

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 5 月 2 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08675

研究課題名(和文)尿細管上皮の間葉転換を制御するタンパク質架橋修飾の役割

研究課題名(英文) Role of protein cross-linking modifications in regulating epithelial mesenchymal transition in renal tubule

研究代表者

辰川 英樹 (Tatsukawa, Hideki)

名古屋大学・創薬科学研究科・助教

研究者番号：10565253

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：腎線維化は細胞外基質が過剰蓄積し、組織の硬化に伴い腎機能が失われる疾患である。病態の初期形成では、尿細管上皮細胞の細胞障害に伴い上皮細胞から細胞外基質を産生する線維芽細胞への形質転換誘導(上皮間葉転換；EMT)が病態形成の起点として考えられている。本研究では、皮膚表皮形成での重要な役割が研究されていたタンパク質架橋酵素トランスグルタミナーゼ(TG1)に着目し、同酵素が尿細管上皮細胞で顕著に活性化し、EMTに対して保護的な作用を示すことを見出した。尿細管でTG1を欠損したマウスを作製して、腎臓障害モデルによる影響を調べたところ、同様にTG1は腎疾患の病態形成を緩和する働きを持つことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性腎臓病は成人の8人に1人が罹患する国民病であり、このような腎疾患で共通する病態的特徴である線維化は腎機能予後と強く相関する。尿細管上皮の制御破綻は腎疾患の発症起点として示唆されるものの、これを標的とした有効な制御法は未確立であり、新たな治療法開発のための分子機構の理解が重要である。申請者は先行的研究として腎疾患時に尿細管上皮細胞で活性化するタンパク質架橋酵素TG1に焦点を当て、TG1が尿細管上皮細胞の形質変化における保護的作用に関わることを見出した。本研究は腎疾患の新規予防・治療法の開発のみならず、他臓器が関連する慢性疾患の制御法開発などの波及効果に繋がることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Renal fibrosis is a disease characterized by excessive accumulation of extracellular matrix and loss of renal function associated with tissue stiffening. In the initial pathogenesis of this disease, the induction of transformation from epithelial cells to extracellular matrix-producing fibroblasts (epithelial-mesenchymal transition; EMT) following cellular damage of tubular epithelial cells is considered to be the starting point of the pathogenesis of this disease. Here, we focused on the protein cross-linking enzyme transglutaminase (TG1), which has been studied to play an important role in skin epidermal formation, and found that this enzyme is significantly activated in tubular epithelial cells and exerts a protective effects against EMT. Furthermore, we generated TG1-deficient mice in the renal tubules and examined the effect of this enzyme in a renal injury model, suggesting that TG1 acts to alleviate the pathogenesis of renal disease.

研究分野：分子病態学

キーワード：トランスグルタミナーゼ タンパク質架橋酵素 腎線維化 尿細管上皮細胞 上皮間葉転換 細胞死

1. 研究開始当初の背景

細胞内外でタンパク質間(特定のグルタミン残基とリジン残基の間)に不可逆的な架橋結合を生じ、機能・性状変換を伴う現象が幅広い生物に存在する。この反応はタンパク質架橋酵素トランスグルタミナーゼと呼ばれる酵素群(ファミリーとして複数アイソザイムが存在)により行われ、血液凝固、皮膚形成、死細胞除去を始め多彩な生命現象に関与する。

表皮に存在する架橋酵素はタンパク質基質を架橋重合し組織の硬化化に寄与する。申請者はこれまで表皮に特異的に存在するとされていた架橋酵素のアイソザイムが、特定の上皮組織(腎尿細管、肝実質細胞、口腔上皮、肺胞上皮)においても活性を有することを見出した(Sci Rep 2018, FEBS J 2018, Sci Rep 2017, BBRC 2015, ABB 2015 他)。特に線維化を誘導した腎臓の尿細管上皮細胞では、病態の早期に表皮型の架橋酵素活性が顕著に亢進し、尿細管上皮細胞の上皮間葉転換(EMT)に関わることを見出した(Sci Rep 2018)。

