

領域略称名：上皮管腔組織形成
領域番号：3303

平成28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

「上皮管腔組織の形成・維持と破綻における極性シグナル
制御の分子基盤の確立」

(領域設定期間)

平成23年度～平成27年度

平成28年6月

領域代表者 (大阪大学・医学部・教授・菊池 章)

目 次

1. 研究領域の目的及び概要	7
2. 研究領域の設定目的の達成度	9
3. 研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況	12
4. 審査結果の所見及び中間評価の所見等で指摘を受けた事項への対応状況	13
5. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	15
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）	18
7. 研究組織（公募研究を含む。）と各研究項目の連携状況	23
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）	25
9. 当該学問分野及び関連学問分野への貢献度	29
10. 研究計画に参画した若手研究者の成長の状況	30
11. 総括班評価者による評価	31

研究組織 (総括：総括班, 計画：総括班以外の計画研究, 公募：公募研究)

研究項目	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 総括	23112001 上皮管腔組織の形成・維持と破綻における極性シグナル制御の分子基盤の確立	平成23年度～ 平成27年度	菊池 章	大阪大学・医学系研究科・教授	10
A01 計画	23112002 組織幹細胞の維持と分化の制御機構	平成23年度～ 平成27年度	鈴木 淳史	九州大学・生体防御医学研究所・教授	1
A01 計画	23112003 組織幹前駆細胞の極性制御と運命決定	平成23年度～ 平成27年度	大野 茂男	横浜市立大学・医学研究科医科学専攻・教授	3
A01 計画	23112004 分岐を伴った上皮管腔組織構造の形成・維持の分子機構	平成23年度～ 平成27年度	菊池 章	大阪大学・医学系研究科・教授	3
A01 計画	23112005 上皮管腔形成過程における細胞動態と機能分子動態の3次元イメージング解析	平成23年度～ 平成27年度	大橋 一正	東北大学・生命科学研究科・准教授	1
A02 計画	23112006 器官・組織形成期の発生異常に基づく上皮管腔組織形成障害	平成23年度～ 平成27年度	大谷 浩	島根大学・医学部・教授	3
A02 計画	23112007 平面細胞極性シグナルの異常と繊毛関連症候群及び癌の浸潤転移	平成23年度～ 平成27年度	南 康博	神戸大学・医学研究科・教授	2
A02 計画	23112008 上皮管腔組織の破綻と上皮間葉転換	平成23年度～ 平成27年度	佐邊 壽孝	北海道大学・医学研究科・教授	2
計画研究 計 8 件					
A01 公募	24112502 新規 Wnt シグナル修飾因子 LGR4 による乳腺上皮細胞運命の決定と極性制御機構解明	平成24年度～ 平成25年度	西森 克彦	東北大学・農学研究科・教授	1
A01 公募	24112503 上皮細胞ラテラル領域におけるアクチン繊維流動“力”の機能解明	平成24年度～ 平成25年度	山城 佐和子	東北大学・生命科学研究科・助教	1

A01 公募	24112508 独自の正常大腸上皮幹細胞培養技術を用いた管腔形成機構の解析	平成24年度～平成25年度	中村 哲也	東京医科歯科大学・医歯（薬）学総合研究科・寄附講座准教授	1
A01 公募	24112510 管形成過程における紡錘体配向の変換機構	平成24年度～平成25年度	松本 邦弘	名古屋大学・理学（系）研究科・教授	1
A01 公募	24112511 細胞膜脂質が上皮管腔構造形成において果たす役割の解明	平成24年度～平成25年度	池ノ内 順一	九州大学・理学（系）研究科（研究院）・准教授	1
A01 公募	24112512 管腔形成における細胞内極性輸送の機能の解明	平成24年度～平成25年度	吉村 信一郎	大阪大学・医学系研究科・助教	1
A01 公募	24112513 リンパ管腔形成と維持における Aspp1 の役割と分子機構	平成24年度～平成25年度	平島 正則	神戸大学・医学研究科・准教授	1
A01 公募	24112519 胆管をモデルとした、管腔構造の発達とチューブ構造形成を制御するメカニズムの解明	平成24年度～平成25年度	谷水 直樹	札幌医科大学・医学部・講師	3
A01 公募	24112520 腎尿細管構造の維持機構解析の基盤となる一次繊毛蛋白による細胞周期調節のしくみ	平成24年度～平成24年度	芝 大	京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・講師	2
A01 公募	24112522 脳胞形成の4次元定量解析	平成24年度～平成25年度	堀田 耕司	慶應義塾大学・理工学部・講師	2
A01 公募	24112525 分泌経路のリモデリングが上皮管腔組織形成に果たす必須の役割	平成24年度～平成24年度	中村 暢宏	京都産業大学・総合生命科学部・教授	2
A01 公募	24112526 マウス精上皮管腔極性化機構の解明	平成24年度～平成25年度	北舘 祐	基礎生物学研究所大学・共同利用機関等の部局等・助教	1
A01 公募	24112527 神経上皮組織の自己組織的な形態形成の基盤となる細胞骨格動態の解明	平成24年度～平成25年度	永樂 元次	独立行政法人理化学研究所発生・再生科学総合研究センター・ユニットリーダー	1
A01 公募	26112705 腸管上皮幹細胞3次元培養技術を利用した管腔形成機構解析	平成26年度～平成27年度	中村 哲也	東京医科歯科大学・医歯（薬）学総合研究科・教授	1

A01 公募	26112706 de novo 管腔形成の制御 機構	平成26年度～ 平成27年度	松本 邦弘	名古屋大学・理学（系）研究科（研 究院）・教授	1
A01 公募	26112707 細胞外マトリックスの 硬さによる上皮管腔組 織形成の制御	平成26年度～ 平成27年度	木岡 紀幸	京都大学・（連合）農学研究科（研究 院）・准教授	2
A01 公募	26112702 革新的イメージングに よる上皮細胞間コミュニ ケーションの異常に おける力の役割	平成26年度～ 平成27年度	山城 佐和子	東北大学・生命科学研究科・助教	1
A01 公募	26112708 上皮管腔組織が内包す る細胞間相互作用を介 したがん抑制システム の遺伝的基盤	平成26年度～ 平成27年度	大澤 志津江	京都大学・生命科学研究科・講師	1
A01 公募	26112713 細胞膜脂質が上皮管腔 構造形成において果た す役割の解明	平成26年度～ 平成27年度	池ノ内 順一	九州大学・理学（系）研究科（研究 院）・准教授	1
A01 公募	26112714 分岐形成を生み出す細胞 動態を実験－理論相 互連動によって解明す る	平成26年度～ 平成27年度	今村 寿子	九州大学・医学（系）研究科（研究 院）・助教	2
A01 公募	26112715 上皮組織の細胞動態制 御機構の解析	平成26年度～ 平成27年度	佐々木 洋	熊本大学・発生医学研究所・教授	3
A01 公募	26112721 気管の管腔成長メカニ ズムの解明	平成26年度～ 平成27年度	森本 充	国立研究開発法人理化学研究所・多 細胞システム形成研究センター・チ ームリーダー	1
A01 公募	26112723 上皮組織の分化パター ンと形態形成をつなぐ 力学制御メカニズムの 解明	平成26年度～ 平成27年度	永樂 元次	国立研究開発法人理化学研究所・多 細胞システム形成研究センター・チ ームリーダー	1
A02 公募	24112501 上皮管腔形成における 変異細胞と正常細胞の 競合－超初期発がんメ カニズムの解明－	平成24年度～ 平成25年度	加藤 洋人	北海道大学・遺伝子病制御研究所・ 客員研究員	1
A02 公募	24112504 光干渉断層画像化法を 応用した肺組織構築イ メージングシステムの 開発	平成24年度～ 平成25年度	阿部 宏之	山形大学・理工学研究科・教授	3
A02 公募	24112505 多能性幹細胞由来肝 幹・前駆細胞を用いた胆	平成24年度～ 平成25年度	紙谷 聡英	東海大学・創造科学技術研究機構・ 准教授	2

	管疾患解析系の構築				
A02 公募	24112506 癌抑制遺伝子産物 APC が関わる上皮管腔形成 機構とその破綻による 癌発症機構の解明	平成24年度～ 平成25年度	川崎 善博	東京大学・分子細胞生物学研究所・ 講師	1
A02 公募	24112507 新規可視化法を用いた、 正常時と障害時における 胆管3次元ダイナミクス 解析	平成24年度～ 平成25年度	伊藤 暢	東京大学・分子細胞生物学研究所・ 講師	1
A02 公募	24112509 器官サイズ制御シグナル による神経管・血管系 上皮組織の3次元構築 機構の解明	平成24年度～ 平成25年度	浅岡 洋一	東京医科歯科大学・難治疾患研究所・ 助教	4
A02 公募	24112515 上皮管腔組織形成にお ける Mob1 の役割とその 破綻	平成24年度～ 平成25年度	鈴木 聡	九州大学・生体防御医学研究所・教 授	1
A02 公募	24112518 細胞骨格制御による腎 臓上皮形成機構の解明	平成24年度～ 平成25年度	西中村 隆一	熊本大学・発生医学研究所・教授	1
A02 公募	24112521 非再生系成体組織にお ける異常細胞の検出・排 除システム	平成24年度～ 平成25年度	谷口 喜一郎	学習院大学・理学部・助教	1
A02 公募	24112523 大腸上皮の癌化に伴う 管腔形成異常メカニズ ムの解明	平成24年度～ 平成25年度	佐藤 俊朗	慶應義塾大学・医学部・特任准教授	1
A02 公募	24112524 類器官培養における癌 浸潤モデルの構築と蛍 光イメージング	平成24年度～ 平成25年度	清川 悦子	金沢医科大学・医学部・教授	1
A02 公募	24112528 幹細胞老化の 制御機構とその破綻に よる上皮管腔組織機能 低下メカニズムの解明	平成24年度～ 平成25年度	山越 貴水	独立行政法人国立長寿医療研究セン ター・室長	1
A02 公募	26112701 多段階発がん過程にお ける細胞競合の関与	平成26年度～ 平成27年度	昆 俊亮	北海道大学・遺伝子病制御研究所・ 助教	3
A02 公募	26112703 妊娠における子宮内膜 上皮形成の分子機構と その破綻	平成26年度～ 平成27年度	廣田 泰	東京大学・医学部附属病院・講師	1

A02 公募	26112704 肝臓上皮組織の再生・維持機構の生体内多次元イメージング解析	平成26年度～平成27年度	伊藤 暢	東京大学・分子細胞生物学研究所・講師	1
A02 公募	26112712 膵管癌細胞における一次繊毛消失機構の解明と癌治療への応用	平成26年度～平成27年度	小林 哲夫	奈良先端科学技術大学・院大学・バイオサイエンス研究科・助教	2
A02 公募	26112716 マウス及びヒト発生期腎臓における管腔上皮形成機構と破綻	平成26年度～平成27年度	西中村 隆一	熊本大学・学内共同利用施設等・教授	1
A02 公募	26112718 上皮管腔組織における基底膜形成メカニズムの解明	平成26年度～平成27年度	吉川 大和	東京薬科大学・薬学部・准教授	4
A02 公募	26112719 脈管内腺構造の回転と浸潤・転移	平成26年度～平成27年度	清川 悦子	金沢医科大学・医学部・教授	3
公募研究 計 42 件					

1. 研究領域の目的及び概要（2 ページ以内）

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進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。

① 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新たな研究領域」であるか。

生体は、上皮組織、支持組織（骨や軟骨、血管組織を含む）、筋組織、神経組織から成り立つ。上皮組織の中でも、上皮管腔組織は肺や肝臓、腎臓などの器官構築のための必須の構造である。上皮組織の幹細胞が分化を伴いながら、上皮シートや上皮組織原基を形成し、上皮管腔組織は形作られ、その構造が維持される（図1）。一方、上皮管腔組織の形成・維持過程が破綻すると、器官の無形成や低形成などの奇形や癌を含む種々の疾患に至る。しかし、個々の細胞の分子レベルでの理解が大きく

進む一方で、上述した細胞集団からなる組織の形成と維持の分子・細胞レベルでの理解は大きく立ち遅れている。細胞と組織との間に横たわるこの未知の領域の解明は生体と疾患の理解に必須であり、そのためには新たな統合的な研究戦略が必要となる。本領域では、上皮管腔組織の形成・維持と破綻の分子機構を解明するために、幹細胞学、生化学、細胞生物学、発生生物学、腫瘍生物学等の異なる分野の研究者が有機的連携を図ることによって、細胞と組織の間に存在する未解決の問題を明らかに

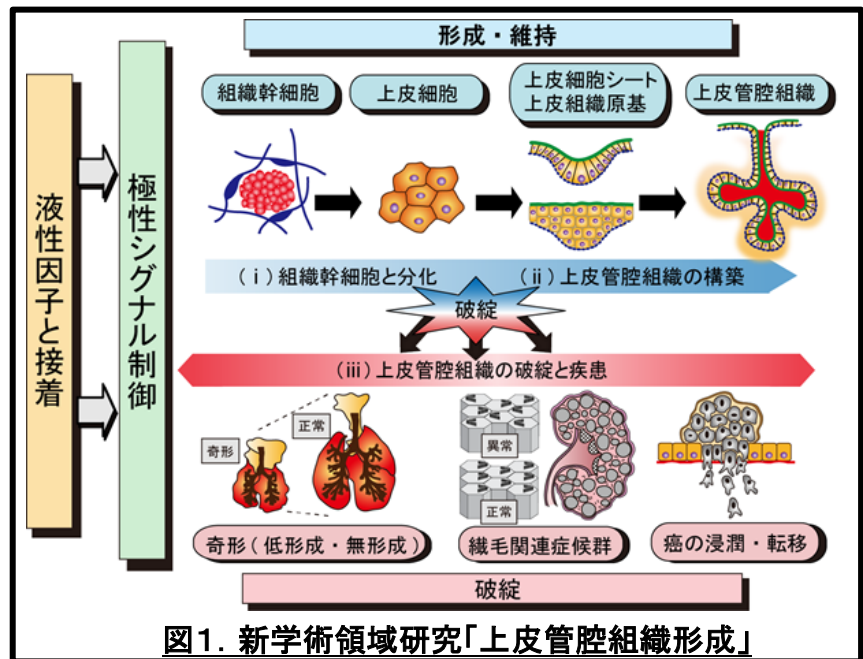


図1. 新学術領域研究「上皮管腔組織形成」

にすることを旨とする。この分子機構を明らかにすることは、肺や胃腸管、内外分泌器官、乳房、肝臓、腎臓などの器官形成の理解に必須であるとともに、その破綻に伴う種々の病態の解明にも有用である。

本領域研究における計画研究者は、幹細胞分離法、幹細胞機能解析法、3次元培養法、イメージング解析法などの優れた技術を有しており、組織幹細胞から上皮細胞への分化を経て、上皮細胞シートや上皮組織原基から分岐構造を伴った管腔組織を形成する過程を統合的に解析することが可能である。これらの研究グループに加えて、上皮管腔組織の破綻に伴う疾患を解析する計画研究者が参画することにより、形成・維持と破綻の両面から、上皮管腔組織を理解できる。さらに、公募研究者として、神経、血管系の管腔組織形成に関する研究や上皮管腔形成における3次元培養下の可視化の新技術を開発する研究を採択することで、領域研究を補強する体制を構築する。この種の連携研究グループを立ち上げることは世界的にも未だ例が見当たらず、我が国の学術研究の発展・強化のために必要不可欠である。

個別の細胞機能制御の分子機構の詳細が明らかになる中、細胞から如何にして組織が形成されるかを解明することは大きな課題である。神経組織や血管組織の構築を理解するための研究は既に始まっているが、様々な器官において重要な上皮管腔組織に焦点をあてた連携研究は未だ認められない。上皮組織の普遍性を考えると、本領域の発展は他の組織形成の理解へ貢献すると期待される。将来の再生医療は、上皮管腔組織の形成・維持の分子機構の理解の上に行われることが望まれ、また、癌の発生母地の80~90%が上皮組織であることを考えると本領域を進展させることにより、広く生命科学・医学の関連領域研究の強化につながる。

② 研究の学術的背景

上皮管腔構造は、物質を輸送するために、内腔面から物質が漏れないような壁で構築されることが基本的なデザインである。上皮管腔組織の形態は、器官ごとに壁の厚さ（細胞の形と層数）、直径や長さ、分岐の数が多様であり、その複雑さから解剖学的・組織学的解析の域を出ることが困難であった。しかし、最近の生命科学の諸領域の発展により、上皮管腔組織の形成・維持と破綻の分子機構を細胞レベルで理解することがようやく可能となってきた。上皮管腔構造は器官ごとに大きさや形態が多様であるが、細胞内外のシグナルが細胞を時空間的に制御することにより、極性化した上皮細胞が連結し、内腔側と支持組織側を区画する共通の形状をとる。このことから上皮管腔組織を細胞の極性化の視点で据えることができる。これ

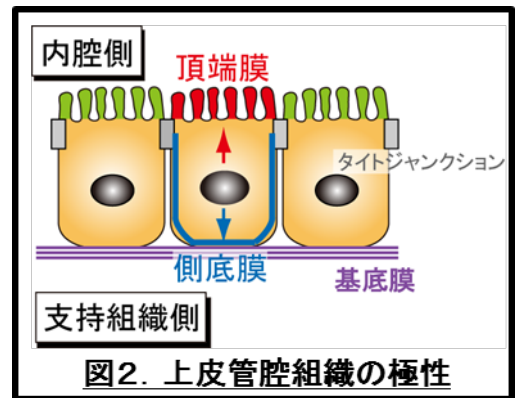


図2. 上皮管腔組織の極性

まで上皮管腔組織の形成については、唾液腺や気管支、乳腺、尿管などについて主として発生生物学的な視点から個別に研究が行われてきた。管腔を形成するということは個体において、組織上皮性幹細胞が分化を伴い上皮シートや上皮組織原基を形成し、内腔側と支持組織側を分けたチューブ状の構造を形作ることを意味する。そのために、上皮には頂側自由面（内腔側）と基底膜に接する基底面（支持組織側）が構築されるが、この極性形成が上皮細胞の際立った特徴である（図2）。極性形成には、基底膜が基底面に存在するインテグリンを介してシグナルを送り、その反対側に頂側自由面を形成する。この際に頂側自由面と基底面を分ける極性分子が存在する。すなわち、細胞の極性化は、種々の液性因子や接着によるシグナルが極性タンパク質などを必要な場所に輸送することで決定される。また、上皮細胞は極性化しながら増殖することにより管腔を形成するものであり、その増殖因子の実態も明らかになってきた。一方、これらの形成過程において、極性化を伴った管腔構造が形成されない場合や、形成後に極性の破綻により管腔構造が維持されない場合には、種々の奇形や癌などの疾患がもたらされると考えられる。このような上皮管腔組織形成に関する研究において、すでに細胞集団としての組織形成の分子基盤に関する研究は活発化してきている。

