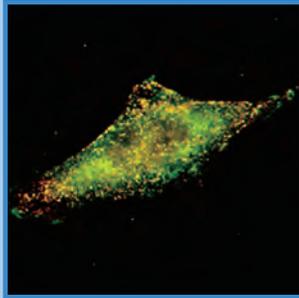
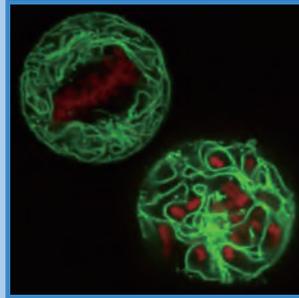


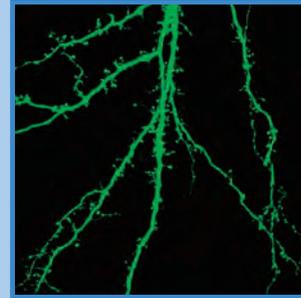
Center for Neurological Diseases and Cancer



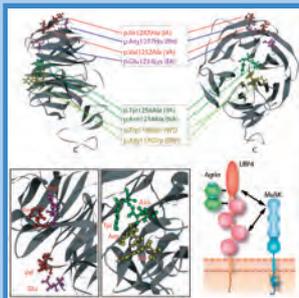
Molecular Carcinogenesis



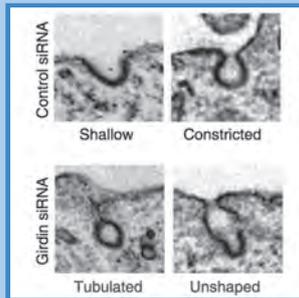
Cancer Biology



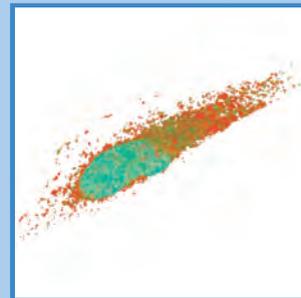
Neuroscience



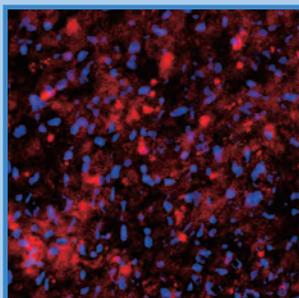
Neurogenetics



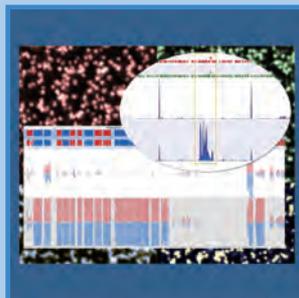
Molecular Pathology



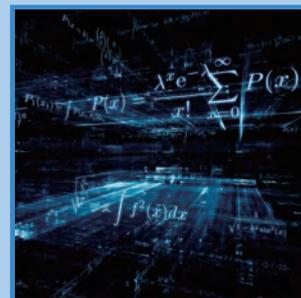
Molecular Biochemistry



Disease Models



Omics analysis



Systems Biology

名古屋大学・大学院医学系研究科附属
神経疾患・腫瘍分子医学研究センター

2013-2014



神経疾患・腫瘍分子医学研究センター年報 (2013－2014版)の発刊にあたって

センター長 高橋 隆

神経疾患・腫瘍分子医学研究センターは、発足以来10年間に渡り、神経疾患と悪性腫瘍に関する医学研究の拠点として、多角的なアプローチによる発症機序の解明と、それを基盤とする革新的な分子診断・治療法の開発など、社会的要請の強い研究を強力に推進してきました。その間に当センターは、名古屋大学医学系研究科において神経疾患と悪性腫瘍の統合的研究拠点形成を目指した、COEプログラム、21世紀COEプログラム、及び、グローバルCOEプログラムのいずれにおいても、研究推進の中核として機能してきました。一方で、次世代シーケンサーや質量分析器に見られるような技術革新や、遺伝子操作動物を用いた個体レベルの解析手法の進歩などによって、近年の医学・生物学研究は加速度的に深化の度合いを深め、大きな進捗を示しています。このような当センターを取り巻く状況に鑑み、2013年度から5年間の設置期間の延長が決定し、さらなる国際的な卓越性の獲得と、優れた若手研究者の育成を目指して、より一層その活動を活発化させていくこととなりました。また、この機会に、がんと神経疾患に特化した、基礎研究から臨床応用研究までを包含するセンターであることを、より良く反映した名称のもとに組織を改編しました。さらに、2014年度には、リーディング大学院プログラムへの取組みと連携して、全国の医学部に先駆けてシステム生物学を専門とする研究分野を設置いたしました。



本年報は、当センターの2013年度と2014年度における活動状況をまとめたものですが、ご覧いただけますように、それぞれの分野において多彩な研究が多様なアプローチで展開されており、大きな成果も上がりつつあります。医学生物学の研究分野に大きなインパクトを与えつつある飛躍的なテクノロジーの進歩と、その結果生み出される情報量の爆発的な増加を、須らく追い風としてがっちりと受け止めて、より一層の研究の発展を目指しているところです。

皆様のますますのご支援のほど、どうぞよろしくお願ひ申し上げます。

神経疾患・腫瘍分子医学研究センター Center for Neurological Diseases and Cancer (CNDC)

● 腫瘍病態統御部門 (Department of Oncology)

● 分子腫瘍学分野 (Division of Molecular Carcinogenesis)

教授 高橋 隆

● 腫瘍生物学分野 (Division of Cancer Biology)

教授 濱口 道成

● 神経疾患病態統御部門 (Department of Neuroscience)

● 神経情報薬理学分野 (Division of Neuroscience)

教授 貝淵 弘三

● 神経遺伝情報学分野 (Division of Neurogenetics)

教授 大野 欽司

● 先端応用医学部門 (Department of Advanced Medical Science)

● 分子病理学分野 (Division of Molecular Pathology)

教授 高橋 雅英

● 機能分子制御学分野 (Division of Molecular Biochemistry)

教授 古川 鋼一

● 疾患モデル解析学分野 (Division of Disease Models)

准教授 武井 佳史

● オミクス解析学分野 (Division of Omics analysis)

准教授 中川 善之

● システム生物学分野 (Division of Systems Biology)

特任准教授 島村 徹平



腫瘍病態統御部門

がんは、今やわが国では、二人に一人が患い、三人に一人が亡くなる疾病であり、我が国を含む先進諸国の死亡原因の第一位となって久しい。腫瘍病態統御部門は、分子腫瘍学と腫瘍生物学の2分野から構成され、がんの発生と進展に関わる分子機構の全貌解明を目指した基礎的な研究から、革新的な診断法・治療法の開発を目指したトランスレーショナルリサーチに至るまで、多様な先鋭的アプローチによる幅広い研究を推進している。

神経疾患病態統御部門

神経疾患病態統御部門は、神経細胞に生じた異常によって生じる神経変性疾患や神経筋疾患、或いは、精神疾患などを研究対象とする。同部門は、神経情報薬理学と神経遺伝情報学の2分野から構成され、発症メカニズムを先進的な解析手法を駆使しつつ、分子と個体の双方のレベルで究明することを目指している。また、その過程で得られた研究成果の臨床への還元も視野に入れ、多彩な研究を展開している。

先端応用医学部門

先端応用医学部門は、分子病理学、機能分子制御学、疾患モデル解析学、オミクス解析学、システム生物学の5分野から構成され、がんと神経疾患を主たる対象に、先進的な研究手法を融合した研究を展開している。疾病克服へ向けた研究に対する高い社会的期待に応えるべく、これらの疾患について、その病因と病態の分子機序の解明を目指すのみならず、得られた成果を臨床へと応用することに注力した研究を進めている。

分子腫瘍学分野

Division of Molecular Carcinogenesis

分子腫瘍学分野は、肺がんを中心に難治がんの発生・進展のメカニズムの解明を目指した研究から、革新的な診断・治療へのトランスレーションを目指した研究まで、多角的に研究を進めています。当研究室の特徴の一つは、新しい研究分野やアプローチにも、臆せず積極果敢に取り組む攻めの姿勢を取り続けているところです。それによって、難治がんの分子病態を一つの疾患として統合的に理解するとともに、得られた成果を難治がんの克服につなげていきたいと考えています。

●●● 構 成 員 ●●●

教 授 高橋 隆
講 師 鈴木 元
講 師 柳澤 聖
助 教 山口知也
特任助教 梶野泰祐

大学院生(博士課程) Tai MeiChee、井田梨沙、
Sebastian Griesing、Zhuoran Liu、岩井美佳、
磯村久徳、Shi Hanxiao
大学院生(修士課程) 近藤圭一、Gong Shuyi、Lu Can、
安次富寛斗
研究補助員 荒川未和、島田友香子、鈴木恵子、
加納圭子、堀田直恵、富田たづ子

●●● 研究テーマの詳細 ●●●

I) ヒト肺がんの分子病態の解明を目指して：

i) ノンコーディングRNAの果たす役割と機能

私たちは世界に先駆けてマイクロRNAの発現異常が肺がんを高頻度に検出され、その生存・増殖や臨床病態に関わることを報告してきました。最近、がんの発生と進展において、より長いノンコーディングRNA (long non-coding RNA) が果たす役割と機能に研究の中心をシフトしつつあります。また、マイクロRNAを含むノンコーディングRNAとmRNAが織りなす複雑で精緻な制御ネットワークの全貌解明を目指した、分子生物学的な実験(ウェット)と、システム生物学的な解析(ドライ)の双方のアプローチを統合的に用いた研究を進めています。

ii) がんのリネッジ特異的な生存シグナル依存

肺の分化に必須なTTF-1転写因子が、肺腺がんの発生と進展に大きく関与していることを世界に先駆けて報告しました。さらに、TTF-1による受容体型チロシンキナーゼROR1の発現誘導がその生存シグナルの伝達に関わることを明らかとし、ROR1を標的とした革新的な分子標的薬の開発を目指しています。一方で、不思議にもTTF-1陽性の肺腺がんは、外科切除後の予後が良好なことが知られています。このように肺腺がんにとって諸刃の剣として機能するTTF-1リネジ生存

がん遺伝子の分子病態の形跡における役割の全貌解明を、ウェットとドライの双方のアプローチから目指しています。

iii) がんの悪性化の分子機構

極めて高い血行性及びリンパ行性転移能を持つヒト肺がん細胞亜株(LNM35株)を樹立し、それを用いて新規がん転移関連遺伝子として、ERストレス応答に関わるCIMや、細胞膜蛋白のCLCP1を同定し、その機能解析を進めています。また、プロテオミクス解析を通じて、中皮腫におけるCKAP4の過剰発現を発見しました。また、それによる不良な微小環境への順応メカニズムを解明しつつあり、今後の治療法開発につなげたいと考えています。さらに、セラミドの代謝に関わるCERS6が、肺がんで高発現しており、浸潤や術後予後不良と関連することを見出すとともに、その転移促進に関わる分子機構も明らかとしています。現在、CERS6の過剰発現を逆手に取った、独自性の高い分子標的治療法の開発を目指して研究を進めています。



図1. 肺腺癌の病態に重要なリネジ生存がん遺伝子TTF-1の同定と機能の解明

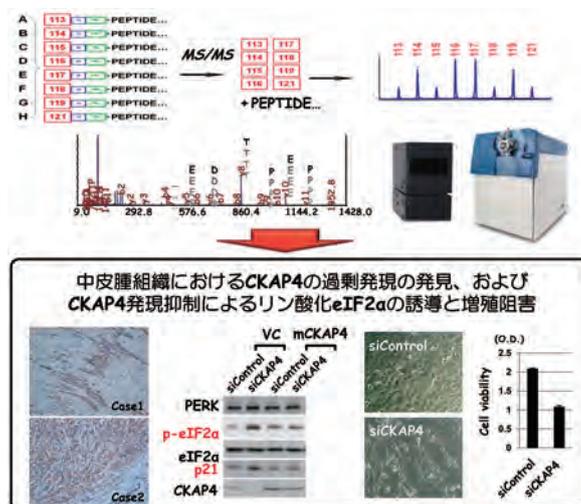


図2. プロテオミクス解析を通じた、中皮腫の分子病態形成に関わるCKAP4の同定と機能の解明



II) 臨床現場へのトランスレーションを目指して：

最新のプロテオミクス解析技術を駆使して、がんの発生・進展に関わる蛋白や、早期発見や薬剤感受性予測に有用なマーカー蛋白群の網羅的な探索・同定を進めています。肺癌を対象として、術後再発のリスクの予測を可能とする蛋白発現シグネチャーにもとづいた分子診断法の開発を進め、最も早期のI期症例の再発

さえも高い精度で予測可能としました。また、悪性胸膜中皮腫の手術摘出組織及び血液試料を対象としたプロテオミクス解析を進め、新規の分子診断マーカーとしてOSF2を同定しました。これらの新たな分子診断法の臨床への応用を目指して、現在、多施設共同による検証研究の準備を進めています。

●●● 主な発表論文 ●●●

2013年

1. Yamaguchi T, Hosono Y, Yanagisawa K, Takahashi T. NKX2-1/TTF-1: an enigmatic oncogene that functions as a double-edged sword for cancer cell survival and progression. *Cancer Cell* 23: 718-723 (2013).
2. Suzuki M, Takahashi T. Aberrant DNA replication in cancer. *Mutat. Res* 743-44: 111-117 (2013).
3. Kawahara T, Hotta N, Ozawa Y, Kato S, Kano K, Yokoyama Y, Nagino M, Takahashi T, Yanagisawa K. Quantitative proteomic profiling identifies DPYSL3 as pancreatic ductal adenocarcinoma-associated molecule that regulates cell adhesion and migration by stabilization of focal adhesion complex. *PLoS ONE* 8: e79654 (2013).
4. Kalari S, Jung M, Kernstine KH, Takahashi T, Pfeifer GP. The DNA methylation landscape of small cell lung cancer suggests a differentiation defect of neuroendocrine cells. *Oncogene* 32: 3559-3568 (2013).
5. Attoub S, Arafat K, Gelaude A, Sultan MAA, Bracke M, Collin P, Takahashi T, Adrian T, De Wever O. Frondoside A suppressive effects on lung cancer survival, tumor growth, angiogenesis, invasion, and metastasis. *PLoS ONE* 8: e53087 (2013).
6. Attoub S, Sperandio O, Raza H, Arafat K, Al-Salam S, Al Sultan MA, Al Safi M, Takahashi T, Adem A. Thymoquinone as an anticancer agent: evidence from inhibition of cancer cells viability and invasion in vitro and tumor growth in vivo. *Fundam Clin Pharmacol* 27: 557-569 (2013).
7. Matsuura S, Kahyo T, Shinmura K, Iwaizumi M, Yamada H, Funai K, Kobayashi J, Tanahashi M, Niwa H, Ogawa H, Takahashi T, Inui N, Suda T, Chida K, Watanabe Y, Sugimura H. SGOL1 variant B induces abnormal mitosis and resistance to taxane in non-small cell lung cancers. *Sci Rep* 3: 2012 (2013).
8. Arafat K, Iratni R, Takahashi T, Parekh K, Al Dhaheri Y, Adrian TE, Attoub S. Inhibitory effects of salinomycin on cell survival, colony growth, migration, and invasion of human non-small cell lung cancer A549 and LNM35: Involvement of NAG-1. *PLoS ONE* 8: e66931 (2013).
9. Roth FC, Mulder JE, Brien JF, Takahashi T, Massey TE. Cytotoxic interaction between amiodarone and desethylamiodarone in human peripheral lung epithelial cells. *Chem Biol Interact* 204: 135-139 (2013).

