ERATO 山本環境応答プロジェクト中間評価報告書

研究総括：

山本 雅之【筑波大学先端学際領域センター / 人間総合科学研究科 教授】

研究体制：

個体応答グループ（筑波大学先端学際領域センター）

順方向遺伝学グループ（筑波大学人間総合科学研究科）

分子細胞応答グループ（筑波大学医学専門学群）

評価委員：

石井 俊輔【理化学研究所筑波研究所 / 主任研究員】

井上 正宏【大阪府立成人病センター研究所 / 部門長】

三谷 絹子【獨協医科大学 / 教授】

宮園 浩平【東京大学大学院医学系研究科 / 教授】

村松 正實【埼玉医科大学ゲノム医学研究センター、東京大学名誉教授】

（ は主査）

総合評価：秀（Excellent）

1. 総論

ヒトを含む脊椎動物が外界環境からのストレスに如何に対応して生きているか、を分子レベルで総合的に理解することは極めて重要なことにも関わらず、十分になされていなかった。本 ERATO 山本環境応答プロジェクトはそれを目指し、「環境適応 / 応答機構」という生命科学の中でも最も新しい分野を扱うものであり、独創的で十分な広がりを持った構想による研究を実践している。これらの研究は、薬物毒性、炎症性疾患、がんの発症機構に新しい光を当て、普遍的な転写制御機構を解明するものと期待され、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」に良く合致している。本プロジェクトは以下に詳述するように、3つのグループによる異なるアプローチがうまく統合し、「環境応答の分子メカニズムの解明」につながるよう設定され、かつ筑波大学の協力のもとに大学と密接に関連した形で行われている。これまでの研究成果は大変すばらしく、これは山本研究総括の指導力、運営力によるところが大きく、高く評価され

るべきである。

2. 評価の詳細

(1) 個体応答グループ

このグループは、本プロジェクトの中心となるもので、マウス個体を用いた遺伝子ノックアウト、BAC (Bacterial artificial chromosome: 細菌人工染色体) ベクターによるトランスジェニック発現等を駆使して、目標とする環境応答転写因子群の機能解析を行っている。マウス個体レベルでの解析は *in vitro* 実験系とは異なり、生体内で実際に起こっている反応を解析出来る点が最大のメリットであるが、多大な時間と費用を要する。この難点が ERATO の効率的なサポートにより克服されており、ERATO の良い面が現れている。ストレス応答を、主に Nrf2-Keap1 (Nrf2: NF-E2 related factor 2, Keap1: Kelch-like ECH-associated protein 1) 系による「酸化ストレス応答」と、HIF2 (Hypoxia-inducible factor 2: 低酸素誘導因子 2) 制御系による「低酸素応答」に分類して解析し、分子の実態を証明しつつある。また Keap1 の立体構造の解析に成功し、その作用のメカニズムを構造のレベルで明らかにした (Molecular Cell, 2006 に掲載)。またエリスロポエチンに関する研究では、これまで明らかとなっていなかった腎臓におけるエリスロポエチン産生細胞を同定することに成功し、REP cell と名付けた。このようにこのグループは個体レベル、分子レベルでの研究を展開し、いくつかのブレークスルーとなるような重要な成果をあげた点は特筆すべきである。このまま順調に研究が遂行されれば、環境応答の分子メカニズムの理解に大きな貢献が期待されると共に、環境応答機構の異常による疾患の予防や診断に繋がる応用面への発展が大いに期待できる。技術面では、このグループによって開発されたマイクロインジェクションシステムは研究の効率化に貢献しており、*in vitro* 高感度イメージングシステムを用いた個体レベルでの非侵襲的な遺伝子発現の可視化は、将来の臨床応用にも期待が持たれる。

(2) 順方向遺伝学グループ

このグループは、活性酸素や外来性毒物に反応して「生体防御システム」を形成する新規遺伝子を数多く同定し、それらの機能を解明しようとしている。その系としてゼブラフィッシュを用い、エチルニトロソウレアを変異原として glutathione transferase P の発現を指標に、変異株をいわゆる順方向遺伝学の手法で分離するという戦略である。このように、このグループは新規の環境応答因子の発見を目指しており、真の意味での新

