

[033]九州大学生体防御医学研究所年報 : 2018年

<https://hdl.handle.net/2324/6617896>

出版情報 : 九州大学生体防御医学研究所年報. 33, pp.1-, 2019. Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University

バージョン :

権利関係 :



細胞機能制御学部門
Department of Molecular and Cellular Biology

分子医科学分野

Division of Cell Biology

教 授：中山 敬一

Professor : Keiichi Nakayama, M.D., Ph.D.

分子医科学分野（旧分子発現制御学分野）では，細胞の基本的性質である細胞周期と細胞死を制御する分子メカニズムを，遺伝学的・生化学的・細胞生物学的・発生工学的手法を用いて研究を進めている．つまり細胞周期や細胞死の制御に関わっていると推測される分子の遺伝子を単離同定し，最終的にはその遺伝子を破壊したマウス（ノックアウトマウス）を人工的に作製し，その異常を調べることによって，その分子の生理的役割を個体レベルで明らかにしようというものである．同時に最新のプロテオミクス技術を駆使して，これらの変異マウスにおけるタンパク質の異常を網羅的に解析している．つまり遺伝学と生化学の両面から生物現象に迫るという手法を用いて，細胞の分化段階特異的な細胞周期と細胞死の制御因子の量的制御機構を，選択的タンパク質分解の視点から取り組んでいる．またこれらの異常がどのように発癌に関与するかという分子メカニズムの解明から，癌に対する根本的治療法の確立を目指している．

分子医科学分野は，中山敬一教授（主幹教授），松本有樹修准教授，片山雄太助教の教員を中心に，学術研究員 4 名（うち 1 名は特任准教授称号付与），大学院生 16 名（博士課程 12 名，修士課程 4 名），テクニカルスタッフ 5 名，共同研究員 2 名の体制で研究を進めている（2019 年 3 月 31 日現在）．

人事異動について，2018 年 4 月より片山雄太学術研究員を助教に，弓本佳苗助教を学術研究員（特任助教称号付与）に採用した．また 2018 年 4 月より岡毅寛（九州大学医学部医学科・卒），坂口千尋（九州大学医学部病態制御内科学），田中栄蔵（九州大学医学部神経内科学），和田玲緒名（北海道大学医学部医学科・卒），見世慎太郎（テクニカルスタッフ）が大学院博士課程に，白石大智（九州大学医学部生命科学科・卒），立石千瑳（九州大学医学部生命科学科・卒）が同修士課程に入学した．

次いで退職者として，2018 年 11 月末に南嶋洋司特任准教授が群馬大学医学部教授として転出した．また 2018 年 7 月末に舟崎慎太郎学術研究員が熊本大学国際先端医学研究機構リサーチスペシャリストとして転出した．また 2019 年 3 月末に大学院生修士課程の市原知哉と杉山成明が卒業した（同 4 月より引き続き博士課程へ進学予定）．

A. 自閉症関連因子 CHD8 による脂肪分化制御の研究

自閉症は胎生期における神経発生の異常が原因で起こる脳の疾患で，社会的相互作用（コミュニケーション）の障害や，決まった手順を踏むことへの強いこだわり（固執傾

向), 反復・限定された行動などの特徴を持つ. さらに, CHD8 遺伝子に変異を持つ自閉症患者では痩せ型の人が多いという特徴が報告されている. このことから, CHD8 が神経発生だけではなく, 代謝機能や脂肪組織の発生などでも重要な機能を有していることが示唆されていたが, その具体的なメカニズムは分かっていなかった. 脂肪幹細胞は分化刺激を与えることによって成熟脂肪細胞へ分化し, 細胞内に脂肪滴を蓄積させることができるが, 遺伝子操作で CHD8 を欠失させた脂肪幹細胞を作製すると, これらの変異細胞に脂肪分化の刺激を与えても成熟脂肪細胞への分化や脂肪滴の蓄積が起こらないことが判明した. この結果は, CHD8 が脂肪分化や脂肪滴の蓄積に重要であることを示している. 次に, CHD8 の欠損が脂肪分化や脂肪滴の蓄積を阻害する理由を調べるために, CHD8 を欠失させた脂肪幹細胞を用いて, 細胞内の全遺伝子の発現状態を総合的に調べるトランスクリプトーム解析を行った結果, CHD8 を欠失した脂肪幹細胞では成熟脂肪細胞への分化に重要な C/EBP β の活性が顕著に低下していることが分かった. また, CHD8 と C/EBP β は細胞内で結合して機能しており, 多くの脂肪関連遺伝子群の発現を協調的に調節していることが明らかとなった. さらに, 脂肪幹細胞特異的に CHD8 を欠損させたマウスを作製して, CHD8 の欠損が生体内の脂肪組織の発達に与える影響を調べたところ, これらの CHD8 欠損マウスは, 著しい脂肪組織量の減少をきたした. また, マウスが成熟した後に, 薬剤誘導的に CHD8 遺伝子を欠損させたところ, 高脂肪食を食べても太らなくなることも明らかとなった. 以上の結果より, 脂肪幹細胞において CHD8 の機能を抑制させると脂肪関連遺伝子の発現が減少し, 脂肪細胞への分化不全が起こることが明らかになり, これが CHD8 遺伝子に変異を持つ自閉症患者における痩せを引き起こしている可能性があることが判明した. 本研究結果は, CHD8 が神経分化だけではなく, 脂肪分化にも重要な因子であることを示すと同時に, CHD8 変異を持つ自閉症の病態に新たな知見を提供するものであると同時に, 脂肪細胞でのみ CHD8 の発現を抑制することで肥満を抑えることができる可能性を示した. 今後は CHD8 をターゲットとした阻害剤の探索を行うことで, 肥満治療薬への応用を目指していきたいと考えている.

