

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年6月20日現在

機関番号：17401

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2008～2012

課題番号：20117001

研究課題名（和文） 活性酸素のシグナル伝達機能

研究課題名（英文） Signaling Functions of Reactive Oxygen Species

研究代表者

赤池 孝章（AKAIKE TAKAAKI）

熊本大学・大学院生命科学研究部・教授

研究者番号：20231798

研究成果の概要（和文）：活性酸素シグナルの受容からエフェクター分子による制御機構の解明に向けた研究を、分子～細胞～個体レベルで幅広く総合的に展開した。その成果を数多くの学術論文業績として社会に発信した。また、総括班を中心として、公開シンポジウムや技術支援セミナーの開催ならびにホームページやニュースレターの発行を通じて、広く社会・国民に情報発信を行った。

研究成果の概要（英文）：Signaling functions of reactive oxygen species have been explored by this research project from the view points of molecules, cells to individuals, resulting in publication of a number of original articles in high-impact journals. Obtained achievements were also widely distributed through internet, newsletters, technical seminar, and international symposiums organized by this research group.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	6,000,000	1,800,000	7,800,000
2009年度	5,400,000	1,620,000	7,020,000
2010年度	5,400,000	1,620,000	7,020,000
2011年度	12,600,000	3,780,000	16,380,000
2012年度	12,600,000	3,780,000	16,380,000
総計	42,000,000	12,600,000	54,600,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・病態医化学

キーワード：活性酸素、シグナル伝達、酸化ストレス、生理活性、ケミカルバイオロジー

### 1. 研究開始当初の背景

活性酸素は生体分子に非特異的な化学損傷をもたらす毒性因子ではなく、生理的なシグナル伝達機構の担い手であるというコンセプトは今やほとんどの生命科学分野に受け入れられつつある。本提案領域においては、生物種に普遍的に発現されている活性酸素シグナルの分子制御機構に焦点をあて、その解明を目指すものである。総括班においては、この

様な活性酸素シグナルの最先端研究の効果的な推進に向けて、領域研究の調整・企画・広報・評価、さらに、領域内外の研究支援活動を行う。

### 2. 研究の目的

当該領域研究では、多彩な生命現象と疾患病態に関与している活性酸素の機能の解明に向けて、化学と生物系が融合したケミカルバ

イオロジーの新たな視点から『活性酸素によるシグナル伝達研究』を展開する。すなわち、活性酸素のシグナル受容からエフェクター分子による制御機構を分子、細胞～個体レベルで総合的に解明する。そのためには、生物化学、生化学、細胞生物学、分子生物学、医学生物学・臨床医学の幅広い分野の第一人者が一堂に会してそれぞれの専門分野を深く探究しながら、互いに緊密な有機的連携を図ることが必須である。研究期間内に本応募領域の設定目標を達成するためには、総括班の統括のもと領域研究を効果的に推進することが大変重要である。よって、総括班の活動を通じて、研究推進方策の検討、領域の評価と助言を行い、さらに、当該分野の国際的な学術連携と人材育成に取り組む。なお、活性酸素の機能解明のためには、ケミカルバイオロジーという生物・化学系の領域を跨いだ学際的研究を効果的に推進しなくてはならない。その分野融合の成果として、生物系のみならず化学系の研究者により新規解析技法が開発されれば、領域研究の創造性は飛躍的に高まることが期待される。そこで、本領域の総括班では、活性酸素とその化学センサーの分子プローブとイメージングに関する先端技術開発に向けた研究支援事業を強力に推進する。

### 3. 研究の方法

1) 班会議の開催：班会議（年2回）を開催し、領域内の研究者間での情報交換、研究資料の相互利用などにより有機的な連携体制の構築強化を進める。

2) 領域ホームページの開設：当該領域研究によって得られた成果を、領域内外の研究者へ情報発信するとともに、学生、一般市民への研究成果の公開、還元に向けた広報活動システムを構築する。

