

## 研究室紹介

## 医学部 ゲノム基礎医学

## 奥田 晶彦



ゲノム基礎医学は、2020年4月に、ゲノム医学研究センターとして活動していた3つの部門が統合することで、医学部の中の一つの基本学科として誕生した教育・研究グループです。基本学科名の中に“基礎”という単語が用いられているため、純粋な生化学・生物学的な研究のみを行っている基本学科であると誤解されがちですが、実際には、臨床の現場で役立つことを常に念頭において研究を行っており、詳細は後述させていただきますが、特に、片桐岳信教授を中心とした研究グループはかなり臨床応用に近いところで研究を行っています。私たちは、医学部の一部になったことで、今まで以上に教育の現場に参加するように努めていますが、本基本学科には、卓越した研究成果を積み上げてきた教員が数多く在籍していることから、私たちとしては、本学の教育の柱の一つである「研究マインドを持った医療従事者の育成」という点に対して特に貢献できる基盤を有していると自負しています。そのことを具現化する一つの方法として、私たちは、課外学習プログラムにおいて興味深い研究テーマを提案し、一人でも多くの学生さんに研究の醍醐味を伝えることができる機会を得るよう努めています。なお、本基本学科は、成り立ちの経緯からも明らかのように、黒川理樹教授、片桐岳信教授及び私が率いる3つの研究グループから構成されており、それぞれのグループは、独立性を保ちつつ、時に技術提供などによりお互いに協力しつつ、研究を進めています。

以下に、各研究グループの活動について紹介させていただきます。

## I. 奥田研究グループの研究

奥田研究グループは、ゲノム医学研究センター発足時においては、着床前の分化多能性を持った初期胚の一部の細胞や、それに相当する培養細胞であるES細胞が持つ、無限の増殖性等の特筆すべき性質を規定している分子メカニズムを解明することを主な目的として研究を行っていました。しかし、その研究の過程で、全く予期していなかった

ことでありましたが、ES細胞が、生殖細胞ではないにも関わらず、減数分裂を開始する潜在能力を有しており、その潜在能力はポリコム複合体（PRC）1の一つのサブタイプであるPRC1.6によって強力に抑制されていることが明らかになりました。さらには、その後の解析により、PRC1.6複合体が、生殖細胞における生理的な減数分裂の開始時期を調節していることがわかりました。このような経緯により、現状では、奥田グループは、PRC1.6と減数分裂との関連をより明らかにすることに対して大部分の-effortを つぎ込んで研究を行っています。

以下に、現在、奥田グループが行っている減数分裂関連の研究の詳細について紹介させていただきます。

## 1) 生殖細胞がPRC1.6複合体の機能を減弱もしくは破綻させている分子基盤の解明

私たちは、今までに、生殖細胞が生理的に減数分裂を開始する際にPRC1.6複合体の機能が減弱もしくは破綻していることは明らかにすることはできていますが、生殖細胞がどのような仕組みでもってそのことを達成しているかについてはわかっていないので、それを明らかにすることを目的に研究を行っています。そして、現在までに、PRC1.6複合体を構成する因子の一つであるMaxタンパク質が、同複合体の機能調節の要となっているところまで明らかにすることができいます。

## 2) MaxがPRC1.6複合体の機能調節の要となっていることの必然性についての解析

Maxタンパク質は、PRC1.6複合体の構成因子の1つであると同時に体細胞分裂を強力に推進するMycのパートナー因子でもあり、そのことによっても間接的に減数分裂の開始を抑制していることが想定されています（図1）。そして、私たちは、そのことと、PRC1.6複合体を構成する14個もの因子の中で、Maxタンパク質が同複合体の生理的な機能調節を受ける標的となっていることとの間には必然性があるのではないかという可能性を考えており、現在、その仮説に沿った研究も行っています。