10. Yamashita Y, Akatsuka S, Shinjo K, Yatabe Y, Kobayashi H, Seko H, Kajiyama H, Kikkawa F, Takahashi T, Toyokuni S. Met is the most frequently amplified gene in endometriosis-associated ovarian clear cell adenocarcinoma and correlates with worsened prognosis. *PLoS ONE* 8: e57724 (2013).

2014年

1. Arima C, Kajino T, Tamada Y, Imoto S, Shimada Y, Nakatochi M, Suzuki M, Isomura H, Yatabe Y, Yamaguchi T, Yanagisawa K, Miyano S, Takahashi T. Lung adenocarcinoma subtypes definable by lung development-related miRNA expression profiles in association with clinicopathologic features. *Carcinogenesis* 35: 2224-2231 (2014).
2. Shinjo K, Yamashita Y, Yamamoto E, Akatsuka S, Uno N, Kamiya A, Niimi K, Sakaguchi Y, Nagasaka T, Takahashi T, Shibata K, Kajiyama H, Kikkawa F, Toyokuni S. Expression of chromobox homolog 7 (CBX7) is associated with poor prognosis in ovarian clear cell adenocarcinoma via TRAIL-induced apoptotic pathway regulation. *Int J Cancer* 135: 308-318 (2014).
3. Chew SH, Okazaki Y, Nagai H, Misawa N, Akatsuka S, Yamashita K, Jiang L, Yamashita Y, Noguchi M, Hosoda K, Sekido Y, Takahashi T, Toyokuni S. Cancer-promoting role of adipocytes in asbestos-induced mesothelial carcinogenesis through dysregulated adipocytokine production. *Carcinogenesis* 35: 164-172 (2014).
4. Younes M, Wu Z, Dupouy S, Lupo AM, Mourra N, Takahashi T, Flejou JF, Tredaniel J, Regnard JF, Damotte D, Alifano M, Forgez P. Neurotensin (NTS) and its receptor (NTSR1) causes EGFR, HER2 and HER3 over-expression and their autocrine/paracrine activation in lung tumors, confirming responsiveness to erlotinib. *Oncotarget* 5: 8252-8269 (2014).
5. Watari K, Shibata T, Kawahara A, Sata K, Nabeshima H, Shinoda A, Abe H, Azuma K, Murakami Y, Izumi H, Takahashi T, Kage M, Kuwano M, Ono M. Tumor-derived Interleukin-1 promotes lymphangiogenesis and lymph node metastasis through M2-type macrophages. *PLoS ONE* 9: e999568 (2014).
6. Jiang L, Yamashita Y, Chew SH, Akatsuka S, Ukai S, Wang S, Nagai H, Okazaki Y, Takahashi T, Toyokuni S. Connective tissue growth factor and β -catenin constitute an autocrine loop for activation in rat sarcomatoid mesothelioma. *J Pathol* 233: 402-414 (2014).

●●● 競争的研究資金 ●●●

2013年度～2014年度

1. 文部科学省 次世代がん研究戦略推進プロジェクト プロテオーム・マイクロRNA解析によるがん血中バイオマーカーの開発 (代表者：高橋隆)
2. 文部科学省 新学術領域研究「システムがん」 ノンコーディングRNAによる発現統御ネットワークの解明に基づくがんの個性の描出 (代表者：高橋隆)
3. 文部科学省 新学術領域 がん研究分野の特性等を踏まえた支援活動 (分担者：高橋隆)
4. 厚生労働省 革新的がん医療実用化研究事業 クリニカルプロテオミクス解析を基盤とする肺がんの分子病態の解明と革新的分子標的治療の開発 (代表者：高橋隆)
5. 日本学術振興会 基盤研究(A) リネッジ生存癌遺伝子 TTF-1/NKX2-1の肺腺癌における役割のシステムの理解 (代表者：高橋隆)
6. 厚生労働省 第3次対がん総合戦略研究事業 肺がんの浸潤・転移を抑制可能な分子標的の同定に基づく革新的テーラーメイド治療法の開発 (代表者：高橋隆) (-2013)

7. 日本学術振興会 基盤研究(B) 悪性胸膜中皮腫の新規分子標的の同定に基づく革新的診断・治療法の開発 (代表者：柳澤聖)
8. 文部科学省 オーダーメイド医療の実現プログラム ゲノム網羅的解析情報を基盤とするオーダーメイドがん医療実現のための開発研究 (分担者：高橋隆)
9. 日本学術振興会 基盤研究(C) ヒト肺癌発生におけるROR1受容体とRTKのクロストーク制御及び活性化機序の解明 (代表者：山口知也)
10. 日本学術振興会 基盤研究(B) CerS6経路およびセラミドホメオスタシスを標的とした癌治療法の開発 (代表者：鈴木元)
11. 日本学術振興会 挑戦的萌芽研究 翻訳後修飾シグネチャーによる革新的肺がん分子病態診断法の開発 (代表者：柳澤聖)
12. 日本学術振興会 挑戦的萌芽研究 肺癌幹細胞因子の同定とその特性を標的とした分子標的治療薬の開発 (代表者：鈴木元)

腫瘍生物学分野

Division of Cancer Biology

細胞は恒常性を保つため、多くの複雑なネットワークからなる制御機構を有しています。それらのシステムの破綻は細胞死、細胞の癌化、そして様々な疾患と結びついています。私たちの研究室では細胞の恒常性を保つのに重要である細胞分裂とRNAの制御という二つの現象に着目し研究を行っています。これらの現象の分子メカニズムを解明し、その異常がどのように病気へと繋がるかを明らかにすることを目指しています。他にも癌の転移に関して多角的な視点から研究を進めています。

●●● 構 成 員 ●●●

教 授 濱口道成
准教授 千賀 威
助 教 伊藤聡子
研究員 長谷川仁紀、兵頭寿典、稲見恵理、前田真男
大学院生 高原悠子、Mohammed Mansour, Khondker

Ayesha, 陳 丹, Wong Meihong (消化器内科)、Liu Nairong (消化器内科)、佐藤直紀 (消化器外科)、栗田賢二 (消化器外科)、坂田 純 (産婦人科) 大林友彦 (消化器内科)
客員研究員 袁 紅
研 究 生 杉山麻衣

●●● 研究テーマの詳細 ●●●

I. 細胞分裂制御機構の解明

分裂期に小胞体、核膜、ゴルジ体、ミトコンドリアなどの小器官はダイナミックに変化します。核膜は分裂と同時に消失し、分裂の終了と同時に特定の部位から再形成されます。ゴルジ体は分裂期において崩壊し、やがて特定の2か所で再形成され、それが融合します。小胞体は間期においては層状、チューブ状の構造をとっていますが、分裂期には染色体を囲む層状構造をとるようになります (図1)。現在までに多くの研究がおこなわれていますが、分裂期における小器官の構造変化に関してはほとんど分かっていません。私たちの研究室では様々なスクリーニングとイメージングの技術を用いて、分裂期における膜構造の変化を制御するメカニズムの解明を目指しています。

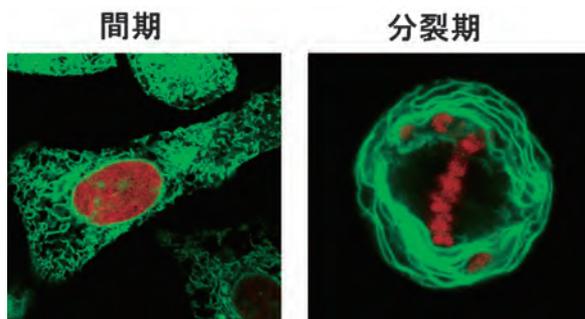


図1

II. Stress granuleの形成と抗がん剤耐性の関連

細胞は外からの刺激により障害を受けた時に様々な反応を呈します。その一つにStress granule (SG)の形成があります。SGは熱、活性酸素、抗がん剤などにより形成されます (図2)。SGは多くのRNAとRNA結合タンパク質から構成されており、細胞が刺激を受け

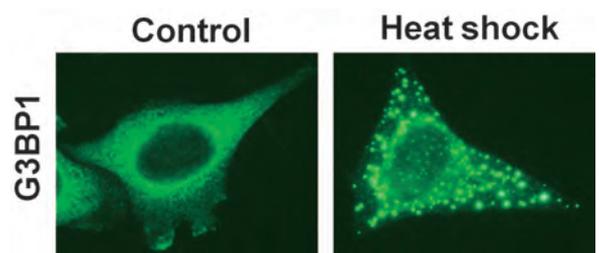


図2

た時に一部のmRNAを分解から守るために形成されるものだと考えられています。私たちの研究室ではSGの新たな構成因子を同定し、それらのタンパク質のアルギニンがメチル化されていることを見出しました。アルギニンのメチル化がどのようにしてSGの形成を促進し、それが癌の抗がん剤耐性にどのように関連するかを明らかにしようと試みています。また、SGがRNAの安定性、翻訳を制御する分子機構の研究を行っています。

III. 上皮間葉転換 (EMT) と癌の浸潤転移

上皮細胞が癌化する初期過程において、細胞間接着の崩壊は重要な役割を担っています。上皮細胞が細胞間接着を失い、そして線維芽細胞様に形態を変化させる現象をEpithelial to Mesenchymal Transition (EMT)

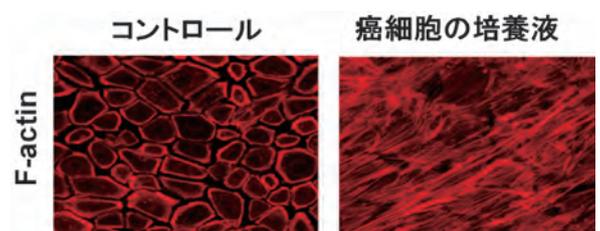


図3



といます。EMTは癌の転移や抗がん剤耐性に関与しています。癌細胞は様々な液性因子を分泌しますが、それらの一部は正常細胞にEMTを誘導します(図3)。私たちの研究室では癌細胞のEMTの分子メカニズム

を解析すると共に、EMTを起こした正常細胞がどのようにして癌細胞の転移を促進するかを研究しています。

●●● 主な発表論文 ●●●

2013年

1. Yuan H, Kajiyama H, Ito S, Yoshikawa N, Hyodo T, Asano E, Hasegawa H, Maeda M, Shibata K, Hamaguchi M, Kikkawa F, Senga T. ALX1 induces Snail expression to promote epithelial to mesenchymal transition and invasion of ovarian cancer cells. *Cancer Res* 73:1581-1590 (2013).
2. Asano E, Hasegawa H, Hyodo T, Ito S, Maeda M, Takahashi M, Hamaguchi M, Senga T. The Aurora B-mediated phosphorylation of SHCBP1 regulates cleavage furrowing. *J Cell Sci* 126:3263-3270 (2013).
3. Hasegawa H, Hyodo T, Asano E, Ito S, Maeda M, Kuribayashi H, Natsume A, Wakabayashi T, Hamaguchi M, Senga T. Role of SVIL phosphorylation by PLK1 in myosin II activation and cytokinetic furrowing. *J Cell Sci* 126:3627-3637 (2013).

2014年

1. Sugiyama K, Kajiyama H, Shibata K, Yuan H, Kikkawa F, Senga T. Expression of the miR200 Family of microRNAs in Mesothelial Cells Suppresses the Dissemination of Ovarian Cancer Cells. *Mol Cancer Ther* 13: 2081-2091 (2014).
2. Sekiya R, Maeda M, Yuan H, Asano E, Hyodo T, Hasegawa H, Ito S, Shibata K, Hamaguchi M, Kikkawa F, Kajiyama H, Senga T. PLAGL2 regulates actin cytoskeletal architecture and cell migration. *Carcinogenesis* 35: 1993-2001 (2014).
3. Takahara Y, Maeda M, Hasegawa H, Ito S, Hyodo T, Asano E, Takahashi M, Hamaguchi M, Senga T. Silencing of TBC1D15 promotes RhoA activation and membrane blebbing. *Mol Cell Biochem* 389: 9-16 (2014).
4. Asano E, Hasegawa H, Hyodo T, Ito S, Maeda M, Chen D, Takahashi M, Hamaguchi M, Senga T. SHCBP1 is required for midbody organization and cytokinesis completion. *Cell Cycle* 13: 2744-2751 (2014).

5. Wong M, Hyodo T, Asano E, Funasaka K, Miyahara R, Hirooka Y, Goto H, Hamaguchi M, Senga T. Silencing of STRN4 suppresses the malignant characteristics of cancer cells. *Cancer Sci* 105: 1526-1532 (2014).
6. Sato N, Maeda M, Sugiyama M, Ito S, Hyodo T, Masuda A, Tsunoda N, Kokuryo T, Hamaguchi M, Nagino M, Senga T. Inhibition of SNW1 association with spliceosomal proteins promotes apoptosis in breast cancer cells. *Cancer Med* 4: 268-277 (2015).
7. Sugiyama M, Hasegawa H, Ito S, Sugiyama K, Maeda M, Aoki K, Wakabayashi T, Hamaguchi M, Natsume A, Senga T. Paired related homeobox 1 is associated with the invasive properties of glioblastoma cells. *Oncol Rep* 33: 1123-1130 (2015).
8. Mansour MA, Asano E, Hyodo T, Akter KA, Takahashi M, Hamaguchi M, Senga T. Special AT-rich sequence-binding protein 2 suppresses invadopodia formation in HCT116 cells via palladin inhibition. *Exp Cell Res* 332: 78-88 (2015).
9. Mansour MA, Hyodo T, Ito S, Kurita K, Kokuryo T, Uehara K, Nagino M, Takahashi M, Hamaguchi M, Senga T. SATB2 suppresses the progression of colorectal cancer cells via inactivation of MEK5/ERK5 signaling. *FEBS J* 282: 1394-1405 (2015).
10. Chen D, Ito S, Yuan H, Hyodo T, Kadomatsu K, Hamaguchi M, Senga T. EML4 promotes the loading of NUDC to the spindle for mitotic progression. *Cell Cycle* (in press).
11. Yuan H, Kajiyama H, Ito S, Chen D, Shibata K, Hamaguchi M, Kikkawa F, Senga T. HOXB13 and ALX4 induce SLUG expression for the promotion of EMT and cell invasion in ovarian cancer cells. *Oncotarget* (in press).
12. Obayashi T, Funasaka K, Ohno K, Miyahara R, Hirooka Y, Goto H, Hamaguchi M, Senga T. Near-infrared irradiation promotes apoptosis of pancreatic cancer cells. *Oncology Letters* (in press).