3) ニュースレターの発刊：上記ホームページとともに、印刷物としての情報発信を行う。

4) 研究支援事業の実施：本領域研究で取り組む最先端技術開発を重点的に支援し、開発された分子プローブやイメージング技術などを領域内外の研究者に向けて積極的に還元する。具体的には、①活性酸素シグナル分子検出プローブ開発と活性酸素イメージング技術支援（浦野担当）、②活性酸素シグナルの化学センサー解析（有本担当）、への支援とともに、技術セミナー・講習会による啓発活動を行う。このことにより、領域内外での共同研究の促進、若手人材の育成、さらには、当該分野の研究レベルの向上に努める。

5) 公開シンポジウム・国際シンポジウムの開催：活性酸素研究の国内外の第一人者を講師として招聘し、関連分野の最新情報を収集すると共に、本領域研究で得られた成果を世界へ発信する。特に、若手研究者に出来るだけ多くの発表の機会を与えられるようなセッション（ポスター発表やショートプレゼンテーション等）を企画する。

6) 関連学会のシンポジウム企画など：関連学会でのシンポジウム企画などを積極的に推進し、学術集会の場で積極的に発表することにより、世界に向けた情報発信に取り組む。

### 4. 研究成果

本領域は、平成20年度に計画研究（12課題）と総括班からなる領域として発足した。公募研究には第一期、第二期ともに100を超える応募があり、その中から平成21年度に第一期公募研究（16課題）、また平成23年度から第二期公募研究（18課題）が採択され、活性酸素シグナルの受容からエフェクター分子による制御機構の解明に向けた研究を、分子～細胞～個体レベルで幅広く総合的に展開した。その成果は「研究成果の発表状況」にも後述するように、数多くの論文業績として社会に発信した。また、総括班を中心として、以下に示す活動を行い、広く社会・国民に情報発信を行った。

1) 班会議：本領域の発足後、全9回の班会議を開催し、領域メンバー間で最新の情報を共有するとともに、研究項目間の共同研究の促進を図った。また、班会議の概要・抄録はニュースレターに掲載し、広く領域外への情報公開を行った。

2) ホームページ：領域ホームページ（平成21年1月7日公開、<http://www.ros-signal.jp>）を立ち上げ、研究成果に関する情報の開示や、シンポジウムや当該分野の関連学会等の情報の提供や当該分野において開発された最新の研究技術と情報の公開を積極的にすすめた。

3) ニュースレター：ニュースレターを発行し、本領域の計画研究・公募研究の概要や公開国際シンポジウム（下記参照）の抄録を紹介し、情報公開を行った。なお、本ホームページでは、海外への情報発信を目的に、日本語版のみならず英語版のサイトを公開している。このような活動が国際的にも評価され、本領域の学術活動は、フリーラジカル研究の

国際組織である SFRBM (Society for Free Radical Biology and Medicine) のニュースレター (SFRBM dot) にも取り上げられた。

4) 研究支援事業: 第1回技術支援セミナー・講習会 (主催; 平成23年11月4日、熊本) 「蛍光プローブを用いた生細胞イメージング」と題して、当該セミナーを開催した。午前中は領域メンバーである浦野 (東京大学) による講習会と海外より招聘の Lancaster 博士による特別講演を行った。また、午後には参加者 (70名を超える若手を中心とした研究者) による実際の細胞を用いた体験型の実習を行った。

#### 5) 公開シンポジウム

①第1回公開国際シンポジウム「活性酸素のシグナル伝達機能」(主催; 平成21年7月18日、阿蘇)。招待講演 (海外2名、国内2名、領域メンバー1名) とポスター発表27題を行い、100名近くの参加者があり、活発な議論が行われた。

②第2回公開国際シンポジウム「活性酸素のシグナル伝達機能」(主催; 平成22年6月18日、京都)。領域代表の赤池孝章が President となり、第6回国際NO学会を京都にて開催した。当該学会は、NO・活性酸素分野の最前線の研究者を集めて2年に一度開催されるもので、今回は、海外からの参加者約140名を加えて、400名近くの参加があり、活発な議論が行われた。また、本領域の公開国際シンポジウムを共同開催し、海外から4名の招聘演者、2名の領域メンバーにより、活性酸素研究における最新のトピックスが紹介された。