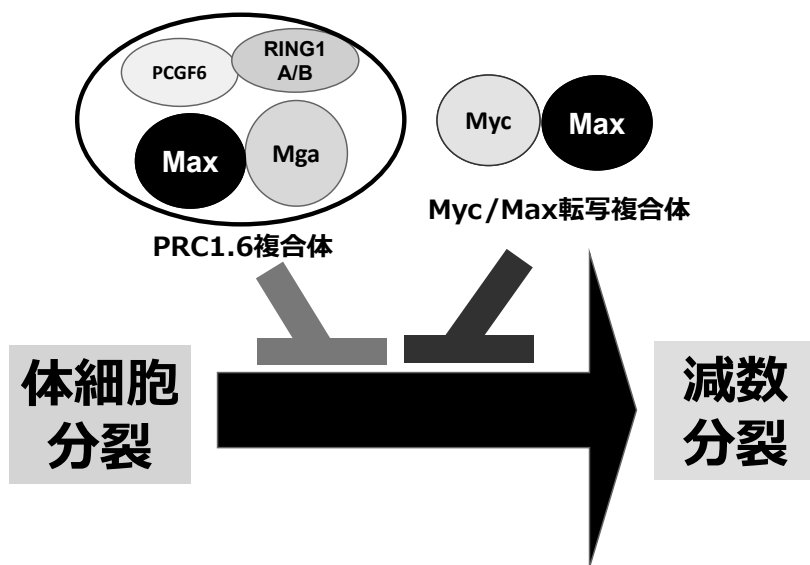


図1 生殖細胞における細胞分裂様式の変換と Max の量の低下の関係を示すモデル図

### 3) 非生殖細胞における減数分裂関連遺伝子の発現に対する強固な抑制のための分子基盤の解明

分化多能性を持ったES細胞や体細胞分裂期にある生殖細胞では、減数分裂関連遺伝子はPRC1.6やPRC2などのその他のポリコム複合体によって主に発現が抑制されています。一方、神経や肝臓細胞などの生殖や分化多能性とは全く関係のない体細胞では、それらの遺伝子の発現は、DNAのメチル化により強固に抑制されているのですが、奥田グループは、その為の仕組みを解明するための研究も行っています。

以上のより、奥田グループは、偶然にして減数分裂に対する調節因子を同定したことがきっかけで、生殖細胞における減数分裂開始機構の解明に向けて日々研究に邁進しています。これらの研究の生物学的な意義については極めて高いと認識しているものの、これらの研究からの成果を医学の発展に繋げていくという未来予想図については現状では描けていません。しかし、PRC1.6の機能に対する調節不全が不妊症の原因の一部である可能性は十分考えられることは間違いのないことであると同時に、男性不妊は、精巣腫瘍発生の危険因子の一つであることから、一部の精巣腫瘍の原因解明に繋がる可能性を常に念頭において研究を行っています。

## II. 黒川研究グループの研究

黒川グループの主要な研究課題を以下にまとめます。

1. ヒトの遺伝子発現機構の解明
2. 非コードRNAのヒトゲノムにおける役割の解析
3. 遺伝子発現制御の異常と関連疾患の解析と治療法の基礎研究
4. 相分離・相転移による遺伝子発現制御と関連する疾患の発症機構

5. 遺伝子異常関連疾患の治療法の開発
6. lncRNAの核酸医薬への応用

黒川グループの研究の中心は、真核生物ゲノムの遺伝子発現機構の解明です。黒川グループはこの研究において多面的なアプローチを試みています。遺伝子の発現制御はすべての生命現象の基盤になる現代医学の重要課題の一つであります。黒川グループは、遺伝子発現制御の主要なステップである転写レベルでの遺伝子制御機構の解明を目指しています。ヒトのゲノムの9割以上は、遺伝子をコードしない非コード領域であり、機能不明なものと考えられてきました。最近のヒトゲノムの転写産物の解析から、この非コード領域の9割は転写され非コードRNA (noncodingRNA: ncRNA) となることが知られてきました。このncRNAの大部分は鎖長200塩基対以上の長鎖非コードRNA (lncRNA) であり、これらが遺伝子制御に機能することが知られてきました。