B. 鉄代謝制御因子 FBXL5 による肝臓がん抑制効果の研究

鉄は種々のタンパク質の活性中心として生命活動に必須の役割を担う一方で, その高い反応性ゆえに過剰な鉄は活性酸素の発生源となり, 細胞毒性をもたらす. 近年, 造血不全や肝臓がんなどの様々な疾患において, 組織への鉄の過剰な蓄積が病態に関与していることが注目されているが, どのように鉄が蓄積し疾患の発症や増悪に至るかの分子メカニズムはほとんど明らかになっていない. 哺乳類細胞の鉄代謝は, ユビキチンリガーゼ FBXL5 と鉄代謝制御因子 IRP2 によって厳密に調節されている. IRP2 は mRNA 結合タンパク質として働き, 鉄代謝関連因子群の発現量を制御している. そして細胞内の鉄が過剰にある時には FBXL5 が SCF 複合体型ユビキチンリガーゼ SCF^{FBXL5} を

形成して IRP2 をユビキチン化し分解する。われわれは遺伝子改変マウスを用いた解析から、生体内における鉄ホメオスタシスが FBXL5 によって厳密に制御されることが組織の機能維持に重要であり、その破綻は幹細胞の機能不全や発がんなどの病態に深く関わっていることを明らかにした。成体血球細胞系譜において特異的に FBXL5 を欠損したマウスを作出したところ、造血幹細胞に鉄の蓄積をきたし、骨髓再構築能の障害が認められた。網羅的な遺伝子発現解析の結果から、酸化ストレス応答系の異常な活性化と、静止期からの逸脱が明らかになった。以上より FBXL5 による鉄制御は、造血幹細胞の機能維持に重要な働きを担っていると考えられた。さらに、ヒトの造血不全症例において、造血幹細胞の FBXL5 の発現低下が判明したことから、FBXL5 の量的異常がヒトの造血障害の病態にも関与している可能性が示唆された。また、成体肝臓において特異的に FBXL5 を欠損したマウスを作出したところ、鉄の過剰な蓄積と酸化ストレスをきたし、肝臓がんの進行が強力に促進されることが明らかになった。ヒトの肝臓がんの臨床検体を用いた解析を行ったところ、腫瘍部における FBXL5 の発現低下が予後不良因子であることが示されたことから、ヒトの肝臓がんにおいても FBXL5-IRP2 系の制御異常が病態に関与しており、肝臓がん治療の新たな分子治療標的となる可能性がある。

業績目録

原著論文

1. Nakayama, S., Yumimoto, K., Kawamura, A., Nakayama, K. I. 2018.
Degradation of the endoplasmic reticulum-anchored transcription factor MyRF by the ubiquitin ligase SCF(Fbxw7) in a manner dependent on the kinase GSK-3.
J. Biol. Chem., 293, 5705-5714.
2. Kita, Y., Katayama, Y., Shiraishi, T., Oka, T., Sato, T., Suyama, M., Ohkawa, Y., Miyata, K., Oike, Y., Shirane, M., Nishiyama, M., Nakayama, K. I. 2018.
The autism-related protein CHD8 cooperates with C/EBP β to regulate adipogenesis.
Cell Rep., 23, 1988-2000.
3. Sumitomo, A., Saka, A., Ueta, K., Horike, K., Hirai, K., Gamo, N. J., Hikida, T., Nakayama, K. I., Sawa, A., Sakurai, T., Tomoda, T. 2018.
Methylphenidate and guanfacine ameliorate ADHD-like phenotypes in Fez1-deficient mice.
Mol. Neuropsychiatry, 3, 223-233.
4. Hashimoto, Y., Shirane, M., Nakayama, K. I. 2018.
TMEM55B contributes to lysosomal homeostasis and amino acid-induced mTORC1 activation.
Genes Cells, 23, 418-434.

5. Hosokawa, H., Ungerback, J., Wang, X., Matsumoto, M., Nakayama, K. I., Cohen, S. M., Tanaka, T., Rothenberg, E. V. 2018.
Transcription factor PU.1 represses and activates gene expression in early T cells by redirecting partner transcription factor binding.
Immunity, 48, 1119-1134.e1117.
6. Nakatsumi, H., Oka, T., Higa, T., Shirane, M., Nakayama, K. I. 2018.
Nuclear-cytoplasmic shuttling protein PP2A^{B56} contributes to mTORC1-dependent dephosphorylation of FOXK1.
Genes Cells, 23, 599-605.
7. Watanabe, S., Fujiyama, H., Takafuji, T., Kayama, K., Matsumoto, M., Nakayama, K. I., Yoshida, K., Sugimoto, N., Fujita, M. 2018.
GRWD1 regulates ribosomal protein L23 levels via the ubiquitin-proteasome system.
J. Cell Sci., 131, jcs213009.
8. Kawata, K., Hatano, A., Yugi, K., Kubota, H., Sano, T., Fujii, M., Tomizawa, Y., Kokaji, T., Tanaka, K. Y., Uda, S., Suzuki, Y., Matsumoto, M., Nakayama, K. I., Saitoh, K., Kato, K., Ueno, A., Ohishi, M., Hirayama, A., Soga, T., Kuroda, S. 2018.
Trans-omic analysis reveals selective responses to induced and basal insulin across signaling, transcriptional, and metabolic networks.
iScience, 7, 212-229.
9. Matsumoto, J., Takada, S., Kinugawa, S., Furihata, T., Nambu, H., Kakutani, N., Tsuda, M., Fukushima, A., Yokota, T., Tanaka, S., Takahashi, H., Watanabe, M., Hatakeyama, S., Matsumoto, M., Nakayama, K. I., Otsuka, Y., Sabe, H., Tsutsui, H., Anzai, T. 2018.
Brain-derived neurotrophic factor improves limited exercise capacity in mice with heart failure.
Circulation, 138, 2064-2066.
10. Hosokawa, H., Romero-Wolf, M., Yui, M. A., Ungerback, J., Quilolan, M. L. G., Matsumoto, M., Nakayama, K. I., Tanaka, T., Rothenberg, E. V. 2018.
Bcl11b sets pro-T cell fate by site-specific cofactor recruitment and by repressing Id2 and Zbtb16.
Nat. Immunol., 19, 1427-1440.
11. Abe, Y., Honsho, M., Itoh, R., Kawaguchi, R., Fujitani, M., Fujiwara, K., Hirokane, M., Matsuzaki, T., Nakayama, K., Ohgi, R., Marutani, T., Nakayama, K. I., Yamashita, T., Fujiki, Y. 2018.
Peroxisome biogenesis deficiency attenuates the BDNF-TrkB pathway-mediated development of the cerebellum.
Life Sci. Alliance, 1, e201800062.
12. Kawata, K., Yugi, K., Hatano, A., Kokaji, T., Tomizawa, Y., Fujii, M., Uda, S., Kubota, H., Matsumoto, M., Nakayama, K. I., Kuroda, S. 2019.
Reconstruction of global regulatory network from signaling to cellular functions using

