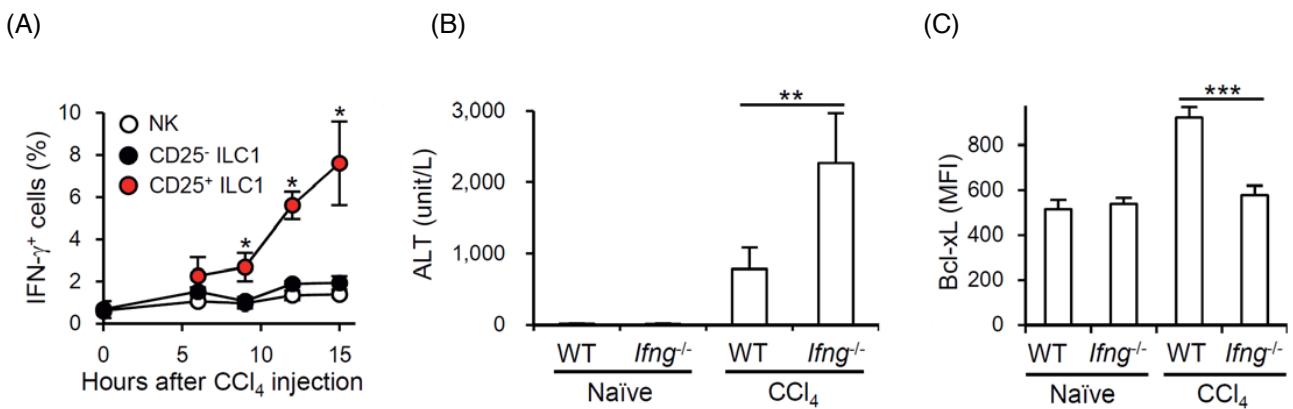


図3. ILC1はインターフェロン γ を産生し、肝細胞のBcl-xLの発現を亢進させる。

- (A) 薬剤(CCl₄)投与後にインターフェロン γ を産生する肝臓内のILC1およびNK細胞の割合を経時的に解析した。活性化したILC1(CD25⁺ILC1)では時間を追ってインターフェロン γ を産生する細胞が増加したが、非活性ILC1(CD25⁻ILC1)およびNK細胞では増加しなかった。
- (B) 野生型(WT)マウスおよびインターフェロン γ 遺伝子欠損(*Ifng*^{-/-})マウスに薬剤(CCl₄)を投与し、肝障害の程度を解析した。*Ifng*^{-/-}マウスは野生型マウスに比較し、著明に肝障害が増悪した。
- (C) 野生型(WT)マウスおよびインターフェロン γ 遺伝子欠損(*Ifng*^{-/-})マウスに薬剤(CCl₄)を投与し、肝細胞の細胞死抑制分子であるBcl-xLの発現を解析した。*Ifng*^{-/-}マウスは野生型マウスに比較し、有意にBcl-xLの発現が低下した。

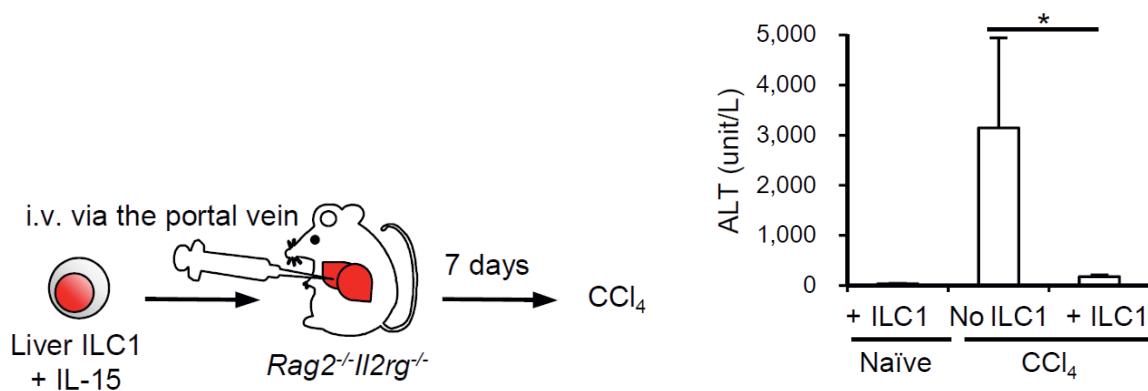


図4. ILC1は薬剤による肝障害を抑制する。

ILC1が存在しないマウス(*Rag2*^{-/-}/*Il2rg*^{-/-})に薬剤(CCl₄)を投与するとALTが顕著に上昇し、重篤な肝障害が見られたが、このマウスの肝臓の静脈にILC1を移入し、肝臓にILC1を定着させると、薬剤(CCl₄)を投与しても肝障害がほとんど起きなかった。

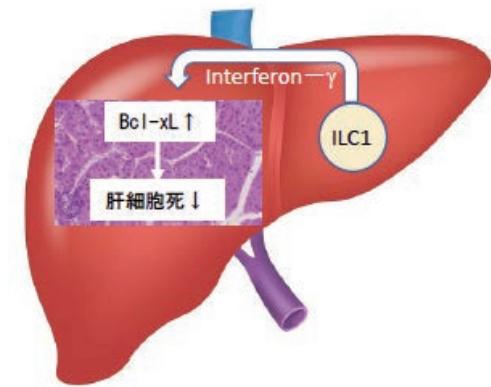


図4. 本研究のまとめ

ILC1は薬剤の投与によって活性化するとインターフェロン γ を産生し、肝細胞内で細胞死抑制分子であるBcl-xLの発現を増加させ、薬剤による肝細胞死を低下させることで肝障害を抑制する。

用語解説

注1) インターフェロン γ

リンパ球が産生し、ほぼ全ての炎症反応や免疫応答に関与する免疫活性化因子

注2) NK細胞

T細胞やB細胞などと並ぶ代表的なリンパ球の一つ。がん細胞やウイルス感染細胞などを殺す働きを持つ。

掲載論文

【題名】 Type 1 innate lymphoid cells protect mice from acute liver injury via interferon- γ secretion for upregulating Bcl-xL expression in hepatocytes

(1型自然リンパ球はインターフェロン γ の産生により肝細胞のBcl-xLの発現を上昇させ、急性肝障害からマウスを防御する)

【著者名】 Tsukasa Nabekura, Luke Riggan, Andrew D. Hildreth, Timothy E. O'Sullivan, and Akira Shibuya

【掲載誌】 Immunity (DOI: 10.1016/j.jimmuni.2019.11.004)

問合わせ先

渋谷 彰 (シブヤ アキラ)

筑波大学 生存ダイナミクス研究センター、革新的創薬開発研究センター、医学医療系 教授

2019年12月7日

報道関係者各位

国立大学法人 筑波大学

ダニによるアトピー性皮膚炎を抑制する分子の発見

研究成果のポイント

1. アトピー性皮膚炎を自然発症するマウスの原因遺伝子として、Clec10a（ヒトではAsgr1）を見ました。
2. Clec10aは皮膚のマクロファージに発現し、ダニによるアトピー性皮膚炎を抑制することを明らかにしました。
3. Clec10aと結合するダニの成分がムチン様分子^{注1)}であることを同定し、これを塗布すると、アトピー性皮膚炎が軽快することを示しました。

国立大学法人筑波大学 生存ダイナミクス研究センター 渋谷彰教授と医学医療系 金丸和正助教らは、産業技術総合研究所 舘野浩章上級主任研究員と共に、ダニが引き起こすアトピー性皮膚炎を抑制する分子を世界で初めて発見しました。

我が国でのアトピー性皮膚炎の患者数は、およそ50万人と推定されていますが、その数は年々増加し、25年前と比べると倍増しています。特に小児においては、10%以上がアトピー性皮膚炎に罹患しているとされています。アトピー性皮膚炎を含めた通年性アレルギー性疾患の原因として、ダニがおよそ8割を占めるとされていますが、ダニによるアトピー性皮膚炎の発症のメカニズムは不明の点も多く、また従来の薬剤では効果がない難治性患者も数多くいます。

本研究では、ダニによるアトピー性皮膚炎を自然発症するNC/Ngaと呼ばれるマウスのゲノム遺伝子を解析し、7万個余りの遺伝子変異を見出しました。さらに、その中から皮膚のマクロファージに発現するClec10a（ヒトではAsgr1）という遺伝子の変異が、ダニによるアトピー性皮膚炎の原因遺伝子であることを突き止めました。そこで、Clec10aを欠損するマウスを解析したところ、このマウスは、野生型マウスと比べて、ダニによるアトピー性皮膚炎が発症しやすいことから、Clec10aがダニによるアトピー性皮膚炎を抑制することが明らかになりました。驚くべきことに、ダニの成分には、アトピー性皮膚炎を誘導する分子の他に、Clec10aと結合するムチン様分子が含まれており、これをダニから抽出し、アトピー性皮膚炎に直接塗布すると、症状が軽快することがわかりました。

以上の結果から、ダニが原因となるアトピー性皮膚炎の新しい治療薬の開発が可能となり、従来の薬剤で効果がなかった患者にも、新たな治療薬の選択肢を提供できることが期待されます。

本研究成果は、2019年12月6日付で米国科学誌「Science Immunology」のオンライン速報版で公開されました。

研究の背景

我が国でのアトピー性皮膚炎の患者数は、およそ50万人と推定されていますが、その数は年々増加し、25年前と比べると倍増しています。特に小児においては、10%以上がアトピー性皮膚炎に罹患しているとされています。アトピー性皮膚炎を含めた通年性アレルギー性疾患の原因として、ダニがおよそ8割を占めるとされています。しかし、ダニによるアトピー性皮膚炎の発症のメカニズムは充分解明されていません。

アトピー性皮膚炎の治療には、副腎皮質ホルモン（ステロイド）の外用や内服、また免疫抑制剤等が使われています。しかしながら、免疫抑制による感染症や局所の皮膚萎縮などの副作用があることや、これらの薬剤が効かない難治性アトピー性皮膚炎の患者が数多くいることが大きな問題となっており、副作用が少なく、より効果的な治療法の開発が待たれています。

研究内容と成果

NC/Ngaマウスは、通常環境下で、アトピー性皮膚炎を自然発症することが知られている、我が国で樹立された近郊系マウス^{注2)}です（図1A）。また、病原体フリーの環境下でハウスダストマイト（チリダニ）抽出液（HDM）を皮膚に塗布すると、他マウス系統に比べて皮膚炎が著明に悪化することが知られています。しかし、NC/Ngaマウスのアトピー性皮膚炎の発症機構は、長らく謎でした。

本研究グループは、NC/Ngaマウスの全エクソーム遺伝子解析^{注3)}を行い、7万個余りの遺伝子変異を見出しました。またその中から、皮膚のマクロファージに発現するClec10a（ヒトではAsgr1）という遺伝子の変異が、ダニによるアトピー性皮膚炎発症の原因遺伝子であることを突き止めました（図1B,C）。

Clec10aを欠損するマウスを解析したところ、このマウスは、野生型マウスと比べて、ダニによるアトピー性皮膚炎が発症しやすいことから、Clec10aがダニによるアトピー性皮膚炎を抑制することが明らかになりました（図2）。

驚くべきことに、ダニの成分には、アトピー性皮膚炎を誘導する分子の他に、Clec10aと結合するムチン様分子が存在しており、これをダニから抽出し、アトピー性皮膚炎に直接塗布すると、症状が軽快することを見出しました（図3）。

さらに詳細な解析を行い、ダニにはアトピー性皮膚炎を誘導する分子として、LPS（エンドトキシン）と、これを抑制するムチン様分子が含まれており、LPSが皮膚のマクロファージを活性化し、アトピー症状を引き起こすのに対して、ムチン様分子がClec10a(Asgr1)を介して、これを抑制していることがわかりました（図4）。

今後の展開

Clec10a(Asgr1)が結合するムチン様分子は、これまでにない新しいコンセプトのアトピー性皮膚炎の治療薬として有望です。今後、最も効果的なムチン様分子をスクリーニングし、これを製剤化することで、従来の薬剤で効果がなかった患者にも、新たな治療薬の選択肢を提供できることが期待されます。

参考図

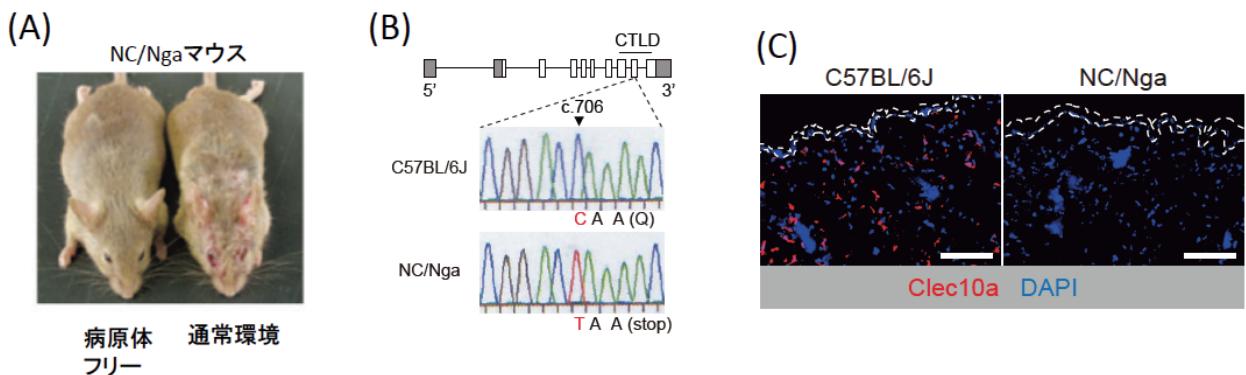


図1. NC/Nga マウスのアトピー性皮膚炎の原因遺伝子

- (A) NC/Nga マウスは、病原体フリーの環境下では正常であるが、通常環境下ではアトピー性皮膚炎を自然発症する。
- (B) NC/Nga マウスにおいて Clec10a をコードする遺伝子の変異を認めた (C57BL/6J マウスの遺伝子を対照とした)。
- (C) C/Nga マウスの皮膚のマクロファージでは Clec10a (赤のシグナル) を発現していなかった (C57BL/6J マウスを対照とした)。