●●● 競争的研究資金 ●●●

2013年度～2014年度

1. 日本学術振興会 挑戦的萌芽研究 RNA スプライシングを介した新たな細胞分裂開始機構の解明(代表者:千賀威)
2. 日本学術振興会 若手研究(B) 神経膠芽腫におけるホメオタンパク質の機能解析と特異的ペプチドの機能評価(代表者:長谷川仁紀)

3. 文部科学省 新学術領域研究「ナノメディシン分子科学」 遺伝子解析と分子トレーシングを基盤とした細胞標的分子の創製(分担者:千賀威)
4. 武田医学系研究奨励金 卵巣癌形成における新たな分子機構の解明(代表者:千賀威)
5. 内藤記念科学奨励金 難治癌治療の新規標的分子の探索(代表者:千賀威)

神経情報薬理学分野

Division of Neuroscience

神経疾患病態統御部門

Department of Neuroscience

哺乳類の中樞神経系は発生過程において神経幹細胞の増殖、分化によって形成される。分化した神経細胞は適切な場所に移動し、他の標的神経と適切に接続することで神経回路網が形成されてゆく。これらの形成過程に問題があると、広義では“神経発達障害”と言われる様々な精神神経疾患が引き起こされる原因となる。神経情報薬理学分野は、神経極性や神経シナプス制御を中心とした神経発生メカニズムの解明を目指すとともに、神経発達障害の新たな診断・治療へのトランスレーションを目指して、多角的に研究を進めています。

●●● 構 成 員 ●●●

教授 貝淵弘三
准教授 天野陸紀
助教 西岡朋生
特任助教 黒田啓介、坪井大輔、中内さくら、中牟田信一、難波隆志
ポストドクトラルフェロー 掛布真愛(研究機関研究員)、高野哲也(日本学術振興会特別研究員)、船橋靖広(研究機関研究員)、山橋幸恵(研究機関研究員)、渡辺 崇(客員研究員)、

濱口知成(客員研究員)、松沢健司(客員研究員)、松井利憲(客員研究員)
大学院生(博士課程) Md. Hasanuzzaman Shohag、由良義充、Zhang Xinjian、Zhuoran Liu
大学院生(修士課程) 秋田 弘樹、Anthony Ariza
研究生 Chundi Xu、Rijwan Uddin Ahammad
研究補助員 金澤容子、小澤 祥、三島紀子、鈴木由佳、森本陽美記、杉山育子

●●● 研究テーマの詳細 ●●●

I. 神経極性メカニズムのin vivo解析

我々の脳で情報伝達を主に担っている神経細胞は、「軸索」とよばれる細長い突起を伸ばし、他の神経細胞に情報を伝える。しかしながら、生体内で神経細胞がどのように軸索を伸ばすのかは未だ解明されていない。我々の研究室ではマウスを用いた実験より、生体内において未熟な神経細胞は周囲に存在している早生まれの神経細胞から伸びている軸索を足場として使用し、効率よく軸索を形成することを解明した。未熟な神経細胞が他の細胞と接触するために必要な細胞接着分子「TAG-1」の発現を実験的に抑制することにより、神経細胞の軸索形成に異常が生じることを見出した。この結果は神経細胞が生体脳でどのように効率よく軸索を形成するのかを初めて明らかにした(図1)。

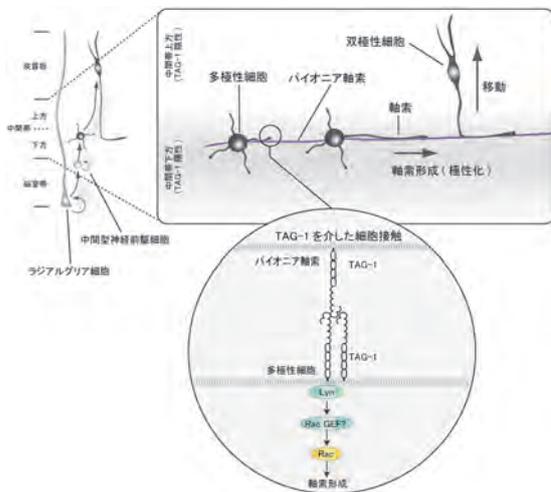


図1. 生体内での神経極性形成

未熟な神経細胞は膜貫通分子「TAG-1」を介して他の神経細胞と接着することで、自身の軸索形成や伸長を促している。

II. 統合失調症の分子病態解明

統合失調症は1%の生涯罹患率をもつ重篤な精神疾患である。統合失調症の病因は未だ明らかにされていないが、従来から進められてきた統合失調症患者の死後脳及び脳イメージング解析から統合失調症病因説の1つとして神経発達障害仮説が提唱されている。Disrupted-In-Schizophrenia 1 (DISC1) はスコットランドの統合失調症多発家系を用いた連鎖解析により同定された遺伝子で、有力な統合失調症発症関連分子であると考えられている。DISC1は中枢神経系での発現が認められているが、当該分子が関わる病態メカニ

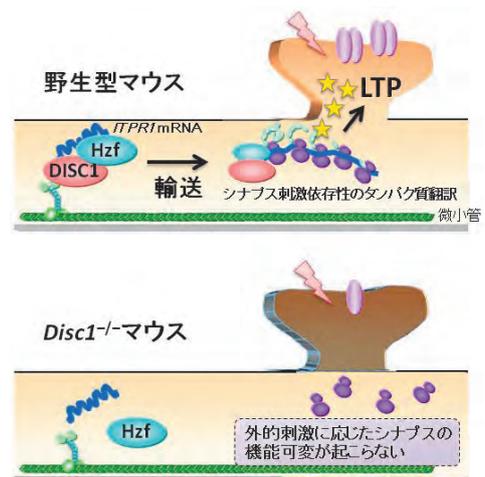


図2. DISC1のシナプス可塑性制御モデル

神経細胞において一部のmRNAは細胞体で翻訳されず神経シナプスへと運ばれる。輸送されたmRNAはシナプス刺激に応じて局所的なタンパク質翻訳を受けることでシナプスの長期増強(Long-term potentiation; LTP)を引き起こす。Disc1機能欠損マウス(Disc1^{-/-})ではmRNA輸送が阻害されることで、外的刺激に応じたシナプスの機能可変(LTPを含む)が起こらず、適切な神経ネットワーク制御ができなくなっている。



ムは十分に理解できていない。

我々の研究室は中枢神経系におけるDISC1の役割を生体内で評価するため、Disc1遺伝子を破壊した*Disc1*ノックアウト(*Disc1*^{-/-})マウスを作製した。*Disc1*^{-/-}マウスは外見上、野生型マウスと同様に成長し、受精することができる。組織学的解析についても、*Disc1*^{-/-}マウスの組織構造や神経形態に深刻な異常は認められなかった。この知見は以前から示唆されていたDISC1機能(神経新生や神経細胞移動等)と矛盾するものであった。一方で*Disc1*^{-/-}マウスはシナプ

ス機能制御に異常が認められた。近年、我々の研究室では、DISC1がRNA結合タンパク質とともに直接、シナプス制御タンパク質をコードするmRNAに結合し、そのmRNAのシナプス輸送を制御していることを明らかにした。そして、DISC1とmRNAの結合阻害がシナプス可塑性に異常を引き起こすことが分かった。これらの結果はDISC1が種々の神経mRNAと結合し、mRNAのシナプス輸送を制御することでシナプス可塑性に関与していることを示していた(図2)。

●●● 主な発表論文 ●●●

2013年

1. Okamoto M, Namba T, Shinoda T, Kondo T, Watanabe T, Inoue Y, Takeuchi K, Enomoto Y, Ota K, Oda K, Wada Y, Sagou K, Saito K, Sakakibara A, Kawaguchi A, Nakajima K, Adachi T, Fujimori T, Ueda M, Hayashi S, Kaibuchi K, Miyata T. TAG-1 assisted progenitor elongation streamlines nuclear migration to optimize subapical crowding. *Nat Neurosci* 16: 1556-1566 (2013).
2. Funahashi Y, Namba T, Fujisue S, Itoh N, Nakamuta S, Kato K, Shimada A, Xu C, Shan W, Nishioka T, Kaibuchi K. ERK2-mediated phosphorylation of Par3 regulates neuronal polarization. *J Neurosci* 33: 13270-13285 (2013).
3. Nakayama M, Nakayama A, van Lessen M, Yamamoto H, Hoffmann S, Drexler HC, Itoh N, Hirose T, Breier G, Vestweber D, Cooper JA, Ohno S, Kaibuchi K, Adams RH. Spatial regulation of VEGF receptor endocytosis in angiogenesis. *Nat Cell Biol* 15: 249-260 (2013).
4. Takefuji M, Krüger M, Sivaraj KK, Kaibuchi K, Offermanns S, Wettschureck N. RhoGEF12 controls cardiac remodeling by integrating G protein- and integrin-dependent signaling cascades. *J Exp Med* 210: 665-673 (2013).
5. Takefuji M, Yura Y, Kaibuchi K, Murohara T. RhoGEF-mediated vasoconstriction in hypertension. *Hypertens Res* 36: 930-931 (2013).

2014年

1. Kakeno M, Matsuzawa K, Matsui T, Akita H, Sugiyama I, Ishidate F, Nakano A, Takashima S, Goto H, Inagaki M, Kaibuchi K, Watanabe T. Plk1 phosphorylates CLIP-170 and regulates its binding to microtubules for chromosome alignment. *Cell Struct Funct* 39: 45-59 (2014).
2. Namba T, Kibe Y, Funahashi Y, Nakamuta S, Takano T, Ueno T, Shimada A, Kozawa S, Okamoto M, Shimoda Y, Oda K, Wada Y, Masuda T, Sakakibara A, Igarashi M,

- Miyata T, Faivre-Sarrailh C, Takeuchi K, Kaibuchi K. Pioneering axons regulate neuronal polarization in the developing cerebral cortex. *Neuron* 81: 814-829 (2014).
3. Funahashi Y, Namba T, Nakamuta S, Kaibuchi K. Neuronal polarization in vivo: Growing in a complex environment. *Curr Opin Neurobiol* 27: 215-223 (2014).
4. Weng L, Enomoto A, Miyoshi H, Takahashi K, Asai N, Morone N, Jiang P, An J, Kato T, Kuroda K, Watanabe T, Asai M, Ishida-Takagishi M, Murakumo Y, Nakashima H, Kaibuchi K, Takahashi M. Regulation of cargo-selective endocytosis by dynamin 2 GTPase-activating protein girdin. *EMBO J* 33: 2098-2112 (2014).
5. Wen Z, Nguyen HN, Guo Z, Lalli MA, Wang X, Su Y, Kim NS, Yoon KJ, Shin J, Zhang C, Makri G, Nauen D, Yu H, Guzman E, Chiang CH, Yoritomo N, Kaibuchi K, Zou J, Christian KM, Cheng L, Ross CA, Margolis RL, Chen G, Kosik KS, Song H, Ming GL. Synaptic dysregulation in a human iPS cell model of mental disorders. *Nature* 515: 414-418 (2014).
6. Matsui T, Watanabe T, Matsuzawa K, Kakeno M, Okumura N, Sugiyama I, Itoh N, Kaibuchi K. PAR3 and aPKC regulate Golgi organization through CLASP2 phosphorylation to generate cell polarity. *Mol Biol Cell* 26: 751-761 (2014).
7. Hori K, Nagai T, Shan W, Sakamoto A, Taya S, Hashimoto R, Hayashi T, Abe M, Yamazaki M, Nakao K, Nishioka T, Sakimura K, Yamada K, Kaibuchi K, Hoshino M. Cytoskeletal regulation by AUTS2 in neuronal migration and neuritogenesis. *Cell Rep* 9: 2166-2179 (2014).
8. Tsuboi D, Kuroda K, Tanaka M, Namba T, Iizuka Y, Taya S, Shinoda T, Hikita T, Muraoka S, Iizuka M, Nimura A, Mizoguchi A, Shiina N, Sokabe M, Okano H, Mikoshiba K, Kaibuchi K. Disrupted-in-schizophrenia 1 regulates transport of ITPR1 mRNA for synaptic plasticity. *Nat Neurosci* (in press).

●●● 競争的研究資金 ●●●

2013年度～2014年度

1. 文部科学省 新学術領域研究「包括型脳科学研究推進支援ネットワーク」神経細胞プロテオミクス(分担者: 貝淵弘三)
2. 文部科学省 脳科学研究戦略推進プログラム課題 G 情動の制御機構を解明するための神経情報基盤の構築(代表者: 貝淵弘三)
3. 文部科学省 新学術領域研究「シリア・中心体系による生体情報フローの制御」シリア・中心体系に基づく細胞構築の非対称化機構(分担者: 貝淵弘三)
4. 文部科学省 新学術領域研究「シナプス・ニューロサーキットパソロジーの創成」DISC1/

Neuregulin-1とシナプス形成(分担者: 森大輔)

5. 日本学術振興会 基盤研究(A) 細胞の極性を制御するリン酸化シグナルの解明(代表者: 貝淵弘三)
6. 日本学術振興会 基盤研究(C) 低分子量G蛋白質 Rhoシグナルが関わる疾患の分子基盤の解明(代表者: 天野陸紀)
7. 日本学術振興会 若手研究(B) 統合失調症発症関連因子DISC1と結合するmRNAの網羅的同定と機能解析(代表者: 坪井大輔)
8. 日本学術振興会 戦略的国際科学技術協力推進事業 統合失調症における神経発達障害の分子基盤解明(代表者: 貝淵弘三)

神経遺伝情報学分野

Division of Neurogenetics

当研究室では、(i) 先天性筋無力症候群をはじめとする神経筋接合部信号伝達障害の分子病態・正常分子構築・制御の研究、(ii) 正常ならびに各種神経筋疾患におけるRNA代謝の病態と制御研究、(iii) ドラッグ・リポジショニング研究、(iv) 分子状水素の酸化ストレスを含む各種病態に対する効果の分子基盤研究を行なっている。さらに、マイクロアレイ、次世代シーケンサ (Whole genome-reseq, Exome-reseq, CLIP-seq, ChIP-seq, RNA-seq, CAGE-seq, PolyA-seq, Nascent-seq) 解析ならびにRNAスプライシング解析を解析ツールの開発と共に、ベンチトップ研究手法と融合させている。

