

領域略称名：酸素生物学

領域番号：3602

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)」に係る中間評価報告書

「(研究領域名) 酸素を基軸とする生命の新たな統合的理解」

(領域設定期間)

平成26年度～平成30年度

平成28年6月

領域代表者 (京都大学・工学研究科・教授・森 泰生)

目 次

研究領域全体に係る事項

1. 研究領域の目的及び概要	6
2. 研究の進展状況	8
3. 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	11
4. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	12
5. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公开发表等）	15
6. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況	20
7. 若手研究者の育成に関する取組状況	22
8. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）	23
9. 総括班評価者による評価	24
10. 今後の研究領域の推進方策	26

研究組織 (総括：総括班，支援：国際活動支援班，計画：総括班及び国際活動支援班以外の計画研究，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	26111001 酸素を基軸とする生命 の新たな統合的理解	平成26年度～ 平成30年度	森 泰生	京都大学・工学研究科・教授	16
Y00 支援	15K21759 国際ネットワークを基 盤とする酸素生物学の 推進	平成27年度～ 平成30年度	森 泰生	京都大学・工学研究科・教授	15
A01 計画	26111002 低酸素ストレスに対す るシステミックな生体 応答機構の解明	平成26年度～ 平成30年度	山本 雅之	東北大学・医学系研究科・教授	2
A01 計画	26111003 低酸素シグナルが拓く 生活習慣病の新しい病 態制御	平成26年度～ 平成30年度	南学 正臣	東京大学・医学部・教授	3
A01 計画	26111004 生体内低酸素ニッチの 形成とその感知・適応に 関する分子生理学的探 究	平成26年度～ 平成30年度	森 泰生	京都大学・工学研究科・教授	6
A01 計画	26111005 腫瘍内低酸素応答を利 用した癌悪性化制御法 の開発	平成26年度～ 平成30年度	井上 正宏	地方独立行政法人大阪府立病院機構 大阪府立成人病センター・研究所・ 総括研究員（生化学部門長）	5
A01 計画	26111006 癌化・老化耐性ハダカデ バナズミをモデルとし た低酸素適応・代謝制御 機構の探求	平成26年度～ 平成30年度	三浦 恭子	北海道大学・遺伝子病制御研究所・ 講師	3
A02 計画	26111007 活性酸素センサー分子 とそのシグナル伝達機 構	平成26年度～ 平成30年度	三木 裕明	大阪大学・微生物病研究所・教授	4
A02 計画	26111008 ポリサルファ代謝系を 介する新しい抗酸化ス トレス制御機構の解明	平成26年度～ 平成30年度	赤池 孝章	東北大学・医学系研究科・教授	6

A02 計画	26111009 活性酸素生成の時空間的制御と細胞機能調節	平成26年度～ 平成30年度	住本 英樹	九州大学・医学研究院・教授	2
A02 計画	26111010 酸素ストレス感受性転写因子ネットワークによる生体内レドックス環境調節機構の解明	平成26年度～ 平成30年度	伊東 健	弘前大学・医学研究科・教授	3
A02 計画	26111011 酸素受容・活性化に伴うリガンドシグナルの生成と制御	平成26年度～ 平成30年度	内田 浩二	名古屋大学・生命農学研究科・教授	5
A03 計画	26111012 酸素生物学的研究に資するイメージングプローブ、ケージド化合物群の創製	平成26年度～ 平成30年度	浦野 泰照	東京大学・薬学研究科・教授	3
計画研究 計 13 件					
A01 公募	15H01393 緑膿菌の低酸素環境適応に関わる酸素高親和性呼吸酵素の機能解析	平成27年度～ 平成28年度	新井 博之	東京大学・農学生命科学研究科・助教	1
A01 公募	15H01396 低酸素応答における転写因子の核輸送制御機構の解明－水酸化酵素PHDの新しい機能－	平成27年度～ 平成28年度	中山 恒	東京医科歯科・難治疾患研究所・准教授	1
A01 公募	15H01397 光合成の酸素パラドクスを統御する低酸素センサー転写制御タンパク質の作動原理	平成27年度～ 平成28年度	藤田 祐一	名古屋大学・生命農学研究科・准教授	3
A01 公募	15H01404 TASK チャネルを標的とする低酸素応答機構に関する研究	平成27年度～ 平成28年度	古谷 和春	大阪大学・医学系研究科・助教	1
A01 公募	15H01405 骨髄内酸素環境が担う骨代謝制御の役割の解明	平成27年度～ 平成28年度	西川 恵三	大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・准教授	1

A01 公募	15H01407 水酸化プロテオーム解析を基軸とした酸素応答システムの統合的理解	平成27年度～ 平成28年度	松本 雅記	九州大学・生体防御医学研究所・准教授	1
A02 公募	15H01391 活性酸素シグナルのユビキチン化を介した新たな制御システムとストレス応答機構の解明	平成27年度～ 平成28年度	松沢 厚	東北大学・薬学研究科・教授	1
A02 公募	15H01392 レドックスシグナル伝達の可逆性担保における活性イオウ分子の役割	平成27年度～ 平成28年度	熊谷 嘉人	筑波大学・医学医療系・教授	3
A02 公募	15H01395 酸素を基軸とする生物リズムの分子基盤に迫る	平成27年度～ 平成28年度	吉種 光	東京大学・理学系研究科・助教	2
A02 公募	15H01398 NADPH オキシダーゼ活性の時空間的定量法の確立	平成27年度～ 平成28年度	吉岡 博文	名古屋大学・生命農学研究科・准教授	2
A02 公募	15H01406 腫瘍壊死因子が産生する活性酸素によるシグナル制御と炎症と発がん	平成27年度～ 平成28年度	鎌田 英明	広島大学・医歯薬学総合研究科・准教授	2
A02 公募	15H01408 ミトコンドリア酸素・カルシウム制御におけるミトフュージン機能の解明	平成27年度～ 平成28年度	今泉 祐治	名古屋市立大学・薬学研究科・教授	3
A02 公募	15H01409 腫瘍関連マクロファージ形成における低酸素及び活性酸素感受性TRPチャネルの関与	平成27年度～ 平成28年度	清水 俊一	帝京平成大学・薬学部・教授	4
A03 公募	15H01401 遺伝子コードされたFRET型酸素バイオセ	平成27年度～ 平成28年度	今村 博臣	京都大学・生命科学研究科・准教授	1

	ンサーの開発				
A03 公募	15H01402 活性酸素種による翻訳後修飾を検出する蛍光バイオセンサー	平成27年度～ 平成28年度	森井 孝	京都大学・エネルギー理工学研究所・教授	1
A03 公募	15H01403 分子標的MRIを基盤とした低酸素・活性酸素種・レドックス活性可視化への挑戦	平成27年度～ 平成28年度	近藤 輝幸	京都大学・先端医工学研究ユニット・教授	1
公募研究 計 16 件					

研究領域全体に係る事項

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 研究の学術的背景

分子状酸素(O₂)は好気性生物の生命維持に必須の物質である。一方、酸素は充足した正常なレベルにあっても、ミトコンドリアや酵素を介して活性酸素種(reactive oxygen species: ROS)などに変換され、生命体に酸化ストレスを与える。しかし、近年、このような旧来の理解を超えて、新発見に基づく新たな観点から酸素の生物学的意義を探究する学術分野が、「**酸素生物学**」として勃興しようとしている。

酸素生物学における第一の新たな観点が、低酸素環境における生体応答である。個体レベルにおいては、酸素不足による障害に生存が脅かされぬよう、呼吸・代謝調節、造血、血管新生等により酸素供給の増加が誘導されることが知られてきた。しかし、最近では、生体内低酸素環境自身がむしろ積極的な意義を有し、能動的に幹細胞の未分化・静止状態の維持、腫瘍悪性化における Warburg 効果を含むエネルギー代謝リモデリングによる細胞機能制御等を導く点が注目され、新たな低酸素応答機構の解明が求められている。これまでに、低酸素応答の鍵となる分子基盤として、プロリンヒドロキシ化酵素 (PHD) による低酸素誘導性転写因子 Hypoxia-inducible factor (HIF) の調節が知られている。しかし、PHD の作用標的や酸素を基質とする PHD 以外のヒドロキシ化酵素は多様で、それらの追究が始まったばかりである。生物個体内においては、酸素分圧が減じた状況下でも構成細胞が機能することが如実に示すように、生体による低酸素環境の活用とその意義の解明は、生命現象を理解する上で極めて重要である。

第二の新たな観点が、酸素や酸素を起源とする ROS や親電子分子種が果たす、シグナル分子としての役割である。即ち、ROS や親電子分子種は単に酸化ストレス原因物質として、生体に障害や病態を誘導するだけでなく、センサータンパク質を介して細胞内シグナル経路を精密に調節する。実際、ROS や親電子分子種が生体リズム形成、神経分化、植物の根毛伸長等、様々な生理的応答を制御する知見が示されつつある。一方、酸化ストレス応答の鍵機構として考えられてきたのが、高感受性のシステイン (Cys) を含むタンパク質 Keap1 による転写因子 Nrf2 の制御を介した、抗酸化・細胞保護系関連遺伝子の発現誘導である。近年、抗酸化 Cys 含有タンパク質 Thioredoxin, Nucleoredoxin, TRP チャネル群等が担う ROS・親電子分子種のセンサー機能や、細胞シグナルのメディエーターとして機能する新たな親電子分子種等、重要な分子的機序が次々と示されている。しかし、これらの知見においては、現象と機構の一部が解明されたに過ぎず、特定の生体内酸素環境にある系全体の理解はなされていない。

このように、酸素に対する生物学的理解は大きな転換を迎えようとしており、新たな学術分野「**酸素生物学**」として広範な生命現象の理解に影響を与えようとしていた。

② 応募時までの研究成果

[酸素応答の分子基盤と意義に関する研究動向] HIF の発見 (Mol. Cell. Biol., 1992) は、「酸素はエネルギー産生のための単なる燃素ではなくシグナル制御分子として機能する」という新概念の最重要基盤をもたらした。HIF の研究は急速に進展し、その活性調節に酸素、Fe²⁺及びβクエン酸回路代謝産物 2-oxoglutarate に依存したヒドロキシ化反応が重要であることが示された。特に、PHD による HIF ヒドロキシ化 (**三浦班の南嶋, Science, 2010**) と、それに引き続くユビキチン・プロテアソーム系を介したタンパク質分解が、正常酸素分圧下での HIF の機能を抑制すると理解されている。しかし、3種類の PHD アイソフォーム (PHD1-3) の機能的分業や HIF 以外の作用標的は未解明であった。また、PHD 以外の酸素を基質とする多様なヒドロキシ化酵素群の酸素応答の観点からの系統的な分子同定と機能解析はなされていなかった。一方、低酸素環境下では HIF が安定化し核内へ移行、エリスロポエチン、血管内皮細胞増殖因子などの低酸素応答遺伝子を転写活性化し、造血や血管新生を介して酸素供給を亢進する。**山本**は世界に先駆け、長い間謎であった腎臓エリスロポエチン産生細胞を発見した (REP 細胞; *PLoS One*, 2011)。このような低酸素への受動的適応に加え、低酸素環境自身が意義を有し、幹細胞の未分化・静止状態の維持、癌細胞悪性化などにおいてエネルギー代謝リモデリングが細胞機能制御において果たす役割が注目され、低酸素応答研究は新展開を見せていた。

急性の (acute) 酸素環境変化への適応における酸素センシングを担う酸素受容器に関しては、Heymans 以来 (1938 年ノーベル賞)、頸動脈小体の圧倒的な優位性が信じられてきた。分子機構に関しては、複数の機構 (一酸化炭素 CO や H₂S の産生酵素、AMP キナーゼ等) を介して、低酸素環境が K⁺チャネル群を閉じることにより膜電位を脱分極させ、頸動脈小体 glomus 細胞からの神経伝達物質の放出を促して中枢へと情報が伝わることにより、呼吸・心機能・血流が増進すると考えられていた。一方、延髄等中枢神経等の酸素受容器におけるセンシング分子機構は未解明であり、また、生体内に偏在するといわれてきた他の酸素受容器

(大動脈小体、神経上皮層等)は未同定であった。しかし、森は迷走神経が酸素受容器として働きうる可能性を示し(Takahashi, *Nature Chem. Biol.*, 2011)、頸動脈小体のドグマへの挑戦の胎動が見られていた。

[ROS・親電子分子種の産生・作用機構と意義に関する研究動向] 「ROS 毒性説」を乗り越えて、ROS や親電子分子種の生物学的意義が注目されるためには、酸素添加酵素の発見(早石, *JBC*, 1957)と、酸素を基質に O₂⁻ 産生を担う Nox 等の内因性レドックス活性種産生機構の発見が決定的な役割を果たした。Nox 群の中でもユニークな恒常的な活性を示す Nox4 は住本が発見した(*JBC*, 2001)。一方、酸素を基質に産生される一酸化窒素(NO)も、血管収縮弛緩を始めとする生理応答に重要な役割を果たしている(*Nature*, 1991)。酸素が ROS シグナルを支配することは言うまでもないが、低酸素環境下のミトコンドリアにおける O₂⁻ 産生も提唱されていた(Schumacker, *PNAS*, 1998)。しかし、その正統性は確立されていなかった。

重要なシグナルメディエーターとして、多彩な親電子物質が同定されつつあった。赤池は一酸化窒素 NO が誘導する cGMP のニトロ化体 8-nitro-cGMP を発見し、それが Cys 残基のグアニル化により H-Ras を活性化し、心筋の早期老化を惹起することを報告した(*Nature Chem. Biol.*, 2007 & 2012)。内田は 30 種以上の親電子物質を同定し、作用アミノ酸残基の同定に成功していた。H₂O₂ による TRPM2 Ca²⁺ 流入チャネルの活性化には、NAD⁺ あるいはその代謝体 ADP ribose が必須であった(森, *Mol. Cell*, 2002; *Nature Med.*, 2008)。

タンパク質の Cys 残基を介した ROS センサー機能と下流シグナル経路の解明には、日本人研究者が先駆的貢献をなしてきた。特に山本、伊東は, Keap1 が ROS や外来異物を含む親電子分子種を Cys 残基を介して感知し、Nrf2 との複合体から解離することにより、抗酸化・解毒系タンパク質遺伝子の転写を活性化することを示した(*Genes Dev.*, 1999)。また、森は NO による Cys nitrosylation が TRP 陽イオンチャネル群を活性化し、血管内皮細胞の Ca²⁺ シグナルと NO 産生を促すことを見出した(*Nature Chem. Biol.*, 2006)。さらに、Nucleoredoxin による Wnt シグナルの活性化(三木, *Nature Cell Biol.*, 2006)、Peroxioredoxin の酸化還元による概日リズムの調節(*Nature*, 2012)等、Cys 含有抗酸化タンパク質の ROS センサーとしての機能が示されていた。ROS や NO は、植物においても根の成長と分化、形態形成、気孔の開閉、感染防御、微生物では病原性、クオラムセンシング、抗生物質耐性、ストレス耐性といった生理機能を有しており(*Cell*, 2010; *Science*, 2009)、生物学の諸分野で必ず考察されるべき重要な因子となっていた。

③ 研究領域の概要

本研究領域は上述の背景を進展させ、「生体内の構成細胞が、必要とする最適酸素濃度領域を能動的に構築する」、即ち、生体の酸素リモデリング(remodeling)という独自の概念に立脚し、展開する(図 1)。そして、それがどのような機序により成立するか、また、どのように細胞に感知され、どのような機構を通して機能の最適化に能動的に活用されるかを、エネルギー代謝、ROS シグナル等に着目し解明する。具体的には、次の 3 つのアプローチにより組織的で機動力のある研究を推進する。