黒川グループは、細胞周期制御因子であるcyclin D1遺伝子のプロモーター領域から転写されるlncRNAであるpncRNA-Dが、RNA結合タンパク質 (RBP) TLS/FUSと結合してcyclin D1遺伝子発現を抑制する結果を発表し、RNA依存性転写抑制という新規の転写制御機構を提唱しました (図2) (Nature, 2008)。これは、lncRNAが乳癌や肺癌などの増殖亢進に関与するcyclin D1遺伝子を制御する重要な知見であります。lncRNAと腫瘍生物学をリンクさせる重要な知見でもあります。このようにlncRNAは重要な生体機能を制御する役割を担い、様々な疾患の発症に関与することが示唆されています。TLSを初め多くのRBPはlncRNAと結合して、その生理活性の発現を仲介することが示されてきました。

そして、このTLSは、脂肪肉腫の融合遺伝子として、また、筋萎縮性側索硬化症の原因遺伝子としても注目されて

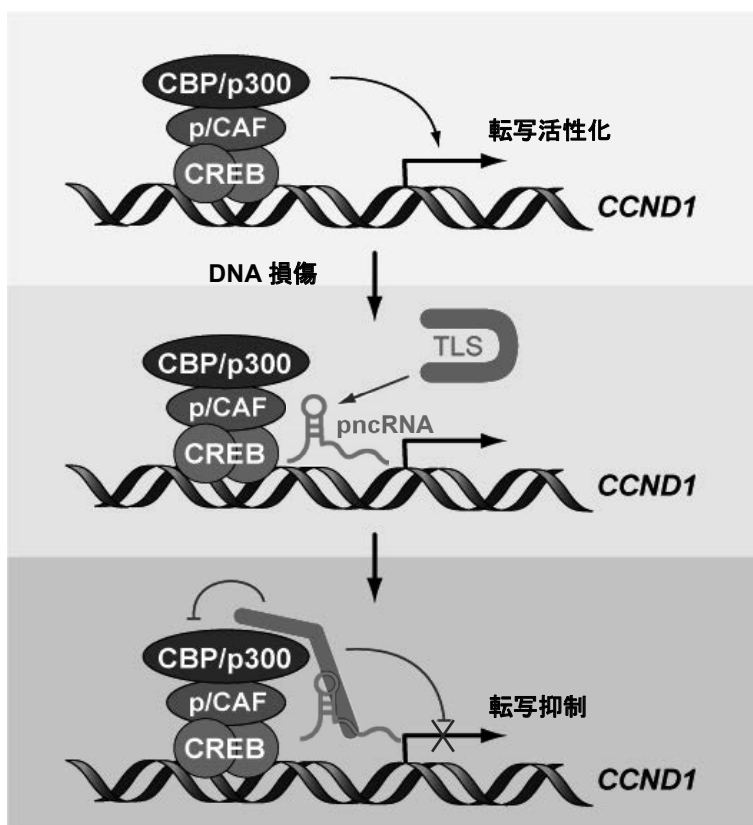


図2 RNA 依存性の転写抑制機構

います。最近、黒川グループは、TLSの相分離現象にも注目しています。TLSは、分子内に、構造をとらない天然変性領域 (IDR) を有し、この IDR を介して分子が会合して液滴 (Condensate) を形成することが明らかにされてきました。この液滴は複数の種類のRBPを会合させて、膜のない細胞内小器官 (RNA 顆粒) を形成します。この現象が、翻訳制御などのRNA機能に関与することが知られています。また、液滴が強く会合すると凝集体・沈殿を形成し、これがALSなど多くの神経変性疾患の原因となることも指摘されています。黒川グループは pncRNA-D が TLS と結合すると、相分離・沈殿の形成を抑制することを示しました。これは、pncRNA-D が ALS の核酸医薬品のシード化合物になる可能性を示唆しています。最近、新たに見出した lncRNA にも TLS の相分離を抑制する活性があることを示しました。これらの lncRNA も、ALS の治療薬のシードとなることが期待されます。黒川グループは、ゲノム中から転写される多くの lncRNA には重要な生理機能に関与する分子があると考え解析を進めています。

さらに、pncRNA-D のメチル化により TLS への結合性が制御され、TLS 相分離も制御される結果を得ています。これは、RNA 修飾が重要な生体制御に関与する可能性を指摘するもので、関連疾患の検索とあわせて研究を進めています。また、TLS の修飾と機能相関についても解析を進めています。

