

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：32206

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K07374

研究課題名（和文）Notch受容体の細胞表面における活性化調節機構

研究課題名（英文）Regulatory mechanisms of Notch receptor activation at the cell surface

研究代表者

北川 元生（Kitagawa, Motoo）

国際医療福祉大学・医学部・教授

研究者番号：40262026

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：Tm2d3 ノックアウトマウスの表現型を検索した。いずれもNotch2を介するシグナルを必要とする大動脈中膜平滑筋層および脾臓辺縁帯B細胞の低形成、Notch1を介するシグナルを必要とする卵黄嚢血管の低形成と、浸透率は低いながらもやはりNotch1を介するシグナルを必要とする神経管閉鎖の不全が見いだされた。以上からTm2d3は生体のNotchシグナル系において部分的に必須の役割を果たしていると考えられた。TM2D3、TM2D1、TM2D2の細胞外ドメインの組換えタンパク質の発現と、それぞれの抗体の作製に成功した。Tm2d1およびTm2d2 ノックアウトマウスを導入し解析に着手した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、これまで不明であったTM2D3の生体における機能的な役割を初めて明らかにしたものである。また類似した構造をもつTM2D1とTM2D2の研究にも着手した。Notchシグナルの異常は各種悪性腫瘍、遺伝性疾患の原因であることが知られているが、本研究の成果によって今後こうした問題の理解が深まり、さらに解決の手がかりが得られることを期待する。またヒトにおいて、TM2D3のある遺伝子多型が晩期発症型アルツハイマー病の発症危険率を約7.5倍上昇させ、さらに発症年齢を約10年早めることが知られているが、本研究の成果が今後この機構を解明するために役立つことも期待される。

研究成果の概要（英文）：Phenotypes of Tm2d3 knockout mice were examined. Hypoplasia of aortic tunica media smooth muscle layer and splenic marginal zone B cells requiring Notch2-mediated signaling, hypoplasia of yolk sac vessels requiring Notch1-mediated signaling, and failure of neural tube closure requiring Notch1-mediated signaling with low penetration were found. These findings suggest that Tm2d3 plays a partially essential role in the Notch signaling system in the body. We successfully expressed recombinant proteins of the extracellular domains of TM2D3, TM2D1, and TM2D2, and produced antibodies for each. Tm2d1 and Tm2d2 knockout mice were introduced for analysis.

研究分野：細胞シグナル伝達の生化学

キーワード：Notchシグナル TM2D3 TM2D1 TM2D2 ノックアウトマウス

1. 研究開始当初の背景

Notch シグナルは分化制御をはじめとする様々な細胞の運命決定に関与する。このシステムは線虫からショウジョウバエ、ヒトにいたる動物間でよく保存されており、重要かつ多彩な役割を果たす。ヒトではその変異が各種悪性腫瘍、遺伝性疾患の原因となる(文献)。

Notch は膜一回貫通型受容体分子である(図1)。そのリガンドとなる Delta および Jagged もまた膜一回貫通型タンパク質であり、これらが結合するためには、それぞれの分子を発現する2つの細胞の接触が必要である(図1)。Notch とリガンドが結合すると、これに同期してリガンドを発現する細胞にエンドサイトーシスが生じ(図1)発生する張力によって Notch の膜貫通ドメイン近傍に存在する Negative regulatory region (NRR) のコンフォメーションが変化して S2 と呼ばれる部位が露出し、ADAM10 プロテアーゼがこの部位で Notch を切断する(図1)。切断された Notch はさらに別のプロテアーゼである γ -secretase の基質となって膜貫通ドメイン内の S3 と呼ばれる部位で切断され、Notch の細胞内ドメイン(NICD)が膜から遊離する(図1)。この一連の機構が Notch の活性化であるが、活性化型 Notch である NICD はさらに核に輸送され、DNA 結合タンパク質である RBP-J および共役因子である Mastermind と複合体を形成し *Hes*、*Hey* などの標的遺伝子の転写を活性化する(文献)。

