

平成 23 年 6 月 3 日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2005～2009

課題番号：17082003

研究課題名（和文） 細胞間相互作用制御因子としての膜型 ADAM メルトリンの役割

研究課題名（英文） Regulatory roles of Meltrins, membrane-anchored ADAMs, in cell-cell interactions

研究代表者

瀬原 淳子 (SEHARA ATSUKO)

京都大学・再生医科学研究所・教授

研究者番号：60209038

研究成果の概要（和文）：発生や再生における細胞間シグナリングや細胞接着は、精緻な時間的・空間的制御を必要とする。我々は、そのような制御における ADAM プロテアーゼファミリーの役割と機能を明らかにすることを目指した。第一にマウスのメルトリン β /ADAM19 が神経堤細胞を介する心内膜組織形成の制御、神経筋接合部におけるアセチルコリンレセプター mRNA 集積の制御、神経再生におけるグリア（Schwann）細胞の分化に関与することを明らかにした。メルトリン β 欠損マウスの表現型や細胞内シグナリングへの影響は、ニューレグリン（別名アセチルコリンレセプター誘導因子、グリア増殖因子）やそのレセプター ErbB3 欠損マウスと類似し、メルトリン β が膜型ニューレグリンの切断能力を持つことから、この増殖因子シグナリングを制御していることが示唆された。第二に、細胞間相互作用における ADAM の役割をさらに詳細に調べることを目的に、ゼブラフィッシュ胚を用いた研究も行った。この研究では、生きた胚の中で血管と赤血球をそれぞれ GFP と RFP でモニターできるトランスジェニックゼブラフィッシュを用い、初めて、脊椎動物における血液循環開始の瞬間を捉えることに成功した。そして、血液循環開始には、心臓の鼓動による受動的なプロセスに加え、赤芽球が ADAM8 のプロテアーゼを用いて血管との接着を解除する、能動的なプロセスを必要とすることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Development and regeneration require various kinds of intercellular signaling and adhesion molecules. Many intercellular signaling molecules are generated as membrane-anchored proteins, and they are subjected to proteolytic processing to liberate their extracellular domains (ectodomain shedding). Our research has been focused on regulatory roles of ADAM (A Disintegrin And Metalloprotease) family proteins in such cell-cell interactions and the ectodomain shedding.

We clarified roles and functions of Meltrin beta (ADAM19 / a disintegrin and metalloprotease 19) in development and regeneration of peripheral nervous system (PNS). In Meltrin beta-deficient mice, neuromuscular junction formation and sciatic nerve regeneration was affected. In the case of sciatic nerve regeneration, re-myelination of axons delayed because terminal differentiation of Schwann cells, including activation of Krox-20, was affected in the absence of Meltrin beta. The membrane preparation of nerves isolated from meltrin beta deficient mice showed decreased activation of Akt pathway in Schwann cells compared to that from wild type mice. These results suggest that Meltrin beta is involved in the regulation of juxtacrine signaling by which nerves in the PNS governs Schwann cell development.

On the other hand, we evaluated roles and functions of ADAMs by monitoring cellular behaviors in living zebrafish embryos. By monitoring fluorescent protein-labeled blood precursors and blood vessels in zebrafish, we showed a novel mechanism for the onset of blood circulation, which involves proteolysis that regulates blood-vessel contacts. The live imaging reveals that the first blood circulation occurs synchronously. This synchrony is achieved by retention of erythroid precursors on the lumen of blood vessels after intravasation one after another from the sub-aortic region, and then, by almost simultaneous release of these precursors into the plasma flow. Injection of metalloprotease inhibitors into the circulation after formation of the heart and vasculature disturbed the synchronous onset of blood circulation, suggesting that metalloprotease activity in the lumen of the vasculature is prerequisite for the simultaneous release of blood cells into the flow. One of zebrafish ADAM (a disintegrin and metalloprotease family), ADAM8, was identified as a metalloprotease participating in that process. Blood stagnation was observed in ADAM8-depleted embryos. Cell biological analyses and expression of an inactive protease of ADAM8 under a gata-1 promoter suggest that ADAM8 expressed in the primitive blood abrogates their adhesion to the vasculature cell autonomously. Based on these findings, we propose that the first blood requires both flow-dependent passive and proteolysis-dependent active processes to enter into circulation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005年度	32,300,000	0	32,300,000
2006年度	24,600,000	0	24,600,000
2007年度	24,600,000	0	24,600,000
2008年度	24,600,000	0	24,600,000
2009年度	24,600,000	0	24,600,000
総計	130,700,000	0	130,700,000