表皮型の架橋酵素のアイソザイムの機能については同酵素の遺伝子欠損マウスが致死性であることから、皮膚以外の組織を対象としたTG1の関連研究はほとんど行われていない。表皮型の架橋酵素が線維化の誘導に関わるTGF- β やEMTの誘導に関連するWnt- β -カテニンなどのシグナル経路に影響する報告例が全くないことから、同酵素のEMTの抑制に関わる分子機構を明らかにすることにより、新たなEMTのシグナル経路の発見やその制御方法の開発に繋がりたいと考えた。

慢性腎臓病において腎線維化の抑制は重要な治療標的であるが、現在まで有効な治療法は確立されていない。腎線維化の直接の原因は細胞外マトリクスを産生する筋線維芽細胞の活性化であるが、近年、尿細管上皮細胞の部分的な形質転換(partial EMT)が炎症の場を作り出す起点として重要視されている。尿細管上皮のEMTに関わる架橋酵素が「どのように」制御され、「何を」標的基質として架橋し、基質の機能変換を担うのかを検証することが組織線維化の病態機序の解明に重要だと考え、本研究をとおして架橋反応から疾患進展への道筋を明らかにしたいと考えた。

2. 研究の目的

本研究は、表皮型の架橋酵素が尿細管上皮細胞のEMTに対して抑制作用を示す分子機構を明らかにすることで、新たなEMTのシグナル経路の発見やその制御方法の開発に繋げることを目的とする。

尿細管障害時に誘導される架橋酵素の発現・活性の機構を明らかにすると共に、同酵素の活性化の標的となる基質とその架橋産物がどのように変動し、細胞に影響を及ぼすかについて追跡する。架橋酵素の遺伝子変異細胞や動物を用いて「架橋酵素が亢進および抑制された場合には上皮組織はどうなるのか」を上皮組織の形質転換や細胞死に対する変化を中心に検証する。

3. 研究の方法

尿細管上皮細胞での表皮型タンパク質架橋酵素の実態解明を目指し、以下の3つの点からアプローチする。

(1) 尿細管上皮のEMTにおける架橋酵素の発現・活性化の意義

尿細管上皮の細胞株および初代培養細胞を用いて、架橋酵素TG1の発現・活性化がEMTを抑制する分子メカニズムを明らかにする。尿細管上皮のEMTは近年、部分的(partial)EMTと呼ばれ、細胞は基底膜から脱離しないため筋線維芽細胞の形質転換への寄与度は低いことが示されている(Nat Med 2015)。この過程にはTGF- β 刺激により誘導されるSNAILやTWISTなどを介したEMTのシグナル伝達およびこれに伴うE-cadherinなどの上皮細胞マーカーの消失が重要となるため、このEMTを負に制御する表皮型架橋酵素の影響について検証する。申請者の先行研究において、尿細管上皮の架橋酵素はE-cadherinの発現低下を阻害するが、TGF- β の下流のI型コラーゲンは抑制しないことから、単純なTGF- β シグナルに対する抑制機構ではない新たな知見が得られることを期待している。

(2) 尿細管上皮において架橋されるタンパク質基質の探索同定

EMTを誘導した尿細管上皮細胞を用いて、架橋酵素TG1の活性化により架橋される基質タンパク質を網羅的に同定する。ビオチンを標識した基質ペプチドを用いて表皮型架橋酵素の反応により架橋される基質タンパク質のビオチンラベル化を経て、アフィニティー精製後に質量分析を行い、架橋されるタンパク質群および架橋されるアミノ酸の部位を同定する。これらの結果を基に基質としての反応性を示さない変異型(架橋部位のグルタミン残基およびリジン残基を別のアミノ酸に置換)タンパク質を細胞に導入して野生型との比較検討をすることにより、架橋産物の意義を明らかにすることができる。

(3) 架橋酵素の遺伝子変異個体を用いた解析

線維化を誘導する動物モデルを用いて、初期に見られる尿細管上皮の EMT における架橋酵素および架橋産物の意義について明らかにする。表皮型架橋酵素の全身欠損マウスは表皮の形成異常により致死性であるため、薬剤もしくは特定のプロモーター制御による時期や部位(尿細管上皮)特異的な遺伝子欠損マウスを作製する。開始コドンが存在する TG1 遺伝子の 2 番目のエクソンおよび 3 番目のエクソンの両外側のイントロン配列に LoxP 配列を挿入し、Cre レコンビナーゼ依存的な相同組換えによりエクソン 2 とエクソン 3 の遺伝子領域を欠失させる遺伝子組み換えマウスを作製する。さらに、薬剤誘導的に Cre レコンビナーゼを発現させることができる CreERT2 マウス、プロモーター制御下で尿細管特異的に Cre レコンビナーゼを発現させることができる γ GT-Cre マウスを入手し、作製した TG1flox/flox マウスとこれらのマウスをそれぞれ掛け合わせるにより、達成する。