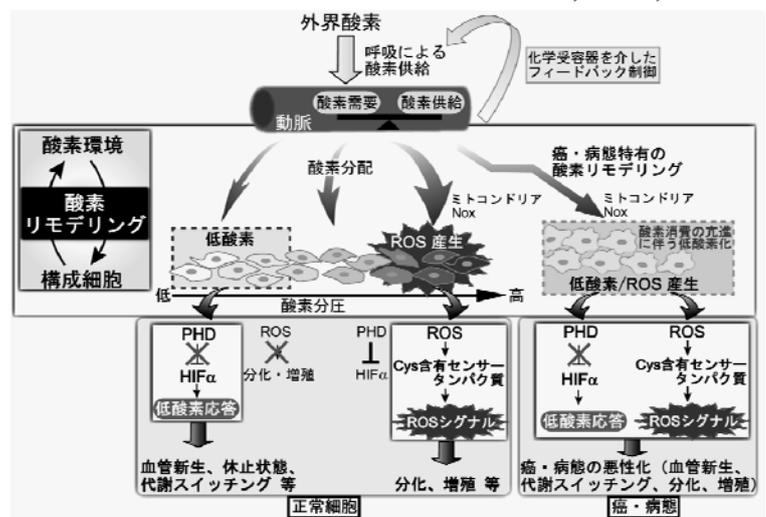


図1. 生体内酸素リモデリングの基盤となる分子機構

A01 班：生体内低酸素環境に対する感知と応答の制御機構と意義の解明

PHD 及びその他未知のヒドロキシ化酵素により制御される HIF、TRP など低酸素エフェクター群、及び酸素受容を担う酸素センサーを探索し、それらを介して生体・細胞機能を調節する分子機構を解明する。特に幹細胞性の維持、癌細胞悪性化、生活習慣病の発症、及び低酸素環境適応モデル動物(ハダカデバネズミ)の代謝調節機構に注目し、酸素リモデリングを介した細胞機能の制御機構とその生物学的意義を解明する。

A02 班：酸素を起源とする活性分子種が担うシグナル機構とその意義の解明

組織・細胞が ROS・親電子分子種を介して、酸素状況を能動的に活用し機能を最適化する機構と、その意義を探究する。具体的には、ROS シグナル形成、Cys 含有タンパク質等のセンサーを介して ROS・親電子分子種が動員するシグナル、イオウ多量体 persulfide がメディエーターとして精密調節するシグナル機構を解明し、その発生・分化、細胞増殖、細胞遊走・浸潤、イオン恒常性等における役割を解明する。

A03 班：in vivo を指向した低酸素・活性酸素種・親電子分子種の可視化解析技術の開発

低酸素環境、ROS、親電子分子種等の選択的かつ鋭敏な可視化イメージング法を、蛍光・発光プローブを活用し開発する。これに、蛍光タンパク質型プローブとその発現動物、光操作により活性分子種を自在に生成できるケージド化合物を補完させ、他班との連携のもと in vivo 時空間動態解析手法を確立する。

2. 研究の進展状況〔設定目的に照らし、研究項目又は計画研究ごとに整理する〕（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、現在までにどこまで研究が進展しているのか記述してください。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、どのように発展したかについて研究項目又は計画研究ごとに記述してください。

本領域は新たな概念である「**酸素リモデリング**」を基盤とし、酸素の生物学的意義を解明する学術分野「**酸素生物学**」の確立を目指して、酸素リモデリングの機構と意義を探究した(図 2)。

A01 班：生体内低酸素環境に対する感知と応答の制御機構と意義の解明

生体内酸素環境の制御機構と意義の解明を目指し、分子・細胞・組織(器官)・個体にわたる統合的なアプローチにより研究が遂行された。

まず、生体の低酸素環境への適応過程で最初に重要になるのが、酸素濃度の変化の見張り役となる酸素センシング機構(図 2①)である。**森**はノックアウト(KO)マウスを用いた解析を進め、迷走神経が酸素センサー TRPA1 チャンネルを介して高酸素、及び比較的穏やかな低酸素を感知し、呼吸調節を担うことを明らかにした。TRPA1 が胎盤内血管内皮細胞、及び Astrocyte において低酸素応答性の Ca^{2+} 流入を担うデータも得つつあり、酸素センシング機構・酸素受容体の遍在性の証明に向けた研究も順調に進行している。近年、低酸素応答の急性期における、電子過剰、還元的なミトコンドリアによる活性酸素種(ROS)の一種 O_2^- が産生が重要性を増しているが、**森**は TRPV1、TRPV4、及び TRPC5 チャンネル等の ROS、一酸化窒素 NO、及び親電子物質に対するレドックス感受性の分子機構を明らかにしている。

次に重要になってくるのが、酸素のセンシングにより誘導されるシグナル経路・転写因子がどのように細胞運命と組織形成の制御を介して生体機能を最適化をするかを明らかにすることである(図 2③及び④)。**井上**は本領域の採択と時期をほぼ同じくして、癌細胞株が一般に低酸素で休止(dormancy: 増殖が停止し、エネルギー代謝が低下する)状態にならないのと対照的に、Cancer Tissue-Originated Spheroid (CTOS) が低酸素で容易に dormancy 状態になり、有酸素条件に戻すことで速やかに活動状態に戻ることを明らかにした(Endo, PLoS ONE, 2014: 図 2③)。低酸素下で CTOS は成長因子により活動状態を回復するが、酸素消費により dormancy 状態の CTOS よりさらに低酸素であることが示され(図 2②)、dormancy 状態に最適な低酸素レベルが示唆された。また、dormancy 下では癌の増殖・生存にとって必須のシグナルさえも積極的に抑制されており、実際に EGF 受容体変異型肺癌における分子標的治療薬に対する抵抗性の基盤となることを明らかにした。

山本は分担研究者の**鈴木**とともに、腎 Epo 産生細胞(EP 細胞)特異的な低酸素誘導性の Epo 遺伝子発現制御機構の解明を試み、EP 細胞では 3 種の PHD のうち PHD2 が Epo 産生制御において中心的役割を担い、HIF-2 α が Epo 遺伝子発現を誘導することを明らかにした。一方、肝臓においては、3 種の PHD による相補的な低酸素誘導性 Epo 産生の調節を明らかにした。また、HIF-2 α が Epo 遺伝子発現とともに HIF-3 α 発現を誘導し、Epo 遺伝子発現を抑制的に制御することにより、低酸素環境下での Epo 産生の負の制御機構も示した(これは Epo の過剰産生が引き起こす多血症を防ぐことによる低酸素環境の設定と理解できる: 図 2②)。さらに、赤芽球で Epo 刺激に応答して発現変化する遺伝子の網羅的解析を行い、低酸素環境下では、Epo が赤芽球の分化増殖に加えて、赤血球のエネルギー代謝系にも影響を及ぼすことを明らかにした。

低酸素により誘導されるシグナル制御の逸脱・異常の解析は、正常な酸素リモデリングを明らかにする上で非常に有用な情報を与える。**南学**は**山本**と連携し、慢性腎臓病の病態形成において中心的な低酸素環境と炎症シグナルとの連関を担う分子として、転写因子 CEBPdelta を同定することに成功した。**武田**と**合田**は**三浦**班分担研究者の**杉浦**と共同で、グルコース代謝を酸素濃度の低下と共にグルコース酸化から解糖系へとシフトする分子機構を明らかにした。即ち、マクロファージ及び肝細胞においては、HIF-1 α -PDK1 経路がピルビン酸のミトコンドリアへの流入を阻害することにより、解糖系へとシフトすることを見出した。これは、Active glycolysis の発見である。本機構は、例えば、マクロファージが血管から末梢へと遊走する際に必須であり、血管から遠位より低酸素の環境に細胞が備える一種の酸素リモデリングと考えられる(図 2②)。加えて、**南学**班は**三浦**班と共同で、3 種類の PHD (PHD1-3) の HIF 以外の作用標的、及び PHD 以外の酸素を基質とする多様なヒドロキシ化酵素群の分子同定を開始しており、いくつかの候補タンパク質を見出している。

低酸素環境に生育するデバネズミは老化・癌化耐性を示すことから、多様な生理応答が生体内低酸素環境下でどのように「正常に」機能しうるかを知るには絶好のモデル動物である。**三浦**は分担研究者**南嶋**、**杉**

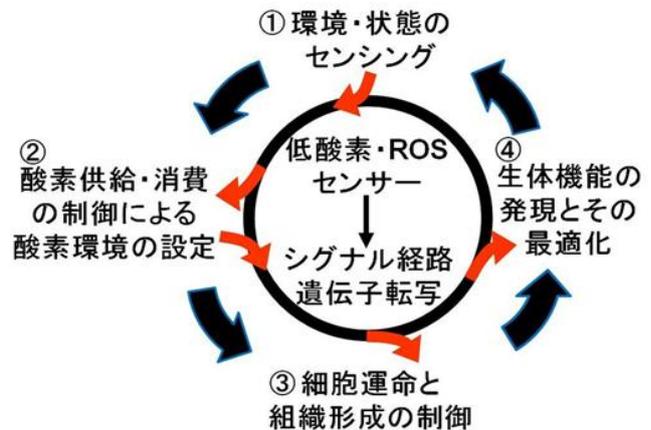


図 2. 本領域研究の基本となる概念「**酸素リモデリング**」

浦とともに、重要なエネルギー代謝上のマウスとの違いを明らかにした。即ち、デバネズミ線維芽細胞において i)低い細胞外酸化速度・酸素消費速度、ii)中心代謝系の代謝物量の全体的減少、iii)TCA 回路のグルコース由来のピルビン酸への非依存性、iv) ミトコンドリア complex IV の機能抑制等が明らかとなった。また、トリプトファン/キヌレニン経路の亢進を見出した。三浦は、デバネズミから樹立した iPS 細胞は腫瘍化耐性であり、低酸素条件下では iPS 細胞誘導が完全抑制されることも示した。つまり、iPS 細胞の樹立過程と癌化過程の間の多くの共通点が明らかとなっている。また、南嶋は哺乳類全般によく保存された低酸素応答による代謝制御機構を示し、重症感染症等の致死的な乳酸アシドーシスの治療法の標的になり得る可能性を報告した。さらに、南嶋と公募班中山は PHD3 の新たな標的としてピルビン酸デヒドロゲナーゼ-E1 β も見出した。

A02 班：酸素を起源とする活性分子種が担うシグナル機構とその意義の解明

A02 においては、生体内酸素環境の ROS・親電子分子種シグナルへの変換機構、その下流で組織・細胞における機能を最適化する組織・細胞におけるシグナル経路、及びその意義を探究した。

住本班は、動物において酸素を ROS シグナル(O $_2^-$)へと変換する(図 2①)NADPH オキシダーゼ(Nox)、酵母において酸素を NO へと変換する NO 産生酵素等の機能制御とその意義に関する研究を行った。特に、住本は、Nox2 を活性化して ROS 生成を誘導するのに必要十分な 3 つのスイッチ機構を明らかにし、また、5 種の Nox が生成する ROS の種類を解析した結果、Nox4 は直接 H $_2$ O $_2$ を、Nox1-3 及び Nox5 は O $_2$ を生成することを示した。さらに、Nox が生成する ROS がタンパク質の機能に必須のジスルフィド結合形成に関与することを示している。分担研究者高木は、Dre2 タンパク質が ROS のセンサー分子として働き、フラビンタンパク質 Tah18 との相互作用を介して NO 合成酵素活性を阻害することを示した。

内田班は酸素分子及びそれに由来する親電子活性種(ROS を含む)の標的・センサー(図 2①)としての低分子リガンドやタンパク質を解析した。内田は LC-ESI-MS/MS を用いた化学構造解析を行い、新規の酸化生成物やタンパク質の酸化的付加体(ピロール化リジン含有タンパク質、脂肪酸付加リジン N $^{\epsilon}$ -(8-carboxyoctanyl)lysine、2-オキシヒスチジン含有タンパク質(分担研究者居原)等)を見出した。ポリフェノールなどの植物性抗酸化物質が酸素センサーとして働き、酸化型中間体生成を介してタンパク質のカルボニル化や酸化的脱アミノ化反応を惹起することも示した。また、森と共同で、TRPV1 チャネルの Cys 残基への炎症関連親電子物質 15-Deoxy- Δ -^{12,14}-prostaglandin J $_2$ (15d-PGJ $_2$)の酸化的付加が、PC12 細胞の神経様突起伸長を促すことを示した。さらに、分担研究者西田は、加齢高血圧のリスク要因として、筋細胞のプリン作動性受容体に親電子物質イソチオシアネート付加し、下流 G タンパク質シグナルを負に制御することを見出した。

ROS シグナルの細胞内機構に関して、赤池班はタンパク質システイン残基のスルフィド基にポリスルフィド(polysulfide: S $_n$)鎖が非常に多くのタンパク質に恒常的に付加することを見出し、ROS・親電子物質・抗酸化物質酸化体が惹起するシグナルを仲介する最重要機構を担うことを明らかにした。本機構は、システイン残基のスルフィド基の酸化或いは親電子物質付加反応に可逆性、即ち、動的な性質を付与することから、「酸化されたタンパク質は分解される(構造維持上重要な生理的ジスルフィド形成を除き)」という、生化学上の先入観を一新する発見である。分担研究者上原は、タンパク質のジスルフィド形成を制御する小胞体のタンパク質ジスルフィドイソメラーゼ(PDI)において、システイン残基ポリスルフィド化が PDI の活性に重要である知見を得た。また、赤池、分担研究者澤は内田班分担研究者の西田と共同で、マウス心臓の梗塞周辺領域細胞のミトコンドリア過剰分裂を伴う心筋組織老化を観察し、老化機序として Drp1 システイン残基ポリスルフィド鎖の S $_n$ 枯渇による Drp1 多量体形成が関与することを見出した(図 2③④)。これは、ポリスルフィドの生理的重要性を支持する重要な知見である。分担研究者の朽津と公募班の吉岡は、ROS とそれを産生する NOX に着目し、植物における花粉管の成長、自然免疫の制御における役割を解明した。加えて、吉岡は、太陽光を浴びた状態では葉緑体がむしろ生体防御上重要な ROS を生産するという知見を得た。さらに、朽津は、植物体の細胞増殖が盛んな部位において、NOX が産生する ROS が細胞壁を強固にする作用を見出した。

ROS シグナルの担う転写制御機構に関しては、伊東班が酸化的ストレス応答の中心転写調節経路 Keap1-Nrf に着目し、そのプロテアソームの機能とその異常との関連に関する研究を行った。伊東は既に見出していた Nrf2 とタンパク質恒常性(proteostasis)に関連する転写因子 ATF4 との相互作用に着目し、プロテアソーム阻害というストレス化において、抗酸化系の中心タンパク質の一つであるグルタチオンの合成に必須のシスチントランスポーター-xCT を Nrf2 と ATF4 が協調的に転写調節することを示した。鈴木は、Nrf2 がマクロファージの示す炎症応答を抑えて働きをすることを、一方、濱崎は、ヒストン脱アセチル化酵素である Sirt1 がタンパク質恒常性の維持に重要であることを見出した。

活性酸素シグナル経路の生物学的意義に関し、三木はシステイン含有 ROS センサータンパク質 PRL による Mg $^{2+}$ トランスポーター-MagEx の機能に関する研究を行い、PRL と MagEx が細胞内 Mg $^{2+}$ 恒常性を制御することによりエネルギー代謝に影響を与え、転移性の高い大腸がん細胞などでは浸潤性を高めていること

を示した。本機構は腎臓においては Mg^{2+} 流入を担う TRPM6 と関連しており、遠位尿細管での Mg^{2+} 流入再吸収を担うことも明らかにした。さらに、予想もしなかった知見として、PRL の ROS 感受性を担うシステイン残基のリン酸化を発見した。分担研究者の**関根(服部)**に交代)は ROS シグナル経路と MAP キナーゼ経路を仲介する ASK1 に焦点を当て、ROS センサーとして ASK1 を活性化する KHHDC10 が炎症性細胞の細胞死を引き起こし、炎症応答を調節することを明らかにした。

