

領域略称名：ダイニングコード
領域番号：3601

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

「細胞死を起点とする生体制御ネットワークの解明」

(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 (東京薬科大学・生命科学部・教授・田中 正人)

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）	13
5. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）	16
6. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況	21
7. 若手研究者の育成に関する取組状況	23
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）	24
9. 総括班評価者による評価	25
10. 今後の研究領域の推進方策	27

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	26110001 細胞死を起点とする生 体制御ネットワークの 解明	平成 26 年度 ～ 平成 30 年度	田中 正人	東京薬科大学・生命科学部・教授	11
Y00 支援	15K21753 日豪細胞死研究協議会 を核とした細胞死研究 国際コミュニティの形 成	平成 27 年度 ～ 平成 30 年度	田中 正人	東京薬科大学・生命科学部・教授	8
A01 計画	26110002 パイロトーシスの分子 機構と役割	平成 26 年度 ～ 平成 30 年度	須田 貴司	金沢大学・がん進展制御研究所・教授	3
A01 計画	26110003 計画的ネクロシスが 担う生体応答機構の解 明	平成 26 年度 ～ 平成 30 年度	中野 裕康	東邦大学・医学部・教授	2
A01 計画	26110004 細胞死制御化合物の開 発と応用	平成 26 年度 ～ 平成 30 年度	袖岡 幹子	理化学研究所・袖岡有機合成化学研 究室・主任研究員	2
A01 計画	26110005 生体内における多様な 細胞死シグナルの可視 化・検出系の開発	平成 26 年度 ～ 平成 30 年度	山口 良文	東京大学・大学院薬学系研究科・准 教授	2
A02 計画	26110006 食細胞による死細胞の 貪食機構とそれに伴う 免疫制御機構の解明	平成 26 年度 ～ 平成 30 年度	田中 正人	東京薬科大学・生命科学部・教授	3
A02 計画	26110007 肝幹細胞による肝再生 を促進するダイイング コードの解明	平成 26 年度 ～ 平成 30 年度	田中 稔	国立国際医療研究センター・その他 部局・室長	1
A02 計画	26110008 細胞死制御異常による ヒト遺伝性疾患の病態 解明	平成 26 年度 ～ 平成 30 年度	安友 康二	徳島大学・大学院医歯薬学研究 部・教授	2

A02 計画	26110009 細胞死に伴って放出される内因性糖脂質アジュバントの同定	平成 26 年度 ～ 平成 30 年度	山崎 晶	九州大学・生体防御医学研究所・教授	2
計画研究 計 10 件					
A01 公募	15H01366 細胞死を起点とするダイニングコード授受の 1 細胞実時間イメージング	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	白崎 善隆	東京大学・理学系・助教	1
A01 公募	15H01372 活性化ヘム検出に立脚した活性酸素誘導性細胞死の評価系開発	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	佐藤 伸一	東京工業大学・科学技術創成研究院・助教	1
A01 公募	15H01373 脂肪肝再生過程での細胞死制御メカニズムの解明	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	井上 啓	金沢大学・新学術創成研究機構・教授	1
A01 公募	15H01376 c a s p a s e - 8 と 1 0 それぞれが阻害する二種類の新規細胞死の解析	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	米原 伸	京都大学・生命科学研究所・教授	1
A01 公募	15H01377 C R I S P R ゲノム編集法による C a s p a s e - 1 1 依存的パイロトーシスの解析	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	山本 雅裕	大阪大学・微生物病研究所・教授	1
A01 公募	15H01385 異常レベルに応じた選択的な細胞死誘導	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	谷口 喜一郎	学習院大学・理学部・助教	1
A01 公募	15H01386 心不全の原因となる脂質酸化依存的フェロトーシス様新規細胞死の分子メカニズムの解析	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	今井 浩孝	北里大学・薬学部・教授	1
A01 公募	15H01388 i n v i v o の核の分解過程に着目した新しい細胞死経路の探索	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	小池 正人	順天堂大学・医学部・教授	2

A02 公募	15H01364 ネクロプトーシスにより発症する重症薬疹の機序解明	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	阿部 理一郎	新潟大学・医歯学総合研究科・准教授	2
A02 公募	15H01365 粘膜上皮ダイニングコードによる炎症応答制御機構の解明	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	渋谷 彰	筑波大学・医学医療系・教授	1
A02 公募	15H01367 急性、慢性放射線腸障害におけるダイニングコードの解明	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	植松 智	東京大学・医科学研究所・教授	3
A02 公募	15H01369 肝細胞死に応答して肝臓の線維化および再生を誘導・制御する新規ストローマ細胞の解析	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	伊藤 暢	東京大学・分子研・准教授	1
A02 公募	15H01371 組織の修復と破壊を促進するダイニングコードの解明	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	菅波 孝祥	名古屋大学・環境医学研究所・教授	4
A02 公募	15H01374 網膜神経細胞死に起因するシグナルネットワークにおける小胞体ストレスの重要性	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	宝田 美佳	金沢大学・医学系・助教	5
A02 公募	15H01375 遠位切断軸索からのダイニングコード	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	久本 直毅	名古屋大学・理学系・准教授	1
A02 公募	15H01380 細胞死を介した免疫調節因子の放出機序とその意義の解明	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	齋藤 達哉	徳島大学・疾患酵素学研究センター・教授	1
A02 公募	15H01381 抗癌剤により死滅した癌細胞に対する自然免疫応答の解析	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	河合 太郎	奈良先端科技大・バイオ研・教授	1

A02 公募	15H01382 計画的細胞死に共役した細胞内小胞輸送の改変と細胞外シグナルの生成	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	鎌田 英明	広島大学・医歯薬保健学研究院・准教授	2
A02 公募	15H01383 筋線維芽細胞による死細胞の貪食が組織の線維化に及ぼす影響の解析	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	仲矢 道雄	九州大学・薬学研・准教授	1
A02 公募	15H01384 成体脳の嗅球ニューロン再生における死細胞の貪食の役割	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	澤本 和延	名古屋市立大学・医学系研・教授	3
A02 公募	15H01387 脳虚血後の細胞死が誘導する脳修復メカニズムの解明	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	七田 崇	慶應義塾大学・医学部・助教	1
公募研究 計 21 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。

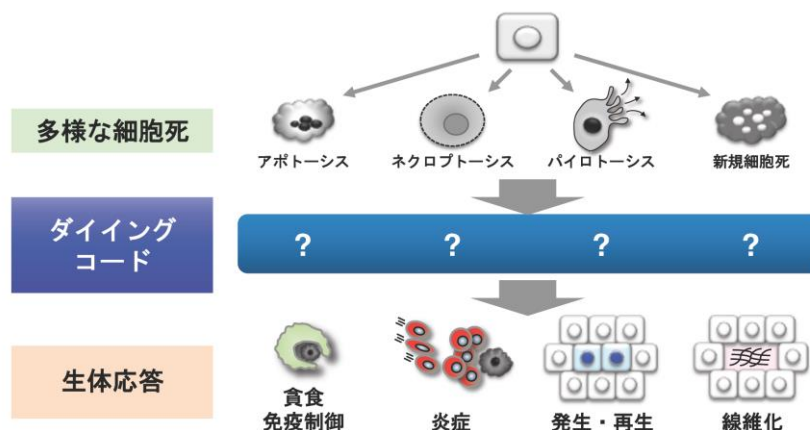
1. 本研究領域の目的とその学術的背景

発生や老化の過程で不要となった細胞や生体にとって有害な細胞は、細胞死により排除される。これまでの細胞死研究は、細胞死が、有害あるいは不要な細胞を排除するためのプログラムであり、細胞の一生の最終過程であるという認識のもと進められてきた。その結果、細胞死研究の多くは細胞死の分子機構の解明を主眼とし、多細胞生物において細胞死が如何なる役割を担っているかという視点からの研究はあまり行われてこなかった。ところが近年、細胞死が誘導された後の死細胞それ自身が周囲の細胞や組織に情報を発信し、様々な生体応答を引き起こすことが分かってきた。また生体内で死細胞を貪食するマクロファージは、処理する死細胞の性質に応じて適切な免疫応答を誘導することも明らかになっている。これらの知見の集積により、単に残骸であり速やかに処理されるべきであると考えられてきた死細胞が実は情報の発信源となり、免疫応答、炎症、修復、再生、線維化といった生体応答の起点になっているという新しいコンセプトが形成され始めている。

さらに最近の研究により、これらの生体応答の起点となる細胞死に複数のプログラムがあることが分かってきた。これまでの細胞死研究は「生体における細胞死のほとんどはアポトーシスである」との認識のもと進められ、アポトーシス機構の解明によって、様々な生命現象や疾患の病態メカニズムが解明されるものと期待されてきた。しかしながら、近年になって、生体内ではアポトーシス以外に、ネクロプトーシス、パイロトーシス、フェロトーシスといった非アポトーシス細胞死が起こることが示され、その分子機構や生体での役割が注目され始めている。多細胞生物の生理的・病理的現象においては、これら複数の細胞死が補完的あるいは同時進行的に起きていると考えられ、それぞれの細胞死が起点となる生体応答カスケードを解明することが、細胞死に伴う生命現象の理解につながると考えられる。

このような背景のもと本領域では、1. 生体における多様な細胞死を同定し、2. それぞれの死細胞、とりわけ、死にゆく細胞が放出する因子（本領域では“ダイニングコード”と命名）が誘導する生体応答を解析することにより、細胞死の生理的・病理的意義を明らかにすることを目的とする。本研究領域は、従来の細胞死研究を大きく転換・発展させ、“生命情報発信体としての死細胞”という新たなパラダイムの構築を目指す（下図）。

細胞死の多様性によるダイニングコードの広がり



2. 具体的な到達目標

本研究領域では細胞死の分子機構と、それらを起点として惹起される生体応答を解析し、各細胞死が持つ生理的・病理的意義を明らかにすることを目的とする。具体的に、

- ① 種々の細胞死実行機構を分子レベルで明らかにするとともに、各細胞死が、生体内のどのような生理的・病理的状況で起きるのかを明らかにする。
- ② それぞれの細胞死が起点となって起こる生体応答を、死細胞処理、炎症、修復、再生の観点から解明する。

この目的を達成するために、下記の2グループを組織する。

A01.多様な細胞死の分子機構と生体内での捕捉：

多様な細胞死が実行される分子メカニズムを解明することにより、各細胞死の特異性を分子レベルで定義し、それぞれの細胞死をマウス生体内で特異的に検出するシステムを構築する。また、各細胞死の実行に必要な特異的遺伝子の欠損マウスの作製や細胞死阻害剤の開発を通して、個々の細胞死の生理的・病理的役割を明らかにする。(須田・中野・山口・袖岡)

A02.細胞死を起点とする生体応答とその異常:

多様な死細胞を起点とするシグナルを探索・同定し、それらのシグナルの生成機構およびそれぞれの因子が担う免疫応答、炎症、修復、再生、線維化といった生体応答を明らかにする。また、それらのシグナルが誘導する有益な生体応答と、その破綻に伴う疾患の発症機構を解析し、疾患病理の理解や治療法開発に資する知見を得る。(田中(正)・山崎・安友・田中(稔))

領域内連携の具体的な取り組みとして、細胞死が起点となる生体応答の解析に関して、**共同研究プロジェクト**を設定する。すなわち、肝臓の組織傷害モデルを取り上げ、細胞死機構、死細胞処理、炎症、修復、再生研究を専門とするメンバーが、各々の立場から素過程を解析し、得られた知見を統合する事により、細胞死に伴う生体応答の意義を把握する(「**肝細胞死共同プロジェクト**」)。これにより、本研究領域構築の基となる「**細胞の死それ自身だけでなく、死細胞が発信する情報が生体応答を規定する**」というコンセプトを確立し、死細胞が多細胞コミュニティの制御とその破綻にどのように関わるのかを包括的に解明する。

3. 領域の発展と我が国の学術水準の向上・強化

国際的に広く行われてきた細胞死研究を転換・発展させる、多様な細胞死様式とその後の生体応答の研究領域では、これから国際的に激しい競争が行われると予想される。アポトーシス研究はまさに“日本発”の研究であり、日本が常に知の最先端を情報発信してきた分野であるが、これを大きく転換・発展させて国際的に高いレベルの独創的な研究を日本から発信しつづけるためには、「新学術領域研究」として支援を受け、異なる分野の研究者による協調的かつ、統合的な研究を行う必要がある。さらに、多様な細胞死様式とその後の生体応答を中心に立ち上げる本研究領域は、多細胞コミュニティの制御とその破綻の解析という立場から、生命科学の幅広い分野(増殖・分化・発生などの基礎生物学からがん・炎症・免疫疾患などの疾患研究にいたるまで)に直接関連する。したがって、本提案の新しいプロジェクト研究は、生命科学領域の学術展開とその発展に大きく寄与すると期待される。このような研究は国際的にも新規性が高く、新学術領域研究の発足によって先行すれば世界をリードすることが可能である。

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。

A01: 多様な細胞死の分子機構と生体内での捕捉

各細胞死の分子機構の解明、および生体内での検出法の開発を目標として研究を行い、これまでのところ順調に進んでいる。具体的には、パイロトーシス（須田班）および酸化ストレスによる細胞死（袖岡班）の実行分子の同定が進められており、今後、各細胞死のシグナル伝達の分子機構の解明が期待できる。また、生体内でネクロプトーシスを特異的に誘導できるマウスの樹立（中野班）や、生体内での各細胞死の検出法の開発（山口班、中野班）にも成功しており、今後、生体における各細胞死の実行過程やその後の生体応答の解析が飛躍的に進むことが期待できる。

