

京都大学ウイルス・再生医科学研究所

自己点検・評価報告書

(平成28年度ー令和2年度)

令和4（2022）年3月

ウイルス・再生医科学研究所

はじめに

京都大学ウイルス・再生医科学研究所（以下、本研究所）は、平成28年10月にウイルス研究所と再生医科学研究所が統合することで発足した。その後5年が経過したが、統合以降の研究・教育活動や運営状況について客観的な点検・評価を行い、今後の研究・教育活動の向上に資するために本自己点検・評価報告書をまとめることとなった。評価対象期間は平成28年度～令和2年度（2016年4月1日～2021年3月31日）である。また本報告書は両旧研究所も含めて初めての自己点検・評価報告書となる。

ウイルス感染症学研究と再生医科学研究を行う二つの研究所が統合した本研究所は、ウイルス感染症学・再生医科学・生命システム学を研究の基軸として、生物学・医学・薬学・工学の広範な範囲の研究分野との学際研究・異分野融合研究を加速し、新しい学術分野を創出することを目指すこととなった。生命医科学における研究と技術の展開・進歩は著しく早い。さらに近年では、個々の学術領域に留まらず、学際・異分野融合研究から新たな学術分野が続々と生み出されている。その流れの中で、本研究所の発足は新たな生命医科学の学術分野を創出するとともにイノベーションを引き起こす転機となることが期待される。本報告書が第三者の視点で自身の研究を見つめ直し、今後の本研究所の研究・教育活動の発展につながる議論のきっかけとなれば幸いである。

今回の自己点検・評価報告書の作成にあたり、協力をいただいた研究所の教職員に感謝する。また、種々の調査項目について、南西地区共通事務部からも情報を提供していただいた。この場を借りて深く感謝の意を表する。

令和4年3月

ウイルス・再生医科学研究所
所 長 小柳 義夫

自己点検・評価委員会

委員長 生田 宏一

委員 杉田 昌彦

委員 秋山 芳展

委員 安達 泰治

委員 多田 高

委員 宮崎 正輝

委員 廣田 圭司

委員 森田 勇二

目次

はじめに	i
1. 研究所の概要	
(1) 目標	1
(2) 組織	2
(3) 管理運営	7
(4) 財政	10
(5) 施設・設備	11
(6) 研究活動	14
(7) 国際連携	15
(8) 教育活動	18
(9) 社会連携・情報公開	21
2. 研究活動の内容と成果	23
(1) 研究分野における研究内容と成果	
ウイルス感染研究部門	
A-1: 分子遺伝学分野	24
A-2: ウイルス制御分野	26
A-3: RNA ウイルス分野	28
A-4: 微細構造ウイルス学分野	30
A-5: がんウイルス分野（酒井グループ）	32
A-6: がんウイルス分野（土方グループ）	34
A-7: 細胞制御分野	36
A-8: 免疫制御分野	38
再生組織構築研究部門	
B-1: 細胞機能調節学分野（細川グループ）	40
B-2: 細胞機能調節学分野（平芳グループ）	42
B-3: 細胞機能調節学分野（藤本グループ）	44
B-4: 生体材料学分野	46
B-5: 再生免疫学分野	48
B-6: 組織再生応用分野	50
B-7: 発生エピゲノム分野（多田グループ）	52
B-8: 発生エピゲノム分野（中馬グループ）	54
B-9: 統合生体プロセス分野	56
B-10: 生体再建学分野	58
生命システム研究部門	
C-1: バイオメカニクス分野	60
C-2: 発生システム制御分野	62

C-3: システムウイルス学分野	64
C-4: 増殖制御システム分野	66
C-5: RNA システム分野	68
C-6: 生体膜システム分野	70
C-7: 組織恒常性システム分野	72
C-8: 数理生物学分野	74
C-9: 幹細胞遺伝学分野	76
C-10:がん・幹細胞シグナル分野	78
C-11:幹細胞デコンストラクション分野	80
C-12:情報制御学分野	82
附属感染症モデル研究センター	
D-1: 霊長類モデル分野	84
D-2: ウイルス共進化分野	86
附属ヒト ES 細胞研究センター	
E-1: 臨床基盤分野	88
(2) 附属研究施設の概要と課題	
1) 附属感染症モデル研究センター	90
2) 附属再生実験動物施設	91
3) 附属ヒト ES 細胞研究センター	92
(3) 共同利用・共同研究拠点	
1) ウイルス感染症・生命科学先端融合的共同研究拠点	94
2) 再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点	96
3. まとめ	98

1. 研究所の概要

(1) 目標

ウイルス・再生医科学研究所はウイルス研究所と再生医科学研究所が統合することで、平成28年10月に発足した。同じ生命医科学領域で分子・細胞・個体レベルの詳細な解析から課題解決に至る研究手法に多くの共通点を持つ両研究所が統合することで、人材を集約化し効率的な研究開発推進を行うことを目的とした組織統合であった。組織統合により、ウイルス感染症学研究を行うウイルス感染研究部門と再生医科学研究を行う再生組織構築研究部門、さらにシステムとしての生命医科学研究を行う生命システム研究部門の3部門に改組した。

これらの組織改編によって、これまでのウイルス感染症学や再生医科学に加えて、物理・化学工学、幹細胞学、腫瘍学、数理科学、免疫学、ゲノム情報学などの異なるバックグラウンドの研究者が研究空間を共有する特徴を活かし、研究者が連携・影響し合い分子・細胞・多細胞から臓器・個体までを一気通貫に扱う統合的医科学研究を進める体制が作られた。これらの体制固めを基にして、本研究所は、ウイルス感染症学・再生医科学・生命システム学を研究の基軸として、生物学・医学・薬学・工学の広範な範囲の研究分野との学際研究・異分野融合研究を加速し、新しい学術分野を創出するとともに未来の学術分野を生み出す人材を育成することを目指している。

(2) 組織

【特記事項】

- ・ウイルス研究所と再生医科学研究所をウイルス・再生医科学研究所として組織統合し、3研究部門と2施設に改組した。
- ・組織再編により、ウイルス感染症学と再生医科学の研究力強化に加え、新たな医科学研究組織体制を整備した。
- ・本邦における医療用ヒトES細胞の樹立・分配機能を強化するため、本研究所の附属研究施設として「附属ヒトES細胞研究センター」を設置した。
- ・先端的な生命システム研究に挑む次世代研究者を養成するために、若手重点戦略定員を活用するとともに、研究所独自の「フロンティア研究者プログラム」を構築した。

本研究所は、昭和31年（1956年）に発足したウイルス研究所と昭和16年（1941年）に発足した結核研究所から胸部疾患研究所を経て生体医療工学研究センターとの統合により平成10年に発足した再生医科学研究所を母体とする。日進月歩の医学・生命科学研究領域の発展を牽引し、さらに新領域の最先端研究を開拓、推進するとともに、将来の医学・生命科学研究を担う若手研究者の育成を目的として、平成28年に両研究所が発展的な組織統合を行い、「ウイルス・再生医科学研究所」が発足した。

研究教育体制

1) 研究部門と附属研究施設

両研究所の統合に伴い、ウイルス学・免疫学研究を行う「ウイルス感染研究部門」、再生医科学研究を行う「再生組織構築研究部門」、ならびにシステム生物学の新たな構築・発展を視野に入れた「生命システム研究部門」の3部門を設置した（図2）。また、研究所機能の整備と強化のため附属施設・センターの集約を図り、霊長類を含む感染症研究を主導する「附属感染症モデル研究センター」と動物実験の円滑な推進を担う「附属再生実験動物施設」を設置した。

さらに、本邦における医療用ヒトES細胞の樹立・分配機能を強化するため、令和2年4月に「附属ヒトES細胞研究センター」を設置した。既存の分野を組織再編し、専任教員（所内配置換准教授1名と特定講師1名）と兼任教員（教授2名）を配置した。今後、本学医学部附属病院先端医療研究開発機構（iACT）と連携しながら、ヒトES細胞の臨床応用も促進させていく予定である。

2) 共同利用・共同研究拠点

旧ウイルス研究所は、平成21年6月に「ウイルス感染症・生命科学先端融合的共同研究拠点」としての認定を受け、霊長類およびマウスのP3感染実験施設を活用した個体レベルの感染実験や最先端の研究手法を駆使した遺伝子・細胞レベルのウイルス研究を通して、年当たり20～27件のウイルス感染症・生命科学の共同研究を推進してきた。

また、旧再生医科学研究所は、平成20年10月に「再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点」としての認定を受け、研究所に集約された再生医学の知識・技術を基に、年当たり12～20件の多様な先端的共同研究の推進を担ってきた。両研究所統合後においても2つの共同研究拠点を精力的に機能させてきた。

なお、令和4年度からは、新研究所の特色を生かしてさらなる最先端・異分野融合研究を促進するため、これら二つの拠点を発展・統合し「ウイルス・幹細胞システム医生物学共同研究拠点」の設置が認められた。新拠点においては、ウイルス学、幹細胞学、生命システム学分野の視点によるマルチスケール医生物学の創出と次世代研究者の育成体制の確立を目標として、ウイルス感染研究、幹細胞・組織再生研究、生命システム研究に関する共同研究を推進する予定である。

教員

研究所統合に伴い、新たな予算を獲得するとともに教授2名の定員を得て、生命システム研究部門に統合システム研究を実施する「数理生物学分野」、さらに、生命システム研究手法の医療応用研究を行う「がん・幹細胞シグナル分野」を立ち上げ、生命システム研究を推進している。また、研究所統合を起点として、新研究領域を牽引する若手教員、女性教員、外国人教員の積極的登用を進めた。平成28年～令和2年度の間に、新規教員として30代教授1名、40代教授4名、准教授3名、特定准教授4名、講師2名、助教4名、特定助教2名を学外より新規雇用し、若手研究者の確保に努めた(表2.1)。

若手研究者の積極的育成が極めて重要であるとの観点から、35歳以下の教員を対象とした本学の若手重点戦略定員を申請し、令和元年度に1名が措置され、若手助教を採用した。また、令和3年度にはさらに0.5名措置された。さらに、研究所独自の「フロンティア研究者プログラム」として、若手重点戦略定員に加え、研究所の配当定員を利用して複数の研究室に対して若手助教（35歳以下）を1名追加した分野構成を認め、3名の若手助教を採用した。本プログラムにより、若手教員に対するダブルメンター制の導入や長期海外研究の機会の付与など、キャリアアップのための活動自由度を上げる仕組みを取り入れた。

同時に、女性教員および外国人教員も積極的に採用した。本学における男女共同参画推進施策の一環として、雇用の分野における男女の均等な機会及び待遇の確保等に関する法律（男女雇用機会均等法）第8条の規定に基づき、選考において評価が同等である場合は、女性を優先して採用する公募を行い、令和2年度に女性の准教授を1名採用した。また、本学の「国際高等教育院における外国人教員受入制度設計」に基づく外国人教員採用制度を活用し、外国人教員を平成28年度と平成29年度に1名ずつを採用した。また、若手教員を中心に、外部への昇任等、人材の流動性が顕著であった(表2.2、表2.3)。

現時点において、まだ目標は達成されていないが、今後数年の間に、多数の教授が定年を迎える予定であることを考慮すると、本研究所の若手教員、女性教員、外国人教員の割合は飛躍的に改善することが期待される(表2.4)。

事務組織

病院西・薬学部構内における共通業務の集約化のため平成25年4月に設置された南西地区共通事務部ならびに研究所統合により再編された部局総務掛が連携して、事務組織の機能強化を行った。さらに、昨今の情報管理の重要性を考慮し、部局総務掛において情報セキュリティ対応を含む情報担当の職員を令和元年度より配置している。

図2. 組織図（令和2年度4月1日現在）

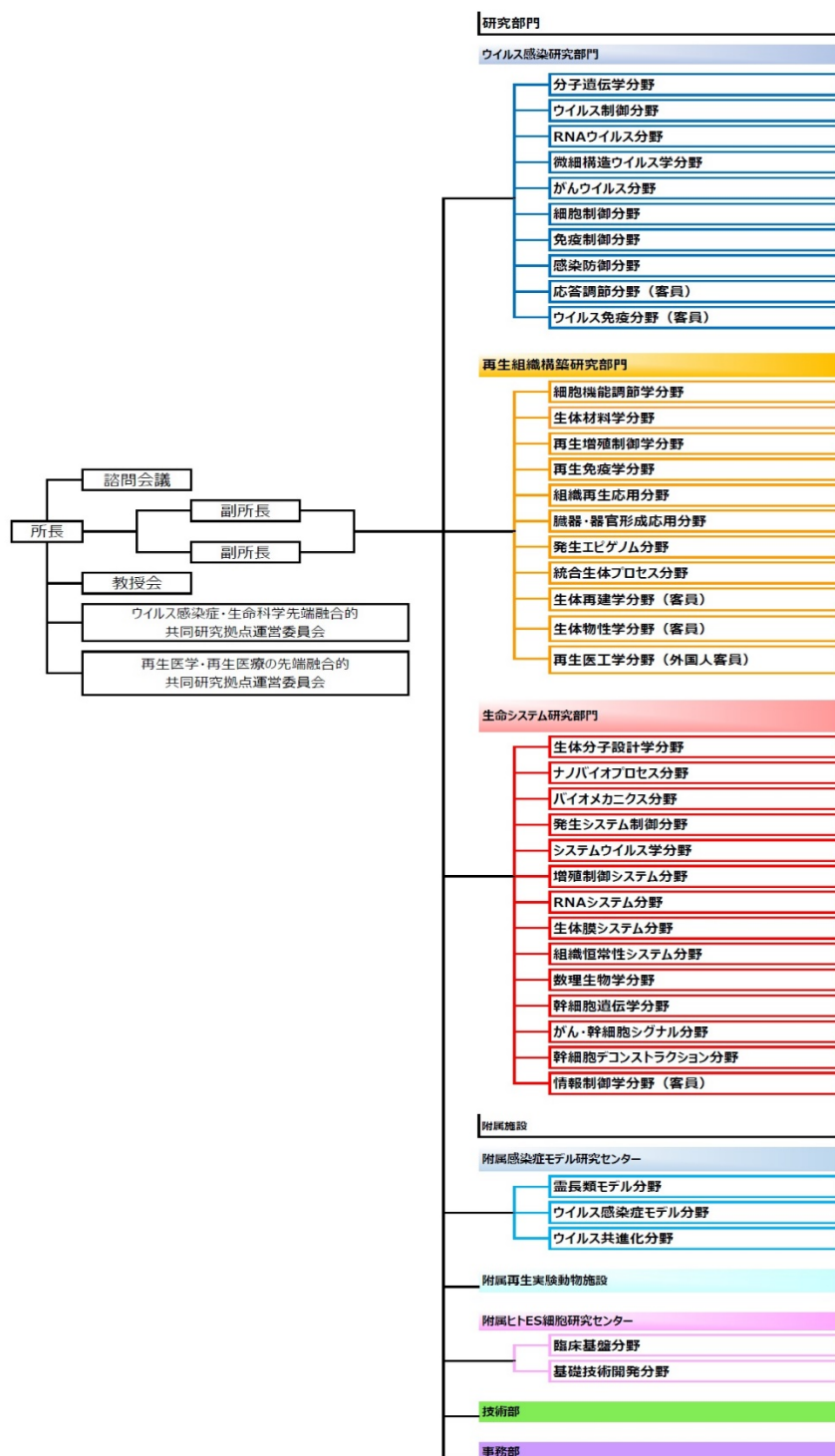


表2.1 新規雇用教員数

	教授	准教授	講師	助教
平成28年度	1	(2)	1	0
平成29年度	0	1	1	(2)
平成30年度	3	(1)	0	0
令和元年度	0	1 (1)	0	3
令和2年度	1	1	0	1

※ () 内の数は、特定教員数

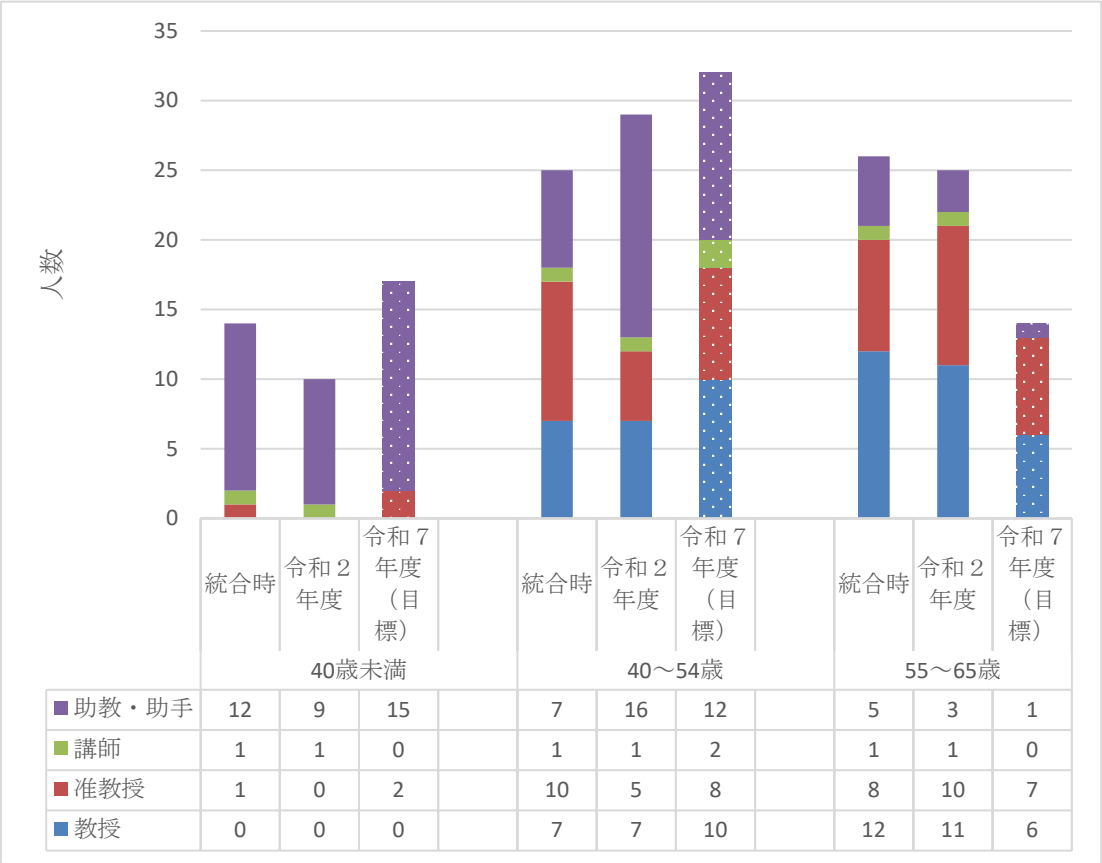
表2.2 教員の流動状況

区分		H28	H29	H30	R1	R2
教授	転入	1	1	3	0	1
	転出	1	2	3	1	2
准教授	転入	1	1	1	2	1
	転出	2	1	0	3	2
講師	転入	1	3	0	0	0
	転出	1	3	0	1	0
助教	転入	3	10	3	6	6
	転出	2	3	4	5	4
計	転入	6	15	7	8	8
	転出	6	9	7	10	8

表2.3 教員等の他大学等への昇任人事の事例（抜粋）

退職年度	ウイルス再生研での職位	転出大学・研究機関	転出先職位
平成29年度	准教授	ボン大学	教授
	講師	東京大学	准教授
	特定講師	同志社大学	教授
平成30年度	助教	東京大学	特任講師
令和元年度	講師	熊本大学	准教授
令和2年度	助教	岐阜大学	特任准教授
	助教	大阪歯科大学	准教授
	特定准教授	大阪府立大学	教授

表2.4 年代別教員数の推移（特定教員含まず）



(3) 管理運営

【特記事項】

- ・ 6名の外部委員と所長、副所長によって構成される諮問会議を平成28年に設置し、ウイルス・再生医科学研究所の現状把握と将来計画の検証に加え、研究力向上ならびに環境整備について順次是正に取り組んだ。
- ・ 教員人事の流動性を確保するため、助教（再生実験動物施設除く）、講師、准教授を対象に任期制を導入した。

3-1) 教授会・諮問会議

本研究所では、所長と2名の副所長がリーダーシップを持って研究所全体の運営を主導するとともに、専任及び兼任教授からなる教授会が研究所運営に関する事項を協議し決定している。

さらに、平成28年に所長、副所長、本研究所以外の学内の専任教授3名、学外の学識経験者3名からなる諮問会議を設置している。研究所の重要事項について諮問し、本研究所の現状把握と将来計画の検証に加え、研究力向上ならびに環境整備について助言を得て順次是正に取り組んでいる。諮問会議は、毎年度末に本研究所において開催している。研究所統合後初年度（平成28年度）には、本研究所3号館改修について報告した。また、新たに設置した生命システム研究部門の増員予定（2人）の教授選考方針について助言を得た。平成29年度には、2つの共同利用・共同研究の実施状況を報告し、それぞれの運営方針について助言を得た。平成30年度には、共同利用・共同研究の中間評価の結果を報告し、その改善点の助言を得た。さらに、第4期に向けて本研究所の附置研究所としての存在意義について、議論を重ねた。外部委員より専任教員によるコアファシリティ機能の強化が提言された。諮問会議からの助言も踏まえ、また、定量的エビデンスに基づく医学及び生命科学の一層の進展と新規分野の開拓という新研究所の目的に沿って、生命システム研究部門に新たに設置した「数理生物学分野」（平成30年4月1日着任）と「がん・幹細胞シグナル分野」（平成31年3月1日着任）に教授が1名ずつ赴任した。本研究所は、新たな研究分野の開拓に取り組んでおり、今後も独自路線の研究成果を挙げていくことが期待される。令和2年度は、ウイルス・再生医科学研究所の名称変更（医生物学研究所）及び第4期共同利用・共同研究拠点の認定について意見交換が行われた。

3-2) 部局委員会

各所内委員会は、所長より指名等された教員及び職員から構成され、所長・副所長及び教授会の指示の下、事務部の協力・支援を得て、研究所の運営及び関連業務の遂行に携わっている。平成28年10月の研究所統合以来、順次委員会の統合が進められ、現在、以下の表3に示す25の委員会が置かれている。予算委員会、動物実験委員会についても令和2年度に統合に向けた検討が進められ、令和3年度に統合の予定である。近年の労働安全衛生、情報セキュリティ、生命倫理等に関する意識の高まりに対応するため、各委

員会では必要に応じて講習会を企画するなど、研究所の教育研究の質の向上に向けた取り組みがなされている。

表3. 部局内委員会一覧

委員会名	委員構成					業務内容
	教授	准教授	講師	助教	その他の職員等	
自己点検・評価委員会	3	3			1	自己点検・評価、将来構想、中期目標・中期計画
人権委員会	5				1	人権問題等の防止に関し必要な事項及び人権問題等が生じた場合の対応
(旧再生研) 予算委員会	4	1				所内予算配分
(旧ウイルス研) 予算委員会	3	3			1	所内予算配分
再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点運営委員会	3				5	再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点に関し必要な事項
再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点専門委員会	6	1				公募課題の選定に係る調査、共同研究課題の募集、選考等に関し必要な専門的事項
ウイルス感染症・生命科学先端融合的共同研究拠点運営委員会	4				4	ウイルス感染症・生命科学先端融合的共同研究拠点に関し必要な事項
ウイルス感染症・生命科学先端融合的共同研究拠点専門委員会	4					公募課題の選定に係る調査、共同研究課題の募集、選考等に関し必要な専門的事項
動物実験委員会	4	1				動物実験の実施及び施設等の設置等の可否等の審査、施設に関する企画、管理、運営、その他必要な事項
再生医科学動物実験専門委員会	6	4		2	1	再生実験動物施設における動物実験全般
ウイルス動物実験専門委員会	3	2			1	動物実験の実施及び施設等の設置等の可否等（霊長類を除く）
霊長類動物実験専門委員会	1	1			2	霊長類施設の管理、運営及び霊長類実験に関する事項
安全衛生委員会 ※南西地区共通事務部との共同委員会	3	1		2	2	安全衛生管理に関する企画、調査、審議、啓発その他必要な事項
化学物質管理委員会	1	7	1	17		化学物質・毒物・劇物及び排水・廃棄物(放射性廃棄物を除く。)の管理に関する必要な指導等
放射線管理委員会	3	1				放射線障害の防止に関する事項
情報セキュリティ委員会	1			1	1	情報セキュリティに関する事項
兼業・利益相反審査委員会	2	2				兼業審査及び産官学連携活動に係る利益相反審査
広報委員会	2	3		1		概要、年報、情報公開、ホームページ、主催公開講座、シンポジウム等に関する事

医の倫理委員会	6	1			10	医学研究、臨床応用、ヒトES細胞使用等の倫理審査
ヒトE S細胞株樹立・分配事業検討委員会		3			5	ヒトE S細胞の樹立・分配に関する事項
病原体安全管理委員会	2	1			1	病原体取扱いの安全に関する事項
教育委員会		2	1			研究所の行う全学共通科目、ILASセミナーその他全学の教育に関する事項
施設整備委員会	4		1			部屋の割り振り、その他施設整備に関する事項
研究データ保全委員会	4					研究データ保全に係る事項
共同利用機器等委員会	4	5	1	4		共同利用機器等の維持、管理及び運営

3-3) 教員人事

【学系制度】

平成28年度から本学で導入された学域・学系制度では、本研究所の常勤教員は自然科学域ウイルス・再生医科学系に所属している。学系会議はウイルス・再生医科学研究所の専任の教授で組織され、8月を除く毎月原則第1木曜日に開催されている。学系会議では、ウイルス・再生医科学研究所の教員の採用、再任及び昇任に関する事項、人事選考の方針、定員管理等、に関する事項が審議されている。

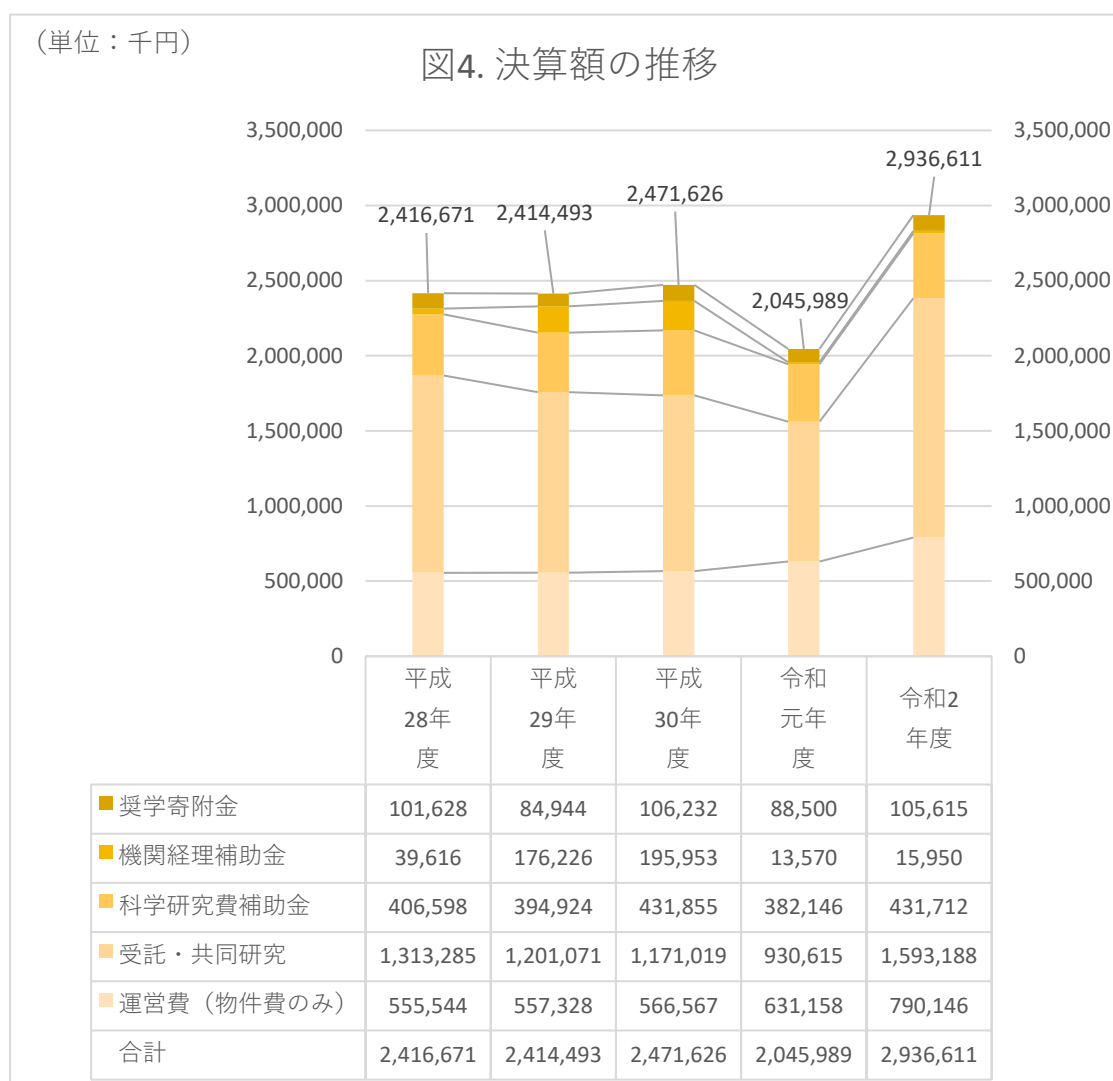
【任期制教員の再任手続き】

教員人事の流動性を確保するため、助教（再生実験動物施設除く）、講師、准教授を対象に任期制を導入している。任期制教員の再任手続きについては、内規が定められている。具体的には、再任を希望する教員は、再任を申請し、評価委員会による審査を受け、その結果に基づき、学系会議において、再任の可否が決定される。平成28年4月から令和3年3月までの間に准教授6名、助教11名が再任された。

(4) 財政

平成28年度から令和2年度までの研究所決算額の推移を図4に示す。科学研究費補助金、受託・共同研究費、奨学寄附金を合わせた外部資金獲得額の合計は、令和元年度を除いて概ね18億5千万円から19億円の間で堅調に推移している。令和元年度は14億円に減少しているが、特に大型資金が減った等の理由はなかった。5年間の平均では17億5千万円である。これは定員内教員一人当たりには換算すると約2,600万円となり、学内でもかなり高水準にあると考えられる。科学研究費補助金、受託・共同研究費、奨学寄附金の各内訳についても大きな変化はない。また、40代の若手教授を含む教員が、科学技術振興機構（JST）の戦略的創造研究推進事業CRESTならびに日本医療研究開発機構（AMED）から大型研究費を研究代表者として獲得している。

安定した外部資金の獲得により、各研究分野での研究を推進するとともに各種の研究施設や機器を維持・整備することができおり、統合的医科学研究の研究拠点としての活動の展開を支えている。また、それらの施設・機器は、共同利用・共同研究拠点事業の推進にも貢献している。



（５）施設・設備

本研究所は、吉田キャンパス病院構内の病院西構内に位置する（図5.1）。同病院構内には、本研究所に加えて、医学研究科、薬学研究科、医学部附属病院、およびiPS細胞研究所等が建ち並び、医生物学分野の基礎・応用研究者との交流や大学院教育を行う上で恵まれた環境にある。また、本研究所は、互いに近接する7つの建物（表5.1）からなり、密な所内連携を通じた研究活動を可能としている。

所内には、3つの附属研究施設があり、それぞれの特色に応じた所内外との共同研究を行う拠点として、広く活用されている（表5.2）。

○附属感染症モデルセンター：

ヒト病原性ウイルスの病態解明と有用なワクチン開発を目指して、ウイルス感染によって個体内に起きる生体反応の解析を行う感染動物実験施設を稼働している。病原体レベルごとにBSL2飼育室並びにBSL3飼育室が整備され、マウス等の小動物からサルなどの中動物を実験動物として使用可能であり、動物実験委員会の厳格な審査と飼育管理の下でウイルス感染実験が行われている。特に、3号館の機能改修に伴い、BSL3実験室・BSL2/3感染動物実験施設を更新し、セキュリティの高い施設に集約することで、より安全な実験を遂行することが可能となった。