A03 班： *in vivo* を指向した低酸素・活性酸素種・親電子分子種の可視化解析技術の開発

A03 **浦野**班は、酸素リモデリング(図 2)の基本となる酸素環境や ROS シグナルを生体内の「実体」として示すことを目指し、酸素や ROS の可視化技術の開発を担当してきた。

浦野は、体深部 *in vivo* での ROS、RNS 生成の検出を可能とする、全く新たな生物発光プローブの開発に成功した。具体的には、独自に確立した消光原理(BioLeT と細胞膜透過性の制御)に基づき、それ自身は生物発光特性を示さないが、ROS や NO が産生している環境では構造が変化し、強い生物発光を示すプローブの開発に成功した。腹腔内 *in vivo* 急性炎症モデルラットにおいて、蛍光観察手法の中では深部イメージングに適しているとされる近赤外蛍光プローブと比較しても、本手法は圧倒的に高い S/N でのライブイメージングを可能にすることを示した。また、ローダミン類、Si-ローダミン類への分子間、分子内求核付加を活用し、細胞内グルタチオンやポリスルフィド類の可逆的検出を可能とする蛍光プローブ群の開発にも成功した。

飛田は、イリジウム錯体 BTP の補助配位子にジメチルアミノ基を導入し、カチオン化した BTPDM1 を合成し、細胞内取り込み能を ICP-MS(誘導結合プラズマ質量分析計)を用いて分析したところ、BTP に比べて約 20 倍に増加した。また、**南学**との共同で、慢性腎臓病の病態進展過程において重要な役割を果たす、腎臓の低酸素環境を定量的に測定することにも成功した。即ち、BTPDM1 を用いたリアルタイムイメージングによる腎臓の酸素分圧測定を行い、マウス腎虚血再灌流モデルにおいて腎臓の酸素分圧の変化を観察した。また、**井上**と共同で、CTOS に良好に delivery された BTPDM1 の低酸素時の発光の増強、さらに、**森**班分担研究者**長嶋**と共同で、臍組織に直接投与した本プローブの呼吸酸素分圧変化依存的にリン光寿命延長(酸素分圧低下)の観察に成功した。このように、BTPDM1 は生体・細胞内の酸素環境の定量的可視化における最も強力かつ重要なツールになりつつある。

中川は、生体内の活性イオウ化合物の役割を確認するための振動型ケミカルツールとして、光制御型 H_2S 放出化合物の設計・合成・活性評価を行った。UVA 領域の紫外線で制御出来る化合物を設計合成し、培養細胞に適用したところ、任意の位置・時間で狙った細胞に H_2S を投与可能であることが明らかとなった。次に、可視光制御可能な NO 放出化合物を開発し、本化合物が *in vitro*、*in cellulo*、および *ex vivo* 系で青色光制御により高効率に NO 放出を行うことを示した。また、色素部分をローダミン型に変更した新規 NO 放出化合物を設計合成し、ラット大動脈血管切片を用いたマグヌス試験により、光強度、光照射時間依存的な血管弛緩を任意に誘導することに成功した。さらに、光活性化型酸素消費剤の分子設計・合成を行い、近赤外光励起により酸素と反応し分解するシアニン誘導體について、密閉系での光依存的酸素消費を検証したところ、官能基により酸素消費速度を調節可能であることを見いだした。

浦野班との連携は領域内での可視化手法の技術開発において高い波及効果を示している。例えば、**森**はエネルギー代謝の好氣的なミトコンドリアから嫌氣的な解糖系へのスイッチングを定量的に観察できる、蛍光性の温度(熱産生)センサー-tsGFP の有効性の理論的基盤の確立に成功した。また、**住本**は細胞内コンパートメント毎に空間特異的に ROS を高感度で検出するための方法として、 H_2O_2 を特異的に高感度で検出可能な 5-(4-nitrobenzoyl)carbonylfluorescein を O^6 -benzylguanine 化した蛍光試薬 NBzF-BG を開発した。PDGF 受容体の膜貫通領域と融合させた SNAP タグ(SNAP-PDGFR-TM)を発現させた好中球(Nox2 を高発現)を用いて、NBzF-BG を細胞膜特異的にラベルし、好中球の食作用時の Nox2 による H_2O_2 生成を共焦点レーザー顕微鏡により検出する測定系を確立し、実際、好中球食作用時の H_2O_2 生成を可視化することに成功した。

本新学術領域研究の基本概念である「酸素リモデリング」の国際的な認識と普及ため、酸素生物分野をリードする研究者による総説特集号「Oxygen Physiology: sensors and ion channels」を、**森**が Executive Editor を務める Pflügers Archiv. - European Journal of Physiology において編集した(平成 28 年 1 月号)。本特集号においては個別的に、**森**が Editorial とともに、低酸素センサーチャネル TRPA1、TRPM7 の機能と発現分布を基に、酸素リモデリング機構の基盤となる酸素センシング機構が生体内に広く分布していることを論じる総説を、**井上**、**武田**と執筆した。また、**山本**が**鈴木**とともに腎臓の REP 細胞により産生される Epo が担う、システミックな酸素恒常性の制御について執筆した。以上は**森**班、及び**山本**班の個別的な業績であるとともに、総括班・国際支援班の重要な業績でもある。

3. 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（2 ページ以内）

審査結果の所見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。

本領域では、審査結果の所見において、3 件の留意事項および 1 件の参考意見があったので、以下に当該コメント及びそれへの対応を示す。

留意事項

<コメント> 研究計画「低酸素ストレスに対するシステミックな生体応答機構の解明」・「腫瘍内低酸素応答を利用した癌悪性化制御法の開発」では、博士研究員の給与に大きな差があり、どのレベルの研究員の雇用を想定しているかを明確にすること。

<それへの対応策> 研究計画「低酸素ストレスに対するシステミックな生体応答機構の解明」では、遺伝子改変マウスの作出と解析を行う必要があるため、当該分野の研究に学位取得後 3 年以上の経験を有する博士研究員 1 名を東北大学の規定に準じて雇用する予定であった。研究計画「腫瘍内低酸素応答を利用した癌悪性化制御法の開発」では、**井上**が所属する大阪府立成人病センターで博士研究員の雇用に関して勤務時間と時間給に厳しい上限あり、その規定に準ずるための金額を設定した。しかし、低い金額のため適当な人材を見つけることが出来なかったが、代わりに優秀な技術補助員を採用することが出来、結果としてプロジェクトの進行に問題はなかった。

<コメント> 研究計画「癌化・老化耐性ハダカデバネズミをモデルとした低酸素適応・代謝制御機構の探究」では、研究員雇用費が年間 1,050 万円計上されているが、人数や月額の記事がないことから内訳を明確にすること。

<それへの対応策> 申請時には、研究員 3 名を雇用する予定として年間 1050 万円の雇用費を計上したが、配分額が減額されたことや、解析系に改良を加えることで、平成 27 年度は月額 30 万円で博士研究員を 1 名雇用した。

<コメント> 研究計画「ポリサルファ代謝系を介する新しい抗酸化ストレス制御機構の解明」では、初年度の博士研究員と研究支援者の雇用費が同額となっているのはおかしい。精査の上、交付申請に当たっては適切な額を申請すること。

<それへの対応策> 交付申請の際に博士研究員等雇用経費について所属機関の算定基準による正確な算定を行い、この算定額に基づき適切に執行を行っている。

参考意見

<コメント> 多光子顕微鏡、質量分析装置などを共通機器として購入し拠点化する計画は、領域運営のために必要なものと認める。しかし、計画研究を見渡したとき、これらが多くの領域組織の研究者で共同利用される見込みがあるものか、不明確であるとの意見があった。

<それへの対応策> 8. 研究費の使用状況に記載しているとおり(p23)、総括班として購入した共通機器は有効に利用されている。具体的には、生体内での酸素、ROS・親電子分子種の時空間性解析が枢要であるを鑑み、総括班では領域全体の技術支援を拠点形成により強力に推進してきた。東北大学(赤池)では、活性イオウ分子種、ポリスルフィドの精密定量に不可欠な質量分析システムを導入し、領域内外の連携研究者の要望に応じて、プロテオーム解析を随時行った。これまで、領域内から 7 名月平均 3、4 回、領域外から 12 名(内 3 名は海外)月平均 2 回、ポリスルフィド関連の測定依頼に対応した。また、合計 3 回の技術支援セミナーを開催し、領域外や国外から研究者を招き入れ、領域内からの技術公開だけでなく、領域外からの技術導入も行った。可視化技術支援は、浦野(東京大)、飛田(群馬大学)、中川(名古屋市立大学)が担当し、班員からの要望に応じて有機小分子を基盤とする蛍光・発光イメージングプローブ群およびケージド化合物群を開発してきた。中川は、赤池からの依頼により、オルガネラ局在型ポリスルフィドプローブを設計・合成し、共焦点スキャナを備えた蛍光顕微鏡により、培養細胞での新規蛍光プローブの機能を検証した。飛田は南学とともに、飛田が開発した発光プローブを腎尿細管細胞に取り込ませ、ORCA-Flash4.0s CMOS カメラを装備した顕微鏡において観察した。さらに、高感度ハイブリッド GaAsP 検出器を装備した顕微鏡により、共焦点りん光寿命画像を測定し、腎臓表面の酸化状態を高空間分解能で撮影している。**浦野**は、**南学**との共同で、正立蛍光顕微鏡による各種プローブの取り込みや局在の評価、組織切片の拡大蛍光画像を取得した。京都大学(**森**)では、多光子励起レーザ走査型顕微鏡の光学系の最適化が完了し、**浦野**班の新たなプローブ、**井上**の細胞塊培養技術をイメージングの準備を整え、可視化技術セミナーを平成 28 年 8 月 4～5 日に予定している。

4. 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。

<計画研究 A01>

山本班 造血因子エリスロポエチン(Epo)産生量はEpo 遺伝子の転写の段階で調節されていることから、腎 Epo 産生(EP)細胞特異的かつ低酸素誘導性のEpo 遺伝子発現制御機構の解明を試みた。その結果、EP細胞では3種のPHDアイソフォームのうち、PHD2がEpo産生制御において中心的役割を担っていることを明らかにした。また、HIF因子群のなかではHIF-2 α がEpo遺伝子発現を誘導しており、HIF-1 α の貢献度は低いことがわかった(Souma, *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2016)。

REP細胞と異なり、肝臓では3つのPHDアイソフォームが相補的に機能することにより、低酸素誘導性のEpo産生を調節していることがわかった。また、HIF-2 α がEpo遺伝子発現を誘導する点においてはREP細胞と共通していた。さらに、HIF-2 α によってHIF-3 α の発現が誘導され、Epo遺伝子発現を抑制的に制御することを見出した(Tojo, *Mol. Cell. Biol.*, 2015) (南学班武田との共同研究)。過剰なEpo産生は多血症に繋がるため、低酸素環境下ではEpo産生の負の制御機構も稼働することが理解された。

南学班 マクロファージおよび肝細胞において、HIF-1 α -PDK1経路を介してピルビン酸のミトコンドリアへの流入を阻害することにより、解糖系へとシフトしていることを見出した(Active glycolysisの発見)。Active glycolysisはマクロファージにおいてはその遊走能において必須であること、またactive glycolysis阻害薬であるジクロロ酢酸(Dichloroacetic acid, DCA)にその遊走が抑制されることを明らかにした(Semba, *Nature Commun.*, 2016)。(三浦班の杉浦との共同研究)

shRNA libraryを用いたスクリーニングにより、両シグナルを繋ぐ鍵となる転写因子CEBPdeltaを新たに同定することに成功した。CEBPdeltaはIL-1 β などの炎症シグナルにより誘導され、HIF-1 α プロモーターに結合することで、その発現を亢進するのみならずその転写活性も増強していた。(Yamaguchi, *Kidney Int.*, 2015)。(山本班との共同研究)

森班 ホモ4量体構成を採るTRPV1チャネルにおいて、4組の同一Cys残基(ヒトではCys258とCys742)が異なった酸化還元状態にあり、チャネル構造の維持と機能の調節することを示した。即ち、Cys258には隣接するTRPV1のCys742とジスルフィドを形成する酸化型、及びfreeな還元型が存在し、それぞれがTRPV1複合体の安定化、及び活性酸素種(ROS)感受性を担う。本成果は、4次構造形成が原因となってタンパク質にROS感受性が生じる最初の例である(Ogawa, *J. Biol. Chem.*, 2016)。

ROS、一酸化窒素(NO)、熱、浸透圧等に対するmultimodalなセンサーとして知られるTRPV4が、チャネル活性制御にphosphatidylinositol 4,5-bisphosphate(PIP₂)が重要であることを示した。即ち、PIP₂はTRPV4に対して抑制的に作用し、inositol 1,4,5-trisphosphate(IP₃)等はそれを中和することによりチャネル活性を強く促進することを示した。Ankyrin repeat domain(ARD)のCysが酸化感受性を担う点が複数のTRPに共通しており、本知見が酸素、ROS、NO等に対する感受性の分子機構を理解する上で非常に重要になってくる。ARDにPIP₂が結合することを初めて示した成果でもある(Takahashi, *Nature Commun.*, 2015)。

エネルギー代謝の好氣的なミトコンドリアから嫌氣的な解糖系へのスイッチングを定量的に観察できる、蛍光性の温度(熱産生)センサー-tsGFPの有効性の理論的基盤の確立に成功した(Kiyonaka, *Nature Methods*, 2015)。(A03公募班森井との共同研究)

三浦班 ハダカデバネズミでiPS細胞を誘導したところ、樹立されたiPS細胞は腫瘍化耐性であることが明らかになり、さらに、低酸素条件でハダカデバネズミにおいてiPS細胞誘導を行ったところ、ヒト・マウスとは逆に、低酸素下ではiPS細胞樹立が完全に抑制されることが判明した(Miyawaki, *Nature Commun.*, 2016)。つまり、iPS細胞の樹立過程とがん化過程の多くの共通点が明らかとなっている。

肝細胞において酸素濃度センサー分子PHD2の機能を抑制して低酸素応答を活性化すると、血中の乳酸の肝細胞への取り込みや肝細胞での糖新生が活発になり、敗血症などに合併する致死的な乳酸アシドーシスの生存率を劇的に改善することを証明した(Suhara, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2015)。

<計画研究 A02>



図3. 各研究項目間の連携

三木班 システイン含有 ROS センサータンパク質 PRL による Mg^{2+} トランスポーター MagEx の機能に関する研究を行い、PRL と MagEx が細胞内 Mg^{2+} 恒常性を制御することによりエネルギー代謝に影響を与え、転移性の高い大腸がん細胞などでは浸潤性を高めていることを示した (Funato, *J. Clin. Invest.*, 2014)。

赤池班 本領域の採択と同時期に、植物の生殖過程において、花粉管の先端部に局在する活性酸素生成酵素が、カルシウムイオンを介して活性化され、活性酸素種を積極的に生成すること、そのことが花粉管の先端成長に重要であることを発見し、植物の生殖・受精の新たな仕組みを解明した (Kaya, *Plant Cell*, 2014; Kaya, *Plant Signal. Behav.*, 2015)。

住本班 ROS の生成制御には、刺激応答性に酸素から ROS を生成する NADPH オキシダーゼ (Nox) が重要である。Nox2 活性化には、「Nox2 活性化タンパク質 p47^{phox} の構造変化」と「低分子量 G タンパク質 Rac の GTP 結合型への変換」に加えて、「Rac-GTP と結合した p67^{phox} が Nox2 と直接相互作用すること」が必要なことを明らかにした。さらに、細胞刺激時に細胞膜等から遊離されるアラキドン酸は、上記 3 つのスイッチを全てオンにできることを示した (Matono, *J. Biol. Chem.*, 2014)。