A02: 細胞死を起点とする生体応答とその異常

細胞死後の生体応答、およびそれに関わるダイニングコードとその受容体の解析、さらに、疾患病態における細胞死異常の意義の解明を目標として研究を行い、順調に成果をあげている。具体的には、組織傷害後の炎症、再生、線維化に関わる周囲細胞の同定と、応答に関与するダイニングコードおよび受容体の同定が進められており（田中正班、田中稔班）、細胞死を起点とした生体応答のカスケードの解明が期待できる。死細胞受容体分子に結合するダイニングコードの探索も進められており（山崎班）、複数の新規分子の同定が期待できる。さらに、ヒト遺伝性疾患の原因遺伝子の同定により、同疾患における細胞死異常の関与が明らかとなり（安友班）、疾患治療への応用が期待できる。

本領域では、各班の個別の研究に加えて、肝細胞死共同プロジェクトや新規細胞死共同プロジェクト等を通じて緊密な連携（後述）を行っており、これが加速度的な研究の進展につながっている。

各計画研究班の研究の進展については以下の通りである。

A01 須田班：

本研究では、パイロトーシスシグナル伝達因子（PYST）の同定と、パイロトーシスとアポトーシスのダイニングコードおよびそれらが惹起する応答の解明を目指す。

- ① shRNA ライブラリーのスクリーニングで 22 種類の PYST 候補遺伝子を同定した。上位候補の PYST1 は公開データベース上でカスパーゼ 1 との相互作用が報告されているが、パイロトーシスにおける機能は知られていない。また、パイロトーシス阻害剤のスクリーニングで見出した化合物の一つが PYST1 の阻害剤であったことから、PYST1 はパイロトーシスの誘導に関与する可能性が高い。今後は、上記 PYST 候補分子の機能解析を進めるとともに、山本班と共同で gRNA ライブラリーを用いた PYST スクリーニングを進める。
- ② アポトーシスあるいはパイロトーシスを選択的に誘導するがん細胞株を樹立し、in vivo でこれらのがん細胞に細胞死を誘導した際に、がん細胞死の様式の違いによって治療効果や腫瘍免疫誘導効果に顕著な差が生じることを見出した。また、これらの腫瘍細胞から放出される代謝物を解析し、死細胞から特異的に放出される複数の代謝物を同定した（田中（正）班（及川）との共同研究）。今後は、がん細胞死の様式の違いが担癌マウスの生体応答に与える影響やその分子・細胞機構を明らかにし、治療効果と腫瘍免疫の活性化を最大化するような細胞死の誘導法を提案することを目指す。その他、カスパーゼ 1 や PYCARD の欠損マウスを用いた研究で肝細胞研究共同プロジェクトに参加している。

A01 中野班：

本研究では、計画的ネクローシスの結果引き起こされる生体応答を解明するために、二種類のモデルマウスを樹立し解析を行った。

- ① CFLIPs 遺伝子を X 染色体に挿入したトランスジェニック（CFLIPs X-Tg）マウスを樹立した。♂CFLIPs X-Tg マウスは全個体が腸管上皮細胞のアポトーシスおよびネクロプトーシスの亢進のために胎生致死となった。このマウスの胎生致死は RIPK3 との二重欠損によりレスキューされた。また細胞死に伴い放出され腸管の恒常性維持に関与する遺伝子として、Reg3b と Reg3g を同定した。
- ② 分担研究者の大村谷は、ヒト慢性膵炎の原因遺伝子 SPINK1 のマウスホモログである SPINK3 の遺伝子座に変異 SPINK1 遺伝子をノックインするマウスを樹立した。このマウスはヒトと同様に慢性膵炎発症し、その発症にネクロプトーシスが関与することを初めて明らかにした。
- ③ 領域内共同研究として、a) ネクロプトーシスのライブセルイメージングのための FRET プローブの開発に成功した（山口班と共同）。b) 慢性肝障害時に出現する liver progenitor cells (LPCs) の増殖に関与す

る新たな二つの候補遺伝子を同定した(田中(稔)班と共同)。c) 肝炎後の死細胞の貪食や炎症からの回復におけるクッパー細胞や骨髄由来浸潤細胞の役割を検討し、骨髄由来の浸潤細胞を除去することで肝炎が劇症化することを明らかにした(田中(正)班、田中(稔)班と共同)。

A01 袖岡班：

本研究では細胞死を抑制ないしは誘導する「細胞死制御化合物」の開発を基盤として、細胞死の分子機構や生理的・病理的意義の解明を目指す。特に独自に開発した阻害剤 IM 化合物および誘導剤 NT 化合物のターゲット分子の同定を通じて、酸化ストレスにより誘導されるネクローシス様細胞死のメカニズム解明を目指す。

① これまでに得られている構造活性相関に基づき、IM 化合物を固定化したアフィニティービーズを作製し、これを用いて蛋白質混合物中からその結合蛋白質候補を精製・同定することに成功した。さらに、独自に開発した新規アフィニティーラベル化法 (Chem. Sci. 2014) を用い、生細胞内で IM プローブによる蛍光標識化実験を行った所、アフィニティービーズで同定されたものと同じ蛋白質が標識され、この蛋白質が IM の結合蛋白質であることを確認する事ができた(論文準備中)。さらに本手法を応用することにより、ネクローシス実行に重要な蛋白質群の同定をめざしている。

② 領域内での田中(正)班、田中(稔)班との共同研究として、IM 化合物の個体レベルでの活性を調べ、本ネクローシスの生理的・病理的役割を検討した。その結果、活性酸素種が関連する傷害に関して抑制効果を示すことが明らかとなった。また、田中(正)班、須田班で新たに見出された細胞死阻害剤ないしは誘導剤に関して、より高活性な細胞死制御化合物を得るべく合成手法を種々検討し、その合成ルートの確立に成功した。今後活性向上を目指した構造展開へと進める予定である。

A01 山口班：

本研究では、以前に開発したアポトーシス検出プローブに加え、生体内で生じる細胞死様式を見分ける新規細胞死検出プローブを開発・活用し、細胞死様式・動態の違いが持つ意義に迫ることを目的としている。

① カスパーゼ 1 の活性化を検出することでパイロトーシスを可視化する新規プローブ SCAT1 を開発し、これを用いて、パイロトーシスにより死んだマクロファージから IL-1 β が放出される様子を明らかにした(白崎班との共同研究) (Cell Rep. 2014)。IL-1 β の放出機構についてさらに解析予定である。また SCAT1 と化合物スクリーニングを組み合わせ、マクロファージ集団内でのパイロトーシス制御に関わる候補化合物を複数同定した。現在、その作用機序と、パイロトーシス細胞から放出される因子の同定を試みている。

② ネクローシスの一様式であるネクロプトーシスを可視化する新規 FRET プローブを中野班と共同で開発し、培養細胞レベルでネクロプトーシスの可視化に成功した。現在、トランスジェニックマウスを中野班(大村谷)と作成中である。

③ 生体内での死細胞制御と周辺細胞との相互作用の意義の検証については、1) マウス胚頭部神経間閉鎖過程での死細胞の制御に着目し、細胞系譜が関与する可能性について検証を進めている。同時に 2) 妊娠時に生じる肝肥大とその解消における細胞死の役割に着目して解析を進めている。

④ 生体におけるオートファジー細胞死の解析を通じて新規の細胞死様式を発見した。また種々の細胞死誘導化合物の中から、オートファジー細胞死を介した抗がん剤候補化合物の選定に成功している。

A02 田中(正)班：

本研究では、CD169 マクロファージによる死細胞の認識機構と、それに伴う免疫・炎症制御機構の解明を目的としている。

① 腸管の CD169 マクロファージが、腸上皮の傷害にตอบสนองして CCL8 を特異的に産生し、炎症を惹起することを見いだした (Nature Comm. 2015)。このマクロファージの死細胞認識機構を明らかにするために、マクロファージ培養細胞を用いて、死細胞上清刺激によって CCL8 産生が亢進するアッセイ系を確立した。このアッセイ系を用いて、CCL8 産生亢進を阻害する作用を持つ、マクロファージ表面分子に対するモノクローナル抗体を複数樹立している。また、CD169 マクロファージ特異的な転写因子として c-Maf を同定し、これが CCL8 の転写を制御していることを明らかにした。

② 腎臓の CD169 マクロファージの非存在下では、腎虚血再灌流傷害が劇症化すること、およびこの劇症化には好中球の異常活性化が関与していることを明らかにした (J Am Soc Nephrol. 2015)。さらに、我々は、袖岡班が開発した新規細胞死制御化合物がこの劇症化を抑制することを見いだした。この化合物は、腎実質細胞死を抑制するだけでなく、好中球の NET 形成を阻害する可能性を見いだした。さらに袖岡班、今井班と共同で、NET 形成促進化合物の同定とその作用機序を解析している。

③ その他の領域内共同研究として、田中(稔)班、中野班とマクロファージの肝傷害における役割につ

いて、マクロファージ消去マウスを用いて研究を行っている。

A02 田中(稔)班：

本研究は、傷害後に起こる再生、線維化、発癌に注目し、それらに関わる細胞死様式およびダイニングコードの意義を明らかにすることを目的としている。

① 肝臓内で起きているネクローシスを簡便に検出する方法を確立した。この手法を用いて、非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) のモデルマウスを解析し、ネクローシスとアポトーシスの領域を特定した。さらに、領域内共同研究 (袖岡班、田中(正)班、中野班、安友班、山崎班、山口班、須田班) により、NASH 発症にはフェロトーシスが関与している可能性を見いだした。

② 放射線照射による骨髄傷害からの再生過程において、間葉系幹細胞へのオンコスタチン M の作用が重要であることを明らかにした (PLOS One. 2014)。

③ 幹細胞による肝再生をモニターできるマウスを世界で初めて開発した。このマウスを利用し、新規ダイニングコード候補分子の評価を中野班と共に進めている。また、肝幹細胞の分化に影響を及ぼすマーカ一分子を同定した。中野班 (大村谷) との共同研究で、その KO マウスの作製を完了しており、今後解析を進める予定である。

④ 肝癌幹細胞の新規マーカー分子として膜結合型カルボキシペプチダーゼを同定し、ヒト臨床病理検体でその発現を確認した。また、その酵素活性を肝癌細胞株で阻害すると細胞死が促進されることを見出した。さらに、担癌モデルマウスにおいても、その酵素活性阻害が著効を示すことを確認した。現在、田中(正)班と共同で中和抗体を作製し、治療抗体としての薬効および細胞死誘導の作用機序を検討している。

A02 山崎班：

ストレスに伴ってマクロファージに発現する C 型レクチン受容体である Mincle が死細胞を認識する活性化受容体であることを見出している。本研究では、Mincle に対する死細胞由来の内因性アジュバントとしての新たなリガンドを同定することを目的とする。

① ヒト由来 Mincle が、コレステロール結晶を認識して炎症性サイトカイン産生に寄与していることを分担研究者の宮本とともに明らかにした (JBC 2015)。ヒト Mincle ノックインマウスを樹立するとともに、田中(正)班と共同で阻害抗体を作成し、ヒト化モデルでの動脈硬化など慢性炎症における抑制効果を検討している。

② 様々な臓器ホモジネート由来の脂溶性成分を抽出・濃縮した後、シリカゲルカラムで分離し、Mincle レポーター細胞を用いて活性画分を探索したところ、肝臓由来の抽出液から強い活性を示すピークを得た。このピークをさらに薄層クロマトグラフィーで展開し、移動度ごとに分割して各フラクションの活性を評価した結果、活性を有する単一スポットが検出された。このスポットを宮本が HPLC、質量分析で解析したところ、セラミド骨格を有する糖脂質を同定した。中野班 (大村谷) との共同研究で、糖脂質分解酵素の臓器特異的欠損マウスを樹立している。

③ ミトコンドリアに存在する内因性脂質を認識する新規レクチン受容体を発見した。このレクチン受容体は、単球由来炎症性マクロファージに限局して発現することも判明した。

A02 安友班：

本研究では、異常な細胞死がヒト免疫疾患の病態の発症・進展にどのように寄与するかを明らかにすることを目的とする。

① 家族性寒冷蕁麻疹の原因遺伝子として *NLR4* を同定し、パイロトーシスの亢進と *IL-1 β* 産生亢進が病態発症に関与している事を明らかにした (J Exp Med 2014)。さらに、PKC 阻害剤が *NLR4* 経路を介した *IL-1 β* 産生を亢進させることを見いだした。

② 家族性肺線維症の原因遺伝子として *IPF1* を同定した。*IPF1* 変異マウスを樹立したところ、肺胞 II 型上皮細胞ではネクロプトーシスが亢進しており、ネクロプトーシス亢進には *Notch* シグナルを介した *RIPK3* の発現亢進が寄与していることを解明した(未発表)。Walter Eliza Hall 研究所との共同研究により、*MLKL* 阻害剤が *IPF1* 変異マウスの肺病変を改善させる事も見いだした。

③ 我々が発見した *PSMB8* 変異があり、細胞死が亢進している自己炎症性症候群と一部の症状がオーバーラップするが、*PSMB8* に変異を持たない疾患群を見いだした。エクソーム解析の結果、活性酸素を制御する遺伝子の変異を見いだした。中野班 (大村谷) と、本疾患に関わる遺伝子欠損マウスの樹立を実施中である。

