

国立大学法人 群馬大学

生体調節研究所 概要

Institute for Molecular and Cellular Regulation
National University Corporation Gunma University

- Department of Molecular and Cellular Biology
- Department of Molecular Medicine
- Biosignal Genome Resource Center
- Metabolic Signal Research Center
- Biosignal Research Center
- Gunma University
Initiative for Advanced Research(GIAR)

2015

生体調節研究所 理念

Idea of the Institute

科学研究の成果は 研究者個人々の独創性の結晶である。

独創性は、前人が気付かなかった事実を独自の観察力と統合力により必然的、偶然的に新発見する力、あるいは新理論とする力である。

研究所は、このような能力、すなわちセレンディピティが溢れる場として存在しなければならない。

本研究所は、独自性研究を新生する場となるために 次の各項の達成に努める。

- (1) 研究所は、自由な独自性研究の構想とその実験化、知識と考察の自由な相互交換、研究手技と研究材料の自由な相互交換、研究活動の自由な相互評価、自由な共同研究 を基本的に保障する。
- (2) 研究所は、思索的環境、創造的環境の整備に努め、知的創造文化の発展と継承を行う。
- (3) 研究所は、適正なる競争的環境を整備するとともに、知的創造活動を志す学徒の育成、輩出に努める。
- (4) 研究所は、科学研究の成果を社会に還元し、人類の科学文化の向上に貢献する。





目次

Contents

理念	2
Idea of the Institute	
所長挨拶	4
Director's message	
研究組織 & 教員	5
Organization & Academic Staff	
研究所の取り組み	6
Institute Activities	
研究活動・研究費	13
Research Activities/Research Funds	
研究部門紹介	14
Introduction of the Departments	
生体情報部門	14
Department of Molecular and Cellular Biology	
遺伝子情報分野	14
Laboratory of Molecular Genetics	
細胞構造分野	16
Laboratory of Molecular Traffic	
シグナル伝達分野	18
Laboratory of Signal Transduction	
核内情報制御分野	20
Laboratory of Nuclear Signaling	
病態制御部門	22
Department of Molecular Medicine	
細胞調節分野	22
Laboratory of Cell Physiology	
遺伝生化学分野	24
Laboratory of Molecular Endocrinology and Metabolism	
分子細胞制御分野	26
Laboratory of Molecular Cell Biology	
生体情報ゲノムリソースセンター	28
Biosignal Genome Resource Center	
ゲノム科学リソース分野	28
Laboratory of Genome Sciences	
代謝シグナル研究展開センター	30
Metabolic Signal Research Center	
代謝シグナル解析分野	30
Laboratory of Metabolic Signal	
生体情報シグナル研究センター	32
Biosignal Research Center	
分泌制御分野	32
Laboratory of Secretion Biology	
生体膜機能分野	34
Laboratory of Molecular Membrane Biology	
未来先端研究機構	36
Gunma University Initiative for Advanced Research(GIAR)	
細胞シグナル分野	36
Laboratory of Cell Signaling	
年表	38
Brief History	
建物	39
Facilities	

内分泌・代謝学に関する唯一の基礎医学・生物学研究所の歴史と使命



研究所長
泉 哲郎
Director/Tetsuro Izumi

生体調節研究所は、1951年、群馬大学医学部に附属内分泌研究施設が設置されたことに源を発します。海のない群馬県では、海藻に含まれるヨードの摂取不足により甲状腺腫が多く、群馬大学医学部では、甲状腺ホルモンなど内分泌物質とその機能異常による疾患を中心研究テーマにすべきということになったようです。1963年には、日本内分泌学会や日本学術会議の後押しもあり、医学部附属研究施設から大学附置研究所に昇格され、当研究所の前身となる内分泌研究所が誕生しました。内分泌研究所では、甲状腺ホルモンの生成機構、新しいホルモン・モチリンの同定、種々のホルモンに対する抗体作製など、多数の先駆的研究が成されました。しかし、その後の分子生物学や細胞生物学の進歩によって、タンパク質の選別機構、細胞内膜輸送、シグナル伝達などの基本的分子機構が明らかにされ、内分泌学の研究も変化していきました。また、遺伝子欠損マウスの作製が可能となって、遺伝子産物の役割や疾患との関連を個体レベルで研究できるようになりました。このような研究対象や手法の変化を背景に、1994年、内分泌研究所は生体調節研究所に改組され、現在に至っています。そして糖尿病、肥満、動脈硬化、炎症など、より複雑

で頻度の高い生活習慣病の研究が盛んに行われるようになりました。さらに近年では、メタボリック症候群の例に見られるように、摂食調節に関わる神経系や、慢性炎症に関わる免疫系など、臓器・組織間の機能調節を統合的に司る生体調節系の研究も進んでいます。研究所では、臨床医学教室と異なり、患者さんやヒト標本に直接接する機会は少ないですが、基礎医学教室ならではの独自性、継続性のある研究アプローチを取って、内分泌・代謝学領域におけるわが国唯一の国立大学附置研究所としての使命を果そうと考えています。具体的には、マウス、線虫、酵母などのモデル生物を用いたり、小動物代謝機能、生細胞における顕微鏡観察、エピゲノム解析、ゲノム編集技術など特色ある手法を用いて、研究を行っています。これまで当研究所は、2002～2006年度にかけて21世紀COEプログラム「生体情報の受容伝達と機能発現」、2007～2011年度にかけてグローバルCOEプログラム「生体調節シグナルの統合的研究」の拠点に、連続して採択されました。また、2010年度からは、日本内分泌学会、日本糖尿病学会、日本肥満学会などの支援もあり、「内分泌代謝学の共同利用・共同研究」拠点に認定され、当研究所のさまざまな研究リソースを活用した共同研究事業を推進しています。当研究所は、2013年に設立50周年を迎え、2014年には学長直轄組織の未来先端研究機構と連携しました。現在、国立大学法人、特に地方大学の比較的小規模な研究機関を取り巻く財政事情には、非常に厳しいものがあります。私たちは、高水準の研究成果を世界に発信し、社会へ還元することによって、国内外の研究者や一般の方々に認知されるよう、一層努力しなければならぬと思っています。

History and Mission of IMCR

Our institute was started as the Endocrine Research Facility of Medicine, which was founded in 1951 as an adjunct facility of the Medical Department of Gunma University. At that time, because of insufficient intake of seaweed that caused iodine deficiency, there were many in inland Gunma who suffered from thyroid disease. In 1963, with support from the Science Council of Japan and the Japan Endocrine Society, the Institute of Endocrinology was established as a facility that was directly attached to Gunma University. The institute produced pioneering works such as elucidation of the mechanism of thyroid hormone synthesis, discovery of a new hormone—motilin—and generation of antibodies against various hormones. With the progress in molecular and cellular biology, the basic mechanisms of protein sorting, membrane trafficking, and signal transduction were soon revealed, which significantly changed the concept of endocrinology. Furthermore, genetically modified mice that were developed in the 90's enabled us to directly investigate the *in vivo* function of specific gene products and their relationship with diseases. In consideration of all these changes, the Institute of Endocrinology was reorganized in 1994 to the Institute for Molecular and Cellular Regulation (IMCR). Since then, our interest has gradually shifted from simple endocrine diseases

to more complex and common diseases such as diabetes, obesity, and atherosclerosis. Neuronal regulation of energy intake and expenditure, and immunological regulation of chronic inflammation have also become our topics of interest as they are involved in metabolic syndromes. We study these diseases via genetically modified mice, nematodes, and yeasts using advanced techniques such as metabolic monitoring, live-cell imaging, epigenetics, and genome editing etc. As such, our mission is to be a unique basic research institute in the field of endocrinology and metabolism in Japan. Our institute has continuously made a mark as a center for the 21st Century Center of Excellence (COE) program from 2002 to 2006, a center for Global COE program in collaboration with Akita University from 2007 to 2011, and as the Joint Usage/Research Center for Endocrine/Metabolism since 2010. Currently, IMCR has been involved in many collaborations to provide domestic and international researchers with unique resources and techniques. IMCR celebrated its 50th anniversary in 2013 and further expanded in 2014 on association with the Gunma University Initiative for Advanced Research. We make continuous efforts to produce high-quality research, despite limited funding, in order to serve the scientific community and general society.

所 長：泉 哲郎

副 所 長：徳永 文稔

部門・センター	分 野	職名・氏名
生体情報部門	遺伝子情報分野	教 授：山下 孝之 助 教：小田 司 助 教：関本 隆志
	細胞構造分野	教 授：佐藤 健 准 教 授：原 太一
	シグナル伝達分野	教 授：岡島 史和 准 教 授：佐藤 幸市 助 教：茂木 千尋 助 教：青木 悠
	核内情報制御分野	准 教 授：佐藤 隆史 助 教：諸岡 信克
病態制御部門	細胞調節分野	教 授：小島 至 准 教 授：柴田 宏 助 教：長澤 雅裕 助 教：中川 祐子
	遺伝生化学分野	教 授：泉 哲郎 講 師：奥西 勝秀 助 教：松永 耕一 助 教：水野 広一
	分子細胞制御分野	教 授：徳永 文稔 助 教：後藤 栄治 助 教：及川 大輔
生体情報ゲノムリソースセンター センター長（兼）平井 宏和	ゲノム科学リソース分野	教 授：畑田 出穂 助 教：堀居 拓郎
	疾患ゲノム研究分野	客員教授：樗木 俊聡 客員教授：鈴木 聡 客員教授：佐藤 孝明
代謝シグナル研究展開センター センター長（兼）北村 忠弘	代謝シグナル解析分野	教 授：北村 忠弘 准 教 授：佐々木 努 助 教：小林 雅樹 助 手：橋本 博美
	トランスレーショナルリサーチ分野	兼任教授：倉林 正彦 客員教授：植木 浩二郎 客員教授：福井 清 客員教授：坂本 信二 客員教授：古澤 研一
生体情報シグナル研究センター センター長（兼）泉 哲郎	分泌制御分野	准 教 授：鳥居 征司
	生体膜機能分野	准 教 授：佐藤 美由紀
未来先端研究機構 シグナル伝達研究プログラム プログラムディレクター（兼）泉 哲郎	細胞シグナル分野	准 教 授：吉田 知史 助 教：高稲 正勝



研究所の概要



所長
泉 哲郎
Izumi, Tetsuro

【キーワード】

内分泌・代謝、生活習慣病、細胞生物学、ゲノム・エピゲノム解析

【住所】

〒371-8512
群馬県前橋市昭和町 3-39-15

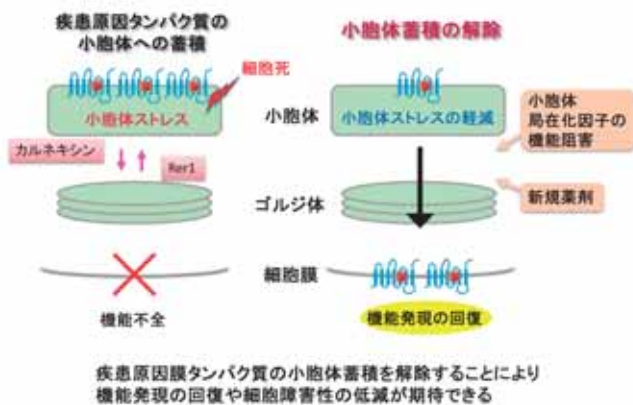
内分泌・代謝を中心とした生体調節機構とその破綻による生活習慣病の成因、病態生理の解明

当研究所は、1963年に内分泌研究所として設立され、1994年に生体調節研究所と名称が変更されました。内分泌・代謝を中心に、生体を統合的に調節する系の分子機構と、その破綻によって起こる疾患の成因・病態生理の研究を行っています。主なテーマは、受容体と細胞内シグナル伝達、開口放出・エンドサイトーシスなど細胞内膜輸送、膵β細胞の分泌や分化・再生、生体における代謝制御、糖尿病・肥満症をはじめとする生活習慣病の成因・病態生理、エピゲノム解析、炎症応答やDNA・タンパク質損傷ストレス応答などです。2010年度から内分泌代謝学の共同利用・共同研究拠点に認定されています。

平成26年度の研究活動内容及び成果

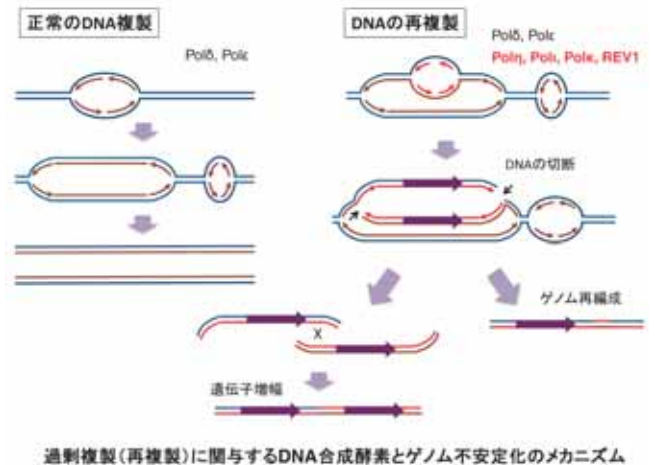
疾患原因膜タンパク質が小胞体に蓄積する仕組みを解明

ロドプシン、PMP22など、細胞膜で機能する膜タンパク質が変異すると、小胞体に過剰蓄積し、網膜色素変性症やシャルコー・マリー・トゥース病が引き起こされます(図左)。小胞体蓄積に関与する因子としてRer1やカルネキシンを同定し、これら分子の機能を低下させると、変異タンパク質が部分的に小胞体から細胞膜へと輸送され、小胞体蓄積が緩和されました(図右)。本研究結果は、異常タンパク質が小胞体に蓄積する様々な遺伝性疾患の病態解明、治療薬開発に役立つと期待されます。



がん細胞におけるDNA過剰複製の仕組みを解明

がんの完治を困難にする要因のひとつは、ゲノムが不安定なため、遺伝的多様性を獲得する過程で治療耐性細胞が出現し、治療後それらが優勢になることです。ゲノム不安定の原因として、DNAの過剰な複製(再複製)による遺伝子増幅やゲノム再編成が知られています。このたびDNA再複製に、正常なDNA複製に関与する合成酵素と独立して、YファミリーDNA合成酵素が関与することを見出しました。この知見は、新しいタイプのがん治療法開発に役立つと期待されます。



社会との連携

最先端医学研究の現状と研究の面白さを地元市民、高校生へ紹介

▶まちなかキャンパス

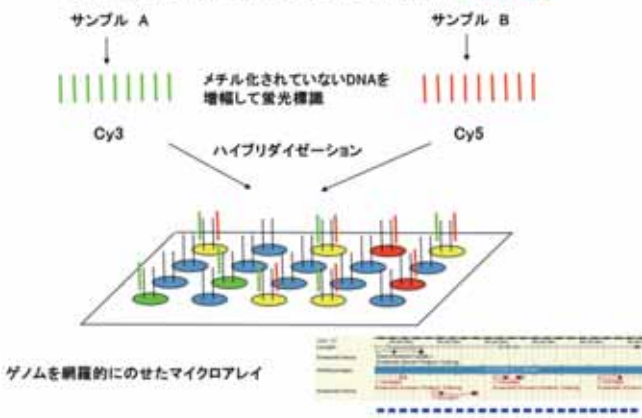
年十数回各90分間程度、一般市民を対象に「まちなかキャンパス:ここでしか聞けない医学・科学の話いろいろ」と題して、最先端の医学研究知見をわかりやすく提供しています。

▶出前授業と施設見学会

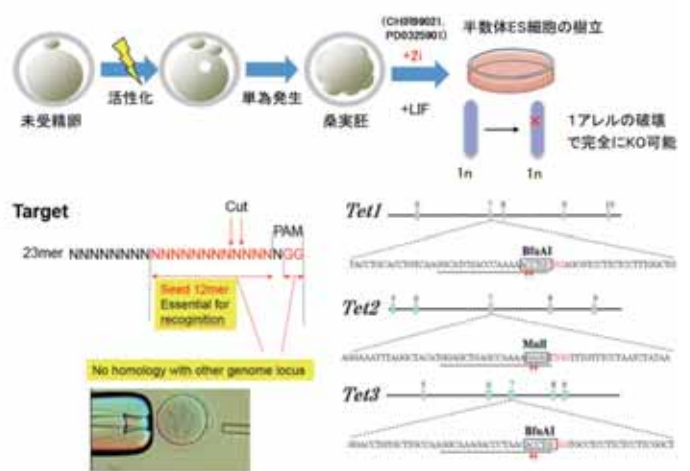
群馬県内高校への出前授業と、高校生を招待して、研究所施設見学や研究者キャリアパスの紹介をしています。

生体調節研究所の研究リソース

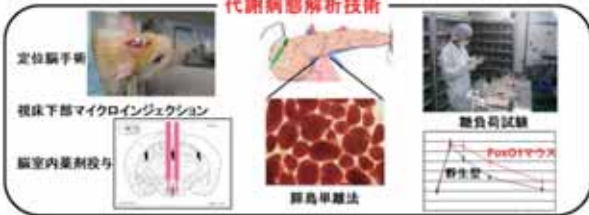
マイクロアレイを用いたDNAのメチル化を網羅的に解析 (MIAMI法)



半数体ES細胞の樹立と、CRISPR/Cas9を用いた3遺伝子の同時ノックアウト



代謝病態解析技術



代謝モニタリングシステム



小動物摂食・摂水行動量同時測定システム 小動物薬液投与システム



遺伝子タンパク質解析システム

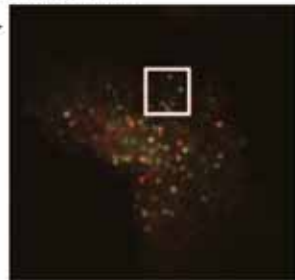
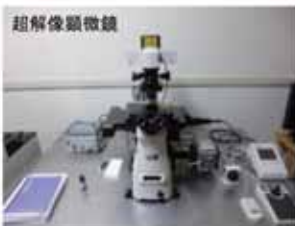


生体イメージングシステム

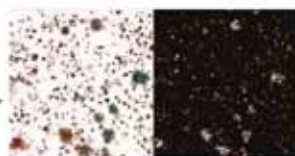


先端顕微鏡を用いた微細構造解析

全反射顕微鏡で見た、インスリン顆粒(緑)と細胞膜ドッキングに関わる分子(赤)の局在(右)



超解像顕微鏡で見た、顆粒の細胞膜ドッキングに関わる分子の局在(右)と、そのクラスタリング図(左)



線虫C. elegansを用いた細胞内物質輸送と代謝メカニズムの研究



低密度リポタンパク質の分泌と取り込みを可視化できる線虫(左)低密度リポタンパク質(LDL)様の脂質成分(緑)を腸に取り込む正常な線虫(右)脂質成分の取り込みに異常がある変異株

受精卵に侵入した精子由来の女性ミトコンドリア

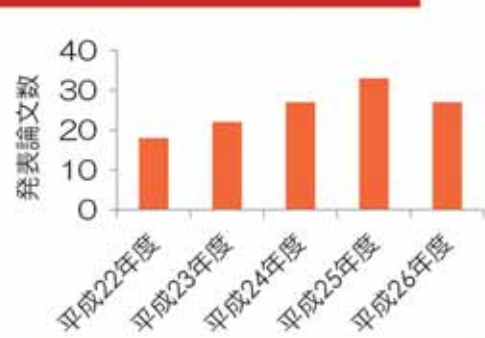
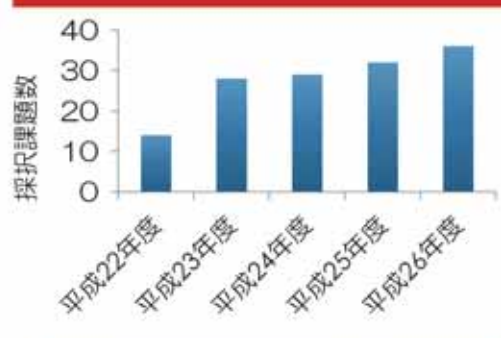
線虫受精卵に侵入した女性ミトコンドリア(緑)はその後オートファジーによって分解される

背景 内分泌・代謝学はメタボリック症候群への社会的関心の高まりから、全国で幅広い展開を見せている。群馬大学生体調節研究所は全国でも唯一、内分泌・代謝学を中心に研究を行っている。

目的 群馬大学生体調節研究所を全国の共同利用・共同研究拠点とし、内分泌・代謝学研究を横断的、多層的展開を行い、ハイレベルの研究成果を生み出す。



平成22～26年度「内分泌・代謝学共同研究拠点」成果



●若手・女性研究者育成への取り組み

外国人2名を含む拠点特任研究員8名採用し、うち5名がアカデミックポジションを得ており、効果的なキャリアパスモデルを形成した。

平成22～26年度に139件の課題を採択。平成26年度から糖尿病・肥満関連、若手研究者・女性研究者、外国研究者などの重点課題を設け、重みを付けた助成を行っている。

平成22年度～26年度に127報の論文を発表し、平均インパクトファクターは5.71であった。

マウス代謝機能解析法やエピゲノム研究法に関する先進的技術講習会を開催し、スキルアップ支援をしている。

●主な論文発表

- Cell Metabolism* (2010) IPF= 17.565
- Nature Medicine* (2011) IPF= 27.363
- Science* (2011) IPF = 33.611
- Cell* (2012) IPF= 32.242
- Nature Genetics* (2012) IPF= 29.352
- EMBO J.* (2012) IPF = 10.434
- Nature* (2013) IPF= 41.456
- Nature Commun.* (2013) IPF= 11.470
- Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (2014) IPF= 9.674

●内分泌・代謝学研究への貢献

- Diabetes* (IPF= 8.095) 4報
- Diabetologia* (IPF= 6.671) 4報
- Endocrinology* (IPF= 4.503) 6報
- Traffic* (IPF= 4.350) 4報