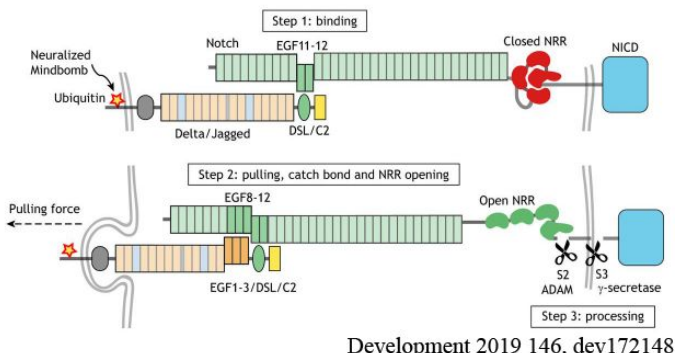


図1 Notchのリガンドとの結合と活性化

(図1) 切断された Notch はさらに別のプロテアーゼである γ -secretase の基質となって膜貫通ドメイン内の S3 と呼ばれる部位で切断され、Notch の細胞内ドメイン(NICD)が膜から遊離する(図1)。この一連の機構が Notch の活性化であるが、活性化型 Notch である NICD はさらに核に輸送され、DNA 結合タンパク質である RBP-J および共役因子である Mastermind と複合体を形成し *Hes*、*Hey* などの標的遺伝子の転写を活性化する(文献)。

almondex (amx) 遺伝子を欠失したショウジョウバエ胚は、神経系の過形成と表皮の欠失(neurogenic phenotype)という Notch シグナルの欠失に特徴的な表現型を示す。さらにこの *amx* の欠失突然変異体の表現型が活性化型 Notch の強制発現によってレスキューされるという遺伝学的解析結果等から、*amx* は Notch シグナルを正に制御することが示唆されていた(文献)。

TM2D3 (Transmembrane domain 2 domain containing 3) はショウジョウバエ *Amx* タンパク質と構造上の相同性(34%)をもつヒトタンパク質である。*Amx*、TM2D3 とともに N 端に signal peptide を持ち、さらに C 端部に膜貫通ドメインを2つ持つことから膜タンパク質であると考えられる(図2)。TM2D3 は当初、アルツハイマー病脳で蓄積する Amyloid β タンパク質の結合タンパク質として同定された TM2D1 と構造上の相同性(19%)を持つタンパク質として同定された。しかし TM2D1 とは異なり、TM2D3 および同時に同定された TM2D2 は Amyloid β とは結合せず、その機能は不明であった(文献)。

一方、大規模な晩発性アルツハイマー病患者と対照群を用いた exome-wide association analysis の結果、TM2D3 のアミノ酸置換を伴うまれな塩基多型 P155L を持つことが、アルツハイマー病発症リスクの増加(odds ratio = 7.5)と発症の低年齢化(約10年)に関連することが報告された(文献)。この報告では、上記の *amx* KO ショウジョウバエの表現型がヒト TM2D3 の発現によってレスキューできること、しかし P155L 多型をもつ TM2D3 ではレスキューできないことも報告されており、Almondex が TM2D3 の相合同体であること、P155L 多型は TM2D3 に機能欠失をもたらすことが示唆された。(文献)。

2. 研究の目的

本研究の第1の目的は、予備的研究によって Notch の細胞表面での発現に関与することを見出していた TM2D3 の機能を追究することを通じて Notch をリガンドとの結合に同期して活性化させる分子機構を解明することである。またすでに作製していた *Tm2d3* のノックアウトマウスの表現型を解析し、この機構の生体における Notch シグナルにおける意義の解明を目指すことも含む。一方予備的な研究によって *Tm2d3* KO マウスは体節が形成されることを見いだしていた

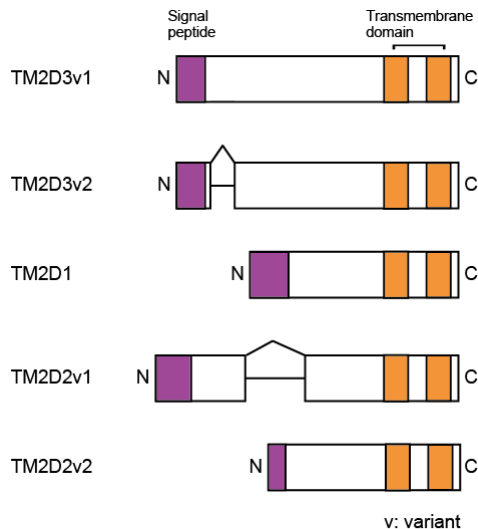


図2 TM2Dタンパク質群の構造

TM2Dタンパク質群は共通したドメイン構造を持つ。2つの膜貫通ドメインからC末端にかけての一次構造は分子種間で比較的よく保存されている(27-40%)が、N側の細胞外ドメインの一次構造はdivergentである。TM2D2とTM2D3は、alternative splicingによって二種類のvariant formが発現することが知られている。このうちTM2D2v2は、マウスには同様のvariantが存在しない。