### Ⅲ. 片桐研究グループの研究

片桐グループは、骨を中心に軟骨や筋肉などを含めた「運動器」における分子レベルでの生理的制御機構の解明と、その機序の関連疾患への応用を目指した研究に取り組んでいます。運動器は、文字通り身体を動かすための器官の総称です。運動器の機能が正常に保たれることで、我々の身体を自由に動かして生活することができます。

一方、加齢に伴い運動器にさまざまな障害が起きることが知られています。骨が折れたり、軟骨がすり減ったり、筋肉が萎縮してしまったりすると、身体を動かすことが困難となります。骨の量が減り、骨折が起きやすくなる骨粗鬆症と呼ばれる疾患は、寝たきりの状態を招く主要な原因の1つです。膝の軟骨がすり減って痛みと骨の変形が起こる変形性膝関節症も、高齢者に見られる運動器疾患の1つです。加齢や寝たきり状態、癌の末期などでは、筋肉の量が急激に減少するために、運動能力が低下する場合があります。

片桐グループが目指していることは、こうした運動器の変化の原因を分子レベルで明らかに、それらの科学的な知見を人々が健康な身体を保つために応用することです。

#### 1) TGF-βファミリーのシグナル伝達機構の解明

さまざまな生理活性物質の中で、Transforming Growth Factor-β (TGF-β) ファミリーと呼ばれる類似した構造を持つ30種類以上の成長因子は、特に運動器の制御に重要な

成長因子として知られています。

TGF- $\beta$ ファミリーの中で、最も大きなサブファミリーを形成するのが Bone Morphogenetic Protein (BMP) と呼ばれる成長因子群です。もともと BMP とは、筋組織や皮下への移植に依って新しい骨組織を誘導する生理活性物質に対して付けられた名前でした。この骨誘導活性の発見から 20 年以上経って、ようやく BMP がクローニングされ、すでにクローニングされていた TGF- $\beta$  と相同性が高く、大きなファミリーを形成することが明らかとなりました。

BMP は、1 つの成長因子を移植することで、胎生期の骨格形成や骨折の修復時と同じ過程を経て、最終的には骨髄を含む新しい骨を誘導します。この BMP の骨を誘導する活性は極めてユニークで、筋肉、脳、心臓、肝臓、腎臓など、他の臓器を単一の生理活性物質で再現できる例は他にありません。

この BMP のユニークな生理活性は、BMP が細胞表面に発現している特異的な受容体に結合して細胞内に伝達されます。片桐グループでは、骨を誘導するための受容体やその活性化の機序、細胞内でシグナルが伝達される一連のシグナルカスケードなどを 1 つずつ明らかにし、新しい骨ができる機序を解明したいと考えています。

また、骨を誘導しない TGF- $\beta$  ファミリーの成長因子群も、軟骨や筋肉の形成、維持、再生に重要なことが明らかとなっています。これらの成長因子も、BMP と類似した受容体やシグナル伝達機構で生理活性を示すことから、その特異性を含めた分子機構の解明を目指しています。

## 2) 進行性骨化性線維異形成症 (FOP) に関する研究

本邦の難病の 1 つに、筋肉の中に過剰な骨ができる遺伝性疾患である進行性骨化性線維異形成症 (FOP) が知られています。片桐グループが埼玉医科大学で研究を開始した当時、FOP の発症機序は不明で、検査法や治療法は確立されていませんでした。FOP 症例の症状が、BMP を筋組織に移植した状態とよく似ていることから、BMP が関与する可能性が考えられました。

そこで、片桐グループは 2005 年に「埼玉医科大学 FOP 診療・研究プロジェクト」を組織して、我が国で初めて FOP に関する本格的な研究を開始しました。その後、FOP の発症原因が BMP に対する受容体の遺伝子変異であることが明らかとなり、簡便な遺伝子診断法を確立しました。FOP の遺伝子変異を持つ BMP 受容体は、過剰なシグナルを細胞内に伝達することを実証し、新しい阻害法を開発しました。現在では、世界の各地で色々な BMP 受容体阻害薬が開発され、FOP 患者さんを対象とした治験が進行しています。