○附属再生実験動物施設：

実験動物として、主にマウス・ラットを飼育し、研究所内の動物実験研究を進めるための中心的役割を担っている。安全講習や動物実験の取り扱いに関する講習を定期的に実施し、生命倫理・動物福祉に十分に配慮した研究の実施を可能にしている。また、遺伝子改変マウスの作出等の研究支援を行い、研究所内外の研究推進に不可欠な施設である。

その他、共同利用機器として、セルソーター、多光子イメージングシステム、クライオ電子顕微鏡システム、透過型電子顕微鏡システムなどを設置し、所内外における連携や共同研究の推進を図っている。さらに、学内の医学・生命科学研究支援機構（iSAL）との連携を進め、共通機器のネットワーク管理と課金制度の利用を開始した。

○附属ヒトES細胞研究センター：

ヒトES細胞の樹立体制および研究機能の強化を目指して、多能性幹細胞の基礎研究と医療応用の両面で研究開発が進められている。本研究所では、平成14年にヒトES細胞株の作製に成功し、平成29年から臨床用ヒトES細胞株の樹立および分配を行う施設の役割を担っている。これらの臨床用ヒトES細胞株の研究開発機能をさらに強化するため、令和2年度に同センターを設立した。これにより、ヒトES細胞研究の国内外連携の強化および再生医療応用へ向けた加速化を進めている。

図5.1：研究所の建物と配置（吉田キャンパス病院構内の病院西構内図）

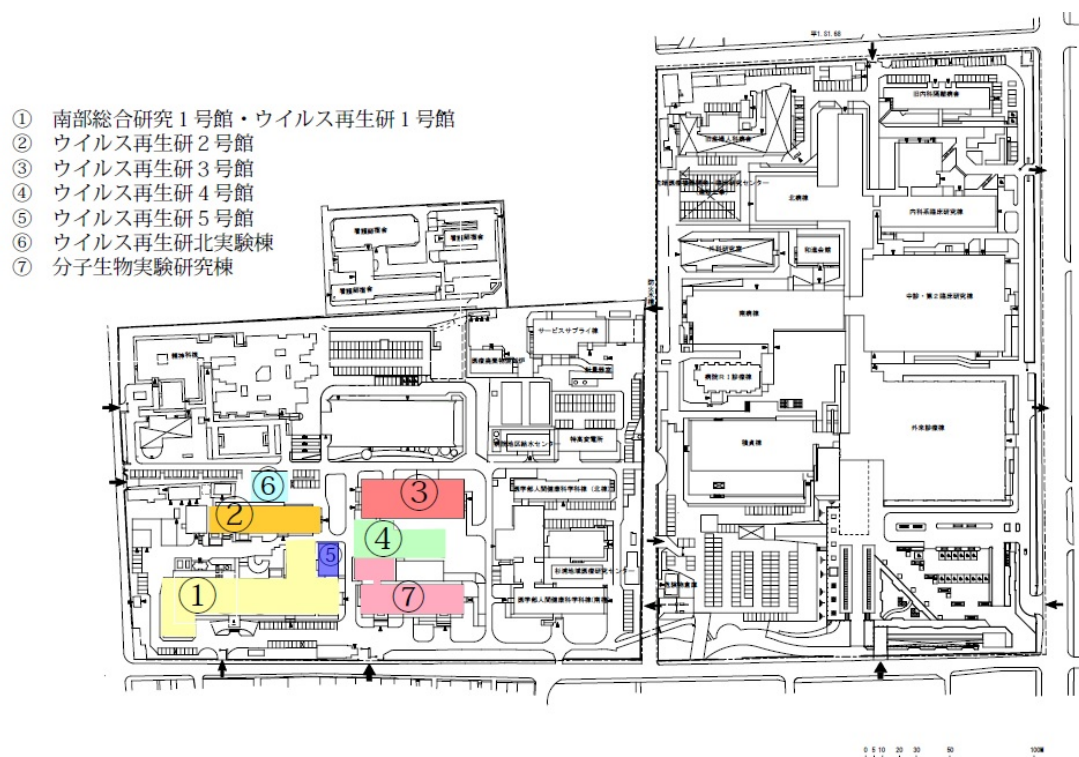


表 5.1 建物面積・建物年次別区別・建物構造別区別等

区 分	建物面積/m ²	建築年	改修年	構造別 区分
南部総合研究1号館・ウ イルス再生研1号館	11,704 m ² (6,025 m ²)	昭和42年	平成24年 (耐震改修)	R
ウイルス再生研2号館	5,196 m ²	昭和42年	平成23年 (耐震改修)	R
ウイルス再生研3号館	4,857 m ²	昭和58年	令和2年 (機能改修)	R
ウイルス再生研4号館	3,788 m ²	平成14年	—	R
ウイルス再生研5号館	1,163 m ²	平成14年	—	R
ウイルス再生研北実験棟	797 m ²	平成22年	—	S
分子生物実験研究棟	7,389 m ² (1,792 m ²)	平成2年	—	R
計	34,894 m ²			

注) 構造区別の欄中、Rは鉄筋コンクリート造、Sは鉄骨構造を示す。

注) 建物面積の括弧内の面積は、本研究所が占有している面積を示す。

表 5.2 特色ある実験施設等

施設名	概要
新型コロナウイルス感染実験室	令和 2 年度に、新型コロナウイルスの感染実験専用の BSL3 実験室を設置した。ウイルス株を入手してコロナウイルスの感染実験を研究所の教員が安全に行えるよう特殊な換気システムを備えている。
CPF (Cell Processing Facility, ヒト ES 細胞専用の細胞処理・保存施設)	クラス 100 の細胞調製室 1 系統に加え、閉鎖系の細胞操作、培養システムである「セルプロセッシング・アイソレータ」を 1 系統保有し、2 株の細胞株を同時並行で培養操作できる。また、クラス 10,000 環境下での細胞保存室を有し、清浄環境下での細胞長期保存を行っている。
霊長類 P3 感染実験室	国内最大規模の霊長類 P3 実験施設である。高病原性インフルエンザウイルス、サル由来のエイズ様ウイルス、エイズウイルスの組換えウイルスの病原性解析実験を行っている。高病原性インフルエンザウイルスやエイズウイルスの組換えウイルス実験には、P3 レベルの実験施設が必要であり、この感染実験に利用している。
マウス P3 感染実験室	HIV を含むヒト感染ウイルスの生体内挙動とその病原性解析を目的として、P3 感染実験に利用している。安全性を保障するために、ケージはアイソレーターにより個別に隔離され、ウイルスの混入を防いでいる。
動物実験施設	SPF マウス(特別に指定された若干種類の病原微生物に感染していないことが保証されているマウス)および当施設において体外受精・受精卵移植によるクリーンアップを受け SPF 化されたマウスのみ飼育を行う施設である。これらの実験動物は細胞増殖・分化の研究、発生学的研究、免疫学的研究などの基礎細胞生物学的研究から、医用高分子材料の開発などの工学的研究とその応用、得られた成果の臨床応用への道を拓く研究に至る幅広い研究に使用されている。

(6) 研究活動

本研究所では、ウイルス感染症学及び再生医科学に関する学理及びその応用を推進するために、先端的研究を多角的に進めている。また、平成28年10月の本研究所の発足時に新たに生命システム研究の展開を開始し、多階層をなす生命システム・細胞社会動態の理解を目指した多様な研究展開を進めている。

本期間中の研究の一部を挙げれば、「ウイルス感染研究部門」では、小児関連ウイルス、内在性RNAウイルス、インフルエンザウイルス、エボラウイルス、C型肝炎ウイルスなど様々なウイルスの研究等を、「再生組織構築研究部門」では血液細胞の分化過程、炎症性Tヘルパー細胞、免疫恒常性の維持機構、骨代謝・リモデリング、組織再生工学のための材料などに関する研究等を行った。また、「生命システム研究部門」では、ウイルス感染制御システム、多能性幹細胞からの臓器誘導、遺伝子発現振動の分子機構、臓器リモデリングシステム、細胞運命決定システムの数理理論解析等を実施した。

さらに、「附属感染症モデル研究センター」および「附属ヒトES細胞研究センター」では、霊長類モデルを用いた感染症の研究やヒトES細胞の基盤的研究開発等を進めた。加えて、「ウイルス感染症・生命科学先端融合的共同研究拠点」並びに「再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点」として、様々な共同研究を推進した。これらの特徴的な拠点運営を推進しながら、国内外との連携・共同研究を重点的に進め、当該分野における中心的な研究拠点としての発展を推し進めてきた。

これらの研究活動・成果について、毎年度発刊している本研究所の「要覧」および「年報」をホームページで公開している。研究活動・成果の詳細は、本報告書の「2. 研究活動の内容と成果」並びに下記のWebページを参照されたい

(<https://www.infront.kyoto-u.ac.jp/about/publications/>)。また、本期間中の論文発表数を表6にまとめる。

表6：論文発表数

		平成28年度	平成29年度	平成30年度	令和元年度	令和2年度
査読付き論文数	英語	161	180	137	203	173
	日本語	18	3	5	1	1

(7) 国際連携

【特記事項】

- ・日本学術振興会 Core-to-Core Program国際研究拠点形成事業「ウイルス感染と宿主応答の総合的理解に向けた国際研究拠点形成」で最高のA評価を得た。
- ・免疫・感染症学における国際ネットワークの形成に向けて、ドイツのボン大学との部局間学術交流協定の新規締結を行った。
- ・生命医科学研究所ネットワーク国際シンポジウムおよび東アジアシンポジウムを通じた国際的な人的ネットワーク形成をおこなった。
- ・評価期間での上記の活発な国際共同研究および研究人材の国際交流を促進することにより、国際的に活躍できる研究者を育成した。

7-1) 海外派遣・招へい

研究所全体の国際交流の実績は、平成28年度の海外派遣138人と海外からの招へい10人、平成29年度の海外派遣128人と海外からの招へい66人、平成30年度の海外派遣162人と海外からの招へい22人、令和元年度の海外派遣105人と海外からの招へい6人と、新型コロナウイルス感染症の影響があった令和2年度を除き、堅調であった（表7.1）。活発な国際交流の結果として、平成30年度に本研究所日本人准教授がドイツのボン大学教授に採用された。

表7.1 ウイルス・再生医科学研究所 海外渡航・招へい実績

	平成28年度		平成29年度		平成30年度		令和元年度		令和2年度	
	渡航	招へい	渡航	招へい	渡航	招へい	渡航	招へい	渡航	招へい
合計	138	10	128	66	162	22	105	6	2	2

7-2) 外国人共同研究者、招へい外国人学者の受け入れ

本研究所では、多様な外国人研究者との国際共同研究を進めるにあたり、表7.2.1及び表7.2.2に示す共同研究者、招へい学者の受け入れをおこなった。この中には、日本学術振興会（JSPS）による「外国人研究者招へい事業」を利用して受け入れた研究者も含まれている。

表7.2.1 ウイルス・再生医科学研究所 外国人共同研究者、招へい外国人学者の受入状況

年度	外国人共同研究者	招へい外国人学者	合計
平成28年度	1	0	1
平成29年度	0	2	2
平成30年度	4	6	10
令和元年度	4	0	4
令和2年度	1	0	1
合計	10	8	18

表7.2.2 ウイルス・再生医科学研究所外国人共同研究者、招へい外国人学者の国籍

国名	中国	米国	カナダ	イタリア	英国	メキシコ	スイス	イラン	トルコ	フランス	タイ	ブラジル	ポルトガル
人数	3	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

7-3) 国際研究拠点形成事業への参加

日本学術振興会 Core-to-Core Program国際研究拠点形成事業に、平成26年度（「ウイルス感染と宿主応答の総合的理解に向けた国際研究拠点形成」）と平成31年度（「時空間ウイルス学の国際拠点形成」）に採択され、国際共同研究を積極的に行っている。主な活動は下記のとおりである。

① 「ウイルス感染と宿主応答の総合的理解に向けた国際研究拠点形成」（平成26~30年度）

本拠点事業ではアメリカ、イギリス、フランス、ドイツ、ベルギーと国際共同研究を展開した。国際拠点シンポジウム“（Infection + Immunity）x Evolution”を平成31年3月6－7日、ロンドン駐日大使館で開催した。本学国際交流担当理事をはじめ、イギリスの拠点機関であるImperial College of London副学長やアメリカ、イギリス、ドイツ、フランス、ベルギーの各国の代表的研究者が講演し、研究および人的交流をおこなった。本事業は、最高のA評価(想定以上の成果をあげつつあり、当初の目標の達成が大いに期待できる)を得た。

② 「時空間ウイルス学の国際拠点形成」（平成31年度~）

前期と同様に先進的な国際共同研究を継続しつつ、ウイルス感染やウイルス制御法に関する知識を深めるセミナーを開催し、特に若手ウイルス研究者の支援と育成を推進する取り組みをおこなった。

7-4) 海外の大学との部局間学術交流協定

令和2年3月に、免疫学の分野で交流のあったドイツのボン大学医学部免疫科学・感染研究所と本研究所、本学の医学部の3者間による部局間学術交流協定を締結した。本協定に基づき、本研究所の研究者とボン大学の研究者が共同研究をおこない、その成果として共著論文を発表した。新型コロナウイルス感染症収束後は、免疫・感染症学における国際ネットワークの形成に向けて、より一層の共同研究の促進と研究者・学生の相互交流が期待される。

7-5) 国際シンポジウム開催・参加

国内12の生命・医学系附置研究所が参画する「生命医科学研究所ネットワーク国際シンポジウム」や、日本・韓国・中国・台湾の8つの医系研究所が参加する「東アジアシンポジウム（East Asia Joint Symposium）」に毎年、教授、若手研究者、大学院生等を派遣し、国内外の研究者コミュニティへの最新の研究成果の発信と国際的な人的交流を推進している。平成29年度10月には、本研究所が第24回東アジアシンポジウムのホストとして、ウイルス・再生医科学研究所開設記念シンポジウムとあわせたジョイントシンポジウムを滋賀県大津市の琵琶湖ホテルで開催した。約150名がこのジョイントシンポジウムに参加し、研究成果のみならず、研究所の設立とその意義等を海外にも広く紹介し、本研究所との積極的な国際連携を呼びかけた。

(8) 教育活動

【特記事項】

- ・協力講座として6つの研究科に所属し、毎年約10名～30名の博士号取得者を輩出した。
- ・大学院生の高度専門教育に加え、全学共通科目・ILASセミナー・学部専門科目を提供し、学部生の全学共通教育・専門教育にも積極的に携わった。
- ・「ウイルス再生研交流セミナー」を開催し、最先端の生命科学分野の幅広い教育を行うとともに、研究者としてのキャリアパスを提示した。

本研究所の各分野等は、医学研究科、薬学研究科、工学研究科、人間・環境学研究科、生命科学研究科、理学研究科に協力講座、科目担当として所属している（表8.1）。毎年、平均約160名の大学院生が在籍しており、講義及び研究指導等の教育を行っている。また、学内外を問わず、博士号取得者を、毎年、約10名～30名輩出している（表8.2、表8.3）。

表8.1 大学院協力講座・担当科目（平成28～令和2年度 抜粋）

医学研究科	免疫・アレルギー・感染（実習）、免疫・アレルギー・感染（演習） 医薬用高分子設計学、生体材料学・人工臓器学：実習（LIMS） 生体材料学・人工臓器学：講義（LIMS）、再生医療・臓器再建医学（実習） 再生医療・臓器再建医学（演習）、免疫・アレルギー・感染（修士実習） 免疫・アレルギー・感染（修士演習）
理学研究科	分子細胞生物学ゼミナールⅠA～D、分子細胞生物学ゼミナールⅡA～D、形質 発現学ゼミナールⅠA～D、形質発現学ゼミナールⅡA～D、生体分子動態 論、生物化学ゼミナールⅠA～D、生物化学演習ⅠA～D、数理生命科学ゼ ミナールⅠA～D、数理生命科学ゼミナールⅡA～D、生物科学特論A、形質 発現学概論
工学研究科	生命医工分野セミナーA（修士）、生命医工分野セミナーB（修士） 生命・医工分野特別セミナーA～D、生命・医工分野特別実験および演習第一、 生命・医工分野特別実験および演習第二、バイオメカニクス、マイクロ・ナノ スケール材料工学、複雑系機械システムのデザイン、連続体力学（総合医療工 学）、生命医科学、生命医科学特論
人間・環境 学研究科	ウイルス多様性科学、ウイルス多様性科学演習1・2、生物環境動態論特別演 習1・2、関連環境学特別研究Ⅰ・Ⅱ、関連環境学研究Ⅰ・Ⅱ、自然環境動態論 特別セミナー
生命科学研 究科	疾患・免疫生命科学特論、特別実験及び演習、高次生命科学特別演習 統合生命科学特別演習、Life Science: From Basics to Applications 多細胞体ネットワーク特論、Global Frontier in Life Science B 染色体生命科学特論、先端生命科学、特別実験及び演習A～D
薬学研究科	基盤生体分子薬学実習、基盤生体分子薬学実験、基盤生体分子薬学演習 基盤生物化学実験技術、基盤生物化学概論、創薬生命科学概論

表8.2 大学院生等の受入状況

	平成28年度		平成29年度		平成30年度		令和元年度		令和2年度	
		うち外国人		うち外国人		うち外国人		うち外国人		うち外国人
博士後期課程	108	(24)	88	(19)	81	(24)	68	(25)	59	(22)
うち社会人	1	(0)	1	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
修士・博士前期課程	90	(15)	110	(12)	82	(10)	65	(13)	66	(13)
うち社会人	1	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
学部生	14	(1)	3	(0)	13	(0)	13	(2)	14	(0)
合計	212	(40)	201	(31)	176	(34)	146	(40)	139	(35)

表8.3 博士号を取得した大学院生数

	平成28年度		平成29年度		平成30年度		令和元年度		令和2年度	
	学内	学外	学内	学外	学内	学外	学内	学外	学内	学外
博士号取得者数	8	1	12	2	12	4	27	4	13	5

さらに、学部教育では、20名ほどの教員が医学部、工学部、薬学部、理学部の非常勤講師として学部講義を担当するとともに、工学部と薬学部から学部生を受け入れ、研究指導を行っている(表8.4)。この他、全学共通科目やILASセミナーを提供し、教養・共通教育にも積極的に携わっている(表8.5)。さらに、本学の「国際高等教育院における外国人教員受入制度設計」に基づく外国人教員採用制度を活用し、外国人教員を平成29年2月に1名、平成29年8月に1名を採用した。採用した外国人教員が全学共通科目及びILASセミナーの講義を英語で提供し学士課程教育の国際化に貢献している。毎年40名から50名程度のアジアを中心とした留学生が大学院生、研究生等として在籍している(表8.2、表8.6)。

そして、本研究所のユニークな取り組みとして、令和2年1月より研究室間の交流及び共同研究の促進を目的として、本研究所の教員が持ち回りで研究内容について発表を行う「ウイルス再生研交流セミナー」を開催している。この交流セミナーを通じて最先端の生命科学分野の幅広い教育を行うとともに、研究者としてのキャリアパスや将来像を提示する教育を行なっている。

表8.4 ウイルス・再生医科学研究所教員が担当した学部専門教育(平成28～令和2年度 抜粋)

工学部	化学生物学、連続体力学、機械システム工学実験2、機械システム学セミナー、生体関連物質化学(創成化学)、物理工学総論A
薬学部	感染防御学Ⅱ(免疫学・ウイルス学)、感染防御学Ⅰ(微生物・ウイルス学)、特別実習(がん・幹細胞シグナル学)
理学部	分子遺伝学Ⅰ・Ⅱ、分子生物学Ⅱ・Ⅲ、生物化学Ⅲ、生物化学演習

表8.5 ウイルス・再生医科学研究所教員が担当した全学共通科目・ILASセミナー（平成28～令和2年度 抜粋）

	全学共通科目 担当内容	ILAS セミナー 担当内容
日本語	● 医工学入門 ● 生物・生命科学入門	● ウイルスと生命科学の最前線 ● 生命科学（医学・生物学）研究の最前線 ● 遺伝子発現制御事始め－遺伝子を機能させるということ ● 発生再生ゼミナール
英語	● Fundamental Physics A-E2 ● Physics for All-E2 ● Basic Data Analysis-E2 ● Introductory Statistics-E2	● ILAS Seminar-E2 :Discussions in Biomechanics and Biophysics（バイオメカニクス・生物物理セミナー） ● ILAS Seminar-E2 :Introduction to Engineering in Biology and Medicine（医工学の基礎） ● ILAS Seminar-E2 :Introductory Bioinformatics（バイオインフォマティクス入門） ● ILAS Seminar-E2 :Programming for data analysis（データ解析のためのプログラミング）

表8.6 留学生（研究生、短期交流学生）の受入状況

	平成28年度	平成29年度	平成30年度	令和元年度	令和2年度
アジア	2	0	4	8	4
北米	0	0	0	1	0
中南米	0	0	0	0	0
ヨーロッパ	0	1	0	1	0
オセアニア	0	0	0	0	0
中東	3	2	0	0	0
アフリカ	0	0	0	0	1
合計	5	3	4	10	5

(9) 社会連携・情報公開

【特記事項】

- ・中高校生の見学を毎年受け入れる等、継続して中学校・高校へのアウトリーチ活動を行っている。（新型コロナウイルス感染拡大の影響により令和2年は受入れ中止。）
- ・研究所公開講演会、京都大学附置研究所・センターシンポジウム、国立大学共同利用・共同研究拠点協議会主催セミナー等での講演のほか、記者発表、ホームページへの掲載等により広く研究成果を情報発信している。令和2年度には新型コロナウイルス感染拡大の影響により中止となった公開講演会に代わる市民向けの情報発信として、ホームページに「新型コロナウイルス研究情報」特設サイトをオープンして社会貢献に努めた。

ウイルス・再生医科学研究所では、一般社会への情報発信を目的に毎年7月に公開講演会を開催している（表9.1）。この公開講演会は、旧再生研で行われていたものであるが、統合後も継続して開催している。統合後は、テーマ毎に2名の教授が登壇し、最新の研究成果を紹介している。このほか、国立大学共同利用・共同研究拠点協議会主催セミナー、京都大学研究連携基盤が主催する「京都大学附置研究所・センターシンポジウム」や「丸の内セミナー」でも講演し、本研究所の研究活動を一般社会に広く情報発信している（表9.2、表9.3）。

表9.1 公開講演会

開催日	テーマ	演者	参加人数
平成28年7月 16日（土）	第 1 1 回 「健やかな骨・筋肉のために」	戸口田淳也教授	1 4 6 名
		瀬原淳子教授	
平成29年7月 15日（土）	第 1 2 回 「ウイルス研究所と一緒にになりました」	小柳義夫教授	1 8 2 名
		永樂元次教授	
平成30年7月 21日（土）	第 1 3 回 「ここまでわかったインフルエンザウイルスの姿とiPS細胞を使ったがん退治」	野田岳志教授	2 2 4 名
		河本宏教授	
令和元年7月 20日（土）	第 1 4 回 「がんとうウイルスに対抗する分子革命」	遊佐宏介教授	2 5 7 名
		藤田尚志教授	
令和2年度	新型コロナウイルス感染拡大のため中止		

表9.2 国立大学共同利用・共同研究拠点協議会主催のセミナー

セミナー	演者	タイトル
第89回 知の拠点セミナー （令和元年8月23日）	戸口田淳也教授	「難病克服へ向けて～iPS細胞が開いた新しい道筋」

表9.3 京都大学研究連携基盤主催のシンポジウム・セミナー

シンポジウム・セミナー	演者	タイトル
第12回京都大学附置研究所・センターシンポジウム (平成29年3月11日)	朝長啓造 教授	「ウイルス化石が語る生命の進化」
第16回京都大学附置研究所・センターシンポジウム (令和3年3月6日)	小柳義夫 教授	「新型コロナウイルス」
第72回 丸の内セミナー (平成28年7月1日)	大野睦人 教授	「RNAの長さに隠された謎ー私のRNA研究 遍歴とセントラルドグマ」
第92回 丸の内セミナー (平成30年3月2日)	藤田尚志 教授	「ウイルス感染に対抗する自然免疫機構」
第111回 丸の内セミナー (令和元年10月4日)	杉田昌彦 教授	「脂質免疫」～微生物やがんに対抗する新しい免疫システム～

毎年、高校生を対象にした研究室・施設見学や実習体験を行う研究所見学(表9.4)や、学生・市民が参加する研究所説明会を開催し、研究所を見学できる機会を提供している。

令和2年度は、前述の研究所説明会、高校生の見学受入及び市民公開講座等が、新型コロナウイルス感染拡大のため中止となった。一方、新型コロナウイルス感染症に関する特設ページを本研究所ホームページ内に開設した。本研究所のウイルス研究という専門性を活かし、社会的関心が高いテーマに関する情報を提供した。

本研究所が発行している刊行物は、「年報」と「要覧」があり、関連施設や来訪者に配布している。年報は、日本語と英語の併記で、分野ごとに研究内容、論文や口頭発表の外、共同利用・共同研究の成果について掲載している。要覧は、日本語版と英語版を作成し、各研究室の研究内容や構成員の写真、研究所の概要や統計データなどを掲載している。

表9.4 高校生の研究所見学受け入れ事例

平成28年度	・和歌山県立向陽高等学校(42名) ・和歌山県立桐蔭中学校(42名) ・福井県立高志高等学校(42名)
平成29年度	・福岡県立明善高等学校(60名) ・群馬県立高崎高等学校(47名) ・和歌山県立古佐田丘中学校(40名) ・和歌山県立向陽高等学校(40名) ・福井県立高志高等学校(30名)
平成30年度	・島根県立出雲高等学校(40名) ・和歌山県立向陽高等学校(40名)
令和元年度	・福岡県立明善高等学校(34名) ・島根県立出雲高等学校(40名) ・和歌山県立向陽高等学校(40名)

2. 研究活動の内容と成果

本研究所では、「1. (2) 組織」で述べたとおり、3つの研究部門「ウイルス感染研究部門」、「再生組織構築研究部門」、「生命システム研究部門」と3つの附属研究施設を「附属感染症モデル研究センター」、「附属再生実験動物施設」、「附属ヒト ES 細胞研究センター」を設置している。

本章では、上記3つの部門と附属センターが構成している研究分野の活動状況、そして、3つの附属研究施設の概要、最後に2つの共同利用・共同研究拠点について記載する。

ウイルス感染研究部門

A-1: 分子遺伝学分野

【構成員】教授：藤田尚志、准教授：加藤博己、助教：木檜周

【分野題目】ウイルス RNA センサー分子、MDA5, RIG-I の変異による自己免疫疾患の解析

【研究概要】

ヒトの自己免疫疾患である Aicardi-Goutières Syndrome (AGS), Singleton-Merten syndromes (SMS), systemic lupus erythematosus (SLE) で見出された MDA5, RIG-I の機能獲得型変異を持つ遺伝子を導入したマウスを作出した。これらのマウスはそれぞれ異なったタイプの自己免疫症状を呈した。

【研究目標・課題】

- 1) ヒトで見出された MDA5, RIG-I の点変異をコードするヒトゲノム断片をマウスに導入してそれを発現するマウス系統を樹立する。
- 2) 樹立したマウス系統の免疫学的表現型を解析し、ヒト自己免疫の病体との比較検討を行う。
- 3) 樹立したマウスに自然免疫関連の遺伝子をノックアウトする、シグナル分子の阻害薬剤を投与するなどによって病態を軽減することにより治療法の開発を目指す。

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

ヒト染色体断片を導入したトランスジェニックマウスの作出。マウス実験支援施設を活用したマウス遺伝子操作。久留米大学医学部、理化学研究所とのヒト自己免疫疾患に関する共同研究。

【主たる学術領域・関連学会】

自己免疫疾患、自然免疫学、遺伝子変異、日本免疫学会

【分野における研究活動の自己評価】

本研究は科学研究費補助金によってサポートされ、ヒト疾患の臨床研究グループとの共同研究に発展した。ヒトでの治療法開発のための動物モデルとして有用なトランスジェニックマウスを多数樹立することができ、今後の治療法開発に大きな貢献が期待される。

【特記、備考等】

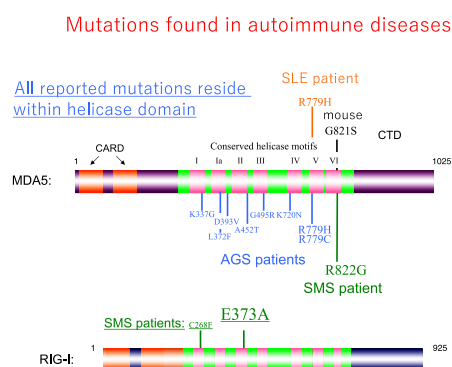
【主な研究課題】 ウイルス RNA センサー分子、MDA5, RIG-I の変異による自己免疫疾患の解析

【背景・目的】

ウイルス RNA センサー分子、MDA5, RIG-I の機能獲得型変異がヒトにおける自己免疫疾患の原因であることを報告してきた。この疾患の治療法開発を目的として、一連のヒトの変異遺伝子を導入したマウスを作出して自己免疫の発症機構の解析、実験的治療の検討を行った。

【成果の概要】

ヒトの自己免疫疾患である Aicardi-Goutières Syndrome (AGS), Singleton-Merten syndromes (SMS), systemic lupus erythematosus (SLE) で見出された MDA5, RIG-I の機能獲得型変異を持つ遺伝子を導入したマウスを作出した。これらのマウスはそれぞれ異なったタイプの自己免疫症状を呈した。



- 1) Soda, N., Sakai, N., Kato, H., Takami, M and Fujita, T. Singleton-Merten Syndrome-like Skeletal Abnormalities in Mice with Constitutively Activated MDA5. The Journal of Immunology 203, 1356. 2019 doi: 10.4049/jimmunol.1900354 July 2019
- 2) Abu Tayeh, A., Funabiki, M., Shimizu, S., Satoh, S., Lee, S., Iwakura, Y., Kato, H., and Fujita, T. (2020). Psoriasis-like skin disorder in transgenic mice expressing a RIG-I Singleton-Merten syndrome variant. International Immunology 2020 <https://doi.org/10.1093/intimm/dxaa071>

【学術的意義】

ヒトの自己免疫疾患で見出された MDA5, RIG-I の機能獲得型変異を持つ遺伝子を導入したマウスはそれぞれ異なったタイプの自己免疫症状を呈し、ヒト疾患のモデルとして有用と考えられた。今後、これらの疾患の治療法開発に向けて重要なモデルとなると考えられる。

【今後の計画】

同じ機能獲得型変異であっても呈する症状は同一ではないことが判明した。その機構について詳細な解析を進め、ヒト疾患の病態解明を目指す。

【課題の自己評価】

本研究は科学研究費補助金によってサポートされ、ヒト疾患の臨床研究グループとの共同研究に発展した。ヒトでの治療法開発のための動物モデルとして有用なトランスジェニックマウスを多数樹立することができ、今後の治療法開発に大きな貢献が期待される。

ウイルス感染研究部門

A-2: ウイルス制御分野

【構成員】教授：橋口隆生、助教：鈴木干城

【分野題目】小児関連ウイルスの病原性解明とウイルス性疾患に対する予防・治療法開発

【研究概要】

感染症は今なお世界中の子どもたちの脅威となっている。この問題を解決するため、我々は小児関連ウイルス感染症の病原性解明と予防・治療法開発の研究を進めた。特に、ウイルスの細胞侵入機構および化合物・ペプチド・糖鎖・抗体による侵入阻害機構の解明に注力し、ウイルス学的手法と構造生物学的手法を組み合わせたアプローチで研究を進めた。

【研究目標・課題】

- 1) 小児関連ウイルスの細胞侵入機構の解明
- 2) 化合物・既存薬・ペプチド・抗体等によるウイルス感染阻害機構の解明および治療薬開発
- 3) 構造生物学的手法によるウイルスの病原性の理解およびワクチン開発

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

SPring-8, PF 等の大規模放射光施設および高分解能クライオ電子顕微鏡装置を活用したウイルス細胞侵入/侵入阻害機構の構造生物学的研究、ウイルス学的手法を用いたウイルス感染/感染阻害実験、生物物理学的手法を用いたウイルス・宿主因子の相互作用解析実験、マウントサイナイ医科大学との麻疹ウイルス神経病原性に関する国際共同研究

【主たる学術領域・関連学会】

ウイルス学、構造生物学、蛋白質科学、蛋白質デザイン学、日本ウイルス学会、日本蛋白質科学会、米国微生物学会

【分野における研究活動の自己評価】

SPring-8, PF 等の大規模放射光施設を活用した構造生物学的研究により、小児ウイルス感染症の細胞侵入機構の研究を進め、化合物やペプチドによる麻疹・ムンプスウイルスの細胞侵入/侵入阻害機構を解明した。麻疹ウイルス神経病原性の解明を目指した研究において、マウントサイナイ医科大学との国際共同研究により、神経感染機構の構造基盤に関して新知見を得た。ウイルス学分野における基礎研究の推進に貢献した。AMED の外部資金獲得により、コロナウイルス研究に取り組み、共同研究先機関との協力のもと、予防・治療法開発、感染病態の理解につながる大きな成果を得た。2 件の特許を共同研究機関と出願し、COVID-19 治療薬応用の途を開いた。

【特記、備考等】

令和 2 年 9 月より京都大学ウイルス・再生医科学研究所に着任。

ウイルス制御分野

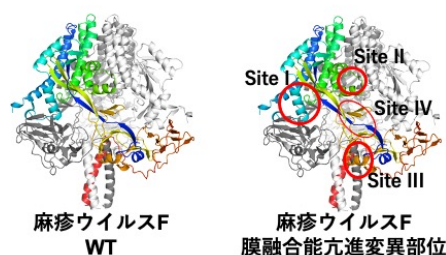
【主な研究課題】 小児関連ウイルスの神経病原性解明と治療法開発

【背景・目的】

麻疹（はしか）の原因である麻疹ウイルス(MeV)及び流行性耳下腺炎（おたふくかぜ）の原因であるムンプスウイルス(MuV)は、共にパラミクソウイルス科に属し、致死性または重篤な中枢神経系感染を起こすことがある。しかし、そのメカニズムは大部分が未解明であるため、我々の研究グループでは、原子・分子・細胞・組織・個体レベルでの中枢神経感染のメカニズム解明と治療法創出に関する研究を行っている。

【成果の概要】

原子・分子・細胞レベルの解析として、神経感染で重要な役割を担う MeV 膜融合 (F) 蛋白質の構造決定 1)や網羅的変異導入解析により 2)、神経系感染を可能にする MeV 変異箇所および構造基盤を明らかにした (図)。組織・個体レベルの解析として、亜急性硬化性全脳炎 (SSPE) 患者由来オルガノイド構築や霊長類にしか感染しない麻疹ウイルスの小動物感染モデル構築を進めた。また、MuV の糖鎖受容体を同定し、受容体とウイルス受容体結合蛋白質の構造決定により、MuV トロピズムを一部解明することにも成功した (Kubota M. et al. PNAS 2016, J Virol 2019)。



1. Hashiguchi T, Fukuda Y, Matsuoka R, Kuroda D, Kubota M, Shirogane Y, Watanabe S, Tsumoto K, Kohda D, Plemper RK, Yanagi Y. “Structures of the prefusion form of measles virus fusion protein in complex with inhibitors”. Proc Natl Acad Sci U S A. 2018;115(10):2496-501.
2. Ikegame S, Hashiguchi T, Hung CT, Dobrindt K, Brennand KJ, Takeda M, Lee B. “Fitness selection of hyperfusogenic measles virus F proteins associated with neuropathogenic phenotypes”. Proc Natl Acad Sci U S A. 2021; 4;118(18):e2026027118.

