

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02134

研究課題名(和文) 上皮組織の硬度化を司るタンパク質架橋酵素反応の統合的分子基盤

研究課題名(英文) Molecular basis of transglutaminases action for hardness of epithelial tissues

研究代表者

人見 清隆 (Hitomi, Kiyotaka)

名古屋大学・創薬科学研究科・教授

研究者番号：00202276

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトなど高等動物の上皮組織における硬度形成に際して、タンパク質架橋化酵素・トランスグルタミナーゼがどのように関与するかを明らかにすることを目的に、どのようなタンパク質分子群が基質となるのか、またその架橋産物が硬度化にどのような影響を及ぼすのかについて様々な方法で研究を進めた。これまで皮膚表皮組織や関連培養細胞で行ってきた解析基盤技術を基にして、腎、肝や肺での異常硬化疾患である線維症を対象に正常時との比較検討、またモデル生物としての遺伝子改変マウス・メダカを用いて対象因子と硬度化の関連を生化学・細胞生物学的に解析した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞内外のタンパク質を安定化させるタンパク質架橋化酵素が、外界と接する上皮組織において、その硬度化・安定化する際にどのように寄与しているかを明らかにしうる研究課題である。皮膚表皮に加え正常時の腎・肺などで架橋される基質群を明らかにしたこと、また過剰な硬度化に因る線維症についても、架橋化反応や産物の関与を、関連する組織や細胞レベルで初めて明らかにできた。また、これらの研究モデルとなる動物(マウス・メダカ)を確立し、解析展開の基盤を構築できた。得られた知見は組織のバリア機能として必要な硬度化のしくみ、また線維症の対応や薬剤シーズの発掘に貢献しうる。

研究成果の概要(英文)： On the mammalian epithelial tissue stabilization for its barrier functions with toughness, transglutaminase (TGase), is possible to contribute by catalyzing specific protein cross-linking. So far, I investigated TGases in skin epidermis that are involved in barrier function by cross-linking several structural proteins using specific substrate peptides.

Based on the techniques and knowledge, I extended the molecular and biochemical analyses in the epithelial tissues such as liver, kidney, and lung, mainly focusing on the related disease, fibrosis. Substrate candidates for TGase were successfully identified and analyzed on their properties and the resulting products were analyzed its involvement in cellular function.

Furthermore, for the cultured epithelium-derived cultured cells and also model organisms, mice and medaka fish, TGase gene expression was disrupted and successfully maintained and analyzed.

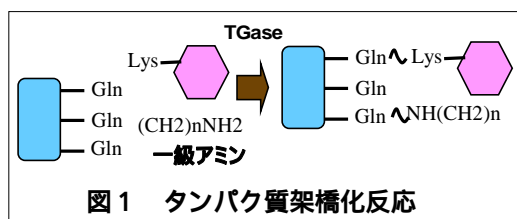
研究分野：応用生物化学

キーワード：タンパク質架橋化酵素 トランスグルタミナーゼ 上皮組織 バリア機能 線維症

1. 研究開始当初の背景

(1) タンパク質架橋化酵素とこれまでの研究成果

タンパク質架橋化酵素・トランスグルタミナーゼ(以下 TGase と略記)は、微生物から植物・動物に広く存在する翻訳後修飾酵素で、タンパク質中のグルタミン残基とリジン残基の間に不可逆な共有結合(架橋)を形成する反応を触媒する。またポリアミンなどの一級アミンや、グルタミン残基のグルタミン酸残基への変換(脱アミド化)にも携わる(図1)。これらのタンパク質架橋化や修飾によって多彩な生理作用を発揮しており、ヒトなどの哺乳類では8種類のアイソザイム(TG1-TG7, Factor XIII)からなる酵素ファミリーとして存在する。主要な役割としては、血液凝固(Factor XIII:FXIII)、死細胞処理や細胞外マトリクスの安定化(TG2)、バリア機能に必要な表皮細胞内でのタンパク質複合体の形成(TG1, TG3, TG5)が知られており、これらの酵素活性の異常がもたらす疾患も多種知られている。この他にも、酵素活性そのものを活用した食品加工(放線菌由来)など、本酵素反応は医学生理学から産業利用まで幅広く研究領域に關与する。



