

(独) 科学技術振興機構
戦略的創造研究推進事業
チーム型研究 (CREST)
追跡評価用資料

研究領域 「生物の発生・分化・再生」
(2000 - 2007年度)

研究総括 堀田凱樹

2013 年 10 月

目次

要旨	1
第1章 追跡調査概要.....	3
1.1 研究領域概要.....	3
1.1.1 戦略目標.....	3
1.1.2 研究領域概要.....	3
1.1.3 研究総括.....	3
1.1.4 領域アドバイザー.....	3
1.1.5 研究課題および研究代表者.....	4
1.2 研究領域終了後の進展と波及効果.....	6
1.2.1 研究成果の発展状況や活用状況.....	6
1.2.2 研究成果の科学技術的および社会・経済的な波及効果.....	7
第2章 追跡調査	9
2.1 追跡調査について.....	9
2.1.1 調査の目的.....	9
2.1.2 調査の対象.....	9
2.1.3 調査の方法.....	9
2.2 アウトプット概要.....	10
2.2.1 研究助成金.....	10
2.2.2 論文	14
2.2.3 特許	15
2.3 アウトカム.....	18
2.3.1 科学技術的アウトカム.....	18
2.3.2 社会・経済的アウトカム.....	20
第3章 各研究課題の主な研究成果および波及効果.....	22
3.1 2000年度採択課題	22
3.1.1 単一細胞レベルのパターン形成：細胞極性の制御機構の解明(上村 匡)...	22
3.1.2 幹細胞システムに基づく中枢神経系の発生・再生研究(岡野 栄之).....	27
3.1.3 Genetic dissection による神経回路網形成機構の解析(岡本 仁).....	32
3.1.4 生殖細胞形成機構の解明とその哺乳動物への応用(小林 悟).....	37
3.1.5 器官形成における細胞遊走の役割及びそのシグナリングと再生への応用(竹縄 忠臣)	41
3.1.6 形態の非対称性が生じる機構(濱田 博司).....	45
3.1.7 発生における器官・形態形成と細胞分化の分子機構(松本 邦弘).....	48
3.2 2001年度採択課題	52

3.2.1	脂肪細胞の分化・形質転換とその制御(門脇 孝).....	52
3.2.2	嗅覚系における神経回路形成と再生の分子機構(坂野 仁).....	56
3.2.3	特異的・新規発生遺伝子の機能の網羅的解析(佐藤 矩行).....	60
3.2.4	網膜内領域特異化と視神経の発生・再生機構(野田 昌晴).....	65
3.3	2002 年度採択課題	69
3.3.1	細胞周期の再活性化による再生能力の賦活化(中山 敬一).....	69
3.3.2	細胞内パターンニングによる組織構築(広海 健).....	73
3.3.3	脳構築の遺伝的プログラム(松崎 文雄).....	76
第4章	科学技術イノベーションに資する研究成果の状況.....	80
4.1	研究領域からの研究成果事例	80
4.1.1	幹細胞システムに基づく中枢神経系の発生・再生研究(岡野 栄之).....	80
4.1.2	脂肪細胞の分化・形質転換とその制御(門脇孝).....	84
4.2	まとめ.....	86

要旨

本資料は、戦略的創造研究推進事業のチーム型研究 CREST の研究領域「生物の発生・分化・再生」(2000-2007 年度)において、研究終了後一定期間を経過した後、副次的効果を含めて研究成果の発展状況や活用状況等を明らかにし、独立行政法人科学技術振興機構 (JST) 事業及び事業運営の改善等に資するための追跡評価のために、追跡調査を実施した結果をまとめたものである。

本研究領域は、生物の発生・分化の過程を通して、分子・細胞・器官等さまざまなレベルでみられる分子機構、生物の巨視的な姿・形の形成を支配する法則、および失われた組織や細胞の復元・再生過程にみられる生物自身が示す調整性やその分子生物学的メカニズムに関する研究、さらには器官形成の過程の研究等を対象とした。また、再生医療等の実現に不可欠な発生・分化・再生のメカニズムを解明することを通して、豊かで健康な生活環境を実現することをねらいとして研究を推進した。

神経系分野では、神経突起伸長のメカニズム解明と神経全体の形成パターンを解明する研究、神経幹細胞の非対称分化の機構をゼブラフィッシュで解明する研究、マウスを用い、発生・分化における細胞内シグナルの変化を神経細胞が伸展する際の運動メカニズムにつなげる研究、前後・左右の決定機構の視点からの分化機構の研究などのさまざまなレベルにおける神経の発生・分化の過程や神経が変形・伸展するメカニズムの研究が行われた。

これらの研究は、ショウジョウバエなどで得られた知見をもとに、哺乳類であるマウスの分子などの比較から、哺乳類での機序の解明を試み、生物の共通原理としての知見の構築を目指した。さらに、線虫、ショウジョウバエ、アフリカツメガエル、ゼブラフィッシュ、マウスなどでの研究から、非哺乳類の病態遺伝子とヒトの相同遺伝子を想定し、アルツハイマーなどの疾患治療つながる可能性を示した。

嗅覚受容体と嗅神経伸展機構の研究、網膜の発生分化の分子機構の研究や、生殖細胞の分化機構の研究などは感覚器官の発生分化の仕組みの解明ばかりでなく、発生・分化と密接に関連する妊娠・出産の科学の進展に寄与すると考えられる。

細胞周期や白血病発生のメカニズムなどの解明はがん治療への糸口となる可能性がある。

その他、ホヤとアコヤ貝の全遺伝子解明の研究は生命全体の神経系の進化と生物の進化の仕組みに迫るとともに真珠生産の基礎となる知見を提供している。

再生に関する研究では、ショウジョウバエ、マウスなどの神経幹細胞の発生・分化機構の解明から、幹細胞の作製・継代を可能にする基礎的知見を構築し、霊長類であるマーモセットの iPS 細胞の作製にも成功している。特に、マーモセットの脊椎損傷病態モデルへの iPS 細胞移植による治療効果を実証したことで、本研究領域での成果を大きく発展させた。本研究領域終了後にも本成果に基づき、安全な iPS 細胞を調製し、ヒトの脊髄損傷の治療に向けての臨床試験の準備が進んでいるなど、科学技術イノベーションの創出に資する研究成果として着目されている。

また、糖尿病に関する因子として本研究領域で発見されたアディポネクチン受容体の機能解明は、本研究領域終了後、治療薬開発につながるまで展開している。追跡調査時点では、糖尿病の根本治療薬の開発を目指し、アディポネクチン受容体作動活性を有する低分子化合物を探索し、経口でマウスの糖尿病を改善し、インスリン抵抗性、寿命を延長する化合物が見出されている。

これらの事例は、本研究領域の発生・分化・再生のメカニズムの解明という基礎研究の成果がさまざまな疾患の治療につながる科学技術の進展を促し、科学技術イノベーション創出のための基盤技術を構築し、本領域のねらいが的中したことを示している。

第1章 追跡調査概要

1.1 研究領域概要

1.1.1 戦略目標

技術革新による活力に満ちた高齢化社会の実現

1.1.2 研究領域概要

生物の発生・分化の過程をとおして分子・細胞・器官等さまざまなレベルで見られる分子機構、生物の巨視的な姿・形の形成を支配する法則、および失われた組織や細胞の復元・再生過程にみられる生物自身が示す調整性やその分子生物学的メカニズムに関する研究、さらには器官形成の研究等を対象とする。

具体的には、発生・分化・再生過程における形質発現プログラムの解析、細胞の個性と多様性の分子機構の解明、幹細胞の増殖・分化に関わるプロセスの解析、器官形成・組織形成やそのメカニズムの解明等のテーマについて、遺伝学・分子細胞生物学や遺伝子工学等のさまざまなアプローチによる研究を取り上げる。

1.1.3 研究総括

堀田 凱樹(情報・システム研究機構 機構長)

1.1.4 領域アドバイザー

表 1-1 領域アドバイザー

領域アドバイザー	所属	役職	任期
岡田 益吉	国際高等研究所 筑波大学	副所長 名誉教授	2000年4月-2008年3月
帯刀 益夫	東北大学	名誉教授	2000年4月-2008年3月
須田 年生	慶應義塾大学医学部 総合医科学研究センター	センター長 教授	2000年4月-2008年3月
竹市 雅俊	理化学研究所発生・再生科学総合研究センター	センター長	2000年4月-2008年3月
長濱 嘉孝	自然科学研究機構 基礎生物学研究所	副所長 教授	2000年4月-2008年3月
藤澤 肇	名古屋大学	名誉教授	2000年4月-2008年3月
佐藤 矩行	京都大学大学院 理学研究科	教授	2000年4月-2001年3月
矢崎 義雄	国立国際医療センター	総長	2001年4月-2004年3月

(註)所属と役職は本研究領域 終了時点

1.1.5 研究課題および研究代表者

研究課題(研究者)の公募は2000年度から3年間、3期にわたり、総計14件の研究課題を採択した。表1-2に各期の研究課題、研究代表者、採択当時の所属機関と役職、終了時の所属と役職ならびに現在の所属と役職を示した。

表 1-2 研究課題と研究代表者

採択年度	研究課題	研究代表者	採択時の所属・役職	終了時の所属・役職	追跡調査時の所属・役職
2000年度	単一細胞レベルのパターン形成：細胞極性の制御機構の解明	上村 匡	京都大学ウイルス研究所 教授	京都大学大学院生命科学研究所 教授	京都大学大学院生命科学研究所 教授
	幹細胞システムに基づく中枢神経系の発生・再生研究	岡野 栄之	慶応義塾大学医学部 教授	慶応義塾大学医学部 教授	慶応義塾大学医学部 教授
	Genetic dissectionによる神経回路網形成機構の解析	岡本 仁	独立行政法人 理化学研究所 脳科学総合研究センター チームリーダー	独立行政法人 理化学研究所 脳科学総合研究センター グループディレクター	独立行政法人 理化学研究所 脳科学総合研究センター 発生遺伝子制御研究チーム シニア・チームリーダー
	生殖細胞形成機構の解明とその哺乳動物への応用	小林 悟	岡崎国立共同研究機構統合バイオサイエンスセンター 教授	自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター 教授	大学共同利用機関法人 自然科学研究機構 基礎生物学研究所 岡崎統合バイオサイエンスセンター 教授
	器官形成における細胞遊走の役割及びそのシグナリングと再生への応用	竹縄 忠臣	東京大学医科学研究所 教授	東京大学医科学研究所 教授	神戸大学医学系研究科 質量分析総合センター センター長
	形態の非対称性が生じる機構	濱田 博司	大阪大学細胞生体工学センター 教授	大阪大学大学院生命機能研究科 教授	大阪大学大学院生命機能研究科教授
	発生における器官・形態形成と細胞分化の分子機構	松本 邦弘	名古屋大学大学院理学研究科 教授	名古屋大学大学院理学研究科 教授	名古屋大学大学院理学研究科 教授
2001年度	脂肪細胞の分化・物質転換とその制御	門脇 孝	東京大学大学院医学系研究科 助教授	東京大学大学院医学系研究科 教授	東京大学大学院医学系研究科 教授

2001 年度	嗅覚系における神経回路形成と再生の分子機構	坂野 仁	東京大学大学院理学系研究科 教授	東京大学大学院理学系研究科 教授	東京大学 名誉教授 福井大学 特命教授
	特異的・新規発生遺伝子の機能の網羅的解析	佐藤 矩行	京都大学大学院理学研究科 教授	京都大学大学院理学研究科 教授	沖縄科学技術大学院大学 教授、マリングェノミックユニット代表
	網膜内領域特異化と視神経系の発生・再生機構	野田 昌晴	岡崎国立共同研究機構基礎生物学研究所 教授	大学共同利用機関法人 自然科学研究機構 基礎生物学研究所 統合神経生物学研究部門 教授	大学共同利用機関法人 自然科学研究機構 基礎生物学研究所 統合神経生物学研究部門 教授
2002 年度	細胞周期の再活性化による再生能力の賦活化	中山 敬一	九州大学生体防御医学研究所細胞機能制御学部門 分子発現制御学分野 教授	九州大学生体防御医学研究所 細胞機能制御学部門 分子発現制御学分野 教授	九州大学生体防御医学研究所 細胞機能制御学部門 分子発現制御学分野 教授
	細胞内パターンニングによる組織構築	広海 健	大学共同利用機関法人 情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所 発生遺伝研究部門 教授	大学共同利用機関法人 情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所 発生遺伝研究部門 教授	大学共同利用機関法人 情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所 発生遺伝研究部門 教授
	脳構築の遺伝的プログラム	松崎 文雄	独立行政法人 理化学研究所発生・再生科学総合研究センター 非対称細胞分裂研究グループ グループディレクター	独立行政法人 理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター 非対称細胞分裂研究グループ グループディレクター	独立行政法人 理化学研究所発生・再生科学総合研究センター 非対称細胞分裂研究グループ グループディレクター

1.2 研究領域終了後の進展と波及効果

1.2.1 研究成果の発展状況や活用状況

本研究領域は、ショウジョウバエ神経を材料に神経突起伸長のメカニズム解明と神経全体の形成パターンを解明する研究(上村)、神経幹細胞の非対称分化の機構をゼブラフィッシュで解明する研究(岡本)など比較的遺伝学的に取り扱いが容易な生物において基礎的な神経発生分化の基本的メカニズムを研究する研究とより複雑な哺乳類であるマウスを用い、発生、分化における細胞内シグナルの変化を神経細胞が伸展する際の運動メカニズムにつなげる研究(竹縄)、前後・左右の決定機構の視点からの分化機構の研究(濱田)などで構成され、研究が進められた。いずれの研究もショウジョウバエなどで得られた知見をマウスの分子と比較し(上村、岡本)、哺乳類での機序への拡張を試み、生物の基本原理としての知見の構築を意識している点が特徴である。松崎もショウジョウバエからマウスに研究材料を変え、神経細胞の非対称分裂の研究を進展させている。ホヤの神経系発達を全遺伝子解明により行う研究(佐藤)は6個の新規遺伝子と分化に必須の遺伝子Ci-Ptflaを見出し、生命全体の神経系の進化に迫ろうとしている。

松本はさらにショウジョウバエ、線虫、アフリカツメガエル、ゼブラフィッシュ、マウスで研究を展開し、軸索再生のシグナル伝達系の比較をおこない、線虫での病態遺伝子ホモログ分子(WNK-1, APL-1など)が人でも適用できる可能性を示し、アルツハイマーなどの疾患治療つながる研究であるとしてマスコミに注目された。

岡野らは、ショウジョウバエ、マウスなどの神経幹細胞の発生分化機構を解明し、幹細胞の作成・継代を可能にし、さらにマーマセツトでiPS細胞を作成することにより、新たに開発したマーマセツトの脊椎損傷モデルへ応用研究を行ない、その病態の改善効果を示し、本研究領域の成果を大きく発展させた。蝸牛細胞の分化制御から発展させた難聴治療や、再生医療実現に向けた細胞プロセッシングセンターを作り、安全な細胞の確保のための環境整備を整え、脊髄損傷治療の準備を進めている。

門脇は、糖尿病患者の治療に貢献することを目標に研究を続けており、本研究領域期間中に発見したアディポネクチン受容体とその働きの詳細を解明し、糖尿病の根本治療のための新しい方法を開拓している。さらに、アディポネクチン受容体ノックイン細胞による低分子化合物のスクリーニング法を開発し、新薬開発の基盤を作るとともに、候補化合物を取得するまで至っている。

生殖細胞に着目し、その分化機構をショウジョウバエとマウスで行った小林の研究は発生分化と密接に関連する妊娠・出産の科学に寄与すると考えられる。

坂野は嗅覚受容体と神経伸展機構について、マウスで、神経の分化の観点から研究し、脳への神経伸展経路の形成機構の仕組みの詳細を明らかにしている。野田は、ニワトリからマウスに研究対象を移し、網膜の発生分化機構の分子的解明するとともに微小管制御分子を発見している。

中山らは細胞周期の制御を、がん治療に結びつけることを目指し、ユビキチンリガーゼ複合体Fbw7の役割と白血病発生のメカニズムを解明している。また、その他の分子も神経の変性、伸長に密接に関係することを見出し、それが統合失調症、肥満などの疾患の治療につながる可能性を示している。さらに、神経突起の形成に働くプロトルーデンの研究を進め、その細胞制御機能を明らかにした。広海らは神経構築機構として軸索ガイド分子Midlineがショウジョウバエの神経内膜タンパクの配置を制御し、神経機能発揮の基礎となっていることを見出した。

いずれの研究代表者も本研究領域期間中の研究を進展させ、さらに、新しい遺伝子およびタンパク質を見出し、その機能を解明している。また、全体的にショウジョウバエなどで得られた成果をマウスなどの高等動物との比較研究を行ない、ヒトへの外挿を意識した研究に進展させている。岡野の研究は認可されれば早い時期に臨床研究に結びつく成果であり、極めて応用可能性の高い研究である。門脇の研究成果も糖尿病の治療方針に直ちに反映される可能性のある研究である。

1.2.2 研究成果の科学技術的および社会・経済的な波及効果

(1) 科学技術の進歩への貢献

本領域における神経の発生・分化機構に関する研究の多くはショウジョウバエ神経を材料に進められ、神経の発生・分化が各種因子の働きにより連絡を持った神経網を形成する機構、神経の役割が頭尾など部位に分化・決定してゆく非対称成立機構、神経幹細胞が自己複製し維持される仕組みと、分化し神経細胞なるための仕組みなどの研究がなされた。

マウスを用いた研究では、偽足をはじめ神経突起の伸長機構、軸索再生機構の詳細の研究がなされ、哺乳類での神経とショウジョウバエ、アフリカツメガエル、ゼブラフィッシュなどとの比較研究がなされており、ショウジョウバエの成果が人へ外挿できるかどうかを意識して研究が継続・発展されている。非対称成立の詳細の研究もマウスを用いて行われている。

さらに特殊な細胞である生殖細胞、聴覚細胞、網膜細胞の分化機構の研究がマウス、ショウジョウバエなどでなされ、生体内の各種細胞の詳細な発生・分化の機構が明らかになった。また、ホヤを材料に全ゲノムの解読し、分化に必要な遺伝子を見出し、生物の神経系の進化の過程を明らかにする研究は、本研究領域後にもいくつかの新しい分化関連遺伝子を見出している。

さらに、ヒトに近い霊長類のマーモセットを用い iPS 細胞の作成した本研究領域の研究は、さらに発展し、マーモセットを用いて病態モデルを作成し、iPS 細胞適用の効果を確認する研究がなされ、臨床応用に近づいている。また、分化因子を制御する既存の化合物の作用メカニズムから、難聴の臨床治療の可能性を切り開いている。

対症療法に依存してきた糖尿病に対して、根本治療を目指してなされた本研究領域の研究は、アディポネクチンとその受容体の糖尿病における役割の解明につながり、糖尿病の治療に直ちに利用される事になった。また、アディポネクチン受容体の立体構造解析と受容体を用いたスクリーニング法の開発により、アディポネクチン作用を持つ糖尿病に有効な化合物が選定され、新薬の開発の入口にまで至っている。

細胞周期に着目し、がん治療に結びつけることを目指した研究は、ユビキチンリガーゼ複合体の役割と白血病発生のメカニズムを解明したほか、神経の変性、伸長に密接に関係するプロトルーディンやその他の分子を見出し、それが統合失調症、肥満などの疾患の治療につながる可能性を示している。

(2) 社会・経済的波及効果

研究成果の報道回数は上村(3回、以下回数)、岡野(76)、岡本(1)、小林(3)、竹縄(1受賞報道)、濱田(4、受賞報道1)、松本(2、受賞報道2)、門脇(30)、坂野(1)、佐藤(10)、野田(3)、中山(4)であり、岡野、門脇が突出している。これは研究テーマが岡野は再生によるアルツハイマーや慢性神経障害の治療と脊髄損傷治療、門脇は糖尿病と肥満であり、一般の関心がこれらのテーマに関心が高いということを示しているとともに社会的にインパクトの高い研究を行なっていることの証左である。岡野の成果は幹細胞および iPS 細胞を用いた再生医療の研究であり、遺伝疾患や事故による脊髄損傷に伴う運動障害の患者など、広い範囲の患者の治療に結びつく研究として期待を集めた。また、大木、坪田らと共同で行った角膜再生研究は網膜再生など患者の多い疾患の治療と生活の質の向上に多大の寄与が期待される研究である。さらに、マーモセットやサル病態モデルは薬物開発の促進に寄与する。

門脇の研究も2,000万人以上の潜在患者を抱えている糖尿病の根本治療を目論んだものであり、「アディポネクチンが糖や脂肪の燃焼を促進する仕組みの解明」は新聞・テレビなどの注目を集めた。また、アディポネクチンは脂肪細胞の働きを代表する分子であり、肥満症とも関連しているため、自身の著書「異所性脂肪《メタボリックシンドロームの新常識》」をはじめ各種の雑誌単行本で解説されている。

糖尿病の根本治療は糖尿病性腎症の患者の人工透析患者の減少による医療費の低減に寄与すること
どまらず、週3回の透析時間による労働損失の回復につながり経済的利益は多大である。

本研究領域発足当時は生物の発生・分化の人工的制御に関する研究は始まったばかりであるが、2006
年の iPS 細胞の作成、山中伸弥教授の 2012 年度ノーベル生理学賞受賞をきっかけにますます再生医療
が注目されつつある中で、本研究領域の成果は、幹細胞の発生・分化の機構を知るために必須の成果
であり、幹細胞の大量培養・維持のための知識に寄与するもので、岡野らが整備している細胞プロセ
シングセンターや、純良な iPS 細胞を選別し保管する方法の開発により、近い将来の幹細胞による各種
の疾患治療の実現の基礎が整いつつある。岡野らが進める iPS 細胞を中核とした京浜臨海部における
ライフ・イノベーションの整備は地域経済の振興にも寄与している。

多くの研究者は本研究領域期間中の研究に対して特許を出願しており(表 2-4 参照)、登録されて成
立している特許も多い。本研究領域以降の特許出願も多くあることが研究者へのインタビューにより
判明したが、まだ公開されてないため、見かけ上減少している。

第2章 追跡調査

2.1 追跡調査について

2.1.1 調査の目的

追跡調査は、本研究領域終了から一定期間を経過した後、副次的効果を含めて研究成果の発展状況や活用状況を明らかにし、科学技術振興機構(以下 JST と略記)の事業および事業運営の改善に資するために行うもので、本研究領域終了後の研究代表者の研究課題の発展状況等を調査した。

2.1.2 調査の対象

本追跡調査は CREST 研究領域「生物の発生・分化・再生(2000～2007 年度)」の研究代表者全員を対象とする。表 2-1 に調査対象と調査対象期間を示す。

表 2-1 調査対象と調査対象期間

採択年度	研究実施期間	終了後調査対象期間	研究課題数
2000 年度	2000 年 11 月～2006 年 3 月	2006 年 4 月～2012 年 9 月	7
2001 年度	2001 年 10 月～2007 年 3 月	2007 年 4 月～2012 年 9 月	4
2002 年度	2002 年 10 月～2008 年 3 月	2008 年 4 月～2012 年 9 月	3

※ただし、

2000 年度採択の岡野、岡本、竹縄、濱田、松本は、

研究実施期間：2000 年 11 月～2005 年 10 月、終了後調査対象期間：2005 年 11 月～2012 年 9 月

2001 年度採択の門脇は、

研究実施期間：2001 年 12 月～2006 年 11 月、終了後調査対象期間：2006 年 12 月～2012 年 9 月

2001 年度採択佐藤、野田は、

研究実施期間：2001 年 12 月～2007 年 3 月、終了後調査対象期間：2007 年 4 月～2012 年 9 月

2002 年度採択の中山、松崎は

研究実施期間：2002 年 11 月～2008 年 3 月、終了後調査対象期間：2008 年 4 月～2012 年 9 月

とする。

2.1.3 調査の方法

(1) 研究助成金

本研究領域終了以降に、研究代表者が代表もしくはそれに相当する立場(総括研究者、プロジェクトリーダー等)で獲得した外部研究助成金を調査した。

対象となる外部研究助成金と調査方法は以下の通りである。

① 科研費

KAKEN 科学研究費助成事業データベース(<http://kaken.nii.ac.jp/>) から、研究代表者が代表となっている研究課題を検索した。さらに、CREST 研究の規模から継続・発展が図られているかという観点から、大型(1 千万円/件以上)のものを抽出した。

② JST 事業

JST ホームページ(<http://www.jst.go.jp/>) のサイト内検索で研究代表者の情報を検索し、プロジェクト終了以降に研究代表者が代表となって採択された事業もしくはプロジェクト(研究総括あるいは領域総括としての関与は含まない)を抽出した。

③ NEDO プロジェクト

NEDO ホームページ(<http://www.nedo.go.jp/>) のサイト内検索、および成果報告書データベース(<https://app5.infoc.nedo.go.jp/disclosure/Login> 利用には ID とパスワードが必要) から、研究代表者の情報を検索し、本研究領域終了以降に代表者、もしくはプロジェクトリーダー等として実施しているプロジェクトの有無を確認した。

④ 最先端・次世代研究開発支援プログラム

最先端研究開発支援プログラム (FIRST プログラム) のホームページ(<http://first-pg.jp/about-us/about-30.html>) および最先端・次世代研究開発支援プログラムのホームページ(<http://www.jsps.go.jp/j-jisedai/life.html>) から、研究代表者の採択実績を確認した。

⑤ その他

本研究領域においては、研究成果の農林水産分野への応用も想定されることから、関連するものとして農研機構・生物系特定産業技術研究支援センターのホームページ(<http://www.naro.affrc.go.jp/brain/shien/index.html>)から、同センターが支援する研究プロジェクトへの採択実績についても調査した。また厚生科研費については厚生労働省ホームページ(<http://www.mhlw.go.jp/>)、文部科学省の 21 世紀 COE プログラムについてもホームページ(http://www.mext.go.jp/a_menu/koutou/coe/main6_a3.htm)を調査した。

(2) 論文

本研究領域期間中および本研究領域終了以降の研究代表者の発表論文について、Scopus (Elsevier) の名寄せ機能を用いて検索を行った。なお、著者名だけでは研究代表者の論文と特定できない場合には、抄録を確認し、所属機関の情報や内容から絞り込みを行った。

次に、本研究領域期間中および本研究領域終了以降の論文数を求めた。対象は Article と Review に絞り込み、さらに本研究領域終了以降の論文については、研究代表者が筆頭著者 (1st Author) もしくは責任著者 (Last Author) となっている論文 (以下「責任著者論文」) の数を求めた。

(3) 特許

本研究領域期間中出願特許の成立および海外出願の状況と、本研究領域終了以降の国内・海外出願特許について調査した。国内特許の出願・成立状況の検索・確認には、国内特許公報 ATMS を、海外 (国際) 出願・成立状況の検索・確認には、欧州特許庁の esp@cenet を用いた。

本研究領域期間中の出願特許については、まず国内出願特許の成立状況を国内特許公報 ATMS で確認した。次に、その出願を優先権とする国内・海外 (国際) 出願と成立状況を esp@cenet で確認した。

本研究領域終了以降の出願特許については、研究代表者が発明者に含まれる国内出願特許を検索し、成立状況を確認した。海外 (国際) 出願と成立状況については、本研究領域期間中出願特許の確認方法に準じ、esp@cenet を用いて行った。

2.2 アウトプット概要

2.2.1 研究助成金

研究の展開を大枠で把握するために、表 2-2 に大型研究助成金の取得状況を纏めて示した。研究代表者のほとんどは本研究領域期間中あるいは終了後、文部科学省の科研費 特定領域研究、学術創成