phosphoproteomic data.

Genes Cells, 24, 82-93.

13. Shimizu, H., Takeishi, S., Nakatsumi, H., Nakayama, K. I. 2019.
Prevention of cancer dormancy by Fbxw7 ablation eradicates disseminated tumor cells.
JCI Insight, 4, pii: 125138.
14. Sugiyama, S., Yumimoto, K., Inoue, I., Nakayama, K. I. 2019.
SCF^{Fbxw7} ubiquitylates KLF7 for degradation in a manner dependent on GSK-3-mediated phosphorylation.
Genes Cells, in press.
15. Muto, Y., Moroishi, T., Ichihara, K., Nishiyama, M., Shimizu, H., Eguchi, H., Moriya, K., Koike, K., Mimori, K., Mori, M., Katayama, Y., Nakayama, K. I. 2019.
Disruption of FBXL5-mediated cellular iron homeostasis promotes liver carcinogenesis.
J. Exp. Med., in press.

総説

1. Matsumoto, A., Nakayama, K. I. 2018.
Hidden peptides encoded by putative noncoding RNAs.
Cell Struct. Funct., 43, 75-83.
2. Hui, K., Katayama, Y., Nakayama, K. I., Nomura, J., Sakurai, T. 2018.
Characterizing vulnerable brain areas and circuits in mouse models of autism: Towards understanding pathogenesis and new therapeutic approaches.
Neurosci. Biobehav. Rev., in press.
3. 中山省悟, 中山敬一. 2018.
細胞周期制御のキー蛋白質.
医学のあゆみ「蛋白質代謝医学：構造・機能の研究から臨床応用まで」, 1130-1135.
4. 杉山成明, 弓本佳苗, 中山敬一. 2018.
がんの浸潤と転移のメカニズム.
日本臨牀（増刊号）, in press.

学会発表

1. 中山敬一. (2018, 9/1).
次世代プロテオミクスが拓く医学生物学の新地平：90 年来のがんの謎を解く. (特別講演)
第 11 回シンフォニー研究会, 東京.
2. 中山敬一. (2018, 9/2).
鉄代謝制御を司るユビキチンシステムと疾患. (特別講演)
第 42 回鉄バイオサイエンス学会学術集会, 金沢.

3. 中山敬一. (2018, 9/8).
次世代プロテオミクスが拓く医学生物学の新地平：90 年来のがんの謎を解く. (特別講演)
第 6 回ブリistol血液学アカデミー, 福岡.
4. 中山敬一. (2018, 9/24).
グルタミンからの窒素流束の代謝シフトはがん悪性化に必要である：第二のワールブルグ
効果の発見. (シンポジウム)
第 91 回日本生化学会大会, 京都.
5. 中山敬一. (2018, 9/27).
人工知能を用いたスコアシステムは乳がん患者の予後を正確に予測する. (シンポジウム)
第 77 回日本癌学会学術総会, 大阪.
6. 中山敬一. (2018, 9/29).
がん幹細胞における細胞周期制御. (JCA-Mauvernay Awards Session)
第 77 回日本癌学会学術総会, 大阪.
7. 中山敬一. (2018, 11/9).
転移巣に TAM を呼び寄せるメカニズムとそれを阻害する既存薬. (招待講演)
第 16 回がんとハイポキシア研究会, 千葉.
8. 武藤義治, 中山敬一. (2018, 11/28).
ユビキチンリガーゼ FBXL5 による鉄代謝制御とその破綻. (ワークショップ)
第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜.
9. 見世慎太郎, 松本有樹修, 清水秀幸, 中山敬一. (2018, 11/28).
精巣特異的に発現する新規ポリペプチドの機能解析.
第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜.
10. 木藤有紀, 松本雅記, 押川清孝, 中山敬一. (2018, 11/28).
細胞がん化は核内プロテアソームの発現量を減弱させる. (ワークショップ)
第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜.
11. 喜多泰之, 片山雄太, 白石大智, 岡毅寛, 白根道子, 西山正章, 中山敬一. (2018, 11/28).
脂肪分化におけるクロマチンリモデラーCHD8 の genome-wide 解析.
第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜.
12. 白石大智, 片山雄太, 喜多泰之, 西山正章, 中山敬一. (2018, 11/28).
CHD8 機能異常による自閉症スペクトラム障害の発症メカニズムの解明.
第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜.
13. 天間雄祐, 松本有樹修, 中山敬一. (2018, 11/28).
脳機能を制御する新規ポリペプチドの解析.
第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜.
14. 藤沼駿, 中津海洋一, 中山敬一. (2018, 11/29).
mTORC1 下流の転写因子 FOXK1 は NAFLD/NASH および肝がんを促進する.

