新規タンパク質性抗酸化剤の開発と疾患治療への応用
ストレス応答の分子基盤研究

姚　建

准教授　先端応用医学講座

KEYWORDS

- ストレス応答
- タンパク質抗酸化剤
- 細胞間情報伝達
- 腎臓の病態生理学

SEEDS

- ストレス応答解析技術
- 細胞間相互作用解析技術
- タンパク質抗酸化剤の製作
- 腎臓中心の動物モデルの製作及び解析技術

NEEDS

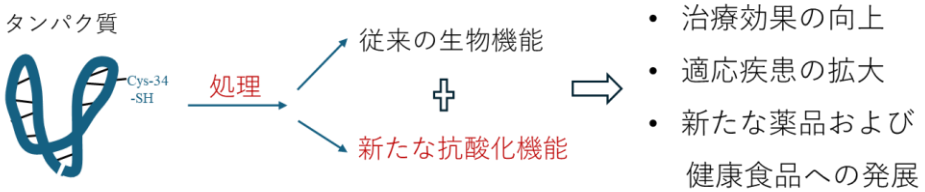
- タンパク質工学技術
- 抗酸化タンパク質の応用展開

医学域

山梨大学 UNIVERSITY OF YAMANASHI

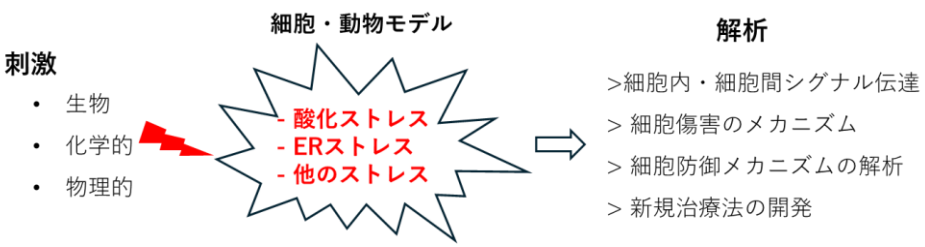
テーマ①：新規タンパク質性抗酸化剤の開発と疾患治療への応用

私たちの研究室では、革新的なタンパク質性抗酸化剤の開発とその治療応用に関する研究を推進しています。生体内における酸化ストレスは、がん、神経変性疾患、心血管疾患など、現代社会で問題となっている多くの疾患の発症・進行のトリガーとなることが明らかになっています。従来の低分子抗酸化剤は、生体内での安定性や組織特異性が低く、十分な治療効果が得られないという課題を抱えていました。この問題を解決するため、私たちはタンパク質工学的手法を駆使し、高機能な新規タンパク質性抗酸化剤の開発に取り組んでいます。現在、構造生物学的アプローチによる抗酸化タンパク質の構造最適化を進めながら、様々な疾患モデルを用いた治療効果の検証を行っています。本研究の成果は、酸化ストレス関連疾患に対する画期的な治療戦略の確立に貢献することが期待されます。



テーマ②：ストレス応答の分子基盤研究

当研究室のもう一つの主要テーマとして、生体のストレス応答システムの分子メカニズム解明に取り組んでいます。生物は、温度変化、紫外線、酸化ストレス、物理的刺激など、様々な環境ストレスに常時さらされており、それらに対応するため精緻な防御機構を進化させてきました。本研究では特に、細胞間コミュニケーションに着目し、ストレス応答における細胞間相互作用の役割を探求しています。具体的には、ギャップ結合を介した細胞間シグナル伝達に注目し、ストレスセンサータンパク質による初期認識から、シグナル伝達カスケード、防御関連遺伝子の発現制御に至る一連の分子機構を、最新の分子細胞生物学的手法を用いて解析しています。この研究から得られる知見は、ストレス関連疾患の新規治療法開発への道を開くとともに、生命システムの環境適応メカニズムの理解を深めることに貢献するものと考えています。



岩野　智彦

山梨大学大学院総合研究部医学域附属
統合オミクス研究センター
Center for integrative omics analysis

講師　先端応用医学講座

統合オミクス研究センター長として、質量分析法を中心としたがん診断研究開発および受託分析を推進。

KEYWORDS

- 質量分析
- がん診断
- メタボローム
- オミクス解析

SEEDS

- 質量分析
- PESI-MS
- LC-MS
- 分子生物学実験全般
- 細胞生物学実験全般
- エレクトロポレーション
- 細胞
- 実験動物
- データ解析
- 機械学習

NEEDS

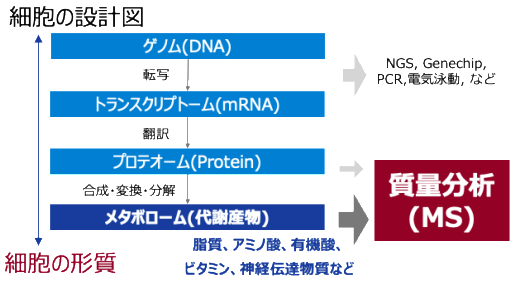
- 質量分析
- 遺伝子解析
- オミクスデータ解析

医学域

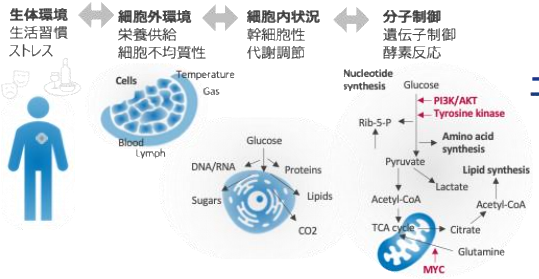
山梨大学 UNIVERSITY OF YAMANASHI

生命現象の包括的理解を目指したオミクス解析

オミクス解析は、ゲノム、プロテオーム、メタボロームなどの包括的データを用いて生命現象を体系的に解明するための手法です。本研究は、これらのマルチオミクスデータを統合し、細胞や組織レベルでの分子メカニズムを詳細に解析することで、健康と疾患の根本的な理解を深め、新たなバイオマーカーや治療ターゲットの発見に貢献することを目指します。



がんにおける代謝変化を質量分析法で解析する



異常増殖

エネルギー要求

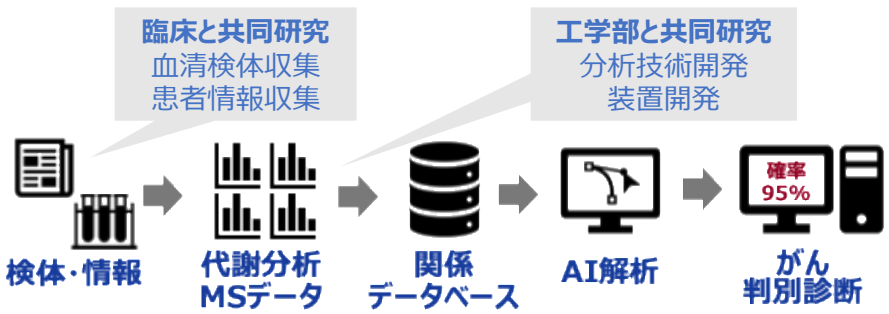
低酸素

飢餓状態

特殊な代謝

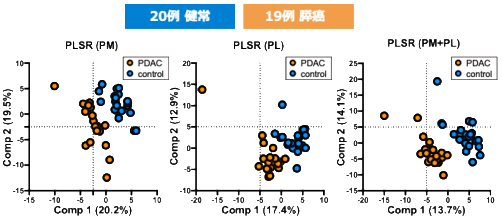
がん細胞では代謝経路の大きな変化が起こっている
↓
代謝産物の変化を指標にがんの判別を行う

質量分析データを利用したがん診断法の開発研究

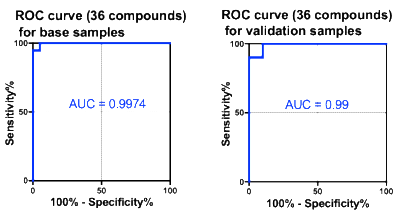


膵癌診断研究の成果

膵癌検体の代謝プロファイルは健常と異なる



機械学習(SVM)による高い判別精度

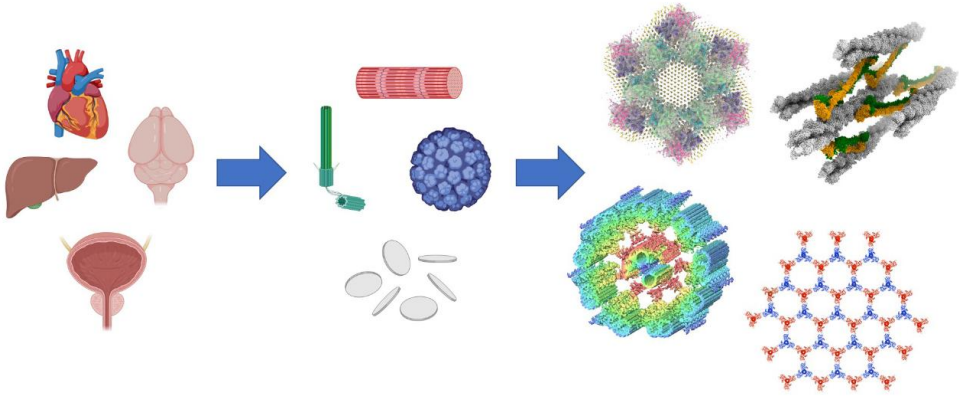


J. cancer, 2021; 12(24): 7477- 7487

小田　賢幸

教授　構造生物学講座

クライオ電子顕微鏡(cryo-EM)は、サンプルを極低温(クライオジェニック)環境下で観察する電子顕微鏡です。これにより、生体分子をその自然な状態で保存しながら、非常に高い解像度で観察することができます。従来の方法では難しかった生体分子の三次元構造を詳細に解析できるため、近年、生命科学の分野で広く利用されています。この研究テーマの核心にあるのは、「クライオ電子組織学(cryo-electron histology)」と名付けた最先端のアプローチです。クライオ電子顕微鏡を用いて、心臓や皮膚、膀胱など特定の組織に固有のタンパク質複合体や細胞小器官の複雑な構造を明らかにすることに焦点を当てています。この手法により、解剖学と構造生物学の融合を図り、生体内の微細な構造の詳細な理解を目指しています。



KEYWORDS

- 構造生物学
- 細胞生物学
- クライオ電子顕微鏡
- cilia and flagella

SEEDS

- クライオ電子顕微鏡によるタンパク質の凍結
- 撮影
- 構造解析

NEEDS

- まだ構造解析されていない疾患関連タンパク質の情報

医学域

山梨大学 UNIVERSITY OF YAMANASHI

真核鞭毛の運動機構、構築機構を解明する

久保　智広

講師　構造生物学講座

KEYWORDS

- 鞭毛・繊毛
- 軸糸ダイニン
- クラミドモナス
- 翻訳後修飾
- ポリグルタミン酸化
- ポリグリシル化
- アセチル化
- 鞭毛内輸送系

SEEDS

細胞生物学的手法を主軸として、クラミドモナスの培養、交配、遺伝解析を用いた基礎的な研究から、ゲノム編集、蛋白質精製、電子顕微鏡観察、間接蛍光抗体法、鞭毛運動の解析まで、多様な技術を駆使し、鞭毛の分子機構に迫ります。

NEEDS

鞭毛の運動機構や形成プロセスを深く理解するために、以下の技術や他分野との連携を希望しています。

1. **高解像度イメージング技術**：鞭毛や細胞内の微小な構造をリアルタイムで可視化するため、超解像度顕微鏡やライブセルイメージング技術に精通した研究者や施設との連携を希望します。
2. **プロテオミクス・メタボロミクス解析**：鞭毛内での蛋白質や代謝産物の動態を解析するため、プロテオミクスやメタボロミクスの分野での連携を希望しています。例えば、鞭毛の構成成分や修飾状態を網羅的に解析する技術を希望します。

■ 研究テーマ

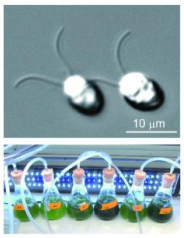
私たちは、2本の鞭毛を持つ単細胞緑藻類クラミドモナスを用い、真核生物の鞭毛（繊毛と同義）の運動や形成に関する分子メカニズムの解明を目指しています。真核生物の鞭毛（繊毛）は細胞の移動や物質輸送に不可欠であり、その異常は繊毛病などの疾患と関わっています。私たちの研究では特に以下のテーマに焦点を当てています：

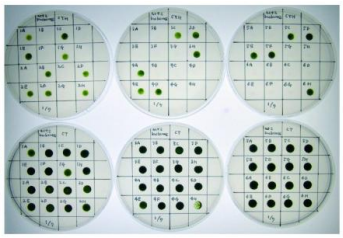
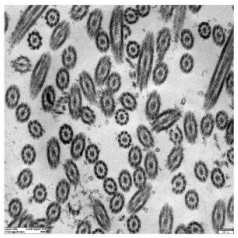
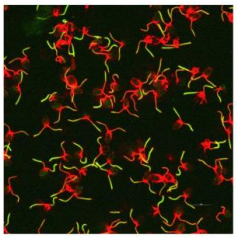
1.チューブリン翻訳後修飾が鞭毛の運動機構に与える影響：鞭毛内部の微小管は運動の調整に重要な役割を果たしており、微小管構成蛋白であるチューブリンの翻訳後修飾が運動に与える影響を詳細に調査しています。
2.鞭毛内での蛋白質合成系の解明：鞭毛がどのようにして自身の構成要素を合成し、維持しているのかを明らかにするため、鞭毛内での蛋白質合成に着目した研究を行っています。
3.鞭毛構築に異常を持つクラミドモナス変異株の単離と解析：鞭毛の形成過程やその異常が引き起こす機能障害を理解するため、変異株の作製とその詳細な解析を行っています。

■ 研究業績

当該研究テーマに関連して当研究室で得られた主要な研究成果です：

[1] **Tomohiro Kubo**, Rinka Sasaki, and Toshiyuki Oda. (2024). Tubulin glycylation controls ciliary motility through modulation of outer-arm dyneins. *Molecular Biology of the Cell.* 35, ar90.
[2] **Tomohiro Kubo,** Yuma Tani, Haru-Aki Yanagisawa, Masahide Kikkawa, and Toshiyuki Oda. (2023). α- and β-tubulin C-terminal tails with distinct modifications are crucial for ciliary motility and assembly. *Journal of Cell Science.* Jcs.261070.
[3] Yuqing Hou, Lei Zhao, **Tomohiro Kubo**, Xi Cheng, Nathan McNeill, Toshiyuki Oda*, and George Witman. (2021). *Chlamydomonas* FAP70 is a component of the previously uncharacterized ciliary central apparatus projection C2a. *Journal of Cell Science.* jcs258540.
[4] Julie Craft Van De Weghe, J. Aaron Harris, **Tomohiro Kubo**, George B. Witman, Karl F. Lechtreck. (2020). Diffusion rather than IFT likely provides most of the tubulin required for axonemal assembly. *Journal of Cell Science.* 133. jcs.249805.
[5] Tyler Picariello, Yuqing Hou, **Tomohiro Kubo,** Nathan A. McNeill, Haru-aki Yanagisawa, Toshiyuki Oda, George B. Witman. (2020). TIM, a targeted insertional mutagenesis method utilizing CRISPR/Cas9 in *Chlamydomonas reinhardtii*. *PLOS ONE.* https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232594.
[6] **Tomohiro Kubo** and Toshiyuki Oda. (2018). Microscopy. *Chlamydomonas* as a tool to study tubulin polyglutamylation. (Review).
[7] Noritoshi Shamoto, Keishi Narita, **Tomohiro Kubo,** Toshiyuki Oda, and Sen Takeda. (2018). CFAP70 is a Novel Axoneme-Binding Protein that Localizes at the Base of the Outer Dynein Arm and Regulates Ciliary Motility. *Cells.* (pii: E124).
[8] **Tomohiro Kubo**, Yuqing Hou, Deborah Cochran, George B. Witman, and Toshiyuki Oda. (2018). A microtubule-dynein tethering complex regulates the axonemal inner dynein f (I1). *Molecular Biology of the Cell.* 29, 1060-1074.
[9] **Tomohiro Kubo** and Toshiyuki Oda. (2017). Electrostatic interaction between polyglutamylated tubulin and the nexin-dynein regulatory complex regulates flagellar motility. *Molecular Biology of the Cell.* 28; 2260-2266. **(Recommended paper as being of special significance in its field from the F1000 Faculty)**.
[10] Yuya Nishijima, Yohei Hagiya, **Tomohiro Kubo**, Ryota Takei, Yohei Katoh and Kazuhisa Nakayama*. (2017). RABL2 interacts with the IFT-B complex and CEP19, and participates in ciliary assembly. *Molecular Biology of the Cell.* 28; 1652-1666.



脳神経活動から個体差が生じる機構を解明する

髙橋　光規

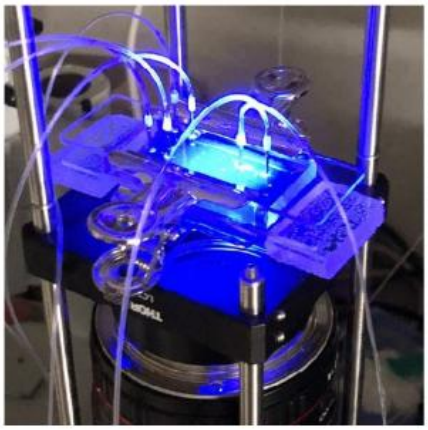
助教　構造生物学講座（神経科学）

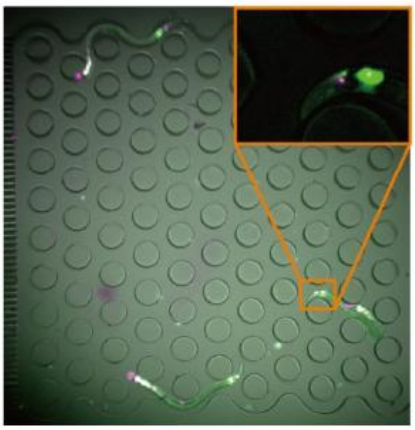
KEYWORDS

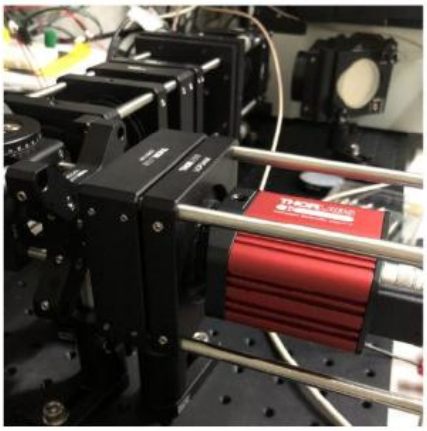
- 線虫
- ライトフィールド顕微鏡

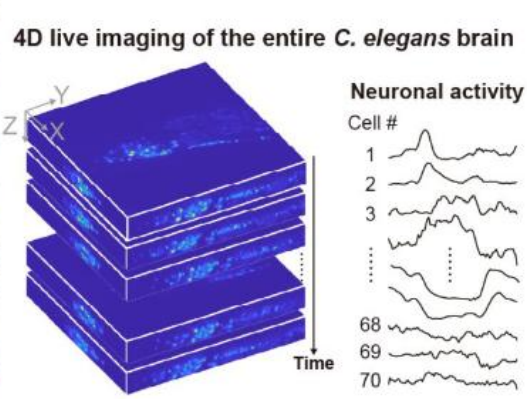
私たちヒトを含め動物は、同じ感覚刺激に対して個体ごとにさまざまな応答をします。このような個体差は、神経系の情報処理のノイズにすぎないのか、それとも多様性を確保するための神経機能なのか、明確には答えが出ていません。自閉スペクトラム症では、個体差が非常に大きくなっており、疾患の観点からも個体差の機構解明は重要な課題です。本研究室では、体長 1 mmの小さな線虫Caenorhabditis elegans（C. elegans）をモデル生物として、個体差の神経機構解明を目指しています。約300個の神経細胞からなるコンパクトな脳モデルで、以下のような実験技術を駆使して研究を進めています。