しい展開が期待されることから、本プロジェクトの全体の進展にとってきわめて重要な位置を占めている。この小型の魚類を用いることは多産で発生・成長が早いこと、体が透明なこと等、各種の有利な点があり、また脊椎動物としてマウスとの比較が可能であることから、独創的なアイデアであると評価できる。このアプローチは大規模スクリーニングを戦略とせざるを得ないものであり、まさに ERATO プロジェクトならではのテーマである。適切な設備投資がなされ（水槽の準備等）、人的配置も十分になされている。通常、こうした大型プロジェクトに異分野の研究者を入れても、プロジェクト全体の目的に合致した研究を行うのはなかなか困難な場合が少なくない。そのような中でこのグループはゼブラフィッシュのシステムを十分に活用し、Nrf2-Keap1 システムに関わる多くの変異系統を単離したことは特筆できる。また、親電子性物質への応答の異常な変異体も多数見出されて、その解析が進められている。特に、Keap1 の不活性化だけでは説明のできない現象を見出したことは、新たな環境応答センサーの存在を示唆していて興味深い。今後、新規に同定された変異体の遺伝子解析が進展し、それらの機能が明らかにされ、我々の環境ストレスに対する応答システムの全貌が見えてくることが期待される。勿論、これらはヒトの疾患の病理や、診断・治療にも大きく貢献するであろう。

（3）分子細胞応答グループ

このグループは、個体応答グループと共にこのプロジェクトの中心となって Nrf2-Keap1 システムの研究をその最初から行って来ており、プロジェクトの骨格を支えている。従って、このグループの研究成果は他のグループの研究と密接な関連があり、総合的に評価した方が良いと思われる。このグループは主として、以下の2つの方向の研究を進めている。その1つは、「個体の恒常性を維持するための Nrf2/ARE 経路(ARE: antioxidant responsive element 抗酸化剤応答配列)の役割」の解明であり、もう1つは「Nrf2 による転写制御機構の分子レベルでの解析」である。両者共に重要な課題であり、且つ新しい進歩が見られる。前者では BAF (Barrier-to-autointegration. factor) 複合体の ATPase サブユニットである BRG1 がヘムオキシゲナーゼ 1 (HO-1) 遺伝子の転写制御領域に働いて Z 型 DNA の形成を促進し、HO-1 クロマチンを活性化することを見出した。また、炎症によって生じたプロスタグランジンの一型が Nrf2 を活性化して抗炎症作用を現すことも見出した。後者では Nrf2 の活性化ドメインである N 末領域に特異的に結合するタンパク質を探して、調節因子である TRRAP を見出した。これは、複数の HAT (ヒストン・アセチルトランスフェラーゼ) 複合体に共通して含まれるサブユニットであるが、これのロックダウン解析により Nrf2 依存的転写活性化を抑制する因子であることが明らかとなった。このように、このグループによる Nrf2-Keap1 経路の生化学

学的解析は、マウスやゼブラフィッシュを用いた個体レベルの解析に分子基盤を提供するものである。このように分子の立体構造解析、新規結合物質の同定、炎症性疾患の分子機序の解析等、多方面にわたる成果を挙げ、このグループはその使命を果たしている。

(4) プロジェクトの運営状況と今後の見込み

設定された全体構想は大変しっかりとしており、研究総括の強い志向性をもってプロジェクトは遂行されている。個体応答グループの遺伝子改変マウスプロジェクトは構想、成果ともに卓越しており、それに加えて順方向遺伝学グループの順方向遺伝学的アプローチを組み入れたことは、野心的でさらなる発展が期待できる。プロジェクトの基盤となっている分子生物学的解析を分子細胞応答グループが支えていることも、プロジェクトを安定させている。このように、研究の枠組みはこの規模ではほぼ最善に組み立てられており、各グループとも優秀な人材が十分に配置され(本プロジェクトから2名の教授が輩出されている。)成果が出る体制が整っている。また、筑波大学や外部研究グループとの協力も十分であり、構造解析なども順調に進展している。今後も3つのグループが密接な連携のもとに研究を進めて行くことを期待したい。

本プロジェクトはプロジェクトそのものが外部でもよく知られており、広報の面でも十分な努力が行われている。環境応答というテーマそのものが社会的にも重要なテーマであることから、今後も引き続き努力されることを期待する。本研究は5年のプロジェクトであるため、最終年度ではそれぞれの研究員の今後の研究をどうするか(どこで行うか)が問題となってくると思われる。現在、研究が順調に進行していること、それぞれのグループが密接な連携のもとに研究を進めていることを考慮して、最終年度まで十分な研究が遂行されるような環境作りを期待したい。

以上