④ 肝細胞死共同研究プロジェクトとして、田中(稔)班と *NLR4* 欠損マウスに CDE 餌を与えると急性肝炎がコントロールと比較して増悪することを見いだした。

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。

審査結果の所見で指摘を受けた事項

『各計画研究は、いずれも細胞死に関する並列的なプロジェクトであり、肝心の細胞死に端を発する現象から出発する生体反応のメカニズム解明が若干、手探りである印象は否定できない。細胞死の機構を解明することの生物学的意義を早い段階で明確にする必要があるだろう。』

1. 各計画研究の特徴と、細胞死を起点とする生体応答機構の解明に向けた戦略について

本研究領域の各計画研究班は、領域の目標である細胞死を起点とする生体応答の解明に向かって一丸となって研究を進めているが、そのアプローチ方法は、これまでの各研究者が蓄積してきた研究基盤や成果に立脚した独自のものであり、得られた成果は、互いに他の班の研究進展に資することが期待できる。例えば、須田班は細胞死の分子機構の解明のために分子生物学的手法を用いているのに対して、袖岡班は細胞死を制御する低分子化合物を開発し、その解析から分子機構の解明に迫っている。また、生体内での各細胞死様式の意義についても、中野班は特定の細胞死を誘導できるマウスの樹立により、その細胞死の生体内での意義を明らかにしようとするのに対し、山口班は、生体内での各細胞死特異的ライブイメージング法の開発を進め、発生や組織傷害における細胞死の時空間的解析に威力を発揮している。生体応答についても、田中（正）班、田中（稔）班が、マクロファージや肝幹細胞といったダイニングコードの作用点である細胞の同定とその応答の様態を解析することにより、生体応答を明らかにしようとしているのに対し、山崎班は死細胞受容体の内因性リガンドの同定という世界でも類を見ない手法をとっている。さらに、安友班はヒトの遺伝性疾患の原因遺伝子を特定し、細胞死異常と疾患病理の関連についての独創的な研究を展開している。これらのことを鑑みて、各計画研究班が、各細胞死様式に対して並列的な研究を行っているという指摘は必ずしもあたらないのではないかと考える。一方で、我々は、領域研究における問題の本質が、如何にしてこれら各計画研究班の研究成果を統合し、細胞死を起点とする生体応答の全体像を描くかという点にあることを十分に理解している。我々はこの本質的な問題点を領域内で共有し、多くの共同研究を行うことで、より統合的な研究成果を得られるよう努力してきた。実際、計画研究班間の共同研究は2年間で62件におよび、その結果、個別研究ではなし得ない成果が得られ始めている。さらに、本領域では、肝細胞死共同プロジェクトと新規細胞死共同プロジェクトを行い、疾患モデルや研究資材の共有を通じでより統合的な共同研究成果を生み出すよう努力している。今後も、共同研究を推進することにより、細胞死の分子機構の解明からダイニングコードによる生体応答までの包括的な理解が得られるよう努力していく。

2. 細胞死機構解明の生物学的意義について

各細胞死様式の生物学的意義については、近年、特に疾患と細胞死様式の関連について、精力的に研究が進められている。本領域でもすでに、袖岡班が開発した酸化ストレスにより誘導される細胞死（フェルトーシス様細胞死）特異的阻害剤が、いくつかの疾患モデルの病勢を改善することを示す実験結果を得ている。また、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）モデルマウスでは様々な細胞死が混在するが、アポトーシスやネクロプトーシスを抑制する遺伝子改変マウスではNASH発症が抑制されず、フェルトーシスを阻害すると発症が抑制されるという結果を、肝細胞死共同プロジェクトから得ている。一方、アポトーシスが亢進する遺伝子改変マウスに同NASHモデルを施すと、肝幹/前駆細胞が多数出現するという結果も得ている。また、須田らは生体内でがん細胞にアポトーシスを誘導した場合とパイロトーシスを誘導した場合で、がん治療効果や腫瘍免疫誘導効果に顕著な差が生じるという結果を得ている。これらの知見は、各細胞死機構の解明が疾患病理を理解する上で重要な生物学的意義を持つだけでなく、その予防や治療法の開発へと応用可能であることを明確に示すものである。今後も、特定の細胞死様式が特定の生体応答を示すことの証左を積み上げ、さらにその分子基盤を解明することによって、“情報発信体としての死細胞”という新しいコンセプトを確立したいと考えている。

留意事項

1. 『総括班のホームページ作成費として計上されている経費が高額であり、再度必要性を精査し、交付申請を行うこと。』

当初ホームページ作成費として、1年目に200万円の予算を計上していたが、受託業者を再選定する等して節約に努めた結果、約71万円(内訳:HP立ち上げ費(含む維持費)59万円、サーバー開通初期費2万円、ロゴデザイン1万円、フォーラム機能追加9万円)におさめることができた。余剰分は、アウトリーチ活動用の一般向けパンフレット(細胞死の秘密)の作成費等に充当した。さらに当初2年目以降のホームページ維持費として50万円の予算を計上していたが、約14万円に節約した。

2. 『モノクローナル抗体作成費が計上されているが、作成自体も一つの研究テーマになりうることから、実施方法について検討すること。』

抗体は、他の生命科学分野と同様に細胞死研究分野においても、最も重要な研究ツールの一つである。これまでのアポトーシス研究においても、活性化カスパーゼに対する抗体は、生化学的あるいは組織化学的にアポトーシスを検出する有力なツールとなっており、また、米原や長田らにより樹立された、アポトーシス誘導活性を持つ抗Fas抗体の樹立は、アポトーシス誘導の分子機構の解明や、生体内でのアポトーシスの生理的、病理的意義の解明に大きく貢献した。これらの事例は、**抗体の樹立が細胞死研究発展のブレークスルーになる可能性を秘めており、作製自身が一つの研究テーマになりうることを明確に示している**。一方で、抗体作製はどの研究室でも可能というわけではなく、目的の抗体の有無が、研究の進展に深刻な影響を与える場合もしばしば見られる。抗体作製のノウハウがない研究室は、受託企業に作製を依頼する場合もあるが、限られた予算の中では、目的のモノクローナル抗体を得るための十分なサポートを得られない場合もあり、費用対効果の面で問題が多い。このような観点から、本領域では各班の研究に必要なモノクローナル抗体の作製を総括班として支援することにした。実際には、総括班予算から人件費と消耗品費を支出して、抗体作製の実績のある田中(正)班がモノクローナル抗体作製を請け負う形をとっている。この支援では、担当者と依頼者が、抗体の使用目的に考慮した最適な免疫方法およびスクリーニング方法を協議しながら進めている。また、1回のスクリーニングで目的の抗体が得られない場合は、免疫方法を工夫することにより繰り返し作製を試みている。抗体の作製は、細胞死研究に関連するものに限り、その中でも領域の細胞死研究に寄与する可能性の高いものを優先して行っている。これまでに本領域で作製した抗体のうち、VDAC1-3抗体は酸化ストレスによる細胞死の分子機構の解明に大きく貢献しており、また、リン酸化MLKLおよび活性化Gasdermin Dに対する抗体は、これまで不可能であったネクロプトーシスやパイロトーシスの組織内検出に役立つ可能性がある。またhuCPMに対する中和抗体は、肝臓癌細胞に細胞死を誘導できる可能性があり、細胞死機構の解明のみならず、細胞死後の生体応答の解析や治療への応用可能性の検討にも有用である。抗体の帰属は基本的に依頼者としているが、必要に応じて、領域内で共有し、さらなる共同研究に供することができるように配慮されている。これまでのところ、抗体作成の支援を始めてから約1年半で10件とコンスタントな依頼があり、費用面、作業面で効率の良い抗体作製を行うことができている。作製された抗体の多くは、各班の研究進展に大いに役立っており、今後も総括班支援として必要と考えている。

3. 『細胞死研究は世界的にも競争の激しい分野であり、常に世界に向かって、新規性とインパクトのある成果を上げることを領域全体で意識されたい』

最近の非アポトーシス細胞死研究の進展は目覚ましく、その生理的、病理的意義も急速に明らかになってきた。このような状況の中、本研究領域では、特に、細胞死様式特異的なダイニングコードの同定と生体応答との関連、および近年殊に注目を集めている酸化ストレスによる細胞死の分子機構と意義を重点項目として、世界に先駆けた研究成果が出せるよう努力している。また、アドバイザーからの指摘のように、成果を論文だけでなく国際学会での発表により積極的に発信し、細胞死領域における日本の研究者のプレゼンスを高める努力をしていく。

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: 多様な細胞死の分子機構と生体内での捕捉

1. 須田: カスパーゼ 1 はパイロトーシスを誘導すると同時に、プロ IL-1 β を成熟型に転換する酵素である。そのため、パイロトーシスを起こした細胞は IL-1 β を放出し、炎症を誘導する。須田らはビタミン B6 に属するピリドキサル (PL) とピリドキサルリン酸 (PLP) が IL-1 β の産生を抑制することを見出し、その分子機構を解析した。その結果、PL と PLP はトル様受容体シグナルによる Tak1 活性化を抑制し、転写因子 NF- κ B の活性化を抑制してプロ IL-1 β の産生を抑制するとともに、NLRP3 依存性カスパーゼ 1 活性化経路を阻害してプロ IL-1 β の成熟も阻害することを見出した。NLRP3 は細菌やウイルスの感染ばかりでなく、尿酸、ATP、アミロイドなど様々な内因性炎症誘導物質にも応答し、痛風やアルツハイマー病、糖尿病など様々な疾患に関与していることが示唆されている。我々は、リポポリサッカライド投与によるエンドトキシンショックのマウスモデルで、PL や PLP の事前投与により血中 IL-1 β 濃度の上昇が抑制されるとともに、マウスの生存率が改善することを見出した。以上の結果から、ビタミン B6 は NLRP3 や IL-1 β が関連する疾患の予防に寄与する可能性が示唆された (論文投稿中)。
2. 中野 (研究分担者: 大村谷): 中野らは、個体レベルでネクロトーシスを誘導し、その後の生体応答を解析するために CFLIPs 遺伝子を X 染色体に挿入したトランスジェニック (X-Tg) マウスを樹立した。♂CFLIPs X-Tg マウスは全個体が腸管上皮細胞のアポトーシスおよびネクロトーシスの亢進のために胎生致死となった。一方で、♀CFLIPs X-Tg マウスは X 染色体の不活性化の結果 CFLIPs 遺伝子がモザイク状に発現し、腸管上皮で死細胞と生細胞とがモザイク状に存在し、正常に出生し発育した。♂CFLIPs X-Tg マウスの胎生致死はネクロトーシスに関与する RIPK3 との二重欠損マウスとの交配によりレスキューされた。また細胞死に伴い放出され腸管の恒常性維持に関与するダイニングコードとして、Reg3b と Reg3g を同定した。Reg3b KO マウスを樹立し、♀ CFLIPs X-Tg マウスとの交配を行ったところ CFLIPs X-Tg マウスの表現型が増悪した (論文作成中)。ヒト慢性膵炎の原因遺伝子 SPINK1 の変異 SPINK1 ノックインマウスを樹立し、RIPK3 依存性に慢性膵炎を発症することを明らかにした (論文投稿中)。領域内共同研究では以下の研究成果をあげた。①RIPK3 と MLKL との会合を利用した FRET プローブを作成し、ネクロトーシスのライブセルでイメージングに成功した (山口班との共同研究)。②慢性肝障害時に出現する liver progenitor cell (LPC)s の増殖に関与する新たな二つのダイニングコードを同定した (田中(稔)班らとの共同研究)。③肝炎後の死細胞の食食や炎症からの回復におけるクッパー細胞や骨髄由来浸潤細胞の役割を検討し、骨髄由来の浸潤細胞を除去することで肝炎が劇症化することを明らかにした (田中(正)班、田中(稔)班との共同研究) (論文投稿中)。
3. 袖岡 (研究分担者: 閻閻): 袖岡らは酸化ストレスで誘導されるネクロトーシスの阻害剤である IM 化合物を固定化したアフィニティービーズを作製し、これを用いて蛋白質混合物中からその結合蛋白質候補を精製・同定することに成功している。さらに、独自に開発した新規アフィニティーラベル化法 (Chem. Sci. 2014) を用い、生細胞内で IM プローブによる蛍光標識化実験を行ったところ、アフィニティービーズで同定されたものと同じ蛋白質が標識され、この蛋白質が IM 化合物の結合蛋白質であることを確認することができた。しかしながらその過程で、IM 化合物をプローブ化する際には、構造修飾に伴う活性低下が見られることがわかった。そこでこの活性低下を補うべく、元の IM 化合物の母核を変化する大胆な構造展開を行った。一部化合物の安定性の低下なども見られたが、物性改善を狙った構造展開も同時に行い、安定かつ活性を向上させた誘導体 IL 化合物の開発に成功した (Chem. Pharm. Bull. in press)。得られた構造活性相関をもとにして、より高活性なタンパク質標識化プローブの設計・合成へと展開する。
4. 山口 (研究分担者: 荒川): 山口らは、アポトーシス検出プローブに加え、生体内で生じる細胞死様式を見分ける新規細胞死検出プローブを開発し、死細胞と周辺細胞との相互作用を可視化する手法を用いることで、生体での細胞死様式・動態の違いが持つ意義を解明する。これまでに、カスパーゼ 1 の活性化を検出することでパイロトーシスを可視化する新規プローブ SCAT1 を開発し、これを用いて、パイロトーシスが誘導されたマクロファージからのみ IL-1 β が大量に放出される