細胞内コンパートメント毎に空間特異的に ROS を高感度で検出するための方法として、 H_2O_2 を特異的に高感度で検出可能な 5-(4-nitrobenzoyl)carbonylfluorescein を *O*⁶-benzylguanine 化した蛍光試薬 NBzF-BG を開発した。PDGF 受容体の膜貫通領域と融合させた SNAP タグ (SNAP-PDGFR-TM) を発現させた好中球 (Nox2 を高発現) を用いて、NBzF-BG を細胞膜特異的にラベルし、好中球の食作用時の Nox2 による H_2O_2 生成を、共焦点レーザー顕微鏡を用いて検出する測定系を確立し、好中球食作用時の H_2O_2 生成を可視化することに成功した (Abo, *Anal. Chem.*, 2014)。(浦野との共同研究)

伊東班 Nrf2 転写因子による炎症抑制メカニズムを解明した。具体的には、Nrf2 は主に炎症を増悪させるサイトカインであるインターロイキン 6 やインターロイキン 1 β の遺伝子の発現を阻害することで、炎症を抑えていることがわかった。今回の成果により、Nrf2 による炎症制御機構の理解が進み、Nrf2 を活性化剤を用いた安全で副作用の少ない抗炎症薬の開発が発展することが期待される (Kobayashi, *Nature Commun.*, 2016)。

Nrf2 とタンパク質恒常性 (proteostasis) に関連する転写因子 ATF4 との相互作用に着目し、プロテアソーム阻害というストレス化において、抗酸化系の中心タンパク質の一つであるグルタチオンの合成に必須のシスチン輸送タンパク質 xCT を Nrf2 と ATF4 が協調的に転写調節することを示した (Ye, *Mol. Cell. Biol.*, 2014)。

内田班 TRPV1 チャネルの Cys 残基への炎症関連親電子物質 15-Deoxy- Δ -^{12,14}-prostaglandin J₂ (15d-PGJ₂) の酸化的付加が、神経様細胞 PC12 細胞の神経様突起伸長を促すことを示した (Shibata, *Sci. Rep.*, 2016)。(森との共同研究)

心筋梗塞後のマウス心臓において、梗塞周辺領域においてミトコンドリア過剰分裂を伴う心筋組織老化が観察された。この機序として、Drp1 システインポリオウ鎖のイオウ枯渇による Drp1 多量体形成が関与すること、および既承認薬シルニジピンが Drp1 活性化を抑制することで心不全を改善することを見出した。一方、加齢高血圧の新たなリスク要因として筋細胞のプリン作動性受容体を同定した。この受容体はイソチオシアネートと共有結合 (親電子修飾) することで、下流の G タンパク質シグナルが負に制御されることを新たに見出した (Nishimura, *Sci. Signal.*, 2016)。

<公募研究 A02>

植物において、活性酸素は免疫応答を誘導するシグナル分子であり、NADPH オキシダーゼにより生成される。今回、植物の NADPH オキシダーゼは、MAP キナーゼによってリン酸化された WRKY 型転写因子によって制御されることを発見した。この成果は、WRKY 転写因子による発現調節が頑強な免疫応答に必要であることを示しており、植物免疫機構に関する基礎的な知見として重要であるだけでなく、新しい病害防除技術につながる成果である (Adachi, *Plant Cell*, 2015)。

<計画研究 A03>

浦野班 *in vivo* 体深部での ROS、RNS 生成の検出を可能とする、全く新たな生物発光プローブの開発に成功した。具体的には、独自に確立した消光原理 (BioLeT と細胞膜透過性の制御) に基づき、それ自身は生物発光特性を示さないが、ROS や NO が産生している環境では構造が変化し、強い生物発光を示すプローブの開発に成功した。腹腔内 *in vivo* 急性炎症モデルラットにおいて、蛍光観察手法の中では深部イメージングに適しているとされる近赤外蛍光プローブと比較しても、本手法は圧倒的に高い S/N でのライブイメージングが可能であることが証明された (Kojima, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2015; Takakura, *J. Am. Chem. Soc.*, 2015)。

イリジウム錯体 BTP の補助配位子にジメチルアミノ基を導入し、カチオン化した BTPDM1 を合成し、細胞内取り込み能を ICP-MS (誘導結合プラズマ質量分析計) を用いて分析したところ、BTP に比べて約 20 倍に増加した (Tobita, *Anal. Chem.*, 2015)。

慢性腎臓病の病態進展過程において重要な役割を果たす、腎組織の低酸素環境を定量的に測定することにも成功した。即ち、BTPDM1 を用いたリアルタイムイメージングによる腎臓の酸素分圧測定を行い、マウス腎虚血再灌流モデルにおいて腎臓の酸素分圧の変化を観察した (Hirakawa, *Sci. Rep.*, 2015)。(南学との

共同研究)

<国際研究支援班>

世界的な酸素生物研究者による総説特集号「Oxygen Physiology: sensors and ion channels」を、**森**が Executive Editorを務める *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology* において編集した(2016年1月号) (Mori, *Pflügers Arch.*, 2016)。本特集号においては、**森**が低酸素を感知し活性化開口する TRPA1 及び TRPM7 の機能と発現分布を基に、酸素リモデリング機構の基盤となる酸素センシング機構が生体内に広く分布していることを論じる総説を、**井上**と**武田**(南学班分担)とともに執筆した (Mori, *Pflügers Arch.*, 2016)。また、**山本**が分担研究者の**鈴木**とともに腎臓の REP 細胞により産生される Epo が担う、システミックな酸素恒常性の制御について執筆した (Suzuki, *Pflügers Arch.*, 2016)。

5. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開發表等）（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定とします。

- 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。

1. 発表論文(全 267 編)(以下すべて査読有)

<計画研究 A01・山本班>

- 1) *Suzuki N, Sasaki Y, Kato K, Yamazaki S, Kurasawa M, Yorozu K, Shimonaka Y, Yamamoto M. Efficacy estimation of erythropoiesis-stimulating agents using erythropoietin-deficiency anemic mice. *Haematologica* (in press).
- 2) ▲Taguchi K, Takaku M, Egner PA, Morita M, Kaneko T, Mashimo T, Kensler TW, *Yamamoto M. Generation of a new model rat: Nrf2 knockout rats are sensitive to aflatoxin B1 toxicity. *Toxicol. Sci.* (in press).
- 3) Kobayashi EH, Suzuki T, Funayama R, Nagashima T, Hayashi M, Sekine H, Tanaka N, Moriguchi T, Motohashi H, Nakayama K, *Yamamoto M. Nrf2 suppresses macrophage inflammatory response by blocking proinflammatory cytokine transcription. *Nature Commun.* 23, 11624, 2016.
- 4) Otsuki A, Suzuki M, Katsuoka F, Tsuchida K, Suda H, Morita M, Shimizu R, *Yamamoto M. Unique cistrome defined as CsMBE is strictly required for Nrf2-sMaf heterodimer function in cytoprotection. *Free Radic. Biol. Med.* 91, 45-57, 2016.
- 5) ▲Souma T, Nezu M, Nakano D, Yamazaki S, Hirano I, Sekine H, Dan T, Takeda K, Fong GH, Nishiyama A, Ito S, Miyata T, Yamamoto M, *Suzuki N. Erythropoietin synthesis in renal myofibroblasts is restored by activation of hypoxia signaling. *J. Am. Soc. Nephrol.* 27, 428-438, 2016.
- 6) ▲*Suzuki N, Yamamoto M. Roles of renal erythropoietin-producing (REP) cells in the maintenance of systemic oxygen homeostasis. *Pflügers Arch.* 468, 3-12, 2016.
- 7) ▲Sekine H, Okazaki K, Ota N, Shima H, Katoh Y, Suzuki N, Igarashi K, Ito M, Motohashi H, *Yamamoto M. The mediator subunit MED16 transduces NRF2-activating signals into antioxidant gene expression. *Mol. Cell. Biol.* 36, 407-420, 2015.
- 8) ▲Tojo Y, Sekine H, Hirano I, Pan X, Souma T, Tsujita T, Kawaguchi S, Takeda N, Takeda K, Fong GH, Dan T, Ichinose M, Miyata T, Yamamoto M, *Suzuki N. Hypoxia signaling cascade for erythropoietin production in hepatocytes. *Mol. Cell. Biol.* 35, 2658-2672, 2015.
- 9) Keleku-Lukwete N, Suzuki M, Otsuki A, Tsuchida K, Katayama S, Hayashi M, Naganuma E, Moriguchi T, Tanabe O, Engel JD, Imaizumi M, *Yamamoto M. Amelioration of inflammation and tissue damage in sickle cell model mice by Nrf2 activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112, 12169-12174, 2015.
- 10) Takeuchi M, Fuse Y, Watanabe M, Andrea CS, Takeuchi M, Nakajima H, Ohashi K, Kaneko H, Kobayashi-Osaki M, Yamamoto M, *Kobayashi M. LSD1/KDM1A promotes hematopoietic commitment of hemangioblasts through downregulation of Etv2. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112, 13922-13927, 2015.
- 11) *de Aguiar Vallim TQ, Tarling EJ, Ahn H, Hagey LR, Romanoski CE, Lee RG, Graham MJ, Motohashi H, Yamamoto M, *Edwards PA. MAFG is a transcriptional repressor of bile acid synthesis and metabolism. *Cell Metab.* 21, 298-310, 2015.
- 12) ▲*Suzuki N, Mukai HY, Yamamoto M. In vivo regulation of erythropoiesis by chemically inducible dimerization of the erythropoietin receptor intracellular domain. *PLoS One* 10, e0119442, 2015.
- 13) ▲Nishikawa K, Iwamoto Y, Kobayashi Y, Katsuoka F, Kawaguchi S, Tsujita T, Nakamura T, Kato S, Yamamoto M, Takayanagi H, *Ishii M. DNA methyltransferase 3a regulates osteoclast differentiation by coupling to an S-adenosylmethionine-producing metabolic pathway. *Nature Med.* 21, 281-287, 2015.
- 14) Suzuki T, Yamamoto M. Molecular basis of the Keap1-Nrf2 system. *Free Radic. Biol. Med.* 88, 93-100, 2015.
- 15) ▲Souma T, *Suzuki N, Yamamoto M. Renal erythropoietin-producing cells in health and disease. *Front. Physiol.* 6, 167, 2015.
- 16) Tsujita T, Mullin V, Baird L, Matsuyama Y, Takaku M, Walsh SV, Griffin JL, Urano A, *Yamamoto M, Hayes JD. Transcription factor Nrf1 negatively regulates the cystine/glutamate transporter and lipid-metabolizing enzymes. *Mol. Cell. Biol.* 34, 3800-3816, 2014.

<計画研究 A01・南学班>

- 1) ▲Semba H, *Takeda N, Isagawa T, Sugiura Y, Honda K, Wake M, Miyazawa H, Yamaguchi Y, Miura M, Jenkins D, Choi H, Kim JW, Asagiri M, Cowburn AS, Abe H, Soma K, Koyama K, Katoh M, Sayama K, Goda N, Johnson RS, Manabe I, Nagai R, Komuro I. HIF-1 α -PDK1 axis induced active glycolysis plays an essential role in macrophage migratory capacity. *Nature commun.* (in press).
- 2) Fujimoto Y, Urashima T, Shimura D, Ito R, Kawachi S, Kajimura I, Akaike T, Kusakari Y, Fujiwara M, Ogawa K, Goda N, Ida H, Minamisa wa S. Low Cardiac Output Leads Hepatic Fibrosis in Right Heart Failure Model Rats. *PLoS One*. 11, e0148666, 2016.
- 3) ▲Mori Y, Takahashi N, Polat OK, Kurokawa T, Takeda N, Inoue M. Redox-sensitive transient receptor potential channels in oxygen sensing and adaptation. *Pflügers Arch.* 468, 85-97, 2016.
- 4) ▲Hirakawa Y, Yoshihara T, Kamiya M, Mimura I, Fujikura D, Masuda T, Kikuchi R, Takahashi I, Urano Y, Tobita S, *Nangaku M. Quantitating intracellular oxygen tension in vivo by phosphorescence lifetime measurement. *Sci. Rep.* 5, 17838, 2015.
- 5) ▲Tojo Y, Sekine H, Hirano I, Pan X, Souma T, Tsujita T, Kawaguchi SI, Takeda N, Takeda K, Fong GH, Dan T, Ichinose M, Miyata T, Yamamoto M, *Suzuki N. Hypoxia Signaling Cascade for Erythropoietin Production in Hepatocytes. *Mol. Cell Biol.* 35, 2658-72, 2015.
- 6) Yamaguchi J, Tanaka T, Eto N, *Nangaku M. Inflammation and hypoxia linked to renal injury by CCAAT/enhancer-binding protein δ . *Kidney Int.* 88, 262-75, 2015.
- 7) Khamaisi M, Toukan H, Axelrod JH, Rosenberger C, Skarzinski G, Shina A, Meidan R, Koesters R, Rosen S, Walkinshaw G, Mimura I, Nangaku M, *Heyman SN. Endothelin-converting enzyme is a plausible target gene for hypoxia-inducible factor.

Kidney Int. 87, 761-770, 2015.