- 第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜.
15. 中山敬一. (2018, 11/29).
c-Myc によって統合されるがん代謝ネットワークの全貌. (ワークショップ)
第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜.
16. 清水秀幸, 中山敬一. (2018, 11/29).
人工知能を使って乳がん患者の生存予後を正確に予測する.
第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜.
17. 弓本佳苗, 中山敬一. (2018, 11/29).
がん細胞が免疫チェックポイント阻害を免れる分子経路のゲノムワイドスクリーニング.
第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜.
18. 塚本康寛, 中山敬一, 西山正章. (2018, 11/29).
クロマチンリモデリング因子 CHD8 の動態追跡による自閉症の発症メカニズムの解明.
第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜.
19. 川村敦生, 片山雄太, 西山正章, 昌子浩孝, 徳岡広太, 植田禎史, 宮田麻理子, 伊佐正, 宮川剛, 中山敬一. (2018, 11/29).
クロマチンリモデリング因子 CHD8 の変異によるオリゴデンドロサイト機能異常と自閉症発症への関与.
第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜.
20. 比嘉綱己, 沖田康孝, 松本有樹修, 武石昭一郎, 中津海洋一, 中山敬一. (2018, 11/29).
p57 陽性細胞の系統追跡により, さまざまな組織の静止幹細胞を同定する.
第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜.
21. 仁田暁大, 武藤義治, 片山雄太, 松本有樹修, 西山正章, 中山敬一. (2018, 11/29).
自閉症関連遺伝子 CHD8 は造血幹細胞の分化に関与する.
第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜.
22. 山内悠平, 仁田暁大, 中津海洋一, 中山敬一. (2018, 11/29).
Skp2 による細胞周期制御は, 胎盤幹細胞の幹細胞性の維持に重要である.
第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜.
23. 西山正章, 中山敬一. (2018, 11/29).
クロマチンリモデリング因子 CHD8 の動態追跡による自閉症の発症メカニズムの解明.
第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜.
24. 高橋秀尚, Ranjan, A., Chen, S., 柴田美音, 瀧川一学, 渡部昌, 築山忠維, 藤井聡, 山本淳一, 山口雄輝, 松本雅記, 中山敬一, 鈴木穰, 佐藤チエリ, 佐藤滋生, Conaway, R., Conaway, J., 畠山鎮次. (2018, 11/29).
メディエーター複合体による転写終結制御機構. (ワークショップ)
第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜.
25. 築山忠維, 増田隆昌, Kim, J., Merenda, A., 松本雅記, 寺井小百合, 篠裕輝, 高橋秀尚, 石谷

- 太, 中山敬一, Koo, B. K., 畠山鎮次. (2018, 11/30).
-伝統的 vs 包括的- RNF43 のリン酸化異常による発がんメカニズムの解明で明らかになったがん研究手法の利点と欠点.
第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜.
26. 林直希, 喜多泰之, 中津海洋一, 中山敬一, 白根道子. (2018, 11/30).
プロトルーディン複合体による膜接触部位を介した細胞内カルシウム調節機構.
第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜.
27. 松本悠希, 喜多泰之, 中津海洋一, 中山敬一, 白根道子. (2018, 11/30).
モノアミン分泌における細胞内輸送制御分子プロトルーディンの関与.
第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜.
28. 國松滯奈, 喜多泰之, 中津海洋一, 中山敬一, 白根道子. (2018, 11/30).
プロトルーディン複合体による膜接触部位の形成機構.
第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜.
29. 山畑育子, 喜多泰之, 中津海洋一, 中山敬一, 白根道子. (2018, 11/30).
神経細胞の樹状突起スパイン成熟におけるプロトルーディンの関与と機構.
第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜.
30. 立石千瑳, 松本雅記, 中山敬一. (2018, 11/30).
転写因子 c-Myc と相互作用するタンパク質の効果的な同定法の開発.
第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜.
31. 市原知哉, 武藤義治, 諸石寿朗, 西山正章, 片山雄太, 中山敬一. (2018, 11/30).
ユビキチンリガーゼ FBXL5 による鉄代謝制御とその上流制御因子の探索.
第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜.
32. 松本有樹修, 中山敬一. (2018, 11/30).
Long non-coding RNA から翻訳される機能性ポリペプチド群の同定. (シンポジウム)
第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜.
33. Nakayama, K. I. (2019, 2/10).
Next-generation proteomics unveils a global landscape of cancer metabolism: Discovery of the "second" Warburg effect. (Invited Speaker)
11th AACR-JCA Joint Conference on Breakthroughs in Cancer Research: Biology to Precision Medicine, Maui, HI.
34. 中山敬一. (2019, 3/14).
次世代プロテオミクスが拓く医学生物学の新地平: 90 年来のがんの謎を解く. (特別講演)
第 92 回日本薬理学会年会, 大阪.
35. 中山敬一. (2019, 3/16).
次世代プロテオミクスが拓く医学生物学の新地平: 代謝パスウェイの全貌解明に向けて.
(特別講演)

第 33 回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会, 福岡.

36. 中山敬一. (2019, 3/22).