作製した 2 種のマウスに対して腎障害・腎線維化を誘導し、同架橋酵素の欠失による尿細管上皮の EMT、および腎線維化の程度を詳細に評価し、架橋酵素の疾患への関連性を明らかにする。

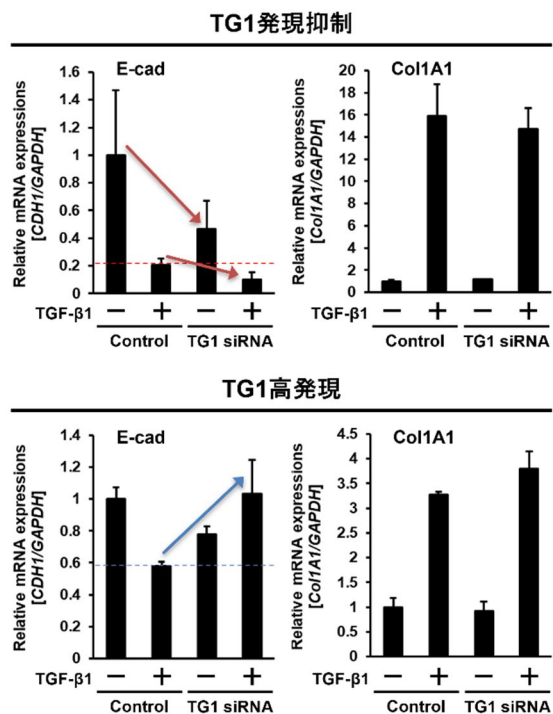
4. 研究成果

(1) 尿細管上皮の EMT における架橋酵素の発現・活性化の意義

尿細管上皮細胞の EMT における TG1 の制御機構を理解するために、細胞レベルでの線維化誘導モデルを用いて評価した。線維化を誘導する主要なサイトカイン TGF- β を腎尿細管細胞株 HK-2 に処理し、E-cadherin および Collagen の発現量変化を指標として EMT 誘導の程度について評価した。TGF- β を処理した HK-2 では有意に E-cadherin の減少および Collagen の発現が誘導されたが、siRNA による TG1 の発現抑制下では Collagen の発現量には変化はないものの、E-cadherin の発現は更なる減少を示した(右図上段)。一方、TG1 を高発現させた HK-2 は E-cadherin の発現低下を有意に抑制したことから、TG1 は EMT に対して抑制的に働くことが示唆された(右図下段)。

EMT の更なる解析のため、様々なタイトジャンクションやアドヘレンスジャンクションの発現レベルについて解析したところ、E-cadherin 以外に Claudin-1 の発現レベルも同様に変化することが分かった。

TGF- β 処理により発現増加する Fibronectin や Vimentin については、TG1 の発現抑制により発現量の抑制が見られたことから、上皮細胞では EMT 抑制に働くものの、筋線維芽細胞の指標は逆の表現型を見せることは興味深い。また、驚いたことに TG1 は過酸化水素のような細胞障害刺激において、炎症性サイトカインの誘導機構に関わることが明らかになった。



(2) 尿細管上皮において架橋されるタンパク質基質の探索同定

TGF- β を処理した HK-2 に架橋酵素のリジン残基側の基質であるピオチン標識一級アミン BPA を添加し、EMT 誘導時において TGase 活性により取り込まれる BPA 修飾タンパク質の経時的な変化を検出した。EMT 処理の 12 時間後に BPA 修飾タンパク質が増大したことから、EMT 誘導に伴い TGase の活性が上昇し、特定のタンパク質を基質として架橋することにより、EMT 誘導が制御される可能性を見出した。しかしながら、度重なる検討の結果、期待していた処理時間依存的な BPA 修飾タンパク質の増加は有意ではなく、低い検出感度および再現性に乏しかったため、基質の同定に基づく分子機構解析の代替研究として、TG1 の更なるシグナル伝達機構の解析研究を進めた。