【学術的意義】

構造解析で得られた MeV-F 立体構造情報に膜融合能に影響するアミノ酸置換をマッピングした結果、膜融合能亢進変異が集積しやすい構造上の主要 3 ヶ所 (Site I, II, III) と次要 1 ヶ所 (Site IV) が存在することが明らかとなった。すなわち、神経系感染を可能にする MeV 変異につながる構造的な重要箇所があり、MeV-F の特定の構造領域に影響をあたえることが膜融合能亢進（神経系感染）の原動力となることを明らかにした。

【今後の計画】

パラミクソウイルスによる神経感染を阻害する分子の同定と標的蛋白質との複合体構造情報をもとにした最適化により、高い治療効果を持つ分子の作製を目指す。

【課題の自己評価】

MuV の糖鎖受容体の同定と構造決定 (Kubota M. et al. PNAS 2016) および、MeV の神経病原性に重要な MeV-F の構造決定 (Hashiguchi T et al. PNAS 2018) は、プレス発表において高い注目を集め、各メディアで報道された。今後、これまでの知見をもとに細胞侵入阻害を標的とした治療薬開発へ発展することが期待される。

A-3: RNA ウイルス分野

【構成員】 教授：朝長啓造、助教：牧野晶子

【分野題目】 ボルナウイルスを対象とした統合的 RNA ウイルス研究

【研究概要】

本研究分野では、ヒトをはじめとする哺乳動物に脳炎を引き起こすボルナウイルスを対象に、(1) 病原性ならびに複製機構の解明、(2) 哺乳動物ゲノムに内在化している内在性ボルナウイルスの進化解析、そして(3) 遺伝子細胞治療用の新規 RNA ウイルスベクターの開発研究を行った。ウイルス学を基盤とし、RNA 研究、進化学や遺伝子治療学を横断した統合的 RNA ウイルス研究を実施した。

【研究目標・課題】

- 1) ボルナウイルスの核内持続感染機構の解明
- 2) 新興人獣共通感染ボルナウイルスの病原性解明
- 3) 内在性 RNA ウイルスの機能と共進化の解明
- 4) RNA ウイルスの内在化と進化理論の構築
- 5) ボルナウイルスベクターREVec の遺伝子細胞治療への応用と実用化

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

P2 および P3 施設におけるウイルス感染研究、組換えウイルス技術を用いた研究、バイオインフォマティクスを活用したウイルス共進化解析、BSL2 および 3 施設におけるウイルス感染実験、iPS 細胞ならびに各種幹細胞を用いたウイルスベクター導入研究、理研との内在性 RNA ウイルスに関する共同研究、ドイツ・フライブルク大学、岡山大学、大阪大学とのボルナウイルスに関する共同研究

【主たる学術領域・関連学会】

ウイルス学、獣医学、RNA 研究、進化学、遺伝子細胞治療学・日本ウイルス学会、日本獣医学会、日本 RNA 学会、日本進化学会、日本遺伝子細胞治療学会、日本分子生物学会

【分野における研究活動の自己評価】

ボルナウイルスの基礎研究では、核内持続感染機構の解明や高病原性新興ボルナウイルスの病原性解明を行った。内在性ボルナウイルス (EBLs) 研究では、哺乳動物ゲノムにおける EBLs の発現と機能解析を進めるとともに、理研との共同研究で EBLs 欠損マウスの作製し、抗ウイルス活性を解析した。新規ウイルスベクターREVec 開発では、各種幹細胞での導入技術を確認するとともに、実用化に向けた改良を進めた。研究活動は極めて順調・発展している。ボルナウイルス、内在性 RNA ウイルス研究では世界トップの業績であり、REVec 開発では実用化に向けた順調な研究が進んでいる。

【特記、備考等】

外部資金として、AMED (革新バイオ、J-PRIDE 他)、JSPS (基盤(S),(A),(B)、挑戦的萌芽、Core-to-Core)、MEXT (新学術領域「ネオウイルス学」計画研究)、企業との共同研究費など順調に獲得した。また 2 件の特許出願を行った。JSPS Core-to-Core program ではロンドン日本大使館で主催シンポジウムを開催したことは評価できる。

【主な研究課題】 内在性 RNA ウイルスの網羅的検索と機能解明

【背景・目的】

内在性ウイルスの研究はウイルスと宿主の共進化を明らかにするのみならず、ゲノムの複雑性や新奇性獲得など、生物ゲノムの進化原理を理解する大きな手掛かりとなる。本研究の目的は、動物ゲノムにおける内在性 RNA ウイルス配列を網羅的に検索するとともに、その機能解明を行うことである。本研究は、生命進化におけるウイルス感染の真の意義とウイルス・パンデミックの歴史の構築にも貢献することができる。

【成果の概要】

内在性 RNA ウイルスの塩基列出現頻度の特徴を機械学習により抽出することで、従来の相同性解析では検出できなかった未知の内在性 RNA ウイルスの同定を試みた。その結果、ヒトゲノム中に既知のウイルスとは全く配列相同性を持たないウイルス様配列を発見し、この配列が幅広い宿主で伝播していた可能性を示した。また、969 種の真核生物のゲノム情報を用いて、内在性ボルナウイルス様配列の網羅的探索と系統樹解析を行った。その結果、北方真獣類では少なくとも約 1 億年前からボルナウイルスの流行と種間伝播が継続的に起こっていたことが明らかとなった。

- 1) Kojima S, Yoshikawa K, Ito J, Nakagawa S, Parrish NF, Horie M, Kawano S, Tomonaga K. Virus-like insertions with sequence signatures similar to those of endogenous non-retroviral RNA viruses in the human genome. *Proc Natl Acad Sci USA*. 118(5):e2010758118. (2021) DOI: 10.1073/pnas.2010758118.
- 2) Kawasaki J, Kojima S, Mukai Y, Tomonaga K, Horie M. One hundred million years history of bornavirus infections hidden in vertebrate genomes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 118(20):e2026235118. (2021) DOI: 10.1073/pnas.2026235118.

【学術的意義】

本研究により、ウイルスが従来考えられてきた以上に宿主ゲノムの複雑性に寄与していることが示された。また、約 1 億年にわたる脊椎動物と RNA ウイルスとの共存の歴史が明らかとなった。これらの成果は、ウイルスと宿主の共進化解明に大きく貢献するとともに、ゲノム進化の進化的理論を構築する新しい知見を提供している。

【今後の計画】

新たに発見した内在性 RNA ウイルス配列の機能解明を進める。特に、抗ウイルス活性の動作原理を解析することで、ウイルス由来の「ゲノム免疫」を利用した応用研究を創出する。また、内在性ウイルス研究と進化学や集団遺伝学との融合を進めることで、進化ウイルス学の新たな領域を発展させる。

【課題の自己評価】

本課題は、新学術領域研究「ネオウイルス学」ならびに基盤研究 (S) による研究であり、その成果は PNAS News や TWiV、そして複数のネット記事に取り上げられた。これらの成果以外にも内在性ウイルスの機能解明に関する論文も複数発表している。共同研究も国内・国外ともに進んでいる。本研究課題にはウイルス学のみならず、進化学や遺伝学にも大きなインパクトを与える新しい概念に発展する課題であり、今後も進展が大いに期待できる。

A-4: 微細構造ウイルス学分野

【構成員】教授：野田岳志、助教：中野雅博、村本裕紀子、特定助教：杉田征彦

【分野題目】ウイルスの細胞内増殖機構を微細構造学的観点から解明

【研究概要】インフルエンザウイルスやエボラウイルスなどヒト病原性ウイルスの細胞内増殖機構の理解を目指し、様々な顕微鏡法をウイルス学的手法と組み合わせて研究を進めた。特に、ウイルスゲノムの転写・複製を担うリボヌクレオタンパク質複合体の形成機構や感染細胞内動態に着目し、クライオ電子顕微鏡や高速原子間力顕微鏡を用いた解析を進めた。

【研究目標・課題】

- 1) インフルエンザウイルスのゲノムパッケージング機構の解明
- 2) インフルエンザウイルスの RNP 複合体の形成機構の解明
- 3) エボラウイルスのヌクレオカプシド形成の分子構造基盤の解明

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】透過型電子顕微鏡を用いたウイルス粒子や細胞内構造の微細構造解析、電子線トモグラフィー法を用いたウイルスの 3 次元構造解析、クライオ電子顕微鏡を用いたタンパク質複合体の高分解能構造解析、P3 実験室を活用した新型コロナウイルス研究、東京大学、九州大学、東京医科歯科大学、University of Wisconsin Madison、EMBL Heidelberg、沖縄科学技術大学院大学、徳島文理大学、北海道大学、University of Michigan Medical School、微生物化学研究所、Philipps University Marburg、金沢大学、理化学研究所、熊本大学、国立感染症研究所、Friedrich-Loeffler-Institute、とウイルス増殖機構やその制御法に関する共同研究

【主たる学術領域・関連学会】

ウイルス学、構造生物学、日本ウイルス学会、日本顕微鏡学会、生物物理学会

【分野における研究活動の自己評価】電子線トモグラフィー法によりインフルエンザウイルスの遺伝のメカニズムを解明した (mBio 2016, J Virol 2018, Nat Commun 2018)。高速原子間力顕微鏡を用いてインフルエンザウイルスの RNP の形成機構を明らかにした (Commun Biol 2021, mBio 2021)。クライオ電子顕微鏡を用いてエボラウイルスのヌクレオカプシドの構造を決定した (Nature 2017, Nature 2018)。ウイルス増殖に関わる宿主因子の機能を解明した (PLoS Pathog 2017, mBio 2018, Nat Microbiol 2019, mBio 2019, mBio 2020, Nat Commun 2020)。新型コロナウイルスの治療法や診断法に関する知見を得た (iScience 2020)。AMED 予算でクライオ電子顕微鏡を P2 実験室に設置しウイルス構造解析を大きく進展させた。JST-CREST 予算で発生学・医学・工学と融合した新型コロナウイルス研究を推進した。

【特記、備考等】受賞歴：野田岳志（令和 2 年・瀬藤賞・日本顕微鏡学会、令和 2 年・風戸賞・風戸研究奨励会）。杉田征彦（令和 2 年・風戸研究奨励賞・風戸研究奨励会）

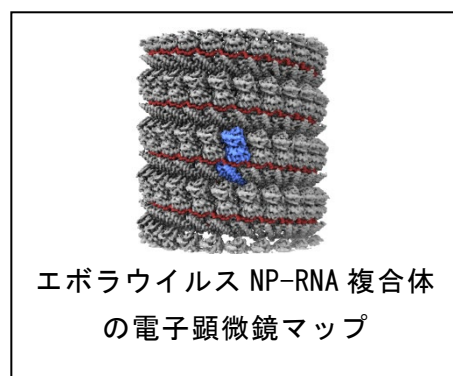
【主な研究課題】 インフルエンザウイルスおよびエボラウイルスの細胞内増殖機構に関する研究

【背景・目的】

インフルエンザウイルスやエボラウイルスの粒子形成機構を詳細に明らかにするためには、ウイルス構成因子の構造や構造変化をメゾスケールおよびナノスケールで明らかにする必要がある。当研究室では、さまざまな電子顕微鏡法や高速原子間力顕微鏡解析を駆使して、ウイルス増殖機構の解明を目指す。

【成果の概要】

(1) 電子線トモグラフィー法および次世代シーケンズ解析により、8種類のRNPが規則的に配置されることがインフルエンザウイルスの選択的ゲノムパッケージング機構に重要であることを見出した。(2) クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析により、エボラウイルスのヌクレオカプシドのコア構造となる螺旋状NP-RNA複合体の分子構造を決定した。



- 1) Noda T, Murakami S, Nakatsu S, Imai H, Muramoto Y, Shindo K, Sagara H, Kawaoka Y. Importance of the 1+7 configuration of ribonucleoprotein complexes for influenza A virus genome packaging. Nat Commun. 9(1):54. (2018)
- 2) Sugita Y, Matsunami H, Kawaoka Y, Noda T, Wolf M. Cryo-EM structure of the Ebola virus nucleoprotein-RNA complex at 3.6Å resolution. Nature. 563:137-140. doi: 10.1038/s41586-018-0630-0. (2018)

【学術的意義】

上記1の成果は、インフルエンザウイルスの遺伝のメカニズムを解明し、新たな抗インフルエンザ薬開発の標的を見出した。上記2の成果は、エボラウイルスのヌクレオカプシド形成機構を解明し、未だ治療法のないエボラウイルスの創薬開発に重要な知見を与えるものである。

【今後の計画】

インフルエンザウイルスだけでなく、新型コロナウイルスの細胞内増殖機構の解明へと発展させる。エボラウイルスとともにフィロウイルス科に属するマールブルクウイルスについてもヌクレオカプシド形成機構の解析を広げる。

【課題の自己評価】

本研究は東京大学、University of Wisconsin Madison、沖縄科学技術大学院大学との共同研究であり、プレス発表において高い注目を集めた。フィロウイルス研究については Philipps University Marburg や Friedrich-Loeffler-Institute との国際的な共同研究へと発展しており、BSL4施設を用いた研究へと発展することも期待される。

ウイルス感染研究部門

A-5: がんウイルス分野（酒井グループ）

【構成員】 准教授：酒井博幸、助教：柳川伸一

【分野題目】 がんウイルスの増殖機構と発がん誘導メカニズムの解明

【研究概要】

がんウイルスとしてヒトパピローマウイルス(HPV)とマウス乳がんウイルス(MMTV)をモデルとして扱い、感染細胞におけるウイルス増殖制御メカニズムを探った。またこれらのウイルス感染による腫瘍形成機構の解明をすすめた。in vitro モデルを用いた HPV 複製系においては、いくつかの抗ウイルス活性候補可能物の評価を行った。

【研究目標・課題】

- 1) 重層上皮組織の形成と HPV 複製機構の関連性の解明
- 2) HPV 発がん関連遺伝子による腫瘍形成・悪性転換機構の解析
- 3) Wnt シグナル経路による上皮細胞の増殖・分化恒常性維持システムの解明
- 4) 抗ウイルス剤開発への応用

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

重層上皮モデルを用いた HPV 複製研究、遺伝子改変マウスモデルを利用した Wnt シグナル経路の解析

【主たる学術領域・関連学会】

日本ウイルス学会、日本癌学会、日本分子生物学会

【分野における研究活動の自己評価】

重層上皮モデルを用いた HPV 研究から、E6、E7 といったがん関連遺伝子のウイルス複製への寄与を示すことができた。また E4 や E5 に関しても、後期ウイルス成熟過程への関与を示すデータが得られた。HPV 複製モデルでは他研究室と共同して、有力な抗ウイルス剤候補物質の作用を見出した。一部は臨床研究に向けて研究開発が進められている。

【特記、備考等】

なし

【主な研究課題】 ヒトパピローマウイルスの増殖機構と発がん誘導メカニズムの解明

【背景・目的】

ヒトパピローマウイルス (HPV) は主に STD として広く蔓延している。特に重要と考えられるのが子宮頸がんを始めとする悪性腫瘍で、HPV ワクチンの適用が期待されているが、治療や悪性転換予防効果のある薬剤の開発も強く望まれている。われわれの利用する in vitro HPV 実験系は、ウイルス複製を再現するだけでなく、造腫瘍活性も評価できることから、新規化合物の評価プラットフォームとして期待できる。

【成果の概要】

いくつかの CDK9 阻害剤を用い、それらの抗 HPV 効果を評価した。その結果、FIT-039 という化合物で強い抗ウイルス活性を確認することができた。この化合物は HPV の複製を抑制するだけでなく、腫瘍形成も抑えることができた。これまでのところ FIT-039 には強い細胞毒性は確認されておらず、抗 HPV 薬として有望な候補化合物と考えられる。

- 1) Ajiro M., Sakai H., Onogi H., Yamamoto M., Sumi E., Sawada T., Nomura T., Kabashima K., Hosoya T., Hagiwara M.: CDK9 Inhibitor FIT-039 Suppresses Viral Oncogenes E6 and E7 and Has a Therapeutic Effect on HPV-Induced Neoplasia. Clin Cancer Res. 2018, 24(18): 4518-4528, DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-3119.

【学術的意義】

本研究の成果にもとづいて FIT-039 の臨床段階での評価が進められている。このほかにも抗 HPV 活性を有する可能性のあるものに関して検討を進めており、基礎研究と臨床研究との橋渡し研究としての意義があったと考えられる。

【今後の計画】

- 1) より広範囲に抗 HPV 活性を持つ化合物の検索をすすめる
- 2) 評価系の簡便化・最適化を進め、スクリーニングのスケールにおさめることを目指す
- 3) HPV による腫瘍形成やその悪性転換の機構を解明し、子宮頸がんなどの悪性化を抑制できる分子標的を同定する

【課題の自己評価】

これまでに構築してきた実験系を利用して、実用性の高い研究への展開が図れた。今後はより多くの研究グループ、企業などと連携し、現在の成果を発展させたい。

ウイルス感染研究部門

A-6: がんウイルス分野（土方グループ）

【構成員】 准教授：土方 誠

【分野題目】 B 型肝炎ウイルス(HBV)と C 型肝炎ウイルス(HCV)の細胞内増殖機構とその感染による肝がん発症機構の解明

【研究概要】

HCV に関する研究では新規抗 HCV 薬剤としてステアシル CoA デサチュラーゼ阻害薬、MK8245 と Nrf2 活性化剤 Bardoxolone methyl を見出し、その薬効作用について解析した。また、患者由来の野生型 HCV の培養系を新たに開発した。HBV に関する研究では HBV 感染増殖に宿主細胞の脂肪酸生合成系が関与することを明らかにした。また、また不死化肝細胞の立体培養系を用いて、血清由来 HBV の効率の良い感染増殖系を開発した。

【研究目標・課題】

- 1) HCV 増殖に関わる新たな宿主細胞機構の同定とこれを応用した HCV 増殖阻害薬開発の基礎研究
- 2) 血清由来野生型 HCV の感染増殖系の構築
- 3) HBV 増殖に関わる新たな宿主細胞機構の同定とこれを応用した HBV 増殖阻害薬開発の基礎研究
- 4) 血清由来野生型 HBV の感染増殖系の構築

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

国立感染症研究所との抗 HBV 薬に関する共同研究

【主たる学術領域・関連学会】

ウイルス学、分子生物学、細胞生物学、日本ウイルス学会、日本分子生物学会、日本生化学会、日本がん学会

【分野における研究活動の自己評価】

既存薬剤を用いたスクリーニングにより、HCV と HBV のそれぞれの培養細胞における増殖を抑制する化合物を複数見出した。各薬剤のウイルス増殖抑制機構の解析を進め、その分子機構の一部を解明した。これまでに存在していなかった天然に存在する野生型の HCV の感染増殖系の開発を目指し、広島大学との共同研究により、ヒト不死化肝細胞の立体培養系を新たに開発した。また同様に HBV 感染受容体を産生するヒト不死化肝細胞を樹立し、血清由来 HBV の効率良い感染増殖系を新規に開発した。

【特記、備考等】

がんウイルス分野（土方グループ）

【主な研究課題】 HCV と HBV の増殖機構並びに慢性肝疾患発症機構の解明

【背景・目的】

HCV と HBV はヒトの肝がんの原因となっている。それぞれの抗ウイルス薬が開発されているが、抵抗性株の出現があり、また発がんの抑制は達成されていない。こうした問題を解決するために、新たなウイルス培養系を開発し、これまで不明であったウイルスと宿主細胞との相互作用を明らかにすることを目的とした。

【成果の概要】

HCV と HBV について転写因子 Nrf2 活性化剤が HBV RNA の分解を促進し、また HCV ゲノム複製を阻害することを見出し、それぞれの抗ウイルス薬の候補となることを示した。また、独自に樹立した不死化ヒト肝細胞を立体培養することで、血清由来の HBV の生活環を効率よく再現することに成功した。

- 1) Nio Y., Sasai M., Okamura H., Hasegawa H., Akahori Y., Oshima M., Watashi K., Wakita T., Ryo A., Tanaka Y., Hijikata M.: Bardoxolone methyl as a novel potent antiviral agent against hepatitis B and C viruses in human hepatocyte cell culture systems. *Antiviral Res.*, 2019, 169, <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2019.104537>
- 2) Akahori Y., Kato H., Fujita T., Moriishi K., Tanaka Y., Watashi K., Imamura M., Chayama K., Wakita T., Hijikata M.: Establishment of a novel hepatitis B virus culture system using immortalized human hepatocytes, *Sci Rep*, 2020, 10, 21718, <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78655-x>

【学術的意義】

これまでに HCV と HBV の増殖を抑制する薬剤を新たに複数見出しており、これらウイルスと細胞の相互作用に新たに知見をもたらし、学術的意義が深い。また、同様に新規の抗ウイルス薬開発に貢献する。新たに開発した HBV 培養系は血清 HBV の高い感染性の原因解明などから新規研究分野開拓への展開が期待できる。

【今後の計画】

これまでに見出した抗ウイルス薬の作用機序を詳細に解明し、さらに効果的な抗ウイルス薬の開発に発展させる。また、新たな HBV 培養系を用いて血清 HBV の高い感染性の原因を解明する。

【課題の自己評価】

これまでの研究は全て AMED 肝炎等克服実用化研究事業の研究プロジェクトによる研究である。全て、国立感染症研究所あるいは他大学との共同研究により行った。抗ウイルス薬については候補薬剤を同定したが、まだ実用化には至っていない。新たな HBV 培養系の開発はこれまでに不可能であった現象を再現している可能性があり、新たな知見が得られることが期待される。

A-7: 細胞制御分野

【構成員】教授：杉田昌彦、助教：森田大輔、水谷龍明

【分野題目】脂質免疫の基盤解明と制御

【研究概要】

糖脂質や脂質修飾タンパク質を標的とした感染防御応答の成立基盤を解明するとともに、脂質ワクチンの実用化に向けた基礎研究を展開した。アカゲザルエイズモデルの詳細な解析から、ミリストイル化ペプチドに対する細胞傷害性 T 細胞応答の存在を発見し、その誘導を担うリポペプチド抗原提示分子を同定した。さらにリポペプチド提示分子／リポペプチドリガンド／T 細胞受容体の共結晶構造を解明し、リポペプチド認識の分子機構を明らかにした。

【研究目標・課題】

- 1) 脂質免疫の分子・細胞基盤の確立
- 2) 脂質免疫系を再構築した小モデル動物の作出と利用
- 3) ヒトリポペプチド抗原提示分子の同定およびその構造と機能の解明
- 4) 脂質免疫の病態論の構築
- 5) 脂質免疫の賦活化を基軸とした脂質ワクチン開発

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

脂質生化学的手法（有機合成、リボソーム作製、薄層クロマトグラフィー、マススペクトロメトリーなど）を融合した独自の免疫学的手法を確立。理化学研究所大型放射光施設（SPring-8）の利用により、種々免疫分子や病原体機能分子の X 線結晶構造解析を推進。

【主たる学術領域・関連学会】

T 細胞バイオロジー、脂質生物学、結晶構造学、臨床免疫学、ワクチン
日本免疫学会、日本生体防御学会、日本内科学会、米国免疫学会

【分野における研究活動の自己評価】

リポペプチド抗原提示を担うアカゲザル MHC クラス 1 アロモルフを同定し、その構造を解明した。さらにリポペプチドを認識する T 細胞受容体を単離し、共結晶構造を解明することにより、リポペプチド抗原提示・T 細胞認識の分子基盤の全容を解明した。これらの情報をもとにヒトリポペプチド提示分子の同定に成功し、その構造を明らかにするとともに、ヒトリポペプチド免疫応答を再構築したトランスジェニックマウスの作出に成功した。これらの研究活動の成果は先駆的であり、免疫学の新しいパラダイムを構築するものである。

【特記、備考等】

結核菌脂質免疫応答を再構築したヒト CD1a トランスジェニックマウスを国内外の研究施設に提供し、共同研究の成果が得られた。

細胞制御分野

【主な研究課題】 リポペプチド免疫の基盤解明

【背景・目的】

細胞制御分野において、アカゲザルエイズモデルの免疫解析を起点として、ウイルスリポペプチドを標的とした新しいT細胞応答の存在が明らかとなった。この新しい免疫システムの分子・細胞基盤を解明し、抗原提示の新しいパラダイムを確立する。さらに、リポペプチド免疫系を再構築した小動物モデルならびに臨床検体を用いた免疫解析をもとに、生体防御における役割と病態論的意義を解明する。

【成果の概要】

リポペプチド抗原提示を担うアカゲザル MHC クラス I 分子 (Mamu-B*05104) を同定し、その構造を解明した。さらにリポペプチドを認識する T 細胞受容体 (SN45) を単離し、共結晶構造を解明することにより、リポペプチド認識の分子基盤を確立した。

- 1) Yamamoto, Y., Morita, D., Shima, Y., Midorikawa, A., Mizutani, T., Suzuki, J., Mori, N., Shiina, T., Inoko, H., Tanaka, Y., Mikami, B., and Sugita M. (2019).

Identification and structure of an MHC class I-encoded protein with the potential to present N-myristoylated 4-mer peptides to T cells. *J. Immunol.* 202, 3349-3358. DOI: 10.4049/jimmunol.1900087.

- 2) Morita, D., Iwashita, C., Mizutani, T., Mori, N., Mikami, B., and Sugita, M. (2020). Crystal structure of the ternary complex of TCR, MHC class I and lipopeptides. *Int. Immunol.* 32, 805-810. DOI: 10.1093/intimm/dxaa050.

【学術的意義】

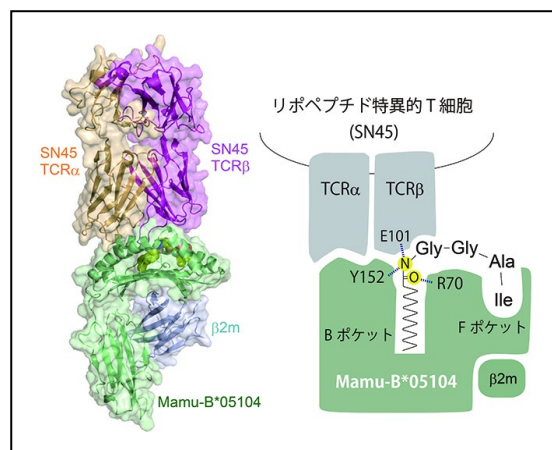
ウイルスタンパク質の脂質修飾反応は病原性に深く関与する。この脂質化タンパク質に由来するリポペプチドを標的とした新しい免疫システムの基盤解明は、重要な免疫学的意義を有するとともに、感染病態や自己免疫病態の新たな理解と制御に貢献するものである。

【今後の計画】

ヒトリポペプチド提示分子の同定を受け、ヒトリポペプチド免疫応答を再構築した小動物モデルの活用と臨床検体の利用により、ウイルス感染症におけるリポペプチド免疫応答の実態解明とその賦活化を基盤としたワクチン開発を進める。

【課題の自己評価】

本研究は、独自に発見したリポペプチド特異的免疫応答を起点として、その分子・細胞基盤を解明し、免疫学の新しいパラダイムを構築した点、ならびにヒト免疫病態の理解と新しいワクチンの開発の基盤を構築した点において、高く評価できる。



A-8: 免疫制御分野

【構成員】教授：生田宏一、助教：原崇裕、崔広為、竹本経緯子

【分野題目】サイトカインによる免疫系構築と免疫応答制御の分子機構の解明

【研究概要】

初期 B リンパ球分化を支持する骨髄インターロイキン 7 (IL-7) ニッチ、糖質コルチコイドによる免疫機能亢進と免疫系の日内変動の制御、IL-7 受容体下流シグナル間の競合による T リンパ球機能の制御、 $\gamma\delta$ 型 T リンパ球の末梢維持機構などの問題について、免疫学の観点に基づく学際的研究を進めた。特に、微小環境、内分泌系、体内時計などの体内の種々システムと免疫系との相互関連を、主に遺伝子改変マウスを用いて分子から個体レベルで総合的に研究を進めた。

【研究目標・課題】

- 1) リンパ球における IL-7 受容体の分化・成熟シグナルの解明
- 2) リンパ球の分化と応答における IL-7 受容体の発現制御機構の解明
- 3) サイトカイン産生性免疫微小環境の可視化と局所機能の解明
- 4) 糖質コルチコイドの免疫賦活作用および免疫系の概日制御の解明
- 5) 免疫機能の性差の機構解明

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

フローサイトメトリー装置を用いたリンパ球亜集団の分析分取実験、ES 細胞相同組換えと遺伝子編集技術を用いた遺伝子改変マウス作製、SPF 動物実験施設を活用した免疫応答解析研究、P2 動物実験施設を活用した病原微生物感染実験。イエール大学との骨髄 IL-7 ニッチに関する共同研究、ドイツ癌研究センターとの糖質コルチコイドによる免疫機能制御に関する共同研究。

【主たる学術領域・関連学会】

免疫学、時間生物学、免疫代謝学、神経内分泌免疫学、性差免疫学。日本免疫学会、日本分子生物学会、日本生化学会。

【分野における研究活動の自己評価】

細胞特異的 IL-7 欠損マウスを開発することによって、初期 B リンパ球分化を支持する骨髄ストローマ細胞を同定し、サイトカイン産生性免疫微小環境における新規知見を得た。IL-7 受容体遺伝子エンハンサー変異マウスを開発することによって、糖質コルチコイドによる IL-7 受容体発現誘導を個体レベルで解析することが可能になり、糖質コルチコイドが概日リズム依存的に T リンパ球の分布と機能を制御することを解明した。これにより、免疫抑制作用で知られる糖質コルチコイドが、免疫賦活作用という新たな生理機能を持つという新規概念を提示した。

【特記、備考等】

糖質コルチコイドの新規免疫賦活作用の発見についてプレス発表において高い注目を集めた（平成 29 年度）。

免疫制御分野

【主な研究課題】糖質コルチコイドの免疫賦活作用および免疫系の概日制御の解明

【背景・目的】

糖質コルチコイドは免疫抑制作用を持ち広く治療に用いられている。これまで糖質コルチコイドが IL-7 受容体の発現を誘導する機構を報告していたが、免疫系における生理的な機能については不明の点が多かった。そこで、IL-7 受容体遺伝子の制御領域に変異を導入し、フローサイトメトリー解析や感染実験をおこなうことで、免疫系における糖質コルチコイドの生理的機能を探索した。

【成果の概要】

IL-7R α 鎖遺伝子エンハンサーの糖質コルチコイド受容体結合モチーフ変異マウスとT細胞特異的糖質コルチコイド受容体欠損マウスを用いて、糖質コルチコイド濃度の日内変動に伴いT細胞のIL-7受容体とケモカイン受容体CXCR4の発現が誘導されていることがわかった。さらに、これらの発現がピークとなる夜間にT細胞がリンパ節や脾臓に集積し、免疫応答能が高まることを発見した（右図）。以上の結果は、糖質コルチコイドが生理的な濃度では免疫機能を亢進する働きを持つことを示しており、強い免疫抑制効果を持つとされてきた従来の糖質コルチコイドの概念を覆し、新しい生理機能を提示した。

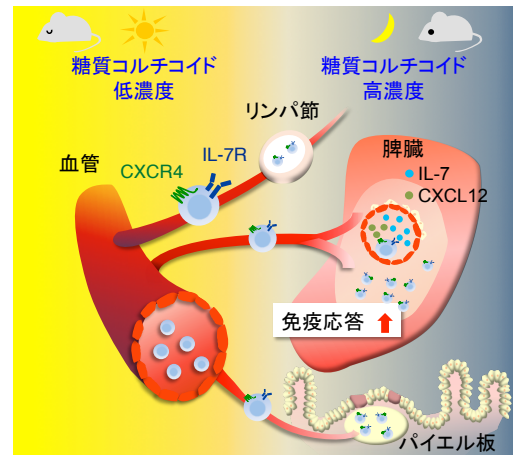


図. 糖質コルチコイドによるT細胞機能の制御

- 1) Shimba A, Cui G, Tani-ichi S, Ogawa M, Abe S, Okazaki F, Kitano S, Miyachi H, Yamada H, Hara T, Yoshikai Y, Nagasawa T, Schütz G, and Ikuta K. (2018). Glucocorticoids drive diurnal oscillations in T cell distribution and responses by inducing interleukin-7 receptor and CXCR4. *Immunity*, 48: 286-298. doi: 10.1016/j.immuni.2018.01.004.