このように、FOP は教科書に載るような典型的な遺伝性疾患で、急速に治療法の開発が進んでいます。一方、どうして筋肉が骨になるのかという点は、未だに解明されていない点が残されています。診断法や治療法を開発すると共に、疾患の発症機序をさらに解析することで、これまで知られていなかった骨や軟骨、筋肉などの制御機構が明らか

になることを期待しています。

## 3) その他の運動器疾患に関する研究

FOP 以外にも、発症原因が明らかとなっていなかったり、治療法が確立されていないさまざまな運動器疾患が知られています。片桐グループは、これらの疾患も解析することで、運動器の全体像を明らかにするための重要なヒントが得られると考えています。同時に、こうした運動器疾患の研究から新しい発症に関わる分子機序が明らかとなり、その後の治療法や診断法の開発につながることを期待しています。

## IV. スタッフ紹介

ゲノム基礎医学は 2022 年 12 月の時点で、非常勤職員も含めて総勢 20 名のメンバーで構成されており、その中で 9 名の常勤教員について以下に簡単に紹介させていただきます。

### 奥田晶彦 (教授)

1992 年 12 月に本学に講師として赴任して以来、ES 細胞が無限の増殖性や分化多能性等の特質を有するための仕組みについて研究を行っている。本学における特筆すべき出来事の一つとして、2008 年から約 6 年間、CREST の代表として ES・iPS 細胞の研究を行い、ES 細胞における Myc が原遺伝子の役割についてまとめた研究成果を CELL の姉妹紙 (Cell Stem Cell) に報告したことを挙げるができる。また、その際に作製した Max ホモ欠失 ES 細胞が上記に記載したように減数分裂様の変化を示したことがきっかけで、現在は、主に、生殖細胞における減数分裂開始機構の解明を目的として研究を行っている。

### 黒川理樹 (教授)

東京大学大学院で理学博士取得後、1991 年からカリフォルニア大学サンディエゴ校医学部の Chris Glass 教授と Geoff Rosenfeld 教授の研究グループに参加。当時、最もホットな核内受容体 (NR) の転写制御機構の解明に取組む。ここでの成果は、Nature 9 報、Cell 2 報、Science 2 報に結実した。この実績が認められ、メリーランド州 Bethesda にある国防総省付属医学部の助教授として独立し PI を経験。2004 年帰国して、埼玉医科大学教授着任、現在に至る。研究テーマは学部学生時代より、一貫して真核生物の遺伝子制御の解明を目指してきた。真核ゲノムの遺伝子制御を多面的に解析している。

### 片桐岳信 (教授)

2004 年 5 月に、当時の埼玉医科大学ゲノム医学研究センター病態生理部門に赴任した。北里大学大学院薬学研究科修士課程の時に、大村智先生から「骨を増やす薬を探す研究」をテーマとして頂いたことがきっかけで、30 年以上骨の研究に従事している。骨を増やす生理活性物質のスクリーニング系構築が研究テーマで、その positive control と

して骨折の修復に関わると予想された「骨誘導因子 (BMP)」の研究を始めた。当時は、まだ BMP がクローニングされておらず、食肉加工場へ牛骨を数十 kg 買いに行き、砕いて、抽出して、分画し、培養細胞で活性を調べることがメインテーマだった。大学院時代に偶然読んだ骨ができる難病に興味を持ち、埼玉医科大学に着任後のメインテーマとなった。

#### 鈴木 歩 (講師)

免疫染色等の発生学的手法を得意としており、その特徴を生かすべく、奥田グループの研究項目の 1 および 2 を担当している。特筆すべき業績としては、2016 年に減数分裂と PRC1.6 との関係について示した *Nature Communications* に発表した論文と、その成果を基に獲得できた文部科学省科学研究費・若手研究 A が挙げられる。