●独創的な研究リソースの提供

遺伝子改変マウスや線虫などの生物種や市販されていない抗体等の提供。

先端的な代謝・シグナル解析機器類の共同利用。

平成27年度の共同研究採択状況

●グローバル化を目指した国際的な共同研究の展開

平成26年度に3件の外国人研究者課題を採択し、グローバルな共同研究を推進した。

平成27年度は、「糖尿病・肥満関連」2件、「若手研究者・女性研究者」4件、「外国研究者」7件の重点課題を含む41課題を採択し、共同研究を推進している。

平成27年度「内分泌・代謝学共同研究拠点」共同研究採択一覧

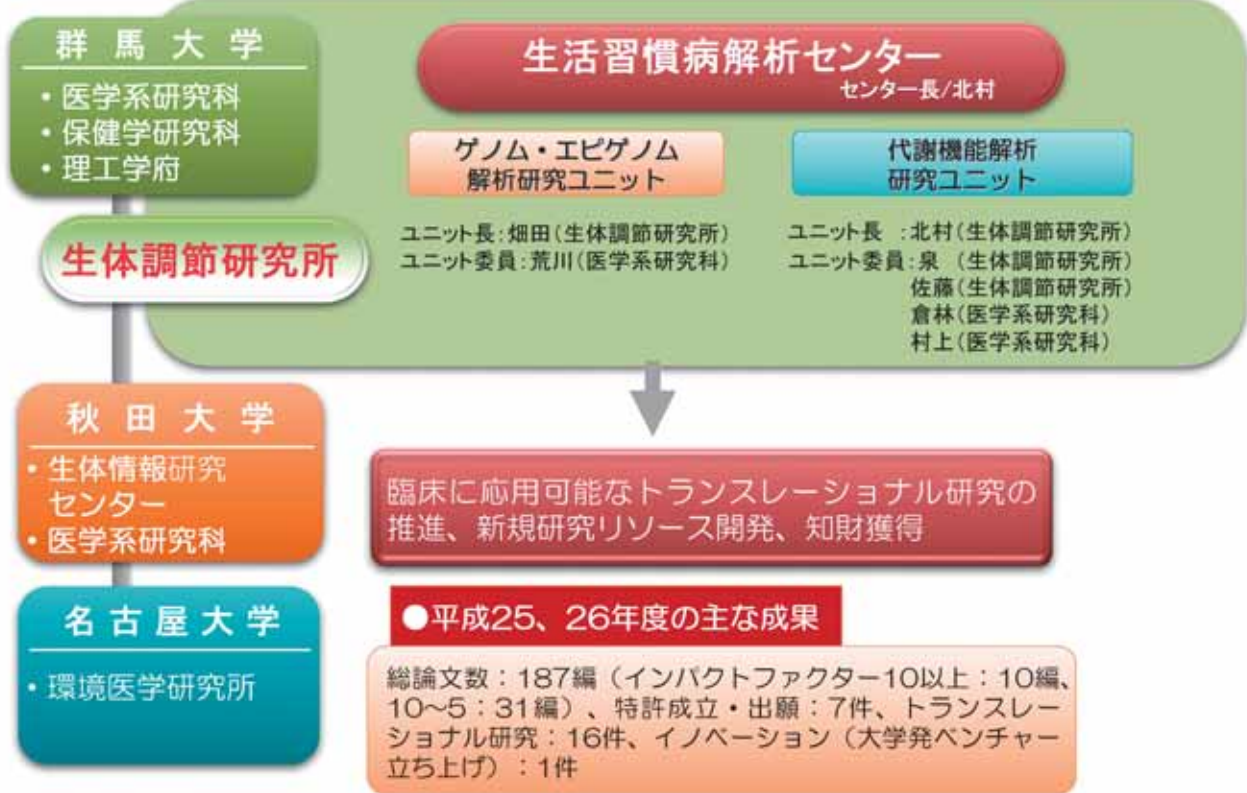
整理番号	課題番号	所属機関名	職名	申請代表者	共同研究課題	新規・継続	研究所担当教員
重点課題（1）「糖尿病、肥満関連の研究課題」 2件							
1	14004	信州大学医学部	教授	駒津 光久	インスリン分泌の分子機構	継続	教授・泉 哲郎
2	15001	東京医科歯科大学医学部附属病院	助教	土屋恭一郎	NASHにおけるマクロファージのフォークヘッド転写因子の病態生理的意義の解明	新規	教授・北村 忠弘
重点課題（2）「若手（39歳以下）研究者・女性研究者の研究課題」 4件							
3	14011	国立研究開発法人放射線医学総合研究所	主 任 技 術 員	塚本 智史	マウス生体内における代謝関連オルガネラの選択的分解機構に関する研究	継続	教授・佐藤 健
4	14012	九州大学大学院薬学研究院	准 教 授	仲矢 道雄	心筋梗塞時におけるプロトン感知性受容体の役割解析	継続	教授・岡島 史和
5	14018	独立行政法人国立病院機構 東京病院	室 長	鈴川 真穂	Th2型免疫応答におけるRab27エフェクター分子の役割の解明	継続	教授・泉 哲郎
6	15002	国立研究開発法人国立がん研究センター研究所	研 究 員	吉岡 祐亮	内分泌機能としてのExosomal microRNAの働き一 生体調節系への新たな関与因子の発見	新規	教授・畑田 出穂
重点課題（3）「外国研究者の研究課題」 7件							
7	13010	Pusan National University (韓国 釜山国立大学)	Professor	Dong-Soon Im	Role of OGR1 family GPCRs in inflammation	継続	教授・岡島 史和
8	14023	University of California Davis (米国 カリフォルニア大学デービス校)	Professor	Peter Havel	Postprandial lipoprotein metabolism by lipoprotein lipase and hepatic lipase	継続	教授・岡島 史和
9	14022	中国 西安交通大学	教 師	侯 妃	膵β細胞における活性酸素種調節機序の研究	継続	准教授・鳥居 征司
10	15003	Howard Hughes Medical Institute (米国 ハワード・ヒューズ医学研究所)	Associate Member	Toshiyasu Taniguchi	Role of Fanconi anemia (FA)/Breast cancer (BRCA) pathway in oncogene-induced replication stress responses	新規	教授・山下 孝之
11	15004	University of Birmingham (英国 バーミンガム大学)	Group leader	Grant Stewart	Role of Y-family polymerases in repair of DNA interstrand crosslinks	新規	教授・山下 孝之
12	15005	Brooklyn College, City University of New York (米国 ブルックリン・カレッジ・ニューヨーク市立大学)	Assistant Professor	Amy E Ikui	A new role of Protein phosphatase 2A (PP2A) in preventing overduplication of the genomic DNA.	新規	准教授・吉田 知史
13	15006	University of Cincinnati, College of Medicine (米国 シンシナティ大学医学部)	Assistant Professor	Atsuo T. Sasaki	Regulation of phosphatidylinositol kinases by GTP	新規	准教授・吉田 知史
通常課題 28件							
14	13001	国立研究開発法人国立成育医療研究センター研究所	室 長	中林 一彦	子宮内成長不全のDNAメチル化解析	継続	教授・畑田 出穂
15	13002	静岡大学大学院理学研究科	教 授	鈴木 雅一	ヌタウナギ甲状腺高ヨウ素・高ホルモンタンパク質の同定と比較生化学的研究	継続	教授・岡島 史和
16	13008	神戸大学大学院医学研究科	教 授	的崎 尚	神経・免疫・内分泌系を統合的に制御する細胞間シグナルCD47-SIRP α系の機能と病態	継続	教授・北村 忠弘
17	13013	佐賀大学医学部	教 授	副島 英伸	エピゲノム・ゲノム解析による間葉性異形成胎盤(PMD)の原因遺伝子同定	継続	教授・畑田 出穂
18	13015	群馬大学医学部附属病院	講 師	佐藤 哲郎	Hel2ノックアウト(KO)マウスにおける高脂肪食誘導性脂肪肝抵抗性の分子機構の更なる解明	継続	教授・北村 忠弘
19	13016	愛媛大学プロテオサイエンスセンター	教 授	澤崎 達也	コムギ無細胞タンパク質合成系を用いた網羅的ユビキチン化解析	継続	教授・徳永 文稔
20	14002	群馬大学大学院医学系研究科	准 教 授	中島 崇仁	76Br 標識 GLP-1 受容体親和性ペプチドを用いたPETイメージング	継続	教授・北村 忠弘
21	14007	群馬大学大学院理工学府	准 教 授	井上 裕介	エピゲノム解析によるHNF4αを介した代謝制御機構の解明	継続	教授・畑田 出穂
22	14010	大阪大学医学系研究科	助 教	國井 政孝	複数のモデル動物を用いた、上皮細胞の極性や分泌を制御する遺伝子の同定と解析	継続	教授・佐藤 健
23	14014	群馬大学大学院医学系研究科	講 師	茂木精一郎	皮膚におけるRab27及びそのエフェクター分子の役割の解明	継続	教授・泉 哲郎
24	14017	九州大学生体防御医学研究所	助 教	西尾 美希	Hippo経路による肥満の制御	継続	教授・北村 忠弘
25	14020	国立研究開発法人 国立環境研究所	室 長	野原 恵子	環境化学物質の胎児期曝露による多世代・継世代影響の機序の探索	継続	教授・畑田 出穂
26	14025	秋田県立大学生物資源科学部	教 授	穂坂 正博	イリジウム錯体の光線力学治療薬としての可能性を検証する	継続	准教授・鳥居 征司
27	14027	学習院大学理学部	助 教	横井 雅幸	細胞老化と発がんにおける複製ストレス・シグナルとクロマチン動態の解明	継続	教授・山下 孝之
28	14028	広島大学大学院理学研究科	教 授	井出 博	DNA-蛋白質架橋と複製ストレス応答	継続	教授・山下 孝之
29	14032	群馬大学大学院保健学研究科	教 授	大西 浩史	低体温をモデルとした新規代謝制御システムの探索	継続	教授・岡島 史和
30	14036	群馬大学大学院理工学府	准 教 授	山田 圭一	ホルモン非感受性乳がんに対するペプチド薬剤の細胞死誘導機構の解明	継続	准教授・鳥居 征司
31	15007	滋賀医科大学	講 師	山本 寛	減量手術による糖尿病改善効果の機序の解明	新規	教授・北村 忠弘
32	15008	群馬大学大学院医学系研究科	教 授	荒川 浩一	ニューロンにおけるゲノム空間配置とエピジェネティクスの関連	新規	教授・畑田 出穂
33	15009	岐阜大学大学院医学系研究科	准 教 授	梶田 和男	新たな前駆脂肪細胞の機能解析	新規	教授・小島 至
34	15010	杏林大学医学部	助 教	青柳 共太	オートファジーによるミトコンドリア恒常性維持機構を介した膵β細胞からの第2相インスリン分泌制御機構	新規	准教授・鳥居 征司
35	15011	徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部	助 教	堤 理恵	心筋細胞におけるロイシンのミトコンドリア融合活性化機構と代謝調節	新規	教授・北村 忠弘
36	15012	日本大学生物資源科学部	教 授	五味 浩司	ペプチドホルモン生成と分泌顆粒形成機構の連関を探索	新規	准教授・鳥居 征司
37	15013	群馬大学医学部附属病院	講 師	清水 晶	前脛骨型先天性表皮水疱症の発症メカニズム	新規	教授・徳永 文稔
38	15014	東京大学	助 教	齋藤 朗	肺上皮細胞におけるRab27関連分子の機能の解明	新規	教授・泉 哲郎
39	15015	東京大学医科学研究所	准 教 授	尾山 大明	ショットガンプロテオミクスによるリン酸化シグナル伝達経路の網羅的解析	新規	教授・徳永 文稔
40	15016	東北大学大学院薬学研究科	准 教 授	野口 拓也	LKB1分解阻害剤開発における分子基盤の確立	新規	教授・徳永 文稔
41	15017	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科	助 教	岡本 裕嗣	神経難病の発症に関連する原因遺伝子の同定と病態の発症機序の解析	新規	准教授・原 太一

ゲノム・エピゲノム解析による生活習慣病の病態解明とその制御を目指した分子標的の探索研究プロジェクト

特別運営費交付金プロジェクト / 国際的に卓越した教育研究拠点機能 平成25年度から9年計画

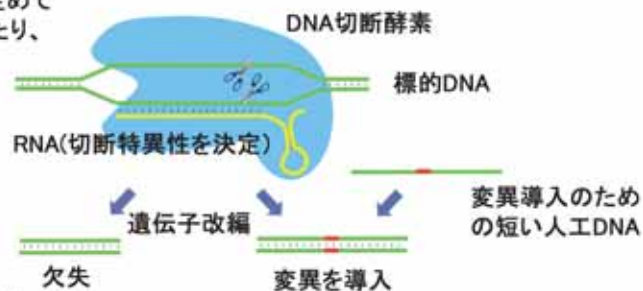
目的

ゲノム・エピゲノム解析、代謝機能解析、生体調節遺伝子改変動物など従来の研究リソースを基盤として、**新しい研究リソースの開発とそれらのリソースを駆使して生活習慣病など生体調節系の異常に基づく疾患の病態解明と新しい創薬標的の同定を目指す。**

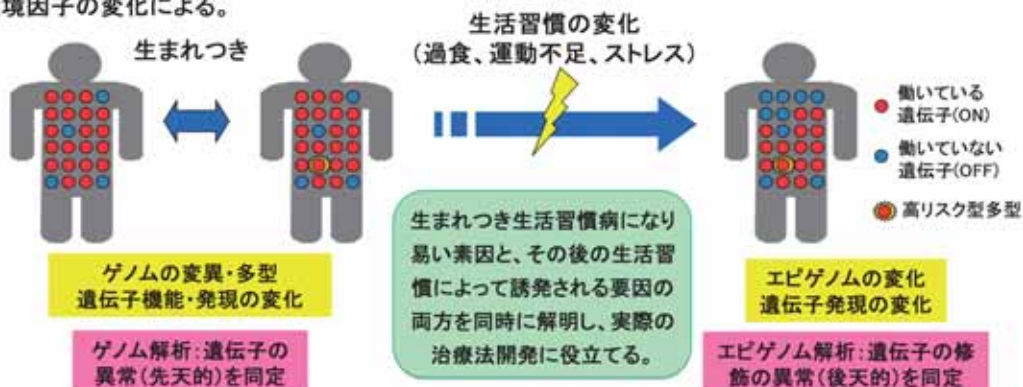


CRISPR/Casゲノム編集技術で、狙いを定めて迅速かつ効率よく、遺伝子機能を解析したり、遺伝子治療を行う。

CRISPR/Casで狙いを定めてゲノム編集



1,2世代の間における疾患の増加は、ゲノムの変化 (遺伝子変異) ではなく、生活習慣などの環境因子の変化による。



国際シンポジウム

International symposium on “Homeostasis through development, life, and diseases.”

★ 2014/11/7 (Fri) 13:00-20:00
★ Tojo Hall, Gunma University (Showa Campus)



社会・地域貢献

ちびっこ大学



まちなか
キャンパス

出前授業&
研究所見学会



▶最近のトピックス

	研究内容	発表論文など	主な関係者	所属
平成 26 年 12 月	がん細胞の「進化」の主な原因～DNA 過剰複製によるゲノム不安定化の仕組みの一端を解明	Mol Cell Biol 35:4:699-715(2015)	関本 隆志、 山下 孝之	遺伝子情報分野
平成 26 年 11 月	神経難病 C M T 病の原因タンパク質が細胞内に蓄積する仕組みの一端を解明	Sci Rep 11:4:6992(2014)	原 太一、 佐藤 健	細胞構造分野
平成 26 年 8 月	網膜色素変性症の原因となる膜タンパク質が細胞内に蓄積してしまう原因の一端を解明	Sci Rep 6:4:5973(2014)	山崎 章徳、 佐藤 健	細胞構造分野
平成 25 年 12 月	長寿遺伝子 SIRT1 による体重調節中枢の制御機構の解明	Diabetologia 57:819-831 (2014)	佐々木 努、 北村 忠弘	代謝シグナル解析分野
平成 25 年 8 月	粘菌由来の新しい抗がん剤候補物質の発見	PLoS One 8 : e72118(2013)	久保原 禪	遺伝子情報分野
平成 25 年 3 月	南米シャーガス病の治療薬候補物質の発見	Biochem Pharmacol 85:1603-1610 (2013)	嶋田 淳子、 久保原 禪	保健学研究科、 遺伝子情報分野
平成 24 年 8 月	新しい肥満遺伝子の発見	Diabetes 62:115-123 (2013)	與五沢 里美、 泉 哲郎	遺伝生化学分野
平成 24 年 8 月	B 細胞リンパ腫発症機構の解明	EMBO J 31:3856-3870 (2012)	徳永 文稔	分子細胞制御分野
平成 24 年 6 月	受精卵における細胞内リモデリングメカニズムの研究	2012 年度(第 17 回)日本女性科学者の会奨励賞を受賞	佐藤 美由紀	細胞構造分野
平成 24 年 4 月	小腸の細胞を変化させ、インスリンを作り出すことに成功	Nature Genetics 44:406-412 (2012)	北村 忠弘	代謝シグナル解析分野
平成 23 年 10 月	ミトコンドリア・イブ(母性遺伝)の機構解明:精子由来のミトコンドリアは卵子の中で自食作用をうける	Science 334: 1141-1144 (2011)	佐藤 美由紀、 佐藤 健	細胞構造分野
平成 23 年 4 月	受精前後における膜ダイナミクスの時空間的制御機構の研究	平成 23 年度科学技術分野の文部科学大臣表彰「若手科学者賞」の受賞	佐藤 美由紀	細胞構造分野
平成 22 年 6 月	イリジウム錯体による低酸素病態のイメージング	Cancer Res 70: 4490-4498 (2010)	穂坂 正博、 竹内 利行	分泌制御分野
平成 22 年 8 月	うつ様行動を制御する蛋白の発見	J Neurosci 30: 10472-10483 (2010)	大西 浩史、 的崎 尚	バイオシグナル分野
平成 22 年 1 月	損傷乗り越え DNA 合成に関与する因子の解明	Mol Cell 37: 79-89 (2010)	小田 司、 関本 隆志、 山下 孝之	遺伝子情報分野
平成 21 年 8 月	粘菌から細胞運動制御因子の発見	PLoS One 4: e6658 (2009)	久保原 禪	遺伝子情報分野
平成 21 年 4 月	豚島における甘味受容体の発現	PLoS One 4: e5106 (2009)	中川 祐子、 小島 至	細胞調節分野

▶若手研究最優秀賞・若手研究学生優秀賞*

	研究内容	発表論文	受賞者	所属
平成26年度	腸上皮細胞の極性形成機構	Mol Biol Cell 25: 3095-3104(2014)	三枝 慶子*	細胞構造分野
平成24年度	脂肪蓄積に関わる遺伝子	Diabetes 62: 115-123 (2013)	與五沢 里美	遺伝生化学分野
平成23年度	ミトコンドリアの母性遺伝	Science 334: 1141-1144 (2011)	佐藤 美由紀	細胞構造分野

研究活動 Research Activities

研究論文掲載誌の推移

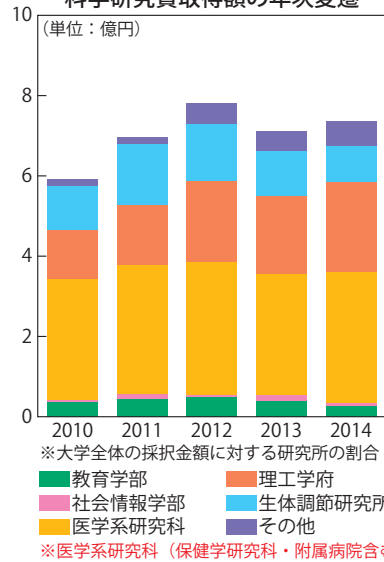
左表は、first author and/or corresponding authorが本研究所を主な研究場所としている論文で、インパクトファクターが5以上のものを示してあります。右表は本研究所員が他施設主導の研究に加わった論文です。

研究所主導の論文	1996 ▼ 2000	2001 ▼ 2005	2006 ▼ 2010	2011 ▼
Nature	0	0	1	0
Science	1	0	0	1
Nat. Cell Biol.	1	0	0	0
Gastroenterology	1	2	0	0
Mol. Cell	0	0	1	0
Trends Neurosci.	0	0	0	1
Nat. Rev. Endocrinol.	-	0	0	1
J. Clin. Invest.	3	1	0	0
Trends Cell Biol.	0	0	1	0
Autophagy	-	0	0	1
Hepatology	6	1	0	0
EMBO J.	0	1	1	1
Blood	0	0	3	0
J. Cell Biol.	0	1	0	0
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.	0	1	2	1
Cancer Res.	0	1	1	0
Oncogene	0	0	1	0
Diabetes	9	5	3	1
J. Bone Miner. Res.	0	0	1	0
Diabetologia	0	0	0	2
Stem Cells	0	0	1	0
Development	0	0	0	1
Hum. Mol. Genet.	0	0	1	0
J. Neurosci.	0	0	2	0
Sci Rep	-	-	-	4
J. Cell Sci.	0	0	2	1
BBA -Mol. Cell Res.	0	0	0	1
Biochem. Pharmacol.	0	0	0	1
J. Immunol.	0	0	5	2
Liver Int.	0	0	0	1
Mol. Cell. Biol.	0	2	1	3
J. Biol. Chem.	11	17	3	4
Endocrinology	0	0	4	3
Mol. Biol. Cell	0	2	4	4
Mol. Cell. Endocrinol.	0	0	0	1
Traffic	0	0	1	4
Cell. Signal.	0	0	0	2
J. Neurochem.	0	0	0	3