【学術的意義】

本成果は、糖質コルチコイドが生理的な濃度では免疫機能を高める働きを持つことを示しており、強い免疫抑制効果を持つとされてきた従来の糖質コルチコイドの概念を覆す画期的な発見であった。また、糖質コルチコイドが免疫機能の概日変動を制御することが明らかになり、時間免疫学の分野の発展に貢献した。

【今後の計画】

糖質コルチコイドがTリンパ球のさまざまな機能を亢進する可能性が想起される。今後は、糖質コルチコイドが炎症誘導性免疫応答を担うTh17細胞の分化と機能を亢進することで、自己免疫疾患を誘導する可能性を検討する。

【課題の自己評価】

本成果は、科学研究費補助金萌芽研究の支援によるもので、プレス発表において高い注目を集めた。特に、遺伝子改変マウスを介して国際的な共同研究を展開するとともに、京都府立医科大学との時間生物学分野の共同研究に発展した。本成果は、内分泌系・体内時計などの体内の種々システムと免疫系との相互関連の重要性を示すこととなり、神経内分泌免疫学や時間免疫学の新規学術分野の創成に貢献した。

B-1: 細胞機能調節学分野（細川グループ）

【構成員】准教授：細川暢子

【分野題目】哺乳類細胞におけるタンパク質品質管理機構に関する分子から細胞レベルでの解析

【研究概要】

ヒトなどの培養細胞を用いて、分子から細胞レベルにおけるタンパク質品質管理機構の研究を行った。小胞体に存在するシャペロンタンパク質が複合体を形成することによって局在と機能を調節するメカニズムを解明し、また、小胞体に蓄積したミスフォールドタンパク質を分解する小胞体関連分解機構に関して、膜複合体の安定性と機能を分子レベルで解析した。さらに、小胞体で生合成されたコラーゲンタンパク質が、正しい高次構造を獲得して分泌されるに至る細胞内輸送機構に関する研究を行った。

【研究目標・課題】

- 1) 小胞体分子シャペロンタンパク質の局在と機能に関する研究
- 2) 小胞体関連分解に関わる膜複合体の安定性を制御する分子機構の解明
- 3) 糖タンパク質の品質管理を制御する糖鎖トリミング機構の解析
- 4) 小胞体ストレスで発現が誘導される新規タンパク質の機能解析
- 5) コラーゲンタンパク質の細胞内輸送機構の解析

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

ヒトなどの哺乳類培養細胞を用い、分子生物学、生化学、細胞生物学的手法を用いた研究。遺伝子解析装置、タンパク質解析装置、共焦点顕微鏡、ラジオアイソトープなどを使用。学内の医学研究支援センター利用。分子科学研究所との糖鎖解析に関する共同研究。

【主たる学術領域・関連学会】

日本分子生物学会、日本生化学会、日本細胞生物学会

【分野における研究活動の自己評価】

タンパク質品質管理機構の研究において、独自の視点に立った研究を行い、基本的な手法を組み合わせることによって新たな知見を得ることができた。具体的には分子シャペロンタンパク質の機能解析や、小胞体関連分解と呼ばれるタンパク質分解機構についての基礎的な研究成果を得て、論文として発表することができた。また、ライブセルイメージング法を用いてコラーゲンタンパク質の細胞内輸送機構を解明する手法を確立した。本研究成果は、細胞内でのコラーゲン成熟過程の研究への進展が期待される。

【特記、備考等】

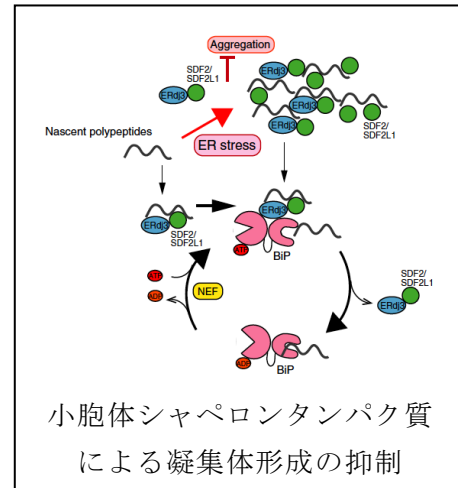
【主な研究課題】哺乳類細胞におけるタンパク質品質管理機構の研究

【背景・目的】

細胞の中で生合成されたタンパク質が機能するためには、細胞内に存在するシャペロンタンパク質などの助けを借りて正しい高次構造を形成する必要がある。また、高次構造形成に失敗したタンパク質は細胞内分解を受ける。細胞や組織、個体の生存を支える根幹となる、これらの巧妙な細胞内メカニズムの解明を目的とする。

【成果の概要】

小胞体シャペロンタンパク質が複合体を形成することで、その局在と機能が制御されていることを明らかにした。また、糖タンパク質の品質管理に関わるタンパク質の酵素活性を、試験管内で再構築することに成功した。さらに、小胞体膜に存在するタンパク質複合体の安定性と機能に関する研究、タンパク質の細胞内輸送メカニズムに関しても研究を行い、論文として発表した。



- 1) Yu, S., Ito, S., Wada, I., Hosokawa, N.: ER-resident protein 46 (ERp46) triggers the mannose-trimming activity of ER degradation-enhancing α -mannosidase-like protein 3 (EDEM3). *J. Biol. Chem.*: 293, 10663-10674 (2018). doi: 10.1074/jbc.RA118.003129
- 2) Hanafusa K, Wada I, Hosokawa N.: SDF2-like protein 1 (SDF2L1) regulates the endoplasmic reticulum localization and chaperone activity of ERdj3 protein. *J. Biol. Chem.*: 294, 19335-19348 (2019). doi: 10.1074/jbc.RA119.009603

【学術的意義】

糖タンパク質の品質管理に関わる EDEM3 タンパク質の試験管内での酵素活性検出は、哺乳類の EDEM タンパク質では初めて明確な酵素活性の検出に成功したものである。また ERdj3 と SDF2L1 複合体形成に関しては、細胞を用いた実験と試験管内でのシャペロン活性検出法を組合わせることで、小胞体シャペロンタンパク質の局在と機能に関する新たな知見を加えた。またコラーゲンの細胞内輸送に関して、蛍光タンパク質を用いた生細胞観察法に基づき、新たな輸送機構の提唱を行った。

【今後の計画】

シャペロンタンパク質の構造、複合体形成と機能に関する研究を進める。またコラーゲンタンパク質の細胞内輸送機構に関する解析を進める。

【課題の自己評価】

細胞内におけるタンパク質品質管理機構の様々な局面において、独自の視点に立った解析を行い、巧妙な仕組みの一端を明らかにすることで、関連分野の研究発展に寄与する基本事項の解明ができた。また議論の多いコラーゲンタンパク質の細胞内輸送に関して、ライブセルイメージング法を用いて、新たな輸送メカニズムを提唱することができた。

再生組織構築研究部門

B-2: 細胞機能調節学分野（平芳グループ）

【構成員】講師：平芳一法

【分野題目】生体組織・細胞に見られる階層的なシステム動態を力学的観点から解明

【研究概要】

ショウジョウバエのクロマチンリモデリングに関与する GAGA 因子が基本転写に及ぼす影響を解析した。また、コラーゲンに対する ANR aptamer を取得し、その機能解析を進めた

【研究目標・課題】

- 1) 基本転写機構におけるクロマチンリモデリング因子の機能解析
- 2) コラーゲンに対する RNA aptamer の取得とその応用

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

早稲田大学との RNA aptamer を用いたコラーゲンの機能解析に関する共同研究

【主たる学術領域・関連学会】

日本分子生物学会

【分野における研究活動の自己評価】

コラーゲンに対する RNA aptamer の取得には一応の成果を得たが、その後の詳細な解析において、現在試行錯誤の段階であり、今後の展開が待たれる。基本転写とクロマチンリモデリング因子の開析に関しては、基本転写因子との相関関係に関して、解析中である。

【特記、備考等】

細胞機能調節学分野（平芳グループ）

【主な研究課題】 RNA aptamer を持ち多コラーゲンの機能解析

【背景・目的】

コラーゲンの機能を阻害する有効な抗体が存在しないため、その機能を解析することが困難であった。その問題を解決するため、コラーゲンに特異的に結合する RNA aptamer の取得を試みた。

【成果の概要】

コラーゲンに結合する RNA aptamer の取得には成功した。現在、その詳細な結合様式、機能について解析中である。

【学術的意義】

取得した RNA aptamer がコラーゲンの特定部位に結合し、その機能を阻害することが明らかになれば、血液凝固など病態にも直結する多彩な生理機能を発揮するコラーゲンの詳細な機能を明らかにすることができる。

【今後の計画】

コラーゲンに結合する RNA aptamer の機能解析は早稲田大学との共同研究により、進めていく予定である。

【課題の自己評価】

取得した RNA aptamer の機能解析はまだ、途上であるが、今後早稲田大学との共同研究により、種々の分野への応用が期待される。

再生組織構築研究部門

B-3: 細胞機能調節学分野（藤本グループ）

【構成員】 助教：藤本真慈

【分野題目】 T 細胞レセプター遺伝子 V(D)J 組換え機構のどのようなミスが発がんにかかわっているかの解析

【研究概要】

一見例外的な T 細胞レセプター β 鎖遺伝子 (*Tcrb*) の V(D)J 組換えが発がんにも関わっている可能性について、研究を進めた。

【研究目標・課題】

Tcrb の V(D)J 組換えにおける 12/23 rule は常にまもられているか

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

PCR を用いた 12/23 rule に反した *Tcrb* の V(D)J 組換え産物の解析 この研究は放射線医学総合研究所のグループと共同でおこなっている。

【主たる学術領域・関連学会】

日本免疫学会、日本分子生物学会

【分野における研究活動の自己評価】

一見異常に見える *Tcrb* の V(D)J 組換え産物を、低い頻度ながら、正常マウスにおいても検出した。この機構が明らかにすることで、ある種の発がんも同様におきている可能性を初めて示した。

【特記、備考等】

細胞機能調節学分野（藤本グループ）

【主な研究課題】 正常マウスにおける 12/23 rule から外れた *Tcrb* V(D)J 組換えはどのようにしておこったのか

【背景・目的】

ミュータントマウスにおける異常な *Tcrb* V(D)J 組換え構造が正常マウスにおいても検出された。

【成果の概要】

12/23 rule がまもられていないように見えた *Tcrb* V(D)J 組換え産物は、途中で例外的な組換えがおこったものの、改めて 12/23 rule に則った組換えがおこったことで説明できた。

【学術的意義】

本成果は、特定の遺伝子断片間の組換えによる発がん機構の解明に向けて重要な鍵となることが期待される。

【今後の計画】

特定の遺伝子断片間の組換えによりがん化した細胞から、本研究によって存在することが強く推定される遺伝子組換え後の産物を特定し解析する。

【課題の自己評価】

これまでの成果は、放射線医学総合研究所のグループとの共同研究により、まずはマウスを用いて得られた。今後はヒトの発がん機構についても新しい知見が得られることが期待される。

B-4: 生体材料学分野

【構成員】教授：田畑泰彦、助教：城潤一郎

【分野題目】体内で用いる、あるいは細胞、生体成分、細菌、およびウイルスなどと触れて用いる生体材料のデザインと創製

【研究概要】

医療（治療、診断、予防）に応用可能あるいは基礎生物医学研究に役立つ方法、手段、および技術に関して材料科学の立場からの研究開発を進めた。生体材料のデザインと創製を行い、再生医療あるいは薬物・遺伝子治療、予防ワクチン、および診断効率の向上を目指したドラッグデリバリーシステム（DDS）に対する基礎および応用研究を行った。加えて、細胞生物学や細胞培養のための生体材料研究も進めた。

【研究目標・課題】

- 1) 生体組織再生治療のための 3D 細胞足場、生理活性因子の DDS 技術の研究開発
- 2) 幹細胞工学および再生・創薬研究のための生体材料の研究開発
- 3) 治療薬や診断薬（イメージング分子）の DDS 技術の研究開発
- 4) 遺伝子、核酸医薬の細胞内取り込みのための生体材料技術の研究開発
- 5) 再生治療効果増強を目指した免疫応答機能の制御のための生体材料の研究開発

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

3D 材料加工装置を用いた 3D 細胞足場、RI 施設を利用した薬物体内動態評価、動物実験施設を利用した薬物、再生治療研究、国内外の 15 大学との再生医療共同研究。

【主たる学術領域・関連学会】

高分子学会、日本 DDS 学会、日本バイオマテリアル学会、日本人工臓器学会、日本再生医療学会、近畿化学協会バイオ部会、日本炎症・再生医学会、日本創傷治療学会、Controlled Release Society, Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society など

【分野における研究活動の自己評価】

ゼラチンや多糖からなるハイドロゲル材料を創製し、生理活性をもつタンパク質、核酸、核酸医薬などの徐放化できる技術を開発した。血管、皮膚、神経、歯周組織などの再生治療の有用性を証明し、ヒト臨床研究を進めた。ゼラチン DDS 技術に関する特許を共同研究企業と出願し、再生治療事業化の途を開いた。この技術は治療効果の確認や薬物の細胞内導入にも利用でき、その一部は商品化されている。細胞外マトリクス構造に近い 3D 不織布を企業と共同開発を行い、その生物医学研究、創薬研究への有用性を確認、特許出願、商品化を行った。また、細胞機能の経時変化を可視化する技術を確立した。共同研究企業と特許を出願し、その事業化を進めている。

【特記、備考等】

生体材料学は基礎に加え、異研究分野や企業との連携による応用、実用化が必要不可欠な分野であり、積極的に共同研究を進めている。また、分野技術を広く知ってもらうために、産官学シンポジウム、公開講座、勉強会などを頻繁に開催している。

【主な研究課題】

生体分解性ハイドロゲルを用いた薬物徐放と 3D 細胞足場の研究開発

【背景・目的】

再生医療とは、細胞の増殖・分化能を高め、体本来のもつ自然治癒力を介した医療である。再生医療には、再生治療と再生研究（細胞研究、創薬研究）がある。これを実現させるために、細胞の増殖分化を促す足場材料、タンパク質や遺伝子の細胞増殖分化促進作用を高めるための生体材料の研究開発を行っている。

【成果の概要】

細胞の遺伝子発現レベルを高めたり、その期間を延長したり、あるいは細胞の増殖、分化のための細胞環境に近い材料をデザインし、その有効性を体外と体内で確認した。ナノハイドロゲル材料を用いて薬物の安定化およびターゲティングなどが可能となり、核酸の細胞内導入による細胞の生物機能の改変および可視化を可能とした。細胞外マトリクスに近い構造をもつ 3D 細胞足場、あるいはそれに生理活性物質を組み込んだ足場と幹細胞との相互作用、増殖や分化を生化学的、分子生物学的に評価した。

- 1) Murata, Y, Jo, J, Tabata, Y, (2018) Preparation of cationized gelatin nanospheres incorporating molecular beacon to visualize cell apoptosis. Sci. Rep. 8, 14839. DOI:10.1038/s41598-018-33231-2
- 2) Saotome, T, Shimada, N, Matsuno, K, Nakamura, K, Tabata, Y, (2021) Gelatin hydrogel nonwoven fabrics of a cell culture scaffold to formulate 3-dimensional cell constructs. Regenerative Therapy. 18, 418-429.

【学術的意義】

細胞周辺環境に作り与える 3D 細胞足場、薬物の DDS 技術は、細胞能力による組織再生修復のメカニズム解明に貢献し、組織工学分野の今後の発展に大きく貢献する。細胞機能の時間変化を可視化、炎症反応制御による再生修復は、再生医療分野に必要不可欠な技術・方法論であり、新しい研究分野を拓き、その学術的意義は大きい。

【今後の計画】

細胞周辺環境を作り与える組織工学は、細胞能力を活用した再生医療の具現化には必要不可欠な技術・方法論を与える。これまでの研究成果を基に、より多くの異研究分野や企業との共同研究を通して、生体材料学の有用性と普遍性をアピールして行く。

【課題の自己評価】

本研究成果は、AMED、JST、および科研費などの大型予算、あるいは企業との共同研究費において進められた。細胞能力を高めるための細胞周辺環境を作り与える 3D 細胞足場、細胞増殖因子などの生理活性物質の DDS など、かつ細胞の機能の可視化技術などは再生治療と再生研究の進歩に大きく貢献できたと考える。得られた研究成果は学術論文のみではなく、共同研究企業との特許共同出願を行い、一部は商品化され、他の研究分野の方々に利用されている。これらの一連の流れを通して生体材料学の貢献の広さと未開拓分野を認識することができ、今後の研究方向に大きな指針となった。

再生組織構築研究部門

B-5: 再生免疫学分野

【構成員】教授：河本宏、准教授：宮崎正輝、助教：増田喬子、特定助教：上堀淳二・永野誠治・小林由佳

【分野題目】血液細胞の分化過程の解明および再生 T 細胞による細胞療法の開発

【研究概要】

血液細胞分化決定の分子メカニズムを解明し、さらに食細胞の進化的起源を解明した。高品質な再生 T 細胞の分化誘導法の開発に成功し特許出願と論文発表を行った。また、臨床応用に向けての準備を京大病院と共同で開始した。

【研究目標・課題】

造血幹細胞から系列特異的前駆細胞に至る分化能限定過程の分子機構の解明

自己免疫疾患の抗原特異的治療法の開発

T 細胞分化を支持する胸腺環境の分子機構の解明

iPS 細胞から再生した T 細胞を用いたがん及びウイルス感染症の治療法の開発

再生医療における移植細胞/組織に対する拒絶反応の解明とその制御法の開発

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

血液前駆細胞系列決定過程の分子機構の解明、ヒト iPS 細胞から T 細胞を再生させる方法の開発（平成 29 年出願）、NK 細胞による拒絶反応の制御法の開発（平成 30 年出願）。拠点事業では滋賀医大と共同で TCR 遺伝子座に安全にノックインする方法を開発（平成 31 年出願）。

【主たる学術領域・関連学会】

免疫学、血液学、再生医学：日本免疫学会（理事）、京都 T 細胞カンファレンス（代表）、日本血液学会、日本再生医療学会、日本がん免疫学会、日本臨床免疫学会、日本胸腺研究会（理事）、日本血液疾患免疫療法学会、日本バイオセラピー学会（理事）、日本組織適合性学会

【分野における研究活動の自己評価】

血液細胞の分化過程の研究はよく進んだが、期間内に論文発表には至らなかった（令和 3 年 12 月現在投稿中）。一方で、iPS 細胞由来 T 細胞を用いたがんの開発研究は大きく進展し、治験に向けて京大病院と共同開発を始めた（令和 2 年）。また藤田医大との共同で新型コロナ治療用 T 細胞製剤の開発を開始した（令和 2 年）。次世代型の細胞療法開発に向けて AMED から大型研究費を獲得、ファイザー及び大塚製薬からの共同研究費も獲得した。細胞療法分野において世界的に見て先導しており、高く評価できると考えている。

【特記、備考等】

教育活動としては複数の大学で 4 コマ～10 コマの免疫学講義を担当し、免疫学に関する教育講演も数多く行った。また NHK 高校講座生物基礎免疫 4 回分の解説を担当、一般向けの講演も多数行うなど、幅広く教育や啓蒙活動を行った。

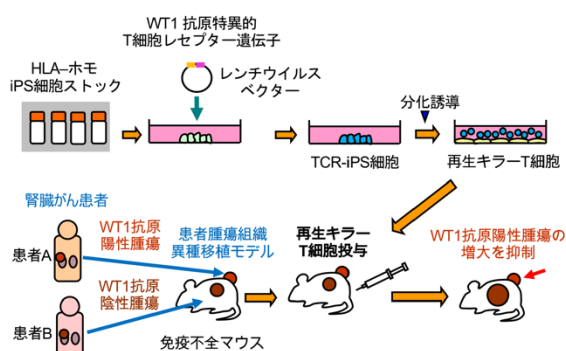
【主な研究課題】 血液細胞の分化過程の解明および再生 T 細胞による細胞療法の開発

【背景・目的】

血液細胞分化研究においては、個体発生と系統発生を結びつける統合的な理解がなされていなかった。細胞療法の領域では自家 T 細胞を用いた戦略はいくつかのがん種に効果が示され標準療法となったケースがあるが、時間がかかる、コストがかかる、品質が不安定などの問題があった。従って他家 T 細胞をベースにした即納型汎用性 T 細胞製剤の開発が望まれていた。

【成果の概要】

血液細胞分化過程に関しては系列決定状態維持の分子機構を解明し、さらにミエロイド細胞の進化的起源を解明した。細胞療法に関しては高品質な再生キラー T 細胞の分化誘導法の開発に成功した。さらに外来 TCR 遺伝子を iPS 細胞に導入する方法を開発し、臨床応用に向けての準備を京大病院と共同で開始した。



iPS 細胞由来再生キラー T 細胞を用いた細胞療法の有効性を患者由来腎臓がんゼノグラフトモデルで示した

- 1) Kashima S, Maeda T, Masuda K, Nagano S, Inoue T, Takeda M, Kono Y, Kobayashi T, Saito S, Higuchi T, Ichise H, Kobayashi Y, Iwaisako K, Terada K, Agata Y, Numakura K, Saito M, Narita S, Yasukawa M, Ogawa O, Habuchi T, Kawamoto H. Cytotoxic T Lymphocytes Regenerated from iPS Cells Have Therapeutic Efficacy in a Patient-Derived Xenograft Solid Tumor Model. *iScience*. 23(4):100998. 2020 doi:10.1016/j.isci.2020.100998.

【学術的意義】

血液細胞分化過程研究においては、系統発生学研究を含めた新しい研究手法を開発した意義は大きい。再生 T 細胞による細胞療法に関しては新規の培養法を開発し、その方法の論文化、特許化を行い、それに基づいた臨床試験を進めてきた。

【今後の計画】

細胞分化研究においては進化論的な視点による包括的な理解をもたらす研究を進める。細胞療法の開発については今後数年以内に臨床試験を行う。

【課題の自己評価】

iPS 細胞由来 T 細胞を用いたがんの開発研究は大きく進展し、急性骨髄性白血病の医師主導治験に向けて京大病院と共同で開発を始めた。また藤田医科大学との共同で新型コロナウイルス治療用 T 細胞製剤の開発も開始した。外部資金も数多く獲得した。細胞療法の開発状況は同分野において世界を先導する役割を果たしており、高く評価できると考えている。

B-6: 組織再生応用分野

【構成員】教授：戸口田淳也、助教：金永輝

【分野題目】間葉系組織の生体組織・細胞に間葉系組織の発生、分化、再生及び癌化の過程を分子レベルで理解することによる、骨格系疾患の病態解明と治療法開発

【研究概要】

難治性骨軟骨疾患の新規治療法の開発をめざして該当疾患の患者より iPS 細胞を樹立し、病態再現から分子病態の解明、そしてその成果に基づいた創薬を目指した研究を進めた。そのための iPS 細胞からの骨及び軟骨組織の発生過程に基づいた分化誘導法を樹立し、表現型の評価法を開発した。更に治療候補薬の同定に至った疾患に関して、企業との連携のもと多施設共同医師主導治験の体制を構築し、その実施を進めた。

【研究目標・課題】

- 1) 間葉系幹細胞に関する研究
- 2) iPS 細胞を用いた骨・軟骨分化機構の解析
- 3) 疾患特異的 iPS 細胞を用いた病態解明と創薬
- 4) 肉腫起源細胞の探索からの発症機構の解明

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

遺伝性疾患患者からの iPS 細胞樹立、京大附属病院を含む多施設共同医師主導治験の実施、理化学研究所との体節形成機構及びその破綻による脊椎形成異常症に関する共同研究、岡山大学との骨軟骨前駆細胞の発生過程に関する共同研究

【主たる学術領域・関連学会】

幹細胞生物学、iPS 細胞、創薬、発がん、整形外科学、国際幹細胞学会、日本再生医療学会、日本炎症・再生医学会、日本骨代謝学会、日本軟骨代謝学会、日本整形外科学会、国際結合組織腫瘍学会、日本サルコーマ治療研究学会、日本癌学会

【分野における研究活動の自己評価】

遺伝性疾患に罹患した患者由来 iPS 細胞を用いた病態解明から創薬に取り組み、難治性骨格系疾患を対象とした AMED 事業の研究班を代表者として運営し、複数の疾患において病態再現に成功した。その一つである進行性骨化性線維異形成症においては、病態解明につながる分子機構を明かにし、iPS 細胞を活用した成果に基づいた世界初の医師主導治験を実施した。間葉系組織の腫瘍生物学の領域では、第 4 回日本サルコーマ治療研究学会会長を務め、肉腫の診断治療の重要性の啓蒙に努めた。

【特記、備考等】

上記の研究活動が評価され、平成 30 年度文部科学大臣表彰研究部門及び平成 31 年度日本整形外科学会学術賞を受賞した。

組織再生応用分野

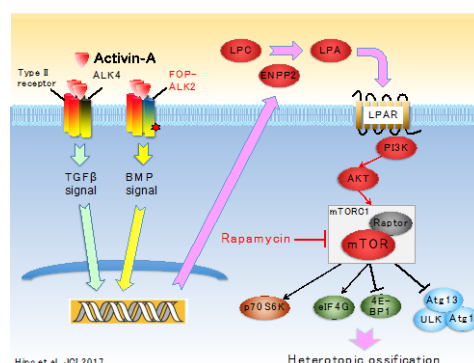
【主な研究課題】間葉系組織の分化、変性、再生、及び癌化の分子機構の解明

【背景・目的】

間葉系組織、特に骨及び軟骨組織は、骨格の基盤を形成する組織であり、その破綻は大きな障害をもたらす。中でも遺伝性疾患に関しては、大部分の疾患で有効な治療法が確立されていない。本分野では患者由来 iPS 細胞を活用して病態を解明し、創薬につながる知見の獲得に取り組んでいる。

【成果の概要】

進行性骨化性線維異形成症(FOP)において、発症の鍵となる分子としてアクチビンを同定し、変異 BMP 受容体を介して BMP シグナルを伝達し、mTOR 複合体を活性化することを明かにした。そしてその阻害剤であるラパマイシンが異所性骨化を抑制することを示し、その結果に基づいて同剤を用いた医師主導治験の実施に至った。骨形成不全症においては、独自に開発した iPS 細胞から骨細胞を短期間で分化誘導する系を応用し、病態の再現し、創薬に向けたアッセイ系の構築に成功した。



- 1) Hino K, Horigome K, Nishio M, Komura S, Nagata S, Zhao C, Jin Y, Kawakami K, Yamada Y, Ohta A, Toguchida J, Ikeya M. (2017) Enhanced mTOR signaling triggered by Activin-A in chondrogenesis of fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP). J Clin Invest. 127(9):3339-3352. doi: 10.1172/JCI93521.
- 2) Kawai S, Yoshitomi H, Sunaga J, Alev C, Nagata S, Nishio M, Hada M, Koyama Y, Uemura M, Sekiguchi K, Maekawa H, Ikeya M, Tamaki S, Jin Y, Harada Y, Fukiage K, Adachi T, Matsuda S, Toguchida J. (2019) In vitro bone-like nodules generated from patient-derived iPSCs recapitulate pathological bone phenotypes. Nat Biomed Eng. 3(7):558-570. doi: 10.1038/s41551-019-0410-7.

