

領域略称名：再生原理
領域番号：3215

平成27年度科学研究費補助金「新学術領域研究
(研究領域提案型)」に係る事後評価報告書

「3次元構造を再構築する再生原理の解明」

(領域設定期間)

平成22年度～平成26年度

平成27年6月

領域代表者 (京都大学・理学研究科・教授・阿形清和)

目 次

1. 研究領域の目的及び概要	5
2. 研究領域の設定目的の達成度	7
3. 研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況	10
4. 審査結果の所見及び中間評価で指摘を受けた事項への対応状況	11
5. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	13
6. 研究成果の取りまとめ及び公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）	16
7. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況	21
8. 研究経費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）	22
9. 当該学問分野及び関連学問分野への貢献度	26
10. 研究計画に参画した若手研究者の成長の状況	27
11. 総括班評価者による評価	28

研究組織

1	課題番号 研究課題名	研究期間	代表者氏名	所属機関 部局 職	構成員数
X00	22124001 普遍的な再生原理の探求と応用	平成22年度～ 平成26年度	阿形 清和	京都大学・理学研究科・教授	2
A01 計	22124002 イモリを用いた再生原理の解明	平成22年度～ 平成26年度	阿形 清和	京都大学・理学研究科・教授	2
A01 計	22124003 Dachsous/Fat シグナル系を介した位置情報決定メカニズムの解明	平成22年度～ 平成26年度	野地 澄晴	徳島大学・理事	3
A01 計	22124004 プラナリアの再生原理の探求	平成22年度～ 平成26年度	梅園 良彦	兵庫県立大学・理学部・生命理学研究科・教授	2
A02 計	22124005 脊椎動物の器官再生能を規定する普遍原理の解明	平成22年度～ 平成26年度	横山 仁	弘前大学・農学生命科学部・准教授	2
A02 計	22124006 哺乳類における四肢再生系の構築	平成22年度～ 平成26年度	遠藤 哲也	愛知学院大学・教養部・准教授	1
計画研究 計 6 件					
A02 公	23124501 両生類・魚類の再生原理に基づいた、新規脊髄損傷治療法の開発	平成23年度～ 平成24年度	北田 容章	東北大学・医学研究科・准教授	1
A01 公	23124502 トランスジェニック技術によるイモリ網膜再生メカニズムの解明	平成23年度～ 平成24年度	千葉 親文	筑波大学・生命環境系・准教授	1
A01 公	23124503 再生ニッチにおける多様な再生細胞の系譜と機能の解明	平成23年度～ 平成24年度	川上 厚志	東京工業大学・生命理工学研究科・准教授	1
A02 公	23124504 骨格筋/腱再生時における骨格筋幹細胞の制御機構解明	平成23年度～ 平成24年度	佐藤 貴彦	京都大学・医学研究科・研究員	1

A01 公	23124505 転写制御機構から探る 再生原理	平成23年度～ 平成24年度	蒲池 雄介	大阪大学・生命機能研究科・准教授	1
A01 公	23124506 異なる網膜再生様式を もつ2種のツメガエル を用いた再生メカニズ ムの研究	平成23年度～ 平成24年度	荒木 正介	奈良女子大学・理学部・教授	1
A01 公	23124508 皮膚繊維芽細胞が多分 化能を獲得する分子メ カニズムの解明	平成23年度～ 平成24年度	佐藤 伸	岡山大学・異分野融合先端コア・特 任准教授	1
A03 公	23124509 Dachsous:Fat シグナル 系実験に基づく再生方 程式の導出	平成23年度～ 平成24年度	吉田 寛	九州大学・理学研究科・准教授	1
A03 件 公	23124510 大規模遺伝子発現デー タに基づく四肢再生過 程の数理モデル構築	平成23年度～ 平成24年度	森下 喜弘	理化学研究所・発生幾何研究ユニッ ト・ユニットリーダー	1
A02 公	25124701 オタマジャクシ・カエ ル・ラットの比較による 脊髄再生促進因子の探 求	平成25年度～ 平成26年度	北田 容章	東北大学・医学研究科・准教授	1
A01 公	25124702 3次元顔面軟骨オルガ ノイド開発を目的とし た移植母床の「場の原 理」解明	平成25年度～ 平成26年度	星 和人	東京大学・医学部附属病院・准教授	1
A01 公	25124703 位置固有な四肢軟骨成 長を制御する Hox 遺伝 子の標的遺伝子の分離 同定	平成25年度～ 平成26年度	黒岩 厚	名古屋大学・理学研究科・教授	1
A01 公	25124704 腎臓再生の三次元イメ ージングによる再生原 理の解明	平成25年度～ 平成26年度	越智 陽城	山形大学・医学部・助教	1
A01 公	25124705 エピゲノム制御から解	平成25年度～ 平成26年度	荻野 肇	長浜バイオ大学・バイオサイエンス 学部・教授	1

	明するツメガエル尾部の再生原理				
A01 公	25124706 イモリの分子遺伝学実験系を駆使した再生原理の解明	平成25年度～ 平成26年度	林 利憲	鳥取大学・医学部・准教授	1
A01 公	25124707 両生類四肢再生開始メカニズムの確定とその応用への可能性の探索	平成25年度～ 平成26年度	佐藤 伸	岡山大学・異分野融合先端コア・准教授	1
A02 公	25124708 エピゲノム編集技術を用いた再生原理の解明:失われた再生能力を回復させる試み	平成25年度～ 平成26年度	鈴木 賢一	広島大学・理学研究科・特任講師	1
A03 公	25124709 多光子顕微鏡を用いた細胞軌道計測による四肢発生再生時の組織伸長メカニズムの解明	平成25年度～ 平成26年度	森下 喜弘	理化学研究所・生命システム研究センター・ユニットリーダー	1
公募研究 計 18 件					

1. 研究領域の目的及び概要（2 ページ程度）

研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時に記述した内容を簡潔に記述してください。どのような点が「我が国の学術水準の向上・強化につながる研究領域」であるか、研究の学術的背景（応募領域の着想に至った経緯、応募時までの研究成果を発展させる場合にはその内容等）を中心に記述してください。

***本領域班は、他の班と比べ、予算規模をモデレートに半分で申請したために、予算に応じて陣容も計画班 5 件、公募班 9 件で実施したことを最初に明記しておく。論文数とかの実績を、フル予算の班と比較する場合には X2 として考えてもらいたい。**

〈2009 年の応募時に記載した背景と主旨〉 *原文をそのまま転載

『近年、〈再生医療〉が隆盛を極め、多額の予算が投じられている。しかし、巨額の予算がついたことによって、失った指をはやす---といった挑戦的な研究から、逆に出口のみつけやすい幹細胞移植へと研究が収束していった。さらに、〈再生=応用研究〉の図式ができあがったために、日本の看板研究であった〈基礎研究としての再生〉の予算がどこからも出てこなくなった。しかし、〈基礎的な再生研究〉は、遺伝子操作の困難だった再生能力の高い動物での遺伝子操作に成功し、世界的にも高い研究成果を蓄積し、飛躍の時を迎えている。そこで、本提案では、新学術領域研究にふさわしい形で、分子レベルで高い研究成果を出している再生研究者をコアとして、再生できない動物を研究対象に加え、基礎研究と再生医療研究とをつなぐ新しい学問潮流を作ることを目指す。具体的には、①3次元形のある再生を可能にしている分子メカニズムを解明し、②再生できないものがどのステップで止まっているかを明らかにし、その知見をマウスなどへと展開させ、③それらの成果を受けて3次元構造をもった指や器官の再生を目指す---新しい再生医療の研究領域を作る---の3点を目的として研究を展開する。』

〈2015 年時点における本領域研究の概要〉

上述のように、本領域研究の目的は、再生の基礎研究と再生医療をつなぐ新たな研究領域の創出にあった。そのために、①再生できる生物で再生メカニズムを明らかにし、②再生できない動物と比較し、③再生できない動物に再生能力を惹起する---ことで再生医療分野へ新たなインパクトを与えることが計画班・公募班としては不可欠であった。

①再生生物学が与えた再生医療へのインパクト I(序章)

プラナリアで 100 年来謎だった再生メカニズムの謎を解き、その再生原理を誘起することで、再生できないプラナリア(コガタウズムシ)の尾断片から脳を含む頭部を再生させることに成功した。われわれのストラテジーを明解に示す成果として、雑誌 Nature に掲載され、さらに、トピックスとしてアメリカの New York Times 誌にも取り上げられた。世界的なインパクトを与えることに成功した。

②再生生物学が与える再生医療へのインパクト II(本番)

しかし、プラナリアでインパクトのある成果を挙げようとも、ヒトの再生医療との感覚的なギャップはいかんともしがたく、再生医療分野で確固たる地位を得るためには、やはり脊椎動物でインパクトのある研究の創出が待たれた。そんな状況下で、イモリの四肢における関節再生の新たな再生原理の発見(残存組織と再生部の相互作用:reintegration と命名)によって、関節再生ができないと言われていたカエルから、関節再生を惹起することに成功するという一大ニュースとなる成果を挙げることに成功した。われわれが待ち望んでいた再生医療分野にパラダイムシフトをもたらす成果を得られた意義は大きい。今、マウスの指関節が再生できるようにならないかにチャレンジ中だ。

③再生医療分野との積極的な交流(総括班の成果)

計画班・公募班で再生医療分野にパラダイムシフトをもたらすインパクトのある研究成果を挙げるとともに、総括班では、次の2つを行った。1つは再生医療に興味のある医学系の若手を対象に再生生物学のトレーニングコースを開催した。具体的には、イモリなどで心臓や脳の一部を切除するオペをして再生過程を実際に見てもらい、将来の再生医療を実感してもらい、次世代に新たな種を蒔くことを行った。2つめとして、日本再生医療学会や日本炎症再生医療学会などに、戦略的に参画し、三次元構造の再生を目指す再生医療分野の開拓を行った。具体的には、1年目はランチョンセミナーとして、2年目は教育シンポとして、3年目はメイン・シンポとして、少しずつステップアップしながら、三次元構造の再生をめざす企画を行い、再生医療分野に臓器再生を目指す機運を高めていった。

*ただし、関節再生の画期的な結果については、その発表が期間内に間に合わなかったのが残念。

<本研究領域研究の象徴となる成果の概要>

①プラナリアで再生原理を明らかにし、尾部断片から頭部を再生できないプラナリア(コガタウズムシ)から、脳を含む頭部の再生を RNAi 法で惹起することに成功!!

プラナリア(体のどの部位からも頭部を再生できるナミウズムシ)で解明された再生メカニズム

110年前にトーマス・ハント・モーガンがプラナリアの再生を説明するために予告した『頭からの物質と、尾からの物質の二重勾配説』が正しかったこと、そして、**頭からの勾配が ERK シグナル活性の勾配**であり、尾からの勾配が Wnt/ β カテニン・シグナル活性の勾配であることを突き留めた(図1、Umesono et al., Nature 2013)。

さらに、Wnt/ β カテニン・シグナルが ERK 活性を抑制することで、ERK シグナルの勾配がつくられることを証明した

コガタウズムシの尾部断片で β カテニンをノックダウンすることで頭部を再生させることに成功

尾部断片から頭部を再生できないことが知られていたコガタウズムシ(図2左)であるが、Wnt/ β カテニン・シグナルが ERK 活性を抑制していることを見出したので、 β カテニンを RNAi で抑えたところ、ERK シグナルが活性化され、驚くことに頭部を再生できるようになったのである(図2右)。本研究は、再生できない動物を遺伝子操作によって再生できるようにした世界最初の例として Nature 誌に取り上げられただけでなく、NewYork Times 誌にも記事として取り上げられた。

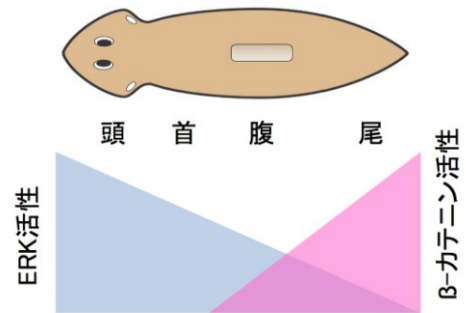


図1. プラナリアの再生を制御する2つのシグナルとその勾配

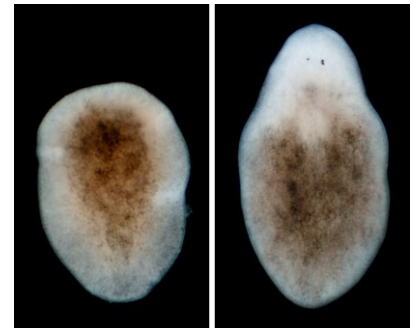


図2. コガタウズムシからの頭の再生を誘導することに成功

②イモリで関節再生の新たな再生原理を見出し、その再生原理をカエルに適用して、関節を再生できないと言われていたカエルから関節再生を惹起させることに成功!!