これまで我々は皮膚表皮においてバリア機能を構築することに TG1, TG3 というアイソザイムが必須であり、表皮細胞が分化に伴って両酵素が細胞内の構造タンパク質を架橋重合化して、細胞膜直下にバリアを果たす高分子複合体を作る仕組みについて研究をしてきた。その成果として、活性の発現機構、高感度で簡易な活性測定系、基質の同定を行って知見を蓄積した。

その後、皮膚表皮のみならず、空間的に外界に接する組織である上皮組織において、トランスグルタミナーゼによる架橋化反応が関与することが考えられ、また他にもそれを裏付けるような知見が現れ始めてきた。そのため、表皮組織からさらに上皮組織へと対象を広げ、異常と正常時のタンパク質架橋化反応の様式やその関与について基盤的研究をすることを提案、採択されるに至った。

(2) 開始時に解決されていなかった課題内容

研究開始時としては、上皮組織で正常時にどのようなタンパク質が架橋されているのか、それらがどのように組織の安定化に貢献するかは、細胞外マトリクスの一部についての情報はあったが、タンパク質架橋化反応のアイソザイムの種類も含めた発現様式、表皮組織との共通構造(性状)、防御機能への貢献などは不明であった。上皮組織としての肺・肝・腎で異常な硬化化のもたらす線維症疾患についても、この時の発症とタンパク質架橋反応については、病態への関与はすでに示されていたものの具体的な分子レベルの解析の点からはほとんど知見がなかった。また、動物個体や細胞株、などを用いたモデル系についても不足している状況であった。

2. 研究の目的

これまで行ってきた、主にヒトを対象としたタンパク質架橋化酵素反応が、どのように上皮組織の硬化化や安定化に貢献するのか、またそれが破綻した場合において及ぼされる影響と現象を分子細胞レベルで解析することを目的としてきた。具体的には、上皮組織が正常な状態でタンパク質架橋が起こるのに必要な状況の解析、架橋されるタンパク質群(基質)を同定して、それが正常時にどのような変動をするのか、を皮膚・肝・腎・肺由の組織・細胞で明らかにすることをめざした。また、上の組織に由来する上皮細胞株などの培養細胞系も対象とすることにした。

また並行して、疾患モデルとして確立すべくモデル生物のメダカ・マウスの遺伝子変異個体を扱って解析することも目的とした。特にメダカにおいては、タンパク質架橋化酵素遺伝子を変異させた個体の解析を本研究課題の中で完了するとともに、その調節因子(トロロンピン)や基質(フィブリン)にも対象を広げて、これらが上皮組織での発現も明らかにすることを目的としてきた。

3. 研究の方法

(1) 硬化化によるバリア機能に焦点をあてた上皮組織の性状解析

これまでで表皮特異的なタンパク質架橋化酵素の高反応基質配列を得ており、蛍光標識ペプチドを用いて活性の可視化を行った(図2)。この場合、今回の課題では、従来の表皮組織から表皮形成を再現できる立体培養細胞系を用いて、必須とされているタンパク質架橋化酵素2種(TG1, TG3)の活性の可視化に加えて、各種マーカー基質タンパク質の発現変動を解析した。また、それぞれの架橋化酵素を siRNA (RNA 干渉)によって抑制した場合に、どのような表皮形成が培養系で再現されるかも試みた。

合わせてこの立体培養細胞系から分化段階における架橋化酵素の基質候補群を精製して同定

した。具体的にはビオチン標識した基質ペプチドを、分化をさせた表皮細胞抽出物と混合して反応させ、内在性の酵素活性によって架橋させた。ペプチドのビオチン部分に対する親和性を持つアビジンを固定化したクロマトグラフィーによって、ペプチドを取り込んだタンパク質群を質量分析によって同定した（図3）。

また既知及び新規タンパク質がバリア機能に与える影響を調べるために、表皮形成が明確なマウスの胎生段階での、胎児の表皮について蛍光色素の透過度、蛍光基質ペプチドを用いたタンパク質架橋化酵素の活性可視化パターンを解析した。