研究分野：生物学

科研費の分科：生物科学 細目：発生生物学、細胞生物学

キーワード：メタロプロテアーゼ、細胞分化、増殖因子、心臓形成、神経再生、血液循環

1. 研究開始当初の背景

細胞の増殖や分化にはさまざまな可溶性シグナル分子がはたらいている。ところがこれらのシグナル分子には、膜型分子として脂質二重層に組み込まれた後、その細胞外ドメインが切断されて可溶性分子を生ずるものがある。またシグナル分子のレセプターや接着分子の中にもそのような切断を受けるものが知られ、その機構は *ectodomain shedding* と総称されている。

Ectodomain shedding を担うプロテアーゼとして TNF- α や TGF- α などの膜型増殖・分化因子の切断に関わる TACE/ADAM17、Notch リガンドや Notch 自身の切断にかかわる Kuzbanian/ADAM10 がある。これらはいずれも ADAM (*a metalloprotease and disintegrin*) と呼ばれる分子ファミリーに属する膜型プロテアーゼである。我々は、蛇毒や受精に関わる分子と類似し骨格筋形成にかかわる分子としてこのファミリーに属するメルトリン α /ADAM12、 β /ADAM19、 γ /ADAM9 をクローニングし(Yagami-Hiromasa et al., *Nature*,1995)、遺伝子ノックアウトマウスを作成することによって、メルトリン α は褐色脂肪組織とそのまわりの骨格筋形成に、メルトリン β は心臓内臓組織の形成にかかわること(Kurisasi et al., *Mol Cell Biol.*, 2003; Kurohara et al., *Developmental Biol.*, 2004)、これらメルトリン α ・ β が膜型 ErbB リガンドの細胞外ドメインの切断に関わること (Shirakabe et al., *J Biol Chem.*, 2001) などを明らかにしてきた。

2. 研究の目的

本研究は遺伝学のおよび細胞生物学的なアプローチを中心に、(1) 形態形成および疾病における ADAM ファミリーメルトリン α 、 β 、 γ の役割とそのプロテアーゼやディスインテグリンの機能を明らかにする、(2) 細胞増殖・分化・

移動に関わる ErbB シグナリング、とりわけ筋形成・心臓形成・脂肪組織形成などにおける ErbB リガンド切断制御に焦点をあてメルトリンおよびその他のプロテアーゼ制御の役割分担を解明する、(3) メルトリンの基質認識・切断の特異性・プロテアーゼ活性の制御機構を解明する。そしてこれらの研究を通して、形態形成や疾病の分子メカニズムにおける ADAM の位置づけを明らかにする。

3. 研究の方法

平成17年度：(1) 脂肪組織形成・肥満・筋再生におけるメルトリン α の役割：メルトリン α が肥満のどのようなプロセスに関わっているのか、個体レベルで詳しく検討するとともに、脂肪前駆細胞の増殖や分化におけるメルトリン α のプロテアーゼの基質や、ディスインテグリンドメインの機能などを検討する。また、筋再生へのかかわりも検討する。基質候補の HB-EGF や IGFBP (*insulin-like growth factor binding protein*) の可溶性分子、あるいは考えうる他の膜タンパク質の可溶性分子で、ノックアウトマウスの表現型がレスキューされるかどうかを検討する。さらに、基質に関する網羅的検索も行う。**(2) 心臓内臓・神経組織形成におけるメルトリン β の役割と機能**：メルトリン β 欠損マウスのグリアの挙動やシナプス形成の異常について詳しく解析するとともに、心臓内皮・神経堤細胞・神経など細胞特異的なメルトリン β の発現によるメルトリン β 欠損マウスの表現型のレスキューを試み、メルトリン β がどのような細胞間相互作用を制御しているのか、遺伝学的に明らかにする。可溶性グリア増殖因子の発現が欠損マウスの表現型をレスキューできるかどうかも検討する。**(3) 膜型グリア増殖因子の *ectodomain shedding* のライブイメージング**：*ectodomain*