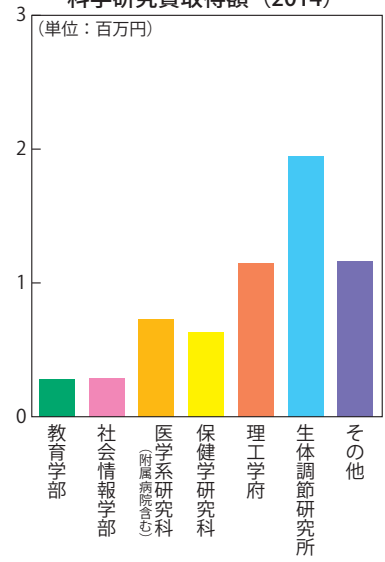
他施設主導の論文	1996 ▼ 2000	2001 ▼ 2005	2006 ▼ 2010	2011 ▼
Nature	1	1	0	1
Science	0	0	1	0
Cell	0	0	0	1
Nature Genet.	0	0	1	1
Nat. Med.	0	0	1	1
Cell Metab.	0	0	2	0
Gastroenterology	0	0	1	1
Nat. Struct. Mol. Biol.	0	0	0	1
J. Clin. Invest.	0	1	1	0
Autophagy	-	0	1	3
Nat. Commun.	-	-	0	1
Hepatology	0	0	0	1
Gene Dev.	0	0	1	0
J. Cell Biol.	0	0	1	1
Dev. Cell	-	0	1	0
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.	2	3	4	0
Cancer Res.	0	0	1	0
Diabetes	0	9	1	3
J. Invest. Dermatol.	0	0	1	1
Plant Physiol.	0	0	1	0
J. Bone Miner. Res.	0	0	1	0
Diabetologia	0	0	0	1
J. Neurosci.	0	0	0	3
Structure	0	0	2	0
Sci Rep	-	-	-	2
J. Cell Sci.	0	2	1	0
FASEB J.	0	0	1	1
Br. J. Pharmacol.	0	0	0	1
Mol. Cell. Biol.	0	0	2	0
J. Biol. Chem.	2	17	1	2
Endocrinology	0	0	0	3
Mol. Biol. Cell	0	0	2	0
Biochem. J.	0	0	1	0
Traffic	0	0	1	0
Cell. Signal.	0	0	0	2
J. Neurochem.	0	0	0	1

研究費 Research Funds

群馬大学における
科学研究費取得額の年次変遷



研究者一人当たりの
科学研究費取得額（2014）



競争的資金等受入状況

(単位：千円)

受入区分	年度	2010	2011	2012	2013	2014
科学研究費		137,421	193,250	183,170	146,120	113,880
グローバル COE プログラム		120,900	109,016	—	—	—
最先端・次世代研究開発支援プログラム		28,934	142,840	80,946	72,280	—
二国間交流事業		1,200	1,200	1,000	1,000	400
厚生労働科学研究費補助金		11,500	5,000	5,000	5,000	—
奨学寄附金		33,780	56,800	45,200	45,350	36,500
受託研究		8,200	11,527	20,135	6,023	14,160
民間等との共同研究		10,470	7,100	3,800	3,300	15,500

遺伝子情報分野



研究スタッフ /Staff

教授	山下 孝之	Professor	Takayuki Yamashita
助教	小田 司	Assistant Professor	Tsukasa Oda
助教	関本 隆志	Assistant Professor	Takayuki Sekimoto
博士研究員	倉島 公憲	Research fellow	Kiminori Kurashima
研究補佐員	富澤 恭子	Assistant Technician	Kyoko Tomizawa
医学部生	尤 礼佳	Medical Student (MD & PhD course)	Ayaka Yu
医学部生	軽部 隆介	Medical Student (MD & PhD course)	Ryusuke Karube
保健学科学生	中村 瑠璃	Student (Dept of Health)	Ruri Nakamura
保健学科学生	松田 美弥子	Student (Dept of Health)	Miyako Matsuda

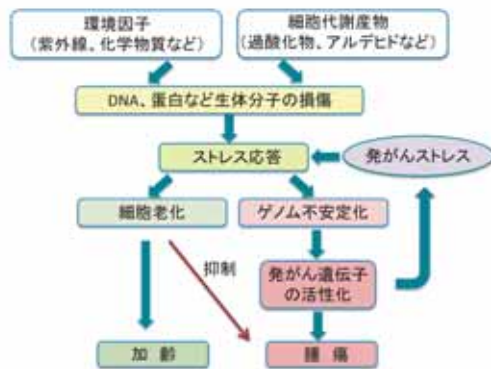


図1 細胞老化、発がんにおけるストレス応答の役割(モデル)

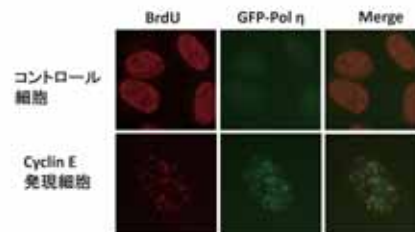


図2 発がん遺伝子によるDNAの異常複製へのYファミリー・ポリメラーゼの関与
ヒト細胞U2OSにおいて発がん遺伝子cyclin Eを過剰発現させると、DNAの異常複製部位
(BrdUが局在する核内フォーカス)にYファミリー・ポリメラーゼのひとつPol ηが集積する。一
方、コントロール細胞のS期細胞では、そのような集積は見られない。

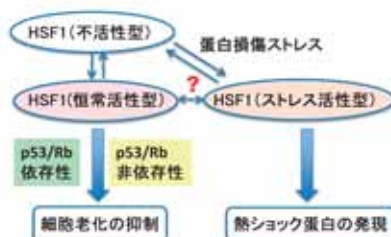


図3 HSF1による細胞老化の制御(仮説モデル)

転写因子HSF1は蛋白損傷ストレスにより、翻訳後修飾や蛋白相互作用の変化を介してストレ
ス活性型となり、熱ショック蛋白の発現を誘導する。一方、非ストレス状態におけるHSF1(恒常
活性型)の発現抑制は、熱ショック蛋白には影響せず、細胞老化を促進する。この作用には
p53/Rb依存性、非依存性の複数経路が関与することが示唆される。現在、HSF1恒常活性化の
メカニズムや標的遺伝子の解析を進めている。

《目標》

細胞の「がん化」「老化」の仕組みを、DNAや蛋白損傷に対する「細胞のストレス応答機構」という視点から解明し、新たな診断マーカー、治療標的を同定すること。

▶ 現在進行中のプロジェクト

細胞は常に、DNAや蛋白を損傷する環境・代謝因子に曝されている。これらの因子は広範な「ストレス応答」を活性化し、ゲノム不安定化や細胞老化を引き起こし、腫瘍の発生や加齢に重要な役割を果たす。また、活性化がん遺伝子は、「発がんストレス」を介して、ゲノム不安定化/腫瘍進行と細胞老化/腫瘍抑制という、相反する作用を引き起こす(図1)。私達は独自の知見に基づいて以下のプロジェクトを進めている。

① 発がんストレスが誘導するゲノム不安定性

発がん遺伝子が誘起するDNA複製異常がゲノム不安定性の主要な原因として注目されている。しかし、がんゲノムに最も高頻度に見られる変化である一塩基置換の発生機構は十分明らかではない。私達は最近、発がん遺伝子が誘導するDNA異常複製に「誤った塩基を挿入しやすい」YファミリーDNAポリメラーゼが関与することを見出し(図2)、その役割を追究している。

② Heat Shock Factor (HSF) 1を介する細胞老化の制御

転写因子HSF1は、蛋白損傷による熱ショック蛋白の発現に中心的な役割を果たす。私達は、非ストレス状態の正常細胞においてHSF1の急速な発現低下がp53/RB依存性および非依存性の複数の経路を介して細胞老化を誘導する(図3)ことを見出し、その分子機構を研究している。

Specific aims

We aim to elucidate the role of “stress responses” in carcinogenesis and cellular senescence and to identify diagnostic biomarkers and therapeutic targets in these cellular processes.

▶ On-going projects

A variety of DNA- and/or protein-damaging agents derived from the environment and cell metabolism activate diverse “stress responses”, inducing genomic instability and cellular senescence, which plays a critical role in tumor development and organismal aging, respectively. Importantly, activated oncogenes also promote genomic instability/tumor progression and cellular senescence/tumor suppression, in a paradoxical manner, through the “oncogenic stress response”.

① Oncogenic stress-induced genomic instability and cellular senescence

Oncogene-induced abnormal DNA replication and subsequent DNA damage promote these processes through poorly understood mechanisms. We previously reported that the “cancer chaperone” Hsp90 activates error-prone Y-family DNA polymerases, potentially

promoting genomic instability in tumor cells. Our recent findings suggest that these polymerases participate in the oncogene-induced aberrant replication.

② Heat Shock Factor (HSF) 1-mediated regulation of cellular senescence

HSF1 transcriptionally activates “Heat Shock Response”, in response to protein-damaging stress. We recently found that acute depletion of HSF1 induces cellular senescence in non-stressed cells in a p53/RB-dependent manner. Interestingly, HSF1 depletion also induces cellular senescence in p53(-)RB(-) tumor cells. These findings suggest that HSF1 regulates senescence through redundant pathways, independently of the heat shock response.

最近の研究成果

Sekimoto T, Oda T, Kurashima K, Hanaoka F, Yamashita T. Both high-fidelity replicative and low-fidelity Y-family polymerases are involved in DNA rereplication. **Mol Cell Biol** 35:699-715 (2015).

Kubohara Y, Kikuchi H, Matsuo Y, Oshima Y, Homma Y. Properties of a non-bioactive fluorescent derivative of differentiation-inducing factor-3, an anti-tumor agent found in *Dictyostelium discoideum*. **Biology Open** 15:289-296 (2014)

Nakajima-Shimada J, Hatabu T, Hosoi Y, Onizuka Y, Kikuchi H, Oshima Y, Kubohara Y. Derivatives of *Dictyostelium discoideum* differentiation-inducing factor-3 suppress the activities of *Trypanosoma cruzi* *in vitro* and *in vivo*. **Biochem Pharmacol** 85: 1603-1610 (2013)

Yamada Y, Kubohara Y, Oshima Y, Wang HY, Ross S, Williams JG. The *Dictyostelium* prestalk inducer DIF-1 directs phosphorylation of a bZIP transcription factor. **Int J Dev Biol** 57: 375-381 (2013)

細胞構造分野



研究スタッフ / Staff

教授	佐藤 健	Professor	Ken Sato
准教授	原 太一	Associate Professor	Taichi Hara
技術職員	小林 久江	Technical Officer	Hisae Kobayashi
博士研究員	前島 郁子	Research Fellow	Ikuko Maejima
技術補佐員	佐藤 克哉	Assistant Technician	Katsuya Sato
技術補佐員	平井 里香	Assistant Technician	Rika Hirai
技術補佐員	阿久澤 共子	Assistant Technician	Tomoko Akuzawa
大学院生 (博士3年)	三枝 慶子	Graduate Student	Keiko Saegusa
大学院生 (修士2年)	寺岡 滉一	Graduate Student	Koichi Teraoka
医学部6年 (MD-phDコース)	小沼 亮介	Medical Student (MD-phD course)	Ryosuke Konuma
医学部6年 (MD-phDコース)	戸村 琴音	Medical Student (MD-phD course)	Kotone Tomura
医学部5年 (MD-phDコース)	川口 藍	Medical Student (MD-phD course)	Ai Kawaguchi
医学部3年 (MD-phDコース)	渋谷 佑紀	Medical Student (MD-phD course)	Yuki Shibusawa
医学部3年 (MD-phDコース)	中村 剛大	Medical Student (MD-phD course)	Takehiro Nakamura

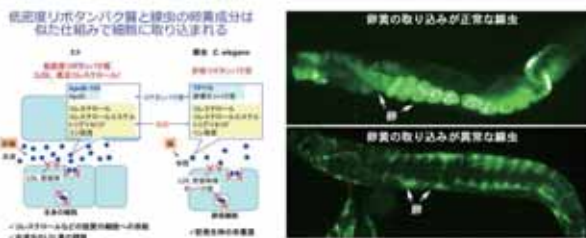


図1. 卵母細胞によるエンドサイトーシスに異常を示す*rme*変異株
(左)LDLによく似た卵黄タンパク質 YP170は腸から体腔に分泌され、その後、卵母細胞によって取り込まれる。(右)野生株ではYP170-GFPが卵細胞によってエンドサイトーシスされ、卵細胞内に蓄積されるが(WT)、*rme* 変異株では卵細胞には取り込まれず、偽体腔に蓄積する(*rme*)。

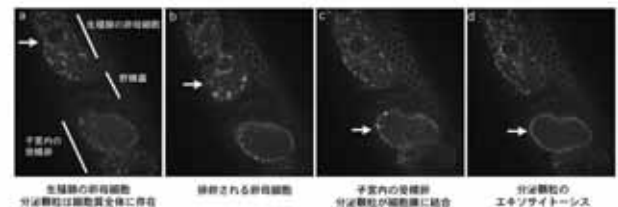


図2. 受精後に同調的に起こる表層顆粒のエキソサイトーシス
卵母細胞において形成された分泌顆粒は受精後に同調的に分泌される。

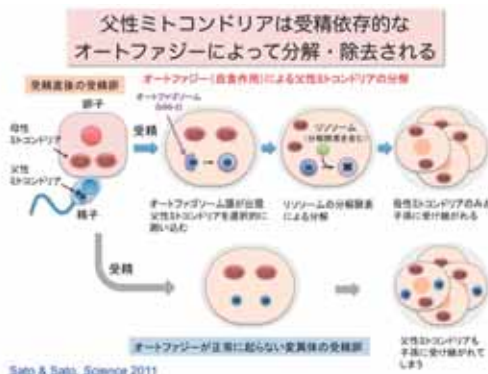


図3. 父性ミトコンドリアのオートファジーによる分解と母性遺伝
精子由来のミトコンドリアは受精後にオートファジーによって分解され、母親由来のミトコンドリアのみを遺伝する。

小胞体局在化を解除することにより部分的な機能発現の回復や細胞障害性の低減が期待できる

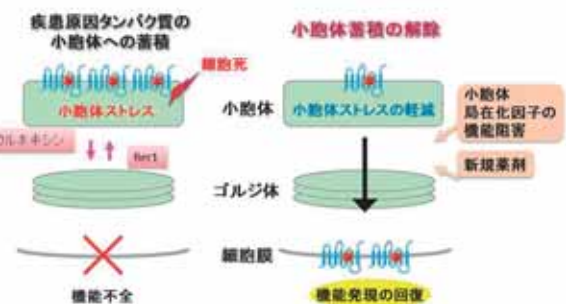


図4. 遺伝子変異によって生じた細胞膜タンパク質が小胞体に蓄積すると様々な疾患を引き起こす。この小胞体蓄積を緩和すれば、機能回復や細胞障害性の低減につながる可能性がある。

《目標》

細胞内膜トラフィックは、いわゆるタンパク質の分泌や栄養の吸収等における物質輸送だけではなく動物個体における内分泌・代謝や神経伝達、個体発生のような高次生命機能においても必須の役割を果たしています。私たちの研究室では、線虫 *C. elegans* やマウスなどのモデル動物を駆使して内分泌代謝や動物の発生などの高次生命現象における細胞内物質輸送の生理的役割とその分子メカニズムの解明を目指しています。また、細胞内物質輸送の異常を起因とする様々な遺伝疾患の発症メカニズムとその治療法の開発を目指しています。

▶現在進行中のプロジェクト

① 低密度リポタンパク質 (LDL) の細胞内取り込みの分子メカニズム

低密度リポタンパク質(LDL)はコレステロールを多く含むため悪玉コレステロールとも呼ばれ、血中量が過剰になると高コレステロール血症や動脈硬化などの原因となります。通常は細胞が血中のLDLを取り込むことで血中量が適切に保たれていますが、この仕組みについては不明な点が多く残されています。実はこのLDLを細胞内に取り込む仕組みは、線虫などのシンプルな動物から哺乳類までよく似ています。線虫 *C. elegans* の卵に多く含まれる卵黄成分はLDLと非常によく似た性質をしており、卵母細胞によって細胞外から取り込まれ、発生の際の栄養素として蓄えられます。私たちは、この線虫卵による卵黄成分の取り込みの過程に注目し、LDLを細胞内に取り込む際に働く新たな因子の発見および分子メカニズムの解明を目指しています。また、線虫研究で発見された新規因子のノックアウトマウスを作製し、哺乳動物個体における機能解析も進めています。

② 発生における細胞内物質輸送の新たな生理機能とその分子機構の解明

線虫 *C. elegans* は雌雄同体で基本的に自家受精によって繁殖するため、一個体の生殖腺内で卵母細胞の成熟、受精、初期発生の過程を継続的に観察できます。私たちは、*C. elegans* における表層顆粒を発見し、生きた卵母細胞において表層顆粒の形成、細胞膜との同調的融合などダイナミックに変化する膜動態をリアルタイムで捉えることに成功しています。また、受精後に精子由来のミトコンドリアが自食作用によって分解されることが、ミトコンドリアゲノムの母性遺伝に重要であることも発見しています。現在マウス受精卵を用いた哺乳類の初期発生過程における細胞内膜リモデリングの研究も開始しています。

③ 疾患原因膜タンパク質の小胞体局在化疾患の分子基盤の解明と創薬に向けた研究開発

網膜色素変性症、CMT病等の遺伝子変異により生じた変異膜タンパク質が小胞体に蓄積してしまうことが原因の遺伝疾患に焦点をあて、モデル動物を駆使してその原因解明を目指しています。また、変異膜タンパク質の小胞体蓄積を緩和する薬剤及び手法の開発を目指しています。

Specific aims

Membrane trafficking plays essential roles not only in secretion and nutrient uptake but also in various physiological processes such as those involving the endocrine system, metabolic system, and nervous system and those occurring during development in animals. In our laboratory, we study the molecular mechanisms and physiological functions of membrane trafficking in multicellular organisms by using the nematode *Caenorhabditis elegans* and mice as model systems. In addition, we study the molecular mechanisms underlying protein-misfolding diseases, in which abnormal membrane proteins accumulate in the endoplasmic reticulum (ER), in order to discover new targets for the treatment of such diseases.

▶Ongoing projects

① Analysis of molecular mechanisms underlying low-density lipoprotein trafficking in *C. elegans*

Low-density lipoprotein (LDL) consists of core proteins and lipids such as cholesterol. In mammals, LDL is recognized by the LDL receptor on the cell surface and is then taken up by cells via receptor-mediated endocytosis. This process is important for removing LDL from the blood and maintaining a normal level of LDL. Interestingly, the characteristics of *C. elegans* yolk are quite similar to those of mammalian LDL. In *C. elegans*, yolk is taken up by oocytes via receptor-mediated endocytosis. We are studying the molecular mechanism underlying LDL endocytosis by utilizing the advanced genetic techniques that are available for *C. elegans*. We are also studying the physiological functions of mammalian homologues of the genes identified by *C. elegans* genetic studies by generating knockout mice.

② Analysis of physiological functions of membrane trafficking during development

To elucidate the physiological functions of membrane trafficking during development in animals, we are utilizing *C. elegans* as a model system for the study of oogenesis, fertilization, and embryogenesis. We have identified a novel type of developmentally regulated cortical granules in *C. elegans* oocytes. We are trying to clarify the molecular mechanisms underlying the biogenesis and exocytosis of the cortical granules as a model of regulated secretion. Recently, we also found that fertilization-induced autophagy is responsible for selective degradation of paternal mitochondria and, thereby, of maternal inheritance of mitochondrial DNA. We are now studying these phenomena during development in mammals by using a live imaging system of mouse embryos.

③ Analysis of the molecular mechanisms underlying ER retention of disease-associated membrane proteins.

We are studying the molecular mechanisms underlying protein-misfolding diseases, in which abnormal membrane proteins accumulate in the ER. We are also trying to identify new therapeutic targets for such diseases.