このような状況下、シグナル伝達や細胞接着の分野における細胞生物学的、生化学的解析では、我が国に大きな蓄積がある。領域代表者の菊池はこれまで、一貫して細胞内外のシグナル伝達機構による細胞の増殖、分化、運動の制御機構とその異常による細胞癌化の分子機構に関する研究を行ってきた。一つ一つの細胞の振る舞いを分子レベルで明らかにしていくことが生命（個体）の理解に貢献するが、細胞からの組織化を理解するためにこれだけでは不十分であることを認識していた。また、他の分野の考え方や新規の技術を導入することにより、細胞からの組織化の分子基盤の確立を具現化したいと考えていた。特に、学術の進歩には新規の実験技術の開発が不可欠であることから、新たな器官培養法やイメージング技術等の導入が必要である。神経系、血管系とともに上皮系は管腔構造を形成する生体のネットワークシステムである。神経系と血管系の組織構築に関する研究は行われているが、重要な研究対象であるにも関わらず、上皮管腔形成に関する研究はこれまで殆どなされていない。そこで、上皮管腔組織を構築する分子基盤を明らかにするための研究体制を作り、本研究領域を推進したいと考えるに至った。本領域では、これらの個別の研究あるいは器官別の研究で培ってきた実績を共有化することにより、上皮管腔組織の形成・維持と破綻の分子機構を解明できるという思いに至った。

2. 研究領域の設定目的の達成度（3ページ以内）

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、具体的に記述してください。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

領域全体の目的は、上皮管腔組織の形成・維持と破綻の分子機構を明らかにすることである。そのために、(i) 組織幹細胞の維持と幹前駆細胞からの上皮細胞への分化の機構と(ii) 上皮細胞から管腔組織形成・維持への機構を解明するとともに、(iii) 上皮管腔組織の形成・維持の過程が破綻した場合に生じる種々の奇形や疾患発症の機構を解明することが必要であると考えた。すなわち、**【幹】細胞と【管】腔、疾【患】の3つの【かん】を対象として捉え**、A01では(i)と(ii)を、A02では(iii)を担当した。このような明確な目的のもと、各計画研究のこの5年間の達成度は以下の通りである。

A01(i) 上皮管腔組織の形成や伸長を伴う器官発生や再生の過程では、組織幹細胞の秩序正しい増殖や分化によって、必要な時に必要なだけ上皮細胞が供給されるシステムが必要である。そのため、上皮管腔組織形成の分子機構を理解するには、組織幹細胞の維持や上皮細胞への分化決定を制御する分子機構の解明が必須である。**計画研究1（鈴木(淳)**は、管腔組織を形成する上皮細胞の供給源である組織幹細胞に着目し、その維持や上皮細胞への分化決定を制御する分子機構を、発生段階の肝臓の組織幹細胞である肝芽細胞をモデルとして明らかにした。肝芽細胞の未分化性維持における新規の分子機構として、WntシグナルによるTbx3の発現を発見した。また、マイクロRNA制御タンパク質Lin28bが、マイクロRNA(let-7bとmiR-125a/b)の成熟化を阻害することにより、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すことも明らかにした。肝芽細胞におけるLin28bの機能阻害は、肝臓内で管腔構造を形成する胆管上皮細胞への分化決定を促進することも判明した。以上の成果に加え、線維芽細胞から直接肝細胞の性質をもった細胞(iHep細胞)を作製する技術の開発や高解像度デジタル3次元再構築法を用いた肝発生時の肝内胆管形成機序の解明にも成功した。**計画研究2（大野)**は、上皮管腔組織の形態形成と維持とに関わる**細胞極性タンパク質が、組織幹細胞の増殖、自己更新、分化とどのように関わるかを、乳腺上皮組織をモデルとして明らかにした**。極性タンパク質のaPKCが、乳腺組織幹細胞の増殖と自己更新を正に制御するとともに、乳腺管腔前駆細胞に対しては増殖を負に制御することを見出した。さらに、組織幹細胞においては、aPKCが自己更新を正に制御している転写因子の活性化に関わる可能性を見出した。一方、管腔前駆細胞においては、aPKCが増殖因子受容体ErbB2の転写抑制を介して前駆細胞の増殖を抑制することを明らかにした。さらに、ヒト乳癌検体の解析で、aPKC-/ErbB2+/ALDH+の症例が存在することも確認し、aPKC-ErbB2シグナル軸は、がんの新規のシグナル経路であることを示した。

以上の計画研究から、肝臓や乳腺における組織幹細胞の維持や分化決定を制御し、上皮管腔組織の形成と維持に関する分子機構だけでなく、これらの器官の遺伝子発現を介する発生や癌発症のメカニズムについての理解が大きく進んだといえる。領域のキーワード**【幹】**と**【患】**に関する新規の知見を生み出したことで、目標は達成できたと判断している。

A01(ii) 上皮細胞からの管腔構造形成の理解のためには、3次元培養下での*in vitro*実験系と器官培養系または類器官(オルガノイド)培養系を確立し、イメージング技術等を用いて解析することが求められる。**計画研究3（菊池)**は、多細胞生物が有する二種類の重要な細胞外シグナルである「液性因子」と「接着」により、上皮細胞が管腔構造を形成する分子機構を明らかにするとともに、管腔形成に伴って上皮細胞が臓器固有の機能を獲得する「機能的分化」の制御機構の一端を解明した。「液性因子」シグナルとして、WntとEGFの協調的活性化が重要であること、また下流の特異的標的遺伝子としてArf-like protein 4c(Arl4c)を同定し、上皮細胞の形態や極性、増殖を変化させて管腔構造を誘導する新たな機構について、培養上皮細胞と胎生期腎臓原基を用いて解明した。また、同じWntシグナルの活性化も胎生期肺原基においては別の標的遺伝子としてMARK1を発現誘導し、上皮の極性を制御することで適切な分岐形成が行われることを、数理モデルも用いて証明した。「接着」シグナルについては、WntとEGFの協調的活性化の別の標的遺伝子としてP2Y2 receptor(P2Y₂R)を同定し、P2Y₂Rが細胞表面でインテグリンと相互作用することで基質との接着を適正に調節して管腔構造を誘

導する機構を解明した。「機能的分化」の制御機構については、胎生期唾液腺をモデルとして解析し、液性因子である Wnt と SCF-KIT シグナルの活性化バランスが適切なタイミングで調整されることにより腺房形成が誘導される機構を、光変換蛍光タンパク質を用いた独自の細胞系譜追跡実験を用いて解明した。さらに、液性因子シグナルに関連した管腔形成因子である Ar14c または Dkk1-CKAP4 シグナルが、大腸癌や肺腺癌、膵癌において高頻度に高発現することを見出し、核酸や抗体を用いたこれらの分子の機能阻害が腫瘍形成を抑制することを明らかにした。**計画研究 4 (大橋)** は、上皮管腔組織形成過程における細胞外環境からの機械的な力 (メカノストレス) による細胞内アクチン骨格再構築制御の分子機構とその役割を明らかにするために、乳腺上皮細胞の嚢胞形成における細胞外基質の硬さ依存的な増殖に関与する Rho-GEF と細胞への繰返し伸展刺激による形態変化に関与する Rho-GEF を探索し、前者で 5 種類、後者で 11 種類の Rho-GEF を同定した。この中で Farp1 はインテグリンを介した細胞接着依存的な細胞増殖に寄与すること、Solo は上皮細胞へのカドヘリンやインテグリンを介した張力の負荷に応答してアクチン骨格を制御して抗力を発生させ、上皮管腔構造の形態制御に寄与することを見出した。イメージング解析については、管腔形成時の細胞骨格や細胞極性を 3 次元タイムラプス観察によって可視化する方法を確立した。これらの解析によって、メカノストレス応答による上皮管腔構造の形態の制御に寄与する分子機構を明らかにした。

以上の計画研究から、管腔形成の制御における共通性として、Wnt シグナルという共通因子が器官を超えて管腔形成に関わること、相違点としては異なる標的遺伝子を介して独立した機能を制御するという器官毎の特性が明らかになった。また、「液性因子」と「接着」のシグナルが相互に協調しながら上皮の細胞骨格の調整を介して、形態形成と機能獲得を制御する仕組みを、イメージング技術を用いて解明した。メカノストレス応答による上皮管腔構造形成制御の分子機構を明らかにするとともに、その破綻がヒトがんに関与することを見出し、領域のキーワード【管】と【患】とつなぐ仕組みも明らかにすることができ、当初の設定目的に合致した成果を得ることができたと判断している。

これらの成果に加えて、**A01 公募研究班の中村**は、腸上皮細胞の増殖・分化や空間配置調節機構を明らかにするために、正常マウスの腸上皮細胞を 3 次元的に培養する技術、培養幹細胞による組織構築能を解析する移植技術を確立して、マウス小腸由来上皮細胞を大腸へ異所移植することに成功した。その結果、上皮幹細胞が生体組織を構築する際の組織固有性を維持する機構を見出した。**永楽**は、眼杯の形づくりの理解を通して、上皮管腔組織形成において上皮細胞の増殖、分化、形態形成などの局面において細胞のメカノストレスの関与の分子機構を明らかにした。将来のヒト網膜組織を用いた網膜色素変性症などの眼疾患の移植治療の実現化に大きく近づくことができた。

A02(iii) 上皮管腔構造の「破綻」により引き起こされる疾患の病態を明らかにするために、腸管と腎尿管、乳腺を対象として、極性と上皮間葉転換 (EMT) の視点で、奇形や尿管異常、腎線維症、癌の浸潤転移能について解析した。**計画研究5 (大谷)** は、上皮管腔器官の極性化機構が、組織・器官・個体レベルの異常・奇形につながる機構の形態学的特徴を明らかにし、多器官について数理的に比較解析した。Wnt11、Wnt5a、Ror2 (Wnt5aの受容体) KOマウスの腸管等の形態形成異常に、収斂伸長機構の異常やinterkinetic nuclear migration (INM) (細胞周期と同期する上皮細胞の頂底極性に沿った核移動) 等の極性制御機構の異常が関与することを明らかにした。さらに、腸管全長、食道、気管および尿管にINMが存在し、かつ臓器、時期により周期等の様式が変化することを明らかにした。**計画研究6 (南)** は、平面細胞極性(PCP: planar cell polarity)シグナルや繊毛形成・維持シグナルの異常と繊毛関連症候群や癌の浸潤・転移などの病態との関連の分子機構を解明することを達成目標として研究を進め、PCPシグナル制御因子(Wnt5a, Ror1, Ror2)、繊毛シグナル制御因子(IFT20: intraflagellar transport 20) 及びアダプター分子(Dokファミリー分子)に着目して、遺伝子改変マウス、炎症モデルや各種癌細胞を用いて解析した。その結果、腎臓や腸管、および内耳の発生・形態形成においてPCPシグナル(Wnt5a-Ror1, Wnt5a-Ror2シグナル)が適切に一過的に活性されることが重要であり、その異常や破綻は重複腎・尿管奇形(または腎無・低形成)、腸管短縮化、内耳(蝸牛)の形態異常等の奇形・病変をきたすことが明らかになった。癌の浸潤については、上皮癌のEMTに伴いWnt5a-Ror2シグナルが活性化され、MMP-2等の発現誘導を介して浸潤が亢進することと、胃癌細胞の増殖に癌微小環境の構成要素である間葉系幹細胞での自律的Wnt5a-Ror2シグナルを介するケモカイ

ンの産生が関与することを示した。**計画研究7 (佐邊)** は、上皮管腔組織由来の乳癌や腎明細胞癌の癌細胞が、悪性度進展に伴って管腔構造の破綻を引き起こす分子機構を明らかにした。低分子量Gタンパク質Arf6の標的タンパク質AMAP1の結合タンパク質EPB41L5は本来間充織細胞に発現するが、乳癌においては癌細胞に発現して浸潤・転移に必須であった。したがって、本Arf6-AMAP1-EPB41L5経路は癌特異的間充織型経路であり、癌細胞が間充織様形質を獲得することが悪性度進展に必須であることが示された。また、乳癌におけるArf6活性化には細胞内メバロン酸経路の活性が必須であることを明らかにした。Arf6-AMAP1-EPB41L5経路が癌薬剤耐性を示すことも判明して、高脂血症治療薬スタチンが乳癌の浸潤転移と薬剤耐性を阻害することも示した。一方、腎明細胞癌の癌細胞では、脂質メディエーターLPAがArf6を活性化し、間充織様形質を獲得させ、悪性度を促進させることを明らかにした。乳癌と腎明細胞癌において本Arf6経路因子群の高発現は予後不良因子であることも明らかになった。

以上の計画研究から、細胞の極性の破綻に基づく上皮細胞の形態・配列、総細胞数の変化が管腔組織形成に異常をもたらし、重複腎・尿管奇形、腸管短縮化、内耳の形態異常などの奇形や癌、炎症等の病態に関与することが明らかになり、当初予想しなかった知見も得られたことから、【管】の破綻に伴う【患】の理解が進み、設定した目的を達成することができたと判断している。これらの成果に加えて、**A02公募研究班の伊藤**は、マウス胆管上皮組織管腔構造の新規可視化法を独自に開発して、障害時に誘導される胆管組織増生の機構と肝障害に伴う変化が胆管系の組織構造変化を誘導することを明らかにした。**佐藤**は、ヒト正常大腸上皮オルガノイドへの人工的な遺伝子変異導入技術を確立した。ゲノム編集技術により5つの遺伝子変異を大腸腺腫に導入することにより、転移性大腸癌に進展したことから、ヒト上皮細胞を用いた人工大腸癌モデルを世界で初めて実証した。

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具合

本領域では、応募時に研究対象として下記の(2)、(3)、(4)を設定した。

研究対象2「異なる学問分野の研究者が連携して行う共同研究等の推進により、当該研究領域の発展を目指すもの。」

菊池一大谷、南一大谷の共同研究は、同一分子(Wnt11 や Wnt5a, Ror2)を細胞生物学的手法と形態学的数理解析的手法を用いて解析することにより、個々の細胞の極性異常が個体における器官形成(腸管、腎臓等)の形態形成にどのように関わるかを明らかにした。形態形成に重要なWnt5a や Wnt11 のKOマウスの表現型に関する報告は存在するが、上皮管腔組織の極性に焦点をあてた大谷の数理解析を応用した新規の解析手法により、全身の上皮管腔組織に共通した幹細胞の極性制御による増殖分化制御機構の異常が、肉眼レベルの奇形形成につながることを示すなど、これまでにない知見が集積しており、本取り組みは3.にも通じるものである。菊池一今村の共同研究は、器官培養で得た肺気管支分岐に関する知見を数理解析することにより、頂側収束(apical constriction)が管腔構造形成時の出芽と伸長の重要なパラメーターであることが証明された。

研究対象3「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。」

菊池一大橋、山城一加藤、堀田一永楽の共同研究は、上皮管腔組織の形成過程を解析するツールを開発するとともに、細胞生物学とメカノバイオロジーを融合することにより、上皮管腔構造形成の分子機構の理解に貢献した。

研究対象4「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。」

鈴木(淳)、大野、菊池、南、佐邊が対象としている分子は、いずれも発癌や癌の悪性化と関連することが示唆されており、これらの研究を推進することが癌研究の進展に寄与した。例えば、肝内胆管癌が胆管上皮細胞から発生するのではなく、肝細胞の分化転換によって生じるという鈴木(淳)の知見は、癌の発生母地に関する新たな考え方を示した。大野の成果はaPKCが乳腺前駆細胞の増殖制御を通じて、乳腺組織の維持の過程に関わる事を意味しており、aPKC-ErbB2シグナル軸がマウスの乳腺組織の恒常性の維持のみならず、ヒト乳癌の一群(aPKC⁻/ErbB2⁺/ALDH⁺)における異常も説明した。菊池が同定した上皮管腔形成を制御するAr14cやDkk1-CKAP4の過剰発現が、ヒト大腸癌や肺癌、膵癌に高頻度で認められ、すでに核酸や抗体を用いた新規抗癌剤の開発が開始された。

3. 研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況（1 ページ以内）

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。

「管」腔構造を立体的に構築し、3 次元的に観察することは、本領域の重要な課題であり、技術的に乗り越えなければならない点があつた。管腔構造形成のプロセスは細胞集団が 3 次元的な組織構造を構築するプロセスであるため、これまでの単一細胞による 2 次元的な解析とは全く手法が異なっていた。例えば、肝臓の発生では、肝芽細胞から分化した胆管上皮細胞が門脈周囲に ductal plate と呼ばれる細胞層を形成し、発生プログラムにしたがって徐々に肝内胆管を形成していく。しかし、肝内胆管の発生は、これまで主に組織切片を用いた 2 次元平面で解析されており、3 次元形態形成過程の解析や形態計測学に基づいた定量的な解析は行われていなかった。鈴木（淳）は、マウスの胎仔から成体に至るまでの肝内胆管の立体構造をコンピューター上で再構築することでモデル化し、成長する管構造の長さや枝の数、結合予測値、門脈からの離散距離といった形態計測学的な事項について解析を行い、肝内胆管の発生過程を詳細かつ定量的に調べた。その結果、3 次元再構築モデルを用いた時空間的な観察と形態計測学的解析による定量的な解析によって、立体的かつ動的な胆管形成モデルを構築することに成功した。