イモリで肘関節を再生するのに必須な組織間相互作用の発見

イモリの前肢を肘関節のところで切断して再生させたところ、再生部にはミニチュアの下腕が再生したにもかかわらず、関節の根元部分が残存部の関節の大きさに合わせて肥大化していることを定量的に示すことに成功した。これらの結果を受けて、再生部は残存部の作用を受けながら、残存部と整合性のある形を再生する原理のあることを明らかにした(**reintegration**と命名、Tsutsumi et al., Regeneration, 2015a)。

カエルで組織間相互作用を誘因することで、肘関節の再生を惹起させることに成功

この新たに見出した reintegration メカニズムを使って、カエルでも肘関節で切断して再生させれば、肘関節を再生できるようになるのではないかと実験してみたところ、驚くべきことにカエルで機能的な肘関節の再生を惹起することに成功した(Tsutsumi et al., Regeneration, 2015b)。

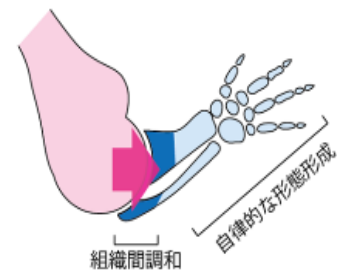


図3. 残存部が再生部に働きかけて、再生部と整合性のある構造を再生

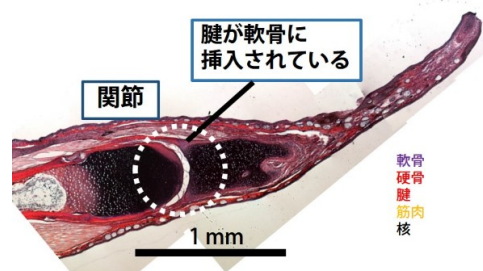


図4. 再生不能と言われていたカエルで機能的な関節を再生させることに世界で初めて成功

2. 研究領域の設定目的の達成度（3 ページ程度）

研究期間内に何をどこまで明らかにしようとし、どの程度達成できたか、また、応募時に研究領域として設定した研究の対象に照らしての達成度合いについて、具体的に記載してください。必要に応じ、公募研究を含めた研究項目ごとの状況も記述してください。

<研究班全体における達成度>

申請時のヒアリングにおいて、委員長から”5年間で何処まで再生できるようにすることを設定目標にしていますか”と質問され、”マウスの四肢を再生できるようにしたい”と言いたところだが、そこまで風呂敷を広げると自分達で自分の首を絞めることになるので、カエルの四肢を再生できるくらいになることを設定目標としている”と回答した。そして5年目に、今まで関節が再生できないと言われていたカエルで四肢関節の再生を惹起することに成功したことは、当時のヒアリングで約束した目標を、ほぼ達成できたことになる。

以下に、申請時の調書に記載した設定目的(灰色部分)について、その達成度を記載する(黒字部)。

②研究機関内に何をどこまで明らかにするのか

1. 再生の普遍原理の解明

プラナリア・コオロギ・イモリの再生系で、ERK シグナルや Ds/Fat シグナル、Hpo/Wts 経路が共通に機能しているかを検証するとともに、ERK シグナルなどモルフォゲンを介したアナログ的なシグナルの勾配が Ds/Fat といった細胞接着分子を介した細胞間相互作用によってどのように個々の細胞のデジタル的な位置情報として変換されていくのかを明らかにする。また、次世代シーケンサーを用いた再生過程のトランスクリプトーム解析で、データをデジタル化することによって各再生過程の分子イベントの共通項・特異項を明らかにするとともに、数理モデルとのフィードバックによって、再生の普遍原理を理論化する。

FGF を介した ERK シグナルが再生に果たす役割については、プラナリアの再生、両生類の四肢再生・網膜再生で不可欠であることを示すことに成功した(Tasaki et al., Development; Umesono et al., Nature; Sato et al., Dev. Biol.; Chiba et al., PCMR)。その中でも、公募班の佐藤らが行った実験で、アホロートルの腕に FGF2+FGF8+BMP7 の 3 種類のカクテルを染ませたビーズを移植することで、余分に完全な腕を再生させることに成功したことは画期的な成果と言えよう。佐藤らは、このカクテルを移植すれば、いろいろな臓器や器官に再生が可能になると言っており、今後の検証が重要である。

また、コオロギとカエル(幼生)において、Dachsous/Fat, Hippo シグナル経路が再生過程におけるインターカレーション(位置情報の再編成)に必須であることを RNAi やトランスジェニック法を駆使して証明することに成功した(Bando et al., Dev. Dyn; Hayashi et al., Dev. Biol., DGD)。

さらに、重要なこととして、隣接する細胞と Dachsous/Fat といった細胞接着因子が直接相互作用することで、ERK などのシグナルのアナログ勾配を単一細胞レベルのデジタル信号へと変換している可能性を、数理理論と RNAi のモデル実験の組み合わせで示すことに成功した。これらの細胞間での直接的な相互作用によって、個々の細胞に番地をつける分子システムが構築され、Hippo 経路を介して再生体の大きさや長さを制御していることを示唆することに成功した(公募班 Yoshida et al., Sci. Rep)。

新たな再生原理として浮上したのが、”Reintegration”メカニズムである。すなわち、残存部が新たに再生した部分と相互作用することで、残存部と再生部とが整合性のある連続的な構造を再生するという当たり前のようでまだ誰も証明できていなかった再生原理の存在を、関節再生という特徴的な構造を観察することで発見することに成功した(Tsutsumi et al., Regeneration)。

再生原理の解明という最も研究の基本となる部分をきちっと押さえることができたことで、次に述べるように、再生不能動物からの再生を惹起することに成功した。再生原理の解明をミッションとする A01 班としての設定目的は十分達成できたと判定している。

2. 再生能力と普遍原理との相関の解明と再生不能動物からの再生を誘起

普遍原理の探求や理論化によって、変態後のゼノパスで再生できなくなる理由を明らかにし、遺伝子操作によって、再生不能の壁をどこまで乗り越えられるかに挑戦する。また、それらの知見を再生不能動物に適用することによって、どこまで再生不能動物で再生に関与する遺伝子発現や再生を促すことができるかにチャレンジする。

設定目的の中で最も実現が難しいと思われていた、再生不能動物から再生を誘起する研究であるが、尾部断片からの頭部再生能力がないコガタウズムシで、 β カテニン遺伝子を RNAi することで頭部再生できるように誘導することに成功したことは、**再生不能動物を再生できるようにした世界初の成果**として高く評価された。また、さらに、**reintegration メカニズムを発見し、そのシステムを有効活用することで、関節を再生できないと言われていたカエルに機能的な関節を再生させることに成功した**ことは、再生医療分野にも大きなインパクトを与える研究成果となり、最も難しいと思われた A02 班の設定目的を達成したことは大きな成果と言えよう。

3. 再生医療の臓器再生へのパラダイムシフト

実習や公開講座を積極的に開催することによって、再生医療の目標を単なる幹細胞移植にとどめるのではなく、形の再生までを目標とする方向へと進化させていく。また、若手の公募研究を募ることによって、次世代の再生研究者の育成を図るとともに、再生医療分野に切り込める人材の育成も行い、5年後には新たな再生医療の潮流を確立させる。

イモリやプラナリアやコオロギといった高い再生能力を持つ動物を使った**再生生物学トレーニングコースを2年目と4年目に基礎生物学研究所で開催**した。特に、イモリの脳と心臓の一部を切除する実験は医学領域からの参加者にも大きな衝撃を与え、**再生医療分野に切り込む若い世代の育成に成功**した。ただ、公募班で医学領域で活躍する若手のリクルートを試みたが、I 期に1名、II 期に2名にとどまったのは誤算だった。

また、日本再生医療学会や日本炎症再生医学会に積極的に乗り込み、再生生物学が目指す**三次元構造を持つ臓器再生を目指す再生医療へのパラダイムシフト**についても、先の研究成果の概要で述べたように、やれることのベストは尽くした。

③本研究班によって推進される3つの新たな有機的な結合と新たな研究の創造

1. 異なる動物の再生現象を扱う生物学者の有機的な結合

異なる動物を扱っていた再生研究者をひとつの土俵に上げることにより、再生研究の標準化・データベース化を行い、再生の普遍性の探求を行う研究領域を開拓する。

本研究領域班で、最も科学的に貢献したのものとして、班員の中で高い評価を得ているのは、**両生類を使って再生研究をしている研究者間で情報交換するプラットフォームが構築**されたことにある。また、従来の日本産イモリで苦労していた遺伝学的に解析について、イベリアトゲイモリを実験動物化したことで容易にできるようにしたことで、**in vivo** で心臓や脳の再生を遺伝学的に解析できる系が確立された意義は大きい。

2. 数理モデル学者と実験再生生物学者の有機的な結合

再生過程のデータをデジタル化することによって、理論生物学者・数理モデル生物学者と実験再生学者との有機的な結合を実現させ、頻繁に理論と実証実験とのフィードバックをかけることによって、世界にさきがけて普遍的な再生原理の理論化をめざす。

公募班で吉田・森下の2名を数理モデル生物学者として加え、再生現象の数理モデル化をプラナリア・コオロギ、そして四肢再生系で行った。日本では初の試みであった。その中で最もインパクトのある成果として、Dachsous/Fat といった細胞接着分子の、**細胞あたりの発現数の勾配によって、個々の細胞が位置情報を用いることを理論的に示せた**ことが一番の成果となった。なかなかかみ合わない議論も、具体的な RNAi の表現型をもとに議論して理論と実証実験とでフィードバックをかけられたことで、より具体的に議論されるようになったことが大きかった。

3. 基礎再生生物学者と再生医療学者との有機的な結合

再生医療をめざす若手の再生医療学者を対象とした再生研究講習会・実習・ワークショップを開催することによって、従来の幹細胞移植治療の枠をでていない再生医療を臓器再生へ目指した再生医療への質的変換を図る。

○理研 CDB で 2 回にわたって行った国際シンポジウム

『from Regeneration Biology to Regenerative Medicine, 2011』

『Regeneration of Organs: Programming and Self-Organization, 2014』

○日本再生医療学会

『再生生物学が啓示する新たな再生医療, 2012』

『10年後の新たな再生医療を目指す-再生生物学と再生医療をつなぐプラットフォームの創成, 2013』

『三次元構造をもった臓器・器官の再生医療を目指す, 2014』

『三次元構造をもった臓器・器官の再生医療を目指す-partII-発生学的考察, 2015』

○日本炎症再生医学会『再生生物学と再生医療をつなぐ: 炎症反応と再生能力の連関を考える』

といったシンポジウム開催する行うことで、再生生物学者と再生医療学者との有機的な結合に精力的に取り組んだ。アウェイ感のある中、多くの班員にも一般発表に参画してもらい、再生生物学の浸透を図った。次回の日本再生医療学会で、『再生不能動物に関節再生を惹起する』という内容でアピールすることで、当面の集大成が図れるものと期待している。また、医学系の若手を対象にした『再生生物学トレーニングコース』を 2011 年・2013 年と開催し、次世代からの変換について精力的に取り組む、現段階としてはベストを尽くしたと言ってよからう。

幹細胞移植治療の枠をでていない再生医療が本格的に臓器再生を目指す時代へとパラダイムシフトしていけば、本領域の果たす役割は大きいと思われる。

再生生物学研究者からのアピールに伴い、三次元構築を目指す再生医療へのパラダイムシフトは確実に浸透した。また、肝幹細胞と血管内皮細胞と間葉系幹細胞を混合した肝臓の原基を *in vitro* で作り、それを *in vivo* に移植して、肝臓のような臓器再生に成功した例や、iPS/ES 細胞から眼の原基を作ること成功した例も出てきたこともあり、今まで『三次元構築』という言葉すらなかった日本再生医療学会でも、『三次元構築』研究がフロントラインとして取り上げられるまでになった。しかし、研究費としては、三次元プリンターを使った臓器再生に 30 億円が予算化されたのに対し、再生生物学関係者への研究費は本領域研究の終了とともに干しあがることとなり、**科学力の他に政治力が必要であることを痛感**している次第である。そういった意味において、科学的な達成感はあるものの、本新学術領域研究費につづく形で予算を獲得できなかった喪失感が残ったことは確かである。

3. 研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況（1ページ程度）

研究推進時に問題が生じた場合には、その問題点とそれを解決するために講じた対応策等について具体的に記述してください。また、組織変更を行った場合は、変更による効果についても記述してください。