研究費、基盤研究 (A) (B) (S)、JST の CREST や発展研究 (SORST) の研究補助金を得て、研究をさらに展開していることが窺える。

表 2-2 研究代表者の研究助成金獲得状況

■ : 科研費 ■ : JST ■ : NEDO ■ : その他

採択年度	研究代表者	研究費名称	研究テーマ名	開始年度	終了(予定)年度	年度												金額(百万円)	
						00	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11		12
2000	上村 匡	科研費 基盤研究B	コフィリン脱リン酸化/再活性化の調節を介する上皮細胞とニューロンのダイナミクス	2005	2006													14.5	
		科研費 特定領域研究	樹状突起のパターン形成:分岐の複雑度や受容野のサイズを調節・維持する分子機構	2005	2009														101.9
		JST CREST「生命システムの動作原理と基盤技術」	器官のグローバルな非対称性と一細胞の極性をつなぐ機構の解明	2006	2011														
		科研費 基盤研究(A)	成体型神経回路へのリモデリングと一生を通じた維持機構の解明	2010	2012														41.3
		科研費 新学術領域研究(研究領域提案型)	遺伝学的揺動を用いた樹状突起ジオメトリの演算原理の追究	2010	2014														80.5
2000	岡野 栄之	科研費 特定領域研究	神経分化と可塑性の転写後レベルにおける調節メカニズム	2005	2009													31.6	
		科研費 学術創成研究費	成体脳神経幹細胞の活性化とニューロン新生:その制御機構の解明と可視化技術の開発	2005	2009													568.1	
		JST SORST	「内在性神経幹細胞活性化による神経再生戦略」-モデル生物系を用いた解析-	2005	2010														
		文部科学省 再生医療の実現化プロジェクトIPS拠点事業	再生医療実現化を目指したヒトiPS細胞・ES細胞・体性幹細胞研究拠点	2008	2012														
		最先端研究開発支援プログラム	心を生み出す神経基盤の遺伝学的解析の戦略的展開	2009	2013														3068.0
2000	岡本 仁	科研費 基盤研究(B)	手綱核・脚間核神経回路の成立機構と機能の解析	2007	2009													19.2	
		科研費 新学術領域研究(研究領域提案型)	ゼブラフィッシュの手綱核による恐怖行動制御	2009	2010													11.2	
		JST CREST「脳神経回路の形成・動作原理の解明と制御技術の創出」	手綱核による行動・学習の選択機能の解明	2009	2014														
		脳科学研究戦略推進プログラム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」(モデル実験動物の情動制御に関する神経情報基盤の構築)	2011	2015													92.7	
		科研費 新学術領域研究(研究領域提案型)	意思決定神経回路の可視化と操作	2011	2015														32.0
2000	小林 悟	科研費 新学術領域研究(研究領域提案型)	ショウジョウバエ脚葉/精巣におけるGSC/ニッチ・システムの解明	2008	2012												206.8		
		科研費 基盤研究(B)	ショウジョウバエ生殖細胞系列の運命決定機構および性差形成機構	2009	2011												18.6		
		科研費 基盤研究(A)	ショウジョウバエ生殖細胞系列の性決定機構の解明	2012	2015												9.9		
2000	竹縄 忠臣	科研費 基盤研究(A)	イノシトールリン脂質によるWASPファミリー蛋白質の活性抑制	2004	2006												46.0		
		科研費 特定領域研究	がん細胞の細胞運動とその制御機構	2005	2009												203.1		
		科研費 学術創成研究費	ホスホイノシタイドによるシグナルの時空間制御	2006	2010													438.4	
		科研費 基盤研究(S)	ホスホイノシタイドによる細胞ダイナミズムの制御	2011	2015													84.2	
2000	濱田 博司	科研費 基盤研究(A)	頭部の決定・誘導・領域化の機構	2005	2006												51.7		
		JST CREST「生命システムの動作原理と基盤技術」	生物の極性が生じる機構	2006	2012														
		科研費 基盤研究(A)	NODALシグナルによる胚発生の制御	2007	2008												26.0		
		科研費 基盤研究(A)	NodalとLeftyによる胚のパターンニング	2009	2011												21.3		
		科研費 基盤研究(A)	頭尾極性の起源	2012	2015												14.8		
		科研費 基盤研究(S)	体の非対称性の起源	2012	2015												76.4		
		科研費 新学術領域研究(研究領域提案型)	シリア・中心体系による生体情報フローの制御	2012	2016												22.9		
		科研費 新学術領域研究(研究領域提案型)	シリア・中心体系を介する情報フローによる体の左右の決定	2012	2016												71.0		
2000	松本 邦弘	科研費 基盤研究(A)	MAPキナーゼカスケードによるシグナル伝達ネットワーク	2005	2006												51.7		
		科研費 特定領域研究	シグナル伝達素過程におけるがん関連遺伝子の作用機構	2005	2009												84.7		
		JST SORST	発生神経系の情報伝達機構の解明から遺伝性疾患モデル系構築	2005	2008														
		科研費 基盤研究(A)	細胞内トラフィックとシグナル伝達の時空間的制御	2009	2011												45.2		
		科研費 新学術領域研究(研究領域提案型)	管形成過程における紡錘体配向の変換機構	2012	2013												7.0		
		科研費 基盤研究(A)	神経軸索再生を制御するシグナル伝達機構	2012	2014												15.7		

■ : 科研費 ■ : JST ■ : NEDO ■ : その他

採択年度	研究代表者	研究費名称	研究テーマ名	開始年度	終了(予定)年度	年度												金額(百万円)	
						00	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11		12
2001	門脇 孝	厚生労働科研費 厚生科学基盤研究分野 基礎研究成果の臨床応用推進研究	アディポネクチンを標的にした糖尿病・メタボリック症候群の新規診断法・治療法の臨床応用	2005	2007	研究期間中						研究終了以降						96.3	
			科研費 基盤研究(A)	アディポネクチン受容体の生理・病態生理的意義の解明と生活習慣病治療の分子標的の同定	2006	2007													50.4
			厚生労働科研費 疾病・障害対策研究分野 循環器疾患等生活習慣病対策総合研究	保健指導への活用を前提としたメタボリックシンドロームの診断・管理のエビデンス創出のための横断・縦断研究	2007	2009													120.0
			科研費 基盤研究(S)	代謝制御機構の統合的理解とその破綻	2008	2012													227.2
			厚生労働科研費 疾病・障害対策研究分野 循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究	特定健診・保健指導におけるメタボリックシンドロームの診断・管理のエビデンス創出に関する横断・縦断研究	2010	2014													36.0
			厚生労働科研費 厚生科学基盤研究分野 創薬基盤推進研究(創薬バイオマーカー探索研究)	糖尿病の新規バイオマーカーに基づく診断法と蛋白質構造解析に立脚した新規治療法の開発	2011	2013													30.0
2001	坂野 仁	科研費 特別推進研究	軸索末端に分子コード化される神経個性	2007	2011	研究期間中						研究終了以降						705.4	
			科研費 基盤研究(A)	匂い情報識別の分子機構	2007	2007													26.3
			科研費 特別推進研究	マウス嗅覚系を用いて遺伝子-神経回路-行動のリンクを解く	2012	2016													102.7
2001	佐藤 矩行	科研費 基盤研究(A)	ホヤ挿入突然変異体の大規模スクリーニングとその解析	2005	2007	研究領域期間中						研究領域終了以降						51.5	
			科研費 特定領域研究	脊椎動物起源の研究	2005	2010													270.6
			科研費 基盤研究(A)	ホヤ胚中脳神経系形成の全遺伝子ネットワーク	2008	2010													42.6
			科研費 基盤研究(A)	サンゴと福虫藻の共生関係のゲノム科学的解析	2012	2014													27.2
2001	野田 昌晴	科研費 基盤研究(A)	遺伝子変換マウスを用いた個体薬理・生理学研究	2004	2007	研究期間中						研究領域終了以降						46.5	
			科研費 特定領域研究	体液塩濃度恒常性制御の脳内機構	2005	2009													53.5
			科研費 学術創成研究費	体液恒常性制御の脳内機構	2007	2011													563.0
			科研費 基盤研究(S)	体液恒常性を司る脳内機構の研究	2012	2016													45.4
			JST A-STEP 本格研究開発 ライフイノベーション	チロシンホスファターゼを標的分子とする脱髄疾患及び神経膠腫に対する新薬候補化合物の創出	2012	2015													
2002	中山 敬一	科研費 特定領域研究	タンパク質分解異常による発がん機構の研究	2005	2009	研究領域期間中						研究終了以降						47.6	
			科研費 基盤研究(S)	神経突起形成のマスター分子Protrudinの発見と機能解析	2005	2009													111.7
			JST CREST「生命システムの動作原理と基盤技術」	ユビキチンシステムの網羅的解析基盤の創出	2007	2012													
			科研費 基盤研究(A)	小胞輸送制御分子プロトルーデインの神経機能における役割の解明	2010	2012													49.9
			科研費 新学術領域研究(研究領域提案型)	癌幹細胞の細胞周期制御機構の解明と治療法の開発	2010	2014													114.0
2002	広海 健	科研費 基盤研究(B)	受容体による軸索ガイダンス分子の提示と抑制・軸索誘導の新原理	2009	2011	研究期間中						研究終了以降						18.9	
2002	松崎 文雄	科研費 特定領域研究	幹細胞システムにおける非対称分裂による増殖と分化の振り分け機構	2007	2011	研究期間中						研究領域終了以降						59.7	
			科研費 新学術領域研究(研究領域提案型)	シリア・中心体系による神経幹細胞分裂の非対称化機構	2012	2016													45.8

2.2.2 論文

論文発表件数は研究者の研究活動を示す重要な指標であると考えられるため、研究代表者について本研究領域期間中の論文数と終了後の論文数とを比較した。

本研究領域期間中の発表論文の定義は、課題採択年～2007年までとした。よって、2000年度採択課題については、2000年～2007年に発表された論文を期間中の論文とし検索を行った。同様に2001年採択課題については、2001年～2007年、2002年度採択課題については、2002年～2007年を期間中とし、論文の検索を行った。2008年以降に発表された論文を期間後の論文として検索した。表2-3は検索結果の論文数をまとめたものである。期間後の論文については、研究代表者の責任論文（1st AuthorかLast Authorに名前があるもの）を論文数も表2-3に示した。

検索データベースにはScopus(Elsevier)を用い、対象とするドキュメントタイプはArticleとReviewに絞った。よって、Conference Paper等は含まない。

表 2-3 研究者の論文(原著論文)数

採択年度	課題名	研究代表者	① 本研究領域期間中の論文数	② 本研究領域終了以降の論文数	③ ②のうち責任著者論文数	
2000年度	単一細胞レベルのパターン形成：細胞極性の制御機構の解明	上村 匡	30	16	9	※1
	幹細胞システムに基づく中枢神経系の発生・再生研究	岡野 栄之	211	172	76	※3
	Genetic dissection による神経回路網形成機構の解析	岡本 仁	51	26	13	※1
	生殖細胞形成機構の解明とその哺乳動物への応用	小林 悟	30	14	7	※3
	器官形成における細胞遊走の役割及びそのシグナリングと再生への応用	竹縄 忠臣	113	38	14	※1
	形態の非対称性が生じる機構	濱田 博司	37	21	11	※1
発生における器官・形態形成と細胞分化の分子機構	松本 邦弘	77	43	6	※1	
2001年度	脂肪細胞の分化・形質転換とその制御	門脇 孝	190	163	56	※3
	嗅覚系における神経回路形成と再生の分子機構	坂野 仁	26	15	10	※2
	特異的・新規発生遺伝子の機能の網羅的解析	佐藤 矩行	144	52	20	※2

2001年度	網膜内領域特異化と視神経系の発生・再生機構	野田 昌晴	33	23	17	※3
2002年度	細胞周期の再活性化による再生能力の賦活化	中山 敬一	139	103	32	※3
	細胞内パターンニングによる組織構築	広海 健	13	4	3	※2
	脳構築の遺伝的プログラム	松崎 文雄	11	16	12	※2
合 計			1105	706	286	

データ取得日：※1：2012年9月 ※2：2012年10月 ※3：2012年12月

2.2.3 特許

特許の出願件数ならびに登録件数は基礎研究から産業への貢献を分析する一つの指標であると考えられるため、本研究領域から研究代表者が発明人となり、出願し、登録された特許を表 2-4 にまとめた。また、表 2-5 に本研究領域期間中・終了後に成立した特許の詳細について記した。

表 2-4 本研究領域期間中・期間後の特許の出願・登録状況

採択年度	研究代表者	本研究領域期間中				本研究領域終了以降			
		出願件数		登録件数		出願件数		登録件数	
		国内	海外 (国際)	国内	海外 (国際)	国内	海外 (国際)	国内	海外 (国際)
2000年度	上村 匡	2	1	0	0	0	0	0	0
	岡野 栄之	7	5	4	4	9	8	2	1
	岡本 仁	1	1	0	0	0	0	0	0
	小林 悟	0	0	0	0	0	0	0	0
	竹縄 忠臣	3	1	0	0	1	0	0	0
	濱田 博司	3	0	1	0	0	0	0	0
	松本 邦弘	4	1	1	0	0	0	0	0
2001年度	門脇 孝	6	2	1	2	7	1	0	0
	坂野 仁	1	0	0	0	0	0	0	0
	佐藤 矩行	8	1	2	1	0	0	0	0
	野田 昌晴	1	1	1	3	3	0	1	0
2002年度	中山 敬一	3	2	1	4	0	0	0	0
	広海 健	0	0	0	0	0	0	0	0
	松崎 文雄	0	0	0	0	0	0	0	0
領域全体		39	15	11	14	20	9	3	1

データ取得日：2012年9月

表 2-5 本研究領域期間中・期間後の登録特許リスト

	研究代表者	出願 番号	公開 番号	登録 番号 (国内)	国際公 開番号	海外 成立	発明の名称	出願人	発明者	
2 0 0 0 年 度 採 択	岡野 栄之	期間 中	特願 2001-0 99074	特開 2002 -291 469	第 00036606 01号 (2005/03 /25)	W0020816 63	US7294 510 CA2443 151	胚性幹細胞か らの神経幹細 胞、運動ニュー ロン及びG A B A作動性ニ ューロンの製 造法	独立行政法 人科学技術 振興機構	岡野 栄之, 島崎 琢也
			特願 2001-1 64412	特開 2002 -371 005	第 00035669 41号 (2004/06 /18)	W0020991 02	US7264 793	M u s a s h iによるNu m bタンパク 質発現抑制剤	独立行政法 人科学技術 振興機構	今井 貴雄, 徳永 暁憲, 吉田 哲, 御子柴克彦, 中福 雅人, 岡野 栄之
			特願 2003-5 46653		第 00043326 50号 (2009/07 /03)	W0200304 5137	US7753 054	脊髄損傷サル モデルの作成 法及びその利 用	独立行政法 人科学技術 振興機構, 学校法人慶 應義塾	岡野 栄之, 戸山 芳昭, 中村 雅也, 野村 達次, 谷岡 功邦, 安東 潔, 金村 米博
			特願 2003-5 59527		第 00043744 69号 (2009/09 /18)	W0200305 9365		記憶障害治療 剤	独立行政法 人科学技術 振興機構, 学校法人慶 應義塾	岡野 栄之, 島崎 琢也, 長尾 省吾, 松本 義人
		期間 後	特願 2006-0 34444	特開 2007 -210 968	第 00049974 32号 (2012/05 /25)	US200724 8592	US7662 385	神経幹細胞の 増殖抑制剤	学校法人慶 應義塾, 独 立行政法人 産業技術総 合研究所	岡野 栄之, 澤本 和延, 坂口 昌徳, 平林 淳
			特願 2006-1 04610	特開 2007 -274 955	第 00049252 62号 (2012/02 /17)	W0200711 4473		シグナル伝達 系活性化剤	学校法人慶 應義塾, 独 立行政法人 産業技術総 合研究所	岡野 栄之, 澤本 和延, 坂口 昌徳, 平林 淳, 葉山 洪

20001年度採択	濱田 博司	期間中	特願 2002-1 91363	特開 2004 -033 035	第 00042301 76号 (2008/12 /12)			胚の培養装置 及び胚の左右 非対称性を制 御する方法	独立行政法 人科学技術 振興機構	濱田 博司, 野中 茂紀
	松本 邦弘	期間中	特願 2002-0 05348	特開 2003 -204 791	第 00040942 94号 (2008/03 /14)	W0030601 24		p38MAPK の活性化を介 してストレス 応答に関与す る新規タンパ ク質およびそ の遺伝子	独立行政法 人科学技術 振興機構	井上 英樹, 館野 実, 松本 邦弘
	門脇 孝	期間中	特願 2002-1 74403	特開 2004 -016 074	第 00042123 04号 (2008/11 /07)			AMP活性化 プロテインキ ナーゼ活性化 剤	独立行政法 人科学技術 振興機構	門脇 孝, 山内 敏正, 加門 淳司
		期間中	特願 2004-5 06843		第 00041472 20号 (2008/06 /27)	W0200309 9319	EP1537 875 US7419 955	動脈硬化症予 防治療薬	独立行政法 人科学技術 振興機構	門脇 孝, 山内 敏正, 窪田 直人, 寺内 康夫, 窪田 哲也, 野田 哲生, 永井 良三, 今井 靖
	佐藤 矩行	期間中	特願 2006-5 44779		第 4802331 号 (2011/08 /19)	W02006/0 54371	US7592 424	新規イオンチ ャネル様ポリ ペプチドおよ びその利用	国立大学法 人京都大学、 大学共同利 用機関法人 自然科学研 究機構	佐藤 矩行; 岡村 康司; 岩崎 広英; 村田 喜理
		期間中	特願 2005-1 54598	特開 2006 -325 490	第 4887484 号 (2011/12 /22)			電位依存性ブ ロトンチャネ ルポリペプチ ドおよびその 利用	大学共同利 用機関法人 自然科学研 究機構	佐藤 矩行; 岡村 康司

	野田 昌晴	期 間 中	特願 2002-5 13898		第 3785460 号 (2006/03 /31)	W02002/0 08415	EP1306 429 US7166 761 CA2418 267	P T P ζ 活性 促進又は抑制 物質のスクリ ーニング方法	独立行政法 人科学技術 振興機構	野田 昌晴; 藤川 顕寛
		期 間 後	特願 2010-1 77792	特開 2010 -284 169	第 4883656 号 (2011/12 /16)			N a V 2 チャネ ル遺伝子欠損 非ヒト動物	大学共同利 用機関法人 自然科学研 究機構	野田 昌晴; 渡辺 英治
2 0 0 2 年 度 採 択	中山 敬一	期 間 中	特願 2005-5 15664		第 4809061 号 (2011/08 /26)	W02005/0 49822	EP1693 451 RU2378 375 CN1882 687 AU2004 291809	心筋細胞の増 殖方法	第一三共株 式会社	安達 三美; 中山 敬一; 北嶋 繁孝; 高木 弘光

2.3 アウトカム

2.3.1 科学技術的アウトカム

(1) 受賞

本研究領域終了後、数名の研究代表者は研究成果が評価され、表 2-6 示すような賞を受賞している。本研究領域の研究者は日本生化学会、米国発生生物学会や日本遺伝学会等の学会へ貢献していることや医学へも貢献していることが窺える。また、紫綬褒章の受賞者を 3 名も輩出し、わが国の文化の発展への大きく貢献していることがわかる。

表 2-6 本研究領域終了以降の研究代表者受賞リスト

受賞者	賞の名称	受賞年
上村 匡	第 26 回井上學術賞	2009
岡野 栄之	文部科学大臣表彰・科学技術賞	2006
	STEM CELLS Lead Reviewer Award	2007
	第 24 回井上學術賞	2007
	紫綬褒章	2009
	日本再生医療学会 Johnson & Johnson Innovation Award	2011
小林 悟	Developmental Cell PaperPick	2011
濱田 博司	内藤記念科学振興賞	2011

松本 邦弘	持田記念学術賞	2012
	紫綬褒章	2012
門脇 孝	上原記念生命科学財団 上原賞	2007
	日本医師会医学賞	2007
	日本糖尿病・肥満動物学会 学会賞「米田賞」(第1回)	2008
	紫綬褒章	2010
	武田医学賞	2011
	第3回日本体質医学会学会賞	2011
	日本内分泌学会学会賞	2012
佐藤 炬行	米国発生生物学会 Edwin Grant Conklin Medal	2010
野田 昌晴	平成21年度日本生化学会 JB 論文賞	2009
中山 敬一	第27回井上学術賞	2010
	日本癌学会 JCA-Mauverny Award	2007

(2) 学会への貢献

上村は上記「多細胞システムの機能発現を支える細胞極性化の調節機構」に対して井上学術賞を受賞した。また、日本分子生物学会学会誌 Gene to Cells の associate editor を務めるとともに、第43回日本発生生物学会・大会長を務めた。

岡野は上記井上学術賞「幹細胞システムを用いた中枢神経系の再生医学」を受賞するとともに、文部科学省より「幹細胞システムに基づく中枢神経系の発生・再生研究」に対して文部科学大臣表彰(科学技術賞)されている。また、幹細胞関連研究に対して2007年 STEM CELLS(AlphaMed Press)より STEM CELLS Lead Reviewer Award 受賞している。さらに、日本炎症・再生医学会の「Inflammation and Regeneration」編集長を務めている。

岡本はナショナルバイオリソースプロジェクト(ゼブラフィッシュ)に参画し、研究の促進に寄与している。

小林は Developmental Cell で Helmut Krämer(University of Texas)により「Boss/Sev Signaling from Germline to Soma Restricts Germline-Stem-Cell-Niche Formation in the Anterior Region of Drosophila Male Gonads」で注目論文にとりあげられている。

野田は「Protein Tyrosine Phosphatase Receptor Type Z Dephosphorylates TrkA Receptors and Attenuates NGF-dependent Neurite Outgrowth of PC12 Cells」が生化学会優秀論文賞に取り上げられている。

佐藤は米国発達生物学学会が1995年に創設した「Edwin Grant Conklin Medal」を「Conklin が始めたホヤの発生生物学を再活性化した」として日本人として初めて受賞した。

中山は「Ubiquitin ligases involved in cell-cycle control and cancer」に対してスイスの製薬会社である Debiopharm 社の Mauverny 氏が2005年に創設した、日本癌学会—Mauverny 賞を基礎的がん研究の領域で優れた業績を収めた日本癌学会会員として受賞した。

小林は58/60回基礎生物学研究所カンファレンス「Germline -specification, sex, and stem cells-」を主催し(2012年7月)、本会議には、基礎生物学分野の先端を行く国内外の研究者が一堂に会した。

2.3.2 社会・経済的アウトカム

(1) 社会に注目された研究成果

本研究領域終了後、研究成果の報道回数は上村匡（3回、以下回数）、岡野(76)、岡本(1)小林(3)、竹縄(1)、濱田(5)、松本(4)、門脇(30)、坂野(1)、佐藤(10)、野田(3)、中山(4)、である。

岡野、門脇が突出しているが、これは岡野が神経再生による慢性神経疾患の治療と脊髄損傷治療、門脇が糖尿病と肥満をテーマとしており、一般の関心がこれらのテーマに関心が高いということを示しているとともに社会的にインパクトの高い研究を行なっていることの証左である。岡野栄之の成果は幹細胞およびiPS細胞を用いた再生医療の研究であり、遺伝疾患や事故による脊髄損傷に伴う運動障害の患者など、広い範囲の患者の治療に結びつく研究として期待を集めた。網膜再生など患者の多い疾患の治療は生活の質の向上に多大の寄与が期待される研究である。さらに、マーマセットやサル病態モデルは薬物開発の促進に寄与する。

門脇孝の研究も2,000万人の潜在患者を抱えている糖尿病に関するものであり、新聞・テレビなどの注目を集めた。また、アディポネクチンは脂肪細胞の働きを規定する分子であり、肥満症とも関連しているため、自身の著書(異所性脂肪《メタボリックシンドロームの新常識》)をはじめ各種の雑誌単行本で解説されている。

糖尿病の治療は人工透析患者の減少による医療費の低減に寄与することとどまらず、週3回の透析時間による労働損失の回復につながり経済的利益は多大である。

その他の研究者の研究も下等動物における基礎研究であるが、幹細胞の発生分化の機構を知るために必須の成果であり、幹細胞の大量培養・維持のための知識に寄与するもので、近い将来の細胞治療の実現に役立つものと考えられる。

(2) アウトリーチ活動

上村はDevelopmental Cells associate editor(2003-)、Gene to Cellsのassociate editorをつとめている他、第43回日本発生生物学会・大会長を務めるなどの学会における活動に貢献している。

岡野は慶應義塾大学FIRSTプロジェクトのメンバーであり、「ふくいサイエンスフェスタ」において、「次代を担う高校生の科学技術や理科に対する興味・関心を高める」(福井県教育委員会主催)の講演をした(2012.2.19)。また、慶應義塾湘南藤沢中・高等部/理科特別授業「ほんとうにすごい! iPS細胞」の講演をした(2012.3.7)。さらに、独立行政法人科学技術振興機構事業・未来の科学者養成講座「はばたけ、世界を先導する医学者へ」事業の講演会・事業報告会で講演している(2012.3.20)。

門脇は糖尿病学会などで研究成果を発表すると共にその成果の治療への応用の方法について医師として積極的に発言している。メタボリックシンドローム撲滅委員会(<http://www.metabolic-syndrome.net/campaign/outline/associa.html>)の委員を務め糖尿病学会理事長としての立場でも発言している。

坂野は大阪大学微生物病研究所業績報告会で「嗅覚神経地図形成の分子基盤：嗅覚研究からヒトの心を探る」として講演している(2012.12.24)。また、千里ライフサイエンスセ

ミナーにおいて「マウス嗅覚系における神経地図形成の分子基盤」と題して講演している(2010. 11. 4)。

中山は九州大学GCOEの種々のシンポジウムThe 20th Hot Spring Harbor Symposium joint with the 6th Global COE International Symposium(2010. 08. 20)、第5回事業推進担当者発表会「癌幹細胞と細胞周期：G0期追い出し療法による癌根治に向けて」(2012. 02. 21)などで、講演している。

松崎は京都大学第12回生命科学研究所シンポジウムにおいて「神経幹細胞による脳構築のダイナミックコントロール」の題で学生など一般参加者に対して講演している(2012. 7. 1)。

第3章 各研究課題の主な研究成果および波及効果

3.1 2000年度採択課題

3.1.1 単一細胞レベルのパターン形成：細胞極性の制御機構の解明(上村 匡)

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

発生において個々の細胞は外界からのシグナルなどを解読し、細胞骨格を何度も再編成させながら、さまざまなベクトルの極性を発達させる。単一細胞レベルのパターンが正しく形成されて、はじめて、誕生した器官に個体の行動や生存のために必要な巧妙な機能が賦与される。

本研究課題では、神経突起のパターン形成や上皮細胞の極性化に注目して、神経系と上皮を対象として単一細胞レベルのパターン形成機構の解明を目指した。

② 期間中の研究成果

(i) 神経系における細胞突起の伸長と分岐のパターン形成では、ショウジョウバエを用いて1999年に既に発見されていた7回膜貫通型カドヘリンFlamingo (Fmi)の機能解析を進展させ、哺乳類ニューロンの樹状突起伸長を制御することをも示した¹⁾。

(ii) ニューロンの極性形成のダイナミクスでは、樹状突起を個体レベルで可視化する系を立ち上げ、そのパターンの多様性をコントロールする転写調節因子Abruptを発見した²⁾。

(iii) 上皮細胞においては、アクチン線維を基本骨格とする細胞突起を頂端面に発達させ、アクチン細胞骨格系の再編成を調節する新規ホスファターゼ、Slingshot (SSH) ファミリー、を発見し、さらに、その基質がActin depolymerization factor (ADF)/cofilinであることを示した³⁾。

(iv) 上皮細胞の平面内細極性の形成において、生体内経時観察や電子顕微鏡などを用いて解析し、FmiやFrizzled (Fz) 含む小胞が極性輸送される仮説を提唱した⁴⁾。

上村らは本研究課題の成果が、細胞極性の発達不全が原因で起きる先天性聴覚障害などの遺伝病の解明につながることを期待している。

③ 研究成果に関連した主な成果論文

1) Shima Y, Kengaku M, Hirano T, Takeichi M, Uemura T, "Control of dendritic maintenance and growth by a mammalian 7-pass transmembrane cadherin, Celsr2., *Developmental Cell*, 7,205-216 (2004).