shedding における ADAM プロテアーゼの機能を明らかにするため、膜型グリア増殖因子を GFP など可視化した分子を作成し、ectodomain shedding をライブで捉える。メルトリンβ発現の有無やプロテアーゼ変異メルトリンβの効果、種々のプロテアーゼインヒビターの効果などを調べ、ectodomain shedding を制御するプロテアーゼカスケードを明らかにする。

平成18年度：(1)メルトリンα・βの機能：(1)メルトリンα・βプロテアーゼの基質を生化学的手法で検討する。(2)増殖や分化がメルトリンα・βに依存するステージの細胞・組織を用いてマイクロアレー・プロテオーム解析を行い、網羅的な機能の検討、基質検索を目指す。また、メルトリンα・βダブルノックアウトマウスを作成し、その役割を探ることで、これらふたつのプロテアーゼの機能的連関を探る。**(2)Ectodomain shedding におけるADAMの位置づけ：**(1)膜型増殖因子 ErbB リガンドに GFP などの蛍光蛋白質をつけたものを作成し、その切断の様子を可視化する。(2)可視化増殖因子などを用いて、メルトリンα、βなど ADAM を中心とする種々のプロテアーゼの切断活性・切断の特色や基質認識の特異性を検討し、それら分子の機能分担を調べる。

平成19年度：(1)形態形成におけるADAMプロテアーゼの役割：メルトリンα、β以外の他のADAMに関する研究をスタートし、形態形成におけるADAMプロテアーゼの新たな役割を発見した。そこで、その役割をさらに詳細に解析するとともに、そこから考えられる基質候補の検討をおこなう。**(2)メルトリンα、βの基質の検討とプロテアーゼ制御機構の解明：**メルトリンαに関しては、プロテオミクス的手法を取り入れて基質の検索をする。そこから見つかった基質候補の切断に関して、詳細な検討をおこなう。メルトリンβに関しては、基質候補の膜型増殖因子ニューレグリンの切断制御に必要な領域の同定と分子機構を探る。**(3)マイクロアレーを用いた神経筋シナプス形成におけるメルトリンβの役割と機能の解明。****(4)筋再生・神経再生におけるメルトリンα、βの役割と機能の解明：**いずれの場合も、再生モデル系を用いて、両遺伝子のノックアウトマウスでの再生能を検討、発現活性化細胞の同定、その細胞における基質の検討をおこなう。

平成20年度：(1)メルトリンα・βの活性化制御機構：メルトリンα・βのダブルノックアウトマウスを作成し、そこで、変化が見られる領域について、解析を進める。**(2)神経筋接合部形成におけるメルトリンβの役割と機能：**前年度明らかにした、メルトリンβノックアウトマウスの神経筋接合部形成不全と、そこで見られる遺伝子発現の変化を基に、さらに焦点を絞った研究として、メルトリンβと相互作用する遺伝子と、その遺伝子機能におけるメルトリンβの作用を解明する。**(3)ゼブラフィッシュを用いて、増殖因子ニューレグリンの発現時期と発**

現部位、切断がみられるかどうかを調べ、さらに切断に関与するプロテアーゼを検討する。

平成21年度：ADAMプロテアーゼの生理的基質の同定：時間的・空間的な生理的基質同定にむけて、細胞やそこで発現する分子の挙動を捉えやすく、また遺伝子のノックダウンや過剰発現などの遺伝的操作が比較的容易なゼブラフィッシュを用いた研究を行う。すでに、ADAMのノックダウンによって個体においてその切断が抑制される基質を見つけしており、またそれが表現型をうまく説明できる、というところまで解析を進めているので、これをさらに精査するとともに、マウス個体においてもこのADAMが同様の役割と機能を有するかどうかを検証する。