- 8) Tanaka S, Tanaka T, *Nangaku M. Hypoxia as a key player in the AKI-to-CKD transition. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 307, F1187-F1195, 2014.
- <計画研究 A01・森班>
- 1) ▲Ogawa N, Kurokawa T, *Mori Y. Sensing of redox status by TRP channels. *Cell Calcium* (in press).
 - 2) So K, Tei Y, Zhao M, Miyake T, Hiyama H, Shirakawa H, Imai S, *Mori Y, *Nakagawa T, Matsubara K, Kaneko S. Hypoxia-induced sensitisation of TRPA1 in painful dysesthesia evoked by transient hindlimb ischemia/reperfusion in mice. *Sci. Rep.* 6, 23264, 2016.
 - 3) ▲Badr H, Kozai D, Sakaguchi R, Numata T, *Mori Y. Different contribution of redox-sensitive transient receptor potential channels to acetaminophen-induced death of human hepatoma cell line. *Front. Pharmacol.* 7, 19, 2016.
 - 4) Shibata T, Takahashi K, Matsubara Y, Inuzuka E, Nakashima F, Takahashi N, Kozai D, *Mori Y, *Uchida K. Identification of a prostaglandin D2 metabolite as a neurogenesis enhancer targeting the TRPV1 ion channel. *Sci. Rep.* 6, 21261, 2016.
 - 5) Yonezawa R, Yamamoto S, Takenaka M, Kage Y, Negoro T, Toda T, Ohbayashi M, Numata T, Nakano Y, Yamamoto T, *Mori Y, Ishii M, *Shimizu S. TRPM2 channels in alveolar epithelial cells mediate bleomycin-induced lung inflammation. *Free Radic. Biol. Med.* 90, 101-113, 2016.
 - 6) Numaga-Tomita T, *Nishida M, Putney JW Jr, *Mori Y. TRPC3 amplifies B-cell receptor-induced ERK signalling via protein kinase D-dependent Rap1 activation. *Biochem. J.* 473, 201-210, 2016.
 - 7) ▲Ogawa N, Kurokawa T, Fujiwara K, Polat OK, Badr H, Takahashi N, *Mori Y. Functional and structural divergence in human TRPV1 channel subunits by oxidative cysteine modification. *J. Biol. Chem.* 291, 4197-4210, 2016.
 - 8) ▲Sato H, Nagashima K, Ogura M, Sato Y, Tahara Y, Ogura K, Yamano G, Sugizaki K, Fujita N, Tatsuoka H, Usui R, Mukai E, Fujimoto S, *Inagaki N. Src regulates insulin secretion and glucose metabolism by influencing subcellular localization of glucokinase in pancreatic β -cells. *J. Diabetes Investig.* 7, 171-178, 2016.
 - 9) *Mori Y, Takahashi N, Ogawa N, Gudermann T. Oxygen physiology: sensors and ion channels. *Pflügers Arch.* 468, 1-2, 2016.
 - 10) ▲*Mori Y, Takahashi N, Polat OK, Kurokawa T, Takeda N, Inoue M. Redox-sensitive transient receptor potential channels in oxygen sensing and adaptation. *Pflügers Arch.* 468, 85-97, 2016.
 - 11) Kiyonaka S, Sakaguchi R, Hamachi I, Morii T, Yoshizaki T, *Mori Y. Validating subcellular thermal changes revealed by fluorescent thermosensors. *Nature Methods* 12, 801-802, 2015.
 - 12) Ostapchenko VG, Chen M, Guzman MS, Xie YF, Lavine N, Fan J, Beraldo FH, Martyn AC, Belrose JC, *Mori Y, MacDonald JF, *Prado VF, *Prado MA, *Jackson MF. The transient receptor potential melastatin 2 (TRPM2) channel contributes to β -amyloid oligomer-related neurotoxicity and memory impairment. *J. Neurosci.* 35, 15157-15169, 2015.
 - 13) Takaya J, Mio K, Shiraishi T, Kurokawa T, Otsuka S, *Mori Y, *Uesugi M. A potent and site-selective agonist of TRPA1. *J. Am. Chem. Soc.* 137, 15859-15864, 2015.
 - 14) Asahara S, Etoh H, Inoue H, Teruyama K, Shibusaki Y, Ihara Y, Kawada Y, Bartolome A, Hashimoto N, Matsuda T, Koyanagi-Kimura M, Kanno A, Hirota Y, Hosooka T, Nagashima K, Nishimura W, Inoue H, Matsumoto M, Higgins MJ, Yasuda K, Inagaki N, Seino S, Kasuga M, *Kido Y. Paternal allelic mutation at the *Kcnq1* locus reduces pancreatic β -cell mass by epigenetic modification of *Cdkn1c*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 112, 8332-8337, 2015.
 - 15) Takahashi N, Hamada-Nakahara S, Itoh Y, Takemura K, Shimada A, Ueda Y, Kitamata M, Matsuoka R, Hanawa-Suetsugu K, Senju Y, Mori MX, Kiyonaka S, Kohda D, *Kitao A, *Mori Y, *Suetsugu S. TRPV4 channel activity is modulated by direct interaction of the ankyrin domain to PI(4,5)P₂. *Nature Commun.* 5, 4994, 2015.
- <計画研究 A01・井上班>
- 1) Kiyohara Y, Yoshino K, Kubota S, Okuyama H, Endo H, Ueda Y, Kimura T, Kamiura S, *Inoue M. Drug screening and grouping by sensitivity with a panel of primary cultured cancer spheroids derived from endometrial cancer. *Cancer Sci.* 107, 452-460, 2016.
 - 2) *Mori Y, Takahashi N, Polat OK, Kurokawa T, Takeda N, Inoue M. Redox-sensitive transient receptor potential channels in oxygen sensing and adaptation. *Pflügers Arch.* 468, 85-97, 2016.
 - 3) Yoshida T, Okuyama H, Nakayama M, Endo H, Tomita Y, Nonomura N, Nishimura K, *Inoue M. Dynamic Change in p63 Protein Expression during Implantation of Urothelial Cancer Clusters. *Neoplasia* 17, 574-585, 2015.
 - 4) Kurokawa H, Ito H, Inoue M, Tabata K, Sato Y, Yamagata K, Kizaka-Kondoh S, Kadonosono T, Yano S, *Kamachi T. High resolution imaging of intracellular oxygen concentration by phosphorescence lifetime. *Sci. Rep.* 5, 10657, 2015.
 - 5) Nakajima A, Endo H, Okuyama H, Kiyohara Y, Kimura T, Kamiura S, Hiraoka M, *Inoue M. Radiation sensitivity assay with a panel of patient-derived spheroids of small cell carcinoma of the cervix. *Int. J. Cancer* 136, 2949-2960, 2015.
 - 6) Fujishita T, Kajino-Sakamoto R, Kojima Y, Taketo MM, *Aoki M. Antitumor activity of the MEK inhibitor trametinib on intestinal polyp formation in *Apc*(Delta716) mice involves stromal COX-2. *Cancer Sci.* 106, 692-699, 2015.
 - 7) *Yoshii Y, Furukawa T, Waki A, Okuyama H, Inoue M, Itoh M, Zhang MR, Wakizaka H, Sogawa C, Kiyono Y, Yoshii H, Fujibayashi Y, Saga T. High-throughput screening with nanoimprinting 3D culture for efficient drug development by mimicking the tumor environment. *Biomaterials* 51, 278-289, 2015.
 - 8) Yoshida T, Okuyama H, Nakayama M, Endo H, Nonomura N, Nishimura K, *Inoue M. High-dose chemotherapeutics of intravesical chemotherapy rapidly induce mitochondrial dysfunction in bladder cancer-derived spheroids. *Cancersci.* 106, 69-77, 2015.
- <計画研究 A01・三浦班>
- 1) ▲Miyawaki S, Kawamura Y, Oiwa Y, Shimizu A, Hachiya T, Bono H, Koya I, Okada Y, Kimura T, Tsuchiya Y, Suzuki S, Onishi N, Kuzumaki N, Matsuzaki Y, Narita M, Ikeda E, Okanoya K, Seino K, Saya H, *Okano H, *Miura K. Tumour resistance in induced pluripotent stem cells derived from naked mole-rats. *Nature Commun.* 7, 11471, 2016.
 - 2) ▲Suhara T, Hishiki T, Kasahara M, Hayakawa N, Oyaizu T, Nakanishi T, Kubo A, Morisaki H, *Kaelin WG Jr, *Suematsu M, *Minamishima YA. Inhibition of the oxygen sensor PHD2 in the liver improves survival in lactic acidosis by activating the Cori cycle. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 112, 11642-11647, 2015.
 - 3) ◎#*Kunisawa, #Sugiura Y, Wake T, Nagatake T, Suzuki H, Nagasawa R, Shikata S, Honda K, Hashimoto E, Suzuki Y, Setou M, Suematsu M, Kiyono H. Mode of Bioenergetic Metabolism during B Cell Differentiation in the Intestine Determines the Distinct Requirement for Vitamin B1. *Cell Rep.* 13, 122-131, 2015. (#equal contribution)
 - 4) ◎Funahashi E, Saiki K, Honda K, Sugiura Y, Kawano Y, *Ohtsu I, Watanabe D, Wakabayashi Y, Abe T, Nakanishi T, Suematsu M, Takagi H. Finding of thiosulfate pathway for synthesis of organic sulfur compounds in *Saccharomyces cerevisiae* and improvement of ethanol production. *J. Biosci. Bioeng.* 120, 666-669, 2015.
 - 5) ◎Takenouchi T, Sugiura Y, Morikawa T, Nakanishi T, Nagahata Y, Sugioka T, Honda K, Kubo A, Hishiki T, Matsuura T, Hoshino T, Takahashi T, *Suematsu M, *Kajimura M. Therapeutic hypothermia achieves neuroprotection via a decrease in acetylcholine with a concurrent increase in carnitine in the neonatal hypoxia-ischemia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 35, 794-805, 2015.
 - 6) Kikuchi D, Minamishima YA, *Nakayama K. Prolyl-hydroxylase PHD3 interacts with pyruvate dehydrogenase (PDH)-E1 β and regulates the cellular PDH activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 451, 288-294, 2014.

<公募研究 A01>

- 1) Kikuchi D, Tanimoto K, *Nakayama K. CREB is activated by ER stress and modulates the unfolded protein response by regulating the expression of IRE1 α and PERK. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 469, 243-250, 2016.
- 2) \blacktriangle Iwamoto Y, Nishikawa K, Imai R, Furuya M, Uenaka M, Ohta Y, Morihana T, Itoi-Ochi S, Penninger JM, Katayama I, Inohara H, *Ishii M. Intercellular communication between keratinocytes and fibroblasts induces local osteoclast differentiation: a mechanism underlying cholesteatoma-induced bone destruction. *Mol. Cell. Biol.* 36, 1610-1620, 2016.
- 3) Hosokawa H, Tanaka T, Endo Y, Kato M, Shinoda K, Suzuki A, Motohashi S, Matsumoto M, Nakayama KI, *Nakayama T. Akt1-mediated Gata3 phosphorylation controls the repression of IFN γ in memory-type Th2 cells. *Nature Commun.* 7, 11289, 2016.
- 4) *Nishikawa K, Iwamoto Y, Kobayashi Y, Katsuoka F, Kawaguchi S, Tsujita T, Nakamura T, Kato S, Yamamoto M, Takayanagi H, *Ishii M. Dnmt3a regulates osteoclast differentiation by coupling to an S-adenosyl methionine-producing metabolic pathway. *Nature Med.* 21, 281-7, 2015.
- 5) Yamanashi K, Minamizaki K, *Fujita Y. Identification of the *chlE* gene encoding oxygen-independent Mg-protoporphyrin IX monomethyl ester cyclase in cyanobacteria. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 463, 1238-1333, 2015.

<計画研究 A02・三木班>

- 1) \blacktriangle Yamazaki D, Funato Y, Miyata H, Ikawa M, *Miki H. Complementary role of CNNM2 in sperm motility and Ca²⁺ influx during capacitation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 474, 441-446, 2016.
- 2) \blacktriangle Yamazaki D, Miyata H, Funato Y, Fujihara Y, Ikawa M, *Miki H. The Mg²⁺ transporter CNNM4 regulates sperm Ca²⁺ homeostasis and is essential for reproduction. *J. Cell Sci.* 129, 1940-1949, 2016.
- 3) Hattori K, Naguro I, Okabe K, Funatsu T, Furutani S, Takeda K, *Ichijo H. ASK1 signalling regulates brown and beige adipocyte function. *Nature Commun.* 7, 11158, 2016.
- 4) Watanabe T, Sekine S, Naguro I, Sekine Y, *Ichijo H. Apoptosis Signal-regulating Kinase 1 (ASK1)-p38 Pathway-dependent Cytoplasmic Translocation of the Orphan Nuclear Receptor NR4A2 Is Required for Oxidative Stress-induced Necrosis. *J. Biol. Chem.* 290, 10791-10803, 2015.
- 5) Sekine S, *Ichijo H. Mitochondrial proteolysis: its emerging roles in stress responses. *Biochim. Biophys. Acta.* 1850, 274-280, 2015.
- 6) \blacktriangle Hirata Y, Funato Y, *Miki H. Basolateral sorting of the Mg²⁺ transporter CNNM4 requires interaction with AP-1A and AP-1B. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 455, 184-189, 2014.
- 7) \blacktriangle Funato Y, Yamazaki D, Mizukami S, Du L, Kikuchi K, *Miki H. Membrane protein CNNM4-dependent Mg²⁺ efflux suppresses tumor progression. *J. Clin. Invest.* 124, 5398-5410, 2014.
- 8) Hirata Y, Funato Y, Takano Y, *Miki H. Mg²⁺-dependent interactions of ATP with the cystathionine- β -synthase (CBS) domains of a magnesium transporter. *J. Biol. Chem.* 289, 14731-14739, 2014.

<計画研究 A02・赤池班>

- 1) Millikin R, Bianco CL, White C, Saund SS, Henriquez S, Sosa V, Akaike T, Kumagai Y, Soeda S, Toscano JP, Lin J, *Fukuto JM. The chemical biology of protein hydropersulfides: Studies of a possible protective function of biological hydropersulfide generation. *Free Radic. Biol. Med.* (in press).
- 2) \blacktriangle Fujii S, Sawa T, Nishida M, Ihara H, Ida T, Motohashi H, *Akaike T. Redox signaling regulated by an electrophilic cyclic nucleotide and reactive cysteine persulfides. *Arch. Biochem. Biophys.* 595, 140-146, 2016.
- 3) \blacktriangle Nishida M, Kumagai Y, Ihara H, Fujii S, Motohashi H, *Akaike T. Redox signaling regulated by electrophiles and reactive sulfur species. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 58, 91-98, 2016.
- 4) \blacktriangle Akashi S, Ahmed KA, Sawa T, Ono K, Tsutsuki H, Burgoyne JR, Ida T, Horio E, Pryszyzna O, Oike Y, Rahaman MM, Eaton P, Fujii S, *Akaike T. Persistent activation of cGMP-dependent protein kinase by a nitrated cyclic nucleotide via site specific protein S-guanylation. *Biochemistry* 55, 751-761, 2016.
- 5) Izumi M, Hidema J, Wada S, Kondo E, Kurusu T, Kuchitsu K, Makino A, *Ishida H. Establishment of monitoring methods for autophagy in rice reveals autophagic recycling of chloroplasts and root plastids during energy limitation. *Plant Physiology* 167, 1307-20, 2015.
- 6) Nakato R, Ohkubo Y, Konishi A, Shibata M, Kaneko Y, Iwawaki T, Nakamura T, Lipton SA, *Uehara T. Regulation of the unfolded protein response via S-nitrosylation of sensors of endoplasmic reticulum stress. *Sci. Rep.* 5, 14812, 2015.
- 7) Makino K, Osuka K, Watanabe Y, Usuda N, Hara M, Aoyama M, Takayasu M, *Wakabayashi T. Increased ICP promotes CaMKII-mediated phosphorylation of neuronal NOS at Ser847 in the hippocampus immediately after subarachnoid hemorrhage. *Brain Res.* 1616, 19-25, 2015.
- 8) \blacktriangle Chen W, Rosser EW, Matsunaga T, Pacheco A, Akaike T, *Xian M. The development of fluorescent probes for visualizing intracellular hydrogen polysulfides. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 54, 13961-13965, 2015.
- 9) Marutani E, Yamada M, Ida T, Tokuda K, Ikeda K, Kai S, Shirozu K, Hayashida K, Kosugi S, Hanaoka K, Kaneki M, Akaike T, *Ichinose F. Thiosulfate mediates cytoprotective effects of hydrogen sulfide against neuronal ischemia. *J. Am. Heart Assoc.* 4, e002125, 2015.
- 10) \blacktriangle Honda K, Yamada N, Yoshida R, Ihara H, Sawa T, Akaike T, *Iwai S. 8-Mercapto-cyclic GMP mediates hydrogen sulfide-induced stomatal closure in Arabidopsis. *Plant Cell Physiol.* 56, 1481-1489, 2015.
- 11) \blacktriangle *Nishida M, Toyama T, and Akaike T. Role of 8-nitro-cGMP and its redox regulation in cardiovascular electrophilic signaling. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 73, 10-17, 2014.
- 12) \blacktriangle Ono K, Akaike T, Sawa T, Kumagai Y, Wink DA, Tantillo DJ, Hobbs AJ, Nagy P, Xian M, Lin J, *Fukuto JM. The redox chemistry and chemical biology of H₂S, hydropersulfides and derived species: Implications to their possible biological activity and utility. *Free Radic. Biol. Med.* 77, 82-94, 2014.
- 13) \blacktriangle Ida T, Sawa T, Ihara H, Tsuchiya Y, Watanabe Y, Kumagai Y, Suematsu M, Motohashi H, Fujii S, Matsunaga T, Yamamoto M, Ono K, Devarie-Baez NO, Xian M, Fukuto JM, *Akaike T. Reactive cysteine persulfides and S-polythiolation regulate oxidative stress and redox signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111, 7606-7611, 2014.

<計画研究 A02・住本班>

- 1) *Takagi H, Taguchi J, Naino T. Proline accumulation protects *Saccharomyces cerevisiae* cells in the stationary phase from ethanol stress by reducing reactive oxygen species levels. *Yeast* (in press).
- 2) Ishibashi R, Kozuki S, Kamakura S, Sumimoto H, *Toyoshima F. c-Rel regulates *Inscuteable* gene expression during mouse embryonic stem cell differentiation. *J. Biol. Chem.* 291, 3333-3345, 2016.
- 3) \blacktriangle Yoshikawa Y, Nasuno R, Kawahara N, Nishimura A, Watanabe D, *Takagi H. Regulatory mechanism of the flavoprotein Tah18-dependent nitric oxide synthesis and cell death in yeast. *Nitric Oxide* 57, 85-91, 2016.
- 4) \blacktriangle Atsuti RI, Watanabe D, *Takagi H. Nitric oxide signaling and its role in oxidative stress response in *Schizosaccharomyces pombe*. *Nitric Oxide* 52, 29-40, 2016.