2) Sugimura K, Satoh D, Estes P, Crews S, Uemura T, “Development of morphological diversity of dendrites in *Drosophila* by the BTB-zinc finger protein Abrupt”, *Neuron*, 43, 809-822 (2004).

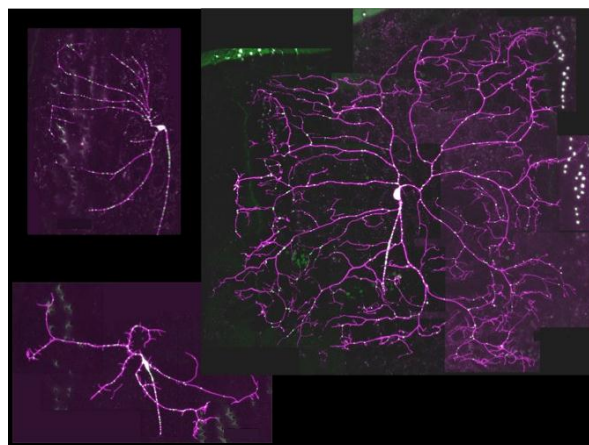
3) Niwa R, Nagata-Ohashi K, Takeichi M, Mizuno K, Uemura T, “Control of actin reorganization by Slingshot, a novel family of phosphatases that dephosphorylate ADF/cofilin.”, *Cell*, 108, 233-246 (2002).

4) Shimada Y, Yonemura S, Okura H, Strutt D, Uemura T, “Polarized transport of Frizzled along the planar microtubule arrays in *Drosophila* wing epithelium.”, *Developmental Cell* 10, 209-222 (2006).

(2) 本研究領域終了後の継続と発展

本研究領域の期間中に、科研費特定領域研究「樹状突起のパターン形成:分岐の複雑度や受容野のサイズを調節・維持する分子機構」(2005-2009年度)、本研究領域終了後にCREST研究領域「生命システムの動作原理と基盤技術」研究課題「器官のグローバルな非対称性と一細胞の極性をつなぐ機構の解明」(2006-2011年度)、科研費基盤研究(A)「成体型神経回路へのリモデリングと一生を通じた維持機構の解明」(2010-2012年度)、科研費新学術領域研究(研究領域提案型)「遺伝学的摂動を用いた樹状突起ジオメトリーの演算原理の追究」(2010-2014年度)などの競争的研究資金を得て研究を続けている。

ショウジョウバエの dendritic arborization (da) 神経を主な解析系とし、その樹状突起を1細胞レベルで観察できる系を構築し(図3-1)、特定のクラスの da 神経で発現する遺伝子を分離し、各クラスに特徴的な突起のパターン形成に関わる遺伝子を発見した。並行して、突起の分岐や伸長の異常を指標とする遺伝学的なスクリーニングを行い、原因遺伝子を同定し、それぞれの機能を調べ、ショウジョウバエを用いた解析で得られた結果が哺乳類のニューロンにも適用できるかどうかを検証した。さらに、実験から発見した現象をベースにした数理モデルを構築し、突起形成を担うシステム全体の特性を明らかにすることを目指している。



画像:佐藤大祐

図 3-1 ニューロンのサブタイプごとに多様な樹状突起ジオメトリー

①科学技術の進歩への貢献

(i) ショウジョウバエの神経突起の分岐パターンの形成システムにおいて、幼虫期の感覚神経は樹状突起のクラス I からクラス IV までの分類のうち、クラス IV ニューロン分岐で選択的に発現する、Early B-Cell Factor (EBF) ファミリーに属する Knot (Kn) に着目し、機能喪失表現型の解析と異所発現実験を行ない、Kn がクラス IV ニューロンにおいて細胞自律的に機能し、特徴的な高度に分岐した突起形成を賦与することを明らかにした。さらに本研究領域で発見された転写調節因子 Abrupt と Kn は少なくとも部分的に独立して樹状突起形成に働くこと、また Kn の標的遺伝子の候補の一つとして、クラス IV ニューロンで発現する上皮型ナトリウムチャネル遺伝子を見出した¹⁾。

(ii) 最も複雑な分岐パターンを持つクラス IV ニューロンは、同一細胞に由来する樹状突起同士が反発して避け合うことにより空間充填的 (space-filling) なパターンを獲得する。これは Esn が Fmi に結合し樹状突起の自己忌避を調節する仕組みに支えられていることを明らかにした²⁾。

(iii) ショウジョウバエの突然変異体のスクリーニングから、ダイニン軽中鎖をコードする遺伝子の突然変異を分離し、ダイニン複合体が初期エンドソームの積み降ろしを調節することで、細胞体から突起末端に向かう分岐パターンが形作られる可能性を示した³⁾。また、哺乳類のがん抑制遺伝子 DLC1 (deleted in liver cancer 1) のショウジョウバエのホモログが、生体内において Rho1 の活性を負に調節することにより樹状突起ガイダンスを制御していることを示した。

(iv) 哺乳類の 7 回膜貫通型カドヘリン (Celsr2 と Celsr3) が、ホモフィリックな結合により異なる様式で活性化され、3 量体 G タンパク質との共役を介して突起伸長を調節することが判った⁴⁾。また、ショウジョウバエ 7 回膜貫通型カドヘリン Flamingo (Fmi) について構造—機能解析により、未同定のリガンドとヘテロフィリックに結合して突起伸長を負に調節することを明らかにした。

(v) ショウジョウバエのクラス IV ニューロンや脊椎動物の網膜の神経節細胞の空間充填型樹状突起を形成する 2 変数反応拡散モデルを構築し、空間充填型樹状パターンを自律的に形成することを確認した。さらに、シミュレーションで得られたパターンを“突起整列度”という統計量で分類できること、この統計量は細胞内部の Activator の分布を反映していることを見出した。また、さらにモデルの改変を試み、「拡散性抑制因子仮説」に基づいた数理モデルが、野生型に見られる正常な樹状突起パターンと変異体に見られる異常な樹状突起パターンの両方を定性的に再現できることを明らかにした⁵⁾。

(vi) 上皮細胞の平面内細極性の形成において、Fz や Fmi よりも上位で働くと考えられている非典型的カドヘリン群 (Fat と Dachshous) の機能を解析した。生体内定量的イメージング手法を用いて、これらの非典型的カドヘリン群が微小管の配向や極性を調節することを示した⁶⁾。また、微小管極性の非対称性がわずかであっても、Fz は遠位側細胞境界に選択的に輸送される仮説を提唱した。

②社会・経済的波及効果

本研究課題は、基礎研究として神経系がどのような細胞内の仕組みにより発達するかの新しい知見を提供することで、神経の発達異常によるさまざまな疾患の原因解明や新規の治療の手がかりを与える。樹状突起の形成機構の研究は統合失調症や自閉症など神経網の形成不良による神経障害の解明と治療につながる可能性があるとして、読売新聞(2011年10月24日)に掲載された。具体的には、本研究で発見された *esn* のヒトのホモログが、運動失調を伴う進行性ミオクローヌステんかんの原因遺伝子の一つであり、この遺伝子のホモログの突然変異はマウスやゼブラフィッシュでもてんかん様の症状を起こす事が報告されている(*)。*Bassuk et al., *Am J Hum Genet* 83:572-81, 2008; Rao et al., *Am J Hum Genet* 88:138-49, 2011.

基礎生物学研究所の藤森俊彦教授らは、本研究の Flamingo と同様な 7 回膜貫通型カドヘリン Celsr が、繊毛が同じ向きに波打つ現象に重要な役割を果たすことを発見した。同教授らは Celsr 機能が欠損したマウスでは、波打つ方向がそろわないため、卵巣から排出された卵子が入り口付近で停滞し不妊症になる可能性を見出している。本研究における類似分子も不妊症などの解明の手がかりとなる可能性があるとして、読売新聞(2012年4月2日)に掲載された。

パターン形成の自己組織化モデルは、生物以外のさまざまな化合物や分子の自己組織化の仕組みを工学的に応用する場合のヒントになると思われる(経済産業省、平成19年度技術戦略マップローリング事業第5分科会、生物機能に学ぶ機能分子/デバイスの設計と創成参照)。

上村とドイツのマックスプランク研究所・鈴木崇之グループリーダーらとの共同研究による、ショウジョウバエの視神経細胞が脳の特定の層に接続され、神経細胞が軸索を伸ばして脳の特箇所正しく接続するメカニズムを突き止めたという知見は、神経再生による脊髄損傷治療の際、切れた神経ネットワークを正しくつなぎ直す手法の研究につながるとして、日経産業新聞(2011年2月15日)に掲載された。

③上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト

1) Hattori Y, Sugimura K, Uemura T, "Selective expression of Knot/Collier, a Transcriptional Regulator of the EBF/Olf-1 Family, Endows the Drosophila Sensory System with Neuronal Class-specific Elaborated Dendritic Patterns", *Genes to Cells*, 12, 1011-1022 (2007).

2) Matsubara D, Horiuchi S, Shimono K, Usui T, Uemura T, "The Seven-pass transmembrane Cadherin Flamingo Controls Dendritic Self-avoidance via its Binding to a LIM Domain Protein Espinas in Drosophila Sensory Neurons", *Genes & Development*, 25, 1982-1996 (2011).

3) Satoh D, Sato D, Tsuyama T, Saito M, Ohkura HM, Rolls M, Ishikawa F, Uemura T, "Spatial Control of Branching within Dendritic Arbors by Dynein-Dependent Transport of Rab5-Endosomes", *Nature Cell Biology*, 10, 1164-71 (2008).

4) Shima Y, Kawaguchi S, Kosaka K, Nakayama M, Hoshino M, Nabeshima Y, Hirano T, Uemura T, “Opposing Roles in Neurite Growth Control by Two 7-pass Transmembrane Cadherins”, *Nature Neuroscience*, 10, 963-969 (2007).

5) Shimono K, Sugimura K, Kengaku M, Uemura T, Mochizuki A, “Computational Modeling of Dendritic Tiling By Diffusible Extracellular Suppressor”, *Genes to Cells*, 15,137-49 (2010).

6) Harumoto T, Ito M, Shimada Y, Kobayashi TJ, Ueda HR, Lu B, Uemura T, “Atypical Cadherins Dachsous and Fat Control Dynamics of Noncentrosomal Microtubules in Planar Cell Polarity”. *Developmental Cell*, 19, 389-401 (2010).

④その他

人材育成に関しては、本研究領域メンバーで日本学術振興会特別研究員だった杉村薫は京都大学・細胞統合システム拠点助教に、同様に博士号取得者で本研究領域に参加していた丹羽隆介は筑波大学・大学院生命環境科学研究科准教授の職を得て、研究を継続している。また、本研究領域に参加した丹羽隆介と島田裕子、そして継続プロジェクトに参加した佐藤大祐と春本敏之は、井上科学振興財団・井上研究奨励賞を受賞している(それぞれ第18回、第23回、第26回、第29回)。さらに、丹羽隆介は2012年10月よりさきがけ研究者に採択されている。

上記の研究により、上村は、「多細胞体構築を支える細胞極性を調節する遺伝プログラムの研究」の表題で第1回日本学術振興会賞、「多細胞システムの機能発現を支える細胞極性化の調節機構」で第26回井上学術賞などを受賞している。上村は *Developmental Cells* の associate editor (2003-)、 *Gene to Cells* の associate editor をつとめている他、第43回日本発生生物学会・大会長を務めるなどの学会における活動に貢献している。

3.1.2 幹細胞システムに基づく中枢神経系の発生・再生研究(岡野 栄之)

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

①研究のねらい

神経幹細胞から神経系を構成する多様な細胞集団が発生・分化していく過程の分子機序を解明するとともに、神経幹細胞あるいは胚性幹細胞から特定の細胞への分化誘導法ならびに神経幹細胞や特定種のニューロンの同定・分離法の開発を目指した。

②期間中の研究成果

(i) 神経幹細胞の未分化状態の維持・多分化能の維持と分化の制御機構の解明において、神経幹細胞特異的な分子マーカーを駆使して、ヒトの脳内の神経幹細胞の存在の証明に成功し、その未分化状態・多分化状態の維持の分子機構を明らかにした¹⁾。

(ii) ES 細胞より分化誘導した神経細胞を FACS により分離・培養することで、胚性幹細胞の神経分化誘導に成功した。

(iii) 神経幹細胞、中間前駆細胞、特定タイプのニューロンの選択的分離法の確立では、特定の神経細胞を分離精製する技術を確立した。

(iv) 神経疾患モデル動物への細胞移植による細胞補充とニューロンネットワーク再建による機能修復の試みでは学習能力低下モデルマウスの海馬に胚性幹細胞から分化させたニューロンの移植による学習能力の回復や、脊髄損傷マウスの幹細胞による治療の可能性を示すことに成功している^{2,3)}。

本研究から得られた技術を集約することにより、神経変性疾患や脊髄損傷の新しく有効な治療法に結びつく基礎技術が確立され、その後の臨床への応用が期待される。

③研究成果に関連した主な成果論文

1) Miyata T, Kawaguchi A, Okano H, Ogawa M, “Asymmetric inheritance of radial glial fibers to neurons during corticogenesis in mice”, *Neuron*, 31, 727-741(2001)

2) Sakakibara S, Nakamura Y, Yoshida T, Shibata S, Koike M, Takano H, Ueda S, Uchiyama Y, Noda T, Okano H, “RNA-binding protein Musashi family: roles for CNS stem cells and a subpopulation of ependymal cells revealed by targeted disruption and antisense ablation.”, *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, 99, 15194-15199 (2002)

3) Akamatsu W, Fujiwara H, Mitsuhashi T, Yano M, Shibata S, Hayakawa Y, Okano HJ, Sakakibara S, Takano H, Takano T, Takahashi T, Noda T, Okano H, “The RNA-binding protein HuD regulates neuronal cell identity and maturation.”, *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, 102, 4625-4630 (2005)

(2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域の期間中に、科研費(特定領域研究)「神経分化と可塑性の転写後レベルにおける調節メカニズム」(2005-2009年度)、科研費(学術創成研究費)「成体脳神経幹細胞の活性化とニューロン新生:その制御機構の解明と可視化技術の開発」(2005-2009年度)、本研究領域終了後に、SORST「内在性神経幹細胞活性化による神経再生戦略」-モデル生物系を用いた解析-(2005-2010年度)、文部科学省(再生医療の実現化プロジェクト、iPS拠点事業)「再生医療実現化を目指したヒト iPS 細胞・ES 細胞・体性幹細胞研究拠点」(2008-2012年度)、最先端研究開発支援プログラム「心を生み出す神経基盤の遺伝学的解析の戦略的展開」(2009-2013年度)などの競争的研究資金を得て研究を進展させている。

① 科学技術の進歩への貢献

(i) SORST「内在性神経幹細胞活性化による神経再生戦略」では、マウスやマーモセットで研究を進め神経幹細胞の自己複製制御機構を解明した。分化段階の細胞で発現している転写因子 Sox 21 ノックアウトマウスの内耳の発生過程において、Sox21 は耳朮に広範に発現しており、内耳の発生においても Sox21 と Notch/Hes5 経路が機能的に密接な関係にあることを示唆した¹⁾。また、神経幹細胞の分化制御に関与する新規転写制御因子 Tead1 を同定した。

(ii) ES 細胞からの特定のニューロンへの分化誘導において、胚様体形成時にさまざまな濃度のレチノイン酸や、BMP のマスキング因子である Noggin を添加することによって神経幹細胞の効率的分化誘導と領域特異性における前後軸の制御を行い、ニューロンとグリアに分化させるシステムを確立した。

(iii) オーフアン型核内受容体の一種である COUP-TFI/II が、正常な脳の発生に必要な神経幹細胞の時系列特異的な分化能の変化の制御に必須であり、鍵となる因子であることを明らかにした。また、この発見により、通常は *in vivo* と同様に発生が進み分化能が変化して行く ES 細胞由来神経幹細胞の時系列特異的な変化を *in vitro* において制御可能となった。

(iv) ES 細胞のヒトへの応用を考慮し、霊長類の神経モデル動物としてマーモセットを用い、E85 マーモセット胎仔の脳皮質、線条体、脊髄より多分化能と自己複製能を有する神経幹細胞を純化すると同時に²⁾、コモン・マーモセット標準脳テンプレートおよび灰白質、白質、脳脊髄液のそれぞれ確率分布画像を完成させた。この結果、トラクトグラフィ解析による海馬体における錐体細胞の構造的特徴を明瞭に示すことに成功し、白質神経アトラスを完成させた。

(v) 文部科学省「再生医療の実現化プロジェクト、iPS 拠点事業」および、最先端研究開発支援プログラムにおいては、ES 細胞の大量入手が困難であることから、臨床応用には iPS 細胞の活用が必要と考え、研究の重点を iPS 細胞に移行して行き、安全な iPS 細胞の創出やその多機能性の保持の方法の研究をした。38 個の iPS 細胞ラインについて、NOD/SCID マウス脳、神経細胞、アストロ細胞、オリゴデンドロサイトに分化したものの、発がん性

の有無を確認し、この細胞を脊髄損傷マウスに移植した。安全とされた細胞では順調に神経を形成したが、不安全の細胞を移植したマウスははっきりとした腫瘍を発生し、運動機能も傷害された。「安全株」は移植治療に有望であることが判った³⁾。

(vi) ヒト iPS は倫理的制約が少ないことから治療への実現性があるため、ヒト iPS を脊髄損傷マウスに移植し、脊髄損傷の治療に成功した。また、ヒト iPS 細胞を SCID マウスに移植し、脊髄損傷を治癒の可能性を検討した結果、同細胞は神経、アストロサイトおよびオリゴデンドロサイトに分化し、マウス神経とシナプス形成し、神経因子の発現などが損傷部位に見られ、発がん性も見られず、脊髄損傷治療に有望な細胞であることを確認した⁴⁾。

(vii) 岡野らが1994年に発見した細胞制御因子Musashi1、糖鎖結合タンパク質Galectin-1の広範な作用およびSox21についてもさらに詳細な研究を継続している。同研究室としては「中枢神経系の発生と再生」を軸にニューロンとグリアに分化する仕組みを研究し、脳の発生の基本メカニズムを明らかにするとともに、神経系の疾患や神経損傷の新しい治療法の開発に役立てることを目指している。そのため、骨髄や多くの臓器の幹細胞の分離と基本性質の解明に関する研究も続けている。

さらに、慶應義塾大学医学部のグローバル COE「幹細胞医学のための教育研究拠点」において、a. 組織幹細胞制御と *in vivo* 実験医学、b. 炎症・免疫制御と組織再生、c. 癌幹細胞と EMT を標的とした新規癌治療の開発、d. 難治性疾患の再生医療の開発、e. 実現可能な再生医療の実践の5つのサブグループで研究を進めている。

(viii) 霊長類であるマウスに遺伝子改変動物を作り出すことに成功した。遺伝子が導入された第一世代だけでなく、第二世代でも導入遺伝子の発現が認められており、次世代まで導入遺伝子が受け継がれた霊長類の作出は世界初である⁵⁾。

この遺伝子改変技術を用いて、ヒトのパーキンソン病や筋萎縮性側索硬化症(ALS)などの神経難病のモデルマウスを作り出し、これを用いることによって前臨床研究が大きく前進すると期待される。

②社会・経済的波及効果

(i) Sox21 の研究結果は内耳の発達に関するものであり、内耳の神経に障害がある感音難聴をひきおこす。感音難聴の根本的な治療の方法として、内耳感覚上皮の発生を再現する方法が考えられ、内耳感覚上皮の発生過程を分子レベルで完全に解明することにより、これまで困難とされてきた内耳感覚上皮の再生を実現することが可能になる。年間3万5千人が罹患する突発性難聴や、高齢者の半数が苦しむ老人性難聴などの感音難聴の根本的に道筋を開くものである。転写遺伝子である *Tead1* や *Noggin* 添加による ES 細胞の特定ニューロンへの分化もこのような疾患の再生治療に寄与する知見である。

(ii) COUP-TFI/II 発見は、ES 細胞由来神経幹細胞の時系列特異的変化の制御を可能にするため、幹細胞を治療へ応用する際に、人為的に幹細胞の培養ならびに保存する方法を開発する基礎となる。

(iii) マーモセットの脳分化の研究機序で構築した、脊髄損傷マーモセット実験系はヒトにおける脊髄障害やその他の病態モデル作出は、幹細胞の臨床応用への基礎研究として寄与する成果である。このように、臨床応用を意識した研究を行っており、慶應義塾大学眼科、中坪教授、整形外科、戸山芳昭教授などの多くの臨床医との共同研究を行ない、iPS細胞の早期臨床応用を目指している。

(iv) 社会への直接的な貢献としては、FIRSTサイエンスフォーラム・第1回(2011年2月13日 東京)に参画し、高校生などを対象に自身の研究紹介と研究者になった動機などの対話集会で研究者の育成と普及に努めている。

脊髄損傷は運動選手等においては致命的な怪我であり、iPSによる治療が可能になれば、朗報である。その研究手段として、人に近い霊長類のモデル動物の作成は新聞、雑誌に取り上げられ脊髄損傷患者などの患者の疾患の回復に対する期待と関心を集め、「iPS細胞でサル脊髄損傷を治療し機能回復に成功」として日本経済新聞2010年12月8日に掲載された。また、京都大学山中教授のノーベル賞受賞の際、その業績の内容と評価について新聞・テレビなどのメディアにおいてiPS細胞の臨床への展開などの解説をしてiPS細胞研究の重要性をアピールした。

岡野は本研究領域中の研究で国内特許7件、国際特許5件を出願しているが、国内で4件、国際特許も3件(4国で登録)登録している。本研究領域終了後の研究では、国内特許9件、国際特許8件を出願しており、国内特許2件、国際特許1件を登録させている(登録特許の詳細は表2-4参照)。

③上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト

1) Kiso M, Tanaka S, Saba R, Matsuda S, Shimizu A, Ohyama M, Okano HJ, Shiroishi T, Okano H, Saga Y, “The disruption of Sox21-mediated hair shaft cuticle differentiation causes cyclic alopecia in mice”, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106, 9292-9297 (2009).

2) Sasaki E, Hanazawa K, Kurita R, Akatsuka A, Yoshizaki T, Ishii H, Tanioka Y, Ohnishi Y, Suemizu H, Sugawara A, Tamaoki N, Izawa K, Nakazaki Y, Hamada H, Suemori H, Asano S, Nakatsuji N, Okano H, Tani K, “Establishment of novel embryonic stem cell lines derived from the common marmoset (*Callithrix jacchus*).”, *Stem Cells*, 23, 1304-1313 (2005)

3) Tsuji O, Miura K, Okada Y, Fujiyoshi K, Nagoshi N, Kitamura K, Kumagai G, Mukaino M, Nishino M, Tomisato S, Higashi H, Ikeda E, Nagai T, Kohda K, Takahashi K, Okita K, Katoh H, Matsuzaki Y, Yuzaki M, Toyama Y, Nakamura M, Yamanaka S, Okano H, “Therapeutic effect of the appropriately evaluated ‘safe’ iPS cells for spinal cord injury”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107, 12704-12709 (2010)

4) Nori S, Okada Y, Yasuda A, Tsuji O, Takahashi Y, Kobayashi Y, Fujiyoshi K, Koike M, Uchiyama Y, Ikeda E, Toyama Y, Yamanaka S, Nakamura M, Okano H,

“Grafted human-induced pluripotent stem-cell-derived neurospheres promote motor functional recovery after spinal cord injury in mice.”, *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 108, 16825-16830 (2011).

5) Sasaki E, Suemizu H, Shimada A, Hanazawa K, Oiwa R, Kamioka M, Tomioka I, Sotomaru Y, Hirakawa R, Eto T, Shiozawa S, Maeda T, Ito M, Ito R, Kito C, Yagihashi C, Kawai K, Miyoshi H, Tanioka Y, Tamaoki N, Habu S, Okano H, Nomura T.: "Generation of transgenic non-human primates with germline transmission". *Nature.* 459, 523-7 (2009).