次世代プロテオミクスが拓く医学生物学の新地平: 90 年来のがんの謎を解く. (基調講演)
がんの増殖制御拠点シンポジウム, 山口.

器官発生再生学分野

Division of Organogenesis and Regeneration

教授：鈴木 淳史

Professor : Atsushi Suzuki, Ph.D.

器官発生再生学分野では、哺乳動物の「発生」や「再生」と「疾患」について、幹細胞の性状理解と機能制御を中心に研究を展開している。特に、代謝や解毒の中核器官である肝臓の発生メカニズムや損傷後の再生メカニズム、幹細胞の機能破綻による疾患の発症メカニズムの解明に向け、遺伝子、細胞、組織、器官、個体レベルの実験を通じて多角的に研究を行っている。そして、得られる知見から「肝臓」という器官を統合的に理解し、肝疾患に対する革新的な治療法の開発へとつなげていく。

2018 年度においては、鈴木淳史（教授）、川又理樹（助教）、堀澤健一（助教）、三浦静（特任助教）、鶴殿美弥子（学術研究員）、松田花菜江（同）、合谷孟（大学院医学系学府・博士）、稲田浩気（同・博士）、後藤那奈子（同・博士）、村山僚（同・博士）、従野雅義（同・博士）、青木美帆（同・修士）、井上和也（同・修士）、中山貴博（同・修士）、宮田朋典（同・修士）、無敵美帆（同・修士）、木村亮太（同・修士）、菅野雄樹（医学部生命科学科・学部生）、海江田千晶（テクニカルスタッフ）、本田結城（同）の総勢 20 名で研究を開始した。松田花菜江は、出産と育児のため 2018 年 8 月 31 日をもって退職した。青木美帆と井上和也は、2019 年 4 月 1 日より博士課程（当研究室所属）に進学することが決定した。宮田朋典と無敵美帆は、2019 年 4 月 1 日よりそれぞれキューピー株式会社と武田薬品工業株式会社に就職することが内定した。菅野雄樹は、2019 年 4 月 1 日より東京大学大学院医学系研究科修士課程に進学することが決定した。

A. ダイレクトリプログラミングによる肝細胞の直接誘導

肝細胞は多くの転写因子の働きによって胎生期に肝前駆細胞から分化するのが普通だが、まれに、障害を受けた膵臓の外分泌細胞や骨髄などに含まれる間葉系幹細胞から肝細胞が分化することがある。また、骨髄移植後に血液細胞が肝細胞と融合し、肝細胞として肝臓組織を構築することもある。これらの事象は、肝細胞以外の細胞を肝細胞に変化させる因子の存在を示唆しており、ある環境下ではそれらの因子が活性化して肝細胞以外の細胞を肝細胞に変化させていると考えられる。したがって、もし、このような肝細胞の運命決定因子を同定することができれば、それらを使って皮膚の線維芽細胞を直接肝細胞へ変化させることが可能になるかもしれない。そこで我々は、肝細胞の運命決定を担う特定因子を同定し、マウスの線維芽細胞から肝細胞を直接作り出すことを試みた。その結果、線維芽細胞に *Hnf4α* と *Foxa* (*Foxa1*, *Foxa2*, *Foxa3*

のいずれかひとつ) という肝細胞分化に関連した 2 種類の転写因子を導入することで、線維芽細胞を肝細胞の性質をもった細胞 (iHep 細胞) へと直接変化させることに成功し、肝細胞の運命決定因子を同定した (Sekiya and Suzuki, *Nature*, 2011). 作製した iHep 細胞は肝細胞の形態的特徴や遺伝子・タンパク質発現を有し、肝細胞特有の機能をもったまま培養下での増殖や維持、凍結保存が可能であった。また、iHep 細胞は肝細胞と同様に中性脂肪の合成や蓄積と分泌が可能であり、既知の脂肪酸合成阻害薬にも反応することができた (Miura and Suzuki, *Front. Cell Dev. Biol.*, 2014). さらに、肝機能不全で死に至る高チロシン血症モデルマウスの肝臓へ iHep 細胞を移植すると、肝細胞として障害を受けた肝臓組織を機能的に再構築し、マウスの致死率を大幅に減少させることが可能であった。本法では、わずか 2 種類の転写因子を線維芽細胞に発現させるだけで、人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) を経由することなく、直接、線維芽細胞から短時間で肝細胞を作製可能なことから、移植医療や創薬研究、バイオ人工肝臓の開発などへの応用が期待される (Miura and Suzuki, *Inflamm. Regen.*, 2014; Suzuki, *Inflamm. Regen.*, 2014; Horisawa and Suzuki, *Innovative Medicine: Basic Research and Development*, Springer Japan, 2015; Kawamata and Suzuki *J. Biochem.*, 2017).

上述したように、iHep 細胞は医療・創薬への応用が強く期待される細胞だが、その機能レベルが生体の肝細胞よりも低いことが問題であった。そこで次に、iHep 細胞をより高機能な肝細胞へと成熟させるために研究を進めた。その結果、細胞凝集塊形成による Hippo シグナルの活性化、並びに Hnf1 α を筆頭とする肝細胞分化関連転写因子の活性化が、iHep 細胞の成熟化を強く促進することを見出した (Yamamoto et al., *Cell Rep.*, 2018). また、iHep 細胞の発展的研究として、肝細胞へのダイレトリプログラミング技術をがん治療に応用できないかと考え、これまでの研究で重要性が明らかになった肝細胞分化誘導因子セット (HNF4A, FOXA3, HNF1A) をヒトの肝がん細胞に導入した。その結果、肝がん細胞の長期的な増殖阻害やがん形質の消失、並びに肝細胞分化マーカーの発現上昇が認められた (Takashima et al., *Cancer Sci.*, 2018). このことから、ダイレトリプログラミング技術を利用した肝がん細胞の肝細胞化が、肝がんの治療や制御に有効であることが示唆された。