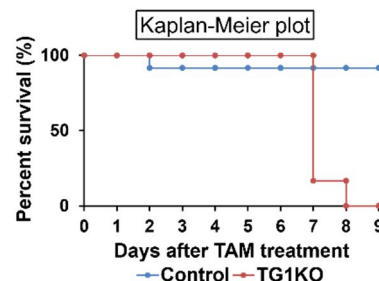
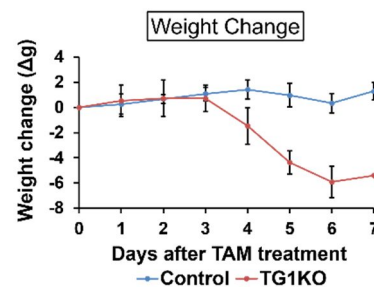
(3) 架橋酵素の遺伝子変異個体を用いた解析

TG1 の全身欠損マウスは表皮の形成不全によりホモマウスは生後すぐに死亡するため、Cre レコンビナーゼの発現制御による時期や細胞種特異的に TG1 を欠損することができる TG1flox/flox 変異マウスを CRISPR による相同組換え法により作製した。これらの作製した TG1flox/flox マウスをタモキシフェン処理により制御可能な Cre レコンビナーゼとエストロゲンレセプターを融

合した CreERT2 マウスもしくは尿細管特異的なプロモーター制御化で Cre レコンビナーゼを発現する γ GT-Cre マウスとそれぞれ掛け合わせを行い、両遺伝子変異を持つ新たな遺伝子組み換えマウスを作製した。TG1flox/flox:CreERT2 の成体マウスにおいて、タモキシフェン投与を行い、全身での TG1 欠損マウスを作製したところ、驚くことに投与後すぐに顕著な体重減少が確認され、1週間以内に死亡した（右図）。

死亡時においても同マウスは皮膚に対する表現型はほとんどなく、また水分蒸散量の変化も顕著ではなかったため、表皮形成不全以外の別の要因でマウスが死亡することが分かった。このことは、TG1 の新たな機能解析に繋がる重要な成果であることが期待される。次に、死亡する直前のマウスを対象として、死亡原因に関する様々な解析を試みた。ターンオーバーが早い上皮細胞を標的とし、スイスロールにより消化管の網羅的な形態解析を行ったところ、食道や前胃など TG1 の発現が比較的高い組織において、形態異常が確認され、このような組織においても恒常性維持に重要であることが明らかになった。

一方、別に作製した尿細管特異的な TG1 欠損マウス TG1flox/flox: γ GT-Cre は、通常飼育では特に目立った表現型を示さなかった。しかしながら、同マウスを用いて腎疾患誘導モデルを作製したところ、尿細管の形態異常を伴う病態増悪への関与が示唆される結果を得た。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 9件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Meng Q, Watanabe Y, Suzuki 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
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, Takeuchi T, Shinoda Y, 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
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
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, Yamamoto N, Abe H, Hashimoto H, Hitomi K	4. 巻 168
2. 論文標題 Gene disruption of medaka (<i>Oryzias latipes</i>) orthologue for mammalian tissue-type transglutaminase (TG2) causes movement retardation.	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 辰川英樹、篠田祥希、竹内大修、人見清隆	4. 巻 55
2. 論文標題 タンパク質架橋酵素を介した上皮細胞の間葉転換機構の解析	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本応用酵素協会誌	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tanabe Yuki, Yamane Miki, Kato Manami, Teshima Hirofumi, Kuribayashi Miki, Tatsukawa Hideki, Takama Hiroyuki, Akiyama Masashi, Hitomi Kiyotaka	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 The 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 Teshima Hirofumi, Kato Manami, Tatsukawa Hideki, Hitomi Kiyotaka	4. 巻 -
2. 論文標題 Analysis of the expression of transglutaminases in the reconstructed human epidermis using a three-dimensional cell culture	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Analytical Biochemistry	6. 最初と最後の頁 113606 ~ 113606
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 Meng Qi, Watanabe Yuko, Suzuki Risa, Oguri Rina, Tatsukawa Hideki, Hitomi Kiyotaka	4. 巻 -
2. 論文標題 Transglutaminase orthologues in medaka fish - biochemical characterization 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 ~ 113610
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ab.2020.113610	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 Hideki、Takeuchi Taishu、Shinoda Yoshiki、Hitomi Kiyotaka	4. 巻 -
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 ~ 113629
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 Watanabe Yuko、Okuya Kazuho、Takada Yuki、Kinoshita Masato、Yokoi Saori、Chisada Shinichi、Kamei Yasuhiro、Tatsukawa Hideki、Yamamoto Naoyuki、Abe Hideki、Hashimoto Hisashi、Hitomi Kiyotaka	4. 巻 -
2. 論文標題 Gene disruption of medaka (<i>Oryzias latipes</i>) orthologue for mammalian tissue-type transglutaminase (TG2) causes movement retardation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 mvaa038
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 -