3次元観察顕微鏡による全脳イメージング / ハイスループット神経イメージング / コンストラクト作製などの分子生物学 / 神経活動データの数理解析 / 機械学習による解析 / 様々な画像解析手法 / プログラミングによるオリジナルツール開発 / 電子顕微鏡によるシナプス観察など









医学域

山梨大学 UNIVERSITY OF YAMANASHI

KEYWORDS

- 解剖学
- 電子顕微鏡
- 平板動物

医学域

不思議な海産動物 平板動物の多様性を探求する

塙　宗継

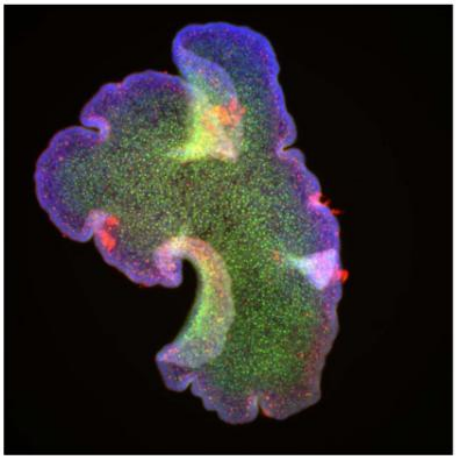
助教　構造生物学講座

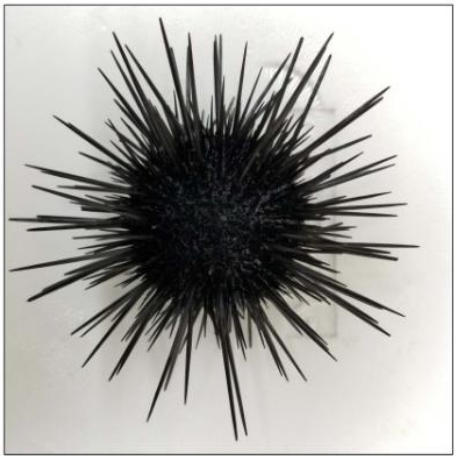
平板動物（Placozoan）は多細胞動物のなかでも比較的初期に分岐した動物であり、筋肉も神経も循環器もない単純な体構造を有しています。しかし、そのような単純な動物であるにも関わらず、性成熟して卵や卵黄を体内に形成したり（ただし、研究室内の飼育系では個体発生まで至らない）、個体間でキメラ化したり、平板動物には未解明かつ魅力的な現象が多く存在しています。また、平板動物は無色透明であるためフィールドで直接観察することも難しく、自然界での生態もほとんどわかっていません。本研究室では、そのような謎だらけの平板動物の生態を明らかとするために、研究室内で飼育している個体を用いた実験とフィールドワークによる調査を実施しています。

上述の平板動物に関する研究以外にも、海なし県である山梨県における海洋生物を用いた海洋教育活動や静岡市用宗海岸をフィールドとしたムラサキウニの生態調査や廃棄野菜を用いたウニの養殖研究（ピックルスコーポレーション、静岡県立焼津水産高等学校との共同研究）も実施しています。

本研究室では、主に以下のような実験手法により研究を進めています。

動物分類 / 組織標本作製 / 分子マーカーによるハプロタイプ解析 / 間接蛍光抗体法 / Whole-mount in situ hybridization / 電子顕微鏡法（SEM/TEM） / 加圧凍結 / RNA-seq / 二次元行動解析 / 平板動物のキメラ誘導





平板動物の遺伝的多様性に関する研究

宮澤　秀幸

研究助教　構造生物学講座

海産無脊椎動物の一つである平板動物は、海綿、有櫛動物と同じ後生動物（多細胞動物）の基部系統の一つです。世界中の温暖な海から報告があり、日本からも見つかっています。過去の研究で、私は日本各地で平板動物の採集に成功し、これらが遺伝的多様性を持つことを明らかにしましたが、採集できた地域はまだまだ限られています。また、これまでに平板動物のミトコンドリアゲノムはそのサイズや構造に多様性があることが確認されていますが、地域性があるのかなど分かっていないことが多くあります。これらの研究を進めています。

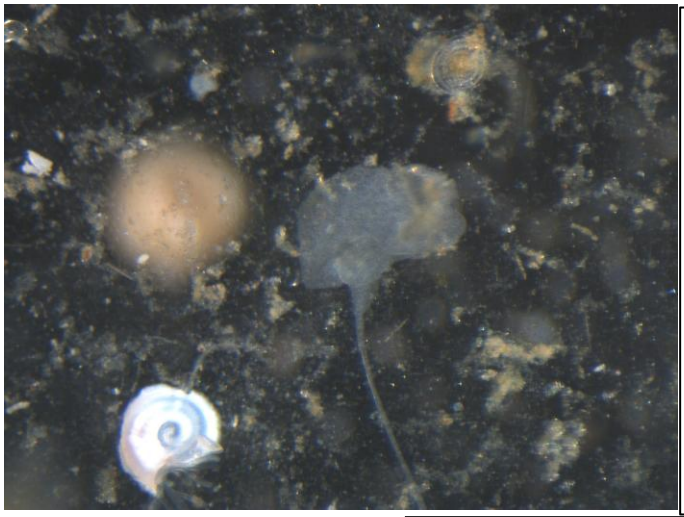
また、これまでにバイオインフォマティクス分野に関する研究に従事した経験を活かし、研究に役立つ新しいソフトウェアの開発も進めています。

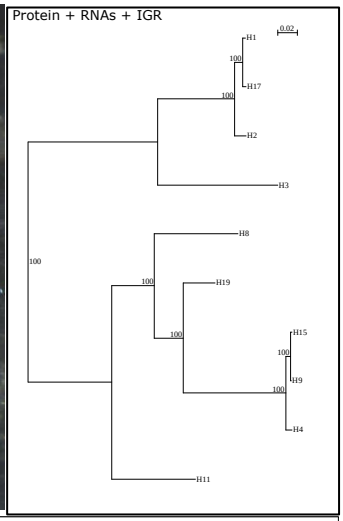
本研究室では、以下のような技術を用いて研究を進めています。

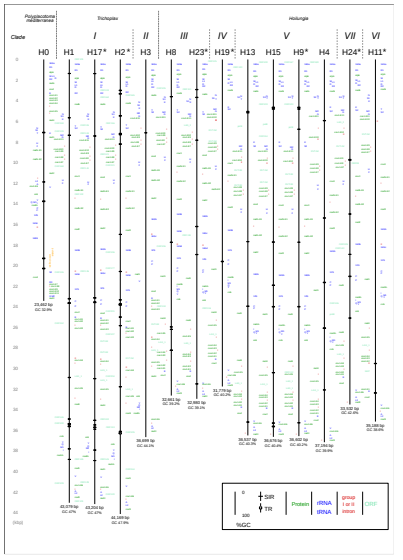
平板動物の採集／PCR／系統解析／バイオインフォマティクス（de novoゲノム解析、RNA-Seqなど）／プログラミング（Perl、C++、R）

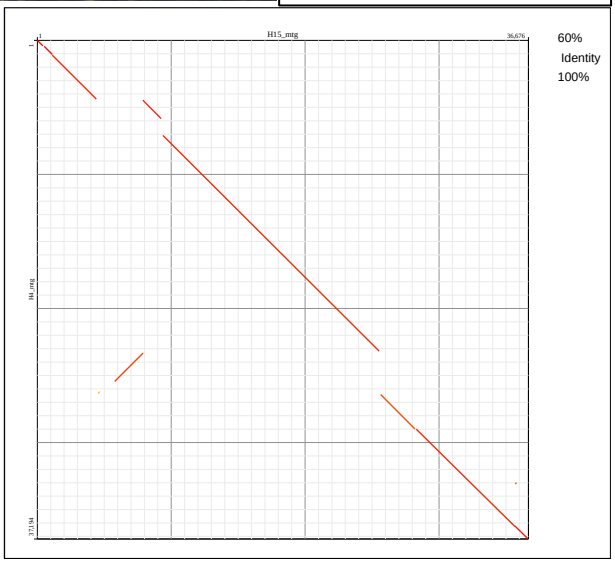
KEYWORDS

- 遺伝的多様性
- バイオインフォマティクス
- 平板動物









医学域

山梨大学
UNIVERSITY OF YAMANASHI

篠原　良章

教授　解剖学講座システム生物学
（神経生理学・神経解剖学）

KEYWORDS

- 脳の左右差

SEEDS

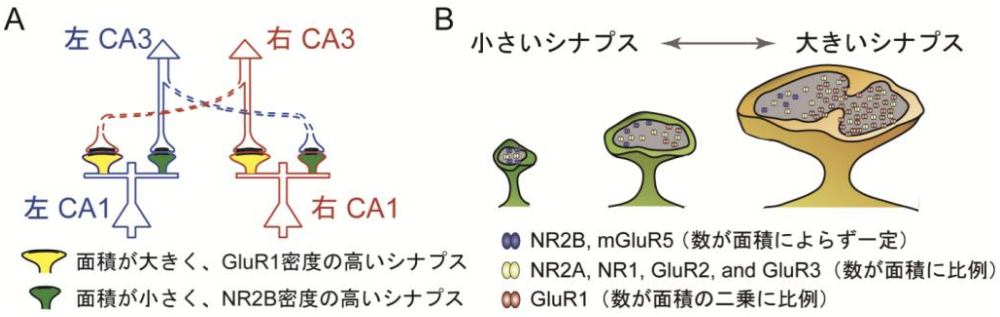
- 生化学
- invivo電気生理学
- 電子顕微鏡観察

NEEDS

- in vivoカルシウムイメージング

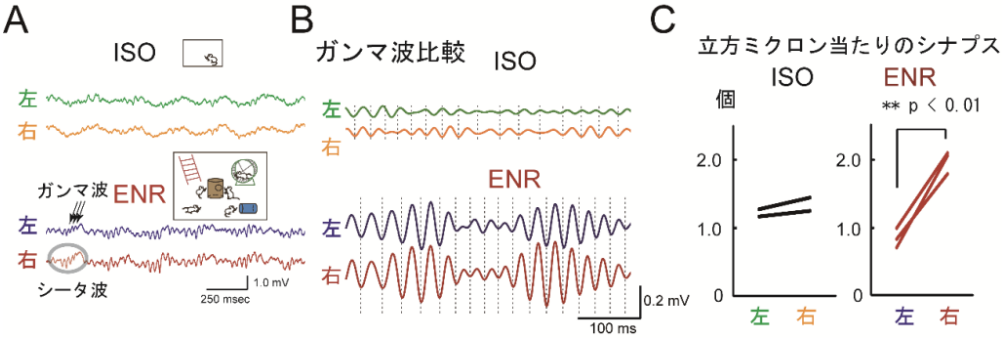
1. 海馬神経回路の左右差

脳の左右差は有名ですが、齧歯類で脳の明確な左右差が報告されたのは、我々の論文が初めてです（Kawakami et al., Science (2003)）。
齧歯類では海馬のCA3-CA1投射が下図のAのように左右で繋がっていますが、マウスの実験で我々はCA3-CA1のシナプスの性質はシナプスが左右どちらから投射を受けているかによって決定されていることを報告しました（Shinohara et al., PNAS (2008)）。
なお、生化学と電子顕微鏡観察を合わせると、シナプスの面積とグルタミン酸受容体の間には法則性があることも分かりました（B）。
そして、この回路の左右非対称性は発生時にプログラムされていることも分かっています。



2. 海馬脳機能の左右差

ラットの左右の海馬から脳波を測定し、機能に左右差があるかどうか観測しました。ラットを隔離環境（ISO）で飼育した群と、豊かな環境（ENR）で飼育した群に分け、左右の海馬からγ波を測定しました（下図A）。すると、豊かな環境ではγ波の振幅が大きくなりましたが、右側の方が左側より振幅がさらに増大しました。また、左右γ波の同調性も上がりました（下図B）。
そして、ENR群のラットCA1シナプスは、右側では左側よりシナプスの数が増えることも分かりました（下図C; Shinohara et al., Nat Commun (2013)）。



3. 海馬と大脳皮質の協調活動

マウスの海馬から脳波を測定すると同時に、大脳皮質全体のカルシウムイメージングを行ない、海馬-皮質間の協調活動についての研究を行いました。この2領域の協調した活動は海馬から大脳皮質への記憶の転送メカニズムに重要であると考えられています。
すると、ISO飼育したマウスの方がENR飼育をしたマウスより、脳が除波睡眠中であっても、シータ活動中であっても、海馬-皮質強調活動が顕著に見られることが分かりました。また、海馬リップル活動は除波睡眠中も覚醒中でも観測されますが、それと同時に観測される大脳皮質の活動はこれら2つの状態で異なっていることが分かりました（Shinohara el. al., J Neurosci (2025)）。

医学域

山梨大学 UNIVERSITY OF YAMANASHI

ブタを用いたライフスパン生理学プラットフォームの創設
記憶と忘却の大脳生理学

高垣　堅太郎

学部内准教授　解剖学講座システム生物学
（大動物実験医学・大脳行動生理学）

KEYWORDS

- ブタ学
- 哺乳類成長学（auxology）
- 実験動物学・先端畜産学
- 脳機能発生／老化
- 記憶／忘却
- 睡眠
- ストレス

SEEDS

- 大動物実験動物学
- 齧歯類・ブタ・サル実験獣医学
- Neurooptics
  - Voltage/Calcium Imaging
  - Intrinsic Imaging
- Massively Multiparallel長期記録
- ヒト脳波・動物脳波／ECoG
- 大脳皮質依存性行動実験
- 非線形バイオ信号解析
- パラレル解析アルゴリズム

NEEDS

- 先端放射線イメージング技術
- 高磁場MRI・トラクトトレーシング
- 大動物脳組織学・顕微鏡タイリング撮影・画像解析
- AIによる非線形解析・マルチスケールパタン検出

1. ブタ学、実験動物学・先端畜産学

黎明期のの哺乳類脳生理学は、イヌ・ネコ・サルなどといった動物種を中心として、**哺乳動物の成獣や大動物の成熟した神経回路の記録**が中心であった。

ところが、ここ30年勃興した齧歯類脳生理学は、幼獣期を中心に実験のために特別に繁殖された個体を利用してきた。また**齧歯類の大脳皮質は解剖学的にもその役割も、大動物とは本質的に異なり**、例えば大動物では昏睡状態となるような除脳標本でも、齧歯類はほぼ正常な行動をみることも示した。

近年、ヒトへの適用ができる、大動物脳実験の再興が望まれる一方、動物愛護などの発展やサル繁殖コストの高騰により、橋渡し脳神経生理学で新たなモデルが望まれている。

ブタはヒトと1万年近い共進化を遂げ、本来、ヒトに食されるために存在する亜種である。この特殊な事情を活かし、ブタとヒトとの新たな共生を提唱しながら、サステナブルでなるべく侵襲性の低い、ヒトの臨床試験に類する枠組みでの大動物長期実験パイプラインを創成している。高垣の農学（学士）、医学（MD）、脳神経生理学・行動生理学（PhD）、畜産学、産学研究の経験を活かし、農医工連携のあらたな大動物モデル・ライフスパン生理学モデル・慢性病モデルとしてゆきたい。

協力：JTEKT（株）、富士マイクラ（株）、（株）クリノ、Ruten Inc.、国立生理学研究所、徳島大学附属農場、東京科学大学、東京都立大学など

2. 記憶と忘却の生理学・Massively Multiparallel長期記録

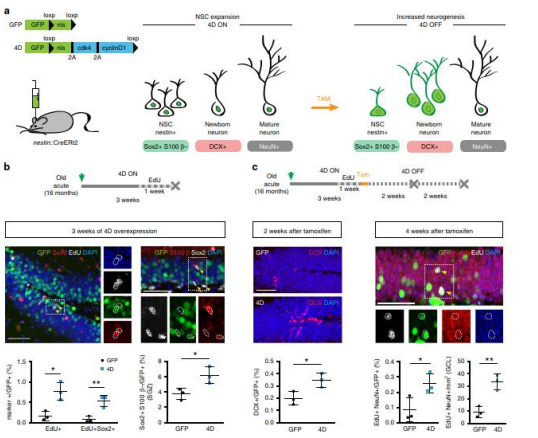
特許技術である超低インピーダンス電極や、大脳皮質依存性動物行動タスクなどを活用し、最終的には**ブタで記憶と忘却の長期熱力学的活動パターンの変遷を解明する。**

先行研究のラット、砂ネズミを用いた大脳皮質行動生理学では、**聴覚野のマルチパラレル発火パターンや脳機能欠損学（neuropsychology）**の面で、単純音と複雑音では記憶メカニズム（エンコーディング）が大きく異なることを示した。またこうした発火パターンと集合電位（脳波、膜電位色素信号）の連関についても解明してきた。こうしたパターンはまた、tDC刺激などにも敏感に反応して活性化することが分かった。

3. 老化脳の活性化

脳細胞新生は齧歯類では盛んで、それを**遺伝治療により惹起することで、齧歯類老化脳の活性化が可能であることを示した。**生理学的にも、行動学的にも、老化脳の若返りを達成している。

この知見を、よりヒトへの敷衍性の高い老化ブタに橋渡しすることが中期目標であり、ブタ実験を行うと齧歯類では不可能なヒト様睡眠の脳活性化効果や長期社会行動、成長・老化、生理学的病態モデル（たとえば睡眠不足による精神疾患状態）での、脳再活性化の研究が可能となる。活性化の神経生理学を詳細に検討することにより、新たな老化脳活性化治療開発のプラットフォームを創設する。



吉﨑　嘉一

特任助教　解剖学講座システム生物学
（神経行動学・神経解剖学・動物心理学）

KEYWORDS

- 自閉スペクトラム症
- 父親の高齢化
- 社会的促進

SEEDS

- 行動解析
- 血管結紮・狭窄手術（全脳虚血）
- 生殖工学・ゲノム編集

NEEDS

- 栄養学
- 食品科学

1. 父親の高齢化による自閉スペクトラム症の超世代分子病態メカニズムの解明

自閉スペクトラム症Autism spectrum disorder (ASD)は持続的な社会性の欠如、行動および興味の限局等を中核症状とする発達障害の1つです。アメリカ疾病予防管理センターの調査によると、近年ASDの患者数が増加傾向にあることが報告されています（2018年時点で約59人に1人）[Baio et al, 2018]。その背景にある生物学的要因として、私たちを取り巻く社会環境の変化に伴う晩婚化および出産年齢の高齢化が指摘されています[Weintraub, 2011; Modabbernia et al, 2017]。

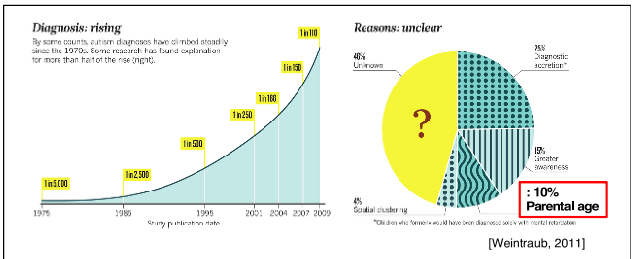


図1. 自閉スペクトラム症の患者数は増加傾向の背景に両親の高齢化が指摘されている.