③第3回公開国際シンポジウム「活性酸素のシグナル伝達機能」(主催; 平成23年5月11日、東京)。海外から2名の招聘演者、3名の領域メンバーによる公開国際シンポジウムを開催した。

④特別公開シンポジウム「活性酸素のシグナル伝達機能」(主催; 平成24年6月16日、沖縄)。一般参加を含め70名以上の参加があり、活発な議論が行われた。

⑤第4回公開国際シンポジウム「活性酸素のシグナル伝達機能」(主催; 平成24年12月17日、福岡)。7名の招聘演者 (海外5名、国内1名) と、7名の領域メンバーによる講演にて開催し、領域内外から80名を超える参加者があり、活発な議論が行われた。

⑥関連学会のシンポジウム企画など: 日本生化学会、日本NO学会、日本分子遺伝学会をはじめ、多数の学会にて、本領域研究者が主体

となるシンポジウムを企画し、領域件研究にて得られた成果を広く発表した。

5. 主な発表論文等 (領域メンバー分)  
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計621件)

1. Joudoi T, Shichiri Y, Kamizono N, Akaike T, Sawa T, Yoshitake J, Yamada N, and Iwai S, Nitrated cyclic GMP modulates guard cell signaling in Arabidopsis. **Plant Cell**, 2013; 25: 558-71. (査読有)
2. Fujii S, and Akaike T, Redox signaling by 8-nitro-cyclic guanosine monophosphate: nitric oxide- and reactive oxygen species-derived electrophilic messenger. **Antioxid Redox Signal**, 2013, in press. (査読有)
3. Akaike T, Nishida M, and Fujii S, Regulation of redox signalling by an electrophilic cyclic nucleotide. **J Biochem**, 2013; 153: 131-8. (査読有)
4. Kurauchi Y, Hisatsune A, Isohama Y, Sawa T, Akaike T, and Katsuki H, Nitric oxide/soluble guanylyl cyclase signaling mediates depolarization-induced protection of rat mesencephalic dopaminergic neurons from MPP+ cytotoxicity. **Neurosci**, 2013, in press. (査読有)
5. Nishida M, Sawa T, Kitajima N, Ono K, Inoue H, Ihara H, Motohashi H, Yamamoto M, Suematsu M, Kurose H, van der Vliet A, Freeman BA, Shibata T, Uchida K, Kumagai Y, and Akaike T, Hydrogen sulfide anion regulates redox signaling via electrophile sulfhydration. **Nature Chem Biol**, 2012; 8: 714-24. (査読有)
6. Taguchi K, Fujikawa N, Komatsu M, Ishii T, Unno M, Akaike T, Motohashi H, and Yamamoto M, Keap1 degradation by autophagy for the maintenance of redox homeostasis. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 2012; 109: 13561-6. (査読有)
7. Rahaman MM, Sawa T, Ahtesham AK, Khan S, Inoue H, Irie A, Fujii S, and Akaike T, S-Guanylation proteomics for redox-based mitochondrial signaling. **Antioxid Redox Signal**, 2013, in press. (査読有)
8. Kobayashi T, Komatsu T, Kamiya M Campos C, Gonzalez-Gaitan M, Terai T, Hanaoka K,