●●● 構 成 員 ●●●

教 授 大野欽司
准 教 授 増田章男
助 教 伊藤 (笹谷) 美佳子
特任助教 武田淳一
高等研究院 特任講師 大河原美静
助 教 三島健一 (整形外科)、松下雅樹 (整形外科)
医 員 村松友佳子 (小児科)、飛田哲朗 (整形外科)、
八木秀樹 (整形外科)
大学院 (博士課程) Rahman Mohammad Alinoor,
Farhana Nasrin、陳 桂 英 (Chen Gui Ying)、Nazim
Mohammad、林莹妮 (Lin Yingni)、李晋 (Li Jin)、山下

喜洋、Khalid Bin Ahsan、長谷川幸 (整形外科)、杉浦
洋 (整形外科)、北村暁子 (整形外科)、竹内智哉 (小児科)、
伊藤研悠 (整形外科)、都島幹人 (整形外科)、田中智史 (整
形外科)、石井久雄 (手の外科)、赤根真央 (手の外科)、
濱田俊介 (整形外科)、竹上靖彦 (整形外科)、宮本健太
郎 (整形外科)、笠井健広 (整形外科)、岸本烈純 (整形外科)
大学院 (修士課程) 江原佑佳、長谷川聖
客員研究者 伊藤雅史 (東京都健康長寿医療センター研究所・
老化機構研究チーム)、角田 誠 (東京大学大学院薬学系研
究科生体分析化学)
技術補佐員 板野恵子、小澤史子、宮崎あゆ美

●●● 研究テーマの詳細 ●●●

I. 先天性筋無力症候群の病態・制御研究

先天性筋無力症候群 (CMS) は、神経筋接合部情報伝達の障害により病的な筋力低下と易疲労性が生じる疾患群である (図1)。Exome-reseq解析により本邦のCMS症例を発掘し、その分子病態機構の研究を行っている。さらに、脊髄前角細胞の網羅的発現解析にて複数の新たな神経筋接合部構築分子の同定を行っている。

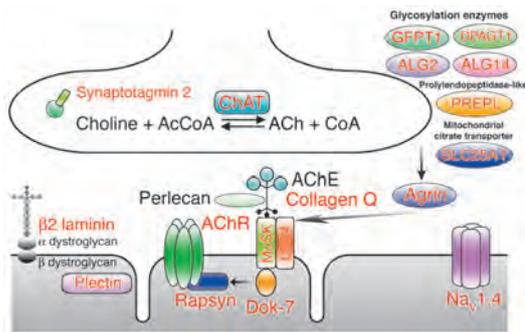


図1. 先天性筋無力症候群において欠損する神経筋接合部分子 (赤字)

II. 正常ならびに各種神経筋疾患におけるRNA病態と制御研究

ヒトは遺伝子数を増やすことなく時空間的に精緻に制御された選択的スプライシングの多様性を獲得することにより進化してきた。その破綻が各種疾患を惹起する。我々は、正常と病態におけるsplicing cis-elementsとtrans-factorsの同定・機能解析を行ってきた (図2)。さらに、RNA結合タンパクのRNA結合部位を網羅的に決定をするCLIP-seqをChIP-seq、

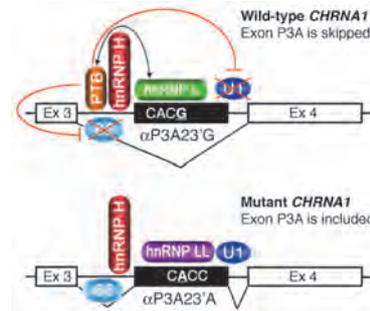


図2. 遺伝子変異が明らかにしたhnRNP LとhnRNP LLの競合的スプライシング制御

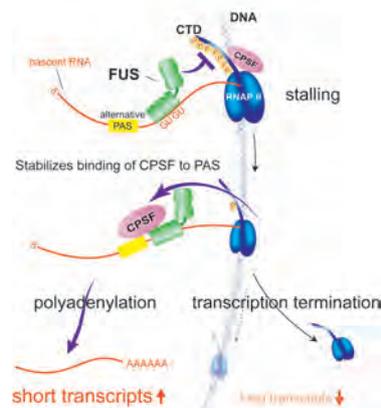


図3. FUSによるalternative short mRNA発現誘導

RNA-seq, exon arrayと組み合わせることによりRNA結合タンパクFUSが結合部位特異的にmRNAの長さを決定することを明らかにした (図3)。



Ⅲ. ドラッグ・リポジショニング研究

既認可薬は用量・用法・安全域・副作用が知られており、基礎研究成果の迅速な臨床応用が可能である。我々は、ドラッグ・リポジショニング研究により、進行性骨化性線維異形成症 (FOP) に対する Ca channel blocker (Perhexiline)、変形性関節症に対する Ca channel blocker (Verapamil)、軟骨形成不全症に対する anti-histamine agent (Meclozine)、筋強直性ジストロフィーに対する NSAID の効果を明らかにするとともに、一部の薬剤に対しては分子作用機構を明らかにしてきた (図4)。

Ⅳ. 分子状水素の研究

分子状水素は酸化ストレス病態ならびに炎症病態を中心に130種類を超えるモデル動物ならびに16種類のヒト疾患において分子状水素の有効性が報告をされてきた。水素は顕著な効果を示すにも関わらず分子作用機構が十分に解明されていなかったが、我々は網羅的

な発現解析、メタボローム解析を含む分子生物学解析・細胞生物学解析により水素の分子作用機構を解明しつつある。

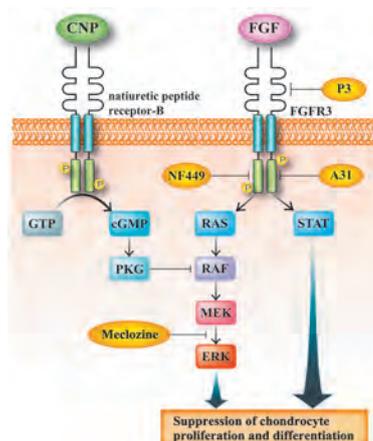


図4. 抗ヒスタミン薬 Meclozine による活性型 FGFR3 の抑制

●●● 主な発表論文 ●●●

2013年

1. Nakata T, Ito M, Azuma Y, Otsuka K, Noguchi Y, Komaki H, Okumura A, Shiraishi K, Masuda A, Natsume J, Kojima S, Ohno K. Mutations in the C-terminal domain of ColQ in endplate acetylcholinesterase deficiency compromise ColQ-MuSK interaction. Hum Mutat 34: 997-1004 (2013).
2. Fujioka Y, Ishigaki S, Masuda A, Iguchi Y, Udagawa T, Watanabe H, Katsuno M, Ohno K, Sobue G. FUS-regulated region- and cell-type-specific transcriptome is associated with cell selectivity in ALS/FTLD. Sci Rep 3: 2388 (2013).
3. Rahman MA, Masuda A, Ohe K, Ito M, Hutchinson DO, Mayeda A, Engel AG, Ohno K. HnRNP L and hnRNP LL antagonistically modulate PTB-mediated splicing suppression of CHRNA1 pre-mRNA. Sci Rep 3: 2931 (2013).
4. Matsushita M, Kitoh H, Ohkawara B, Mishima K, Kaneko H, Ito M, Masuda A, Ishiguro N, Ohno K. Meclozine facilitates proliferation and differentiation of chondrocytes by attenuating abnormally activated FGFR3 signaling in achondroplasia. PLoS One 8: e81569 (2013).

2014年

1. Ohkawara B, Cabrera-Serrano M, Nakata T, Milone

- M, Asai N, Ito K, Ito M, Masuda A, Ito Y, Engel AG, Ohno K. LRP4 third beta-propeller domain mutations cause novel congenital myasthenia by compromising agrin-mediated MuSK signaling in a position-specific manner. Hum Mol Genet 23: 1856-1868 (2014).
2. Takamatsu A, Ohkawara B, Ito M, Masuda A, Sakai T, Ishiguro N, Ohno K. Verapamil protects against cartilage degradation in osteoarthritis by inhibiting Wnt/ β -catenin signaling. PLoS One 9: e92699 (2014).
3. Yamashita Y*, Matsuura T*, Kurosaki T, Amakusa Y, Kinoshita M, Ibi T, Sahashi K, Ohno K. LDB3 splicing abnormalities are specific to skeletal muscles of patients with myotonic dystrophy type 1 and alter its PKC binding affinity. Neurobiol Disord 69: 200-205 (2014). *Equal contribution.
4. Asai N, Ohkawara B, Ito M, Masuda A, Ishiguro N, Ohno K. LRP4 induces extracellular matrix productions and facilitates chondrocyte differentiation. Biochem Biophys Res Commun 451: 302-307 (2014).
5. Nasrin F, Rahman MA, Masuda A, Ohe K, Takeda J, Ohno K. HnRNP C, YB-1 and hnRNP L coordinately enhance skipping of human MUSK exon 10 to generate a Wnt-insensitive MuSK isoform. Sci Rep 4: 6841 (2014).

●●● 競争的研究資金 ●●●

2013年度～2014年度

1. 日本学術振興会 基盤研究 (B) (一般) 神経筋接合部の正常構築と分子病態研究 (代表者: 大野欽司)
2. 厚生労働科学研究費 (障害者対策総合研究事業 (障害者対策総合研究開発事業 (神経・筋疾患分野)) 下部神経管閉鎖障害の病態・制御研究 (代表者: 大野欽司))
3. 文部科学省 新学術領域研究 神経変性疾患関連 RNA 結合タンパク FUS による転写抑制機構解明

(代表者: 大野欽司)

4. 日本学術振興会 挑戦的萌芽研究 神経筋接合部分子 LRP4 の分子構築解明 (代表者: 大野欽司)
5. 厚生労働科学研究費委託業務 (難治性疾患等克服研究事業 (難治性疾患等実用化研究事業) 神経筋接合部・骨格筋の興奮伝達障害の病態解明と治療法開発研究 (代表者: 大野欽司))

分子病理学分野

Division of Molecular Pathology

分子病理学分野では、研究室で同定された遺伝子に注目して、発生工学・分子生物学・生化学などの多方面のアプローチによる総合的な研究を行っている。主な研究テーマはアクチン結合タンパクであるGirdinおよびそのファミリー分子の機能解析で、遺伝子改変マウスを利用して個体レベルでの機能解析を行うと共に、癌・神経変性疾患などの疾患モデルの実験系を積極的に利用して、治療への応用を目指した研究を進めている。

●●● 構 成 員 ●●●

教 授 高橋雅英

准 教 授 浅井直也

特任講師 浅井真人

助 教 三井伸二

研 究 員 高岸麻紀、翁 良

大学院生 村松 彩、服部行紀、アラ・ホスネ、韓一凡、
白木之浩、シャニア・アブドレイム、王曉澤、前田啓子
(消化器内科)、水谷泰之(消化器内科)、大森健司(外科第
一)、陸 大輔(外科第一)、砂川真輝(外科第一)、三輪
陽子(産婦人科)、山村由美子(循環器内科)、原 昭壽(循
環器内科)

●●● 研究テーマの詳細 ●●●

I. シナプス可塑性と海馬依存性長期記憶におけるGirdinリン酸化の役割

我々の研究室では、セリン/スレオニンキナーゼAktによりリン酸化される新規アクチン結合タンパクGirdinを同定し、培養細胞および遺伝子改変マウスを用いて機能解析を進めている。ノックアウトマウスの表現型の解析から、Girdinは生後の血管新生および海馬歯状回や脳室下帯での神経新生と嗅球への神経前駆細胞の移動に重要であることが分かった。更に、AktによるGirdinリン酸化部位の変異ノックインマウスGirdin S1416Aを作成して解析したところ、血管新生のリン酸化制御が示される一方で神経系には組織学的な異常が見られなかった。そこで、名古屋大学大学院医学系研究科・医療薬学との共同研究により変異マウスの行動解析を行ったところ、Girdin S1416A変異マウスにおいて海馬依存性の長期記憶の障害が起こっていることが判明した。変異マウスでは未熟なシナプスの形成が起きており、海馬神経の電気生理学的解析に

よりLTPの障害と、NMDA受容体を介した反応の障害が明らかとなった。更に、培養海馬神経においてBDNF刺激によりGirdinのリン酸化亢進に伴ってGirdin・NMDA受容体・Srcの複合体形成が見出された。従って、BDNF/TrkB/AktシグナルによるGirdinリン酸化はNMDA受容体の活性化を介して海馬のシナプス可塑性の維持と長期記憶形成を担っていると考えられた(図1)。

II. 選択的エンドサイトーシスにおけるGirdinの役割

以前より免疫電顕の観察からGirdinの膜小胞表面への局在が分かっており、Girdinがエンドサイトーシスに関わると想定されていた。培養細胞を用いたGirdin結合タンパクの生化学的解析により、細胞膜の遊離に重要な働きをするdynaminとGirdinとの結合が見出され、dynaminの活性がGirdinが有するGAP活性によってコントロールされることが判明した。更にEFGRやインテグリンはGirdinと結合する

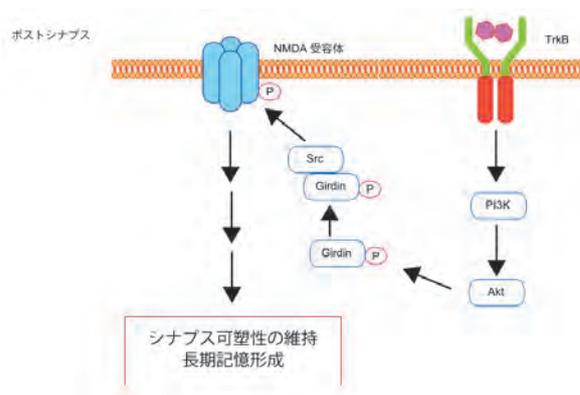


図1. 海馬での長期記憶形成におけるGirdinリン酸化の役割

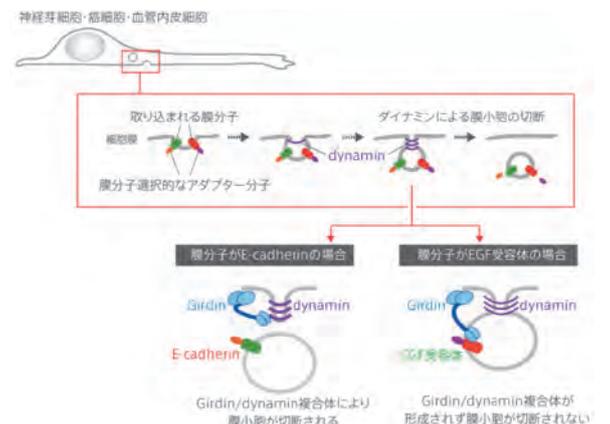


図2. エンドサイトーシスの選択性におけるGirdinの役割



ためにGirdin/dynaminの結合が競合的に阻害されてエンドサイトーシスが抑えられる一方、Girdinと結合しないトランスフェリン受容体やE-cadherinではエンドサイトーシスが促進されることが明らかとなっ

た。こうした結果から、アダプター分子群による選別とは別のエンドサイトーシス選択性のしくみにGirdinが関わっていると考えられた(図2)。

●●● 主な発表論文 ●●●

2013年

1. Ota H, Hikita T, Nishioka T, Matsumoto M, Ito J, Asai N, Enomoto A, Takahashi M, Kaibuchi K, Sobue K, Sawamoto K. Proteomic analysis of Girdin-interacting proteins in migrating new neurons in the postnatal mouse brain. *Biochem Biophys Res Commun* 442: 16-21 (2013).
2. Watanabe N, Mii S, Asai N, Asai M, Niimi K, Ushida K, Kato T, Enomoto A, Ishii H, Takahashi M, Murakumo Y. The REV7 subunit of DNA polymerase ζ is essential for primordial germ cell maintenance in the mouse. *J Biol Chem* 288: 10459-10471 (2013).