B. ダイレトリプログラミングによる腸前駆細胞の直接誘導

食物の消化や吸収を担う小腸や大腸は、胎児期の腸管を形成する腸前駆細胞が成体型の腸幹細胞へと成長することによって形成される。これら胎児性の腸前駆細胞や成体型の腸幹細胞は、三次元培養下において生体内の腸上皮組織を模倣した三次元組織構造体 (オルガノイド) を形成する。腸上皮オルガノイドは、生体外で腸上皮組織を維持・培養できることから、基礎研究だけでなく、移植医療や創薬研究での利用も期

待されている。しかしながら、材料となる腸組織を生体から生きたまま取り出すことは患者への負担が大きく、また、多能性幹細胞から分化誘導する場合には複雑な方法が必要になるため、腸上皮オルガノイドを医療や創薬に応用するためには、腸上皮オルガノイドの新たな供給源の確保が望まれる。そこで我々は、細胞の運命を人為的に変化させる「ダイレクトリプログラミング」の手法を用いて、胎児性の腸前駆細胞や成体型の腸幹細胞、並びにそれらが作る腸上皮オルガノイドを別の細胞から作製できないかと考えた。上述した iHep 細胞の作製法を基盤として研究を進めた結果、マウスの皮膚やヒトの血管の細胞に 4 つの転写因子 (Hnf4 α , Foxa3, Gata6, Cdx2) を導入することで、これらの細胞を直接、腸前駆細胞 (iFIP 細胞) へ変化させることに成功した (Miura and Suzuki, *Cell Stem Cell*, 2017)。作製した iFIP 細胞は、三次元培養下で腸上皮オルガノイドを形成して増殖し、成体型の腸幹細胞 (iIS 細胞) が作る腸上皮オルガノイドへと成長した。得られた iIS 細胞は、腸上皮組織を構成するすべての細胞へ分化する能力 (多分化能) と長期間自己と同じ細胞を作り続ける能力 (自己複製能) を有していた。また、誘導した iFIP 細胞や iIS 細胞が作る腸上皮オルガノイドを大腸炎モデルマウスに移植すると、長期間、腸上皮組織を再構築することが可能であった。ダイレクトリプログラミングの手法によって作製される iFIP 細胞や iIS 細胞を用いることで、既存の方法に対し、より簡便かつ効率的に腸上皮オルガノイドを取得できることから、今後、作製した腸上皮オルガノイドを用いた腸疾患の病態解析や再生医療、創薬研究への展開が期待される (Miura and Suzuki, *Develop. Growth Differ.*, 2018)。

C. 肝臓における「疾患関連リプログラミング」

我々は、生体内における細胞の運命転換と肝臓病の関係に着目し、慢性的な肝障害によって門脈周囲に出現する偽胆管 (細胆管反応) の由来を明らかにすべく、誘導型 Cre/loxP システムを用いた細胞系譜追跡実験を行った。その結果、偽胆管を形成する細胞は、胆管上皮細胞の特徴をもつにも関わらず、Notch シグナルを介した肝細胞の運命転換によって、肝細胞から生じることが判明した (Sekiya and Suzuki, *Am. J. Pathol.*, 2014)。また、慢性肝炎に加え、発症原因が不明で予後の悪い肝内胆管がんについても同様の解析を行った結果、これまで胆管上皮細胞から発生すると考えられていた肝内胆管がんが、実は Notch シグナルを介した肝細胞の運命転換から生じる腫瘍であることが判明した (Sekiya and Suzuki, *J. Clin. Invest.*, 2012)。肝内胆管がんにおける肝細胞の運命転換では、肝臓中に存在するマクロファージであるクッパー細胞が障害部位に集積し、肝細胞を刺激して Notch シグナルの活性化を促していることも明らかとなった (Terada et al., *Sci. Rep.*, 2016)。以上の結果は、慢性的な障害に対して再生を繰り返し行う肝臓では、正常な再生応答から逸脱した特殊な状況

に陥ることによって肝細胞の分化状態が破綻し、肝細胞が胆管上皮細胞の特徴を有する細胞に変化することを示している。我々は、このような現象を「疾患関連リプログラミング」と呼び、がんなどの難治性疾患との関係に注目している (Suzuki, *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 2013; Suzuki, *Genes Cells*, 2015; Suzuki, *Curr Opin Gastroenterol*, 2015)。

D. マウス胎仔肝幹細胞の分離・回収と機能解析

肝臓の発生は、心臓に近接した前腸内胚葉が心臓や間質組織からの刺激によって肝臓に特化することで始まる。肝臓を構成する細胞には肝上皮細胞（肝細胞と胆管上皮細胞）や血液細胞、線維芽細胞、血管内皮細胞など複数あるが、そのうちの肝細胞と胆管上皮細胞だけが前腸内胚葉由来であり、それらの起源は同一の細胞であると考えられている。この細胞は、数十年前から肝芽細胞 (hepatoblast) と呼ばれ、肝芽細胞こそ肝臓の幹細胞（肝幹細胞）であると考えられてきた。ところが、肝芽細胞が肝幹細胞の性質を満たす細胞か否かを実験的に証明するには、従来の実験技術では不十分であった。それは、肝臓が肝上皮細胞以外にも多くの種類の細胞を含む複雑な構造体であるがために、数が少なく、形態的に他の細胞と見分けがつかない肝芽細胞だけを肝芽細胞以外の細胞から完全に切り離して解析することが難しかったためである。そこで我々は、肝芽細胞を他の細胞から選別する手法として、細胞表面抗原を抗体で染色した細胞を生きたまま回収可能な装置であるフローサイトメトリー (fluorescence activated cell sorting: FACS) を利用した。そして、回収された細胞の性状をクローナルな解析系（1 つ 1 つの細胞を個別に解析する手法）にて調べ、結果として、高い増殖能、多分化能、自己複製能、肝組織再構築能といった肝幹細胞の特性をすべて満たし、マウス胎仔肝臓細胞の 10 万個にわずか 6 個しか存在しない肝芽細胞が c-Met⁺ CD49f^{+/low} c-Kit⁻ CD45⁻ TER119⁻ 細胞画分中に極めて限定して含まれることを突き止め、その同定と特異的分離・回収に成功した (Suzuki et al., *Hepatology*, 2000; Suzuki et al., *J. Cell Biol.*, 2002; 特許登録済み)。