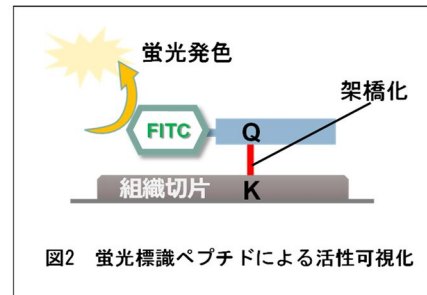
（2）正常および異常な状態での上皮組織での基質の探索同定

腎組織および肺組織

（1）と同様な方法で、正常及び異常な硬化化を示す疾患、線維症時の活性変動と基質候補精製を行った。腎臓および肺の線維症を模倣した疾患モデルマウスは、尿管結紮（UUO）および薬剤（プレオマイシン）投与によって誘導作製した。蛍光標識ペプチドを用いて、架橋化酵素活性の発現を検出した。それぞれの組織から抽出物を得てビオチン標識ペプチドを用いた精製を行い、各組織の抽出物を用いて基質探索を行った（図3）。

肝臓での単離基質

構成タンパク質のうち、線維症に伴ってサイトケラチンが基質として多く同定されている。このタンパク質は架橋を受けて高分子に含まれることを見出しており、この産物が生じることが細胞死を引き起こす、ことが想定された。そこで肝臓細胞株（HepG2）を用いて、薬剤誘導で細胞死を引き起こし、その際のタンパク質架橋化酵素（TG1、TG2）の発現量を抑制させて、細胞死への効果を調べた。



（3）トランスグルタミナーゼ遺伝子欠損変異細胞株の確立

ヒトの肺上皮組織に由来する細胞株（A549）に対して、ゲノム編集技術である CRISPR/Cas9 法を用いて、TG1 および TG2 について、遺伝子欠損を施した細胞株として獲得することをめざした。これまで、siRNA により、抑制をできる系を得ていたものの、より明確な比較検討と基質の探索給原としての重要性から行った。遺伝子導入を施した細胞を限界希釈培養し、免疫プロットングによって遺伝子欠損が行われた細胞株を選別した。

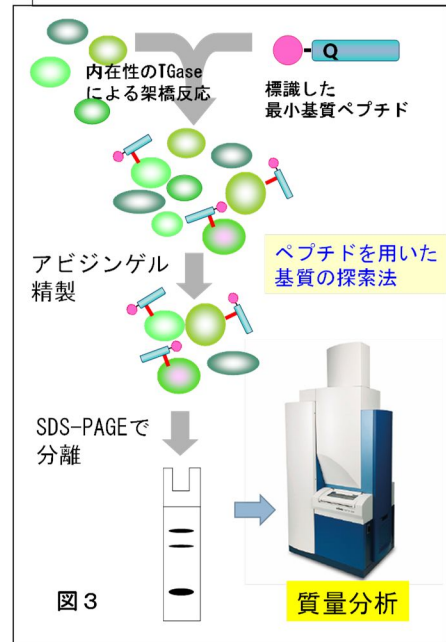
得られた細胞株については、その形態や増殖度、タンパク質架橋化酵素全体の発現量について調べた。

（4）モデル生物を用いた上皮組織のタンパク質架橋化

モデル生物としては、マウスおよびメダカを用いて、硬化化に関わるタンパク質架橋化酵素の役割について解析を進めた。

マウスについては、タンパク質架橋化酵素のうち、主に皮膚表皮の硬化化形成に関わるアイソザイム（TG1）について、組織および時期特異的遺伝子欠損マウスの作製を行った。Cre-lox システムという、遺伝子組換え酵素 Cre が発現された場合に TG1 が欠損するマウスの作製・維持を行い、系統が目的の遺伝子組換えが行われていることを確認した。現在、腎・肝などで特異的に Cre を発現させるようなシステムを構築している。また一方で薬剤（タモキシフェン）で誘導させるようなマウスを確立し、本薬剤投与時で TG1 の発現欠損がマウス個体に及ぼす影響を調べた。

メダカについては、タンパク質架橋化酵素の欠損するメダカをすでに得ている。また、今課題では血液凝固に関わるアイソザイム（Factor XIII）の制御因子（トロンピン）や基質（フィブリン）の欠損したメダカを確立した。これらも含め、生体防御の観点から全身での発現パターン、を解析すると共に、魚類に特異的な細菌感染モデル系を確立するように設定して、各個体がどのような挙動を示すのかを解析した。