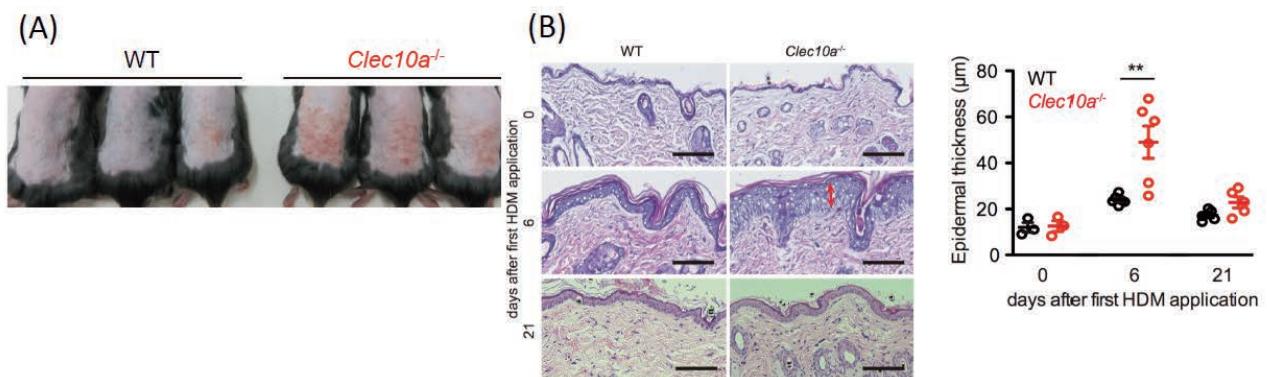
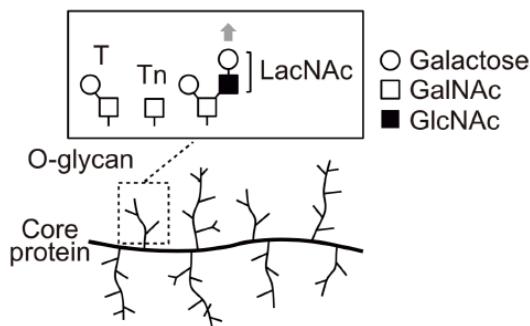


図2. チリダニ抽出液塗布後の観察結果

- (A) 野生型マウス(WT)と Clec10a 遺伝子欠損マウス(Clec10a^{-/-})の皮膚に、ハウスダストマイト(チリダニ)抽出液 (HDM) を塗布し、6 日後に皮膚を観察したところ、WT ではわずかな皮膚の炎症が見られたのみであったが、Clec10a^{-/-}では強い炎症が観察された。
- (B) 同様に、塗布 6 日後には、Clec10a^{-/-}で表皮の強い肥厚が見られたが、WT では軽度であった。

(A)



(B)

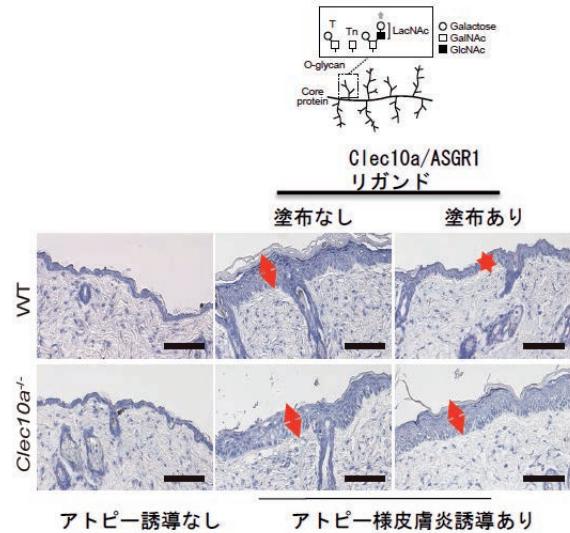


図3. Clec10a が結合するムチン様分子がアトピー性皮膚炎を改善する

(A) ハウスダストマイト(チリダニ)抽出液(HDM)から、Clec10a が結合する分子として、ムチン様分子を同定した。

(B) 抽出したムチン様分子を、アトピー性皮膚炎を誘導した野生型マウス(WT)に塗布すると、表皮の肥厚が軽減した。しかし、Clec10a 遺伝子欠損マウス(Clec10a^{-/-})の皮膚では変化がなかった。以上の結果から、ムチン様分子が Clec10a を介して、アトピー性皮膚炎を抑制したことが明らかとなった。

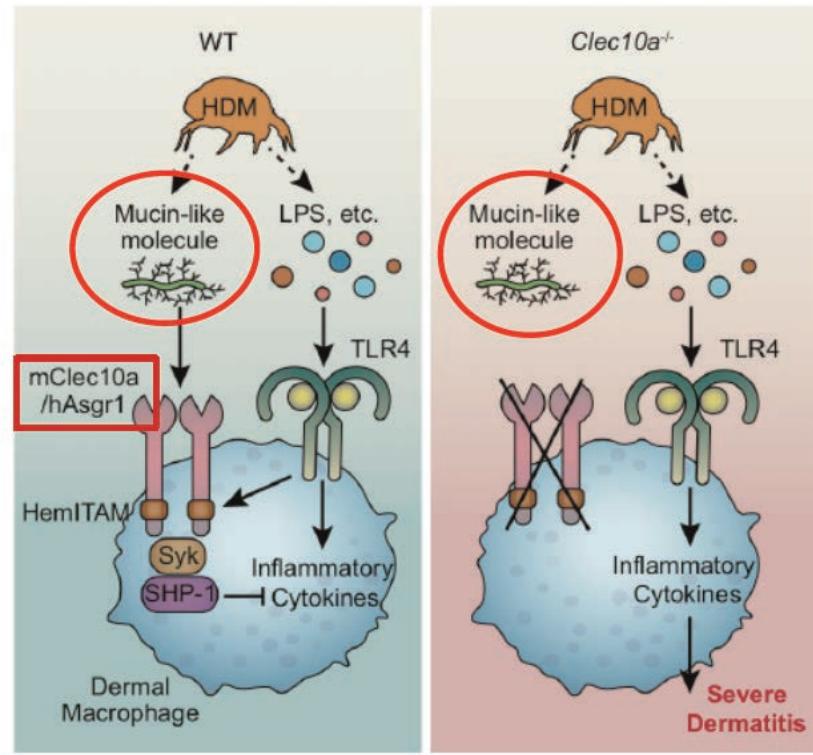


図4. 本研究のまとめ

野生型マウス(WT)では、ダニの成分である LPS(エンドトキシン)が皮膚のマクロファージを刺激し、アトピー性皮膚炎を誘導するのに対し、別のダニの成分であるムチン様分子が Clec10a(Asgr1)を介して、これを抑制している(左)。NC/Ngaマウスや Clec10 遺伝子欠損マウス(Clec10a^{-/-})では、Clec10a の発現がないために、LPS の刺激に対する抑制が効かず、アトピー性皮膚炎の症状が強く起きる(右)。

用語解説

注1) ムチン様分子

分子量100万～1000万の、糖を多量に含む大分子量の糖タンパク質（粘液糖タンパク質）の総称。

注2) 近交系マウス

実験動物において個体差を少なくするために用いられる。近親交配を20世代以上繰り返しているために、遺伝的にはほぼ同一の個体。

注3) 全エクソーム解析

全ゲノムのうちタンパク質をコードする全てのエクソン領域（エクソーム）のみを抽出し、次世代シーケンサーを用いて解読する技術。

掲載論文

【題名】 Clec10a regulates mite-induced dermatitis.

(Clec10aはダニによる皮膚炎を抑制する)

【著者名】 Kazumasa Kanemaru, Emiko Noguchi, Satoko Tahara-Hanaoka, Seiya Mizuno, Hiroaki Tateno, Kaori Denda-Nagai, Tatsuro Irimura, Hiroshi Matsuda, Fumihiro Sugiyama, Satoru Takahashi, Kazuko Shibuya, Akira Shibuya

【掲載誌】 Science Immunology

問合わせ先

渋谷 彰（シブヤ アキラ）

筑波大学 生存ダイナミクス研究センター、革新的創薬開発研究センター、医学医療系 教授

2019年12月9日

報道関係者各位

国立大学法人 筑波大学

東京慈恵会医科大学

国立研究開発法人 科学技術振興機構(JST)

微生物が狭い空間でも集団を拡張する仕組み ～ナノ繊維の分泌により細胞フィラメントの伸長を制御し、環境に適応する～

研究成果のポイント

1. 微細加工技術を駆使して作製したマイクロ流路デバイス^{注1)}を用い、二次元空間における鉄酸化細菌^{注2)} *Leptothrix* 属の細胞フィラメント形成のリアルタイム観察に成功しました。
2. *Leptothrix* 属細菌の分泌ナノ繊維は、デバイス表面への接着に関与し、細胞フィラメントの伸長開始および伸長方向決定に重要であることが分かりました。
3. 細胞フィラメントの伸長プロセスのシミュレーションにより、分泌ナノ繊維が伸長を適切に制御し、それにより *Leptothrix* 属細菌は環境に適応していることが示唆されました。

国立大学法人筑波大学生命環境系 久能樹准教授、Utada S. Andrew准教授、野村暢彦教授らの研究グループは、東京慈恵会医科大学 杉本真也准教授、筑波大学生存ダイナミクス研究センター 岩崎憲治教授との共同研究により、鉄酸化細菌 *Leptothrix* 属が分泌するナノ繊維が、表面接着、および細胞フィラメントの伸長や方向を制御することを明らかにしました。

Leptothrix 属細菌は、ナノ繊維を分泌することで細胞フィラメントを覆うチューブ原基を形成します。これが酸化鉄粒子に覆われたチューブとなり、集団(バイオマット)を構築して生息しています。しかしながら、なぜナノ繊維を分泌するかは、不明なままでした。本研究では、特殊なマイクロ流路デバイスを用いることで、細胞フィラメント形成初期段階のリアルタイム観察に成功し、分泌ナノ繊維の新たな機能を発見しました。これらは、細胞フィラメントや酸化鉄チューブ形成に対する重要な基礎的知見を提供するものであると同時に、顔料、電極、触媒、農薬など、*Leptothrix* 属細菌のつくるチューブの応用利用に向けた、材料特性の向上に役立つと期待されます。

本研究の成果は、2019年12月5日付「ACS Nano」でオンライン公開されました。

* 本研究は、国立研究開発法人科学技術振興機構(JST)の戦略的創造研究推進事業 ERATO「野村集団微生物制御プロジェクト」およびCREST「元素戦略を基軸とする物質・材料の革新的機能の創出」の一環で行われました。また科学研究費補助金、筑波大学生存ダイナミクス研究センター共同利用・共同研究の助成を受けています。

研究の背景

鉄分の豊富な天然の湧き水や沼沢地には、鉄細菌の仲間がバイオマットを形成して生息しています。鉄酸化細菌*Leptothrix*属は、酸化鉄粒子で覆われたマイクロチューブから成るバイオマットを構築します。フィラメント状(細かい糸状)に分裂した*Leptothrix*属細菌は、菌体表面から無数のナノ纖維を分泌し、これら纖維が絡まったチューブ原基の外側に酸化鉄粒子が沈着することで、マイクロチューブを形成します。しかしながら、ナノ纖維の分泌やチューブ原基を形成する生物学的意義は明らかになっておらず、細胞フィラメント形成過程におけるナノ纖維の分泌のダイナミクスをリアルタイムに観察する必要がありました。

研究内容と成果

本研究では、細胞フィラメントが絡まり凝集するのを防ぎながら、各々の細胞分裂およびナノ纖維の分泌を観察するため、微細加工技術を駆使し、高さを $1.3\text{ }\mu\text{m}$ に制限したチャンバーを持つマイクロ流路デバイスを新たに設計しました(図1)。このデバイスを用い、二次元空間における鉄酸化細菌の増殖のリアルタイム観察に成功しました。その様子を野生型株とナノ纖維非分泌株で比較したところ、野生型株は、デバイス表面に接着後に細胞フィラメント形成を開始する一方、ナノ纖維非分泌株は、表面接着ができずほとんど増殖しませんでした。このことから、ナノ纖維を介した表面接着が細胞フィラメントの伸長の鍵であることが分かりました。ナノ纖維の骨格である糖鎖のアミノ基を蛍光染色した結果、表面接着直後の菌体周囲の蛍光シグナルに偏りがあり、細胞フィラメントの伸長方向にはシグナルが検出されないことから、ナノ纖維の分泌が細胞フィラメントの伸長方向決定にも関わることが明らかになりました(図2)。

分泌ナノ纖維をサブミクロンレベルで観察するには、電子顕微鏡が必要ですが、一般的なサンプル調製では、乾燥のプロセスでナノ纖維の分解や凝集が起きて、ノイズを観察してしまう問題がありました。そこで本研究では、サンプルを乾燥させず、溶液中で観察可能な大気圧走査電子顕微鏡^{注3)}を用いることで、分泌ナノ纖維の分布を観察することに成功しました。ここでも蛍光染色の場合と同様に、表面接着直後の細胞ではナノ纖維の分泌に偏りがありました(図3)。

狭いチャンバー空間で伸長する細胞フィラメントは、チャンバー壁に衝突しても「屈曲」または「反転」して伸長を継続しました。分泌ナノ纖維による表面接着力と衝突による反発力を考慮した数式を作成し、シミュレーションすることで、低角度の衝突では「屈曲」、逆に高角度の衝突では「反転」する頻度が高くなることを証明しました(図4)。これらの結果は、狭い空間内でも継続的にフィラメントを形成する能力を示しています。以上の結果より、*Leptothrix*属細菌は、分泌ナノ纖維を介して細胞フィラメントの伸長を適切に制御することで、環境に適応し、流れのある環境水中で優位にバイオマットを形成する戦略を持つと考えられます。

今後の展開

Leptothrix 属細菌のつくるチューブ原基は、鉄、マンガンを始めとするさまざまな金属イオンを吸着するため、水処理施設で低成本な金属除去システムとして利用されています。また、鉄を吸着したチューブは、顔料、電極、触媒、農薬など多くの利用方法が研究されています。本研究の成果は、これらの応用にフィードバック可能であり、水処理能力の向上やチューブの材料特性の改良に貢献することが期待されます。