たことから、このマウスでは Notch シグナルがある程度残存していることが考えられていた。可能性として、ヒトと同様マウスゲノムには *Tm2d1*、*Tm2d2* が存在しており、これらが Notch シグナルに対して redundant な役割を果たしていることが考えられた。そこでこれらの機能についても検討する事も目的に含めることとした。

一方、TM2D3 の 1 allele の機能欠失がアルツハイマー病の発症リスクを著しく増加させると考えられることの機構解明の端緒を開くことを第 2 の目的とした。

3. 研究の方法

(1) TM2D3 の機能解析

TM2D3v1、TM2D3v2 の各発現ベクターは OriGene から購入した。これらのタンパク質を検出するために N 端に FLAG tag を付加した発現ベクターを構築した。293T における Notch1 の活性化は抗活性化型 Notch1 抗体を用いた Western blotting によって、U2OS における Notch1 の活性化はレポーターを用いた Luciferase assay によって検討した。FLAG tag を付加した TM2D3 (FLAG-TM2D3) をテトラサイクリン誘導性に発現する細胞株は、293 細胞をベースとする Thermo Fisher Scientific の Flp-In 293 T-REx 細胞とそれに付随するシステムを用いて樹立した。Endoplasmic reticulum (ER) は、Calreticulin の ER targeting sequence を付加した EYFP を transfection によって発現することにより可視化した。*Tm2d3* の機能上必要である膜貫通ドメインをコードする exon 5 を欠失したマウス系統 (KO 系統) は、CRISPR-Cas9 法を用いて作製した。他は通常分子生物学的手法を用いておこなった。

ショウジョウバエ *amx* 欠失突然変異体は、長年唯一の *amx* 欠失突然変異体アレルとして研究されてきた *amx*¹ を用いた (文献¹)。 *amx* は母性効果遺伝を示すので、母体と接合体がいずれも *amx*¹ を有する個体を *amx* 欠失突然変異体とした。ショウジョウバエ胚は常法による固定、免疫染色後、共焦点顕微鏡で解析した。

(2) *Tm2d3* KO マウスの表現型解析

マウス胎子をホルマリン固定後パラフィンブロックとし、全身を厚さ 2 μ m の横断による連続切片とし、20 μ m 毎に HE 染色を行った。野生型と KO マウスで差異が認められた大動脈に関して、抗 Smooth muscle actin 抗体 (大動脈中膜平滑筋マーカー)、抗 ephrin B2 抗体 (動脈内皮細胞マーカー)、抗 EphB4 抗体 (静脈内皮細胞マーカー) を用いた免疫染色法でさらに検討した。

移植に先立ち拒絶反応を防ぐため *Tm2d3* KO マウス系統を C57BL/6 (CD45.2) に 9 世代以上戻し交配を行った。*Tm2d3* ヘテロ接合体マウス同士を交配し、胎生 14.5-15.5 日胚を搾出して卵黄嚢を DNA のソースとした PCR genotyping をおこない、野生型および KO マウス胎子を同定した。その間氷冷しておいた肝細胞を分散し、あらかじめ致死量放射線を照射しておいた野生型 C57BL/6 (CD45.1) マウスに尾静脈からの注射によって移植した。2-4 か月後、抗 CD45.1 抗体と抗 CD45.2 抗体を用いた末梢白血球の flow cytometry によって移植細胞の生着を確認した。各造血組織において CD45.2 陽性細胞を胎仔造血幹細胞由来細胞とし、胸腺 T 細胞は抗 CD45 抗体、抗 CD4 抗体、抗 CD8 抗体、脾臓 B 細胞は抗 CD45 抗体、抗 B220 抗体、抗 CD21 抗体、抗 CD23 抗体によって検索した。CD45⁺B220⁺CD21^{hi}CD23^{lo} 細胞を脾臓辺縁帯 B 細胞とした。同様の胎仔肝細胞移植を野生型 C57BL/6 (CD45.1) 骨髄細胞 (competitor 細胞) と 1:1 の比で混合しておこなった。

(3) TM2D3 タンパク質の発現・抗 TM2D3 抗体の作製とこれを用いた機能解析

(4) TM2D1 および TM2D2 タンパク質の発現・抗 TM2D1 および TM2D2 抗体の作製とこれらを用いた機能解析

TM2D3v2、TM2D1、TM2D2v1、TM2D2v2 の各 cDNA は OriGene から購入した。TM2D1 cDNA には点変異が存在したので、PCR を用いて NCBI Reference Sequence Database の配列と一致するように修正した。N 側の細胞外ドメイン全長を発現するために、当該配列を適切な primer を用いて PCR で増幅し、pRSF-Hpg に 6 x His tag と読み枠が合うように組み込んだ。クローン化したプラスミドの塩基配列は Sanger sequencing で確認した。組換えタンパク質は大腸菌 BL21 (DE3) を用いて発現した。発現したタンパク質を抗原とするウサギポリクローナル抗体作製はコスモバイオ社に依頼した。