#### 米田竜馬 (講師)

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の病因タンパク質 FUS の研究を行っている。FUS は RNA と結合することで、機能が変化するため、FUS と相互作用する RNA の修飾や配列による、FUS への影響を検証している。この研究を通して、ALS 発症メカニズムの解明や、発症予防効果をもつ RNA の同定を目指している。

#### 塚本 翔 (講師)

本学保健医療学部 健康医療科学科 (現・臨床検査学科) の出身で、在学中の研究体験プログラム「筋肉が骨になる難病」を通して、希少疾患の基礎研究に興味を持ち、修士課程、博士課程に進んだ。社会に還元する研究を目指して、疾患モデル動物の樹立や解析、病態メカニズムの解明に取り組んでいる。

#### 浦西洸介 (助教)

奥田グループの中では、研究項目 3 を主に担当している。生化学的手法を得意としており、加えて、最近では、バイオインフォマティクス的手法についても研鑽を深めつつある。なお、経歴における特記事項として、金沢大学での大学院期間中に日本学術振興会特別研究員 (DC2) として米国 Memorial Sloan Kettering 研究所に 1 年間の留学経験を持つ。

#### 倉谷麻衣 (助教)

大学院生の時から現在まで、運動器の研究に取り組んできた。広島大学大学院で、一過性運動や疾患によって筋力が低下する機序の解析を行なった。2015 年に本学ゲノム医学研究センター (当時) に赴任してからは、筋肉に骨ができる遺伝性疾患を中心に、TGF- $\beta$  ファミリーシグナルと運動器の制御機構を解析している。

#### 上田奈緒美 (助手)

核内タンパク質の糖化による細胞毒性に注目して研究を進めている。現在は、筋萎縮性側索硬化症の原因遺伝子のひとつである TLS/FUS の糖化と、糖尿病性神経障害の関連に着目し、TLS が非酵素的に糖化される結果を得ている。今後は細胞内における TLS 糖化のメカニズムや細胞毒性への影響を明らかにしたいと考えている。

### V. 結 語

ゲノム基礎医学は、黒川先生、片桐先生及び奥田が率いる 3 つの研究グループがほぼ独立性を保ちつつ研究を進めており、かつ、いずれのグループも確実に研究を進展させることができていると考えています。さらには、グループ間の連携についても、充実しつつあり、以下に列举した発表論文の 1 番の論文がその成果の具体例として挙げる事ができます。今後は、こういったグループ間での連携を、より一層、活発化させることで、今まで以上に研究成果を輩出し、そうすることで、医学の発展に寄与していきたいと考えています。

### VI. 発表論文

以下に、ゲノム基礎医学が誕生した 2020 年以降に報告した主な英文発表論文を列举させていただきます。

#### 英文発表論文

- 1) Yoneda R, Ueda N, Uranishi K, Hirasaki M, Kurokawa R. Long noncoding RNA pncRNA-D reduces cyclin D1 gene expression and arrests cell cycle through RNA m (6)A modification. *J Biol Chem* 2020; 295: 5626-39.
- 2) Hamad N, Mashima T, Yamaoki Y, Kondo K, Yoneda R, Oyoshi T, Kurokawa R, Nagata T, Katahira M. RNA sequence and length contribute to RNA-induced conformational change of TLS/FUS. *Sci Rep* 2020; 10: 2629.
- 3) Hamad N, Watanabe H, Uchihashi T, Kurokawa R, Nagata T, Katahira M. Direct visualization of the conformational change of FUS/TLS upon binding to promoter-associated non-coding RNA. *Chem Commun (Camb)* 2020; 56: 9134-7.
- 4) Tsukamoto S, Kuratani M, Katagiri T. Functional characterization of a unique mutant of ALK2, p.K400E, that is associated with a skeletal disorder, diffuse idiopathic skeletal hyperostosis. *Bone* 2020; 137: 115410.
- 5) Matsuoka M, Tsukamoto S, Orihara Y, Kawamura R, Kuratani M, Haga N, Ikebuchi K, Katagiri T. Design of primers for direct sequencing of nine coding exons in the human ACVR1 gene. *Bone* 2020; 138: 115469.
- 6) Machiya A, Tsukamoto S, Ohte S, Kuratani M, Suda N, Katagiri T. Smad4-dependent transforming growth factor-beta family signaling regulates the differentiation of dental epithelial cells in adult mouse incisors. *Bone*