また、菊池、中村、佐藤、永楽、伊藤、谷水は細胞や器官毎に細胞外基質を用いた 3 次元培養系、胎生期組織原基を用いた器官培養系を独自に構築して解析を行った。また表現型解析に関しては、生きた 3 次元組織を観察するための多光子顕微鏡を用いた *in vivo* イメージング、厚みのある標本を観察するための組織透明化技術 CUBIC の応用とマルチアングルライブイメージングシステム Lightsheet を用いた観察を行った。これらの技術の応用によって、培養上皮による管腔形成モデルが構築でき、腎尿管、唾液腺、肺、腸管、眼杯、胆管等の生体組織の解析も可能となった。しかし、実際のマウス体内での器官形成過程に各種の阻害剤等の処理を行うことは困難であった。そこで大谷が *Exo utero* (子宮外) 移植実験に関する技術講習会を開催し、領域内の技術的支援を行った。また、多細胞による組織の形態変化はシンプルな観察のみでは表現型を解釈することが難しい。そこで、理論生物学の今村が領域に加わることにより、上皮による分岐形成が個々の細胞の極性状態によって制御されることを、数理シミュレーションを応用することにより証明できた。

高感度テンションセンサープローブの開発において、大橋はミオシン軽鎖の 2 重リン酸化を指標に、管腔を構成する細胞にかかる張力の分布を可視化する方法で対応し、管腔の頂側部（内腔側）に発生する収縮力の発生にメカノストレス応答に関与する Rho-GEF, Solo が関与することを見出した。山城は、近赤外蛍光アクチンプローブを用いた観察法を開発して、培養上皮細胞のアクチン単分子動態を可視化することを可能とした。

「幹」細胞については、乳腺組織において、組織幹細胞を直接的に同定するマーカーが存在しなかったが、大野は幹細胞及び上皮前駆細胞を同定できる実験系を確立した。すなわち、メチルセルロースを支持体として含む Mammosphere 形成系において、CD44⁺Ki67⁺の巨大な sphere は組織幹細胞に由来すること、3 次元マトリゲル organoid 形成系において、CD24⁺CD29^{high} の充填型 organoid は幹細胞に由来すること、2 次元コロニー形成系では前駆細胞を同定できることを確認した。

疾「患」との関連においては、平面細胞極性シグナル制御因子 (Wnt5a, Wnt11, Ror1, Ror2) は発生過程に必須である場合が多く、その遺伝子欠失マウスは胎生致死や新生児致死に至るため、生体 (成獣) で解析すべき上皮管腔組織の機能解析は困難であった。そこで、菊池、南が共同して、平面細胞極性シグナル因子をコードする遺伝子の細胞種特異的なコンディショナルノックアウトマウス (cKO) を作製した。Wnt5a flox マウスや Wnt11 flox マウス、Ror1 flox マウス、Ror2 flox マウス等と適切な Cre-driver トランスジェニックマウスを交配し、cKO マウスを作製し、胎生致死、新生児致死を回避出来、当該目的の解析を実施することが出来た。TP53 変異がメバロン酸経路の活性を上昇させることが報告されていたが、佐邊は乳癌細胞において、メバロン酸経路阻害が TP53 変異による Arf6 活性化を阻害することを見出した。さらに、メバロン酸経路酵素群の中でゲラニルゲラニルトランスフェラーゼ II (GGTII) が Arf6 の細胞内輸送と活性化に必須であること、その際 GGTII の基質である Rab11b が Arf6 の局在するエンドソームを輸送することを明らかにした。本研究成果は、メバロン酸経路の阻害剤が乳癌治療に応用できる可能性を示唆した。

組織変更の有無
該当なし

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

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>

平成23年7月28日の審査結果の所見では、「上皮細胞が3次元的に管腔組織を形成する過程および維持機構の解明とその破綻による疾患の理解を深める研究提案」として、魅力的で説得力があり興味深い提案として評価された。一方で、いくつかの指摘もあり、それには下記の通り対応した。

1「研究手法は従来の枠を越えず、従来の研究との差別化が明確でない」これに対して大谷は、幹細胞の細胞周期と同期した幹細胞増殖分化調節機構の Interkinetic nuclear migration (INM) に注目し、多数の上皮幹細胞核の分布パターンを統計学的に解析する新たな手法を導入することにより、三胚葉全てに由来する全身の上皮管腔組織の初期発生において、共通して INM が存在し、かつ臓器と時期により特異的に周期が変化することを示し、臓器ごとに幹細胞プールのサイズと娘細胞生成における調節機構が存在することを示唆した。鈴木（淳）は、成長する管構造の長さや枝の数や門脈からの離散距離等の形態計測学的な解析を行い、肝芽細胞から生じる肝内胆管の3次元立体的な形態形成機序を明らかにした。これらの手法は、幹細胞増殖分化の調節機構を俯瞰的に比較解析することを実現したものであり、従来の枠を越えて上皮管腔組織形成の包括的理解を深めるものであった。さらに、鈴木（淳）による線維芽細胞から肝細胞へのダイレクトリプログラミングや、菊池による無血清培地での腎尿管培養法の確立等、新たな研究手法が開発された。

2「外圧との相互作用という力学的視点や、管腔形成のダイナミズムという視点からの解析を充実させた方がいいのではないか」これに対して大橋は、3次元培養下の上皮細胞集団の外環境の硬さに依存した増殖と機械的な力（メカノストレス）による細胞形態変化に関わる低分子量 G タンパク質 Rho ファミリーの活性化因子 Rho-GEF の探索と機能解析を行った。その結果、多数の Rho-GEF を同定し、さらに入力経路となる接着分子と中間径フィラメントの関与を見出し、新たなメカノストレス応答による上皮管腔組織の形態制御の分子機構の存在を明らかにした。菊池は、光変換蛍光タンパク質を用いた細胞系譜追跡実験を用いて、唾液腺腺房前駆細胞が増殖することにより導管細胞伸長のために供給されることを解明した。山城、加藤は、蛍光単分子スペックル顕微鏡法を開発して、上皮細胞における一分子アクチンの可視化を可能として、細胞先端端のアクチン線維流動を最高精度で観察することができるようになった。

3「公募研究で幹細胞から管腔構造を作る実験系に詳しい専門家を加える必要があるのではないか」これに対しては、公募研究課題として中村、佐藤（腸管）、永楽（眼杯）、西中村（腎臓）、伊藤、谷水、紙谷（肝臓）を採択して、幹細胞からの臓器形成を専門とする研究者を加えて、領域研究を充実させた。これらの具体的な研究成果は、3、5、6、9に記載した。

4「総括班の役割として技術支援を積極的に行うために、ワークショップなどを開催する必要があるのではないか」これに対しては、平成23年度から26年度まで毎年度1回ずつ「Exo utero 移植法」、「幹細胞単離、培養法」、「質量分析法」、「イメージング解析法」に関する技術講習会を、総括班の技術支援担当者が中心となって開催した。総括班は、これらの開催に必要な諸経費を支援した。

<中間評価の所見等で指摘を受けた事項への対応状況>

領域全体の進捗状況に対し、審査部会からは「上皮管腔というキーワードにより実績のある研究者が集結し、幹細胞誘導系の開発を世界に先駆け成功させるなど、研究は順調に進展している。領域内の連携も良好で、今後も成果が見込まれる。また、管腔組織の形成に結びつく分子（遺伝子）レベルの解明など新たな展開によるがん研究や発生・再生研究分野への波及効果も期待される。」と「A」評価を受けた。個々の計画研究に対する評価も全て「A」であった。

一方で、いくつかの指摘もあり、それには下記の通り対応した。

1「今後、公募研究で補うことにより、シミュレーションモデル分野の研究者あるいはモデル生物による研究をさらに強化することができれば、本研究のさらなる飛躍が期待される。」これに対しては、若手女性研究者である今村を公募研究代表者として採択し、今村自身は FGF による肺気管支の分

岐の数理的解析に関する成果を得た。**菊池**は、Wnt シグナルの活性化による頂側収縮 (apical constriction) と細胞伸長作用により肺上皮組織の分岐の位置が空間的に適正に調節される機構を 3 次元培養法により見出したが、さらに今村が数理シミュレーションすることにより、本機構の存在を *in silico* で証明した。

2 「**管腔形成、上皮化、細胞極性という既存の概念の組み合わせからどのような新しい概念が生み出されるのか明確にする必要がある**」 これまでの 2 次元平面の解析では、上皮管腔構造形成の分子機構は十分に理解されていなかったが、本領域研究において**鈴木 (淳)** は、3 次元再構築モデルを用いた時空間的な観察と形態計測学的解析による定量的な解析を行うことにより、肝内胆管が実際は細い未熟な胆管の網目構造が極性を伴いながら、増加と選択を経て形成されることを見出した。**菊池** は、肺胞の 3 次元上皮細胞培養と器官培養を用いて、肺胞形成において上皮細胞の頂側収縮と間質側への増殖が、適切な分岐誘導に必須であることを数理モデルとともに明らかにした。これらの上皮形態形成にメカノストレスが重要であると考えられるが、**大橋** が上皮管腔組織の形態形成において管腔を構成する個々の細胞の増殖と分化を時空間的に制御するメカノストレス応答に依存した新たな分子機構が存在することを示した。これらの研究成果から、上皮細胞内骨格の動的制御を基盤とした上皮細胞—上皮細胞と上皮細胞—間質細胞の相互作用により、形づくりが行われることが考えられた。

3 「**新分野への発展、領域内の複数の研究を結ぶ共通性を見出すための分子レベルでの解明が望まれる**」。これに対して、本研究領域では幹細胞の【幹】、管腔形成の【管】、疾患の【患】という 3 つのキーワードを設定し、各計画研究班と公募研究班がこれらのキーワードを共有化して新規の上皮管腔形成制御機構を解明した。例えば、**菊池** は管腔形成機構【管】を担当して解析を進め、その結果新規の制御因子として Ar14c を同定した。Ar14c は Wnt と EGF という 2 つの「協調的液性因子シグナル」によって発現が誘導されることが明らかとなった。Wnt や EGF シグナルの同時活性化はヒト癌の重要なシグナルであることが知られていることから、癌における Ar14c の関与を検討し、少なくとも大腸癌、肺腺癌では Ar14c が腫瘍形成を促進する分子として機能することが判明した。この成果によって、管腔形成/Tubulogenesis【管】と腫瘍形成/Tumorigenesis【患】の 2 つのキーワードを Ar14c という分子によって共通の機構で理解することが可能になった。管腔形成と腫瘍形成を共通の概念として理解できたことで、これまでに注目されていない新たな癌分子標的を今後多数同定できる可能性があり、新分野への発展につながることを期待された。【幹】から【管】については、**鈴木 (淳)** と**大野** が見出した Tbx3 と aPKC が上皮組織幹細胞から管腔構造形成に重要であるという知見が、今後肝臓や乳腺組織の他の研究に応用されることが期待される。

4 「**上皮管腔を形成するための共通原理と個々の臓器特異的原理については未だ不明であり、今後の課題である**」 これに対して、**鈴木 (淳)** は、Wnt シグナルによる Tbx3 の発現を介して肝芽細胞が前駆状態を維持して、肝芽細胞から分化した胆管上皮細胞が内腔をもつ小さなシストを形成し、それらが徐々につながって網目構造を形成していくことを明らかにした。こうした管腔形成様式は他の器官ではあまり見られないことから、肝臓内の胆管形成に特異的なものと考えられた。**菊池** は少なくとも肺、腎臓、唾液腺という 3 つの臓器で Wnt シグナルが共通して、管腔形成において前駆細胞の維持に必要であることを明らかにした。しかし、Wnt シグナルは肺においては主に上皮の極性制御、腎臓においては増殖の制御、唾液腺においては分化の制御に重要であり、臓器毎の Wnt による制御特異性が認められた。Wnt シグナルは肺においては MARK1、腎臓においては Ar14c、唾液腺においては Myb の発現を誘導することから、このような器官特異的な標的遺伝子の発現が個々の器官特異的な原理につながることを解明できた。**南** は異なる器官由来の癌細胞において、PCP 経路を促進する Wnt シグナルが恒常的に活性化することにより、分子種は異なるものの同じ MMP ファミリーに属する分子の発現を共通して誘導し、がんの浸潤能を亢進させることを見出した。これらの一連の研究成果から、いくつかの上皮管腔器官においては、Wnt シグナル経路が上皮細胞の形態形成のための組織幹細胞の未分化能の維持に重要という共通原理が見出され、その後発現する分子種の違いが組織、細胞毎に異なり、固有の形づくりを可能にしていくことが示唆された。

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 ページ以内）

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。記述に当たっては、**本研究課題により得られたものに厳に限ること**とします。

本研究領域は平成 23 年 7 月に発足し平成 28 年 3 月に終了した。7 計画研究班と 42 公募研究班は、領域の目的に沿って下記のような成果を挙げた（図 3）。

A01 計画研究

鈴木（淳）は、肝芽細胞の未分化性維持に関するマイクロ RNA の機能と制御について解析を行い、マイクロ RNA 制御タンパク質 Lin28b が、マイクロ RNA (let-7b と miR-125a/b) の成熟化を阻害し、肝芽細胞の幹細胞性（増殖能や分化能）の維持に関与することを明らかにした (Hepatology, in press)。管腔形成の 3 次元立体解析においては、高解像度デジタル 3 次元再構築法と形態計測学的手法を用いた時空間的かつ定量的な解析により、肝発生における肝内胆管の立体的な形態形成機序を解明することに成功した (Hepatology, 2015)。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癌や慢性肝炎時の胆管反応が、実際は Notch シグナルを介した肝細胞の分化転換によって生じることを明らかにした (J Clin Invest, 2012; Am J Pathol, 2014)。さらに、線維芽細胞に 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た (Nature, 2011)。大野は、aPKC が転写因子 Slug, Sox9 らと同様、乳腺組織幹細胞の増殖と自己更新の正の制御因子であるとともに、管腔前駆細胞の増殖の負の制御因子であることを明らかとした。さらに、aPKC が ErbB2 の転写抑制を介して (aPKC-ErbB2 シグナル軸)、前駆細胞の増殖を負に制御し、aPKC-ErbB2 シグナル軸が一部の乳癌で破綻していることを示した (論文投稿中)。また、Lgl が aPKC とは独立に増殖を抑制すること (Mol Biol Cell, 2015)、PAR3 の極性制御の下流に、Girdin による転写制御があることを見出した (J Cell Sci, 2015)。これらに加え、aPKC のアピカルドメイン形成能を負に制御する KIBRA タンパク質の同定 (KIBRA-aPKC シグナル軸) にも成功した (Curr Biol, 2011)。菊池は、Wnt シグナルの活性化による頂側収縮と細胞伸長作用により肺上皮組織の分岐の位置が空間的に適正に調節される機構を数理シミュレーションを用いて証明した (論文投稿中) (今村との共同研究)。外分泌腺である唾液腺原基を用いた器官培養において、Wnt と KIT シグナルの活性化バランスが発生過程における管腔形態形成から腺房分化へのスイッチングを調節する新規の機構であることを提唱した (Development, 2016)。液性因子シグナル依存性管腔形成因子である Dkk1 の新規受容体として CKAP4 を同定し、Dkk1 と CKAP4 が肺癌と膵癌において高発現し、抗 CKAP4 抗体が腫瘍形成を阻害することを明らかにした (J Clin Invest, 2016)。Wnt と EGF シグナルの標的遺伝子である低分子量 G タンパク質 Ar14c は管腔形成因子であるだけでなく、大腸癌や肺腺癌において高発現し、siRNA による発現抑制が腫瘍形成を阻害することを明らかにした (Oncogene, 2015)。Wnt と EGF シグナルの標的遺伝子として同定した ATP 受容体 P2Y2 receptor (P2Y2R) は、細胞表面においてインテグリンとフィブロネクチンとの結合を抑制することで、管腔形成を誘導することを示した (J Cell Sci, 2015)。極性化 MDCK 細胞を用いて、Wnt の種類により輸送される方向が異なることを見出し、その分泌方向は糖鎖修飾により決定されることを初めて明らかにした (J Cell Sci, 2015, 2013)。DSS 誘導性腸炎モデルの解析から、Wnt5a-Ror2 シグナルの活性化は IL-12 と IFN- γ を介するシグナルに依存して、腸炎の増悪に関わることを示した (Sci Rep, 2015) (南との共同研究)。3 次元培養下で囊胞上の IEC6 細胞は、Ar14c の発現により伸長と分岐を繰り返してチューブ状の管腔構造を形成した。Ar14c は細胞骨格と形態を変化させ、同時に転写活性化因子 YAP/TAZ を核内に移行させ細胞増殖を促進する結果、管腔構造を形成した。Ar14c は胎生期マウス腎臓の尿管上皮の分岐管腔形成にも関与することが明らかになった (EMBO J, 2014)。IEC6 細胞は単一細胞レベルで頂底極性を形成し、その維持には Wnt5a シグナルによる Rho-Rac の空間的制御が必要であることを見出した (Mol Biol Cell, 2013)。大橋は、メカノストレス応答に関与する Rho-GEF である Solo はケラチン 8/18 繊維と結合し、細胞内のケラチン 8/18 ネットワーク制御とストレスファイバー形成に必要であることを明らかにした (Mol Cell Bio, 2016)。Solo は、カドヘリンに依存した細胞間接着構造からのメカノストレスに依存して RhoA を活性化し、細胞の方向転換に寄与することも明らかにした (J Cell Sci, 2015)。アクチン線維の脱重合因子コフィリンとアクチンの結合を高感度でモニターする分割 YFP プローブを作製し、LIM キナーゼの阻害剤を化合物ライブラリーより同定し、LIM キナーゼが乳癌細胞の浸潤に寄与することを明らかにした (Mol Cell Biol, 2014; BBRC, 2012)。