これまでにいくつか研究グループが、齧歯類を対象として高齢の父親マウス由来の仔マウスが様々な行動変容を示すことを報告しています。私たちもまた、高齢の父親マウス由来の仔マウスにおいて、母子間コミュニケーションツールの1つである超音波発声の頻度の低下およびシラブルパターン変容等の行動変容を見出しています。さらにその超世代メカニズムを解明するために加齢精子のDNAメチローム解析を実施したところ、DNA低メチル化領域が増加していることを見出しました。仔マウスの行動変容との関連性について検証するために、DNAメチル化阻害剤を投与した若齢の父親マウスに由来する仔マウスの行動解析を実施しました。その結果、高齢の父親マウス由来の仔マウスと類似した行動変容を示すことを見出しました。また、胎児脳のRNA-seq解析を実施したところ、父親マウス由来の胎児脳では、神経分化制御因子REST/NRSFを中核分子とした神経発生異常を発見しました[Yoshizaki et al, 2021a]（図2）。この研究成果は、父親の加齢による次世代個体の神経発生への影響を遺伝子レベルで解明した初めての報告であり、神経発達障害の新たな分子病態基盤の解明に貢献することが期待されます。

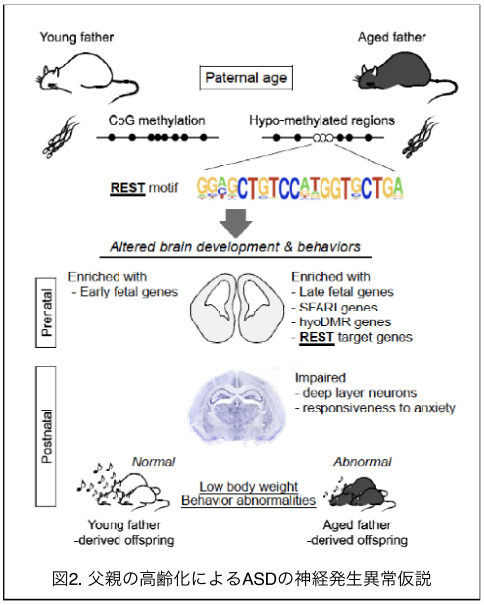


図2. 父親の高齢化によるASDの神経発生異常仮説

【参考文献】Yoshizaki K et al, Paternal age affects offspring via an epigenetic mechanism involving REST/NRSF. EMBO Rep, 2021; 22(2) e51524.

2. 社会的促進からみた自閉スペクトラム症の病態メカニズムの解明

社会的促進は他者の存在により仕事や課題の成績が高まる心理学現象です[Bond and Titus, 1983; Herman, 2017]。近年、『こころの理論（Theory of Mind）』に関する認知課題において、健常男児が社会的促進を示したのに対してASD男児ではその効果を示さないことが報告されました[Chevallier et al, 2014]。私たちはこれまでに、通常の飼育ケージをステンレス製のセパレータで2区分し、その一方に回転カゴを設置して磁気センサーにより回転数を自動計測可能な特殊飼育ケージを開発しました。高い社会性行動を示すマウスでは、単独飼育と比較して、観察マウスの存在により自発運動量が有意に増加する一方で、社会性行動の乏しいマウスでは観察マウスの効果は観察されませんでした[Yoshizaki et al, 2021b]（図3）。この研究成果から、社会的促進がASDの病態解明の新たなアプローチになることが期待されます。

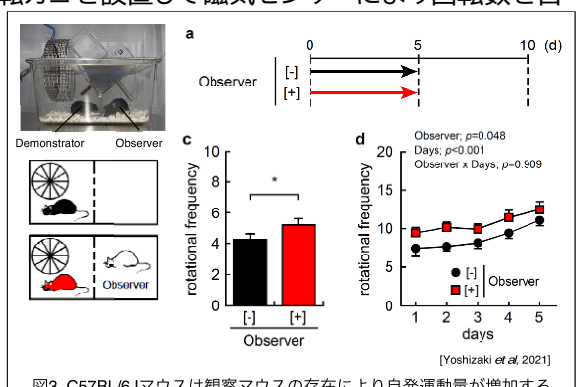


図3. C57BL/6Jマウスは観察マウスの存在により自発運動量が増加する

【参考文献】Yoshizaki K et al, Impaired social facilitation on voluntary exercise of BALB/cCrSlc mice, a proposed as an autism spectrum disorder model. Neurosci Res, 2021, 163: 63-67.

柔軟な判断の研究・予測機能の研究

宇賀　貴紀

教授　生理学講座統合生理学　（神経生理学）

KEYWORDS

- 視覚
- 聴覚
- 意思決定
- 予測
- 予測誤差

SEEDS

- 覚醒サルにおける神経細胞外記録
- 脳波（EEG）
- 皮質脳波（ECoG）

NEEDS

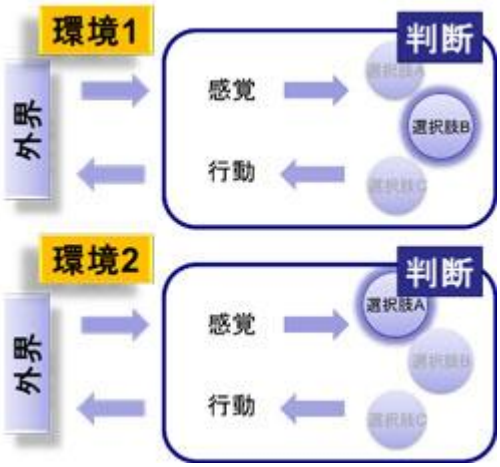
- 神経回路の計算論的モデル

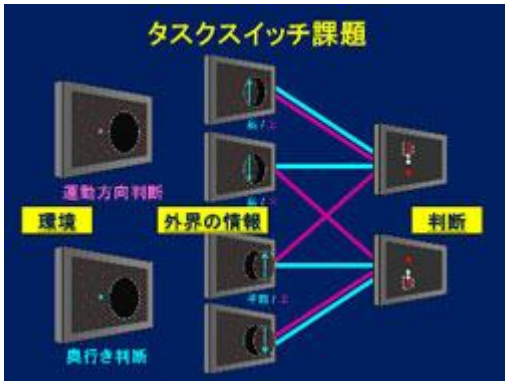
医学域

1）柔軟な判断の研究

ヒトはどのようにして柔軟に判断をし、多様な選択を行うことができるのでしょうか。ヒトは、同じ感覚入力に対して、取り得る行動の選択肢が多数存在する場合、状況に適した選択肢をひとつだけ選びます。このように、複数の選択肢を一つに絞る推論のプロセスを私たちは判断と呼んでいます。判断は画一的なものではなく、環境によって変化します。こうした柔軟な判断を、ヒトは当たり前のようにしますが、その神経機構を理解することは簡単ではありません。

本プロジェクトでは、2つのルールに基づき、判断の内容を柔軟に切り替えるタスクスイッチ課題を用い、柔軟な判断の神経基盤に迫ります。ヒトの心理物理学では、柔軟な判断の多様なプロセスを明らかにします。霊長類を用いた研究では、電気生理学的手法に最新の光遺伝学や化学遺伝学的手法を組み合わせ、柔軟な判断に関連する神経活動とマクロ神経ネットワークを明らかにします。げっ歯類を用いた研究では、判断に関わる神経細胞を同定し、判断の計算に関わる局所神経回路や分子の情報を取得します。さらに、これらのデータを統一的に説明できる、柔軟な判断の神経回路モデルを構築します。



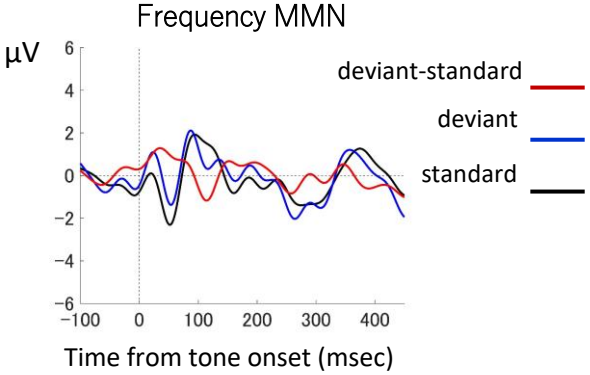


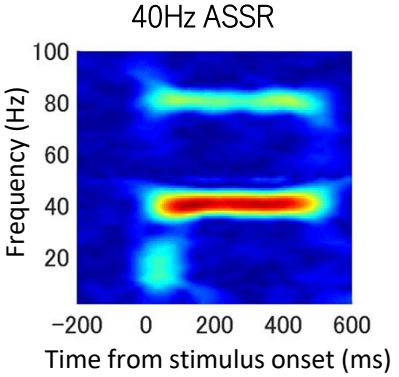
2）予測機能の研究

精神神経疾患の病態をシステム神経科学レベルで理解することを目指します。精神神経疾患研究の多くは、げっ歯類で、遺伝子・分子病態の理解を目指して進められています。本プロジェクトでは、脳の構造と機能がヒトに近い霊長類を用いた研究を推進します。

精神神経疾患と関連することが知られている聴覚関連電位を、皮質脳波法（ECoG）を用いて計測します。聴覚関連情報がどのように変化し、神経ネットワークがどのように障害されるのかなどを、薬理学的疾患モデルを中心に調べていきます。

さらに、予測と感覚入力とを比較する際の神経回路を同定する研究を行います。これまで聴覚予測機能に重要だと考えられてきたきた外側大脳皮質に加え、内側大脳皮質を対象とすることで、予測の信頼性に依存した予測と感覚のバランスの神経メカニズムを明らかにします。





山梨大学 UNIVERSITY OF YAMANASHI

ラットを用いた知覚意思決定における神経活動イメージングに関する研

石田　真帆

助教　生理学講座統合生理学　（神経科学）

知覚意思決定では、知覚（入力）情報が脳内で蓄積され、閾値に到達すると決定（出力）するという特徴的な情報蓄積システムの存在が示唆されている（図1）。そのシステムの実体解明に向け、本研究は、ラットに知覚意思決定課題を訓練し、頭部固定して神経活動を全脳で可視化する実験系を構築しようとしている（図2）。左右から発せられるクリック音（入力）のうち、多い方を意思決定し、前肢の動きによりペダルを上げて反応する（出力）ようにラットを訓練している（図3-6）。情報蓄積システムの存在を行動学的、電気生理学的に検証し、入力から出力までの一連の脳内神経活動をカルシウムイメージングにより全脳スケールで可視化し、情報蓄積システムと聴覚野、運動野との連携を時間的・空間的に解析、そのネットワークを明らかにしたいと考えている。知覚意思決定の情報蓄積システムをマクロ的に解析する本実験系は、神経細胞レベルのミクロ的な解析にも応用可能であり、システムの包括的な理解に繋げられると期待される。

KEYWORDS

- 意思決定
- ラット
- カルシウムイメージング

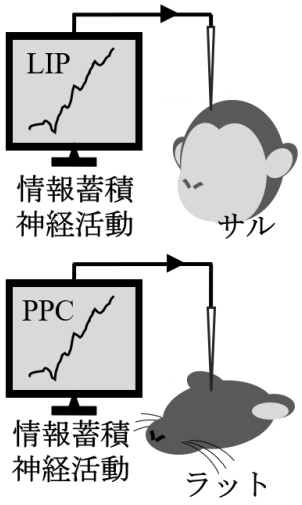
SEEDS

- ラット知覚意思決定課題訓練

NEEDS

- ラット脳を用いたカルシウムイメージング

図 1



電気生理学的解析

図 2

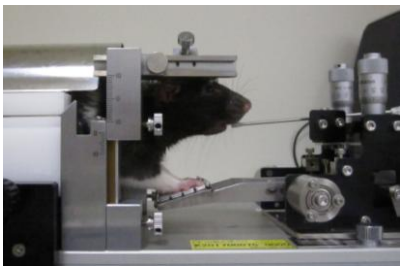


図 3

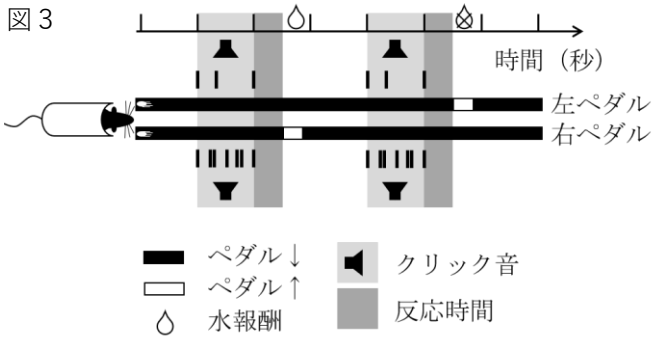


図 4

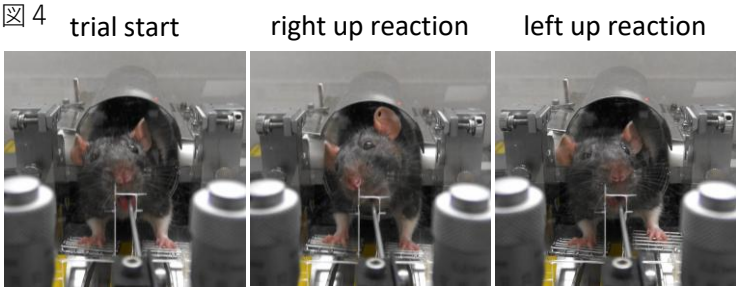
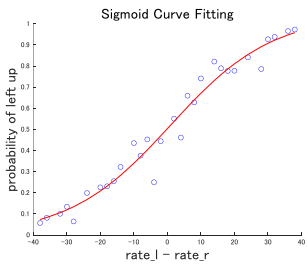
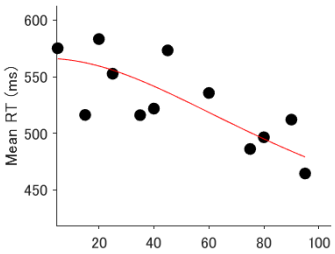


図 5　心理物理曲線



易 ← 難 → 易

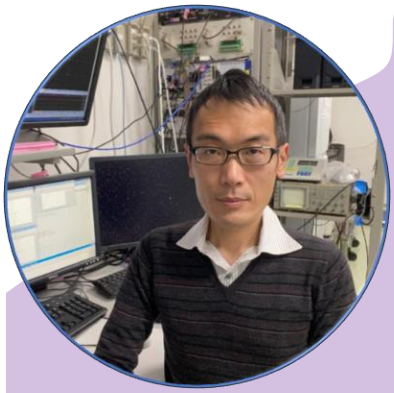
図 6　反応時間



難 → 易

医学域

山梨大学 UNIVERSITY OF YAMANASHI



熊野　弘紀

助教　生理学講座統合生理学　（神経科学）

KEYWORDS

- 運動視
- 意思決定

SEEDS

- 覚醒サルを用いた神経生理学実験
- 心理物理学実験および行動成績の定量化

NEEDS

- 多層人工神経回路の実装･訓練

視知覚および知覚判断の神経メカニズムを明らかにするために、サルを用いた神経生理学的実験、ヒトを対象とした心理物理学的実験を行っている。

(1) 大脳皮質視覚野の情報表現に関する研究

運動視に必須の大脳皮質のMT野のニューロンが外界の動きをどのように表現しているかを調べている。

運動視には「窓枠問題」という問題が存在する。運動する物体を小さい窓枠(図1の円)を通して見ると、窓枠から見える物体の輪郭線に直交する方向の動き(左上方向)しか見えず、物体の真の運動方向(上方向)は分からない。運動検出のための情報処理が始まる一次視覚野V1野のニューロンは受容野が小さいため、脳はこの窓枠問題を解いて物体の正しい運動を検出しなければならない。

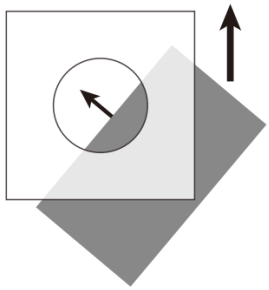


図1: 運動視の窓枠問題。運動する物体を小さな窓から見ると、物体の真の運動方向は分からない。

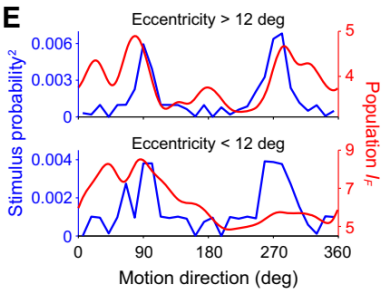


図2: 歩行に伴うオプティックフローの運動方向は垂直に偏る(青線)。周辺視のMT野細胞はこの偏りを効率的に符号化していた(赤線)。

これまでに、MT野のニューロンは、方位成分を多く含む視覚刺激に対しては、窓枠問題を解決して物体の真の運動方向を検出していることを明らかにした。さらに、周辺視に受容野をもつMT野ニューロンは、歩行運動にともなう網膜像の流れ(オプティックフロー)を効率的に表現していることを明らかにした(図2)。

(2) 素早い判断切り替えの神経メカニズムに関する研究

状況の変化に応じて素早く判断を切り替える能力は、霊長類特有の高度な知性の根幹をなしている。この判断切り替えの神経メカニズムを明らかにするために、ルールによって2つの判断を切り替えるタスクスイッチ(図3)をサルに訓練し、心理物理学的実験、および神経生理学的実験をおこなっている。これまでに、頭頂葉LIP野において、情報の蓄積過程がルールに応じて異なること、脳は判断に不要な情報もいったん取り込んだのちに廃棄するというリーク機構の関与を明らかにした(図4)。

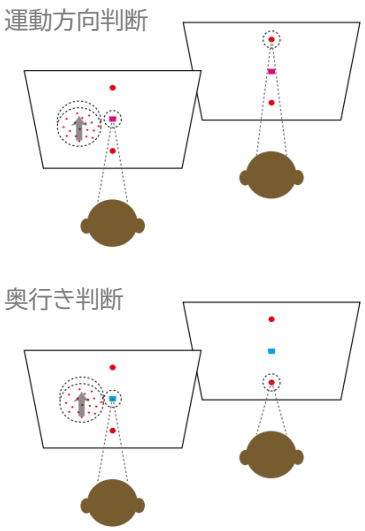


図3: タスクスイッチ。試行ごとに運動方向判断と奥行き判断とをランダムに切り替える。

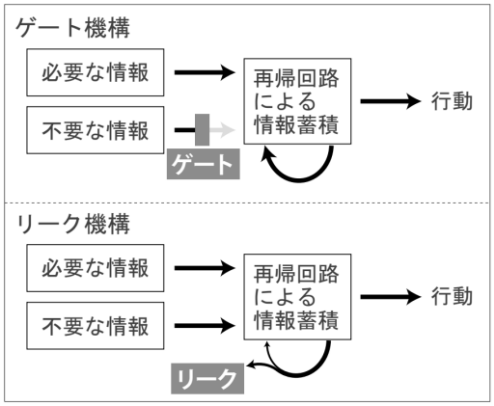


図4: 判断の切り替えにおいて不要な情報を廃棄するための2つの仮説。どちらも再帰回路によって蓄積された情報が閾値を超えると行動が発現する。

医学域

山梨大学 UNIVERSITY OF YAMANASHI

状況に応じた判断を支える神経メカニズム

須田　悠紀

特任助教　生理学講座統合生理学（神経生理学）

私たちヒトが、極めて膨大な情報に晒されながらも、置かれた状況に最適な行動を判断できる背景には、表象された感覚情報を状況に応じて適切に読み出し判断を形成する神経基盤の存在があります。これを明らかにするため、ランダムドットを用いて立体的な動く視覚刺激を作製し、画面中心点の色に応じて視覚刺激の運動方向（上または下）、あるいは奥行き（手前または奥）を、上下に呈示されたターゲットへの眼球運動で答えさせるタスクスイッチ課題をサルに適用し（図1）、状況に応じた判断を支える神経基盤を明らかにする研究を行っています。