- 2020; 137: 115456.
- 7) Ohte S, Shiokawa T, Koyama N, Katagiri T, Imada C, Tomoda H. A new diketopiperazine-like inhibitor of bone morphogenetic protein-induced osteoblastic differentiation produced by marine-derived *Aspergillus* sp. BFM-0085. *J Antibiot (Tokyo)* 2020; 73: 554-8.
  - 8) Yamazaki H, Ohte S, Rotinsulu H, Wewengkang DS, Sumilat DA, Abdul DB, Maarisit W, Kapojos MM, Namikoshi M, Katagiri T, Tomoda H, Uchida R. Screening for Small Molecule Inhibitors of BMP-Induced Osteoblastic Differentiation from Indonesian Marine Invertebrates. *Mar Drugs* 2020; 18: 606.
  - 9) Yoneda R, Ueda N, Kurokawa R. m(6)A Modified Short RNA Fragments Inhibit Cytoplasmic TLS/FUS Aggregation Induced by Hyperosmotic Stress. *Int J Mol Sci* 2021; 22: 11014.
  - 10) Hamad N, Yoneda R, So M, Kurokawa R, Nagata T, Katahira M. Non-coding RNA suppresses FUS aggregation caused by mechanistic shear stress on pipetting in a sequence-dependent manner. *Sci Rep* 2021; 11: 9523.
  - 11) Uranishi K, Hirasaki M, Kitamura Y, Mizuno Y, Nishimoto M, Suzuki A, Okuda A. Two DNA binding domains of MGA act in combination to suppress ectopic activation of meiosis-related genes in mouse embryonic stem cells. *Stem Cells* 2021; 39: 1435-46.
  - 12) Kitamura Y, Uranishi K, Hirasaki M, Nishimoto M, Suzuki A, Okuda A. Identification of germ cell-specific *Mga* variant mRNA that promotes meiosis via impediment of a non-canonical PRC1. *Sci Rep* 2021; 11: 9737.
  - 13) Mochizuki K, Sharif J, Shirane K, Uranishi K, Bogutz AB, Janssen SM, Suzuki A, Okuda A, Koseki H, Lorincz MC. Repression of germline genes by PRC1.6 and SETDB1 in the early embryo precedes DNA methylation-mediated silencing. *Nat Commun* 2021; 12: 7020.
  - 14) Nakano T, Aochi H, Hirasaki M, Takenaka Y, Fujita K, Tamura M, Soma H, Kamezawa H, Koizumi T, Shibuya H, Inomata R, Okuda A, Murakoshi T, Shimada A, Inoue I. Effects of *Ppargamma1* deletion on late-stage murine embryogenesis and cells that undergo endocycle. *Dev Biol* 2021; 478: 222-35.
  - 15) Inoue H, Hirasaki M, Kogashiwa Y, Kuba K, Ebihara Y, Nakahira M, Sakai A, Okuda A, Sugasawa M. Predicting the radiosensitivity of HPV-negative oropharyngeal squamous cell carcinoma using miR-130b. *Acta Otolaryngol* 2021; 141: 640-5.
  - 16) Katagiri T, Tsukamoto S, Kuratani M. Accumulated Knowledge of Activin Receptor-Like Kinase 2 (ALK2)/Activin A Receptor, Type 1 (ACVR1) as a Target for Human Disorders. *Biomedicines* 2021; 9: 736.
  - 17) Kitamura Y, Suzuki A, Uranishi K, Nishimoto M, Mizuno S, Takahashi S, Okuda A. Alternative splicing for germ cell-specific *Mga* transcript can be eliminated without compromising mouse viability or fertility. *Dev Growth Differ* 2022; 64: 409-16.
  - 18) Jimi E, Katagiri T. Critical Roles of NF-kappaB Signaling Molecules in Bone Metabolism Revealed by Genetic Mutations in Osteopetrosis. *Int J Mol Sci* 2022; 23: 7995.