○イモリを用いた実験系の難しさ

再生能力の高いアカハライモリであるが、遺伝子操作を用いて解析するとなると、

①受精卵を1年を通してコンスタントに得ることができない。②再生に時間がかかる。

③変態時期に死ぬ割合が高い。④F1個体を得るまでの年数が不明。という課題に直面した。

(対応策) F0世代の幼生で再生実験すること(Inoue et al., Dev Dyn)、変態させずに大きくさせることで(Chiba et al., Zool Sci)である程度克服できるようになった。さらに改善するために、季節とは関係なしに一年中受精卵を大量に取れるイベリアイモリを新規モデル動物として班全体で確立することで、大きな改善を図ることに成功した(Hayashi et al., DGD)。

○次世代シーケエンサーの各種トラブル

非モデル動物を実験動物として扱っているために、シーケエンサーとしてはリード長の長いロッシュ454が不可欠である。が、シーケエンス長が800bpにバージョンアップされる予定が半年遅れた点、また、試薬の不良がみつきり、研究の基礎データとなる大量シーケエンス実験をしばらく止めなくてはならなかった点が研究を予定通り遂行する上での難点となった。

(対応策) 研究費の次年度繰越を申請して認可されたため、予算を無駄なく使えるように調整できたことは大きかった。予算の年度繰越制度は極めて有効となった。

○シングルセル・レベルでの遺伝子プロファイリング

Dachsous/Fatの系がコオロギのみならず、他の再生過程においても重要な役割を果たしている予想して現在研究を展開している。最大の焦点は、ERKや β cateninによってもたらされる位置情報がDachsous/Fatといった直接的なcell to cell communicationによって、細胞1個1個の番地付けがなされているかである。そのためには、シングルセル・レベルでの遺伝子プロファイリングが必要となった。

(対応策) そこで、シングルセル・レベルでの遺伝子プロファイリングを可能にするBioMarkを、計画当初の予定にはなかったが、総括班で急遽購入してグループ内にシングルセル・レベルでの遺伝子プロファイリングができるシステムの構築を行った。

○予想と少し違った公募研究の比率

公募当初に期待していたより、医療関係者からの公募が少なかったこと、理論生物学者からの公募も少なかった。公募した頃には、まだ再生生物学が医療分野に浸透していないことを痛感させられた。また、理論生物学者もその多くが、他の研究領域の計画班に取り込まれていて公募の対象となる理論生物学者の絶対数が枯渇していた。

(対応策) 当初予定していた比率を少し組み換えて、採用者を決定した。2回目の公募では医療関係者を2名採択した。

○領域代表者の想定外の学会業務

領域代表者が、発生生物学会の会長としての業務に加えて、動物学会の会長職や公益法人化委員長の大役がまわってきたこと、理不尽にも、それらに加えて、進化学会の年会長と分子生物学会の年会長に指名されたことで、本研究班の運営に支障が出始めた。

(対策) 領域研究と計画研究の両方を支障なく展開するために、再生生物学の特別講座を研究科内に設置して、総括班の業務を担う准教授と、計画班の業務を行う助教を、総括班予算と計画班予算からそれぞれ捻出して公募した。これら2名の参画をもって、本領域はより高いパフォーマンスを発揮できるようになった。

4. 審査結果の所見及び中間評価で指摘を受けた事項への対応状況（2 ページ程度）

審査結果の所見及び中間評価において指摘を受けた事項があった場合には、当該コメント及びそれへの対応策等を記述してください。

<審査結果の所見において指摘を受けた事項への対応状況>

(審査結果の所見)

本研究領域は、高い再生能力を有する生物と再生できない生物を比較することにより、再生に至る原理や分子機構を明らかにするとともに、さらにその知見をマウスに展開し遺伝子操作による再生など、再生医療における新たな方向性を切り拓くことを目的としている。現在の再生医学は幹細胞研究に重点が置かれていて、組織や器官の再生原理を解明しようとする試みは取り残された感が否めない。この点からも本研究領域の目的は緊急性と重要性を兼ね備えたものであると言える。研究計画は目的達成のために明確なコンセプトと独創性の高い基礎データに基づいて立案されている。また、領域代表者はこれまでも高い業績と強いリーダーシップを持ち合わせており、計画研究も少数精鋭の厳選された研究者により構成されている点が評価できる。さらに、公募研究に関しては若手研究者の育成に重点を置いた点や、医療系の研究者にも広げた点が評価でき、挑戦的な課題に臨む新学術領域研究に相応しい研究であり、再生における普遍的な原理の解明が期待できる。

一方で、理論とシミュレーションを公募研究に依存する点や、再生医学への応用過程に具体性を欠く点を指摘する意見や、研究期間内に目標を達成できるか危惧する意見もあった。

○理論とシミュレーションを公募研究に依存する点を危惧する意見

本新学術領域班では、パターン形成の理論を、細胞レベルでのシミュレーションに焦点を絞り込むことで2名の公募班員で成果を挙げることに成功した。特に、どのようにして個々の細胞で位置情報を担えるかの分子実体とそれを支える仕組みに焦点を絞ったことで、Dachsous/Fat というヘテロダイマーを形成する細胞接着因子で個々の細胞レベルで位置情報が担えることを示すことに成功した。

○再生医学への応用過程に具体性を欠く点を指摘する声

再生できない動物に、再生能力を惹起するというインパクトの高い成果を得たことで、具体的な道筋を示すことに成功した。

○研究期間内に目標を達成できるかを危惧する意見もあった

ヒアリングでも目標が高すぎないかと指摘されたが、プラナリアでの頭部再生能力の誘導に成功してNeYork Times 誌にもトピックスとして取り上げられ、関節再生ができないと言われていたカエルで関節再生能力を惹起することに成功したことで、ヒアリング時に約束した目標は達成できたことの意義は大きい。

<中間評価で指摘を受けた事項への対応状況>

総合所見

本研究領域は、生物学的視点から3次元構造を持った器官の再生を目指すものである。様々なモデル動物を用いて、3次元レベルでの臓器形成に関する共通原理を導き出すことを目標としている。中間評価までの目標と当初設定したプラナリアの再生も世界に先駆けて成功するなど、実績を上げている。また、領域代表者の提唱する、再生の新たなパラダイム” distalization&intercalation” は世界的にも注目されており、先駆的な研究領域と考えられる。今後、臨床的な視点を持った研究者の参画を実現することができれば、本領域のさらなる発展も期待できる。

臨床的な視点を持った研究者の参画は、第二期では公募班員の全体9名中の2名と2/9になった。

評価に当たっての着目点ごとの所見

(a) 研究の進展状況

本研究領域は、細胞から臓器・器官を構築して再生医療に応用する可能性を秘めている。プラナリアの再生に成功するなど着実な研究成果が得られ、今後の発展も期待できる。「多様な研究者による新たな

視点や手法による共同研究等の推進により、当該研究領域の新たな展開を目指すもの」としては、再生医療関係の研究者向けトレーニングコースやジョイントセミナーを開催し、知的レベルの共有を推進していることは評価できる。しかしながら、全体として研究計画の設定目標が高いため、研究成果での研究期間内の目標達成は遺伝子改変マウスにおける再生医療についてのさらなるブレイクスルーが必要と考えられる。また、理論生物学者の参画が予定よりも少なく、理論から実験へのより緊密なフィードバックが望まれる。さらに、領域研究として、複数の研究者が協調的に新しい領域を創成するというメリットを出して欲しい。

マウスを用いた研究については、遠藤計画班に三浦研究員を雇用することで強化を図った。アホロートルで四肢再生に神経因子の作用が不可欠であることが示され、またその神経因子が同定された(Makanae et al., Regeneration, Dev. Biol.)のを受けて、マウスでは、両生類で見られる傷上皮への神経の浸潤が、マウスでは見られないことを三浦研究員が発見し(Miura & Endo, Regeneration)、マウスで四肢再生を目指す糸口がみつかった意義は大きい。また、イベリアトゲイモリという遺伝学的な手法を適用できる新規再生モデル動物を班全体で協調して確立したことで(Hayashi et al., DGD)、今後の脳や心臓といった臓器の再生生物学/再生医療が格段に進展することが期待される。

(b) 研究成果

「多様な研究者による新たな視点や手法による共同研究等の推進により、当該研究領域の新たな展開を目指すもの」としては、それぞれの研究項目については概ね順調な成果を上げており、論文発表による成果公表についても評価できる。特に再生の普遍原理解明における成果は順調である。哺乳動物の四肢が再生しない理由については未だに不明であるが、これを解決すべく努力している。また、アウトリーチ活動や情報発信などによる、研究成果の普及については高く評価できる。一方で、「当該領域の研究の発展が他の研究領域の研究の発展に大きな波及効果をもたらすもの」としては、再生医学への出口を模索しているが、現状では本領域への参加研究者が少ないため、今後、心臓・肝臓等の各臓器の再生という概念を含めれば参画する研究者が増えると考えられる。また、今後発表する論文の量、質の充実に努めていただきたい。

公募の二期目から、心臓に加え腎臓や脊髄の再生を対象にしている研究者を加え、またそれらの臓器を成体になっても再生可能なイモリの新規モデル動物を導入したことで、より明確な研究の方向性を明示できるようになったと自負している。班員の中に医学系からの参画者は2名にとどまったものの、積極的に再生医学系の学会へ参画したことで、不特定多数の参画者を作ることに成功した手ごたえはある。また、論文の質については中間評価後にNature誌に出版を果たしたことで、論文の数についても一期と比較して二期では倍層したことで、中間評価の注文に答えることができたと考えている。

(c) 研究組織

領域代表者の強力なリーダーシップのもと、異分野の研究者が互いに理解し、相互発展につなげようとしている点は高く評価できる。

(d) 研究費の使用

特に問題点はなかった。

(e) 今後の研究領域の推進方策

領域内の連携に向けた取組は高く評価でき、引き続き推進することが期待される。今後は、数理学者や臨床研究者との連携を通じて、再生の普遍原理の理解、臨床応用を図ることが望まれる。

申請時の審査所見や中間評価におけるコメントが、班全体のレベルアップにつながったと思っている。あらためてこの場を借りて、審査をしてくださった方々のご尽力に感謝を申し上げたい。

5. 主な研究成果（発明及び特許を含む）[研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に整理する]

(3 ページ程度)

本研究課題（公募研究を含む）により得られた研究成果（発明及び特許を含む）について、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、図表などを用いて研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に整理し、具体的に記述してください。なお、領域内の共同研究等による研究成果についてはその旨を記述してください。

以下に本新学術領域で得られた新たな知見の主なものを整理して解説する。見てわかるように、異なる動物種で似たような知見が得られていることが本領域研究の大きな特色となっている。コオロギ、イモリ、プラナリアと動物種は違うものの、ひとつの研究班を形成したことで、再生原理の普遍性を垣間見ることができるようになった。

○イモリで関節再生の新たな再生原理を発見し、それをカエルに適用して、関節再生ができないと考えられていたカエルで関節再生を惹起することに成功。

Tsutsumi R., Yamada S. & *Agata K. Functional joint regeneration is achieved using reintegration mechanism in *Xenopus laevis* **Regeneration**, 2015, in press

Tsutsumi R., Inoue T., Yamada S., and *Agata K. Reintegration of the regenerated and the remaining tissues during joint regeneration in the newt *Cynops pyrrhogaster* **Regeneration**, 2015, 26-36

計画班の阿形らは、概要の項に解説図を掲げたが、アカハライモリを用いて、四肢の関節再生の新規の再生原理：残存組織と再生部との相互作用によって、再生部に残存部と構造的に整合性のある構造が作られることを証明するとともに(Reintegration メカニズムと命名)、変態後には関節を再生できなくなると言われていたカエルで、reintegration メカニズムを誘発することで関節再生を惹起することに成功した。

○アホロートルで、四肢再生における神経の役割を解明し、神経因子を含む FGF2+FGF8+BMP7 のカクテル移植することで、上腕に過剰肢を作ることに成功した。また、マウスでは神経が傷上皮に入りこめないために再生能力が発揮できないことを示唆。

Miura S., Takahashi Y., Satoh A., and *Endo T. Skeletal callus formation is a nerve-independent regenerative response to limb amputation in mice and *Xenopus*. **Regeneration**. in press.

*Endo T., Gardiner DM., Makanae A., and Satoh A. The accessory limb model: An alternative experimental system of limb regeneration. **Methods Mol. Biol.** 1290. 2015. 101-113.

Makanae, A., Mitogawa, K. and *Satoh, A. Cooperative Bmp- and Fgf-signaling inputs convert skin wound healing to limb formation in urodele amphibians. **Dev. Biol.** 396 (1). 2014. 57-66

Mitogawa, K., Hirata, A., Moriyasu, M., Makanae, A., Miura, S., Endo T. and *Satoh, A. Ectopic blastema induction by nerve deviation and skin wounding: A new regeneration model in *Xenopus laevis*. **Regeneration**. 1 (2). 2014. 26-36.