最近の研究成果

- 1) Hara T, Hashimoto Y, Akuzawa T, Hirai R, Kobayashi H, Sato K*. Rer1 and calnexin regulate endoplasmic reticulum retention of a peripheral myelin protein 22 mutant that causes type 1A Charcot-Marie-Tooth disease. **Sci Rep.** 11;4:6992. (2014)
- 2) Saegusa K, Sato M, Sato K, Nakajima-Shimada J, Harada A*, Sato K*. *C. elegans* chaperonin CCT/TRiC is required for actin and tubulin biogenesis and microvillus formation in intestinal epithelial cells. **Mol Biol Cell.** 15;25(20):3095-104. (2014)
- 3) Yamasaki A, Hara T, Maejima I, Sato M, Sato K, Sato K*. Rer1p regulates the ER retention of immature rhodopsin and modulates its intracellular trafficking. **Sci Rep.** 6;4:5973. (2014)
- 4) Miyuki Sato, Ryosuke Konuma, Katsuya Sato, Kotone Tomura and Ken Sato. Fertilization-induced K63-linked ubiquitination mediates clearance of maternal membrane proteins. **Development** 141:1324-1331. (2014)
- 5) Tsukamoto S, Hara T, Yamamoto A, Kito S, Minami N, Kubota T, Sato K, Kokubo T. Fluorescence-based visualization of autophagic activity predicts mouse embryo viability. **Sci Rep.** 31;4:4533. (2014)
- 6) Sato M, Sato K.: Maternal inheritance of mitochondrial DNA by diverse mechanisms to eliminate paternal mitochondrial DNA. **Biochim Biophys Acta MCR** 1833: 1979-1984 (2013)
- 7) Sato M, Sato K.: Dynamic regulation of autophagy and endocytosis for cell remodeling during early development. **Traffic** 14: 479-486 (2013)
- 8) Sato M, Sato K.: Degradation of paternal mitochondria by fertilization-triggered autophagy in *C. elegans* embryos. **Science** 334: 1141-1144 (2011)
- 9) Sato M, Saegusa K, Sato K, Hara T, Harada A, Sato K.: *Caenorhabditis elegans* SNAP-29 is required for organellar integrity of the endomembrane system and general exocytosis in intestinal epithelial cells. **Mol Biol Cell** 22: 2579-2587 (2011)

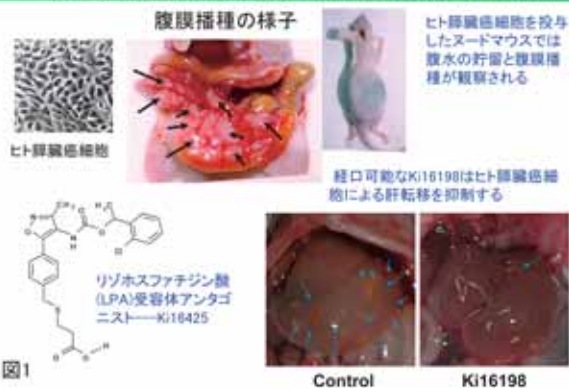
シグナル伝達分野



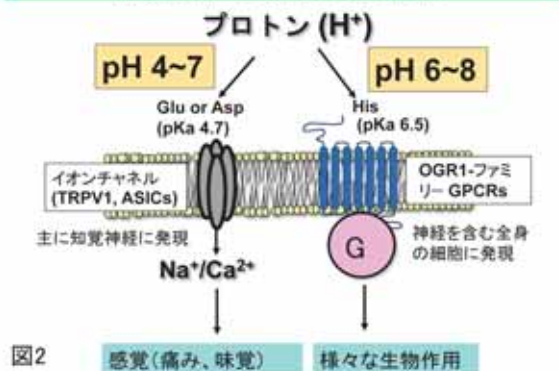
研究スタッフ / Staff

教授	岡島 史和	Professor	Fumikazu Okajima
准教授	佐藤 幸市	Associate Professor	Koichi Sato
助教	茂木 千尋	Assistant Professor	Chihiro Mogi
助教	青木 悠	Assistant Professor	Haruka Aoki
技術職員	当房 雅之	Senior Technician	Masayuki Tobo
研究員	内山 強	Research Fellow	Tsuyoshi Uchiyama
研究支援推進員	高野 睦美	Research Promotion Technician	Mutsumi Takano
研究支援推進員	鳥居 良子	Research Promotion Technician	Ryoko Torii
大学院生	矢富 正清	Graduate Student	Masakiyo Yatomi
大学院生	鶴巻 寛朗	Graduate Student	Hiroaki Tsurumaki
大学院生	当房 文香	Graduate Student	Ayaka Tobo
学内共同研究員 (講師)	木村 孝穂	Associate Professor	Takao Kimura

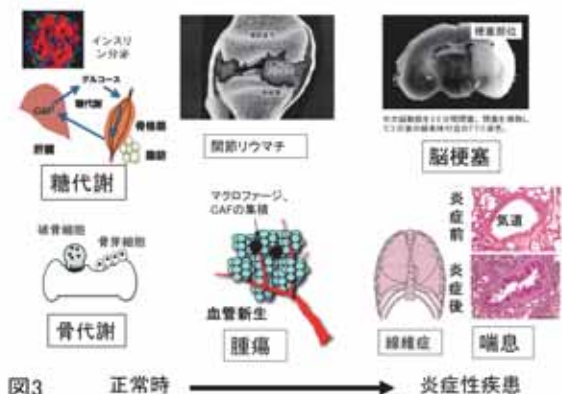
膵臓癌細胞株のヌードマウスへの投与による腹水貯留・癌性腹膜炎とそれに対する治療戦略



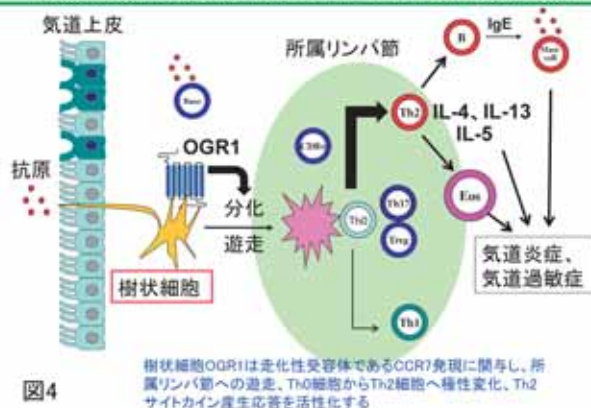
細胞外pHを感知する機構



pH環境を感知するプロトン感知性GPCRの機能



樹状細胞OGR1の抗原特異的Th2誘導と気道炎症機構



《目標》

- (1) 生理活性脂質、特にスフィンゴシン1-リン酸(S1P)、リゾホスファチジン酸(LPA)の作用機構の解明とそれに関連した薬剤の開発。
- (2) 細胞外pH(プロトン)を感知する新しいG蛋白質共役受容体の生理的ならびに病態生理学的な役割に関して、特に中枢神経系、骨代謝、炎症性疾患に焦点をあて解明する。

▶ 現在進行中のプロジェクト

1. 脂質性メディエーター作用解析と受容体を標的とした薬剤開発

スフィンゴシン1-リン酸(S1P)やリゾホスファチジン酸(LPA)などの脂質性メディエーターは細胞膜受容体を介して細胞増殖、遊走、アポトーシスなど様々な細胞機能に関わっている。現在、これらの受容体としてS1P1~5、LPA1~6が知られている。我々はLPA受容体拮抗薬Ki16425の作用機序を明らかにした。この薬剤は基礎研究、また各種病態、例えば、癌(膵臓癌、グリオーマ)、慢性リウマチ、動脈硬化症などの治療薬としても期待される(図1)。

- (1) S1P結合蛋白質アポリポプロテインMのS1P産生における役割
- (2) LPA産生酵素であるオートタキシン阻害薬の抗癌作用の解析

2. 細胞外pHを感知する新しいG蛋白質共役受容体の機能解析

リゾ脂質性メディエーター受容体として同定されていたG蛋白質共役受容体(GPCR)が細胞外のpHを感知することを見いだした。従来から知られているプロトン感知機構としてはTRPV1等のチャンネル機構が知られている。これらのチャンネルはpH4~6(TRPV1)、pH4~7(ASICs)のプロトン濃度をチャンネル分子上のグルタミン酸やアスパラギン酸残基が感知し、痛み、味覚など感覚神経で主に働いている。一方、OGR1ファミリー GPCRは受容体上のヒスチジン残基がpH6~8のより生理的なプロトンを感知し、神経細胞も含めた様々な細胞に発現している(図2)。細胞外プロトンは生理的な状態でも40nM(pH7.4)存在し、腫瘍、虚血や炎症部位では1000nM(pH6.0)にも増加する。この受容体の生理機能と病態との関連について、中枢神経系、骨代謝、炎症性疾患を中心にsiRNAによるノックダウン細胞、ノックアウトマウスを用いて解析している(図3)。

- (1) ミクログリアや神経細胞におけるプロトン感知性GPCRの役割
- (2) 骨代謝や腫瘍形成におけるプロトン感知性GPCRの役割
- (3) 喘息モデル(図4)、脳虚血モデル、関節炎モデルを用いたプロトン感知性GPCRの役割の解析
- (4) GPR4アンタゴニストの特性の解析

Specific aims

(1) Elucidation of action mechanisms of lipid mediators, including sphingosine 1-phosphate (S1P) and lysophosphatidic acid (LPA), and development of drugs related to their actions.

(2) Elucidation of the physiological and pathophysiological roles of proton-sensing GPCRs, especially focusing on central nervous system, bone remodeling, and inflammatory disorders.

▶ On-going projects

1. Role of lysolipid mediators and development of drugs targeted for their receptors

Lysolipid mediators, such as sphingosine 1-phosphate (S1P) and lysophosphatidic acid (LPA), have been shown to regulate a variety of biological processes, including proliferation, migration, and apoptosis, through G-protein-coupled receptors. Five S1P receptors, S1P1~5, and six LPA receptors, LPA1~6 have been reported. Since LPA exerts a variety of responses in cellular systems, the receptor agonists and antagonists may be therapeutically useful drugs. We have currently developed an LPA antagonist Ki16425 and its orally active Ki16198, in collaboration with Kirin brewery Co. Ltd. This drug is potentially applicable for cancer cell invasion and metastasis, cardiovascular

diseases and inflammatory diseases.

- (1) Role of S1P binding protein, apolipoprotein M, on S1P release.
- (2) Analysis of the inhibitor of autotaxin, an enzyme for LPA synthesis, on tumorigenesis.

2. Physiological and pathophysiological roles of proton-sensing GPCRs

We have recently found that a group of GPCRs sense extracellular pH and are coupled to the intracellular signaling pathways. As proton-sensing mechanisms, channels, such as TRPV1 (pH 4~6) and ASICs (pH 4~7), on sensory neurons have been known as a sensor for nociception and taste. Glutamic acid and aspartic acid (pKa 4.7) is shown to sense extracellular protons in these channels. On the other hand, OGR1 family GPCRs sense more physiological pH of 6~8 through histidine residues. They are expressed on a variety of cell types, including neural cells. Extracellular protons are 40 nM (pH 7.4) under the physiological and reach 1000 nM (pH 6.0) in tumor, ischemia, and inflammation. We are investigating the physiological and pathophysiological role of proton-sensing GPCRs using knockdown cells with siRNAs and knockout mice.

- (1) Role of proton-sensing GPCRs in microglia and neuronal cells.
- (2) Role of proton-sensing GPCRs in bone remodeling and tumorigenesis.
- (3) Analysis of the role of proton-sensing GPCRs using asthma model, brain ischemia model, and arthritis model.
- (4) Characterization of novel GPR4 antagonists.

最近の研究成果

Tobo A, Tobo M, Nakakura T, Ebara M, Tomura H, Mogi C, Im DS, Murata N, Kuwabara A, Ito S, Fukuda H, Arisawa M, Shuto S, Nakaya M, Kurose H, Sato K, and Okajima F: Characterization of imidazopyridine compounds as negative allosteric modulators of proton-sensing GPR4 in extracellular acidification-induced responses. *PLoS One* 10: e0129334 (2015)

Kotake M, Sato K, Mogi C, Tobo M, Aoki H, Ishizuka T, Sunaga N, Imai H, Kaira K, Hisada T, Yamada M, and Okajima F: Acidic pH increases cGMP accumulation through the OGR1/phospholipase C/Ca2+/neuronal NOS pathway in N1E-115 neuronal cells. *Cellular Signaling* 26: 2326-2332 (2014)

Park SJ, Lee KP, Kang S, Lee J, Sato K, Chung HY, Okajima F, and Im DS: Sphingosine 1-phosphate induced anti-atherogenic and atheroprotective M2 macrophage polarization through IL-4. *Cellular Signalling* 26: 2249-2258 (2014)

Sato K, Tobo M, Mogi C, Murata N, Kotake M, Kuwabara A, Im DS, and Okajima F: Lipoprotein-associated lysolipid molecules are differentially involved in high-density lipoprotein- and its oxidized form-induced neurite remodeling in PC12 cells. *Neurochem Int* 68: 38-47 (2014)

Jin Y, Sato K, Tobo A, Mogi C, Tobo M, Murata N, Ishii S, Im DS, and Okajima F: Inhibition of interleukin-1 β production by extracellular acidification through the TDAG8/cAMP pathway in mouse microglia. *J Neurochem* 129: 683-695 (2014)

Aoki H, Mogi C, Hisada T, Nakakura T, Kamide Y, Ichimonji I, Tomura H, Tobo M, Sato K, Tsurumaki H, Dobashi K, Mori T, Harada A, Yamada M, Mori M, Ishizuka T, and Okajima F: Proton-sensing ovarian cancer G protein-coupled receptor 1 on dendritic cells is required for airway responses in a murine asthma model. *PLoS One* 8: e79985 (2013)

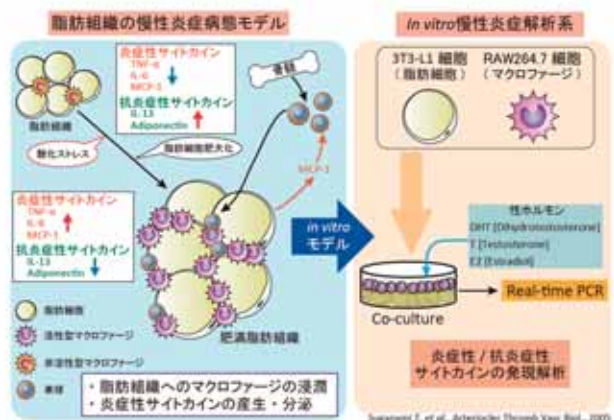
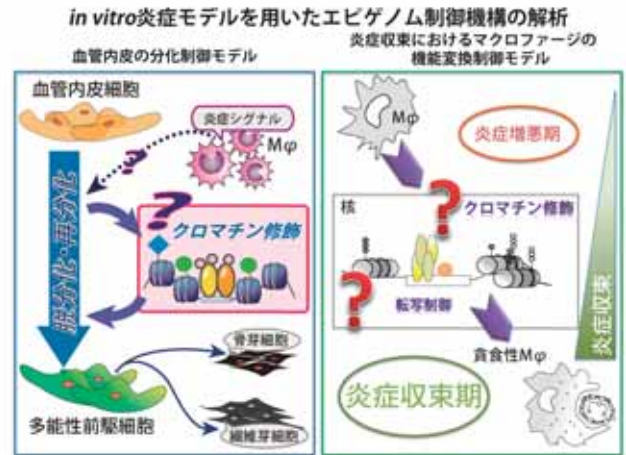
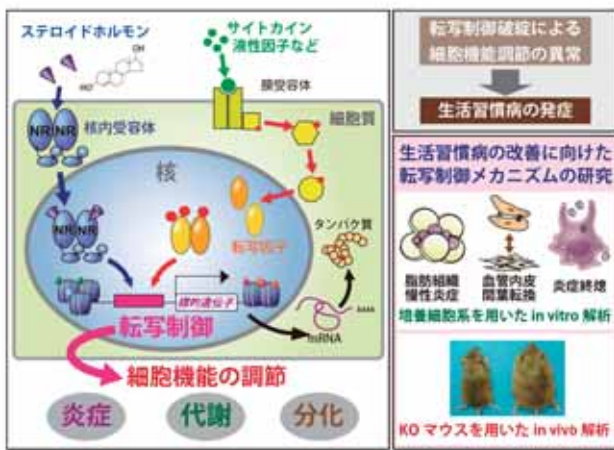
Okajima F: Regulation of inflammation by extracellular acidification and proton-sensing GPCRs. *Cellular Signalling* 25: 2263-2271 (2013)

核内情報制御分野



研究スタッフ /Staff

- | | |
|-------------------------|----------------------|
| 准教授 | Associate Professor |
| 佐藤 隆史 | Takashi Sato |
| 助教 | Assistant Professor |
| 諸岡 信克 | Nobukatsu Morooka |
| 研究員 | Post-doctoral fellow |
| イーカーリー カレン | Yee Kar Lye Karen |
| 事務補佐員 | Secretary |
| 須田 明日香 | Asuka Suda |
| 学生(医学部 MD & Ph.D.コース6年) | Student |
| 松本 圭司 | Keiji Matsumoto |
| 学生(医学部 MD & Ph.D.コース5年) | Student |
| 蔵並 慧 | Satoshi Kuranami |



《研究テーマ》

生活習慣病の発症、増悪を制御する転写制御の新規分子機構の解明

《目標》

細胞核内には様々なシグナル伝達系を転写制御により包括する仕組みが存在する。特に、液性因子の下流で働く転写因子や、脂溶性ホルモン作用を仲介する核内受容体の機能は、いずれも細胞の複雑な機能調節に必須である。当研究室では、今までの研究の手技や背景を活かし、脂肪細胞や血管内皮細胞、マクロファージにおけるシグナル依存的な転写制御機構の解明を目的に研究している。これらの研究により、主に炎症や代謝の制御における標的分子を同定し、生活習慣病の改善への寄与を目指す。

▶現在進行中のプロジェクト

主な研究テーマ

- ① 炎症の終息を司る新規エピゲノム制御因子の同定と機能解析
- ② 血管内皮-間葉転換の制御に関わる新規エピゲノム因子の機能解析
- ③ 脂肪組織の慢性炎症制御における性ホルモン受容体機能の解析
- ④ アンドロゲン受容体ノックアウトマウスの代謝異常メカニズムの解析

主要論文

- 1) Sato T. *et al* (2014) *J cell sci.* 127:422-31.
- 2) D'Angelo G. *et al* (2013) *Nature* 501:116-20.
- 3) Morooka N. *et al* (2012) *FEBS J* 279:168-179.
- 4) Sato T. *et al* (2004) *Pro. Nat. Acad. Sci. USA* 101:1673-8

Our research

Most of the cellular processes are controlled by various signaling systems. These signals are then integrated by the intra-nuclear transcriptional regulation. In particularly, transcription factors activated by cytokines and growth factors, and nuclear receptors mediating steroid hormone actions are essential for the regulation of complex cellular function. In our laboratory, the mechanisms of transcriptional regulation in adipocytes, vascular endothelial cells, and macrophages resulting in the pathophysiological state are investigated. In these studies, we seek to identify and analyze the function of transcriptional regulators that are essential for the control of inflammation and metabolism.

▶On-going projects

- ① Identification and functional analysis of epigenetic regulators for resolution phase in inflammation.
- ② Identification and functional analysis of epigenetic factors regulating endothelial-mesenchymal transmission
- ③ Investigation for mechanisms of androgen action

in chronic inflammation.

Publications

- 1) Sato T. *et al* (2014) *J cell sci.* 127:422-31.
- 2) D'Angelo G. *et al* (2013) *Nature* 501:116-20.
- 3) Morooka N. *et al* (2012) *FEBS J* 279:168-179.
- 4) Sato T. *et al* (2004) *Pro. Nat. Acad. Sci. USA* 101:1673-8

最近の研究成果

Roles of Rab8a and Rab8b in apical protein localization and ciliogenesis

Small GTP-binding protein Rab8 is known to play an essential role in intracellular transport and cilia formation. We generated knockout mice of two Rab8 isoforms Rab8a and Rab8b. Rab8aKO mice exhibited mislocalisation of apical markers and died. Although the Rab8bKO mice did not display an overt phenotype, Rab8a and Rab8b double-knockout (DKO) mice exhibited of apical protein mislocalisation and died about a week earlier than rab8aKO. On the other hand, the morphology and the length of various primary and/or motile cilia in ciliated cells in DKO mice appeared normal. However, an additional knockdown of Rab10 in DKO cells greatly reduced the percentage of ciliated cells. Our results highlight the compensatory effect of Rab8a and Rab8b in apical transport. And simultaneous loss of Rab8a and Rab8b has little effect on ciliogenesis, whereas additional loss of Rab10 greatly affects ciliogenesis.



Microvillus atrophy and Microvillus inclusion body in enterocyte of rab8a,b-double KO mouse

Sato T, Iwano T, Kunii M, Matsuda S, Mizuguchi R, Jung Y, Hagiwara H, Yoshihara Y, Yuzaki M, Harada R and Harada A. Rab8a and Rab8b are essential for several apical transport pathways but insufficient for ciliogenesis. *Journal of cell science.* 2014;127:422-31. Link; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24213529>

細胞調節分野



研究スタッフ / Staff

教授	小島 至	Professor	Itaru Kojima
准教授	柴田 宏	Associate Professor	Hiroshi Shibata
助教	長澤 雅裕	Assistant Professor	Masahiro Nagasawa
助教	中川 祐子	Assistant Professor	Yuko Nakagawa
教授秘書	小田切 真由美	Secretary	Mayumi Odagiri
分野秘書	沼田 俊子	Secretary	Toshiko Numata
研究員	小暮 公孝	Research Scientist	Kimitaka Kogure
博士研究員	ヨハン メディナ	Research Fellow	Johan Medina
研究支援員	アニー フェルナンデス	Technician	Anny Fernandez
大学院生	李 龍飛	Graduate Student	Li Longfei
学外共同研究員	濱野 邦久	Research Fellow	Kunihisa Hamano
学内共同研究員(助教)	大津 義晃	Assistant Professor	Yoshiaki Ohtsu

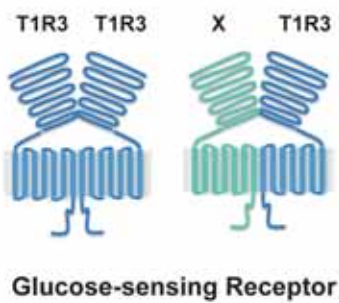


図1 グルコース感知受容体

膵β細胞に発現するグルコース感知受容体は、甘味受容体サブユニット T1R3 を含む二量体で、T1R3 ホモダイマーあるいは T1R3 と他の GPCR (X) とのヘテロダイマーと考えられる。

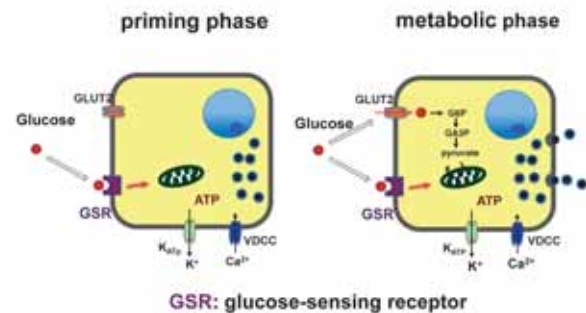


図2 グルコース感知受容体によるインスリン分泌制御のモデル

グルコースは、まず細胞表面のグルコース感知受容体 (GSR) を活性化して、細胞内の代謝を促進する (プライミング相)。引き続き細胞内へ入り、あらかじめプライミングされた代謝経路により代謝され ATP が産生される (代謝相)。

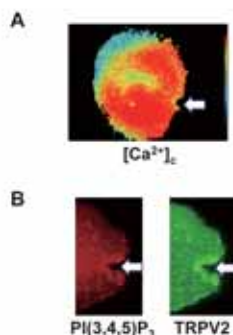


図3 機械刺激への TRPV2 チャンネルの集積

A: 矢印で示す部位に局所的な機械刺激を与えると、そこを起点として細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) の上昇が起こり、細胞全体に波及する。

B: 機械刺激を受けた部位に $PI(3,4,5)P_3$ が増加するとともに、カルシウム透過性チャネル TRPV2 が集積する。

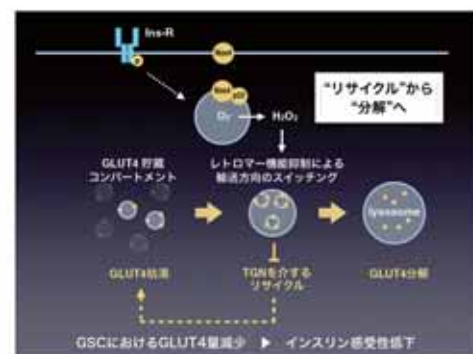


図4 インスリンによる活性酸素を介した小胞輸送の制御モデル

インスリン刺激は活性酸素産生の亢進を介してレトロマーの機能を阻害し、GLUT4 輸送方向のスイッチングをもたらす。このため長時間のインスリン刺激は GLUT4 量の減少とインスリン感受性低下をもたらす。

《目標》

ホルモン、増殖因子、分化誘導因子の作用と作用機構を明らかにし、病態生理学的意義を明らかにする。さらにそれらの知見を応用して、新たな治療法の開発を目指す。

▶ 現在進行中のプロジェクト

① ホルモン、増殖因子、分化誘導因子の作用・作用機構の研究

ホルモン分泌の刺激因子、組織修復・再生に関与する増殖因子・分化誘導因子の作用・作用機構の研究を通じて様々な病態を明らかにするとともに、得られた知見を応用して新規治療法の開発を目指す。

(1) 甘味受容体の機能とシグナル伝達系

甘味受容体は、味蕾以外にも消化管内分泌細胞、膵β細胞、脂肪細胞等に発現している。甘味受容体は一般にT1R2とT1R3のヘテロ二量体と考えられているが、構造的に大きく異なる多様な甘味物質を結合して活性化され、そのシグナル伝達機構は多彩である(図1)。我々はこの多彩なシグナル伝達機構を明らかにするとともに、その作用と生理学的意義について検討を行っている(図2)。

(2) 臓器・組織の再生と線維化機構の解明

我々は膵再生・肝再生を調節する増殖因子・分化誘導因子を明らかにするとともに、線維化を制御する因子の作用を解析している。これらを通じて、膵β細胞の再生促進、肝再生の促進法について研究している。また線維化に関与する星細胞、筋線維芽細胞等を制御して、膵線維化、肝線維化、肺線維化を治療する新たな方法の開発を目指している。

(3) カルシウム透過性チャネルの研究

増殖因子、分化誘導因子などで活性化されるカルシウム透過性チャネルTRPV2の制御機構、とくにTRPV2の細胞内トラフィックの調節機構を解析している(図3)。

② インスリンによる糖取り込み促進機構の研究

インスリンは、脂肪細胞、筋細胞などにおいて糖の取り込みを促進し、血糖を降下させる。我々はこのインスリンの糖取り込み促進機構を、グルコーストランスポーター GLUT4の細胞内トラフィックという観点から研究している。最近では、GLUT4のリサイクル機構と分解機構に焦点を当て解析している(図4)。

Specific aims

Elucidation of (1) actions and mechanism of actions of hormones, growth factors and cytokines involved in metabolic regulation, tissue repair and regeneration, and (2) their physiological and pathophysiological roles in relation to diabetes, obesity, cancer and tissue fibrosis.