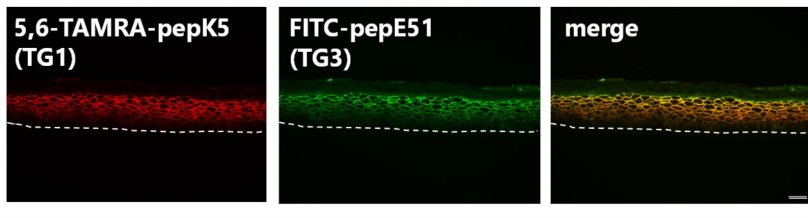
4. 研究成果

（1）硬化化によるバリア機能に焦点をあてた表皮組織の基質解析と表皮分化機構

上皮組織での新規基質の同定（FEBS J. 2018, Ana. Biochem. 2020）

表皮細胞立体培養系で表皮分化を再現させる系を用いて、TG1 および TG3 に対する高反応性基質ペプチドを用いて活性発現と基質精製を行った。活性については細胞抽出液での *in vitro* 活性変動に加えて、分化段階特異的にどのような変動を示すかを蛍光ペプチドによる可視化（*in situ* 活性）で検討した。TG1 および TG3 の活性発現パターンが立体培養で行われた細胞層切片

図4 異なる蛍光標識ペプチド（赤：TG1、緑：TG3）で立体培養で形成された表皮細胞層での活性を可視化した。下層が未分化な基底層であり、上方へと分化が進行する。初めはTG1（赤）が活性化し、徐々にTG3（緑）の活性が高まっていくことがカラーイメージからわかる。



で確認することができ、TG1 が先行してTG3 が後を追う形で活性化することが示され、組織での発現状況が再現できた（図4）

基質探索については、これまですでに二次元培養による表皮分化させた細胞培養系で基質タンパク質候補を多数得ているが、本課題で

はより正確に表皮分化が可能な系でいくつかのタンパク質を得た（未発表）。このうち、gasderminは新たに基質として同定されたため、組換えタンパク質を製作して生化学的性状を検討した。また、抗体を得て表皮分化での変動を観察したところ、分化に伴って他組織で細胞死に応答して見られるような限定分解が起こり、細胞内での局在変化も認められた。このタンパク質が基質として架橋されることが表皮形成にどのような寄与があるかを調べていく。

また、siRNAを用いて、TG1およびTG3のそれぞれに対する遺伝子抑制を行って分化をさせた結果、TG1、TG3のいずれでも角化（成熟）が著しく妨げられた。特に初期に発現するTG1抑制の影響は大きく、表皮層の形成自体が損なわれた。

（2）正常および異常な上皮組織での活性可視化と基質の探索同定

腎組織(Sci. Rep. 2018, ABB

2018)

高反応性基質ペプチドを用いて、腎臓について活性可視化を行った。TG1とTG2の局在は異なり、TG1は尿細管を中心にした発現が多く、TG2は間質領域を中心に発現していることが認められた。また、線維化進行に伴う変動を解析した（図5）。さらにビオチン標識ペプチドを用いて、線維化進行に伴って組織抽出液内で基質になるタンパク質を示したうえ（図6）腎での基質候補タンパク質を網羅的に同定した。またビオチン標識ペプチドとアビジンゲルを用いた精製とそれに続く高感度な質量分析により、TG1、TG2に対して特異的な基質候補タンパク質を多数得た。

図5 蛍光標識基質ペプチドをUUO処理によって腎線維化を誘導させた組織切片と反応させ、架橋酵素活性を可視化および線維化マーカーのE-cadherinの免疫染色を並行し、架橋の生じた領域と共通することを示した。