- 5)▲Nasuno R, Hirase S, Norifune S, Watanabe D, *Takagi H. Structure-based molecular design for thermostabilization of N-acetyltransferase Mpr1 involved in a novel pathway of L-arginine synthesis in yeast. *J. Biochem.* 159, 271-277, 2016.
- 6)▲Yamazaki S, Akira S, *Sumimoto H. Glucocorticoid augments lipopolysaccharide-induced activation of the IκBζ-dependent genes encoding the anti-microbial glycoproteins lipocalin 2 and pentraxin 3. *J. Biochem.* 157, 399-410, 2015.
- 7)▲Takayanagi H, Yuzawa S, *Sumimoto H. Structural basis for recognition of the scaffold protein Frmpd4/Preso1 by the TPR domain of the adaptor protein LGN. *Acta Crystallographica F* 71, 175-183, 2015.
- 8)Wijayanti I, Watanabe D, Oshiro S, *Takagi H. Isolation and functional analysis of yeast ubiquitin ligase Rsp5 variants that alleviate the toxicity of human α-synuclein. *J. Biochem.* 157, 251-260, 2015.
- 9)▲Matono R, Miyano K, Kiyohara, T, *Sumimoto H. Arachidonic acid induces direct interaction of the p67^{phox}-Rac complex with the phagocyte oxidase Nox2, leading to superoxide production. *J. Biol. Chem.* 289, 24874-24884, 2014.
- 10)▲Abo M, Minakami R, Miyano K, Kamiya M, Nagano T, Urano Y, *Sumimoto H. Visualization of phagosomal hydrogen peroxide production by a novel fluorescent probe that is localized via SNAP-tag labeling. *Anal. Chem.* 86, 5983-5990, 2014.
- 11)Watanabe M, Terasawa M, Miyano K, Yanagihara T, Urano T, Sanematsu F, Nishikimi A, Côté J-F, Sumimoto H, *Fukui, Y. DOCK2 and DOCK5 act additively in neutrophils to regulate chemotaxis, superoxide production and extracellular trap formation. *J. Immunol.* 193, 5560-5567, 2014.
- 12)Kohda A, Yamazaki S, *Sumimoto H. DNA element downstream of the κB site in the *Lcn2* promoter is required for transcriptional activation by IκBζ and NF-κB p50. *Genes Cells* 19, 620-628, 2014.
- 13)Miyano K, *Sumimoto H. N-linked glycosylation of the superoxide-producing NADPH oxidase Nox1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 443, 1060-1065, 2014.
- 14)▲Nasuno R, Aitoku M, Manago Y, Nishimura A, Sasano Y, *Takagi H. Nitric oxide-mediated antioxidative mechanism in yeast through the activation of the transcription factor Mac1. *PLoS One* 9, e113788, 2014.

<計画研究 A02・伊東班>

- 1)*Kobayashi EH, Suzuki T, Funayama R, Nagashima T, Hayashi M, Sekine H, Tanaka N, Moriguchi T, Motohashi H, Nakayama K, *Yamamoto M. Nrf2 suppresses macrophage inflammatory response by blocking proinflammatory cytokine transcription. *Nature Commun.* 7, 11624, 2016.
- 2)▲#Saito R, #*Suzuki T, Hiramoto K, Asami S, Naganuma E, Suda H, Iso T, Yamamoto H, Morita M, Baird L, Furusawa Y, Negishi T, Ichinose M, *Yamamoto M. Characterizations of Three Major Cysteine Sensors of Keap1 in Stress Response. *Mol. Cell. Biol.* 36, 271-284, 2016. (#equal contribution)
- 3)Ito A, Shimazu T, Maeda S, Shah AA, Tsunoda T, Iemura S, Natsume T, Suzuki T, Motohashi H, Yamamoto M, *Yoshida M. The subcellular localization and activity of cortactin is regulated by acetylation and interaction with Keap1. *Sci. Signal.* 8, ra120, 2015.
- 4)*Suzuki T, Yamamoto M. Molecular basis of the Keap1-Nrf2. *Free Radic. Biol. Med.* 88, 93-100, 2015.
- 5)Hamazaki J, Hirayama S, *Murata S. Redundant roles of Rpn10 and Rpn13 in recognition of ubiquitinated proteins and cellular homeostasis. *PLoS Genet.* 11, e1005401, 2015.
- 6)Tomita T, Hamazaki J, Hirayama S, McBurney MW, Yashiroda H, *Murata S. Sirt1-deficiency causes defective protein quality control. *Sci. Rep.* 5, 12613, 2015.
- 7)▲Mimura J, *Itoh K. Role of Nrf2 in the pathogenesis of atherosclerosis. *Free Radic. Biol. Med.* 221-232, 2015.
- 8)▲*Itoh K, Ye P, Matsumiya T, Tanji K, Ozaki T. Emerging functional cross-talk of Keap1-Nrf2 system and mitochondria. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 56, 91-97, 2015.
- 9)Ye P, *Mimura J, Okada T, Sato H, Liu T, Maruyama A, Ohyaama C, Itoh K. Nrf2- and ATF4-dependent upregulation of xCT modulates the sensitivity of T24 bladder carcinoma cells to proteasome inhibition. *Mol. Cell. Biol.* 34, 3421-3434, 2014.
- 10)▲Maruyama A, Mimura J, *Itoh K. Non-coding RNA derived from the region adjacent to the human HO-1 E2 enhancer selectively regulates HO-1 gene induction by modulating Pol II binding. *Nucleic Acids Res.* 42, 13599-13614, 2014.
- 11)Hiramoto K, Satoh H, *Suzuki T, Moriguchi T, Pi J, Shimosegawa T, *Yamamoto M. Myeloid lineage-specific deletion of antioxidant system enhances tumor metastasis. *Cancer Prev. Res.* 7, 835-844, 2014.
- 12)Miyazaki Y, Shimizu A, Pastan I, Taguchi K, Naganuma E, Suzuki T, Hosoya T, Yokoo T, Saito A, Miyata T, Yamamoto M, *Matsusaka T. Keap1 inhibition attenuates glomerulosclerosis. *Nephrol. Dial. Transplant.* 29, 783-791, 2014.
- 13)Uechi H, Hamazaki J, *Murata S. Characterization of the testis-specific proteasome subunit α4s in mammals. *J. Biol. Chem.* 18, 12365-74, 2014.

<計画研究 A02・内田班>

- 1)▲Shibata T, Takahashi K, Matsubara Y, Inuzuka E, Nakashima F, Takahashi N, Kozai D, Mori Y, *Uchida K. Identification of a prostaglandin D₂ metabolite as a neuritegenesis enhancer targeting the TRPV1 ion channel. *Sci. Rep.* 6, 21261, 2016.
- 2)▲Nishimura A, Sunggip C, Tozaki-Saitoh H, Shimauchi T, Numaga-Tomita T, Hirano K, Ide T, Boeynaems JM, Kurose H, Tsuda M, Robaye B, Inoue K, *Nishida M. The purinergic P2Y6 receptor heterodimerizes with the angiotensin AT1 receptor to promote angiotensin II-induced hypertension. *Sci. Signal.* 9, ra7, 2016.
- 3)▲Sawamura S, Hatano M, Takada Y, Hino K, Kawamura T, Tanikawa J, Nakagawa H, Hase H, Nakao A, Hirano M, Rotrattanadumrong R, Kiyonaka S, Mori MX, Nishida M, Hu Y, Inoue R, Nagata R, *Mori Y. Screening of Transient Receptor Potential Canonical Channel Activators Identifies Novel Neurotrophic Piperazine Compounds. *Mol. Pharmacol.* 89, 348-363, 2016.
- 4)▲Numaga-Tomita T, *Nishida M, Putney JW Jr, *Mori Y. TRPC3 amplifies B cell receptor-induced ERK signaling via protein kinase D-dependent Rap1 activation. *Biochem. J.* 473, 201-210, 2015.
- 5)Shinkai Y, Abiko Y, Ida T, Miura T, Kakehashi H, Ishii I, Nishida M, Sawa T, Akaike T, *Kumagai Y. Reactive Sulfur Species-Mediated Activation of the Keap1-Nrf2 Pathway by 1,2-Naphthoquinone through Sulfenic Acids Formation under Oxidative Stress. *Chem. Res. Toxicol.* 28, 838-847, 2015.
- 6)▲Nishida M, Kumagai Y, Ihara H, Fujii S, Motohashi H, *Akaike T. Redox signaling regulated by electrophiles and reactive sulfur species. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 58, 91-98, 2016.
- 7)▲Kunieda K, Tsutsuki H, Ida T, Kishimoto Y, Kasamatsu S, Sawa T, Goshima N, Itakura M, Takahashi M, Akaike T, *Ihara H. 8-Nitro-cGMP Enhances SNARE Complex Formation through S-Guanylation of Cys90 in SNAP25. *ACS Chem. Neurosci.* 6, 1715-25, 2015.
- 8)Nakajima H, Kubo T, Ihara H, Hikida T, Danjo T, Nakatsuji M, Shahani N, Itakura M, Ono Y, Azuma YT, Inui T, Kamiya A, Sawa A, *Takeuchi T. Nuclear-translocated Glyceraldehyde-3-phosphate Dehydrogenase Promotes Poly(ADP-ribose) Polymerase-1 Activation during Oxidative/Nitrosative Stress in Stroke. *J. Biol. Chem.* 290, 14493-14503, 2015.

<公募研究 A02>

- 1)Abiko Y, Yoshida E, Ishii I, Fukuto JM, Akaike T, *Kumagai Y. Involvement of reactive persulfides in biological dimethylmercury sulfide formation. *Chem. Res. Toxicol.* 28, 1301-1306, 2015.
- 2)Abiko Y, Ishii I, Kamata S, Tsuchiya Y, Watanabe Y, Ihara H, Akaike T, *Kumagai Y. Formation of sulfur adducts of

N-acetyl-p-benzoquinoneimine, an electrophilic metabolite of acetaminophen in vivo: Participation of reactive persulfides. *Chem. Res. Toxicol.* 28, 1796-1802, 2015.

- 3) Adachi H, Nakano T, Miyagawa N, Ishihama N, Yoshioka M, Katou Y, Yaeno T, Shirasu K, *Yoshioka H. WRKY transcription factors phosphorylated by MAPK regulate a plant immune NADPH oxidase in *Nicotiana benthamiana*. *Plant Cell* 27, 2645-2663, 2015.

<計画研究 A03・浦野班>

- 1) ▲Kojima R, Takakura H, Kamiya M, Kobayashi E, Komatsu T, Ueno T, Terai T, Hanaoka K, Nagano T, *Urano Y. Development of a Sensitive Bioluminogenic Probe for Imaging Highly Reactive Oxygen Species in Living Rats. *Angew. Chem. Int. Ed.* 54, 14768-14771, 2015.
- 2) ▲Asanuma D, Sakabe M, Kamiya M, Yamamoto K, Hiratake J, Ogawa M, Kosaka N, Choyke PL, Nagano T, Kobayashi H, *Urano Y. Sensitive β -galactosidase-targeting fluorescence probe for visualizing small peritoneal metastatic tumours in vivo. *Nature Commun.* 6, 6463, 2015.
- 3) ▲Takakura H, Kojima R, Kamiya M, Kobayashi E, Komatsu T, Ueno T, Terai T, Hanaoka K, Nagano T, *Urano Y. New Class of Bioluminogenic Probe Based on Bioluminescent Enzyme-Induced Electron Transfer: BioLeT. *J. Am. Chem. Soc.* 137, 4010-4013, 2015.
- 4) ▲Hirakawa Y, Yoshihara T, Kamiya M, Mimura I, Fujikura D, Masuda T, Kikuchi R, Takahashi I, Urano Y, Tobita S, *Nangaku M. Quantitating intracellular oxygen tension in vivo by phosphorescence lifetime measurements. *Sci. Rep.* 5, 17838, 2015.
- 5) ▲Hasebe N, Suzuki K, Horiuchi H, Suzuki H, Yoshihara T, Okutsu T, *Tobita S. Absolute phosphorescence quantum yields of singlet molecular oxygen in solution determined using an integrating sphere instrument. *Anal. Chem.* 87, 2360-2366, 2015.
- 6) ▲Yoshihara T, Murayama S, *Tobita S. Ratiometric molecular probes based on dual emission of a blue fluorescent coumarin and a red phosphorescent cationic iridium(III) complex for intracellular oxygen sensing. *Sensors* 15, 13503-13521, 2015.
- 7) ▲Ieda N, Hishikawa K, Eto K, Kitamura K, Kawaguchi M, Suzuki T, Fukuhara K, Miyata N, Furuta T, Nabekura J, *Nakagawa H. A double bond-conjugated dimethylnitrobenzene-type photolabile nitric oxide donor with improved two-photon cross section. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 25, 3172-3175, 2015.

<公募研究 A03>

- 1) ▲Yamada H, Hasegawa Y, Suzuki Y, Imai H, Matsuda T, Kimura Y, Toshimitsu A, *Aoyama Y, *Kondo T. Magnetic resonance imaging of tumor with a self-traceable polymer conjugated with an antibody fragment. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 25, 2675-2678, 2015.
- 2) ▲Miyake Y, Ishikawa S, Kimura Y, Son A, Imai H, Matsuda T, Yamada H, Toshimitsu A, *Kondo T. Pharmacokinetics of chiral dendrimer-triamine-coordinated Gd-MRI contrast agents evaluated by in vivo MRI and estimated by in vitro QCM. *Sensors* 15, 31973-31986, 2015.
- 3) ▲Miyake Y, Kimura Y, Orito N, Imai H, Matsuda T, Toshimitsu A, *Kondo T. Synthesis and functional evaluation of chiral dendrimer-triamine-coordinated Gd complexes with polyaminoalcohol end groups as highly sensitive MRI contrast agents. *Tetrahedron* 71, 4438-4444, 2015.