2014年

1. Nakai T, Nagai T, Tanaka M, Itoh N, Asai N, Enomoto A, Asai M, Yamada S, Saifullah AB, Sokabe M, Takahashi M, Yamada K. Girdin phosphorylation is crucial for synaptic plasticity and memory: a potential role in the interaction of BDNF/TrkB/Akt signaling with NMDA receptor. *J Neurosci* 34: 14995-15008 (2014).
2. Weng L, Enomoto A, Miyoshi H, Takahashi K, Asai N, Morone N, Jiang P, An J, Kato T, Kuroda K, Watanabe T, Asai M, Ishida-Takagishi M, Murakumo Y, Nakashima H, Kaibuchi K, Takahashi M. Regulation of cargo-selective endocytosis by dynamin 2 GTPase-activating protein girdin. *EMBO J* 33: 2098-2112 (2014).

3. Miyachi H, Mii S, Enomoto A, Murakumo Y, Kato T, Asai N, Komori K, Takahashi M. Role of Girdin in intimal hyperplasia in vein grafts and efficacy of atelocollagen-mediated application of small interfering RNA for vein graft failure. *J Vasc Surg* 60: 479-489 (2014).
4. Ota H, Hikita T, Sawada M, Nishioka T, Matsumoto M, Komura M, Ohno A, Kamiya Y, Miyamoto T, Asai N, Enomoto A, Takahashi M, Kaibuchi K, Sobue K, Sawamoto K. Speed control for neuronal migration in the postnatal brain by Gmip-mediated local inactivation of RhoA. *Nat Commun* 5: 4532 (2014).
5. Kato T, Enomoto A, Watanabe T, Haga H, Ishida S, Kondo Y, Furukawa K, Urano T, Mii S, Weng L, Ishida-Takagishi M, Asai M, Asai N, Kaibuchi K, Murakumo Y, Takahashi M. TRIM27/MRTF-B-dependent integrin $\beta 1$ expression defines leading cells in cancer cell collectives. *Cell Rep* 7: 1156-1167 (2014).
6. Niimi K, Murakumo Y, Watanabe N, Kato T, Mii S, Enomoto A, Asai M, Asai N, Yamamoto E, Kajiyama H, Shibata K, Kikkawa F, Takahashi M. Suppression of REV7 enhances cisplatin sensitivity in ovarian clear cell carcinoma cells. *Cancer Sci* 105: 545-552 (2014).
7. Cebrian C, Asai N, D'Agati V, Costantini F. The number of fetal nephron progenitor cells limits ureteric branching and adult nephron endowment. *Cell Rep* 7: 127-137 (2014).

●●● 競争的研究資金 ●●●

2013年度～2014年度

1. 日本学術振興会 基盤研究(S) Girdinファミリー分子の機能と精神神経疾患・がんの病態形成における役割(代表者:高橋雅英)
2. 日本学術振興会 基盤研究(A) 生後の血管新生、神経新生を制御する分子メカニズムと病態形成(代表者:高橋雅英)
3. 文部科学省 新学術領域研究 Aktキナーゼによるアクチン結合蛋白Girdinのリン酸化修飾と疾患(代表者:高橋雅英)
4. 日本学術振興会 挑戦的萌芽研究 HDAC1結合

蛋白による抗がん剤耐性機構に基づく新たな分子標的治療の開発研究(代表者:高橋雅英)

5. 日本学術振興会 基盤研究(B) 新規Akt基質ガーディンのシナプス可塑性における機能と精神・神経疾患での病態解析(代表者:浅井直也)
6. 日本学術振興会 基盤研究(C) 新規単遺伝子変異マウスモデルを用いた内側型側頭葉てんかんの病態解析(代表者:浅井真人)
7. 日本学術振興会 若手研究(B) 細胞融合の制御機構と腫瘍性多核巨細胞の形成メカニズムの解明(代表者:三井伸二)

機能分子制御学分野

Division of Molecular Biochemistry

私達は、癌および神経変性症をおもな対象にして、それらの発症と病態の進展に関わる分子の同定と作用機構、ならびに得られた知見を基にした難治疾患の新しい治療法の開発を目指しています。とくに細胞膜表面に発現するタンパク質や脂質に結合する糖鎖の構造と役割に焦点をおいて、生化学的、分子生物学的、細胞生物学的解析を進めています。また、それらの作用メカニズムの解明をめざして、分子間相互作用の bioinformatics による解析やイメージング解析を行っています。癌研究においては、とくに発癌初期の糖鎖発現等の変異の検出や、マウスモデルを用いた癌転移関連分子の同定と作用機構を、脳神経系においては、その恒常性と健常性の維持に働く複合糖質糖鎖の分子機能を、おもに糖鎖欠損マウスを樹立して解析しています。

●●● 構 成 員 ●●●

教 授 古川鋼一
 准 教 授 岡島徹也
 講 師 山内祥生
 特任助教 大海雄介
 学術振興会PD研究員 大川祐樹(脳外科)
 科研費研究員 近藤裕史(～2013年9月)、小川光貴
 研究機関研究員 橋本 登
 大学院生(博士課程) 姫妹婷、金子 慶、山下友加(社
 会人)、北村勝誠(社会人)、Bhuiyan Robiul Hasan、

野木森健一(呼吸器内科)、山口世堯、澤口翔伍、高野舞子
 大学院生(修士課程) 山本悠里江、後藤理沙、河合崇生、太田晃成、江崎寛季、張 撲
 客員研究員 堀田宏司
 研 究 生 Alkmini Papadopoulou, Pawel Bieniasz-Krzywiec
 研究補助員 伊藤静香、水野岳子、中安由美子、服部奈緒子、竹居弘貴、小林理絵

●●● 研究テーマの詳細 ●●●

I. 癌関連糖鎖の悪性形質制御機能と治療応用

ガングリオシドGD3を標的にして実施したEMARS (Enzyme-mediated activation of radical sources) 反応で標識した、GD3関連膜分子の解析を進めた。その中で、GD3発現メラノーマ細胞の脂質ラフトに特異的に認められたNeogeninの機能に関して、詳細な解析を行い、GD3とNeogeninの結合が確認されるとともに、Neogenin強制発現細胞において、細胞増殖能、浸潤能の亢進が認められた。さらに、Neogeninのノックダウンによる増殖、浸潤能の低下を認めるとともに、Neogeninの細胞内ドメインが種々の機能分子の遺伝子制御を示唆する結果が得られ、GD3発現に基づくメラノーマの悪性形質の発現機構が明らかになった。一方、マウスのグリオーマ誘発モデルを用いて、GD3と協同作用するPDGFR α をEMARSにより同定して、その機能を検討中である。

II. 癌細胞の免疫監視機構からのエスケープ機構

単球/マクロファージに発現するSiglec-9は、シアル酸含有糖鎖であるリガンドと結合すると、抑制性シグナルを伝達することが知られていたが、リガンド発現細胞への影響は不明であった。U937細胞にSiglec-9を高発現する細胞を樹立し、アストロサイトーマ細胞株(AS)と共培養したところ、AS細胞にはカルパイン活性化による接着分子の分解と接着能の低下に加え、細胞運動能と浸潤能の亢進が認められた。これらの結果より、Siglec-9が癌細胞の免疫監視機構からのエスケープに関与することが明らかになった。

III. 酸性スフィンゴ糖脂質は脳神経系の健常性維持とシナプス機能に必須である

糖脂質マウスを用いて、複合型ガングリオシドが脊髄を含む脳神経系の健常性の維持に必須であること、その欠損が補体系の活性化と炎症を惹起して神経変性

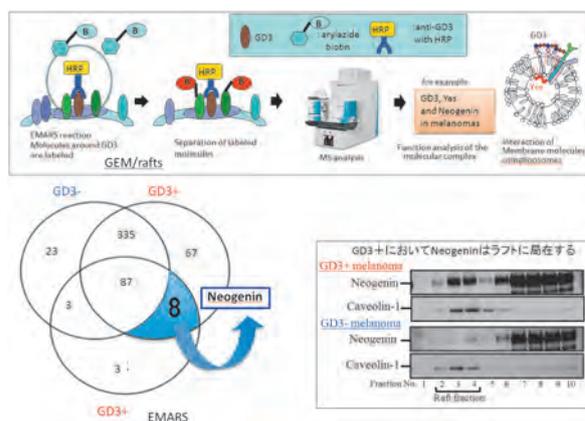


図1. EMARS/MSによるGD3関連分子Neogeninの同定

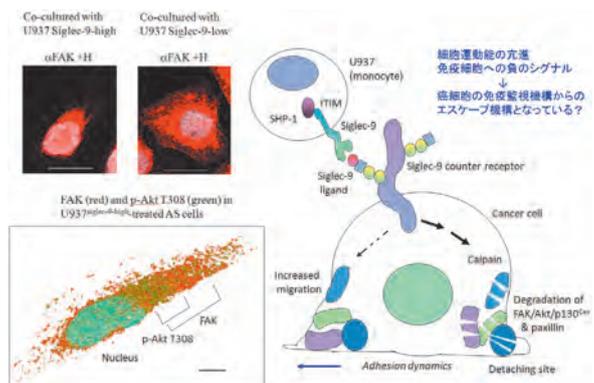


図2. Siglec-9/リガンド(シアル酸含有糖鎖)の反応が細胞接着と移動能を制御する: 単球/マクロファージには抑制性シグナル、癌細胞にはカルパイン活性化による接着分子の分解を誘導



を招くことを報告した。また、GM2/GD2 合成酵素遺伝子のトランスジェニックマウス、欠損マウスの記憶・学習異常、LTP 異常を見出し、これまでほとんど研究のない糖脂質のシナプス機能における役割を明らかにした。

IV. 細胞外ドメイン O-GlcNAc 修飾の役割

Notch 受容体などの膜タンパク質の細胞外ドメインに O-GlcNAc 修飾を行う、新規の O-GlcNAc 転移酵素

EOGT の生理機能と疾患との関連性について研究を進展した。EOGT 欠損マウスの解析より、細胞外 O-GlcNAc の異常が神経変性を招くことが明らかになった。また、頭皮・頭蓋骨の欠損と四肢末端の横断型欠損を主徴とする Adams-Oliver 症候群における EOGT 変異体の生化学的解析より、小胞体 O-GlcNAc 修飾の異常が Adams-Oliver 症候群の原因となることが明らかになった。

●●● 主な発表論文 ●●●

2013年

- Hotta H, Hamamura K, Yamashita K, Shibuya H, Tokuda N, Hashimoto N, Furukawa K, Yamamoto N, Hattori H, Toyokuni S, Ueda M, Furukawa K. Lewis y antigen is expressed in oral squamous cell carcinoma cell lines and tissues, but disappears in the invasive regions leading to the enhanced malignant properties irrespective of sialyl-Lewis x. *Glycoconj J* 30: 585-597 (2013).
- Ilhamjan S, Hashimoto N, Matsumoto Y, Yamaji T, Furukawa K, Furukawa K. Binding of a sialic acid-recognizing lectin Siglec-9 modulates adhesion dynamics of cancer cells via calpain-mediated protein degradation. *J Biol Chem* 288: 35417-35427 (2013).
- Tokuda N, Numata S, Nomura T, Takizawa M, Kondo Y, Yamashita Y, Kiyono T, Takeda N, Urano T, Furukawa K, Furukawa K. β 4GalT6 is involved in the synthesis of lactosylceramide with less intensity than β 4GalT5. *Glycobiology* 23: 1175-1183 (2013).
- Matsumoto Y, Zhang Q, Akita K, Nakada H, Hamamura K, Tsuchida A, Okajima T, Furukawa K, Urano T, Furukawa K. Trimeric Tn antigen on Syndecan-1 binds to integrins and enhances cancer metastasis via dynamic changes of membrane microdomains. *J Biol Chem* 288: 24264-24276 (2013).
- Ogawa M, Nakamura N, Nakayama Y, Kurosaka A, Manya H, Kanagawa M, Endo T, Furukawa K, Okajima T. GTDC2 modifies O-mannosylated α -dystroglycan in the endoplasmic reticulum to generate N-acetyl glucosamine epitopes reactive with CTD110.6 antibody. *Biochem Biophys Res Commun* 440: 88-93 (2013).

2014年

- Furukawa K, Kambe M, Miyata M, Ohkawa Y, Tajima O, Furukawa K. Ganglioside GD3 induces convergence and synergism of adhesion- and hepatocyte growth factor/Met-signals in melanomas. *Cancer Sci* 105: 52-63 (2014).
- Ohmi Y, Ohkawa Y, Tajima O, Sugiura Y, Furukawa K, Furukawa K. Ganglioside deficiency causes inflammation

and neurodegeneration via the activation of complement system in the spinal cord. *Journal of Neuroinflammation* 11: 61 (2014).

- Miyata M, Ichihara M, Tajima O, Sobue S, Kambe M, Sugiura K, Furukawa K, Furukawa K. UVB-irradiated keratinocytes induce melanoma-associated ganglioside GD3 synthase gene in melanocytes via secretion of tumor necrosis factor and interleukin 6. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 445: 504-510 (2014).
- Furukawa K, Kambe M, Miyata M, Ohkawa Y, Tajima O, Furukawa K. Ganglioside GD3 induces convergence and synergism of adhesion and hepatocyte growth factor/Met signals in melanomas. *Cancer Sci* 105: 52-63 (2014).
- Sha S, Zhou L, Yin J, Takamiya K, Furukawa K, Furukawa K, Sokabe M, Chen L. Deficits in cognitive function and hippocampal plasticity in GM2/GD2 synthase knockout mice. *Hippocampus* 24: 369-382 (2014).
- Yao D, McGonigal R, Barrie JA, Cappell J, Cunningham ME, Meehan GR, Fewou SN, Edgar JM, Rowan E, Ohmi Y, Furukawa K, Furukawa K, Brophy PJ, Willison HJ. Neuronal expression of GalNAc transferase is sufficient to prevent the age-related neurodegenerative phenotype of complex ganglioside-deficient mice. *J Neurosci* 34: 880-891(2014).
- Ogawa M, Sawaguchi S, Kawai T, Nadano D, Matsuda T, Yagi H, Kato K, Furukawa K, Okajima T. Impaired O-linked N-acetylglucosamylation in the endoplasmic reticulum by mutated EGF domain-specific O-linked N-acetylglucosamine transferase found in Adams- Oliver syndrome. *J Biol Chem* 290: 2137-2149 (2015).
- Matsubara K, Matsushita Y, Sakai K, Kano F, Kondo M, Noda M, Hashimoto N, Imagama S, Ishiguro N, Suzumura A, Ueda M, Furukawa K, Yamamoto A. Secreted ectodomain of sialic acid-binding Ig-like lectin-9 and monocyte chemoattractant protein -1 promote recovery after rat spinal cord injury by altering macrophage polarity. *J Neurosci* 35: 2452-2464 (2015).