(5) *Tm2d1* および *Tm2d2* KO マウスの表現型解析

これらのマウスは、それぞれの遺伝子の exon 3 を CRISPR-Cas9 システムによって欠失させたものである。ヘテロ接合体由来の凍結精子を米国の共同研究者から入手し、理化学研究所バイオリソース研究センターに依頼して個体を復元して当キャンパスの動物実験施設に導入した。

4. 研究成果

(1) TM2D3 の機能解析

TM2D3 の発現ベクターをヒト Notch1 全長の発現ベクターとともにヒト株化培養細胞 293T に導入したところ、Notch1 が活性化することを見いだした。同様の活性化は別の培養細胞株 U2OS でも観察された。Notch1 および TM2D3 の各種欠失変異体発現ベクターを用いた実験により、この活性化には Notch1 のリガンド結合部位 (図 1) と TM2D3 の膜貫通ドメイン (図 2) が

必要であることが示された。また TM2D3 と Notch1 を過剰発現させた細胞の溶解液において、TM2D3 と Notch1 が共免疫沈降することを見いだした。この TM2D3 と Notch1 の物理的会合には TM2D3 の N 側の細胞外ドメイン (図 2) と Notch 細胞外ドメイン中の NRR (図 1) が必要であった。さらに、膜非透過性ビオチン化試薬を用いた実験によって、TM2D3 の発現によって Notch1 の細胞表面での発現が増加するという結果を得た。以上から最初の実験結果は、TM2D3 の発現によって細胞表面の Notch1 が増加し、これが周囲の細胞に発現する Jagged1 などのリガンドによって活性化されたためであると考えられた。

Tm2d3 KO 系統のマウス胎仔から線維芽細胞を初代培養したところ、KO マウス由来の細胞では野生型細胞に比べて細胞表面の Notch1 および Notch2 の発現が低下していた。この結果は、TM2D3 の発現増加によって Notch の細胞表面の発現が増加するという上記の結果と表裏一体となるものである。

N 端に FLAG tag を付加した TM2D3 を Tetracyclin で発現誘導できる 293 由来細胞株を樹立した。抗 FLAG 抗体を用いて検索したところ、TM2D3 は多数の細胞内小胞構造に局在し、その一部が ER マーカーと共同在することを見いだした。

また *TM2D3* のショウジョウバエホモログである *amx* の欠失突然変異体では、Notch 細胞外ドメインとリガンドである Delta のエンドサイトーシスが阻害されていることを見いだした。この知見はこの変異体で Notch の細胞表面の発現が低下しているという仮説と矛盾しない。

以上の研究結果の多くは本研究期間以前に得られていたものであるが、期間中に追加実験をおこない、論文として公表した ()。

(2) *Tm2d3* KO マウスの表現型解析

Tm2d3 KO マウスは胎生致死であり、器官形成期である胎生 14.5 日-16.5 日頃死亡し始める。この時期に KO マウスは全身に出血を示すが、KO マウスでは大動脈の中膜平滑筋層が野生型と比較して薄いことを見出した (図 3)。大動脈の中膜平滑筋層の発生には Notch2 を介するシグナルが重要であることが知られているが、一方でこの平滑筋層が薄い大動脈は静脈様にも見える。動脈と静脈の特異化は Notch1 を介したシグナルによって開始することが知られているので検討したところ、KO マウス、野生型マウスいずれも大動脈内皮細胞は動脈マーカーを発現し、肝静脈内皮細胞は静脈マーカーを発現していた。以上から KO マウスの動静脈の特異化には変化がなく、血管の表現型は大動脈中膜平滑筋層の低形成であると考えられた。