様子を明らかにした (Cell Rep., 2014;白崎班との共同研究)。さらにこのプローブと化合物スクリーニングを組み合わせるにより、マクロファージ集団内でのパイロトーシス制御に関わる化合物を複数同定した。一方、ネクロトーシスの一様式であるネクロプトトーシスを可視化する新規プローブも開発中であり、培養細胞レベルでのネクロプトトーシスの可視化に成功した (論文作成中;中野班との共同研究)。またアポトーシス実行時の Bak 分子の 1 分子イメージングを行い、詳細な分子メカニズムを解読した (Scientific report, in press)。また、アポトーシスとネクロトーシスを同時に抑制できる低分子化合物の開発に成功した (BBRC, 2015)。

A02: 細胞死を起点とする生体応答とその異常

1. 田中 (正) : 腸管の CD169 陽性マクロファージが、腸炎の炎症誘導に重要な役割を担っていることを見いだした (Nature Comm 2015)。 この CD169 陽性マクロファージを誘導的に消失させたマウスでは、DSS 腸炎の重症度が有意に改善することから、同マクロファージは、腸上皮傷害に伴う炎症誘導に促進的に働くことが分かった。腸炎誘導時における CD169 マクロファージの遺伝子発現を網羅的に解析したところ、この細胞が単球遊走活性を持つケモカイン CCL8 を特異的に発現することを見いだした。CD169 陽性マクロファージは、DAMPs や PAMPs 刺激により CCL8 を産生すること、および CCL8 の中和抗体が腸炎の重症度を有意に改善することから、この CCL8 産生は、組織傷害における初期の炎症応答に重要な役割を担っていることが明らかとなった。現在我々は、CD169 陽性マクロファージによる CCL8 産生に関するダイニングコードとその受容体の解析を進めている。また、この CD169 陽性マクロファージの機能を制御する転写因子として、c-Maf を同定している (論文投稿準備中)。
2. 田中 (稔) : Oncostatin M(OSM) KOマウスが再生不良性貧血に特徴的な脂肪髄化と汎血球減少を呈することを発見した (PLoS One 2014)。 骨髄傷害後の再生には間葉系幹細胞(MSC)の寄与が知られるが、OSMはMSCからの脂肪細胞分化を抑制し、造血能の高い骨芽細胞への分化を促進した。さらに、致死量放射線照後のマウス骨髄移植系において、OSM投与は脂肪蓄積を抑制し、末梢血の回復を促進させた。一方、慢性肝炎におけるOSMの長期暴露は肝線維化に必要十分な作用を有することを見出し、新規肝硬変モデルマウスの作製にも成功した。OSMは肝マクロファージと肝星細胞に作用し、線維の産生増強と溶解阻害を促すことで、線維化に寄与することが明らかとなった (論文投稿中)。また、幹細胞による肝再生をモニターできるレポーターマウスの開発にも成功しており (投稿準備中)、今後、多様な細胞死と肝再生との関係解明が期待される。
3. 安友 : 家族性寒冷蕁麻疹の一家系のゲノム解析から原因遺伝子として NLRC4 を同定し、NLRC4 の機能獲得型の変異によりパイロトーシスの亢進と IL-1 β 分泌亢進により蕁麻疹を主徴とする炎症応答が誘導されることを見いだした (J Exp Med 2014)。 その分子機構としては、NLRC4 の変異によって NLRC4 の重合が促進され、その結果 Caspase1 の切断が誘導されることが明らかになった。NLRC4 変異マウスでは、寒冷刺激に反応した発疹と関節腫脹が観察されるとともに、その炎症病態には IL-1 β と IL-17A の産生が関与していることを解明した。家族性肺線維症の原因遺伝子として IPF1 を同定した。IPF1 に変異を持つマウスを樹立したところ、約 20 週齢から肺線維症を自然発症することが明らかになり、40 週齢では約 40%のマウスが肺線維症で死亡した。領域内の大村谷らとの共同研究により、IPF1 変異マウスでは、肺胞 II 型上皮細胞のネクロプトトーシスが亢進していることがその病態の進展に必須であることを解明し、ネクロプトトーシスの阻害により肺線維化を抑制できることを明らかにした (論文投稿中)。
4. 山崎 (研究分担者: 宮本) : コレステロールは、細胞膜の構成成分として細胞の流動性の維持に働くほか、ステロイドホルモンや脂溶性ビタミンなどの合成に関与する必須の脂質である。一方、初期の動脈硬化巣にコレステロール結晶が存在し、血管内皮細胞が損傷され、マクロファージ等の炎症細胞の浸潤や、これらの細胞によるサイトカイン産生を引き起こすことが明らかとなっており、結晶化したコレステロールは DAMPs として機能することが明らかとなってきた。ところが、コレステロール結晶を直接認識する自然免疫受容体はこれまで知られていなかった。山崎らは、様々な受容体と組織を探索した結果、ヒト Mincle がコレステロール結晶を認識することが判明した (J Biol Chem 2015)。 構造が類似する他のステロイドホルモン、またコレステロールエステルでは活性は認められなかった。ヒト単核球由来樹状細胞をコレステロール結晶で刺激すると、炎症性サイトカインの発現が誘導され、それらは抗ヒト Mincle 抗体で抑制された。以上より、コレステロール結晶によって引き起こされる慢性炎症性疾患にヒト Mincle が寄与している可能性が示され、生活習慣病などにおける新しい治療ターゲットとなることが期待される。

公募研究

A01: 多様な細胞死の分子機構と生体内での捕捉

1. 今井らは、フェロトーシスに類似した細胞死が誘導される GPx4 欠損細胞を用いて、網羅的 shRNA ライブラリーのスクリーニングを行い、フェロトーシス様細胞死の実行因子を 5 種類同定した (Lipo 1~5 と命名)。lipo ノックダウン細胞はフェロトーシスを誘導する抗がん剤サルファサラジンによる細胞死を抑制できないことから、抗がん剤によるフェロトーシスと GPx4 欠損細胞で見られるフェロトーシス様細胞死は、異なる経路によることが明らかとなった。また低容量のビタミン E で飼育した心臓特異的 GPx4 欠損マウスは、過度の運動疲労により脂質酸化依存的心不全による突然死が誘導されることを明らかにした (特発性心筋症モデル非ヒト動物及びその応用 特願 2015-225986)。
2. 白崎らは、独自に開発した 1 細胞毎の分泌を実時間で計測する手法を用いてダイイングコード放出の現場を直接観察し、ダイイングコードを受容した細胞の応答を 1 細胞レベルで明らかにすることを目標としている。現在までにこの計測手法をさらに発展させ、細胞集団中の一細胞から分泌される因子のシグナルをイメージングにより計測する手法を開発した。本イメージング法を用いて、ヒト末梢血単球やマウス腹腔マクロファージのピロトーシスの過程において生じる IL-1 β 分泌は、細胞膜の小孔の開閉によって制御されていることが示唆された (論文作成中)。
3. 佐藤らは過酸化水素で酸化的に活性化した鉄を触媒としたタンパク質修飾反応を新規に見出した。この手法では天然に存在する 20 種類のアミノ酸残基の中でもチロシン残基にのみ選択的に結合を形成させることが可能であり、従来のチロシン残基修飾法と比較しても残基選択性・効率面で優れたタンパク質修飾法を見出した (ACS Chem. Biol. 2015)。また、本法の触媒をヘムタンパク質へと拡張することにも成功しており、今後、新規細胞死誘導機構解析法への展開が期待できる。
4. 米原らは、Death Receptor を介するアポトーシスの実行に必須の分子である caspase-8 (Casp8) が、ネクロプトーシスを抑制するだけでなく、分化誘導因子であるレチノイン酸 (RA) のシグナルの劇的な増強を抑制していることを見いだした。そして、ES 細胞において、Casp8 の発現抑制やノックアウトで劇的に増強した RA シグナルによって、ネクロプトーシスの誘導に必須分子である RIPK1, RIPK3 と MLKL の発現が誘導され、ネクロプトーシスが直接引き起こされること、RA シグナルの抑制によって Casp8 ノックアウトマウスの胎生致死という表現型が阻害されることを見いだした。ネクロプトーシスが Casp8 によって制御される際に、RA シグナルの増強が強く関わっていることが示された (論文投稿準備中)。

A02: 細胞死を起点とする生体応答とその異常

1. 渋谷らは、腸管上皮細胞のアポトーシスは、樹状細胞に発現する CD300a のシグナルにより CX3CR1+CD103-CD11b+ 樹状細胞の IFN- β 産生を抑制することを見いだした (Nat Immunol 2016)。腸内細菌叢は CX3CR1+CD103-CD11b+ 樹状細胞を介して腸管内の制御性 T 細胞の増殖を促すことから、腸管上皮細胞のアポトーシスは腸管の制御性 T 細胞の数を制御する役割を持つことが明らかになった。
2. 井上らは、eIF2 α リン酸化を介した統合的ストレス応答の増強が、脂肪肝での肝再生障害の原因となることを見出した。統合的ストレス応答の抑制分子である Gadd34 の機能を阻害すると、脂肪肝再生過程での細胞死が増加し、機能を増強すると細胞死が減少することを見いだした (Hepatology 2015)。統合的ストレス応答が、脂肪肝再生過程での肝細胞死制御機構として重要な役割を果たし、脂肪肝での肝再生障害に対する治療標的となることを示唆している。
3. 菅波らは、肥満の脂肪組織や非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) の肝臓において、実質細胞の細胞死を起点とするマクロファージや線維芽細胞の細胞応答が組織線維化をもたらす新たな分子メカニズムを明らかにした。従来、ヒト NASH の病態を反映する動物モデルに乏しいことが研究の障壁となっていたが、本知見を踏まえて、脂肪肝から短期間で NASH を発症する新しい動物モデルの開発に成功した (特願 2015-122913)。今後、NASH の病態解明、バイオマーカーや新規治療ターゲットの探索、低分子化合物スクリーニングなどに有用と期待される。
4. 久本らは、線虫をモデルとした解析により、軸索切断後に近位側軸索の先端に形成される成長円錐が、切断の際に細胞体より分離された遠位側の残存軸索断片の切断部付近を忌避しながら伸長する現象を発見し、その忌避現象がシグナル脂質であるアナンダミドに依存することを見出した。また線虫のアナンダミド受容体として 7 回膜貫通型受容体 NPR-19 および NPR-32 をそれぞれ新たに同定し、それらが JNK MAPK 経路を抑制することで再生軸索の伸長方向を制御することを明らかにした (Genes to Cells, in press)。

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。

A01

計画研究

【発表論文】（全て査読有）

Nasu Y, Benke A, Arakawa S, Yoshida G, Kawamura G, Manley S, Shimizu S, *Ozawa T. In situ characterization of bak clusters responsible for cell death using single molecule Localization Microscopy. *Sci. Rep.* in press

▲Dodo K, Hayamizu K, Shimizu T, *Sodeoka M. Structure-activity relationship study of 3-amino-2-indolylactam derivatives: Development of inhibitors of oxidative stress-induced necrosis. *Chem. Pharm. Bull.* 2016, in press.

Taki K, Ohmuraya M, Tanji E, Komatsu H, Hashimoto D, Semba K, Araki K, Kawaguchi Y, Baba H, *Furukawa T. GNAS(R201H) and Kras(G12D) cooperate to promote murine pancreatic tumorigenesis recapitulating human intraductal papillary mucinous neoplasm. *Oncogene* 35:2407-2412, 2016.

◎▲Suzuki Y, Tanaka Y, Nakano S, Dodo K, Yoda N, Shinohara K, Kita K, Kaneda A, Sodeoka M, Hamada Y, *Nemoto T. A Platinum-catalyzed Friedel-Crafts-Type C–H coupling–allylic amination cascade to synthesize 3,4-fused tricyclic indoles. *Chem. Eur. J.* 22: 4418-4421, 2016.

Semba H, Takeda N, Isagawa T, Sugiura Y, Honda K, Wake M, Miyazawa H, Yamaguchi Y, Miura M, Jenkins DM, 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. *Nat. Commun.* 7: 11635, 2016.

Yamaguchi Y, Miura M. Programmed cell death in neurodevelopment. *Dev. Cell* 32: 478-490, 2015.

Kinoshita T, Imamura R, Kushiya H, *Suda T. NLRP3 mediates NF- κ B activation and cytokine induction in microbially induced and sterile inflammation. *PLoS One.* 10: e0119179, 2015.

▲*Tsuchiya, Y., Nakabayashi, O., and Nakano, H. FLIP the Switch: Regulation of Apoptosis and Necroptosis by cFLIP. *Int J Mol Sci* 16, 30321-30341, 2015.

Ida S, Ozaki N, Araki K, Hirashima K, Zaito Y, Taki K, Sakamoto Y, Miyamoto Y, Oki E, Morita M, Watanabe M, Maehara Y, Yamamura K, Baba H, *Ohmuraya M. SPINK1 Status in Colorectal Cancer, Impact on Proliferation, and Role in Colitis-Associated Cancer. *Mol. Cancer Res.* 13: 1130-1138, 2015.

◎▲Okazaki M, Kurabayashi K, Asanuma M, Saito Y, Dodo K, *Sodeoka M. VDAC3 gating is activated by suppression of disulfide-bond formation between the N-terminal region and the bottom of the pore. *Biochim. Biophys. Acta.* 1848: 3188-3196, 2015.