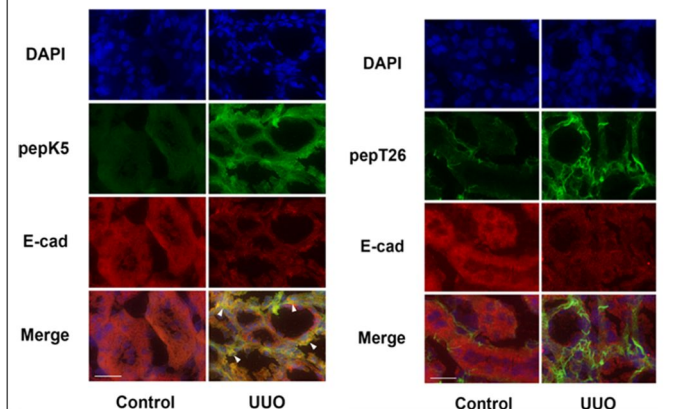
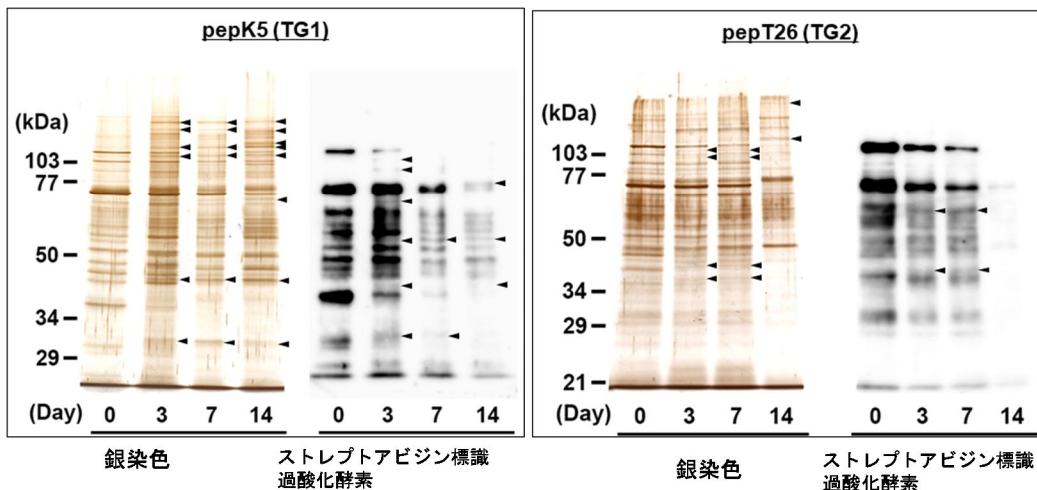


図6 腎線維化モデルマウスにおける取込み基質の変動 腎線維化モデルマウスでのビオチン標識基質ペプチドを抽出液と反応させ、アビジン過酸化酵素で取り込んだGln供与基質を検出した（各図の右側：左側は全体の銀染色）。処置後の日数を示すが処置後に取込みが示される



肺組織

肺組織においても活性の可視化を行って、架橋活性の増大を認めた。ビオチン標識ペプチドを用いて基質の探索も行った。肺組織では線維症状態を再現したマウスにおいて、肺上皮でコラーゲンの上昇と共に、酵素活性がTG1, TG2ともに上昇することを確認した。また、高反応性基質ペプチドを用いて、それぞれに特異的な基質候補群を明らかにした(*Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 印刷中)。

肝臓細胞株で得ていた基質サイトケラチンの架橋産物の解析

肝臓由来の培養細胞株を用いて線維化に伴いサイトケラチンの変動を解析した。また線維化に導く細胞死を誘導した場合に、タンパク質架橋酵素活性の抑制が細胞死のレベルに影響を与えることを確認した。

(3) トランスグルタミナーゼ遺伝子欠損変異細胞株の確立

ヒト肺由来上皮細胞 A549 細胞に対して、CRISPR/Cas9 法により、TG1 および TG2 の遺伝子欠損体を得た。遺伝子レベル及び免疫化学的解析によって欠損を確認した。どちら細胞株についても培養においては細胞自体の増殖や形態に大きな影響はなかった。今後はこれらの欠損株を用いての細胞内外の基質タンパク質がどのように硬化化に貢献するかの解析に活用する。

(4) モデル生物を用いた上皮組織のタンパク質架橋化

皮膚表皮組織特異的マウス

これまでに表皮において主要な働きを担う TG1 について全身の遺伝子欠損マウスが確立されていた。しかしながら表皮形成が出生時に不十分であるためにすぐに死亡し成体での表皮・上皮組織の解析が不可能であった。これを克服するために、Cre-lox システムによる組織・時期特異的なノックアウトマウスの作製を行った。TG1 のゲノム遺伝子の領域の一部を 2 か所の lox で囲んだマウスを作製した。タモキシフェン誘導、また腎特異的な Cre 発現マウスを得て、現在誘導による欠損状態を再現できている。予備的結果ではあるが、成体になって消化管において TG1 が欠損すると体重減少や生存率の低下に至った。消化管を中心にこの上皮組織の異常について硬化度の評価とともに検討した。