【学術的意義】

FOP における成果は、受容体の変異によるシグナル伝達機構の改変の発見という新規性の高い成果である。同定された治療薬を用いた治験は iPS 細胞を活用した成果に基づいた初の医師主導治験であり、難病に対する治療法の開発に結びつくとともに、iPS 細胞の医療応用の発展に貢献するものである。

【今後の計画】

今後は、更に単一遺伝子疾患の解析を展開すると共に、遺伝子編集技術を用いた疾患関連遺伝子多型の改変や、同一 iPS 細胞から誘導した複数の組織の解析などによる、多因子疾患への応用を計画している。

【課題の自己評価】

FOP での医師主導治験の実施に続いて、いくつかの疾患では創薬への手がかりが得られている。更に多因子疾患に対する取り組みは、common disease の病態の理解から新しい観点に立った治療法の開発への展開が期待され、今後は臨床医との共同研究により、重点的に取り組むべき課題であると考えている。

再生組織構築研究部門

B-7: 発生エピゲノム分野（多田グループ）

【構成員】 准教授：多田 高

【分野題目】 幹細胞の初期化とアンチエイジングの遺伝子ネットワークを解明

【研究概要】

組織再生に関わる分子機構の解明を目指し、体細胞が iPS 細胞に初期化される仕組みに迫った。また、再生はアンチエイジングの鍵イベントと捉え、関わるアディポネクチン遺伝子の分子特性の解明を進めた。

【研究目標・課題】

- 1) 体細胞が発生を遡り iPS 細胞に変化する過程における分子動態を解明する
- 2) アンチエイジングにおけるアディポネクチンの働きを解明する

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

ゲノム編集技術を応用し、初期化鍵因子である *Oct4* 遺伝子の制御下に可視化遺伝子 *GFP* を挿入し、初期化過程における *Oct4* の活性化と関連遺伝子の空間的・時間的発現制御を解明した。また、アディポネクチンの核局在を発見し、その機能と制御機構を解明した。

【主たる学術領域・関連学会】

日本分子生物学会、日本発生生物学会、日本遺伝学会

【分野における研究活動の自己評価】

生細胞における *Oct4* 遺伝子活性の GFP による可視化は、初期化における *Oct4* の発現と他の初期化関連遺伝子の連続的発現、また遺伝子発現の細胞分裂との関連などの重要課題を解明した。アディポネクチン遺伝子の核局在の発見およびその発現制御機構の解明により、幹細胞と抗老化因子アディポネクチンの新たな関係を示した意義は大きい。

【特記、備考等】

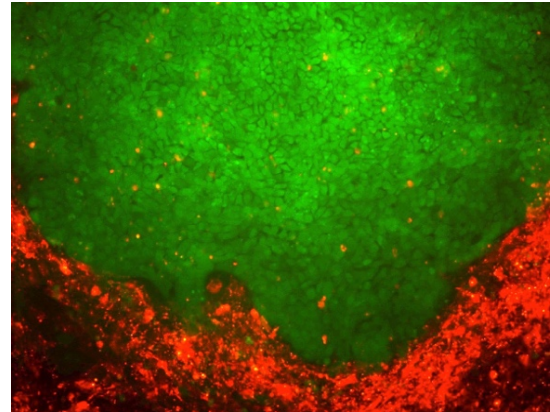
ゲノム編集技術の応用による、初期化過程の生細胞における *Oct4* 遺伝子活性可視化の成功は、複数の招待講演や朝日、日経を含む 21 社の新聞掲載により注目された。

【主な研究課題】初期化による若返り、および再生によるアンチエイジングの分子機構の解明

【背景・目的】体細胞の iPS 細胞への初期化分子機構は、iPS 細胞の臨床応用を進める上でも課題である。また、個体の老化抑制は、曖昧な生活習慣や食生活から遺伝子に置き換えられ理解が進みつつある。この重要課題の解明に取り組む。

【成果の概要】

ゲノム編集技術を応用した、生きた細胞での初期化鍵因子 Oct4 の可視化は、初期化遺伝子発現と細胞分裂との関連を明らかにし、初期化分子ネットワーク構築の解明を推進する。アンチエイジング因子、アディポネクチンが幹細胞では体細胞と異なり、核内に局在し、細胞の生存を制御する事を明らかにした。幹細胞におけるアンチエイジング因子の機能の解明は、老化予防への貢献が期待される。



初期化生細胞の内在性 Oct4 が GFP（緑）で可視化

- 1) Cho, J., Teshigawara, R., Kameda, M., Yamaguchi, S. and Tada, T. (2019) Nucleus-localized adiponectin is survival gatekeeper through miR-214-mediated AIFM2 regulation. *Genes to Cells*, 24, 126-138. DOI: 10.1111/gtc.12658.
- 2) Teshigawara, R., Hirano, K., Nagata, S., Ainscough, J. and Tada, T. (2016) OCT4 activity during conversion of human intermediately reprogrammed stem cells to iPSCs through mesenchymal-epithelial transition. *Development*, 143, 15-23. DOI: 10.1242/dev.130344.

【学術的意義】

生きた細胞での、初期化鍵因子 Oct4 の可視化は、連続的に変化する初期化ネットワークのランドマークとして、また遺伝子発現順序を解明するツールとして、分子機構の解明を大きく推進する。アンチエイジング因子、アディポネクチンの体細胞と幹細胞での分子動態や制御・機能の違いは、老化予防の新たな機構を明らかにした。

【今後の計画】

新たに構築した初期化可視化システムを用いて、初期化の分子機構の全容を明らかにする。

また、老化因子のモニタリングや機能低下を補い、老化を予防し QOL の向上を目指す。

【課題の自己評価】

ゲノム編集技術の応用による、初期化過程の生細胞における Oct4 遺伝子活性可視化の成功は、複数の招待講演や朝日、日経を含む 21 社の新聞掲載により注目を集めた。老化の予防が、夢物語から現実に手が届きそうな感触が得られている。今後、研究が進めば、病気の治療から予防へと新たな流れが生まれる事が期待される。

B-8: 発生エピゲノム分野（中馬グループ）

【構成員】 准教授：中馬新一郎

【分野題目】 発生サイクルを通じた遺伝情報の継承・再編の理解と制御

【研究概要】

当研究グループでは、哺乳類の多能性幹細胞や生殖細胞の発生サイクルにおける遺伝情報の継承と再編の制御メカニズムの解明、またその理解に基づく細胞および個体の遺伝情報の恒常性の再構成技術の開発を目指して研究を進めている。特に胚性多能性幹細胞及び生殖幹細胞の発生段階に応じた遺伝的安定性の特徴的な制御機構について、マルチオミクス解析と機能遺伝子スクリーニングに焦点を置いて、新規因子の機能解析と遺伝的安定性の再構成研究を行っている。また、ヒト多能性幹細胞リソースの品質管理及び新規技術開発を進めている。

【研究目標・課題】

- 1) 多能性幹細胞及び生殖幹細胞に特徴的な遺伝的安定性の制御機構の解明
- 2) 細胞・個体の遺伝的安定性の制御技術の探索
- 3) 幹細胞リソースの品質管理及び新規技術の開発
- 4) 発生段階に応じた細胞周期の制御メカニズム解明と再構成技術の探索

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

次世代シーケンサーを用いた全ゲノムシーケンセス、RNA シーケンセス、クロマチン免疫沈降シーケンセス、染色体解析システムを用いた染色体解析、ハイコンテントスクリーニングシステムを用いたライブイメージング、マイクロ流路デバイスを用いた細胞・初期胚の選別、university of Delaware との共同研究、理化学研究所との共同研究、大阪大学との共同研究、九州大学との共同研究、熊本大学との共同研究、信州大学との共同研究など

【主たる学術領域・関連学会】

発生生物学、遺伝学、再生医学、発生生物学会、遺伝学会、分子生物学会、再生医療学会

【分野における研究活動の自己評価】

当分野では、基礎、応用両面の観点から、多能性幹細胞や生殖幹細胞の遺伝的安定性の制御メカニズム解明と品質管理技術の開発を行っている。基礎研究については、全ゲノムシーケンセスによる多能性幹細胞と生殖幹細胞の遺伝的安定性の相違の解明やゲノム・染色体損傷の新規計測技術の開発、多能性幹細胞の染色体安定性を人為的に向上する技術シーズの同定などの成果を得た。また、ヒト ES 細胞研究センター兼任により、臨床用ヒト ES 細胞株の全ゲノム解析や遺伝子発現解析等を行い、細胞株間の相違や培養に伴う特性の変化など品質管理データの取得、解析、データベース構築を行った。また企業との共同研究によって、マイクロ流路デバイスを用いた初期胚やオルガノイドのライブソーティングによる自動解析・選別技術を開発した。これら研究活動においては着実な成果が得られており、論文出版や特許取得を進める。

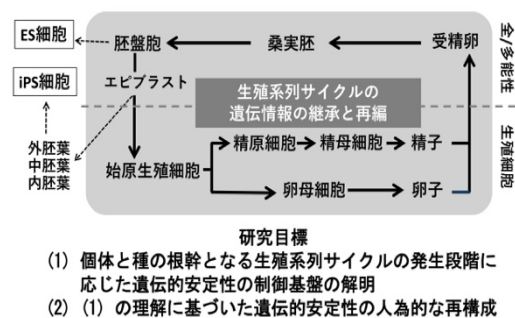
【主な研究課題】 発生サイクルを通じた遺伝情報の継承・再編の理解と制御

【背景・目的】

生物の遺伝情報は常に損傷と修復を繰り返して変化する。多細胞生物では受精を起点に個々の細胞の遺伝情報は変異を蓄積して機能異常や癌、老化等の原因になるものと考えられる。しかし各細胞系譜の遺伝的安定性は均一ではなく、幹細胞システムは分化細胞と比べて遺伝情報を安定に維持する事で生体恒常性を保ち、生殖系列サイクルは特に遺伝情報の恒常性が高いものと考えられる。我々は、哺乳類の初期発生過程や初期胚由来の多能性幹細胞および生殖系列サイクルの遺伝的安定性の発生制御メカニズムの解明とその理解に基づいた再構成技術の開発を目標に研究を進めている。

【成果の概要】

生殖細胞の遺伝情報をレトロトランスポゾン活性から保護するマウス *Tdrd/tudor* 遺伝子ファミリー同定と解析、多能性幹細胞や生殖細胞で高発現を示す DNA 組換え抑制遺伝子ノックアウトマウス作成と DNA 複製の安定性維持に働くメカニズム解析、マウス多能性幹細胞株及び生殖幹細胞株の全ゲノムシーケンシングによる mutation rate や mutation spectrum の計測など、生殖細胞や多能性幹細胞の遺伝的安定性制御の研究を行った。これら基礎研究と並行して、ヒト ES 細胞株の全ゲノム配列決定や RNA 発現解析等を行った。



- 1) Chuma S, Kanatsu-Shinohara M, Katanaya A, Hosokawa M, Shinohara T. (2021) Genomic stability of mouse spermatogonial stem cells in vitro. Sci Rep. in press.
- 2) Ishiguro KI, Matsuura K, Tani N, Takeda N, Usuki S, Yamane M, Sugimoto M, Fujimura S, Hosokawa M, Chuma S, Ko MSH, Araki K, Niwa H. (2020) MEIOSIN Directs the Switch from Mitosis to Meiosis in Mammalian Germ Cells. Dev Cell. 52, 429-445.e10. doi: 10.1016/j.devcel.2020.01.010.

【学術的意義】

初期発生過程および生殖細胞の発生サイクルの遺伝情報は個体および種の成立の根幹である。これら発生サイクルにおける遺伝的安定性に関わる新規遺伝子群の同定と機能解析は、発生生物学上の重要課題であると共に、ゲノム進化や生物多様性、また医科学、バイオテクノロジーなどにおいても広く重要である。

【今後の計画】

マウス ES 細胞をモデルとして染色体安定性を人為的に制御する方法として、低分子化合物を用いた細胞周期活性、チェックポイント活性、代謝活性等の制御スクリーニングを行い、多分化能を維持しつつ染色体分配の安定性を人為的に向上可能な proof of concept (POC)を得た。これら結果に基づいてより詳細な作用機序の解明を行い、幹細胞リソースの染色体安定性を人為制御する為の技術開発を進める。

【課題の自己評価】

マウスをモデルとした初期発生過程、多能性幹細胞や生殖細胞における遺伝的安定性の基礎生物学的な研究、遺伝的安定性を人為的に向上する技術シーズ同定に加えて、ヒト ES 細胞株の全ゲノム配列決定による変異検出や新規解析技術の導入など、基礎、応用両面で成果を得ている。

B-9: 統合生体プロセス分野

【構成員】教授：近藤玄、准教授：廣田圭司、助教（兼務）：渡邊仁美

【分野題目】受精と炎症疾患の生理学的・病理学的な分子機構の解明

【研究概要】

不妊症、免疫関連疾患の新規治療法開発を目指し、受精と自己免疫寛容維持の新規メカニズムの解明に焦点をあてた研究を展開している。生体内で役割が分かっていない分子の新しい機能・制御機構を明らかにするため、遺伝子改変マウスを新規に作製し細胞特異的な分子メカニズムの同定に取り組んでいる。マウスで得られた研究成果を将来的にはヒト疾患へ応用することを目指している。

【研究目標・課題】

- 1) マウス精子受精能に重要な新規 GPI アンカー型タンパク質の同定
- 2) マウス精子受精能とラフト局在変化の分子機構の解明
- 3) 炎症性 T ヘルパー細胞による炎症制御機構の解明
- 4) 炎症疾患モデルマウスを用いた自己免疫寛容維持機構の解明

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

CRISPR/Cas9 システムを活用した胚操作と遺伝子改変マウスの作製、網羅的プロテオミクスの手法を用いた精子機能分子の解析、フローサイトメトリー装置を用いた免疫学的な解析と細胞ソーティング、SPF 動物実験施設を利用した実験

【主たる学術領域・関連学会】

実験動物、分子生物、実験病理、免疫、炎症疾患、実験動物学会、日本免疫学会、国際サイトカイン学会

【分野における研究活動の自己評価】

マウス系統間の遺伝的背景が精子受精能獲得過程の分子挙動と受精能に影響することを明らかにした。精子受精能とラフト局在変化との間に正の相関性を見出した。網羅的プロテオミクスの手法を用いた精子受精能に重要な GPI アンカー型タンパク質を同定した。腸内細菌叢が自己反応性 T 細胞の活性化と疾患惹起能の獲得に影響を及ぼすことを解明した。ゲノムオーガナイザー分子である Satb1 が制御性 T 細胞の胸腺分化および炎症性 T ヘルパー細胞の炎症惹起能に重要な分子であることを同定した。炎症性 T ヘルパー細胞を起点とした組織炎症の制御機構について、GM-CSF を産生する炎症関連細胞間の相互作用の重要性を解明した。

B-10: 生体再建学分野

【構成員】教授（客員）：坂口志文、助教：川上竜司

【分野題目】免疫恒常性の維持機構およびその異常による免疫疾患の原因・発症機構の解明

【研究概要】

免疫自己寛容、免疫恒常性の維持に不可欠のリンパ球である内在性制御性 T 細胞を主要な研究対象とし、制御性 T 細胞の発生分化、末梢組織における機能、その維持機構について基礎研究を進めた。さらに、制御性 T 細胞を標的とした応用研究を展開し、自己免疫、アレルギー、感染症、移植免疫、ガン免疫に対する新しい免疫制御法の確立を目指して研究を進めた。

【研究目標・課題】

- 1) 胸腺における制御性 T 細胞の発生・分化の分子機構の解明
- 2) 制御性 T 細胞の機能維持機構、特にエピジェネティック制御機構の解明
- 3) 抗原特異的 T 細胞の制御性 T 細胞への機能転換と転換制御性 T 細胞を用いた疾患制御

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

DNA シークエンス装置を用いた制御性 T 細胞のエピゲノム研究、フローサイトメトリ装置を用いた制御性 T 細胞の細胞免疫学的研究、動物施設を活用した制御性 T 細胞の免疫疾患治療・予防実験

【主たる学術領域・関連学会】

免疫学、アレルギー学、分子生物学、ゲノム科学、日本免疫学会、日本分子生物学学会、日本がん学会

【分野における研究活動の自己評価】

制御性 T 細胞の発生・分化機構、特に特異的に働く転写因子、エピゲノム変化に関して理解を進めることができた。また、抗原特異的 T 細胞の抗原特異的制御性 T 細胞への機能転換を可能とする分子機構を解明し、これを標的とする小分子を開発した。この薬剤は生体内で、アレルギー、自己免疫疾患を媒介する T 細胞を制御性 T 細胞に転換でき疾患の治療が可能であることを動物実験で示した。さらに、生体外で抗原特異的 T 細胞を制御性 T 細胞に転換する技術を開発し、外部資金の獲得によりヒトの免疫疾患の治療を目指す研究を進めた。

【特記、備考等】

特になし。

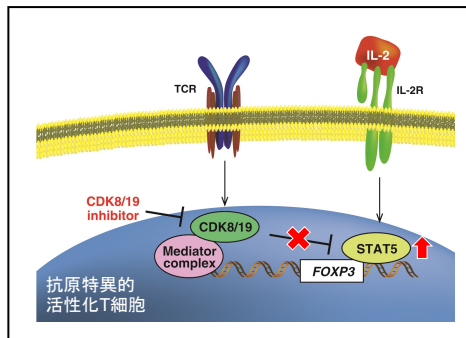
生体再建学分野

【主な研究課題】免疫恒常性の維持機構およびその異常による免疫疾患の原因・発症機構の解明

【背景・目的】胸腺における制御性 T 細胞(Regulatory T cells, Treg)の発生・分化、機能維持の分子機構を解明し、その成果に基づき抗原特異的 T 細胞の Treg への機能転換と転換 Treg を用いた免疫疾患抑制法を開発する。

【成果の概要】

Treg 機能には、転写因子 Foxp3 を中心とする転写因子ネットワークと Treg 特異的エピゲノム変化が重要である。本研究では、抗原刺激で活性化下 T 細胞で CDK8/19 のノックダウンあるいはキナーゼドメイン不活性化 CDK8 を発現させると STAT5 の活性化を介して Foxp3 が誘導されることを示した。次いで、化学物質ライブラリーから CDK8/19 の阻害能を有する小分子を取得し、これを用いて試験管内、生体で、T 細胞に Foxp3 を誘導可能であることを示した。さらに、



試験管内 Treg 誘導時に、CD28 を介する副刺激がなければ Treg 特異的 DNA 脱メチル化が成立することを見出し、この条件下で作製した Treg は機能的に安定であり、この誘導性 Treg の投与により、アレルギー反応などに対する治療効果を動物モデルで確認した。

- 1) Kitagawa Y, Ohkura N, Kidani Y, Vandenbon A, Hirota K, Kawakami R, Yasuda K, Motooka D, Nakamura S, Kondo M, Taniuchi I, Kohwi-Shigematsu T, Sakaguchi S. Guidance of regulatory T cell development by Satb1-dependent super-enhancer establishment. *Nat. Immunol.* 18:173-183, 2017.
- 2) Akamatsu M, Mikami N, Ohkura N, Kawakami R, Kitagawa Y, Sugimoto A, Hirota K, Nakamura N, Ujihara S, Kurosaki T, Hamaguchi H, Harada H, Xia G, Morita Y, Aramori I, Narumiya S, Sakaguchi S. Conversion of antigen-specific effector/memory T cells into Foxp3-expressing Treg cells by inhibition of CDK8/19. *Sci. Immunol.* 4, doi: 10.1126/sciimmunol.aaw2707, 2019.

【学術的意義】

本研究では、抗原特異的 T 細胞を機能的に Treg に転換することで新しい免疫抑制法を開発した。抗原特異的免疫抑制は現代免疫学の重要課題の一つであり、本成果はこの課題の解決につながる。

【今後の計画】

本成果は、新しい抗原特異的免疫抑制法であり、今後、自己免疫病、アレルギーなど、ヒトの様々な免疫疾患の治療・予防に向けて研究を進める。

【課題の自己評価】

本研究課題は、日本学術振興会特別推進研究、日本医療研究開発機構の革新的先端研究開発支援事業インキュベートタイプ(LEAP)の成果である。今後、ヒトへの応用を目指すことで、それに伴う課題を解決し、積極的に臨床応用に繋げていく。

C-1: バイオメカニクス分野

【構成員】教授：安達泰治、講師：オケヨ・ケネディ、助教：亀尾佳貴、牧功一郎

【分野題目】生体組織・細胞に見られる多階層システム制御動態の力学的解明

【研究概要】

生体組織の発生過程における幹細胞分化、多細胞組織・器官の形態形成、リモデリングによる機能適応などにみられる階層的な生命システム動態の理解を目指し、力学の観点に基づく学際的研究を進めた。特に、細胞・分子レベルにおける要素過程とそれらが形成するシステムとしての適応的ダイナミクスを理解するため、力学環境への適応性と構造・機能の階層性に着目し、実験と数理モデリング・計算科学を統合的に組み合わせたバイオメカニクス・メカノバイオロジー研究を進めた。

【研究目標・課題】

- 1) 力学環境に応じたりモデリングによる骨の構造と機能の適応メカニズムの解明
- 2) 連続体力学モデリングに基づく脳の形態形成過程の再現と予測
- 3) 骨細胞の力学刺激感知における力学－生化学連成メカニズムの解明
- 4) 接着場との相互作用により誘導される多細胞組織形成のメカニズム解明
- 5) クロマチンのナノ力学動態を介した遺伝子転写メカニズムの解明

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

力学的機能を適応的に変化させる骨の連続体力学モデルを構築し、多階層かつ大規模な骨リモデリングの計算科学研究を実施した。共同研究拠点活動として、骨代謝・リモデリングの *in vivo* 実験研究者との共同研究（東京医科歯科大、岡山大、東京大）を進め、骨リモデリングによる機能的適応のバイオメカニクス研究を展開した。

【主たる学術領域・関連学会】

バイオメカニクス、メカノバイオロジー、数理計算科学、ナノマイクロシステム科学、組織工学、生体医工学。日本機械学会、日本骨代謝学会、日本生物物理学会、日本臨床バイオメカニクス学会、欧州バイオメカニクス学会、世界バイオメカニクス会議。

【分野における研究活動の自己評価】

力学環境の変化に対して適応的にその構造・機能をリモデリングする骨の適応現象に対して、*in vitro/in silico* 実験を融合した独自の研究を展開した。メカノセンサー細胞である骨細胞の力学刺激応答を *in vitro* 実験により明らかにし、多階層にわたる複雑な骨のリモデリングを *in silico* で予測するコンピュータシミュレーション実験基盤を構築した。また、独自の細胞接着制御手法に基づき、分化・自己組織化・配向性等、接着場との相互作用により誘導される多細胞システムの機能発現メカノバイオロジー機構を解明した。さらに、細胞核内動態の新たなバイオメカニクス研究として、細胞核内の1本鎖DNAを可視化する新規技術を確立し、細胞核の変形にともなう1本鎖DNAの核内分布変化を明らかにすることが可能となった。

【特記、備考等】

海外からの大学院生、研究者、教員等を積極的に受け入れ、国際共同研究を進めた。

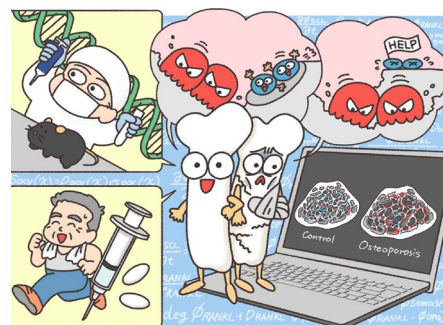
【主な研究課題】 骨代謝・リモデリングの数理・*in silico* 実験基盤の構築

【背景・目的】

骨は、破骨細胞による骨吸収と骨芽細胞による骨形成を繰り返し、リモデリングすることで力学環境に対して機能的に適応する。また、骨の力センサー細胞として、骨基質内の骨細胞が知られる。これらの細胞が形成するリモデリング制御システムの理解には、多階層数理バイオメカニクスを基礎とした *in silico* 実験基盤の構築が望まれる。

【成果の概要】

まず、構築した *in silico* 実験基盤を用いて、海綿骨の骨梁構造が力学環境に対して適応的に変化するリモデリング現象、および、骨粗鬆症や大理石骨病等の骨疾患の病態を計算機内で再現することに成功した。また、同基盤により、特定のシグナル分子の発現を任意に変動させることで骨代謝への影響を調べる *in silico* 実験が可能となった。さらに、臨床応用として *in silico* 投薬実験を行い、骨疾患に対する様々な薬物治療効果の予測に有用であることを示した。



骨リモデリングの *in silico* 実験
基盤構築と骨疾患治療への応用

- 1) Kameo, Y., Miya, Y., Hayashi, M., Nakashima, T., Adachi, T. (2020) In silico experiments of bone remodelling explores metabolic diseases and their drug treatment. Science Advances. 6-10, #eaax0938. DOI: 10.1126/sciadv.aax0938.
- 2) Yokoyama, Y., Kameo, Y., Kamioka, H., Adachi, T. (2021) High-resolution image-based simulation reveals membrane strain concentration on osteocyte processes caused by tethering elements. Biomechanics and Modeling in Mechanobiology, 20-6, 2353-2360. DOI: 10.1007/s10237-021-01511-y

【学術的意義】

in silico 実験は、*in vivo* 実験や *in vitro* 実験と並ぶ新たな研究手法として、今後の骨代謝研究を発展させると同時に、網羅的な薬剤評価や効果的な投薬方針やリハビリ計画の策定などを促す臨床支援ツールとして、将来の医療への多大な貢献が期待される。

【今後の計画】

骨代謝は、内分泌系のみならず、免疫系や神経系などの複雑かつ巨大なシステムによって制御されているため、関連する分子や細胞に関する膨大なデータを活用し、分子、細胞、組織、器官のふるまいを統合的に捉えるシステムへと拡張する。

【課題の自己評価】

AMED-CREST「メカノバイオロジー機構の解明による革新的医療機器および医療技術の創出」による研究であり、基礎生物学、計算科学、臨床医歯学（整形外科、矯正歯科）を融合して得られた成果である。骨代謝研究の発展を推進すると同時に骨疾患治療における薬剤評価やリハビリ計画等、臨床支援ツールとしての活用が期待される。

生命システム研究部門

C-2: 発生システム制御分野

【構成員】教授：永樂元次、准教授：大串雅俊、助教：瀬戸裕介

【分野題目】

個体発生を成立させる多細胞システムの動作原理を明らかにし、*in vitro* での幹細胞制御による臓器創出技術のための方法論確立を目指す。

【研究概要】

器官形成過程の分化パターンおよび形態形成を制御する細胞・分子機構の解明を目指すと同時に、多能性幹細胞からの組織誘導手法の開発を進めた。とりわけ脳組織および肢芽組織に関する研究に注力し、多能性幹細胞から大脳、海馬、網膜、肢芽組織を誘導するオルガノイド技術を世界にさきがけて開発した。また、ヒト網膜の再生医療の実現のための基盤技術開発を行った。

【研究目標・課題】

- 1) 器官形態形成過程における力学-化学フィードバック機構の解明
- 2) 多能性幹細胞を用いたヒトオルガノイド誘導法の開発
- 3) 多能性幹細胞を用いた霊長類特異的発生メカニズムの解明
- 4) ヒト初期発生を制御する遺伝子制御ネットワークの網羅的な理解
- 5) 再生医療の実現に向けたヒト網膜組織誘導法の開発

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

ヒト多能性幹細胞を用いた臓器形成に関する研究、1細胞 RNA シークエンス装置を用いた細胞分化の研究、感染施設を利用したヒト鼻腔組織におけるウイルス感染動態に関する研究、網膜再生医療に関する理化学研究所・神戸アイセンターとの共同研究、ヒト脳腫瘍モデルに関する精神神経医療研究センターとの共同研究、筋-腱接合部に関する広島大学との共同研究

【主たる学術領域・関連学会】

発生生物学、幹細胞生物学、神経科学、高分子化学、日本発生生物学会、日本分子生物学会、日本神経科学学会

【分野における研究活動の自己評価】

多能性幹細胞分化系と数値シミュレーション手法の開発を進め、眼杯形成過程におけるメカノフィードバック機構を解明した。上皮と間葉細胞が組み合わさった肢芽組織を多能性幹細胞から誘導する手法を世界に先駆けて開発した。1 cm 以上のサイズのヒト網膜シートを誘導する手法を開発した。世界に先駆けてヒト鼻腔上皮オルガノイドを多能性幹細胞から誘導する手法を開発し、SARS-CoV2 などの感染モデルとしての有用性を示した。JST-CREST の外部資金獲得により、ヒト初期発生の遺伝子制御ネットワークを網羅的に解明するための新たな方法論の開発を行った。2 件の特許を共同研究企業とまた 1 件の特許を単独で出願し、再生医療応用の途を開いた。

【特記、備考等】

研究所内外の共同研究を積極的に推進し、CREST 1 件、AMED 3 件の大型外部資金獲得に繋がった。

発生システム制御分野

【主な研究課題】

本分野は個体発生システムの分子・細胞レベルの機構を明らかにし、その知見を元に多能性幹細胞から機能的な臓器を誘導する技術開発を目的とする。また試験管内で誘導されたオルガノイドを創薬・感染症・再生医療などへ応用発展させることを目指す。

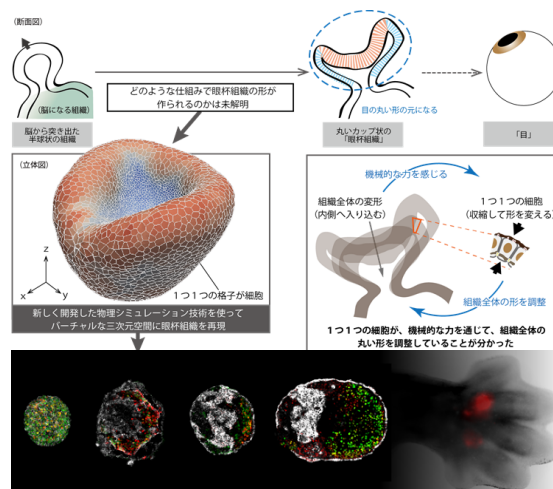
【背景・目的】

幹細胞生物学分野において、多能性幹細胞から臓器を誘導する技術開発が進んでいるが、その立体形状を制御することはできない。臓器の形態形成機構を解明し、自在に形状制御する技術の開発が再生医療応用のために求められている。本研究では器官の形態形成機構を明らかにすることで in vitro で組織の立体形状を制御する技術の開発を目指した。

【成果の概要】

ES細胞から誘導した網膜組織は自発的に陥入し眼杯構造を形成する。我々は数値シミュレーションを用いて組織自律的な眼杯形成機構を明らかにした。また、ES細胞から上皮と間葉細胞を含む肢芽様組織を in vitro で誘導することに世界で初めて成功した。

- 1) Mori S, Sakakura E, Tsunekawa Y, Hagiwara M, Suzuki T, Eiraku M. (2019) Self-organized formation of Developing appendages from murine pluripotent stem cells. Nat Commun. 10, 3802.
- 2) Okuda S, Takata N, Hasegawa Y, Kawada M, Inoue Y, Adachi T, Sasai Y, Eiraku M. (2018) Strain-triggered mechanical feedback in self-organizing optic-cup morphogenesis. Sci. Adv. 4 (11).