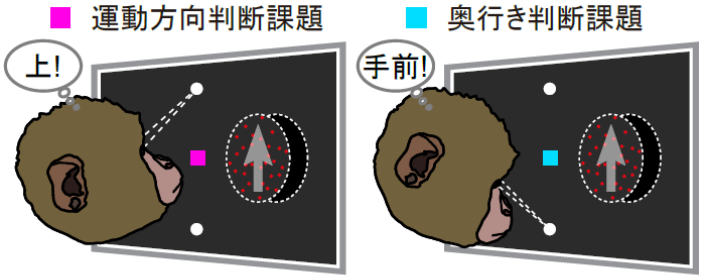


図1. 運動方向と奥行きを判断するタスクスイッチ課題

この課題を遂行するためには、運動と奥行きの二つの感覚情報を表象する脳領域MT野と、各課題遂行に必要な情報を蓄積して判断を形成する脳領域LIP野の二つの領野が重要であると考えられます。MT野からLIP野へは課題に必要な情報をボトムアップに運ぶ一方、 LIP野からMT野へは課題に不必要な情報をトップダウンに抑制する信号が働いている可能性があります（図2）。両領野間でどのような情報がいかにして伝達されるのか、柔軟な判断を可能にするMT-LIP野間の相互神経ネットワークを明らかにするため、多点深部電極を用いてMT野とLIP野の神経活動を同時記録し、両領野間の位相同期を様々な周波数帯域で調べる実験を進めています（図3）。

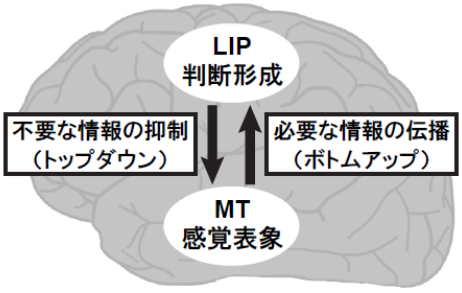


図2. 予測される領野間結合の機能的役割

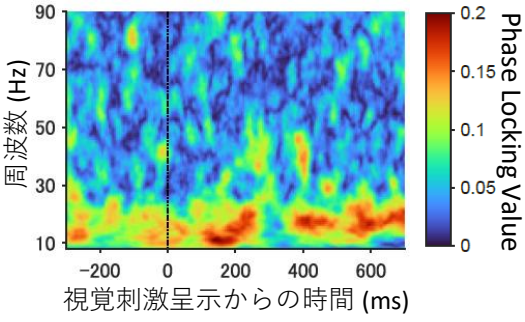


図 3 . MT-LIP間の位相同期度

また、NMDA受容体は統合失調症の神経回路異常を説明しうる候補分子の一つとされていますが、タスクスイッチ課題を行うサルへNMDA受容体拮抗薬のケタミンを全身投与すると、LIP野の判断に関わる神経活動は課題に不必要な情報に対して活動しやすくなり、サルは適切な情報に基づいて正しく判断できなくなることが分かりました。ケタミン投与はMT野神経活動に影響しなかったことから、MT野からLIP野の間で行われる課題遂行に不要な感覚情報を遮断する処理がケタミン投与に伴い障害されたと考えられます。この柔軟な判断の障害に関わる分子メカニズムを明らかにするため、ケタミン投与がMT野とLIP野の相互神経ネットワークに及ぼす影響を明らかにする実験を進めています。

KEYWORDS

- 知覚
- 判断
- 位相同期

SEEDS

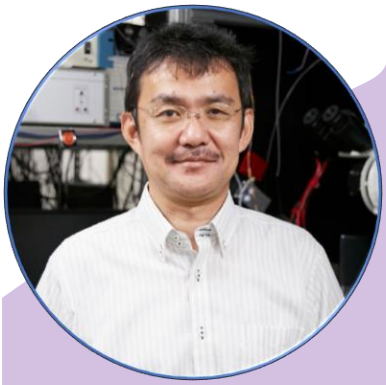
- 心理物理実験における行動指標の定量化
- 神経活動の時間周波数解析
- 及び複数領野間の位相同期解析

NEEDS

- ヒトを対象にした心理物理実験
- 脳波計測実験での連携

医学域

山梨大学
UNIVERSITY OF YAMANASHI



小脳、大脳とそれらの連関による運動制御・運動学習のメカニズム

喜多村　和郎

教授　生理学講座神経生理学教室

KEYWORDS

- ニューロン
- 大脳
- 小脳
- 運動
- 感覚
- 電気生理学
- 光学イメージング

SEEDS

- 2光子イメージングなどによるマウス神経活動の光学顕微鏡観察
- パッチクランプなどによる神経活動計測
- マウスの行動課題や蛍光プローブ、光遺伝学など

NEEDS

- 大規模データの解析
- 機械学習
- 精神神経疾患モデル動物

当部門では、上記研究テーマに関して以下の内容に取り組んでいます。

(1)柔軟な行動を生み出す小脳および大脳神経回路の機能解明

随意運動課題実行中のマウスにおいて、2光子カルシウムイメージングと高密度電極記録を用いた神経活動計測により、運動制御・学習の神経基盤を明らかにする。運動制御や運動学習に必要不可欠な時々刻々の誤差信号を、小脳ニューロン集団がどのようにリアルタイムで表現しているのかという、古くからあるが未だに解明されていない問題に現在取り組んでいる。また、報酬や意思決定など高次脳機能にかかわる神経活動が、小脳の細胞集団あるいは単一ニューロン内で、運動情報と合わせて表現されていることを明らかにしており、個々のニューロンあるいはシナプスレベルで、感覚運動情報のみならず高次機能情報をも統合することで、複雑かつ高度に組織化された適応行動が実現されるという仮説のもと、新たな小脳学習理論を確立したい。

小脳は大脳皮質とループ構造を形成しており、協調して働くことで柔軟な行動発現を実現している。特に内側前頭前野や頭頂連合野とのループは高次脳機能にかかわり、自閉スペクトラム症などの発症にも関与することが知られている。したがって、小脳の高次脳機能の理解にはこれらのループの機能を知ることが必要不可欠である。認知行動課題を実行中のマウス小脳活動を操作した場合に、大脳高次領野の活動がどのように影響を受けるかを2光子イメージングあるいはスパイク記録により調べ、またマウスの行動に与える影響を同時に調べることで、大脳―小脳連関の高次脳機能に果たす役割を直接明らかにしたい。また、自閉スペクトラム症などの病態モデルマウスにおいて同様の実験を行うことで、その病態を明らかにし、脳活動操作によって症状改善につながるかを検証したい。

(2)シナプス統合の生理学的意義の解明

神経細胞は樹状突起でシナプス入力を受け取り、それを統合することで最終的に活動電位を出力する。神経細胞の樹状突起は、多数のコンパートメントからなる複雑な形態を有するとともに、アクティブコンダクタンスを持つため、樹状突起における演算は極めて非線形性の高いものであることが知られている。これら樹状突起の活動特性が生理的にどのような意義があるのかについては、脳内で実際におこるシナプス入力パターンを知ることが重要であると考え、私は現在、脳内のシナプス活動を細胞全体にわたって同時に可視化できる方法の開発を行っている。マウス大脳運動野の錐体細胞において、1000個以上のスパインから同時に活動を記録することに成功しており、今後は、大脳錐体細胞や小脳プルキンエ細胞で、1つの神経細胞に入力するシナプス活動の生理的な情報の表現とその統合について研究を進め、樹状突起におけるシナプス統合のシステム科学的理解を目指す。

(3)新しい2光子イメージング法や機能プローブの開発

上記の研究を達成するために、シナプス活動と神経回路活動を同時に可視化できる新しい顕微鏡の開発や、さらに高感度化されたカルシウムセンサー蛋白質の開発を行っている。これらの技術は神経科学はもちろんのこと、生物学全般に役立つ技術として広く活用されることが期待できる。

医学域

山梨大学
UNIVERSITY OF YAMANASHI

KEYWORDS

- 小脳
- 大脳皮質
- 排尿
- 樹状突起
- グリア
- 電気生理
- カルシウムイメージング

SEEDS

- ホールセル記録法
- カルシウムイメージング
- 膜電位イメージング
- オプトジェネティクス
- 頭部固定下の行動実験課題

NEEDS

- 新規バイオセンサーの提供
- 神経疾患
- 神経損傷モデルマウスの提供
- 大規模神経データ解析技術

医学域

山梨大学 UNIVERSITY OF YAMANASHI

小脳の多様な情報表現とその生理的意義の解明

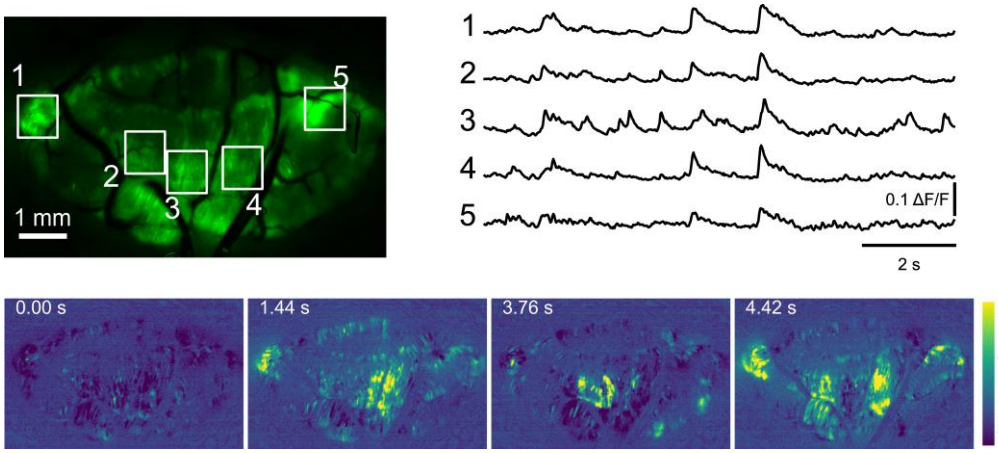
真仁田　聡

准教授　生理学講座神経生理学教室

私は、神経活動がどのような仕組みで脳機能を実現するのか、その仕組を解明することを目指して研究をしています。

この目標を達成するために、現在、私は生きたマウスの脳を対象に研究を行っています。下の図に示すように、頭部を固定した状態のマウスに前肢で物を掴む動作をさせ、その様子を2台のカメラで撮影して運動の詳細を観察します。

さらに、電気生理学的手法、カルシウムイメージング、オプトジェネティクスを用いて、この運動中の神経活動を詳細に観察し、その活動を精密に操作することができます。下の図はマウスのカルシウムイメージングによって運動中の小脳の神経活動を示したものです。これらの手法を駆使して、精密な運動に関する神経活動がどのように表現されているかについて研究しています。



この研究を通じて、運動の学習が進む過程と、運動機能に関連すると考えられている小脳の神経活動がどのように関係しているのかを明らかにすることを目指しています。

大脳聴覚野における音処理機構の研究

地本　宗平

学部内講師　生理学講座神経生理学教室
（聴覚生理学）

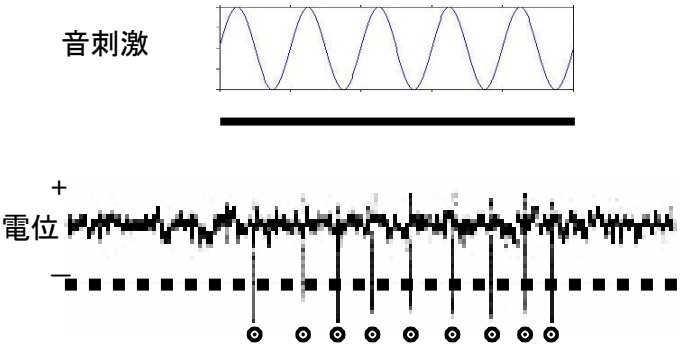
KEYWORDS

- 電気生理
- 大脳聴覚野
- 単一ニューロン活動
- 音刺激

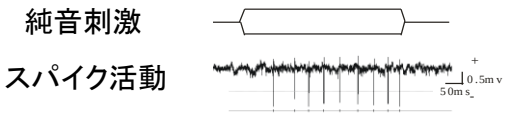
SEEDS

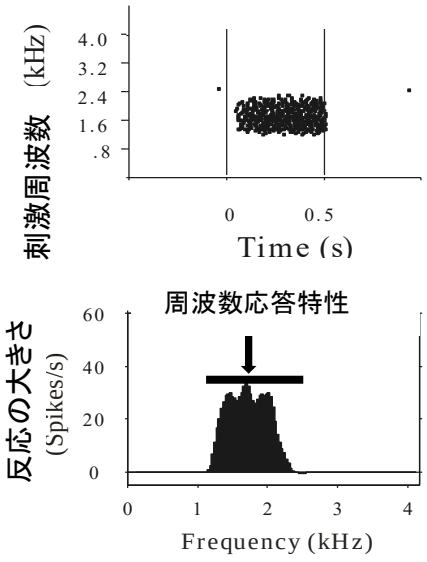
- 音刺激
- 音計測
- 電気生理学
- 神経活動の細胞外記録法

大脳聴覚野における音処理機構の解明のため、覚醒動物の大脳皮質から単一ニューロン活動を記録し、様々な音刺激を呈示して、応答を解析する。

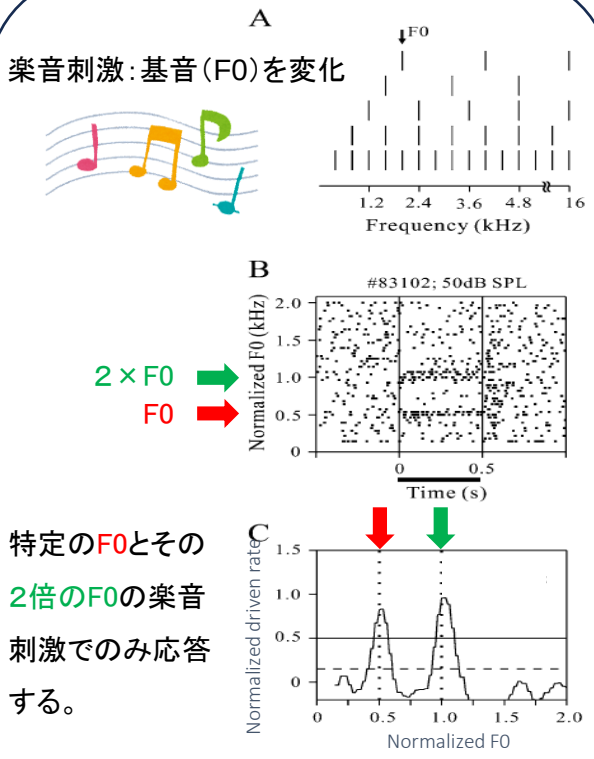


①電気生理学的手法により単一ニューロンの細胞外スパイク活動を記録する。





②ニューロンの時間応答特性や、音刺激の周波数を系統的に変化させて、周波数応答を解明する。



③様々な複合音や自然音に対する応答を調べ、そのニューロンが音のどのようなパラメータを処理しているかを解明する。

小脳の多様な情報表現とその生理的意義の解明

村上　誠祥

助教　生理学講座神経生理学教室

KEYWORDS

- 神経回路
- 電気生理学
- 意思決定
- 神経生理学
- システムズ神経科学
- 小脳
- 運動学習

SEEDS

- 電気生理学的大規模神経活動記録

NEEDS

- 最先端の人工神経回路や機械学習を用いたマウス行動と大規模神経活動の解析

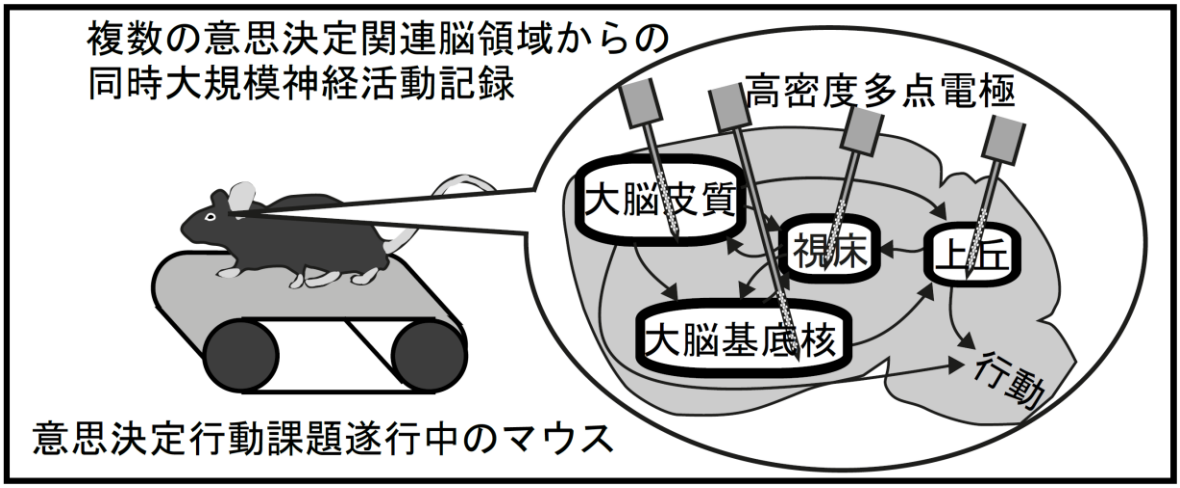
動物は、行動を通して外界に作用していくことでのみ、生存確率や子孫繁栄の確率を高めていくことができる。そのため、適切な意思決定により、よりよい行動を選択・遂行していくことは、脳の最も重要な機能の一つである。これまでの研究から、互いに神経連絡を持つ複数の脳領域が意思決定に関与していることが示唆されてきた。しかし、それらの領域間で意思決定に関わる神経活動が、どのようにやり取りされているのか、また、最終的にどのように行動出力を制御するのか、その神経メカニズムの全容は明らかになっていない。

私は、これまで研究してきた「遅延報酬を我慢して待ち続けるか諦めるか」の意思決定行動課題を用いて、この問題にアドレスする。まず、互いに神経連絡を持ち、この意思決定課題に関与する脳領域を特定するため、光遺伝学的・薬理遺伝学的神経活動操作と神経トレーシングを組み合わせて実験を行う。すでに明らかにした、意思決定行動課題への関与が示唆される脳領域をシードに、その領域と神経連絡を持つ複数の脳領域を神経トレーシングにより明らかにする。見つかってきた脳領域の神経活動操作により、さらに、意思決定に関連する脳領域を明らかにしていく。この実験により、遅延報酬を待つか諦めるかの意思決定に関わる脳全体に広がる神経ネットワークを明らかにする。

さらに、これらの意思決定関連脳領域と、意思決定の行動出力に関与する脳領域から、同時大規模神経活動記録を行う（**下図**）。それぞれの脳領域における意思決定中の神経活動ダイナミクスの関係性を解析することで、領域間の情報の流れや情報の変換の様子を明らかにする。これらの実験により、報酬を我慢して待つか諦めるかという意思決定が脳内でどのように生成され、最終的にどのように行動に影響を及ぼすのか、その神経メカニズムを明らかにする。

異常な行動や意思決定は、様々な精神疾患において、患者や家族のQOLに大きく影響を及ぼす要因である。本研究により、意思決定の神経メカニズムを明らかにすることは、様々な精神疾患における異常行動の理解や新たな治療法の開発につながることが期待できる。

また、近年大きく発展した人工神経回路の分野では、脳を模した回路設計やアルゴリズムを用いることでより高性能の人工神経回路モデルを開発することが期待されている。本研究により、意思決定時に複数の脳領域が協調して働く仕組みを解明することで、人工神経回路モデルにおいても、複数のモジュールが協調して働く新たなモデルの開発などにつながる可能性を秘める。