参考図

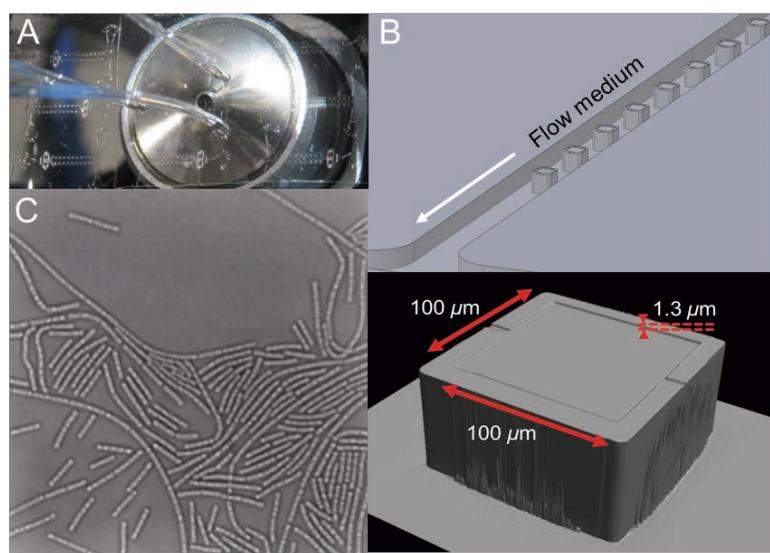


図1. 高さを $1.3 \mu\text{m}$ に制限したチャンバーを持つマイクロ流路デバイス。(A) 顕微鏡に設置した様子。(B) 流路に並ぶチャンバー(上)は、縦 × 横 × 高さがそれぞれ $100 \times 100 \times 1.3 \mu\text{m}$ の空間である(下)。(C) 鉄酸化細菌を培養した様子。スケールバー = $5 \mu\text{m}$

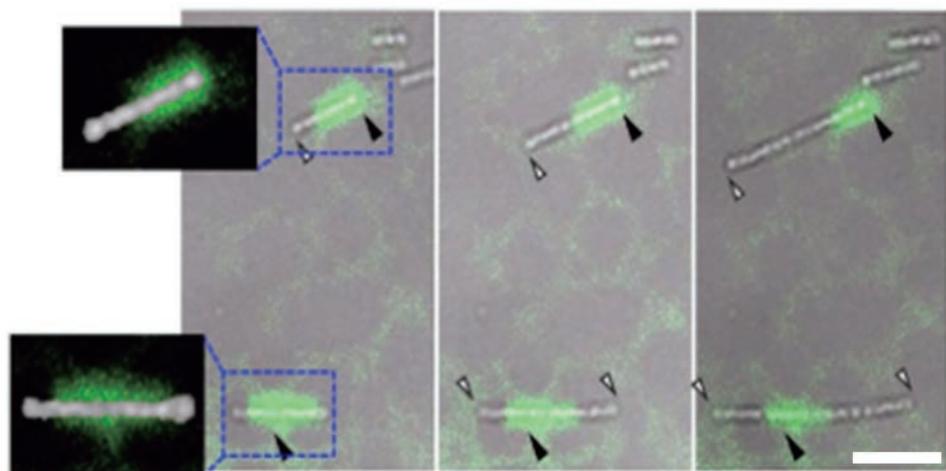


図2. 鉄酸化細菌が表面接着後、細胞フィラメント伸長を開始した時点で分泌ナノ纖維を蛍光ラベルした結果、片側・両側に伸長する場合に異なる分泌ナノ纖維の分布を示す。矢印は伸長端(白)、固定部分(黒)を示す。スケールバー = $5 \mu\text{m}$

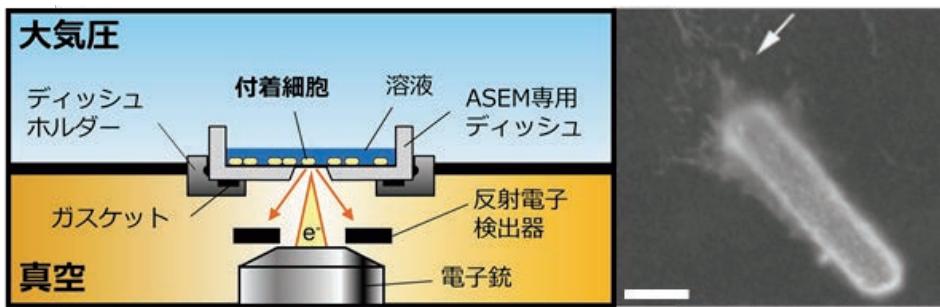


図3. 大気圧走査型電子顕微鏡のイメージ図(左)と鉄酸化細菌の細胞の電子顕微鏡像(右)。矢印は金コロイドでラベルした分泌ナノ纖維を示す。スケールバー = $1\text{ }\mu\text{m}$

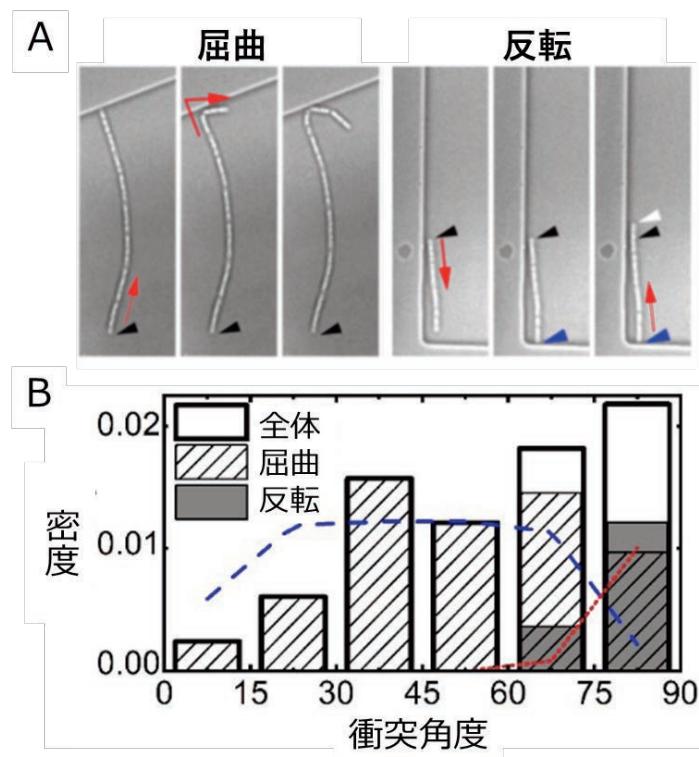


図4. (A) チャンバー壁に衝突後「屈曲」(左)または「反転」(右)して伸長する細胞フィラメントを示す。矢印は固定端(黒)、衝突後の固定端(青)、伸長端(白)を示す。スケールバー = $5\text{ }\mu\text{m}$ (B) 実際の出現頻度(斜線: 屈曲、グレー: 反転)とシミュレーションによる出現頻度(青線: 屈曲、赤線: 反転)のグラフ。

用語解説

注1) マイクロ流路デバイス

基板にエッチング、微細切削加工、成形などの方法で作製した流路を形成した持つデバイス。

注2) 鉄酸化細菌

水溶性の二価の鉄イオンや二価のマンガンイオンを酸化する細菌の仲間。

注3) 大気圧走査電子顕微鏡

細胞を乾燥させることなく、大気圧で直接観察できる倒立型走査電子顕微鏡。

掲載論文

【題名】Polyfunctional Nanofibril Appendages Mediate Attachment, Filamentation, and Filament Adaptability in *Leptothrix cholodnii*.

(鉄酸化細菌 *Leptothrix cholodnii* の多機能性分泌ナノ纖維は、接着、フィラメント化、フィラメント適応性を仲介する)

【著者名】 Tatsuki Kunoh, Kana Morinaga, Shinya Sugimoto, Shun Miyazaki, Masanori Toyofuku, Kenji Iwasaki, Nobuhiko Nomura, Andrew S. Utada.

【掲載誌】 ACS Nano (DOI:10.1021/acsnano.9b04663)

問合わせ先

<研究に関すること>

久能 樹 (クノウ タツキ)

筑波大学 生命環境系 准教授

Utada S. Andrew (ウタダ アンドリュウ)

筑波大学 生命環境系 准教授

野村 暢彦 (ノムラ ノブヒコ)

筑波大学 生命環境系 教授

杉本 真也 (スギモト シンヤ)

東京慈恵会医科大学 医学科 細菌学講座 准教授

<JSTの事業に関すること>

内田 信裕 (ウチダ ノブヒロ)

科学技術振興機構 研究プロジェクト推進部

令和2年1月27日

報道関係者各位

国立大学法人 筑波大学

ヒスタミン受容体アゴニストが心腎連関障害を改善する - 心腎不全モデルマウスの遺伝情報解析による抗炎症作用の同定 -

研究成果のポイント

- 認知機能障害やてんかん発作を標的として開発されたヒスタミン受容体のアゴニスト^{注1)}(イメトリジン:Imm^{注2)})が、心腎連関の病態に保護的に作用することがわかりました。
- 心不全モデルの ANS マウス^{注3)}では、腎臓の機能が障害されており、心腎連関の病態モデルとなることが明らかになりました。
- ANS マウスの血液中では、アレルギーや炎症反応に関与するヒスタミンが増加していることを発見しました。また、遺伝的にヒスタミンを産生できない ANS マウスでは、心腎障害が悪化しました。
- 遺伝子発現パターンの網羅的解析から、Imm が抗炎症作用を有することが判明しました。

国立大学法人筑波大学 生存ダイナミクス研究センター(TARA) 深水昭吉教授、医学医療系 山縣邦弘教授らの研究グループは、認知機能障害やてんかん発作を標的として開発された、ヒスタミン H3 受容体アゴニストの Imm ^{参考文献 1)}が、心腎連関の病態を改善することを明らかにしました。

「心腎連関」^{参考文献 2)}は、心臓と腎臓それぞれの障害が相互作用し、両臓器の機能が障害されることに由来する概念です(図1)。しかし、腎臓の機能低下が心臓血管病発症リスク増加に寄与する、あるいは心臓血管病患者が高率に腎機能障害を引き起こす機序の詳細は未解明です。本研究グループは、血圧上昇ホルモンであるアンジオテンシン II 投与、片腎摘出、食塩水負荷により心不全を誘導するマウス(ANS マウス)^{参考文献 3)}を用い、ANS マウスが心不全に加え、腎臓の糸球体濾過機能の低下や構造変化、タンパク尿や尿細管障害による円柱の形成など、慢性腎臓病様の病態を示すことを見出しました。

また本研究の重要な知見として、ANS マウスの血中で低分子アミンであるヒスタミンが増加していることを明らかにしました。また、ANS マウスへのヒスタミン受容体阻害剤の投与や、遺伝的にヒスタミンを産生できない ANS マウスでは、心腎障害が悪化したのに対し、Imm は ANS マウスの心腎連障害に保護的に作用することを見出しました。

さらに、RNA シークエンスによる網羅的な解析の結果、ANS マウスの腎臓では、炎症関連遺伝子の発現が有意に亢進しており、ANS マウスで実際に急性期炎症が生じていることを突き止めました。これらの変化は、Imm の投与で軽減したことから、Imm が抗炎症作用を有することが判明しました。

このように、当初の開発対象を超えた効果を有する Imm を活用したアプローチは、心腎連関の発症メカニズムの理解や、炎症性臓器障害を示す他のモデル動物を利用した研究への応用につながることが期待されます。

本研究の成果は、2020 年 1 月 27 日付「*Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*」で公開される予定です。

* 本研究は、日本学術振興会の科学研究費補助金(科研費):基盤研究(A)(25252062:深水昭吉)、基盤研究(C)(17K07131:石田純治、26350957:加香孝一郎)、および、日本医療健康開発機構(17ek0310005h0003:山縣邦弘)によって実施されました。

研究の背景

心不全などの心血管疾患や、慢性腎臓病による腎不全は主要な死因の一つです。「心腎連関」(図1)は、心臓血管病患者では高率に腎機能障害を併発し、心臓血管病患者にとって慢性腎臓病併発が最も強力な予後不良因子であることが疫学的に認められたこと、また慢性腎臓病患者は心不全に代表される心臓血管病を高率に合併することなど、心臓血管病と腎臓病は密接に関与して相互に影響しあうことから認識された概念です。治療へのアプローチや心腎病態のメカニズムを理解する要素として、レニン・アンジオテンシン系、交感神経系、酸化ストレスや炎症などが挙げられていますが、有用な病態モデル動物の開発や創薬標的の検証が進展していなかったため、心腎連関の根底にある分子の仕組みは明らかになっていませんでした。

研究内容と成果

本研究ではまず、アンジオテンシン II(血圧上昇ホルモン)投与、片腎摘出、食塩水負荷によって心機能低下や心肥大といった心不全を呈するマウス(ANS マウス)について、腎臓の機能変化について解析しました。その結果、ANS マウスには心不全に加え、腎尿細管障害(図2)や糸球体の構造異常(図3)が認められ、タンパク尿(図4a)を伴う慢性腎臓病の所見を示したことから、ANS マウスが心腎連関病態を解析する上で有用なモデルであることを明らかにしました。

次いで、ANS マウスの血中成分を質量分析で解析したところ、有意な増加を示した低分子アミンとしてヒスタミンを同定しました。ヒスタミンはアレルギーや炎症反応に関与することで知られていますが、心腎連関での役割は未解明です。そこで、ANS マウスへのヒスタミン受容体の阻害剤投与や、遺伝的にヒスタミンを合成できないノックアウトマウスを利用して ANS モデルを作出したところ、心腎病態が悪化することが分かりました。一方で、ヒスタミン H3 受容体のアゴニスト(lmm)の投与で心臓と腎臓(図4b)の病態が改善したことから、lmm が ANS マウスの心臓と腎臓の機能障害に保護的に作用することを見出しました。

さらに、次世代シークエンサーを用いた腎臓の網羅的遺伝子発現解析から、ANS マウスで炎症関連遺伝子群の発現亢進を認め、実際に ANS マウスの血液中で炎症マーカータンパク質が増加していることを確認しました。それらは lmm で抑制されたことから(図5)、lmm は ANS マウスに対して抗炎症作用を発揮することが明らかになりました。ANS マウスと lmm を用いた本研究の結果は、心腎連関仲介因子としてのヒスタミンの役割や、lmm の抗炎症作用による心腎病態改善の可能性を示しています。