▶ On-going projects

1. Action and mechanism of actions of hormones, growth factors and differentiation factors

We are investigating the actions and mechanism of actions of various hormones, growth factors and differentiation factors. We are also studying the physiological and pathophysiological roles of these factors in metabolic disorders and tissue fibrosis.

(1) Signal transduction pathways activated by the sweet taste receptor:

Sweet taste receptor expressed in the taste bud is a dimer of T1R2 and T1R3. It is also expressed in enteroendocrine cells,

pancreatic β-cells and adipocytes. We found that various agonists for the sweet taste receptor induce diverse changes in the second messengers such as calcium, cyclic AMP, and diacylglycerol. We are now investigating the role of the sweet taste receptor in pancreatic β-cells and adipocytes.

(2) Regulation of tissue regeneration and fibrosis:

We have been studying growth factors and differentiation factors involved in regeneration of pancreatic β-cells. We are now trying to establish a method to promote β-cell regeneration using these factors. We are also studying the factors regulating fibrosis of the pancreas, liver and lung. Using a compound conophylline, we are now trying to establish a method to prevent tissue fibrosis.

(3) Calcium-permeable channel TRPV2:

We have been studying regulation of the calcium-permeable cation channel TRPV2. We are particularly interested in the trafficking of TRPV2 and physiological role of trafficking of TRPV2.

2. Mechanism of action of insulin on glucose transport

Insulin promotes glucose transport in adipocytes and myocytes. To this end, insulin induces translocation of a glucose transporter GLUT4 from an intracellular storage pool to the plasma membrane. We have been studying the trafficking of GLUT4 in adipocytes. Currently, we are studying the mechanism of insulin-induced down-regulation of GLUT4 in adipocytes.

最近の研究成果

Nagasawa M, Kojima I: Translocation of TRPV2 channel induced by focal administration of mechanical stress. **Physiol Rep** 3: e12296 (2015)

Hamano K, Nakagawa Y, Ohtsu Y, Li LF, Medina J, Tanaka Y, Masuda K, Komatsu M, Kojima I: Lactisole inhibits the glucose-sensing receptor in mouse pancreatic β-cells. **J Endocrinol** 226: 57-66 (2015)

Kojima I, Nakagawa Y, Hamano K, Medina J, Li LF, Nagasawa M.: Glucose-sensing receptor T1R3: A new signaling receptor activated by glucose in pancreatic β-cells. **Biol Pharm Bull** 38:674-679 (2015)

Kojima I, Nakagawa Y, Ohtsu Y, Hamano K, Medina J, Nagasawa M.: Return of the glucoceptor: Glucose activates the glucose-sensing receptor T1R3 and facilitates metabolism in pancreatic β-cells. **J Diab Invest** 6: 256-263 (2015)

Kubo N, Saito R, Hamano K, Nagasawa M, Aoki F, Takei I, Umezawa K, Kuwano H, Kojima I: Conophylline suppresses hepatic stellate cells and attenuates thioacetamide-induced liver fibrosis in rats. **Liver Int** 43: 1057-1067 (2014)

Ohtsu Y, Nakagawa Y, Nagasawa M, Takeda S, Arakawa H, Kojima I: Diverse signaling systems activated by the sweet taste-sensing receptor in human GLP-1-secreting cells. **Mol Cell Endocrinol** 394:70-79 (2014)

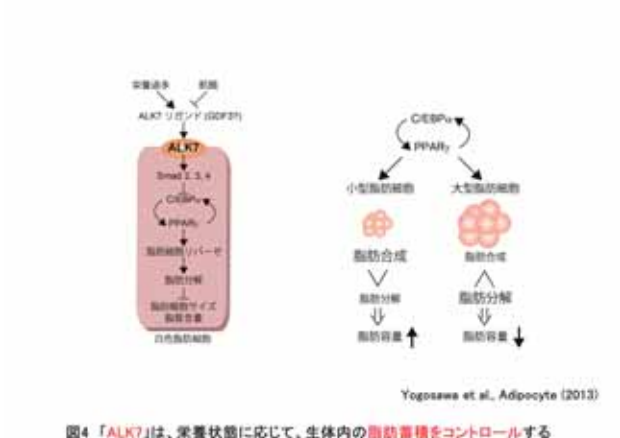
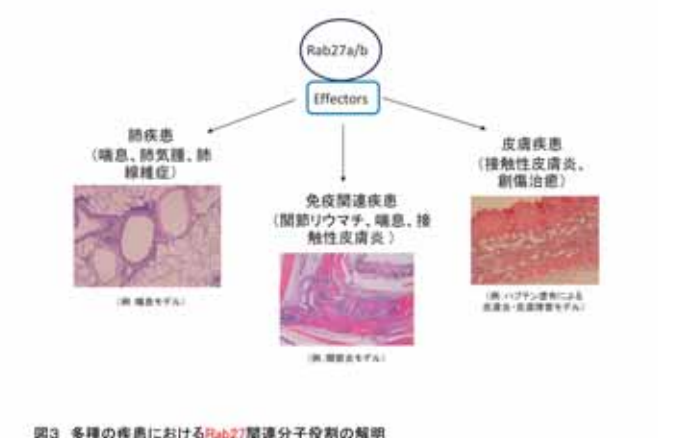
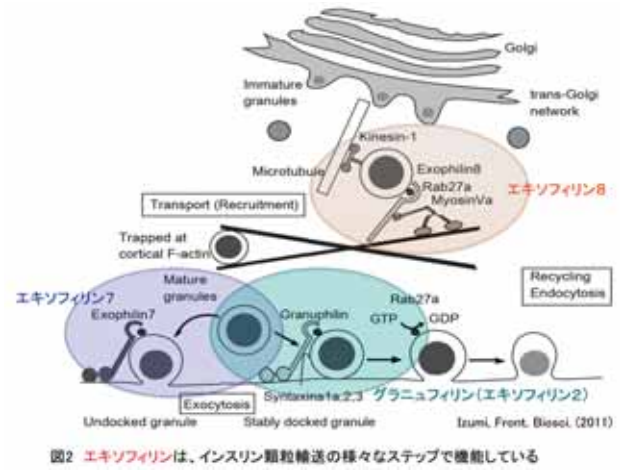
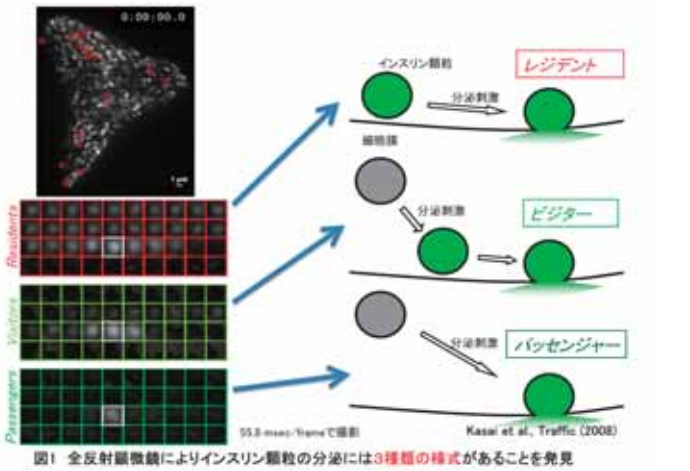
Ma J, Nakagawa Y, Kojima I, Shibata H.: Prolonged Insulin Stimulation Downregulates GLUT4 Through Oxidative Stress-Mediated Retromer Inhibition by a Protein Kinase CK2-Dependent Mechanism in 3T3-L1 Adipocytes. **J Biol Chem** 289: 133-142 (2014)

遺伝生化学分野



研究スタッフ / Staff

教授 泉 哲郎	Professor Tetsuro Izumi
講師 奥西 勝秀	Associate Professor Katsuhide Okunishi
助教 松永 耕一	Assistant Professor Kohichi Matsunaga
助教 水野 広一	Assistant Professor Kouichi Mizuno
技術職員 牛込 剛史	Technical Officer Takeshi Ushigome
JSPS 外国人特別研究員 王 昊	JSPS Postdoctoral Fellow Hao Wang
研究支援者 奈良 尊恵	Assistant Technician Takae Nara
研究支援者 小林 絵梨	Assistant Technician Eri Kobayashi
事務補佐員 戸嶋 順子	Clerical Assistant Junko Toshima
大学院生 (博士) 范 福順	Graduate Student Fushun Fan
大学院生 (博士) 歩 云	Graduate Student Yun Bu
大学院生 (博士) 星野 圭司	Graduate Student Keiji Hoshino
医学生 福留 沙由莉	MD-PhD Course Student Sayuri Fukutome



《目標》

本分野は、糖尿病・肥満症など内分泌代謝疾患の成因・発症機構や病態生理を、モデル動物の遺伝学的解析や、病態に関わる組織に発現する遺伝子の機能解析を通して解明することを目指している。研究手法としては、形態学、分子生物学、生化学、細胞生物学、遺伝学、発生工学など多様な手法を駆使して、分子・細胞レベルからマウス個体レベルまで総合的な解析を行い、両者のフィードバックにより、細胞生物学、医学の発展に貢献できる真実を探求する。

▶ 現在進行中のプロジェクト

1. 膵β細胞におけるインスリン顆粒開口放出機構

インスリン顆粒を蛍光標識し、生きた膵β細胞でリアルタイムに開口放出現象を可視化すると、膜融合直前の顆粒の細胞内動態は様ではなく、細胞膜からの距離や細胞膜近傍での停留時間がさまざまな顆粒からの開口放出が認められる(*Traffic* 2008; 図1)。私たちは、インスリン顆粒膜に局在するGranuphilinを発見し、本分子が単量体GTPase Rab27aまたはRab27bのエフェクターとして、インスリン顆粒の細胞膜ドッキングに必須であるのみならず、次の膜融合反応を抑制することを見出した(*J Biol Chem* 1999, 2004, 2011; *Mol Cell Biol* 2002a; *J Cell Biol* 2005; 図2)。また、Granuphilinとは別のRab27エフェクター分子、Exophilin8が、刺激依存性に細胞内部から細胞膜近傍へ分泌顆粒を供給すること(*Mol Biol Cell* 2011)、Exophilin7が、細胞膜にドッキングしていない分泌顆粒の開口放出に関与することを見出した(*Mol Biol Cell* 2013)。さらに、分泌顆粒の生成と開口放出を連関すると考えられる、別のRab27エフェクターの役割を解析している。現在、これら分子や関連分子を多色蛍光により標識した生細胞を全反射顕微鏡で観察することによって、分泌顆粒の開口放出分子機構を動的に解析している。

2. 高分化分泌細胞におけるRab27a/bおよびそのエフェクター Exophilinsの役割

私たちは、Rab27a/bおよびそのエフェクター Exophilinsファミリー分子が、多様な分泌細胞に発現し、分泌小胞の開口放出を調節していることを見出している(*FEBS Lett* 2002; *Mol Cell Biol* 2002b; *Mol Biol Cell* 2007a)。実際、Rab27aおよびGranuphilinは、栄養素によるインスリン分泌シグナルの作用点であること(*J Clin Invest* 2005; *Cell Metab* 2006)、Exophilin4は、グルコース刺激に対して膵β細胞とは全く逆の分泌反応を示す膵α細胞でグルカゴン顆粒の細胞膜ドッキングに関与すること(*Mol Biol Cell* 2007b)、X染色体上にあるGranuphilin遺伝子は、視床下部において著明な発現の性差を示し、性特異的な行動を制御していること(*Cell* 2012)、などがわかった。現在、Rab27a/bやそのエフェクターの遺伝子変異マウスを用いて、調節性分泌機構の異常が、多様な細胞が相互に作用する免疫アレルギー系、呼吸器、皮膚などにおいて、その生理機構や疾患病態に及ぼす影響を調べている(図3)。

3. 病態モデル動物を用いた、糖尿病・肥満の成因や病態生理

私たちは、常染色体優性遺伝様式を示す糖尿病モデルAkitaマウスでは、インスリン2A鎖第7番目システイン残基がチロシン残基へ置換され、A7-B7間の分子内ジスルフィド結合が形成されず、インスリンが分泌されなくなることを発見している(*J Clin Invest*, 1999; *Diabetes* 2003)。この知見は、小胞体品質管理機構や小胞体ストレスの膵β細胞機能における重要性を報告した最初のもので、同様のインスリン遺伝子異常がヒト新生児糖尿病の原因となるという発見の先駆けとなった。また、多因子遺伝性糖尿病・肥満マウスの遺伝学的解析を行い、その血糖値・体重・インスリン値などを制御する遺伝子の染色体上局在部位を特定し(*Diabetes* 1999; *Mamm Genome* 2006)、第2染色体上にあるTGFβ type I受容体の1つであるALK7の遺伝子変異を同定した。本分子は、Smad2-4を介して脂肪細胞の転写因子C/EBPαとPPARγを抑制することによって、過栄養状態において脂肪分解を抑制して脂質を脂肪細胞に蓄積する機能を有することを見出した(*Diabetes* 2013; *Adipocyte* 2013; 図4)。ALK7の機能を抑制すれば、脂肪細胞を小型化することによって、肥満に伴う代謝異常や慢性炎症を軽減できることが期待され、現在、ALK7を活性

化するリガンドに関する研究を行っている。

Specific aims

1) Mechanism for regulated exocytosis of secretory granules

We are interested in the molecular mechanism of secretory granule exocytosis. We are investigating the functional and mechanical relationship among docking, priming, and fusion of insulin granules to the plasma membrane in living beta cells expressing multiple fluorescently labeled proteins. Furthermore, we are studying in vitro and in vivo function of Rab27 and its effectors, exophilins, which regulate various trafficking steps of secretory vesicles.

2) Genetic analysis of diabetes and obesity in rodent models

We aim to clarify the genetic alterations that are responsible for diabetes and obesity in rodent disease models. We are currently investigating the molecular mechanism of pancreatic beta-cell dysfunction and that of abnormal fat accumulation.

▶ On-going projects

- 1) Morphological analyses of intracellular trafficking, such as docking, priming, and fusion, of secretory granules in living cells by confocal, total internal reflection fluorescence, and electron microscopes.
- 2) In vitro and in vivo functional analyses of the small GTPases, Rab27a and Rab27b, and their effectors, exophilins, in regulated exocytosis.
- 3) Effects of impaired Rab27 systems on the pathogenesis of immune, respiratory, and skin diseases.
- 4) Molecular mechanism of adipose fat accumulation in obesity, especially focusing on the role of ALK7 and its ligand.

最近の研究成果

Shimada-Sugawara M, Sakai E, Okamoto K, Fukuda M, Izumi T, Yoshida N, Tsukuba T.: Rab27A regulates transport of cell surface receptors modulating multinucleation and lysosome-related organelles in osteoclasts. *Sci Rep* 5: 9620 (2015)

Okunishi K, DeGraaf AJ, Zaslona Z, Peters-Golden M.: Inhibition of protein translation as a novel mechanism for prostaglandin E₂ regulation of cell functions. *FASEB J* 28: 56-66 (2014)

Fujimoto Y, Nakagawa Y, Satoh A, Okuda K, Shingyouchi A, Naka A, Matsuzaka T, Iwasaki H, Kobayashi K, Yahagi N, Shimada M, Yatoh S, Suzuki H, Yogosawa S, Izumi T, Sone H, Urayama O, Yamada N, Shimano H.: TFE3 controls lipid metabolism in adipose tissue of male mice by suppressing lipolysis and thermogenesis. *Endocrinology* 154: 3577-3588 (2013)

Yogosawa S and Izumi T.: Roles of activin receptor-like kinase 7 signaling and its target, peroxisome proliferator-activated receptor γ , in lean and obese adipocytes. *Adipocyte* 2: 246-250 (2013)

Wang H, Ishizaki R, Xu J, Kasai K, Kobayashi E, Gomi H, Izumi T.: The Rab27a effector exophilin7 promotes fusion of secretory granules that have not been docked to the plasma membrane. *Mol Biol Cell* 24: 319-330 (2013)

Yogosawa S, Mizutani S, Ogawa Y, and Izumi T.: Activin receptor-like kinase 7 suppresses lipolysis to accumulate fat in obesity through downregulation of peroxisome proliferator-activated receptor γ and C/EBP α . *Diabetes* 62: 115-123 (2013)

分子細胞制御分野



研究スタッフ / Staff

教授	徳永 文稔	Professor	Fuminori Tokunaga
助教	後藤 栄治	Assistant Professor	Eiji Goto
助教	及川 大輔	Assistant Professor	Daisuke Oikawa
研究員	阿部 貴則	Research Fellow	Takanori Abe
大学院生	中澤 世識	Graduate Student	Seshiru Nakazawa
医学部学生	熊澤 琢也	Medical Student	Takuya Kumazawa
医学部学生	片山 雄貴	Medical Student	Yuki Katayama
研究支援員	亀井 希代子	Research Technician	Kiyoko Kamei
研究支援員	森田 紋子	Research Technician	Ayako Morita
教室事務担当員	川尻 景子	Assistant Technician	Keiko Kawajiri

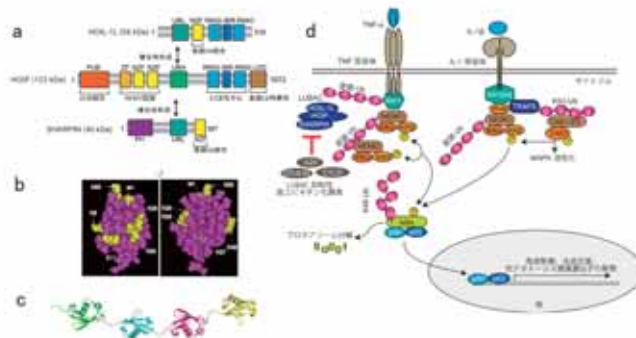


図1 直鎖状ユビキチン鎖によるNF-κBシグナル制御。
 (a) LUBACユビキチンリガーゼ複合体を構成するサブユニットのドメイン構造。(b) ユビキチンの立体構造。ポリユビキチン生成可能な残基を黄色で示した。直鎖状ユビキチン鎖はM1(Met1)を介して生成する。(c) 直鎖状ユビキチン鎖の立体構造。(d) 炎症性サイトカイン刺激に伴うNF-κB活性化における直鎖状ユビキチン鎖の寄与。

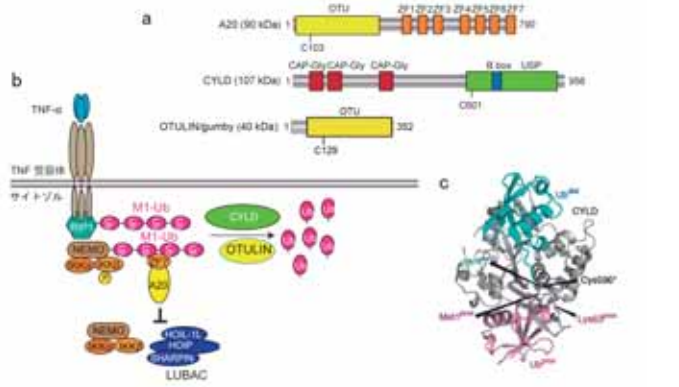


図2 直鎖状ユビキチン化によるNF-κB活性化を制御する脱ユビキチン酵素。
 (a) LUBAC活性を抑制する脱ユビキチン酵素(A20, CYLD, OTULIN)のドメイン構造。(b) CYLDとOTULINは直鎖状ユビキチン鎖を分解することでNF-κB活性を抑制するが、A20は直鎖状ユビキチン鎖に結合することで阻害する。(c) CYLDによる直鎖状ユビキチン鎖認識の分子機構(Sato Y et al., Nat. Struct. Mol. Biol. (2015)から引用)。

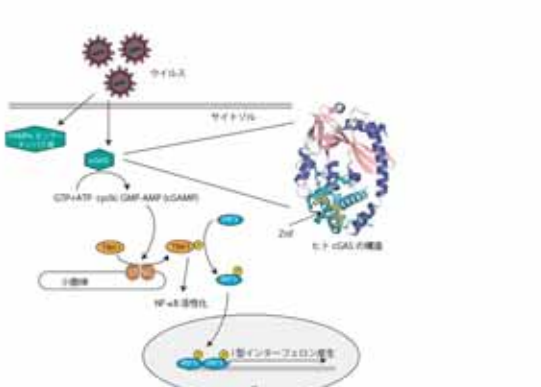


図3 病原体関連分子パターン(PAMPs)認識によって惹起されるインターフェロン産生経路活性化機構。HitGASの構造と機能相関(Kato K. et al., PLoS One (2013)から引用)。

《目標》

我々は、炎症応答や自然・獲得免疫制御に重要なNF- κ Bシグナル経路が直鎖状ユビキチン化という新規翻訳後修飾によって制御されることを同定した。さらに、その制御破綻は癌、炎症性疾患、自己免疫疾患、生活習慣病、神経変性疾患など多くの疾患に関わることを明らかにしている。そこで、直鎖状ユビキチン鎖生成を介したNF- κ Bシグナル制御の詳細な細胞機構と疾患への関わり、直鎖状ユビキチン鎖を標的とした創薬シーズの探索を行う。

▶現在進行中のプロジェクト

1.直鎖状ユビキチン鎖生成を介したNF- κ B制御と疾患

我々は、HOIL-1L、HOIP、SHARPINからなるLUBACユビキチンリガーゼ複合体がユビキチンのN末端を介する新規「直鎖状ユビキチン鎖」を形成することでNF- κ Bシグナルの活性化を導くことを見いだした(図1)。LUBACサブユニットの欠損は、炎症や自己免疫不全症を引き起こす。また、LUBACによるNF- κ B活性化を抑制する脱ユビキチン化酵素を同定し、B細胞リンパ腫など疾患と関連することを明らかにした(図2)。

- (1) 各種LUBAC欠損細胞の構築とNF- κ Bシグナルへの影響
- (2) 直鎖状ユビキチン鎖によるNF- κ B活性化を抑制する脱ユビキチン化酵素の同定と性状解析
- (3) 直鎖状ユビキチン鎖生成によるNF- κ B活性化を抑制する化合物探索

2.LUBACに会合して免疫制御に関わる新規タンパク質の機能解析

LUBACや直鎖状ユビキチン鎖に会合してNF- κ B活性制御を司る新規因子を同定し、その細胞機能と疾患への関連を明らかにする。

3.病原体関連分子パターン(PAMPs)認識分子の構造と機能

外来性の非自己である病原体関連分子パターン(PAMPs)を認識するセンサータンパク質は、自然免疫応答において重要な役割を果たす(図3)。近年、細胞表面やサイトゾルでPAMPsを認識し、インターフェロン産生経路やNF- κ B経路を活性化に導く分子の同定と機能解析が進んできた。我々は、各種PAMPs認識タンパク質の構造と生理機能を解明する。

Specific aims

We identified that linear ubiquitination, a novel type of ubiquitination, is involved in NF- κ B signaling pathway, which is crucial for inflammatory and immune responses. Furthermore, aberrant NF- κ B signaling is implicated in multiple disorders, such as cancers, inflammatory, autoimmune, metabolic, and neurodegenerative diseases. Our laboratory aims to clarify the detail cellular mechanism of linear ubiquitination-mediated NF- κ B pathway, its related diseases, and screening of drugs targeting linear ubiquitin chain.