●●● 競争的研究資金 ●●●

2013年度～2014年度

- 日本学術振興会 基盤研究(B) 細胞膜糖脂質とリガンド分子との相互作用により生成されるシグナルの分子機構 (代表者: 古川鋼一)
- 科学技術振興機構 (JST) 戦略的創造研究推進事業 CREST IgG シアル酸付加の生理・病理的意義 (分担者: 古川鋼一)
- 文部科学省 新学術領域研究 スフィンゴ糖脂質糖鎖による神経機能の健全性維持の分子機構 (代表者: 古川鋼一)
- 日本学術振興会 挑戦的萌芽研究 細胞膜スフィンゴ糖脂質と転写制御のリンクによる膜マイクロドメインの動的機能の解明 (代表者: 古川鋼一)
- 文部科学省 新学術領域研究 神経組織の機能発現に参与する新規ドメイン特異糖鎖の解析 (代表者: 岡島徹也)
- 日本学術振興会 基盤研究(B) 細胞外 O-GlcNAc 修飾の Notch シグナルと血管形成における役割

(代表者: 岡島徹也)

- 日本学術振興会 挑戦的萌芽研究 モデル生物を活用した先天性脳疾患関連オーファン糖転移酵素の機能解明 (代表者: 岡島徹也)
- アステラス病態代謝研究会研究助成 (代表者: 岡島徹也)
- 日本学術振興会 基盤研究(C) 細胞膜ドメイン機能を制御するシグナル及び代謝基盤の解明 (代表者: 山内祥生)
- 日本学術振興会 若手研究(B) 関節リウマチにおける IgG シアル酸の意義と新規治療戦略 (代表者: 大海雄介)
- 先端研究支援経費(平成25-26年度) ppGalNAc-T13 遺伝子産物を標的にした癌の予後診断法開発 (代表者: 古川鋼一)
- 日本学術振興会 若手研究(B) Siglec-7 と認識糖鎖の結合による癌の悪性形質増強と免疫監視逃避機構の解析 (代表者: 橋本 登)

疾患モデル解析学分野

Division of Disease Models

疾患モデル解析学分野では、スキルス胃癌の腹膜転移モデルを中心に「癌転移」の分子メカニズムの解明に取り組んでいます。ヒトスキルス胃癌患者の原発癌から樹立した種々の細胞株（親株）をもとに腹膜転移を好発する株（転移株）を単離し、親株と転移株における遺伝子発現の違いや代謝物の違い、或いはタンパク質合成の違いを網羅的に解析することで癌の転移を制するための標的分子の探索を行っています。見出した分子を標的とした癌転移の分子標的治療を核酸医薬で実現するため、siRNAやmiRNAの癌部位への特異的送達研究を長年にわたり継続して研究しています。

●●● 構 成 員 ●●●

准 教 授 武井佳史

研 究 員 沈国棟 (Shen Guodong)「公益財団法人 武田科学振興財団外国人研究員」

大学院生 (博士課程) 袁 媛 (Yuan Yuan)

学部学生 中村健人

研究補助員 丸山奈緒美、望月佑香、鈴木亜希子

●●● 研究テーマの詳細 ●●●

I. 生体高分子アテロコラーゲンによる siRNA の腫瘍特異的 delivery

核酸医薬 (siRNA/miRNA) を用いて、「癌転移」の抑止を動物個体レベルで証明するためには、核酸医薬を腫瘍部位に特異的に送達させる技術が不可欠です。癌転移は全身で起きるので、その送達経路は静脈内投与などの全身性投与が適しています。核酸化合物は概して生体内で不安定で、またその作用機序上、標的細胞の中に取り込まれる必要があります。私達は長年に渡り、生体高分子アテロコラーゲンによる核酸医薬の *in vivo* デリバリーを検討してきました。アテロコラーゲンと複合体化した核酸医薬 (siRNA/miRNA)

を全身性投与によって腫瘍部位に特異的に送達させ、腫瘍細胞に取り込ませる成功例を示してきました。

癌転移の治療モデルを構築するにあたり、ヒト癌細胞をヌードマウスに「正所性」に移植する、所謂「同所性移植癌モデル」が必須となってきました。そこで私達はヒト前立腺癌細胞PC-3をヌードマウスの前立腺に移植する「同所移植癌モデル」を作成し (図1)、作成した腫瘍に対する siRNA の特異的送達を新たに証明しました (siRNA・アテロコラーゲン複合体の静注法による：図1)。癌の標的遺伝子モデルとして、抗アポトーシス因子 Bcl-xL に対する siRNA を同法によって「PC-3同所移植癌」に特異送達させると共に、原発癌に対する抗癌効果とその抗転移効果 (前立腺癌を原発癌に肝及び肺への転移抑止) の双方を示しました。癌転移を標的とした核酸医薬研究にとって、重要なプログレスです。ヒトスキルス胃癌細胞株をヌードマウス胃に同所性に移植した「同所移植癌モデル」に対しても、核酸医薬 (siRNA/miRNA) を腫瘍に送達させる事に成功しました。

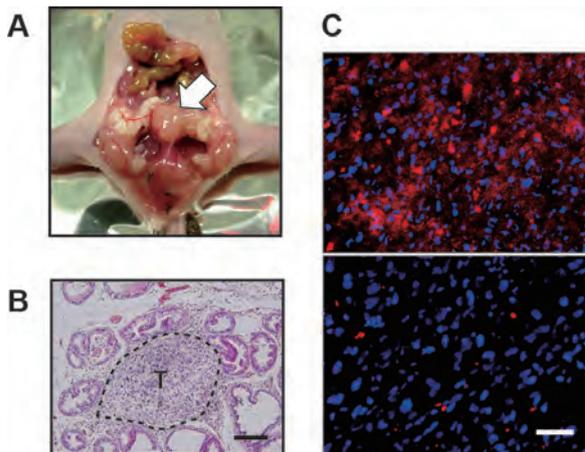


図1. ヒト前立腺癌細胞PC-3の同所移植癌に対する siRNA・アテロコラーゲンの複合体の特異的送達

- A. PC-3細胞の前立腺同所移植癌モデル (白矢印: 形成された癌)
- B. PC-3同所移植癌のHE染色像 (T: 腫瘍)
- C. Cy3標識 siRNA・アテロコラーゲン複合体の *i. v.* 投与による PC-3同所移植癌への特異的送達 (上段: siRNA をアテロコラーゲンと複合体化して静注; 下段: siRNA を単独で静注)

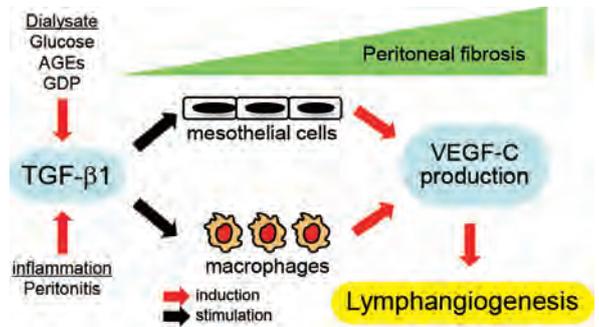


図2. 腹膜線維症におけるリンパ管新生の誘導

腹膜の繊維化において、TGF- β 1の発現誘導を介して腹膜中皮細胞やマクロファージでリンパ管新生因子 (VEGF-C) の発現が誘導され、新生リンパ管が造成されることを発見した。

腫瘍に送達されたsiRNAアテロコラーゲン複合体がどのような分子メカニズムで腫瘍細胞に取り込まれてRNAi mediatorとして機能するか？ その分子機序の解明を進めています。

II. 腹膜線維症におけるリンパ管新生の役割

名古屋大学医学部・腎不全総合治療学(伊藤恭彦教授)と共同で、腹膜の線維化の過程において、TGF-β1がリンパ管新生因子VEGF-Cを誘導し、リンパ管造成

が亢進する事を見出しました。高グルコースなどによるTGF-β1の発現誘導をトリガーとして、腹膜中皮細胞やマクロファージにおいてリンパ管新生因子(VEGF-C)の発現が誘導され、リンパ管が新規に造成されることを発見しました(図2)。腹膜線維症におけるリンパ管新生の臨床的意義、及びリンパ管新生を阻害することで同患者の除水不全が緩和されるか否かの治療学的意義について、今後も継続して研究する予定です。

●●● 主な発表論文 ●●●

2013年

1. Kinashi H, Ito Y, Mizuno M, Suzuki Y, Terabayashi T, Nagura F, Hattori R, Matsukawa Y, Mizuno T, Noda Y, Nishimura H, Nishio R, Maruyama S, Imai E, Matsuo S, Takei Y. TGF-β1 promotes lymphangiogenesis during peritoneal fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 24: 1627-1642 (2013).
2. Murakami M, Horibe H, Iohara K, Hayashi Y, Osako Y, Takei Y, Nakata K, Motoyama N, Kurita K, Nakashima M. The use of granulocyte-colony stimulating factor induced mobilization for isolation of dental pulp stem cells with high regenerative potential. *Biomaterials* 34: 9036-9047 (2013).
3. Iohara K, Murakami M, Takei Y, Horibe H, Kurita K, Nakamura H, Nakashima M. Quality assurance of clinical-grade pulp stem cells manufactured in GMP-compliant facility. *Jpn J Conserv Dent* 56: 121-129 (2013).

2014年

1. Takei Y, Ohnishi N, Kisaka M, Mihara K. Determination of abnormally expressed microRNAs in bone marrow smears from patients with

- follicular lymphomas. *SpringerPlus* 3: 288 (2014).
2. Takei Y. Electroporation-mediated siRNA delivery into tumors. *Methods Mol Biol* 1121: 131-138 (2014).
3. Fujimoto I, Takei Y. Atelocollagen-mediated siRNA delivery: future promise for therapeutic application. *Ther Deliv* 5: 369-371 (2014).
4. Horibe H, Murakami M, Iohara K, Hayashi Y, Takeuchi N, Takei Y, Kurita K, Nakashima M. Isolation of a stable subpopulation of mobilized dental pulp stem cells (MDPSCs) with high proliferation, migration, and regeneration potential is independent of age. *PLoS ONE* 9: e98553 (2014).
5. Yuan Y, Makita N, Cao D, Mihara K, Kadomatsu K, Takei Y. Atelocollagen-mediated intravenous siRNA delivery specific to tumor tissues orthotopically xenografted in prostates of nude mice, and its anticancer effects. *Nucleic Acid Ther* (in press).
6. Terabayashi T, Ito Y, Mizuno M, Suzuki Y, Kinashi H, Sakata F, Tomita T, Iguchi D, Tawada M, Nishio R, Maruyama S, Imai E, Matsuo S, Takei Y. Vascular endothelial growth factor receptor-3 is a novel target to improve net ultrafiltration in methylglyoxal-induced peritoneal injury. *Lab Invest* (in press).

●●● 競争的研究資金 ●●●

2013年度～2014年度

1. 日本学術振興会 基盤研究(C) 細胞表面のコラーゲン受容体を介する標的細胞特異的なsiRNA送達(代表者: 武井佳史)
2. 科学技術振興機構(JST) 研究成果展開事業 研究成果最適展開支援プログラム(A-STEP) フィージビリティスタディ・ステージ 脂肪由来間葉系幹細胞による新しい前立腺癌治療法のフィージビリティ研究(代表者: 武井佳史)
3. 広島大学・原爆放射線医科学研究所 共同利用・共同研究拠点研究費 原爆被爆者血液塗抹検体及び細胞におけるMicroRNAの発現解析(代表者: 武井佳史)
4. 公益財団法人・いわて産業振興センター いわて戦略的研究開発推進事業 末梢血循環癌細胞診断装置に適するための高精度な細胞ピッキングシステムの基盤開発(代表者: 武井佳史)
5. 中京長寿医療研究推進財団 低酸素培養したヒト歯髄幹細胞(dental pulp stem cells)の網羅的遺伝子発現解析とその歯髄再生医療への応用(代表者: 武井佳史)
6. 北村記念血液疾患研究基金 血液がんの骨髄スメア検体から抽出したmiRNAの網羅的アレイ発現解析とバイオマーカーへの応用(代表者: 武井佳史)
7. 日本学術振興会 基盤研究(B) 炎症と血圧制御に関する臓器間クロストークを担う成長因子ミッドカインの作用機構の解明(分担者: 武井佳史)
8. 日本学術振興会 基盤研究(C) PDの腹膜機能不全、慢性腎臓病に対するリンパ管新生を標的とした新規治療戦略(分担者: 武井佳史)
9. 国立長寿医療研究センター 長寿医療研究開発費 歯髄幹細胞を用いた歯髄・象牙質再生によるう蝕・歯髄疾患治療法の臨床応用開発(分担者: 武井佳史)
10. 国立長寿医療研究センター 長寿医療研究開発費 歯髄再生治療をモデルとした高齢者の再生治療を促進する因子(RSF)の開発(分担者: 武井佳史)
11. 国立がん研究センター がん研究開発費 スキルス胃癌の浸潤・播種の機構と新規治療法の研究(分担者: 武井佳史)

オミクス解析学分野

Omics analysis

真菌は最も単純な真核生物として、ヒトを始めとする高等生物を構成する細胞の基本的特徴を備えている。また真菌の中にはヒトなどへ感染を起こして様々な疾患の起原菌ともなる病原性真菌も存在する。当分野では酵母やカビなどの真菌を材料として、ゲノム情報、遺伝子発現情報を背景にした遺伝子多型、環境応答型遺伝子の転写制御メカニズム、細胞の構造や機能、代謝についての遺伝子発現ネットワークなどの解明に向け、多面的なアプローチを行っている。

今般の医療の高度化、先端化、人口の高齢化などに伴い、真菌感染は増加すると予想されており、真菌を通して得られ、発信される情報は重要性を増すと考えられる。当分野の研究の発展と継続が真菌研究をリードしブレイクアウトすることをめざし、鋭意研究を進めている。