◎ Liu T, *Yamaguchi Y, Shirasaki Y, Shikada K, Yamagishi M, Hoshino K, Kaisho T, Takemoto K, Suzuki T, Kuranaga E, Ohara O, *Miura M. Single-cell imaging of caspase-1 dynamics reveals an all-or-none inflammasome signaling response. *Cell Rep.* 8: 974-982, 2014.

【新聞掲載、ニュース等】

「生か死か、炎症と細胞死の関連判明」サイエンスポータル、2014年8月13日掲載（山口良文）

公募研究

【発表論文】（全て査読有）

Okumura R, Kurakawa T, Nakano T, Kayama H, Kinoshita M, Motooka D, Gotoh K, Kimura T, Kamiyama N, Kusu T, Ueda Y, Wu H, Iijima H, Barman S, Osawa H, Matsuno H, Nishimura J, Ohba Y, Nakamura S, Iida T, Yamamoto

M, Umemoto E, Sano K, *Takeda K. Lypd8 promotes the segregation of flagellated microbiota and colonic epithelia. *Nature*. 2016 Apr 7;532(7597):117-21.

◎▲Kimura K#, Tanida M#, Nagata N, Inaba Y, Watanabe H, Nagashimada M, Ota T, Asahara S, Kido Y, Matsumoto M, Toshinai K, Nakazato M, Shibamoto T, Kaneko S, Kasuga M, *Inoue H. Central Insulin Action Activates Kupffer Cells by Suppressing Hepatic Vagal Activation via the Nicotinic Alpha 7 Acetylcholine Receptor. *Cell Rep*. 14: 2362-2374, 2016. (# ; contributed equally)

Okumura T, Takeda K, Kuchiki M, Akaishi M, Taniguchi K, *Adachi-Yamada T. GATAe regulates intestinal stem cell maintenance and differentiation in Drosophila adult midgut. *Dev Biol*. 2016 Feb 410(1):24-35

Chalabi-Dchar M, Cassant-Sourdy S, Duluc C, Fanjul M, Lulka H, Samain R, Roche C, Breibach F, Delisle MB, Poupot M, Dufresne M, Shimaoka T, Yonehara S, Mathonnet M, Pyronnet S, *Bousquet C. Loss of Somatostatin Receptor Subtype 2 Promotes Growth of KRAS-Induced Pancreatic Tumors in Mice by Activating PI3K Signaling and Overexpression of CXCL16. *Gastroenterology* 148: 1452-1465, 2015.

◎▲Sato S, Nakamura K, *Nakamura H, Tyrosine-Specific Chemical Modification with in situ Hemin-Activated Luminol Derivatives. *ACS Chem. Biol*. 10: 2633-2640, 2015.

◎Sato S, Morita K, * Nakamura H, Regulation of target protein knockdown and labeling using ligand-directed Ru(bpy)₃ photocatalyst. *Bioconjugate Chem*. 26: 250-256, 2015.

Inaba Y#, Furutani T#, Kimura K, Watanabe H, Haga S, Kido Y, Matsumoto M, Yamamoto Y, Harada K, Kaneko S, Oyadomari S, Ozaki M, Kasuga M, *Inoue H. Growth arrest and DNA damage-inducible 34 regulates liver regeneration in hepatic steatosis in mice. *Hepatology* 61: 1343-1356, 2015 (# ; contributed equally)

▲Lee Y, Sasai M, Ma JS, Sakaguchi N, Ohshima J, Bando H, Saitoh T, Akira S, *Yamamoto M. p62 Plays a Specific Role in Interferon- γ -Induced Presentation of a Toxoplasma Vacuolar Antigen. *Cell Rep*. 13: 223-33, 2015.

▲Ohshima J, Sasai M, Liu J, Yamashita K, Ma JS, Lee Y, Bando H, Howard JC, Ebisu S, Hayashi M, Takeda K, Standley DM, Frickel EM, *Yamamoto M. RabGDI α is a negative regulator of interferon- γ -inducible GTPase-dependent cell-autonomous immunity to Toxoplasma gondii. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 112: E4581-90, 2015.

Uemura N, Koike M, Asai K, Kinoshita M, Fujiwara-Ishikawa T, Matsui H, Naruse K, Sakamoto N, Uchiyama Y, Todo T, Takeda SI, Yamakado H, *Takahashi R. Viable neuronopathic Gaucher disease model in medaka (*Oryzias latipes*) displays axonal accumulation of alpha-synuclein. *Plos Genet*. 11: e1005065, 2015.

Ueno Y, Koike M, Shimada Y, Shimura H, Uchiyama Y, Hattori N, *Urabe T. L-carnitine enhances axonal plasticity and improves white-matter lesions after chronic hypoperfusion in rat brain. *J. Cereb. Blood Flow Metab*. 35: 382-391, 2015.

【新聞掲載、ニュース等】

「脳の血糖調節解明ー金大井上教授グループ 治療応用に期待ー」2016年3月4日北國新聞朝刊(P28)(井上啓)

「肝臓回復のたんぱく質 ー金沢大 研究グループが特定ー」2015年4月16日 日本経済新聞朝刊(P31)(井上啓)

「みんなのニュース ー肝機能回復へ 物質特定ー」2015年4月6日 石川テレビ 18:29ー(井上啓)

A02

計画研究

【発表論文】(全て査読有)

◎Motomura Y, Kanno S, Azano K, Tanaka M, Hasegawa Y, Katagiri H, Saito T, Hara H, Nishio H, Hara T, *Yamasaki S. Identification of Pathogenic Cardiac CD11c+ Macrophages in Nod1-Mediated Acute Coronary Arteritis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 35: 1423-1433, 2015.

◎Karasawa K, Azano K, Moriyama S, Ushiki M, Monya M, Iida M, Kuboki E, Yagita H, Uchida K, Nitta K, *Tanaka M. Vascular-Resident CD169-Positive Monocytes and Macrophages Control Neutrophil Accumulation in the Kidney with Ischemia-Reperfusion Injury. *J. Am. Soc. Nephrol*. 26: 896-906, 2015.

- ▲◎Aşano K, Takahashi N, Ushiki M, Monya M, Aihara F, Kuboki E, Moriyama S, Iida M, Kitamura H, Qiu CH, Watanabe T, *Tanaka M. Intestinal CD169(+) macrophages initiate mucosal inflammation by secreting CCL8 that recruits inflammatory monocytes. *Nat. Commun.* 6: 7802, 2015.
- ◎Lauber S, Wong S, Cutz JC, Tanaka M, Barra N, Lhoták S, Ashkar A, *Richards CD. Novel function of Oncostatin M as a potent tumor-promoting agent in lung. *Int. J. Cancer.* 136: 831-843, 2015.
- ▲Maekawa Y, Ishifune C, Tsukumo S, Hozumi K, Yagita H, *Yasutomo K. Notch controls the survival of memory CD4+ T cells by regulating glucose uptake. *Nat. Med.* 21: 55-61, 2015.
- ◎Richardson MB, Torigoe S, *Yamasaki S, *Williams SJ. Mycobacterium tuberculosis β -gentiobiosyl diacylglycerides signal through the pattern recognition receptor Mincle: total synthesis and structure activity relationships. *Chem. Commun.* (Camb). 51: 15027-15030, 2015.
- ◎Kiyotake R, Oh-Hora M, Ishikawa E, Miyamoto T, Ishibashi T, *Yamasaki S. Human Mincle Binds to Cholesterol Crystals and Triggers Innate Immune Responses. *J. Biol. Chem.* 290: 25322-25332, 2015.
- ◎*Kido T, Kouji Y, Suzuki K, Kobayashi A, Miura Y, Chen EY, Tanaka M, Miyajima A. CPM is a useful cell surface marker to isolate expandable bi-potential liver progenitor cells derived from human iPS cells. *Stem Cell Reports.* 5: 508-515, 2015.
- ◎Komori T, Tanaka M, Furuta H, Akamizu T, Miyajima A, *Morikawa Y. Oncostatin M is a potential agent for the treatment of obesity and related metabolic disorders: a study in mice. *Diabetologia.* 58: 1868-1876, 2015
- ◎van der Peet PL, Gunawan C, Torigoe S, *Yamasaki S, *Williams SJ. Corynomycolic acid-containing glycolipids signal through the pattern recognition receptor Mincle. *Chem. Commun.* (Camb). 51: 5100-5103, 2015.
- ◎Wilson GJ, Marakalala MJ, Hoving JC, van Laarhoven A, Drummond RA, Kerscher B, Keeton R, van de Vosse E, Ottenhoff TH, Plantinga TS, Alisjahbana B, Govender D, Besra GS, Netea MG, Reid DM, Willment JA, Jacobs M, Yamasaki S, van Crevel R, *Brown GD. The C-type lectin receptor CLECSF8/CLEC4D is a key component of anti-mycobacterial immunity. *Cell Host Microbe.* 17: 252-259, 2015.
- ◎*Mi-ichi F, Miyamoto T, Takao S, Jeelani G, Hashimoto T, Hara H, *Nozaki T, Yoshida H. Entamoeba mitosomes play an important role in encystation by association with cholesteryl sulfate synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 112: E2884-2890, 2015.
- ◎Watanabe T, Ito T, Goda HM, Ishibashi Y, Miyamoto T, Ikeda K, Taguchi R, Okino N, *Ito M. Sterylglucoside catabolism in Cryptococcus neoformans with endoglycoceramidase-related protein 2 (EGCrP2), the first steryl- β -glucosidase identified in fungi. *J. Biol. Chem.* 290: 1005-1019, 2015.
- ◎Yonekawa A, Saijo S, Hoshino Y, Miyake Y, Ishikawa E, Suzukawa M, Inoue H, Tanaka M, Yoneyama M, Oh-Hora M, Akashi K, *Yamasaki S. Dectin-2 Is a Direct Receptor for Mannose-Capped Lipoarabinomannan of Mycobacteria. *Immunity.* 41: 402-413. 2014.
- ▲Sato F, Miyaoka Y, Miyajima A, *Tanaka M. Oncostatin M maintains the hematopoietic microenvironment in the bone marrow by modulating adipogenesis and osteogenesis. *PLoS One* 9: e116209, 2014.
- Yagai T, Miyajima A, *Tanaka M. Semaphorin 3E secreted by damaged hepatocytes regulates the sinusoidal regeneration and liver fibrosis during liver regeneration. *Am. J. Pathol.* 184: 2250-2259, 2014.
- ▲Kitamura A, Sasaki Y, Abe T, Kano H, *Yasutomo K. An inherited mutation in NLRC4 causes autoinflammation in human and mice. *J. Exp. Med.* 211: 2385-2396, 2014.
- ◎Tanaka M, Ikeda K, *Suganami T, Komiya C, Ochi K, Shirakawa I, Hamaguchi M, Nishimura S, Manabe I, Matsuda T, Kimura K, Inoue H, Inagaki Y, Aoe S, Yamasaki S, *Ogawa Y. Macrophage-inducible C-type lectin underlies obesity-induced adipose tissue fibrosis. *Nat. Commun.* 5: 4982, 2014.
- ◎Giordano M, Roncagalli R, Bourdely P, Chasson L, Buferne M, Yamasaki S, Beyaert R, van Loo G, Auphan-Anezin N, Schmitt-Verhulst AM, *Verdeil G. The tumor necrosis factor alpha-induced protein 3 (TNFAIP3, A20) imposes a brake on antitumor activity of CD8 T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 111: 11115-11120, 2014.
- ◎Kusuda T, Nakashima Y, Murata K, Kanno S, Nishio H, Saito M, Tanaka T, Yamamura K, Sakai Y, Takada H, Miyamoto T, Mizuno Y, Ouchi K, Waki K, *Hara T. Kawasaki disease-specific molecules in the sera are linked to microbe-associated molecular patterns in the biofilms. *PLoS One.* 9: e113054, 2014.
- *Miyamoto T, Okimoto T, Kuwano M. Chemical Composition of the Essential Oil of Mastic Gum and their Antibacterial Activity Against Drug-Resistant Helicobacter pylori. *Nat. Prod. Bioprospect.* 4: 227-231, 2014.

【新聞掲載、ニュース等】

「結核菌侵入防ぐたんぱく質特定」毎日新聞（27面）2014年8月29日掲載（山崎晶）

「結核菌排除するタンパク質特定 九大、新薬に期待」産経新聞（27面）2014年8月29日掲載（山崎晶）

「結核菌排除するタンパク質 九大研究グループが特定」日本経済新聞 2014年8月29日掲載（山崎晶）

公募

【発表論文】（全て査読有）

©Nakahashi-Oda C, Udayanga KGS, Nakamura Y, Nakazawa Y, Miki H, Iino S, Tahara-Hanaoka S, Shibuya K, *Shibuya A. Apoptotic epithelial cells control the abundance of Treg cells at barrier surfaces. *Nat. Immunol.* 17: 441-450, 2016.

▲*Itoh T. Stem/progenitor cells in liver regeneration. *Hepatology.* 2016 (accepted on May 12, 2016).

©Miyake M, Ito Y, Sawada M., Sakai K, Suzuki H, Sakamoto T, Sawamoto K., *Kamijima M. Subchronic inhalation exposure to 2-ethyl-1-hexanol impairs the mouse olfactory bulb via injury and subsequent repair of the nasal olfactory epithelium. *Arch. Toxicol.* Apr 8, 2016. [Epub ahead of print]

Alam T, Maruyama H, Li C, Pastuhov SI, Nix P, Bastiani M, Hisamoto N., *Matsumoto K. Axotomy-induced HIF-serotonin signalling axis promotes axon regeneration in *C. elegans*. *Nat. Commun.* 7: 10388, 2016.