④その他

本研究領域期間中に専任講師であった澤本和延は名古屋市立大学 医学研究科・大学院再生医学分野教授に就任し、助手であった中尾啓子は埼玉医科大学医学部生理学教室講師に就任しているが、外にも岡野研究室で教育を受けた多くの人材が国内外の大学、研究所で活躍している。

3.1.3 Genetic dissection による神経回路網形成機構の解析(岡本 仁)

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

①研究のねらい

神経回路網形成の分子機構を明らかにすることを目指して、分子生物学の最先端技術を応用できるゼブラフィッシュを脊椎動物モデルとして用いて、神経細胞(特に運動神経)の分化に異常を持つ突然変異の大規模スクリーニングを行い、それらの原因遺伝子を同定した。さらに、時期と場所に特異的な遺伝子の異所性発現を行うためにケージド mRNA 技術*を開発し、脳形成に関わる遺伝子の相互作用を解析した。

②期間中の研究成果

(i) 情動系神経回路の中継核である手綱核と、その標的である脚間核とを結ぶ神経結合の様式に、著しい左右非対称性があることを発見した。さらに、手綱核原基での片側性一過性Nodalシグナルの活性化が、非対称性の方向決めに関わることを、突然変異系統を利用して示した¹⁾。

(ii) 顔面運動神経細胞の後方移動が異常になる突然変異体を系統的に単離・同定した。そのうちの2系統では、細胞平面極性の異常によって、神経上皮細胞群が移動中の顔面運動神経細胞を排除できなくなっていることを示した²⁾。

(iii) ケージドmRNA を、1細胞期のゼブラフィッシュ胚に注入し、発生途中で、体の特定の部分に光線を照射することによって、注入したmRNA を活性化できる新技術(ケージドmRNA 法)を開発した³⁾。

遺伝性疾患のモデルとしてはマウスが多用されるが、本研究では、ゼブラフィッシュを用いて、遺伝子技術を能率よく応用して、初期発生の各段階を正確に可視化して継時観測できることが示した。これらの成果により、神経細胞の分化、移動、軸索伸展の新たな仕組みを明らかにされ、将来脳神経の修復治療に役立つことが期待された。

*6-Bromo-4-diazomethyl-7-hydroxycoumarin(Bhc-diazo)をRNAのリン酸基に結合させ、特定波長の紫外線(365nm)を短時間照射することで、再び遊離する技術

③研究成果に関連した主な成果論文

1) Aizawa H, Bianco IH, Hamaoka T, Miyashita T, Uemura O, Concha ML, Russell C, Wilson SW, Okamoto H, “Laterotopic Representation of Left-Right Information onto the Dorso-Ventral Axis of a Zebrafish Midbrain Target Nucleus”, *Current Biology*, 15, 238-243(2005)

2) Wada H, Tanaka H, Nakayama S, Iwasaki M, Okamoto H, “Frizzled3a and Celsr2 regulate neuroepithelial exclusion of migrating facial motor neurons in the zebrafish hindbrain”, *Development*, 133, 4749-4759 (2006)

3) Ando H, Furuta T, Tsien RY, Okamoto H, “Photo-mediated gene activation using caged RNA/DNA in zebrafish embryos.”, *Nature Genetics*, 28, 317–325 (2001)

(2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域の終了後に、科研費基盤研究(B)「手綱核・脚間核神経回路の成立機構と機能の解析」(2007–2009年度)、科研費新学術領域研究(研究領域提案型)「ゼブラフィッシュの手綱核による恐怖行動制御」(2009–2010年度)、CREST研究領域「脳神経回路の形成・動作原理の解明と制御技術の創出」研究課題「手綱核による行動・学習の選択機能の解明」(2009–2014年度)、科研費新学術領域研究(研究領域提案型)「意思決定神経回路の可視化と操作」(2011–2015年度)などの競争的研究資金により、生物が左右非対称に分化する仕組みについてゼブラフィッシュを材料に研究を継続している。また手綱核の研究を発展させ、記憶と手綱核の関係を見出し、脳神経の分化と行動の関連についての仕組みを解明し、哺乳類であるマウスの行動との関係に展開している。

① 科学技術の進歩への貢献

(i) ゼブラフィッシュでは背側手綱核と腹側手綱核が、マウスの内側手綱核と外側手綱核に相当することを発見した¹⁾。ゼブラフィッシュの背側手綱核は、更に外側と内側の亜核に分かれ、外側亜核は脚間核の背側半分に、内側亜核は脚間核の腹側半分に選択的に投射すること、左側の背側手綱核では外側亜核が内側亜核よりも有意に大きく、右側の背側手綱核ではその反対であることを発見した。更に、背側手綱核の外側亜核が投射する背側脚間核は、脅威や性的衝動に基づく本能的行動の中枢である中心灰白質に投射し、内側亜核が投射する腹側脚間核は、セロトニン神経細胞を含み戦略的行動プログラムの成立に関わる縫線核に投射することも証明した^{2), 3), 4)}。

(ii) 神経上皮細胞は高度に発達した極性を持つ初期神経発生期の神経幹細胞であるが、神経上皮細胞自身や神経細胞を生み出すだけでなく、神経細胞の移動や神経突起伸張など、神経発生のさまざまな過程を制御することが明らかとなった⁵⁾ (図3-2)。

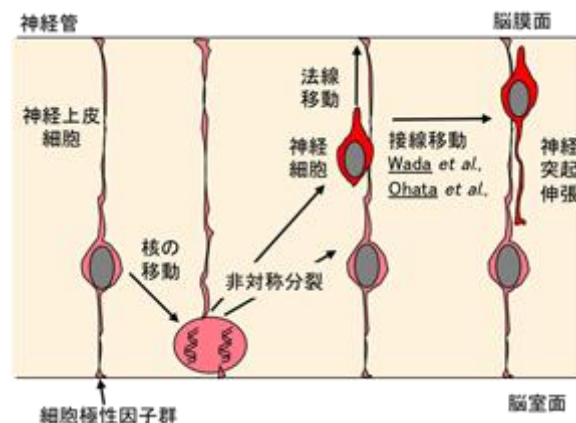


図 3-2 初期神経発生における神経上皮細胞の機能と構造

(iii) 循環器系、呼吸器系、消化器系などを副交感性に支配し、生命の維持に重要な役割を果たす迷走運動神経をモデル系とし、迷走運動神経核形成に異常を持つゼブラフィッシュ

突然変異体を同定・解析し、それらの変異体のうち、迷走運動神経細胞の移動方向に異常を持つ変異体は、神経上皮細胞極性因子に異常を持ち、神経上皮細胞の細胞極性が破綻していることを見出した^{6), 7)}(図 3-3)。この変異体を用いた解析により、神経上皮細胞による迷走運動神経細胞の移動方向の制御には、神経上皮細胞の正常な細胞極性が必要であることを明らかにした。さらに、この因子の細胞情報伝達経路を解析することによって、神経上皮細胞極性因子複合体が、転写制御を介した神経細胞新生の制御と、細胞内シグナル伝達経路を介した神経上皮細胞の極性の制御を、協調的に行っていることを示した。

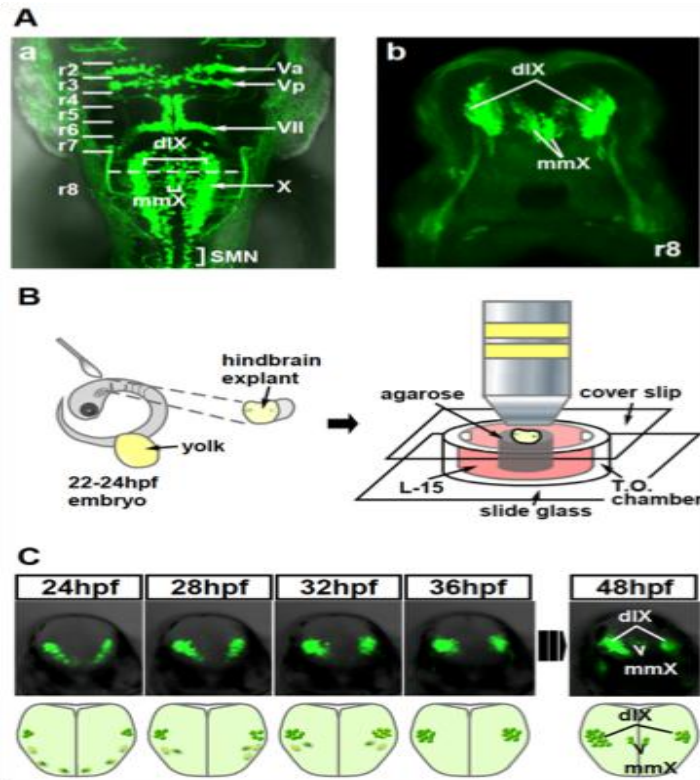


図 3-3 迷走運動神経核形成のタイムラプスイメージング

- (A) 本研究室で作出した運動神経細胞で特異的に GFP を発現する *is11*:GFP 遺伝子改変ゼブラフィッシュ
- (B) 独自に開発した、迷走運動神経核形成の経時的観察法
- (C) *is11*:GFP 遺伝子改変ゼブラフィッシュの経時的観察によって明らかになった、迷走運動神経核の形成機構

(iv) すべての神経細胞でマーカー蛍光を発現するトランスジェニック魚を使って、遺伝学的にコードされたカルシウム感受性蛍光蛋白による神経活動を検出する観察システムを確立した。能動的回避行動をトランスジェニック魚に学習させ、恐怖学習と能動的回避学習とで終脳で活動が変化するかどうかなど、進化的に保存されたゼブラフィッシュ終脳の神経活動のイメージングが可能になった。

(v) 手綱核と行動制御との関わりを明らかにするために、拘束状態のラットを使って、安静、探索、報酬獲得、睡眠など動物の各状態において手綱核の神経細胞がどのような挙動を示すのかを多点同時記録で調べ、このシステムをマウスに適用できるように、改良を加

えている。また、記憶固定化における手綱核の役割を明らかにするため、遺伝子改変マウスを用いた解析を開始している。

②社会・経済的波及効果

ゼブラフィッシュの神経系の画像解析による直接的視覚化で神経異常の発生を容易に観察できるシステムは、神経変性疾患の病因解明などの研究のみならず、薬物や食品添加物などの神経毒性の評価に応用できる技術である。

これらの研究成果は一般に向けても「脳の右と左の構造の違いを生み出す分子メカニズムを解明—脳の進化の過程・社会行動の制御を探る新たな手がかりに」として公表され、2007年1月9日の日本経済新聞に「神経細胞、生成、左右にズレ」として掲載された。左右の構造の違いが、情報処理の効率化と、社会行動の協調性を制御している可能性を示したことから、現代の社会行動の仕組みとの関係があるため、注目されたものである。

③上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト

1) Amo R, Aizawa H, Takahoko M, Kobayashi M, Takahashi R, Aoki T, Okamoto H, “Identification of the zebrafish ventral habenula as a homologue of the mammalian lateral habenula.”, *J. Neuroscience*, 30, 1566-1574 (2010)

2) Aizawa H, Bianco IH, Hamaoka T, Miyashita T, Uemura O, Concha ML, Russell C, Wilson SW, Okamoto H, “Laterotopic Representation of Left-Right Information onto the Dorso-Ventral Axis of a Zebrafish Midbrain Target Nucleus”, *Current Biology*, 15, 238-243 (2005)

3) Aizawa, H., Goto, M., and Okamoto, H., “Temporally regulated asymmetric neurogenesis causes left-right difference in the zebrafish habenular structures”, *Developmental Cell*, 12, 87-98 (2007)

4) Agetsuma M, Aizawa H, Aoki T, Nakayama R, Takahoko M, Goto M, Sassa T, Amo R, Shiraki T, Kawakami K, Hosoya T, Higashijima S, Okamoto H. “The habenula is crucial for experience-dependent modification of fear responses in zebrafish”, *Nat Neurosci*. 13, 1354-1356 (2010)

5) Wada H, Tanaka H, Nakayama S, Iwasaki M, Okamoto H, “Frizzled3a and Celsr2 function in the neuroepithelium to regulate migration of facial motor neurons in the developing zebrafish hindbrain”, *Development*, 133, 4749-4759. (2006)

6) Ohata S, Kinoshita S, Aoki R, Tanaka H, Wada H, Tsuruoka-Kinoshita S, Tsuboi T, Watabe S, Okamoto H, “Neuroepithelial cells require fucosylated glycans to guide the migration of vagus motor neuron progenitors in the developing zebrafish hindbrain”, *Development*, 136, 1653-1663 (2009)

7) Ohata S., Aoki R., Kinoshita S., Yamaguchi M., Tsuruoka-Kinoshita S., Tanaka H., Wada H., Watabe S., Tsuboi T., Masai I. and Okamoto H. “Dual Roles of Notch in Regulation of Apically Restricted Mitosis and Apicobasal Polarity of Neuroepithelial Cells”, *Neuron*, 69, 215-230 (2011)

④その他

我が国の研究基盤となる研究資源の収集・保存・提供を行うナショナルバイオリソースプロジェクト「ゼブラフィッシュ」の委員を務め、研究の促進に貢献している。また、若手研究者の研究指導についても熱心で、本研究領域期間中に、研究員であった政井一郎(現沖縄科学技術大学院大学准教授)を、理研独立主幹研究員に、佐々貴之を北海道大学薬学研究科(研究院)講師に、木下滋晴を東京大学農学部助教などへ就職させている。

3.1.4 生殖細胞形成機構の解明とその哺乳動物への応用(小林 悟)

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

①研究のねらい

脊椎・無脊椎動物に共通する生殖細胞形成機構を明らかにするため、これまでに既に詳細を明らかにしたショウジョウバエ生殖細胞の分化機構の知見を、マウス生殖細胞と比較解析を試みた。

②期間中の研究成果

(i) ショウジョウバエにおいて、Nanos は生殖細胞の前駆細胞(極細胞)にのみ含まれる母性タンパク質であること、Nanos タンパク質を欠いた場合、本来は生殖細胞にしか分化しないはずの極細胞が体細胞に分化することを見い出した。Nanos 遺伝子のホモログをマウスで3種類同定し、ショウジョウバエとマウスに共通して生殖細胞形成に関与することが明らかにした^{1), 2)}。

(ii) 体細胞分裂から減数分裂の開始や初期段階の進行を制御する分子として、ヒストンメチルトランスフェラーゼの活性モチーフを持つMeisetz タンパク質を同定した。Meisetz はヒストンH3 のK4 メチル化を介して、減数分裂前期の進行に必要な遺伝子の発現を制御していると考えられる³⁾。また、生殖細胞形成過程で働く遺伝子を網羅的に同定することもできた。

ショウジョウバエ生殖細胞系列の発生分化の解析は本研究領域開始時期の状況と比べて着実な進展はしたが本研究によって大きな発展につながったというには至らなかった。本研究の成果はむしろマウスの生殖細胞分化とショウジョウバエとの共通性の指摘ができた点にあり、今後の生殖細胞形成機構解明の基盤となり、将来、生殖医療への応用の道筋が示された点が重要である。

③研究成果に関連した主な成果論文

1) Tsuda M, Sasaoka Y, Kiso M, Abe K, Haraguchi S, Kobayashi S, Saga Y, “Conserved role of nanos proteins in germ cell development.”, *Science*, 301, 1239-1241 (2003)

2) Hayashi Y, Hayashi M, Kobayashi S, “Nanos suppresses somatic cell fate in Drosophila germline”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 101, 10338-10342 (2004).

3) Hayashi K, Yoshida K, Matsui Y, “A histone H3 methyltransferase controls epigenetic events required for meiotic prophase.”, *Nature*, 438, 374-378 (2005)

(2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域の終了後に、科研費新学術領域研究(研究領域提案型)「ショウジョウバエ卵巣/精巣における GSC/ニッチ・システムの解明」(2008-2012 年度)科研費基盤研究(B)「ショウジョウバエ生殖細胞系列の運命決定機構および性差形成機構」(2009-2011 年度)科研費基盤研究(A)「ショウジョウバエ生殖細胞系列の性決定機構の解明」(2012-2015 年度)などの競争的研究資金を獲得し研究を展開している。本研究領域期間中に生殖細胞の分化に関するタンパク質として Nanos や Meisetz などを発見したが、本研究領域終了後は、生殖細胞の性の決定機構、ニッチの生殖細胞を生成する仕組みに移り、研究が進められている。

① 科学技術の進歩への貢献

(i) 生殖幹細胞は、連続的に精子や卵を生み出すためにニッチと接することが必要である。オス生殖巣前半の体細胞に由来するニッチ(Hub 細胞)が形成されるメカニズムとして、生殖巣全体でニッチ形成を促進する Notch と拮抗し、Egfr (Epidermal growth factor receptor) が生殖巣の後半部で働くことにより、Hub の分化を前半に限局することを明らかにした¹⁾(図 3-4)。

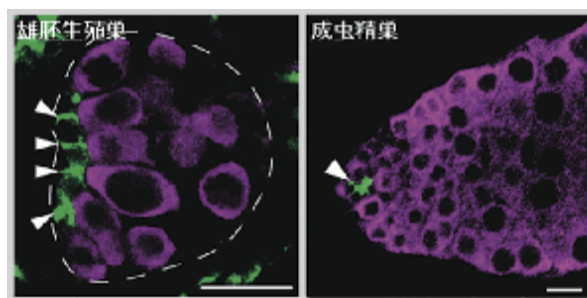


図 3-4 雄の生殖巣における生殖幹細胞
胚の生殖巣(左)および雄成虫の精巣(右)における生殖幹細胞ニッチを緑で(矢じり)、極細胞(生殖細胞)をマゼンダで示す。

(ii) Egfr と同様に、Boss/Sevenless シグナル経路が生殖巣の後半部で活性化し、ニッチの形成を阻害することが明らかとなった²⁾。以上の研究は、発生過程におけるニッチの形成機構を明らかにした初めての報告である。

(iii) 始原生殖細胞(極細胞)は、雄では精子に雌では卵に分化する。これまで、極細胞の性差は、周囲の体細胞からのシグナルにより決定されると考えられてきたが、始原生殖細胞自律的な性決定機構が存在し、Sxl 遺伝子が生殖細胞のメス化のためのマスター遺伝子であることを示した³⁾。Sxl 遺伝子を発現しない XY 始原生殖細胞において Sxl 遺伝子を強制発現しメスの個体に移植したところ、移植された始原生殖細胞は卵を形成することが判った。この XY 始原生殖細胞に由来する卵は受精することにより次世代をも生み出すことが明らかになった。Sxl 遺伝子は始原生殖細胞がメス化するためのマスター遺伝子として働いてことをはじめて明らかにした。生殖細胞の性決定は 2 段階で進行するものと考えられ(図

3-5)、今後、Sxl 遺伝子の下流で働く遺伝子を同定することにより、生殖細胞の性決定機構の全貌が明らかになるものと期待される。

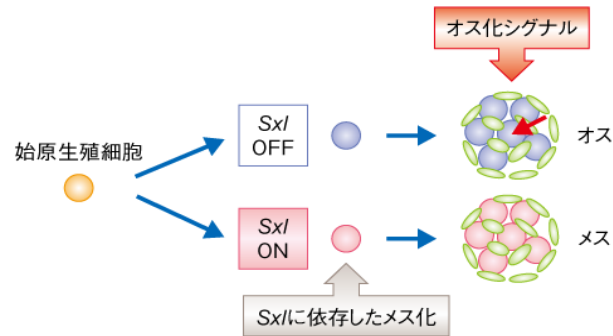


図 3-5 生殖細胞における性決定の 2 段階モデル

(iv) 極細胞の発生過程で発現する遺伝子のデータベースを完成させ、ショウジョウバエの生殖細胞形成機構の解明をすすめている。

②社会・経済的波及効果

生殖細胞の性決定機構の解明は世界に先駆けた成果であり、ヒトを含めた他の動物の生殖細胞の性を決める仕組みを明らかにする基礎となるとともに、生殖細胞の性(精子に分化するか卵に分化するか)を人為的に調節する技術開発にもつながる。この成果は、朝日新聞、中日新聞 1 面、毎日新聞、読売新聞、日本経済新聞など(2011 年 7 月 8 日)、NHK ニュース(2011 年 7 月 9 日)、CBC テレビ(2011 年 8 月 15 日)など web も含めて多くのメディアで報道された。

Notch と Egfr によるニッチの形成と精子幹細胞の数の調節機構の解明は、不妊症の原因解明や不妊治療に役立つ可能性があるということで、日経産業新聞、中部経済新聞(2010 年 8 月 4 日)ほか、地方紙 web 版に多数取り上げられた。

ショウジョウバエにおける Nanos の機能として生殖細胞の細胞死を防ぐ役割を明らかにした成果は、中日新聞(2007 年 4 月 18 日)ほか web 版で報道された。

③上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト

1) Kitadate Y, Kobayashi S, “Notch and Egfr signaling act antagonistically to regulate germline stem cell niche formation in *Drosophila* male embryonic gonads.”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107, 14241-14246 (2010).

2) Kitadate Y, Shigenobu S, Arita K, Kobayashi S, “Boss/Sev signaling from germline to soma restricts germline-stem-cell-niche formation in the anterior region of *Drosophila* male gonad.”, *Dev. Cell*, 13, 151-159 (2007)

3) Hashiyama K, Hayashi Y, Kobayashi S, “*Drosophila* Sex lethal gene initiates female development in germline progenitors.”, *Science*, 333, 885-888 (2011)

④その他

Sxl 遺伝子の実験に大きな寄与をした本研究領域研究員の橋山一哉は Institute for Research in Biomedicine (IRB Barcelona)でポスドクとして活躍中である。また、ニッチの形成機構解明の成果を上げた北舘祐は、基礎生物学研究所の他部門の助教として採用された。本研究領域後に小林の共同研究者であった影山裕二は神戸大学自然科学系先端融合研究環遺伝子実験センター准教授に就任している。

3.1.5 器官形成における細胞遊走の役割及びそのシグナリングと再生への応用(竹縄 忠臣)

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

細胞の遊走運動は創傷治癒、がん転移、免疫細胞のホーミングなどさまざまな生命活動に関係する、生物の根幹をなす現象の一つである。本研究では、細胞運動に関与する多数の分子を発見し、ノックアウトマウスを用いて、その機能を解明することを目指した。

② 期間中の研究成果

(i) WASP/WAVE ファミリータンパク質が細胞外刺激によって活性化され、細胞遊走に必要なダイナミックで極性を持った細胞アクチン骨格系の再構成を引き起こし、糸状仮足や葉状仮足を促進することを示した。WASP ファミリータンパク質がまた N-WASP 活性化による筋肉再生への手がかりを明らかにした。WAVE2 は細胞の先端部にできるラメリポジア形成に関与し、細胞の運動に必須であることを証明した¹⁾。

(ii) FBP17(Forming-Binding Protein 17)のEFH ドメインが膜の脂質をチューブ状に変形させ膜の形作りに携わっていることを明らかにした。更にこのタンパク質はN-WASP とも結合して膜とアクチン骨格系を結び、インターフェースとして働いていることを示した²⁾。

(iii) EFC ドメインの結晶構造解析を行ない、EFC ドメインがダイマーとなり脂質2重層にヘリカルに結合して膜をチューブ状に変形する機序を解明した³⁾。

本研究から、種々の分子の筋肉再生・血管内皮細胞の発生再生、がん浸潤などの過程での働きが明らかになったことで、発生再生医学への応用に大きな影響を与えることや、将来的には創薬のターゲットとしても重要なものとなることが期待される。

③ 研究成果に関連した主な成果論文

1) Oikawa T, Yamaguchi H, Itoh T, Kato M, Ijuin T, Yamazaki D, Suetsugu S, Takenawa T, “ PtdIns(3,4,5)P3 binding is necessary for WAVE2-induced formation of lamellipodia.”, *Nat. Cell Biol.*, 6, 420-426 (2004).

2) Tujita K, Sasaki N, Furutani M, Oikawa T, Suetsugu S, Takenawa T, “Coordination between actin cytoskeletal reorganization and the membrane deformation by a novel membrane tubulation domain of the PCH protein family involved in endocytosis”, *J. Cell Biol.*, 172, 269-279 (2006)

3) Shimada A, Niwa H, Tsujita K, Suetsugu S, Nitta K, Hanawa-Suetsugu K, Azkasaka R, Nishino Y, Toyama M, Chen L, Sugano S, Shirouzu M, Nagayama K, Takenawa T, Yokoyama S, “(Both are correspondencers) ; Curved EFC/F-Bar domein dimmers are

jointed end to end into a filament for membrane invagination in endocytosis“, *Cell*, 129, 761-772 (2007)

(2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域の期間中に科研費基盤研究(A)「イノシトールリン脂質による WASP ファミリータンパク質の活性抑制」(2004-2006 年度)、科研費特定領域研究「がん細胞の細胞運動とその制御機構」(2005-2009 年度)、本研究領域終了後に、科研費学術創成研究費「ホスホイノシタイドによるシグナルの時空間制御」(2006-2010 年度)、科研費基盤研究(S)「ホスホイノシタイドによる細胞ダイナミズムの制御」(2011-2015 年度)などの競争的研究資金を得て、細胞遊走機能の詳細について研究を続けるとともに、あらたにイノシトールリン脂質を膜由来の伝達物質としての働きだけでなく、生体機能の制御物質であるという観点から研究を続けている。

① 科学技術の進歩への貢献

(i) IGF-1(インスリン様成長因子)によりグリコーゲン合成キナーゼ阻害を介し筋線維の Z バンドに neblin と N-WASP の複合体が形成されることを見出した¹⁾。この複合体が筋原線維の核形成によりアクチン線維の糸状分枝を生じるとされる(図 3-6)。N-WASP は IGF-1 による筋の肥大にも関与していることを見出した。さらに、骨格筋と同じ横紋筋である心筋でも同様な機構が働くことを見出した。

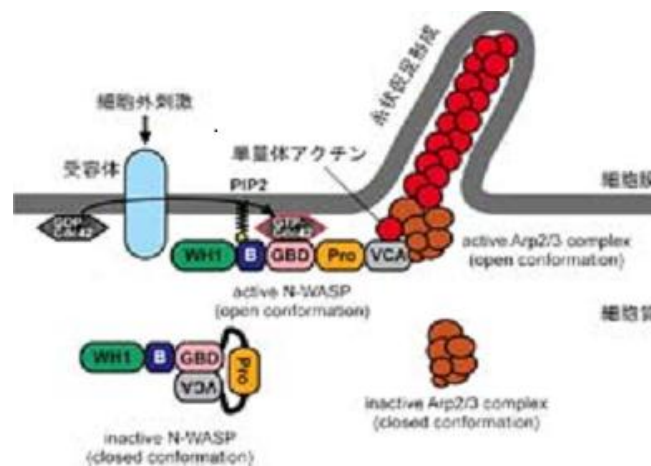


図 3-6 アクチン線維の糸状分枝を形成する機序

(ii) WASP や WAVE は共に Arp2/3 複合体を介してアクチンの核化を促進し、cortical なアクチン線維の構築に重要な働きをする。WASP 及び WAVE ファミリータンパク質の活性化は WIP タンパク質などと複合体を形成した非活性型から、外部から刺激により、PIP2 の増加や Cdc42 の活性化を経由して Arp2/3 複合体を活性化してアクチン線維を作り、糸状仮足や浸潤斑(invadopodia)を形成することを明らかにした²⁾(図 3-7)。

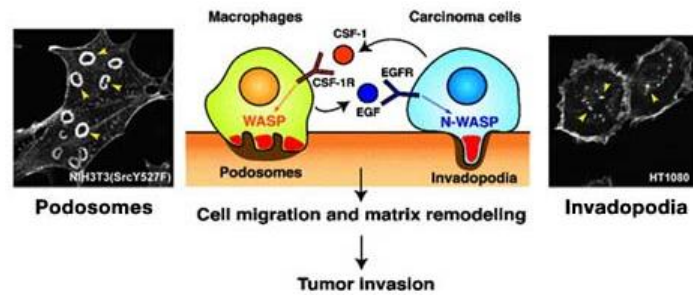


図 3-7 外部刺激により invadopodia を形成する過程の模式図

(iii) がん細胞が、原発巣から離脱し浸潤、転移し、原発巣から離脱する際に、上皮-間葉移行が起こり、単細胞がんとなり、更には間葉-アメーバ移行が生じ、更に浸潤、転移をし易くなると言われる。3次元マトリクス中でのがん細胞の運動のうち、細長い間葉系の細胞の運動機序は明らかではなかったが、間葉系細胞の運動は Rac で制御され、WAVE2/Arp2/3 による葉状仮足形成がその駆動力になっていることを明らかにした³⁾。

(iv) 生体機能調節物質としての観点から、イノシトールリン脂質結合蛋白タンパク質の脂質結合活性を見たところ、酸性脂質に結合することが判った。その中でアクチン結合タンパク質 Coronin1-A について脂質の関与を詳しく調べた結果、Coronin1-A は酸性リン脂質の中でも特に PI(4,5)P2 と特異的に競合し、PI(4,5)P2 が外部刺激を受け分解され、膜から遊離して、アクチン線維に結合する。また PI(4,5)P2 は Coronin1-A を抑制することで、枝分かれ様のフィラメントを作り出す作用をしている事を明らかにした⁴⁾。

②社会・経済的波及効果

糸状分枝形成の機構が骨格筋で筋肥大、心肥大を誘発するという知見について、竹縄らは心筋症などの治療法の開発に対して手がかりとなると考えている。また、外部刺激により WASP や WAVE ファミリーが関与し invadopodia を生じる機序の解明は原発巣から離脱した、がん細胞が他臓器に転移、浸潤するという結果についても、がん細胞の転移防止に対する薬物の開発のターゲットとなる可能性があると考えている。また、さまざまなホスホイノシタイドが特異的に結合するドメインを介して、さまざまなタンパク質の機能を修飾していることは、ホスホイノシタイド代謝異常によって生じる数多くの重篤な疾病の治療につながるとしている。

③上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト

- 1) Takano K, Watanabe-Takano H, Suetsugu S, Kurita S, Tsujita K, Kimura S, Karatsu T, Takenawa T, Endo T, “Nebulin and N-WASP cooperate to cause IGF-I-induced sarcomeric actin filament formation.”, *Science*, 330, 1536–1540 (2010)
- 2) Oikawa T, Itoh T, Takenawa T, “Sequential signals toward podosome formation in NIH-src cells”, *J Cell Biol.*, 182(1):157-69(2008)

3) Yamazaki D, Kurisu S, Takenawa T, "Involvement of Rac and Rho signaling in cancer cell motility in 3D substrates.", *Oncogene*, 28, 1570-1583 (2009)

4) Tsujita K, Itoh T, Kondo A, Oyama M, Kozuka-Hata H, Irino Y, Hasegawa J, Takenawa T, "Proteome of acidic phospholipid-binding proteins : spatial and temporal regulation of Coronin 1A by phosphoinositides" *J Biol Chem.*, 285, 6781-6789 (2010)

④その他

本研究領域の共同研究者、当時東京大学助手の末次志郎は分子細胞生物学研究所の准教授に、同じく東京大学助手であった共同研究者三木裕明は大阪大学蛋白質研究所教授、伊藤俊樹は神戸大学大学院医学研究科准教授に就任している。

3.1.6 形態の非対称性が生じる機構(濱田 博司)

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

①研究のねらい

生物の体がつくられる過程で形態の非対称性を生じることは、必須な機構である。本研究では、主に体の左右非対称性に焦点を当て、実験生物学と理論生物学を組み合わせることにより、対称性が破られる最初のステップから非対称な形態形成に至る一連の過程の分子機構の解明を目指した。

②期間中の研究成果

(i) 左右の初期決定機構の解明では、人工的な水流をマウス胚へ与え、ノード流の方向を逆転させると、体の左右の決定が逆転することより、ノード流の重要性を直接的に証明した¹⁾。

(ii) 前後軸決定の機構の解明では、前後の決定の直接的な原因となる、DVE と呼ばれる細胞移動の機構を調べたところ、DVE が移動する方向は、Lefty1 が非対称に発現した側であることが判った。Lefty1, Cer1 と呼ばれる Nodal antagonist が非対称に発現することにより、DVE 細胞の移動方向を決定され、ひいては将来の頭・尾を決めていることが判った²⁾。

(iii) 数理モデル(反応拡散システム)による左右決定の再現と予測において、左右に関する既存のマウス胚の実験データをすべて再現できる数理モデルを構築することができた。得られた数理モデルを用いて、現象の予測や、これまで不可解であった現象を説明することが可能となった³⁾。

本研究で得られた成果は、発生学に新たな概念をもたらすとともに、ヒトの先天性奇形の発生異常に関する疾病の原因の理解や早期診断に貢献すると期待される。

③研究成果に関連した主な成果論文

1) Nonaka S, Shiratori H, Saijoh Y, Hamada H, “Determination of left-right patterning by artificial nodal flow in the mouse embryo.”, *Nature*, 418, 96-99 (2002).