●●● 構 成 員 ●●●

准教授 中川善之
講師 神戸俊夫

助 教 紅 朋浩
大学院生(修士課程) 石戸健一

●●● 研究テーマの詳細 ●●●

I. 病原性微生物にとって、宿主の免疫系から免れて生残することが自らが生き残り感染を成立させていく第一歩である。貪食系細胞から放出される活性酸素の解毒にカタラーゼは不可欠な役割を担っているが、近年カタラーゼ遺伝子破壊株が菌糸形成欠損を示すことが明らかになり、カタラーゼ活性と菌糸成長との関わりについて検討を進めてきた。特にカタラーゼタンパク質の局在と菌糸形成欠損の関係に注目し、「細胞表層」をキーワードに研究を進めている。細胞表層は菌が最初に貪食系細胞や活性酸素に遭遇する場であり、この場の遺伝子支配を明らかにすることがカタラーゼと菌糸成長との関連を解くカギとなると考えている。幸い、*Candida albicans*では1遺伝子破壊株ライブラリが利用可能であり、このライブラリをスクリーニングすることでカタラーゼと菌糸成長をつなぐ手がかりになる遺伝子が明らかにされることが期待できる。(中川)

II. カンジダ・アルビカンスは健常者の口腔内、皮膚あるいは腔内に常在し、内因性真菌感染の原因となる最も代表的な真菌である。マイクロサテライト領域に基づいてカンジダ・アルビカンスの遺伝子型を調べると、健常者では同一個体内に生息するカンジダ・アルビカンスの遺伝子型は均一でなく、約2/3以上のヒトで異なる遺伝子型が混在する。一方、感染病巣部から分離した株の遺伝子型は殆どの例で均一である(図1)。健常者口腔から分離した株では5種

類の主要遺伝子型(genotypes I, II, III, IV, V)がみられる。これらの遺伝子型を感染病巣部から分離した株と比較すると、genotype V株は表在性および深在性カンジダ症の全てにおいてみられない。これに対し、genotypes II, III(特に、genotype III)は表在性および深在性カンジダ症の全てから分離され、同様の結果は腔カンジダ症の患者に由来する株でもみられた。これらのことから、genotype IIIカンジダ・アルビカンスがカンジダ症発症に深く関わっていると考えられる。トルコで分離した株でも5種類の全ての遺伝子型が確認できるが、これらとは別の主要遺伝子型が存在した。現在、genotypes IIIとVの株、および他国の主要遺伝子型株間の生物学的性状の違いを調べている。(神戸)

III. 真菌を材料に、ゲノム情報を利用した分子遺伝学的なアプローチにより細胞の増殖や成長における細胞骨格分子の多面的機能を解析している。これらの分子には細胞の増殖と深く関わっているものが多く、抗ガン剤、および種特異的な性質を利用した抗真菌剤の標的として注目している。他方、カビの産する二次代謝物質に注目し、ゲノミクス、及びトランスクリプトーム解析を中心に、国内外の他研究機関との共同によるメタボロミクス解析と連携し、新規機能物質の開発、あるいはカビの早期発見、診断に向けた研究を進めている(図2)。(紅)

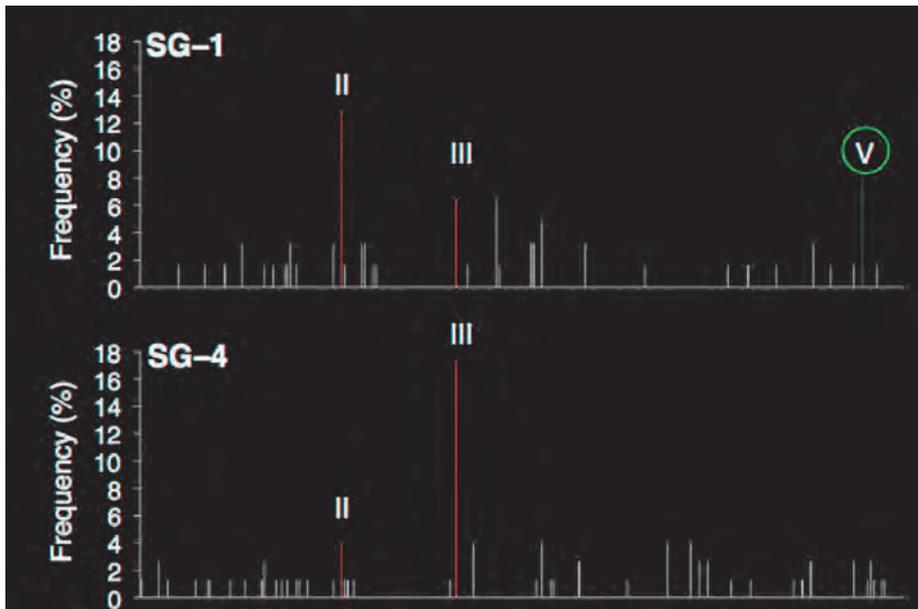


図1. 健康者と口腔カンジダ症由来 Candida albicans の genotype 比較

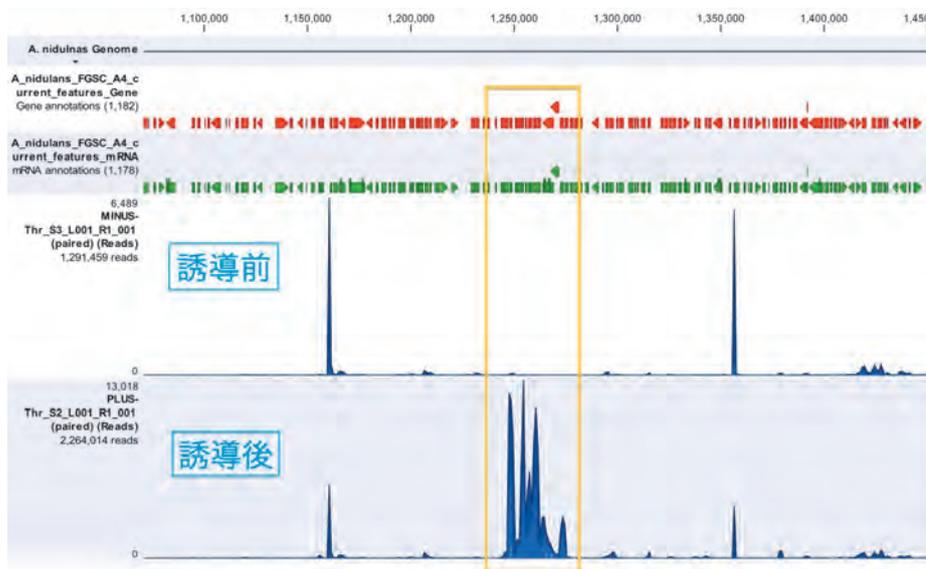


図2. 転写調節遺伝子の変異によりゲノム上の特定の代謝遺伝子クラスターの発現を誘起した例。これにより様々な新規物質の生産が促される。

●●● 主な発表論文 ●●●

2013年～2014年

1. Yoshikawa Y, Umezawa N, Imamura Y, Kanbe T, Kato N, Yoshikawa K, Imanaka T, Higuchi T. Effective chiral discrimination of tetravalent polyamines on the compaction of single DNA molecules. *Angew Chem Int Ed* 52: 3712-3716 (2013).
2. Takagi Y, Fukano H, Shimozato K, Tanaka R, Horii T, Kawamoto F, Kanbe T. Genotypes of *Candida albicans* isolated from healthy individuals and their distribution in patients with oral candidiasis. *J Infect Chemother* 19: 1072-1079 (2013).

●●● 競争的研究資金 ●●●

1. 日本学術振興会 基盤研究 (B) 中央アジアにおける分化人類学的観点から見たヒト常在菌の遺伝子型調査 (分担者: 神戸俊夫)
2. 日本学術振興会 基盤研究 (C) カビ代謝ペプチドの解析のためのフラグメンテーション理論の新展開 (分担者: 紅朋浩)

システム生物学分野

Division of Systems Biology

システム生物学分野では、統計科学による数理モデリングを駆使して、疾患をシステム的な観点から包括的に捉えてデータを解析する方法論について、理論と実践の双方の観点から研究を行っています。次世代シーケンサーから得られるオミクス(ゲノム、エピゲノム、トランスクリプトーム、プロテオーム、メタボロームなど)データから、背後に隠された生命現象の動作原理をシステムとして読み解くことにより、疾患の発症機構や病態の解明、超早期疾患バイオマーカー、治療効果の高精度予測、革新的な治療標的の同定を目指しています。

●●● 構 成 員 ●●●

特任准教授 島村徹平
特任助教 松井佑介

大学院生(修士課程) 畠山 悠
研究補助員 鹿谷亜沙美、大野由美子

●●● 研究テーマの詳細 ●●●

I. オミクスデータからがんを俯瞰的に捉えるための統計的モデリング

これまで個別分子に着目し解析を行う分子生物学のアプローチが生命科学の発展を押し進めてきましたが、従来の仮説駆動型研究は限界に達してきており、網羅的・体系的に取得された大規模な生命情報から意味のある情報を抽出し、生命現象をシステムとして統合的に理解するデータ駆動型研究の必要性が生じてきました。私たちは、医学系研究において発生する課題とその発見・解決法を現場の第一線の研究者とのディスカッションの中で把握するとともに、膨大なオミクスデータを適切に解析し、生命現象を俯瞰的に捉えるためのシステム生物学的方法論の開発を行っています。主な成果は以下の通りです。骨髄系の腫瘍におけるコヒーシ複合体の変異解析(発表論文1)、淡明細胞型腎細胞がんの統合オミクス解析(発表論文2)、細胞周期を制御するノンコーディングRNAの発現解析(発表論文3)、腫瘍微小環境におけるトランスクリプトーム解析(発表論文4)、大腸

がん再発・転移予測マーカーの同定(発表論文5)、抗がん剤感受性予測のためのロバストなスパース回帰モデルの推定法(発表論文7)、小児の胸膜肺芽腫の変異解析(発表論文8)。

II. オブジェクト指向型データの解析法

私たちは、近年得られるさまざまな形式の医学データに対する解析法として、オブジェクト指向型のデータに対する統計的な解析法を研究しています。例えば、超高頻度に観測されるようなセンシングデータは、個々の点として捉えるよりも、連続的な「関数」として捉えることで、各センサーの特徴を把握しやすくなります。最近の研究では、多数のセンサー(関数)から、時間に依存したクラスターの構造を同定する方法を開発し、実際に福島県に設置されている3925箇所のモニタリングポストデータから、時期に依存するセンサー群の特徴を同定することができました。このように、複雑な形式のデータに対して高次元な表現を与えることで、これまでの多変量解析手法では得られないような、データの背後に潜む構造の同定を目指しています。

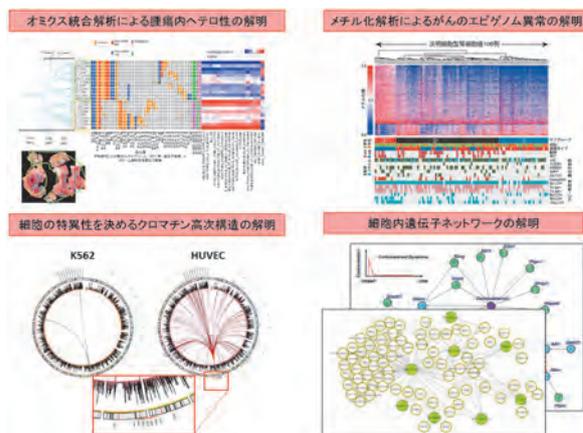


図1. オミクスデータから疾病を俯瞰的に捉えるための統計的モデリング

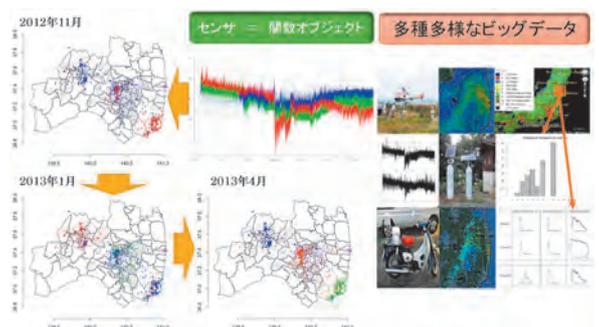


図2. 福島県内のモニタリングポスト(3925箇所)の時期に依存したクラスター群(左図)

● ● ● 主な発表論文 ● ● ●

2013年

1. Kon A, Shih LY, Minamino M, Sanada M, Shiraishi Y, Nagata Y, Yoshida K, Okuno Y, Bando M, Nakato R, Ishikawa S, Sato-Otsubo A, Nagae G, Nishimoto A, Haferlach C, Nowak D, Sato Y, Alpermann T, Nagasaki M, Shimamura T, Tanaka H, Chiba K, Yamamoto R, Yamaguchi T, Otsu M, Obara N, Sakata-Yanagimoto M, Nakamaki T, Ishiyama K, Nolte F, Hofmann WK, Miyawaki S, Chiba S, Mori H, Nakauchi H, Koeffler HP, Aburatani H, Haferlach T, Shirahige K, Miyano S, Ogawa S. Recurrent mutations in multiple components of the cohesin complex in myeloid neoplasms. *Nat Genet* 45: 1232-1237 (2013).
2. Sato Y, Yoshizato T, Shiraishi Y, Maekawa S, Okuno Y, Kamura T, Shimamura T, Sato-Otsubo A, Nagae G, Suzuki H, Nagata Y, Yoshida K, Kon A, Suzuki Y, Chiba K, Tanaka H, Niida A, Fujimoto A, Tsunoda T, Morikawa T, Maeda D, Kume H, Sugano S, Fukayama M, Aburatani H, Sanada M, Miyano S, Homma Y, Ogawa S. Integrated molecular analysis of clear-cell renal cell carcinoma. *Nat Genet* 45: 860-867 (2013).
3. Furuta M, Kozaki K, Tanimoto K, Tanaka S, Arii S, Shimamura T, Niida A, Miyano S, Inazawa J. The tumor-suppressive miR-497-195 cluster targets multiple cell-cycle regulators in hepatocellular carcinoma. *PLoS ONE* 8(3): e60155 (2013).
4. Osawa T, Tsuchida R, Muramatsu M, Shimamura T, Wang F, Suehiro J, Kanki Y, Wada Y, Yuasa Y, Aburatani H, Miyano S, Minami T, Kodama T, Shibuya M. Inhibition of histone demethylase JMJD1A improves anti-angiogenic therapy and reduces tumor-associated macrophages. *Cancer Res* 73: 3019-3028 (2013).
5. Yokobori T, Iinuma H, Shimamura T (equally contributed first author), Imoto S, Sugimachi K, Ishii H, Iwatsuki M, Ota D, Ohkuma M, Iwaya T, Nishida N, Kogo R, Sudo T, Tanaka F, Shibata K, Toh H, Sato T, Barnard GF, Fukagawa T, Yamamoto S, Nakanishi H, Sasaki S, Miyano S, Watanabe T, Kuwano H, Mimori K, Pantel K, Mori M. Plastin3 is a novel marker for circulating tumor cells undergoing the epithelial-mesenchymal transition and is associated with colorectal cancer prognosis. *Cancer Res* 73: 2059-2069 (2013).