血液凝固の制御因子の遺伝子変異個体

メダカを用いて架橋化酵素相同遺伝子の解析を進めている (*Anal. Biochem.* 2020, *J. Biochem.* 2020) 血液凝固因子の FXIII は翻訳合成時には、全く活性を持たない前駆体酵素として血中に存在する。またこれを制御する因子トロンピンと、FXIII の基質として最終段階でかさぶたとなるフィブリンの両者についても変異体を得た (*Biosci. Biochem. Biotechnol.* 2021)。上皮の硬化化への直接効果はないが、バリア機能を司る因子として、野生型と表現型を比較した。これらはいずれも寿命が短く、また多くの個体に内在的に出血傾向が見られた。マウスでは上皮組織(小腸)での抗菌ペプチドなど免疫作用に関連する報告が出されており、その観点から今後解析を進めていく。

感染実験

メダカなど魚類に感染する細菌、*Flavobacterium* 株を用いて、上にあげた血液凝固調節因子の遺伝子変異個体も含めて、トランスグルタミナーゼ変異個体の細菌感染感受性を解析するための系を構築した。細菌をメダカ飼育タンクに混在させて増殖させるうえで、適切な混在量を決める必要がある。そのため、連続的に薄めた細菌量についてメダカを飼育させての生存率、各組織における細菌増殖の観察を進めた。表皮特異的トランスグルタミナーゼ遺伝子の相同遺伝子(OITGK1, OITGK2)の変異は浸透圧変化に感受性があるが、現在のところ感染させた場合に差異はみえない。しかしながら、感染量が多く、野生型と差が見えていない可能性もある。また、予備的結果ながら、野生型や他の変異個体感染に伴う免疫賦活因子や関連する遺伝子の発現量測定を行って、上昇変動を確認した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 10件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tatsukawa H, Otsu R, Tani Y, Wakita R, Hitomi K.	4. 巻 8
2. 論文標題 Isozyme-specific comprehensive characterization of transglutaminase-crosslinked substrates in kidney fibrosis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Report	6. 最初と最後の頁 7306
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-25674-4.	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 Mizikova I, Pfeffer T, Nardiello C, Surate Solaligue DE, Steenbock H, Tatsukawa H, Silva DM, Hitomi K, Morty RE. 他6名	4. 巻 285
2. 論文標題 Targeting transglutaminase 2 partially restores extracellular matrix structure but not alveolar architecture in experimental bronchopulmonary dysplasia.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 FEBS Journal	6. 最初と最後の頁 3056 ~ 3076
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/febs.14596	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 該当する
1. 著者名 Ito Y., Tatsukawa H., Yamaguchi H., Takahashi K., Hitomi K., and Yuszawa Y.	4. 巻 660
2. 論文標題 Detection and identification of potential transglutaminase 2 substrates in the mouse renal glomeruli.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Archives Biochemistry Biophysics	6. 最初と最後の頁 11 ~ 19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.abb.2018.10.001.	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 Kojima T., Hata J, Hayashi K., Hitomi K, Nakano H.	4. 巻 82
2. 論文標題 Spatial arrangement of proteins using scCro-tag: application for an in situ enzymatic microbead assay.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1911 ~ 1921
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2018.1501265	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 渡邊優子、人見清隆	4. 巻 90
2. 論文標題 生命に内在するタンパク質接着酵素をメダカで研究する	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 491 ~ 493
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14952/SEIKAGAKU.2018.900491	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 Tanabe Y., Yamane M, Kato M., Teshima H., Kuribayashi M., Tatsukawa H., Takama H., Akiyama M., Hitomi K.	4. 巻 286
2. 論文標題 Studies on differentiation-dependent expression and activity of distinct transglutaminases by specific substrate peptides using three dimensional reconstituted epidermis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 FEBS Journal	6. 最初と最後の頁 2536-2548
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/febs.14832	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 Meng Q, Watanabe Y. Oguri R., Oguri R., Tatsukawa H., Hitomi K.	4. 巻 604
2. 論文標題 Biochemical characterization of transglutaminase orthologues for medaka, a fish research model, and establishment of gene-deficient mutants.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Analytical Biochemistry	6. 最初と最後の頁 113610-113614
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ab.2020.113610	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 Tatsukawa H., Shinoda Y., Takeuchi T., Hitomi K.	4. 巻 604
2. 論文標題 Identification and characterization of substrates crosslinked by transglutaminases in liver and kidney fibrosis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Analytical Biochemistry	6. 最初と最後の頁 113629-113635
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ab.2020.113629	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 Teshima H., Kato M., Tatsukawa H., Hitomi K.	4. 巻 603
2. 論文標題 Analysis on expression of transglutaminases in the reconstructed human epidermis using three-dimensional culture.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Analytical Biochemistry	6. 最初と最後の頁 113606-113610
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ab.2020.113606	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 Watanabe Y., Okuya K., Takada Y., Kinoshita M., Yokoi S., Chisada S, Kamei Y., Tatsukawa H.,	4. 巻 168
2. 論文標題 Gene disruption of medaka (<i>Oryzias latipes</i>) orthologue for mammalian tissue-type	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 213-222
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvaa038	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 Watanabe Y., Oguri R., Suzuki R., Ishikawa Y., Tatsukawa H., Hashimoto H., Hitomi K.	4. 巻 85
2. 論文標題 Thrombin-deficient mutant of medaka, a model fish, displays serious retardation in blood	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioscience, Biochemistry and Biotechnology	6. 最初と最後の頁 824-833
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/bbb/zbaa098	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 -