2) Yamamoto M, Saijoh Y, Perea-Gomez A, Shawlot W, Behringer RR, Ang SL, Meno C, Hamada H, “Nodal antagonists regulate migration of the visceral endoderm along the future antero-posterior axis of the mouse embryo.”, *Nature*, 428, 387-392 (2004).

3) Nakamura T, Mine N, Nakaguchi E, Mochizuki A, Yamamoto M, Yashiro K, Meno C, Hamada H, “Generation of robust left-right asymmetry in the mouse embryo requires a self enhancement lateral inhibition system.”, *Dev Cell*, 11, 495-504 (2006).

(2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域の期間中に科研費基盤研究(A)「頭部の決定・誘導・領域化の機構」(2005-2006年度)、本研究領域終了後に、CREST研究領域「生命システムの動作原理と基盤技術」研究課題「生物の極性が生じる機構」(2006-2012年度)、科研費基盤研究(A)「NODALシグナルによる胚発生の制御」(2007-2008年度)、科研費基盤研究(A)「NodalとLeftyによる胚のパターニング」(2009-2011年度)、科研費基盤研究(A)「頭尾極性の起源」(2012-2015年度)、科研費基盤研究(S)「体の非対称性の起源」(2012-2015)、科研費(新学術領域研究(研究領域提案型))シリア・中心体系による生体情報フローの制御」(2012-2016年度)、科研費新学術領域研究(研究領域提案型)「シリア・中心体系を介する情報フローによる体の左右の決定」(2012-2016年度)などの競争的研究資金により、マウスのモデルを用いて、主に体の頭部(脳)形成に焦点をあて、頭部(脳)がいかに決定され、誘導され、領域化(パターニング)されるかを明らかにするため研究を続けている。Lefty1遺伝子のノード活性化部分の研究など、ノードとその周辺の細胞のシグナルによる相互作用の詳細をそれを制御する因子とともに解明している。レチノイン酸シグナルの研究は頭尾形成の新しい側面からのアプローチである。

① 科学技術の進歩への貢献

(i) 初期発生における頭尾の決定機構を調べるために、DVE細胞を蛍光タンパク質で標識できるマウスを用いて、DVEの挙動を経時観察したところ、5.5日目から移動を開始し、胚全体のvisceral endoderm細胞の移動を引き起こし、移動の開始に合わせて、DVE細胞が極性を獲得していることが判った。将来の頭尾を決定する内胚葉(DVE)が形成されるメカニズムが明らかになった¹⁾。

(ii) ヒトLefty遺伝子の中に非対称ノードを活性化する遺伝子発現部分があることを発見し、Asymmetric Node Enhancer(ANE)を見出した。Nodalの発現が対称でも左のノード周辺細胞に強く発現しており、Smad2/3のリン酸化を組織レベルで検出しても左が高かった。ノードでのNodal遺伝子の発現は対称であるが、Nodalタンパク質の活性はL>>Rであることが判り、ノードで合成されたNodalタンパク質が側方へと運搬されていることが示唆された²⁾。また、Cer12を欠損する胚ではNodalタンパク質の活性が上昇しており、Nodalの抑制に作用していることを明らかにした³⁾。

(iii) レチノイン酸分解酵素(CYP26A1, CYP26C1)の変異マウスの解析より、これらの後脳で特異的に発現する代謝酵素が、体幹部から来るレチノイン酸が前方へ拡散することを防いでいることが明らかになった。また、CYP26B1を含めたすべてのCYP26を欠損すると、正しい頭尾パターニングができないことより、胚の頭尾の決定にはレチノイン酸が不活性化される必要があることが明らかとなった⁴⁾。

② 社会・経済的波及効果

本研究は細胞の頭部の方向性を決定する発生の仕組みの基礎研究であり、Nodal遺伝子の発現異常が新生児の心臓や血管の奇形、難聴などの頭部の器官の形成異常などの疾患発症の病因となっている可能性があり、そのさらなる解明が疾患の予防と治療につながると

思われる。レチノイン酸分解酵素とレチノイン酸の機能の研究は発生異常の仕組みの解明とそれを予防する方法の開発に寄与する成果である。

濱田の研究は、非対称が生じる仕組みが正しく働かないことで生じると考えられる新生児の心臓形成異常の原因究明に、将来役立つことが期待され、日経産業新聞(2010年1月26日)に掲載された。

③上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト

1) Takaoka K, Yamamoto M, Hamada H, "Origin and role of distal visceral endoderm, a group of cells that determines anterior-posterior polarity of the mouse embryo.", *Nat Cell Biol.*, 13, 743-752 (2011)

2) Kawasumi A, Nakamura T, Iwai N, Yashiro K, Saijoh Y, Belo JA, Shiratori H, Hamada H, "Left-right asymmetry in the level of active Nodal protein produced in the node is translated into the asymmetry in the lateral plate of mouse embryo", *Dev Biol.*, 353(2):321-330 (2011),

3) Oki S, Kitajima K, Marques S, Belo JA, Yokoyama T, Hamada H, Meno C, "Reversal of left-right asymmetry induced by aberrant Nodal signaling in the node of mouse embryos.", *Development.*, 136, 3917-25 (2009)

4) Uehara M, Yashiro K, Takaoka K, Yamamoto M, Hamada H, "Removal of maternal retinoic acid by embryonic CYP26 is required for correct Nodal expression during early embryonic patterning.", *Genes Dev.*, 15, 23, 1689-98 (2009)

④その他

本研究領域期間中に共同研究者の目野主税助教授は九州大学医学研究院基礎医学部門生体制御学講座教授に、博士研究員であった野中茂紀は基礎生物学研究所時空間制御研究室准教授に昇進している。

3.1.7 発生における器官・形態形成と細胞分化の分子機構(松本 邦弘)

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

発生・分化・神経系を規定するシグナル分子によるシグナル伝達ネットワークの解明は、高等脊椎動物における個体構築機構を明らかにする上で重要である。本研究は発生過程における MAP キナーゼカスケードを中心とした細胞運命、細胞極性、形態形成の制御機構の解明を第 1 の目的とし、発生・分化を規定するシグナル伝達ネットワークの解明を目指した。

② 期間中の研究成果

(i) 新規 MAPK カスケードの一員 TAK1 を中心として、そのシグナル伝達経路の上流及び下流のシグナル伝達因子群を同定し、Wnt5A が $\text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{CaMKII} \rightarrow \text{TAK1} \rightarrow \text{HIPK2} \rightarrow \text{NLK}$ 経路を活性化し、この経路が Wnt1 等の標準的 Wnt シグナルを負に制御することを見出した。さらに、皮膚特異的 TAK1 の欠損マウスを作成した結果、TAK1 の欠損によって皮膚ケラチノサイトの細胞死が引き起こされることが明らかにし、TAK1 カスケードの全体像と、マウスをモデル動物として個体レベルにおける TAK1 の機能を明らかにした。

(ii) 高等脊椎動物(アフリカツメガエル、ゼブラフィッシュ)、高等無脊椎動物(ショウジョウバエ)、及び線虫を用いて、新規シグナル伝達因子群の同定と機能解析を行い、発生・分化・神経系の分子機構ネットワークを明らかにした。特に、ゼブラフィッシュをモデル動物とした Nrarp の胚発生における研究から、Wnt シグナル伝達系が、色素細胞、顔面軟骨、末梢神経などの神経堤由来細胞の発生において重要な働きをしていることを示した¹⁾。

(iii) 線虫をモデル動物として個体レベルにおける発生・分化・神経系を制御する MAPK シグナル伝達経路を明らかにした^{2)・3)}。本研究の新たな展開として、線虫の MAPK シグナル伝達経路の研究過程で同定した新規シグナル伝達因子の中に、アルツハイマー病、パーキンソン病、遺伝性高血圧症などのヒト遺伝性疾患の原因遺伝子を見出した。

シグナル伝達の研究そのものはきわめて基礎的な研究であるが、そこで発見されるシグナル伝達経路の遺伝子やタンパク質群は将来の創薬の対象として有望なものが多い。応用への道が近いとは決して言えないが、TAK1 阻害剤がマウスでがんを退縮させる作用があることが確認され、創薬ターゲットとして注目されている。

③ 研究成果に関連した主な成果論文

1) Ishitani T, Matsumoto K, Chitnis AB, Itoh M, "Nrarp functions to modulate neural-crest-cell differentiation by regulating LEF1 protein stability, *Nature Cell Biol*, 7, 1106-1112 (2005)

2) Sagasti A, Hisamoto N, Hyodo J, Tanaka-Hino, M, Matsumoto K, Bargmann CI, “CaMKII UNC-43 activates the MAPKKK NSY-1 to excute a lateral signaling decision required for asymmetric olfactory neuron fates”, *Cell*, 105, 221-232 (2001)

3) Nishiwaki K, Kubota Y, Chigira Y, Roy SK, Suzuki M, Schvarzstein M, Jigami Y, Hisamoto N, Matsumoto K, “An NDPase links ADAM protease glycosylation with organ morphogenesis in *C. elegans*.”, *Nature Cell Biol*, 6, 31-37 (2004)

(2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域期間中から科研費基盤研究(A)「MAP キナーゼカスケードによるシグナル伝達ネットワーク」(2005-2006 年度)、科研費特定領域研究「シグナル伝達素過程におけるがん関連遺伝子の作用機構」(2005-2009 年度)、本研究領域終了後に SORST「発生神経系の情報伝達機構の解明から遺伝性疾患モデル系構築」(2005-2008 年度)、科研費基盤研究(A)「細胞内トラフィックとシグナル伝達の時空間的制御」(2009-2011 年度)、科研費基盤研究(A)「神経軸索再生を制御するシグナル伝達機構(2012-2014 年度)などの競争的研究資金を得て研究を続けている。

SORST には本研究領域の研究の一部が受け継がれ、ここではマウスでの TAK1 の研究、アフリカツメガエルとゼブラフィッシュでのシグナル伝達系の研究、線虫でのシグナル伝達異常による病態モデルなどの研究がなされた。その後も各種動物において、発生初期のシグナル伝達系の解明は続けられている。加えて、神経軸索の再生機構の研究にも発展させ種々の発見をしている。ハーバード大やユタ大などとの共同研究も多い。

① 科学技術の進歩への貢献

(i) 再生に関する成果として、線虫の JNK MAPK 経路が、神経軸索再生の誘導において重要な役割を果たしていることをユタ大と共同で見いだした。また、増殖因子様タンパク質 SVH-1 と、その受容体であるチロシンキナーゼ SVH-2 が JNK MAPK 経路を介して軸索再生を促進すること¹⁾(図 3-8)、脳内マリファナ様物質(エンドカンナビノイド)が JNK MAPK 経路を負に制御することで軸索再生を阻害することを示し、神経軸索再生を制御する JNK MAPK 経路は、増殖因子とエンドカンナビノイドの促進・抑制シグナルにより協調的に制御されていることを明らかにした²⁾。

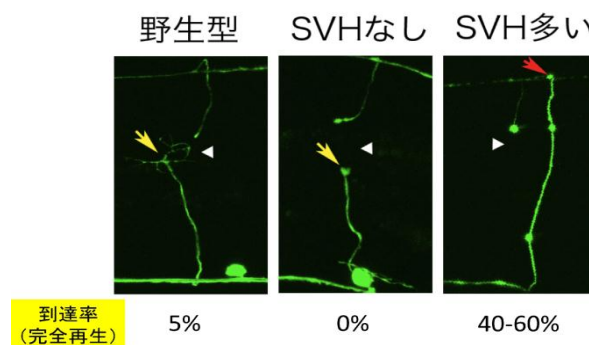


図 3-8 神経軸索の再生における SVH の効果

(ii) 線虫における疾患関連遺伝子の情報をもとに、疾患モデル生物として線虫を用い、原因遺伝子の線虫ホモログでパーキンソン病の解明などを行った。また、高血圧症の原因遺伝子の線虫ホモログ WNK-1 が線虫の水分調節器官の形態を制御すること、アルツハイマー病の原因遺伝子 APP の線虫ホモログ APL-1 が、神経軸索から細胞体へと逆行輸送されるためには、モータータンパク質キネシンとダイニン、及びアダプタータンパク質 JIP3 が必要であることを示した(図 3-9)。



図 3-9 線虫をモデルとしたヒト疾患遺伝子の解析

(iii) シグナル伝達機構における LRRK1 のキナーゼ活性制御機構を解明し、LRRK1 が活性化した EGFR と複合体を形成することで、EGFR の細胞内トラフィック(早期エンドソームから後期エンドソームへの移行)を制御していることを明らかにし、メンブレントラフィックに重要な役割をはたしていることを示した³⁾。また、LRRK1 は M 期中心体の成熟や、スピンドル配向、スピンドルチェックポイント、細胞質分裂などに重要な役割を果たしていることが判った。

(iv) アフリカツメガエル初期胚を用いて、初期発生時の細胞運命決定におけるシグナル伝達機構を解明し、Ras-MAP キナーゼ経路のネガティブフィードバック因子 Sprouty が、MAP キナーゼの活性化時間をコントロールすることで中胚葉背腹軸形成に機能していることを明らかにした⁴⁾。

②社会・経済的波及効果

線虫における病態ホモログ遺伝子の病態研究はパーキンソン病やアルツハイマーなどの遺伝子疾患の治療法の開発につながる研究である。線虫における神経軸索再生の仕組みやアルツハイマー病のモデルは一般の関心が高く、テレビ(NHK など)、新聞などへの話題提供の回数も多く、原因遺伝子の細胞内移動の研究は日経産業新聞(2011年2月9日)に、神経軸索再生の制御機構に関する研究は日経産業新聞(2012年3月8日)に掲載され、読者に注目された。

③上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト

1) Li C, Hisamoto N, Nix P, Kanao S, Mizuno T, Bastiani M, Matsumoto K, “The growth factor SVH-1 regulates axon regeneration in *C. elegans* via the JNK MAPK cascade.”, *Nature Neurosci*, 15, 551-557 (2012)

2) Pastuhov S, Fujiki, K, Nix P, Kanao S, Bastiani M, **Matsumoto K (corresponding author)**, Hisamoto H, “Enocannabinoid- $G\alpha$ signalling inhibits axon regeneration by antagonizing the $Gq\alpha$ -PKC-JNK cascade in *C. elegans*.”, *Nature Commun*, 3, e1136 (2012)

3) Hanafusa H, Ishikawa K, Kedashiro S, Saigo T, Iemura S, Natsume T, Komada M, Shibuya H, Nara A, Matsumoto K, “Leucine-rich repeat kinase LRRK1 regulates endosomal trafficking of the EGF receptor.”, *Nature Commun*, 2, e158 (2011).

4) Hanafusa H, Matsumoto K (**corresponding author**), Nishida E, “Regulation of ERK activity duration by Sprouty contributes to dorsoventral patterning.”, *Nature Cell Biol*, 11, 106-109 (2009).

④その他

松本は名古屋大学 GCOE 「システム生命科学の展開：生命機能の設計」のメンバーの一人であり人材育成の一翼を担っている。

3.2 2001年度採択課題

3.2.1 脂肪細胞の分化・形質転換とその制御(門脇 孝)

(1)研究のねらいと研究期間中の達成状況

①研究のねらい

我が国の第一の死因である心血管疾患の最大の原因であるメタボリックシンドロームの根本的な病態は肥満で認められる脂肪細胞の肥大である。脂肪細胞が自分自身の分化を制御するそのホルモンの一種であるアディポネクチン分泌とその制御機構の解明を目指した。

②期間中の研究成果

(i) 脂肪細胞形質転換の鍵分子であるアディポネクチンとの特異的結合を指標に、2種類のアディポネクチンの受容体 (AdipoR1 と AdipoR2) を世界で初めて単離・同定することに成功した¹⁾。

(ii) AdipoR1/AdipoR2 欠損マウスがインスリン抵抗性と糖代謝異常をきたすこと、アディポネクチンの結合が消失し、AMP キナーゼ活性化と血糖低下作用も消失することを示し、AdipoR1 と AdipoR2 が個体レベルでもアディポネクチンの主要な受容体であることを証明した²⁾。

(iii) アディポネクチンが中枢における摂食やエネルギー消費の調節因子であることを発見し、個体の脂肪量減少時にはアディポネクチンが増加してエネルギー消費を減少させ、脂肪量を一定に保つという、脂肪細胞と中枢のクロストークによる新しいホメオスタシスの分子機構を提唱した³⁾。

さらに、アディポネクチンや AdipoR を増加あるいは活性化する化合物・天然分子を見出し、これらがメタボリックシンドロームの根本的治療法となることを示した。

これらの発見から、この受容体および関連分子はゲノム創薬の対象としても注目され、肥満・糖尿病・高血圧・動脈硬化などの現代的疾患の発症機序や治療法の開発の基礎となるものとして、世界から注目されている。

③研究成果に関連した主な成果論文

1) Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S, Sugiyama T, Miyagishi K, Tsunoda M, Murakami K, Ohteki T, Uchida S, Waki H, Tsuno NH, Shibata Y, Terauchi Y, Froguel P, Tobe K, Koyasu S, Taira K, Kitamura T, Shimizu T, Nagai R, Kadowaki T, "Molecular cloning of adiponectin / Acrp30 receptors that mediate antidiabetic metabolic effects", *Nature*, 423, 762-769 (2003)

2) Yamauchi T, Nio Y, Maki T, Kobayashi M, Takazawa T, Iwabu M, Okada-Iwabu M, Kawamoto S, Kubota N, Kubota T, Ito Y, Kamon J, Tsuchida A, Kumagai K, Kozono H, Hada Y, Ogata H, Tokuyama K, Tsunoda M, Ide T, Murakami K, Awazawa M,

Takamoto I, Froguel P, Hara K, Tobe K, Nagai R, Ueki K, Kadowaki T, “Targeted disruption of AdipoR1 and AdipoR2 causes abrogation of adiponectin binding and metabolic actions.”, *Nature Medicine*, 13, 332-339(2007)

3) Kubota N, Yano W, Kubota T, Yamauchi T, Itoh S, Kumagai H, Kozono H, Takamoto I, Okamoto S, Shiuchi T, Suzuki R, Satoh H, Tsuchida A, Moroi M, Sugi K, Noda T, Ebinuma H, Ueta Y, Kondo T, Araki E, Ezaki O, Nagai R, Tobe K, Terauchi Y, Ueki K, Minokoshi Y, Kadowaki T, “Adiponectin stimulates AMP-activated protein kinase in the hypothalamus and increases food intake.”, *Cell Metab.*, 6, 55-68 (2007)

(2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域の期間中から、厚生労働科学研究費補助金、厚生科学基盤研究分野(基礎研究成果の臨床応用推進研究)「アディポネクチンを標的にした糖尿病・メタボリック症候群の新規診断法・治療法の臨床応用」(2005-2007年度)、科研費基盤研究(A)「アディポネクチン受容体の生理・病態生理的意義の解明と生活習慣病治療の分子標的同定」(2006-2007年度)、本研究領域終了後に、厚生労働科研費(疾病・障害対策研究分野 循環器疾患等生活習慣病対策総合研究)「保健指導への活用を前提としたメタボリックシンドロームの診断・管理のエビデンス創出のための横断・縦断研究」(2007-2009年度)、科研費基盤研究(S)「代謝制御機構の統合的理解とその破綻」(2008-2012)、厚生労働科研費(疾病・障害対策研究分野 循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究)「特定健診・保健指導におけるメタボリックシンドロームの診断・管理のエビデンス創出に関する横断・縦断研究」(2010-2011年度)、厚生労働科研費(厚生科学基盤研究分野、創薬基盤推進研究(創薬バイオマーカー探索研究)「糖尿病の新規バイオマーカーに基づく診断法とタンパク質構造解析に立脚した新規治療法の開発」(2011-2013年度)などの競争的研究資金を得て、Ad 受容体(AdipoR)欠損マウスとインスリン受容体基質(IRS)欠損マウスを用い、中枢・末梢の各組織及び全身における Ad とインスリン(Ins)作用の全容解明の研究を続けている。

① 科学技術の進歩への貢献

(i) 全身の IRS あるいは AdipoR 欠損マウスに加え、血管内皮細胞など組織特異的 IRS・AdipoR 欠損マウスを作製し、骨格筋における AdipoR1 経路がミトコンドリアの数と機能に重要であることを明らかにした。さらに、骨格筋において、アディポネクチン/AdipoR1 がカルシウムシグナル、AMP 活性化プロテインキナーゼ(AMPK)、長寿遺伝子 SIRT1 を介し、転写調節遺伝補助因子 PGC-1 α やミトコンドリア機能を制御し、運動と同じような効果を示すことを明らかにした¹⁾。このことは、現在ヒトの糖尿病・インスリン抵抗性の原因と考えられている骨格筋ミトコンドリア数と機能の低下が、肥満に伴う脂肪細胞からの Ad の分泌低下、すなわち脂肪組織と骨格筋の間でのクロストークによって引き起こされているということを示している。

(ii) IRS あるいは AdipoR 各組織特異的欠損マウスにおいて、それぞれの組織における糖・脂質・エネルギー代謝や動脈硬化に関する表現型を解析し、特に血管内皮における AdipoR2 が抗動脈硬化作用を有すること、また、血管内皮における IRS-2 がインスリンの

骨格筋への移行に重要な役割を果たすことを明らかにした²⁾。また、これまでに作製完了した炎症・酸化ストレス・虚血・小胞体ストレス応答性発光インジケーターマウスを用いて個体レベルで生きたまま組織の細胞内ストレスの解析を始めている。

(iii) IRS-1/2 のシグナリング経路の解明³⁾と肥満との関連、Ad が IL-6 を介して STAT3 を活性化することにより抗糖尿病作用を発揮することなどを見出した⁴⁾。臨床研究で海外の研究者とも連携し、民族による糖尿病患者の遺伝学性質などについても比較研究を行なっている。

②社会・経済的波及効果

本研究を通して、アディポネクチンがさまざまな受容体を介して脂肪代謝に影響を与える知見やヒトの糖尿病・インスリン抵抗性の原因と考えられている骨格筋ミトコンドリア数と機能の低下が、肥満に伴う脂肪細胞からの Ad の分泌低下、すなわち脂肪組織と骨格筋の間でのクロストークによって引き起こされているという知見は、肥満の治療、糖尿病の治療のためのストラテジーに新たな視点を加えた。AdipoR2 が抗動脈硬化作用を示すという知見はこの分子の活性部位の同定により合成抗動脈硬化薬の開発に道を開くものであり、画期的な抗動脈硬化薬の開発につながる成果である。門脇らはアディポネクチン活性を持つ植物ペプチド「オスモチン」をはじめとする天然物質を生活習慣病予防・改善のための機能性食品の開発にも着手している。さらに、AdipoR 活性化能を有する低分子化合物の開発にも着手している。

門脇の 2 型糖尿病患者では、アディポネクチンの効果や量が落ちることで、血糖値を下げるインスリンの働きが悪くなっているという研究は、アディポネクチンの働きを促進する化合物が見つかれば、新たな経口糖尿病治療薬の開発につながるとされ、日本経済新聞(2010 年 4 月 1 日)などに報道された。現在、このような新たな経口糖尿病治療薬となりうる低分子化合物の開発に取り組んでいる。

門脇は本研究領域期間中の研究で国内特許 11 件、国際特許 18 件を出願しており、国内で 7 件、国際特許 15 件を登録している。本研究領域終了後の研究では国内特許 8 件と国際特許 9 件を出願しており、国内で 1 件、国際特許 26 件を登録している(登録特許の詳細は表 2-4 参照)。

③上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト

1) Iwabu M, Yamauchi T, Okada-Iwabu M, Sato K, Nakagawa T, Funata M, Yamaguchi M, Namiki S, Nakayama R, Tabata M, Ogata H, Kubota N, Takamoto I, Hayashi YK, Yamauchi N, Waki H, Fukayama M, Nishino I, Tokuyama K, Ueki K, Oike Y, Ishii S, Hirose K, Shimizu T, Touhara K, Kadowaki T, "Adiponectin and AdipoR1 regulate PGC-1alpha and mitochondria by Ca(2+) and AMPK/SIRT1.", *Nature*, 464, 1313-1319 (2010)

2) Kubota T, Kubota N, Kumagai H, Yamaguchi S, Kozono H, Takahashi T, Inoue M, Itoh S, Takamoto I, Sasako T, Kumagai K, Kawai T, Hashimoto S, Kobayashi T, Sato M, Tokuyama K, Nishimura S, Tsunoda M, Ide T, Murakami K, Yamazaki T, Ezaki O, Kawamura K, Masuda H, Moroi M, Sugi K, Oike Y, Shimokawa H, Yanagihara N,

Tsutsui M, Terauchi Y, Tobe K, Nagai R, Kamata K, Inoue K, Kodama T, Ueki K, Kadowaki T, “Impaired insulin signaling in the endothelial cells reduces insulin-induced glucose uptake by the skeletal muscle.”, *Cell Metabolism*, 13, 294-307 (2011)

3) Kubota N, Kubota T, Itoh S, Kumagai H, Kozono H, Takamoto I, Mineyama T, Ogata H, Tokuyama K, Ohsugi M, Sasako T, Moroi M, Sugi K, Kakuta S, Iwakura Y, Noda T, Ohnishi S, Nagai R, Tobe K, Terauchi Y, Ueki K, Kadowaki T, “Dynamic functional relay between insulin receptor substrate-1 and -2 in hepatic insulin signaling during fasting and feeding.”, *Cell Metabolism*, 8, 49-64 (2008)

4) Awazawa M, Ueki K, Inabe K, Yamauchi T, Kubota N, Kaneko K, Kobayashi M, Iwane A, Sasako T, Ohsugi M, Takamoto I, Yamashita S, Asahara H, Akira S, Kasuga M, Kadowaki T, “Adiponectin enhances insulin sensitivity by increasing hepatic IRS-2 expression via macrophage-derived IL-6 dependent pathway.”, *Cell Metabolism*, 13, 401-412 (2011)

④その他

上記成果が糖尿病治療の新しい治療法開発に寄与する道を開いたことにより、門脇は紫綬褒章(2010年)を受章している。また、武田医学賞(2011年)、上原賞(2007年)、日本医師会医学賞(2007年)、日本内分泌学会賞(2012年)などを受賞している。また、臨床医として糖尿病学会の理事長(2008年-)を務め、糖尿病治療のアクションプラン策定など、糖尿病治療のリーダーとして貢献している。糖尿病専門家としてこれまでの研究成果や糖尿病の臨床について新聞、テレビにおいてコメントをすることも非常に多い。Cell Metabolism、Molecular Metabolismなどの一流国際専門誌の編集委員を務めている。

3.2.2 嗅覚系における神経回路形成と再生の分子機構(坂野 仁)

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

①研究のねらい

高等動物の嗅覚系では約1,000種類の匂いセンサー(嗅覚受容体)を用いて数十万種類の匂い分子の情報を識別している。この識別を司る神経回路の形成は、1嗅覚受容体遺伝子-1神経-1投射部位という基本ルールによって支えられている。本研究では、嗅覚受容体遺伝子の選択的な発現を支える分子機構と発現される受容体に規定されて生じる神経回路形成の分子機序の解明を目指した。

②期間中の研究成果

(i) 嗅覚系は、嗅上皮に約1,000万個存在する嗅神経細胞は、発現する匂い受容体の種類に従って、その軸索を嗅球上に1,000対ある投射先(糸球)の特定の一つに収斂させる。こうして1,000画素からなるデジタル画面に匂い情報が画像として映し出され、これをもとに脳が複雑な匂いを識別すると考えられている。この糸球地図の形成を支えるのが、嗅覚受容体(odorant receptor: OR)の種類に基づいて生じる軸索の選別と投射位置の決定である。本研究では cAMP が嗅細胞軸索の投射と選別に極めて重要な役割を果たしていることが実験的に証明された。特に嗅球の前後軸の投射に際して、嗅覚受容体の種類に連動したcAMPの量が投射位置決定のパラメーターになっている事が示された¹⁾。

(ii) 複雑な匂い情報を二次元画像に展開して映し出す為のスクリーン、即ち糸球地図がどの様にして形成されるのかはこれ迄大きな謎であった。ここでは、発現される嗅覚受容体の種類によって決まる嗅細胞の神経個性が、複数の軸索投射制御分子と接着及び反発分子の組み合わせとして、軸索末端に分子コード化されていることを示した。この“neuronal identity code”によって嗅細胞軸索の嗅球上での大まかな投射位置が決定され、更に神経活動に依存して軸索の選別が生じ、一千個の糸球からなるデジタルマップが完成する事が判明した。このことにより、嗅覚受容体自身が投射番地を嗅ぎ分け同種の軸索の選別にも接着分子として直接関与するという、これ迄多くの研究者が考えていたモデルを書きかえられることとなった²⁾。

(iii) 天敵の匂いに対する恐怖反応や腐敗臭に対する忌避行動等、個体の生存の為に重要な嗅覚行動は、先天的神経回路として遺伝的にプログラムされていることが明らかにされた。更に、本能回路と学習回路は情報の入力の時点、即ち一次投射のレベルで既に独立している事を判明した。この研究は、高等動物の感覚受容と行動及び情動判断を司る神経回路の基本構造に光を当てるものとして注目を集め、ネコを恐れないネズミとして国内外のメディアで広く報じられた³⁾。

本研究で得られた成果によって、神経細胞分化・神経回路形成の基本的理解が大きく進むと同時に、生体の持つ鋭敏なセンシングシステムの新しい技術への応用、嗅覚及び味覚障害の治療への応用などが期待される。

③研究成果に関連した主な成果論文

1) Imai T, Suzuki M, Sakano H, “Odorant receptor-derived cAMP signals direct axonal targeting”, *Science*, 314, 657-661 (2006).