Maruyama K, Fukasaka M, Uematsu S., Takeuchi O, Kondo T, Saitoh T., Martino M, Akira S. 5-azacytidine-induced protein 2 (AZI2) regulates bone mass by fine-tuning osteoclast survival. *J. Biol. Chem.* 290: 9377-9386, 2015.

*Abe R. Immunological response in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *J. Dermatol.* 42: 42-48, 2015.

Miki H, Nakahashi-Oda C, Sumida T, *Shibuya A. Involvement of CD300a Phosphatidylserine Immunoreceptor in Aluminum Salt Adjuvant-Induced Th2 Responses. *J. Immunol.* 194: 5069-5076, 2015.

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

Muramatsu-Kato K, *Itoh H, Kohmura-Kobayashi Y, Ferdous UJ, Tamura N, Yaguchi C, Uchida T, Suzuki K, Hashimoto K, Suganami T., Ogawa Y, Kanayama N. Undernourishment in utero Primes Hepatic Steatosis in Adult Mice Offspring on an Obesogenic Diet; Involvement of Endoplasmic Reticulum Stress. *Sci. Rep.* 5:16867, 2015.

Li C, *Hisamoto N., *Matsumoto K. Axon regeneration is regulated by Ets-C/EBP transcription complexes generated by activation of the cAMP/Ca²⁺-p38 MAPK signaling pathways. *PLoS Genetics.* 11: e1005603, 2015.

Shibutani ST, Saitoh T., Nowag H, Münz C, *Yoshimori T. Autophagy and autophagy-related proteins in the immune system. *Nat. Immunol.* 16: 1014-1024, 2015.

Matsuda T, Muraio N, Katano Y, Juliandi B, Kohyama J, Akira S, Kawai T., *Nakashima K. TLR9 signalling in microglia attenuates seizure-induced aberrant neurogenesis in the adult hippocampus. *Nat. Commun.* 6: 6514, 2015.

Fukushima T, Yoshihara H, Furuta H, Kamei H, Hakuno F, Luan J, Duan C, Saeki Y, Tanaka K, Iemura S, Natsume T, Chida K, Nakatsu Y, Kamata H., Asano T, *Takahashi S. Nedd4-induced monoubiquitination of IRS-2 enhances IGF signalling and mitogenic activity. *Nat. Commun.* 6: 6780, 2015.

Kashiwagi I, Morita R, Shichita T., Komai K, Saeki K, Matsumoto M, Takeda K, Nomura M, Hayashi A, Kanai T, *Yoshimura A. Smad2 and Smad3 Inversely Regulate TGF- β Autoinduction in Clostridium butyricum-Activated Dendritic Cells. *Immunity* 43: 65-79, 2015.

©Ito M, Shichita T., Okada M, Komine R, Noguchi Y, *Yoshimura A, *Morita R. Bruton's tyrosine kinase (BTK) is an essential component for NLRP3 inflammasome activation and a potential therapeutic target for inflammation after ischemic brain injury. *Nat. Commun.* 6: 7360, 2015.

【新聞掲載、ニュース等】

「ぜんそく・アトピーの悪化 死んだ粘膜細胞が原因？」朝日新聞デジタル(online)、2016年2月9日掲載（渋谷彰）

2016. 1.29 トムソン・ロイターによる Highly Cited Researchers 2015 に Immunology 分野で選出されました。(植松智)(<http://ip-science.thomsonreuters.jp/media/Press/releases/Scientific-Minds-2015.pdf>)

「切断神経の再生 容易に？」毎日新聞 2015年10月29日掲載(久本直毅)

「脳梗塞に白血球薬～後遺症軽減の可能性～」日本経済新聞夕刊、2015年6月11日掲載(七田崇)

「脳梗塞の後遺症軽減か」毎日新聞朝刊16面、2015年7月22日掲載(七田崇)

【主催シンポジウム】

合同若手会議(酸素生物学班との合同) ホテル一宮シーサイドオーツカ(一宮町、千葉県、2016年1月26-28日)(参加者100名)

Japan Australia Meeting on Cell Death (WEHI, Melbourne, Australia, 2015年10月21-23日)

(日本側参加者22名、外国人140名)

新学術領域研究「細胞死を起点とする生体防御ネットワークの解明」キックオフシンポジウム

(東京大学山上会館, 東京, 2014年11月13日)(参加者156名)

【アウトリーチ活動】

袖岡幹子(閻闔 孝介): 研究展示(H28.4.23) 理化学研究所(和光)、一般市民(展示来訪者:70名程度)

今井浩孝: 市民講演会「突然死の予防に重要なビタミンEとセレン」(H.27.10.31) お茶の水女子大学 共通講義棟2号館201室、一般市民(参加:60名)

今井浩孝: 教育講演「ビタミンEにより制御される新規フェロトシス様細胞死と疾患」(H.27.9.17) 神戸学院大学ポートアイランドキャンパスB号館 日本、韓国、衛生薬学研究者、大学生、大学院生(参加:100名)

中野裕康: ひらめき☆ときめきサイエンス「細胞の「死」が生命を支えていることを学ぼう」(文部科学省、研究成果社会還元普及事業)(H27.12.25) 東邦大学医学部(参加:中学生19名)

中野裕康、浅野 謙一、田中 稔、須田 貴司: パネル展示免疫ふしぎ未来2015(H.27.8.9) 日本科学未来館、一般市民(参加:2,667名)

須田 貴司: 公開講座「細胞死の秘密」(H.27.6.6) 金沢大学サテライト・プラザ、小松サテライト(配信)、珠洲サテライト(配信)、一般市民(参加:30名程度)

田中 正人: 八王子学園都市大学「いちょう塾」(H.27.6.6) 八王子市学園都市センターイベントホール、一般市民(参加:50名程度)

仲矢 道雄: 九州大学大学院薬学研究院 公開講座(H.27.5.24) 九州大学 コラボステーションI 視聴覚ホール、地域の薬剤師及び一般市民(約100名)

袖岡 幹子(閻闔 孝介): 研究展示(H27.4.18) 理化学研究所(和光)、一般市民(来訪者200名程度)

山崎 晶: 講演 日本生物教育会第69回全国大会・福岡大会第一分科会(免疫分野)(H.26.8.7) 西南学院大学、高校生物学教員(参加:60名程度)

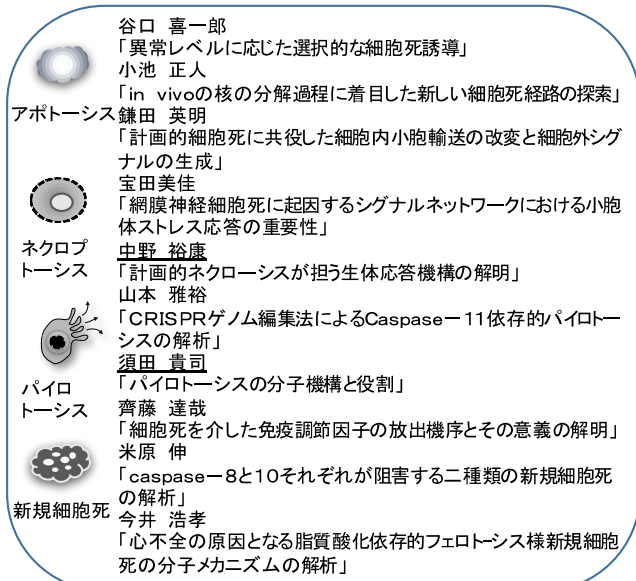
6. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況（2 ページ以内）

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。

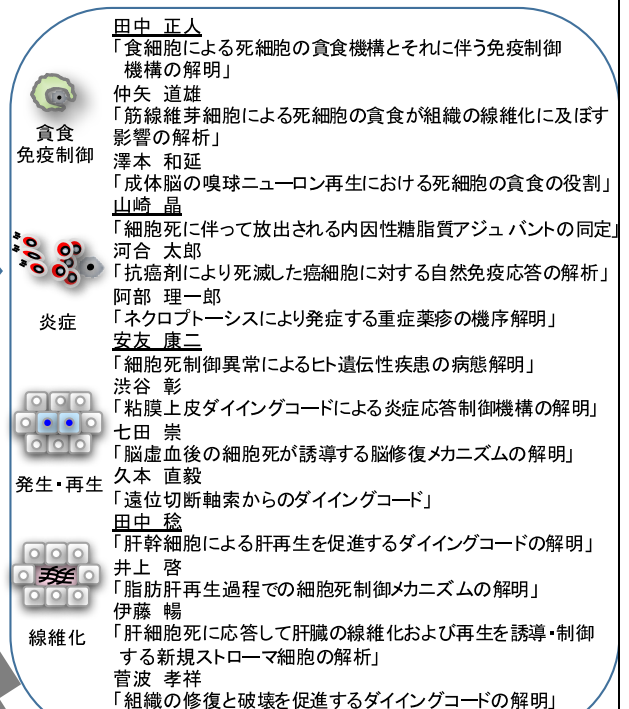
本研究領域は8つの計画班、21の公募班より構成されている。本領域が掲げる目標は、多様な細胞死の分子機構を明らかにするとともに、細胞死を起点として惹起される生体応答を解析することで、それぞれの細胞死が持つ生理的・病理的意義を統合的に解明することである。この目的のために、細胞死の分子機構と、生体応答（免疫、炎症、修復、再生）の研究をリードする研究者に加え、ケミカルバイオロジー、分子イメージング、オミックス解析のエキスパートを融合することにより、研究者間の有機的連携を図り、研究領域全体の目標達成と発展を目指している（下図）。

研究組織間の関係状況については、計画研究班内で62件の共同研究が進められており、公募班の領域参入後は7つの公募班との間に新たに15件の共同研究がスタートしている。さらに本領域の目標を効率良く達成するため、後述するように、すべての計画研究班が参加する「肝細胞死共同プロジェクト」および、昨年度より新たに始まった「新規細胞死共同プロジェクト」を推進している。また、遺伝子改変マウスの作製や抗体作製、細胞死関連化合物、オミックス解析等の技術やマテリアルを領域全体で利用可能なシステムを構築しており、共同研究の推進にもつながっている（8. 研究費の使用状況の項参照）。この点については、第二回領域班会議で総括班評価者の先生方に高評価をいただいた。さらに、領域班会議とは別に、領域内の若手研究者を中心とした合同若手会議も行っている。27年度は千葉県一宮にて大学院生や博士研究員、助教など約100名が参加して活発な議論が行われ、情報交換会でも親睦を深めることができた。このような取り組みによって、領域参加者全員が目標達成のための問題意識を共有し、今後も有益な連携が強化されていくものと考えている。