神経プレシナプス・アクティブゾーン形成の分子基盤

大塚　稔久

教授　生化学第一教室（生化学）

KEYWORDS

- 神経
- プレシナプス
- 神経伝達物質
- アクティブゾーン
- 神経変性疾患

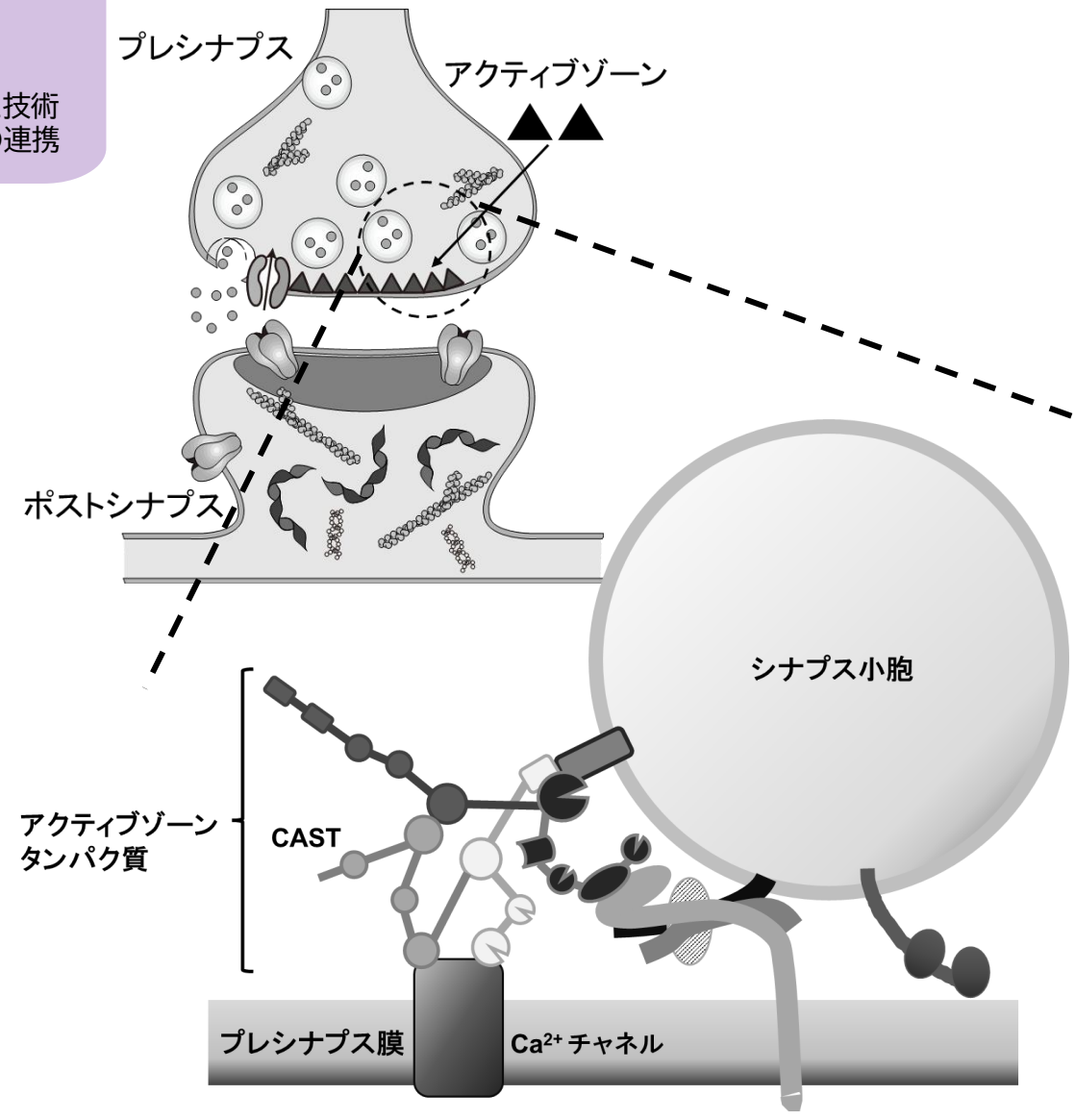
SEEDS

- 生化学
- ライブイメージング
- 電気生理学
- 光遺伝学

NEEDS

- 臨床応用に向けた技術
- 神経疾患分野との連携

脳内シナプスは神経回路網の信号伝達の要となる構造体であり，ヒトの行動や意識，情動などの高次脳機能を担う基本ユニットである．シナプスはプレシナプス，シナプス間隙，ポストシナプスに分類でき，それぞれのコンパートメントが特異的な分子群を発現して，数ミリ秒というきわめて速い神経伝達をコントロールしている．特に，プレシナプスにはアクティブゾーン（active zone）と呼ばれる比較的電子密度の高い構造体が存在している．各種の神経伝達物質を含有したシナプス小胞はこのアクティブゾーンにドッキング，融合して，細胞内Ca^{2+}の上昇に伴って神経伝達物質をシナプス間隙に放出することから，アクティブゾーンはシナプス伝達を時空間的に制御するきわめて重要な構造体と考えられている．アクティブゾーンはプレシナプスの膜直下に位置する比較的電子密度の高い構造体で、シナプス小胞のドッキングの場所として機能的にも重要な働きをしている。私は、世界に先駆けてアクティブゾーンに特異的に局在するタンパク質の1つとしてCASTを発見しており、現在は神経プレシナプスにおけるアクティブゾーンの構造と機能を生化学、ライブイメージング、電気生理学、光遺伝学などにより分子・細胞・個体レベルで明らかにする研究を行っている。



神経プレシナプスにおけるシナプス小胞輸送過程の分子基盤

森　靖典

准教授　生化学第一教室
（神経科学、細胞生物学、分子生物学）

KEYWORDS

- 蛍光ライブイメージング
- 小胞輸送

SEEDS

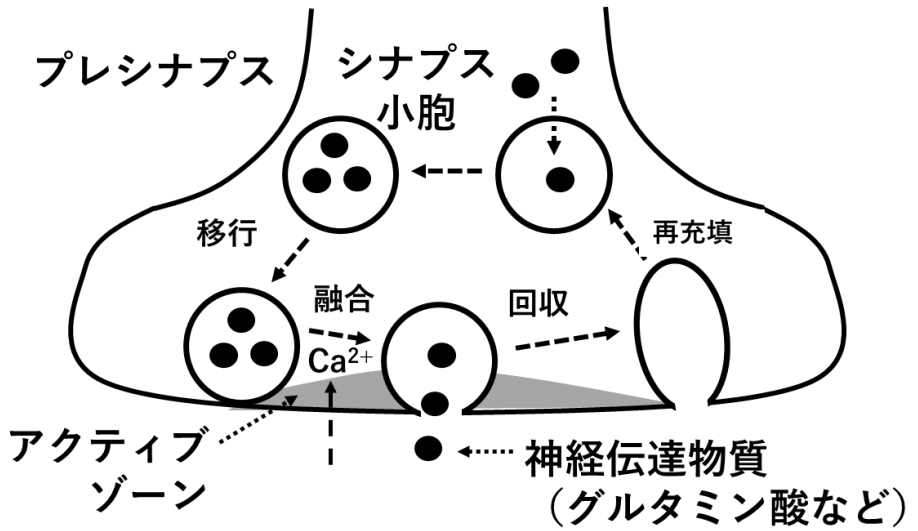
- 蛍光ライブイメージング

NEEDS

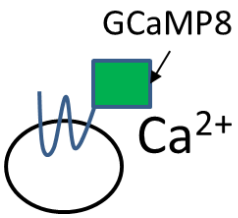
- 臨床応用に向けた技術
- 神経疾患分野との連携

グルタミン酸などの神経伝達物質は、神経細胞のプレシナプスに存在するシナプス小胞内部に詰め込まれて、形質膜のアクティブゾーンと呼ばれる領域に移行して小胞膜と形質膜が活動刺激によるカルシウム流入に応答して融合することによって放出される（エキソサイトーシス）。その後、形質膜からシナプス小胞膜タンパク質が回収され（エンドサイトーシス）、さらに神経伝達物質が再充填され機能的なシナプス小胞が再構築される。これらの一連の過程がシナプス小胞リサイクリングである。現在、マウスおよびラットの海馬神経を用いてカルシウムイメージング、グルタミン酸の放出、およびシナプス小胞のリサイクリングの解析を通じて神経プレシナプスにおけるシナプス小胞の小胞輸送過程の分子基盤を明らかにする研究を行っている。

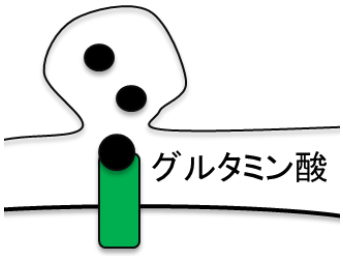
蛍光ライブイメージングによる
シナプス小胞輸送過程の解析



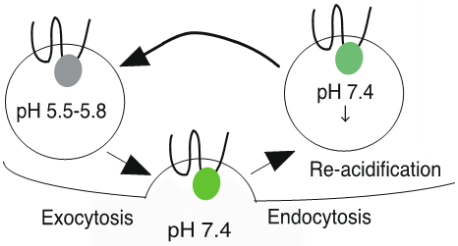
プレシナプス内カルシウム濃度の測定



放出されたグルタミン酸の測定



シナプス小胞リサイクリングの測定



医学域

山梨大学 UNIVERSITY OF YAMANASHI

神経変性疾患の分子病態メカニズムをシナプスレベルで解明

金　然正

助教　生化学第一教室
（生化学、脂質化学、細胞生物学）

プロテオパチーに代表される神経変性疾患の分子病態メカニズムをシナプスレベルで解明するため、原因タンパク質の変性・分解除去・凝集機構に関わる細胞内シグナル、液―液相分離、脂質膜との相互作用などを研究しています。さらに、これらの病態に直接介入する手法として、光遺伝学・化学遺伝学に用いる制御分子のデザインやバイオセンサーの開発にも取り組んでいます。具体的には、①神経シナプスの神経伝達制御の鍵を担うスキャフォルディングタンパク質CAST/ELKSの液―液相分離特性とアクティブゾーンアッセンブリーでの機能解析、②近接依存性ビオチン標識法を用いたアルツハイマーモデルマウスの病態進行およびパーキンソン病原因タンパク質αシヌクレインの伝播過程でのCAST/ELKS周辺分子の網羅的解析、③膜編集に用いる脂質代謝酵素の光遺伝学・化学遺伝学的改変と脂質分子バイオセンサーの開発を行っています。

KEYWORDS

- 液―液相分離
- 分子制御
- 生体分子イメージング
- 細胞内シグナル
- 神経変性疾患

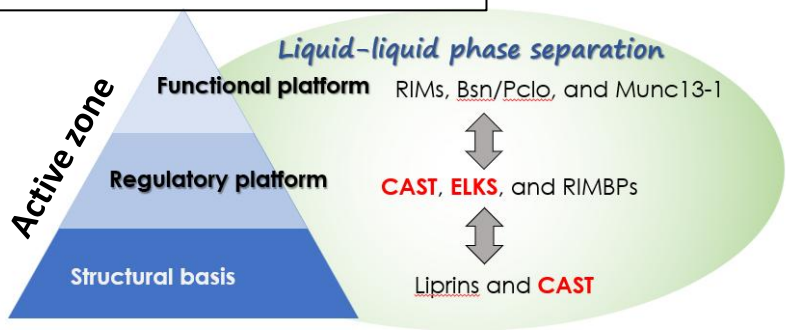
SEEDS

- タンパク質の分離・精製
- 細胞のライブイメージング

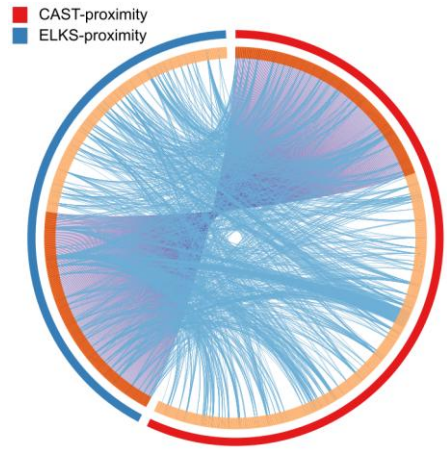
NEEDS

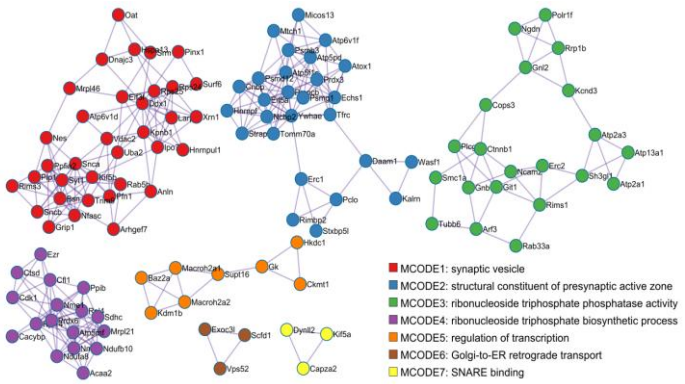
- バイオインフォマティクス
- in vivoライブイメージング

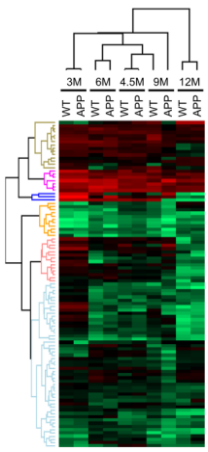
アクティブゾーン因子の液―液相分離解析



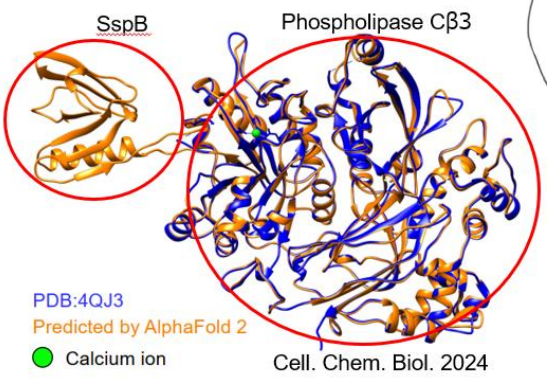
神経変性疾患モデルマウスにおけるCAST/ELKS周辺プロテオームの網羅的解析

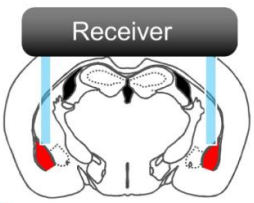


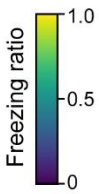


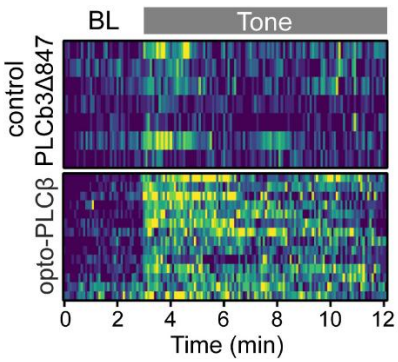


膜編集ツール開発と記憶制御









Cell. Chem. Biol. 2024

KEYWORDS

- シナプス小胞
- シナプス可塑性
- 細胞内シグナル

SEEDS

- 生化学
- 電気生理学
- 光遺伝学ツール

NEEDS

- バイオインフォマティクス
- in vivoライブイメージング

医学域

山梨大学 UNIVERSITY OF YAMANASHI

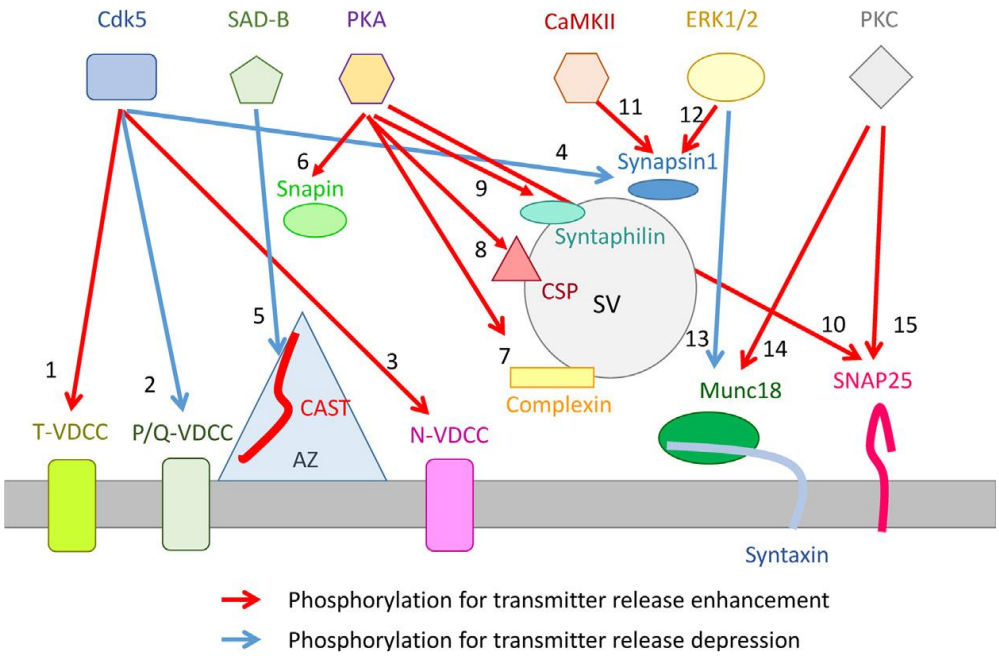
シナプス小胞分泌・可塑性の制御機構の解明と操作ツール開発

濱田　駿

助教　生化学第一教室
（生化学、電気生理学、光遺伝学）

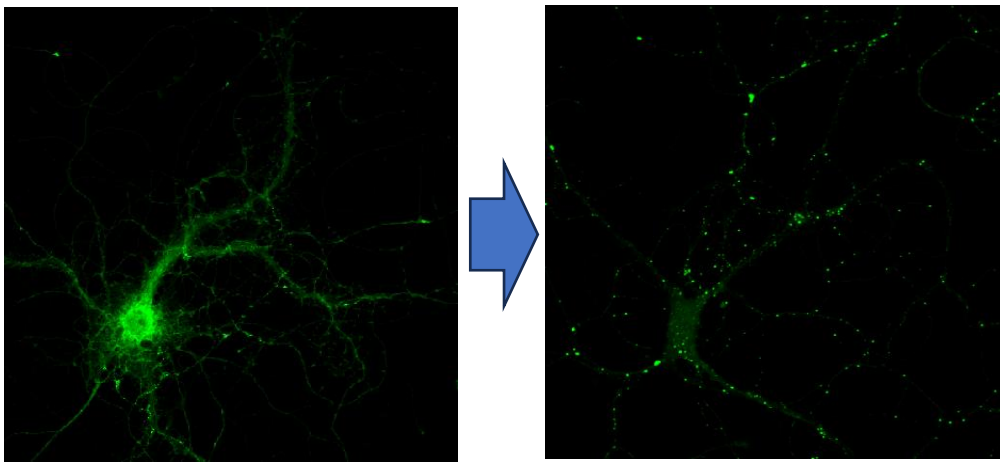
シナプス小胞の分泌に関わる分子機構やシナプス可塑性を制御する細胞内シグナルのメカニズムの解明を行うとともに、関連する細胞内シグナルを光遺伝学的手法によって制御するためのツール開発を行う。