A01 公募研究

中村は、正常マウスの腸上皮細胞を体外培養する技術やこれをマウス大腸へ移植する技術、小腸上皮細胞と免疫担当細胞の相互作用解析を可能とする技術を開発し、上皮性幹細胞が生体組織を構築する際の上皮内因性プログラムを有することを提示した (J Gastroenterol, 2016; Genes Dev, 2014; Nat Med, 2012)。松本は、ROCO ファミリーキナーゼ LRRK1 が M 期中心体で活性化し、紡錘体の配向を制御することで、細胞分裂軸をコントロールしていることを明らかにした (Nat Cell Biol, 2015)。木岡は、接着斑タンパク質であるピンキュリンとピネキシンの相互作用が線維芽細胞における細胞外基質の硬さを感知するセンサーとして働き、硬さに依存した細胞遊走を制御していることを明らかにした (Oncogene, 2015)。山城は、単分子スペクル法により、ミオシン依存的な張力がアクチン線維を安定化することを明らかにした (Mol Biol Cell, 2014) (加藤との共同研究)。また、MDCK 正常-変異細胞共培養系において、変異細胞突起が基

底側にもぐり込んだ正常細胞では、転写調節因子 Yap の核内局在が亢進していることを明らかにした (昆との共同研究)。大澤は、嚢状の上皮管腔構造であるショウジョウバエ成虫原基をモデル系として用い、正常細胞が組織に生じた極性崩壊細胞を認識する細胞膜上のリガンド様タンパク質 Sas と Sas に結合する極性崩壊細胞上の受容体 PTP10D (受容体型チロシンフォスファターゼ) の同定に成功した (Nature, 改訂中)。池ノ内は、上皮間葉転換に依らない浸潤癌の遊走に関わる分子機構として、プレブが RhoA と Rnd3 の拮抗的な相互作用により形質膜の拡大と退縮により形成され、3次元のマトリックス内部を遊走することを明らかにした (PNAS, 2016)。今村は、組織の厚みについて細胞間の力学的相互作用による数理モデルを構築し、Wnt 依存的頂側収縮による分岐調節メカニズムの存在を証明した (菊池との共同研究)。佐々木は、マウス胚線維芽細胞 NIH3T3 を用いて上皮組織の細胞動態を制御する細胞間コミュニケーションのモデル系を樹立し、転写因子 Myc と Tead が協調的に細胞競合を制御することを見出した (J Cell Sci, 2015)。森本は、マウス気管を用いて気管間充織の軟骨形成と Wnt5a シグナルによる細胞極性獲得が気管管腔の成長方向を決定し、この間充織の成熟化が上皮細胞の形態変化の動力となり、管腔を拡大することを明らかにした (南との共同研究)。永樂は、ES 細胞からの立体組織培養系と 3次元イメージング技術を組み合わせ、眼杯形成についての分子・細胞・組織の各階層をまたいだ解析を行うことで、上皮組織の形態形成制御における化学的シグナルと力学的シグナルのフィードバック機構を明らかにした (Nat Commun, 2015)。西森は、R-spondin の受容体である LGR4 の KO マウスを用いて、子宮上皮の分泌腺形成と脱落膜化反応に必須であることを明らかにした (Faseb J, 2013)。吉村は、上皮細胞の極性輸送に重要な Rab8 に結合する新規分子 EHBP1L1 が細胞内のチューブ構造に共局在することを見出し、初代小腸培養系を用いてそれらの分子が頂側面方向への輸送に関与することを明らかにした (J Cell Biol, 2016) (佐藤との共同研究)。平島は、ES 細胞は特徴的な脂質分子種を有する可能性を示唆した (池ノ内との共同研究)。谷水は、Grhl2 はクロージンの発現を介して密着結合を成熟化させるとともに、肝上皮細胞の分化可塑性を制限することによって、胆管構造の形成促進と安定化を制御していることを明らかにした (Mol Cell Biol, 2012)。芝は、繊毛基部に共局在する細胞腎疾患関連分子の発現を抑制すると嚢胞腎と内臓逆位が生じることを、ゼブラフィッシュを用いて明らかにした (Differentiation, 2012)。堀田は、2光子顕微鏡による核位置追跡のイメージングを試み、細胞の行列の再編成が神経管の太さの制御に寄与することを示すより鮮明な核位置追跡画像を得た (永樂との共同研究)。北館は、精上皮管腔が血管に沿って極性化する機構を解析し、精上皮表面で血管に沿って発現する FGF5 が精子幹細胞を血管付近に高密度化し、極性化していることを明らかにした。中村は、リン酸化 GRASP65 が細胞分化・分極にともなって細胞膜へと移行する可能性を示唆した (Exp Cell Res, 2014)。

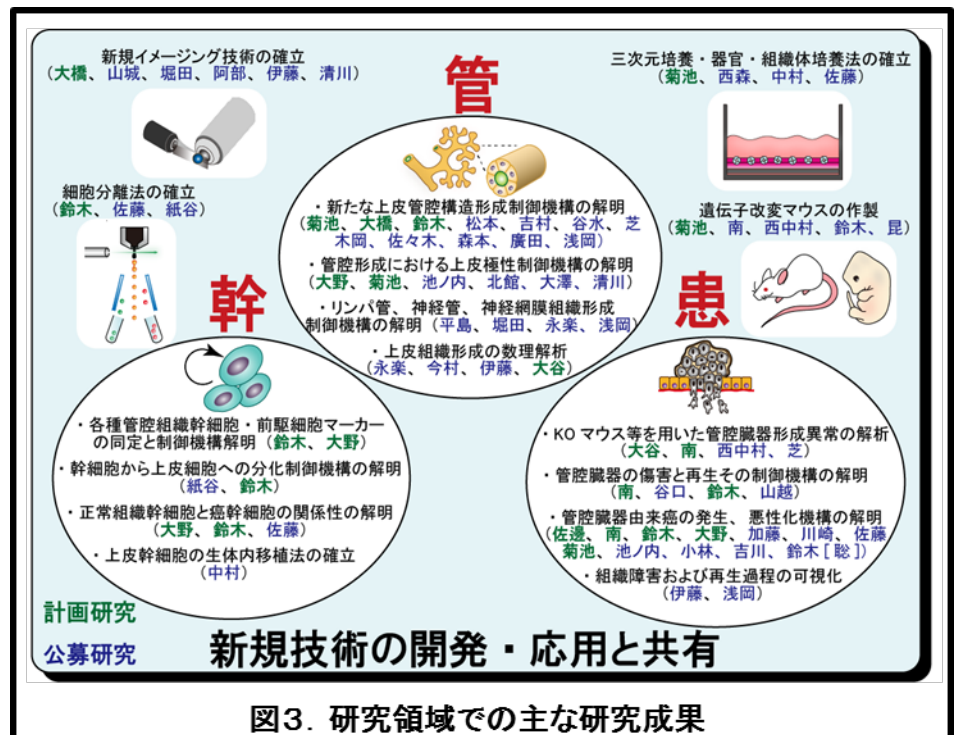


図3. 研究領域での主な研究成果

A02 計画研究

大谷は、外胚葉由来上皮における幹細胞増殖調節機構として知られる細胞周期に同期した核移動である INM が、胚葉を越えた上皮管腔組織の初期発生に存在し、器官・時期における異同があることを明らかにした (Congenit Anom, 2016 ; Ant Sci Int, 2013)。一方で、INM は発生時期、組織により周期等様式が異なること、INM の異常により肉眼的形態形成異常 (奇形) が生じることを腸管、尿路系の例において示唆し、INM の調節と上皮管腔組織・器官の形・大きさの調節が連結する可能性を示した (南との共同研究)。南は、ヒト劣性遺伝性難聴家系の全エクソーム解析において Ror1 遺伝子変異を見出すとともに、この変異体 Ror1 が Wnt5a 刺激に伴う NF- κ B の活性化を誘導できないこと、また Ror1 変異マウスが蝸牛の形成異常を生じることを見出した (PNAS, 2016)。腎臓の発生過程において Ror1 と Ror2 を介するシグナルにより間葉組織の配置が制御され、それにより尿管芽と後腎間葉が適切に相互作用することが尿管芽形成に重要であった (Genes Cells, 2016)。また、上皮由来低分化胃癌細胞株の細胞増殖では、間葉系幹細胞において自律的に活性化された Wnt5a-Ror2 シグナルによって産生されるケモカイン CXCL16 によって増強されることが明らかになった (Cancer Sci, 2016)。Ror2 が後腎間葉に発現し、Wnt5a-Ror2 シグナルが GDNF-Ret シグナルを制御することや Wnt5a、Ror2 が CAKUT (腎尿路奇形) の原因遺伝子であることを明らかにするとともに

に、Wnt5a-Ror1 シグナルも協調的に作用することを見出した (Mol Cell Biol, 2014) (西中村、大谷との共同研究)。佐邊は、悪性度の高い癌では、AMAP1 の結合タンパク質であり間充織タンパク質の EPB41L5 が強く発現し、Arf6 による癌悪性化に必須であることを明らかにした (J Cell Biol, 2016)。また、TP53 変異による Arf6 活性化にはメバロン酸代謝が必須であり、高脂血症治療薬スタチンによるメバロン酸経路阻害が Arf6 活性を阻害し、乳癌の浸潤転移、薬剤耐性を抑制することも明らかにした。また、脂質メディエーターであるリゾフォスファチジン酸は Arf6 を直接活性化し、腎明細胞癌の浸潤転移と薬剤抵抗性を促進することを明らかにした (Nat Commun, 2016)。

A02 公募研究

昆は、マウス腸管上皮細胞にタモキシフェン依存的に恒常活性化型 Ras 変異を導入できるマウスを作製して、モザイク状に Ras 変異を発現誘導できる *in vivo* 細胞競合マウスモデルを世界に先駆けて開発した (論文投稿中)。廣田は、性周期や分娩後の組織再構築の際の子宮内膜上皮管腔再生に転写因子 STAT3 が関与していること (JCI Insight, 2016) やホメオボックス遺伝子 MSX による上皮の細胞極性と間質の NF- κ B を介した炎症応答の制御により着床が成立することを明らかにした (JBC, 2015)。伊藤は、肝障害に応じた胆管系の組織増生では、高い増殖能 (クローン増殖性) を有する特殊な前駆細胞集団が偶発的/確率論的 (stochastic) に生じ、これが組織増生の主要な要因となることを、数理モデルを用いたシミュレーション解析を組み合わせることで明らかにした (論文改訂中)。また、マウス胆管系の新規 3 次元可視化手法を用いて、肝臓組織中の障害部位に応じて、胆管系がそれぞれ異なる形態変化を示すことを見出した (Hepatology, 2015) (谷水との共同研究)。小林は、膵管癌細胞の一次繊毛消失に介在する転写制御因子としてヒストン脱アセチル化酵素 HDAC2 を見出し、さらにその下流で Aurora A キナーゼが一次繊毛の分解に寄与することを見出した。西中村は、新規キネシン Kif26b に結合する非筋肉型ミオシン II (Myh9/10) の欠失により尿細管の管腔径拡張と腎機能不全が生じることを見出し、ミオシン II はネフロン上皮の形態形成に必須であることを明らかにした (PLOS One, 2012; J Am Soc Nephrol, 2015)。吉川は、基底膜成分ラミニン-511 に結合するルテランがシェディングされ (Exp Cell Res, 2014)、ルテランが肝細胞癌の患者血漿中に検出されることから新たな腫瘍マーカーとなることを示した (谷水との共同研究)。清川は、類器官形成の後期で発現が上昇する分子 Ripply1 が内腔形成に関与することを示した (BBRC, 2015)。また、類器官内の不均衡が類器官が回転する力を生むという可能性を示唆した (今村との共同研究)。加藤は、腸管クリプト管腔内にきわめて少数の Ras 変異細胞をモザイク状に発生させる系を構築し、正常管腔上皮細胞に囲まれた状態で発生した Ras 変異細胞が管腔内腔側へ積極的に排除されることを示した。阿部は、高分解能光干渉断層画像化法 (OCT) プローブを開発し、肺組織においては気管支から細気管支の分岐状態と上皮細胞の繊毛運動、肺線維症の病変組織の画像化に成功した (App Opt, 2015)。紙谷は、ヒト iPS 細胞由来 *in vitro* 胆管様構造の誘導系の構築に成功し、多発性肝嚢胞の原因遺伝子である PRKCSH の欠損ヒト iPS 細胞を作製して、本疾患の病態を一部 *in vitro* で再現した。川崎は、APC 結合タンパク質 Asef が大腸癌で発現亢進していることと、その発現亢進は Notch3 経路の活性化に依存していることを明らかにした (PLOS One, 2013)。浅岡は、YAP がアクトミオシンの活性とフィブロネクチンの重合化を制御することにより、眼のレンズと網膜の正常な組織配置に関与することが明らかにした。本研究は、第 1 回国際会議に招聘された Carl-Philipp Heisenberg 教授との国際共同研究を通じて完成した (Nature, 2015)。鈴木 (聡) は、肝細胞特異的 MOB1 (Hippo 経路のコアコンポーネントの 1 つ) 欠損マウスを作製して、肝内胆管癌や混合性肝癌が全例に発症し、ヒト肝内胆管癌や混合性肝癌において、YAP が活性化されることを示した (PNAS, 2016) (伊藤との共同研究)。谷口は、ショウジョウバエ非再生系モデル附属腺を用いて、細胞機能低下に応答する Notch・JAK-STAT シグナルを同定した (BMC Dev Biol, 2014)。佐藤は、ヒト大腸オルガノイド作製技術に遺伝子改変技術を組みあわせることにより、腸上皮から浸潤能を伴ったがん組織を作製することに成功した (Nat Med, 2015)。山越は、動物生体内イメージング技術を用いて、顎下腺の恒常性維持に Bmi-1/p16 制御経路が重要であることを見出した (Aging Cell, 2015)。

特許出願(15 件) 代表例を示す。

大野: 初期乳癌診断マーカー 特願 2011-044047 ;

菊池: CKAP4 を標的分子とした抗腫瘍剤 特願 2015-038343 国際出願番号 PCT/JP2016/052485 ; 佐邊: 膵癌の再発リスクの予測に用いるための診断薬及びキット、並びに予測方法 特願 2015-246132

中村: 大腸上皮幹細胞の単離・培養技術と、これを用いた大腸上皮移植技術 国際出願番号 PCT/JP2012/006897・公開番号 W02013/061608

池内: タイトジャンクション形成促進を評価するための細胞およびタイトジャンクション形成促進剤 国際出願番号 PCT/JP2015/061374

鈴木 (聡): イベルメクチン又はミルベマイシン D を有効成分として含む抗癌剤 特願 2014-228901

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ページ以内）

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。記述に当たっては、本研究課題により得られたものに厳に限ることとします。

- 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。
- 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。
- 補助条件に定められたとおり、本研究課題に係り交付を受けて行った研究の成果であることを表示したもの（論文等の場合は謝辞に課題番号を含め記載したもの）について記載したもののについては、冒頭に▲を付してください（前項と重複する場合は、「◎▲・・・」と記載してください）。
- 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。

論文業績

2011年8月～2016年3月までに発表された計画研究班7班の総英文論文数（原著論文＋総説）は150編で、公募研究班42班の総英文論文数は189編である。Nature, Nature Medicine, J Clin Invest, Cancer Cell, Dev Cell, PNASなど国際的に評価の高い雑誌に着実に採択されている。全てを記述することはできないので、代表的論文を掲載した。（ ）内は英文原著論文と英文総説の総数を示す。「 」内は研究課題を示す。

A01 計画研究

鈴木 淳史 (10)「組織幹細胞の維持と分化の制御機構」

▲Takashima, Y., Terada, M., Udono, M., Miura, S., Yamamoto, J., *Suzuki, A. Suppression of let-7b and miR-125a/b maturation by Lin28b enables maintenance of stem cell properties in hepatoblasts. **Hepatology** in press.

Takashima, Y., Terada, M., Kawabata, M., *Suzuki, A. Dynamic three-dimensional morphogenesis of intrahepatic bile ducts in mouse liver development. **Hepatology** 61: 1003-1011, 2015.

Sekiya, S., *Suzuki, A. Intrahepatic cholangiocarcinoma can arise from Notch-mediated conversion of hepatocytes. **J. Clin. Invest.** 122: 3914-3918, 2012.

Sekiya, S., *Suzuki, A. Direct conversion of mouse fibroblasts to hepatocyte-like cells by defined factors. **Nature** 475: 390-393, 2011.

大野茂男 (26)「組織幹前駆細胞の極性制御と運命決定」

Metz P, J., Lopez, J., Kim, S. H., Akimoto, K., Ohno, S., *Chang, J. T. Regulation of Asymmetric Division by Atypical Protein Kinase C Influences Early Specification of CD8(+) T Lymphocyte Fates. **Sci. Rep.** 6: 19182, 2016.

Sasaki, K., Kakuwa, T., Akimoto, K., Koga, H., *Ohno, S. Regulation of epithelial cell polarity by PAR-3 depends on Girdin transcription and Girdin-Galphi3 signaling. **J. Cell Sci.** 128: 2244-2258, 2015.

Sato, Y., Hayashi, K., Amano, Y., Takahashi, M., Yonemura, S., Hayashi, I., Hirose, H., Ohno, S., *Suzuki, A. MTCL1 crosslinks and stabilizes non-centrosomal microtubules on the Golgi membrane. **Nat. Commun.** 5: 5266, 2014.

Yoshihama, Y., Sasaki, K., Horikoshi, Y., Suzuki, A., Ohtsuka, T., Hakuno, F., Takahashi, S., *Ohno, S., Chida, K. KIBRA suppresses apical exocytosis through inhibition of aPKC kinase activity in epithelial cells. **Curr. Biol.** 21: 705-711, 2011.