- Nagano T, Urano Y, Highly activatable and environment-insensitive optical highlighters for selective spatiotemporal imaging of target proteins. **J Am Chem Soc**, 2012; 134: 11153-60. (査読有)
9. Kashio M, Sokabe T, Shintaku K, Uematsu T, Fukuta N, Kobayashi N, Mori Y, Tominaga M. Redox signal-mediated sensitization of transient receptor potential melastatin 2 (TRPM2) to temperature affects macrophage functions. **Proc Natl Acad Sci USA**, 2012; 109: 6745-50. (査読有)
  10. Nishina T, Komazawa-Sakon S, Yanaka S, Piao X, Zheng DM, Piao JH, Kojima Y, Yamashina S, Sano E, Putoczki T, Doi T, Ueno T, Ezaki J, Ushio H, Ernst M, Tsumoto K, Okumura K, and Nakano H. Interleukin-11 links oxidative stress and compensatory proliferation. **Sci Signal**, 2012; 5: ra5. (査読有)
  11. Piao, X, Komazawa-Sakon S, Nishina T, Koike M, Piao JH, Ehlken H, Kunihara H, Hara M, Van Rooijen N, Schutz G, Ohmuraya M, Uchiyama Y, Yagita H, Okumura K, He YW, and Nakano H. c-FLIP maintains tissue homeostasis by preventing apoptosis and programmed necrosis. **Sci Signal**, 2012; 5: ra93. (査読有)
  12. Takahashi N, Kuwaki T, Kiyonaka S, Numata T, Kozai D, Mizuno Y, Yamamoto S, Naito S, Knevels E, Carmeliet P, Oga T, Kaneko S, Suga S, Nokami T, Yoshida J, and Mori Y. TRPA1 underlies a sensing mechanism for O<sub>2</sub>. **Nature Chem Biol**, 2011; 7: 701-11. (査読有)
  13. Morinaka A, Yamada M, Itofusa R, Funato Y, Yoshimura Y, Nakamura F, Yoshimura T, Kaibuchi K, Goshima Y, Hoshino M, Kamiguchi H, and Miki H. Thioredoxin mediates oxidation-dependent phosphorylation of CRMP2 and growth cone collapse. **Sci Signal**, 2011; 4: ra26. (査読有)
  14. Yuzawa S, Kamakura S, Iwakiri Y, Hayase J, Sumimoto H, Structural basis for interaction between the conserved cell polarity proteins Inscuteable and Leu-Gly-Asn repeat-enriched protein (LGN). **Proc Natl Acad Sci USA**, 2011; 108: 19210-15. (査読有)
  15. Takemoto D, Kamakura S, Saikia S, Becker Y, Wrenn R, Tanaka A, Sumimoto H, and Scott B, Polarity proteins Bem1 and Cdc24 are components of the filamentous fungal NADPH oxidase complex. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 2011; 108: 2861-6. (査読有)
  16. Nishida M, Ogushi M, Suda R, Toyotaka M, Saiki S, Kitajima N, Nakaya M, Kim KM, Ide T, Sato Y, Inoue K, and Kurose H. Heterologous down-regulation of angiotensin type 1 receptors by purinergic P2Y2 receptor stimulation through S-nitrosylation of NF-kappaB. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 2011; 108: 6662-7. (査読有)
  17. Numajiri N, Takasawa K, Nishiya T, Tanaka H, Ohno K, Hayakawa W, Asada M, Matsuda H, Azumi K, Kamata H, Nakamura T, Hara H, Minami M, Lipton SA, and Uehara T, On-off system for PI3-kinase-Akt signaling through S-nitrosylation of phosphatase with sequence homology to tensin (PTEN). **Proc Natl Acad Sci U S A**, 2011; 108: 10349-54. (査読有)
  18. Ishihama N, Yamada R, Yoshioka M, Katou S, Yoshioka H, Phosphorylation of the nicotiana benthamiana WRKY8 transcription factor by MAPK functions in the defense response. **Plant Cell**, 2011; 23: 1153-70. (査読有)
  19. Komatsu M, Kurokawa H, Waguri S, Taguchi K, Kobayashi A, Ichimura Y, Sou YS, Ueno I, Sakamoto A, Tong KI, Kim M, Nishito Y, Iemura S, Natsume T, Ueno T, Kominami E, Motohashi H, Tanaka K, and Yamamoto M, The selective autophagy substrate p62 activates the stress responsive transcription factor Nrf2 through inactivation of Keap1. **Nature Cell Biol**, 2010; 12: 213-23. (査読有)
  20. Tseng PH, Matsuzawa A, Zhang W, Mino T, Vignali DA, and Karin M, Different modes of ubiquitination of the adaptor TRAF3 selectively activate the expression of type I interferons and proinflammatory cytokines. **Nature Immunol**, 2010; 11: 70-5. (査読有)
  21. Tsuchiya Y, Asano T, Nakayama K, Kato T, Jr., Karin M, and Kamata H, Nuclear IKKbeta is an adaptor protein for I kappa Balpha ubiquitination and degradation in UV-induced NF-kappaB activation. **Mol Cell**, 2010; 39: 570-82. (査読有)