4. 研究成果

平成17年度：(1)メルトリンαの機能について：メルトリンαは、高脂肪食によって誘導される肥満に関わること、また脂肪細胞の新たな増殖に関与することから、その脂肪細胞の増殖が、脂肪組織における細胞増殖なのかどうかを調べた。野生型マウスに脂肪食を与えると、脂肪組織内の細胞増殖像が見られること、その増殖像がメルトリンα欠損マウスでは殆ど見られないことがわかった。従って、メルトリンαは、脂肪組織内の細胞増殖に関与することが示唆された。この時、メルトリンプロテアーゼの基質を探るため、野生型・欠損マウスの脂肪組織のマイクロアレーを比較検討したところ、肥満の重要なカスケードに結びつく可能性が示唆された。一方、共同研究として、メルトリンαが、マウス個体におけるガン細胞の増殖に関与することを明らかにした (Peduto *et al.*, 2006)。また、そのシェディング能について検討した (Weskamp *et al.*, 2006)。**(2)メルトリンβの機能について：**心臓形成、神経組織形成、神経再生における機能をいくつかの角度から検討している。神経組織形成において、メルトリンβプロテアーゼ欠損マウスにおいては、アセチルコリンレセプターの分布異常がおこることを見出した。

平成18年度：メルトリンβ欠損マウスを用いて、心室中隔や弁組織形成におけるこの遺伝子の役割を遺伝学的に明らかにした。メルトリンβは心臓神経堤細胞および心内皮細胞で発現することから、これらの細胞系譜特異的にこの遺伝子を発現させ、メルトリンβ欠損マウスの心臓の表現型が回復するかどうかを検討した。その結果、(1)神経堤細胞系譜で発現するメルトリンβが必要であること、(3)メルトリンβは、心臓神経堤細胞の移動や内皮細胞の増殖・上皮間葉転換など心内臓組織形成の前期には必要とされず、内臓組織形成後期に行われる内臓癒合あるいはそれをもたらす細胞分化に必要であることなどを明らかにした (Komatsu *et al.*, 2007)。また、先に神経堤細胞に強く発現するプロテアーゼ基質のひとつとして、膜型増殖因子ニューレグリンを同定していたが、この基質切断を生細胞で捉える目的で、

ニューレグリンの細胞外ドメインをGFPでラベルし、共焦点顕微鏡を用いた蛍光相関法により、細胞内ゴルジ装置周辺におけるこの増殖因子の切断を観察することに成功した(Yokozeki *et al.*, 2007)。

平成19年度: メルトリンβノックアウトマウスのうち、数パーセント(ただし129・B6 mixed background)の個体が成体まで生きのびることから、これらのマウスを用いて坐骨神経損傷後の神経再生におけるメルトリンβの役割を検討した。その結果、メルトリンβノックアウトマウスでは神経組織の再生が遅れること、Wallerian変性や軸索伸長は正常に進行するが、ミエリン形成が遅れることを見出した。そこで、神経堤細胞由来のSchwann細胞の分化を、転写因子などのマーカー遺伝子の発現を指標に調べた。Schwann細胞のプロミエリン段階からミエリン形成段階への細胞分化にはプロミエリン段階を維持するOct6の発現に引き続き、ミエリン形成に必須のKrox20の活性化を必要とする。ノックアウトマウスでは、Krox20の活性化と、それともなうOct6の発現抑制、ミエリン蛋白であるmyelin basic protein(MBP)やProtein0(PO)遺伝子の活性化が遅れることがわかった。また、ミエリン形成は、PI3K-AKT経路の活性化を必要とするが、この活性化がノックアウトマウスでは抑えられていることがわかった。以上のように神経再生においてメルトリンβは、PI3K-AKT経路の活性化制御を介して、Schwann細胞の分化を制御することが明らかになった(Wakatsuki *et al.*, 2009)。