〔学会発表〕 計36件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 Isozyme-Specific Global Identification and Analysis of Transglutaminase Substrates in Fibrotic Diseases
3. 学会等名 ゴードン国際会議2018Transglutaminases in Human Disease Processes (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 人見清隆
2. 発表標題 Activation and Substrates of Transglutaminases
3. 学会等名 ゴードン国際会議2018Transglutaminases in Human Disease Processes (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 伊藤辰将、辰川英樹、山口央輝、高橋和男、人見清隆、湯澤 由紀夫
2. 発表標題 Detection and Identification of Possible Transglutaminase Substrates in the Mouse Renal Glomeruli.
3. 学会等名 ゴードン国際会議2018Transglutaminases in Human Disease Processes (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鈴木里沙、渡邊優子、Meng Qi、辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 Immunochemical characterization of medaka orthologues for human thrombin
3. 学会等名 24th Japanese medaka and zebrafish meeting
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 渡邊優子、奥谷冬穂、鈴木里沙、Meng Qi、人見清隆 他4名
2. 発表標題 Biochemical characterization and analysis on gene-modified mutants of mammalian tissue-type transglutaminase orthologue in medaka
3. 学会等名 24th Japanese medaka and zebrafish meeting
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 渡邊優子、鈴木里沙、Meng Qi、辰川英樹、亀井保博、橋本寿史、人見清隆
2. 発表標題 Biochemical characterization and establishment of gene-deficient medaka for transglutaminases, enzyme for cross-linking modification of proteins
3. 学会等名 24th Japanese medaka and zebrafish meeting
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 腎線維化において活性化するタンパク質架橋化酵素の役割りと基質タンパク質群の網羅的同定・解析
3. 学会等名 第9回分子腎臓フォーラム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 伊藤辰将、辰川英樹、山口央輝、高橋和男、人見清隆、湯澤 由紀夫
2. 発表標題 腎糸球体におけるタンパク質架橋接着酵素 (Transglutaminase 2) の基質候補探索と同定
3. 学会等名 第9回分子腎臓フォーラム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 伊藤辰将、辰川英樹、山口央輝、高橋和男、人見清隆、湯澤 由紀夫
2. 発表標題 Global Identification of Crosslinked Potential Tissue Transglutaminase Substrates in the Mouse Glomeruli
3. 学会等名 第43回日本医療マスメクトル学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 Isozyme-specific identification and characterization of substrates crosslinked by transglutaminases in liver fibrosis
3. 学会等名 The 13th International Symposium on ALPD and Cirrhosis
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 人見清隆
2. 発表標題 タンパク質架橋化酵素による表皮構造タンパク質の修飾がバリア機能を強化する
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中川晴加、辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 肝線維症において架橋される新規基質タンパク質の解析
3. 学会等名 2018年度日本農芸化学会中部支部例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 渡邊優子、鈴木里沙、Meng Qi, 辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 メダカのタンパク質架橋酵素群の機能解析と疾患モデルとしての変異体
3. 学会等名 第4回ゼブラフィッシュメダカ創薬研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 渡邊優子、鈴木里沙、Meng Qi、辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 モデル生物としてのメダカを用いた組織型タンパク質架橋化酵素の機能解析
3. 学会等名 2019年度日本農芸化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 手島裕文、栗林美樹、辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 最終分化に空気暴露を必須とするヒト表皮立体培養細胞の性状解析
3. 学会等名 2019年度日本農芸化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 人見清隆
2. 発表標題 タンパク質架橋化酵素トランスグルタミナーゼの線維症に伴う活性変動と基質群の解析
3. 学会等名 第62回日本腎臓学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 腎線維化において架橋修飾される新規基質タンパク質の同定と解析
3. 学会等名 第62回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 辰川英樹、竹内大修、人見清隆
2. 発表標題 Analysis of the mechanism of transglutaminase-mediated tissue fibrosis