【学術的意義】

発生過程で再現性よく臓器の立体形状が構築される際に、局所の細胞が全体形状を認識し細胞形状を変化させる新たなメカノフィードバック機構が明らかになった。また、多能性幹細胞を用いて肢芽組織形成を再現することで、四肢形態形成の分子機構を詳細に調べるための研究プラットフォームを提供した。

【今後の計画】

今回発見したメカノフィードバック機構を元に、力学刺激による網膜シート形状制御技術の開発につなげる。また、ヒト多能性幹細胞からの肢芽形成技術の開発し、ヒト四肢発生モデルおよびヒト四肢再生のための基盤技術確立する。

【課題の自己評価】

数値シミュレーションと幹細胞培養系を用いた眼杯形成機構の解明は、日本学術振興会「新学術領域研究」による研究であり、毎日新聞誌面で紹介されるなど高い注目を集めた。立体網膜誘導技術は網膜色素変性症を対象とした再生医療の基盤技術であり、2020年には本手法で誘導した網膜シートが眼疾患患者に移植され、大きな注目を集めた。網膜シートを用いた再生医療の普及のためには、サイズ制御やコストなどいくつかの技術的課題が残されており、今後はより治療効果の高い低コストの医療を目指した技術開発が期待される。またヒト肢芽組織の誘導はまだ誰も成功しておらず、本研究成果を元に技術開発を行うことで、将来のヒト四肢再生の足掛かりとなることが期待される。

生命システム研究部門

C-3: システムウイルス学分野

【構成員】教授：小柳義夫、特定准教授：古瀬祐気（R2 年）、講師：佐藤佳（H28-29 年）、講師：Alexis Vandenbon（R1-2 年）、助教：志村和也（R2 年）、特定助教：中野雄介（H30-R1 年）

【分野題目】体内におけるウイルスと細胞分子の機能的関係性の解明

【研究概要】

個体内でのウイルス感染を制御する細胞性分子とウイルス拮抗分子の機能的関係性を明らかにするために、ヒト致死性ウイルスであるエイズウイルス(HIV)の感染過程の解析研究をおこなった。感染モデルとして当研究室が開発したヒト血液幹細胞移植マウス（ヒト化マウス）を利用した。抗 HIV 活性を有する脱アミノ酵素 APOBEC3 (A3) などには分子多型がある。一方、HIV は Vif などの拮抗分子により感染を完遂するが、それにも多型があり、機能解析実験を通じて関連性解析を行った。

【研究目標・課題】

- 1) 宿主細胞とウイルス感染との適応メカニズムの解明
- 2) 生体内モデルと数理解析を使った HIV 感染制御とゲノム多型の関係性の解明
- 3) 単細胞レベルのウイルスと細胞分子の関係性の解明
- 4) 単細胞レベルの網羅的遺伝子解析法の開発

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

BSL-3 施設による培養細胞感染実験と BSL-3 動物飼育施設によるウイルス感染研究、ヒト血液幹細胞移植によるヒト化マウス作製手法、移植ヒト細胞のバイオインフォマティクスと数理解析研究、データ科学によるヒト免疫細胞の網羅的解析、東京大学医科学研究所ならびに大阪大学免疫学フロンティア研究センター（IFReC）との共同研究

【主たる学術領域・関連学会】

日本ウイルス学会、日本エイズ学会、日本分子生物会、日本バイオインフォマティクス学会

【分野における研究活動の自己評価】

ヒト化マウス利用して、生体内におけるウイルス感染動態解析を進め、CD4+T 細胞内における感染細胞群の亜集団を明らかにした。H30 年に日本ウイルス学会を主催し、ウイルス学と数学の学際的融合に興味がある研究者を集め、新たなウイルス研究分野の開拓を行った。感染症研究分野における数理解析の先駆けであり、その後の新型コロナウイルス研究としての数理統計の実行に貢献した。AMED などの外部資金獲得により HIV 治癒研究にとりくみ、東京大学との協力のもと網羅的遺伝子解析や数理解析能力の発展に直結する大きな成果を得た。33 編の原著論文の発表をおこなった。

【特記、備考等】

なし

【主な研究課題】 ウイルス感染制御システムの解析

【背景・目的】

細胞は脱アミノ酵素 APOBEC3 (A3)などを発現してウイルスに対抗するが、その分子多型が動物種や人種毎にある。一方、HIV は Vif などの拮抗分子により感染を完遂するが、それにも多型がある。ヒト化マウスへの感染細胞の 1 細胞レベルも含めた網羅的発現遺伝子解析から、細胞プロファイリング、多型毎の機能解明が可能になった。

【成果の概要】

A3Hには多型があり、安定な stable 型と unstable 型ハプロタイプがある。一方多型がある Vif には stable 阻害型(Hyper Vif)と非阻害型 (Hypo Vif) があり、2 アミノ酸の違いがあり、A3H と Vif の多型に地理的な相関を見出した(1)。そして、ヒト化マウスの細胞解析から感染細胞には 9 つの亜集団があり、濾胞 CD4 T 細胞では HIV と CXCL13 を高発現すること、HIV が低い亜集団では HIV 抑制分子 SAMHD1 の発現量が高かった。ISG 低発現亜集団が、HIV の感染拡大に寄与していることを見出した(2)。

- 1) Nakano Y, et al. (2017) HIV-1 competition experiments in humanized mice show that APOBEC3H imposes selective pressure and promotes virus adaptation. PLOS Pathog. 13(5):e1006348. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006348.
- 2) Aso, H., et al. (2020) Multiomics investigation revealing the characteristics of HIV-1-infected cells in vivo. Cell Rep. 32, 107887. DOI: org/10.1016/j.celrep.2020.107887.

【学術的意義】

ヒト化マウスの網羅的発現遺伝子解析とゲノムデータからのそれぞれ多型との相関性解析の結果、HIV 感染過程におけるウイルスと細胞性分子の相互関係性を解明し、ウイルス学分野の発展に貢献した。エイズ研究の今後の展開の重要な鍵となった。

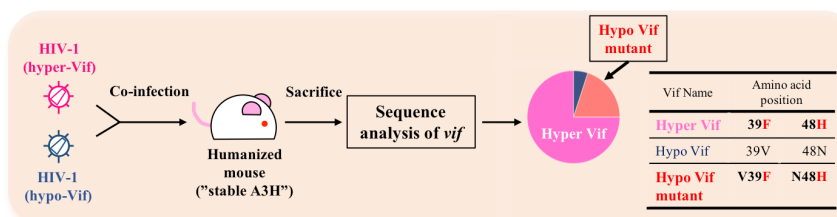
【今後の計画】

さらに体内空間の解像度が優れた網羅的発現遺伝子解析研究を進める。

【課題の自己評価】

本研究は AMED エイズ対策実用化研究事業「HIV 感染制御の網羅的解析による潜伏機序の解明とその治癒戦略策定」の研究成果であり、エイズの治療研究を推進した。これらかも東京大学をはじめと海外の研究機関とも共同研究へと発展を継続する。新しい展開が期待できる。

Aschematic of hyper/hypo-Vif HIV-1s co-infection into stable A3H humanized mouse



C-4: 増殖制御システム分野

【構成員】教授：影山龍一郎、准教授：大塚俊之、助教：小林妙子、下條博美、磯村彰宏

【分野題目】 いろいろな生命現象における短周期遺伝子発現振動の分子機構と意義の解明

【研究概要】

体節形成過程や神経発生過程において Hes1/7 や Dll1 遺伝子の発現をライブイメージングしたところ、いずれも 2～3 時間周期で振動すること、この振動は Dll1 を介した細胞間相互作用に依存すること、特に細胞間相互作用の時間遅れに依存することを明らかにした。細胞間相互作用の時間遅れが短くなっても長くなっても振動は減弱して定常発現に近付くこと、その結果、体節は全て癒合し、脳は低形成になることがわかった。したがって、これらの生命現象における短周期振動の重要性が示された。

【研究目標・課題】

- 1) 体節形成過程における短周期遺伝子発現振動の分子機構解明
- 2) 神経発生過程における短周期遺伝子発現振動の分子機構解明
- 3) 神経幹細胞の活性化と静止化状態の制御機構の解明と操作
- 4) 遺伝子発現振動情報の細胞間伝達機構の解明
- 5) 筋肉や腭形成過程における短周期遺伝子発現振動の分子機構解明

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

光遺伝学的操作技術を用いた遺伝子発現動態研究、新規蛍光タンパク質を用いた遺伝子発現動態研究、インビトロ未分節中胚葉誘導系を用いた分節時計研究、ハーバード大学とのヒト分節時計に関する共同研究、Max-Delbrück センターとの筋肉分化制御機構に関する共同研究、コペンハーゲン大学との腭形成制御機構に関する共同研究

【主たる学術領域・関連学会】

分子生物学、発生生物学、神経科学、光遺伝学、日本分子生物学会、日本生化学会、日本神経科学会、日本発生生物学会

【分野における研究活動の自己評価】

遺伝子発現のライブイメージング系を開発することによって、体節形成過程や神経発生過程における遺伝子発現動態を単一細胞レベルで解析することが可能になり、各発生過程における 2～3 時間周期の振動の重要性を明らかにした。特に、神経幹細胞における Ascl1 の発現振動が活性化状態に必須であることを見つけ、振動状態を誘導することで静止状態になった老化神経幹細胞の活性化に成功した。この技術に関しては、特許出願した。この成果を元に企業と共同研究を進め、創薬への応用の途を開いた。

【特記、備考等】

上記の成果により以下の賞を受けた。

時実利彦記念賞（平成 28 年度）、第 49 回内藤記念科学振興賞（平成 29 年度）、紫綬褒章（平成 30 年度）、第 63 回武田医学賞（令和元年度）、上原賞（令和 2 年度）

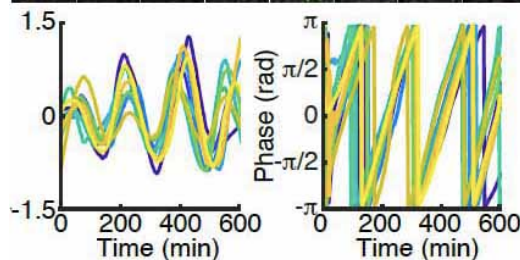
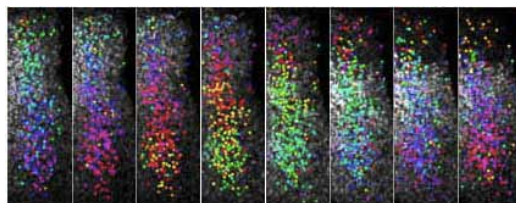
【主な研究課題】 いろいろな生命現象における短周期遺伝子発現振動の分子機構と意義について

【背景・目的】

いろいろな生命現象において遺伝子発現が2～3時間周期で振動することがわかってきたが、その分子機構や意義については不明の点が多かった。そこで、関連遺伝子に変異を導入し、ライブイメージングや光遺伝学的技術を駆使することによって、短周期遺伝子発現振動の分子機構と意義を探った。

【成果の概要】

成体脳にも神経幹細胞は存在するが、胎生期とは異なり、増殖能やニューロン分化能は低い。胎生期神経幹細胞では Hes1 や Ascl1 の発現は短周期で振動するが、成体期では Hes1 の発現は高レベルで持続し、Ascl1 の発現は抑制されていた。しかし、Ascl1 の発現振動を誘導すると、成体脳の神経幹細胞が効率良く活性化されて多くのニューロンを産生した（論文1）。一方、未分節中胚葉では Hes7 の発現が同期振動すること（右図）、この同期が乱れると体節が癒合し、体節由来の椎骨や肋骨も癒合した（論文2）。したがって、脳形成や体節形成において遺伝子発現振動の重要性が明らかになった。



未分節中胚葉におけるHes7の同期振動

- 1) Sueda, R., Imayoshi, I., Harima, Y., and Kageyama, R. (2019) High Hes1 expression and resultant Ascl1 suppression regulate quiescent versus active neural stem cells in the adult mouse brain. *Genes Dev.* 33, 511-523. DOI: 10.1101/gad.323196.118.
- 2) Yoshioka-Kobayashi, K., Matsumiya, M., Niino, Y., Isomura, A., Kori, H., Miyawaki, A., and Kageyama, R. (2020) Coupling delay controls synchronized oscillation in the segmentation clock. *Nature* 580, 119-123. DOI: 10.1038/s41586-019-1882-z.

【学術的意義】

本成果は、発生生物学で長年の謎であった発生過程の進行を制御する生物時計（いわゆる発生時計）の実体を初めて明らかにしたもので、大きなインパクトを与えた。また、遺伝子発現振動誘導法は内在性幹細胞の活性化による再生医療への道を拓いた。

【今後の計画】

遺伝子発現振動を誘導することによって、老化神経幹細胞の増殖能とニューロン産生能の活性化に成功した。この技術は認知症といった精神神経疾患に対する新たな治療法の開発につながることが期待される。今後は臨床応用を視野にすえて、霊長類を用いた研究を展開する。

【課題の自己評価】

本成果は新学術領域「脳構築の時計と場」、JST-CREST、AMED-CREST の支援によるもので、プレス発表において高い注目を集めた。特に、遺伝子発現のライブイメージングや光遺伝学的操作技術は国際的な共同研究に発展し、筋肉形成過程や骨形成過程においても短周期遺伝子発現の重要性を示す成果が得られた。また、神経幹細胞の操作技術は企業との共同研究に発展し、新しい臨床応用への展開が期待された。

C-5: RNA システム分野

【構成員】教授：大野睦人、助教：北畠真、谷口一郎

【分野題目】RNA/RNP の核-細胞質間輸送と品質管理機構の解明

【研究概要】

RNA は合成後、特異的なタンパク質と結合して RNP を形成することによりプロセッシングされ成熟化される。合成時のエラーや細胞内のストレスにより機能を失った RNP が出現した場合、そのような RNP を検出して分解する品質管理機構がはたらく。RNA/RNP の成熟化と分解のしくみを生化学、細胞生物学、遺伝学のツールを用いて研究を進めた。

【研究目標・課題】

- 1) 核内構造体パラスペックルの形成における新たな制御機構の解明
- 2) RNA 核外輸送因子 PHAX による DNA 損傷応答機構の解明
- 3) 核内低分子 RNA (U snRNA) の品質管理機構の解明
- 4) 真核生物リボソームの品質管理機構の解明
- 5) 環状 RNA の成熟化機構の解明

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

アフリカツメガエル卵母細胞への顕微注入実験等を用いた DNA 損傷応答と環状 RNA に関する研究、タンパク質微量精製装置を用いた U snRNA に関する研究、次世代シーケンサーを用いたリボソーム品質機構に関する研究、藤田医科大学との U snRNA と環状 RNA に関する共同研究

【主たる学術領域・関連学会】

分子生物学、生化学、遺伝学、バイオインフォマティクス、RNA 生物学、日本分子生物学会、日本 RNA 学会

【分野における研究活動の自己評価】

核内低分子 RNA の分解に関与する新規因子を試験管内反応系の構築により同定し、その分解機構をバイオインフォマティクスを活用して解明した。環状 RNA の成熟化機構の解明を目指して、藤田医科大学との共同研究により、その核外輸送経路を同定した。RNA フロンティアミーティング 2017 を主催し、研究者間の交流、新たな学問領域の開拓、および若手研究者の育成に貢献した。基盤研究 A、基盤研究 C、新学術研究領域の外部資金獲得により、RNA の分類と細胞内局在、リボソーム品質管理研究にとりくみ、RNA/RNP の成熟化と分解の理解につながる大きな成果を得た。

【特記、備考等】

なし

RNA システム分野

【主な研究課題】

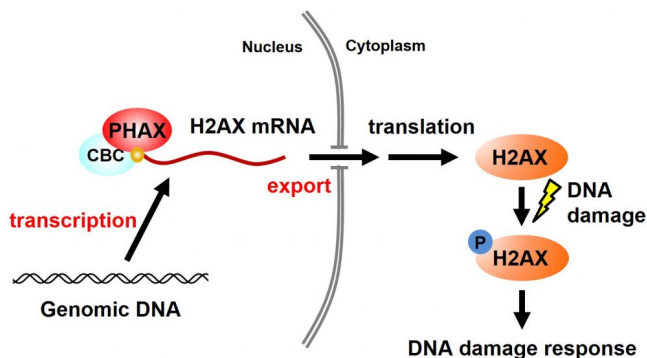
U snRNA の品質管理機構と U snRNA 核外輸送因子による DNA 損傷応答機構の解明

【背景・目的】

RNA システム分野では核内低分子 RNA (U snRNA) の核外輸送因子 PHAX の機能解析を行ってきた。ただし輸送以外の現象に PHAX が関わるかは未解明である。また、核外輸送以外の U snRNA 生合成過程については不明な点が多い。

【成果の概要】

PHAX が H2AX 遺伝子の転写および H2AX mRNA の核外輸送を制御することで、DNA 損傷時のリン酸化 H2AX の発現に関わることを明らかにした (論文 1、右図)。また、ISG20 と核エキソソームが U snRNA の品質管理に関与することを明らかにした (論文 2)。



- 1) Machitani M, Taniguchi I, McCloskey A, Suzuki T, Ohno M. The RNA transport factor PHAX is required for proper histone H2AX expression and DNA damage response. RNA. 2020 Nov;26(11):1716-1725.
- 2) Kawamoto T, Yoshimoto R, Taniguchi I, Kitabatake M, Ohno M. ISG20 and nuclear exosome promote destabilization of nascent transcripts for spliceosomal U snRNAs and U1 variants. Genes Cells. 2021 Jan;26(1):18-30.

【学術的意義】

論文 1 は DNA 損傷応答と U snRNA 核外輸送因子を結びつける新たな学問領域の開拓につながる。U snRNA はスプライシングに必須な因子である。また、その生合成異常は橋小脳形成症を引き起こす可能性が指摘されている。論文 2 の成果は遺伝子発現の基礎的知見にとどまらず、病因解明において重要である。

【今後の計画】

H2AX 以外のヒストン遺伝子の転写と mRNA 輸送における PHAX の関与を解析し、その制御機構を解明したい。また、ISG20 と核エキソソームが U snRNA を不安定化する分子機構は不明であり、今後の課題である。

【課題の自己評価】

本研究課題は、日本学術振興会「基盤研究 A」と「新学術研究領域」による研究である。論文 2 は藤田医科大学との共同研究でありバイオインフォマティクスを十分に活用した成果である。論文 1 においては、H2AX に焦点を絞った結果に留まったが、一般的なヒストン遺伝子の発現を解析することにより、より普遍的な知見が得られることが期待される。

生命システム研究部門

C-6: 生体膜システム分野

【構成員】教授：秋山芳展、准教授：森 博幸、助教：檜作洋平

【分野題目】細菌細胞表層タンパク質の動態の解明

【研究概要】

細菌細胞表層の生体膜を場とした、タンパク質の生合成（アセンブリー）、分解による品質管理と機能制御、膜透過（分泌）及び翻訳制御による遺伝子発現制御等の諸過程に注目し、その分子機構と生理機能について、生化学、遺伝学、構造生物学等様々なアプローチにより解析する。これにより、細菌細胞表層タンパク質の動態を明らかにし、それらタンパク質の機能発現と秩序維持の機構を統合的に理解する。

【研究目標・課題】

- 1) タンパク質の細胞質膜透過機構と膜透過装置構成因子の発現（翻訳）制御機構の解明
- 2) 膜内切断プロテアーゼの構造と機能の解明
- 3) 外膜タンパク質のアセンブリーと品質管理機構の解明
- 4) 内膜タンパク質品質管理に関わるプロテアーゼ機能の解明

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

in vivo 光架橋法を用いたタンパク質間相互作用とその動態の研究、網羅的変異解析、遺伝子組換えによる細菌変異株の作製と解析、RI施設を活用したタンパク質の標識実験、奈良先端科学技術大学院大学・山形県立米沢栄養大学及び Monash 大学（オーストラリア）との BepA プロテアーゼの機能に関する共同研究、横浜市立大学との膜内切断プロテアーゼの構造と機能に関する共同研究、等

【主たる学術領域・関連学会】

生化学、分子生物学、遺伝学、細胞生物学、構造生物学、細菌学、日本分子生物学会、日本生化学会、日本生物物理学会、日本細菌学会、21 世紀大腸菌研究会

【分野における研究活動の自己評価】

海洋性ビブリオ属細菌の細胞膜透過能モニタータンパク質 VemP の翻訳制御（翻訳アレスト）に関する研究により、翻訳アレスト関わるタンパク質モチーフやアレスト解除機構について明らかにした。これにより、翻訳アレスト機構やそれを介した遺伝子発現制御の理解に貢献した。また、大腸菌の S2P ファミリー膜内切断プロテアーゼ RseP の研究により、その基質認識機構や機能制御機構についての知見を得るとともに、RseP の新規基質を同定し、新たな生理機能を見出した。これは、理解の遅れている S2P プロテアーゼの細胞機能と作用機序の理解に資するものである。さらに、大腸菌外膜タンパク質の膜アセンブリーと品質管理（分解）に関わる BepA の構造を解明し、外膜タンパク質組み込み装置（BAM 複合体）との相互作用や活性制御機構についての解析から、新たな機能モデルを提唱した。これは、外膜タンパク質動態制御の理解に加えて、膜タンパク質の運命選別（トリアージ）機構に新たな視点を供するものである。これらの結果は、細菌表層タンパク質の動態理解の基盤となるものであるが、今後これらの過程の機能的ネットワーク形成や協調など、よりグローバルな視点からさらに研究を進める必要がある。また、細菌病原性との関連等にも視野を広げていきたい。

【特記、備考等】

in vivo 光架橋法の改良をおこない、迅速に起こる細胞内タンパク質間相互作用の変化を高い空間・時間分解能で解析可能な「Pixie 法」を開発した。本技術は、細胞内タンパク質動態解析に有用な手段となるものと期待している。

生体膜システム分野

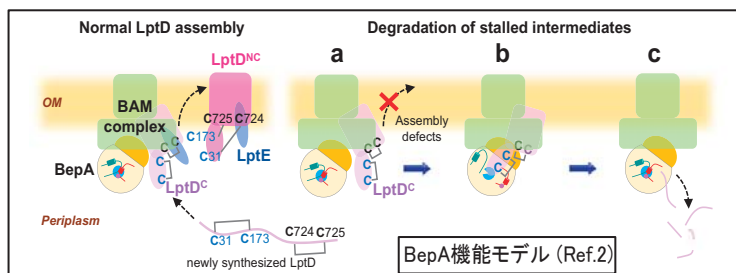
【主な研究課題】大腸菌外膜タンパク質のアセンブリーと品質管理に関わる BepA タンパク質の構造と機能の研究

【背景・目的】

細菌外膜は、物質や情報の移行・伝達を媒介するインターフェースとして、また、抗生物質・抗菌薬等に対する透過障壁として細菌の生存に必須の役割を果たす。外膜の構造形成と機能維持に主要な役割を果たす外膜タンパク質の品質管理機構の理解は重要な問題であるが、不明な点が多い。本研究では、大腸菌 BepA プロテアーゼによる外膜タンパク質の運命選別（トリアージ）とその制御機構を解明し、外膜構造と機能の維持におけるその意義の理解をめざした。

【成果の概要】

我々は、BepA が、外膜の主要成分であるリポ多糖の外膜輸送に必須な外膜タンパク質 LptD の生合成と分解の両方に関わる事を見出していた。本期間中に、BepA の立体構造を明らかにし、上記の2つの機能が新たに発見した「His-switch」機構により厳密に制御されていることを示した。また、BepA は BAM 複合体（外膜タンパク質トランスロコン）上で LptD のトリアージに関わり、その成熟化或いは分解除去へと導くことを示唆した。



し、上記の2つの機能が新たに発見した「His-switch」機構により厳密に制御されていることを示した。また、BepA は BAM 複合体（外膜タンパク質トランスロコン）上で LptD のトリアージに関わり、その成熟化或いは分解除去へと導くことを示唆した。

- 1) Shahrizal, M, Daimon, Y, Tanaka, Y, Hayashi, Y, Nakayama, S, Iwaki, S, Narita, S, Kamikubo, H, Akiyama, Y, Tsukazaki, T. (2019). Structural basis of the function of the β -barrel assembly-enhancing protease BepA. J. Mol. Biol. 431, 625-635. DOI: 10.1016/j.jmb.2018.11.024
- 2) Daimon, Y, Narita, S, Miyazaki, R, Hizukuri, Y, Mori, H, Tanaka, Y, Tsukazaki, T, Akiyama, Y. (2020) Reversible auto-inhibitory regulation of Escherichia coli metalloprotease BepA for selective β -barrel protein degradation. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 117, 27989-27996. DOI: 10.1073/pnas.2010301117

【学術的意義】

本成果は、新たに解明した BepA の構造をベースとして、外膜タンパク質の生合成と分解という、一見相反する BepA の二つの機能が新奇な機構で制御される事を示した。これは、膜タンパク質のトリアージ機構の理解に手掛かりを与えるもので、細菌外膜に留まらず、真核生物を含む膜タンパク質の構造・機能維持およびトリアージ機構の解明に貢献することが期待される。

【今後の計画】

本研究の成果を基盤として、BepA 機能制御における BepA 構造変化の実態を明らかにし、機能切り替えの分子機構を解明する。また、BepA の基質を網羅的に同定することで、外膜構造と機能の維持における BepA の細胞機能の全体像を明らかにする。

【課題の自己評価】

本研究は、国内外との共同研究を通じて、構造生物学、生化学、遺伝学等の手法による解析から、これまでにほとんど報告のない外膜タンパク質のトリアージ機構の一端を明らかにしたものであり、新たなプロテアーゼ活性調整機構の発見という点も含めて波及効果の高いものと考えている。さらに、抗菌薬開発の基盤としても役立つものと期待している。一方、BepA の構造変化や BAM 複合体・LptD との相互作用の実態は未だ不明であり、分子レベルでその詳細を明らかにしていく必要がある。

C-7: 組織恒常性システム分野

【構成員】教授：豊島文子、助教：松村繁(H28-29 年)、小田裕香子(H28-R2 年)、石橋理基 (H30-R2 年)、特定助教：一條遼 (H30-R2 年)

【分野題目】臓器リモデリング機構における幹細胞と周辺環境の関連性の解明

【研究概要】

臓器リモデリングを担う幹細胞の増殖・分化制御機構と、幹細胞を取り巻く組織内環境との関連の理解を目的として、皮膚とマウス ES 細胞を用いて研究を進めた。皮膚では、胎児の皮膚発生過程と妊娠期母体の腹部皮膚に着目し、生理的条件下における皮膚拡張機構について解析を進めた。ES 細胞では、中内胚葉分化における非対称分裂の関わりと、ES 細胞の休止期への移行機構について研究を進めた。また、遺伝子改変技術の開発研究を実施した。

【研究目標・課題】

- 1) 皮膚発生における表皮幹細胞の動態解析
- 2) 生理条件下での皮膚拡張機構の解析
- 3) マウス ES 細胞の増殖・分化制御機構の解析
- 4) 高汎用性の遺伝子ターゲティング技術の開発

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

マウスと ES 細胞を用いた幹細胞研究、遺伝子ターゲティング技術を用いた遺伝子改変マウスの作出・機能解析、scRNAseq、in vivo イメージング技術を用いた組織リモデリング研究、京都大学医学部と皮膚 in vivo イメージングに関する共同研究、筑波大学と皮膚リモデリングに関する共同研究、同志社大学と上皮バリアに関する共同研究

【主たる学術領域・関連学会】

細胞生物、幹細胞、皮膚、生殖

細胞生物学会、生化学会、分子生物学会、日本研究皮膚科学会

【分野における研究活動の自己評価】

皮膚発生過程における、表皮幹細胞の増殖と対称・非対称分裂を制御する因子を同定し、皮膚バリア機能獲得における役割を解明した。臓器が急速にリモデリングする妊娠期母体に着目し、腹部皮膚の拡張における表皮幹細胞適応機構、体表血管による幹細胞周辺環境のリモデリング機構を解明した。マウス ES 細胞の中内胚葉分化における非対称分裂制御因子の役割と、神経分化過程で生じる休止期の特性を明らかにした。臓器リモデリングの分子実体を解明するため、高汎用性・高効率な遺伝子ターゲティング技術を開発し、各種 KI マウス、cKO マウスの作出に成功した。AMED-PRIME, CREST の外部資金獲得により、生理的な組織・臓器リモデリング機構に取り組み、CiRA, 理研、所内他分野との協力のもと、臓器リモデリングの原理の理解につながる成果を得た。上皮バリア誘導に係る 1 件の特許を出願し、治療応用への展開を開いた。

【特記、備考等】

なし。

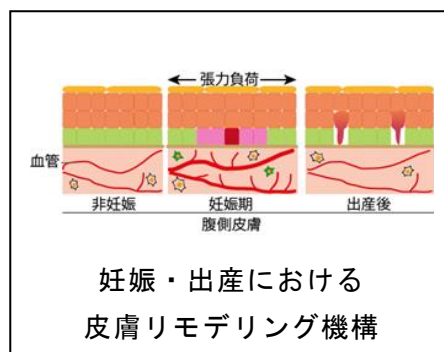
【主な研究課題】臓器リモデリングシステムの解析

【背景・目的】

生体は、体の生理変化に適応するための臓器リモデリングシステムを持っている。しかし、それを担う多細胞ネットワークや組織内環境は不明である。本研究では、急速にリモデリングされる妊娠期の母体腹部皮膚の拡張機構について検証した。

【成果の概要】

妊娠マウスの腹部皮膚に出現する高増殖性の Tbx3⁺基底細胞を同定した。腹部表皮特異的 Tbx3 cKO マウスでは妊娠に伴う皮膚伸張が顕著に抑制された。Tbx3⁺基底細胞を誘導する真皮分泌シグナルを特定し、真皮―表皮相互作用による皮膚伸展機構を見出した(1)。Tbx3⁺基底細胞は血管依存型表皮幹細胞であり、妊娠中に体表血管の増加に依存して出現し、出産後には血管退縮とともに分化して表皮から排出されることが分かった。また、皮膚に張力負荷をかけると体表血管が増加し、それに依存して Tbx3⁺基底細胞が誘導されたことから、皮膚スケーリング機構における血管と張力の重要性が示された(2)。



また、皮膚に張力負荷をかけると体表血管が増加し、それに依存して Tbx3⁺基底細胞が誘導されたことから、皮膚スケーリング機構における血管と張力の重要性が示された(2)。

- 1) Ichijo, R., Kobayashi, H., Yoneda, S., Iizuka, Y., Kubo, H., Matsumura, S., Kitano, S., Miyachi, H., Honda, T., and **Toyoshima, F.** Tbx3-dependent amplifying stem cell progeny drives interfollicular epidermal expansion during pregnancy and regeneration. *Nat. Commun.* 8; 508, 2017.
- 2) Ichijo, R., Kabata, M., Kidoya, H., Muramatsu, F., Ishibashi, R., Abe, K., Tsutsui, K., Kubo, H., Iizuka, Y., Kitano, S., Miyachi, H., Fujiwara, H., Sada, A., Yamamoto, T., **Toyoshima, F.** Vasculature-driven stem cell population coordinate tissue scaling in dynamic organs. *Sci. Adv.* 7; eabd2575, 2021.

【学術的意義】

本成果は、臓器リモデリング機構における血管と力場による幹細胞制御機構を解明した。血管と力場の変化は、組織再生や体表領域の差異においても認められるため、本成果は臓器リモデリングの普遍的なシステムの理解に貢献する。

【今後の計画】

化学シグナルと力学シグナルが組織内の幹細胞環境を変化させ、幹細胞の増殖と分化を制御するシステムを解明する。妊娠期における母体の臓器リモデリング機構が、次世代の成育サイクルに及ぼす影響を解明する。

【課題の自己評価】

本研究は、AMED メカノバイオロジーによる研究であり、前半の内容はプレス発表した。本研究成果に基づき R2 年度に CREST 多細胞に採択され、研究を継続・発展させている。化学と力学の協調による生体制御システムの解明に貢献すると期待される。

生命システム研究部門

C-8: 数理生物学分野

【構成員】教授：望月敦史、准教授：立川正志

【分野題目】数理科学や計算機シミュレーションなどの理論的方法を用いた生命現象の解明

【研究概要】

本分野では、数理的・理論的解析に加え、実験生物学者との共同研究を行い、理論予測の検証を行うことで、様々な生命現象の解明に取り組んでいる。特に我々が独自に開発した、システムのネットワーク情報から振る舞いの重要な側面を決定する構造理論は、他に類を見ない。これらを実際の生命システムに適用し、予測の検証を通じて解明を進めた。また細胞内膜構造に対する物理モデルや植物細胞壁上の秩序形成に対する数理モデルなど、複数の生命現象に対して数理モデルを用いた研究を展開した。

【研究目標・課題】

- 1) 調節ネットワークから重要な分子を決定する理論による生命システムの解明
- 2) 反応ネットワークの構造からシステムの振る舞いを決定する理論の構築と応用
- 3) 細胞内膜構造に対する物理学的解明
- 4) 植物細胞壁上の周期構造に対する数理モデル研究
- 5) 網羅的遺伝子摂動に基づく遺伝子調節ネットワークの推定法の開発

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

数理解析や数学を展開する理論研究、計算機サーバを用いた数値解析研究、所内の複数分野との共同研究による予測検証、理学研究科と細胞運命決定システムに関する共同研究、基礎生物学研究所と細胞周期システムに関する共同研究、台湾国立精華大学と構造分岐理論の発展に関する共同研究

【主たる学術領域・関連学会】

日本数理生物学会、日本発生生物学会、日本分子生物学会、日本生物物理学会、日本物理学会、Society for Mathematical Biology (USA) Society for Industrial and Applied Mathematics (USA)

【分野における研究活動の自己評価】

独創的で強力な理論を複数開発しただけでなく、それらを実際の生命システムに適用することで有用性を証明してきた。また、研究所内外の実験生物学者と共同研究を行うことで、生命科学の課題解決に具体的に貢献した。この過程を通じて生命の複雑システムを合理的に解明する方法を確立しつつある。研究成果は、論文にまとめ出版し、国内外の学会・研究会のシンポジウムや招待講演で報告し、高い注目を集めた。また理論生物学の普及のための教科書として「理論生物学概論」を執筆した。大学院生やポスドクの教育にも力を入れ、次世代を担える若手の理論生物学者を育てている。

【特記、備考等】

本研究所には平成 30 年度より参加している。

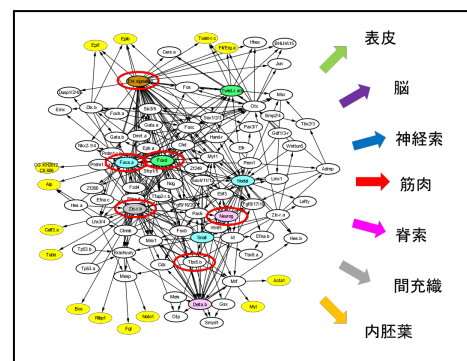
【主な研究課題】 遺伝子ネットワークに基づき数理理論が予測した少数因子により、細胞運命決定システムを完全に制御

【背景・目的】

様々な生命現象に多数種の生体分子が関わり、分子が相互作用する複雑なシステムのダイナミクスが、生命機能の本質だと考えられている。実験的に決まるネットワークに対し、ダイナミクスを理解する方法が、生命科学で求められている。これに対し我々は、システム全体の動態を捉え、操作するための鍵分子（FVS）を、ネットワーク情報だけからモデルフリーに決定する数理理論、リンケージロジックを開発してきた。

【成果の概要】

リンケージロジックを用い、ホヤの初期発生において 7 種の細胞運命を司る遺伝子ネットワークを解析し、92 の因子を含む遺伝子調節ネットワークの振る舞いが、6つの因子だけで、捉えられ制御できることが、予測された。予測は実験的に検証され、7つの組織の全てが FVS の操作により、決定論的に誘導できることが証明された。



- 1) Kobayashi K., Maeda K., Tokuoka M., Mochizuki A. and Satou Y. (2018) Controlling Cell Fate Specification System by Key Genes Determined from Network Structure. *iScience* 4, 281–293. DOI: 10.1016/j.isci.2018.05.004.
- 2) Kobayashi K., Maeda K., Tokuoka M., Mochizuki A. and Satou Y. (2021) Using linkage logic theory to control dynamics of a gene regulatory network of a chordate embryo. *Sci. Rep.* 11, 4001. DOI: 10.1038/s41598-021-83045-y.