平成20年度: 本研究では、細胞間相互作用におけるADAMプロテアーゼの役割と機能に焦点をあてた研究を行ってきた。メルトリンβはこのADAMファミリーに属し、末梢神経系で強く発現する。我々は、これが神経筋接合部(NMJ)に局在し、その欠損マウスではNMJ形成異常を示すことを見出した。野生型とメルトリンβ欠損マウスのNMJにおける発現遺伝子の網羅的な比較により、GPIアンカー型膜タンパク質 ephrin-A5の発現に顕著な差を認め、ephrin-A5欠損マウスのNMJでも同様の表現型を見出した。そのレセプターである膜型チロシンキナーゼ EphA4は、メルトリンβと運動神経側で結合することもわかった。NMJ形成の前、ephrin-A5は神経・筋間の反発シグナルとして働く。この反発には、ephrin-A5-EphA4の結合による細胞同士の接触が、その複合体のエンドサイトーシスにより解除される機構が必須である。メルトリンβは、ephrin-A5-EphA4のエンドサイトーシスを著しく抑制する事が分かり、反発シグナルの抑制を介してメルトリンβがNMJの形成・安定化に関与することが示唆された。この研究は、NMJ形成機序に新たな知見を与え、重症筋無力症等の筋疾患発症機序の解明や治療にも新たな可能性を示した(Yumoto N. *et al.*, 2008)。

平成21年度～平成22年度: これまで、ADAMの発生・再生・疾病における役割と機能に関する研究をおこなってきた。特に、ADAM12, 19, 9(メルトリンα、

β, γ), ADAM8など、構造的にみて、ADAM17(TACE)やADAM10(Kuzbanian)に比べてより蛇毒出血因子とホモロジーが高いサブファミリーの役割と機能に焦点を絞った研究を行ってきた。当年度はマウスに加えてゼブラフィッシュを用いた個体レベルの研究を推進し、ADAMプロテアーゼは試験管内では一見基質特異性が低く見えるが、生体内では個々のADAMが異なる細胞間相互作用を制御することを明らかにした。心臓内膜形成や神経グリアの分化・ミエリン化に関与するADAM19は、それらに隣接する細胞や組織で必要とされる。神経細胞の膜面分に局在するグリアのミエリン化活性がADAM19を必要とすることなどから、ADAM19はSchwann細胞の分化を制御することがわかってきた。そこでSchwann細胞分化におけるADAM19の役割・メカニズムをさらに精査するため、ゼブラフィッシュを用いて、Schwann細胞と神経軸索の挙動のライブイメージングを行った。その結果、ADAM19の欠損により、Schwann細胞軸索を移動した後、生存できないことがわかった。この効果は、マウスにおけるErbB3ノックアウトマウスの表現型と一致するもので、ADAM19がNRG1切断活性をもつことを考え合わせると、このプロテアーゼがNRG1の切断・ErbBシグナリングのジャクスタクライン活性化を介して、Schwann細胞の生存に関与することが示唆された。(未発表)。さらに、ADAM8が卵巣における血液循環開始に関わることを発見した。ゼブラフィッシュにおいて最初に生まれる赤血球はintermediate cell mass(ICM)と呼ばれる背側大動脈周辺の領域に血島様構造を形成してそこから発生する。しかし、赤血球がどのような機構で体内を循環し始めるのかに関しては、魚類においても未解明なところが多い。特に、心臓の拍動・血管形成への依存に加えて、血球・血管相互作用に依存する制御があるのかどうかは不明である。