菊池 章 (25)「分岐を伴った上皮管腔組織構造の形成・維持の分子機構」

▲Kimura, H., Fumoto, K., Shojima, K., Nojima, S., Osugi, Y., Tomihara, H., Eguchi, H., Shintani, Y., Endo, E., Inoue, M., Doki, Y., Okumura, M., Morii, E., *Kikuchi, A. CKAP4 is involved in tumor progression as a Dickkopf1 receptor. **J. Clin. Invest.** in press.

▲Matsumoto, S., Kurimoto, T., Taketo, M., Fujii, S., *Kikuchi, A. Wnt-Myb pathway suppresses KIT expression to control the timing of salivary proacinar differentiation and duct formation. **Development** in press.

▲Sato, A., Kayama, H., Shojima, K., Matsumoto, S., Koyama, H., Minami, Y., Nojima, S., Morii, E., Honda, H., Takeda, K., *Kikuchi, A. The Wnt5a-Ror2 axis promotes the signaling circuit between interleukin-12 and interferon- γ in colitis. **Sci. Rep.** 5:10536, 2015.

▲Yamamoto, H., Awada, C., Matsumoto, S., Kaneiwa, T., Sugimoto, T., Takao, T., *Kikuchi, A. Basolateral secretion of Wnt5a in polarized epithelial cells is required for apical lumen formation. **J. Cell Sci.** 128: 1051-1063, 2015.

▲Fujii, S., Matsumoto, S., Nojima, S., Morii, E., *Kikuchi, A. Arl4c expression in colorectal and lung cancers promotes tumorigenesis and may represent a novel therapeutic target. **Oncogene** 34: 4834-4844, 2015.

▲Matsumoto, S., Fujii, S., Sato, A., Ibuka, S., Kagawa, Y., Ishii, M., *Kikuchi, A. A combination of Wnt and growth factor signaling induces Arl4c expression to form epithelial tubular structures. **EMBO J.** 33: 702-718, 2014.

▲Yamamoto, H., Awada, C., Hanaki, H., Sakane, H., Tsujimoto, I., Takahashi, Y., Takao, T., *Kikuchi, A. Apicobasal secretion of Wnt11 and Wnt3a in polarized epithelial cells is regulated by distinct mechanisms. **J. Cell Sci.** 126: 2931-2943, 2013.

Naito, A., Sumida, T., Nomura, S., Liu, M.L., Higo, T., Nakagawa, A., Okada, K., Sakai, T., Hashimoto, A., Hara, Y., Shimizu, I., Zhu, W., Toko, H., Katada, A., Akazawa, H., Oka, T., Lee, J.K., Minamino, T., Nagai, T., Walsh, K., Kikuchi, A., Matsumoto, M., Botto, M., Shiojima, I., *Komuro, I. Complement c1q activates canonical wnt

- signaling and promotes aging-related phenotypes. **Cell** 149: 1298-1313, 2012.
- 大橋 一正 (15) 「上皮管腔形成過程における細胞動態と機能分子動態の3次元イメージング解析」
- ◎▲Fujiwara, S., *Ohashi, K., Mashiko, T., Kondo, H., *Mizuno, K. Interplay between Solo and keratin filaments is crucial for mechanical force-induced stress fiber reinforcement. **Mol. Biol. Cell** 27: 954-966, 2016.
- ◎▲Abiko, H., Fujiwara, S., *Ohashi, K., Hiataru, R., Mashiko, T., Sakamoto, N., Sato, M., *Mizuno, K. Rho-guanine nucleotide exchange factors involved in cyclic stretch-induced reorientation of vascular endothelial cells. **J. Cell Sci.** 128: 1683-1695, 2015.
- ◎▲*Ohashi, K., Sampei, K., Nakagawa, M., Uchiumi, N., Amanuma, T., Aiba, S., Oikawa, M., *Mizuno, K. Damnacanthol, an effective inhibitor of LIM-kinase, inhibits cell migration and invasion. **Mol. Biol. Cell** 25: 828-840, 2014.
- A01 公募研究(平成 26 年度～平成 27 年度)**
- 中村 哲也 (3) 「腸管上皮幹細胞三次元培養技術を利用した管腔形成機構解析」
- ▲Nozaki, K., Mochizuki, W., Matsumoto, Y., Matsumoto, T., Fukuda, M., Mizutani, T., Watanabe, M., *Nakamura, T. Co-culture with intestinal epithelial organoids allows efficient expansion and motility analysis of intraepithelial lymphocytes. **J. Gastroenterol.** 51: 206-213, 2016.
- ▲Fukuda, M., Mizutani, T., Mochizuki, W., Matsumoto, T., Nozaki, K., Sakamaki, Y., Ichinose, S., Okada, Y., Tanaka, T., Watanabe, M., *Nakamura, T. Small intestinal stem cell identity is maintained with functional Paneth cells in heterotopically grafted epithelium onto the colon. **Genes Dev.** 28: 1752-1757, 2014.
- 松本 邦弘 (2) 「de novo 管腔形成の制御機構」
- Hanafusa, H., Kedashiro, S., Tezuka, M., Funatsu, M., Usami, S., Toyoshima, F., *Matsumoto, K. PLK1-dependent activation of LRRK1 regulates spindle orientation by phosphorylating CDK5RAP2. **Nat. Cell Biol.** 17: 1024-1035, 2015.
- 木岡紀幸 (2) 「細胞外マトリックスの硬さによる上皮管腔組織形成の制御」
- Tomiyama, L., Sezaki, T., Matsuo, M., Ueda, K., *Kioka, N. Loss of Dlg5 expression promotes the migration and invasion of prostate cancer cells via Girdin phosphorylation. **Oncogene** 34: 1141-1149, 2015.
- 山城 佐和子 (5) 「革新的イメージングによる上皮細胞間コミュニケーションの異常における力の役割」
- Yamashiro, S., Mizuno, H., Smith, M.B., Ryan, G.L., Kiuchi, T., Vavylonis, D., *Watanabe, N. New single-molecule speckle microscopy reveals modification of the retrograde actin flow by focal adhesions at nanometer scales. **Mol. Biol. Cell** 25: 1010-1024, 2014.
- 大澤志津江 (5) 「上皮管腔組織が内包する細胞間相互作用を介したがん抑制システムの遺伝的基盤」
- #Nakamura, M., #Ohsawa, S. (equal contribution), *Igaki, T. Mitochondrial defects trigger proliferation of neighboring cells via senescence-associated secretory phenotype in *Drosophila*. **Nat. Commun.** 5: 5264, 2014.
- 池ノ内 順一 (5) 「細胞膜脂質が上皮管腔構造形成において果たす役割の解明」
- ▲Aoki, K., Maeda, F., Nagasako, T., Mochizuki, Y., Uchida, S., *Ikenouchi, J. A RhoA and Rnd3 cycle regulates actin reassembly during membrane blebbing. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 13:E1863-E1871, 2016.
- ▲Shiomi, R., Shigetomi, K., Inai, T., Sakai, M., *Ikenouchi, J. CaMKII regulates the strength of the epithelial barrier. **Sci. Rep.** 5: 13262, 2015.
- 今村寿子 (3) 「分岐形成を生み出す細胞動態を実験—理論相互連動によって解明する」
- Takigawa-Imamura, H., Morita, R., Iwaki, T., Tsuji, T., *Yoshikawa, K. Tooth germ invagination from cell-cell interaction: Working hypothesis on mechanical instability. **J. Theoret. Biol.** 382: 284-291, 2015.
- 佐々木洋 (6) 「上皮組織の細胞動態制御機構の解析」
- Mamada, H., Sato, T., Ota, M., *Sasaki, H. Cell competition in mouse NIH3T3 embryonic fibroblasts is controlled by the activity of Tead family proteins and Myc. **J. Cell Sci.** 128: 790-803, 2015.
- 永楽 元次 (8) 「上皮組織の分化パターンと形態形成をつなぐ力学制御メカニズムの解明」
- ◎*Okuda, S., Inoue, Y., Eiraku, M., Adachi, T., Sasai, Y. Modeling cell apoptosis for simulating three-dimensional multicellular morphogenesis based on a reversible network reconnection framework. **Biomech. Model. Mechanobiol.** Sep 11, 2015.
- Kuwahara, A., Ozone, C., Nakano, T., Saito, K., *Eiraku, M., Sasai, Y. Generation of a ciliary margin-like stem cell niche from self-organizing human retinal tissue. **Nat. Commun.** 6: 6286, 2015.
- A01 公募研究 平成 24～25 年度**
- 西森 克彦 (2) 「新規Wntシグナル修飾因子LGR4による乳腺上皮細胞運命の決定と極性制御機構解明」
- Mohri, Y., Sone, M., Oyama, K., Akamatsu, A., *Nishimori, K. LGR4 is required for the cell survival of the peripheral mesenchyme at the embryonic stage of nephrogenesis. **Biosci. Biotech. Biochem.** 76: 888-891, 2012.
- 山城 佐和子 (3) 「上皮細胞ラテラル領域におけるアクチン繊維流動“力”の機能解明」
- Yamashiro, S., Gokhin, D.S., Kimura, S., Nowak, R.B., *Fowler, V. M. Tropomodulins: pointed-end capping proteins that regulate actin filament architecture in diverse cell types. **Cytoskeleton** 69: 337-370, 2012.
- 中村 哲也 (4) 「独自の正常大腸上皮幹細胞培養技術を用いた管腔形成機構の解析」
- Yui, S., Nakamura, T., Sato, T., Nemoto, Y., Mizutani, T., Zheng, X., Ichinose, S., Nagaishi, T., Okamoto, R., Tsuchiya, K., *Clevers, H., *Watanabe, M. Functional engraftment of colon epithelium expanded in vitro from a single adult Lgr5+ stem cell. **Nat. Med.** 18: 618-623, 2012.

松本 邦弘 (6) 「管形成過程における紡錘体配向の変換機構」

Li, C., Hisamoto, N., Nix, P., Kanao, S., Mizuno, T., Bastiani, M., *Matsumoto, K. The growth factor SVH-1 regulates axon regeneration in *C. elegans* via the JNK MAPK cascade. **Nat. Neurosci.** 15: 551-557, 2012.

池ノ内 順一 (2) 「細胞膜脂質が上皮管腔構造形成において果たす役割の解明」

▲*Ikenouchi, J., Hirata, M., Yonemura, S., Umeda, M. Sphingomyelin clustering is essential for the formation of microvilli. **J. Cell Sci.** 126:3585-3592, 2013.

吉村 信一郎 (5) 「管腔形成における細胞内極性輸送の機能の解明」

Nakajo, A., *Yoshimura, S., Togawa, H., Kunii, M., Iwano, T., Izumi, A., Noguchi, Y., Watanabe, A., Goto, A., Sato, T., *Harada, A. EHBP1L1 coordinates Rab8 and Bin1 to regulate apical-directed transport in polarized epithelial cells. **J. Cell Biol.** 212: 297-306, 2016.

平島 正則 (6) 「リンパ管腔形成と維持における Aspp1 の役割と分子機構」

Sano, K., Katsuta, O., Shirae, S., Kubota, Y., Ema, M., Suda, T., Nakamura, M., *Hirashima, M. Flt1 and Flk1 mediate regulation of intraocular pressure and their double heterozygosity causes the buphthalmia in mice. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 420: 422-427, 2012.

谷水 直樹 (5) 「胆管をモデルとした、管腔構造の発達とチューブ構造形成を制御するメカニズムの解明」

Senga, K., Mitaka, T., Mostov, KE., Miyajima, A., *Tanimizu, N. Grhl2 regulates epithelial morphogenesis by establishing functional tight junctions through upregulation of Cldn3, Cldn4, and Rab25. **Mol. Cell Biol.** 23, 2845-2855, 2012.

芝 大 (2) 「腎尿細管構造の維持機構解析の基盤となる一次繊毛蛋白による細胞周期調節のしくみ」

Shiba, D., *Yokoyama, T. The ciliary transitional zone and nephrocystins. **Differentiation** 83:S91-S96, 2012.

堀田 耕司 (3) 「脳胞形成の4次元定量解析」

▲Nakamura, MJ., Terai, J., Okubo R., *Hotta, K., Oka, K. Three-dimensional anatomy of the *Ciona intestinalis* tailbud embryo at single-cell resolution. **Dev. Biol.** 372:274-284, 2012.

中村 暢宏 (2) 「分泌経路のリモデリングが上皮管腔組織形成に果たす必須の役割」

Soonthornsit, J., Yamaguchi, Y., Tamura, D., Ishida, R., Nakakoji, Y., Osako, S., Yamamoto, A., *Nakamura, N. Low cytoplasmic pH reduces ER-Golgi trafficking and induces disassembly of the Golgi apparatus. **Exp. Cell Res.** 328, 325-339, 2014.

永樂 元次 (5) 「神経上皮組織の自己組織的な形態形成の基盤となる細胞骨格動態の解明」

◎Okuda, S., Inoue, Y., Eiraku, M., Sasai, Y., *Adachi, Y. Apical contractility in growing epithelium supports robust maintenance of smooth curvatures against cell-division-induced mechanical disturbance. **J. Biomech.** 46: 1705-1713, 2013.

◎Okuda, S., Inoue, Y., Eiraku, M., Sasai, Y., *Adachi, Y. Reversible network reconnection model for simulating large deformation in dynamic tissue morphogenesis. **Biomech. Model. Mechanobiol.** 12:627-677, 2013.

A02 計画研究

大谷 浩 (20) 「器官・組織形成期の発生異常に基づく上皮管腔組織形成障害」

◎▲Motoya, T., Ogawa, N., Nitta, T., Rafiq, AM., Jahan, E., Furuya, M., Matsumoto, A., Udagawa, J., *Otani, H. Interkinetic nuclear migration in the mouse embryonic ureteric epithelium: Possible implication for congenital anomalies of the kidney and urinary tract. **Congenit. Anom.** 56: 127-134, 2016.

▲*Inoue, T., Hashimoto, R., Matsumoto, A., Jahan, E., Rafiq, AM., Udagawa, J., Hatta, T., Otani, H. *In vivo* analysis of Arg-Gly-Asp sequence/integrin $\alpha 5\beta 1$ -mediated signal involvement in embryonic enchondral ossification by *ex utero* development system. **J. Bone Miner. Res.** 29: 1554-1563, 2014.

◎Rafiq, AM., Udagawa, J., Lundth, T., Jahan, E., Matsumoto, A., Sekine, J., *Otani, H. Mathematical analysis of mandibular morphogenesis by micro-CT-based mouse and alizarin red S-stained-based human studies during development. **Anat. Rec.** 295: 313-327, 2012.

南 康博 (24) 「平面細胞極性シグナルの異常と繊毛関連症候群及び癌の浸潤転移」

Diaz-Horta, O., Abad, C., Sennaroglu, L., Foster II, J., DeSmidt, A., Bademci, G., Tokgoz-Yilmaz, S., Duman, D., Cengiz, F. B., Grati, M., Fitoz, S., Liu, X-Z., Farooq, A., Imtiaz, F., Currall, B. B., Morton, C. C., Nishita, M., Minami, Y., Lu, Z., Walz, K., *Tekin, M. ROR1 is essential for proper innervation of auditory hair cells and hearing in humans and mice. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** in press.

▲Nishita, M., Qiao, S., Miyamoto, M., Okinaka, Y. M., Yamada, M., Hashimoto, R., Iijima, K., Otani, H., Hartmann, C., Nishinakamura, R., *Minami, Y. Role of Wnt5a-Ror2 signaling in morphogenesis of the metanephric mesenchyme during ureteric budding. **Mol. Cell Biol.** 34: 3096-3105, 2014.

▲Li, X., Yamagata, K., Nishita, M., Endo, M., Arfian, N., Rikitake, Y., Emoto, N., Hirata, K., Tanaka, Y., *Minami, Y. Activation of Wnt5a-Ror2 signaling associated with epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) of tubular epithelial cells during renal fibrosis. **Genes Cells** 18: 608-619, 2013.

▲Yamagata, K., Li, X., Ikegaki, S., Oneyama, C., Okada, M., Nishita, M., *Minami, Y. Dissection of Wnt5a-Ror2 signaling leading to matrix metalloproteinase (MMP)-13 expression. **J. Biol. Chem.** 287: 1588-1599, 2012.

佐邊 壽孝 (30) 「上皮管腔組織の破綻と上皮間葉転換」

▲Hashimoto, A., Oikawa, T., Hashimoto, S., Sugino, H., Yoshikawa, A., Otsuka, Y., Handa, H., Onodera, Y., Nam, J.M., Oneyama, C., Okada, M., Fukuda, M., *Sabe, H. P53- and mevalonate pathway-driven malignancies require Arf6 for metastasis and drug resistance. **J. Cell Biol.** 213: 81-95, 2016.

Hashimoto, S., Mikami, S., Sugino, H., Yoshikawa, A., Hashimoto, A., Onodera, Y., Furukawa, S., Handa, H., Oikawa, T., Okada, Y., Oya, M., *Sabe, H. Lysophosphatidic acid activates Arf6 to promote the mesenchymal malignancy of renal cancer. **Nat. Commun.** 7: 10656, 2016.

Onodera, Y., Nam, J.M., Hashimoto, A., Norman, J.C., Shirato, H., Hashimoto, S., *Sabe, H. Rab5c promotes AMAP1-PRKD2 complex formation to enhance β 1 integrin recycling in EGF-induced cancer invasion. **J. Cell Biol.** 197: 983-996, 2012.

A02 公募研究 平成 26~27 年度

昆俊亮 (3) 「多段階発がん過程における細胞競合の意義」

Yamauchi, H., Matsumaru, T., Morita, T., Ishikawa, S., Maenaka, K., Takigawa, I., Semba, K., Kon, S. *Fujita, Y. The cell competition-based high-throughput screening identifies small compounds that promote the elimination of RasV12-transformed cells from epithelia. **Sci. Rep.** 5:15336, 2015.

廣田泰 (5) 「妊娠における子宮内膜上皮形成の分子機構とその破綻」

◎▲Hiraoka, T., *Hirota, Y., Saito-Fujita, T., Matsuo, M., Egashira, M., Matsumoto, L., Haraguchi, H., Dey, S.K., Furukawa, K.S., Fujii, T., Osuga, Y. STAT3 accelerates uterine epithelial regeneration in a mouse model of decellularized uterine matrix transplantation. **J. Clin. Invest. insight** 1: e87591, 2016.