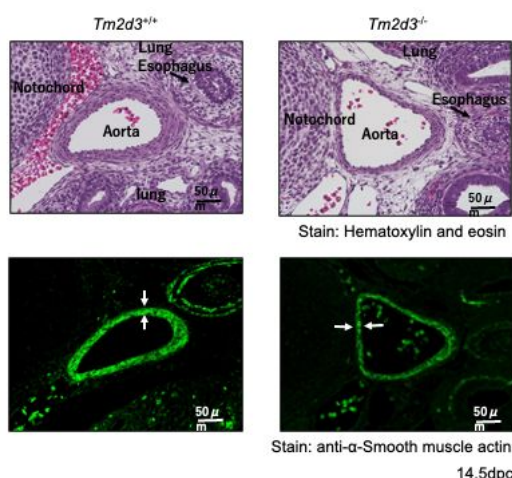


図3 *Tm2d3* KOマウスの大動脈中膜平滑筋層の低形成

Notch シグナルの役割がよく研究されている造血系の発生を解析するため、KO マウス、野生型マウスそれぞれの造血幹細胞を含む胎仔肝細胞を致死量放射線照射した野生型マウスに移植した。移植 4 か月後再構築された造血系では巨核球系、赤血球系、骨髓球系、さらに Notch1 を介したシグナルが重要であることが知られている胸腺 T 細胞の発生に大きな違いは見られなかったが、Notch2 を介したシグナルが発生に重要であることが知られている脾臓辺縁帯 B 細胞の数が KO マウス細胞を移植したマウスでは野生型マウス細胞を移植したマウスの 5 割程度に減少していることを見出した (図 4)。脾臓辺縁帯 B 細胞の発生に必要なシグナルとして、Notch2 以外に B 細胞受容体シグナル等が知られている。Notch2 を活性化するために ADAM10 は細胞表面に輸送される必要があるが、この輸送は B 細胞受容体シグナルによって誘導される事が知られており、さらに細胞表面に発現した ADAM10 は CD23 を切断する事が示されている。一方 *CD21* は B 細胞において Notch2 シグナルによって発現が増加する事が示されている。*Tm2d3* KO マウス由来の脾臓辺縁帯 B 細胞では、*CD21* の発現が野生型マウス由来の同細胞の 7 割程度に低下している一方で、*CD23* の発現には変化が見られない (図 5) ことから、*Tm2d3* 欠失は Notch2 シグナルの低下をもたらす一方で B 細胞受容体シグナルには変化を生じさせないと考えられる。これらの結果は、TM2D3 が生体における Notch2 の

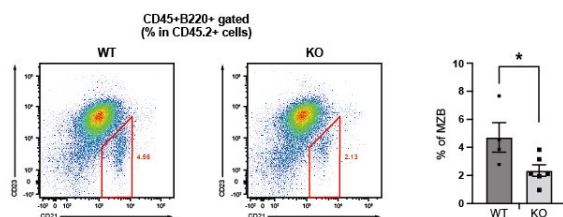


図4 *Tm2d3* KO マウス由来細胞からの脾臓辺縁帯 B 細胞の低形成
KO マウス由来脾臓辺縁帯 B 細胞では野生型 (WT) 細胞に比べプロットが左方にシフトしている

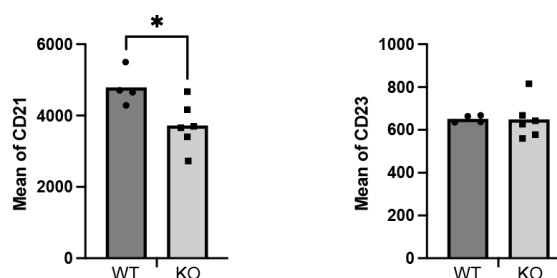


図5 移植細胞由来の脾臓辺縁帯B細胞におけるCD21とCD23の発現
* $P = 2.2 \times 10^{-2}$

これらの結果は、TM2D3 が生体における Notch2 の

シグナル活性化のために部分的に必要であることを示している。さらに脾臓において Notch2 のリガンドは血球系細胞ではなく間質の線維芽細胞に発現する事が示されていることから、TM2D3 は Notch を発現する細胞で機能することを示唆している。

同様の胎仔肝細胞移植を competitor 細胞と混合しておこなった。再構築された造血系では、脾臓辺縁帯 B 細胞の数が KO 細胞では野生型細胞の約半数になり、胸腺 T 細胞の発生には変化がないという結果が再現された。一方これらのリンパ球表面の Notch1 および Notch2 の発現を検討したところ、野生型、KO の間に差が見られなかった。これは初代培養線維芽細胞を用いた実験とは異なる結果である。

Tm2d3 KO マウスは卵黄嚢血管が細く低形成であり、さらに約 20% に神経管閉鎖不全が観察された。これらの発生には Notch1 を介するシグナルが必要であることが示されていることから、*Tm2d3* の欠失は Notch2 のみならず Notch1 を介するシグナルにも影響を与えているものと考えられる。