計画班の遠藤が開発した過剰肢モデル(アホロートルを用いて神経を上腕に移植することで、余分に四肢を作ることに成功)を用いて、公募班の佐藤らは、神経から出るファクターを同定し、それらの因子のカクテルを移植することで、過剰肢を再生させることに成功した。また、過剰肢モデルを確立した遠藤班員はマウスにおける神経の役割を探索したところ、マウスでは両生類と違い、傷上皮に神経が入り込まないことを見出し、そのことがマウスの再生能の欠如と関連して考察した。

○Dachsous/Fat シグナル系、また Hippo 経路が再生に関与していることを、コオロギの付属肢再生のみならず、プラナリアの再生とカエルの四肢再生でも明らかにすることに成功。

Hayashi, S., Yokoyama, H. and Tamura, K. Roles of Hippo signaling pathway in size control of organ regeneration., **Dev. Growth Differ.** in press.

Hwang, B., An, Y., Agata, K. and Umesono, Y. Two distinct roles of Hippo pathway during homeostasis in the planarian *Dugesia japonica*. **Dev. Growth Differ.** 57. 2015. 209-217.

Hayashi, S., Ochi, H., Ogino, H., Kawasumi, A., Kamei, Y., Tamura, T. and *Yokoyama, H. Transcriptional regulators in the Hippo signaling pathway control organ growth in *Xenopus* tadpole tail regeneration. **Dev. Biol.** 396 (1). 2014. 31-41.

Bando, T., Mito, T., Nakamura, T., Ohuchi, H. and *Noji, S. Regulation of leg size and shape: Involvement of the Dachous-fat signaling pathway. *Dev. Dyn.* 240 (5). 2011. 1028–1041.

計画班の野地班員らは、ココロギの付属肢再生の系で Hippo 経路 (Dachous/Fat を含む) が付属肢のパターン形成 (インターカレーション) と大きさの制御に重要な役割を果たしていることを RANi 法を使って証明したが、同様に、プラナリアの再生やカエルの四肢再生系においても Hippo 経路が不可欠であることを計画班の梅園班員と横山班員はそれぞれ示すことに成功した。

○プラナリアで再生原理を明らかにできたことで、尾部断片から頭部を再生できないコガタウズムシから頭部の再生を β カテニンの RNAi によって誘起することに成功。

*Umesono, Y., Tasaki, J., Nishimura, Y., Hrouda, M., Kawaguchi, E., Yazawa, S., Nishimura, O., Hosoda, K., Inoue, T. and Agata, K. The molecular logic for planarian regeneration along the anterior–posterior axis. *Nature.* 500. 2013. 73-76.

Tasaki, J., Shibata, N., Nishimura, O., Itomi, K., Tabata, Y., Son, F., Suzuki, N., Araki, R., Abe, M., Agata, K. and *Umesono, Y. ERK signaling controls blastema cell differentiation during planarian regeneration. *Development.* 138 (12). 2011. 2417-2427.

Tasaki, J., Shibata, N., Sakurai, T., Agata, K. and *Umesono, Y. Role of c-Jun N-terminal kinase activation in blastema formation during planarian regeneration. *Dev. Growth Differ.* 53 (3). 2011. 389-400.

計画班員の梅園班員と阿形班員は協力して、プラナリアの再生過程における MAPK シグナルの機能を解明した。具体的には、JNK シグナルが切断を感知して上皮の修復シグナルと働くとともに、幹細胞の増殖を促進し、さらに ERK シグナルによって、幹細胞は再生芽を構成する分化細胞へと転換していくこと。さらに、その ERK シグナルは、頭部の脳神経細胞に分化するシグナルとしても機能すること、後方からの β カテニン・シグナルによって ERK シグナルがモデュレートされ、より後方の細胞種へと運面転換していくことを見出した。さらに、梅園班員はそれらの知見から、尾部で β カテニン活性が強いために頭部を再生できないコガタウズムシで β カテニン活性を RNAi で下げたところ、ERK シグナルが活性化されて頭部再生が誘導されることを見つけた。

○両生類を用いた遺伝子操作技術を先鋭化されるとともに、新規にイベリアトゲイモリをモデル動物化することで、遺伝子ノックアウト・イモリの作出に成功。

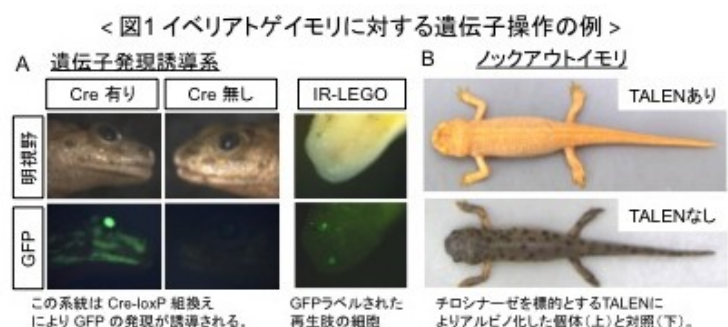
*Hayashi, T., Sakamoto, K., Sakuma, T., Yokotani, N., Inoue, T., Kawaguchi, E., Agata, K., Yamamoto, T. and Takeuchi T. Transcription activator-like effector nucleases efficiently disrupt the target gene in Iberian ribbed newts (*Pleurodeles waltl*), an experimental model animal for regeneration. *Dev. Growth Differ.* 56. 2014. 115-121.

Sakane, Y., Sakuma, T., Kashiwagi, K., Kashiwagi, A., Yamamoto, T. and *Suzuki, T.K. Targeted mutagenesis of multiple and paralogous genes in *Xenopus laevis* using two pairs of transcription activator-like effector nucleases. *Dev. Growth Differ.* 56 (1). 2014. 108-114.

*Chiba, C., Yamada, S., Tanaka, H., Inae-Chiba, M., Miura, T., Casco-Robles, M M., Yoshikawa, T., Inami, W., Mizuno, A., Islam, MD R., Han, W., Yasumuro, H., Matsumoto, M. and Takayanagi, M. Metamorphosis inhibition: an alternative rearing protocol for the newt, *Cynops pyrrhogaster*. *Zool. Sci.* 29 (5). 2012. 293-298.

Inoue T., Inoue R., Tsutsumi R., Tada K., Urata Y., Michibayashi C., Takemura S., and Agata K. Lens regenerates by means of similar processes and timeline in adults and larvae of the newt *Cynops pyrrhogaster*. *Dev.Dyn.* 241, 2012. 1575-1583.

計画班の阿形班員らは、アカハライモリを用いた遺伝子導入を用いて再生研究を先鋭化させるとともに、公募班の千葉班員らは、アカハライモリを用いても遺伝的アプローチができるように、変態させずに成体の大きさに成長させ、ある一定の大きさになってからホルモン処理で成体へ変態させることで確実に遺伝子導入個体を精製させる方法を確認した。一方で、公募班の林班員はイベリアトゲイモリ (*Pleurodeles waltl*) を新規に実験室に導入することで、純系化するとともに、Cre-loxP や TALEN/Cas9 を使った遺伝子ノックアウト・イモリを作成することに成功した。林班員らは、Cre-loxP を導入した系で心筋からの心臓再生過程を正確に追跡できることに成功した。また、公募班の鈴木班員は世界で初めて両生類で遺伝子ノックインに成功した。



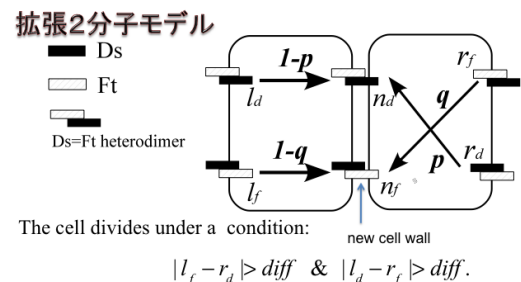
ODachsous/Fat シグナル系が個々の細胞レベルで位置情報を担える分子システムとなりうることを理論と RNAi による実証実験で示唆することに成功。

*Yoshida, H., Bando, T., Mito, T., Ohuchi, H. and *Noji, S. An extended steepness model for leg-size determination based on Dachsous/Fat trans-dimer system. *Sci. Rep.* 2014. 4335.

Bando, T., Mito, T., Nakamura, T., Ohuchi, H. and *Noji, S. Regulation of leg size and shape: Involvement of the Dachsous-fat signaling pathway. *Dev. Dyn.* 240 (5). 2011. 1028–1041.

Bando, T., Hamada, Y., Kurita, K., Nakamura, T., Mito, T., Ohuchi, H. and *Noji, S. Lowfat, a mammalian Lix1 homologue, regulates leg size and growth under the Dachsous/Fat signaling pathway during tissue regeneration. *Dev. Dyn.* 240 (6), 2011. 1440–1453.

計画班の野地班員は RNAi 法によって Dachsous/Fat シグナル系をつぶすことによって、インターカレーションの現象が攪乱されることを見出した。その理由を明らかにするために、理論系の公募班の吉田班員と組んで、拡張2分子モデルでこの現象が説明できるかどうかの検討を行ったところ、見事に Dachsous/Fat の細胞接着因子が隣接する細胞で分子数を減らしていくことで説明できることをシュミレーションによって示すことに成功した。それらのシュミレーションで RNAi でえられた表現型が矛盾なく説明できることから、本理論の信ぴょう性が高いものとなった。



○傷上皮が再生に果たす役割の解明

*Yokoyama, H., *Maruoka, T., Aruga, A., Amano, T., Ohgo, S., Shiroishi, T. and Tamura, K. Prx-1 expression in *Xenopus laevis* scarless skin-wound healing and its resemblance to epimorphic regeneration. *J. Invest. Dermatol.* 131 (12). 2011. 2477–2485.

Miura, S., Takahashi, Y., Satoh, A., and *Endo, T.

Skeletal callus formation is a nerve-independent regenerative response to limb amputation in mice and *Xenopus*. *Regeneration*. in press.

Yamamoto-Shiraishi, Y., Higuchi, H., Yamamoto, S., Hirano, M. and *Kuroiwa, A. Etv1 and Ewsr1 cooperatively regulate limb mesenchymal Fgf10 expression in response to apical ectodermal ridge-derived fibroblast growth factor signal. *Dev. Biol.* 394 (1). 2014. 181-190.

計画班の横山班員は、マウスなどの温血動物では傷口がかさぶたで閉じられるのに対し、変温動物の両生類では傷上皮が傷口を覆って傷口を塞ぐことを見出した。さらに、計画班の遠藤班員らは、マウスではかさぶた形成後に形成される傷上皮においては、神経が侵入していないことを見出した。すなわち、傷上皮が先端化(ディスタル化)かしてインターカレーションを誘導するには、FGF シグナルの活性化が不可欠であり、そのため神経組織が重要な役割をになっていること、さらに、公募班の黒岩班員は FGF の発現を上皮で誘導するための分子ネットワークの解読に成功しており、今後、マウスなどで FGF を活性化することで四肢再生の初期段階を誘発できるようになることが期待された。

○マクロファージや細胞外基質によって再生能力の誘起や促進に成功

Fujihara, Y., Takato, T. and *Hoshi, K. Macrophage-inducing fasl on chondrocytes forms immune privilege in cartilage tissue engineering, enhancing in vivo regeneration. *Stem Cells.* 32 (5). 2014. 1208-1219.

Nabeshima, A., Nishibayashi, C., Ueda, Y., Ogino, H. and *Araki, M. Loss of cell-extracellular matrix interaction triggers retinal regeneration accompanied by Rx and Pax6 activation. *Genesis.* 51. 2013. 410-419.

Sakai, H., Sato, T., Sakurai, H., Yamamoto, T., Montarras, D. and Sehara, A. Fetal skeletal muscle progenitors have regenerative capacity after intramuscular engraftment in Dystrophin deficient mice. *PLoS One.* 8. 2013. e63016.

再生と細胞外基質 (ECM) の関連について古くから示唆されていたが、公募班員の星、荒木、佐藤班員らは、具体的にマクロファージや ECM によって、再生能の誘起や再生の促進を実験的に証明することに成功した。

6. 研究成果の取りまとめ及び公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）（5ページ程度）

本研究課題（公募研究を含む）により得られた研究成果の公表の状況（主な論文、書籍、ホームページ、主催シンポジウム等の状況）について具体的に記述してください。論文の場合、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に記載し、研究代表者には二重下線、研究分担者には一重下線、連携研究者には点線の下線を付し、corresponding author には左に*印を付してください。また、一般向けのアウトリーチ活動を行った場合はその内容についても記述してください。また、別添の「(2) 発表論文」の融合研究論文として整理した論文については、冒頭に◎を付してください。

A01 計画班

（代表）阿形清和（分担者）井上武

Tsutsumi, R., Yamada, S., and *Agata, K. Functional joint regeneration is achieved using reintegration mechanism in *Xenopus laevis*. **Regeneration**. in press.