▶On-going projects

1.Linear ubiquitination-mediated NF- κ B regulation and its related disorders.

We identified that the LUBAC ubiquitin ligase complex, which is composed of HOIL-1L, HOIP, and SHARPIN, generates the N-terminal Met1-linked linear ubiquitin chain, and regulates canonical NF- κ B pathway (Fig. 1). Genetic deficiency of LUBAC subunit induces inflammatory and autoimmune disorders.

Moreover, we identified deubiquitinases, such as A20 and CYLD, that down-regulate LUBAC-mediated NF- κ B activation pathway, and that B cell lymphomas caused by the genetic ablations of A20 are closely related to the loss of A20's linear ubiquitin-binding ability (Fig. 2).

- (1)Construction of HOIL-1L-, HOIP-, and SHARPIN-knockout cells and investigation of their role in NF- κ B signaling.
- (2)Identification and characterization of deubiquitinases, which down-regulate linear ubiquitination-mediated NF- κ B activation.
- (3)Screening for chemical compounds, which suppress LUBAC-induced NF- κ B activation pathway.

2. Functional analysis of novel proteins, which associate with LUBAC and regulate immune responses.

We plan to identify novel LUBAC-binding and NF- κ B-regulating proteins by biochemical and protein array technique. Then, we will analyze its cellular functions and relationship with disorders.

3. Structural and functional analyses of PAMPs-sensor proteins.

Recognition of pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) is crucial for innate immunity. Recently, various PAMPs-sensor proteins in cell surface and in the cytoplasm, which induce interferon production and NF- κ B activation, were characterized (Fig. 3). We will reveal structure and functions of various PAMPs-sensor proteins.

最近の研究成果

Matsunaga, Y., Nakatsu, Y., Fukushima, T., Okubo, H., Iwashita, H., Sakoda, H., Fujishiro, M., Yamamotoya, T., Kushiya, A., Takahashi, S., Tsuchiya, Kamata, H., Tokunaga, F., Iwai, K., and Asano, T. LUBAC formation is impaired in the livers of mice with MCD-dependent non-alcoholic steatohepatitis. *Mediators Inflamm.*, 2015: 125380 (2015)

Kato, M., Shimizu, A., Yokoyama, Y., Kaira, K., Shimomura, Y., Ishida-Yamamoto, A., Kamei, K., Tokunaga, F., and Ishikawa, O. A novel autosomal recessive mutation of DSG4 causes monilethrix through the ER stress response. *J. Invest. Dermatol.* 135: 1253-1260 (2015)

Sato Y, Goto E, Shibata Y, Kubota Y, Yamagata A, Goto-Ito S, Kubota K, Inoue J, Takekawa M, Tokunaga F, and Fukai S. Structures of CYLD USP with Met1- or Lys63-linked diubiquitin reveal mechanisms for dual specificity. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 22: 222-229 (2015)

Kato K, Ishii R, Goto E, Ishitani R, Tokunaga F, and Nureki O.: Structural and functional analyses of DNA-sensing and immune activation by human cGAS. *PLoS One*, 8: e76983 (2013)

Fujita N, Morita E, Itoh T, Tanaka A, Nakaoka M, Osada Y, Umemoto T, Saitoh T, Nakatogawa H, Kobayashi S, Hataguchi T, Guan J, Iwai K, Tokunaga F, Saito K, Ishibashi K, Akira S, Fukuda M, Noda T, and Yoshimori T.: Recruitment of the autophagic machinery to endosomes during infection is mediated by ubiquitin. *J. Cell Biol.* 203: 115-128 (2013)

Tokunaga F.: Linear ubiquitination-mediated NF- κ B regulation and its related disorders. *J. Biochem.* 154: 313-323 (2013)

ゲノム科学リソース分野



研究スタッフ / Staff

教授	Professsor
畑田 出穂	Izuho Hatada
助教	Assistant Professor
堀居 拓郎	Takuro Horii
博士研究員	Research Fellow
森田 純代	Sumiyo Morita
博士研究員	Research Fellow
澁谷 海大	Mihiro Shibuya
研究支援者技術者	Assistant Technician
木村 美香	Mika Kimura
研究支援者技術者	Assistant Technician
寺脇 直美	Naomi Terawaki
大学院生 (修士課程)	Graduate Student (M)
小川 正之	Masayuki Ogawa
大学院生 (修士課程)	Graduate Student (M)
依田 多加志	Takashi Yoda
技術補佐員	Assistant Technician
中野 澄子	Sumiko Nakano
技術補佐員	Assistant Technician
清水 千恵子	Chieko Shimizu
事務補佐員	Clerical Assistant
岩田 浩美	Hiromi Iwata

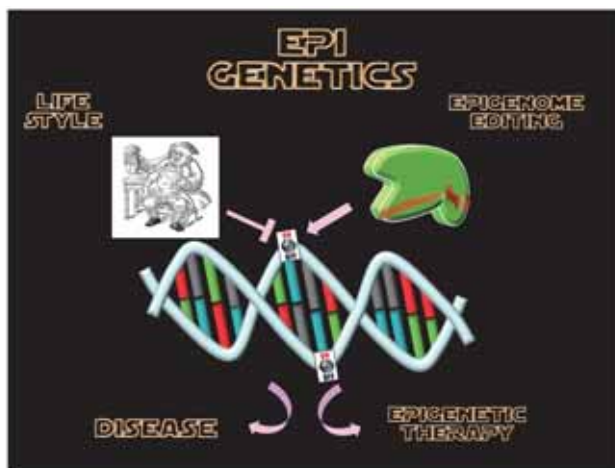


図 1

CRISPR/Casゲノム編集法

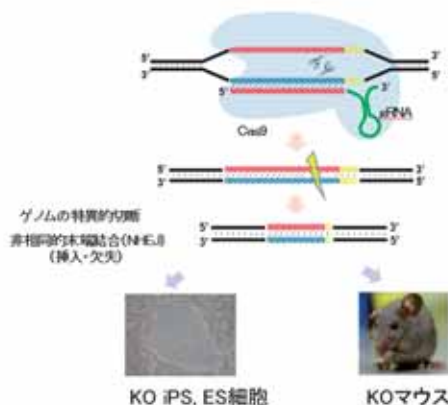


図 2

<目標> (図1)

Epigenetics(エピジェネティクス)は環境に影響を受ける遺伝子のスイッチです。我々が目指すところは(1)生活習慣(Life style)によりこのスイッチがどのような影響を受け疾患(Disease)を引き起こすのかを明らかにすること、(2)遺伝子のスイッチのメカニズムの解明(3)エピゲノム編集(Epigenome editing)により遺伝子のスイッチを操作する治療原理(Epigenetic therapy)を開発することです。

▶現在進行中のプロジェクト**エピゲノムの疾患への関与の解明**

ゲノムプロジェクトによって遺伝子のことが良く調べられるようになり遺伝子の塩基配列の変化(変異)が様々な疾患を引き起こすことが調べつくされていきました。しかしながら、塩基配列の変化だけでは説明できない疾患があることがわかってきています。実は遺伝子にはエピジェネティクスあるいはエピゲノム(メチル化など)というスイッチがあります。このスイッチは環境によりそのオン、オフが変化し様々な生活習慣に関係する疾患が引き起こします。またこれらのスイッチを制御する遺伝子の変異も同様に様々な疾患を引き起こすことがわかってきています。そこで当教室ではこのスイッチに関与する遺伝子のノックアウトマウスを解析することにより、スイッチの異常がどのような影響を及ぼし病態をもたらすかについて研究しています。

CRISPR/Cas ゲノム編集技術の開発とエピゲノム編集への応用

最近、CRISPR/Casという効率がよく簡便なゲノム編集システムが開発されました(図2)。このシステムではガイドRNAというゲノム中の標的と相補的な短いRNAとCas9というDNA切断酵素の複合体が標的を切断することにより高効率にノックアウト細胞を作製することができます。当教室では、このシステムの改良をおこなうとともに、このシステムを用いてエピジェネティクス関連遺伝子が関与する疾患モデルを作製し、研究をおこなっています。方法には2通りあり、その1つはCRISPR/Casゲノム編集で疾患モデル動物を作製する方法です(Horii et al. 2014)。またヒト細胞における表現型を調べたいときはiPS細胞の遺伝子を改変することにより疾患モデルiPS細胞を作製して研究に用いています(Horii et al. 2013)。このようにして作製した疾患モデルiPS細胞は患者から作製したものと異なり、作製の元になった正常人由来のiPS細胞をコントロールとして研究にもちいれれば遺伝的背景の違いによる表現型の違いがないので非常に有用です。

エピゲノム編集への応用

現在、特定の遺伝子のメチル化などの遺伝子のスイッチを自在に制御する方法はありません。そのため、特定のメチル化が本当に疾患を発症しているかを本当に証明することはできませんし、また特定の遺伝子のメチル化を変化させることで治療をおこなうこともできません。そこでDNA切断活性のないCRISPR/Casが特定の配列に結合することを利用して遺伝子のメチル化を自在に制御する技術を開発して、このような用途に利用できるようにしようと試みています。

Specific aims(Fig. 1)

Epigenetics works as a gene switch which is affected by life style. We aims to clarify; (1) How life style affects this gene switch and cause diseases (2) mechanisms of gene switches (3) Development of epigenome editing for epigenetic therapy.

▶On-going projects**Epigenome and diseases**

It has been long time after starting extensive genetic analysis of human diseases. However, some of the diseases are found not to be caused by genetic changes rather by the alteration of epigenome which is the switch of the genes. Aberrant changes of epigenome caused by life style results in several diseases like diabetes. It was also found that mutations of genes involved in the gene switch also cause

these diseases. Therefore, we study knockout mice of these genes to analyze the effect of anomaly of the switches.

Improvement of CRISPR/Cas genome editing technology

Recently, a new technology called CRISPR/Cas for efficient genome editing system has been developed (Fig. 2). In this system, an endonuclease called Cas9 cleaves the target site with a short RNA (guide RNA) complementary to the target. Knockout mice can be efficiently made by using this system. We are improving this technology and also use it for making disease model. There are two ways for this purpose. One way is to just make knockout mouse with this technology. And the other is to make iPS model from normal iPS cells. This iPS model is useful for disease research because it can exclude the genetic variances.

Development of epigenome editing using CRISPR/Cas

There is no efficient method for regulating DNA methylation of specific genes. Therefore, it is impossible to demonstrate the role of specific methylation in diseases and there is no epigenome therapy for a specific gene. We are developing the epigenome editing using Cas9 deficient for nuclease activity.

最近の研究成果

Hattori M, Yokoyama Y, Hattori T, Motegi SI, Amano H, Hatada I, Ishikawa O. Global DNA hypomethylation and hypoxia-induced expression of the ten eleven translocation (TET) family, TET1, in scleroderma fibroblasts. *Exp Dermatol.*, [Epub ahead of print] (2015)

Horii T, Yamamoto M, Morita S, Kimura M, Nagao Y, Hatada I. p53 Suppresses Tetraploid Development in Mice. *Sci Rep*. 5:8907 (2015)

Ehara T, Kamei Y, Yuan X, Takahashi M, Kanai S, Tamura E, Tsujimoto K, Tamiya T, Nakagawa Y, Shimano H, Takai-Igarashi T, Hatada I, Suganami T, Hashimoto K, Ogawa Y. Ligand-Activated PPAR α -Dependent DNA Demethylation Regulates the FattyAcid β -Oxidation Genes in the Postnatal Liver. *Diabetes*. 64:775-784 (2015)

Horii T, Arai Y, Yamazai M, Morita S, Kimura M, Itoh M, Abe Y, Hatada I.: Validation of microinjection methods for generating knockout mice by CRISPR/Cas-mediated genome engineering. *Sci Rep* 4: 4513 (2014)

Morita S, Horii T, Kimura M, Arai Y, Kamai Y, Ogawa Y, Hatada I.: Paternal Allele Influences High Fat Diet-Induced Obesity. *PLoS One* 9: e85477 (2014)

Horii T, Morita S, Kimura M, Kobayashi R, Tamura D, Takahashi R, Kimura H, Suetake I, Ohata H, Okamoto K, Tajima S, Ochiya T, Abe Y, Hatada I.: Genome engineering of mammalian haploid embryonic stem cells using the Cas9/RNA system. *PeerJ* 1: e230 (2013)

Horii T, Tamura D, Morita S, Kimura M, Hatada I.: Generation of an ICF Syndrome Model by Efficient Genome Editing of Human Induced Pluripotent Stem Cells Using the CRISPR System. *Int J Mol Sci* 14: 19774-19781 (2013)

Morita S, Horii T, Kimura M, Hatada I.: MiR-184 regulates insulin secretion through repression of Slc25a22. *PeerJ* 1: e162 (2013)

Morita S, Horii T, Kimura M, Ochiya T, Tajima S, Hatada I.: miR-29 represses the activities of DNA methyltransferases and DNA demethylases. *Int J Mol Sci* 14: 14647-14658 (2013)

Takahashi M, Kamei Y, Ehara T, Yuan X, Suganami T, Takai-Igarashi T, Hatada I, Ogawa Y.: Analysis of DNA methylation change induced by Dnmt3b in mouse hepatocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 434: 873-878 (2013)

Gailhouste L, Gomez-Santos L, Hagiwara K, Hatada I, Kitagawa N, Kawaharada K, Thirion M, Kosaka N, Takahashi RU, Shibata T, Miyajima A, Ochiya T.: MiR-148a plays a pivotal role in the liver by promoting the hepatospecific phenotype and suppressing the invasiveness of transformed cells. *Hepatology* 58: 1153-1165 (2013)

Deguchi K, Nagamatsu G, Miyachi H, Kato Y, Morita S, Kimura H, Kitano S, Hatada I, Saga Y, Tachibana M, Shinkai Y.: Posttranscriptional Regulation of Histone Lysine Methyltransferase GLP in Embryonic Male Mouse Germ Cells. *Biol Reprod* 88: 3 (2013)

代謝シグナル解析分野

研究スタッフ / Staff



- | | | | |
|-------------|-------|-------------------------------|-------------------|
| 教授 | 北村 忠弘 | Professor | Tadahiro Kitamura |
| 准教授 | 佐々木 努 | Associate Professor | Tsutomu Sasaki |
| 助教 | 小林 雅樹 | Assistant Professor | Masaki Kobayashi |
| ユニット助教 | 河野 大輔 | Unit Assistant Professor | Daisuke Kohno |
| 助手 | 橋本 博美 | Research Associate | Hiroimi Hashimoto |
| 博士後研究員 | 菊池 司 | Post Doc Fellow | Osamu Kikuchi |
| 博士後研究員 | 松居 翔 | Post Doc Fellow | Shou Matsui |
| 研究支援推進員 | 大澤 千裕 | Research Promotion Technician | Chihiro Osawa |
| 研究支援推進員 | 橋本 智子 | Research Promotion Technician | Satoko Hashimoto |
| 研究支援推進員 | 鈴木 裕子 | Research Promotion Technician | Hiroko Suzuki |
| 大学院生 (博士課程) | 須賀 孝慶 | Graduate Student (D) | Takayoshi Suga |
| 医学部学生 (6年) | 宮崎 慧 | MD, PhD course student | Kei Miyazaki |
| 医学部学生 (3年) | 藤川 尚子 | MD, PhD course student | Shouko Fujikawa |
| 医学部学生 (2年) | 沼田 友理 | MD, PhD course student | Yuri Numata |

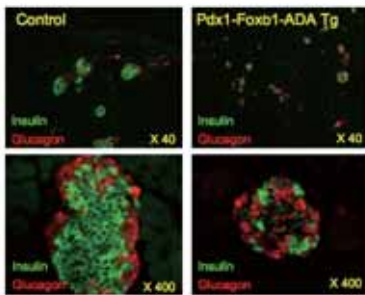


図1 膵臓特異的 FoxO1 トランスジェニックマウスのラビ島インスリン (緑) とグルカゴン (赤) の二重免疫染色の結果を示す。トランスジェニックマウスではインスリン陽性のβ細胞の量が著明に減少している。

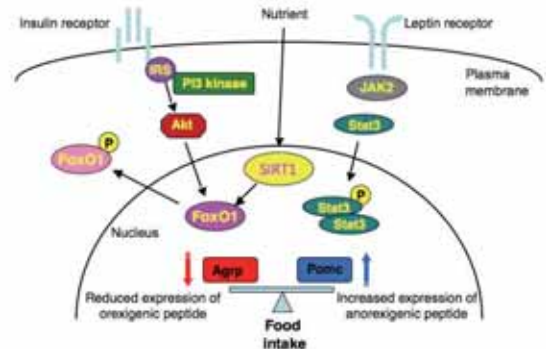


図2 視床下部におけるインスリン、レプチンシグナリング。インスリンとレプチンは視床下部ニューロンにおけるPI3キナーゼ、Akt、FoxO1の経路とJAK2、Stat3の経路を介してAgprとPomcの発現を調節し、食欲とエネルギー代謝調節に関わっている。

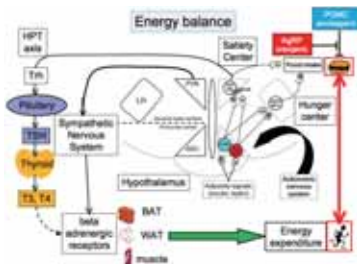


図3 視床下部が食欲と末梢のエネルギー消費を調節するメカニズム。視床下部の一次中枢である弓状核ニューロンがホルモンや栄養素のシグナルを受けると、二次中枢である室傍核のメラノコルチン受容体ニューロンが活性化され、交感神経を介して末梢の脂肪組織や骨格筋においてエネルギー消費が制御される。また、視床下部、下垂体、甲状腺系を介して甲状腺ホルモンが調節されることでエネルギー消費が制御される。一方、室傍核のニューロンは摂食抑制に作用し、逆に視床下部外側野のニューロンは摂食亢進に作用する。これらの作用が統合されることで、全身のエネルギー代謝が調節されている。

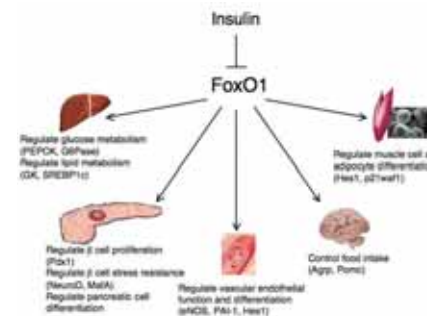


図4 各種インスリン標的臓器におけるFoxO1の作用。膵β細胞においては増殖、分化の調節やストレス抵抗性に関わっている。血管内皮細胞においては血管新生や動脈硬化の進展に、視床下部においては食欲調節や末梢のエネルギー制御に関わっている。また、FoxO1は骨格筋細胞や脂肪細胞の分化調節にも関わっている。

《目標》

我々は主に遺伝子改変動物などの解析を通して、以下の2点の解明を目指しています。

- (A) 転写制御因子による遺伝子レベルの代謝制御メカニズム
 (B) 「代謝シグナル」(ホルモン、自律神経、栄養素)による代謝関連遺伝子の発現制御メカニズム

▶ 現在進行中のプロジェクト

- ① 膵β細胞の新生、分化、増殖調節の分子メカニズムの解明
膵臓特異的、及び膵β細胞特異的にFoxO1、Sirt1、ATF3などの遺伝子改変動物を作製し、それらの表現型を解析することで、膵β細胞量を制御する分子メカニズムを明らかにする(図1)。
- ② 視床下部における食欲とエネルギー消費の制御メカニズムの解明
転写因子FoxO1とNAD依存性脱アセチル化酵素Sirt1を発現するアデノウイルスを視床下部にマイクロインジェクションすることで、さらに、摂食調節ニューロン特異的なFoxO1とSirt1のノックアウトマウスとノックインマウスを作製し、解析することで、視床下部におけるこれらの分子の生理的役割を明らかにする(図2、図3)。
- ③ 膵α細胞の調節メカニズムの解明
膵α細胞特異的FoxO1、Sirt1の遺伝子改変マウスを作製し、解析することで、これらの分子のα細胞における役割を明らかにし、2型糖尿病においてグルカゴン分泌制御機構が破綻する理由を明らかにする。
- ④ FoxO1やSirt1のタンパク修飾に関わる新規分子の同定
これらの分子の特異抗体を用いた免疫沈降、生化学的手法、及び質量分析を用いた解析を行っている。
- ⑤ 新規高特異性グルカゴン測定系の開発
グルカゴンのN末抗体とC末抗体の両方を用いた新規サンドイッチELISA系の開発と、それを用いた血中グルカゴン値の再評価を行っている。
- ⑥ 糖尿病治療薬の抗肥満効果、及びグルカゴン分泌抑制効果の分子メカニズムの解明

Specific aims

We aim at clarifying the following topics through the use of genetically engineered animal models.