今後の展開

心腎病態の悪化は、虚血性心疾患や脳梗塞、腎不全などの疾患リスクを高めますが、心腎連関の詳細な発症・制御機構の解明は途上です。①病態モデル動物の作製と評価、②生理活性物質の分析探索、および ③遺伝情報解析を組合せる本研究のアプローチにより、

* 炎症性臓器障害を示す他のモデル動物への lmm 改善効果の検証

* 抗炎症作用をもつ薬剤の心腎連関モデル動物への応用 など、

心腎連関の発症メカニズムの理解や、それに基づく薬剤の開発につながる波及効果が期待されます。

参考図

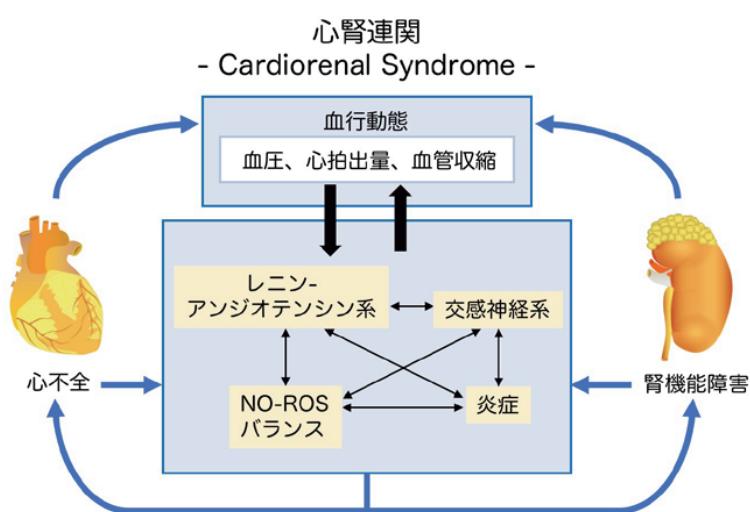


図1:心腎連関の概念図

「心腎連関」とは、心臓と腎臓のそれぞれの障害が相互作用し、両臓器の機能が障害されることに由来する概念です。腎機能障害に代表される慢性腎臓病では、心血管病(狭心症・心筋梗塞・心不全・脳卒中など)の発症リスクが極めて高いことや、心血管病患者では高頻度に慢性腎臓病を併発して有意に生命予後が不良であることが明らかとなっていますが、心腎連関病態の形成メカニズムの詳細は不明です。

NO:一酸化窒素

ROS:活性酸素種

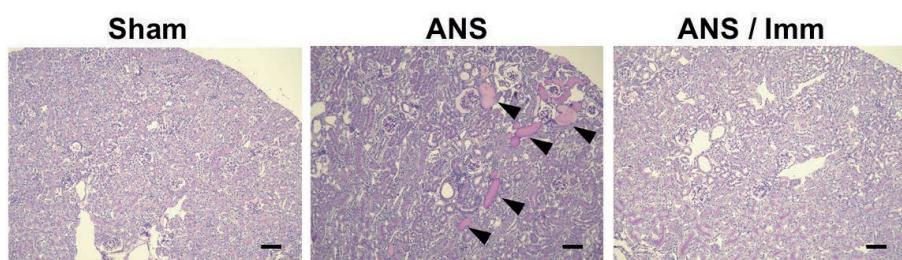


図2:ANS マウスの腎臓尿細管障害(腎臓の PAS 染色像。掲載論文から引用)

ANS マウスの腎臓皮質では、糸球体の拡大と、尿細管障害の指標であるタンパク円柱(矢頭)が観察され(中央)、これらは、Imm 投与で改善しました(右)。左(Sham)はコントロール群。スケールバー: 200 μm 。

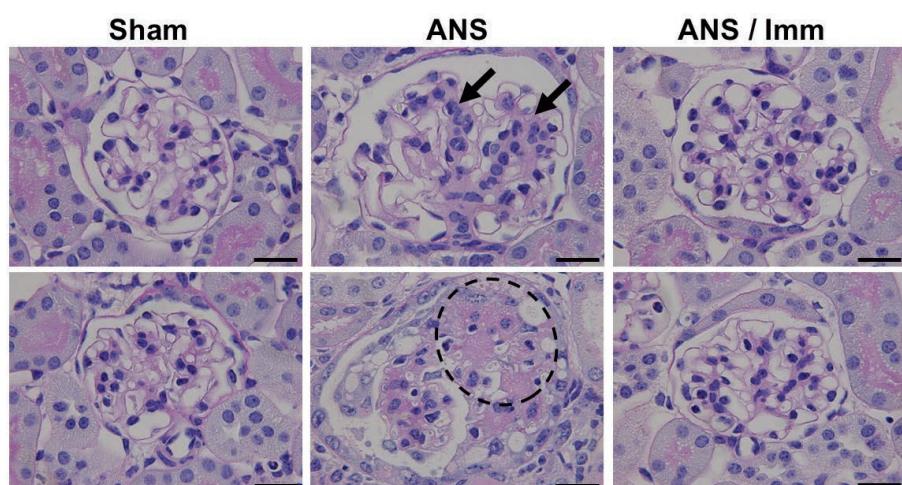
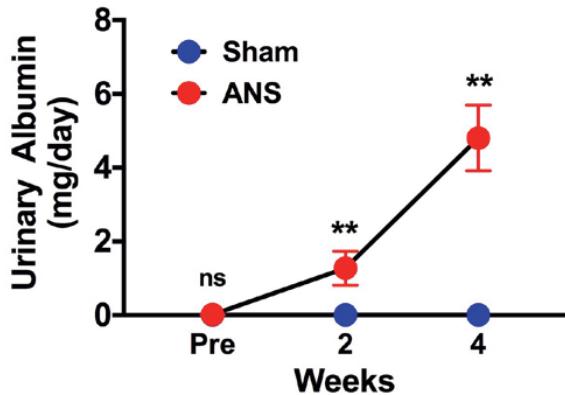


図3:ANS マウスの腎臓糸球体病態(掲載論文から引用)

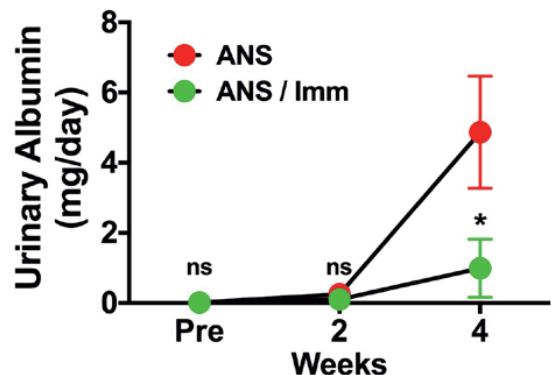
【上段】ANS マウスの糸球体では、糸球体障害の指標であるメサンギウム細胞のびまん性増生(矢印)を認め、Imm 投与により改善しました。スケールバー: 50 μm 。

【下段】ANS マウスの糸球体では、分節性糸球体硬化(点線囲い) が観察され、Imm 投与で改善しました。スケールバー: 50 μm 。



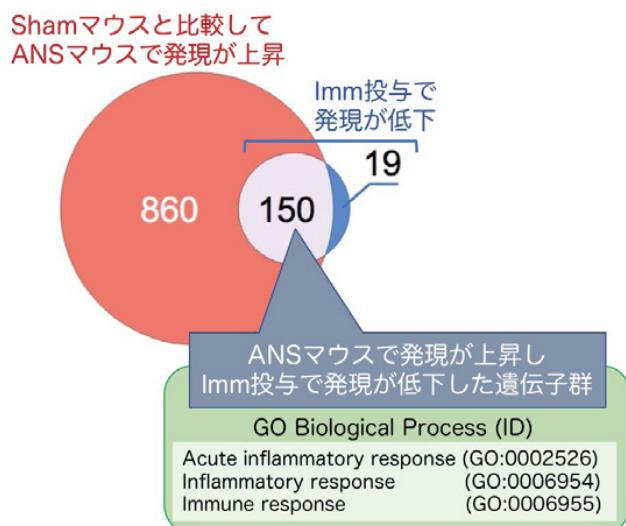
ANS マウスでは、コントロール群(Sham)と比較して、ANS 処置後2週間より尿中へのアルブミン排泄量が有意に増加し、著しいタンパク尿を呈しました。

図4a:ANS マウスの腎臓機能障害:タンパク尿の出現(掲載論文に使用したものを一部改変)



ANS マウスへの Imm 投与により、ANS 処置後4週間での尿中アルブミン排泄量が有意に低下し、タンパク尿が改善しました。

図4b:Imm 投与による ANS マウスのタンパク尿の改善(掲載論文に使用したものを一部改変)



ANS マウスの腎臓を用いた網羅的遺伝子発現解析から、ANS マウスの腎臓で発現上昇した遺伝子群(赤大円:1010 遺伝子)を同定しました。これらの中で、150 の遺伝子(重複領域)がヒスタミン H3 受容体アゴニストである Imm の投与による発現低下を認めました。これら Imm 投与で発現抑制された 150 遺伝子に対する遺伝子オントロジー解析から、炎症関連の経路が同定されたことから、Imm は抗炎症作用をもち、ANS マウスの心腎病態に対して保護的に作用していることを明らかにしました。

ANSマウスで発現上昇した炎症関連遺伝子群がImmの投与で抑制

図5:ANS マウス腎臓のトランскリプトーム解析による、Imm の抗炎症作用の同定

用語解説

注1) アゴニスト

受容体と結合して、ホルモンや神経伝達物質と同様に、細胞を活性化させる作用を有する物質です。

注2) イメトリジン(Immethridine dihydrobromide: Imm)

イメトリジンは、主に神経細胞で発現しているヒスタミン H3 受容体に対する、高親和性・高選択性的なアゴニストです。認知機能障害やてんかん発作への作用を期待されて開発されました。

注3) ANS マウス

血圧上昇ホルモン・アンジオテンシン II(AII)の投与(A)、片腎摘出(N)、食塩水負荷(S)により、心機能低下や心肥大といった心不全を呈するマウスです。本研究では、ANS マウスが心不全に加えて、蛋白尿や腎機能低下など慢性腎臓病様の病態も呈することを見出しました。

参考文献

- 1) Kitbunnadaj, R., *et al.* J. Med. Chem. 47: 2414–2417 (2004)
- 2) Bongartz, L. G. *et al.* Hypertens. 43: e14 (2004)
- 3) Tsukamoto, Y. *et al.* Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. 305: H1658–667 (2013)

掲載論文

【題名】 Histamine receptor agonist alleviates severe cardiorenal damages by eliciting anti-inflammatory programming
(ヒスタミン受容体アゴニストは抗炎症プログラミングを誘導して心腎連関を緩和する)

【著者名】 Kazuyuki Noguchi, Junji Ishida, Jun-Dal Kim, Naoto Muromachi, Koichiro Kako, Hayase Mizukami, Weizhe Lu, Tomohiro Ishimaru, Shohei Kawasaki, Shuzo Kaneko, Joichi Usui, Hiroshi Ohtsu, Kunihiro Yamagata, and Akiyoshi Fukamizu

【掲載誌】 Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America
(DOI: 10.1073/pnas.1909124117)

問合わせ先

深水 昭吉(ふかみず あきよし)

筑波大学生存ダイナミクス研究センター(TARA) 教授

2020年3月10日

報道関係各位

京都産業大学
大阪大学
筑波大学

細菌毒素タンパク質の膜透過機構の一端を解明

■本件のポイント

- ・細菌毒素タンパク質が三次元構造をアンフォールディングさせ、膜透過するメカニズムを原子レベルで解明。
- ・毒素タンパク質と透過装置（膜孔）の複合体構造は構造が不安定で結晶化が難しかったが、クライオ電子顕微鏡による単粒子解析を用いることで、高分解能で複合体構造の構造解析に成功した。
- ・本成果より、細菌毒素の膜透過を阻害する新規創薬の開発につながることが期待される。

■概要

タンパク質は20種類のアミノ酸からなる1本の紐ですが、これが規則的に α -ヘリックス、 β -シートと呼ばれる二次構造を取り、さらに折れ畳んで立体的な三次構造を形成することで初めて機能します。そのため、通常一度折れ畳んだ（フォールディングした）タンパク質は構造を失って、機能を持たない1本の紐にもどる（アンフォールディングする）必要はありません。しかし、ある種の細菌は、タンパク質毒素をアンフォールディングさせ、さらに膜透過をさせてホストの細胞内に入る装置を持っています。

ウェルシュ菌などの細菌が産生する二成分毒素は毒素タンパク質（酵素成分）とこれを宿主の細胞に入れるための透過装置（膜孔）から構成されています。透過装置（膜孔）によって形成される膜孔口径はとても小さいため、酵素成分がこのトンネルを通過する際には、一度形成された三次構造が解かれなければいけません。しかしながら、それがどのようにして起きるのかは明らかにされていませんでした。

今回、本研究グループはウェルシュ菌タイプEが産生する、アクチンをADPリボシリ化する酵素Iaと、Iaを細胞内へ輸送するIb膜孔で構成されるイオタ毒素の複合体の構造を明らかにすることに成功しました。クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子構造解析によって、Ib膜孔とIaが結合したIb膜孔の複合体を2.8~2.9オングストロームという高い分解能で構造決定をしました。

■背景

ウェルシュ菌タイプEが産生するイオタ毒素はアクチンをADPリボシリ化する酵素成分IaとIaを細胞内へ輸送するIb膜孔からなります。Ibは単量体として産生され、プロテアーゼによる分解、7量体化やエンドソームへの取り込みを経て細胞膜に孔を開ける膜孔を形成します。Iaはエンドソームと細胞質のpH差によって生じるエネルギーを利用して、Ib膜孔の中を透過していくと考えられています（図1）。

同じく二成分毒素である、炭疽菌毒素PA（Protective Antigen）もIbと同様な膜孔を形成することが知られています。PA膜孔は構造が明らかにされており、酵素成分が通過する狭窄部位（ ϕ クランプ）は、構造を持たない、ひも状のタンパク質しか通れないほど狭い（6Å）ことが報告されています。しかしながら、酵素成分がどのようにして構造を失うのかは明らかにされていませんでした。