以上から *Tm2d3* は、生体の Notch シグナル系において部分的に必須の役割を果たしていることが示唆された。また、TM2D3 が Notch の細胞表面の発現を制御するという培養細胞を用いて得られた先の結論は細胞種または細胞のおかれた環境に特異的なものであり、TM2D3 の生化学的な機能の本質ではない可能性が示唆された。

TM2D3 のアルツハイマー病における役割の研究は、*Tm2d3* KO マウスとアルツハイマー病モデルマウスとの交配実験をアルツハイマー病を専門とするグループとの共同研究によって行うことを検討中である。

(3) TM2D3 タンパク質の発現・抗 TM2D3 抗体の作製とこれを用いた機能解析

TM2D3 variant 2 (v2) (図 2) の N 側の細胞外ドメイン (102 残基) を 6 x His 融合タンパク質として大腸菌を用いて発現することに成功した。このタンパク質の refolding を試みたところ、非還元状態で二量体および三量体を形成することを見いだした。これらの複合体は還元状態にしても部分的にしか崩壊しないことから安定なものであると考えられた。この組換え TM2D3 タンパク質を抗原としてウサギポリクローナル抗体を作製した。この抗体を用いて Western blotting をおこなったところ、組換え型 TM2D3v2 タンパク質二量体および三量体は ng のオーダーに至るまで良好に検出されたが、単量体の検出には 10 倍量のタンパク質を必要とした。

NOTCH1 と TM2D3 の物理的会合を検討するため、NOTCH1 を過剰発現させた 293T 細胞の溶解液と組換え TM2D3v2 タンパク質を混合後 incubate し、上記抗体と protein G-sepharose を用いて TM2D3v2 を回収したが、NOTCH1 の共沈は検出されなかった。会合のためにはさらに別の因子が必要である等の可能性が考えられる。

(4) TM2D1 および TM2D2 タンパク質の発現・抗 TM2D1 および TM2D2 抗体の作製とこれらを用いた機能解析

TM2D3 と同様、TM2D1 と TM2D2 について N 側の細胞外ドメイン全長の大腸菌を用いた発現を試み、81 残基からなる TM2D1 と、2 つの alternative splicing variant が知られている TM2D2 については 112 残基からなる TM2D2v1 と 86 残基からなる TM2D2v2 それぞれを 6 x His 融合タンパク質として発現することに成功した。これらのタンパク質は TM2D3v2 と異なり可溶画分に回収された。このうち TM2D1 と TM2D2v1 をそれぞれ抗原としてウサギを免疫し、ポリクローナル抗体を作製した。これらの抗体を用いて Western blotting をおこなったところ、いずれの抗体も抗原タンパク質を ng のオーダーに至るまで検出した。

(5) *Tm2d1* および *Tm2d2* KO マウスの表現型解析

Tm2d1 と *Tm2d2* それぞれの KO マウス系統のマウスを当キャンパスの動物実験施設に導入して繁殖をおこなっている。それぞれのヘテロ接合体は明らかな異常はなく生殖能力を有しており、ヘテロ接合体オスと、別に購入した野生型メスとの交配によって得られる F1 世代の野生型とヘテロ接合体の分離比はほぼ 1:1 である。現在ヘテロ接合体同士の交配によって KO マウスを得ることを試みている。

<引用文献>

Kopan R. ed. Notch Signaling. Amsterdam: Academic Press. 2010

Henrique D., Schweisguth F. Mechanisms of Notch signaling: a simple logic deployed in time and space. Development 2019 146, dev172148

Michellod, M. A., Randsholt, N. B. Implication of the *Drosophila* beta-amyloid peptide binding-like protein AMX in Notch signaling during early neurogenesis. Brain Res. Bull. 2008 75, 305-309

Kajkowski, E. M. *et al.* β -Amyloid peptide-induced apoptosis regulated by a novel protein containing a g protein activation module. J. Biol. Chem. 2001 276, 18748-18756

Jakobsdottir, J. *et al.* Rare Functional Variant in TM2D3 is Associated with Late-Onset Alzheimer's Disease. PLoS Genet 2016 12, e1006327

Masuda W. *et al.* TM2D3, a mammalian homologue of *Drosophila* neurogenic gene product Almondex, regulates surface presentation of Notch receptors. Sci. Rep. 2023 13, 20913