我々は胚発生における血液循環開始機構を解明する目的で、血管をGFP(Fli:GFP)、血球をRFP(GATA-1:RFP)でラベルしたゼブラフィッシュ胚を用いて、赤血球がどのように循環を開始するかを詳細に観察し、血球の循環開始の瞬間を、ライブイメージングにより捉えることに初めて成功した。その結果、赤血球の循環は、(1)心臓の拍動・血管形成のプロセスと密接にリンクしているが、心臓の拍動による血漿の循環より遅れて開始する、(2)大動脈復側に集積した赤血球前駆細胞は、transmigrationによって次々に大動脈内に出現するが、(3)個別に循環を開始するのではなく、ある時期にほぼ同時に循環を開始する、という厳密に制御されたプロセスであることが明らかになった。我々はさらに、(2)から(3)への移行の際、赤血球が血管から遊離することを観察し、(4)この過程が血管内のメタロプロテアーゼ活性を必要とすることを示した。拍動直前の24時間胚の心臓内にメタロプロテアーゼインヒビターを注入すると、血管内に赤血球が血管内に接着・集積し、血液循環を開始できないことから、赤血球循環開始には、プ

ロテアーゼに依存した血球-血管細胞間の接着の解除が必要であることが示唆されたのである。(5)そして、その過程に関与するメタロプロテアーゼのひとつとして、主に血球で発現する ADAM8 を同定し、(6) ADAM8 が、培養細胞において血球と血管の接着に関与することが知られる PSGL 1 を切断する活性を有し、活性型メタロプロテアーゼとして機能しうることを示した。以上のように ADAM8 は赤芽球で発現し、循環開始の際ピンポイントで接着因子のシェディングを行うことにより、血液細胞の血管からの接着を解除する、という血液循環の新しいメカニズムを提唱した (Iida *et al.*, 2010)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 14 件)

- 1) 正木めぐみ、瀬原淳子: ADAM メタロプロテアーゼと疾患、炎症と免疫、先端医学社、査読有、vol.14 no.2、2006、pp.31-38
- 2) 小松紘司、瀬原淳子: meltrin β と心内膜形成、分子心血管病、先端医学社、2006、7-2 号
- 3) Peduto, L., et al. ADAM12 is highly expressed in carcinoma-associated stroma and is required for prostate tumor progression. *Oncogene*, 査読有、25(39): 2006; 5462-6.
- 4) Weskamp, G., et al. ADAM10 is a principal 'shedase' of the low-affinity immunoglobulin E receptor CD23. *nature immunology*, 査読有、7(12): 2006; 1293-1298.
- 5) Yokozeki, T., et al. Meltrin β /ADAM19 Mediates Ectodomain Shedding of Neuregulin β 1 in the Golgi Apparatus: Fluorescence Correlation Spectroscopic Observation of the Dynamics of Ectodomain Shedding in Living Cells. *Genes to Cells*, 査読有、12(3): 2007; 329-43.
- 6) Dyczynska, E., et al. Proteolytic processing of delta-like 1 by ADAM proteases. *J. Biol. Chem.*, 査読有、282(1): 2007: 436-44.
- 7) Komatsu, K., et al. Meltrin β expressed in cardiac neural crest cells is required for ventricular septum formation of the heart. *Dev. Biol.*, 査読有、303(1): 2007; 82-92.
- 8) Okada, A., et al. ADAM-12 (meltrin alpha) is involved in chondrocyte proliferation via cleavage of insulin-like growth factor binding protein 5 in osteoarthritic cartilage. *Arthritis Rheum*. 査読有、58(3): 2008; 778-89.
- 9) Wakatsuki, S., et al. Roles of meltrin beta /ADAM19 in progression of Schwann cell differentiation and myelination during sciatic nerve regeneration. *J Biol Chem*. 査読有、284(5): 2009; 2957-66.
- 10) Yumoto, N., et al. Meltrin beta/ADAM19 interacting with EphA4 in developing neural cells participates in formation of the neuromuscular junction. *PLoS ONE*, 査読有、3(10): 2008; e3322.
- 11) Mino, N., et al. A disintegrin and metalloprotease 12 (ADAM12) is a prognostic factor in resected pathological stage I lung adenocarcinoma. *J Surg Oncol*. 査読有、100(3): 2009; 267-72.
- 12) 瀬原淳子: 神経組織形成における膜型 ADAM

プロテアーゼメルトリン β (ADAM19) の役割
21、金芳堂、査読無、Vol.13 No.1、2010、P98-101
13) 飯田敦夫、瀬原淳子: ADAM8 による血液循環開始の制御、特集「細胞外プロテオリシス研究の最前線」、生化学、査読無、Vol.82 No.10、2010、921-930

14) Iida, A., et al. Metalloprotease-Dependent Onset of Blood Circulation In Zebrafish. *Current Biol.*, 20(12): 2010; 1110-6.