3. 学会等名 Gordon Research Conferences Tissue Repair and Regeneration (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 手島裕文、栗林美樹、伊藤帆南、辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 Studies on cellular changes upon air-liquid phase stimulation in the three-dimensional keratinocyte culture system
3. 学会等名 Gordon Research Conferences Barrier function (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加藤まなみ、手島裕文、田辺勇輝、辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 Detection system of transglutaminase in vitro and in situ activities using specific substrate peptides in the epidermis and
3. 学会等名 Gordon Research Conferences Barrier function (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小栗莉奈、鈴木里沙、Meng Qi、渡辺優子、辰川英樹、橋本寿史、人見清隆
2. 発表標題 Biochemical characterization of medaka thrombin, a blood coagulation factor, and establishment of its gene-deficient fish
3. 学会等名 小型魚類研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Meng, Qi、鈴木里沙、小栗莉奈、渡辺優子、辰川英樹、橋本寿史、人見清隆
2. 発表標題 Investigation for Medaka Orthologues of Human Fibrinogen
3. 学会等名 小型魚類研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 タンパク質の架橋による翻訳後修飾反応を介した組織線維化の分子メカニズムの解析
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 竹内大修、桑田啓子、辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 肺線維化における蛋白質架橋化酵素の病態生理学的意義の解析
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 加藤まなみ、手島裕文、栗林美樹、山口央輝、辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 表皮立体培養細胞系を用いた タンパク質架橋化酵素群の機能解析
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 手島裕文、栗林美樹、辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 Studies on epidermal differentiation by air-liquid interface stimulation in three-dimensional culture
3. 学会等名 日本研究皮膚科学会年次学術大会・総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Qi Meng,、鈴木里沙、小栗莉奈、渡辺優子、辰川英樹、橋本寿史、人見清隆
2. 発表標題 Structural and Biochemical Investigation of amostatic Factor Fibrinogen Using Medaka (<i>Oryzias lateipes</i>)
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 篠田祥希、辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 マクロファージの極性化に関わるタンパク質架橋化酵素の解析
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 辰川英樹、篠田祥希、竹内大修、人見清隆
2. 発表標題 組織線維化において架橋修飾されるタンパク質群の網羅的同定解析
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 竹内大修、桑田啓子、辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 肺線維化においてタンパク質架橋化酵素により架橋される基質のプロテオミクス解析
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Meng Qi、渡邊優子、辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 Investigation for the novel functions of fibrinogen through establishing gene-deficient medaka (<i>Oryzias latipes</i>)
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 栗林美樹、川口友輔、手島裕文、山口央輝、辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 羊水中に存在する表皮細胞分化制御成分の性状解析
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 手島裕文、辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 空気暴露が促進する表皮分化メカニズムの解析
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 篠田祥希、辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 M2型マクロファージの極性化におけるトランスグルタミナーゼの機能解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹内大修、横島聡、辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 抗線維化薬ピルフェニドンの薬理作用点同定に向けた探索研究
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊藤帆南、手島裕文、辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 培養ヒト表皮細胞の分化に空気暴露が必須とされるメカニズムの解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------