伊藤暢 (7) 「肝臓上皮組織の再生・維持機構の生体内多次元イメージング解析」

▲*Tanimizu, N., Kaneko, K., Itoh, T., Ichinohe, N., Ishii, M., Mizuguchi, T., Hirata, K., Miyajima, A., Mitaka, T. Intrahepatic bile ducts are developed through formation of homogeneous continuous luminal network and its dynamic rearrangement. **Hepatology** in press.

▲Kaneko, K., Kamimoto, K., Miyajima, A., *Itoh, T. Adaptive remodeling of the biliary architecture underlies liver homeostasis. **Hepatology** 61: 2056-2066, 2015.

西中村隆一 (2) 「マウス及びヒト発生期腎臓における管腔上皮形成機構と破綻」

Recuenco, M.C., Ohmori, T., Tanigawa, S., Taguchi, A., Fujimura, S., Conti, M.A., Wei, Q., Kiyonari, H., Abe, T., Adelstein, R.S., *Nishinakamura, R. Non-muscle myosin II regulates the morphogenesis of metanephric mesenchyme-derived immature nephrons. **J. Am. Soc. Nephrol.** 26: 1081-1091, 2015.

吉川大和 (7) 「上皮管腔組織における基底膜形成メカニズムの解明」

▲*Kikkawa, Y., Harashima, N., Ikari, K., Fujii, S., Katagiri, F., Hozumi, K., Nomizu, M. Down-regulation of cell adhesion via rho-associated protein kinase (ROCK) pathway promotes tumor cell migration on laminin-511. **Exp. Cell Res.** 344:76-85, 2016.

清川悦子 (4) 「脈管内腺構造の回転と浸潤・転移」

▲Yoshizaki, H., Kuwajima, Y., Minato, H., *Kiyokawa, E. Regulation of Ripply1 expression in MDCK organoids. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 468: 337-42, 2015

A02 公募研究平成 24~25 年度

加藤 洋人 (1) 「上皮管腔形成における変異細胞と正常細胞の競合 —超初期発がんメカニズムの解明—」
Katoh, H., *Fujita, Y. Epithelial homeostasis: elimination by live cell extrusion. **Curr. Biol.** 22: R453-R445, 2012.

阿部 宏之 (9) 「光干渉断層画像化法を応用した肺組織構築イメージングシステムの開発」

◎Kumasako, Y., Goto, K., Koike, M., Araki, Y., Abe, H., *Utsunomiya, T. Respiration activity of single blastocysts measured by scanning electrochemical microscopy: The relationship between pre-freezing and post-warming. **J. Mamm. Ova Res.** 30: 30-35, 2013.

紙谷 聡英 (9) 「多能性幹細胞由来肝幹・前駆細胞を用いた胆管疾患解析系の構築」

Yanagida, A., Ito, K., Chikada, H., Nakauchi, H., *Kamiya, A. An *in vitro* expansion system for generation of human iPS cell-derived hepatic progenitor-like cells exhibiting a bipotent differentiation potential. **PLoS One** 8:e67541, 2013.

川崎 善博 (2) 「癌抑制遺伝子産物 APC が関わる上皮管腔形成機構とその破綻による癌発症機構の解明」
Furukawa, S., Kawasaki, Y., Miyamoto, M., Hiyoshi, M., Kitayama, J., *Akiyama, T. The miR-1-Notch3-Asef pathway is important for colorectal tumor cell migration. **PLoS One** 8: e80609, 2013.

伊藤 暢 (3) 「新規可視化法を用いた、正常時と障害時における胆管 3 次元ダイナミクス解析」

Takase, H.M., *Itoh, T., Ino, S., Wang, T., Koji, T., Akira, S., Takikawa, Y., Miyajima, A. FGF7 is a functional niche signal required for stimulation of adult liver progenitor cells that support liver regeneration. **Genes Dev.** 27: 169-181, 2013.

浅岡 洋一 (14) 「器官サイズ制御シグナルによる神経管・血管系上皮組織の 3 次元構築機構の解明」

Porazinski, S., Wang, H., Asaoka, Y., Behrndt, M., Miyamoto, T., Morita, H., Hata, S., Sasaki, T., Krens, S.F., Osada, Y., Asaka, S., Momoi, A., Linton, S., Miesfeld, J.B., Link, B.A., Senga, T., Castillo-Morales, A., Urrutia, A.O., Shimizu, N., Nagase, H., Matsuura, S., Bagby, S., Kondoh, H., *Nishina, H., *Heisenberg, C.P., *Furutani-Seiki, M. YAP is essential for tissue tension to ensure vertebrate 3D body shape. **Nature** 521: 217-221, 2015.

鈴木 聡 (20) 「上皮管腔組織形成における M o b 1 の役割とその破綻」

Nishio, M., Sugimachi, K., Goto, H., Wang, J., Morikawa, T., Miyachi, Y., Takano, Y., Hikasa, H., Itoh, T., Suzuki, S.O., Kurihara, H., Aishima, S., Leask, A., Sasaki, T., Nakano, T., Nishina, H., Nishikawa, Y., Sekido, Y., Nakao, K., Shin-ya, K., Mimori, K., *Suzuki, A. Dysregulated YAP1/TAZ and TGF-beta signaling mediate hepatocarcinogenesis in Mob1a/1b-deficient mice. **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A** 113: E71-80, 2016.

Nishio, M., Hamada, K., Kawahara, K., Sasaki, M., Noguchi, F., Chiba, S., Mizuno, K., Suzuki, S.O., Dong, Y.,

- Tokuda, M., Morikawa, T., Hikasa, H., Eggenschwiler, J., Yabuta, N., Nojima, H., Nakagawa, K., Hata, Y., Nishina, H., Mimori, K., Mori, M., Sasaki, T., Mak, T.W., Nakano, T., Itami, S., *Suzuki, A. Cancer susceptibility and embryonic lethality in *Mob1a/1b* double-mutant mice. **J. Clin. Invest.** 122: 4505-4518, 2012
- 西中村 隆一 (2) 「細胞骨格制御による腎臓上皮形成機構の解明」
- Sakaguchi, M., Sharmin, S., Taguchi, A., Ohmori, T., Fujimura, S., Abe, T., Kiyonari, H., Komatsu, Y., Mishina, Y., Asashima, M., Araki, E., *Nishinakamura, R. The phosphatase Dullard negatively regulates BMP signalling and is essential for nephron maintenance after birth. **Nat. Commun.** 4: 1398, 2013.
- 谷口 喜一郎 (7) 「非再生系成体組織における異常細胞の検出・排除システム」
- Taniguchi, K., Kokuryo, A., Imano, T., Minami, R., Nakagoshi, H. *Adachi-Yamada, T. Isoform-specific functions of Mud/NuMA mediate binucleation of *Drosophila* male accessory gland cells. **BMC Dev. Biol.** 14: 46, 2014.
- 佐藤 俊朗 (6) 「大腸上皮の癌化に伴う管腔形成異常メカニズムの解明」
- Fujii, M., Shimokawa, M., Date, S., Takano, A., Matano, M., Ohta, Y., Nanki, K., Kawasaki, K., Nakazato, Y., Uraoka, T., Watanabe, T., Kanai, T., *Sato, T. A colorectal tumor organoid library demonstrates progressive loss of niche factor requirements. **Cell Stem Cell** in press.
- Matano, M., Date, S., Shimokawa, M., Takano, A., Fujii, M., Ohta, Y., Watanabe, T., Kanai, T., *Sato, T. Modeling colorectal cancer using CRISPR-Cas9-mediated engineering of human intestinal organoids. **Nat. Med.** 21: 256-262, 2015.
- 清川 悦子 (3) 「類器官培養における癌浸潤モデルの構築と蛍光イメージング」
- Sakurai, A., Matsuda, M., *Kiyokawa, E. Activated ras protein accelerates cell cycle progression to perturb Madin-Darby canine kidney cystogenesis. **J. Biol. Chem.** 287: 31703-31711, 2012.
- 山越貴水 (1) 「幹細胞老化の制御機構とその破綻による上皮管腔組織機能低下メカニズムの解明」
- *Yamakoshi, K., Katano, S., Iida, M., Kimura, H., Okuma, A., Ikemoto-Uezumi, M., Ohtani, N., Hara, E., Maruyama, M. Dysregulation of the *Bmi-1/p16^{Ink4a}* pathway provokes an aging-associated decline of submandibular gland function. **Aging Cell** 14: 616-624, 2015.

ホームページ

領域ホームページ <http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/molbiobc/tubulology/index.html>

本ホームページに班員の研究成果や業績を掲載すると主に、各班員のホームページにリンクされている。

主催シンポジウム (22 件) 代表例を示す。

- 企画 菊池、永樂；第 38 回日本分子生物学会年会・第 88 回日本生化学会大会合同大会 「器官形成における多細胞動態の階層を超えた理解に向けて」 2015 年 12 月 4 日
- 企画 鈴木(淳)；第 38 回日本分子生物学会年会ワークショップ「細胞運命変換」 2015 年 12 月 3 日
- 企画 大野；COLD SPRING HARBOR ASIA CONFERENCES Dynamics of Cellular Behavior During Development and Disease, Suzhou, China. 2014 年 11 月 17 日 - 21 日
- 企画 菊池；第 87 回日本生化学会大会 「Signaling pathways regulating the establishment, maintenance, and disruption of epithelial tissue structures」 2014 年 10 月 17 日
- 企画 菊池；第 73 回日本癌学会学術総会 「Disruption of cell differentiation leading to cell transformation」 2014 年 9 月 26 日
- 企画 菊池、佐邊；第 85 回日本生化学会大会 「Tissue Morphogenesis by Co-operative Regulation of Cellular Proliferation and Migration and Diseases Due to its Breakdown」 2012 年 12 月 15 日

国際学会招待講演 (56 件) 代表例を示す。

- Suzuki, A. Keystone Symposia: Stem Cells and Regeneration in the Digestive Organs 「Stem cell systems in the liver」 2016 年 3 月 17 日, Keystone, Colorado
- Kikuchi, A. Commemorative Symposium for the 31st International Prize for Biology 「Implication of *Arl4c* expression in tubulogenesis and tumorigenesis」 2015 年 12 月 5 日, Kyoto, Japan
- Ohno, S Japanese-German Cancer Workshop *aPKC* suppresses the growth of mammary luminal progenitors through a novel mechanism involving *ErbB2*. 2014 年 11 月 14 日, Berlin, Germany.
- Kikuchi, A. EMBO Workshop 「Regulation of tubulogenesis and tumorigenesis by a combination of growth factor signaling」 2014 年 10 月 9 日, Cable Beach, Broome, Australia.
- Kikuchi, A. The EMBO conference on 30 Years of Wnt Signalling 「Formation of epithelial branched tubules by Wnt and EGF in three-dimensional culture」 2012 年 6 月 28 日, Egmond aan Zee, Netherlands.

一般向けアウトリーチ活動 (19 件) 代表例を示す。

- 永樂 日本動物学会関東支部公開講演会「多様な生命現象の分子・遺伝子基盤～生物教科書の新たなトピックについて研究者が語る～」 東京、2014 年 8 月 25 日
- 池内 未来の科学者委員／理学部の高大連携事業「エクセレント スチューデント イン サイエンス育成プロジェクト」福岡、2014 年 12 月
- 佐邊 がんになりにくい体をつくる会「健康セミナー」大阪、2013 年 4 月 6 日
- 鈴木(淳) 第 10 回国際幹細胞学会年次大会記念コラボレーション授業「細胞運命の直接転換 ～皮膚から肝臓をつくる～」 横浜、横浜市立横浜サイエンスフロンティア高等学校、2012 年 3 月 24 日
- 鈴木(聡) 市民公開講座 がんはどうしておこるのか？ 九大伊都キャンパス 2012 年 5 月 13 日

7. 研究組織（公募研究を含む。）と各研究項目の連携状況（2 ページ以内）

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、総括班研究課題の活動状況も含め、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。

研究組織と各研究項目との関係

本領域の基本的な戦略は、幹細胞生物学、生化学、細胞生物学、発生生物学、腫瘍生物学など様々な分野の研究者が集まり、新たな研究領域を築き、上皮管腔組織の形成・維持と破綻の分子機構を解明することである。計画研究では、液性因子と接着によるシグナルが細胞極性を制御するという視点で研究を行い、組織幹細胞から上皮管腔組織を形成する分子機構を明らかにすることを目指した。個体における組織構築の過程では、形成と維持が巧みに制御され、その制御機構が破綻すれば正常組織は構築・維持できず、異常組織となり疾患に至ると考えられる。したがって、上皮管腔組織の「形成・維持」の機構の理解は、「破綻」の機構の理解に通じ、逆に「破綻」の機構の理解が「形成・維持」の機構の理解に通じるので、両者の視点からの解析を平行して進めることが上皮管腔組織形成の分子基盤を包括的に理解するために必要不可欠である。このような理由から、研究項目 A01「上皮管腔組織の形成・維持」と A02「上皮管腔組織の破綻」を設定した（図4）。A01 では、組織幹細胞の維持と前駆細胞からの上皮細胞への分化を経て、上皮シートや上皮組織原基が形成され、さらにそれらから上皮管腔組織が形成・維持される過程を対象とした。A02 では、上皮管腔組織の発生期における形成不全または、形成後の維持の破綻による異常の過程を対象として、上皮細胞の脱極性や接着異常により引き起こされる病態の分子機構の解明を目指した。また、研究項目 A01 との連携により、分岐形成などの正常上皮管腔組織形成に関与する上皮間葉転換(EMT)と癌の浸潤・転移に関与する病的 EMT の分子機構との共通点と相違点を明らかにした。公募研究では、審査委員会並びに中間評価委員会からの意見を参考にして、幹細胞から器官形成を目指す研究者や新規技術の開発を目指す研究者、数理モデル研究者を加えた。具体的な計画研究班と公募研究班の内容は図4の通りである。

研究組織間の連携状況

図5に示した如く、この5年間に研究項目内、研究項目間で数多くの連携が行われ、本領域の目的を達成するための重要な成果を得た。ここでは、主として実験手法を介した具体的連携例を挙げる。

新規の手法の開発による上皮管腔組織形成の理解

菊池—大橋 菊池が確立した管腔構造を高効率で作製できるラット腸上皮 IEC6 細胞を用いて、大橋が蛍光タンパク質を付加した極性タンパク質とアクチンを恒常的に発現させた細胞株を樹立し、その動態を3次元タイムラプス解析する方法を確立した。

大橋—佐々木 大橋が同定したメカノストレス応答に関与する Solo について、佐々木が CRISPR/Cas9 により遺伝子破壊マウス胚を作製し、その胚発生時の上皮組織形成への役割を解析した。

山城—加藤—昆 自家蛍光の影響が少ない近赤外領域で励起する蛍光アクチンプローブを開発し、上皮細胞におけるアクチン単分子観察手法を確立した (Mol Biol Cell, 2014)。また、細胞競合モデルである正常-変異細胞共培養系において、変異細胞突起が基底 (basal) 側にもぐり込んだ正常細胞では、転写調節因子 Yap の核内局在が亢進していることを明らかにした。

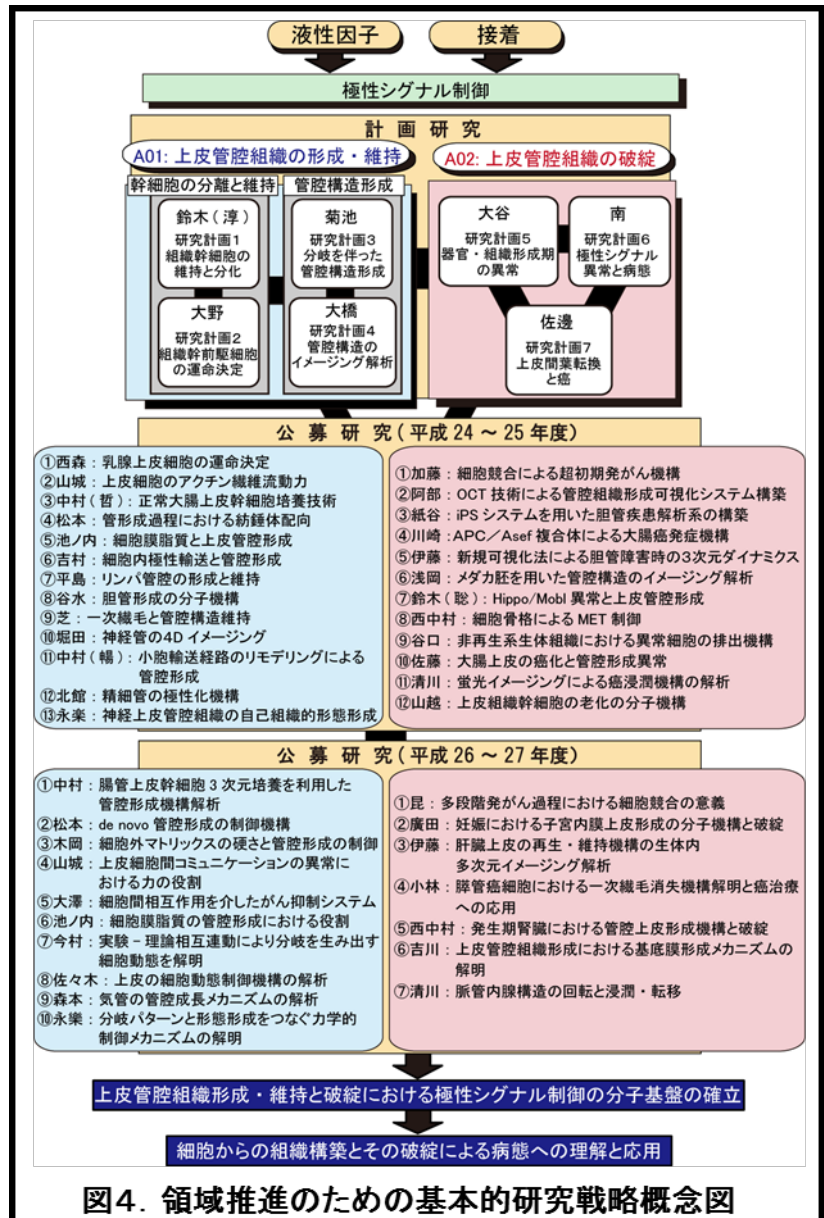


図4. 領域推進のための基本的研究戦略概念図

吉村-佐藤 佐藤が開発した小腸 *in vitro* オルガノイドを用いて、小腸上皮細胞内の極性膜輸送のメカニズムを明らかにした (J Cell Biol, 2016)。