〔学会発表〕(計 28 件)

- 1) Megumi Masaki, et al. Role of Meltrin alpha (ADAM12) in obesity induced by high-fat diet. 第 58 回日本細胞生物学会大会 (2005.6.16 埼玉)
- 2) Masaki, M., et al. Role of Meltrin alpha (ADAM12) in adipogenesis. 15th International Society of Developmental Biologists Congress. (2005.9.5 Sydney, Australia)
- 3) Shuji Wakatsuki, et al. Roles of Meltrins, Members of ADAM Proteases, in Development and Diseases in Plenary Session VI "Proteolysis in Development and Disease". 4th General Meeting of the International Proteolysis Society. (2005.10.15 Quebec-City, Canada)
- 4) 瀬原淳子ら: 形態形成における膜型プロテアーゼメルトリン β (ADAM19) の役割と機能、シンポジウム「形態形成を制御する細胞外環境—その未知なるもの」日本分子生物学会 2006 フォーラム分子生物学の未来 (2006.12.6 愛知)
- 5) Yokozeki, T., et al. Meltrin beta/ADAM19 Mediates Ectodomain Shedding of Neuregulin beta1 in the Golgi Apparatus: Fluorescence Correlation Spectroscopic Observation of the Dynamics of Ectodomain Shedding in Living Cells. 日本分子生物学会 2006 フォーラム分子生物学の未来 (2006.12.6 愛知)
- 6) Kouji Komatsu, et al. Meltrin β expressed in cardiac neural crest cells is required for ventricular septum formation of the heart. 日本分子生物学会 2006 フォーラム分子生物学の未来 (2006.12.6 愛知)
- 7) 若月修二ら: 末梢神経再生過程における膜型メタロプロテアーゼメルトリン β の機能 日本分子生物学会 2006 フォーラム分子生物学の未来 (2006.12.6 愛知)
- 8) 瀬原淳子: 生きた細胞内でおこる膜型増殖因子の細胞外ドメイン切断を観察する、シンポジウム「タンパク質の凝集と分解の細胞生物学」第 40 回日本発生活物学会・第 59 回日本細胞生物学会合同大会 (2007.5.28 福岡)
- 9) Atsuko Sehara-Fujisawa: Observation of ectodomain shedding of membrane-anchored growth factors in living cells. Gordon Research Conference -Matrix Metalloproteinases- (2007.6.3 Lucca, Italy)
- 10) 瀬原淳子: Roles of ADAM proteases in Development of Cardiovascular System. シンポジウム「形態・器官形成機構を探る」BMB2007 (2007.12.12 神奈川)
- 11) Kouji Komatsu, et al. Roles of Meltrin beta / ADAM19 Protease in Development of Cardiovascular System. KEYSTONE SYMPOSIA (2008.1.16 Vancouver, Canada)
- 12) 瀬原淳子: 神経細胞分化・神経筋接合部形成におけるメルトリン β の役割、シンポジウム「膜結合

性プロテアーゼとその制御」、第 13 回病態と治療におけるプロテアーゼとインヒビター学会学術集会 (2008.8.23 大阪)

13) Yumoto, N., et al. Meltrin beta/ADAM19 interacting with EphA4 in developing neural cells participates in formation of the neuromuscular junction. *Frontiers in Developmental Biology Meeting* (2008.9.15 Giens, France)

14) 栗崎知浩ら：筋前駆細胞の融合活性を検出する抗体を用いた筋管形成の解析、*BMB2008* (2008.12.10 兵庫)