■研究成果

本研究グループは、クライオ電子顕微鏡を用いてIb膜孔とIaが結合したIb膜孔の複合体（2種類：膜に埋まるシステムが形成する前のshort stemとシステムが完全に形成したlong stem）の構造解析に成功しました（図2）。本研究では試験管内の条件で効率的に7量体のIb膜孔を調製する方法を見出し、Ib膜孔の構造解析への道を拓くことができました。さらに調製したIb膜孔に過剰量のIaを添加することでIa-Ib膜孔複合体の構造解析にも成功しました。

この解析から、①Ib膜孔もPA膜孔のようにひも状のタンパク質しか通れない、狭窄部位（ ϕ クランプ）を有すること、②IaがどのようにしてIb膜孔に結合するのか、③IaのN末端がIb膜孔の中で空間的な制約によって構造を失い、ひも状になっている様子を明らかにしました（図3）。

これらの結果から、膜孔への結合が酵素成分の透過に不可欠な構造変化を引き起こすということがわかりました。

■今後の展開

二成分毒素はウェルシュ菌の Ib と炭疽菌の持つ PA と大きく分けると二種類が知られています。どちらも膜孔の構造は似ていますが、膜孔を透過する毒素は前者ではアクチンを ADP リボシル化する Ia であり、後者の LF/EF とはその機能も構造も大きく異なっています。後者では、LF の 3 分子が PA 膜孔に結合するモデルが提唱されており、生化学実験の結果を合わせて、その膜透過機構が論じられてきました。

これらの構造を比較すると、Ib 膜孔/Ia ではそのストイキオメトリー、結合モードも大きく異なることがわかりました（図4）。また、Ia が結合した Ib 膜孔の複合体構造から、Ia のアンフォールディングと膜透過の機構を提唱しました一すなわち「三次構造をとっているタンパク質がどのように解けて膜孔を透過するか」というタンパク質膜透過機構の一端の解明につながりました（図5）。すでに似た構造を持つ膜孔がナノポアシーケンサーとして DNA シーケンスで用いられるようになっています。応用として、将来は、この膜孔装置を生かしたタンパク質のアミノ酸シーケンスも可能になると考えています。

■論文情報

タイトル	Cryo-EM structures reveal translocational unfolding in the clostridial binary iota toxin complex (クライオ電子顕微鏡により明らかにした細菌毒素タンパク質の膜透過機構)
著　者 (¹ 筆頭・ ² 責任著者)	山田等仁 ¹ 、吉田徹 ¹ 、津下英明 ² （京都産業大学） 川本晃大 ¹ 、光岡薰（大阪大学）
【所属：研究当時】	岩崎憲治（筑波大学）
雑　誌	英国科学誌「Nature Structural & Molecular Biology」オンライン版
発行年月	2020年3月3日1:00（日本時間）[オンライン]
DOI(英語)	10.1038/s41594-020-0388-6

■用語・事項の解説

1 アンフォールディング

タンパク質は 20 種のアミノ酸が数十から数千つながってできたポリペプチド鎖からなり、これが折れ畳んで機能する構造となる。この折れ畳みをフォールディングという。

一方、アンフォールディングはこの折れ畳みが解けることを表す。一般的に、フォールディングしたタンパクは自然にはアンフォールディングせず、アンフォールディングさせるには何らかの機構が必要となる。二成分毒素では、酵素成分（A 成分）をアンフォールディングさせた後、膜孔透過装置（B 成分）を透過させ、さらにフォールディングさせるという、調整を行っている。

2 クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析

ガラス状氷に凍結した試料を液体窒素温度下で、電子線を照射し、生体分子を染色することなく電子顕微鏡で観察する（クライオ電子顕微鏡法）。従来、タンパク質の構造決定は X 線結晶構造解析により行われてきた。しかし近年電子線直接検知型・超高速 CMOS カメラの開発と、単粒子解析法ソフトウェアの発展により、結晶化しない生体試料でも高い分解能の構造を決定することができるようになった。これにより、結晶化が難しい試料、巨大分子や複数の構造が共存する試料の解析も可能になった。2017 年に、その開発に貢献した研究者 3 名がノーベル化学賞を受賞している。

3 二成分毒素

イオタ毒素に代表される二成分毒素は、アクチンを ADP リボシル化する A 成分とエンドサイトーシスを介して、A 成分を細胞内へ透過する B 成分からなる。この仲間には、ヒト感染性のディフィシル菌が持つ CDTa/CDTb があり、ToxA、ToxB に続く第 3 の毒素として注目されている。また異なるグループの二成分毒素には、炭疽菌の二成分毒素があり、機能も構造もイオタ毒素とは異なる A 成分 LF/EF と A 成分を細胞内へ透過する膜孔 B 成分 PA を持つ。

■添付資料

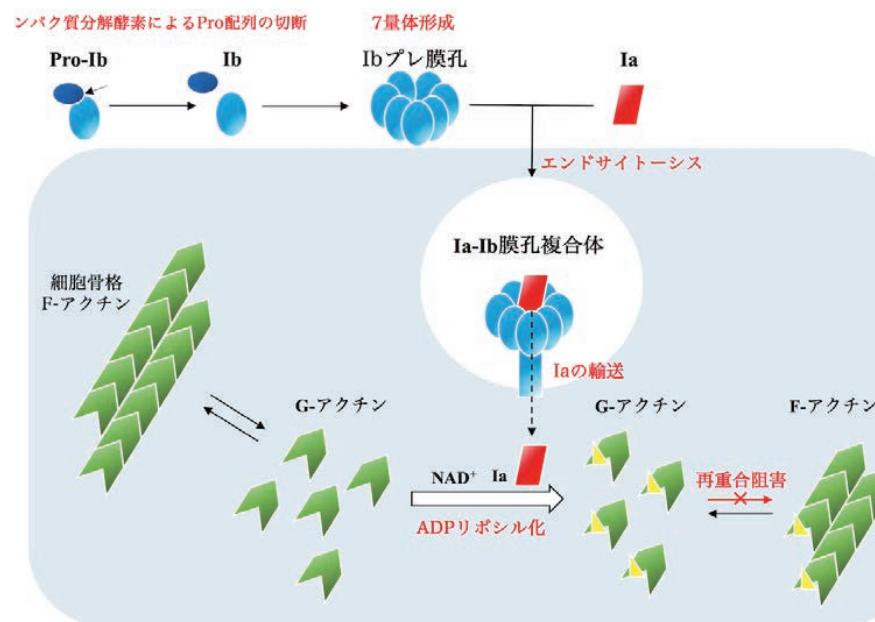


図1. イオタ毒素の細胞侵入機構

ウェルシュ菌から産生された膜結合成分 Ib は膜孔を形成し、酵素成分 Ia を細胞内に輸送する。Ia は細胞内に侵入すると細胞骨格を形成するアクチンを ADP リボシル化し、アクチンの再重合を阻害する。

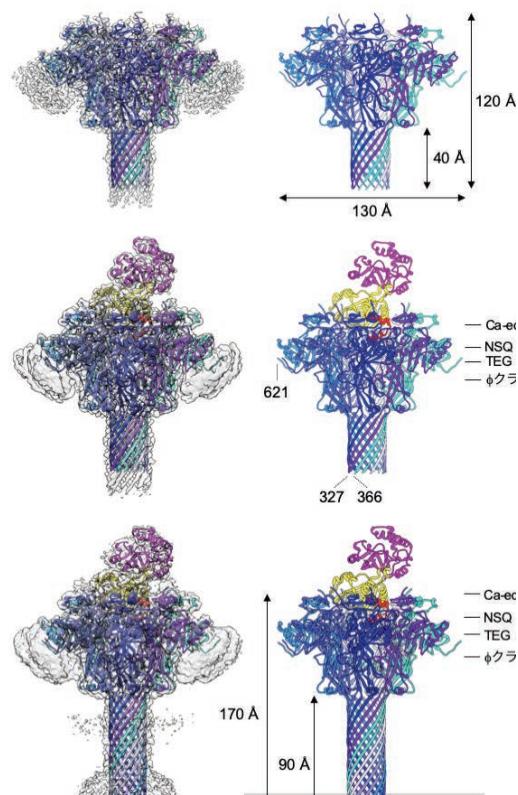


図2. 本研究によって明らかにしたイオタ毒素の構造

電子顕微鏡によって得られた密度マップおよび、これをもとに作成したモデルを表示している。

上：Ib 膜孔 中：Ia が結合した Ib 膜孔 (short stem) 下：Ia が結合した Ib 膜孔 (long stem)

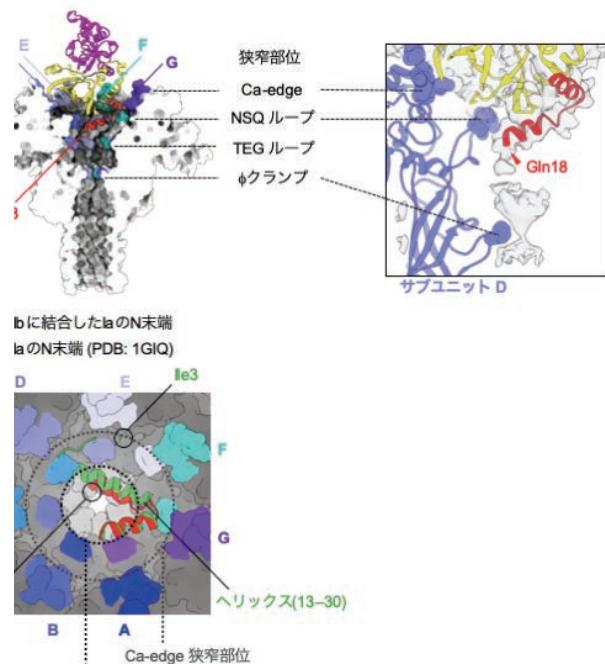


図3. Ia の N 末端の構造変化

Ia は Ib 膜孔への結合によって膜孔内部の NSQ ループと呼ばれる狭窄部位で二次構造である α ヘリックスが失われる。解けた N 末端は膜孔の更に深部にある ϕ クランプへ続いている。

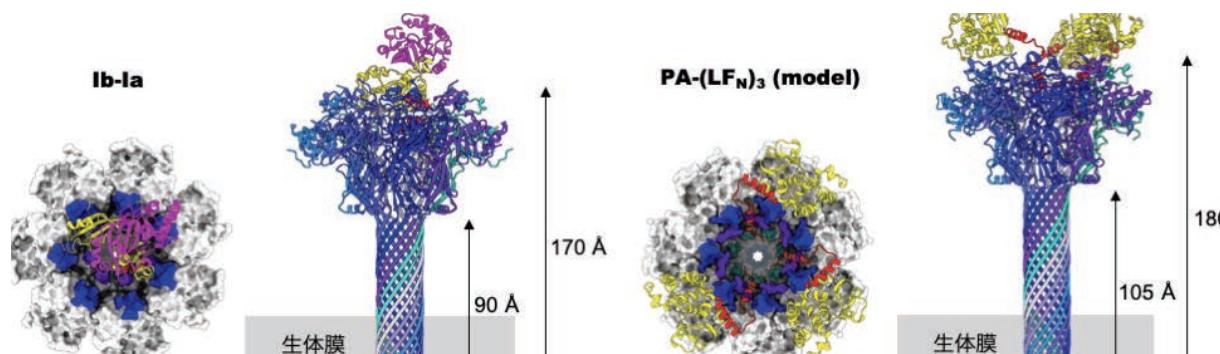


図4. ウエルシュ菌毒素と炭疽菌毒素の比較

ウェルシュ菌 二成分毒素複合体(Ib-Ia) と炭疽菌 二成分毒素複合体 (PA- 3LFN) の構造の比較。炭疽菌は先行研究をもとに予想したモデルである。両者で Ia と LFN の結合の仕方が大きく異なることがわかる。

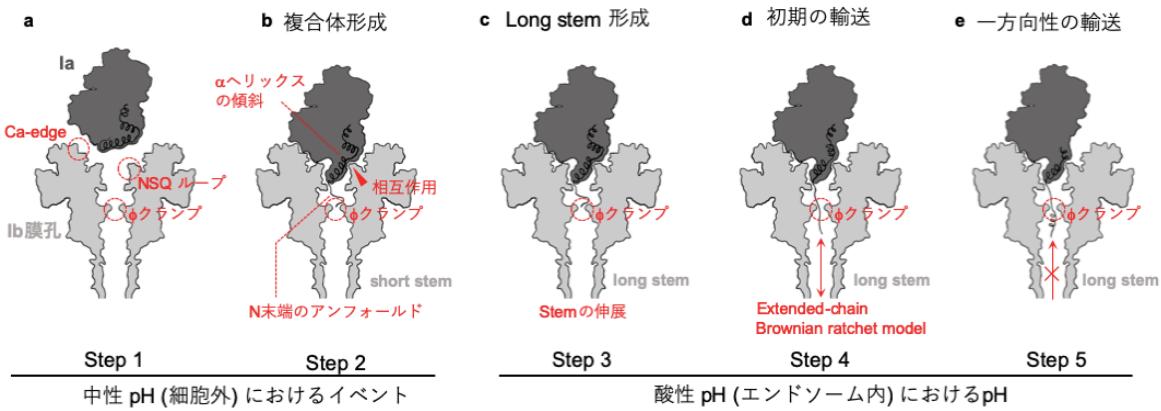


図5. 本研究をもとに提唱する輸送モデル

a. 一つのIaがIb膜孔に結合する (short stem)。b. IaはIb膜孔への結合によってN末端の構造が失われる。エンドソーム中の酸性pHによってc. Ib膜孔のβバレルが完全に形成される (long stem)。d. 構造を失ったIaのN末端が狭いφクランプを透過する。e. IaのN末端が再び構造を取り戻し、狭いφクランプによって逆行輸送が制限される。

【研究に関する問い合わせ】

京都産業大学大学院 生命科学研究科 津下 英明教授 (つげ ひであき)

TEL : 075-705-3117

E-mail: tsuge@cc.kyoto-su.ac.jp

大阪大学 蛋白質研究所 川本 晃大助教 (かわもと あきひろ)

TEL : 06-6879-8605

E-mail: kawamoto@protein.osaka-u.ac.jp

筑波大学 生存ダイナミクス研究センター 岩崎憲治教授 (いわさき けんじ)

TEL: 029-853-6045

E-mail: ikenji@tara.tsukuba.ac.jp

■謝辞

この研究は、JSPS科研費(18K06170, 17K15095),「文部科学省ナノテクノロジープラットフォーム」の支援を受け実施されました。また、本研究の一部は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム(BINDS)の課題番号JP19am0101072の支援を受けました(支援番号1232)。