このように、独自の手法を確立してマウス胎仔肝臓から肝芽細胞（＝肝幹細胞）を分離できることから、肝発生において肝芽細胞の増殖や分化を司る分子メカニズムにアプローチすることが可能になった。実際に、これまでに行った研究では、肝芽細胞の自己複製や肝細胞分化が、肝細胞増殖因子 (HGF) やオンコスタチン M (OSM) などの液性因子、C/EBP α や Tbx3 などの転写因子、コラーゲンやラミニンなどの細胞外マトリックスによって制御されていることを明らかにした (Suzuki et al., *Development*, 2003; Suzuki et al., *Development*, 2008; Takashima and Suzuki, *Cell. Mol. Life Sci.*, 2013)。また、マイクロ RNA 制御タンパク質として知られる Lin28b が、マイクロ RNA の let-7b 並びに miR-125a/b の成熟化を阻害し、相互抑制的フィードバック作

用を介して Lin28b 自身の発現を維持するとともに、肝芽細胞の幹細胞性（増殖能や分化能）の維持において重要な役割を果たしていることも判明した (Takashima et al., *Hepatology*, 2016).

E. 成体マウス肝幹細胞の分離・回収と機能解析

成熟肝細胞の増殖が阻害された特殊な状況では幹/前駆細胞の増殖が活性化して肝臓を再生すると考えられており、我々は肝臓の幹細胞システムの全体像を理解する目的で成体マウス肝臓に存在する肝幹細胞の分離・回収とその機能解析も行っている。これまでの研究では、慢性肝炎を誘導した成体マウスの肝臓から CD133⁺ CD45⁻ TER119⁻ 細胞を分離し、クローナルな解析系を用いて機能解析を行った結果、それらが高い増殖能、肝細胞と胆管上皮細胞への二分化能、自己複製能といった肝幹細胞の特性を有することを明らかにした。また、高チロシン血症モデルマウスである *Fah* 欠損マウスの肝臓に CD133⁺ CD45⁻ TER119⁻ 細胞を移植したところ、ドナー細胞は肝臓内に生着して増殖し、2 ヶ月後には肝臓の大部分を再構築していた。以上から、マウス胎仔肝臓と同様に、成体マウス肝臓からも肝幹細胞を分離することが可能になった (Suzuki et al., *Hepatology*, 2008).

慢性肝炎という特殊状況下で出現する肝幹細胞の形態的特徴は、人の肝炎や肝がんなどで観察される細胞に似ていることから、成体マウスの肝幹細胞研究は、肝炎や肝がんに対する肝幹細胞の役割を検証する上での基盤科学にもなりうる。そこで、人の肝がんにおいて高頻度に変異が認められる p53 遺伝子に着目し、慢性肝炎を誘導した *p53* 欠損マウスから肝幹細胞を分離して腫瘍形成能の解析を行った。その結果、*p53* を欠損した肝幹細胞は免疫不全マウスの皮下で腫瘍を形成し、腫瘍の内部には肝細胞がんと胆管上皮細胞がんの両者が混在していた (Suzuki et al., *Hepatology*, 2008)。このことから、慢性肝炎で出現する肝幹細胞は、肝がんに含まれる「がん幹細胞」の起源細胞である可能性が示唆された。さらに、クローナルな培養系を用いた解析により、成体マウス肝幹細胞が、肝細胞や胆管上皮細胞だけでなく、筋線維芽細胞にも分化できることを見出した (Sekiya et al., *Stem Cell Reports*, 2016)。通常、培養下における筋線維芽細胞への分化頻度はとても低いですが、上述した *p53* 欠損肝幹細胞から形成される腫瘍では、ドナー細胞由来の筋線維芽細胞が数多く観察され、上皮系腫瘍組織を取り囲む間質組織として「腫瘍微小環境」の様態を呈していた (Sekiya et al., *Stem Cell Reports*, 2016)。したがって、*p53* を欠損した肝幹細胞は、自らが腫瘍を形成するだけでなく、腫瘍形成をサポートする微小環境をも自ら作り出していることが判明した。

業績目録

原著論文

1. Yamamoto, J., Udonon, M., Miura, S., Sekiya, S., Suzuki, A. 2018.
Cell aggregation culture induces functional differentiation of induced hepatocyte-like cells through activation of Hippo signaling.
Cell Rep 25, 183–198.
2. *Takashima, Y., *Horisawa, K., *Udonon, M., Ohkawa, Y., Suzuki, A. 2018. (* Co-first author)
Prolonged inhibition of hepatocellular carcinoma cell proliferation by combinatorial expression of defined transcription factors.
Cancer Sci 109, 3543–3553.

総説等

1. Miura, S., Suzuki, A. 2018.
Brief summary of the current protocols for generating intestinal organoids.
Develop Growth Differ 60, 387–392.