シナプス可塑性を制御する細胞内シグナル



シナプス局在化タグの開発

タグ無しYFP　　タグ有りYFP



KEYWORDS

- TGF-β
- 細胞増殖因子

SEEDS

- TGF-βシグナルの生化学的解析

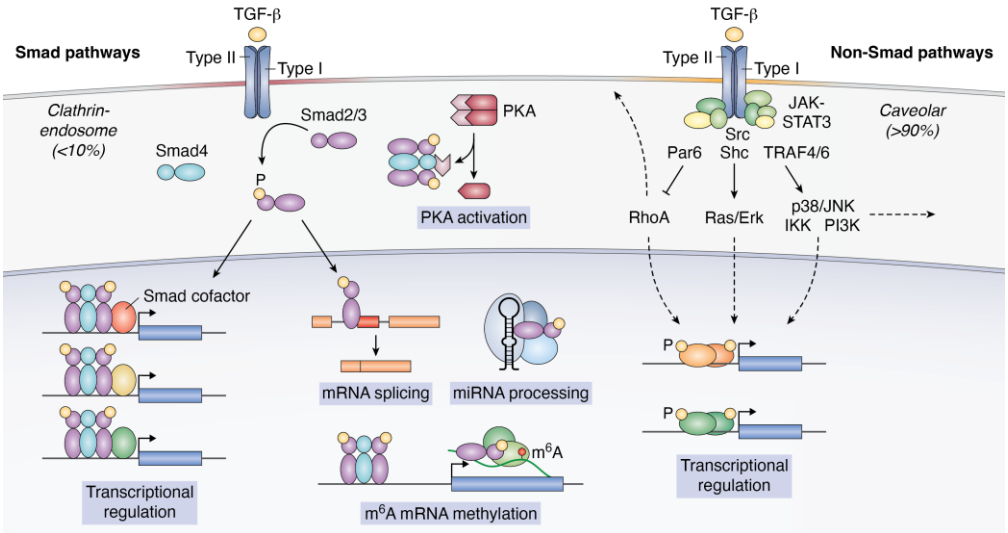
医学域

山梨大学 UNIVERSITY OF YAMANASHI

宮澤　恵二

教授　生化学第二教室
（生化学、分子生物学、腫瘍細胞生物学）

TGF-βは他の細胞増殖因子と同様に、様々な標的細胞により、種々の細胞応答を惹起します。しかし、他の多くの細胞増殖因子が発がん促進性の作用をもつのに対し、TGF-βは発がん抑制作用とがん悪性化促進作用の二面性を示すユニークな性質が知られています。この二面性の分子機構を明らかにし、がん悪性化のシグナル伝達を選択的に抑制する手法を開発することを視野にいれながら基礎研究を展開しています。



(Miyazawa et al., *J. Biol. Chem.* 300, 107256, 2024)

1. TGF-βは複数の経路を活性化してシグナルを伝達し、細胞応答を引き起こします。この中でも標的細胞の種類に依存した細胞応答の違いに最も大きく影響するSmad pathwayによる転写調節を研究の対象にしています。
2. この経路で重要な因子はSmadタンパク質の他に、これと協調して転写制御を行うSmad cofactorと呼ばれるタンパク質群です。TGF-βの生理的な機能に関わるものもあれば、病気に関係したシグナル伝達に関与するものも知られています。私たちは、がんの悪性化に関与するSmad cofactorの同定とその制御を目標に研究を進めています。
3. がん細胞の運動性が亢進すると周囲の組織に浸潤・転移し、これががんによる死亡の主な原因になっています。TGF-βにはがん細胞の運動性を高める作用があり、関与するSmad cofactorも既にいくつか同定されています。しかし、浸潤や転移を抑制する方法を開発できても、治験が困難であることから、治療への応用はできません。そこでTGF-βのがん細胞に対する作用の中でも、幹細胞性の誘導に注目しています。この作用を抑制できれば、がんの原発巣の退縮と同時に転移巣の形成を防ぐことにつながる可能性があるからです。
4. 現在までに、TGF-βにより発現が上昇する遺伝子の中で、幹細胞性の誘導に必要十分なものを肺がん細胞で同定できました。今後は、他のがん種でも同様の作用があるかを検討するとともに、関係するSmad cofactorの同定を進める予定です。

KEYWORDS

- TGF-β
- シグナル伝達

SEEDS

- 転写活性モニタリングが可能なレポーターの作製
  ゲノム編集によるSmadノックアウト細胞の作製

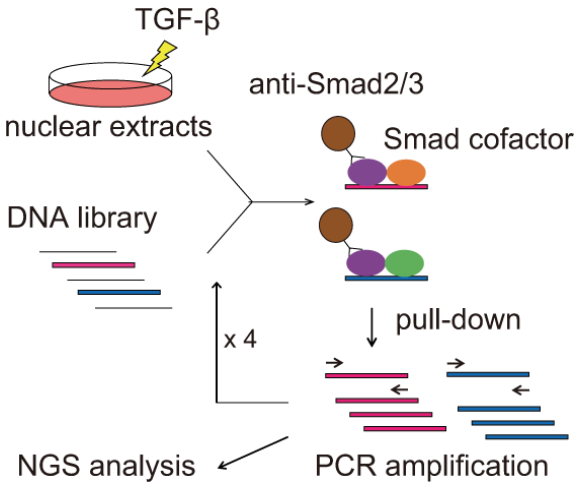
医学域

TGF-βシグナル分子Smadと協調して働く転写因子の探索とその機能解析

伊藤　友香

助教　生化学第二教室（生化学、細胞生物学）

Transforming growth factor-β（TGF-β）は生体内において多様な細胞応答に関与するタンパク質です。TGF-βが細胞表面の受容体に結合すると、細胞内ではシグナル伝達分子Smadが活性化して遺伝子発現を調節します。TGF-βによって制御される遺伝子の種類や量は組織や細胞により異なることが知られています。現在までに、Smadと協調して転写を制御する転写因子、Smad cofactorの発現や活性の違いがTGF-βによる遺伝子発現の多様性を生み出していると考えられていますが、その制御の全容はわかっていません。



(Itoh et al., *FASEB J.* 38, e23877, 2024)

1. 私たちは新たなSmad cofactorを同定するため、Smad ・ Smad cofactorが結合するDNA配列に着目しました。TGF-βで刺激したがん細胞株の核抽出液を用いて、活性化Smad複合体と結合するDNA配列を二本鎖オリゴDNAライブラリーから抽出、濃縮しました（cyclic amplification of selected targets（CASTing））。
2. その配列を次世代シーケンサーで解析することで、Smad cofactorの候補となるような多数の転写因子の情報を得ることに成功しました。
3. そして、得られた配列によって発現が制御されるレポーターを作製することで、Smad ・ Smad cofactorによる協調的な転写活性を測定することが可能になりました。
4. 現在までに、数種類のがん細胞株と非がん細胞株を用いた比較検討を行うことでがん種によって異なる特徴的なSmad cofactorの候補も見つけており、この発見はがん治療への展開が期待されます。
5. その他に各種Smadノックアウト細胞株を樹立し、転写誘導におけるSmad複合体組成の多様性について研究に取り組んでいます。

山梨大学 UNIVERSITY OF YAMANASHI

TGF-β/Smadの標的遺伝子によるがん悪性化メカニズムの解明

横山　隆志

特任助教　生化学第二教室(生化学、腫瘍学)

KEYWORDS

- TGF-β
- Smad3
- ALDH1A1
- TRIB1
- C/EBPα

SEEDS

- マウスを使ったin vivoでの機能解析
  - 尾静脈移植
  - IVIS imaging
- フローサイトメトリー
- cell sorting

NEEDS

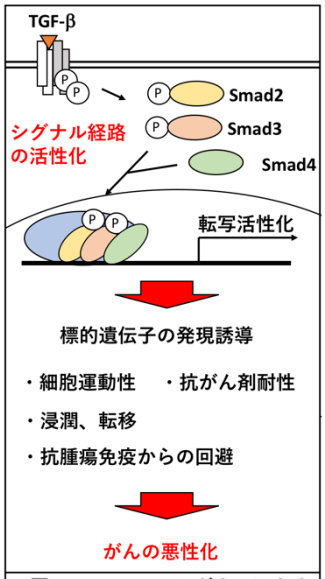
- がん免疫の評価に関する技術

TGF-β/Smad経路は様々な機能を介してがんの悪性化に寄与しています。本研究ではTGF-β/Smadによって発現制御される以下の3点の機能に着目し、がん細胞の悪性化がどのように進展するか調べています[図1]。
(1) ALDH1A1による抗がん剤doxorubicin耐性
(2) TRIB1による細胞増殖・細胞運動性・がん細胞の定着
(3) 抗腫瘍免疫からの回避

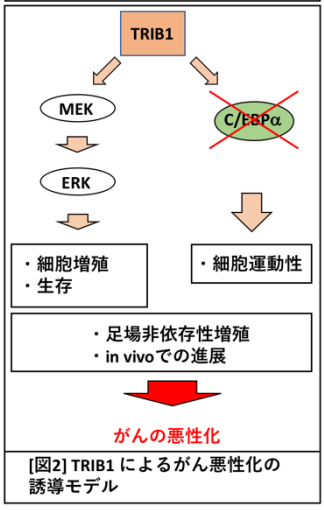
(1) ALDH1A1（アルデヒド脱水素酵素）による抗がん剤耐性の亢進
ヒト肺がん細胞株A549細胞にTGF-βを前処理をしておくと抗がん剤doxorubicinに対する耐性が亢進しました。私達はTGF-β/Smad3/Smad4依存的にALDH1A1 が発現誘導されることを明らかにし、ノックダウン実験などからTGF-β/Smad3を介したdoxorubicin耐性にはALDH1A1が必須であることを示しました。またALDH1A1はTGF-β/Smad3による足場非依存性増殖の亢進についても重要であり、TGF-β誘導性のがん幹細胞性についても関与している可能性が示されました。

(2) TRIB1の発現誘導によるがん悪性化の誘導［図2］
TRIB1は急性骨髄性白血病を誘導する機能を持つアダプタータンパク質であり、MEKと結合してMAPキナーゼ経路の活性化を持続させ、転写因子C/EBPαのユビキチン化による分解を仲介します。私達は固形がんにおけるTRIB1の役割について調べた結果、TGF-β/Smad3依存的にTRIB1が発現誘導されることを明らかにしました。A549細胞でTRIB1をノックアウトすると細胞増殖速度や細胞運動性、足場非依存性増殖、尾静脈移植による肺への定着が抑制されました。TRIB1の機能ドメインの変異体を用いて検証した結果、MEKとの結合によるMAPキナーゼ経路の活性化は低血清条件下の増殖に必要であり、C/EBPαの分解は細胞運動性の亢進に必要であることがわかりました。さらに足場非依存性増殖やin vivoでの進展にはMEKの結合とC/EBPαの分解の両方の機能が必要であることから、固形がんにおいてもTRIB1はアダプタータンパク質としてがん悪性化の誘導に関与することが示されました。

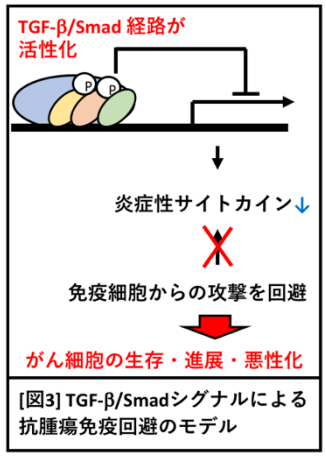
(3) 抗腫瘍免疫からの回避［図3］
一部のがん細胞では免疫細胞による攻撃から回避する機能を獲得しており、近年では重要な治療標的としての研究が進められています。私達はTGF-β/Smad3が炎症性サイトカインに関与する遺伝子発現を抑制し、抗腫瘍免疫から回避する機能を獲得する可能性に着目しました。がん細胞をヌードマウスへの尾静脈移植から移植し肺への定着を調べる実験系を中心に、この抗腫瘍免疫からの回避に関わるSmad3の機能ドメインやコファクター、シグナル制御などについて解明を行っています。



[図1] TGF-β/Smad シグナルによるがん悪性化の誘導



[図2] TRIB1 によるがん悪性化の誘導モデル



[図3] TGF-β/Smadシグナルによる抗腫瘍免疫回避のモデル

医学域

山梨大学 UNIVERSITY OF YAMANASHI

KEYWORDS

- がんの悪性化
- EMT
- ZEB1

SEEDS

- 生化学・分子生物学的解析
  - Western blotting
  - real-time PCR など
- 遺伝子ノックアウト
- ChIP assay
- 免疫染色

NEEDS

- フローサイトメトリー
- CRISPRスクリーニング
- 次世代シークエンス

医学域

山梨大学 UNIVERSITY OF YAMANASHI

がん悪性化促進転写因子ZEB1の機能制御機構に関する研究

大嶽　茂雄

助教　生化学第二教室
（細胞生物学、生化学、分子生物学）

上皮間葉転換（epithelial-mesenchymal transition, EMT）は、上皮細胞が間葉系細胞の性質を示すようになる可逆的な現象であり、細胞極性の喪失、細胞間接着の低下、運動性の亢進を伴います。EMTは正常の発生過程でもみられるが、がん細胞の浸潤能、抗がん剤耐性、幹細胞性といった悪性形質の獲得にも寄与しています。

EMT誘導転写因子であるzinc finger E-box binding homeobox 1（ZEB1）は、細胞接着因子であるE-cadherin（*CDH1*）の発現低下（EMTの特徴の一つ）を引き起こします。また、ZEB1はEMTを抑制するmiR-200 familyや上皮細胞RNAスプライシング制御因子（ESRP）と発現を互いに抑制し合うdouble negative feedback loopを形成しており、EMT制御のコアとなる因子です（図1）。

これまでに、ZEB1のがん悪性化における重要性や発現制御機構については明らかとなってきましたが、その機能の制御機構についてはいまだ未解明な点が多いのが現状です。そこで、私はZEB1の機能制御という点に着目した研究を行い、がん悪性化の分子機構を明らかにすることを目指しています。

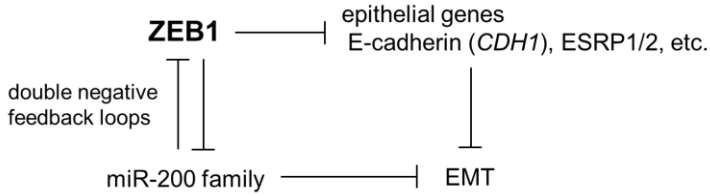


図1. EMT制御のコアとなる転写因子ZEB1

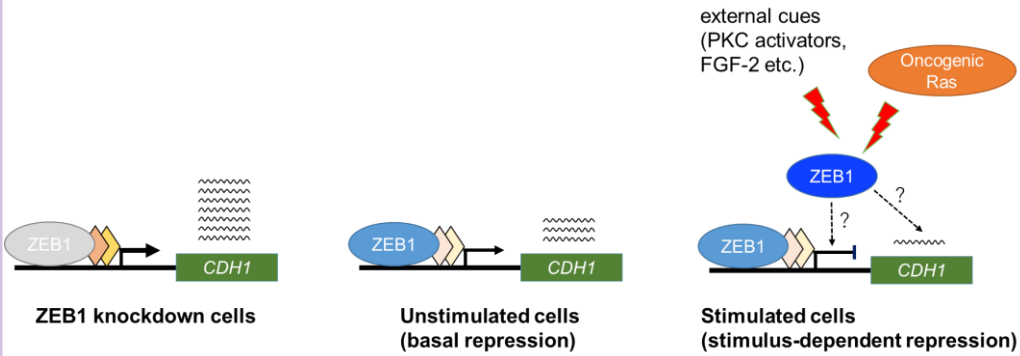


図2. 発がん性Rasシグナルと外部刺激によるZEB1の機能制御

私はこれまでに、K-Ras活性型変異をもつがん細胞において、ZEB1によるE-cadherin発現抑制の様式が２種類存在することを発見しました（Otake et al., Cancer Sci. 2021）。一つはbasal repressionであり、定常状態の細胞において、ZEB1は発現量に依存してE-cadherinの発現を弱く抑えています。もう一つはstimulus-dependent repressionであり、ZEB1に加えて発がん性Rasシグナルと外部刺激（protein kinase Cの活性化剤やfibroblast growth factor-2等）を必要とします。興味深いことに、刺激依存的な様式ではZEB1の発現上昇は必要でなく、発がん性Rasシグナルと外部刺激によってZEB1の機能が活性化され、E-cadherinの発現を強く抑制できることが示唆されました（図2）。

現在、がん悪性化に関与するEMT誘導因子であるtransforming growth factor-β（TGF-β）に関して、ZEB1の機能活性化に関与しているか、研究を進めています。また、刺激依存的なZEB1の機能活性化に関与する因子を探索していきたいと考えています。

脳の生理機能に対するグリア細胞の役割に関する研究

小泉　修一

教授　薬理学講座・山梨GLIAセンター
（神経薬理、脳科学、グリア化学）

KEYWORDS

- グリアー神経細胞連関
- アストロサイト
- ミクログリア
- 中枢神経
- 痛み
- ATP受容体

SEEDS

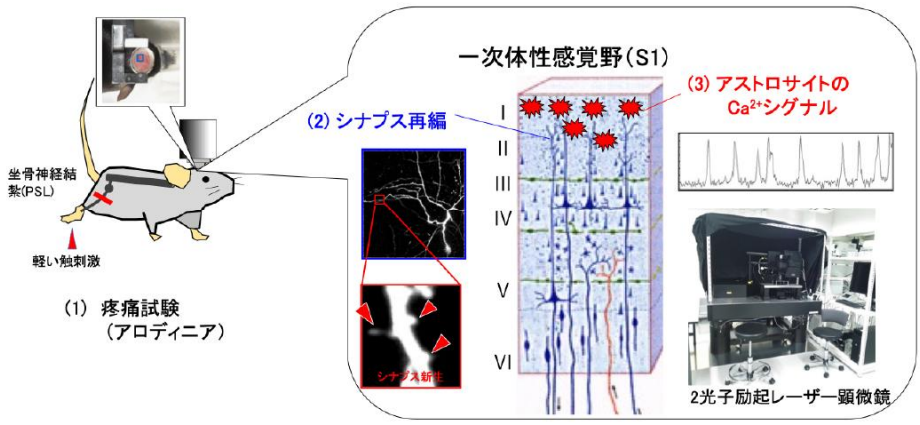
- イメージング
- Ca2+
- ATP
- 行動薬理解析
- 解剖学的解析

NEEDS

- ヒト組織サンプル
- ヒト情報の提供

■グリア細胞による長期シナプス再編メカニズムの解明

これまでシナプスが新しく作られ・除去される（刈り込み）「シナプス再編」は、神経細胞の自律的活動により行われると考えられてきました。しかし、このシナプス再編にミクログリア及びアストロサイトが重要な役割を果たしているとが明らかになりました。私たち、アストロサイトのシナプス再編のスイッチとして「mGluR5」を見出しました。このmGluR5を切り口として、脳の発達、疾患、加齢におけるシナプス再編及び長期ネットワーク再編のメカニズム及びグリア細胞の役割を明らかにします。研究は、シナプス再編のイメージング、アストロサイト機能解析（Ca2+シグナル）、最終的なアウトプットとしての行動解析（下図では疼痛行動）を行うことで、分子、回路、システムをシームレスに統合して行っています。



代表論文
Danjo et al, J Exp Med, 219(4):e20210989. (2022). doi:10.1084/jem.20210989.
Kim et al, GLIA, 65,1719-1727(2017). doi: 10.1002/glia.23169
Kim et al, J Clin Invest, 126, 1983-1997 (2016). doi: 10.1172/JCI82859
Miyamoto et al, Nat Commun, 7, 12450 (2016). doi: 10.1038/ncomms12540.