22. Kaneko T, Hamazaki J, Iemura S, Sasaki K, Furuyama K, Natsume T, Tanaka K, and Murata S, Assembly pathway of the Mammalian proteasome base subcomplex is mediated by multiple specific chaperones. **Cell**, 2009; 137: 914-25. (査読有)
23. Nagai H, Noguchi T, Homma K, Katagiri K, Takeda K, Matsuzawa A, and Ichijo H, Ubiquitin-like sequence in ASK1 plays critical roles in the recognition and stabilization by USP9X and oxidative stress-induced cell death. **Mol Cell**, 2009; 36: 805-18. (査読有)
24. Urano Y, Asanuma D, Hama Y, Koyama Y, Barrett T, Kamiya M, Nagano T, Watanabe T, Hasegawa A, Choyke PL, and Kobayashi H, Selective molecular imaging of viable cancer cells with pH-activatable fluorescence probes. **Nature Med**, 2009; 15: 104-9. (査読有)
25. Tanaka S, and Nakano H, NF- $\kappa$ B2 (p100) limits TNF- $\alpha$ -induced osteoclastogenesis. **J Clin Invest**, 2009; 119: 2879-81. (査読有)

[学会発表] (計14件)

1. Nishida M, Electrophilic modification of H-Ras underlies development of heart failure after myocardial infarction, Fourth International Symposium on Signaling Functions of Reactive Oxygen Species, Grants-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas, MEXT, 2012. 12. 17, Kyushu University, Fukuoka, Japan.
  2. Sawa T, Ida T, Akaike T, Mass spectrometric identification of unique polysulfides in biological systems. Fourth International Symposium on Signaling Functions of Reactive Oxygen Species, Grants-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas, MEXT, 2012. 12. 17, Kyushu University, Fukuoka, Japan.
  3. Motohashi H, Keap1-Nrf2 system in metabolic reprogramming of cancer cells. Fourth International Symposium on Signaling Functions of Reactive Oxygen Species, Grants-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas, MEXT, 2012. 12. 17, Kyushu University, Fukuoka, Japan.
  4. Itoh K, The role of ribosome interacting protein GCN1L1 in oxidative stress-mediated Nrf2 activation. Fourth International Symposium on Signaling Functions of Reactive Oxygen Species, Grants-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas, MEXT, 2012. 12. 17, Kyushu University, Fukuoka, Japan.
  5. Uchida K, Electrophilic ligands as a trigger of pro-inflammatory response. Fourth International Symposium on Signaling Functions of Reactive Oxygen Species, Grants-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas, MEXT, 2012. 12. 17, Kyushu University, Fukuoka, Japan.
  6. Mori Y, Redox physiology of TRP channels. Fourth International Symposium on Signaling Functions of Reactive Oxygen Species, Grants-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas, MEXT, 2012. 12. 17, Kyushu University, Fukuoka, Japan.
  7. Nakano H, Oxidative stress maintains tissue homeostasis by inducing compensatory proliferation. Fourth International Symposium on Signaling Functions of Reactive Oxygen Species, Grants-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas, MEXT, 2012. 12. 17, Kyushu University, Fukuoka, Japan.
- (本領域主催の公開シンポジウムのみ記載)
8. 森 泰生、生体の酸化還元状態・環境を感知するチャンネル機構：TRP。文部科学省新領域領域研究「活性酸素のシグナル伝達機能」特別公開シンポジウム、2012. 6. 18、沖縄かりゆしアーバンリゾート・ナハ、(沖縄)。
  9. Akaike T, Electrophilic cellular signaling regulated by H<sub>2</sub>S-mediated sulfhydration. Third International Symposium on Signaling Functions of Reactive Oxygen Species, Grants-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas, MEXT, 2011. 5. 14, Showa Pharmaceutical University, Tokyo, Japan.
  10. Uehara T, A novel modulatory 'on-off' system for PI 3-kinase-Akt signaling through S-nitrosylation. Third International Symposium on Signaling Functions of Reactive Oxygen Species, Grants-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas, MEXT, 2011. 5. 14, Showa Pharmaceutical University, Tokyo, Japan.
  11. Motohashi H, Regulatory crosstalk of redox