谷水-伊藤 伊藤が確立した成体肝臓における胆管構造可視化の技術や3次元組織観察の技術を用いて、谷水が胎生後期および新生仔以降の発生・成熟過程にあるマウス胆管上皮樹状組織の立体構造の形成過程を明らかにした (Hepatology, 2016)。

池ノ内-昆 昆の細胞競合研究について、池ノ内が脂質のプロープや解析に関する技術提供を行った (J Cell Sci, 2015)

今村-菊池 菊池が明らかにした肺上皮における Wnt 依存的頂側収縮による分岐調節メカニズムを理論生物学的に説明するために、細胞間の力学的相互作用を表現する数理モデルを構築した。このモデルから、細胞形状を変化させる力が、組織の分岐形成を引き起こすことを説明できた (論文投稿中)。

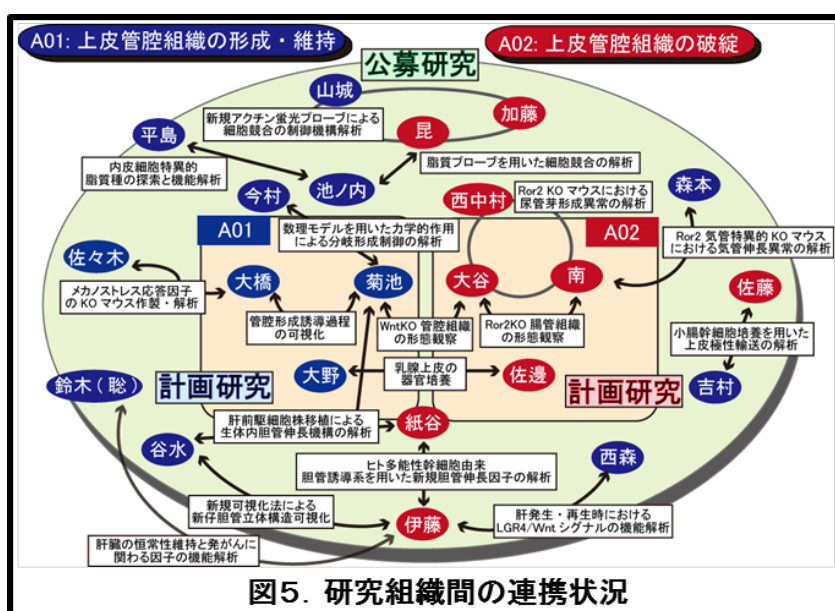


図5. 研究組織間の連携状況

遺伝子改変またはモデル動物の解析による上皮管腔組織形成の理解

菊池-南 南が作製した Ror2 flox マウスを用いて、菊池が細胞種・組織特異的 Ror2 遺伝子欠失マウスを作製し、DSS 誘導性腸炎モデルマウスの詳細な解析を行い、Wnt5a-Ror2 シグナルが免疫系のシグナル伝達を制御することにより、腸炎を促進することを明らかにした (Sci Rep, 2015)。

大谷-菊池 菊池が作製した Wnt11 KO マウスの消化管各部における内腔、ヒダ、絨毛、陰窩の形態、配置の不整などの上皮管腔構造および平滑筋層の細胞層数の不整など、部位特異的かつ多面的な極性に関わる形態形成異常を明らかにした。

大谷-南 南が作製した Ror2 (Wnt5a 受容体) KO マウスを用いて、大谷が Ror2 の欠失が中腸における核移動 INM の局所的異常をもたらし、部位特異的な奇形に繋がることを見出した。また、南が見出した骨肉腫細胞などの癌細胞における IFT20 を介するゴルジ体の構造(ゴルジミニスタック構造、ゴルジリボン構造)制御機構を、大谷が透過型電子顕微鏡を用いて確認した。

南-西中村-大谷 南が作製した Wnt5a 及び Ror2 の KO マウスと HoxB7-EGFP トランスジェニックマウスの交配を行い、西中村、大谷が行ったウォルフ管(上皮組織)または尿管芽上皮細胞のトレース実験により、マウス個体における重複尿管を反映する異所性尿管芽の形成を再現することに成功した (Mol Cell Biol, 2014)。

平島-池ノ内 内皮細胞に特異的に発現する脂質分子種の探索と脂質分子が管腔形成に与える影響を明らかにするために、ES 細胞および平島が分化誘導して得た内皮細胞の脂質組成を池ノ内が解析した。ES 細胞は特徴的な脂質分子種を有する可能性が示された。

伊藤-紙谷 伊藤は、障害肝に発現する新規胆管伸長因子を見出すために、四塩化炭素の頻回投与により障害を誘導したマウス肝臓の中心静脈および門脈領域の細胞をレーザーマイクロダイセクション法により回収し、網羅的遺伝子発現解析により誘引因子の探索を行った。得られた候補因子の活性を、紙谷が構築したヒト多能性幹細胞由来の胆管構造培養系を用いて解析した。

西森-伊藤 LGR4 に近縁の LGR5 を発現する細胞が肝臓損傷時に肝幹細胞として機能すると報告された。西森が樹立した LGR4 flox マウスの供与を受け、伊藤が成体の胆管および胎児期の胆管前駆細胞で Cre を発現する種々のマウス系統との交配を行った。胆管系を中心に、肝発生・再生時における LGR4/Wnt シグナル系の機能解析を現在進めている。

谷水-紙谷-菊池 谷水が確立したマウス胎仔肝由来の肝前駆細胞株の胆管系への培養誘導技術を用いて、紙谷、菊池が Wnt5a シグナルの肝前駆細胞の肝細胞・胆管細胞への分化運命決定のメカニズムを明らかにした (Hepatology, 2013)。また、紙谷が作製した肝前駆細胞より派生する細胞(成熟肝細胞および胆管細胞)を選択的に障害できるマウスを用いて、谷水がマウス胎仔肝由来の肝前駆細胞株を移植することにより、生体内で胆管上皮細胞へと分化誘導する系を確立した。

森本-南 南が作製した Ror2 flox マウスを用いて、森本が気管の特異的な Ror2 KO マウスを作製して、間充織の Wnt5a-Ror2 シグナルが細胞の配向性を制御し、気管の頭尾軸方向の伸長を制御することを明らかにした。

鈴木(聡)-伊藤 MOB1A/1B は Hippo 経路のコアコンポーネントの一つである。伊藤の協力の下、鈴木は肝臓における MOB1A/1B の機能解析を行い、MOB1A/1B が肝臓の恒常性の維持に重要であること、肝内胆管癌および混合型肝癌の発症の一因であること、さらに Hippo 経路を標的する天然化合物イベルメクチンがこれらの癌の治療薬として奏功する可能性があることを示した (PNAS, 2016)。

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 ページ以内）

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記述してください（総括班における設備共用等への取組の状況を含む。）。

本領域における高度技術について、その技術を領域内の研究者が利用できるための仕組みとして、技術講習会を4回開催して、そのために必要な実験試料、装置、参加者の旅費等を総括班が負担することにより、効率的な技術習得に寄与した。

第1回技術講習会（平成24年2月22日～24日、島根大学・医学部、担当大谷） 「Exo utero法による胚操作法」

購入備品 技能習得支援のための全体・細部手技撮影用カメラおよび比較動画ソフトをインストールしたパソコン

本備品は、子宮外発生法の技術講習会の開催後、同様に修練を必要とする各種技術の領域内共有を促進する目的で購入された。熟練実験者の手技と初心者や修練中実験者の手技の動画を並置して詳細に比較することにより、正確かつ迅速に技術を習得・改善できる技術習得支援ツールである。これを用いて子宮外発生法について、教室内の熟練者による一連の実験を標準手技動画として撮影し、新入大学院生による試行の動画と比較した。さらに簡易版手技マニュアルを作成し、同法の概要および同ツールの概要と利点について大谷の教室HPに掲載した。本備品は、子宮外発生法導入のため修練を希望する領域内研究室で活用された。

第2回技術講習会（平成24年10月10日、発生・再生科学総合研究センター（神戸研究所）、担当鈴木（淳）） 「細胞分離技術」

本講習では、細胞分離用の機器全般に共通する基本原理や操作方を日本BDサイエンス社が説明するとともに、実際の機器を用いながら実習を行った。本技術講習で配布した資料は、数多くの機種が存在する細胞分離用機器に共通した基盤情報となっており、領域内研究者がそれぞれの研究機関で所有する細胞分離用機器を使用する際に参考となる共有資料として活用された。

第3回技術講習会（平成25年11月20日、神戸大学医学系研究科、担当南） 「メタボローム・プロテオーム解析」

上皮管腔組織や構成する細胞集団の機能を知る上で、組織や細胞集団の代謝特性を明らかにすることは重要であり、そのためにガスクロマトグラフィ質量分析（GC/MS）による脂肪酸、アミノ酸、有機酸、糖などの代謝プロファイリングやタンデムマス（MS/MS）を用いた構造解析は代謝産物の同定に有用である。そこで本講習では、GC/MSを用いたメタボローム・プロテオーム解析のための試料作製・分析及び取得データの解析法についてのプロトコルを提示するとともに、実技講習を行った。

第4回技術講習会（平成26年8月21日～22日、東北大学大学院生命科学系研究科、担当大橋） 「イメージング技術」

上皮管腔形成過程の素過程を解析するために用いられるイメージング技術は、細胞内の微細構造の解析から組織の形状を計測するマルチスケールの技術が求められる。さらに、管腔形成過程の細胞の動きを追跡するタイムラプスイメージング技術も強力な解析技術となる。本講習では、観察試料の作成から超解像顕微鏡を用いた中心体、一次繊毛、細胞骨格の観察、3次元蛍光顕微鏡を用いた肝臓上皮組織構造の観察、また、共焦点顕微鏡を用いた生細胞の蛍光タイムラプス解析について実機を使い実習を行った。さらに、得られた画像は画像解析ソフトを用いて3次元画像の構築を行い、試料作製からデータ解析までの一連の過程を講習した。本技術講習会で配布した資料は、これらのイメージング技術の基礎技術を網羅し、領域内の研究者の各々の研究の推進に参考資料として活用された。

・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
23	生細胞観察装置バイオステーション	ニコンインステック社製	1	20,968,999	20,968,999	横浜市立大学
	ハイブリット共焦点追加ユニット	ニコン社製 A1R-UNIT-SP1	1	13,954,500	13,954,500	北海道大学
	BD TM "FACSJazz"	FIRST EDITION INSTRUMENT 社製	1	13,387,500	13,387,500	九州大学
	オールインワン蛍光顕微鏡	キーエンス社製・ BZ-9000	1	9,992,850	9,992,850	大阪大学
	AKTA purifier UPC 10 ベースシステム	GE ヘルスケア社製 (Frac-950 と PC セットを含む)	1	5,314,050	5,314,050	東北大学
	小型超遠心機	日立工機社製・ CS150GXII	1	4,706,000	4,706,000	東京大学
24	顕微鏡用電動ステージおよびコントロールシステム	米国マイクロブライトフィールド社製	1	4,034,362	4,034,362	島根大学
25	オールインワン蛍光顕微鏡	キーエンス社製・ BZ-X700	1	4,747,050	4,747,050	神戸大学
26	共焦点レーザー顕微鏡	カールツァイス社製・Axio Observer. Z1	1	24,019,200	24,019,200	大阪大学
27	LSM880 405nm レーザーアップグレード	カールツァイス社製	1	5,778,000	5,778,000	大阪大学

(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23年度】

・旅費
総括班 第1回領域会議 423,850円；第2回領域会議 2,131,770円；第1回技術講習会 615,340円
・人件費・謝金
総括班 領域事務担当者人件費・謝金 492,839円
菊池 特任研究員人件費 5,890,116円
大谷 謝金1名(6か月) 427,000円 遺伝子発現解析；謝金1名(5か月) 361,000円 上皮管腔組織の解析
佐邊 謝金1名(3か月) 570,000円
・その他
菊池 受託解析費 4,874,100円 遺伝子発現解析；機器修理代 1,341,207円
大橋 光学顕微鏡の修理、共通機器(共焦点顕微鏡)使用料 2,375,554円
大谷 共焦点レーザー顕微鏡レーザー交換 2,908,500円 上皮管腔組織の解析
佐邊 3D-GENE受託解析 MIRNAチップ 900,000円 TP53変異によって変化するゲノム状態を捕らえる為の解析；動物実験施設使用料 840,000円(6か月)；遺伝子発現解析 820,000円

【平成24年度】

・旅費
総括班 第3回領域会議 138,020円；第2回技術講習会 201,110円；第4回代表者会議 193,370円
・人件費・謝金
総括班 領域事務担当者人件費・謝金 1,406,112円
菊池 特任助教・特任研究員人件費(2人) 8,203,450円 本研究課題の推進
大橋 博士研究員人件費 3,483,621円 本研究課題の推進
大谷 人件費1名(11か月) 961,125円 上皮管腔組織の解析補助 謝金1名(12か月) 787,000円 上皮管腔組織の解析；謝金1名 785,000円 上皮管腔組織の解析；謝金1名(6か月) 434,000円 上皮管腔組織の解析
佐邊 技術補助員人件費 7,000,000円(2人×9か月) 本研究課題の推進
・その他
大橋 光学顕微鏡の修理、共通機器(共焦点顕微鏡)使用料 2,107,569円
佐邊 動物実験施設使用料 1,400,000円(10か月)

【平成25年度】

・旅費
総括班 第1回国際シンポジウム 2,572,152円；第1回 Tubulology 旅費 70,590円；第6回領域会議旅費 219,230円
・人件費・謝金
総括班 領域事務担当者人件費・謝金 1,415,082円
鈴木(淳) 特任研究員人件費 6,768,082円 本研究課題の推進
菊池 特任助教・特任研究員人件費(2人) 9,209,415円 本研究課題の推進
大橋 博士研究員人件費 5,547,189円 本研究課題の推進のため
大谷 人件費1名(11か月) 965,083円 上皮管腔組織の解析補助；実験補助者謝金 900,000円 上皮管腔組織の解析；謝金1名(12か月) 425,000円 上皮管腔組織の解析
佐邊 特任講師人件費(8か月) 3,570,000円；技術補助員人件費(7か月) 2,600,000円 本研究課題の推進
・その他
大橋 共通機器(共焦点顕微鏡)使用料 1,362,740円
大谷 共焦点レーザー顕微鏡レーザー交換費(カールツァイス LSM5 Pacal) 1,296,540円 上皮管腔組織の解析
佐邊 共焦点レーザー顕微鏡保守契約 210,000円 上皮管腔組織の解析用顕微鏡の保守契約；動物実験施設使用料(11か月) 1,870,000円；遺伝子発現解析・免疫標本作成 1,300,000円 成果取りまとめ段階としての病理標本解析

【平成26年度】

・旅費
総括班 第4回領域会議 460,320円；Tubulology 若手研究会旅費 146,700円；第3回若手進捗状況報告会・第8回代表者 254,640円
佐邊 2014年8月12日～15日国際会議「Mechanisms & Models of Cancer」(米国)に参加(2人) 1,300,000円 研究成果発表
・人件費・謝金

総括班 領域事務担当者人件費・謝金 1,406,274 円
鈴木(淳) 特任研究員人件費 6,011,115 円 本研究課題の推進
菊池 特任助教・TA 人件費(2人) 7,754,126 円 本研究課題の推進
大橋 研究支援者人件費 1,121,483 円 本研究課題の推進
大谷 技術補助者人件費(11か月)、952,718 円 上皮管腔組織の解析補助、実験補助者謝金 779,000 円
上皮管腔組織の解析；技術補助者謝金(1か月) 70,000 円 上皮管腔組織の解析
佐邊 特任講師人件費(6か月) 3,600,000 円 特任講師雇用；特任准教授人件費(6か月) 279 万 当
研究室准教授の任期切れのために本研究費雇用による特任准教授として雇用；技術補助員(10か月)
2,000,000 円
・その他
菊池 動物実験施設利用料 2,241,424 円
大橋 共通機器(共焦点顕微鏡)使用料 555,614 円
大谷 Amira 及び Quantification + Option ソフトウェア 1,285,200 円 上皮管腔組織の解析用ソフト
ウェアと共焦点レーザー顕微鏡保守契約
佐邊 動物実験施設使用料(6ヶ月) 1,080,000 円；遺伝子発現解析・免疫標本作成 450,000 円 成果
取りまとめ段階としての病理標本解析

【平成27年度】

・旅費
総括班 第2回国際シンポジウム 4,198,844 円
・人件費・謝金
総括班 領域事務担当者人件費・謝金 1,375,672 円
鈴木(淳) 特任研究員人件費 5,055,617 円 本研究課題の推進
菊池 特任助教・特任研究員人件費(2人) 7,385,128 円 本研究課題の推進
大橋 研究支援者人件費 1,568,620 円 本研究課題の推進
大谷 人件費1名(11か月) 953,562 円 上皮管腔組織の解析補助；謝金1名(11か月)、735,000 円 上
皮管腔組織の解析
佐邊 特任准教授人件費 9,600,000 円 当研究室准教授の任期切れのため、本研究費雇用による特任准
教授として雇用；技術補助員人件費(2人) 5,000,000 円
・その他
菊池 動物実験施設利用料 3,723,865 円
大橋 共通機器(共焦点顕微鏡)使用料 2,023,228 円
大谷 オールインワン蛍光顕微鏡賃貸借料 1,036,800 円 上皮管腔組織の解析用顕微鏡の賃貸借料
佐邊 動物実験施設使用料 2,420,000 円