【報道に関する問い合わせ】

京都産業大学 広報部

TEL : 075-705-1411

E-mail : kouhou-bu@star.kyoto-su.ac.jp

以上

2020年3月12日

報道関係者各位

国立大学法人 筑波大学

生殖細胞が作られる過程で細胞分裂サイクルが停止する機構を解明

研究成果のポイント

1. 生殖細胞(卵や精子)が形成される過程において、細胞分裂サイクルの進行を停止させる機構を明らかにしました。
2. この停止機構を解除すると、生殖細胞形成が正常に進行しないことを発見しました。
3. 細胞分裂サイクルの停止は多くの動物の生殖細胞形成過程で観察されることから、本研究成果は、他の動物における同様の機構や、その意義を明らかにする研究の基盤になると考えられます。

国立大学法人筑波大学 生存ダイナミクス研究センター(TARA) 森田俊平 研究員(研究当時、現 米国ブラウン大学・博士研究員)、太田龍馬 研究員、林 誠 助教および小林 悟 教授は、生殖細胞の形成過程において細胞分裂サイクルを停止させる機構を明らかにしました。

生殖細胞(卵や精子)は、発生初期に形成される始原生殖細胞に由来します。ショウジョウバエの始原生殖細胞は、その細胞分裂サイクルを停止していることが知られていますが、その詳細な機構はわかつていませんでした。本研究では、形成直後の始原生殖細胞において、miR-10404と呼ばれるマイクロRNA^{注1)}の合成が抑えられ、それにより、始原生殖細胞の細胞分裂サイクルを停止させる働きを持つ、dcpo (dap)と呼ばれる遺伝子が活性化していることを明らかにしました。さらに、始原生殖細胞の細胞分裂サイクルを強制的に開始させると、生殖細胞形成過程が正常に進行できなくなることも発見しました。このことは、細胞分裂サイクルの停止が、ショウジョウバエの生殖細胞形成過程において重要な役割を果たしていることを示しています。細胞分裂サイクル停止は多くの動物に共通する生殖細胞形成過程の特徴の1つであり、本研究の成果は、他の動物においても同様の機構を明らかにする糸口となることが期待されます。

本研究の成果は、2020年2月28日付「iScience」でオンライン先行公開されました。

* 本研究は、日本学術振興会が助成する科学研究費補助事業 新学術領域研究 「PGCの形成を制御する遺伝子ネットワークの解明」(研究期間:平成25~29年度)、「生殖細胞発生過程における選択機構の解明」(研究期間:平成30~34年度)によって実施されました。

研究の背景

ショウジョウバエの生殖細胞(卵や精子)は、卵の後端に形成される始原生殖細胞に由来します。始原生殖細胞は、卵の後端から卵巢や精巢(生殖巣)へ移動し、生殖巣中で卵や精子を生み出します。この生殖巣への移動過程において、始原生殖細胞の細胞分裂サイクルは停止しています。

細胞分裂サイクルは、以下の4つのステップから成っています。それらは、①DNA(デオキシリボ核酸)に書き込まれている遺伝子情報のセットをコピー(複製)する「DNA複製期」(S期)、②分裂準備期(G2期)、③遺伝情報をそれぞれ1セット持つ2つの細胞を分裂により生み出す「細胞分裂期」(M期)、④複製準備期(G1期)です(参考図)。始原生殖細胞では、G2期からM期への移行とG1期からS期への移行が抑制されています。このうちG2期からM期への移行は、始原生殖細胞に取り込まれる`nanos`(nos)と呼ばれる遺伝子の産物(Nanosタンパク質)により抑制されていることが明らかになっていました参考文献1)。さらに、この抑制を解除しても、細胞分裂サイクルはG1期で停止してしまうことから、Nanosタンパク質は、G1期からS期への移行も抑制していると考えられてきました。しかし、その制御機構は長い間不明でした。そこで本研究では、このG1期からS期への移行を抑える機構を明らかにし、細胞分裂サイクルの停止が生殖細胞形成過程に果たす役割の解明を目指しました。

研究内容と成果

本研究では、以下の点について明らかにしました。

(1) 細胞の中には、「核小体」と呼ばれる領域が存在します。核小体では、リボソームDNAからリボソームRNAが合成されます。しかし、形成直後の始原生殖細胞中には、この核小体が観察されません。本研究グループは、この核小体の形成が、始原生殖細胞に取り込まれるPolar granule component(Pgc)タンパク質をコードする`pgc`遺伝子により抑制されていることを明らかにしました。さらに、`pgc`遺伝子は、リボソームRNAだけでなく、リボソームDNAにコードされるmiR-10404と呼ばれるマイクロRNA参考文献2)の合成を抑制することもわかりました。

(2) miR-10404は、`dacapo`(dap)と呼ばれる遺伝子の働きを抑えることを明らかにしました。`dap`遺伝子は、細胞分裂サイクルのG1期からS期への移行を妨げます。すなわち、始原生殖細胞では、miR-10404の合成が抑えられ、`dap`遺伝子が働くことにより、G1期からS期への移行が抑制されていることを見出しました。

(3) `pgc`遺伝子は`nos`遺伝子が働くために必要であることがわかっています。従って、`pgc`遺伝子の機能を欠く始原生殖細胞では、`nos`遺伝子の働きにより抑制されるはずのG2期からM期への移行が進行してしまうと考えられます。それと同時に、miR-10404が合成され、`dap`遺伝子を抑制することで、G1期からS期への移行阻害が解除されます。実際に、`pgc`遺伝子の機能を欠く始原生殖細胞では、G2期からM期への移行阻害とG1期からS期への移行阻害が同時に解除されることを明らかにしました(参考図)。

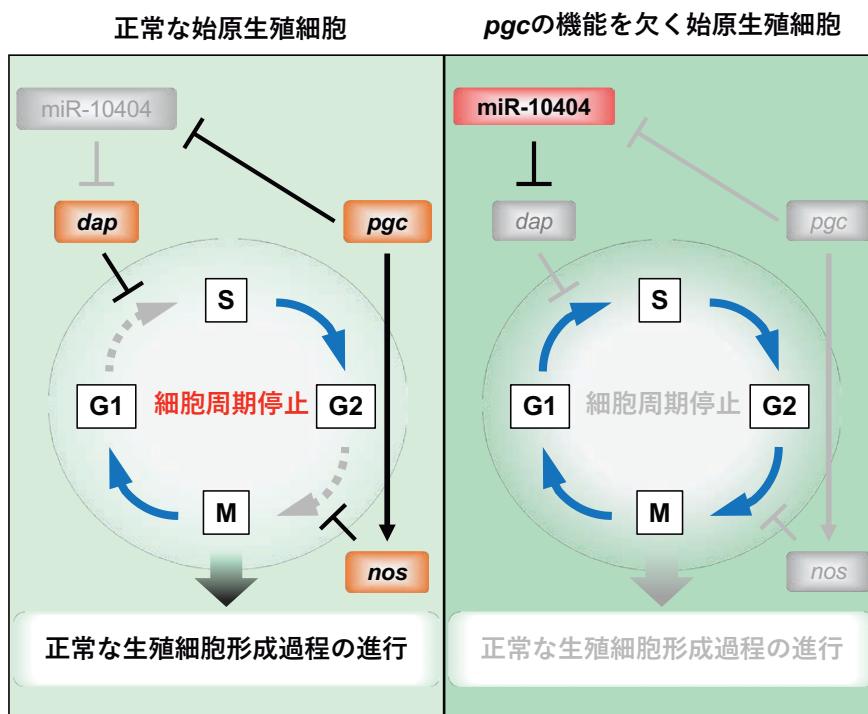
(4) 始原生殖細胞の細胞分裂サイクルにおいて、阻害されるべき、G2期からM期、および、G1期からS期への移行を強制的に開始させると、始原生殖細胞数が減少したり、生殖巣へと正常に移動できなくなるなどの異常が観察されました。

以上の成果から、ショウジョウバエ始原生殖細胞における細胞分裂サイクルの停止機構の全貌が明らかとなりました。また、この細胞分裂サイクルの停止が、ショウジョウバエの生殖細胞形成過程において重要な役割を果たしていることがわかりました。

今後の展開

細胞分裂サイクル停止は多くの動物に共通する生殖細胞形成過程の特徴の1つであり、今後、他の動物においても同様の機構を解析する上での重要な基盤となることが期待されます。

参考図



始原生殖細胞の細胞分裂サイクルにおける *pgc* 遺伝子の働き

(左図)*pgc* 遺伝子が働いていると、*nos* 遺伝子の活性化と、miR-10404 合成抑制に伴う *dap* 遺伝子の活性化により、細胞分裂サイクルのうち、G2 期から M 期、および G1 期から S 期への移行が阻害され、細胞分裂サイクルが停止する。

(右図)*pgc* 遺伝子の機能を欠くと、*nos* 遺伝子が働くことなく、また、miR-10404 が合成されて *dap* 遺伝子を抑制するため、細胞分裂サイクルが停止せず、生殖細胞形成に異常が生じる。

用語解説

注1) マイクロ RNA

20～25 塩基長の極小 RNA であり、他の遺伝子の働きを抑制することができる。

参考文献

- (1) Asaoka-Taguchi, M., Yamada, M., Nakamura, A., Hanyu, K., and Kobayashi, S. (1999). Maternal Pumilio acts together with Nanos in germline development in *Drosophila* embryos. *Nat. Cell Biol.* 1, 431–437.
- (2) Chak, L., Mohammed, J., Lai, E.C., Tucker-Kellogg, G., and Okamura, K. (2015). A deeply conserved, noncanonical miRNA hosted by ribosomal DNA. *RNA* 21, 375–384.

掲載論文

【題名】 Repression of G1/S transition by transient inhibition of miR-10404 expression in *Drosophila* primordial germ cells

(ショウジョウバエ始原生殖細胞における一過的な miR-10404 の発現抑制による G1/S 移行の停止)

【著者名】 Shumpei Morita, Ryoma Ota, Makoto Hayashi and Satoru Kobayashi

【掲載誌】 iScience (DOI: 10.1016/j.isci.2020.100950)

問合わせ先

小林 悟(こばやし さとる)

筑波大学 生存ダイナミクス研究センター 教授

News Release



令和2年4月7日

各報道機関文教担当記者 殿

ナノサイズの細胞外膜小胞の物性イメージングに成功 ～細菌は不均一な性質の膜小胞を放出する～

金沢大学理工研究域生命理工学系／ナノ生命科学研究所の田岡東准教授らと筑波大学生命環境系および微生物サステイナビリティ研究センターの野村暢彦教授らの共同研究グループは、細菌が環境中に放出する微小な袋状の膜構造体（メンブレンベシクル：MV（※1））の物理的性質を原子間力顕微鏡（※2）と呼ばれる顕微鏡技術を用いて調べる方法を開発しました。

近年の国内外の研究で、MVは、細菌間の情報伝達やタンパク質の輸送、遺伝子の水平伝播に関与し、抗生物質やファージ（※3）への「おとり」として働いて細菌の生存を助けるなど、細菌の生存戦略に深く関わる重要な因子であることが報告されています。しかし、細菌が放出するMVの大きさは直径20～400ナノメートル（nm, ※4）程度と極めて小さいだけでなく、リン脂質膜（※5）という非常に柔らかくもらい構造でつくられていることから、MV粒子一つ一つの性質を個別に調べる方法は開発されておらず、MVの詳しい実態はこれまで明らかにされていませんでした。

本共同研究グループは、溶液中でMV1粒子の物理的性質を定量的に調べる方法を開発し、4種類の細菌が放出したMVの性質を比較しました。その結果、1種類の細菌が物理的性質の異なる多様な性質のMVを放出すること、また細菌種ごとに放出するMVに種特異的な性質の違いがあることを見いだしました。

MV1粒子の解析を可能にした本手法は、MVの実態解明や、MVを介した生命現象のメカニズムの解明に貢献することが期待されます。

本研究の成果は、2020年3月23日に国際学術雑誌『Nanoscale』のオンライン版に掲載されました。

【研究の背景】

細菌は、細胞膜で構成された微小な袋状の膜構造体であるMVを環境中に放出します。このMVは、細菌の生存のためのさまざまな役割を持つことが、近年の研究により明らかになりました（図1）。例えば、MVは、情報伝達分子や遺伝物質を含み、細菌の細胞と細胞との間での情報伝達や遺伝子の伝播を仲介します。また、細菌による感染では、毒素因子の運搬や病巣でのバイオフィルムの形成など、細菌の病原性にも関わっています。さらに、抗生物質やファージへの「おとり」として細菌が生き抜くための防御に働くことが知られています。このようにMVは、細菌の生存戦略のための多様な役割を果たしています。また、細菌がMVを形成するメカニズムに、複数の経路が存在することが分かり、MVの機能や性質に多様性があるのではないかという仮説が提唱されました。

細菌の放出するMVの分子レベルの実態は不明な点が多く、MVが多様な機能を担う仕組みや、一つ一つのMVの性質については、よく分かっていません。MVは、直径20～400 nm程度と非常に小さく、また壊れやすい細胞膜でできているため、MV 1粒子の性質を生理的環境下で詳細に調べることが困難でした。そのため、MVの性質を生理的環境に近い溶液中でナノメートルレベルの分解能で解析することができる新しい手法の開発が求められていました。

【研究成果の概要】

本共同研究グループは、原子間力顕微鏡の位相イメージング（※6）を用いて、MV 1粒子の物理的な性質を測定する手法を開発しました（図2）。原子間力顕微鏡の位相イメージングは、表面化学やマテリアルサイエンスの分野で、主に無機物の物性測定に用いられる方法です。本研究では、その手法を生体試料の観察に応用しました。しかし、従来の原子間力顕微鏡は、試料に与える力が強く、柔らかく壊れやすいMVを観察することは困難です。そこで、本研究では、タンパク質分子や細胞などの壊れやすい生体物質を生理的な溶液中で観察することに特化した高速原子間力顕微鏡（金沢大学ナノ生命科学研究所の安藤敏夫特任教授らが開発）を用いることで、ナノメートルサイズの小ささかつ柔らかく壊れやすいMV 1粒子の物理的性質の測定に成功しました（図3）。