2) Serizawa S, Miyamichi K, Takeuchi H, Yamagishi Y, Suzuki M, Sakano H, ” A neuronal identity code for the odorant receptor-specific and activity-dependent axon sorting.”, *Cell*, 127, 1057-1069 (2006).

3) Kobayakawa K, Kobayakawa R, Matsumoto H, Oka Y, Imai T, Ikawa M, Okabe M, Ikeda T, Itohara S, Kikusui T, Mori K, Sakano H, “Innate versus learned odor processing in the mouse olfactory bulb.”, *Nature*, 450, 503-508 (2007).

(2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域の終了後に、科研費(特別推進研究)「軸索末端に分子コード化される神経個性」(2007-2011年度)、科研費(基盤研究(A))「匂い情報識別の分子機構」(2007年度)、科研費(特別推進研究)「マウス嗅覚系を用いて遺伝子-神経回路-行動のリンクを解く」(2012-2016年度)などの競争的研究資金を得て研究を続けている。

①科学技術の進歩への貢献

(i) 神経投射の詳細の解明を進展させ、Neuropilin-1の量が軸索の投射位置を決定することを見出した。一方、嗅球の背腹軸に沿った投射位置の決定については、嗅神経細胞の嗅上皮における位置情報がパラメーターとしてはたらく、Neuropilin-2を介して間接的に、OR分子の種類と背腹軸に沿った投射位置が関連付けられていることを解明した¹⁾(図3-10)。

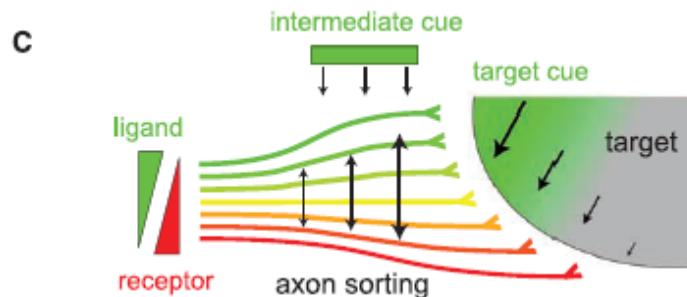


図3-10 Neuropilin-1の量と投射位置の決定機序

(ii) 発生の過程で、軸索の投射が嗅球の腹側よりも背側で早く始まることに着目し、先に投射する背側の軸索が、遅れて投射してくる腹側の軸索の為に指標分子をターゲットである嗅球に運び込むことを見出した(図3-11)。これは、「軸索投射のための指標分子はターゲットで予め発現される」というこれまでの常識を覆す、神経マップ形成の新たなストラテジーの発見である²⁾。

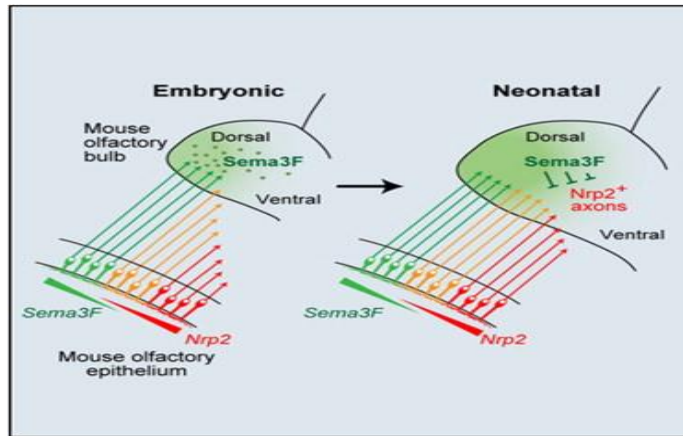


図 3-11 嗅球の背側に先に指標分子を運ぶ

(iii) 匂いの信号は僧帽細胞と房飾細胞を介して嗅球に運ばれる。マウスを用いた森憲作グループ(東大・医)との共同研究により、飾房細胞は広い範囲の濃度の匂いに反応したのに対し、僧帽細胞は強い信号のみに反応する事が明らかとなった。さらに、房飾細胞は嗅球の背側に投射するのに対し、僧帽細胞は広範に分布することがわかり、それぞれ異なった匂い信号が運ばれることが判明した³⁾。

(iv) 研究の方向は更に、匂いの感知とその神経回路の形成の視点から嗅覚情報が行動に及ぼす影響へと移行し、本研究領域期間中に行なったネコを恐れないネズミの行動の神経発生学的研究などに加え、その後、東原和成グループ(東大・農)との共同研究により、マウスのオスの涙から分泌される ESP-1 がメスの鋤鼻器官の受容体 V2Rp5 を介してオスの交尾行動を受け入れる重要なフェロモンであることなど行動と嗅神経回路との関係を明らかにした⁴⁾。

②社会・経済的波及効果

ネコを恐れないネズミの変異体を用いた研究は遺伝的にプログラムされている行動と記憶に基づく学習による行動とが異なる神経回路に依存し、それぞれ独立に支配されていることが明瞭に示され、各国のテレビや雑誌などで話題になった。嗅覚障害は2次的なものも含め、比較的多く発症するが、原因のはっきりしないものが多い。この研究で得られた成果は、遺伝的なものも含め、病因解明の手がかりを提供する研究と思われる今後の応用が期待される。嗅覚神経回路の形成機構についての数々の発見は「東大、脳神経回路形成の機構、マウスの嗅覚系で発見、高次機能解明に道」の見出しで、日経産業新聞、読売新聞および朝日新聞に掲載された(2010年6月15日、6月25日)。

③上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト

1) Imai T, Yamazaki T, Kobayakawa R, Kobayakawa K, Abe T, Suzuki M, Sakano H, "Pre-Target axon sorting establishes the neural map topography", *Science*, 325, 585-590 (2009).

2) Takeuchi H, Inokuchi K, Aoki M, Suto F, Tsuboi A, Matsuda I, Suzuki M, Aiba A, Serizawa S, Yoshihara Y, Fujisawa H, Sakano H, “Sequential arrival and graded secretion of Sema3F by olfactory neuron axons specify map topography at the bulb”, *Cell*, 141, 1056-1067(2010)

3) Igarashi KM, Ieki N, An M, Yamaguchi Y, Nagayama S, Kobayakawa K, Kobayakawa R, Tanifuji M, Sakano H, Chen WR, Mori K, “Parallel mitral and tufted cell pathways route distinct odor information to different targets in the olfactory cortex”, *Journal of Neuroscience*, 32, 7970-7985 (2012)

4) Haga S, Hattori T, Sato T, Sato K, Matsuda S, Kobayakawa R, Sakano H, Yoshihara Y, Kikusui T, Touhara K, “The male mouse pheromone ESP1 enhances female sexual receptive behaviour through a specific vomeronasal receptor”, *Nature*, 466, 118-122 (2010)

④その他

本研究領域期間中に大学院生であった岡雄一郎は福井大学特任講師、竹内春樹は東京大学特任助教、小早川高と小早川令子は大阪バイオサイエンス研究所研究員及び部長、今井猛は理化学研究所発生・再生科学総合研究センターチームリーダー、宮道和成はスタンフォード大学研究員などの職を得ている。

3.2.3 特異的・新規発生遺伝子の機能の網羅的解析(佐藤 矩行)

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

①研究のねらい

動物の体は数多くの遺伝子の働きによって作られるが、この過程は複雑で、体づくりに関わる遺伝子とその機能は解明されていない。無脊椎動物と脊椎動物の進化分岐点に近いホヤは卵割の始めから成体までの細胞分裂パターンと細胞運命が完璧に理解されている発生学の古典的モデル生物であるが、遺伝学応用は困難であった。そこで、ホヤの新規発生遺伝子の機能を網羅的に解析することを目指した。

②期間中の研究成果

(i) 2002年に解読されたカタユウレイボヤのゲノムのドラフト配列を完全なものとするために、170個のBACクローンを二色FISH法を用いて14対の染色体にマップし、約65%のゲノム塩基配列情報を染色体にマップした。これは、発生遺伝子の発現制御機構を解析するための重要な基礎情報となった¹⁾。

(ii) 解読されたゲノムを利用し、ホヤの発生においては受精後の最初の7回の卵割の間に各胚細胞の発生運命の限定が生じる過程で、サイゴティックに発現する転写因子およびシグナル分子をコードする遺伝子が76あることが判った。それらの遺伝子の機能の一つ一つ阻害し、残りの75個の遺伝子にどのような影響がでるかを調べることによって、これらの遺伝子が3,000以上の要素からなるネットワークを形成しつつ、脊索動物基本体制の設計図を描いていることが明らかにした²⁾。

(iii) カタユウレイボヤ・ゲノムとヒトゲノムに相同な遺伝子で、その機能が不明な遺伝子504個につき、アンチセンス・モルフォリノ・オリゴ(MO)を使って機能阻害実験を行い、111個の遺伝子で機能阻害による明確な形態異常が認められた。それらは異常が起こる器官や組織などによって幾つかのグループに分類された。また、未知機能の興味ある新規遺伝子も発見された³⁾。

本研究は、日本を主力とする国際協力でゲノムの完全解明を完了したことにより、細胞分化を細胞系譜との関連で精密に解析できるばかりでなく、進化の過程で脊椎と無脊椎動物の分岐過程でどのようなゲノム変化があったかも明らかにした。これらの知見はすぐに医療応用に結びつくものではないが、生物の発生分化再生と進化の関連を明らかにする重要な貢献である。

③ 研究成果に関連した主な成果論文

1) Shoguchi, E, Kawashima, T, Satou, Y, Hamaguchi, M, Sin-i, T, Kohara, Y, Putnam, N, Rokhsar, D S and Satoh, N: "Chromosomal mapping of 170 BAC clones in the ascidian *Ciona intestinalis*", *Genome Research*, 16, 297-303 (2006)

2) Imai, KS, Levine M, Satoh N, Satou, Y. “Regulatory blueprint for a chordate Embryo”, *Science*, 312, 1183-1187 (2006)

3) Hamada M, Wada S, Kobayashi K, Satoh N, “Novel genes involved in *Ciona intestinalis* embryogenesis: Characterization of gene knockdown embryos”, *Developmental Dynamics*, 236, 1820-1831 (2007)

(2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域の終了後も期間中に得た成果を更に発展させ、ホヤの特異的・新規発生遺伝子の機能の網羅的解析を進めている。また期間中から、科研費特定領域研究「脊椎動物起源の研究」(2005-2010年度)を受けてナメクジウオのゲノムを解読し、また終了後には科研費基盤研究(A)「ホヤ胚中枢神経系形成の全遺伝子ネットワーク」(2008-2010年度)、同基盤研究(A)「サンゴと褐虫藻の共生関係のゲノム科学的解析」(2012-2014年度)などの競争的研究資金により研究を続けている。2009年から沖縄科学技術大学院大学・マリンゲノミクスユニットの教授に就任し、自身はホヤを材料に神経系の発達の研究を進めると同時に、ユニットの研究としてサンゴのゲノム解読やアコヤガイのゲノムを解読も進めている。

① 科学技術の進歩への貢献

(i) 期間中に170個のBACクローンを二色FISH法を用いて14対の染色体にマップし、約65%のゲノム塩基配列情報を染色体にマップしたが、さらにこの研究を進め、ホヤの発生に関わる転写因子遺伝子、シグナル分子遺伝子の約95%を染色体にマップした。これにより、今後の発生遺伝子の発現制御機構を染色体およびゲノムワイドに解析することが可能になった¹⁾。このように、ホヤはこれからの発生ゲノム科学研究に格好の実験システムを提供する。これに関して多くの啓蒙活動を行っている²⁾。

(ii) ホヤ胚中枢神経系の発生に関わる全遺伝子ネットワークを解明するため、まずホヤ胚中枢神経系の細胞系譜のできるだけ完全な記載をめざし、中枢神経系を蛍光タンパク質により可視化し、ホヤ幼生の全神経系の細胞、コリン作動性神経、GABA/Glycine作動性神経、グルタミン酸作動性神経、ドーパミン作動性神経、上衣細胞、視細胞を調べた。コリン作動性神経、GABA/Glycine作動性神経、グルタミン酸作動性神経、ドーパミン作動性神経についても、マーカーにより検討した。その結果、神経系で発現する6個の新規遺伝子を含む11個の神経ペプチドおよびホルモンをコードする遺伝子を同定することができ、少なくとも5つの領域が存在することが判った³⁾。

(iii) ホヤは幼生から成体への変態過程で、幼生の中枢神経系が完全に失われるのか、または幼生の中枢神経系をもとにして成体の中枢神経系を構築するかはホヤの神経系を理解する上で重要な課題であった。幼生の全神経系の細胞、コリン作動性神経、GABA/Glycine作動性神経、グルタミン酸作動性神経のそれぞれの細胞群においてKaede蛍光タンパク質を発現させるシステムを利用して、ホヤの変態過程におけるこれらの細胞の追跡により、幼生の中枢神経系の細胞は基本的に残って成体の中枢神経系を構築すること、一方、幼生のニュー

ーロンの大多数は変態過程でアポトーシスを起こして失われること、成体のニューロンは幼生のグリア細胞(上衣細胞)が分化転換して生じることが明らかとなった⁴⁾。

(iv) 本研究を発展させ、まずナメクジウオのゲノムを解読した⁵⁾。そしてナメクジウオ、ホヤ、ウニ、脊椎動物のゲノム比較から、1,035 の遺伝子がコードするタンパク質の比較をもとに分子系統学的解析を行い、脊索動物の中では先ずは頭索類が分岐し、次に尾索類と脊椎動物が進化したという、脊索動物の進化系統樹を示した(図 3-12)。これにより、脊索動物の起源と進化についてのほぼ最終的な結論が得られ、これらをもとに脊索動物の起源と進化を説明する「aboral-dorsalization 仮説」を提唱した⁶⁾。



図 3-12 脊索動物の起源と進化についての新しい考え方

(v) サンゴの一種コユビミドリイシのゲノム 42 億塩基の配列を解読し、少なくとも 23,700 個のタンパク質をコードする遺伝子が存在することを明にした。サンゴは褐虫藻との共生関係により生きているが、このサンゴにはアミノの一種システインの合成酵素遺伝子を欠いており、システインを褐虫藻から得ているものと思われる。1998 年にミドリイシの大量死滅が起こったが、ストレスによる褐虫藻のサンゴからの離脱により褐虫藻からのシステイン供給の欠如がドリイシの大量死滅に繋がったのではないかと推測された⁷⁾。

(vi) アコヤガイのゲノム、11.5 億塩基の配列を解読し、少なくとも 23,000 個のタンパク質をコードする遺伝子が存在すること、約 10% がトランスポゾンやマイクロサテライトなどの特徴的な繰り返し配列であることを明らかにした⁸⁾。

②社会・経済的波及効果

本研究は基礎研究であるが、サイエンスの成果として、ホヤの神経遺伝子ネットワーク解明は神経分化のメカニズムを明らかにする重要な研究である。また、サンゴやアコヤガイの遺伝子解明は、サンゴとして世界で初めてのものであり、またアコヤガイが属する軟体動物に関するゲノム論文として世界で初めてのものであった。サンゴのゲノム解読は NHK ニュースを初めとして多くのメディアで報道された。また、アコヤガイのゲノムに存在するトランスポゾンやマイクロサテライトの、特徴的繰り返し配列は「DNA マーカー」として利用することができ、養殖貝の品質管理・親子判別・品質改良など水産業の現場で

大変有用な情報となり、我が国の重要な水産資源として真珠の生産に必須の2枚貝アコヤガイの純国産系統の保護に役立つと独立行政法人沖縄科学技術研究基盤整備機構(OIST)からプレスリリースされ、琉球新報(2012年2月9日朝刊)などに掲載された。

佐藤は本研究領域期間中の研究で国内特許8件、国際特許1件を出願しているが、国内で2件、国際特許1件を登録している(登録特許の詳細は表2-4参照)。

③上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト

1)Shoguchi, E., Hamaguchi, M. and Satoh, N.: Genome-wide network of regulatory genes for construction of a chordate embryo. *Dev. Biol.* 316, 498-509 (2008).

2)Satoh, N. *Ciona*: a Model of Developmental Genomics. *Encyclopedia Life Science* A21411(2012).

3) Hamada M, Shimozone N, Ohta N, Satou Y, Horie T, Kawada T, Satake H, Sasakura Y, Satoh N, “Expression of neuropeptide- and hormone-encoding genes in the *Ciona intestinalis* larval brain”, *Dev Biol*, 352, 202-214(2011)

4) Horie T, Shinki R, Ogura Y, Kusakabe TG, Satoh N, Sasakura Y, “Ependymal cells of chordate larvae are stem-like cells that form the adult nervous system.”, *Nature*, 469, 525-528(2011)

5) Putnam, N. H., Butts, T., Ferrier, D. E., ----- Satoh, N. and Rokhsar, D. S. The amphioxus genome and the evolution of the chordate karyotype. *Nature* 453, 1064-1071 (2008).

6) Satoh N, “An aboral-dorsalization hypothesis for chordate origin” , *Genesis*, 46, 614–622 (2008).

7) Shinzato, C., Shoguchi, E., Kawashima, T., Hamada, M., Hisata, K., Tanaka, M., Fujie, M., Fujiwara, M., Koyanagi, R., Ikuta, T., Fujiyama, A., Miller, D. J. and Satoh, N. Using the *Acropora digitifera* genome to understand coral responses to environmental change. *Nature* 476, 320-323 (2011)

8) Takeuchi T, Kawashima T, Koyanagi R, Gyoja F, Tanaka M, Ikuta T, Shoguchi E, Fujiwara M, Shinzato C, Hisata K, Fujie M, Usami T, Nagai K, Maeyama K, Okamoto K, Aoki H, Ishikawa T, Masaoka T, Fujiwara A, Endo K, Endo H, Nagasawa H, Kinoshita S, Asakawa S, Watabe S, Satoh N, “Draft genome of the pearl oyster *Pinctada fucata*: a platform for understanding bivalve biology”, *DNA Res* 19,117-130 (2012).

④その他

佐藤は発生生物学の古典的研究材料であったホヤの研究に、近代的な分子生物学の技術を導入して発生に関わる新たな遺伝子を発見したとして、2010年の米発生生物学会の「エドウィン・グラント・コンクリンメダル」を受賞した。

本研究領域期間中、佐藤研究室の日本学術振興会特別研究員 PD であった笹倉靖徳は筑波大学に就職し、現在、同大学院生命環境科学研究科 准教授に昇進するなど、多くの大学院生を指導し、研究者の育成に貢献している。また、佐藤は2009年に OIST マリングェノミックスユニット研究代表者に異動してからも、多くの研究者の育成に貢献している。

3.2.4 網膜内領域特異化と視神経の発生・再生機構(野田 昌晴)

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

① 研究のねらい

神経回路網形成の解析モデルのひとつの重要な実験系として、網膜神経節から伸長する視神経は視中枢に対し領域特異的な投射神経回路があげられる。この領域特異的神経結合形成の基盤をなす発生過程における網膜内の領域特異化の分子機構と、その後生じる領域特異的神経投射の分子機構の解明を目指した。

② 期間中の研究成果

(i) 発生期ニワトリ網膜において、前後軸、背腹軸方向に勾配的あるいは領域特異的に発現する分子を網羅的にスクリーニングし、約50余りの分子を同定した。また、その中に両軸に対して領域特異性を有するいくつかの分子を同定した¹⁾。

(ii) ニワトリ網膜の発生過程で、背腹軸は、E2において最初BMP4(背側)とVentreoptin(腹側)の競合によって決定された後、E6においてBMP4からBMP2へのスイッチが起こり、それとともにDV軸は後方へ約30度傾斜することが明らかになった。また、従来のD-V軸方向のトポグラフィック分子は全てBMP2の制御を受けておりE6から新しい背腹軸方向の発現に変わること、*ephrinA2*もBMP2制御下にありこの新しい背腹軸方向のトポグラフィック分子であることが判明した。発生期の網膜においてこれらの分子の発現を変化させると、視神経の投射は前後軸、腹軸両軸方向に変化することを示した²⁾。

(iii) 視神経の視中枢への領域特異的投射には、*EphA/ephrin-A*(前後軸方向)、*EphB/ephrin-B*(背腹軸方向)の受容体/リガンド系によるシグナル伝達関わっている。我々は、受容体型プロテインチロシンホスファターゼ(RPTP)の1つ、*Ptpro*が、*EphA*, *B*の両者を基質としており、*ephrin*による*Eph*の活性化を抑制する役割を担っていることを見出した³⁾。

これらの知見は将来の神経再生医療を正確な神経回路の再構築にまで進めるために重要なものである。

③研究成果に関連した主な成果論文

1) Shintani T, Kato A, Yuasa-Kawada J, Sakuta H, Takahashi M, Suzuki R, Ohkawara T, Takahashi H, Noda M, “Large-scale identification and characterization of genes with asymmetric expression patterns in the developing chick retina”, *Journal of Neurobiology*, 59, 34-47 (2004)

2) Sakuta H, Takahashi H, Shintani T, Etani K, Aoshima A, Noda M, “Role of bone morphogenic protein 2 in retinal patterning and retinotectal projection”, *J Neurosci*, 26, 10868-10878 (2006)

3) Shintani T, Ihara M, Sakuta H, Takahashi H, Watakabe I, Noda M, “Eph receptors are negatively controlled by protein tyrosine phosphatase receptor type O”, *Nature Neurosci*, 9, 761-769 (2006)

(2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域の期間中から、科研費基盤研究(A)「遺伝子変換マウスを用いた個体薬理・生理学研究」(2004-2007年度)、科研費特定領域研究「体液塩濃度恒常性制御の脳内機構」(2005-2009年度)、本研究領域終了後に、科研費学術創成研究費「体液恒常性制御の脳内機構」(2007-2011年度)、科研費基盤研究(S)「体液恒常性を司る脳内機構の研究」(2012-2016年度)、A-STEP 本格研究開発、ライフイノベーション「チロシンホスファターゼを標的分子とする脱髄疾患及び神経膠腫に対する新薬候補化合物の創出」(2012-2015年度)などの競争的研究資金で研究を発展させ、研究の対象をニワトリ網膜-脳からマウス網膜-脳に移して、ニワトリとの比較研究をしている。また、Na イオンセンサーおよび Ptprz についても研究を発展させている。

① 科学技術の進歩への貢献

(i) マウスで約 15 種類あるとされる網膜神経節細胞が発生・分化する機構の解明を目指し、マウス網膜において背耳側で強く発現している分泌因子 SPIG1 を同定した。副視覚系は、SPIG1 陽性細胞と SPIG1 陰性細胞から構成され、それぞれ上向きと下向きの光の動きに反応することを証明した。これらの2つのサブタイプは共に内側核へ投射するが、マウスの方向選択性神経節細胞を可視化することに成功し¹⁾(図 3-13)、その経路が異なっているということを明らかにした。さらに、この方向選択性が網膜神経節細胞への抑制性ニューロンの方向選択的入力によることを明らかにした²⁾。

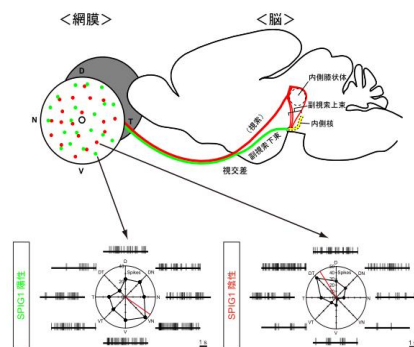


図 3-13 副視覚系を構成する網膜神経節細胞の方向反応性

SPIG1 陽性(GFP 陽性)の神経節細胞は網膜において光が下方向に動いたときに発火頻度が増加し、SPIG1 陰性(GFP 陰性)の細胞は上方向に動いたときに発火する。

(ii) 神経の伸長に必要な微小管を制御する機構を解明するために、神経系で高発現する Adenomatous polyposis coli 2 (APC2) という分子に着目し、ニワトリにおいて APC2 の発現を抑制すると、視交叉における視神経の伸長進路選択に誤りが生じて、左の視蓋だけでなく右の視蓋にも侵入することを明らかにした。また、APC2 遺伝子欠損マウスの脳における異常を解析した結果、神経細胞の移動に異常があり、大脳皮質、海馬、小脳などのさま

ざまな領域で、神経細胞の正常な層構造が形成されず、発生期の APC2 欠損マウスの神経細胞は、移動能を保持しているが、誘引性因子や反発性因子に応答して運動を制御する能力が欠落しているため、神経細胞が秩序だった細胞移動を行えず、層構造の形成に異常が生じることが明らかになった³⁾。APC2 欠損マウスは、運動機能の異常や、てんかん発作などの異常を示した。

(iii) 体液恒常性維持のための脳内機構として、電位依存性 Na チャネルのファミリー分子 Na_x が主に脳室周囲器官 (circumventricular organs ; CVOs) に発現し、Na イオンセンサーとして働いていることを証明した。 Na_x は体液の Na^+ 濃度の上昇を感知して開口する新規のチャネルである。ヒトにおいて腫瘍の発生に伴い Na_x に対する抗体を保持するようになった患者が、本態性高 Na 血症を発症することを明らかにした。マウスにこの患者の免疫グロブリン分画を注射すると水と塩分の摂取が異常になり、利尿亢進により高 Na 血症を呈した。このマウスの脳室周囲器官には、補体 C3 の沈着と炎症細胞の浸潤、さらに細胞死が見られ、本態性高 Na 血症を示す腫瘍随伴性神経性疾患の病因が、自己免疫であることを明らかにした⁴⁾。