2. Web、マスメディア、公開行事等による情報発信

<マスメディアによる情報発信(全 56 件)>

- 1) 近藤輝幸, 新聞掲載「医療機器 痛くない 患者の負担軽く、受診促す」日本経済新聞, 2016年5月23日
- 2) 西田基弘, 新聞掲載「加齢で血圧が高まるしくみ、マウスで解明」朝日新聞等, 2016年1月21日
- 3) 森泰生, テレビ出演「日本テレビ世界で一番受けたい授業」放映 2015年9月26日
- 4) 山本雅之, 新聞掲載「鎌状赤血球症疾患に光 治療薬候補を発見」日刊工業新聞ほか 2015年9月15日
- 5) 森泰生, 新聞掲載「細胞内温度の不均一性めぐる論争がホットに」科学新聞, 2015年9月12日
- 6) 朽津和幸, 新聞掲載「イネ葉緑体の再利用過程を解明」日経産業新聞など, 2015年4月16日
- 7) 三浦恭子, 雑誌掲載「日本を突破する100人」, AERA, 2014年12月22日発売
- 8) 三浦恭子, 新聞掲載「ハダカデバネズミの老化耐性・癌化耐性研究」中日新聞・東京新聞, 2014年9月14日

<アウトリーチ活動(全 79 件)>

- 1) 三浦恭子, 飼育員カフェ(円山動物園)「ハダカデバネズミ」2016年2月11日
- 2) 森泰生, 24回「地球環境フォーラム市民公開講演「動物にとっての酸素が持つ存外に微妙な意味」2016年2月6日
- 3) 森泰生, 京都大学 ELCA S 基盤コース模擬講義「生命体と酸素の存外に微妙な関係」2015年10月17日
- 4) 三木裕明, 大阪府立高津高等学校進路講演会「がんの悪性化: 集団の中での細胞の振る舞い」2015年10月8日
- 5) 三浦恭子, 第19回分生研シンポジウム(一般公開・東京大学)「老化耐性・癌化耐性齧歯類ハダカデバネズミを利用した、造腫瘍性の無い iPS 細胞の樹立」2014年12月19日

<本領域が主催・共催した研究会・シンポジウム等(全 13 件)>

- 1) 日本農芸化学会 2016 年度大会「酸素微生物学 ～微生物に学ぶ「酸素リモデリング」とその応用～」2016年3月29日
- 2) シンポジウム「活性イオン分子種の化学と生体機能の解明に向けて」2016年1月23日
- 3) BMB2015「NADPH oxidase による活性酸素種の積極的生成と動物・植物・菌類の高次生命機能」2015年12月2日
- 4) 国際シンポジウム「An International Symposium on Oxygen Biology」2015年7月26日
- 5) 国際研究会「The 3rd Conference of the Japanese Association for Hypoxia Biology」2015年7月25日
- 6) 第15回日本蛋白質科学年會「酸素リモデリング・レドックスシグナルとタンパク質修飾の新たな潮流」2015年6月25日
- 7) 研究会「第13回がん&ハイポキシア研究会」2015年6月5日～6日
- 8) 技術支援セミナー「第二回新学術領域技術セミナー」2015年4月30日
- 9) 第88回日本薬理学会年會シンポジウム「心血管カチオンチャネル研究の最前線」2015年3月19日
- 10) 第88回日本薬理学会年會サテライトシンポジウム「イオンチャネルの分子多様性とその高次機能制御」2015年3月18日
- 11) 国際シンポジウム「Ion channels, transporters, and small molecules as key regulators of homeostatic systems」2015年3月17日
- 12) 技術支援セミナー「第一回新学術領域技術セミナーポリサルファ化同定のためのゲルシフトアッセイ」2014年11月7日
- 13) シンポジウム「レドックスシンポジウム: 酸素生物学の誕生」2014年10月11日

6. 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、研究組織間の連携状況について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。

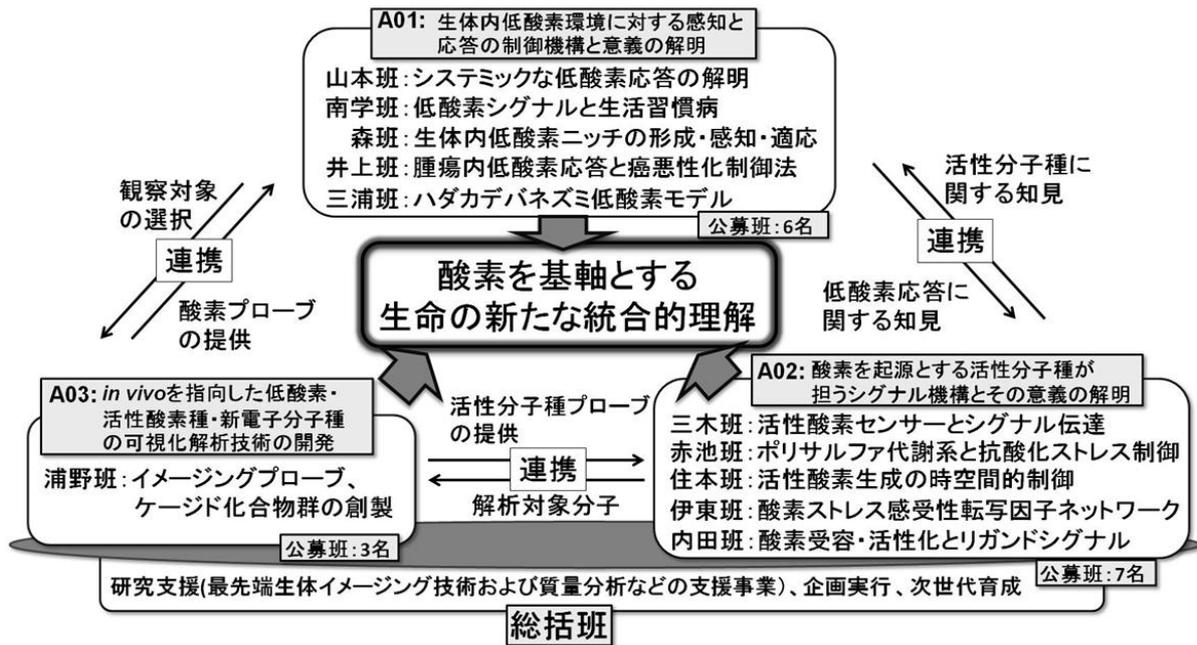


図4. 研究計画の概要

本領域においては、個々の研究対象のユニークさを十分に考慮すると同時に、普遍性の高い酸素生物学の新概念確立をめざす研究戦略が必須である。そのために、多彩な専門知識・技術と、異なる研究背景を有するそれぞれのトップランナー参加者が計画研究を遂行するにあたり、領域の基本概念、酸素リモデリングを十分に共有し、有機的連携を図ることが重要になる。A01 は生体内酸素領域形成の能動性(酸素リモデリング)を明らかにする、本領域の起点ともなる項目である。A02 では、その反応性が故に ROS・親電子分子種が酸素シグナルを増幅する生理活性を有することを、明確な機構の考証と生物学的意義の解明に基づき示す。即ち、酸素環境を受動するのではなく、最適化して活用するという生体の酸素リモデリングにおける能動性の基盤を追究する A02 は、まさに本領域の独創性に直結する研究項目である。A03 に関しては、*in vitro* 培養細胞系では有効な低酸素、ROS・親電子分子種の検出手法が得られているにもかかわらず、生体内 *in vivo* での高感度かつ選択的な観察手法は限られているという認識が重要である。A03 はこの現状を打開し、生体内酸素環境を実証するために必須の技術的基盤となっている。各計画代表は生体内酸素リモデリングの確立(A01)、シグナル機構(A02)、観察手法の開発(A03)という各研究項目のミッションに貢献し、項目間の連携(図4)の中で役割を果たすことが重要である。

本領域では、積極的に領域内での研究の有機的な連携がなされ、合計 49 件の共同研究が行われている(図5)。計画班同士の共同研究は 30 件あり、その内の約半数である 13 件が項目間の共同研究になっており、領域内の連携は順調に行われている。また、平成 27 年度から開始された第一期公募研究班と計画研究班の共同研究が 17 件行われている。特に、A01 班松本の水酸化プロテオーム解析などのプロテオーム技術や、A03 班今村のタンパク質型蛍光プローブ技術は、計画班にはなかった技術であり、計画班と公募班の共同研究により領域研究の推進強化が一層図られている。さらに、公募班同士の共同研究もすでに 3 件始まっており、本領域を通じて新たな研究ネットワークが構築されつつある。

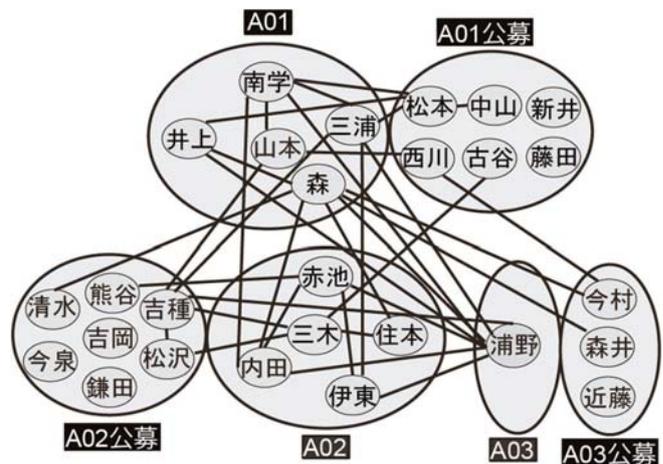


図5. 本領域の連携状況

具体的な連携研究による成果の例

・南学は、山本班との共同研究により、hRNA library を用いたスクリーニングにより、両シグナルを繋ぐ鍵となる転写因子 CEBPdelta を新たに同定することに成功した。CEBPdelta は IL-1 β などの炎症シグナルにより誘導され、HIF-1 α プロモーターに結合することで、その発現を亢進するのみならずその転写活性も増強していた。(Yamaguchi, *Kidney Int.*, 2015)。

・脂肪肝など生活習慣病の病態では慢性的な炎症プロセスが活性化していると考えられるが、エリスロポエチン産生を含む造血系への関わりについては明らかではなかった。鈴木(山本班分担)は武田(南学班分担)との連携により、HIF-2 α 依存的なクロマチン構造変化が、肝臓におけるエリスロポエチン産生および脂肪肝の発症に重要であることを明らかにした(Tojo, *Mol. Cell Biol.*, 2015)。

・臓慢性腎臓病の病態進展過程において、腎組織の低酸素環境は重要な役割を果たしているものの、これまで細胞内酸素濃度を定量的に測定することは困難であった。南学は、浦野と飛田(浦野班分担)と連携して、イリジウム錯体修飾物を有機ルミネッセンスプローブとして利用した臓器酸素濃度の評価方法の確立に成功した。この新規に確立した手法を用いて、腎臓のリアルタイムイメージングによる腎臓の酸素分圧測定を行い、マウス腎虚血再灌流モデルにおいて腎臓の酸素分圧が変化することを見出した(Hirakawa, *Sci. Rep.*, 2015)。

・非がん細胞におけるグルコース代謝は、酸素濃度の低下と共にグルコース酸化から解糖系へとシフトするが、これまでその分子機構は明らかでは無かった。武田(南学班分担)は杉浦(三浦班分担)と連携し、マクロファージおよび肝細胞において、HIF-1 α -PDK1 経路を介してピルビン酸のミトコンドリアへの流入を阻害することにより、解糖系へとシフトしていることを見出した(Active glycolysis の発見)。Active glycolysis はマクロファージにおいてはその遊走能において必須であること、また active glycolysis 阻害薬であるジクロロ酢酸にその遊走が抑制されることを明らかにした(Semba, *Nat. Commun.*, 2016)。本機構は、マクロファージが血管から末梢へと遊走する際に必須であり、血管から遠位のより低酸素の環境に細胞が備える一種の酸素リモデリングと考えられる。

・森は森井(A03 班公募)と共同で、エネルギー代謝の好氣的なミトコンドリアから嫌氣的な解糖系へのスイッチングを定量的に観察できる、蛍光性の温度(熱産生)センサー-tsGFP の有効性の理論的基盤の確立に成功した(Kiyonaka, *Nature Methods*, 2015)。

・住本は浦野と共同で、細胞内コンパートメント毎に空間特異的に ROS を高感度で検出するための方法として、H₂O₂ を特異的に高感度で検出可能な 5-(4-nitrobenzoyl)carbonylfluorescein を O⁶-benzylguanine 化した蛍光試薬 NBzF-BG を開発した。PDGF 受容体の膜貫通領域と融合させた SNAP タグ(SNAP-PDGFR-TM)を発現させた好中球(Nox2 を高発現)を用いて、NBzF-BG を細胞膜特異的にラベルし、好中球の食作用時の Nox2 による H₂O₂ 生成を、共焦点レーザー顕微鏡を用いて検出する測定系を確立し、好中球食作用時の H₂O₂ 生成を可視化することに成功した(Abo, *Anal. Chem.*, 2014)。

・内田は森と共同で、TRPV1 チャネルの Cys 残基への炎症関連親電子物質 15-Deoxy- Δ -^{12,14}-prostaglandin J₂ (15d-PGJ₂)の酸化的付加が、神経様細胞 PC12 の神経様突起伸長を促すことを示した(Shibata, *Sci. Rep.*, 2016)。

7. 若手研究者の育成に係る取組状況（1 ページ以内）

領域内の若手研究者の育成に係る取組状況について記述してください。

若手会議の開催

新学術領域「ダイニングコード:細胞死を起点とする生体制御ネットワークの解明(領域代表:田中正人)」と合同で、若手会議を開催した(千葉:平成28年1月26~28日)。**関根(三木班分担)**、**武田(南学班分担)**、**西田(内田班分担)**を中心に若手が企画・運営を行った。両領域から総勢97名の多くの若手研究者や学生が参加し、口頭発表40演題、ポスター42演題が発表され、若手研究者可能な限り多くの発表の機会が設けられた。生体恒常性の分野で問題意識を共有できる2つの領域が合同で行うことで、緻密な議論の展開により、将来の共同研究にもつながる有意義な機会を得た。また、生体恒常性の分野の大局的な分野の発展に関する熱い議論も取り交わされた。この他に、領域内の若手研究者交流会(東京:平成27年3月14日)が開催されており、お互いの研究内容を報告するだけでなく、若手の会の運営方法などが話し合われた。

シンポジウム・研究会における若手オーガナイザーの積極的起用

本領域の若手研究者は、多くのシンポジウム・研究会でオーガナイザーを務めている(計28件)。特に、領域内のシニア研究者は、若手研究者を積極的にオーガナイザーに起用することで、若手の育成につなげている。

<代表例>(下線は領域内シニア研究者)

1. **鈴木(山本班)**、**南嶋(三浦班)**「低酸素応答システムの分子機構と多様な役割」第87回日本生化学会
2. **西田(内田班)**「心血管カチオンチャネル研究の最前線」第88回日本薬理学会年会
3. **武田(南学班)**、**井上**「低酸素バイオロジーの最前線:細胞機能を制御する低酸素シグナル」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
4. **三浦**「オモロイ生き物の分子生物学」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
5. **西田(内田班)**、**今泉(公募班)**「ミトコンドリア品質管理の生物学的理解とその医療応用」第89回日本薬理学会年会
6. **西田(内田班)**、**森**「蛋白質の機能修飾から読み解く酸素生物学」第16回日本蛋白質科学会
7. **鈴木(山本班)**「低酸素応答とチャネル制御」第69回日本酸化ストレス学会
8. **西田(内田班)**「ミトコンドリア・オルガネラ機能のレドックス制御」第69回日本酸化ストレス学会
9. **中山**「低酸素バイオロジーの最前線-その分子機構から疾患まで-」第39回日本分子生物学会年会
10. **鈴木(山本班)**、**南学**「Hypoxia and disease」第89回日本生化学会大会シンポジウム
11. **西田(内田班)**、**熊谷(公募班)**「オルガネラ環境を制御するレドックスシグナル」第89回日本生化学会大会

研究室主宰者としての若手研究者

本領域内では、研究室主宰者として研究室を運営している多くの若手研究者が参画している。**西田(岡崎総合バイオサイエンスセンター・教授)**は、自身の研究室単独で研究成果を上げるだけでなく、**森**、**赤池**、**澤(赤池班分担)**、**熊谷(公募班)**など領域内のシニア研究者との共同研究でも成果を上げている。研究以外にも、国際活動支援班の国際ネットワーク構築委員会に加わり、領域の国際ネットワーク構築への貢献や、上述のように多くのシンポジウム・研究会のオーガナイザーとして働くなど、本領域のみならず酸素生物学全般で中心的に活躍している。計画研究の代表研究者である**三浦**は、本領域の開始後、特任講師(慶応義塾大学)から講師(北海道大学)になり、研究室主宰者となった。既に、ハダカデバネズミのiPS細胞作製の成功について論文を発表しているだけでなく、**三浦**の研究は注目を浴びており、一般市民向けの講演やメディアに登場し、積極的なアウトリーチ活動も行っている。公募班の中にも研究室主宰者としての活躍する若手研究者(**中山**、**今村**)が採択されており、本領域内での共同研究や人材交流などにより、さらなる活躍が期待できる。このように、本領域内において次代を担う若手研究者は順調に育ってきており、今後も、総括班や国際支援班が中心となって若手研究者の研究活動や国際共同研究など支援することにより、さらなる飛躍が期待出来る。