Tsutsumi, R., Inoue, T., Yamada, S., and *Agata, K. Reintegration of the regenerated and the remaining tissues during joint reintegration in the newt *Cynops pyrrhogaster*. **Regeneration**. 2. 2015. 26-36.

*Agata, K., Tasaki, J., Nakajima, E., and Umesono, Y. Recent identification of an ERK signal gradient governing planarian regeneration. **Zoology**. 117 (3). 2014. 161-2.

*Hayashi, T., Sakamoto, K., Sakuma, T., Yokotani, N., Inoue, T., Kawaguchi, E., Agata, K., Yamamoto, T. and Takeuchi T. Transcription activator-like effector nucleases efficiently disrupt the target gene in Iberian ribbed newts (*Pleurodeles waltl*), an experimental model animal for regeneration. **Dev. Growth Differ.** 56. 2014. 115-121.

Inoue T., Inoue R., Tsutsumi R., Tada K., Urata Y., Michibayashi C., Takemura S., and *Agata K. Lens regenerates by means of similar processes and timeline in adults and larvae of the newt *Cynops pyrrhogaster*. **Dev.Dyn.** 241, 2012: 1575-1583

*Agata, K., and Inoue T. Survey of the differences between regenerative and non-regenerative animals. **Dev. Growth Differ.** 54 (2). 2012. 143-152.

その他：An et al. **PLoS One** 2015; Hwang et al. **Dev Growth Differ.** 2015 (梅園の項参照); *Inoue et al. J. Neurosci. 2014; Tashiro et al. **Biochem. Biophys Res. Commun.** 2014; Umesono et al. Nature. 2013 (梅園の項参照); Sakurai et al. **Int J Dev Biol.** 2012; Nishimura et al. **BMC Genomics.** 2012. Nishimura et al. **Neural Stem Cells and Therapy.** 2012; Nishimura et al. **J Neurochem.** 119 (6). 2011. 1217-1231; Forêt et al. **Mol. Biol. Evol.** 2011; Tasaki et al. **Development.** 2011 (梅園の項参照); Tasaki et al. **Dev. Growth Differ.** 2011 (梅園の項参照); *Umesono et al. Eur. J. Neurosci. 2011(梅園の項参照); Hayashi et al. **Development.** 2011; Rouhana et al. **Dev Biol.** 2010; Nishimura et al. **Neuroscience.** 2010; Shibata et al. **Dev. Growth Differ.** 2010; Hayashi et al. **Dev. Growth Differ.** 2010.

（代表）野地澄晴（分担者）大内淑代、坂東哲哉、三戸太郎

◎*Yoshida, H., Bando, T., Mito, T., Ohuchi, H. and *Noji, S. An extended steepness model for leg-size determination based on Dachous/Fat trans-dimer system. **Sci. Rep.** 2014. 4335.

Takagi, A., Kurita, K., Terasawa, T., Nakamura, T., Bando, T., Moriyama, Y., Mito, T., Noji, S. and *Ohuchi H. Functional analysis of the role of eyes absent and sine oculis in the developing eye of the cricket *Gryllus bimaculatus*. **Dev. Growth Differ.** 54 (6). 2012 227-240.

Mito, T., Shinmyo, Y., Kurita, K., Nakamura, T., Ohuchi, H. and *Noji, S. Ancestral functions of Delta/Notch signaling in the formation of body and leg segments in the cricket *Gryllus bimaculatus*. **Development.** 138(17) 2011. 3823-3833.

Bando, T., Mito, T., Nakamura, T., Ohuchi, H. and *Noji, S. Regulation of leg size and shape: Involvement of the Dachous-fat signaling pathway. **Dev. Dyn.** 240 (5). 2011. 1028-1041.

Bando, T., Hamada, Y., Kurita, K., Nakamura, T., Mito, T., Ohuchi, H. and *Noji, S. Lowfat, a mammalian Lix1 homologue, regulates leg size and growth under the Dachous/Fat signaling pathway during tissue regeneration. **Dev. Dyn.** 240 (6), 2011. 1440-1453.

Nakamura, T., Yoshizaki, M., Ogawa, S., Okamoto, H., Sinmyo, Y., Bando, T., Ohuchi, H., Noji, S. and *Mito, T. Imaging of transgenic cricket embryos reveals cell movements consistent with a syncytial patterning mechanism. **Curr Biol.** 20 (18). 2010. 1641-1647.

その他：◎Ishimaru et al. **Sci. Rep.** 2015; ◎Watanabe et al. **Methods.** 2015.

（代表）梅園良彦

Hwang, B., An, Y., Agata, K. and Umesono, Y. Two distinct roles of the yorkie/yap gene during homeostasis in the planarian *Dugesia japonica*. **Dev. Growth Differ.** 57. 2015. 209-217.

Umesono, Y., Tasaki, J., Nishimura, Y., Hrouda, M., Kawaguchi, E., Yazawa, S., Nishimura, O., Hosoda, K., Inoue, T. and Agata, K. The molecular logic for planarian regeneration along the anterior-posterior axis. **Nature.** 500. 2013. 73-76.

*Umesono, Y., Tasaki, J., Nishimura, K., Inoue, T. and Agata, K. Regeneration in an evolutionarily primitive brain - the planarian *Dugesia japonica* model. **Eur J Neurosci.** 34 (6). 2011. 863-869.

Tasaki, J., Shibata, N., Nishimura, O., Itomi, K., Tabata, Y., Son, F., Suzuki, N., Araki, R., Abe, M., Agata, K. and *Umesono, Y. ERK signaling controls blastema cell differentiation during planarian regeneration. **Development.** 138 (12). 2011. 2417-2427.

Tasaki, J., Shibata, N., Sakurai, T., Agata, K. and *Umesono, Y. Role of c-Jun N-terminal kinase activation in blastema formation during planarian regeneration. **Dev. Growth Differ.** 53 (3). 2011. 389-400.

A01 公募班

(代表) 千葉親文 (H23-24)

*Chiba, C. The retinal pigment epithelium: An important player of retinal disorders and regeneration. *Exp. Eye Res.* 123. 2014. 107-114.

*Chiba, C., Yamada, S., Tanaka, H., Inae-Chiba, M., Miura, T., Casco-Robles, M M., Yoshikawa, T., Inami, W., Mizuno, A., Islam, MD R., Han, W., Yasumuro, H., Matsumoto, M. and Takayanagi, M. Metamorphosis inhibition: an alternative rearing protocol for the newt, *Cynops pyrrhogaster*. *Zool. Sci.* 29 (5). 2012. 293-298.

その他 : Mizuno et al. *Neurosci Lett.* 2012; Yoshikawa et al. *Pigment Cell & Melanoma Res.* 2012.

(代表) 川上厚志 (H23-24)

Fujita, M., Mitsuhashi, H., Isogai, S., Nakata, T., Kawakami, A., Nonaka, I., Noguchi, S., Hayashi, Y K., Nishino, I. and *Kudo, A. Filamin C plays an essential role in the maintenance of the structural integrity of cardiac and skeletal muscles, revealed by the medaka mutant zacro. *Dev. Biol.* 361. 2012. 79-89.

Yoshinari, N. and *Kawakami, A. Mature and juvenile tissue models of regeneration in small fish species. *Biol. Bull.* 221 (1). 2011. 62-78.

(代表) 蒲池雄介 (H23-24)

Kamachi, Y. and *Kondoh, H. Sox proteins: regulators of cell fate specification and differentiation. *Development.* 140. 2013. 4129-4144.

Iwafuchi-Doi, M., Yoshida, Y., Onichtchouk, D., Leichsenring, M., Driever, W., Takemoto, T., Uchikawa, M., Kamachi, Y. and *Kondoh, H. The Pou5f1/Pou3f-dependent but SoxB-independent regulation of conserved enhancer N2 initiates Sox2 expression during epiblast to neural plate stages in vertebrates. *Dev. Biol.* 352 (2). 2011. 354-366.

その他 : Kobayashi et al. *Arch. Insect. Biochem. Physiol.* 76 (4). 2011. 195-210.

(代表) 荒木 正介 (H23-24)

Steinfeld, J. *Ushijima, I., Coronato, N., Layer, P G., Araki, M. and Vogel-Höpker, A. RPE specification is mediated by surface ectoderm-derived WNT signaling in the chick. *Development.* 140 (24). 2013. 4959-4969.

Nabeshima, A., Nishibayashi, C., Ueda, Y., Ogino, H. and *Araki, M. Loss of cell-extracellular matrix interaction triggers retinal regeneration accompanied by Rx and Pax6 activation. *Genesis.* 51. 2013. 410-419.

その他 : Ueda et al. *Genesis.* 2012; *Araki, M., et al. *NOVA Sci. Pub. New York.* A review book. 2011.

(代表) 佐藤 伸 (H23-24、H25-26)

Mitogawa, K., Hirata, A., Moriyasu, M., Makanae, A., Miura, S., Endo, T. and *Satoh, A. Ectopic blastema induction by nerve deviation and skin wounding: A new regeneration model in *Xenopus laevis*. *Regeneration.* 1 (2). 2014. 26-36.

Makanae, A., Mitogawa, K. and *Satoh, A. Cooperative Bmp- and Fgf-signaling inputs convert skin wound healing to limb formation in urodele amphibians. *Dev. Biol.* 396 (1). 2014. 57-66

その他 : Endo et al. *Methods Mol. Biol.* 2015. (遠藤の項参照); Kowata et al. *Gene.* 2014; Mitogawa et al. *Regeneration.* 2014; *Satoh et al. *Zool. Sci.* 2014; Makanae et al. *Dev. Biol.* 2013; Hirata et al. *Dev. Dyn.* 2013; Moriyasu et al. *Dev. Dyn.* 2012; Makanae et al. *Anat. Rec.* 2012; *Satoh et al. *Dev. Biol.* 2012; *Satoh et al. *Zool Sci.* 2012; *Satoh et al. *Dev. Biol.* 2011.

(代表) 星和人 (H25-26)

Mori, Y., Fujihara, Y., Misawa, M., Inoue, H., Inaki, R., Suenaga, H., Okubo, K., Saijo, H., Takato, T. and *Hoshi, K. Fabrication of Stereotyped Beta-Tricalcium-Phosphate Blocks into a Conjugated Structure using Mesenchymal Stem Cell Sheets Prepared in Temperature-Responsive Culture Dishes. *J. Hard Tissue Biol.* 23 (2). 2014. 217-224.

Fujihara, Y., Takato, T. and *Hoshi, K. Macrophage-inducing fasl on chondrocytes forms immune privilege in cartilage tissue engineering, enhancing in vivo regeneration. *Stem Cells.* 32 (5). 2014. 1208-1219.

その他 : Mori et al. *J Hard Tissue Biol.* 2014; Mori et al. *J Hard Tissue Biol.* 2014; Matsuyama et al. *OJRM.* 2013; Uto et al. *Biomed Res.* 2013; Mori et al. *MSA.* 2013; Mori et al. *MSA.* 2013; Mori et al. *Br. J. Oral. Maxillofac. Surg.* 2013; Mori et al. *J Hard Tissue Biol.* 2014; Maeda et al. *J. Craniofac Surg.* 2013; Suenaga, et al. *Int. J. Oral. Sci.* 2013. 98-102; Komura et al. *Laryngoscope.* 2013; Mori et al. *Br. J. Oral. Maxillofac. Surg.* 2013.

(代表) 黒岩厚 (H25-26)

Yamamoto-Shiraishi, Y., Higuchi, H., Yamamoto, S., Hirano, M. and *Kuroiwa, A. Etv1 and Ewsr1 cooperatively regulate limb mesenchymal Fgf10 expression in response to apical ectodermal ridge-derived fibroblast growth factor signal. *Dev. Biol.* 394 (1). 2014. 181-190.

Yamamoto-Shiraishi, Y. and Kuroiwa, A. Wnt and BMP signaling cooperate with Hox in the control of Six2 expression in limb tendon precursor. *Dev. Biol.* 377 (2). 2013. 363-374.

その他 : Matsubara et al. *Dev. Growth Differ.* 56. 2014; Kimura et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2014.

(代表) 越智 陽城 (H25-26)

Hayashi et al. *Dev. Biol.* 2014 (横山の項参照).

Yajima et al. *BMC Biol.* 2014 (荻野の項参照).

(代表) 荻野肇 (H25-26)

Yajima, H., Suzuki, M., Ochi, H., Ikeda, K., Sato, S., Yamamura, K I., Ogino, H., Ueno, N. and *Kawakami, K. Six1 is a key regulator of the developmental and evolutionary architecture of sensory neurons in craniates. *BMC Biol.* 12. 2014. 40.