(iv) 脱リン酸化を担う受容体型プロテインチロシンホスファターゼ (PTP) の Ptpnz (PTP ζ) が Rho-GAP 等を基質として記憶・学習等のシナプス機能の調節をすること、また、Ptpnz (GLEPP1) が Eph 受容体を基質として神経投射における領域識別において、重要な役割を果たしていることを明らかにした。また、Ptpnz がヘパリン結合性増殖因子 pleiotrophin の受容体であることを明らかにした。Ptpnz の生理機能として、海馬依存性学習能力に関連している可能性を示した。Ptpnz の主要な発現組織は脳神経系であるが、末梢臓器においても発現が認められ、胃においてはピロリ菌毒素の受容体として機能していることを明らかにした。また、Ptpnz 欠損マウスを用い、髄鞘損傷が軽減されることを示し、Ptpnz がオリゴデンドロサイトの初期の分化と脱髄性中枢疾患の再髄鞘化に抑制的に働く可能性を見出した⁵⁾。

②社会・経済的波及効果

上述の結果により、APC2 欠損マウスは、てんかんなどの神経疾患モデルとして化合物のスクリーニングならびに薬物作用の効果の判定に利用できることから、有効な治療薬の開発につながる研究であると考えられる。最近、APC2 遺伝子に異常をもつ神経性疾患を伴う遺伝病が見つかった。同様に、 Na_x 分子を病因とする高ナトリウム血症において、 Na_x 抗体に対する自己抗体の除去や Na_x と抗体との結合部位を阻害する拮抗薬の開発は疾患治療につながる可能性がある。

APC2 欠損マウスの研究は「脳の層形成に必須の役割分子を発見」の表題で 2010 年 5 月 9 日付の日経電子版で報道された。TRPV1 チャネルの浸透圧感受性の増強機構も「TRPV1 チャネルの浸透圧感受性が温度や酸などの異なる刺激によって相乗的に増強されることを発見」の表題で 2011 年 7 月 29 日付の日経電子版などで報道された。本研究は、 Na_x の研究と同様に、体液調節に異常を起こす病態の解明につながる可能性がある。また、Ptpnz の研究は、「中枢神経系における髄ミエリン鞘の形成や再形成の制御に関わることを明らかにすることに成功した」(科学新聞 2012 年 11 月 16 日)と報道され、難病である多発性

硬化症(MS)などに対して、Ptpz を阻害して髄鞘の再形成を促す、野田らが主張する新しいタイプの治療薬の開発が期待される。

野田は本研究領域期間中の研究で国内特許を 2 件、国際特許 2 件出願しているが、国内で 1 件、国際特許 1 件(3 国で登録)を登録している。本研究領域終了後の研究では、国内特許を 3 件出願しており、そのうち 1 件を登録している(登録特許の詳細は表 2-4 参照)。

③上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト

1) Yonehara K, Ishikane H, Sakuta H, Shintani T, Nakamura-Yonehara K, Kamiya NL, Usui S, Noda M, “Identification of retinal ganglion cells and their projections involved in central transmission of information about upward and downward image motion”, *PLoS ONE*, 4, e4320 (2009)

2) Yonehara K, Balint K, Noda M, Nagel G, Bamberg E, Roska B, “Spatially asymmetric reorganization of inhibition establishes a motion-sensitive circuit”, *Nature*, 469, 407-410 (2011)

3) Shintani T, Ihara M, Tani S, Sakuraba J, Sakuta H, Noda M, “APC2 plays an essential role in axonal projections through the regulation of microtubule stability”, *Journal of Neuroscience*, 29, 11628-11640(2009)

4) Hiyama TY, Matsuda S, Fujikawa A, Matsumoto M, Watanabe E, Kajiwara H, Niimura F, Noda M, “Autoimmunity to the sodium-level sensor in the brain causes essential hyponatremia”, *Neuron*, 66, 508-522 (2010)

5) Kuboyama K, Fujikawa A, Masumura M, Suzuki R, Matsumoto M and Noda M, “Protein Tyrosine Phosphatase Receptor Type Z Negatively Regulates Oligodendrocyte Differentiation and Myelination.”, *PLOS one*, 7, e48797(2012)

④その他

本研究領域の研究員であった新谷隆史は基礎生物学研究所助教から准教授に、基生研非常勤研究員 高橋弘雄は奈良県立医科大学助教に、大河原剛は三重大学医学系研究科 講師に、CREST 研究員深田斉秀は愛知県コロニー発達障害研究所研究員に、また基生研大学院生井原賢は博士号取得後、京都大学研究員に昇任している。

3.3 2002年度採択課題

3.3.1 細胞周期の再活性化による再生能力の賦活化(中山 敬一)

(1)研究のねらいと研究期間中の達成状況

①研究のねらい

成人において細胞周期に入っている細胞は1%以下の少数の細胞で、その他大部分の細胞は細胞周期から逸脱して休止状態G0期にある。幹細胞は細胞周期に再進入する能力を有しているが、最終分化を遂げた神経・心筋細胞は、傷害があってもほとんど再生せず、その組織の欠損は生命の危機に直結する。本研究では、細胞周期のG0期から分裂期への再進入の分子メカニズムを解明することによって、神経・心筋細胞を細胞周期へ再進入させる技術の理論的基盤を構築することを目指した。

②期間中の研究成果

(i) 以前の研究で、細胞周期のブレーキ分子p27が再進入を妨げており、増殖時にはp27がタンパク質分解を受けることによって再進入が始まることを見出していた。p27は本来核内に局在するタンパク質であるが、G1期で分解されるときに核外へ排出されることが知られており、このメカニズムがp27のG1期における分解に関与しているのではないかと考え、細胞質よりp27へのユビキチン化活性を示す新規ユビキチンリガーゼKPCを同定し、それが細胞周期への再進入時におけるp27の分解に寄与していることを明らかにした¹⁾。

(ii) 細胞周期ブレーキp27とそのユビキチンリガーゼ(E3)であるSkp2の両者をノックアウトしたダブルノックアウトマウスを作製し、Skp2・p27ダブルノックアウトマウスではSkp2ノックアウトマウスで見られた細胞学的異常(過剰複製による細胞の巨大化、多倍数体化、中心体過剰複製、等)が全て消失した。このことよりp27の蓄積がこれらの細胞学的異常を引き起こしていることすなわち、p27がSkp2の主要な基質であることを遺伝学的に証明した²⁾。

(iii) 神経突起形成に重要なE4Bと同じ複合体に含まれると予想される膜シャペロン分子FKBP38に結合するタンパク質として神経突起伸長に関わるプロトルーディンという新規分子を発見し、それが神経突起形成時に膜輸送システムを制御し突起を形成していることを明らかにした³⁾。

本研究で明らかとなったユビキチンリガーゼ群は、近い将来の抗がん剤創薬や治療の重要なターゲットになることが期待されている。また、細胞周期の研究実績は将来の幹細胞治療や再生医療の技術開発にも重要な知見を提供している

③研究成果に関連した主な成果論文

1) Kamura T., Hara T., Matsumoto M, Ishida N, Okumura F., Hatakeyama S, Yoshida M, Nakayama K, Nakayama KI, "Cytoplasmic ubiquitin ligase KPC regulates proteolysis of p27Kip1 at G1 phase", *Nature Cell Biol*, 6, 1229-35 (2004).

2) Nakayama K, Nagahama H, Minamishima YA, Miyake S, Ishida N, Hatakeyama S, Kitagawa M, Iemura S, Natsume T, Nakayama KI, “Skp2-mediated degradation of p27 regulates progression into mitosis”, *Dev. Cell*, 6, 661-72 (2004).

3) Shirane M, Nakayama KI., “ Protrudin induces neurite formation by directional membrane trafficking”, *Science*, 314: 818-821 (2006).

(2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域の期間中から科研費特定領域研究「タンパク質分解異常による発がん機構の研究」(2005-2009年度)、科研費基盤研究(S)「神経突起形成のマスター分子 Protrudin の発見と機能解析」(2005-2009年度)、CREST 研究領域「生命システムの動作原理と基盤技術」、研究課題「ユビキチンシステムの網羅的解析基盤の創出」(2007-2012年度)、本研究領域終了後には、科研費基盤研究(A)「小胞輸送制御分子プロトルーディンの神経機能における役割の解明」(2010-2012年度)、科研費新学術領域研究研究領域提案型「癌幹細胞の細胞周期制御機構の解明と治療法の開発」(2010-2014年度)の競争的研究資金により、研究を進展させている。

① 科学技術の進歩への貢献

(i) ユビキチンリガーゼ複合体 Fbw7 の骨髄特異的コンディショナルノックアウトマウスの解析により、骨髄幹細胞における G0 期の減少と骨髄再建能の喪失、および T 細胞急性リンパ性白血病を発症することを発見した¹⁾。

Fbw7 の肝臓特異的なコンディショナルノックアウトマウスでは、短期間では SREBP の蓄積と共に脂肪肝になり、長期間では Notch の蓄積と共に胆道増生による過誤腫が発生することを発見した。Fbw7 が Bcl-2 ファミリー分子の一つ Mc1-1 をユビキチン化することによってアポトーシスを制御していることを明らかにした。Fbw7 の脳特異的なコンディショナルノックアウトマウスは、生誕直後に吸乳障害によって死亡する。このとき脳の発生過程で Notch の分解異常による蓄積と脳形態の異常を認め、神経幹細胞増加やアストロサイトへの分化亢進することを示し、Fbw7 は各種臓器で発生初期にさまざまな役割を果たしていることが明らかにした。

(ii) 細胞表面および小胞体膜に広く分布しているプロトルーディンは、神経突起を形成する際に神経成長因子(NGF)の刺激により、リサイクリング・エンドソームに集積し、その後神経突起先端へと運搬される。さらに、NGF が NGF リセプターに結合すると、プロトルーディンのリン酸化によって Rab11(GDP 結合型)に結合し、細胞膜上の特定部位に小胞を選択的に輸送するシステムになっていることが明らかになった。

膜貫通シャペロン FKBP38 のノックアウトマウスでは、神経細胞におけるアポトーシスとプロトルーディンのリン酸化が亢進していることを見出した。FKBP38 はプロトルーディン依存性神経リサイクルと神経突起の成長を制御していることを証明した²⁾。

また、プロトルーディンの結合タンパク質として ER に存在する VAP (vesicle-associated membrane protein-associated protein)を同定し、VAP との結合がプロトルーディンの突起伸長作用に必須であることを示した。

(iii) 骨髄特異的 p57 コンディショナルノックアウトマウスの骨髄幹細胞が幹細胞性を喪失することから、p57 が骨髄幹細胞の G0 期維持に必須の分子であることを示した。

神経特異的 p57 コンディショナルノックアウトマウスは、全身ノックアウトマウスが生直後に死亡するのに対して、生後 2~3 週まで生存可能であったが、非閉塞性水頭症と小脳の形成異常を伴い、ゴルジ細胞等の Pax2 陽性前駆細胞が消失していた。p57 ノックアウトによるこの異常は E2F1 の過剰活性化による p53 依存性のアポトーシスによって起こることを遺伝学的に証明した³⁾。

(iv) プロトルーディンの結合分子についてプロテオミクスを用いて探索し、モーター分子 KIF5 との会合を証明した。さらにプロトルーディンは Rab11 をはじめとする多くの Cargo 分子を KIF5 に載せるアダプター分子としての役割を果たすことを実証し、ディファレンシャルプロテオミクスを利用して F-box タンパク質の基質を網羅的に探索する技術 (DiPIUS) を開発した⁴⁾。

②社会・経済的波及効果

Fbx7 の研究は白血病発症のメカニズムの一端を解明する研究であり、その活性部分のペプチドあるいは低分化合物の開発は急性白血病の治療につながる可能性がある。

小胞輸送の方向性を規定し、突起形成を促すプロトルーディンは神経発達と深く関連していると考えられ、その異常が各種疾患と関連付けられれば臨床治療につながると考えられる。

p57 の幹細胞の自己複製能の維持機能の研究は自己の血液を試験管内で産生し、患者自身の体内へ輸血する技術開発へ応用できる可能性がある。免疫拒絶のない自己血液の輸血が可能になり、現在の医療における血液不足状態を解消できる可能性を持った因子である。

ディファレンシャルプロテオミクスは超微量のサンプルから 2 万 5000 項目の同時臨床検査が可能になることから、多くの疾患マーカーの発見、新規治療法の開発、創薬の効率化が見込まれる。新技術に対応した新型マシンの開発、作製や知的財産の権利化、検査キットの販売などで、経済効果が見込まれる。

中山は本研究領域期間中の研究で内特許 3 件、国際特許 2 件を出願しているが、国内で 1 件、国際特許件 (4 国で登録) を登録している (登録特許の詳細は表 2-4 参照)。

③上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト

1) Matsuoka S, Oike Y, Onoyama I, Iwama A, Arai F, Takubo K, Mashimo Y, Oguro H, Nitta E, Ito K, Miyamoto K, Yoshiwara H, Hosokawa K, Nakamura Y, Gomei Y, Iwasaki H, Hayashi Y, Matsuzaki Y, Nakayama K, Ikeda Y, Hata A, Chiba S, Nakayama KI, Suda T, “Fbxw7 acts as a critical fail-safe against premature loss of hematopoietic stem cells and development of T-ALL”, *Genes Dev.*, 22, 986-91 (2008)

2) Shirane M, Ogawa M, Motoyama J, Nakayama KI, “Regulation of apoptosis and neurite extension by FKBP38 is required for neural tube formation in the mouse”, *Genes Cells.*, 13, 635-51 (2008)

3) Matsumoto A, Susaki E, Onoyama I, Nakayama K, Hoshino M, Nakayama KI, “Deregulation of the p57-E2F1-p53 axis results in nonobstructive hydrocephalus and cerebellar malformation in mice”, *Mol Cell Biol.*, 31, 4176-92 (2011).

4) Yumimoto K, Matsumoto M, Oyamada K, Moroishi T, Nakayama KI, “Comprehensive Identification of Substrates for F-box Proteins by Differential Proteomics Analysis”, *J Proteome Res*, 11, 3175-3185(2012)

④その他

本研究領域期間中に大学院生であった原太一は群馬大学生体調節研究所細胞構造分野の准教授に、南嶋洋司は慶應義塾大学医学部医化学教室の専任講師に、神武洋二郎は近畿大学産業理工学部生物環境化学科細胞生物工学研究室の准教授などに就任し、この分野の研究者として活躍している。

3.3.2 細胞内パターンニングによる組織構築(広海 健)

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

①研究のねらい

組織や器官の再生過程では、再生した細胞がお互いの関係を正しく認識して再配置しなければならない。この組織構築において、必要な細胞の運命決定や形態・運動の制御は、細胞間相互作用や細胞外の分泌因子による長距離作用によって担われていると考えられている。しかし、神経細胞のように長い突起を持つ細胞では、細胞「内」の物質の分布が広い範囲に位置情報をあたえてパターン形成を司ることが可能である。本研究では、ショウジョウバエ遺伝子技術を駆使して、組織構築というグローバルな現象の根源を細胞内輸送を介した細胞内の分子の局在に求め、新しいパターン形成パラダイムの確立を目指した。

②期間中の研究成果

(i) 神経幹細胞が時間とともにその性質を遷移させるのに必要な転写因子を初めて同定し、この因子の働きにより神経幹細胞は「自己複製」的な幹細胞プログラムを変化させ、多様な神経細胞を作り出すことが可能になることを示した¹⁾。

(ii) 神経細胞の突起内の分子局在が細胞の行動に位置情報を与えている可能性のある現象として、樹状突起のプルーニング(刈り込み)を取り上げた。ショウジョウバエの感覚神経細胞の樹状突起が蛹期のリモデリングの際にプルーニングされるには蛋白分解酵素カスパーゼが必要であることを示した。更に、カスパーゼ活性を可視化する新しいプローブを開発し、カスパーゼがプルーニングを受ける樹状突起に限局して活性化されることを示した²⁾。

(iii) 受容体の軸索内局在によって作られる軸索ガイド情報が、受け手の細胞によってどのように解釈されるかを解析した。提示されたガイド分子Netrin の受け手の細胞は、Slit 受容体ROBOを発現することによって提示されたNetrin に対する反応性を抑制することを示した。これまでSlit 拡散性の軸索反撥因子として正中線からの反撥場を作ると考えられてきたが、この結果により古典的な化学走性モデルの再検討が必要になった³⁾。

この種の研究は細胞内外で拡散性のシグナルに関する研究として、世界的に行われているのに比べて、まだユニークなものであるが、発生分化再生のさまざまな段階での重要性が示されると期待される。

③研究成果に関連した主な成果論文

1) Kanai M I, Okabe M, Hiromi Y, “Seven-up controls switching of transcription factors that specify temporal identities of *Drosophila* neuroblasts”, *Developmental Cell*, 8, 193-202 (2005).

2) Williams DW, Kondo S, Krzyzanowska A, Hiromi Y, Truman JW, “Local caspase activity directs engulfment of dendrites during pruning”, *Nature Neuroscience*, 9, 1234-1236 (2006).

3) Hiramoto M, Hiromi Y, “ROBO directs axon crossing of segmental boundaries by suppressing responsiveness to relocalized Netrin”, *Nature Neuroscience*, 9, 58-66 (2006).

(2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域の終了後に、科研費基盤(B)「受容体による軸索ガイダンス分子の提示と抑制：軸索誘導の新原理」(2009-2011年度)などの競争的研究資金を得て、軸索の区画化が神経回路構築に果たす役割について研究を展開している。

① 科学技術の進歩への貢献

(i) 軸索ガイダンス受容体は軸索先端の成長円錐で機能すると考えられているが、実際には軸索の「柄」部分にも存在し、近位部または遠位部に選択的に配置されている。このような軸索ガイダンス受容体の軸索内局在は神経回路形成にも何らかの役割を果たしている可能性が高いにもかかわらず、これまでその機構や意義は未開拓だった。ショウジョウバエの初代培養系を用いて、この軸索内配置が細胞自律的現象であることを示した。この軸索内の配置には膜タンパク質の膜輸送が関与しており、軸索膜は拡散障壁により分けられていることによることを見出した¹⁾。この細胞自律的パターンニング能力に基づく膜タンパク質の分布は、他の神経細胞が軸索を伸ばす際の位置情報を提供したり、情報伝達を制御する機能を発揮している可能性が高い。

(ii) 神経ネットワークの形成には、多くの軸索ガイダンスシステムの協調的な活動が必要であり、その発現の統括機構は不明であった。ショウジョウバエの T ボックス転写因子 Midline が 2 つの主要なガイダンスシステムの成分である Frazzled, ROBO と Slit の発現を制御していることを見いだした。midline の変異株では、これらの因子の発現が減少して軸索ガイダンスに著しい欠陥を生じるのに対し、Midline を異所的に強制発現すると、これら遺伝子の発現が誘導された。Midline はこれら遺伝子のプロモーター領域に存在しているため、転写を直接制御していると考えられる。「誘引」と「反撥」という相反する軸索応答を担っている Frazzled と ROBO が共に Midline によって制御されている、という発見は、2 つの主要なガイダンスシステムの協調的制御による軸索ガイダンスの統括制御ノ理解につながる可能性がある²⁾。

② 社会・経済的波及効果

ヒトにおいて、神経突起の形成不全は脳発達障害や、てんかん、脆弱性 X 症候群などの発達異常による神経疾患の原因となっている。本研究はショウジョウバエの神経突起形成の仕組みの解明であるが遠い将来には、これらの疾患の解明と治療の手がかりを与えるもの一般的には期待される。

③上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト

1) .Katsuki T, Ailani D, Hiramoto M, Hiromi Y, “Intra-axonal patterning: intrinsic compartmentalization of the axonal membrane in *Drosophila* neurons”, *Neuron*, 64, 188-99 (2009).

2) Qing-Xin Liu, Masaki Hiramoto, Hitoshi Ueda, Takashi Gojobori, Yasushi Hiromi and Susumu Hirose “Midline governs axon pathfinding by coordinating expression of two major guidance systems”, *Genes Dev.*, 23, 1165-70 (2009)

④その他

本研究領域中、助手であった細谷俊彦は理化学研究所脳科学センター局所神経回路研究チームのチームリーダーに、同じく助手の岡部正隆は東京慈恵会医科大学解剖学講座の教授に昇進している。広海研で博士研究員であった小瀬博之は国際基督教大学理学研究科生命科学上級准教授に就任している。

3.3.3 脳構築の遺伝的プログラム(松崎 文雄)

(1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

①研究のねらい

脳の発生の際だった特徴である神経細胞の多様性はどのような遺伝的プログラムによって形成され、どのように機能的な脳構築に組み込まれるかを理解するために、本研究では、ショウジョウバエとマウスを用いて、神経幹細胞が多様な神経細胞を生じる機構と、多様な神経細胞が秩序構造を形成する仕組みを追求し、脳発生に共通の論理を導き出すと同時に、脊椎動物に固有な仕組みを発見することにより、幹細胞応用技術の基盤を構築することを目指した。

②期間中の研究成果

(i) ショウジョウバエの神経幹細胞の非対称分裂は、apical 側の表層に局在する極性中心によって制御され、それを構成する二つのシグナルカスケードの機能分担を明らかにした。aPKC-PAR複合体は、細胞表層の非対称性とそれに基づく運命決定因子の局在を決め、受容体非依存的G蛋白シグナル G・i⁻Pins複合体は、分裂装置の非対称性と方向の決定に関与することを明らかにした¹⁾。

(ii) ショウジョウバエの神経幹細胞では、細胞の極性と細胞分裂装置の一致により非対称分裂が成立する。細胞極性の軸に対して、分裂軸の方位を決定するGタンパクシグナルの作用因子であるMud を同定した。G・i⁻Pins⁻Mud 複合体は進化的に広く保存されており、spindleの方位を決める一般的な仕組みであることを提唱した²⁾。

(iii) マウス神経発生時、神経幹細胞として働く神経上皮細胞は、ショウジョウバエの神経幹細胞と同様な上皮極性と分裂軸の一致により、非対称分裂を行うと信じられてきた。ここでは、分裂軸の方位決定をするショウジョウバエPins のホモログLGN 遺伝子のknockoutマウスの解析から、神経細胞を盛んに生じる時期にも、上皮に平行な分裂を行い、それによって、神経上皮細胞の維持を行いながら、神経細胞を産生していることを明らかにした³⁾。このことは、マウスの脳神経細胞が神経幹細胞から生じる非対称分裂がショウジョウバエの神経系譜の発生の場合と相異なるメカニズムによることを示している。

本研究の成果は、近年発見されるヒト遺伝性疾患などの原因遺伝子の多くがショウジョウバエにホモログがあることも関連して、ショウジョウバエとヒトの発生分化再生との間に深い関連があることを示しているが、進化の過程で、種に特有の組織構築の発達に応じて、種に特異的な発生メカニズムが付け加えられていることを示している。

③研究成果に関連した主な成果論文

1) Izumi,Y., Ohta,N., Itoh-Furuya,A., Fuse,N. and Matsuzaki,F. “Differential functions of G protein and Baz/aPKC signaling pathways in Drosophila neuroblast asymmetric division”, *J. Cell Biol.* ,164 ,5, 729-738 (2004)

2) Izumi, Y., Ohta, N., Hisata K., Raabe, T. and Matsuzaki, F. “Drosophila Pins-binding protein Mud regulates spindle-polarity coupling and centrosome Organization”, *Nat. Cell Biol.* 8, 586-593 (2006).

3) Konno, D., Shioi, G., Shitamukai, A., Mori, A., Kiyonari, Hi., Miyata, T., and Fumio Matsuzaki, “Neuroepithelial progenitors undergo LGN-dependent planar divisions to maintain self-renewability during mammalian neurogenesis”, *Nat. Cell Biol.* 100, 93-101(2008).

(2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

本研究領域の期間中から、科研費特定領域研究「幹細胞システムにおける非対称分裂による増殖と分化の振り分け機構」(2007-2011 年度)、本研究領域終了後に、科研費新学術領域研究(研究領域提案型)「シリア・中心体系による神経幹細胞分裂の非対称化機構」(2012-2016 年度)などの競争的研究資金を得て、神経細胞の非対称分裂の分枝メカニズムについて研究を続けている。

① 科学技術の進歩への貢献

(i) 脊椎動物の神経細胞の発生では、神経上皮細胞が神経幹細胞となり、核の往復運動をしながら、apical 側で分裂し、娘細胞を生じる非対称分裂を繰り返す(図 3-14)。INM(interkinetic nuclear migration)と言われるこの動きは細胞周期と同調してG1 期には基底へ、G2 期には頂端へ動く。まず、S から G2 へ移行時は微小管関連タンパク質 Tpx2 が核から核より apical 側の細長い細胞質に移動し、核の apical 側への移動を促進することを明らかにした。さらに、G1 期の basal 側への核移動は、他の G2 期の核移動による排除効果による受動的な仕組みにおおきく依存することが判った¹⁾。このことから G2 期の basal to apical 運動が微小管のモーター系列も起きること、それらの細胞の apical 面での密度増加と、分裂後の G1 期幹細胞の受動的な apical 面からの脱出とがバランスし、ダイナミックな平衡状態にあることが判明した。

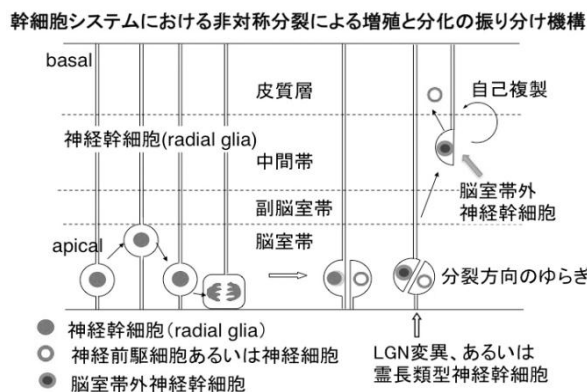


図 3-14 哺乳類神経幹細胞の非対称分裂による神経形成と幹細胞の自己複製

(ii) 哺乳類の発達中の脳では、放射状グリア細胞と呼ばれる細胞が神経幹細胞として機能するが、脳室面に平行に分裂することにより上皮構築を完全に受け継いだ放射状グリ

アと神経分化にコミットした娘細胞に分かれる。ところが、放射状グリア細胞の分裂では、分裂面の揺らぎから、傾斜した分裂面が apical 面の外を通り、apical 部分と basal 部分を二分する分裂が低頻度で起きる。basal process を引継いだ娘細胞は神経層に向かって移動しながら自己複製するのに対し、apical 側を受け継いだ娘細胞は分化することを見出した(図 3-14 右側)。この自己複製する細胞は、脳質帯から脱出することから、outer ventricular zone (VZ) 幹細胞と名付け、野生型マウス胎児新皮質に少量あることを発見した。この細胞は apical process を保持せず、霊長類における OSVZ (outer subventricular zone) 幹細胞と類似である。この知見は神経幹細胞の自己複製の basal process の一般的役割を示し、傾斜分裂により誘発される outer VZ 幹細胞は幹細胞の自己複製や OSVZ 幹細胞のモデルになる²⁾。

(iii) ショウジョウバエ胚性神経幹細胞では、GPCR Tre1 が上皮細胞から受け取るシグナルにより神経幹細胞の G タンパク質 Go α サブユニットを活性化し、紡錘の向きを制御する Pins をリクルートする。さらに、この Pins は Inscuteable を介して Par-complex に結合するので、活性化された Tre1 は結果的に Par 複合体と Pins 複合体(および Inscuteable)からなる極性複合体を引き寄せる。このような仕組みにより、GPCR-Pins システムが神経幹細胞の極性軸を上皮に対し直角に向けることで(図 3-15)、上皮細胞に対する分裂方向を定め、神経組織の成長の方向を決定することが判った³⁾。

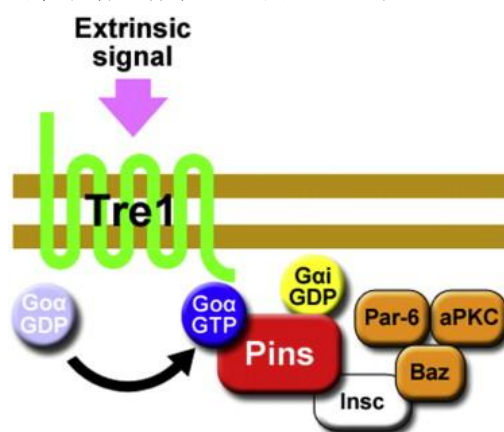


図 3-15 外因性シグナルによる極性形成のシグナル伝達系

(iv) 海馬は錐体神経と顆粒細胞が CA (cornu ammonis)、DG (dentate gyrus 歯状回) など機能的に独自の領域を構成しており、顆粒球リンケージマーカとして発現している転写因子 Prox1 が DG の顆粒細胞に継続的に発現している。Prox1 の欠失により、DG は成熟せず、最終的には CA3 の錐体神経へと転換され、Prox1 の過剰発現は CA3 錐体細胞の減少を引き起こすことから、Prox1 が神経前駆細胞から神経細胞が生じた後、DG の顆粒細胞へと運命を定める分子であることが明らかになった⁴⁾。

②社会・経済的波及効果

ショウジョウバエにおける神経細胞の分化過程がマウスと相同であるという知見は、マウスで解明されていないメカニズムをショウジョウバエで再現し、詳細の研究を迅速に行

うことを可能にする。非対称分裂は神経の分化の基礎であり、その解明は神経の発達の異常を予防するための基礎知識となる。

③上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト

1) Kosodo Y, Suetsugu T, Suda M, Mimori-Kiyosue Y, Toida K, Baba SA, Kimura A, Matsuzaki F, “Regulation of interkinetic nuclear migration by cell cycle-coupled active and passive mechanisms in the developing brain”, *EMBO J*, 30, 1690-1704 (2011).