この高速原子間力顕微鏡の位相イメージングにより、3種類のグラム陰性細菌と1種類のグラム陽性細菌が放出したMVの物性分布を調べて比較しました。その結果、これらの細菌は、物性の異なる複数のタイプのMVを放出することを初めて実験的に確かめることができました。さらに、細菌が環境中に放つMVの物理的特性には細菌種ごとに特異性があることが明らかになりました。このようなMVの不均一性は、MVの形状や構造ではなく、MVを構成する物質組成に起因することが示唆されました。本研究により、MVの性質に多様性があることが初めて示されました。

【今後の展開】

本研究でMVの不均一性が実験的に確かめられたことは、MVの機能多様性やMVによる種特異的な情報伝達のメカニズムを検証するために重要な知見と考えられます。細胞外に膜小胞を放出する現象は、細菌だけでなく、動物やヒトの組織でもよく知られて

います。本研究で開発された1粒子の膜小胞の物性解析法は、多様な細胞外膜小胞の研究への応用が期待できます。

本研究は、科学技術振興機構（J S T）の戦略的創造研究推進事業E R A T O「野村集団微生物制御プロジェクト」（研究総括：野村暢彦）および文部科学省世界トップレベル研究拠点プログラム（WPI）の支援を受けて実施されました。

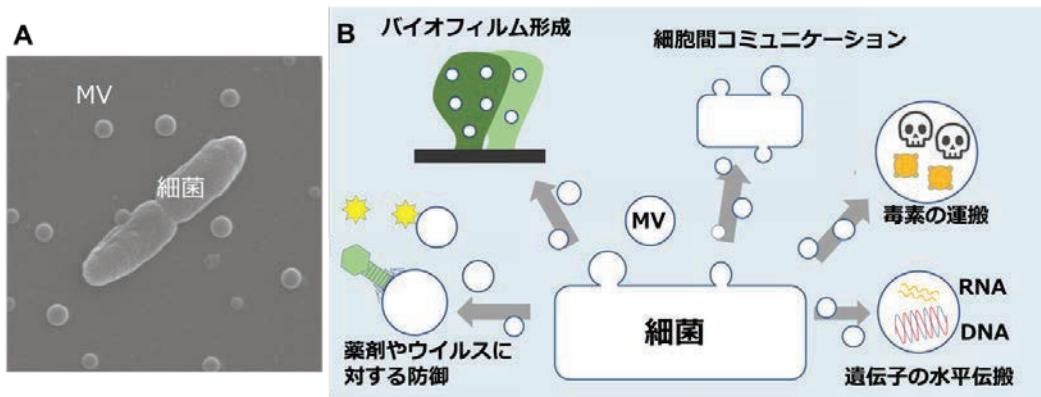


図1. メンブレンベシクル（MV）の多様な役割

MVは、細菌が細胞外に放出する細胞膜で構成された膜小胞である（A）。細菌が放出するMVにはさまざまな役割がある（B）。例えば、MVは、細菌をターゲットとする薬剤やウイルスから細菌を防御するおとりとしての役割や、バイオフィルムと呼ばれる細菌集団が作るスライム状の構造体の材料を提供する。また、シグナル分子を介した細胞間コミュニケーション、毒素の運搬、さらに新しい形質を獲得するための遺伝子の水平伝播など物質の運び手として働く。

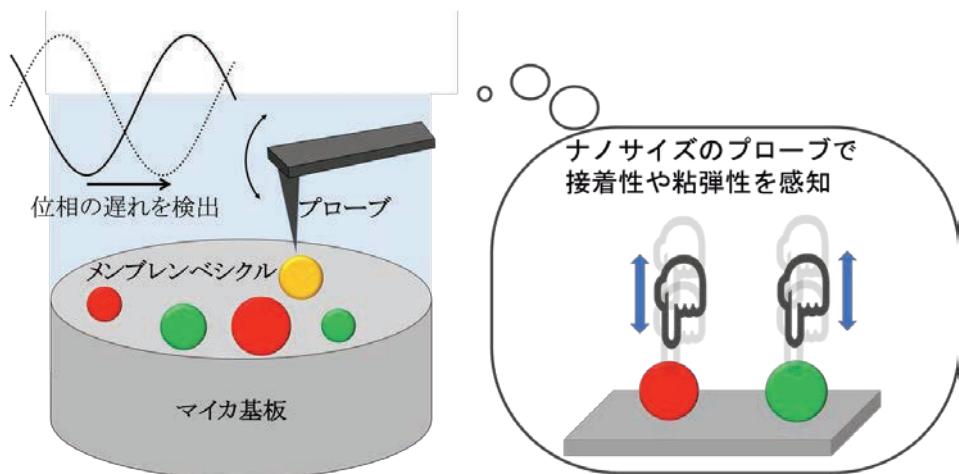


図2. 高速原子間力顕微鏡による位相イメージングの概要図

高速原子間力顕微鏡は、マイカ基板の上に固定された試料のイメージングを行う。プローブと呼ばれる非常に鋭い針が、振動しながら試料の上をなぞることで、試料の形を画像化する。このイメージング中に位相の遅れと呼ばれるプローブ振動の変化を検出し、位相遅れを画像化するのが位相イメージングである。この位相の遅れは、プローブがなぞっている試料表面の接着性や粘弾性などの物理的性質に依存する。本研究グループは、個々のMV粒子の物理的性質を、位相イメージングによって見える化した。

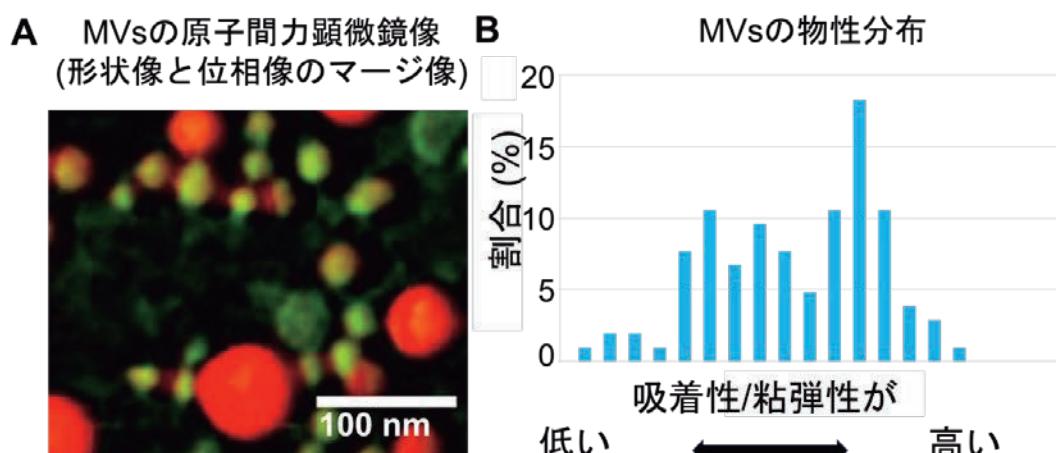


図3. 高速原子間力顕微鏡によるMV粒子の位相イメージング結果

高速原子間力顕微鏡の位相イメージングによって見える化された1種類の細菌から放出されたMV粒子の表面物性(A)。位相イメージングでは、MV粒子ごとの物理的性質の違いが色で示される。赤いMV粒子は吸着性や粘弾性が低く、MV粒子の色がオレンジから黄色、緑となるにつれて吸着性や粘弾性が高いことを表す。このような高速原子間力顕微鏡像から、MVの物性分布を定量的に解析した(B)。その結果、1種類の細菌が分泌したMVは、物理的な性質が異なる粒子の集団であることが明らかになった。

【掲載論文】

雑誌名 : Nanoscale

論文名 : Diversity of physical properties of bacterial extracellular membrane vesicles revealed through atomic force microscopy phase imaging

(原子間力顕微鏡の位相イメージングによって明らかになった細菌の細胞外膜小胞の物性多様性)

著者名 : Yousuke Kikuchi, Nozomu Obana, Masanori Toyofuku, Noriyuki Kodera, Takamitsu Soma, Toshio Ando, Yoshihiro Fukumori, Nobuhiko Nomura*, Azuma Taoka*

(* equal contribution)

(菊池 洋輔, 尾花 望, 豊福 雅典, 古寺 哲幸, 相馬 隆光, 安藤 敏夫, 福森 義宏, 野村 暢彦*, 田岡 東*) (*同等貢献)

掲載日時 : 2020 年 3 月 23 日にオンライン版に掲載

DOI : 10.1039/C9NR10850E

【用語解説】

※1 メンブレンベシクル : MV

細菌が環境中に放出する細胞膜によって構成される直径 20 ~ 400 nm の微小粒子のこと。ほとんどの細菌が MV を形成し、環境中の物質循環や生態系に大きな影響を及ぼすと考えられている。

※2 原子間力顕微鏡

走査型プローブ顕微鏡の一種であり、先端が極めて鋭い探針が試料表面を走査しながら試料の表面の凹凸の計測を行う。

※3 ファージ

細菌に感染するウイルスの総称。ファージが細胞膜に結合することで細菌は感染する。

※4 ナノメートル (nm)

長さの単位で 100 万分の 1 ミリメートル。

※5 リン脂質膜

親水性と親油性を併せ持つリン脂質が二層になった膜。生物の細胞膜を構成する基本構造として利用されている。

※6 位相イメージング

原子間力顕微鏡の測定モードの一つ。試料表面の物理的性質（吸着性や粘弾性など）がプローブ振動の位相遅れと呼ばれる物理量に影響を与える。位相イメージングは、この位相遅れを利用して、試料表面の物理的性質の違いを可視化する。

【本件に関するお問い合わせ先】

■研究内容に関すること

金沢大学理工研究域生命理工学系／ナノ生命科学研究所 准教授

田岡 東（たおか あずま）

TEL : 076-264-6234

E-mail : aztaoka@staff.kanazawa-u.ac.jp

筑波大学生命環境系／微生物サステイナビリティ研究センター 教授

JST ERATO 野村集団微生物制御プロジェクト 研究総括

野村 暁彦（のむら のぶひこ）

TEL : 029-853-6627

E-mail : nomura.nobuhiko.ge@u.tsukuba.ac.jp

■広報担当

金沢大学総務部広報室広報係

上沼 孝平（かみぬま たかひら）

TEL : 076-264-5024

E-mail : koho@adm.kanazawa-u.ac.jp

金沢大学ナノ生命科学研究所事務室

米田 洋恵（よねだ ひろえ）

TEL : 076-234-4556

E-mail : nanolsi-office@adm.kanazawa-u.ac.jp

筑波大学広報室

TEL : 029-853-2040

E-mail : kohositu@un.tsukuba.ac.jp

4. 公募型研究プロジェクト（TARA プロ）

生存ダイナミクス研究センターでは、センターを拠点とする共同研究体制をさらに充実させる為、新たな TARA プロジェクトの枠組みとして「公募型研究プロジェクト」を整備し、平成 30 年度より研究課題の公募を行っております。令和元年度は、学外との共同研究体制の確立と強化を目指す観点から学外公募のみとし、16 件が採択されました。本センターから、研究経費のほか、設置の共通機器類、センターの有する細胞株・遺伝子資源・抗体・遺伝子改変モデル生物、質量分析計を用いた各種オミクス解析技術、実験動物施設、クライオ電子顕微鏡とこれを用いた単粒子解析手法などが採択された研究者に提供されました。

（1）代謝・加齢・寿命に関する研究領域

動物を対象とする栄養・代謝やこれに関連する各種疾患、発生、老化や寿命に関わる生命現象などを対象とする共同研究（質量分析計等を用いた各種オミクス解析に関する技術提供も実施）

（2）免疫・自己免疫疾患に関する研究領域

広く免疫システムに関わる研究を対象とし、特に免疫による癌・アレルギー・炎症の制御を目的とする研究に加え、自己免疫疾患とその発症メカニズムをターゲットとする共同研究

（3）循環器・細胞外基質・幹細胞に関する研究領域

循環器、皮膚等を主な対象とし、幹細胞および細胞外マトリクスの相互作用と組織の恒常性維持に関する研究に加え、力学的ストレスなどの物理刺激に対する細胞や組織の応答に関する共同研究

（4）生殖細胞・内分泌に関する研究領域

ショウジョウバエ等を主な材料とし、生殖細胞の形成と維持、およびその品質管理に関する生命現象を広く対象とする共同研究

（5）クライオ電子顕微鏡を用いた構造生物学に関する研究

クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析法等により、生体分子の構造解析とその機能の解明や、その応用等を目的とする共同研究（電子顕微鏡を用いた試料分析や単粒子解析法などの技術提供も実施）

（6）神経と古門に関する研究領域

ショウジョウバエを主材料として、神経やホルモンによる発生・生殖・エネルギー代謝・老化・寄生の制御メカニズムの解明を目指した共同研究（哺乳動物で見出された遺伝子の機能をショウジョウバエで解析するための技術提供も実施）

TARAプロジェクト採択課題一覧

採択課題	研究代表者	TARA 協力教員
アンドロゲン受容体による骨格筋制御機構の解明	愛媛大学 教授 今井祐記	深水 昭吉
線虫の正の放射線応答における栄養シグナル制御の関与の解析	量子科学技術研究開発機構 主幹研究員 鈴木芳代	深水 昭吉
線虫の食餌量の変化が生体に与える影響	東京女子医科大学 講師 廣田恵子	深水 昭吉
PRMT1 の自己集合構造が制御するアルギニンメチル化反応の構造科学研究	奈良先端科学技術大学院大学 准教授 藤間祥子	深水 昭吉
難治性呼吸器疾患の治療法探索に向けた包括的解析	千葉大学 准教授 粕谷善俊	深水 昭吉
腎臓・血管機能不全における fibulin-7 の機能探索と治療応用	東京女子医科大学 助教 杉浦秀和	柳沢 裕美
石灰化促進因子 fibulin-7 の生化学的解析および、その阻害抗体作製	横浜市立大学 特任准教授 常住淳	柳沢 裕美
家族性大動脈弁上狭窄症におけるエラスタン遺伝子変異の同定	茨城県立こども病院 医長 林立申	柳沢 裕美
細胞の内在性蛍光パターン分析による培養精巢組織評価法の開発	横浜市立大学 教授 小川毅彦	小林 悟
昆虫始原生殖細胞の1細胞トランスクリプトーム解析	基礎生物学研究所 教授 重信秀治	小林 悟
細胞の内在性蛍光パターンを指標とした精原細胞単離法の開発	東京海洋大学 教授 吉崎悟朗	小林 悟
Live Imaging によるほ乳動物卵の細胞小器官の動態および内在性蛍光パターンと発生能との相関解析	東京農業大学 教授 尾畠やよい	小林 悅
熱ショックタンパク質によるインスリン様ペプチド産生制御機構の解明	静岡県立大学 助教 大原裕也	小林 悅