【学術的意義】

本成果は、分子に関する生物学的知見を用いず、ネットワーク情報から鍵分子を決定し操作に成功した、類を見ないものである。プロジェクトの過程で、未知の制御の存在を予測検証し、ネットワーク情報を更新することもできた。理論と実験を組み合わせる合理的に生命システムを解明する新しい方法の確立へつながると期待される。

【今後の計画】

本課題の成功を基に、ヒトの遺伝子ネットワークを同定し、鍵因子を決定することで、ヒトの発生運命を操作する方法を開発するプロジェクトを、現在開始している。

【課題の自己評価】

本研究は、CREST「生命動態」領域で推進し、事後評価 A+を得た。成果は論文発表に加え、国内外の学会・研究会のシンポジウムや招待講演で報告し、高い反響を得た。ヒト細胞への適用に成功すれば、さらに高い注目を集めると期待される。リンケージロジック理論や構造感度解析は数学や物理学分野からも注目を集めており、異分野間共同研究に発展する可能性がある。

C-9: 幹細胞遺伝学分野

【構成員】教授：遊佐宏介、助教：樽本雄介、西淵剛平、青木一成

【分野題目】順遺伝学的手法を用いた幹細胞、がん細胞表現型の遺伝学的解明

【研究概要】

独自に開発した CRISPR スクリーニング法をもとに、負の選択においても効率よく遺伝子スクリーニングが可能となるようさらなる技術改良を実施し、技術開発を完了させた。また、他の新しい技術との融合によりさらなる技術発展を実施した。このスクリーニング技術を元に、胚性幹細胞の多能性に関与する遺伝子の網羅的同定、またヒトがん細胞の増殖必須遺伝子の網羅的同定と治療標的の探索、その分子メカニズムの解明を実施した。

【研究目標・課題】

- 1) CRISPR スクリーニング技術の改良、また一細胞解析との融合
- 2) ヒト多能性幹細胞の未分化維持能の分子基盤の解明
- 3) ヒト多能性幹細胞の分化指向性に関わる遺伝子の探索
- 4) がん分子標的薬の新規標的分子の機能の解明

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

独自に開発した CRISPR スクリーニング法を基盤とした研究、CRISPR スクリーニング技術を通した理化学研究所との遺伝子発現機構に関する共同研究およびゲノムの複製タイミングに関する共同研究、英国エジンバラ大学との肝細胞前駆細胞の増殖に関する共同研究。

【主たる学術領域・関連学会】

分子生物学、幹細胞生物学、がん分子治療標的、日本ゲノム編集学会、日本癌学会、日本がん分子標的治療学会。

【分野における研究活動の自己評価】

CRISPR スクリーニング技術を開発後、複数の改良を加えることで、ほ乳類培養細胞において正の選択のみならず、技術的に困難とされた負の選択においても高い同定効率を発揮する網羅的遺伝子スクリーニング技術を開発することができた。これは、ほ乳類培養細胞を用いた遺伝学的実験を根本的に変えるものであり、実際、これまで分子基盤が不明であった数々の生物学的現象に関与する遺伝子の発見に貢献している。我々の研究グループで実施している様々な研究へも適用し、多能性幹細胞の多能性の分子機構の解明や、がん細胞の新たな治療標的の同定に結びつき、治療薬開発プロジェクトも開始された。また、この技術を基に数々の共同研究また技術コンサルティングを実施し、技術の普及そして新たな遺伝子機能の発見につながっている。

【特記、備考等】

なし

幹細胞遺伝学分野

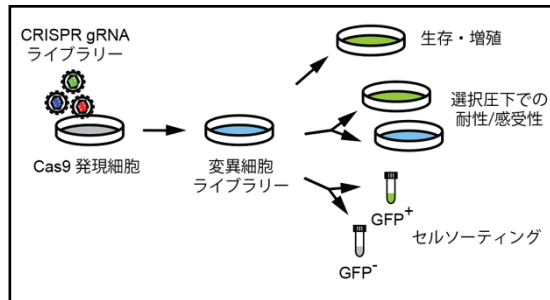
【主な研究課題】 CRISPR スクリーニング法の開発および幹細胞・がん細胞生物学への応用

【背景・目的】

着目した表現形質に関わる遺伝子の網羅的同定をめざす順遺伝学的手法は非常に強力な遺伝学ツールであるが、ほ乳類細胞で有効な手法がなかった。ゲノム編集技術 CRISPR-Cas9 を応用することでほ乳類細胞に適用できるスクリーニング法の開発し、幹細胞の分化能、またがん細胞の細胞増殖能に関わる網羅的遺伝子探索を可能とする。

【成果の概要】

我々の研究室では 2014 年に CRISPR-Cas9 システムを用いた遺伝子スクリーニング法を開発した (Nature Biotechnol. 2014)。この技術をさらに改良し、ほ乳類培養細胞において効率よく負の選択に基づくスクリーニングが可能となった(1)。この技術を多くのがん細胞株に用いることで、各株の増殖必須遺伝子を明らかにした。ゲノム変異との相関解析からマイクロサテライト不安定性を示すがん細胞は *WRN* 遺伝子に依存していることを明らかにし、新しい治療標的を見出した。



- 1) Tzelepis K, Koike-Yusa H, De Braekeller E, Li Y, Metzakopian E, Dovey OM, Mupo A, Grinkevich V, Li M, Mazan M, Gozecka M, Ohnishi S, Cooper J, Patel M, McKerrell T, Chen B, Domingues AF, Gallipoli P, Teichmann S, Ponstingl H, McDermott U, Saez-Rodriguez J, Huntly BJ, Iorio F, Pina C, Vassiliou GS, **Yusa K**. 2016 A CRISPR Dropout Screen Identifies Genetic Vulnerabilities and Therapeutic Targets in Acute Myeloid Leukemia. **Cell Reports** 17:1993-1205
- 2) Behan FM, Iorio F, Picco G, Goncalves E, Beaver CM, Migliardi G, Santos R, Rao Y, Sassi F, Pinnelli M, Ansari R, Harper S, Jackson DA, McRae R, Pooley R, Wilkinson P, Meer D, Dow D, Buser-Doepner C, Bertotti A, Trusolino L, Stronach EA, Saez-Rodriguez J, **Yusa K**, Garnett MJ. 2019 Prioritisation of oncology therapeutic targets using CRISPR-Cas9 screening. **Nature** 568:511-516

【学術的意義】

CRISPR スクリーニング法の開発・改良により、ほ乳類培養細胞を用いた効率的な順遺伝学が可能となり、幅広い分野で応用されている。がん細胞株を用いた大規模スクリーニングからは多数の創薬標的候補を見出し、新しい治療法の開発へ貢献した。

【今後の計画】

確立された CRISPR スクリーニング法を用いて、がんの分子標的薬に対する薬剤耐性および感受性に関わる遺伝子解析を進めていく。また、幹細胞領域においてもスクリーニング技術を適用し、分化に関わる分子機構の解明を目指す。

【課題の自己評価】

CRISPR スクリーニングの確立により、遺伝学研究に新しい時代をもたらす事ができた。作製したツールは多くの研究者に使われ、科学界への広い貢献ができた。今後も大学や企業の研究グループとの多くの共同研究の実施が見込まれ成果が期待できる。

生命システム研究部門

C-10: がん・幹細胞シグナル分野

【構成員】教授：伊藤貴浩、准教授：服部鮎奈、助教：松浦顕教

【分野題目】成体組織およびがん組織に存在する幹細胞の発生・維持に関わる細胞内外のシグナルの解明

【研究概要】

は乳類成体組織及びがん組織に存在する幹細胞の発生・維持に関わる細胞内外のシグナルの解明を目指し、RNA レベルでの遺伝子発現制御と細胞内代謝変動による幹細胞制御システムについて個体および分子レベルでの研究を進めた。また、幹細胞の機能解析のための新たな分析法の開発に取り組んだ。

【研究目標・課題】

- 1) 代謝による組織幹細胞・がん細胞の機能制御
- 2) RNA 結合タンパクによる遺伝子発現と細胞運命の制御
- 3) 代謝異常症の分子病理の理解
- 4) 細胞運命制御機構の理解に基づく創薬

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

細胞移植と動物モデルを用いた幹細胞研究、固体核磁気共鳴法や蛍光高速液体クロマトグラフィ分析による代謝計測を利用した幹細胞研究、東京大学医科学研究所との造血器腫瘍に関する共同研究、千葉大学医学部附属病院との乳がんに関する共同研究、東海大学との鉄代謝と幹細胞に関する共同研究、京都大学化学研究所との新たな代謝解析法に関する共同研究、米国ジョージア大学とのがん代謝に関する共同研究、モンペリエ大学とのがん代謝と微小環境に関する共同研究

【主たる学術領域・関連学会】

幹細胞生物学、腫瘍生物学、生化学、遺伝学、International Society of Experimental Hematology, International Society for Stem Cell Research、日本癌学会、日本血液学会、日本分子生物学会、日本生化学会、日本 RNA 学会

【分野における研究活動の自己評価】

がん・幹細胞シグナル分野は平成 31 年 3 月に伊藤が着任して新たに始まった生命システム研究部門の一分野である。生物医学研究を行うラボとしての基盤を整備すると共に、准教授と助教の選考と採用、大学院生のリクルートをすすめ、令和 2 年度までに基本的な運営体制を整えた。また、国内外の研究グループとの共同研究を新たに開始し、組織幹細胞、腫瘍幹細胞の理解の深化に期する新たな解析法の構築を進めた。文科省、AMED、JST および財団等から計 16 件の外部資金を獲得し、多様な研究施設との国内外の共同研究を通して幹細胞シグナル研究に取り組んだ。Nat Commun 誌を含む 6 編の原著論文を発表した。

【特記、備考等】

なし

【主な研究課題】細胞内アミノ酸代謝をリアルタイムで検出できるシステムの構築

【背景・目的】

我々はがんの病期進展において分岐鎖アミノ酸類 (BCAA) の増加が必須で、この代謝変動過程は BCAA 代謝酵素 BCAT1 に依存することを明らかにした。これらの結果は、特定の代謝経路の障害が有望ながん治療戦略となる可能性を示している。一方、現在の主流である質量分析器を用いた代謝分析法は、細胞の破壊が必須であり細胞内代謝活動を連続的に観察することは不可能である。本研究では固体 NMR の手法を用いて、非破壊で細胞内代謝をリアルタイム検出する新たな分析法の開発を目指した。

【成果の概要】

ヒト骨髄性白血病由来の培養細胞株 K562 に対して、固体 NMR の手法の一つであるマジック角回転(MAS)と高分解能 NMR 法を組み合わせた HR-MAS 法を適用したところ、安定同位体 (^{13}C) 標識した基質 (分岐鎖ケト酸) から BCAA が産生される過程を連続的に検出することに成功した。また、この手法は、ヒト由来細胞のみならず、アカパンカビ等の他の真核生物にも適用可能であることを明らかにした (文献 1)。

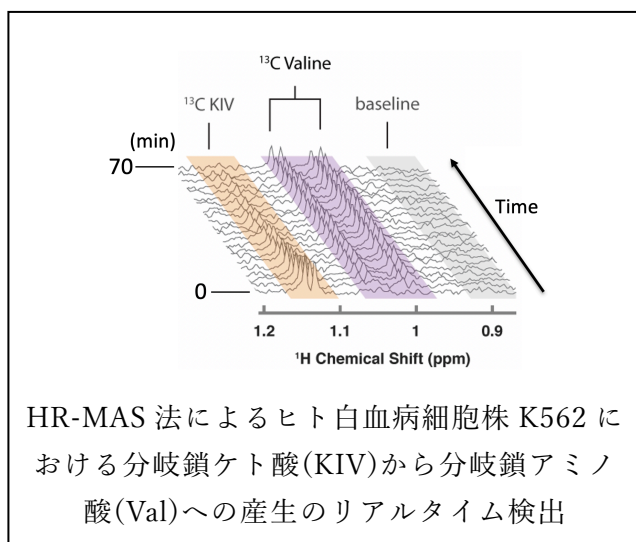
1) Judge M, Wu Y, Tayyari F, Hattori A, Glushka J, Ito T, Arnold J, Edison A. (2019)

Continuous *in vivo* metabolomics by NMR. *Front Mol Biosci* 6:26.

doi:10.3389/fmolb.2019.00026.

【学術的意義】

質量分析等による従来の代謝物解析法は、分析に先立って組織・細胞の破壊と前処理が必要であるため、幹細胞のように低頻度にしか存在しない細胞を対象とする連続的な代謝計測は困難である。今回確立した HR-MAS による代謝解析法ではオルガノイドのような大きなサイズの細胞試料も非破壊で分析が可能で、一つのサンプルから連続的にデータが得られるため時系列サンプリングは不要で、細胞数が限られる造血幹細胞の分析には最適である。また、様々な安定同位体 (^{13}C) 標識した基質を用いることで、多種多様な代謝反応のリアルタイム分析に適用可能である。



HR-MAS 法によるヒト白血病細胞株 K562 における分岐鎖ケト酸(KIV)から分岐鎖アミノ酸(Val)への産生のリアルタイム検出

【今後の計画】

興味ある代謝物・化合物や増殖因子、さらにはウイルス等の病原因子を添加した際の白血病細胞および造血幹細胞内の代謝変動を経時的に解析し、これらの細胞の増殖・分化、代謝に機能に対して如何なる効果があるか、また造血幹細胞の活性化や休眠を誘導する因子や化合物の同定を介して、幹細胞機能の新制御機構を明らかにする。

【課題の自己評価】

本研究は、日本学術振興会による「帰国発展研究」の支援を得て実施した。核磁気共鳴実験は、米国ジョージア大学複合糖鎖研究センターの NMR 施設で実施した国際共同研究によるものである。今後、京都大学化学研究所の NMR 施設を含めた多拠点国際共同研究へと発展させる計画である。

【構成員】教授：今吉格

【分野題目】転写因子ネットワークを中心とした神経幹細胞の制御機構の解明と再生医学的な応用研究

【研究概要】

複雑かつ精緻な哺乳類の脳神経系は、遺伝的プログラムに従い再現性良く発生・発達する。一方で、生後発達過程や成体においても、哺乳類の脳は柔軟な可塑的性質を持っている。そして、これらの二つの性質が相まって、動物の行動や高次脳機能を制御する脳神経系が出来上がり、維持される。このような脳神経系の発生・発達・可塑性について研究を行った。特に、神経幹細胞の制御機構とニューロン新生という現象に着目し、分子遺伝学・光遺伝学やライブイメージングという技術を駆使して、研究を推進した。。

【研究目標・課題】転写因子ネットワークを中心とした、神経幹細胞の増殖・分化・休眠を制御する分子メカニズムの理解

- 1) 胎児脳や生後脳における神経幹細胞の制御メカニズムの解明
- 2) 遺伝子発現の光操作技術の開発
- 3) イメージングやフローサイトメーターなどの光学技術の開発

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

マウス脳由来の培養神経幹細胞を用いた研究、各種モデルマウスや遺伝子改変マウスの胎児脳・生後脳に存在する神経幹細胞に対する研究、微弱発光・蛍光イメージングを可能にする顕微鏡を用いた研究(理化学研究所や東京大学との共同研究)、脳内視鏡をもちいた研究(鹿児島大学との共同研究)、光照射デバイスを用いた研究(名古屋大学との共同研究)

【主たる学術領域・関連学会】

神経発生学、神経科学、発生生物学、分子生物学、生化学、光学、光遺伝学

日本神経科学会、日本分子生物学会、日本生化学会、日本細胞生物学会、ニューロン新生懇談会

【分野における研究活動の自己評価】

神経幹細胞における bHLH 型転写因子の機能解析を推進した。特に、遺伝子発現の光制御技術を、成体脳に存在する神経幹細胞に適応することに成功した。また、遺伝子発現の光操作ツールの開発を進捗させた。In vivo イメージングに必要な顕微鏡技術については、理化学研究所、東京大学、鹿児島大学、名古屋大学などとの共同研究により、新たな技術開発に成功した。

【特記、備考等】

企業との共同研究や産学共同ラボの設置など、産学連携プロジェクトの推進も積極的に取り組んだ。

幹細胞デコンストラクション分野

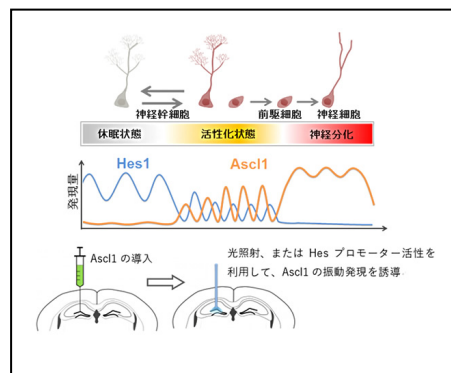
【主な研究課題】転写因子ネットワークを中心とした神経幹細胞の制御機構の解明

【背景・目的】

哺乳類の脳神経系は、遺伝的プログラムに従い再現性良く発生・発達する一方で、生後発達過程や成体においても、哺乳類の脳は柔軟な可塑性を持っている。生後脳においても神経幹細胞が存在しており、新しいニューロンが産生されて、神経回路に取り込まれている。しかしながら、生後脳・成体脳における神経幹細胞の制御機構はいまだ不明な点が多い。本研究課題では、bHLH 型の転写因子に着目し、神経幹細胞の休眠・細胞増殖・ニューロン分化がどのように制御されているのかについて、研究を行った。

【成果の概要】

成体脳に内在する神経幹細胞においては、Hes1 の発現が持続しており、一方 Ascl1 は Hes1 によって持続的に抑制されるために発現が消失していた。そこで、ウイルスベクターを用いて休眠状態の神経幹細胞に Ascl1 を導入したところ、成体脳に内在する神経幹細胞を活性化し、神経細胞を産生することに成功した。つまり、Hes1 の発現が振動するとき（Ascl1 の発現も振動）に神経幹細胞は活性化し、持続するとき（Ascl1 は発現しない）には神経幹細胞が休眠化することが明らかになった。



- 1) Sueda, R., *Imayoshi, I. (equal contribution), Harima, Y. and *Kageyama, R. (2019) High Hes1 expression and resultant Ascl1 suppression regulate quiescent versus active neural stem cells in the adult mouse brain. *Genes Dev*, 33, 511-523. doi: 10.1101/gad.323196.118.
- 2) Yamada, M., Suzuki, Y., Nagasaki, C.S., Okuno, H. and *Imayoshi, I. (2018) Light-inducible Tet-gene expression system in mammalian cells. *Cell Reports*, 25, 487-500. doi: 10.1016/j.celrep.2018.09.026.

【学術的意義】

本研究で得られた成果によって、生後脳・成体脳に存在する神経幹細胞の、休眠・細胞増殖・細胞分化の制御メカニズムの一旦が明らかになった。また、研究を推進する過程で、遺伝子発現の光操作システムのさらなる改良にも成功した。

【今後の計画】

本研究は、マウス脳の海馬に存在する神経幹細胞について得られた知見である。今後、他の脳部位に存在する神経幹細胞の研究も期待される。また、神経幹細胞の光操作手法を、再生医学的应用につなげる研究も推進する予定である。

【課題の自己評価】

本研究は、AMED 再生医療実現拠点ネットワークプログラム（幹細胞・再生医学イノベーション創出プログラム）「光操作技術を用いた神経幹細胞の新規分化制御法の開発」、及び、JST CREST「光の特性を活用した生命機能の時空間制御技術の開発と応用」などによる成果である。今後、再生医学的应用につなげるには、海外の研究室との共同研究も含めて、積極的に新しい技術を取り入れて研究を推進させて行きたい。

【構成員】客員教授：藤田 尚志（令和2年度）

【分野題目】抗ウイルス自然免疫応答における非自己 RNA の認識とそれによって誘導されるシグナルの解析

【研究概要】

抗ウイルス自然免疫応答ではウイルス由来の「非自己 RNA」が認識されてシグナルが伝達される。非自己 RNA である長鎖二重鎖 RNA(dsRNA)の認識とその結果誘導されるシグナルには未知の部分が多い。その詳細を明らかにし、ウイルス感染に対抗する宿主の免疫応答を介した予防、治療につなげることを目的とした。TLR3 はエンドソームで非自己 dsRNA を認識するセンサー分子であるが、認識の結果生じるシグナルには IKK β が重要な機能を果たしていることを世界に先駆けて証明した。

【研究目標・課題】

- 1) TLR3 による非自己 RNA の認識と抗ウイルスシグナルの解析
- 2) MDA5 による長鎖 dsRNA の認識機構の解析
- 3) B 型肝炎ウイルスのマウスを用いた感染モデル動物の作成

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

培養細胞を用いた遺伝子編集による遺伝子ノックアウト細胞作出

【主たる学術領域・関連学会】

自然免疫学、日本免疫学会、日本インターフェロンサイトカイン学会

【分野における研究活動の自己評価】

IKK β は NF κ B 活性化における機能を担うシグナル分子であることが良く知られていたが、その機能以外に TBK1 の活性化に必須であることを示した。非自己 RNA 認識では TBK1 を介して重要な役割を果たしていることを明らかにした。また、NF κ B 活性化と抗ウイルスシグナルのクロストーク機構として捉えることが可能であり、新たな概念となった。

【特記、備考等】

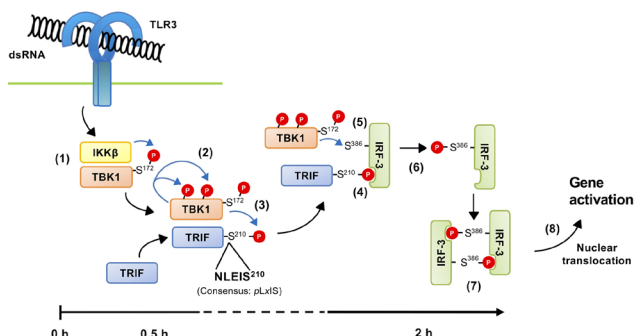
【主な研究課題】 抗ウイルス自然免疫応答における非自己 RNA の認識とそれによって誘導されるシグナルの解析

【背景・目的】

抗ウイルス自然免疫応答ではウイルス由来の「非自己 RNA」が認識されてシグナルが伝達される。非自己 RNA である長鎖二重鎖 RNA(dsRNA)の認識とその結果誘導されるシグナルには未知の部分が多い。その詳細を明らかにし、ウイルス感染に対抗する宿主の免疫応答を介した予防、治療につなげることを目的とした。

【成果の概要】

TLR3 はエンドソームで非自己 dsRNA を認識するセンサー分子であるが、認識の結果生じるシグナルには IKK β が重要な機能を果たしていることを世界に先駆けて証明した。



- 1) Abe, H., Satoh, J., Shirasaka, Y., Kogure, A., Kato, H., Ito, S. and Fujita, T. Priming Phosphorylation of TANK-Binding Kinase 1 by I κ B Kinase β Is Essential in Toll-Like Receptor 3/4 Signaling. Molecular and Cellular Biology 40, 2020 doi.org/10.1128/MCB.00509-19. March 2020
- 2) Duic, I., Tadakuma, H., Harada, Y., Yamaue, R., Deguchi, K., Suzuki, Y., Yoshimura, S. H., Kato, H., Takeyasu, K., and Fujita, T. (2020). Viral RNA recognition by LGP2 and MDA5, and activation of signaling through step-by-step conformational changes. Nucleic Acids Research, 2020 1 doi: 10.1093/nar/gkaa935

【学術的意義】

TLR3 によるウイルス dsRNA の認識とそれによって発生するシグナルにおける IKK β の新たな機能を明らかにした。

【今後の計画】

ウイルスが感染した結果生じる非自己 RNA は単一の構造的を示すのではなく、いくつかの特徴を有している。宿主の免疫監視機構がこれらをいかにして認識するのか、また自己の RNA には応答しない機構を明らかにする。

【課題の自己評価】

本研究は科学研究費補助金によって支援を受けた。IKK β は NF κ B 活性化における機能を担うシグナル分子であることが良く知られていたが、その機能以外に非自己 RNA 認識に重要な役割を果たしていることを明らかにした。また、NF κ B 活性化と抗ウイルスシグナルのクロストーク機構として捉えることが可能であり、新たな概念となった。

附属感染症モデル研究センター

D-1: 霊長類モデル分野

【構成員】 准教授：三浦智行

【分野題目】 霊長類モデルを用いた感染症の病原性解明と予防・治療法の開発

【研究概要】

当研究室ではレトロウイルス（HIV, SIV, SHIV）、フラビウイルス（DENV）およびコロナウイルス（SARS-CoV-2）の感染を分子・培養細胞・感染個体レベルで総合的に解析することにより、これらウイルスの病原性を解明し、ウイルス疾患の予防と治療法を開発することを目的としている。

【研究目標・課題】

- 1) サル/ヒト免疫不全ウイルス感染アカゲザルに誘導される広域中和抗体の解析
- 2) サル/ヒト免疫不全ウイルスの中和抵抗性獲得機構の解析
- 3) 中和抵抗性かつ CCR5 指向性のサル感染性 HIV の構築
- 4) デングウイルス感染霊長類モデル構築に向けた基盤研究
- 5) シュードタイプレンチウイルスを用いた新型コロナウイルス中和抗体測定法の開発

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

in vitro 中和アッセイ、霊長類感染実験施設を活用した霊長類感染症モデル実験、iPS 細胞研究所とのエイズ治療法に関する共同研究、霊長類研究所とのエイズ霊長類モデルに関する共同研究、国立感染症研究所との HIV ワクチンに関する共同研究、熊本大学との抗 HIV 中和抗体に関する共同研究、北海道大学との HIV ワクチンに関する共同研究

【主たる学術領域・関連学会】

ウイルス学、エイズ学、感染免疫学、実験動物学、病理学、日本ウイルス学会、日本エイズ学会、日本獣医学会、サル類の疾病と病理のための研究会

【分野における研究活動の自己評価】

サル/ヒト免疫不全ウイルス感染アカゲザルに誘導された中和抗体の解析により、強力な広域交差中和抗体が誘導されることを明らかにした。アカゲザル個体内で中和抵抗性を獲得したサル/ヒト免疫不全ウイルスの解析により、中和抵抗性獲得機構を解明した。デングウイルス感染霊長類モデル構築に向けた基礎情報を得た。シュードタイプレンチウイルスを用いた新型コロナウイルス中和抗体測定法を開発した。

【特記、備考等】

なし

霊長類モデル分野

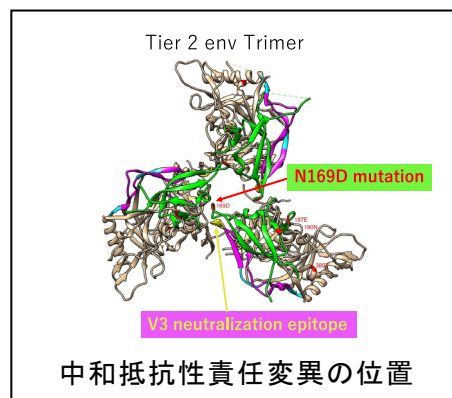
【主な研究課題】 霊長類モデルを用いた感染症の病原性解明と予防・治療法の開発

【背景・目的】

当研究室ではレトロウイルス（HIV, SIV, SHIV）、フラビウイルス（DENV）およびコロナウイルス（SARS-CoV-2）の感染を分子・培養細胞・感染個体レベルで総合的に解析することにより、これらウイルスの病原性を解明し、ウイルス疾患の予防と治療法を開発することを目的としている。

【成果の概要】

サル/ヒト免疫不全ウイルス感染アカゲザルに誘導された中和抗体の解析により、強力な広域交差中和抗体が誘導されることを明らかにした。アカゲザル個体内で中和抵抗性を獲得したサル/ヒト免疫不全ウイルスの解析により、中和抵抗性獲得機構を解明した。デングウイルス感染霊長類モデル構築に向けた基礎情報を得た。シュードタイプレンチウイルスを用いた新型コロナウイルス中和抗体測定法を開発した。



- 1) Kato, F, Ishida, Y, Kawakami, A, Takasaki, T, Saijo, M, Miura, T, Hishiki, T. (2018) Evaluation of *Macaca radiata* as a non-human primate model of Dengue virus infection. *Sci. Rep.*, 8: 3421. DOI: 10.1038/s41598-018-21582-9
- 2) Pisil, Y, Yazici, Z, Shida, H, Matsushita, S, Miura, T. (2020) Specific substitutions in region V2 of gp120 env confer SHIV neutralisation resistance. *Pathogens*, 9: 181. DOI: 10.3390/pathogens9030181.