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Masuda W., Yamakawa T., Ajima R., Miyake K., Umemiya T., Azuma K., Tamaru J.-i., Kiso M., Das P., Saga Y., Matsuno K., Kitagawa M.	4. 巻 13
2. 論文標題 TM2D3, a mammalian homologue of Drosophila neurogenic gene product Almondex, regulates surface presentation of Notch receptors	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 20913
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-023-46866-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 北川元生、Jambaldorj Jamiyansuren、金子綾美、中里圭之介、湯澤聡	4. 巻 28
2. 論文標題 TM2D群（TM2D1、TM2D2、TM2D3）のNotchシグナルにおける機能	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 国際医療福祉大学学会誌	6. 最初と最後の頁 162
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 板橋匠美、北川元生、増田渉、安島理恵子、相賀裕美子、梅宮敏文	4. 巻 17
2. 論文標題 マウスTm2d3遺伝子は劣性致死遺伝子である	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 医学検査	6. 最初と最後の頁 412-416
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 北川元生、Jambaldorj Jamiyansuren、湯澤聡、板橋匠美、梅宮敏文、岩間厚志、増田渉、三宅克也、相賀裕美子、安島理恵子	4. 巻 27
2. 論文標題 TM2D群（TM2D1、TM2D2、TM2D3）のNotchシグナルにおける機能	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 国際医療福祉大学学会誌	6. 最初と最後の頁 162
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 北川元生、板橋匠美、梅宮敏文、三宅克也、増田渉、安島理恵子、相賀裕美子	4. 巻 26
2. 論文標題 TM2D群 (TM2D1、TM2D2、TM2D3) のNotchシグナルにおける機能	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 国際医療福祉大学学会誌	6. 最初と最後の頁 196
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hirano K.-i., Suganami A., Tamura Y., Yagita H., Habu S., Kitagawa M., Sato T. Hozumi K.	4. 巻 9
2. 論文標題 Delta-like 1 and Delta-like 4 differently require their extracellular domains for triggering Notch signaling in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e50979
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.50979	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Das P., Salazar J. L., Li-Kroeger D., Yamamoto S., Nakamura M., Sasamura T., Inaki M., Masuda W., Kitagawa M., Yamakawa T., Matsuno K.	4. 巻 62
2. 論文標題 Maternal almondex, a neurogenic gene, is required for proper subcellular Notch distribution in early Drosophila embryogenesis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Development, Growth & Differentiation	6. 最初と最後の頁 80 ~ 93
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dgd.12639	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 北川元生、板橋匠美、梅宮敏文、増田渉、安島理恵子、相賀裕美子	4. 巻 25
2. 論文標題 Notchシグナルの調節因子TM2D3の機能	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 国際医療福祉大学学会誌	6. 最初と最後の頁 165
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 北川元生、増田渉、山川智子、安島理恵子、三宅克也、梅宮敏文、東和彦、田丸淳一、相賀裕美子、松野健治	4. 巻 24
2. 論文標題 TM2 domain containing 3 (TM2D3) はNotch受容体 の細胞表面の発現を制御する	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 国際医療福祉大学学会誌	6. 最初と最後の頁 171
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Itabashi T., Umemiya T., Iwama A., Masuda W., Ajima R., Saga Y., Kitagawa M.
2. 発表標題 TM2 domain containing 3 (Tm2d3) is required for Notch signal-dependent steps in vascular and lymphocyte development in vivo
3. 学会等名 The Notch Meeting XII (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 北川元生、Jambaldorj Jamiyansuren、金子綾美、中里圭之介、湯澤聡
2. 発表標題 TM2D群 (TM2D1、TM2D2、TM2D3) のNotchシグナルにおける機能
3. 学会等名 第13回国際医療福祉大学学会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Motoo Kitagawa
2. 発表標題 Involvement of Transmembrane 2 domain containing 3 (TM2D3) into Notch signaling in vitro and in vivo