受賞

1. 従野雅義 (2018, 7/13).
第25回肝細胞研究会, 優秀ポスター賞.
2. 従野雅義 (2018, 8/30).
第21回生医研リトリート2018, 最優秀ポスター賞.
3. 後藤那奈子 (2018, 8/30).
第21回生医研リトリート2018, 優秀ポスター賞.
4. 三浦静 (2018, 8/30).
第21回生医研リトリート2018, ベスト質問賞.
5. 三浦静 (2019, 2/4).
第35回井上研究奨励賞.
6. 従野雅義 (2019, 3/1).
新学術領域研究「細胞ダイバース」第2回若手ワークショップ, 優秀発表者賞.

学会発表等

1. 鈴木淳史 (2018, 4/21).
Direct reprogramming to hepatic and intestinal lineages (招待講演)
第33回九州免疫血液研究会, 福岡.

2. 井上和也, 三浦静, 鈴木淳史 (2018, 6/14 - 6/15).
肝臓におけるp53遺伝子欠損肝幹細胞の挙動と腫瘍形成 (ポスター発表)
新学術領域研究「細胞競合」第6回領域会議, 神戸.
3. 鈴木淳史 (2018, 6/29).
肝臓の組織形成メカニズム (招待講演)
新学術領域研究「細胞ダイバース」第2回公開シンポジウム, 岩手.
4. 鈴木淳史 (2018, 7/3).
ダイレクトリプログラミングによる腸上皮オルガノイドの作製 (招待講演)
第18回GIリサーチフォーラム, 仙台.
5. 三浦静, 鈴木淳史 (2018, 7/12).
肝細胞におけるsnailの過剰発現は肝細胞癌を誘導する (一般口演, 選抜あり)
第25回肝細胞研究会, 東京.
6. 従野雅義, 堀澤健一, 鈴木淳史 (2018, 7/13).
肝細胞へのダイレクトリプログラミングを阻害する転写因子の同定 (ポスター発表)
第25回肝細胞研究会, 東京.
7. 後藤那奈子, 鶴殿美弥子, 鈴木淳史 (2018, 7/13).
線維芽細胞の不均一性がiHep細胞誘導に与える影響 (ポスター発表)
第25回肝細胞研究会, 東京.
8. 鈴木淳史 (2018, 8/2).
ダイレクトリプログラミングによる腸上皮オルガノイドの作製 (一般口演)
Kofu Stem Cell Conference (KSCC) 2018 “Role of Stem Cells in embryonic development”, 山梨.
9. 鈴木淳史 (2018, 9/1).
皮膚から作る腸幹細胞 (一般口演)
第3回IDE研究会, 東京.
10. 鈴木淳史 (2018, 10/12).
転写因子が引き起こすエピジェネティックリモデリングと細胞運命転換 (招待講演)
日本人類遺伝学会第63回大会, 横浜.
11. Yorino, M., Horisawa, K., Suzuki, A. (2018, 10/18).
Identification of transcription factors repressing direct conversion of mouse embryonic fibroblasts into induced hepatocyte-like cells. (Poster)
The 13th International Symposium of the Institute Network for Biomedical Sciences joint with the 3rd Symposium of the Inter-University Research Network for Trans-Omics Medicine and the 28th Hot Spring Harbor Symposium “Biomedical Sciences in the Era of Big Data”, Fukuoka, Japan.
12. Suzuki, A. (2018, 10/26).
Direct reprogramming to hepatic and intestinal lineages. (Invited Speaker for Plenary Talk)

2018 The 14th Annual Meeting of TSSCR: From Pluripotency to 3D Organoid and Personalized Medicine, Miaoli County, Taiwan.

13. 鈴木淳史 (2018, 11/28).
Direct reprogramming to hepatic and intestinal lineages (招待講演)
第41回日本分子生物学会年会シンポジウム「ダイレクトリプログラミング：人為的細胞作出とその利用」, 横浜.
14. 三浦静, 鈴木淳史 (2019, 1/15).
肝臓におけるSnailの過剰発現は肝細胞癌を誘導する (ポスター発表)
新学術領域研究「細胞ダイバース」第3回公開シンポジウム, 東京.
15. 鈴木淳史 (2019, 1/22).
肝臓と腸上皮組織におけるダイレクトリプログラミング研究の進展 (招待講演)
琉球医学会特別講演会, 沖縄.
16. 鈴木淳史 (2019, 1/28).
ダイレクトリプログラミングによる細胞創生と医療応用 (招待講演)
九州大学母子総合研究リサーチコアカンファレンス, 福岡.
17. Suzuki, A. (2019, 2/3).
Direct reprogramming to hepatic and intestinal lineages. (Invited Speaker)
International Symposium on Epigenome 2019 “Development of Fundamental Technologies for Diagnosis and Therapy Based upon Epigenome Analysis”, Tokyo, Japan.
18. 從野雅義, 堀澤健一, 鈴木淳史 (2019, 2/28).
肝細胞へのダイレクトリプログラミングを阻害する転写因子の同定 (一般口演, 選抜あり)
新学術領域研究「細胞ダイバース」第2回若手ワークショップ, 仙台.
19. 鈴木淳史 (2019, 3/9).
肝臓の発生・再生研究から細胞創生医学への展開 (招待講演)
山本博章先生退官記念公開シンポジウム ～生命科学研究から医学応用へ～, 名古屋.
20. 鈴木淳史 (2019, 3/23).
ダイレクトリプログラミングによる肝細胞誘導の標準化 (招待講演)
第18回日本再生医療学会総会シンポジウム「iPS細胞は再生医療デバイスとして成立するか—iPS細胞標準化における問題点—」, 神戸.