6. Tamura T, Sone M, Nakamura Y, Shimamura T, Imoto S, Miyano S, Okazawa H. A restricted level of PQBP1 is needed for the best longevity of *Drosophila*. *Neurobiol Aging* 34: 356.e11-20 (2013).

2014年

1. Park H, Shimamura T, Miyano S, Imoto S. Robust prediction of anti-cancer drug sensitivity and sensitivity-specific biomarker. *PLoS ONE*, 9: e108990 (2014).
2. Seki M, Yoshida K, Shiraishi Y, Shimamura T, Sato Y, Nishimura R, Okuno Y, Chiba K, Tanaka H, Kato K, Kato M, Hanada R, Nomura Y, Park MJ, Ishida T, Oka A, Igarashi T, Miyano S, Hayashi Y, Ogawa S, Takita J. Biallelic DICER1 mutations in sporadic pleuropulmonary blastoma. *Cancer Res* 74: 2742-2749 (2014).
3. Sawada G, Takahashi Y, Niida A, Shimamura T, Kurashige J, Matsumura T, Ueo H, Uchi R, Takano Y, Ueda M, Hirata H, Sakimura S, Shinden Y, Eguchi H, Sudo T, Sugimachi K, Miyano S, Doki Y, Mori M, Mimori K. Loss of CDCP1 Expression Promotes Invasiveness and Poor Prognosis in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Ann Surg Oncol* 21: S640-647 (2014).
4. Barclay SS, Tamura T, Ito H, Fujita K, Tagawa K, Shimamura T, Katsuta A, Shiwaku H, Sone M, Imoto S, Miyano S, Okazawa H. Systems biology analysis of *Drosophila* in vivo screen data elucidates core networks for DNA damage repair in SCA1. *Hum Mol Genet* 23: 1345-1364 (2014).
5. Sugimachi K, Niida A, Yamamoto K, Shimamura T, Imoto S, Iinuma H, Shinden Y, Eguchi H, Sudo T, Watanabe M, Tanaka J, Kudo S, Hase K, Kusunoki M, Yamada K, Shimada Y, Sugihara K, Maehara Y, Miyano S, Mori M, Mimori K. Allelic Imbalance at an 8q24 Oncogenic SNP is Involved in Activating MYC in Human Colorectal Cancer. *Ann Surg Oncol* 21: S515-521 (2014).
6. Matsui Y, Mizuta M. SDA for mixed-type data and its application to analysis of environmental radio activity level data. *COMPSTAT2014*: 673-680 (2014).
7. Matsui Y, Minami H, Mizuta M. Symbolic Cluster analysis for distribution valued dissimilarity. *Communications for Statistical Applications and Methods* 21: 225-234 (2014).

● ● ● 競争的研究資金 ● ● ●

1. 日本学術振興会 若手研究(B) 高次エピゲノムが生み出す生命情報を読み解く統計解析法の開発 (代表者: 島村徹平)
2. 文部科学省 新学術領域「システムがん」計算とシミュレーションによるがんシステム学の創成 (分担者: 島村徹平)
3. 日本学術振興会 若手研究(A) 細胞内代謝シフトを解析、統合、理解するためのベイズモデリング

(代表者: 島村徹平)

4. 日本学術振興会 挑戦的萌芽研究 機能性ncRNA探索のための転写調節ネットワークアトラス (代表者: 島村徹平)
5. 日本学術振興会 基盤研究(B) 最小単位オミクス総合解析による乳がん組織多様性の解明 (分担者: 島村徹平)



名古屋大学大学院医学系研究科
神経疾患・腫瘍分子医学研究センター

腫瘍病態統御部門

- ① 分子腫瘍学分野 TEL: 052-744-2454 FAX: 052-744-2457
【公式HP】 http://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical/6455/6456/link_bunshisyuyougaku.html
【独自HP】 <http://www.med.nagoya-u.ac.jp/molcar/jp/>
- ② 腫瘍生物学分野 TEL: 052-744-2463 FAX: 052-744-2464
【公式HP】 <http://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical/6272/6346/shuyouseibutsugaku.html>
【独自HP】 <http://www.med.nagoya-u.ac.jp/molecularpatho/>

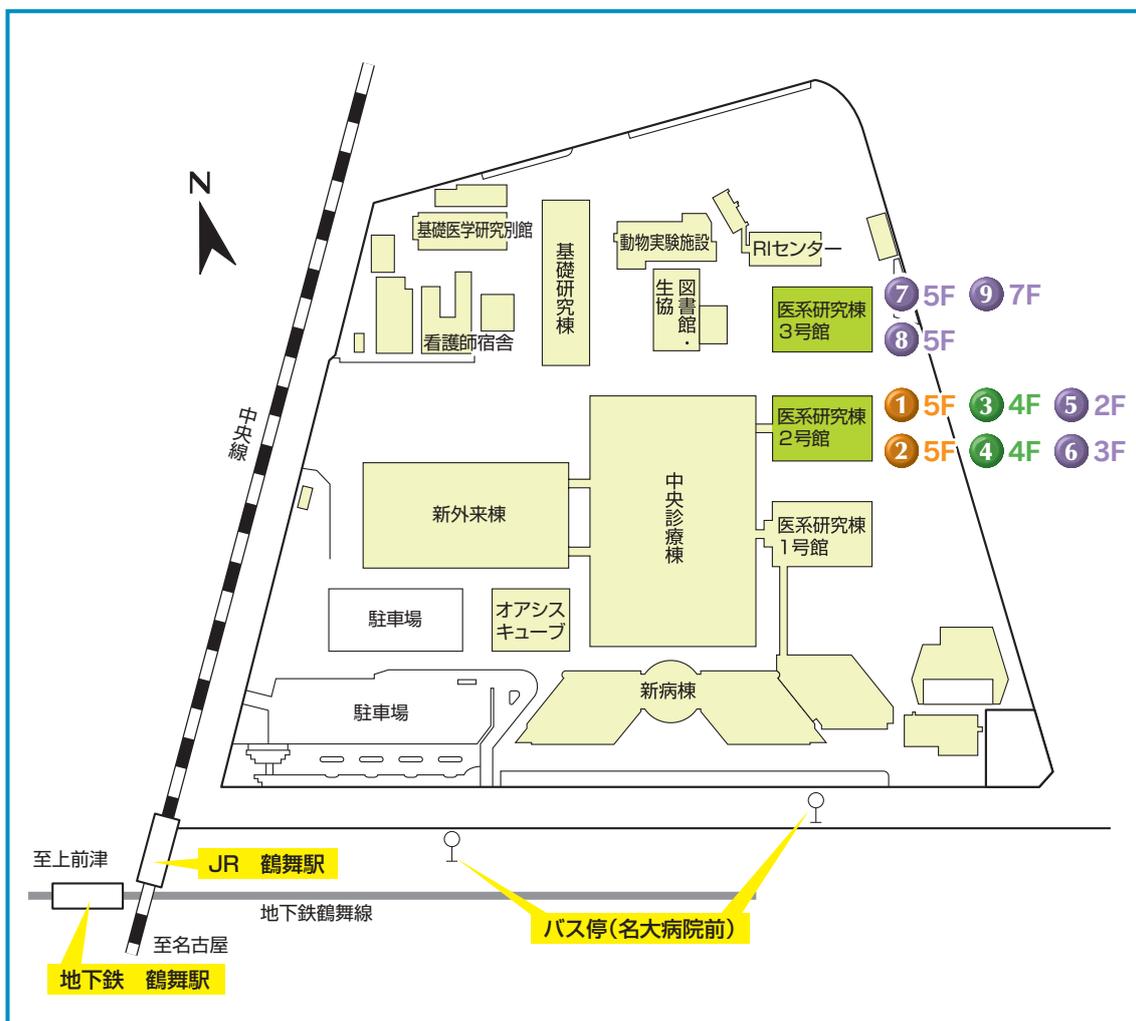
神経疾患病態統御部門

- ③ 神経情報薬理学分野 TEL: 052-744-2075 FAX: 052-744-2083
【公式HP】 <http://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical/6272/6344/shinkeijouhouyakurigaku.html>
【独自HP】 <http://www.med.nagoya-u.ac.jp/Yakuri/index.htm>
- ④ 神経遺伝情報学分野 TEL: 052-744-2447 FAX: 052-744-2449
【公式HP】 <http://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical/6272/6326/shinkeiidenjouhougaku.html>
【独自HP】 <http://www.med.nagoya-u.ac.jp/neurogenetics/>

先端応用医学部門

- ⑤ 分子病理学分野 TEL: 052-744-2093 FAX: 052-744-2098
【公式HP】 <http://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical/6272/6370/bunshibyorigaku.html>
【独自HP】 http://www.med.nagoya-u.ac.jp/patho2/sen_hp/
- ⑥ 機能分子制御学分野 TEL: 052-744-2070 FAX: 052-744-2069
【公式HP】 <http://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical/6272/6326/kinoubunshiseigyogaku.html>
【独自HP】 <http://www.med.nagoya-u.ac.jp/biochemII/index.html>
- ⑦ 疾患モデル解析学分野 TEL: 052-744-2060 FAX: 052-744-2065
【公式HP】 http://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical/6455/6459/link_shikkanmodelkaiseigaku.html
【独自HP】 <http://www.med.nagoya-u.ac.jp/shikkan/>
- ⑧ オミクス解析学分野 TEL: 052-744-2460 FAX: 052-744-2459
【公式HP】 <http://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical/6272/6326/bunshihyoutekichiryougaku.html>
- ⑨ システム生物学分野 TEL: 052-744-1980 FAX: 052-744-2029

鶴舞地区概略図



腫瘍病態統御部門 (Department of Oncology)

- ① 分子腫瘍学分野 医系研究棟 2号館 5階
- ② 腫瘍生物学分野 医系研究棟 2号館 5階

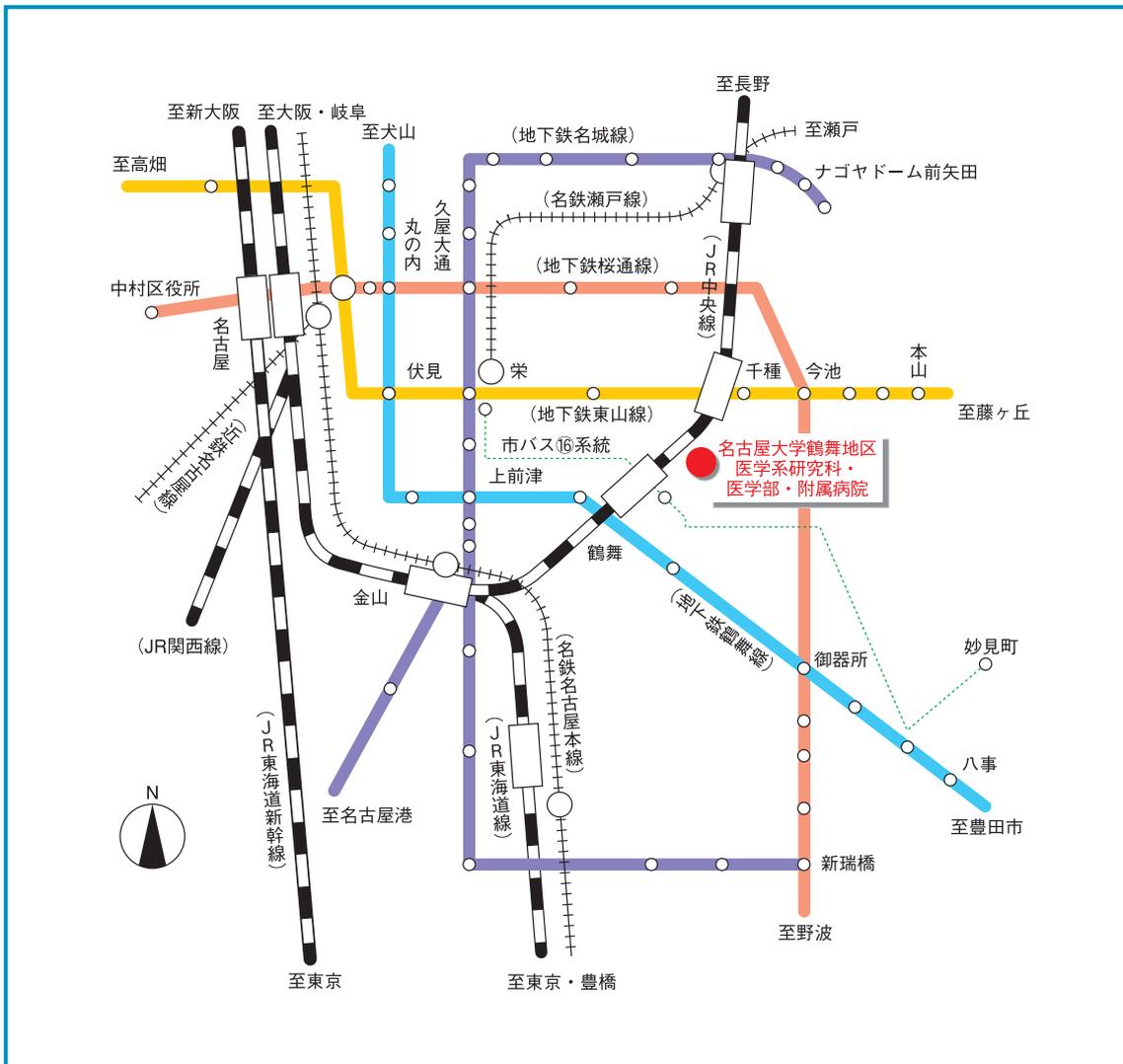
神経疾患病態統御部門 (Department of Neuroscience)

- ③ 神経情報薬理学分野 医系研究棟 2号館 4階
- ④ 神経遺伝情報学分野 医系研究棟 2号館 4階

先端応用医学部門 (Department of Advanced Medical Science)

- ⑤ 分子病理学分野 医系研究棟 2号館 2階
- ⑥ 機能分子制御学分野 医系研究棟 2号館 3階
- ⑦ 疾患モデル解析学分野 医系研究棟 3号館 5階
- ⑧ オミクス解析学分野 医系研究棟 3号館 5階
- ⑨ システム生物学分野 医系研究棟 3号館 7階

交通アクセス



1. JR中央線・鶴舞駅(名大病院口側)下車 徒歩3分
2. 地下鉄(鶴舞線)鶴舞駅下車 徒歩8分
3. 市バス栄から栄18系統「妙見町」行き「名大病院」下車

所在地

〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町65番地
名古屋大学大学院医学系研究科
医系研究棟2・3号館