- (A) Mechanisms for metabolic regulation at the molecular level
 (B) Regulation of metabolism-related genes by "metabolic signals", such as hormones, autonomic nervous systems and nutrients

▶ On-going projects

- ① We are trying to elucidate the molecular mechanism for pancreatic beta cell dysfunction in type 2 diabetes by analyzing pancreas-specific genetically manipulated animals (Fig. 1).
- ② We are trying to clarify how "metabolic signals" regulate energy homeostasis in the hypothalamus at the molecular level (Fig. 2 and 3).
- ③ We are also investigating the molecular mechanism by which plasma glucagon level is increased in type 2 diabetes.
- ④ We are searching for novel target genes and novel interacting proteins for FoxO1 and Sirt1 by mass spectrometry.
- ⑤ We are developing a new glucagon sandwich ELISA system and by using this method we are also re-evaluating plasma glucagon levels in various conditions.
- ⑥ We are also investigating molecular mechanism for the extra beneficial effects of anti-diabetes drugs toward controlling body weight and glucagon secretion.

We believe that these studies will lead to new strategies to treat or prevent metabolic syndrome.

最近の研究成果

Sasaki T, Kuroko M, Sekine S, Matsui S, Kikuchi O, Susanti VY, Kobayashi M, Tanaka Y, Yuasa T, Kitamura T. Overexpression of insulin receptor partially improves obese and diabetic phenotype in db/db mice. *Endocr J* in press.

Sasaki T, Hiraga H, Yokota-Hashimoto H, Kitamura T. Miglitol protects against age-dependent weight gain in mice: A potential role of increased UCP1 content in brown adipose tissue. *Endocr J* 62: 469-473 (2015)

Cook JR, Matsumoto M, Banks AS, Kitamura T, Tsuchiya K, Accili D. A mutant allele encoding DNA-binding-deficient Foxo1 differentially regulates hepatic glucose and lipid metabolism. *Diabetes* 64: 1951-1965 (2015)

Kohno D, Lee S, Harper MJ, Kim KW, Sone H, Sasaki T, Kitamura T, Fan G, Elmquist JK. Dnmt3a in Sim1 neurons is necessary for normal energy homeostasis. *J Neurosci* 34: 15288-15296 (2014)

Yoshino S, Satoh T, Yamada M, Hashimoto K, Tomaru T, Katano-Toki A, Kakizaki S, Okada S, Shimizu H, Ozawa A, Tsuchiya T, Ikota H, Nakazato Y, Mori M, Matozaki T, Sasaki T, Kitamura T, Mori M. Protection against high-fat diet-induced obesity in Helz2-deficient male mice due to enhanced expression of hepatic leptin receptor. *Endocrinology* 155: 3459-3472 (2014)

Takamoto I, Kubota N, Nakaya K, Kumagai K, Hashimoto S, Kubota T, Inoue M, Kajiwara E, Katsuyama H, Obata A, Sakurai Y, Iwamoto M, Kitamura T, Ueki K and Kadowaki T. TCF7L2 in pancreatic beta cells plays crucial roles in glucose homeostasis by regulating beta-cell mass. *Diabetologia* 57: 542-553 (2014)

Susanti V-Y, Sasaki T, Yokota-Hashimoto H, Matsui S, Lee Y-S, Kikuchi O, Shimpuku M, Kim H-J, Kobayashi M and Kitamura T. Sirt1 reverses the obesity by insulin-resistant constitutively-nuclear FoxO1 in POMC neurons of male mice. *Obesity* 10: 2115-2119 (2014)

Sasaki T, Kikuchi O, Shimpuku M, Susanti V-Y, Yokota-Hashimoto H, Taguchi R, Shibusawa N, Sato T, Tang L, Amano K, Kitazumi T, Kuroko M, Fujita Y, Maruyama J, Lee Y-S, Kobayashi M, Nakagawa T, Minokoshi Y, Harada A, Yamada M, Kitamura T. Hypothalamic Sirt1 prevents age-associated weight gain by improving leptin sensitivity in mice. *Diabetologia* 57: 819-831 (2014)

Lee Y-S, Kobayashi M, Kikuchi O, Sasaki T, Kim H-J, Yokota-Hashimoto H, Susanti V-Y, Ido-Kitamura Y, Kitamura T. ATF3 expression is induced by low glucose in pancreatic alpha and beta cells and regulates glucagon but not insulin gene transcription. *Endocr J* 61: 85-90 (2014)

Kitamura T. The role of FOXO1 in b-cell failure and type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol* 9: 615-623 (2013)

Sasaki T, Shimpuku M, Kitazumi T, Hiraga H, Nakagawa Y, Shibata H, Okamatsu-Ogura Y, Kikuchi O, Kim HJ, Fujita Y, Maruyama J, Susanti VY, Yokota-Hashimoto H, Kobayashi M, Saito M, Kitamura T. Miglitol prevents diet-induced obesity by stimulating brown adipose tissue and energy expenditure independent of preventing the digestion of carbohydrates. *Endocr J* 60: 1117-1129 (2013)

Lee Y-S, Sasaki T, Kobayashi M, Kikuchi O, Kim H-J, Yokota-Hashimoto H, Shimpuku M, Susanti V-Y, Ido-Kitamura Y, Kimura K, Inoue H, Tanaka-Okamoto M, Ishizaki H, Miyoshi J, Ohya S, Tanaka Y, Kitajima S, Kitamura T. Hypothalamic ATF3 is involved in regulating glucose and energy metabolism. *Diabetologia* 56: 1383-1393 (2013)

Kitamura YI, Sasaki T, Kobayashi M, Kim H-J, Lee Y-S, Kikuchi O, Yokota-Hashimoto H, Iizuka K, Accili D, Kitamura T. Hepatic FoxO1 Integrates Glucose Utilization and Lipid Synthesis Through Regulation of Chrebp O-glycosylation. *PLoS One* 7: e47231 (2012)

Talchai C, Xuan S, Kitamura T, Depinho RA, Accili D. Generation of functional insulin-producing cells in the gut by Foxo1 ablation. *Nature Genet* 44: 406-412 (2012)

Kikuchi O, Kobayashi M, Amano K, Sasaki T, Kitazumi T, Kim HJ, Lee YS, Yokota-Hashimoto H, Kitamura YI, Kitamura T. FoxO1 Gain of Function in the Pancreas Causes Glucose Intolerance, Polycystic Pancreas, and Islet Hypervascularization. *PLoS One* 7: e32249 (2012)

Kobayashi M, Kikuchi O, Sasaki T, Kim HJ, Yokota-Hashimoto H, Lee YS, Amano K, Kitazumi T, Susanti VY, Kitamura YI, Kitamura T. FoxO1 as a Double-edged Sword in the Pancreas: Analysis of Pancreas and β Cell-specific FoxO1 Knockout Mice. *Am J Physiol -Endocrinol Metab* 302: E603-613 (2012)

Kim HJ, Kobayashi M, Sasaki T, Kikuchi O, Amano K, Kitazumi T, Lee YS, Yokota-Hashimoto H, Susanti VY, Ido-Kitamura Y, Nakae J, Kitamura T. Over-expression of FoxO1 in the Hypothalamus and Pancreas Causes Obesity and Glucose Intolerance. *Endocrinology* 153: 659-671 (2012)

分泌制御分野



研究スタッフ / Staff

准教授	Associate Professor
鳥居 征司	Seiji Torii
研究支援員	Assistant Technician
細井 真理	Mari Hosoi
研究員	Research Fellow
久保田 知里	Chisato Kubota
研究員	Research Fellow
細谷 絵美	Emi Hosoya
大学院生 (博士3年)	Graduate Student
神徳 亮介	Ryosuke Shintoku
学部生 (6年:MD-PhDコース)	Medical Student
倉持 篤史	Atsushi Kuramochi
学内共同研究員 (講師)	Associate Professor
行木 信一	Nobukazu Nameki
学内共同研究員 (講師)	Associate Professor
山田 圭一	Keiichi Yamada
学内共同研究員 (講師)	Associate Professor
堀内 宏明	Hiroaki Horiuchi
学内共同研究員 (講師)	Associate Professor
吉原 利忠	Toshitada Yoshihara
学外共同研究員	Joint Research Fellow
藤沢 知巳	Tomomi Fujisawa
学外共同研究員	Joint Research Fellow
堀川 弘史	Hiroshi Horikawa

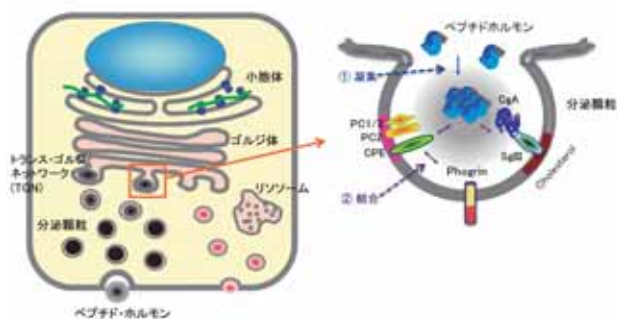


図1 内分泌細胞のホルモン選別輸送と分泌顆粒形成
ペプチドホルモンは TGN あるいは未成熟顆粒においてソーティング(選別輸送)される(左図)。その機構として弱酸性/高カルシウム環境で凝集する性質や、他の顆粒蛋白質や顆粒膜成分との特異的な相互作用が提唱されている(右図)。

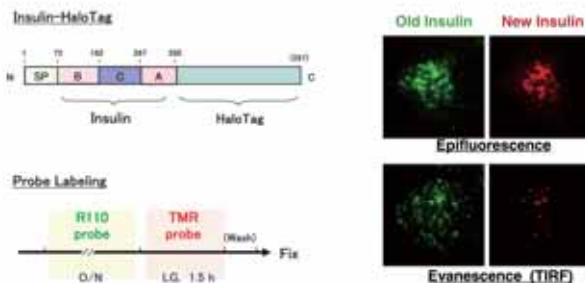


図2 マルチタグ・ラベリング法によるインスリン分泌の解析
膵β細胞株 MIN6 にインスリン-HaloTag (左上図) を発現させ、2種類の蛍光プローブで順次ラベリングした(左下図)。全反射顕微鏡 (TIRF) で解析すると、新しく合成されたインスリン-HaloTag (赤) は細胞膜付近ではなく細胞内部に存在することが示された(右図)。

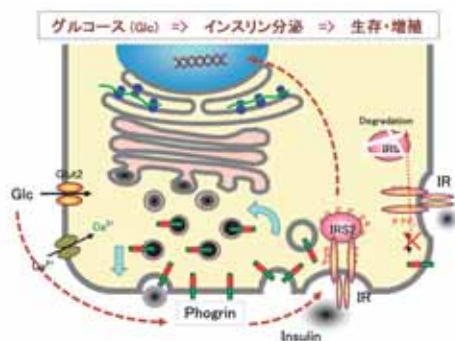


図3 膵β細胞におけるインスリン分泌とオートクライン作用
分泌顆粒膜タンパク質フォグリンは、インスリン分泌と共に細胞膜に移行し活性化インスリン受容体と結合することで、膵β細胞の生存・増殖を制御している。

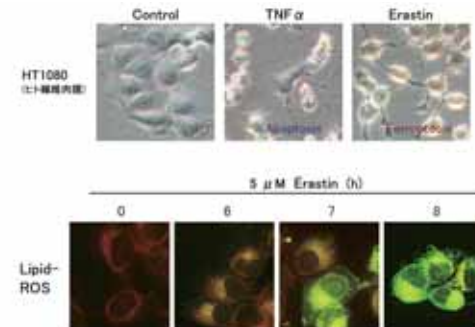


図4 ヒトがん細胞のフェロトーシスの解析
ヒト繊維肉腫HT1080細胞に TNFα または Erastin を処理して、それぞれアポトーシスとフェロトーシスを誘導した(上図)。特異的な蛍光プローブを使い、Erastin処理した細胞の脂質酸化を検出した(過酸化脂質に反応し赤色から緑色へシフトする)(下図)。

《目標》

膵β細胞、脳神経細胞などを研究対象として、その高次機能構築機序を分子生物学的、細胞生物学的手法を用いて解析し、その機能不全あるいは細胞障害によって生じる病態を感知、制御する方法を開発する。

▶ 現在進行中のプロジェクト

1. 内分泌細胞のホルモン分泌顆粒の形成、維持、放出機構の研究

分泌蛋白質や膜蛋白質は粗面小胞体で生合成されたのち、小胞輸送機構によりゴルジ体以降のオルガネラに輸送される。そのうちホルモンやその修飾酵素はトランス・ゴルジ・ネットワーク(TGN)において他の蛋白質と選別され、内分泌細胞に特有の分泌顆粒へと移行し貯留される。私たちは分泌顆粒に特異的な蛋白質であるフォグリン、セクレトグラニンIII、そして分泌顆粒を構成する膜成分のコレステロールに注目し、その機能解析を通じてホルモン選別輸送と分泌顆粒形成のしくみを明らかにしようとしている(図1)。私たちはまた、蛍光を使った新しい解析システムを立ち上げ、ホルモン分泌能の維持機構の研究を進めている(図2)。

2. 膵β細胞、神経細胞の生存増殖と細胞死シグナルの研究

グルコース(高血糖)は膵β細胞からのインスリン分泌を促すだけでなく、細胞増殖を誘導することが知られ、この関連機構の解明は糖尿病の病態を理解するために重要である。分泌顆粒蛋白質フォグリンは、分泌されたインスリンによるオートクライン作用を制御することでβ細胞の増殖に関与している(図3)。現在、糖尿病の病態との関連を詳しく調べている。

私たちは以前、低血糖持続が引き起こす膵β細胞の細胞死は、活性酸素種や脱リン酸化酵素MKP1などが関わる複合型の細胞死であることを明らかにした。また虚血性の神経細胞死に、ミトコンドリアに加えてリリソソーム由来の活性酸素種が関与することを見出した。さまざまな病態に関わると予想される新規細胞死の機構解明に取り組んでいる(図4)。

3. 蛍光、発光プローブを利用した細胞機能および疾患病態の解析

近年の蛍光関連試薬および検出機器の発達によって、生体情報を可視化するイメージング研究が進んできた。連携する理工学部において新しく開発された蛍光・発光プローブを使用し、がんや脳虚血などの解析を行っている。

Specific aims

To elucidate formation mechanisms for highly integrated functions of differentiated cells such as pancreatic β-cells and neuronal cells with use of molecular and cellular technical approaches.

▶ On-going projects

1. Mechanisms on peptide hormones secretion and secretory granule formation in endocrine cells.

Peptide hormones synthesized at the endoplasmic

reticulum are transported to the trans-Golgi network (TGN) where they are sorted and specifically targeted to secretory granules in neuroendocrine cells. We found that secretory granule protein, phogrin, binds to CPE and clathrin adaptors through the luminal region and the cytoplasmic tail, respectively, suggesting that this transmembrane protein has a role in hormone sorting by providing a communication device between the granule lumen and the cytosol. We further investigate the regulatory secretion and degradation of peptide hormones using a recently developed multi-tag imaging system.

2. Mechanisms on growth, survival, and cell death in pancreatic β-cells and neuronal cells.

We have discovered that phogrin functions as a regulatory mediator bridging between glucose/insulin secretion and autocrine insulin signaling in the growth of pancreatic β-cells. We are analyzing its physiological role with use of the gene-targeted mouse. In addition, we investigate the signaling pathway of novel necrotic cell death such as necroptosis and ferroptosis with tumor cells or neuronal cells.

3. Development of fluorescent or luminescent probes for investigating various diseases.

In a collaborative study with some engineering groups, we are developing fluorescent or luminescent probes to dissect molecular mechanisms of dysfunction in cancer, diabetes, and other diseases. We demonstrated previously that reactive oxygen species are localized at autophagosomes/lysosomes in a basal state and they are eventually implicated to neuronal cell death by cerebral ischemia.

最近の研究成果

Gomi H, Morikawa S, Shinmura N, Moki H, Yasui T, Tsukise A, Torii S, Watanabe T, Maeda Y, Hosaka M.: Expression of secretogranin III in chicken endocrine cells: Its relevance to the secretory granule properties of peptide prohormone processing and bioactive amine contents. *J Histochem Cytochem* 63: 350-366 (2015)

Sun M, Watanabe T, Bochimoto H, Sakai Y, Torii S, Takeuchi T, Hosaka M.: Multiple sorting systems for secretory granules ensure the regulated secretion of peptide hormones. *Traffic* 14: 205-218 (2013)

Gomi H, Kubota-Murata C, Yasui T, Tsukise A, Torii S.: Immunohistochemical analysis of IA-2 family of protein tyrosine phosphatases in rat gastrointestinal endocrine cells. *J Histochem Cytochem* 61: 156-168 (2013)

Hou N, Mogami H, Kubota-Murata C, Sun M, Takeuchi T, Torii S.: Preferential release of newly synthesized insulin assessed by a multi-label reporter system using pancreatic β-cell line MIN6. *PLoS One* 7: e47921 (2012)

Saito N, Takeuchi T, Kawano A, Hosaka M, Hou N, Torii S.: Luminal interaction of phogrin with carboxypeptidase E for effective targeting to secretory granules. *Traffic* 12: 499-506 (2011)

生体膜機能分野



研究スタッフ / Staff

准教授 佐藤 美由紀	Associate Professor Miyuki Sato
技術補佐員 佐藤 克哉	Assistant Technician Katsuya Sato

C. elegans の生殖腺を用いた初期発生の *in vivo* 解析

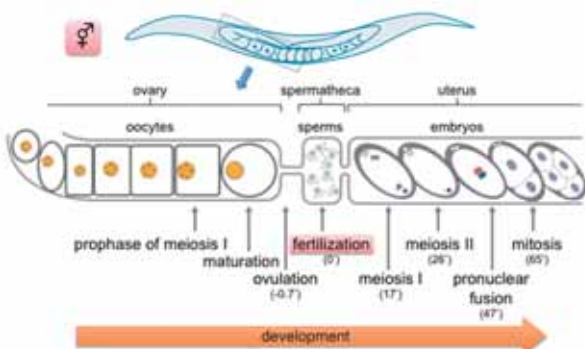


図1 *C. elegans* の生殖腺の構造。雌雄同体で自家受精するため、受精前後や初期胚発生の様子を生きた個体内で容易に観察することができる。

リソソーム分解系の活性化による母性・父性由来成分の分解

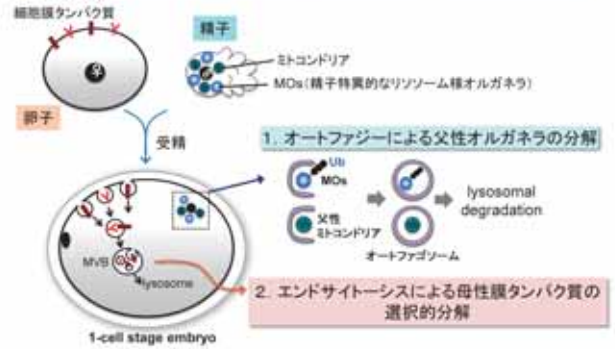


図2 受精後に活性化されるリソソーム分解系。受精直後にはオートファジーとエンドサイトーシスが一般的に活性化され、それぞれ特異的な膜成分の分解を行っている。

オートファジーによる精子由来ミトコンドリアの選択的分解

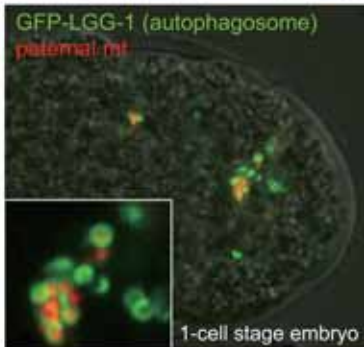


図3 オートファジーによる精子由来ミトコンドリアの選択的分解。侵入した精子ミトコンドリア周囲にオートファゴソーム膜が形成される様子を生きた受精卵で観察した。

K63 結合ユビキチン化を介したエンドサイトーシスの制御

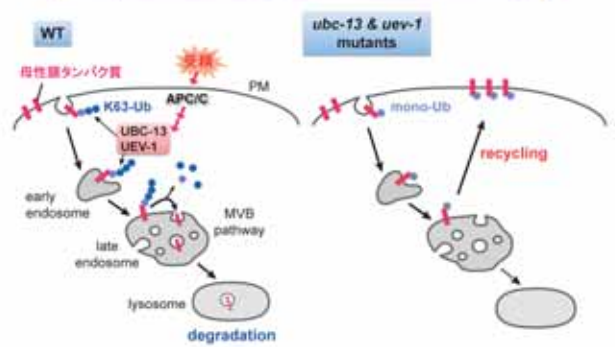


図4 エンドサイトーシスにおけるユビキチン化の関与。受精後には K63 結合ユビキチン化が誘導され、卵子由来する母性細胞質タンパク質の分解を制御している。

《目標》

モデル生物である線虫 *C. elegans* を用いてエンドサイトーシス・オートファジーの膜動態の制御メカニズムを解明するとともに、これらリソソーム分解系の動物個体における生理機能を明らかにする。

▶ 現在進行中のプロジェクト

1. オートファジーによる父性ミトコンドリアの分解のメカニズム

オートファジーは細胞質の成分(タンパク質やオルガネラ)を二重膜で囲い込んでオートファゴソームを形成し、リソソームと融合することで内容物を分解する大規模分解システムである。我々は線虫受精卵において、受精によって持ち込まれた精子由来ミトコンドリアとそこに含まれるミトコンドリアDNAがオートファジーによって選択的に捕捉・分解される現象を見出した(図2, 3)。また、この分解はミトコンドリアDNAが母方からのみ伝わる“母性遺伝”のメカニズムでもあった。現在はどのようにして精子由来ミトコンドリアのみが選択的に認識されオートファゴソーム膜にリクルートされるのかに注目し、そこに関わる因子の探索を行っている。また、このオートファジーによる精子ミトコンドリアの分解の生理的・進化的意義の理解も目指している。

2. 受精後に誘導されるエンドサイトーシスによる細胞膜成分の分解のメカニズム

エンドサイトーシスは環境からの栄養素やシグナル因子の取り込みを行うメカニズムであるとともに、細胞膜上の受容体の量を調節することで、細胞外からのシグナル伝達の強度やタイミングも制御している。我々は線虫の受精卵では受精直後にエンドサイトーシスが一過的に活性化し、卵子に由来する一群の細胞膜タンパク質が積極的に分解されていることを見出した(図2)。また、この分解には基質タンパク質のK63結合ユビキチン化が必要であり、K63結合ユビキチン化に特異的に働くユビキチン結合タンパク質複合体UBC-13・UEV-1によって制御されていることを明らかにした(図4)。現在は特異的ユビキチンリガーゼの探索を行うとともに、受精のシグナルがどのようにしてユビキチン化経路を活性化するのか、そのシグナリングのメカニズムの解明を進めている。また、エンドサイトーシスを阻害すると胚性致死となることから、発生過程の細胞間コミュニケーションにおけるエンドサイトーシスの役割についても解析を行っている。

Specific aims

Eukaryotic cells are composed of many membrane-bound organelles, and shapes, compositions and functions of these organelles are dynamically regulated under various situations. Membrane trafficking mediates transport between them and determines the identity of each organelle, which bases organellar dynamics. The aim of our research is to understand the molecular mechanisms and physiological roles of membrane trafficking during animal development.