医学域

山梨大学
UNIVERSITY OF YAMANASHI

脳の生理機能に対するグリア細胞の役割に関する研究

繁富　英治

教授　薬理学講座・山梨GLIAセンター
（神経薬理学）

KEYWORDS

- カルシウム
- カルシウム感受性蛍光タンパク質
- アストロサイト
- シナプス伝達
- シナプス可塑性
- プリン受容体
- グリア
- 中枢神経系

SEEDS

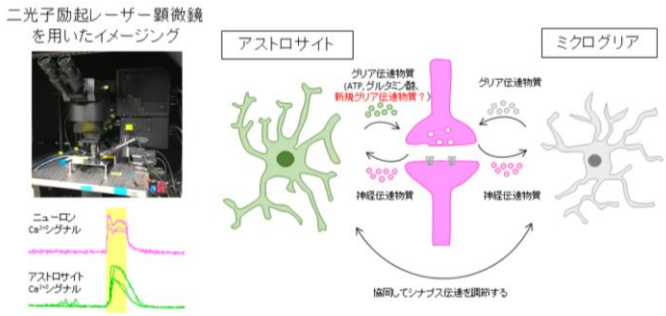
- グリアーニューロンのイメージング技術
- アストロサイトのゲノム編集

NEEDS

- シングルセルマルチオミクス解析
- 空間オミクス解析

■グリア細胞によるシナプス伝達制御メカニズムの解明

グリア細胞は「グリア伝達物質」を放出することによりシナプス伝達を即時的にコントロールします。このようなグリア伝達は、記憶・学習などの高次脳機能や摂食や恐怖反応などの本能的行動にも関わることが知られています。即時的シナプス伝達のコントロールに関わるグリア伝達物質にはグルタミン酸やATP等が良く知られていますが、これらがいつ働いているのか、どのようにして働いてシナプス機能を制御するのかには多くの疑問が残されています。更に、従来から知られているグリア伝達物質とは異なる新しいグリア伝達物質の候補も見出し、これが脳病態と密接に関わる可能性がわかってきましたが、この新しいグリア伝達物質候補が働く仕組みは殆どわかっていません。このような疑問を、In situグリア-神経細胞機能イメージング技術、伝達物質可視化イメージング技術、網羅的遺伝子発現解析等の分子生物学的手法、さらにゲノム編集技術を駆使して解決します。また、グリア細胞によるシナプス伝達制御の脳機能における意義を、電気生理学、行動学的解析等を進めて明らかにしています。



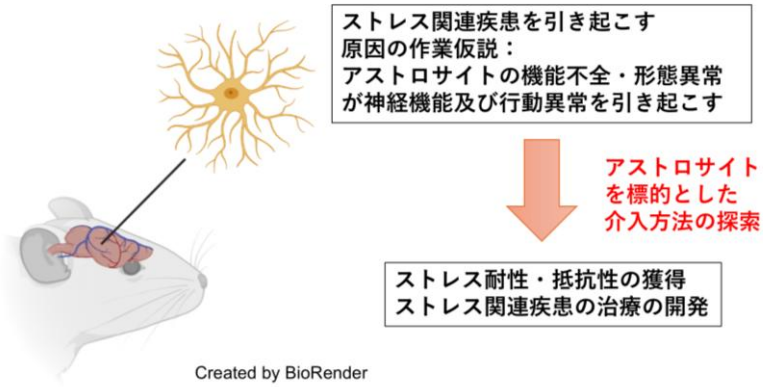
代表論文
Shigetomi et al, Nat Commun, 15(1):6525. (2024). doi:10.1038/s41467-024-50190-7.
Shigetomi et al, J Neurosci, 38(6):1383-95. (2018) doi: 10.1523/JNEUROSCI.2625-17.2017.
Shigetomi et al, J Gen Physiol, 141(5):633-47. (2013) doi: 10.1085/jgp.201210949.
Shigetomi et al, Nat Neurosci 15(1): 70-80. (2012) doi: 10.1038/nn.3000

■グリア細胞がストレス関連行動を制御するメカニズムの解明

グリア細胞の活動やグリア伝達物質の放出能力は、正常時と病態時で変化することが知られています。特に、うつ病や不安症などと深く関連するストレスにより、グリア細胞の機能が大きく変化し、その変化がストレス関連疾患の原因となる可能性が指摘されています。グリア細胞はニューロンとは異なる形・仕組みを介して脳機能を制御することから、グリア細胞を標的することでストレス関連疾患の新しい病態メカニズムの解明・治療法の確立に繋がる可能性を秘めています。しかしながら、ストレス関連疾患におけるグリア細胞の機能や形態が変化するメカニズムは不明なままです。

これらのメカニズムを、グリア細胞特異的な活動操作、各種イメージング技術、ゲノム編集技術等を駆使して解決し、グリア細胞機能を標的とする新しいグリア性ストレス関連疾患の治療の開発に役立てます。

代表論文
Shigetomi E et al. Front Cell and Dev Biol (2024) 11:1343653. doi: 10.3389/fcell.2023.1343653.
Shigetomi E, Koizumi S. Neurosci Res (2022) 187:21-39. doi: 10.1016/j.neures.2022.09.015.



一次性アストロサイト疾患、アレキサンダー病におけるグリア細胞間相互作用の研究

齋藤　光象

助教　薬理学講座・山梨GLIAセンター
（神経薬理、脳科学、グリア化学、神経内科）

KEYWORDS

- アレキサンダー病
- アストロサイト
- ミクログリア
- シングルセル遺伝子発現解析

SEEDS

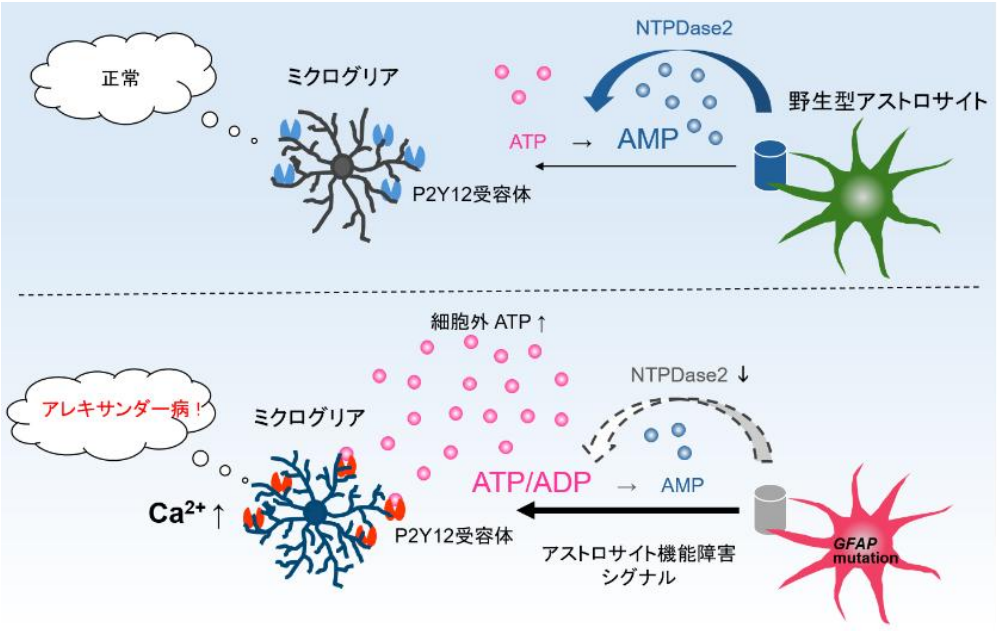
- 免疫組織化学染色
- In situ hybridization
- Magnetic activated cell sorting(MACS)

NEEDS

- バイオインフォマティックス解析

■ 一次性アストロサイト疾患におけるミクログリア病態制御機構の解明

近年、グリア細胞と疾患病態との関連性について多くの研究が行われてきました。最近では、異なったグリア細胞種間の相互作用が様々な病態に関与することが示されています。私の長年の研究テーマであるアレキサンダー病(AxD)もそのような視点のアプローチに意義があることがわかってきました。AxDは稀少な神経難病であり、GFAP変異を原因とする一次性アストロサイト病です。最大の病理学的特徴はアストロサイト細胞質内のローゼンタル線維であり、主な構成成分はGFAPタンパクです。アストロサイトがAxD病態の中心にあり、アストロサイトの形態学的、機能的変化が認められています。これまでアストロサイトに注目したAxD研究が大部分でした。もうひとつのグリア細胞「ミクログリア」がAxD分子病態にどのように関与するか十分には研究されていませんでした。ミクログリアは脳内の自然免疫細胞ですが、脳内外の環境変化を感知し、脳の中核機能を制御しています。実際に調べてみるとAxDモデルにおいてミクログリアは病的アストロサイト変化に強力に反応して活性化し、その表現型を大きく変化させていました。2光子イメージング法によるミクログリア機能解析、シングルセル遺伝子発現解析(scRNA-seq)などの最先端の研究手法を用いることにより、ミクログリアがアストロサイト病態を監視してAxD進行を抑制することが判明しました。今後もグリア細胞間コミュニケーションの観点に立ってscRNA-seqの手法などを駆使しながら、さらなる病態解明に取り組んでいます。



代表論文

Saito et al, Brain, 147(2): 698-716.(2024). doi: 10.1093/brain/awad358

Saito et al, Glia, 66(5): 1053-1067. (2018). doi: 10.1002/glia.23300

医学域

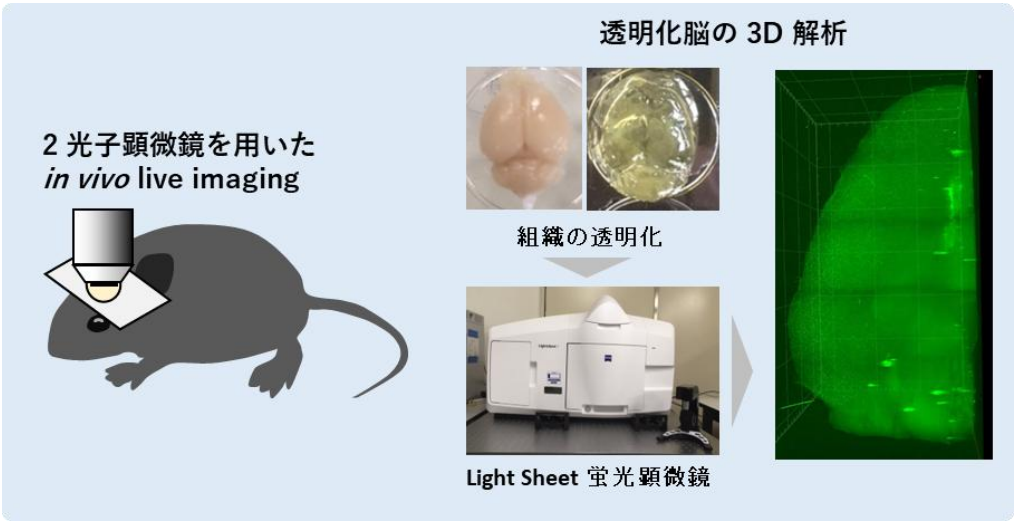
山梨大学 UNIVERSITY OF YAMANASHI

脳ミクログリアおよび末梢免疫細胞の連関解析

坂井　謙斗

特任助教　薬理学講座･山梨GLIAセンター
（神経薬理、脳科学、グリア化学）

ミクログリアが脳内唯一の免疫細胞と考えられてきましたが、最近ではある種の末梢免疫細胞も脳内に存在し、脳機能に影響を与えることが報告され始めました。免疫細胞マスト細胞が脳内にも存在し、脳内外の炎症早期に early responder として反応することで、脳内炎症のトリガーとなる可能性が示唆されました。そこで我々は、「末梢炎症反応に脳内マスト細胞が応答し、ミクログリアが活性化される」という仮説に基づき、2 光子顕微鏡を用いた脳内マスト細胞-ミクログリア in vivo 同時イメージング法や透明化脳の 3 次元解析（図）などを用いて研究を進めています。



KEYWORDS

- グリアー末梢免疫細胞・組織連関
- ミクログリア
- マスト細胞
- 痒み

SEEDS

- 2光子顕微鏡を用いた脳スライスイメージングおよび in vivo live imaging
- 脳透明化解析
- 痒み･痛みの行動実験
- 脊髄からの電気生理

NEEDS

- scRNAseq
- ウイルス感染実験

代表論文
Shigetomi et al, Front Cell Dev Biol. 2024;11:1343653. doi: 10.3389/fcell.2023.1343653.
Sakai et al, J Neurosci, 2020;40:7688. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0091-20.2020.
Sakai et al. J Invest Dermatol. 2019;139:1407. doi: 10.1016/j.jid.2018.12.001.
Sakai et al. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2018;38:2590. doi: 10.1161/ATVBAHA.118.311664.

医学域

山梨大学 UNIVERSITY OF YAMANASHI

脳の生理及び病態生理機能に対するミクログリアの役割に関する研究

ビージェイ　パラジュリ

研究助教　薬理学講座・山梨GLIAセンター　（神経薬理、脳科学、グリア化学）

KEYWORDS

- ミクログリア
- ミクログリア移植
- グリア
- 中枢神経系

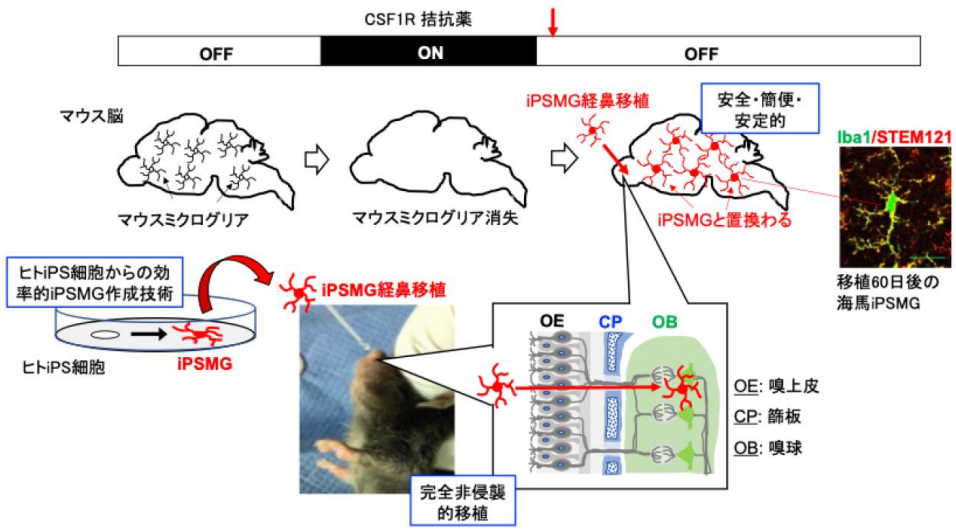
SEEDS

- ミクログリア移植
- ミクログリアのイメージング技術

NEEDS

- シングルセルマルチオミクス解析

ミクログリアの重要性が次々と明らかになっているが、ミクログリアを操作する方法はまだ無い。そこで、既存のミクログリアを非侵襲的に任意のミクログリアに置換する技術を開発し、ミクログリアの真の役割解明を目指している。下記図はヒトミクログリアの例である。先ずCSF1受容体拮抗薬ONでマウスミクログリアを除去後、同薬OFFでヒトiPS細胞由来ミクログリア（iPSMG）を非侵襲的に「経鼻移植」する。iPSMGは速やかに嗅球に侵入し、各脳部位に移動・増殖し、ほとんどがヒト型に置き替わった。iPSMGは微細な突起をもつラミファイド型で、少なくとも60日間はマウス脳内に生着した。この簡便、安定的、安全なミクログリア移植法開発により、ヒトミクログリアの性質解明が加速するとともに、薬物処理及び遺伝子改変ミクログリア移植に応用することで、新しい脳機能制御機構解明及び細胞治療法の開発が期待できる。



代表論文

Parajuli et al., GLIA,69(10):2332-2348 (2021)
doi:10.3791/63574
Parajuli et al., J Vis Exp, 183, e63574. (2022)
doi.org/10.1002/glia.23985

医学域

山梨大学 UNIVERSITY OF YAMANASHI

ストレス関連行動・社会的行動における脳機能に関する研究

八島　成維

研究助教　薬理学講座・山梨GLIAセンター
（心理学、行動神経科学）

KEYWORDS

- ストレス対処行動
- アストロサイト
- 社会的記憶

SEEDS

- 行動解析
- 脳内微量投与

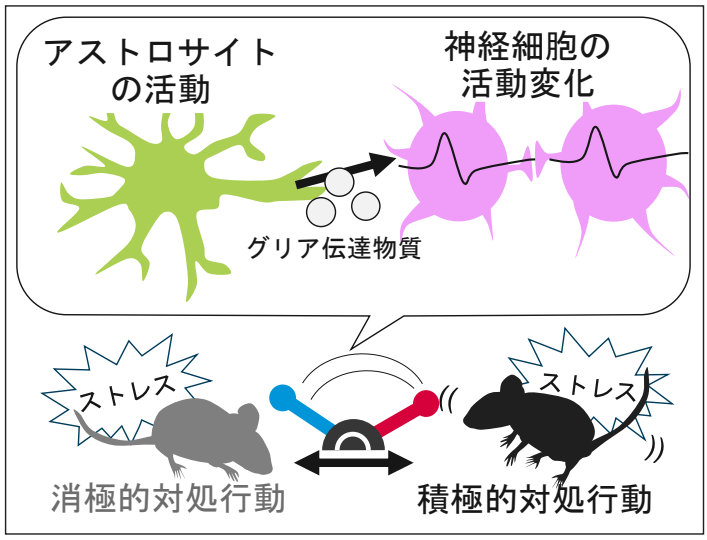
NEEDS

- 画像解析
- 多変量解析
- ヒト対象実験・調査

山梨大学
UNIVERSITY OF YAMANASHI

■アストロサイトを中心とした行動と脳の関係の解明

ヒトやマウスなどの動物は、他者・他個体と積極的に交わり関係性を築く社会性を有しています。社会の中でよりよく、健康に生活を営むためには、状況に応じた適切な行動を適度にとることが重要です。しかしながら、ストレスに起因するうつ病などの精神疾患は増加傾向にあり、それらの疾患では適切なストレス対処行動への切り替えが困難になります。ストレスを効果的にマネジメントする方法として、ヒトにおいては、ゆっくりと緊張をほぐすリラクゼーションと活発に活動するアクティベーションの両方が必要とされています。また、マウスは強いストレス負荷場面で、じっと動かずに過ごす消極的対処行動と激しく動く積極的対処行動を交互にシフトさせてストレスに対処します。それでは、どのような仕組みでこのストレス対処行動はシフトするのでしょうか。現在、脳の中のグリア細胞の一種であるアストロサイトに着目して研究を進めています。アストロサイトは、神経細胞と相互作用して不安や恐怖などの情動行動を制御することがわかっています。そこで、アストロサイトの活動を操作して、ストレス下の行動を観察することで、ストレス対処行動におけるアストロサイトの役割を検討しています。さらに動物の行動が変化するとき、アストロサイトは神経細胞の活動を、どのような伝達物質によって、どのように変化させるのか、脳のイメージング法や電気生理学などの技術を習得しながら、明らかにすることを目指しています。



■他個体の記憶と前頭前野の関連の解明

社会の中で円滑に生活を営むためには他者を覚え、覚えておき、他者同士を識別する、社会的記憶という能力が欠かせません。自閉症や認知症といった疾患では、その能力が低下してしまう場合があります。ヒトだけでなく、マウスも他個体と関わり、他個体を覚えて識別し、高度な社会性を形成することが知られています。これまでの研究で、前頭前野がこの社会的記憶が重要であることは知られていました。しかしながら、前頭前野は広い領域であり、そのどこが、「覚える」、「識別する」、という能力を担っているのか、わかっていませんでした。私がこれまで行なった研究で、他個体同士を「識別する」能力は、前頭前野のうち、特定の領域のみが担っていることが明らかになりました。さらに、「覚える」能力には、前頭前野のオキシトシンの働きが重要であることを見出しました。社会的記憶に関する研究は未だ発展途上にあり、不十分な点が多く指摘されています。今後は、グリア細胞という視点を加え、細胞レベル、分子レベルで、社会的記憶の脳内機構を解明し、将来的に上記のような疾患の症状の予防や改善に寄与することを目指します。

<u>代表論文</u>

Yashima & Sakamoto, Behav Brain Res, 456(114706). (2024). 10.1016/j.bbr.2023.114706.
Yashima et al, PLoS One, 18(4):e0284666. (2023). 10.1371/journal.pone.0284666.
Sakamoto & Yashima, Behav Brain Res, 435(114051). (2022). doi: 10.1016/j.bbr.2022.114051.