生殖細胞および神経細胞の老化における細胞内代謝の役割の解明	産業技術総合研究所 研究グループ長 波平昌一	小林 悟
抗体断片を利用した低分子量膜タンパク質の単粒子解析	横浜市立大学 准教授 禾晃和	岩崎 憲治
ステロイド生合成中間体および植物ステロイドによる昆虫ステロイド制御因子 Noppera-bo の活性阻害に関する研究	京都大学 助教 小野肇	丹羽 隆介

5. アウトリーチ活動

TARAセミナー

TARA見学者

TARAセミナー

講師氏名： James F. Martin

所 属： Professor, Baylor College of Medicine

演 題： Hippo-signaling in Heart Regeneration

日 時： 平成 31 年 4 月 1 日（月） 13:00~14:00

場 所： TARA センター A 棟 2 階セミナー室

講師氏名： 田守 洋一郎

所 属： 北海道大学遺伝子病制御研究所・教授

演 題： Mechanical compensation in postmitotic tissue repair

日 時： 令和元年 5 月 22 日（水） 16:30~17:30

場 所： TARA センター A 棟 2 階セミナー室

講師氏名： 横山 武司

所 属： 理化学研究所生命機能科学研究センター・研究員

演 題： クライオ電顕単粒子解析により明らかにされたリボソームの構造機能相関

日 時： 令和元年 7 月 2 日（火） 14:00~15:00

場 所： TARA センター A 棟 2 階セミナー室

講師氏名： 尾崎 遼

所 属： 筑波大学医学医療系生命医科学域 バイオインフォマティクス研究室 人工知能科学センター・准教授

演 題： 複雑な生命現象を理解するためのバイオインフォマティクス

日 時： 令和元年 7 月 2 日（火） 16:30~17:30

場 所： TARA センター A 棟 2 階セミナー室

講師氏名： 真下 知士

所 属： 大阪大学大学院医学系研究科附属動物実験施設 附属共同研ゲノム編集センター・准教授

演 題： 動物生命科学におけるゲノム編集技術の利用

日 時： 令和元年 7 月 4 日（木） 17:00~18:00

場 所： TARA センター A 棟 2 階セミナー室

講師氏名： 茂木 文夫
所 属： シンガポール国立大学・助教
演 題： Mechanical control of symmetry breaking in zygotes ～受精卵における『対称性の破れ』のメカニクス～
日 時： 令和元年 8月 26 日（月）17：15～18：00
場 所： TARA センター A 棟 2 階セミナー室

講師氏名： 西村 有香子
所 属： シンガポール国立大学・研究員
演 題： A Mechano-signalling network for integrin-based adhesions～細胞接着構造を制御するメカノシグナルネットワーク～
日 時： 令和元年 8月 26 日（月）16：30～17：15
場 所： TARA センター A 棟 2 階セミナー室

講師氏名： Robert Passier
所 属： Department Chair, Professor Applied Stem Cell Technologies University of Twente, The Netherlands
演 題： Advanced human stem cell-based models for mimicking cardiovascular disease. Towards personalized medicine.
日 時： 令和元年 9月 9 日（月）17：00～18：00
場 所： TARA センター A 棟 2 階セミナー室

講師氏名： Jonathan G. Heddle
所 属： Bionanoscience and Biochemistry Laboratory, Malopolska Center of Biotechnology, Jagiellonian University, The Republic of Poland
演 題： 合成構造生物学：オーダーメードでタンパク質と DNA のナノ構造を作る
日 時： 令和元年 9月 19 日（木）15：00～16：30
場 所： TARA センター A 棟 2 階セミナー室

講師氏名： Rita C. Tostes
所 属： Professor, Department of Pharmacology, Ribeirao Preto Medical School, University of Sao Paulo, The Federative Republic of Brazil
演 題： The impact of testosterone in the cardiovascular system: still a controversial topic
日 時： 令和元年 9月 20 日（金）16：00～17：15
場 所： TARA センター A 棟 2 階セミナー室

講師氏名：岡林 浩嗣
所 属：生存ダイナミクス研究センター・講師
演 題：令和元年度科研費説明会・FD研修会
日 時：令和元年9月26日（木）15時00分～15時45分
会 場：生命領域学際研究センターA棟 2階 セミナー室

講師氏名：倉石 貴透
所 属：金沢大学医薬保険研究域・助教
演 題：Sterile induction of innate immunity in Drosophila larvae
日 時：令和元年11月5日（火）16時30分～17時30分
会 場：生命領域学際研究センターA棟 2階 セミナー室

講師氏名：岡本 直樹
所 属：Department of Entomology, University of California, Riverside
演 題：Regulation of Growth and Maturation by Endocrine Hormones in Insects
日 時：令和元年11月27日（水）17時00分～18時00分
会 場：生命領域学際研究センターA棟 2階 セミナー室

講師氏名：木村 健一
所 属：Postdoctoral Researcher, Institute of Physiology I, University of Bonn, Germany
演 題：Direct visualization and characterization of mesenchymal stem cells
and endothelial bone marrow niche cells
日 時：令和元年12月17日（火）10時30分～11時30分
会 場：生命領域学際研究センターA棟 2階 セミナー室

講師氏名：大月 孝志
所 属：岡山大学大学院保健学研究科・非常勤研究員
演 題：Regulation of cytokine-induced ADAMTS expression by hyaluronan and
mechanical force
日 時：令和元年12月18日（水）14時00分～15時00分
会 場：生命領域学際研究センターA棟 2階 セミナー室

講師氏名：佐波 理恵
所 属：京都府立医科大学大学院放射線診断治療学講座・助教
演 題：Sox17 expression in the endocardium precursor cells regulates the mouse heart
development

日 時： 令和元年 12月 23日（月） 13時00分～14時00分
会 場： 生命領域学際研究センターA棟 2階 セミナー室

講師氏名：高橋 良徳
所 属： Department of Pediatrics, Penn State College of Medicine, Assistant Professor
演 題： Harnessing Autophagy for Cancer Therapy : Mechanistic insight into
an intracellular trash bag sealing process
日 時： 令和2年 1月 10日（金） 11時30分～13時00分
会 場： 生命領域学際研究センターA棟 2階 セミナー室

講師氏名： Zuben Brown
所 属： Postdoctoral Researcher, Columbia University
演 題： Cryo-EM structures of the HCV IRES mediated translation initiation pathway
from initial binding to AUG recognition
日 時： 令和2年 3月 2日（月） 14時30分～15時45分
会 場： 生命領域学際研究センターA棟 2階 会議室

TARA 見学者

日付	時間	相手先
R1. 6. 4	13:30-14:10	岩瀬日本大学高等学校
R1. 6. 10	15:00-15:40	茨城県立勝田高等学校
R1. 6. 19	10:10-11:25	生物資源学類 3 年次
R1. 7. 18	13:45-18:00	応用生物 専門実験研修
R1. 7. 20	16:45-17:45	秋田県立秋田北高等学校
R1. 7. 24	13:00-16:00	愛知県立岡崎北高等学校
R1. 7. 26	13:00-16:00	茨城県立竹園高等学校
R1. 8. 3	14:00-15:00	大学説明会 (生物学類)
R1. 8. 4	15:00-16:30	大学説明会 (生物資源学類)
R1. 8. 6	13:00-16:00	茨城県立竹園高等学校
R1. 8. 27	19:00-21:00	愛知県立岡崎高等学校
R1. 9. 17	15:00-15:40	東京都立科学技術高等学校(さくらサイエンスプラン)
R1. 9. 26	10:00-12:00	土浦日本大学高等学校
R1. 9. 27	12:50-15:30	(授業) 生物資源科学実習
R1. 9. 30	10:50-11:30	(授業) 分析化学基礎実験
R1. 10. 10	14:55-15:55	島根県立益田高等学校
R1. 10. 17	10:20-11:50	福岡県立新宮高等学校
R1. 10. 28	13:30-14:30	筑波大学附属坂戸高等学校
R1. 11. 8	14:15-14:45	「第 8 回高校生国際 ESD シンポジウム」および「The 1st SDGs Global Engagement Conference @Tokyo」参加者ご一行
R1. 11. 12	14:00-15:30	開智中学高等学校
R1. 11. 15	11:00-11:40	群馬県立前橋女子高等学校
R1. 12. 13	10:45-11:25	熊本県立宇土高等学校
R2. 2. 5	14:30-15:10	長野県立野沢北高等学校

ACCESS

■ つくばエクスプレス (TX)

「秋葉原」駅から「つくば」駅まで最速 45 分。

つくばセンター 6 番バス乗り場から「筑波大学中央」行き、または「筑波大学循環（左回り・右回り）」に乗車、「TARA センター前」又は「第二エリア前」下車。

■ JR 常磐線

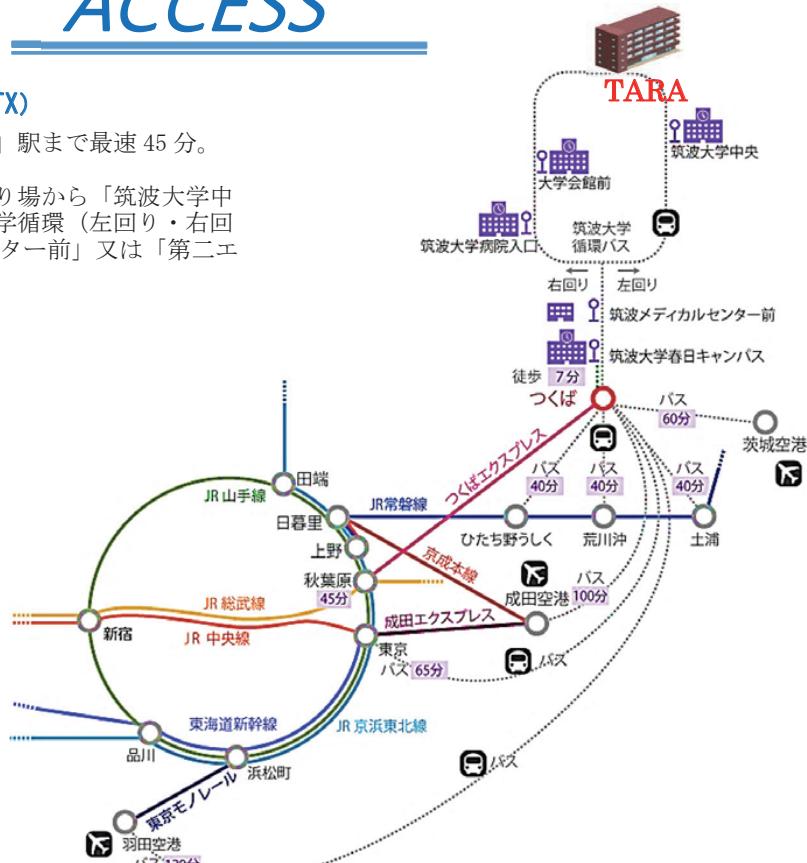
「上野」駅から約 1 時間、
「水戸」駅から約 50 分。

「土浦」駅からは、2 番バス乗り場から「筑波大学中央」行き。

「荒川沖」駅からは、東口バス乗り場から「筑波大学中央」行き。

「ひたち野うしく」駅からは、2 番バス乗り場から「筑波大学中央」行き。

「TARA センター前」又は「第二エリア前」下車。



■ 高速バス

東京駅八重洲南口から「筑波大学」行き乗車、約 75 分。

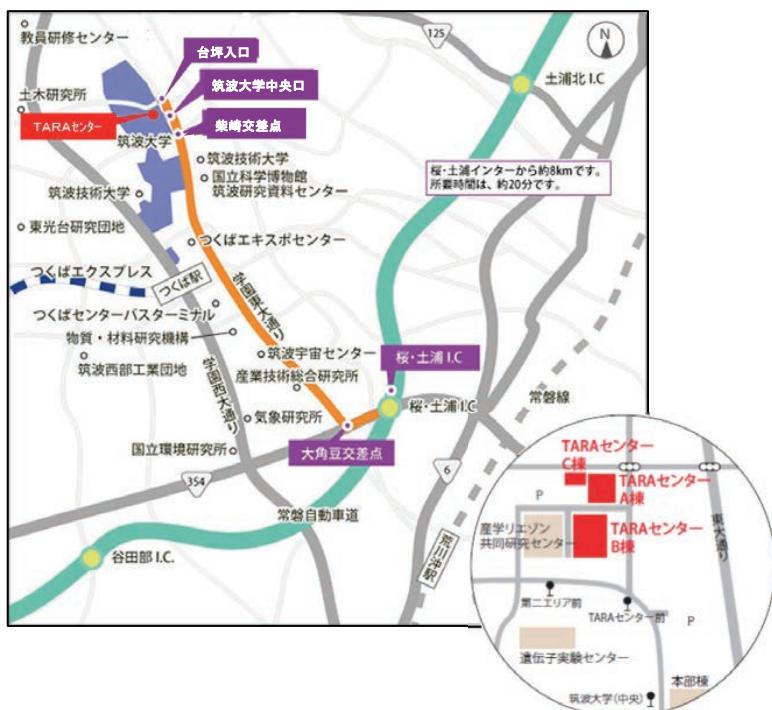
終点「筑波大学」バス停下車。徒歩約 10 分。

または、東京駅八重洲南口から「つくばセンター」行き乗車。

つくばセンター 6 番バス乗り場から「筑波大学中央」行き、または「筑波大学循環（左回り・右回り）」に乗車、「TARA センター前」又は「第二エリア前」下車。

■ 自動車

常磐自動車道桜土浦 1.C. 下車、筑波方面へ左折、大角豆交差点を右折して県道 55 号線（東大通り）を北上、筑波大学中央口左折。（桜土浦 1.C. から約 8.5km）



連絡先

筑波大学生存ダイナミクス研究センター
〒305-8577 茨城県つくば市天王台 1-1-1
TEL 029-853-6082 FAX 029-853-6074
E-mail : tara@tara.tsukuba.ac.jp
URL: <https://www1.tara.tsukuba.ac.jp/>



Annual Report 2019