〔学会発表〕 計34件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 辰川英樹、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 日本臨床分子医学会
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 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 日本臨床分子医学会
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 組織線維化におけるタンパク質架橋反応の分子標的の解明研究
3. 学会等名 日本生化学会大会シンポジウム
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 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 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 日本生化学会大会
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 タンパク質架橋化酵素によるマクロファージの極性化制御の解析
3. 学会等名 日本農芸化学会中部支部例会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小栗莉奈、渡邊優子、石川雄太、Meng Qi、辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 血液凝固異常モデルをトロンピン遺伝子欠損メダカにより再現する
3. 学会等名 日本農芸化学会中部支部例会
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 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、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 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 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 日本農芸化学会大会
4. 発表年 2020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 日本農芸化学会大会
4. 発表年 2020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 日本農芸化学会大会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 川口友輔、栗林美樹、手島裕文、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 日本農芸化学会大会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 手島裕文、加藤まなみ、辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 ヒト表皮の分化に気相培養を必須とするメカニズムの研究
3. 学会等名 生化学会中部支部例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木里沙、Meng Qi、渡辺優子、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血液凝固因子トロンビンの発現解析と変異体作製
3. 学会等名 生化学会中部支部例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 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 日本腎臓学会
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 three-dimensional keratinocyte cultured 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 小栗莉奈、鈴木里沙、Meng Qi、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 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 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、辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 胚線維化におけるタンパク質架橋化酵素の病態生理学的意義の解析
3. 学会等名 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 92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 栗林美樹、手島裕文、加藤まなみ、辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 マウスの胎生段階における表皮形成と羊水成分の変動解析
3. 学会等名 日本農芸化学会関西中部合同支部例会
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 肺線維症に寄与するタンパク質架橋化酵素の役割
3. 学会等名 日本農芸化学会関西中部合同支部例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木里沙、 Meng Qi, 渡辺優子、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血液凝固における架橋化酵素と活性化因子トロンビンの研究
3. 学会等名 日本農芸化学会関西中部合同支部例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 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 メダカを用いた血液凝固因子トロンビンの欠損個体作製による機能解析
3. 学会等名 ゼブラフィッシュ・メダカ創薬研究会
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 Establishment of Fibrinogen Knockout Medaka (<i>Oryzias latipes</i>) Aiming to Investigate its Novel Function and Drug Screening
3. 学会等名 ゼブラフィッシュ・メダカ創薬研究会
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 手島裕文、栗林美樹、伊藤帆南、加藤まなみ辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 表皮細胞分化に気相培養を必須とするメカニズムの解析
3. 学会等名 分子生物学会大会
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 分子生物学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 栗林美樹、手島裕文、山口央輝、辰川英樹、人見清隆
2. 発表標題 マウスの胎生段階における表皮形成と羊水成分の変動解析胎生進行に伴う表皮形成レベルと羊水成分の変動解析
3. 学会等名 分子生物学会大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 手島裕文、加藤まなみ、辰川英樹、人見清隆	4. 発行年 2019年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 208-214
3. 書名 食品・バイオにおける最新の酵素利用 井上國世 監修	

〔産業財産権〕

〔その他〕

Transglutaminase Expression Database http://www.ps.nagoya-u.ac.jp/lab_pages/biochemistry/transglutaminases_database.html 名古屋大学大学院創薬科学研究科 細胞生化学分野 Website http://www.ps.nagoya-u.ac.jp/lab_pages/biochemistry/newpage2.html

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