3. 学会等名 Institute for Protein Research (IPR) International Seminar "Towards controlling the Notch signaling pathway" (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 増田 渉、板橋匠美、梅宮敏文、岩間厚志、安島理恵子、三宅克也、ジャミヤンスレン ジャンバルドルジ、湯澤 聡、東 和彦、田丸淳、木曾 誠、松野 健治、相賀 裕美子、北川 元生
2. 発表標題 Transmembrane 2 domain containing 3 (TM2D3) のin vitroおよびin vivoにおけるNotchシグナルへの関与
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 北川元生、Jambaldorj Jamiyansuren、湯澤聡、板橋匠美、梅宮敏文、岩間厚志、増田渉、三宅克也、相賀裕美子、安島理恵子
2. 発表標題 TM2D群 (TM2D1、TM2D2、TM2D3) のNotchシグナルにおける機能
3. 学会等名 第12回国際医療福祉大学学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Wataru Masuda, Takumi Itabashi, Toshifumi Umemiya, Rieko Ajima, Katsuya Miyake, Kazuhiko Azuma, Jun-ichi Tamaru, Makoto Kiso, Tomoko Yamakawa, Puspa Das, Kenji Matsuno, Yumiko Saga, Motoo Kitagawa
2. 発表標題 Involvement of Transmembrane 2 domain containing 3 (TM2D3) into Notch signaling in vitro and in vivo.
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 北川元生、板橋匠美、梅宮敏文、三宅克也、増田渉、安島理恵子、相賀裕美子
2. 発表標題 TM2D群 (TM2D1、TM2D2、TM2D3) のNotchシグナルにおける機能
3. 学会等名 第11回国際医療福祉大学学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Wataru Masuda, Tomoko Yamakawa, Rieko Ajima, Katsuya Miyake, Takumi Itabashi, Toshifumi Umehiya, Kazuhiko Azuma, Jun-ichi Tamaru, Makoto Kiso, Puspa Das, Yumiko Saga, Kenji Matsuno, Motoo Kitagawa
2. 発表標題 Transmembrane 2 domain containing 3 (TM2D3) regulates presentation of Notch receptors on the cell surface
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 北川元生、板橋匠美、梅宮敏文、増田渉、安島理恵子、相賀裕美子
2. 発表標題 Notchシグナルの調節因子TM2D3の機能
3. 学会等名 第10回国際医療福祉大学学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Masuda W., Yamakawa T., Ajima R., Miyake K., Umehiya T., Azuma K., Tamaru J.-i., Kiso M., Saga Y., Matsuno K., Kitagawa M.
2. 発表標題 TM2 domain containing 3, a mammalian homologue of Drosophila neurogenic gene product Almondex, regulates surface presentation of Notch receptors
3. 学会等名 The Notch Meeting XI (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北川元生
2. 発表標題 Transmembrane 2 domain-containing 3 (TM2D3) はNotch受容体の細胞表面における発現を制御する
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北川元生、増田渉、山川智子、安島理恵子、三宅克也、梅宮敏文、東和彦、田丸淳一、相賀裕美子、松野健治
2. 発表標題 Transmembrane 2 domain-containing 3 (TM2D3) はNotch受容体の細胞表面における発現を制御する
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北川元生、増田渉、山川智子、安島理恵子、三宅克也、梅宮敏文、東和彦、田丸淳一、相賀裕美子、松野健治
2. 発表標題 TM2 domain containing 3 (TM2D3) はNotch受容体 の細胞表面の発現を制御する
3. 学会等名 第9回国際医療福祉大学学会学術大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	増田 渉 (Masuda Wataru) (00623464)	埼玉医科大学・医学部・助教 (32409)	
研究分担者	湯澤 聡 (Yuzawa Satoru) (40515029)	国際医療福祉大学・医学部・講師 (32206)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	相賀 裕美子 (Saga Yumiko)	国立遺伝学研究所 (63801)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	安島 理恵子 (Ajima Rieko)	国立遺伝学研究所 (63801)	
研究協力者	三宅 克也 (Miyake Katsuya)	国際医療福祉大学 (32206)	
研究協力者	松野 健治 (Matsuno Kenji)	大阪大学 (14401)	
研究協力者	山川 智子 (Yamakawa Tomoko)	大阪大学 (14401)	
研究協力者	田丸 淳一 (Tamaru Jun-ichi)	埼玉医科大学 (32409)	
研究協力者	梅宮 敏文 (Umemiya Toshifumi)	国際医療福祉大学 (32206)	
研究協力者	板橋 匠美 (Itabashi Takumi)	国際医療福祉大学 (32206)	
研究協力者	岩間 厚志 (Iwama Atsushi)	東京大学 (12601)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	中島 やえ子 (Nakajima-Takagi Yaeko)	東京大学 (12601)	
研究協力者	リズク オラ (Rizq Ola)	東京大学 (12601)	
研究協力者	ジャミヤンスレン ジャンバルドルジ (Jamiyansuren Jambaldorj)	国際医療福祉大学 (32206)	
研究協力者	金子 綾美 (Kaneko Ayami)	国際医療福祉大学 (32206)	
研究協力者	山本 慎也 (Yamamoto Shinya)	バイラー医科大学	
研究協力者	デストゥルーパー バート (De Strooper Bart)	V I B	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関

米国	Baylor College of Medicine			
ベルギー	VIB			