多様な細胞死の分子機構の解明

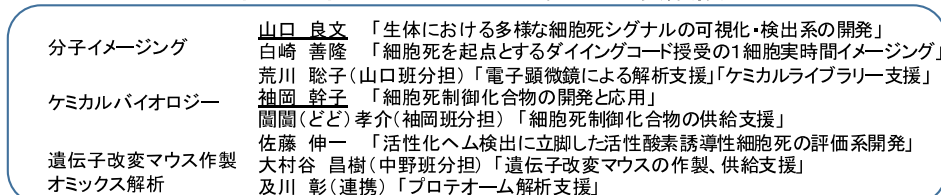


細胞死を起点として惹起される生体応答の解明



多様な細胞死が持つ生理的・病理的意義の統合的解明

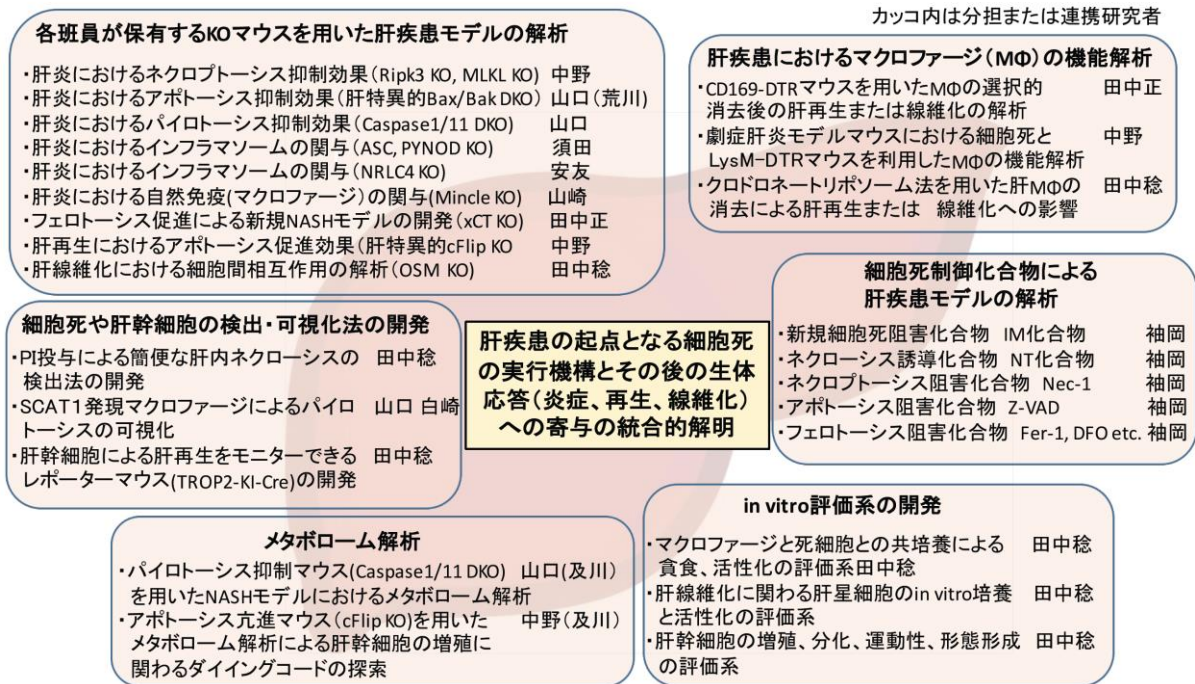
化学的・工学的アプローチによる細胞死の実体解明



「肝細胞死共同プロジェクト」

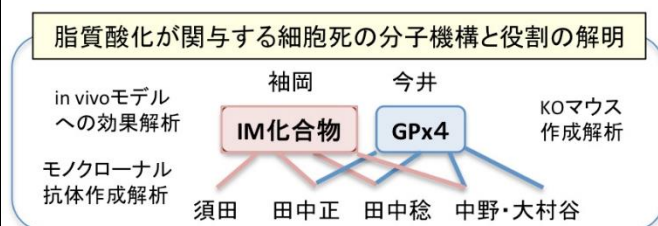
本プロジェクトでは、肝疾患という1つの組織障害モデルを取り上げ、細胞死機構、生体応答、解析技術のエキスパートが、各々の立場から多角的に素過程を解析する。各研究者が保有するツールやスキルを駆使し、得られた知見を統合する事により、細胞死に伴う生体応答の意義を把握することを目指す(下図)。これまでに、肝障害の一つである非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)を共通の研究対象に設定し、プロトコルを共有して解析を進めてきた結果、一つの成果として、脂肪肝からのNASH発症に関わる細胞死はフェロトーシスが起点または上位にあることを見出した。これに伴い、公募班でフェロトーシスに類似するGPx4欠損細胞死の研究を行っている今井らを交え、後述する新規細胞死共同プロジェクトを急遽立ち上げた。また、下図にあるように、NASH以外の他の肝疾患についても様々な角度から全員参加型の研究を進めており、今後も公募班を含めた共同研究の拡大が見込まれる。

肝細胞死共同プロジェクトにおけるテーマと主たる担当者一覧



「新規細胞死共同プロジェクト」

袖岡らが開発したIM化合物が選択的な抑制効果を示す酸化ストレスにより誘導されるネクロトーシス様細胞死と今井らが見いだしたGPx4欠損による細胞死は、どちらも脂質酸化が関与する新しいタイプの細胞死である事に着目し、その分子機構の解明をめざして新たに「新規細胞死共同プロジェクト」を開始した。最近鉄イオンと脂質酸化が関与する細胞死がフェロトーシスと名付けられ注目を集めているが、その分子実体は明らかになっていない。今井らはGPx4欠損により誘導される新規細胞死とフェロトーシスの類似性と差異に注目し、領域内の複数のグループと連携し多角的な解析を行っている。袖岡らはIM化合物



の特異性の評価やin vivo病態モデルにおける効果の解析のため、ユニークな細胞死評価系をもつA01班の研究者や個体レベルでの解析を得意とするA02班の研究者との連携を行っている。さらに総括班によるモノクローナル抗体やノックアウトマウスの作成支援を得て、本脂質酸化が関与する新規細胞死に関連する蛋白質の機能解析が進行している。

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。

日本および世界の細胞死研究についてはサイエンス全体の次世代を担う若手の育成を見据え、1) 合同若手会議（若手中心のシンポジウム）と2) 国際交流支援を行っている。

1) 合同若手会議：

公募班員が参画した H27 年度から毎年 1 回、泊まり込みで行う若手会議を企画している。狙いとしては、領域に参画している研究代表者に加え、現場で実際に手を動かし研究を推進する若手（助教、ポスドク、大学院生ら）がプレリミナリーなデータを含めて発表し、交流する機会を持つことである。こうした交流は、研究への刺激や新しい展開の萌芽となるだけでなく、得られた人脈は将来的な無形財産となる。加えて、より実りある交流を促進するため、接点が見出しやすかつ若手育成に積極的な複数の新学術領域班と合同で若手会議を行っている。実際に平成 27 年度は、細胞死の制御という点でシグナルのクロストークが見出される「酸素生物学」班と合同若手会議を二泊三日の合宿形式で行った。若手の参加を促すべく若手中心に参加費の支援をおこない、結果、総勢 100 名の参加者（そのうち上記若手に相当する人数が 66 名、両班の教授・准教授・講師クラスが 33 名、特別講演 1 名）と大変盛況な会となった。上記 66 名の若手の大学院生・ポスドク参加者のほぼ全員が口頭発表・ポスター発表を行い、若手同士のみならずオブザーバーとして参加した計画班代表者、公募班代表者との交流も盛んとなった。また合宿形式の相部屋で日中の研究会から夜間の懇親会まで寝食を共にすることで、若手同士の交流を深める工夫を行っている。なにより合宿形式で行うことで質疑応答およびポスターの時間に余裕をもたせることができ、通常時間内にこなすことに陥りがちな質疑応答においても忌憚ない議論を尽くすことができた。通常の学会では時間制限や遠慮により発言の機会の少ない若手にも質疑応答に加わるよう促した結果、若手参加者のうち半数以上が質疑応答で積極的に発言し質の高い議論が展開され、若手発表者だけでなく計画班公募班からのシニアオブザーバーにとっても非常にエキサイティングな会だったとの評価を得ている。これらの経験を元に、当領域の若手が国内学会や国際会議の場での議論への積極的参加による飛躍が望まれる。加えて、この会を契機に現場ベースで新たな研究展開や共同研究への発展が複数生じており、領域研究の推進自身に非常に有意義なものとなっている。研究の多様性と人的交流を広げるため、平成 28 年度は別の新学術領域「細胞競合」班との合同若手会議の開催を予定している。

2) 国際交流支援：

領域に属する研究班の若手に対し以下の二つの支援、すなわち海外国際学会参加支援および国際研究交流支援を行っている。前者では、細胞死関連およびその周辺領域の海外国際学会への参加費・渡航費を支援することで、若手の海外国際学会への積極的な参加を促進している。これまでに 4 つの海外国際学会への参加を支援している。また、H27 年度には日豪の細胞死研究者を中心にメルボルン（オーストラリア）で国際シンポジウムを開催し、領域から 10 名以上の若手が参加している。この会においては領域からの若手参加者がベストプレゼンテーション賞を受賞し、積極的な宣伝と交流が行えた。後者の国際研究交流支援は、共同研究を通じた若手人材の交流を支援するものである。実際に H27 年度は海外の二つのラボ（オーストラリアとニュージーランド）から大学院生を 2 名受け入れ、計画研究班の二つのラボ（田中(正)班・山崎班）で共同研究交流を行った。また、そのうち 1 名は東京近郊の複数の大学の研究室（東邦大学-中野、東京大学-山口、東京医科歯科大学-荒川）を訪問し、研究セミナーを開催した。これは共同研究の加速度的な推進につながっただけでなく、受け入れ研究室に所属する若手研究者の意識向上にも大きく寄与するものであった。この企画は、各ラボの若手研究者にとって大変貴重な経験となったとの声が寄せられており、今後も可能な限り行いたい。

以上のふたつの取り組みにより、若手研究者が、それぞれの段階に応じた研究推進への刺激と研究人脈を得られるように配慮している。

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。

本領域の総括班は領域内研究の相乗的な発展を目的として、研究支援活動を行っている。具体的には以下の項目について予算を配分し実施した。

1. メタボローム解析（担当：及川）件数 12 件

各種死細胞の培養上清および、細胞死を誘導したマウスの血清中のメタボライトを CE-MS（キャピラリー電気泳動質量分析装置）を用いてメタボローム解析を行った。

2. 超微形態解析（担当：荒川）件数 3 件

in vitro および *in vivo* の各種細胞死について、透過型電子顕微鏡を用いて微細構造の解析を行った。よりよい標本の作製のために、担当者が依頼者の研究室に出向いて、固定から解析までの一連の作業を自ら行った。

3. モノクローナル抗体作製（担当：田中正）件数 10 件

依頼者が必要とするモノクローナル抗体の作製を行った。依頼者が目的の抗原を調製して供給し、担当者がこれを用いて、動物への抗原接種、ハイブリドーマ作製およびスクリーニングを行った。樹立した抗体は、依頼者の承諾のもと領域内で共有し、共同研究の推進を図っている。これまでに作製した抗体のリストは表 1 の通りである（作製中のものも含む）。

表 1: 抗体作製リスト

抗原名	依頼者
DCAR2	山崎
hMincle	山崎
VDAC1	どど(袖岡班)
pMLKL	中野
huCPM	田中稔
hGasderminD	須田
mGasderminD	須田
mIL-11	中野
VDAC2	どど(袖岡班)
VDAC3	どど(袖岡班)

4. 遺伝子改変マウス作製と供給（担当：大村谷）件数

作製 18 件, 供給 7 件

CRISPR/Cas9 システムを用いて、依頼者が必要とするノックアウトマウス・ノックインマウスの作製を行った。樹立したマウスは、依頼者の承諾のもと領域内で共有し、共同研究の推進を図っている。これまでに作製した遺伝子改変マウスのリストは表 2 の通りである（作製中のものも含む）。また、領域研究者の所有する細胞死研究関連のマウスの凍結胚バンク（現在 52 系統を所有）を樹立して、その情報を領域内で共有し、リクエストに応じてマウスを供給した。

表 2: マウス作製支援

系統名	依頼者
AAG23 KO	荒川(山口班)
AAG31 KO	荒川(山口班)
AAG10 KO	荒川(山口班)
Lipo-1 KO	今井(公募)
Lipo-2 KO	今井(公募)
Psm5 KO	安友
Psm8 KI (ROSA)	安友
BCAM KO	田中稔
Mincle(Clec4e cKO)	山崎
Gba KI	山崎
CAG-stop-HyperCyto KI (ROSA)	山口
CAG-stop-SCAT3 KI (ROSA)	山口
CAG-stop-Casper3GR KI (ROSA)	山口
Dennd1b KO	荒川(山口班)
MFG-E8 EPT KI (ROSA)	澤本(公募)
MFG-E8 D89E KI (ROSA)	澤本(公募)
hHB-EGF KI (ROSA)	田中正
HB-EGF (I117V/L148V) KI (ROSA)	田中正

5. ケミカルスクリーニング（担当：荒川）件数 2 件

細胞死の制御や細胞死関連の現象を制御する低分子化合物の探索を支援した。担当者が、スクリーニング法の樹立から実施までを依頼者と相談の上、実施している。

6. 細胞死制御の低分子化合物供給（担当：袖岡、どど）件数 11 件

細胞死シグナルの解析に供する目的で、ターゲットが既知の細胞死抑制剤（34 種類）および誘導剤（28 種類）を整備し、要請に応じて分与した。

このように本研究領域の総括班は、細胞死研究関連の抗体、遺伝子改変マウス、細胞死関連化合物等の研究資材と、種々の解析技術を領域全体で共有することにより、研究費の効果的な使用のみならず共同研究の推進にも役立つ活動を行っている。この研究支援活動に関しては、評価者全員から高い評価を受けている（9. 総括班評価者による評価の項参照）。

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。

申請時に依頼した総括班評価者に加えて、領域運営のアドバイスをお願いしている内山安男氏に評価をお願いした。

長田 重一氏 大阪大学・免疫学フロンティア研究センター教授

新学術領域「ダイニングコード」の中間評価は2016年5月20日-21日金沢市での領域会議での計画班班員および公募研究代表者による発表、その際提供された研究概要に基づき実施した。本新学術領域ではネクロプトーシス、パイロプトーシス、フェロプトーシスなど細胞死、死細胞やDAMPの認識・食食過程に関して、そのシグナル伝達、生理作用の解明を目的としている。領域発足2年あまりであるがすでに数多くの興味深い成果を得ている。また、総括班の指導のもと多くの共同研究が進められている。特に、総括班による研究支援（モノクローナル抗体やノックアウトマウスの作成、細胞死関連組み換え分子やプラスミッドの配布、Chemical libraryの提供とscreeningなど）は期待をはるかに超える規模でおこなわれている。領域に所属する研究室の若手を対象とした研究会、市民講座や中高生を対象とした講座なども積極的に開催している。これらの点は平成20年、新学術領域が創設された際の目的「研究者相互の共同研究を促すことにより新たな学問領域を切り開くとともに、若い研究者を育成していく」に鑑み、高く評価されるべきであろう。一方、研究データに関して活発な議論を行い領域会議をより有意義なものにしようとの意図から、領域会議では参加者に「守秘義務誓約書」へのサインをもとめた。よい試みと考える。それにもかかわらず、何人かの公募研究の代表者は、化合物“X”や遺伝子“1, 2, 3, -”と、分子の名前を伏せて発表した。今後の公募研究の採択にあたって考慮すべき点であろう。以上、この領域に属する計画研究班の研究、公募研究は当初の計画に則って着実に進んでおり、本領域はこのまま推進すべきと考える。今後は本研究で得られた成果をアメリカやヨーロッパの国際会議で積極的に発信することを期待する。