【学術的意義】

中和感受性および中和抵抗性サル/ヒト免疫不全ウイルス感染アカゲザルモデルは、HIV の中和抵抗性獲得機構の解明と HIV ワクチンの開発に寄与し得る。新たなデングウイルス感染霊長類モデルは、抗デングウイルス薬やワクチン開発の一助になることが期待される。新型コロナウイルス中和抗体測定法は、今後 COVID-19 に対して抗体医薬による治療法を開発する上で重要な知見である。

【今後の計画】

中和抗体誘導アカゲザルモデルの解析から広域中和抗体誘導メカニズムを解明し、HIV ワクチン開発に繋げる。デングウイルス感染霊長類モデルの解析から抗デングウイルス薬やワクチン開発に繋げる。新型コロナウイルス中和抗体測定法を用いて治療薬やワクチン開発に繋げる。

【課題の自己評価】

霊長類モデルを用いて感染症の病原性解明と予防・治療法開発に繋がる基礎情報が着実に得られている。P3 レベルの霊長類感染実験施設は、国内はもとより世界的にみても貴重な施設なので今後とも有効に活用していきたい。

D-2: ウイルス共進化分野

【構成員】 准教授：宮沢孝幸

【分野題目】 ウイルスと宿主の共進化のメカニズムを解明する

【研究概要】

ヒト新興ウイルス感染症は、すべてヒト以外の動物に由来する。新興ウイルス感染症に対抗するためには、潜在的に存在する動物由来のウイルスを調べることが必要である。我々は新規モルビリウイルスとサルレトロウイルスの解析を行った。さらにウイルスと宿主の共進化を明らかにすべく、フォーミーウイルス（FV）とヒト内在性レトロウイルス（HERV）を解析した。FV が腫瘍抑制性のマイクロ RNA を大量に産生すること、HERV の新規 RNA 制御エレメント等、発見した。

【研究目標・課題】

- 1) 新興ウイルス感染症の病態解明、検出系の開発と応用
- 2) 抗腫瘍ウイルスの探索と医療応用
- 3) 内在性レトロウイルスと宿主の共進化機構の解明
- 4) 内在性レトロウイルスによるがん転移機構の解明とそれに基づく創薬
- 5) 実験動物の感染症予防

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

BSL-3 施設を用いたウイルス感染実験、in silico 解析による内在性レトロウイルスの探索、BSL-2 施設を用いたウイルス正常解析、京都大学霊長類研究所とのウイルスに関する共同研究、長崎大学熱帯医学研究所との新型コロナウイルスに関する共同研究、東海大学ならびに山口大学との内在性レトロウイルスに関する共同研究

【主たる学術領域・関連学会】

新興ウイルス感染症学、レトロウイルス学、進化学、免疫学、腫瘍学、日本分子生物学会、日本微生物生体学会、日本獣医学会、日本進化学会、日本ウイルス学会

【分野における研究活動の自己評価】

ニホンザルで致死性の疾患であるサルレトロウイルス 5 型の感染実験を行い、病態発現機構を解明した。さらに、霊長類研究所や生理学研究所の関連施設でのサルレトロウイルス感染症の根絶に貢献した。新規モルビリウイルスを国内で初めて分離し、性状解析を行うとともに、感染実験を行った。胎盤で機能する内在性レトロウイルスを探索するとともに、内在性レトロウイルス由来の新規 RNA 制御配列を発見した。ニホンザル由来非病原性レトロウイルスであるサルフォーミーウイルスが腫瘍抑制性のマイクロ RNA を大量に発現することを見だし、医療応用への道を拓いた。

【特記、備考等】

なし

【主な研究課題】 サルフォーミーウイルスの腫瘍抑制性マイクロ RNA 発現機構

【背景・目的】

マイクロ(mi)RNA は標的 mRNA の発現制御に関与している小分子 RNA である。近年、特定のウイルスに感染した細胞ではウイルス由来の miRNA が発現していることが報告されている。今回我々は、ニホンザル由来のサルフォーミーウイルス (SFVmfu) の持続感染細胞を用いて、SFVmfu 由来の miRNA の網羅的解析を行った。

【成果の概要】

その結果、持続感染細胞が発現する miRNA の約 33% が SFVmfu 由来であることがわかった。特に高度に発現されていた miRNA (SFVmfu-miR-S7-5p) は、抗腫瘍性 miRNA として報告されている miRNA-1 とシード配列が一致していた。この miRNA の標的 mRNA を明らかにするためにトランスクリプトーム解析を行った結果、複数の候補が得られた。特に悪性腫瘍などで発現が上昇している Adenylyl cyclase-associated protein 1 (CAP1) の mRNA が顕著に抑制されていた。レポーターアッセイを行った結果、SFVmfu-miR-S7-5p は CAP1 の 5' 非翻訳領域を認識し、CAP1 の mRNA を分解に誘導していることがわかった。

- 1) Hashimoto-Gotoh, A., Kitao, K., and Miyazawa, T.* 2020. Persistent infection of simian foamy virus derived from the Japanese macaque leads to the high-level expression of microRNA that resembles the miR-1 microRNA precursor family. *Microbes Environ.* 35(1): ME19130.
- 2) Hashimoto-Gotoh, A., Yoshikawa, R., Nakagawa, S., Okamoto, M., and Miyazawa, T.* 2020. Phylogenetic analyses reveal that simian foamy virus isolated from Japanese Yakushima macaques (*Macaca fuscata yakui*) is distinct from most of Japanese Hondo macaques (*Macaca fuscata fuscata*). *Gene* 734: 144382.

【学術的意義】

非病原性レトロウイルスであるフォーミーウイルスは宿主と共生しているが、共生機構は明らかになっていない。本研究はレトロウイルスと霊長類の共生機構を明らかにする端緒となった。さらに、本研究は新たな腫瘍治療法の開発につながるものと考えられる。

【今後の計画】

CAP1 の抑制が SFVmfu の増殖にどのように影響するのか、また、SFVmfu 由来 miRNA に腫瘍抑制効果があるのか、今後研究する予定である。

【課題の自己評価】

本研究は AMED 橋渡し研究戦略的推進プログラム（異分野融合型シーズ）の研究成果である。世界に先駆けて、非病原性レトロウイルスを用いた腫瘍抑制性マイクロ RNA 発現ハイブリッドベクターの開発に着手することができた。

附属ヒト ES 細胞研究センター

E-1: 臨床基盤分野

【構成員】 准教授：末盛博文、特定講師：川瀬栄八郎

【分野題目】 ヒト ES 細胞の医療応用に資する基盤研究開発

【研究概要】

医療利用可能なヒト ES 細胞株の樹立を行うため厚労省の許可を受け細胞培養施設を整備し、これはヒト ES 細胞の樹立施設としては唯一のものである。この施設を利用し臨床グレードの ES 細胞株をこれまでに 6 株作製し国内の研究者へ分配している。また ES 細胞の多能性を支える分子メカニズムの研究を行っており、新たな多能性状態の誘導に成功した。

【研究目標・課題】

- 1) 臨床利用できるヒト ES 細胞の作製技術の確立
- 2) 樹立培養工程を通じたモニタリングシステムの構築
- 3) 多能性幹細胞の未分化性維持機構の解明
- 4) 国内外の規制科学や国際調和（ICH）の分析と対応

【研究手法・施設活用、共同研究拠点活動等】

特定細胞加工物製造の許可を受けた培養施設でのヒト ES 細胞の作製と細胞ストックの構築。多能性幹細胞の特性解析技術の開発検証、鳥取大学医学部との心筋作製とその評価方法に関する共同研究、近畿大学との多能性維持機構に関する共同研究、協和発酵キリンとの多能性幹細胞の培養技術に関する共同研究

【主たる学術領域・関連学会】

再生医学、幹細胞生物学、分子生物学、日本再生医療学会、日本炎症・再生医学会、日本分子生物学会、国際幹細胞学会

【分野における研究活動の自己評価】

ヒト ES 細胞専用の細胞処理施設の構築、既存ヒト ES 細胞株の培養及び品質の確認、保存に関する品質保証システムの確立等の成果を挙げてきた。平成 29 年から臨床用 ES 細胞の樹立を開始し、平成 30 年 5 月に日本で初めての臨床用 ES 細胞の樹立に成功し、これを文部科学大臣/厚生労働大臣に報告した。その後現在までに計 5 株を樹立し、臨床応用を目指した研究機関などに分配を行っている。このほか多能性維持の分子機構についての解析、論文発表している。

【特記、備考等】

再生医療安全性確保法に基づく臨床研究に使用可能なヒト ES 細胞は現時点では本研究所からのみ供給可能であり、再生医療にかかわる研究者コミュニティに大きく貢献している。

臨床基盤分野

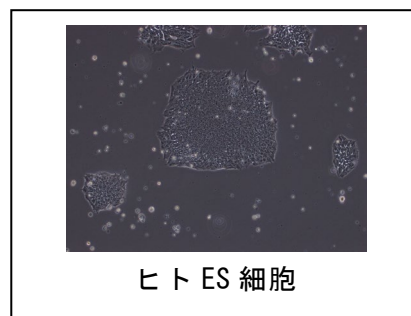
【主な研究課題】 ヒト ES 細胞の医療応用に資する基盤的研究開発

【背景・目的】

世界的な流れから日本でも臨床使用可能なヒト ES 細胞株の樹立が必要と考えられていた。臨床利用にかかわる法令指針に対応したヒト ES 細胞を研究開発に利用できるようクリーンな条件下で ES 細胞を作製するとともに詳細な特性解析を進める。

【成果の概要】

臨床用細胞培養施設の許可をうけ平成 29 年より ES 細胞の作製を開始、翌年には細胞株の樹立を報告した。作製した細胞株は詳細な特性解析と無菌性などの安全性に関わる試験を行ったうえで研究者に分配している。そのほか多能性の分子機構の解明を進め、NR5A1 遺伝子の過剰発現によりナイーブ/プライムの中に相当する状態に安定されることを明らかにした。



- 1) A Yamauchi, K., Ikeda, T., Hosokawa, M., Nakatsuji, N., Kawase, E., Chuma, S., Hasegawa, K., and Suemori, H.(2020) Overexpression of nuclear receptor 5A1 induces and maintains an intermediate state of conversion between primed and naive pluripotency. Stem Cell Reports. 14, 3, 506-519
- 2) Kawase, E., Takada K., Suemori, H. (2020). Kyoto hESC cell resource for regenerative medicine. Stem Cell Research 49, 102020.

【学術的意義】

多能性幹細胞を用いた細胞移植医療において、iPS 細胞に加え、本ヒト用 ES 細胞株を新たな選択肢として比較検討を進めることで、再生医療の安全性・有効性の向上に寄与することが期待される。また、ナイーブ型とプライム型の 2 種類の多能性についてこれらの状態がどのように相互に移行するのかは明らかでなかったが本研究により理解が深まった。

【今後の計画】

令和 2 年度に附属ヒト ES 細胞研究センターが設置され、さらに本研究事業の促進、高度化を推進する。今後数年の間に当初目標である 20 株のストックを作製しより多くのユーザーに分配する。多能性の分子機構の解明を進めるとともに、より安全で効率の良い培養技術開発や再生医療製品の製造技術の向上を目指す。

【課題の自己評価】

医薬品製造に準じた条件下でのヒト ES 細胞作製を、開始から 1 年足らずの間に成功させた。本施設は再生医療安全性確保法に基づくヒト ES 細胞樹立機関であり、当面は臨床研究に向けての細胞を供給できる唯一の機関としてこれまでに作製した 5 細胞株の分配を行なっている。また、従来から継続的に実施している未分化性の分子機構解析に加え、特性解析技術の確立やその国際基準への対応などスタンダードとなりうると考えられる。

(2) 附属研究施設の概要と課題

1) 附属感染症モデル研究センター

【支援事業の概要】

本センターでは、1、小動物飼育施設の維持管理、2、マウス作製支援、3、霊長類飼育施設の維持管理の3つを柱に動物実験支援を行っている。

1. 小動物飼育室の維持管理では利用者の目的に応じて SPF、コンベンショナル、BSL1,2,3 の微生物学的統御レベルの異なる各部屋を準備し提供している。
2. マウス作製支援では体外受精による微生物学的クリーニング、コロニー拡大、凍結受精卵の作製保存やインジェクションおよびエレクトロポレーションによる遺伝子改変マウスの作製を行っている。
3. 霊長類飼育施設では、P3 施設において、霊長類（マカク属）を用いた感染実験を行っている。支援内容は、実験に供される霊長類の飼育管理、実験用採材・実験処置（採血、骨髓液採取、リンパ節採取、投薬、剖検時の採材、他）などである。

【期間中の実績】

平成 28 年から令和 2 年度の 5 年間の実績はそれぞれ下記の通りである。

1. 小動物の維持管理において、およそ 3,000 ケージでの飼育可能な体制を維持している。また毎年 100 名程度の利用者を対象とした施設の利用者講習会と、20 から 30 名程度の新規利用者への説明会を開催している。
2. マウス作製支援では 5 年間でおよそ 23 万個の受精卵を作製と 80 クローンのノックアウトマウス作製、140 件のトランスジェニックマウス作製、303 件の CRISPR Cas9 を用いた遺伝子編集を行い、共著者として 19 報の論文報告を行った。
3. 霊長類飼育関係で採択された共同研究採択課題は、霊長類 P3 感染実験 18 件、遺伝子・細胞レベルのウイルス・生命科学研究 7 件（延べ）である。主に、エイズウイルスに関する感染モデル・治療薬・免疫応答に関する研究支援を行った。

【自己評価】

1. 小動物飼育施設では、実験に必要な各種レベルの微生物学統御した飼育環境を提供しており非常に充実している。
2. マウス作製支援では内容により、実施まで時間を要する事もあるが、全ての依頼を滞りなく遂行できている。
3. 霊長類飼育関係では共同研究採択課題以外にも、利用研究室個別の共同研究の需要にも対応し、研究者に対しては採材条件の確認や、供試個体状況の提供を積極的に実施した。種々の制約がある状況下で、供試動物へのエンリッチメント、体調管理に関して出来る限りの配慮を行った。

【今後の課題と計画】

1. 小動物飼育施設では、改修された 3 号館の動物飼育室に未稼働の部屋があるため、この飼育室の稼働に向け整備を進めたい。
2. マウス作製支援では常に発展している新しい技術を遅れる事なく取り入れ、利用者に評価していただけるサービス提供を続けたい。
3. 霊長類飼育関係では、共同利用・共同研究拠点の指定から外れることに伴い、種々状況が変化することが予想される。しかし、それらの状況に対応した、供試動物への配慮と、実験の円滑な遂行・終了を心がけたい。

2) 附属再生実験動物施設

【支援事業の概要】

当施設は、ウイルス・再生医科学研究所がミッションとしているウイルス感染・免疫研究、幹細胞・再生医学研究および生命システム研究を強力に推し進める研究支援組織として、SPF マウス飼育施設の維持・管理と遺伝子改変マウス作製や凍結保管を任務としている。

【期間中の実績】

1. 単独の SPF マウス飼育施設（地上 4 階地下 1 階）において、年間約 4,000 ケージ、約 12,000 匹のマウスを 20 名のスタッフとともに飼育管理した。また毎年 150 名程度の利用者登録があり、これらに対して利用者講習会を実施した。
2. マウス作製業務として年間約 300 件の体外受精によるマウス作製、年間約 100 件のマイクロインジェクションによる新規遺伝子改変マウス作製を実施し、その成果として、研究所内外の 20 報の論文発表に寄与した。
3. イヌを用いた再生医療の前臨床研究を支援するために 200 頭の飼育設備を維持した。

【自己評価】

1. 施設管理について：SPF マウス飼育施設では、クリーンエリアの綿密な衛生管理、厳密な人員・物品の入退出管理、搬入マウスの完全クリーンアップ、利用者に対する綿密な教育訓練等の措置により、開業以来 18 年間微生物感染事故が皆無であることは誇るべきである。一方、旧 3 号館動物実験施設においては、イヌ、ウサギ、ラット、マウス等多様な動物を飼育管理し、主に前臨床段階の研究の支援を行っていたが、研究所の統合や研究環境の変化に伴いその役目を終了した。なお、リニューアルした 3 号館動物実験施設は、当施設から感染症モデル研究センターへ移行した。
2. マウス作製について：時代とともに遺伝子改変マウスの需要内容は変化する。以前は、単純に遺伝子破壊マウスを作ればよかったが、昨今では、遺伝子挿入マウス作製、多重変異マウス作製、スピードコンジェニック化の依頼が急増し、またヒト化マウス作製のための超免疫不全マウスの大量使用も顕著である。当施設は、ゲノム編集技術、若年マウスを用いた体外受精技術や精子・卵の簡易凍結保存技術等の最新鋭の手法を取り入れながら、これらのニーズに即応してきたと自負している。

【今後の課題と計画】

SPF マウス飼育施設を開業して 20 年近くになり、各部署のスタッフの熟練度は最高レベルに達しておりソフト面ではほぼ問題はないが、設備の経年劣化、老朽化は否めない。これまで、機会があるたびに冷温水機やボイラーといった主要設備の取り換えを行ってきたが、今後は、計画性をもって施設全般の設備更新を図っていく必要があるだろう。

3) 附属ヒト ES 細胞研究センター

【支援事業の概要】

本センターは、ヒト ES 細胞株の樹立体制および研究機能の強化を目的として、令和 2 年度 4 月より新設された。多能性を有する幹細胞株として ES 細胞株と iPS 細胞株が知られているが、ヒト ES 細胞株はヒト iPS 細胞株に先立って樹立方法が確立され、基礎研究、医療応用の両面で研究開発が進められている。国内では本研究所の他に国立成育医療センターがヒト ES 細胞株の樹立機関として認可されているが、本学では「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」における特定細胞加工物製造許可にもとづいて、臨床用ヒト ES 細胞株の樹立と分配を行っている。その学術的意義や医療応用へ向けた利用価値を考えると、ヒト ES 細胞株の樹立体制の強化・安定化を図ることは重要である。本センターでは、ヒト ES 細胞株の臨床応用を目指して、高品質なヒト ES 細胞株を供給する体制を強化する。また、国内外の研究組織・病院との連携を強化することにより、本学における幹細胞研究および再生医療の実現化を加速化する事を目指す。

【期間中の実績】

ヒト ES 細胞の樹立業務と品質管理による直近の臨床応用推進を担当する「臨床基盤分野」と中長期的な臨床応用利用の開発研究を行う「基礎技術開発分野」に教員を配置し、これまでの本邦での唯一の医療用ヒト ES 細胞の作製と分配機能施設の役割に加え、将来の再生医療への臨床応用拡大に向けての研究開発機能を強化した。令和 2 年度の実績として、ヒト ES 細胞の分配を 14 件行った外、ヒト ES 細胞の 4 株について、全ゲノム配列を決定し、その品質管理体制を構築した。

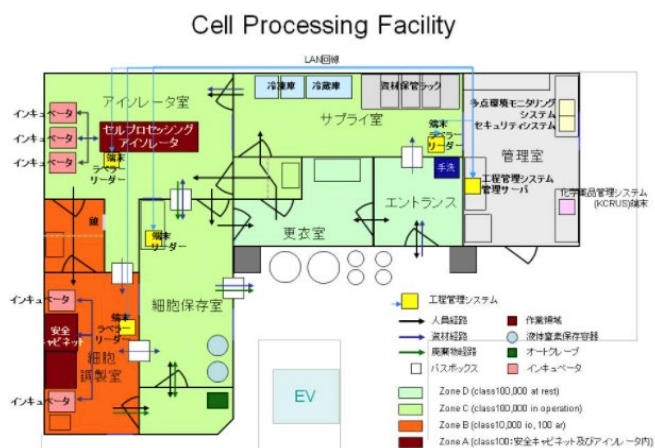
【自己評価】

ヒト ES 細胞専用の細胞処理施設の構築、既存ヒト ES 細胞株の培養及び品質の確認、保存に関する品質保証システムの確立等の成果を挙げてきた。平成 29 年から臨床用 ES 細胞の樹立を開始し、平成 30 年 5 月に日本で初めての臨床用 ES 細胞の樹立に成功し、これを文部科学大臣/厚生労働大臣に報告した。その後現在までに計 6 株を樹立し、臨床応用を目指した研究機関などに分配を行っている。このほか多能性維持の分子機構について解析、論文発表するなど当該研究分野の発展に貢献している。これらの成果に基づき令和 2 年度よりヒト ES 細胞研究センターとして継続的な活動を行っている。

【今後の課題と計画】

多能性の分子機構の解明を進めるとともに、より安全で効率の良い培養技術開発や再生医療製品の製造技術の向上を目指す。令和 2 年度に附属ヒト ES 細胞研究センターが設置され、さらに本研究事業の促進、高度化を推進する。今後数年の間に当初目標である 20 株のストックを作製しより多くのユーザーに分配する。研究開発の成果

の広報などを通じて国内の関連する研究分野の基盤強化を進める。



(3) 共同利用・共同研究拠点

1) ウイルス感染症・生命科学先端融合的共同研究拠点

【概要】

近年のエイズウイルスの世界規模での感染拡大、新型インフルエンザ流行の危険性増大、癌を引き起こすヒト T 細胞白血病ウイルスや C 型肝炎ウイルスの蔓延など、新興・再興ウイルス感染症は、依然として人類にとって大きな脅威となっている。このようなウイルス感染症に対処するには、単にウイルスそのものや遺伝子だけを扱うレベルの研究ではなく、細胞・個体レベルでの解析をもカバーするような先端融合のウイルス研究の推進が重要である。また、基礎医学・生命科学分野においては、ウイルスベクターによる個体への遺伝子導入実験への要望も高まっている。ヒトにおける感染病態の理解、応用を見据えた新たな治療戦略の開発といった研究には、サルやマウスを使った P3 レベルの感染実験が必須であるが、そのためには飼育施設だけでなく、十分な経験を持った教員や技術職員による実験指導・支援・教育が必要となる。

本共同利用・共同研究拠点は平成 21 年 6 月に「ウイルス感染症・生命科学先端融合的共同研究拠点」として認定された。本研究拠頭に設置された、霊長類及びマウスの P3 感染実験施設を活用した個体レベルの感染実験、最先端の研究手法を駆使した遺伝子・細胞レベルのウイルス研究など、これまで築き上げてきた研究手法や感染実験施設を活用して、ウイルス感染症・生命科学研究の推進を目指している。

【主な共同研究の成果】

本期間中に得られた成果の一部を記す。

- 妊娠期の腹部伸展を担う高い増殖能を持つ表皮幹細胞を発見し、その鍵となる因子として転写因子 Tbx3 を同定した。表皮幹細胞から産生される増殖性の高い新規の細胞系譜の存在が明らかとなった。この細胞系譜は、妊娠期の皮膚拡張や創傷治癒に必須であり、皮膚の拡張時に重要な役割を果たす。
- 主要組織適合抗原 (MHC) が不適合の宿主を介して連続的に継代された MHC 適応型エイズウイルスの生体内における病原性を、サルエイズモデルを用いて明らかにした。MHC 不適合宿主を介して連続的に継代されエイズウイルスの病原性が増加することがわかり、予防・治療法を考える上で重要な情報が得られた。
- クライオ電子顕微鏡解析により、エボラウイルスのヌクレオカプシドのコア構造である NP-RNA 複合体の構造を近原子分解能で決定し、NP-RNA の形成に重要なアミノ酸残基を同定した。ヌクレオカプシドの形成を阻害する低分子化合物の設計など、抗エボ

ラウイルス薬の開発につながる事が期待される。

- 静止期 CD4 陽性 T 細胞で発現する RNA 分解酵素 (N4BP1) がエイズウイルス (HIV-1) の mRNA を切断すること、一方、活性化 CD4 陽性 T 細胞ではこの N4BP1 はタンパク質分解酵素 (MALT1) により分解され、その機能を失うことがわかった。このことより、HIV-1 の潜伏化機構が解明され、潜伏感染細胞の排除によるエイズ根絶療法の開発へと発展することが期待される。
- エイズウイルス mRNA を切断する酵素を同定した。静止期で発現する酵素が、エイズウイルス (HIV-1) mRNA の切断によりその感染を抑制すること、一方、活性化細胞ではこの酵素はタンパク質分解酵素の切断により機能を失うことから、HIV-1 の潜伏化に関わることがわかった。

【自己評価】

平成 28 年 10 月のウイルス研究所と再生医科学研究所との組織統合により、霊長類やマウスを含む実験動物へのウイルス感染実験能力に加えて、オルガノイド培養系などの発生・組織学ならびに単一細胞 RNA シークエンス法 (SC-RNA-seq) などの遺伝子情報解析能力が格段に向上し、これまでの解析の視点から進んでウイルス学、発生・組織学、生命科学、再生医科学を俯瞰化する手法の取り組みを始めた。それとともに、特に新型コロナウイルスを含む RNA ウイルスに関する研究の強化を図った。これらにより、本研究所及び共同利用・共同研究拠点としての研究能力の強化に取り組んだ。また、平成 30 年度より、再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点と合同報告会を年度末に開催している。令和元年度の発表会は、新型コロナウイルスによる非常事態宣言により中止したものの、令和 2 年度の発表会は、オンラインで開催した。これらの学術交流の機会を通じて、学外利用者の増加に努めた。採択共同研究課題数も平成 30 年度以降増加している (応募・採択状況参照)。本期間においては、ウイルス学を中心とした基礎生命科学の中核的拠点として、国内有数の霊長類及びマウスの P3 感染実験室等を活用しつつ研究を推進することで成果を挙げた。

令和 4 年度から、再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点と統合して、新たにウイルス・幹細胞システム医生物学共同研究拠点が発足するが、研究支援体制の充実や学外研究者の参加促進に向けた情報発信強化等、共同利用・共同研究のマネジメント機能を更に向上させ、拠点機能の強化を目指す。

【応募・採択状況】

	H28	H29	H30	R1	R2
応募件数	29	25	21	24	26
採択件数	27	23	20	23	26

2) 再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点

【概要】

本共同利用・共同研究拠点は、平成 20 年 10 月に「再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点」に認定された。本拠点は、再生医学・再生医療の発展を望む研究者コミュニティの要望に応えるべく、研究所に集約された再生医学の知識・技術を基に、多様な先端的共同研究を推進するとともに、再生医学研究・再生医療を積極的、意欲的に担う研究者を教育・育成することを目的としている。この目的のため、生体調節、生体統御、生体材料に関する基盤研究及び医工学技術開発を主とする基礎的研究や臨床応用のための治療法及び再生組織、臓器の開発を主とする応用研究を実施している。これにより、全国的な再生医学の総括的研究、分野横断的・学際的研究の推進、さらに、再生医療の臨床応用に向けて、技術、マテリアルの全国的標準化に寄与することを目指している。

【主な共同研究の成果】

本期間中に得られた成果の一部を記す。

- Tenomodulin (Tnmd)は、主に腱・靱帯で発現し、Scleraxis (Scx)が転写活性化因子として働く。本研究では、Scx 欠失マウス及び siRNA によるノックダウンにより、Scx が Tnmd の発現制御において重要な役割を担っていることを明らかにした。また、腱・靱帯の分化・成熟に関わる転写制御機構の一端を解明した。
- 早期 B 細胞転写因子である Ebf3 が、骨髄において造血幹細胞を維持するニッチの主要な構成要素である CAR/LepR+細胞において優先的に発現され、この細胞が自己再生する骨髄間葉系幹細胞であることを見出した。また、Ebf1 と共同的に機能して骨髄腔形成、ひいては造血幹細胞ニッチの維持に必須であることを見出した。
- iPS/ES 細胞の TCR 遺伝子座にカセットデッキ構造を組み入れ、TCR 遺伝子をカセットテープのように挿入する方法を構築した。これにより安全かつ簡便に TCR 遺伝子を導入することが可能となり、がん免疫療法などへの応用が期待される。出願された特許は、汎用性の T 細胞製剤を作製する上で基本特許の一つとなり得る。
- 細胞が力学環境に適応する上で、細胞外から細胞内への接着分子複合体を介した力の伝達が重要である。AFM を用いて、形成初期における複合体の細胞膜上での剛性を測定した結果、その剛性は時間に対して増加し、その増加には Talin が重要であることが示された。これにより細胞接着制御におけるナノ力学の重要性を示した。
- 先天性側弯症(CS)と脊椎肋骨異骨症患者(SCD)において TBX6 遺伝子の変異を解析した結果、CS では 16p11.2 の欠損、スプライシング変異、ミスセンス変異等を認め、す

べて対立遺伝子はリスク多型を有していた。一方、SCD で複合ミスセンス変異が検出され、患者由来 iPS 細胞を用いた解析により、前体節中胚葉細胞において TBX6 の核内移行阻害が判明し、ミスセンス変異の機能的異常を初めて示した。

【自己評価】

平成 28 年 10 月に行ったウイルス研究所と再生医科学研究所の組織統合により、ウイルス研究と再生組織構築研究それぞれの研究推進の強化と両分野の融合による新たな生命医学分野の創出を推進した。また、医学、生命科学、工学の融合分野を創生するため、生命システム研究部門を設置し、生命システム分野の研究を強化した。これらにより、本研究所並びに共同利用・共同研究拠点としての研究能力の向上を図った。学会活動や個別の研究活動を通じた全国の研究所や大学への再生医学・再生医療分野として ES 細胞研究や組織・がん幹細胞、医療工学の共同研究の積極的な広報活動の結果、応募・採択共同研究課題数ともに本期間中増加した。また、国際共同研究の採択件数も増加した。拠点の方向性についての対応は、拠点運営委員会ならびに毎月の教授会で検討を重ね、2 つの拠点の統一化、ヒト ES 細胞、幹細胞・組織再生学の研究資源、技術の共同利用など、再生拠点の現在のコンセプトである「先端再生医療・再生医療研究」のリフォーム等について検討した。「再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点」と「ウイルス感染症・生命科学先端融合的共同研究拠点」との共同研究合同報告会を開催し、学外利用者による研究成果発表会を行ってきた。

令和 4 年度から、ウイルス感染症・生命科学先端融合的共同研究拠点と統合して、新たにウイルス・幹細胞システム医生物学共同研究拠点が発足するが、研究支援体制の充実や学外研究者の参加促進に向けた情報発信強化等、共同利用・共同研究のマネジメント機能を更に向上させ、拠点機能の強化を目指す。

【応募・採択状況】

	H28	H29	H30	R1	R2
応募件数	16	16	17	25	25
採択件数	13	12	13	19	20

3. まとめ

1. 活動状況のまとめ

平成 28 年度から令和 2 年度までの 5 年間のウイルス・再生医科学研究所の活動に関し、特記事項を以下にまとめる。

- 本研究所は、ウイルス感染症学・再生医科学・生命システム学を研究の基軸として、生物学・医学・薬学・工学の広範な範囲の研究分野との学際研究・異分野融合研究を加速し、新しい学術分野を創出するとともに未来の学術分野を生み出す人材を育成することを目指している。
- 平成 28 年にウイルス・再生医科学研究所として組織統合し、3 研究部門と 2 施設に改組した。また、2 つの研究分野を新設し、生命システム研究を推進した。
- 平成 28 年に諮問会議を設置し、本研究所の現状と将来計画について助言を得て、共同利用・共同研究の改善や生命システム研究部門の強化を推進した。また、教員人事の流動性を確保するため、助教、講師、准教授を対象に任期制を導入した。
- 外部資金獲得額は平均で年間 1 億 7 千万円であり、定員内教員一人当たり約 2,600 万円となり高水準を維持した。特に、若手教授を含む教員が、科学技術振興機構や日本医療研究開発機構から大型研究費を獲得した。
- 本邦における医療用ヒト ES 細胞の樹立・分配機能を強化するため、令和 2 年に附属ヒト ES 細胞研究センターを設置した。
- 新たに生命システム研究を展開し、生命システム・細胞社会動態の理解を目指した多様な研究展開を進めた。英文論文は平均で年間 170 報を発表した。ウイルス学、免疫学、組織再生医科学、組織再生工学、分子細胞生物学、数理科学の分野で独自の研究を推進した。
- 日本学術振興会の国際研究拠点形成事業を実施し高評価を得た。また、国内外の国際シンポジウム開催に参加し、国際的なネットワーク形成を推進した。
- 協力講座として 6 つの研究科に所属し、平均 160 名の大学院生が在籍し、年間平均 18 名の博士号取得者を輩出した。また、全学共通科目・ILAS セミナー・学部専門科目を提供し、学部教育に積極的に携わった。
- 中高校生の見学の受け入れ、研究所公開講演会、京都大学附置研究所・センターシンポジウム、共同利用・共同研究拠点協議会主催セミナー等での講演、記者発表、ホームページへの掲載等により広く研究成果を情報発信した。

平成 28 年にウイルス・再生医科学研究所として組織統合し、ウイルス感染症学と再生医科学に加え生命システム学を新たな研究の基軸として、様々な研究分野との学際研究・異分

野融合研究を推進した。その結果、論文成果の発表と外部資金獲得が高水準に推移したと考えられる。また、大学院教育と学部教育に積極的に携わり、活発な情報公開を行った。

2. 今後の課題

自己点検評価から浮かび上がった課題について以下にまとめる。

研究所統合を起点として、ウイルス感染症学・再生医科学・生命システム学の新しい学術領域の創出・発展を担う研究組織の構築と人材の配置が進められ、単なる2部局の統合を超えた新研究所が順調に発足した。今後、新たな学術・技術の進歩に即応して進化し、新たな学術分野と独創的な研究を創出するハブとして機能し続けるためには、優秀な人材の育成・登用と研究所の枠を超えた研究交流、研究所機能の更なる強化が求められる。

人事の流動性の確保や女性教員・若手教員の拡充に向けた積極的対応を進めており、順調に推移しているが、まだ目標には届いていない。継続的に対応することが不可欠である。

また、研究所交流セミナーをきっかけに所内の相互理解が深まり、異分野横断的な共同研究が進んだことは特筆すべきことである。異なる分野の第一線の研究者が集合する研究所の特性を最大限に生かして、今後も所内研究交流を積極的に進めるべきである。一方、学内外の研究者との交流の機会も設け、令和4年度から統合される共同研究拠点事業も活用して、学際研究・異分野融合研究を最大限に加速することが望まれる。

研究所統合による規模の拡大に伴い、機能強化を図る必要がある。動物実験施設管理の一元化や広報機能の充実は喫緊の課題である。また、各種委員会等の機能を整理強化し、研究所管理の分業体制を確立することが求められる。



京都大学ウイルス・再生医科学研究所

Email: 330soumu@mail2.adm.kyoto-u.ac.jp

TEL: 075-751-3802