Omori, A., Miyagawa, S., Ogino, Y., Harada, M., Ishii, K., Sugimura, Y., Ogino, H., Nakagata, N. and *Yamada, G. Essential roles of epithelial bone morphogenetic protein signaling during prostatic development. *Endocrinol.* 155 (7). 2014. 2534-2544.

その他 : Hayashi et al. *Dev. Biol.* 2014 (横山の項参照).

(代表) 林利憲 (H25-26)

*Hayashi, T., Sakamoto, K., Sakuma, T., Yokotani, N., Inoue, T., Kawaguchi, E., Agata, K., Yamamoto, T. and Takeuchi T. Transcription activator-like effector nucleases efficiently disrupt the target gene in Iberian ribbed newts (*Pleurodeles waltl*), an experimental model animal for regeneration. *Dev. Growth Differ.* 56. 2014. 115-121.

Inagawa, M., Nakajima, K., Makino, T., Ogawa, S., Kojima, M., Ito, S., Ikenishi, A., Hayashi, T., Schwartz, J R., Nakamura, K., Obayashi, T., Tachibana, M., Shinkai, Y., Maeda, K., Miyagawa-Tomita, S. and Takeuchi, T. Histone H3 lysine 9 methyltransferases, G9a and GLP are essential for cardiac morphogenesis. *Mech. Dev.* 160 (11-12). 2013. 519-531.

A02 計画班

(代表) 横山仁 (連携研究者) 田村宏治

Hayashi, S., Yokoyama, H. and Tamura, K. Roles of Hippo signaling pathway in size control of organ regeneration. *Dev. Growth Differ.* in press.

*Egawa, S., *Miura, S., Yokoyama, H., Endo, T. and *Tamura, K. Growth and differentiation of a long bone in limb development, repair and regeneration. *Dev. Growth Differ.* 56. 2014. 410-424.

Hayashi, S., Ochi, H., Ogino, H., Kawasumi, A., Kamei, Y., Tamura, T. and *Yokoyama, H. Transcriptional regulators in the Hippo signaling pathway control organ growth in *Xenopus* tadpole tail regeneration. *Dev. Biol.* 396 (1). 2014. 31-41.

Hayashi, S., Tamura, K. and *Yokoyama, H. Yap1, transcription regulator in the Hippo signaling pathway, is required for *Xenopus* limb bud regeneration. *Dev. Biol.* 388. 2014. 57-67.

*Yokoyama, H., *Maruoka, T., Aruga, A., Amano, T., Ohgo, S., Shiroishi, T. and Tamura, K. Prx-1 expression in *Xenopus laevis* scarless skin-wound healing and its resemblance to epimorphic regeneration. *J. Invest. Dermatol.* 131 (12). 2011. 2477-2485.

Yokoyama, H., Maruoka, T., Ochi, H., Aruga, A., Ohgo, S., Ogino, H. and Tamura, K. Different requirement for Wnt/ β -catenin signaling in limb regeneration of larval and adult *Xenopus*. *PLoS ONE.* 6 (7). 2011. e21721.

その他 : Hayashi et al. *Zool. Lett.* in press; Wakasa, et al. *J. Exp. Zool. Part B: Molecular and Developmental Evolution.* in press; Nomura et al. *Dev. Dym.* 2014; Yano et al. *New Principles in Developmental Processes Kondoh, Hisato; Kuroiwa, Atsushi Eds.* 2014; Kamiyama et al. *Dev. Growth Differ.* 54 (6). 2012. 619-632; Noro et al. *Dev. Dyn.* 2011; *Tamura et al. *Science.* 2011.

(代表) 遠藤哲也

*Endo, T., Gardiner DM., Makanai A., and Satoh, A. The accessory limb model: An alternative experimental system of limb regeneration. *Methods Mol. Biol.* 1290. 2015. 101-113.

その他 : * Egawa et al. *Dev. Growth Differ.* 2014 (横山の項参照); Mitogawa et al. *Regeneration.* 2014 (佐藤伸の項参照); Egawa et al. *Dev. Growth Differ.* 2014 (横山の項参照).

A02 公募班

(代表) 北田容章 (H23-24、H25-26)

Kuroda, Y., Wakao, S., Kitada, M., Murakami, T., Nojima, M., *Dezawa, M. Isolation, culture and evaluation of multilineage-differentiating stress-enduring (Muse) cells. *Nat. Protocols.* 8 (7). 2013. 1391-1415.

Kitada, M., Wakao, S. and *Dezawa, M. Muse cells and induced pluripotent stem cell: implication of the elite model. *Cell Mol. Life. Sci.* 69 (22). 2012. 3739-3750.

その他 : Kitada et al. *Parkinsons Dis.* 2012; Kitada et al. *Methods Mol. Biol.* 2012; Wakao et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2011; Kuroda et al. *Arc.h Immunol. Ther Exp (Warsz).* 2011; Matsuse et al. *Tissue Eng. Part. A.* 2011.

(代表) 佐藤貴彦 (H23-24)

Sakai, H., Sato, T., Sakurai, H., Yamamoto, T., Montarras, D. and Sehara, A. Fetal skeletal muscle progenitors have regenerative capacity after intramuscular engraftment in Dystrophin deficient mice. *PLoS One.* 8. 2013. e63016.

(代表) 鈴木賢一 (H25-26)

Sakane, Y., Sakuma, T., Kashiwagi, K., Kashiwagi, A., Yamamoto, T and *Suzuki, T K. Targeted mutagenesis of multiple and paralogous genes in *Xenopus laevis* using two pairs of transcription activator-like effector nucleases. *Dev. Growth*

Differ. 56 (1). 2014. 108-114.

Sakuma, T., Ochiai, H., Kaneko, T., Mashimo, T., Tokumasu, D., Sakane, Y., Suzuki, K., Miyamoto, T., Sakamoto, N., Matsuura, S. and Yamamoto, T. Repeating pattern of non-RVD variations in DNA-binding modules enhances TALEN activity. *Sci. Rep.* 2013. 3379.

A03 公募班

(代表) 吉田寛 (H23-24)

*Yoshida, H. A condition for regeneration of a cell chain inspired by the Dachsous-Fat system. *J. Math-for-Industry.* 3. 2011. 93-98.

その他 : ◎*Yoshida et al. *Sci. Rep.*. 2014 (野地の項参照).

(代表) 森下喜弘 (H23-24、H25-26)

*Morishita, T., and Suzuki. Bayesian inference of whole-organ deformation dynamics from limited space-time point data. *J. Theor. Biol.* 357. 2014. 74-85.

Ishimoto, Y. and *Morishita, Y. Bubbly vertex dynamics: A dynamical and geometrical model for epithelial tissues with curved cell shapes. *Physical Rev. E.* 90. 2014. 052711.

*Morishita, Y. and Ken-ichi Hironaka. Systems approach to developmental biology - designs for robust patterning. *IET Systems Biol.* 7. 2013. 38-49.

その他 : ◎*Morishita et al. *Development.* 2015; *Morishita et al. *Biophys. J.* 2011; Hironaka et al. *J. Theor. Biol.* 2011; Hironaka et al. *Curr. Opin. Genetics Dev.* 2011.

1-2) 日本語総説 (査読有 1 件)

A01 計画班

1) 渡辺崇人, 三戸太郎, 大内淑代, *野地澄晴. 2014; 2) 林真一, 矢野十織, 川住愛子, 田村宏治, 横山仁. 2013; 3) 横山仁, 林真一, 川住愛子, 砂川奈都召, 田村宏治. 2014; 4) 田村宏治, 阿形清和. 2014; 5) 板東哲哉, 三戸太郎, 野地澄晴, 大内淑代. 2014; 6) 田村宏治, 大塚理奈, 川住愛子, 横山仁. 2013; 7) 横山仁, 川住愛子, 林真一, 田村宏治. 2012; 8) 野村直生, 関亮平, 米井小百合, 横山仁, 田村宏治. 2011

A01 公募班

1) 林利憲, 竹内隆; 2014a; 2) 林利憲, 竹内隆. 2014b; 3) 林利憲, 竹内隆. 2014c; 4) 鈴木賢一, 佐久間哲史, 山本卓. 2014 (査読あり) ;

1-3) 書籍

A01 計画班

Umesono, Y. Springer, New Principles in Developmental Processes (Chapter 6: Determination of Stem Cell Fate in Planarian Regeneration) .2014. 321(71-84)

A01 公募班

Kondoh, K. Kuroiwa, A. Edt. Springer. New Principles in Developmental Processes. 2014. 321.

Satoh, A. Springer. New Principles in Developmental Processes (Chapter 15: Limb Regeneration: Reconstitution of Complex Organs Using Specific Tissue Interactions). 2014. 321(197-213).

Ochi, H., Kawaguchi, A. and Ogino, H. Springer. New Principles in Developmental Processes(Chapter 21: Differential use of paralogous genes via evolution of cis-regulatory elements for divergent expression specificities). 2014. 321(279-290).

越智 陽城、新曜社、「変わる」生命誌年間号 Vol.73-76 編集 中村桂子 (発現調節配列の変化を探る - 多様性を つくる鍵はゲノムのどこにある? -). 2014. 271(168-175).

林利憲, 坂根祐人, 竹内隆, 鈴木賢一, 羊土社、両生類における TALEN を用いた遺伝子改変:今すぐ始めるゲノム編集 (山本卓編) . 2014. 205(180-188).

Araki, M. Wiley- Blackwell, Xenopus Development. 2014. 424(364-367).

北田容章、出澤真理、朝倉書店、再生医療叢書 第7巻 神経系 (第11章 間葉系幹細胞・Muse細胞を用いた再生医療) .2013. 192(163-187).

千葉親文、共立出版、「研究者が教える動物飼育 第3巻-ウニ, ナマコから脊椎動物へ」(日本比較生理生化学会編) アカハライモリ. 2012. 194(103-109).

2) ホームページ

ホームページ（以下 HP、<http://reg.biol.sci.kyoto-u.ac.jp/repo/reports.html>）を積極的に活用し、班員の研究内容、発表論文やアウトリーチ活動を紹介している。また本研究課題の目的のひとつである「再生研究の新しい学問潮流を生み出す」ためにおこなっている再生動物のトレーニングコースについても HP 上で募集し、コースの模様や内容を報告している。さらにインターネットを介した研究者と市民の双方向コミュニケーションを充実させるため、サイエンスカフェ(サイバーカフェ)を実施し、会員登録(無料)した視聴者に対してストリーミングを利用して研究の内容について情報を発信し、ソーシャルネットワークを利用して視聴者から意見・疑問などを募り、研究活動へフィードバックさせる計画を進行中である。また研究の内容を不特定の一般市民に広く公開し、市民との直接的な対話を実現する目的で、研究室の facebook ページを開設した(<https://www.facebook.com/J.LegLab>、遠藤班員)。

3) 主催シンポジウム

3-1) 国際シンポジウム・ワークショップ

1) 2014 年 5 月 (香港大学)、2) 2013 年 8 月 (岡山)、3) 2012 年 3 (徳島大学) 4) 2011 年 12 月 (パシフィコ横浜) 5) 2011 年 12 月 (京都大学吉田泉殿) 6) 2011 年 11 月 (理化学研究所発生再生研究センター) 7) 2011 年 11 月 (関西セミナーハウス)

3-2) 国内シンポジウム・ワークショップ

1) 2014 年 12 月 (鳥取大学) 2) 2014 年 8 月 (北海道大学) 3) 2014 年 4 月 (京都大学) 4) 2012 年 (岡山大学) 5) 2012 年 4 月 (岡山大学) 6) 2012 年 3 月 (奈良女子大学) 7) 2012 年 2 月 (京都大学) 8) 2011 年 5 月 (広島大学) 9) 2011 年 12 月 (京都大学) 10) 2011 年 5 月 (京都大学)

4) アウトリーチ活動

各班員が社会、国民に対するアウトリーチ活動として、積極的に研究活動の内容や成果に関して、テレビや新聞といったマスメディアに対する取材協力や、高校、一般向けの講演をおこなっている。以下に主な活動状況を記載する。

1) 新聞に対する取材協力 9 件、2) 雑誌等に対する取材協力 7 件、3) テレビ、ラジオへの取材協力、出演 9 件、4) 高校や一般向けの講演、実習等 46 件 (合計 71 件)

7. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況（2ページ程度）

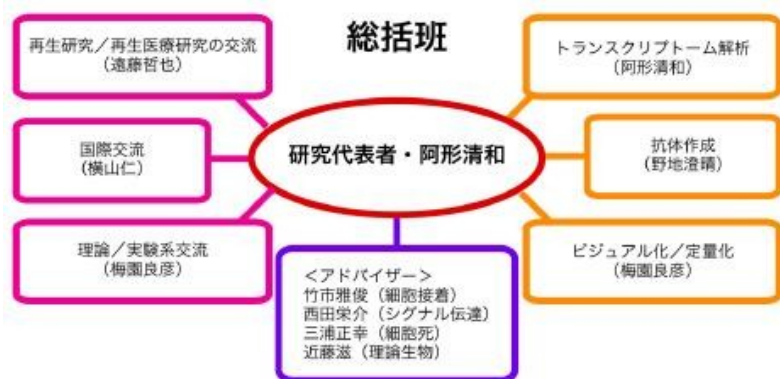
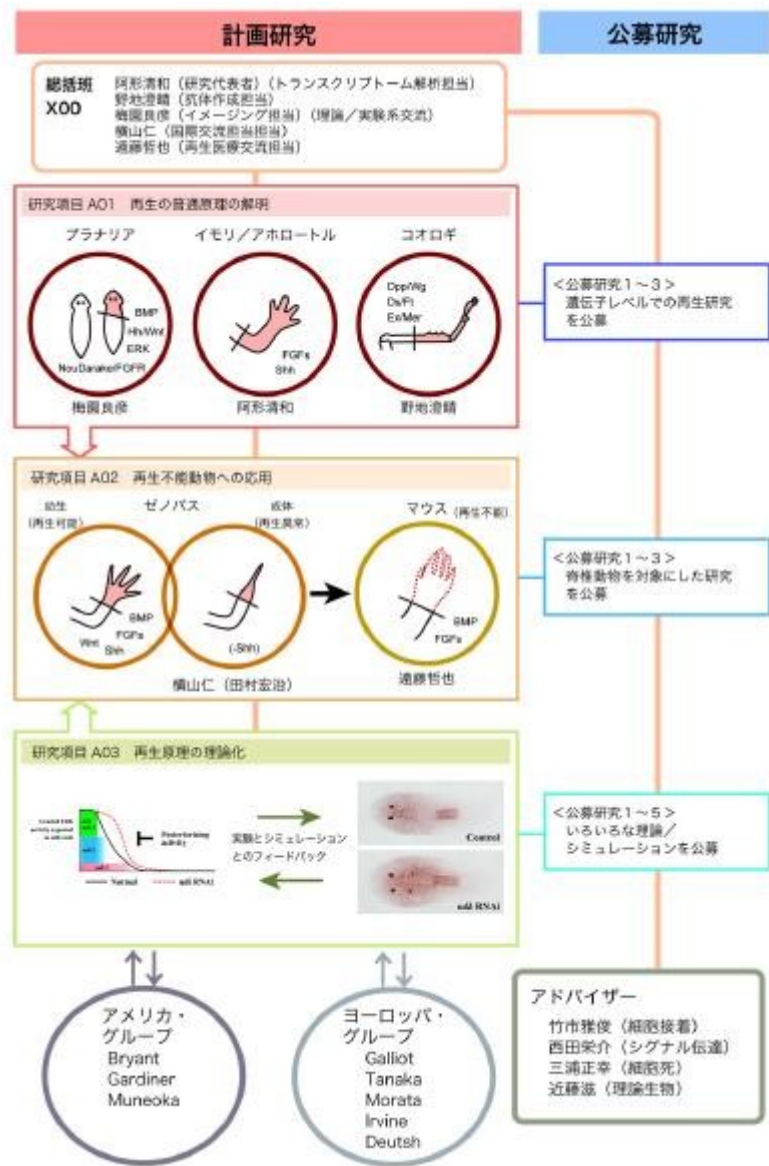
領域内の計画研究及び公募研究を含んだ研究組織と領域において設定している各研究項目との関係を記述し、どのように研究組織間の連携や計画研究と公募研究の調和を図ってきたか、組織図や図表などを用いて具体的かつ明確に記述してください。

右図が申請書に記載した組織図である。基本は、本組織図をベースに、計画班と公募班との交流促進のために、新たに2つの組織を構築した。具体的には、1つは『両生類の遺伝子操作班』であり、2つめとしては、『実験と理論交流班』である。どちらも、不定期的ではあるが年に数回開催することで、班会議での意見交流の他にテーマを限定した交流事業を行い、班員間の情報交換の促進、共同研究の促進を行った。

その結果、両生類を用いた新たなモデル動物の確立や、IR-LEGOやCre-loxPを用いた発現誘導系の確立、遺伝子ノックイン/ノックアウト動物の作出にも成功し、年度内に論文として出版にまで漕ぎ着けるまでに至った。

また、総括班の主導のもと、次世代シーケンサーを使った、コオロギ、プラナリア、イモリの全ゲノム配列の解読、各再生系の再生時系列に応じたトランスクリプトーム解析についても精力的に行い、それらのデータをデータベース化し、班内で情報の共有化を行った。

総括班は、上記の研究班内の交流促進に機能したばかりか、国際シンポジウムの開催、再生医療分野の国内学会への戦略的参画、再生生物学トレーニング・コースの開催、積極的なアウトリーチ活動についても行い、班外との交流にも大きな機能を果たした。



8. 研究経費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）（1 ページ程度）

領域研究を行う上で設備等（研究領域内で共有する設備・装置の購入・開発・運用・実験資料・資材の提供など）の活用状況や研究費の効果的使用について総括班研究課題の活動状況と併せて記述してください。

本領域では、近縁の再生できる生物とできない生物を分子生物学的に比較する事で再生原理を理解し、最終的に3次元構造をもった指や器官の再生を目指す、という新しい再生医療領域の創成を展開した。

遺伝学的な手法が確立するために新たなモデル動物として導入したイベリアトゲイモリやアフリカツメガエルといった複数の両生類を効率的に管理、飼育するために飼育施設を構築、完備した。

多くの班で使用された動物が比較的マイナーであったため、ゲノムやmESTデータベースの拡充が必要であった。そこで総括班で必要な試薬を購入し、京都大学理学研究科の454シーケエンサー、またはIlluminaのMiseqを利用して大規模シーケンシングを支援した。その結果、プラナリアのゲノム情報が飛躍的に拡充された。また、イベリアトゲイモリのcyclin関連遺伝子群、また再生過程で上昇するwnt遺伝子の同定に成功した。

多くのシーケエンス情報を効率的に管理、解析するために京都大学に大規模シーケエンス用サーバーを設置した。大規模シーケエンスによって得られる膨大なデジタルデータを一括管理、解析することにより、各動物における解析結果の進捗状況、または比較解析が容易となった。

再生原理を分子生物学的に理解するために、得られた遺伝子の再生過程で大規模に解析するために、フリューダイン社のBioMarkシステムを導入した。これにより96サンプルx96遺伝子の発現解析が可能となり、発現解析の後方支援をおこなった。

カエルやマウスなどの再生できない生物に遺伝子導入することで、再生能力を獲得しうるかどうかを検討するために、熱タンパク質のプロモーターの下流に目的遺伝子をつないだコンストラクトを作成し、顕微鏡下で赤外線照射をおこなうことで目的遺伝子の発現を活性化させるIR-REGO法を導入した。そのための顕微鏡を購入し、班員が相互に利用できるようにした。実際にカエルの腕の再生過程で特定の遺伝子を活性化させることに成功した。

班会議の旅費を総括班で拠出することで、バックグラウンドの異なる班員間の交流を深め、新しい学問分野の創成につとめた。また、学生の参加を推奨し次世代の再生研究者の裾野を広げる事にも努めた。

・研究費の使用状況

(1) 主要な物品明細 (計画研究において購入した主要な物品 (設備・備品等。実績報告書の「主要な物品明細書」欄に記載したもの。) について、金額の大きい順に、枠内に収まる範囲で記載してください。)

年度	品名	仕様・性能等	数量	単価 (円)	金額 (円)	設置(使用)研究機関
2 2	リアルタイムPCR(総括)	フリーダイム BioMark-システム	1 式	15,750,000	15,750,000	京都大学
	蛍光イメージングシステム (阿形)	ライカ・M205FAT-RCI	1 式	7,594,965	7,594,965	京都大学
	マルチハイブリダイゼーション処理装置 (横山)	アロカ・HS-305	1 式	3,906,000	3,906,000	東北大学
	ゼノパス飼育水槽システム (横山)	イワキ・ISTS-1802S-L0001Z	1 式	3,774,750	3,774,750	東北大学
	リアルタイムPCRシステム (遠藤)	ABI StepOne-01	1 式	2,976,750	2,976,750	愛知学院大学
	落射蛍光顕微鏡・対物レンズ (遠藤)	オリンパス BX53-44-FLD-1	1 式	2,881,830	2,881,830	愛知学院大学
2 3	高級実体顕微鏡システム (遠藤)	オリンパス SZX16-6331FL	1 式	2,381,400	2,381,400	愛知学院大学
	両生類飼育装置 (阿形)	メディカルエイジエント・特注	1 式	4,699,800	4,699,800	京都大学
	実体顕微鏡 (野地)	ライカ	1 式	3,914,715	3,914,715	徳島大学
2 4	実体顕微鏡 (川上)	ライカ・M205FA	1 式	2,498,737	2,498,737	東京工業大学
	倒立型リサーチ顕微鏡 (横山)	オリンパス IX73 蛍光組合せ	1 式	2,999,850	2,999,850	東北大学
	顕微鏡画像自動張り合わせシステム (遠藤)	三商商事・e-tiling	1 式	2,710,260	2,710,260	愛知学院大学
	リアルタイムPCR7900用新レーザー (阿形)	ライフテクノロジーズ・LASER HEAD	1 式	2,465,400	2,465,400	京都大学
2 5	生物顕微鏡・蛍光装置セット (荻野)	ニコン・エクリプス Ni-U	1 式	2,748,459	2,748,459	長浜バイオ大学
	実体顕微鏡 SMZ-18 蛍光セット (状態検出蛍光セット) (横山)	ニコン SMZ-18	1 式	2,121,000	2,121,000	弘前大学

(2) 計画研究における支出のうち、旅費、人件費・謝金、その他の主要なものについて、年度ごと、費目別に、金額の大きい順に使途、金額、研究上必要な理由等を具体的に記述してください。

【平成 22 年度】

- ・ 旅費 (特記のない内訳は成果発表および情報収集など)
[総括班] 4,168,241 円 (第 1 回トレーニングコース<岡崎>および準備旅費・招聘費 38 名分 1,829,870 円、日独合同発生生物学会<ドイツ>旅費 5 名、1,639,940 円、第 0 回総括班会議<京都>旅費 8 名分 275,370 円、など); [野地] 1,535,340 円 (第 3 回 EMBO Conference(再生)<ポルトガル>参加旅費 3 名分、他); [横山] 901,466 円 (第 3 回 EMBO Conference(再生)<ポルトガル>参加旅費 1 名分、他); [阿形] 614,798 円 (第 3 回 EMBO Conference(再生)<ポルトガル>参加旅費 2 名分 498,860 円など); [梅園] 282,512 円; [遠藤] 27,600 円
- ・ 人件費・謝金 (研究員および研究補助員雇用費など)
[野地] 3,859,123 円; [総括班] 3,430,174 円; [阿形] 3,226,040 円; [横山] 3,125,632 円; [遠藤] 1,400,060 円; [梅園] 0 円
- ・ その他 (特記のない内訳は論文投稿料、学会参加費、修理費など)
[野地] 8,869,410 円 (次世代シーケンサによるコオロギゲノムデータの解析料、他);
[梅園] 7,433,139 円 (次世代シーケンサによるプラナリアゲノムデータの解析料、他);
[遠藤] 2,186,500 円; [阿形] 1,649,487 円; [総括班] 1,049,001 円; [横山] 478,402 円

【平成 23 年度】

- ・ 旅費 (特記のない内訳は成果発表および情報収集など)
[総括班] 7,982,290 円 (再生原理国際ワークショップ<京都>&CDB Meeting<神戸>旅費・外国人招聘費 36 名分 4,163,320 円、計画班会議/第 1 回数理解会議<京都>旅費 9 名・外国人招聘費 3 名計 12 名分 1,353,090 円、第 2 回総括班・数理解会議<京都>旅費 25 名分 899,690 円、第 1 回総括班会議<京都>旅費 31 名分 760,220 円、第 1 回国際コオロギ会議<徳島>招聘費 10 名分 711,790 円、他); [野地] 778,260 円; [阿形] 722,120 円; [横山] 653,830 円; [遠藤] 287,160 円; [梅園] 189,860 円;
- ・ 人件費・謝金 (研究員および研究補助員雇用費など)
[野地] 8,601,402 円; [横山] 7,690,544 円; [遠藤] 7,464,153 円; [総括班] 4,675,762 円; [阿形] 5,000,940 円; [梅園] 0 円
- ・ その他 (特記のない内訳は論文投稿料、学会参加費、修理費など)
[総括班] 4,942,415 円 (再生原理ワークショップ会場会議費/CDB Meeting 抄録集・ポスター印刷費/CDB Meeting 会議費など 4,193,430 円、第 1 回総括班会議費 100,000 円、第 2 回総括班会議費 80,000 円 他); [阿形] 1,832,491 円 (実験動物採集・生態調査費<借上げバス代>168,000 円、他修理など); [横山] 550,259 円; [梅園] 231,283 円; [遠藤] 34,670 円; [野地] 25,898 円