8. 研究費の使用状況（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。

本領域においては、生体内 *in vivo* での酸素、ROS・親電子分子種の時空間性解析が枢要である。このために、総括班が中心となり領域全体の技術支援を拠点形成することにより強力に推進している。以下に、総括班での共通備品を示すと共に、使用状況を報告する。

メタボローム・アダクトーム解析

購入備品

・高速液体クロマトグラフ質量分析計・(株)島津製作所製 LCMS-8050・東北大学(赤池)

東北大学(赤池)では、新規なレドックス制御メディエーターである活性イオウ分子(persulfide)・ポリチオール化合物等の精密分析拠点を形成している。多種多様な活性イオウ分子種の精密定量に不可欠な質量分析システムを導入し、領域内外の連携研究者の要望に応じて、ヒト、動物組織、培養細胞の活性イオウ分子・ポリチオール化合物のメタボローム解析、ならびにポリチオール化タンパク質のプロテオーム解析を随時行っている。具体的には、これまで7名の本領域内の班員から、質量分析装置を用いた解析を依頼されており、平均月3、4回の頻度で依頼測定を行っている。また、領域外からも平均月2回ほど、活性イオウ分子種関連の測定依頼に対応しており、これまでに12名(内3名は海外からの依頼)の依頼測定に対応している。この様に、領域内外から多くの依頼測定が行われており、効果的に使用されている。また、アダクトーム解析の技術支援を行う内田も、上原(赤池班分担研究者)から依頼された小胞体ストレスに関連するタンパク質に対する解析を行っており、総括班の共通機器だけでなく、各計画班の備品や専門技術においても、効果的に利用されている。

プローブ技術支援

購入備品

・共焦点スキヤナ・Molecular Device 社 X-Light-HS・名古屋市立大学(中川)

・高感度ハイブリッド GaAsP 検出器・独国ベッカーアンドヒックル社 HPM-100-40・群馬大学(飛田)

・ORCA-Flash4.0s CMOS カメラ・浜松ホトニクス C11578-22C・群馬大学(飛田)

・正立蛍光顕微鏡・独国ライカマイクロシステムズ社製 DM4000B・東京大学(浦野)

浦野(東京大)、飛田(群馬大学)、中川(名古屋市立大学)が担当し、班員からの要望に応じて有機小分子を基盤とする蛍光・発光イメージングプローブ群およびケージド化合物群を開発する際に使用している。中川は、赤池からの依頼により、オルガネラ局在型 persulfide プローブを設計・合成し、共焦点スキヤナを備えた蛍光顕微鏡により、培養細胞での新規蛍光プローブの機能を検証している。飛田は南学からの依頼測定において、腎尿細管細胞に飛田が開発した発光プローブを取り込ませ、ORCA-Flash4.0s CMOS カメラを装備した顕微鏡において観察した。さらに、南学との共同研究で、高感度ハイブリッド GaAsP 検出器を装備した顕微鏡により、腎臓表面の共焦点りん光寿命画像を測定し、腎臓表面の酸化状態を高空間分解能で撮影することに成功している。浦野は、南学との共同研究において、正立蛍光顕微鏡を用いることで、各種プローブの取り込みや局在の評価、組織切片の拡大蛍光画像を取得している。また、共通備品の他にも、遺伝子導入動物の作製を支援する山本は、赤池から依頼されているポリサルファ代謝化に関与する酵素群の網羅的遺伝子改変マウスの作製支援を行っており、共通機器以外の技術支援の活用も効果的に行われている。

可視化測定技術支援

・多光子励起レーザ走査型顕微鏡・オリンパス株式会社 FVMPE-RS・京都大学

器官・組織レベルでの酸素・ROS・メディエーター等の精密なリアルタイムイメージングの技術支援を目的としている。京都大学(森)では、多光子励起レーザ走査型顕微鏡の光学系の最適化が完了し、浦野班の新たなプローブ、井上の細胞塊培養技術をイメージングの準備も整え、データ取得を開始している。可視化技術セミナーを平成28年8月4～5日に予定し、領域内の研究者の参加により、共同利用を本格的に開始する予定である。

9. 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。

本研究領域では、3名の外部評価者が総括班に置かれている。以下、各評価者による評価を記す。

評価者：**長野 哲雄**（東京大学名誉教授、東京大学創薬機構客員教授）

従来、酸素は呼吸鎖における最終電子受容体であり、エネルギー産生の重要因子として認識されてきた。その後は活性酸素に代表される生体障害が主たる研究対象であった。しかしながら、プロリンヒドロキシ化酵素（PHD）、低酸素誘導転写因子（HIF）、Keap1 による転写因子 Nrf2 の制御、Thioredoxin、Nucleoredoxin、TRP チャネル群などの発表以来、酸素が従来考えられていたのとは異なる生理機能を有する分子として捉えられるようになってきた。そのような状況下、新学術領域研究を発足させ、この酸素分子を統合的に理解することを試みている。具体的には「生体内の構成細胞が、必要とする最適な酸素濃度領域を能動的に構築される仕組みを多方面から解き明かす」提案である。領域代表者はこれを「酸素リモデリング」と命名。

新学術領域研究として発足以来 2 年半が経過し、5 月下旬に第 3 回班会議が開催された。発表では、低酸素エフェクター群による細胞機能の調節機構、幹細胞の維持、がん細胞の悪性化、低酸素環境適応モデル動物を用いた代謝調節機構等では興味深い成果が次々と報告された。酸素、酸素関連活性種およびイオウ多量体によるシグナル機構の解明およびその生理的意義についての検討も精力的に行われ、更に上記の概念の実証には可視化技術の進展が求められるが、新規のセンサーも数多く発表され、センサーを用いた連携研究も活発に行われている。優れた成果を挙げており、合格点を与える事ができる。

全体のマネジメントも代表者の強い指導力と相俟って、ゴールに向けて着実なあゆみを進めていると言えるであろう。研究の進展に伴って、計画を超えた予想外の驚くべき成果が得られた研究室もあり、まさに研究の醍醐味であり、今後の進展が楽しみである。新学術領域研究では個々の研究者の力を合体させることで、1+1=3 の効果を生むことが期待されているが、その効果も出始めている。

酸素に関する生物学では、酸素分子の発見から約 240 年、過酸化水素の発見から今年丁度 200 年、SOD の発見から来年で 50 年、HIF1 および NOS の発見からはそれぞれ 25 年、30 年である。残り 2 年半で、本学術領域研究班からこれらに匹敵する成果とともに酸素リモデリングの概念が構築される事を期待する。

評価者：**二木 鋭雄**（東京大学名誉教授、産業技術総合研究所名誉リサーチャー）

酸素と生命との関わりは、生命の誕生以来、数十億年の進化の過程を経た現在においても根本的な課題である。酸素およびそれ由来の活性酸素種が生物に及ぼす作用の理解が近年急速に進展しているが、その詳細は未解明の状態である。生命の誕生から死にいたるあらゆる場面で酸素が重要な役割を担っており、ヒトの健康と疾患との深いかかわりを考えると、科学的興味だけにとどまらず、社会的にも重要な課題であることは明らかである。本研究課題は、新しい酸素生物学を展開することを目標として発足したもので、まさに時機を得たものである。酸素濃度、あるいは植物との比較などにも焦点を当てているところも、これまでの取り組みと比較して本研究の特徴と言えよう。

現在、この研究課題に先端的に取り組み、成果を上げてきている研究者が参画し、低酸素、シグナル、可視化という課題に取り組む3つの班それぞれで研究が精力的に進められている。それぞれに顕著な成果をあげているばかりでなく、班を越えた協同研究も進められ、相乗的な効果も認められており、高く評価できる。今後の進展が期待される。

この研究分野でよく用いられている用語である活性酸素、酸化ストレス、シグナル、抗酸化物、いずれにも多くの意味があることを再確認することが重要であろう。たとえば、活性酸素種には、反応性、選択性、特異性の異なる多種のものがおり、それを特定せずに用いると議論が混乱することが多い。酸化ストレスは、すべてシグナルという考え方もできる。生体にとって本質的に必須の、制御された合目的なシグナルと、たまたま生じる、制御されないシグナルとを区別することも必要と考えられる。これらのことも十分に考慮して、これからの研究を発展させることが期待される。

評価者：**井本 敬二**（自然科学研究機構 理事、生理学研究所長）

新学術領域研究「酸素生物学」は、旧来の理解を越えた新たな観点から酸素の生物学的意義を探究しようとするものである。研究班においては、2 つの観点を取り上げられている。第一の観点は、生体内に様々

なレベルで形成される低酸素環境の生物学的意義の研究である(A01 班)。個体レベルにおいて、酸素不足による障害に生存が脅かされぬよう、酸素供給の増加が誘導されることが知られてきたが、低酸素環境自身がむしろ積極的な意義を有している事が示されつつある。また第二の観点は(A02 班)、酸素や酸素を起源とする活性酸素種(ROS)や親電子分子種が果たす、シグナル分子としての役割である。近年、生体内の新たな活性分子種が次々と見出されているが、それらの関与しうる現象の一部が明かされたに過ぎず、系全体の視点からの機構的理解はなされていない。また本新学術領域においては、技術開発に重点をおいた A03 班も置かれている。「酸素生物学」がカバーする研究領域は、わが国においては伝統のある研究領域であり、その伝統を活かしつつも、「生体内の構成細胞が、必要とする最適な酸素濃度領域を能動的に構築する」、即ち、生体の「酸素リモデリング(remodeling)」という独自の概念に立脚し、展開することを目的としている。

総括班評価者である私は、2016 年 5 月 28 日、29 日の両日に東京大学弥生講堂一条ホールで開催された全体班会議に出席し、班員のほぼ全員の発表を聴く機会を得た。口頭発表は 44 題で、そのうち 12 題は 25 分、他は 5 分の発表であり、またポスター発表が 48 題あった。専門領域が異なる私にとって、5 分間の口頭発表では、研究の進捗状況を把握することは必ずしも容易でなかったが、いずれの分野でも着実に研究が進展していることが理解できた。また班員の間での共同研究や研究リソースの相互提供が多くおこなわれていることがわかった。

本新学術領域の班員はいずれもそれぞれの研究領域をリードする研究者であり、各研究グループの研究が発展し、本領域全体としても研究が順調に発展して成果をあげていると言える。領域代表の森泰生教授が本新学術領域の目的を常に確認し、研究が発散してしまうことなく領域研究としての強みを活かす配慮をしていることが感じられた。やや的外れかもしれないが敢えて意見を述べるなら、ほとんどの研究手法がオーソドックスな手法であり、網羅的な手法を用いた研究がわずかであった点が気になった。全体像を把握するには、個別的な標的を研究する手法と網羅的な手法の両方が必要であり、このような新学術領域研究においては、その連携により、より画期的な成果が生まれる可能性があると考えられる。今後、さらなる連携研究の発展により、森泰生教授が強調されている「酸素リモデリング」の概念に立脚した新たな研究展開がなされることを期待したい。

10. 今後の研究領域の推進方策（2 ページ以内）

今後どのように領域研究を推進していく予定であるか、研究領域の推進方策について記述してください。また、領域研究を推進する上での問題点がある場合は、その問題点と今後の対応策についても記述してください。また、目標達成に向け、不足していると考えているスキルを有する研究者の公募研究での重点的な補充や国内外の研究者との連携による組織の強化についても記述してください。

領域研究の方向性

本領域の酸素リモデリングの探究においては、低酸素環境の設定の「能動性(activeness)」が重要なポイントとなる。現段階で既に、**井上**が酸素消費の促進による酸素濃度の低下を、**武田**がピルビン酸のミトコンドリアへの流入阻害による解糖系へのシフトする Active glycolysis を示している。生体内低酸素環境の送達を担う生理応答(呼吸、血管形成・成熟、造血等)を抑制する仕組みについては、**森**が TRPA1 酸素センサーチャネルを介した正常酸素濃度の外気下での呼吸抑制を、**山本**が低酸素環境下での Epo 産生の負の制御機構見出している。このような酸素リモデリングを「回転させる」仕組みの解明に向けた研究を、本領域は今後さらに強化していく。

酸素リモデリングを実体として捉えるためには、*in vivo* での酸素・ROS 可視化が特に重要になってくる。領域として推進してきたプローブを使った可視化技術に加え、生体全体の観察に強みがある非侵襲的な核磁気共鳴を使ったイメージング技術(MRI)等なども領域として取り込んでいく必要がある。未導入のオミックス解析も重要である。同様に、低酸素・ROS・親電子物質の *in vivo* 生物学機能を追究するためには、モデル生物もますます重要である。既に、ハダカデバネズミがこの方向性に合致した哺乳動物として**三浦**班を中心とした領域内連携研究が進んでいるが、それを強化しながらも他生物種への展開も模索する。

重要性が増してくる具体的な研究対象として挙げられるのが、低酸素環境下でのミトコンドリアからの ROS 産生である。この現象は、長く疑問視され議論がなされてきたが、低酸素応答において電子過剰(還元的)なミトコンドリアからの ROS や NO の産生を仲介する分子実体(nitrite、システイン含有抗酸化タンパク質、抗酸化有機小分子)が徐々に明らかになり、研究領域としても本経路を PHD-HIF 経路に加えて重要視する必要がある。また、**赤池**班は非常に多くのタンパク質において、タンパク質システイン残基にポリスルフィド鎖が恒常的に付加することを見出し、ROS シグナルを仲介する最重要機構を担うことを明らかにしている。本機構は、システイン残基の酸化或いは親電子物質付加に可逆性、即ち、動的な性質を付与し、生化学上の先入観を一新する発見である。ポリスルフィド研究は領域の特に重要な具体的研究対象として強化していくつもりである。

組織の強化と国内外研究者との連携

本領域は、基礎生物学、医科学、薬学、農学(植物学)を含めた幅広い分野に関係し、臨床医学、医工学、食品・発酵化学等の応用生物学的分野、環境科学やケミカルバイオロジーといった学際分野にも強く結び付き、生命科学分野の幅広い学術展開に資する。従って、大きく生命科学全般を俯瞰した連携が、当領域に直結する酸素生物学分野にとっては非常に重要である。例えば、生体内及び環境中に存在する酸素が直接的に、或いは ROS・親電子分子種を介して間接的にタンパク質等に作用し、生命現象を制御するという事実は、当該分野がポストゲノムの重要な領域であることを意味する。つまり、エピジェネティクス分野との連携は分野・領域の相互発展にとって重要である(事実、DNA/ヒストン修飾の多くが酸化的付加反応であり、脱修飾反応に伴って ROS が産生することもよく知られている)。また、外環境からの酸素が生体内で器官・細胞の機能をどのように変化させるかの解明は、生命進化を方向づける遺伝と環境との関係の本質的理解にも結びつくことから、進化生物学、生態学、環境医学との連携が重要になってくると考えている。さらに、酸素やそれに由来する ROS の作用の解明なしには、その制御異常がもたらす、メタボリックシンドローム、感染・炎症、老化、発癌、神経変性疾患、心不全等の病態解明と抗酸化的な予防対策、治療戦略は確立不可能である。このことに加え、酸素や ROS の研究は植物における微生物の感染や、炭酸・窒素固定等の基盤となる機構に対する理解を進め、食料や森林資材の確保の点にも大きく資することを鑑みると、臨床医学や農業といった社会を支える根幹の分野との連携への発展も領域として推進する。

酸素リモデリングの普遍性を示すためには、植物・微生物分野の研究者との連携強化が重要である。特に、古細菌 Archaea は起源生物の一つとして、大気中酸素濃度の上昇の過程で生物が進化的に酸素適応をしてきた過程のモデルとなると考えられており、酸素リモデリングの重要なモデル生物となる可能性がある。このことから、古細菌分野の研究者との連携が重要だと考えている。