(3) 最終年度(平成27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。

大野

平成27年5月に、aPKC制御因子のK0マウスのラインの掛け合わせの頻度が低いことが判明した。原因を調査した結果、頻度は低いが可能であることが判明したので、全体の計画を6ヶ月遅らせて、当初計画通りに進めることとした。結果として、全体の予定がずれ込むこととなった。他の実験は予定通りに進んでおり、最終的に全体の結果を照合して結果を取りまとめることになるので、当初の研究室計画の達成には支障がない。

9. 当該学問分野及び関連学問分野への貢献度（1ページ以内）

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。

幹細胞分野において、**鈴木（淳）**の研究により、肝臓の発生、再生、疾患のメカニズムを統合的に解析することで、肝臓学全体に対する知見を蓄積し、それらの理解を深めることができた（Nature, 2011; J Clin Invest, 2012; Hepatology 2015）。得られた知見や技術は、今後の再生医療の進展や新しい癌治療技術の開発に向け、その貢献が期待される。特に、肝臓における組織幹細胞の維持や分化決定を制御する分子機構の解明は、基礎生物学から医療分野に至るまで、国内外で高い評価を受けており、多能性幹細胞から肝臓細胞を分化誘導する研究にも活用されている。**大野**の乳腺幹細胞研究では、aPKCを中心とする細胞極性因子の幹細胞・前駆細胞に置ける役割の解析（Curr Biol, 2011; J Cell Sci, 2015）と、その制御機構の解析を通じて、細胞極性タンパク質の新たな側面が明らかになった。例えば、発生過程において、着床前の Hippo シグナル系の局在にも関与することを明らかにした（Curr Biol, 2013）。また、国際共同研究を通して、aPKC 上皮組織のみならず血液組織の T 細胞の非対称分裂への関与を明らかにした（Sci Rep, 2016）。**中村**は、体外培養で増やした大腸上皮幹細胞の移植により大腸上皮再生が可能であること、そしてこれにより大腸潰瘍の修復が可能であることを世界で初めて示した（Nat Med, 2012）。また、胎生期小腸上皮由来の培養細胞も成体マウス大腸へ移植可能であること、およびこの際には生着細胞が一部大腸上皮形質を獲得する「可塑性」をもつことを明らかにした（Cell Stem Cell, 2013）。成体小腸上皮由来細胞を生体大腸へ異所移植することにも成功し、成体小腸上皮が大腸という異所においても小腸上皮形質を保持することを明らかにした。これらの成果は、発生後期から生直後期までに固定化する小腸上皮内因性の部位特異性決定機構の存在を示すとともに、組織幹細胞を用いる腸管再生医療の可能性を示すものとして注目を集めた。

形態形成分野においては、培養上皮や腎臓原基を用いた種々の 3 次元培養法が開発され、器官が完成していく過程において、上皮の“形作り”と“分化・機能獲得”の二つの過程の相関や共通の制御機構についても言及できるようになった。**菊池**は、唾液腺を用いた解析から、Wnt と KIT シグナルの活性化バランスが器官形成を通して変化することが、形態形成と機能的分化の両過程の時間的な制御に重要であることを明らかにし、発生学に新たな視点をもたらした（Development 2016）。**菊池**が開発した無血清培地下での尿管形成法（EMBO J, 2014）と、**西中村**が開発した ES/iPS 細胞からの糸球体誘導法とを、将来的に融合させることが可能となり、機能を有した形のある腎臓の作製への応用が期待されるようになった。**伊藤**と**谷水**は共同で胆管形態形成の全過程を 3 次元的に詳細に明らかにすることに成功した（Hepatology, 2016）。胆管上皮細胞の運命決定、上皮細胞極性の形成、管腔の連続性の構築、肝細胞との連絡の成立、成熟胆管構造への再構成等の一連の過程と制御機構を明らかにしたことで、今後、遺伝性の胆管形成異常等の種々の疾患の発症機序の解明への波及効果が期待された。

悪性腫瘍の 80%~90%は上皮組織由来であり、本領域の研究成果は**癌分野**の進展にも貢献した。例えば、**佐藤**は、ゲノム編集技術により、APC、KRAS、SMAD4、TP53、PIK3CA の 5 つの遺伝子変異をヒト正常大腸上皮オルガノイドに導入しても腫瘍化は認めないものの、浸潤能・転移能を有する大腸癌には悪性転化しないが、大腸腺腫由来のオルガノイドへの遺伝子変異導入により転移性大腸癌に進展することを示した（Nat Med, 2015）。これは世界で初めてヒト上皮細胞を用いた人工大腸癌モデルとなった。**菊池**は、3 次元培養下での上皮形態に重要な因子として見出した Arl14c や Dkk-CKAP4 シグナル系の過剰活性化が癌と関連することを示し（Oncogene, 2015; J Clin Invest, 2016）、抗 CKAP4 抗体による癌治療法の開発に関する論文は掲載紙 J Clin Invest の” Highlighted Research” に取り上げられた。これらの成果は、管腔形成/Tubulogenesis と腫瘍形成/Tumorigenesis を共通性から、これまでに注目されていない新たな癌分子標的を同定できる可能性を示した。事実、Arl14c と CKAP4 を標的とした新規のがん治療薬の開発が AMED からの支援により開始された。**佐邊**は、癌細胞の上皮間葉転換を解析する過程で、乳癌細胞において prenylation を受けない small-GTPase Arf6 がメバロン酸経路の標的であることを発見した（J Cell Biol, 2016）。Arf6 経路因子群が高発現することが、メバロン酸経路阻害感受性癌となり、スタチン等の既存薬が新たな抗癌剤となる可能性を示し、掲載誌 J Cell Biol の” In Focus” に取り上げられた。また、腎臓細胞癌において、LPA が Arf6 を直接活性化し、浸潤転移と薬剤耐性を促進することを解明し、今まで不明であった腎臓細胞癌の主たる悪性度促進因子と悪性度進展分子機構を明らかにした（Nat Commun, 2016）。このように、本領域の研究成果は多方面にわたってインパクトを与え、学術の進展に貢献したと判断している。

10. 研究計画に参画した若手研究者の成長の状況（1 ページ以内）

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。

※研究代表者・研究分担者・連携研究者・研究協力者として参画した若手研究者を指します。

研究領域内での若手研究者育成の取組み

総括班に若手担当（大野）を設けて、若手研究者の育成については下記の取組を行った。

1. 領域会議

第2回、第3回領域会議では、若手研究者が中心となり立案し約100名が参加し、若手研究者による発表を中心に行なった。

2. 若手共同研究助成

45歳以下の公募研究代表者を対象として、本領域内での若手研究者間（原則2人）での共同研究の提案を募集した。計画研究代表者による評価で、下記の5件の共同研究提案が採択され、それぞれに予算100万円ずつ（50万円/1研究者）を支給した。平成24年度 課題1 平島、池ノ内「細胞膜脂質がリンパ管腔形成において果たす役割」 課題2 加藤、山城「上皮細胞競合における細胞骨格・細胞接着ダイナミクスの可視化解析」 平成25年度 課題1 平島、池ノ内「細胞膜脂質がリンパ管腔形成において果たす役割」 課題2 堀田、永楽「上皮細胞競合における細胞骨格・接着斑ダイナミクスの可視化解析」 平成26年度 課題1 山城、昆「上皮細胞競合における細胞骨格・細胞接着ダイナミクスの可視化解析」これらの研究課題の進捗状況を把握し適切な助言を行うために、それぞれの年度末に研究進捗報告会を行った。

3. 若手主催研究会

45歳以下の公募研究代表者を対象として、本領域内での若手研究者によるワークショップ企画の提案を募集した。計画研究代表者による評価が行われ下記の企画が選出された。

第1回企画者 伊藤、紙谷 テーマ「肝臓における管腔構造と実質細胞の相互作用」、平成25年8月25日 東京大学・弥生キャンパス・中島董一郎記念ホール

第2回企画者 小林 テーマ「*in vitro*培養系を用いた上皮管腔構造の解析検討会」平成26年11月28日 FUKURACIA 浜松町

4. 国際シンポジウム

2回の国際会議を開催して、若手研究者全員がポスター発表を行い、その中から総括班員の推薦により、5名ずつが口頭発表を行った。

5. がん研究分野の特性等を踏まえた支援活動との連携

平成24年度と平成27年度の「がん研究分野の特性等を踏まえた支援活動」公開シンポジウムに、若手公募研究代表者5名がポスター発表し、活発な議論を行った。

若手研究者(各年度末39歳以下)の研究終了後の動向

7計画研究班における若手研究者の就職先は下記の通りである(公募研究班も含めた詳細は様式1-2(5)に記載している)。

博士課程修了者→企業・海外「研究職」(7名)、ポスドク(3名)、教員(2名)

若手研究者(ポスドク、特任助教等)→企業・海外「研究職」(1名)、教員(6名)

特筆すべきは、鈴木淳史(九州大学生体防御医学研究所准教授当時38歳)が平成25年4月に同研究所教授に昇任したことである。他の例としては、木村公一(大阪大学医学系研究科大学院生)は同研究科特任助教に、松本真司(大阪大学医学系研究科特任助教)は同研究科助教に、梶紀子(東北大学生命機能研究科博士研究員)は奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科の助教に、真嶋幸一(東京大学医科学研究所博士研究員)は秋田大学医学部助教に、山城佐和子(東北大学医学系研究科博士研究員)は京都大学医学系研究科助教に採用された。また、大学院学生3名が日本学術振興会特別研究員(DC2)に採択された。

39歳以上の人事案件ではあるが、平井秀一(横浜市立大学医学系研究科准教授)は和歌山県立医科大学教授に、中村哲也(東京医科歯科大学消化管先端治療学講座(寄附講座)講師)は同講座教授に、小根山千歳(大阪大学医学系研究科特任准教授)は愛知県がんセンター研究所研究部長に、秋本和憲(横浜市立大学医学系研究科助教)は東京理科大学大学院薬学研究科独立准教授に採用され、独自の研究室を得た。また、伊藤暢(東京大学分子細胞生物学研究所 助教)は同研究所准教授に、谷水直樹(札幌医科大学 医学部附属フロンティア医学研究所 講師)は同研究所准教授に、紙谷聡英(東海大学 創造科学技術研究機構の特任准教授)は同機構准教授に昇任した。

このように、本領域に参画した研究者は順調にキャリアを形成していると判断される。

11. 総括班評価者による評価（2ページ以内）

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。

竹縄忠臣(神戸大学医学系研究科・特命教授)

上皮細胞の管腔形成は様々な組織や器官の形作りの第一歩であり、その機序解明は組織、器官形成という生物学的に極めて重要な現象の解明につながる。今日個々の上皮細胞の極性形成のメカニズムや細胞接着の制御機序などについてはかなり明らかになってきた。しかしそれらを統合して管腔形成や組織形成へ至る機序はあまり分かっていなかった。そういう意味で本新学術領域「上皮管腔組織の形成維持と破綻における極性シグナル制御の分子基盤の確立」が平成23年度に発足したのはタイムリーであった。

ここ5年間の研究で成し得たこととして、特筆できるのは正常な器官発生を行うには組織幹細胞の増殖や分化によって、必要な時に必要なだけ上皮細胞が供給されるシステムにWntシグナルが重要であることを解明し、その下流因子としてTbx3やAr14cやP2Y2Rなどを同定し、それらを介して組織特異的な管腔形成が行われることを解明した。このような研究からWntによる同一の液性因子シグナルという臓器ごとの制御の共通性と異なる標的遺伝子を介する独立した機能制御という臓器ごとの相違の機序を解明できた。一方で、Wnt11, Wnt5a, Ror2のKOマウスで生じる腸管形態形成異常にINM(interkinetic nuclear migration)が関与し、INMの異常が形態形成異常に関わっていることやPCPシグナル異常が腎臓や尿管の奇形を起こすことなども解明した。

これらの研究成果は管腔形成に関与する膨大なシグナル伝達の一部を解明したことになるのかもしれないが、Wntを中心とした管腔形成の基本的なシグナル伝達系を明らかにしたことは高く評価できる。当初に目的とした「異なる学問分野の研究者が違う視点や手法を持って共同研究を行い、研究領域の発展を目指す」に関してはお互いに多くの班員同士が共同研究をして、一グループだけの研究では生まれなかったような成果を数多く出し、この試みは成功したと言える。若手の育成についても次世代に活躍する多くの若手の研究者を育て、独立した研究者として世に送り出している。

本多久夫(神戸大学医学系研究科・客員教授)

本領域の研究目的は「上皮管腔組織の形成が極性シグナルなどシグナルの制御によりなされている」を明らかにすることである。この研究内容は上皮管腔組織の維持の機構や、それが破綻したことによる疾患にもつながる。このように研究全体は広範囲におよぶから本領域でなされたことは多岐にわたる。この多くは高く評価されるものであった。しかしこの事後評価ではこれらの成果には言及せずに本題に立ち返り、管腔組織の形成メカニズムがどのように解明されたかに注目したい。ここにシグナルの制御が大きく関与していることは予想されていたことであるが、いくつかのシグナルが驚くべき緻密さで互いに連携し一つのストーリーをつくっていたことが明らかになった。この点で本領域の目的の主要なところは達成されたと考える。

上皮細胞が集まって内腔をアピカル側とする小胞(シスト)が作られることは周知の事実である。この小胞が管状に伸びたり枝分かれしたりする機構が謎であった。小胞はWntとEGFシグナル環境下で細胞増殖を起こし、低分子量Gタンパク質Ar14cおよびP2Y2receptorを発現する。Ar14cは細胞内でRac活性を高め、またRho活性を抑えて細胞が動き、柔らかくなり、変形できるようにする。増殖でできた突起の先端の細胞はこれにより大きくなり、大きくなったことでHippo系のYAPが核内に入り細胞は増殖する。こうしてAr14cが働くことにより細胞が柔軟になり局所的な細胞増殖がおこって空胞は管になりまた枝分かれするのである。またWntとEGFシグナル環境下でできたP2Y2receptorは、インテグリンを介し細胞外基質との接着を変化させ、空胞の変形すなわち管腔形成を起こしやすくする。このようにいくつかのシグナルの制御が絡み合っ

らかになった。ここで重要な働きをした Arl4c が癌疾患でも大きな働きをすることが示された。

もう一つ注目したいことは、上皮組織形成と力との関係である。形態形成は細胞の具体的な並び替えであるから力を伴うはずであるが、細胞が力をシグナルと感知して反応する現象はこれまで研究が少なかった。力に反応する血管内皮細胞での Rho-GEF が探索され、その中の一つに Solo があり、これと結合するタンパク質に中間径フィラメントであるケラチン 8/18 繊維と結合するものが見つかった。中間径フィラメントは細胞骨格として古くから知られ、力に関与すると想像されながら詳しい研究は後回しになっていた。細胞が力を感知すること、そこに中間径フィラメントが関与していることがわかり、これまで重要とは考えられながら手つかずであった分野に研究のきっかけができた。

具体例としては以上 2 件を取りあげたが、本領域で出た成果はこれからの上皮組織研究に大きな寄与をなすものがたくさんあると考えている。今後、この新学術領域研究上皮管腔組織形成が実施されたから進んだという例が続出するだろう。領域内での連携状況、若手研究者の育成、総括班の企画・運営・活動状況などについては中間評価の時に述べた通りのことがその後も継続され良好であった。

宮島篤(東京大学分子細胞生物学研究所・教授)

上皮管腔組織は肺や肝臓、腎臓などの器官の構築には必須の構造であり、本研究領域は、器官の正常な形成およびその破綻を管腔構造という視点から解析した。上皮管腔組織の形成・維持・破綻の分子機構の解明を目指して、幹細胞学、生化学、細胞生物学、発生生物学、腫瘍生物学等の異なる分野の研究者の有機的な連携により研究が進められた。(i) 組織幹細胞の維持と幹前駆細胞からの上皮細胞への分化の機構と(ii) 上皮細胞から管腔組織形成・維持への機構を解明するとともに、(iii) 上皮管腔組織の形成・維持の過程が破綻した場合に生じる種々の奇形や疾患発症の機構を解明することが必要であることから、2つの研究項目を設定し、計画班員として、組織幹細胞の分離、3次元培養法、機能解析法、イメージング解析法などの技術を有する研究者に加えて、上皮管腔組織の破綻に伴う疾患を扱う研究者を集めた。さらに、公募班員として42名(前半25名、後半17名)の上皮管腔形成のみならず、神経や血管系、3次元培養やイメージングなど管腔形成に関与する研究者を幅広く採用しており、バランスのよい配置になっている。一方、本領域に限らず他の領域においても感じられることであるが、公募班員の入れ替えの合理性にはやや疑問が残る。現在の公募班員の選考では、外部評価委員の意見が強く反映されるようだが、基本的には領域代表を中心とする計画班/総括班の意向が尊重されるべきではないかと思う。

上皮管腔組織の形成と維持に関与する細胞内外のシグナル分子および転写因子による臓器の遺伝子発現を介する発生や再生、そして疾患のメカニズムについての解析が進み、数多くの成果が発表された。管腔形成が器官形成に極めて重要であることは論を待たないが、本領域では、さらにそれに関連する多くの分野を「管腔学」という形に統合した研究領域へと発展させた。そのために、領域代表の強力なリーダーシップの下に、技術講習会の開催など技術や情報の共有化を図るなど交流を積極的に行われ、領域内での共同研究が活発に行われており、優れた多くの研究成果に反映されている。発表された論文の質と量が示すように、当初の目標であった管腔形成の組織幹細胞から疾患までの理解が大きく進展しており目標は十分達成されたといえる。また、本領域に関わった若手研究者の活躍は顕著であり、本領域が若手研究者のキャリアアップに寄与したことは高く評価できる。