▶ On-going projects

1. Autophagy of paternal mitochondria in *C. elegans* embryos

During the development of multicellular organisms, each cell changes its nature through the remodeling of cellular constituents. In particular, fertilization, as the start of a new life, triggers dramatic cellular remodeling, called the “oocyte-to-zygote (embryo) transition”. Using *C. elegans* as a model system, we have shown that lysosomal pathways are transiently activated in this period and promote selective turnover of maternally and paternally-inherited proteins and organelles (Fig. 2). Upon fertilization, autophagy is locally induced around penetrating sperm and selectively degrades paternal mitochondria and MOs (sperm-specific organelles) (Fig. 3). This autophagic degradation of the paternal mitochondria also explains why mitochondrial DNA is maternally inherited. We are trying to elucidate how paternal organelles are recognized and selectively engulfed by autophagosomes. We are also interested in the physiological and evolutionary significance of this autophagic degradation of paternal organelles.

2. Endocytic degradation of maternal membrane proteins in *C. elegans* embryos

In addition to autophagy, endocytosis is also upregulated after fertilization and downregulates maternal membrane proteins through the multivesicular body (MVB) pathway (Fig. 2). We found that K63-linked ubiquitination of the substrates is involved in these processes (Fig. 4). We are trying to elucidate molecular mechanisms of this selective endocytosis and the signaling pathway that induces ubiquitination after fertilization.

最近の研究成果

Miyuki Sato, Ryosuke Konuma, Katsuya Sato, Kotone Tomura, and Ken Sato. Fertilization-induced K63-linked ubiquitylation mediates clearance of maternal membrane proteins. **Development** 141: 1324-1331 (2014)

Keiko Saegusa, Miyuki Sato, Katsuya Sato, Junko Nakajima-Shimada, Akihiro Harada, Ken Sato. *Caenorhabditis elegans* chaperonin CCT/TRiC is required for actin and tubulin biogenesis and microvillus formation in intestinal epithelial cells. **Mol Biol Cell**. 25: 3095-104 (2014).

Miyuki Sato and Ken Sato. Maternal inheritance of mitochondrial DNA by diverse mechanisms to eliminate paternal mitochondrial DNA. **BBA Mol. Cell Res.** 833: 1979-1984 (2013)

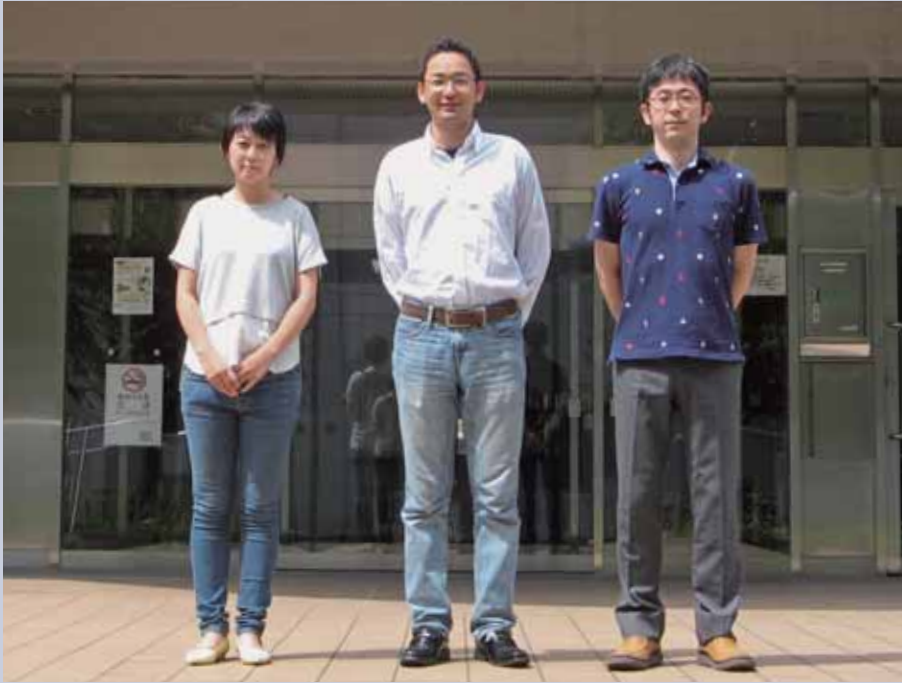
Miyuki Sato and Ken Sato. Dynamic regulation of autophagy and endocytosis for cell remodeling during early development. **Traffic** 14: 479-486 (2013)

Miyuki Sato and Ken Sato. Maternal inheritance of mitochondrial DNA: Degradation of paternal mitochondria by allogeneic organelle autophagy, allophagy. **Autophagy** 8:424-425 (2012)

Miyuki Sato and Ken Sato. Degradation of paternal mitochondria by fertilization-triggered autophagy in *C. elegans* embryos. **Science** 334:1141-1144 (2011)

Miyuki Sato, Keiko Saegusa, Katsuya Sato, Taichi Hara and Ken Sato. *Caenorhabditis elegans* SNAP-29 is required for organellar integrity of the endomembrane system and general exocytosis in intestinal epithelial cells. **Mol Biol Cell**. 22:2579-2587 (2011)

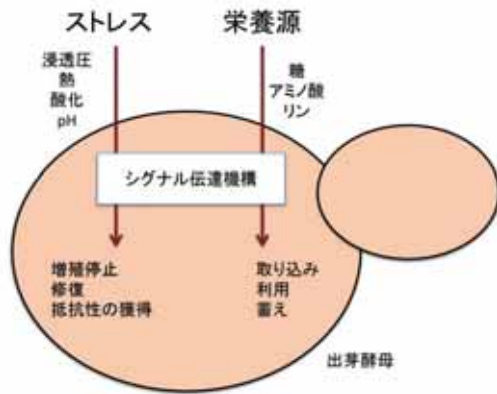
細胞シグナル分野



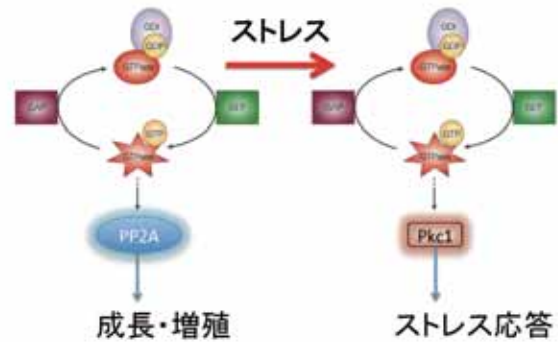
研究スタッフ / Staff

准教授	Associate Professor
吉田 知史	Satoshi Yoshida
助教	Assistant Professor
高稲 正勝	Masakatsu Takaine
技術補佐員	Assistant Technician
北山 美代子	Miyoko Kitayama

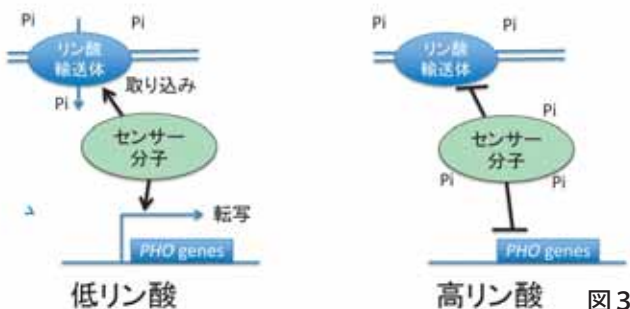
細胞は外からの刺激にどう応答するのか？



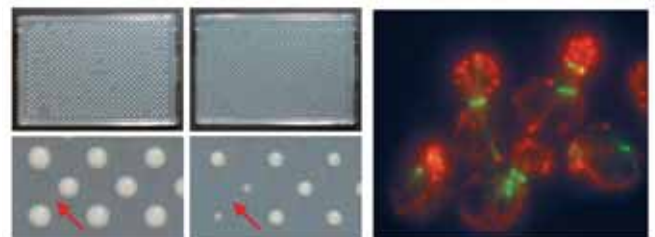
至適環境とストレス環境でRho1シグナルのアウトプットが切り替わる分子メカニズムは何か？



細胞内リン酸濃度を感知するセンサー分子の正体は何か？



出芽酵母を用いた遺伝学と細胞生物学



《目標》

細胞は常に環境からのストレスや栄養源等の様々な刺激にさらされており、このような外的刺激に適切に応答できなければ細胞は損傷を受け老化、あるいは細胞死にいたる。したがって細胞のストレス応答機構を詳しく理解することは生活習慣病や老化の治療法の開発に必須である。我々はモデル細胞として出芽酵母を用い細胞が様々な環境変化に応答しながら恒常性を保ち適応する分子機構を明らかにしたいと考えている。(図1)

▶現在進行中のプロジェクト

研究テーマ1

膜損傷時にmTORC2-Akt経路がRho1を活性化するメカニズムの解明

細胞膜ストレス応答に必須なシグナル伝達分子であるRho GTPaseが細胞膜の脂質分子および恒常性調節タンパク質mTORC2に活性化される分子機構を解析し、細胞膜にストレスがかかった状態と平常状態で細胞内シグナル伝達系の出力(アウトプット)が変化するメカニズムを明らかにしようとしている。(図2)

研究テーマ2

栄養源に応答するPP2Aホスファターゼの活性制御機構の解析

ストレス応答時には様々なキナーゼが活性化されるが同時にホスファターゼの不活性化も必須である。我々は主要なホスファターゼであるPP2Aが不活性化される分子機構をその制御因子であるZds1との関係から解析している。

研究テーマ3

細胞内のリン酸濃度センサーの同定とポリリン酸の生体エネルギー調節における役割

リンはDNAやRNAなどの核酸の必須構成因子であるだけでなくATPやGTPなどの細胞内エネルギー通貨の必須構成因子でもあり細胞内のリン酸濃度は厳密にコントロールされている。我々は細胞内でリン酸やポリリン酸が生体エネルギー調節に果たす役割を調べるとともに細胞内リン酸濃度を感知する分子メカニズムの実態を解き明かしたいと考えている。(図3)

Specific Aims

Our lab aims to understand molecular mechanism by which cells respond to extracellular and intracellular signals. We take multifaceted approach combining Biochemistry, Genetics and Imaging to reveal mechanisms of action of key signaling molecules such as small GTPases, protein kinases and phosphatases.

▶On-going projects

1. A mechanism by which mTORC2 activates Rho1 GTPase upon membrane stress
2. How does Zds1 protein inactivate PP2A phosphatase upon stress?
3. Identification of a sensor molecule for intracellular phosphate concentration and defining a role of polyphosphates in cellular energetics.

最近の研究成果

Takaine M, Numata O, Nakano K. An actin-myosin-II interaction is involved in maintaining the contractile ring in fission yeast
J Cell Sci. 128: 2903-18, (2015)

Botchkarev VV Jr, Rossio V, **Yoshida S**. The budding yeast Polo-like kinase Cdc5 is released from the nucleus during anaphase for timely mitotic exit.

Cell Cycle. 13(20):3260-70. (2014)

Rossio V, Kazatskaya A, Hirabayashi M, **Yoshida S**. Comparative genetic analysis of PP2A-Cdc5 regulators in budding yeast.

Cell Cycle. 13(13):2073-83. (2014)

Takaine M, Imada K, Numata O, Nakamura T, Nakano K. The meiosis-specific nuclear passenger protein is required for proper assembly of forespore membrane in fission yeast.

J Cell Sci 127: 4429-4442, (2014)

Rossio V, Michimoto T, Sasaki T, Ohbayashi I, Kikuchi Y, **Yoshida S**. Nuclear PP2A-Cdc55 prevents APC-Cdc20 activation during the Spindle assembly checkpoint (SAC)

J Cell Sci. 126: 4396-4405, (2013)

Atkins BD, **Yoshida S**, Saito K, Wu CF, Lew DJ, Pellman D. Inhibition of Cdc42 during mitotic exit is required for cytokinesis.

J Cell Biol. July 22;202(2). (2013)

Dotiwala F, Eapen VV, Harrison JC, Arbel-Eden A, Ranade V, **Yoshida S**, Haber JE. The DNA damage checkpoint triggers autophagy to regulate the initiation of anaphase.

PNAS.110(1): 41-49 (2013)

Kono K, Saeki Y, **Yoshida S**, Tanaka K, Pellman D. Proteasomal Degradation Resolves Competition between Cell Polarization and Cellular Wound Healing

Cell. 150(1):151-164 (2012)

Ikui AE, Rossio V, Schroeder L, **Yoshida S**. A yeast GSK-3 kinase Mck1 promotes Cdc6 degradation to inhibit DNA re-replication.

PLoS Genet.8(12). (2012)

Rossio V, **Yoshida S**. Spatial regulation of Cdc55-PP2A by Zds1/Zds2 controls mitotic entry and mitotic exit in budding yeast.

J Cell Biol. 193(3):445-54.(2011)

Takaine M, Numata O, Nakano K. Fission yeast IQGAP arranges actin filaments into the cytokinetic contractile ring.

EMBO J. 28(20):3117-31(2009)

Yoshida S, Bartolini S, Pellman D. Mechanisms for concentrating Rho1 during cytokinesis.

Genes Dev. 23(7):810-23(2009)

年表

Brief History

群馬大学医学部に附属内分泌研究施設設置	昭和26年 3月	1951 March	The Endocrine Research Facility of Medicine was founded in Gunma University School.
第1部門臓器化学部発足 第1研究棟の新築工事竣工	26年 4月	1951 April	First Department(Organ Functions) was started. Research Building 1 was constructed.
第2部門形態機能部設置	27年 4月	1952 April	Second Department(Functional Morphology) was started.
第3部門生物実験部設置	28年 4月	1953 April	Third Department(Experimental Biology) was started.
第2研究棟と第3研究棟の新築工事竣工	29年 5月	1954 May	Research Building 2 and 3 were constructed.
第2部門形態機能部は、機能部となり、第4部門形態部設置	30年 7月	1955 July	Second Department was shifted to Department of Biological Functions. Forth Department (Morphology) was started.
第5部門効果検定部設置	32年 4月	1957 April	Fifth Department(Physical Biochemistry) was started.
群馬大学医学部附属内分泌研究施設が 群馬大学内分泌研究所となる	38年 3月	1963 March	The Facility was graded up to the Institute of Endocrinology in the Gunma University.
第1研究部（形態学）、第2研究部（生理学）、 第3研究部（比較内分泌学）、第4研究部 （物理化学）、第5研究部（薬学）として発足	38年 4月	1963 April	The Institute consisted of First Research Dept. (Morphology),Second Research Dept.(Physiology), Third Research Dept.(Comparative Endocrinology), Fourth Research Dept.(Physical Biochemistry),and Fifth Research Dept.(Pharmaceutical Chemistry).
第6研究部（化学構造）設置	41年 4月	1966 April	Sixth Research Department(Protein Chemistry) was started.
新研究棟完成	42年 3月	1967 March	Headquarter Building was constructed.
附属研究施設ホルモン測定センター設置	47年 5月	1972 May	Research Facility(Hormone Assay Center) was started.
群馬大学生体調節研究所に改組 附属研究施設ホルモン測定センターは 附属生理活性物質センターとなる	平成 6年 6月	1994 June	The Institute was renovated to the Institute for Molecular and Cellular Regulation(IMCR), and Hormone Assay Center to the Biosignal Research Center.
21世紀COEプログラム拠点 「生体情報の受容伝達と機能発現」となる	14年10月	2002 October	Accepted as a Center for the 21st COE Program.
研究棟増築：改修工事完了	16年 1月	2004 January	Construction of new building and renovation of old building were completed.
群馬大学生体調節研究所を改組 群馬大学遺伝子実験施設を統合し 附属生理活性物質センターは 附属生体情報ゲノムリソースセンターとなる	16年12月	2004 December	The Institute was reorganized to unite Gene Research Center with IMCR, and to change Biosignal Research Center into Biosignal Genome Resource Center.
群馬大学生体調節研究所の改組により 附属代謝シグナル研究展開センターを設置	19年 4月	2007 April	The Institute for Molecular and Cellular Regulation was reorganized and a new research center, namely the Research Center for Metabolic Signals was built.
群馬大学・秋田大学連携 グローバルCOEプログラム拠点 「生体調節シグナルの統合的研究」となる	19年 6月	2007 June	Accepted as a center for the Global COE Program
内分泌・代謝学共同研究拠点として認定される	21年 6月	2009 June	Accepted as a Collaborative Research Center for endocrinology and metabolism.
群馬大学生体調節研究所が50周年を迎える	25年11月	2013 November	IMCR celebrated 50th anniversary
学長直轄組織である未来先端研究機構の シグナル伝達研究プログラムと連携	26年10月	2014 October	Associated with the Gunma University Initiative for Advanced Research (Research Program for Signal Transduction).



教職員集合写真（平成 27 年 1 月 5 日 研究所玄関前）

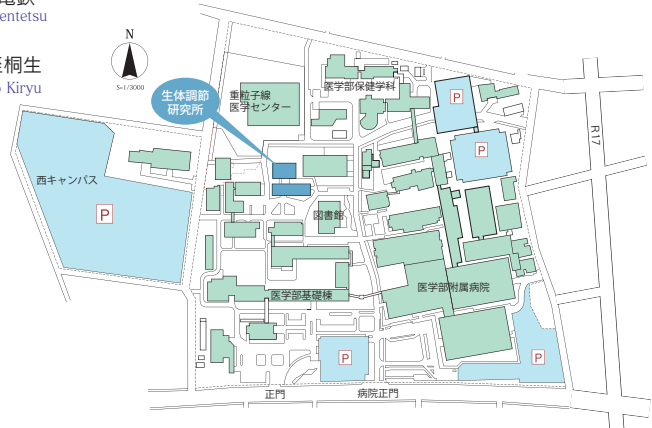
建 物 Facilities



総面積	4,763m ²
Total Area	
研究棟 A (RC5)	1,825m ²
Laboratory Building A	
研究棟 B (RC5)	2,887m ²
Laboratory Building B	
危険薬品庫等 (RC.B)	18m ²
Dangerous Drug Store etc	
車庫 (S1)	33m ²
Garage	

案内図

Location of the Institute in Maebashi City



アクセス

Access

- JR 上越新幹線あるいは北陸新幹線にて高崎駅下車、タクシーで約 30 分
Take the JR Joetsu or Hokuriku Shinkansen Line to Takasaki Station. From there about 30min by taxi.
- JR 両毛線にて前橋駅下車、北方へ 4 km、バス（群大病院行）にて約 15 分、あるいはタクシーにて約 10 分
Take the JR Ryomo Line train to Maebashi Station. From there about 4km in the northerly direction. About 15min by bus or 10min by taxi.
- JR 上越線にて新前橋駅下車、北方へ 5 km、タクシーにて約 15 分
Take the JR Joetsu Line train to Shin-Maebashi Station. From there about 5km in the northerly direction about 15min by taxi.
- 関越自動車道にて前橋インターで一般道へ下り約 15 分
By car : Take the Kan-Etsu Expressway to Maebashi Interchange. From there about 15min on the ordinary road.

国立大学法人
群馬大学 生体調節研究所

〒 371-8512 前橋市昭和町三丁目 39 番 15 号
TEL:027-220-8822
FAX:027-220-8899
URL:<http://www.imcr.gunma-u.ac.jp>

Institute for Molecular and Cellular Regulation
National University Corporation Gunma University

3-39-15 Showa-machi, Maebashi, Gunma, 371-8512 Japan
TEL:+81-27-220-8822
FAX:+81-27-220-8899
URL:<http://www.imcr.gunma-u.ac.jp>