2) Shitamukai A, Konno D, Matsuzaki F., “Oblique radial glial divisions in the developing mouse neocortex induce self-renewing progenitors outside the germinal zone that resemble primate outer subventricular zone progenitors”, *J Neurosci*. 31, 10, 3683-3695(2011)

3) Yoshiura S, Ohta N, and Matsuzaki F., “Tre1 GPCR Signaling Orients Stem Cell Divisions in the Drosophila Central Nervous System”, *Dev Cell*, 22, 79-91 (2012)

4) Iwano T, Masuda A, Kiyonari H, Enomoto H, Matsuzaki F, “Prox1 postmitotically defines dentate gyrus cells by specifying granule cell identity over CA3 pyramidal cell fate in the hippocampus”, *Development (Cambridge)*, 139, 3051-3062 (2012)

④その他

本研究領域期間中に松崎研究室で研究員であった川口綾乃は名古屋大学大学院医学系研究科准教授、小曾戸陽一は川崎医科大学医学部准教授に昇進した。同じく泉裕士は神戸大学大学院医学研究科助教に、岩野智彦は大阪大学大学院医学系研究科助教に就任している。また、下向敦範は同研究グループで、理研 CDB の専門職研究員、今野大治郎は理研基礎特別研究員に任用されている。

第4章 科学技術イノベーションに資する研究成果の状況

4.1 研究領域からの研究成果事例

追跡調査時点において、科学技術イノベーション創出に資する展開をしていると思われる2事例について、研究代表者にインタビューを行い、基礎研究からの展開について本章にまとめた。

4.1.1 幹細胞システムに基づく中枢神経系の発生・再生研究(岡野 栄之)

4.1.1.1 研究の概要

(1)各研究テーマの状況

①神経分化制御因子

岡野は Musashi-1 の発見を初めとして、Galectin-1 や Tead-1 などのさまざまな神経分化制御因子の基礎研究を臨床研究に結びつけ、疾患の治療を達成するというモチベーションを維持しながら研究を継続している。Galectin-1 についての分化因子シグナル増強作用や幹細胞維持作用の特許が成立し¹⁾、Musashi-1 関連技術については米国のサンバイオ社^[1]にライセンスしている。Musashi-1 などの神経分化因子の作用を疾患に応用することを目指した目標に対して、実用化に近い段階まで到達している。

分化の仕組みについては、1980年代からショウジョウバエで行われた遺伝学の研究でサイトカインのパスウェイの全容が解明され、iPS や ES 細胞に対して分化因子を活用することは可能だが、岡野は未知の経路があると考えている。そのためには、ゲノム解析が進んだ現時点で、システムバイオロジー的なアプローチにより網羅的な研究を展開し、新しい発見をすべく、慶應義塾大学医学部システム医学教室の洪実教授と共同研究を進めている。

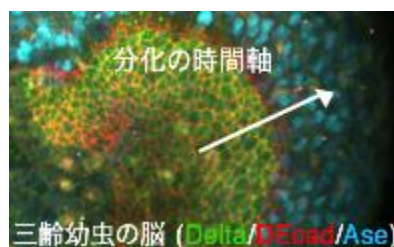


図 4-1 ショウジョウバエ神経上皮細胞から神経細胞への分化機構
(岡野研究室ホームページより)

②安全な iPS 細胞を目指して

岡野らはヒトの臨床試験に安全な iPS 細胞を調製する必要があり、安全な細胞を選択するために開発した判定法は臨床試験の進展に寄与すると考えている。遺伝子の発現パター

¹⁾ S Ishibashi 他, WO2005026343 (A1), 公開日 2005 年 3 月 24 日, Method of promoting subsistence and/or proliferation of neural stem cell . . .
H Okano, US2010120146 (A1) 登録日 2010 年 5 月 13 日, Activator of signal transduction pathway

ンなどで判定する本方法について特許を申請しているが公開はまだである。マイクロアレー等を使った方法を開発すれば、効率的なスクリーニング法として応用可能であるが DNA を対象としたスクリーニングはエピジェネティクスまでは説明できないのが難点である。

③ES 細胞の時系列変化の制御

タンパク質リン酸化酵素である COUP-TFI/II 発見により、ES 細胞由来神経幹細胞の時系列特異的变化の制御が可能になるため、幹細胞を治療へ応用する際に、人為的な幹細胞の培養ならびに保存する方法を開発する基礎となる。本研究領域の後に COUP-TFI/II が ES 細胞の時系列変化を制御するメカニズムも解明され論文投稿^[2]と特許出願がなされている。

4.1.1.2 研究成果の波及と展望

(1) 科学技術への波及と展望

①京浜臨海部での iPS 研究拠点形成

JST の「再生医療実現拠点ネットワークプログラム」^[3]で、神経疾患の再生医療の早期実現を目指して研究を進めているが、同プログラムは臨床直前までの過程を支援するもので、臨床試験開始には多くの課題解決があり製薬会社の経験者などの力を活用する必要がある。そこで、横浜・川崎市主導の京浜臨海部ライフイノベーション国際戦略特区^[4]に iPS 研究を推進する拠点を形成するための中心メンバーとして活躍している。岡野らは脊髄損傷治療の臨床試験を 4 年後に開始すべく、神奈川県の方も借りて、準備にとりかかっている。国際共同治験なども視野に入れて、カリフォルニア再生医療機構(California Institute for Regenerative Medicine)：CIRM などの JST-CIRM^[5]共同研究プログラムで慶應義塾大学医学部の若手研究者が脊髄損傷研究および神経幹細胞研究も推進している。

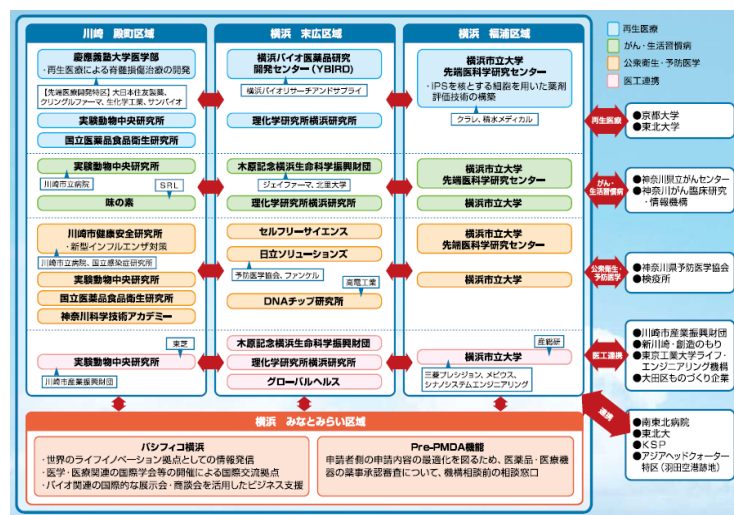


図 4-2 京浜臨海部ライフイノベーション国際戦略特区の拠点構想 (神奈川県ホームページより)

岡野らはマーマセツトなど霊長類病態モデルを保有していることを強みとする戦略として、海外や企業との共同研究を進めることを構想している。

②細胞プロセッシングセンターの設置

岡野らは慶應義塾大学医学部に細胞プロセッシングセンターを設置し、臨床グレードの細胞を確保する設備を整えた。現在、臨床試験を計画している、加齢黄斑変性症など網膜疾患の治療には5万個の細胞で充分であるが、脊髄損傷では1回の治療に500万個の大量の細胞が必要となり、その確保が課題となる。加齢黄斑変性症は慢性的経過をたどるので患者本人の細胞の培養する時間的余裕があるため患者の細胞から調製したiPS細胞による治療が可能だが、脊髄損傷場合は2週から4週以内に治療を開始しなければならず、患者本人の細胞を調製する時間が短く間に合わない。そのため治療実現には組織適合抗原 HLA の適合した他人の細胞を確保する必要がある。現在、山中伸弥京都大教授らが中心になり、3-5種類のHLAのiPS細胞の備蓄を予定しており^[6]、その細胞が完成後、本施設に移し、大量培養が動き出すことになる。また、本センターで得られたiPS細胞は安全性なども検査する必要があり、臨床に開始にはまだ数年かかるが、同大学で治療を開始する予定である。



図 4-3 細胞プロセッシングセンター

(2) 社会経済への波及と展望

①マーマセツトの利用

マーマセツトにおける病態モデルはアルツハイマーモデル、パーキンソンモデル、ALSモデルなども開発し、アルツハイマーについては製薬企業(エーザイ)と提携し、薬効評価に用いられる事になった。安全性試験への応用についてはKobayashi^[7]らが脊髄損傷モデルにおいて報告している。本研究領域の終了後にSORSTにおいて開発した遺伝子改変マーマセツトモデルとその技術によるアルツハイマー病モデルについてはシンガポールと米国で特許が成立し²⁾、複数の製薬各社がアプローチして来ている。クリングルファーマ社³⁾はマーマセツトALSモデルを用いた非臨床試験を経て、東北大学大学院医学系研究科 神経内科において、組換え肝細胞増殖因子を使いALSに対する第I相臨床試験を実施した。HGFによる治

²⁾ E Sasaki 他, US20110055939 (A1) 登録日 2011 年 3 月 3 日

³⁾ 本社：大阪府豊中市、代表取締役社長：岩谷邦夫

療法として本モデルの特許が成立している⁴⁾。また、本モデルを用いて脊髄損傷治療を実施し成功したため、脊髄損傷に対するヒト臨床試験を慶應義塾大学で開始する予定である。

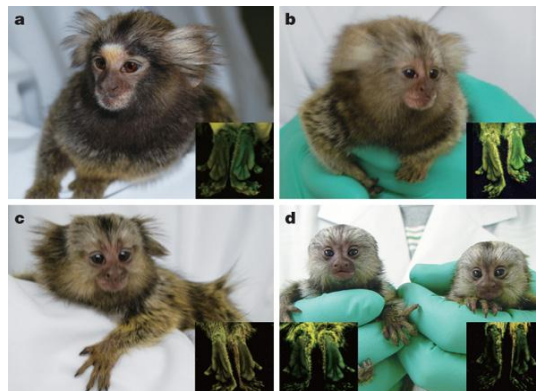


図 4-4 レンチウイルス・ベクター由来 EGFP 遺伝子導入マーモセット
a-d, 遺伝子導入マーモセット仔, (a)584 (Hisui), (b) 587 (Wakaba), (c) 588 (Banko), および (d) 双仔 594 (Kei)/666 (Kou). 584, 587 and 588 は CAG-EGFP を持ち 594/666 は CMV-EGFP を持つ。各写真の挿入図は同レベルの蛍光を持つ遺伝子導入動物の足掌(右)とワイルドタイプ(左)を示す。588 以外は強い蛍光が見られる。(Sasaki, *Nature*. 459(7246):523-7, 2009).

②Sox21 からの展開

耳蝸内の支持細胞と有毛細胞は同じ前駆細胞から分化し、その分化を制御する遺伝子 Sox21 の研究に基づき内耳細胞の発達を解明した。その結果、マウスの騒音難聴モデルに対してガンマ・セクターゼ・インヒビターを投与し、Notch シグナルをブロックすることにより、Sox21 を発現する支持細胞を有毛細胞に分化させることができることが明らかになった。これにより内耳の細胞の障害による感音難聴の根本的な治療の方法として、内耳細胞を有毛細胞に分化させる治療方法が可能であることが分かった。ガンマ・セクターゼ・インヒビターはアルツハイマーの薬として開発された薬であるが、全身投与では副作用のため、開発が中断された。耳の場合は局所投与可能なので副作用なしに臨床応用が可能になる。この成果は Harvard 大学と共同で *Neuron* に投稿し^[8]、特許出願もされている。この化合物は非臨床試験が終了しているので実用化の道は近い。年間 3 万 5 千人が罹患する突発性難聴や、高齢者の半数が苦しむ老人性難聴などの感音難聴の根本的治療に道筋を開くことに繋がった。

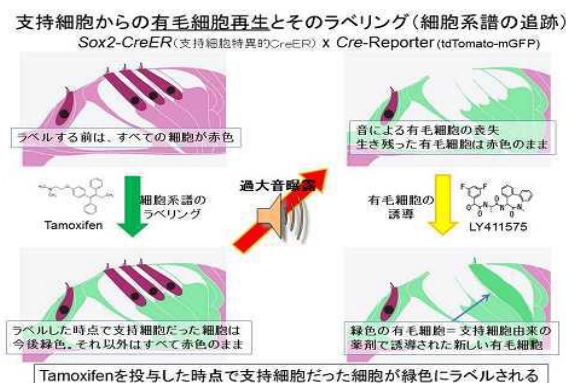


図 4-5 薬剤投与による有毛細胞再生(支持細胞からの新規有毛細胞分化誘導)の証明
 (慶應義塾大学プレスリリース 2013 年 1 月 10 日より)

⁴⁾ 公告番号 EP2116255 A1, 公開日 2009 年 11 月 11 日, 出願日 2008 年 2 月 28 日

4.1.2 脂肪細胞の分化・形質転換とその制御(門脇孝)

4.1.2.1 研究の概要

(1)各研究テーマの状況

①研究の着想

メタボリックシンドロームは年々患者数が増大し、癌、心疾患に次ぐ、致命的な疾患となっている。従来は食事や運動など、対症療法をとっていたが、疾患の根本原因を解明し、原因療法を試みたいという一心で、1995年に大阪大学 松澤佑次により発見されたアディポネクチン^[9]が肥満すると減少し、補充すると肥満が改善されることに興味を持ち、受容体の研究へと進んだ。

②アディポネクチンの受容体の発見

本研究領域の研究で、2003年に門脇らはアディポネクチンの受容体を世界で初めてクローニング^[10]したが、通常の7回膜貫通型の典型構造ではなくN末が細胞内あり、C末が細胞外にある構造であることが明らかになった。当時、本受容体はGタンパク質とカップリングしないため、真の受容体かどうかの議論があったが、2007年に受容体欠損マウスや受容体阻害によりアディポネクチンの作用が消失し、血糖が上昇すること、アディポネクチンを補充すると糖尿病が治癒すること^[11]から、アディポネクチンの受容体であることが確定した。アディポネクチン受容体(AdipoR)サブタイプであるAdipoR1は運動により活性化され、AMPキナーゼを活性化することを発見した。AdipoR2はPPAR α を介し、脂肪燃焼を促進する転写因子を活性化することを見出し、AdipoRは全体としては脂肪燃焼を促進する方向に働くことを明らかにした。

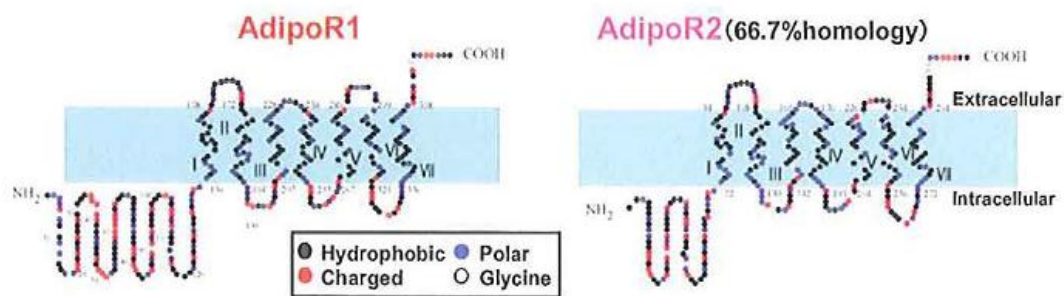


図 4-6 AdipoR1 および AdipoR2 の形状と細胞膜内配置
(第 128 回日本医学会シンポジウム 門脇講演抄録より)

4.1.2.2 研究成果の波及と展望

(1) 科学技術への波及と展望

①アディポネクチンと疾患

本研究領域終了後にメタボリックシンドロームに伴う代謝異常、すなわち血糖値の上昇、脂肪肝の形成、肝がんの発症、心血管病変の発現など肥満に伴うさまざまな疾患がアディポネクチンの低下とその受容体の低下により起こることを明らかにした。さらに、アディポネクチンは、筋肉の長寿遺伝子サーチュインを活性化、ミトコンドリアの増大を促すことで運動持久力を促進することを明らかにした^[12]。

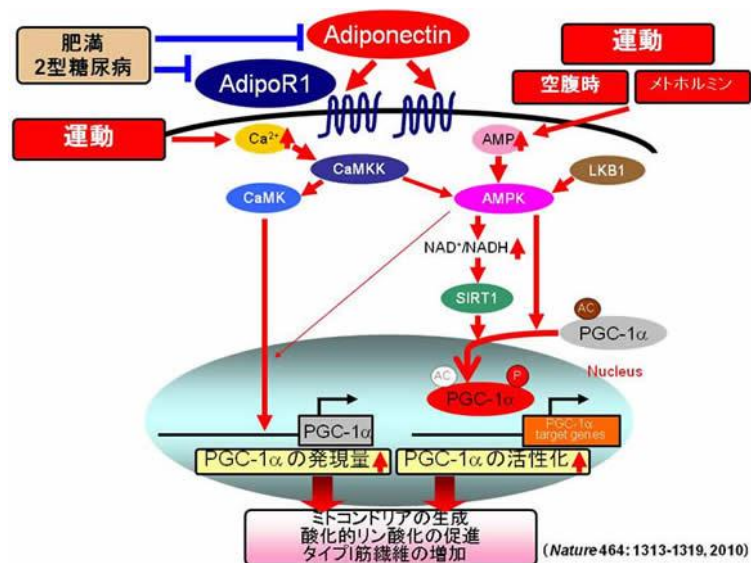


図 4-7 アディポネクチンによるミトコンドリアの増大
(岩部ホームページより)

②アディポネクチンの構造解析

アディポネクチンの作用をすべて解明するべく、理化学研究所の横山茂之上席研究員(横山構造生物学研究室)と京都大学の岩田想教授(分子細胞情報学分野)らとアディポネクチンの構造解析に取り組んでいる^[13]。

(2) 社会経済への波及と展望

①創薬への展開

基礎研究の成果を基に、単なる血糖降下薬ではない、糖尿病の根本治療薬の開発を目指し、運動模倣薬というコンセプトでアディポネクチン受容体作動活性を有する低分子化合物の探索に注力した^[14]。低分子化合物をスクリーニングし、経口でマウスの糖尿病を改善し、インスリン抵抗性、寿命を延長する化合物を見出した。AdipoR1, R2 を介して糖尿病を抑えていることを受容体欠損マウスで確認している。これらの化合物の特許を出願済であ

る。ごく最近、この化合物の構造を Nature 誌に論文公開し、*in vitro*でのアディポネクチン様作用、化合物投与時の血中濃度、*in vivo*でのアディポネクチン様作用について詳細に報告した^[15]。この低分子化合物は“**Adiponectin Receptor Agonist**”から、“AdipoRon”と命名された。尚、この論文の内容に関しては全て出願済の特許の中に含まれている。

特筆すべきことは、製薬会社の介在なしに、東京大学内で、薬学部の長野哲雄教授と連携して、共同研究という形で、薬学部内の創薬イノベーションセンターが保有するライブラリーを用いて、アディポネクチンをミミックする低分子化合物をスクリーニングした結果、経口投与で血糖降下作用がある化合物を見出した点である。

また、ヒト型のアディポネクチン受容体を導入した、ノックインマウスも開発しており、化合物スクリーニング体制が整っていることから、さらに化合物の改良も可能であり best in class の化合物を見出し、最終的には製薬企業との共同開発を目指している。

②食品による予防

天然物でアディポネクチン作用があるオスモチンは、メタボリックシンドロームや糖尿病の予防に役立つ機能性成分として注目されており、農林水産省の食料生産地域再生のための先端技術展開事業（2011年度から2017年度）において、農業・食品産業技術総合研究機構（NARO）食品総合研究所が総括する研究コンソーシアムで研究が展開している。アディポネクチン様活性をもつオスモチン^[16]がどのような食品にどのくらい含有されているか、また、その活性はどうかについての情報を収集している。食品は予防効果を期待して手軽に服用することができることや、薬と異なり上市のための臨床試験が不要なため、短期間で糖尿病患者の利益に直結することが利点であると考えている。

4.2 まとめ

本領域の研究は「発生・分化・再生」という生物の基本となる仕組みに関する基礎的研究であり、研究領域発足当時はすぐに応用につながるとは考えられていなかったが、ES細胞さらにiPS細胞の研究が急進展し、近い将来に、従来、治療困難とされた多くの難病の治療につながることを示された。本研究領域終了後の研究の進展により、iPS細胞の応用は加速度的に展開し、眼科領域(理研 CDB)や耳領域(慶應大学)では臨床応用段階に到達し、疾患の治療試験が進んでいる。

本研究領域で注目する成果として取り上げ、インタビューした岡野栄之の研究は、この分野の先駆的役割を果たし、この分野をリードしている。具体的には神経制御分化因子の発見とその細胞分化への作用メカニズム、分化因子を制御する機序などの分化の基礎を解明した。さらにiPS細胞をヒトの疾患に応用するための基礎となる、調製したiPS細胞中の発ガン性細胞などの危険細胞をスクリーニングし、除外する方法を開発した。また、細胞プロセッシングセンターを整備し、疾患に応じて細胞を調製する、基盤技術を確立して臨床適応の準備を開始している。それぞれの技術に対して特許を申請し、権利の確保も行っている。岡野は臨床試験の基礎を固め、促進するための体制整備についても京浜臨海部国際戦略総合特区内に横浜市大などを中心に関係研究者を組織し、研究を促進することで、再生医療のさらなる発展をめざしている。

もう一件の注目した研究としてインタビューした門脇孝の研究は日本で発見されたアディポネクチンを中心に、その受容体の発見とその生理的機能の解明、脂肪細胞における役割、動脈硬化など各種疾患との関連、インスリン抵抗性など臨床知見における位置づけなどをCRESTの基礎研究を進展させ解明してきた。また、アディポネクチン受容体の構造を京大・理研の連携により解明し、創薬の基盤づくりを進めている。

さらに、その研究の展開として低分子アディポネクチンミミック薬のスクリーニングを東京大学の長野哲雄教授らと「創薬イノベーションセンター」の保有する化合物ライブラリーを利用し、実施した結果、有効化合物を取得した。この化合物は細胞試験、動物試験でも効果を確認しており、創薬候補化合物として有望である。また、アディポネクチン分泌促進化合物を同定し、特許登録している⁵⁾。食品として経口利用できる分子は臨床試験が不要であるので、直ちに糖尿病患者への適用が可能であり、糖尿病治療に寄与する研究成果である。アディポネクチン類似体をスクリーニングするシステムもヒトアディポネクチン受容体を組み込んだ細胞を作成して整備しており⁶⁾、創薬の基盤づくりに寄与している。

直接インタビューした研究者による上に述べた研究は、CREST 研究領域「生物の発生・分化・再生」における基礎研究から発展した研究が具体的な成果につながった例として注目される研究であり、科学技術イノベーションの創出に繋がっていると考えられる。

⁵⁾ T Kadowaki, W02005/094866, 公開日 2005 年 10 月 13 日

⁶⁾ T Kadowaki, W0 2011/115103 A1, 公開日 2011 年 9 月 22 日

[引用文献等]

- [1] SanBio, Inc. 231 S. Whisman Road Mountain View, CA 94041-15221
- [2] H Naka et al., “Requirement for COUP-TFI and II in the temporal specification of neural stem cells in CNS development” , *Nature Neuroscience*, 11(9) ,1014-1023 (2008)
- [3] 再生医療実現拠点ネットワーク事業「再生医療実現拠点ネットワークプログラム」
<http://www.jst.go.jp/saisei-nw/>
- [4] 川崎市ホームページ「京浜臨海部ライフイノベーション国際戦略総合特区」
<http://www.city.kawasaki.jp/shisei/category/57-5-0-0-0-0-0-0-0-0-0-0-0-0.html>
- [5] JST-CIRM 共同研究プログラム
<http://www.jst.go.jp/kisoken/jst-cirm/outline/index.html>
- [6] 京都大学医学部附属病院 iPS 細胞臨床開発部「医療用 iPS 細胞ストック構築に関する研究計画書が承認されました」<http://ips.kuhp.kyoto-u.ac.jp/guide/ips.html>
- [7] Y Kobayashi et al., “Pre-evaluated safe human iPSC-derived neural stem cells promote functional recovery after spinal cord injury in common marmoset without tumorigenicity”, *PLoS One*, 7(12) e52787(2012)
- [8] K Mizutari et al., “Notch inhibition induces cochlear hair cell regeneration and recovery of hearing after acoustic trauma”, *Neuron*, 77(1), 58-69, (2013)
- [9] K Maeda et al., “cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1)”, *Biochem Biophys Res Commun.*, 221(2), 286-289(1996).
- [10] T Yamauchi et al., “Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects”, *Nature*, 423, 762–769 (2003)
- [11] T Yamauchi et al., “Targeted disruption of AdipoR1 and AdipoR2 causes abrogation of adiponectin binding and metabolic actions”, *Nature Medicine*, 13, 332–339 (2007)
- [12] M Iwabu et al., “Adiponectin and AdipoR1 regulate PGC-1alpha and mitochondria by Ca(2+) and AMPK/SIRT1”, *Nature*, 464(7293),1313-1319 (2010)
- [13] 門脇孝, 「疾患の鍵分子をターゲットとした創薬のために構造生物学ができること」, 学術の動向 2012 年 12 月号, pp24-26, (公益財団法人 日本学術協力財団)
- [14] T Yamauchi & T Kadowaki, “Adiponectin receptor as a key player in healthy longevity and obesity-related diseases” , *Cell Metabolism*, 17(2) , 185-196 (2013)
- [15] M Okada-Iwabu, “A small-molecule AdipoR agonist for type 2 diabetes and short life in obesity”, *Nature*, advance online publication on 31 Oct (2013)
- [16] 岩部美紀 他, 「医農連携—アグロメディカル・サイエンス 2 抗糖尿病作用を有するアディポネクチン様作用を発揮するオスモチンの作用機構 Adiponectin-like Activities of Osmotin」, アンチ・エイジング医学 Vol.7 No.6, 26-30 (2011)

以上