15) 飯田敦夫ら：ゼブラフィッシュの形態形成における adam-8 プロテアーゼ因子の役割 *BMB2008* (2008.12.10 兵庫)

16) 瀬原淳子：形態形成における ADAM プロテアーゼの役割—循環器系を中心に、第 30 回心筋生検研究会 (2008.11.28 三重)

17) Atsuko Sehara-Fujisawa: Roles of Meltrin beta/ADAM19 in Formation of Neuromuscular Junction. The 8th French-Japanese Workshop on Molecular Dystrophy. (2009.7.3 Paris, France)

18) Atsuo Iida, Hidetoshi Sakurai, Kouji Komatsu, Atsuko Sehara-Fujisawa: Roles of ADAM protease Meltrin β (ADAM19) in the circulatory organ development. *International Society for Stem Cell Research 7th Annual Meeting* (2009.7.8 Barcelona, Spain)

19) Atsuko Sehara Fujisawa: Role of meltrins and cardiovascular morphogenesis. *Gordon Research Conference –Matrix Metalloprotease-* (2009.9.1 Les Diablerets, Switzerland)

20) 飯田敦夫ら：Intravascular proteolysis triggers synchronous Start of Blood Circulation in Zebrafish. ワークショップ「A new era of genetic studies on vertebrate organogenesis」、第 32 回日本分子生物学会年会 (2009.12.11 神奈川)

21) Atsuo Iida et al. A Novel Role of ADAM Protease in Development. *North American Vascular Biology Organization, Developmental Vascular Biology Workshop*. (2010.2.10-13 Monterey, USA)

22) Sehara-Fujisawa, A.: Metalloprotease-dependent onset of blood circulation. *Japan-Israel Workshop on Stem Cells*. (2010.2.23 Jerusalem, Israel)

23) 飯田敦夫ら：血液循環の始まりはメタロプロテアーゼに依存しておこる、ワークショップ「細胞接着・ECM・細胞間相互作用」第 62 回日本細胞生物学会大会 (2010.5.20 大阪)

24) Atsuo Iida, et al. Metalloprotease-Dependent Onset of Blood Circulation In Zebrafish. *2nd Joint Meeting of the French and Japanese Societies for Developmental Biology*. (2010.5.16 Paris, France)

25) 荒井宏行ら：Meltrin β (ADAM19) の心臓発生における役割、*BMB2010* (2010.12.8 兵庫)

26) 佐藤文規ら：Zebrafish を用いた神経のミエリネーション可視化による膜型プロテアーゼ ADAM19 の機能の解明、*BMB2010* (2010.12.8 兵庫)

27) 飯田敦夫ら：膜型プロテアーゼ ADAM8 は赤血球—血管内皮の接着解離を介して、脈管からの筋間血管伸長を制御している、*BMB2010* (2010.12.8 兵庫)

28) 瀬原淳子: Roles of ADAM proteins in spatial and temporal regulation of ectodomain shedding event. シンポジウム「Ectodomain shedding biology-functional conversion of plasma membrane proteins-」*BMB2010* (2010.12.8 兵庫)

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 1 件)

名称：止血剤及び血液凝固阻害剤

発明者：瀬原淳子、飯田敦夫、坂口和弥、佐藤洋旭、川原敦夫

権利者：国立大学法人京都大学

種類：特願

番号：特願 2009-128217

出願年月日：2009 年 5 月

国内外の別：国内

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

瀬原 淳子 (SEHARA ATSUKO)

京都大学・再生医科学研究所・教授

研究者番号：60209038

(2) 研究分担者

栗崎 知浩 (KURISAKI TOMOHIRO)

京都大学・再生医科学研究所・助教

研究者番号：90311422

若月修二 (WAKATSUKO SHUJI)

京都大学・再生医科学研究所・研究員(COE)

研究者番号：00378887

(平成 18 年 4 月～9 月のみ参加)

(3) 連携研究者

なし ()

研究者番号：