- homeostasis and anabolic metabolism by the Keap1-Nrf2 pathway. Third International Symposium on Signaling Functions of Reactive Oxygen Species, Grants-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas, MEXT, 2011. 5. 14, Showa Pharmaceutical University, Tokyo, Japan..
12. Matsuzawa A, Regulatory mechanisms of ROS-induced apoptosis and activation of the stress-responsive kinase ASK1 by the deubiquitinating enzyme USP9X. Second International Symposium on Signaling Functions of Reactive Oxygen Species, Grants-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas, MEXT, 2010. 6. 18, Kyoto International Conference Center, Kyoto, Japan.
13. Nakano H, Hepatocyte-specific c-Flip-deficient mice uncover a causal link between oxidative stress and tissue repair. Second International Symposium on Signaling Functions of Reactive Oxygen Species, Grants-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas, MEXT, 2010. 6. 18, Kyoto International Conference Center, Kyoto, Japan.
14. Urano Y, Real-time imaging of various ROS and enzymatic activity in living cells by using precisely developed novel fluorescence probes. International Symposium 2009 on Signaling Functions of Reactive Oxygen Species, Grants-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas, MEXT, 2009. 7. 18, Hotel Greenpia Minami-aso, Kumamoto, Japan.

〔図書〕(計2件)

1. 山本雅之(監修)、赤池孝章、一條秀憲、森泰生(編集)、活性酸素・ガス状分子による恒常性制御と疾患：酸化ストレス応答と低酸素センシングの最新知見からがん、免疫、代謝・呼吸・循環以上、神経変性との関わりまで。実験医学増刊、羊土社、2012年、217頁。
2. 谷口直之(監修)、赤池孝章、鈴木敬一郎、内田浩二(編集)、病態解明に迫る活性酸素シグナルと酸化ストレス：癌、神経変性疾患、循環・代謝異常にかかわるレドックス制御機構と最新の技術開発。実験医学増刊、羊土社、2009年、241頁。

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.ros-signal.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

赤池 孝章 (AKAIKE TAKAAKI)  
熊本大学・生命科学研究部・教授  
研究者番号：20231798

(2) 研究分担者

住本 英樹 (SUMIMOTO HIDEKI)  
九州大学・医学研究院・教授  
研究者番号：30179303

内田 浩二 (UCHIDA KOJI)  
名古屋大学・生命農学研究科・教授  
研究者番号：40203533

松本 明郎 (MATSUMOTO AKIO)  
千葉大学・医学研究科・准教授  
研究者番号：60437308

浦野 泰照 (URANO YASUTERU)  
東京大学・医学研究科・教授  
研究者番号：20292956

有本 博一 (ARIMOTO HIROKAZU)  
東北大学・生命科学研究科・教授  
研究者番号：60262789

伊東 健 (ITO H KEN)  
弘前大学・医学研究科・教授  
研究者番号：10323289

(3) 連携研究者

下川 宏明 (SHIMOKAWA HIROAKI)  
東北大学・医学系研究科・教授  
研究者番号：00235681

筒井 裕之 (TSUTSUI HIROYUKI)  
北海道大学・医学研究科・教授  
研究者番号：70264017

上原 孝 (UEHARA TAKASHI)  
岡山大学・医歯薬学研究科・教授  
研究者番号：00261321

鎌田 英明 (KAMATA HIDEAKI)  
広島大学・医歯薬学総合研究科・准教授  
研究者番号：10233925

西田 基宏 (NISHIDA MOTOHIRO)  
九州大学・薬学研究院・准教授  
研究者番号：90342641