【平成 24 年度】

- ・ 旅費 (特記のない内訳は成果発表および情報収集など)
[総括班] 2,762,537 円 (第 4 回総括班会議<淡路島>旅費 51 名分 1,690,700 円、両生類会議<京都>旅費 6 名分 218,120 円、アジア発生生物学会<台湾>旅費 1 名分 126,050 円、文部科学省中間報告会<東京>旅費 3 名分 87,120 円 他); [野地] 989,420 円 (第 24 回昆虫国際会議<韓国>旅費 2 名分 他); [横山] 868,930 円; [阿形] 667,815 円 (ゲノム編集研究会<岡崎>旅費 3 名分 76,140 円 他); [梅園] 557,755 円; [遠藤] 270,720 円
- ・ 人件費・謝金 (研究員および研究補助員雇用費など)
[総括班] 13,549,433 円; [阿形] 10,232,262 円; [横山] 8,819,890 円; [野地] 8,661,270 円; [遠藤] 7,308,034 円; [梅園] 0 円
- ・ その他 (特記のない内訳は論文投稿料、学会参加費、修理費など)
[阿形] 1,358,638 円 (計 8 件分の修理費 他); [総括班] 698,985 円; [野地] 389,377 円; [横山] 321,466 円; [遠藤] 205,280 円; [梅園] 166,671 円

【平成 25 年度】

- ・ 旅費 (特記のない内訳は成果発表および情報収集など)
[総括班] 2,410,952 円 (第 2 回トレーニングコース/第 5 回総括班会議<岡崎>旅費 27 名分 879,390 円、国際発生生物学会参加<メキシコ>旅費 1 名分 849,160 円、国際進化学会参加<ドイツ>旅費 1 名分 281,365 円 他); [阿形] 1,338,580 円 (国際発生生物学会参加<メキシコ>旅費 1 名分 413,450 円、第 2 回トレーニングコース<岡崎>旅費 8 名分 340,480 円、他); [野地] 1,013,173 円 (第 2 回トレーニングコース/第 5 回総括班会議<岡崎>旅費 他); [横山] 689,250 円; [遠藤] 217,800 円; [梅園] 164,310 円

・人件費・謝金 (研究員および研究補助員雇用費など)
[野地] 10,931,338 円 ; [阿形] 10,454,802 円 ; [総括班] 8,141,595 円 ; [遠藤] 7,886,515 円
[横山] 3,180,255 円 ; [梅園] 283,960 円

・その他 (特記のない内訳は論文投稿料、学会参加費、修理費など)
[横山] 2,011,307 円 (ゼノパス飼育水槽装置の移設費用 1,398,600 円、カエル幼生用飼育棚の移設費用 183,600 円、他英文校正など) ; [総括班] 898,989 円 (IR-LEGO-490/mini 電動化改造の請負費 748,440 円) ; [梅園] 763,064 円 ; [阿形] 665,240 円 (修理 6 件 他) ; [野地] 45,555 円 ; [遠藤] 28,000 円

【平成 26 年度】

・旅費 (特記のない内訳は成果発表および情報収集など)
[総括班] 3,626,890 円 ; (国際プラナリア再生ミーティング<香港>旅費・外国人招聘費 10 名分 1,356,130 円、スペイン発生物学会合同シンポジウム旅費 1 名分 714,870 円、第 6 回総括班会議/両生類会議/公開講座<札幌>旅費 8 名分 694,050 円、EMBO カンファレンス<スペイン>旅費 1 名分 274,220 円 両生類ワークショップ<岡崎>講師招聘費 1 名分 176,490 円、他) ; [梅園] 913,311 円 (第 6 回総括班会議/両生類会議/公開講座<札幌>旅費 1 名分 他) ; [阿形] 834,001 円 (第 6 回総括班会議/両生類会議/公開講座<札幌>旅費 2 名分 195,260 円、国際プラナリア再生ミーティング<香港>旅費 1 名分 123,020 円、イベリアイモリ研究会<鳥取>2 名分 79,820 円、他) ; [野地] 830,840 円 (第 6 回総括班会議/両生類会議/公開講座<札幌>旅費 他) ; [遠藤] 484,251 円 (第 6 回総括班会議/両生類会議/公開講座<札幌>旅費 2 名分 他) ; [横山] 479,640 円 (第 6 回総括班会議/両生類会議/公開講座<札幌>旅費 2 名分 121,480 円他)

・人件費・謝金 (研究員および研究補助員雇用費など)
[総括班] 13,479,376 円 ; [阿形] 10,473,286 円 ; [野地] 8,440,472 円 ; [遠藤] 8,071,713 円
[横山] 5,393,341 円 ; [梅園] 864,959 円

・その他 (特記のない内訳は論文投稿料、学会参加費、修理費など)
[阿形] 810,415 円 (修理費 3 件 他) ; [総括班] 702,277 円 (公開講座用チラシ、ポスターデザイン印刷、配布、会場設置一式 304,516 円第 6 回総括班会議費 180,850 円、香港大会会場費 90,308 円展示物、機材配送費、他) ; [野地] 522,193 円 ; [梅園] 310,938 円 ; [横山] 299,393 円 ; [遠藤] 56,592 円

(3) 最終年度(平成 26 年度)の研究費の繰越しを行った計画研究がある場合は、その内容を記述してください。

横山班 (6,510,000 円) 平成 26 年 11 月、動物飼育のための装置を搬入するに当たって当初の予定に反し、給水排水の設備が不完全でスペースも不足していたため、設置環境の整備のために研究計画が遅れた。今年度は遺伝子組換え (Tg) ゼノパス作製条件の最適化を行い、局所的な shh シグナルの活性化実験を行って、成体でより完全な四肢を再生させる実験の成果を取りまとめる予定である (平成 27 年 9 月末)。(機器 1,780,000 円、試薬 2,720,000 円、人件費謝金 960,000 円、研究打ち合わせ旅費 350,000 円、成果発表旅費 200,000 円、遺伝子解析受託金 300,000 円、英文校正費 200,000 円)

越智班 (1,500,000 円) 平成 26 年 8 月までに計画に従い、再生応答エンハンサーの同定に成功した。しかしながら予想に反して、それがゲノムの複数箇所に存在することが明らかとなった。研究の遂行上、全ての再生応答エンハンサーの入力因子を同定する必要があることから、それに係る一般試薬等の消耗品、またその活性評価実験に係る補助員を雇用する謝金を計上する。また学会、専門誌等で研究成果を報告する旅費と論文掲載費(その他)を計上する。(物品 700,000 円、人件費謝金 500,000 円、成果発表旅費 10,000 円)

林班 (1,000,000 円) イモリの心臓再生を開始させる分子機序解析の結果、当初の予想に反し、cyclin D 遺伝子群の転写制御機構がイモリ心臓の再生開始機構に関係していることが判明した。その転写制御機構を理解する為にプロモーターとイントロンの機能解析を追加で行う必要性が生じた。それに係る一般試薬等の消耗品、また学会参加旅費と論文掲載費、さらに動物の飼育管理に関わる費用(その他)を計上する。(物品 400,000 円、人件費謝金 100,000 円、旅費 100,000 円)

9. 当該学問分野及び関連学問分野への貢献度（1 ページ程度）

研究領域の研究成果が、当該学問分野や関連分野に与えたインパクトや波及効果などについて記述してください。

<再生生物学分野へ与えたインパクト>

もともと世界をリードしていた日本の再生生物学だが、新学術領域班として組織としてまとまったことで世界的に高い関心を集めた。そして、両生類を使った遺伝子操作については、世界でダントツのレベルに到達し、他国の研究者もこぞって日本から論文として出版された方法・技術に沿ってレベルアップを図った。そういった意味で本研究班の波及効果としては、国内にとどまることなく、世界へと波及していつていることが見てとれる。実際に、2 回目の国際シンポジウムには 150 名以上の応募者があり、多数の国からの参画を得ることができたことで、国際的な波及効果を実感することができた。

また、代表者が仕掛け人となり、Wiley-Blackwell から新規 OA 雑誌『Regeneration』の発刊に漕ぎ着けたことも、世界への波及効果の特筆事項としてあげたい。再生生物学と再生医療をつなぐフラグ雑誌の刊行は、われわれの試みが日本のみならず世界へ具体的に発信されることになった。投稿論文数が急上昇していることから、この分野の関心の高まりを具体的に示すデータとなっている。

<再生医療分野へ与えたインパクト>

本領域代表者は世界に先駆けて(1994 年に細胞工学で特集を組む)、再生医療を未来の医療として提唱した人間である。それをきっかけに日本で再生医療分野が起こされ、それが世界へと波及して、iPS 細胞の発見によって世界的なうねりを生むことになった。しかし、骨髄移植の流れをくむ幹細胞移植と、医工学の流れをくむ人工臓器が主流となって世の中が動いていることも事実である。本班が新学術領域として採択されたことで、新しい流れを構築すべく、積極的に再生医療分野に切り込んでいった。そして、確実に、三次元構造を再生させる新たな再生医療分野が確立されつつあるが、もうひと押しが必要である。平成 27 年度には、関節を再生できなかった動物に関節再生を惹起させた成果をもとに、さらなるインパクトを与えることで、新たな流れを確実なものにしたいと考えている。

10. 研究計画に参画した若手研究者の成長の状況（1 ページ程度）

研究領域内での若手研究者育成の取組及び参画した若手研究者の研究終了後の動向等を記述してください。

本領域では、若手班員が中心となり積極的に研究会、トレーニングコースなどを開催し、班員間の共同研究を促進するとともに、医療応用への展開として臨床研究に携わる医学系研究者との交流を促し、次世代の基礎再生研究と応用再生研究のプラットフォームを整備する事に取り組んだ。

研究会としては、wet とと dry の若手研究者による交流会を開催し（計 4 回）、意見の交換を介して再生現象を実験、分子生物学的アプローチだけでなく、数理モデルからもアプローチすることを奨励した。また、イモリやカエルなどの再生、再生不能動物で積極的に遺伝学的手法を導入するために、若手研究者による両生類遺伝子改変技術に関する交流会議を開催し（5 回）、イモリ、カエルに使用できるベクターの情報交換や CRISPER をはじめとする新しい遺伝子改変技術の積極的な導入を促進した。また、班員間の大学院生などの若手研究への技術指導なども積極的におこない、次世代の再生研究者育成にも努めた。

本領域の将来的な医療応用への展開への第一歩として、臨床に携わっておられる医師、医学部学生を主な対象とした、プラナリア、イモリ、アホロートル、カエル、メダカ、マウスをもちいた基礎再生研究をメインとした、再生生物学トレーニングコースを開催した（計 33 名受講）。講師、TA として本領域の若手研究者が指導、医療従事者と交流する事で、次世代の応用展開めざす若手研究者の育成をはかった。さらに、若手研究者に日本再生医療学会に積極的に参加する事を奨励し、実際に多くの若手の班員、ならびに研究者が学会に参加し、自身の研究を発表した。このことにより、次世代の基礎再生研究と応用再生研究をつなぐプラットフォームの整備の第一段階をおえることができた、

領域開始時	領域終了時	人数	領域開始時	領域終了時	人数
学部生	大学院生	1	博士研究員	博士研究員	2
大学院生	大学院生	9	博士研究員	非常勤講師	1
大学院生	技術補佐員	1	博士研究員	助教	4
大学院生	一般企業	12	博士研究員	教授	1
大学院生	企業研究員	2	研究補助員	技術職員	1
大学院生	博士研究員	3	助教	准教授	3
大学院生	博士研究員(海外)	1	講師	准教授	1
大学院生	学振PD	1	テニユア准教授	准教授	1
大学院生	海外学振PD	1	准教授	教授	1
大学院生	助教	1			

11. 総括班評価者による評価（2ページ程度）

総括班評価者による評価体制や研究領域に対する評価コメントを記述してください。

組織のページでも記載したが、総括班評価者については、各人忙しく、0-2回の参加となった。また、メールで問うた場合でも、マスコミなどで公開されるわれわれの研究の情報などから、順調ということで、特段の指摘を受けることはなかった。当該領域の代表者も、他の新学術領域の評価者をした、あるいは、しているが、1/2回の出席で全体としての評価をするのは難しく感じており、ここでは敢えて評価を書いてもらうことは差し控えた。