三浦 正幸氏 東京大学大学院薬学系研究科教授

本研究領域は、細胞死研究を、細胞死の実行メカニズムのみならず、死細胞からのシグナル発信に注目しダイニングコードという新しい研究分野の創出を目指した意欲的なものである。ネクロプトーシス、パイロトーシスは計画的な非アポトーシス経路の代表例であるが、制御因子の同定や生体イメージング、疾患モデルを含む個体レベルでの解析が進んでいる。活性酸素が引き金となる新たな細胞死に関しては化合物を用いた研究と、生体レベルでの研究が結びついてきた。脂質酸化による細胞死機構も含め独自の成果が期待される。死細胞からのダイニングコードが様々なモデルで提示され、また細胞死を引き金とした細胞食食経路の生体機能解析も独自の切り口で進められている。これまで、交流することが少なかった化学者と生物研究者が共通の研究テーマで共同研究を行うことで、相互の研究レベルが高まっていると感じた。実際に他の分野の方法論を自身の研究として行うことによる現実感が、具体的な成果に結びつき研究展開になってきた要因であろう。アポトーシス以外の細胞死では、分子機構の解明と、その仕組みの基づいた細胞死の形態学的な特徴とを結び付けられる研究に進展するかにも興味を持たれる。方法論の共有のみならず、肝臓での細胞死を領域の共通テーマに設定し、それぞれが得意分野での切り込みをしている。さらに、研究支援班の充実も特筆すべきことである。オーストラリアでの国際シンポジウム、若手研究者を中心とした新学術領域との合同会議も活発で非常にいい企画であったと聞いている。このように、本研究領域は当初の予想以上に領域としてのまとまりを見せ新たな研究分野の創出に順調に進んでいると思われる。

辻本 賀英氏 大阪府立成人病センター研究所所長

本研究領域は、これまでの細胞死（アポトーシス）研究をベースにし、近年明らかになりつつある「細胞死機構の多様性」に「死細胞から発せられるシグナル（ダイニングコード）」という新たな視点を加え、新学術領域を形成しようというものである。計画班員および公募班員による研究は極めて順調に進展している。班員による共同研究は予想以上に活発に行われており、新学術領域形成の意義が大いに発揮されている。また研究者間での種々のリソース、化合物や抗体などの利用も積極的に行われており研究の順調な進捗を支えている。モノクローナル抗体作成や遺伝子改変マウスの作製などの総括班の技術支援事業は多くの研究班員により有効にかつ効率よく利用されており、この面における田中正人研究代表と総括班の積極的な役割、マネジメントは極めて高く評価できる。研究者間のディスカッションも盛んに行われており、若手の育成にも十分に努力が払われている。細胞死の多様性に関しては、パイロトーシス、ネクロプトー

シスとフェロトーシス周辺の解析は行われているが、看過すべきでない生理的なプログラム細胞死に関与する多様性という観点からは、不十分感が否めない。またこれは、公募研究の採択におけるシステム上の問題であり、計画班員や総括班員の責任を越えるものであろうが、班会議での公募研究の成果発表中に研究の論理性が十分でないと感じられる研究も若干あり、今後は計画班員などによる指導も必要と思われる。総合的には、研究の進捗は予想を遥かに超えており、非常に高く評価でき大きな研究成果が期待できる。

内山 安男氏 順天堂大学大学院医学研究科特任教授

本研究の1年目、2年目の研究発表会に出席して、計画班員や公募班員の研究の進捗状況を聞き、良好であることが分かった。特に、計画班員の努力により共同研究が大いに進んだことは高く評価できる。具体的には、遺伝子変異動物の作成、モノクローナル抗体の作成を通して、共同研究が大いに進展しているし、非アルコール性脂肪肝 (NASH) による肝障害、細胞死研究に多くの研究者が参加し、一定の成果が得られている点は高く評価できる。パイロトーシス、フェロトーシスやネクロプトーシスの研究も、誘導因子、阻害因子、防御因子など、研究は大いに進んでおり、これからの研究結果に期待が持てる。しかし、生化学的な解析に終始し、実際の細胞にどのような変化が起きているのか、初めに戻って解析する必要があるようだ。計画班員の個々の研究の進捗を見ると、田中 (正) らは、CD169 マクロファージで CCL8 が発現し、炎症を惹起すること (Nat Comm, 2015)、CD169 陽性マクロファージの非存在下で腎虚血再灌流実験で尿細管上皮傷害は劇症化し、好中球が異常活性化することを見出した。CCL8 の発現調節として転写因子の c-Maf を同定し、今後の進展が楽しみである。中野らは、ネクロプトーシス解析のため、CFLIP を X 染色体遺伝子に挿入したノックインマウスを作成し、雄マウスは全て胎生致死 (腸管上皮のアポトーシスとネクロプトーシスの亢進) になり、雌マウスは細胞死がモザイク上に出現することを明らかにした。このマウスは RIPK3 欠損マウスと掛け合わせることでレスキューされることを示した。袖岡らはネクロトーシスなどの細胞死を阻害、あるいは促進する分子を同定して、細胞死の解析を実施。中野や田中 (正) らと共同研究を実施中。山口らは、アポトーシスやパイロトーシスの実行因子が活性化される過程を可視化し、細胞死を解析した (Cell Rep, 2014; Dev Cell, 2015)。他のグループと多くの共同研究をして、より鮮明な細胞死の可視化を試みている。これからの楽しみである。田中 (稔) らは、肝障害後の再生、線維化、発がんに関心しながら細胞死を解析。NASH 発症にはフェロトーシスが関与することを共同研究で明らかにし、ダイニングコードとして Semaphorin 3e を同定した (Am. J. Pathol, 2014)。肝がん幹細胞のマーカーとしてカルボキシペプチダーゼを同定して、さらなる発展が期待される。山崎らは、彼らが見出した死細胞を認識する Mincle 受容体を持つレポーター細胞を使って、様々な臓器のホモジェネートから抽出した脂質成分を解析し、新たな糖脂質を同定した (Immunity, 2014)。この物質は、自然免疫応答を活性化することから、これを使って慢性炎症を解析することができ、さらなる発展が見込める。安友らは数多くのヒトの疾患病態解析から細胞死の解析を進めている。家族性寒冷蕁麻疹の原因遺伝子の NLRC4 を同定し、これがパイロトーシスの亢進と IL-1 β の産生亢進が病態発症に関与することを明らかにした (JEM, 2014)。さらに、家族性肺線維症の原因遺伝子 IPF1 を同定、KI マウスを作成して解析した結果、肺胞 II 型細胞のネクロプトーシスが亢進し、これには Notch シグナルを介した RIPK3 の発現亢進が寄与していることを解明した。安友らは、病態解析から原因遺伝子の発見、その機能解析とそれに伴う細胞死やダイニングコードを解析して、さらなる発展が望まれる。須田らはパイロトーシスシグナル伝達因子の解析から 2 種類候補遺伝子を同定し、PYST-1 がパイロトーシスの誘導に関わることを見出した。このように計画班員は、細胞死シグナルの解析で素晴らしい成果を収めている。これらに加えて、公募班員から素晴らしい研究結果が出ている。これらの中では、疾患に基づく細胞死の解明 (肝細胞、皮膚疾患、放射線障害、がん細胞) に大きな進展がみられ、なかには治療に直接関与する物質も同定されている (フェロトーシス誘導因子 (Lipo 遺伝子)、NLRP3 インフラマソーム活性化抑制因子など)。さらに、本研究班では、若手教育の一環として、若手と計画班員とで合宿形式のセミナーを実施している。このように、本プロジェクトが開始して 2 年間で、様々な種類のダイニングコード、細胞死の誘導機構と病態の発症、細胞死の抑制機構と病態の治療に繋がる多大な成果を得ている点は、高く評価できる。これまでに、インパクトファクターの高い雑誌に 30 編以上発表されていることから、その activity の高さが伺える。さらに、研究内容から考え、今後とも質の高い論文が、国外の雑誌や研究会で発表され、これによる素晴らしい波及効果もあるものと期待している。

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。

1. 各班の研究課題の遂行と領域としての研究強化

各計画研究班は、領域の目標である“細胞死の分子機構と、それらを起点として惹起される生体応答を解析し、各細胞死が持つ生理的・病理的意義を明らかにする”に沿った研究を遂行しており、当初の予定通りの進展が見られる。今後は、各班が現行の研究をさらに発展させて、よりよい成果をあげていくとともに、領域として以下の2項目を強化していくことを考えている。

1) 分子機構に立脚した細胞死様式の統合的定義・分類の確立

各細胞死の分子機構の解明は道半ばであり、分子による各細胞死の定義も未だ定まっていない状況にある。特に酸化ストレスによる細胞死は、一部の研究者によりフェロトーシスと名付けられているが、低分子化合物の効果によって定義されているのみで、その分子実体は混沌としている。本研究領域では袖岡班が、酸化ストレスによる細胞死の分子機構の解明に取り組んでおり、新規細胞死共同プロジェクトを立ち上げた。具体的には、袖岡班が有する研究ツールを用いて、同細胞死の生体内での意義の解明に向けた領域内共同研究（田中（正）班、田中（稔）班）が進んでおり、また、今井班（公募）は、GPx4の研究に端を発して、同細胞死の分子機構解明に向けた研究を精力的に行っている。これらの研究により同細胞死に関与する分子が同定されれば、山口班がライブイメージング法の開発に着手することができる。これらの領域内連携を進めることができれば、**同細胞死の分子機構の解明→生体内での検出法の開発→特異的な生体応答の解析という一連の研究成果が期待できる**。本領域では、これらの知見の集積により、分子の言葉で酸化ストレスによる細胞死を定義し、それを世界に発信することを一つの目標としたい。さらに、領域内では、生物学的に重要と思われる新規細胞死機構の存在を複数確認し、それらの分子機構の解明にも展開が見られており、生体における多彩な細胞死様式の統合的理解が進むことも期待できる。同種の研究は世界的に大変競争の激しい分野であるが、領域内共同研究をさらに活性化して、先駆的な成果をあげられるよう鋭意努力したい。この細胞死の定義と分類について、先の班会議でアドバイザーから、電子顕微鏡観察等の形態学的解析を合わせて進める必要性について指摘があった。従来の方法と先駆的な方法とを合わせて、より包括的な細胞死の定義の確立とその各細胞死の意義の解明に取り組んでいく予定である。

2) ダイニングコードの普遍性の検証

領域内では、ダイニングコードおよびそのレセプター分子の同定が進められている。領域として、**これらのダイニングコードが普遍的なものであるかの検証は重要な課題**である。すなわち、一つのダイニングコードは、臓器や細胞種に関わらず、常に特定の細胞死に付随し類似の生体応答を誘導するのか、あるいは臓器特異的、現象特異的なものであるかを明らかにする必要がある。本領域では、すでに田中（稔）班を中心として、肝細胞死共同プロジェクトが進められている。このプロジェクトでは、肝疾患という1つの組織障害モデルを取り上げ、各研究者が保有するツールやスキルを駆使し、それぞれの細胞死様式、およびそれに伴って放出されるダイニングコードとそのレセプターの肝疾患における意義を明らかにしようとしている。今後はこの解析をさらに進めるとともに、可能であれば各班が有する疾患モデルにも解析を広げて、ダイニングコードおよびそのレセプター分子の生理的、病理的意義を検証していきたいと考えている。

2. 総括班支援の充実と連携強化

これまで多くの総括班支援を行い、これをベースとして多数の共同研究を展開することができている。本領域において、総括班支援は、緊密な領域内連携の源泉として大いに機能しており、評価者からも非常に高い評価を得ている。今後もこの活動を継続していき、領域内共同研究のさらなる深化を目指したい。また、これまでは計画研究班の利用が多かったが、今後は公募班への浸透を図っていく予定である。

3. 若手研究者の育成と国際連携強化

本領域では、日本および世界の細胞死研究の次世代を担う若手の育成を見据え、合同若手会議と海外学会発表支援を行ってきた。今後も、両活動とも継続して行っていく予定である。28年度の合同若手会議は、新学術領域“細胞競合”と合同で開くことが決定している。また、国際活動支援班では、28年度は、中野班の博士研究員が2年間の予定で、オーストラリア WEHI 研究所にて、共同研究を開始することが決定している。さらに、海外の若手研究者を招聘し、共同研究並びに交流を行うことも検討している。細胞死研究の発展のためには、同分野に従事する研究者数の増加とともに、研究室の主宰者が増える必要がある。本研究領域では、2014年度以降に、計画研究班のメンバー3人がPIになり、他に3人が研究室内で昇進している。また、公募班員でも2015年度以降に4人の教授が誕生している。今後も、研究活動を支援することで、若手研究者の活躍の場が広がるよう努力していきたい。国際連携強化については、オーストラリアの細胞死研究者との緊密な国際連携を行っているが、さらに他の地域との連携も視野に入れながら、グローバルなネットワーク形成に力を入れていく。さらに30年度に日本で、細胞死研究の国際シンポジウムを開催する予定である。

4. 公募班への期待

2015年度の公募研究には、200件以上の応募があり、研究レベルの高い21課題が採択された。特に、ダイニングコードの同定とそれによる生体応答の解析を目指す研究課題が多く採択され、今後の成果が期待できる状況にある。一方で、多様な細胞死様式の分子機構と生体内での検出に関する採択課題がやや少なく、研究強化の面で補充が十分であったとは言えない。この点を踏まえて、2017年度の公募では、細胞死様式の定義・分類の確立や生体内での検出に関する研究課題を、やや多めに採択したいと考えている。具体的には、発生における生理的な細胞死の様式と分子機構に関する研究、モデル動物を用いた細胞死研究、生体内での各細胞死を検出できるイメージング技術の開発に関する研究等を採択し、計画研究班との緊密な連携により、研究強化に取り組みたいと考えている。