ウサギモデルを用いた動脈硬化性疾患の分子病態の解明

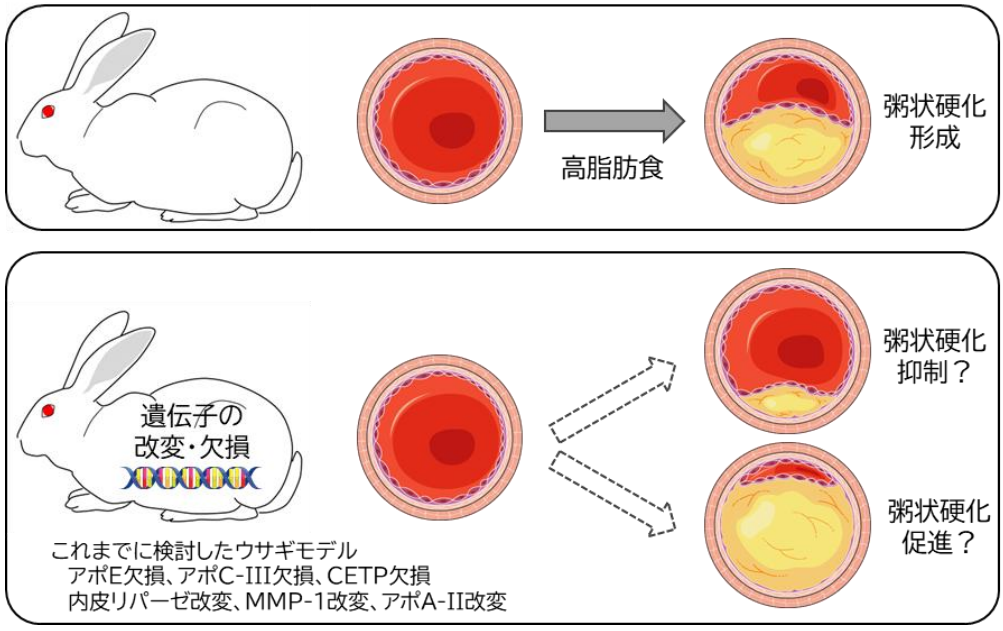
新見　学

学部内准教授　分子病理学講座
（実験病理学、病態医化学）

動脈硬化は動脈壁の肥厚や硬化を特徴とする病変です。その中でも粥状硬化と呼ばれる動脈硬化は、心筋梗塞、脳卒中、大動脈瘤の発症の基盤となり、我が国の死因の約2割を占める血管病変です。

私たちは粥状硬化の発症や進展のメカニズムの解明を“ウサギモデル”を用いて取り組んでいます。ウサギは血中の脂質代謝がマウスやラットに比べてヒトに良く似ています。高脂肪食などで脂質異常症をきたしやすく、容易に粥状硬化が形成されることから、ウサギは脂質代謝や動脈硬化の研究に適した動物モデルです。

ウサギモデルを用いて、粥状硬化への関与が疑われる遺伝子の改変・欠損を行い病態を解析することにより、ヒト動脈硬化疾患の予防や治療に応用することを目指しています。



KEYWORDS

- 動脈硬化
- 粥状硬化
- リポ蛋白代謝
- 脂質異常症
- 遺伝子改変・欠損ウサギモデル

SEEDS

- ウサギ動脈硬化モデルの作製
- 動脈硬化病変解析
- ウサギの人工授精・繁殖

医学域

山梨大学
UNIVERSITY OF YAMANASHI

中尾　篤人

教授　免疫学講座（アレルギー）

我々の研究室では、アレルギー疾患（喘息、花粉症、食物アレルギーなど）の病態を様々な視点からより深いレベルで考察し、アレルギー疾患の新しい予防や治療法を開発するためのカギとなる基礎的知見を発見することを主たる目標としています。

特にアレルギーと体内時計との関係についてここ数年間は主に研究しています。

これまでの成果として、マスト細胞が体内時計の制御を強く受けていて、その結果、アレルギー疾患の病態に顕著な時間依存性が生まれることを報告しました（J Allergy Clin Immunol 2011、2014、2016、2018, Allergy 2015、2017, Allergol Int 2023）。

最近では、 バイオインファマティクスの手法も取り入れて重症喘息患者の気道上皮細胞では体内時計リズムの乱れがあり、組織修復過程に影響を及ぼしていること（Clin Trans Allergy 2024）なども明らかにしています。

KEYWORDS

- アレルギー
- 喘息
- 花粉症
- マスト細胞
- 体内時計

SEEDS

- マスト細胞の分化誘導や解析
- マウス
- ヒト

NEEDS

- シングル細胞RNA-sequencing解析

医学域

山梨大学 UNIVERSITY OF YAMANASHI

概日時計によるアレルギー疾患制御メカニズムの解明

中村　勇規

准教授　免疫学講座（医学）

KEYWORDS

- アレルギー
- マスト細胞
- 概日時計

SEEDS

- マスト細胞のin vivo, in vitroにおける実験および解析
- 概日時計に関する実験および解析

NEEDS

- 遺伝子改変・欠損マウスの作成
- 睡眠解析・脳機能解析

我々は、アレルギー性疾患で重要な役割を果たす「マスト細胞」を「概日時計（時計遺伝子）」という新しい視点から解析し、これまで不明であった「なぜアレルギー性疾患の症状が夜から朝方にかけて増悪するのか？」という謎の一端が概日時計によって制御されることを世界で初めて明らかにしています（J Allergy Clin Immun 2011）。その後も概日時計に着目した研究を続け、マスト細胞における幾つかのClock control genes: CCGs（IgE受容体FceR I [J Allergy Clin Immun 2014, 2016]、IL-33 受容体ST2[Allergology International 2017]、カチオントランスポーターOCT3[Sci Rep 2017]）を明らかにしてきました。

今後は、①ヒトにおける睡眠障害や精神疾患におけるマスト細胞の概日時計の役割、②組織結合型と粘膜型サブセット間における概日時計の有無と役割、③寄生虫感染防御や蛇毒・蜂毒に対する解毒作用等のマスト細胞の”Good side”として知られる機能における概日時計の役割、④近年注目されている脳内マスト細胞の概日時計が脳神経活動に果たす役割などを明らかにしてしていきたいと思っております（Fig 1）。

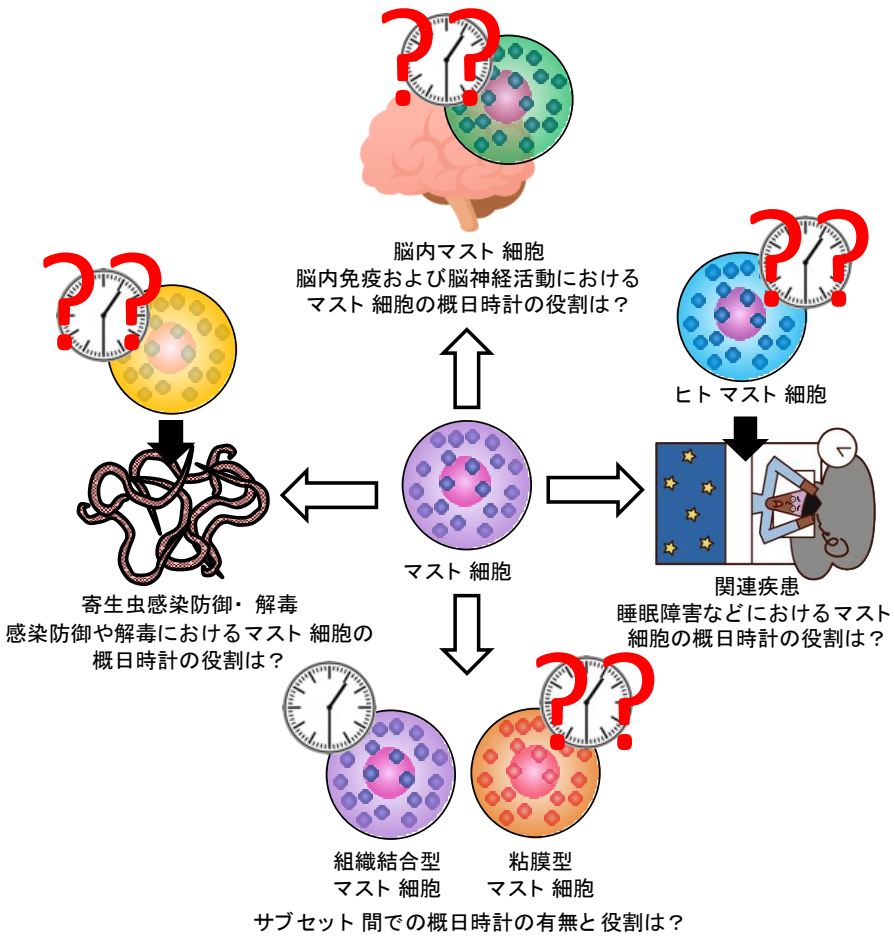


図2. 時間生物学に基づく マスト 細胞研究の今後の可能性

医学域

山梨大学 UNIVERSITY OF YAMANASHI

KEYWORDS

- 生活習慣
- アレルギー性鼻炎
- アプリケーション
- リテラシー
- PHR
- ブロックチェーン

医学域

生活習慣がアレルギー性鼻炎に与える影響に関する調査研究

菊池　桜

特任助教（クロスアポイントメント）　免疫学講座
（アレルギー性鼻炎）

令和2年度 文部科学省科学技術人材育成費補助事業「ダイバーシティ研究環境実現イニシアティブ（牽引型）」にて、クロスアポイントメント教員として、以下共同研究を担当しています。

① 生活習慣がアレルギー性鼻炎に与える影響に関する調査研究
本研究では、概日時計に影響を及ぼす日常生活因子が、アレルギー性鼻炎症状に与える影響について検討します。具体的には、食事と睡眠の2つの生活習慣の変動（ベースラインからのズレ）とアレルギー性鼻炎の症状増悪/寛解との関係性を明らかにすることを目的としています。

研究全体のアウトライン

研究対象者のアウトライン

【目標症例数】150例（※山梨県に在住する大学生・大学院生）
【方法】研究対象者の血液を採取し、スギ花粉特異的IgE値、ヒノキ特異的IgE値、スギ、ヒノキアレルゲンに対する好塩基球活性化検査を調査する。スマートフォンアプリで就寝時間、起床時間、食事開始時間、花粉症症状・投薬時間の記録を開始する。また研究者等は、甲府市、中央市におけるスギ・ヒノキ花粉飛散量、気温、湿度、気圧、日照時間を調査する。
【研究責任者】免疫学講座　石丸　かよ子 助教

② 発達障害児のメンタルヘルスの評価とその向上に関わる要因の解明
神経発達症と診断されている子どもを持つ養育者の神経発達症に関するリテラシーが、児の問題行動やメンタルヘルスに及ぼす影響を検討しています。

	研究説明・同意	検査（当日または後日）	1-2ヶ月後	
神経発達症小児	研究責任者又は研究分担者より研究説明を受け、神経発達症の代諾者から同意を得る。また、神経発達症の理解度に応じて、アセント文書で研究参加の意向を確認する。	質問紙を配布し、回答後、回収する。自宅から郵送、もしくは、後日受診時に回収することも可能である。	結果報告	300例（神経発達症小児）とその養育者
養育者				
一般対象者	同意判断を行うために必要な事項を明示し、確認欄へのチェック等により同意を得る。Web または質問紙により同意を確認する。	Web またはアンケート調査紙に回答後、回収する。	—	500例

研究実施期間：2022年3月4日～2027年3月31日

山梨大学 UNIVERSITY OF YAMANASHI

KEYWORDS

- アレルギー疾患
- マスト細胞
- 免疫学
- バイオインフォマティクス

SEEDS

- Bioinformatics Analysis
- Machine Learning Applications
- Mast Cell Culture
- Functional Assays

NEEDS

- Generation and analysis of transcriptomic data from patients with allergic conditions
- iPSC-derived mast cell culture and organoid models

医学域

山梨大学 UNIVERSITY OF YAMANASHI

Intraepithelial mast cells/Circadian clock genes in allergic disease

チャン　グェン　クオク　ブーン

特任助教　免疫学講座（免疫学とアレルギー）

My research focuses on two key areas:

1. Intraepithelial mast cells in allergic diseases (asthma)

Mast cell number are increased in the lung epithelial of asthma patients. Previous studies identified an increase of intraepithelial mast cells in asthma, which were susceptible to high-dose corticosteroids. However, using bioinformatic analysis, we found that those intraepithelial mast cells and basophils were remained. There are two important question remains to be explored:

- How mast cells are increased in the intraepithelial layer. Studies suggest IL-33 and/or TSLP may recruit mast cells to intraepithelial layer. More recent, TGF-beta signaling was also pointed out to be associated with intraepithelial mast cells. We also notice a higher TGF-beta signaling in our bioinformatic analysis. Nevertheless, the mechanisms are still uncharted.
- What are the characteristics of these mast cells and how they contributed to the disease?

Using public single cell RNA sequencing (scRNA-seq) data, we found those mast cells were different from the traditionally classified types. Additional scRNA-seq data on mast cells are essential to further characterize these cells and understand their contribution to allergic disease pathology..

2. Circadian clock genes in allergic diseases

Allergic diseases show a clear circadian rhythm in their symptoms. The links between circadian clock genes disruptions and immune functions were established. however, most studies are limited to specific clock genes or cell types, focusing on in vitro or in vivo models. Therefore, research on a larger scale, focusing on a system of circadian clock genes in allergic diseases remains missing.

Mining the public data, we have found interesting results on the differences between circadian clock genes in patients with allergic diseases and healthy subjects. However, experimental studies are needed to confirm the findings.

安達　登

教授　法医学講座（法医学）

北海道の古人骨を中心に、国内外の古人骨のDNA分析をおこなっている。特に北海道については、この研究を通じてアイヌ民族の成立の歴史を明らかにする ことを目指している。この研究のために、講座内に専用の実験設備を有しておりこうした施設は日本国内でも数カ所に限られている。
古人骨中のDNAは極めて高度に断片化し、量も極少ない場合が多い。このため、古人骨DNAの分析技術は、そのまま法医学領域の陳旧試料の分析に転用すること ができる。他機関の依頼に応じて、法医学領域で通常用いられている方法では
分析不可能な、極微量、超高度変性試料の分析もおこなっている。

KEYWORDS

- ミトコンドリアDNA
- 集団遺伝学
- 縄文
- アイヌ
- 古墳

医学域

山梨大学
UNIVERSITY OF YAMANASHI

猩々 英紀

准教授 法医学講座(法医学)

KEYWORDS

- 法科学鑑定法の開発
- 法医診断マーカー
- 脳の生活反応
- DNA解析
- 法中毒分析

SEEDS

- 免疫組織学・生化学・分子生物学的解析機器分析

NEEDS

- 法医病理診断など

医学域

法医学において科学的根拠に基づく死因や事件事故の原因究明は不可欠である。本研究者は主に以下3つの開発を行っている。

①法医診断マーカー

法医学において生活反応(出血や細胞反応などの生体反応)は損傷が生前に生成したことを示す重要な証拠である。また、免疫システムを介した生活反応の証明は、損傷機転や受傷後経過時間の解析に利用されている。ところが、免疫システムを利用した脳の生活反応の解析は殆どなかった。その理由の一つは、免疫特権領域である脳ではリンパ球のような免疫細胞の出入りはないと考えられていたためである。しかし、病態時だけでなく正常な脳でも免疫細胞が移動している可能性が示唆されている。つまり、これまで見過ごされていた免疫システムを介した生活反応のマーカーが見出される可能性がある。そこで、中枢神経免疫システムに着目し、脳内の生活反応に関する新たな法医診断マーカーの開発を行っている。

これまでに損傷脳モデル動物を用いた基礎的研究において、シナプス小胞膜タンパク質であるシナプトフィジン(SYP)が軸索損傷部位や変性神経細胞体周辺に局在する事を明らかにし、SYPは脳損傷診断マーカーとして有用である事を示した [Brain Res (2006) 1078: 198–211]。また、受傷後早期に炎症性サイトカインがマクロファージを活性化する事で炎症が生じ、神経細胞にアポトーシスが誘導されることを分子生物学的・組織学的手法を用いて明らかにした。これにより、受傷応答メカニズムと受傷後経過時間の関係を提示した [Neuroscience (2010) 171: 1273–1282]。さらに、神経炎症や消炎に関与する脳内シクロオキシゲナーゼ(COX)1および2の発現細胞や局在を明らかにし、COX発現様態解析による内因性・外傷性脳損傷鑑別法について言及した [Cell Transplant (2017) 26: 1301–1311]。また、南フロリダ大学との国際共同研究では脳卒中モデル系を用いてパーキンソン病の原因遺伝子 PARK7がコードしているDJ-1が脳虚血再灌流の診断マーカーとして有用であることを示した。また、傷害細胞から分泌されたDJ-1が神経保護に寄与することを示した [CNS Neurosci Ther (2014) 20:275–281, Neurobiol Dis (2014) 62: 56–61など]。

現在、新たに国内の大学との連携を計画している。

②DNA解析法

法医学において個人識別は重要な鑑定項目の一つである。本研究課題ではDNA解析法を用いて性別判定、ミトコンドリアDNA多型解析による出自解析の開発を行っている[Leg Med (2014) 16: 52-55, Int J Legal Med (2015) 129: 23-29, PLoS One (2015) 10: e0136995, PLoS One (2016) 11:e0158463, PLoS One (2017) 12: e0169348, Leg Med (2022) 59: 102136]。また、マクロバイオーム解析による法医試料鑑定法(唾液:口腔細菌叢、糞便:腸内細菌叢)の開発を実施している[J Forensic Sci (2011) 56: S158-61, Forensic Sci Int Genet (2013) 7: 176-179]。

③法中毒分析法

合成カンナビノイド、カチノン誘導体、合成オピオイドなどの違法な精神活性物質が世界中で脅威となっている。本研究課題ではこれら合成乱用薬物の同定および定量分析法の開発を行っており、山梨県警察科学捜査研究所との共同研究である[Forensic Toxicol. (2018) 36(1): 81-87, Forensic Toxicol (2019) 37: 27–33, Forensic Sci Int (2021) 325:110888など]。

山梨大学 UNIVERSITY OF YAMANASHI

堀田　哲也

特任助教　法医学講座（法医学）

法医学講座の主な業務の一つに法医解剖がある。解剖での死因究明にあたって、ご遺体の死因が稀な疾患や、複雑な受傷機転等である場合がある。その場合に症例について詳細に調査し、学会発表や症例報告を行うことで、死亡機序の周知や、予防に繋げる。

KEYWORDS

■ 症例

医学域

山梨大学
UNIVERSITY OF YAMANASHI

古代DNAを対象とした分子人類学、海洋生物

角田　恒雄

特任助教　地域医療学･総合診療学講座

KEYWORDS

- 古代DNA
- ミトコンドリアDNA
- 人類学
- 海生哺乳類

1　通常実務

法医学講座員の業務として、法医解剖となった検体の簡易分析を行っている。

① 火災などが関連した検体の場合、一酸化炭素が主原因となったかを迅速に調査するため、血中一酸化炭素濃度の簡易測定を行い、解剖医へ迅速に報告を行う。

② 各種薬物の影響が考えられる検体の場合、簡易検査キットを用いて尿中の薬物濃度判定を行い、解剖医への報告を行う。

③ 検体が水辺や水中で発見された場合、溺水が原因であるかどうかの判断のため、肺組織の壊機試験（プランプT検査）を行う。肺組織を強酸で完全に溶解し、残渣内のプランクトンの有無とその量を確認する。また、検出されたプランクトンが、検体の発見された場所と同相かどうかも確認し、解剖医への報告を行う。

2　研究活動

個人の研究活動として、歴史的遺跡などから発掘された古人骨や動物依存体を対象として古代DNAを抽出し、古代人や古代生物の遺伝的変遷を考察を行っている。

① 古人骨ー 我が国の先史時代から近代までの遺跡出土骨を対象とし、我々日本人集団の出自や形成、その変遷を考察する。分析にあたり、上記研究メンバーとともに日本各地やアンデスの遺跡骨を対象としている。

② 遺跡出土動物骨ー 主に遺跡から出土する海生哺乳類の骨から古代DNAを抽出し、現生種と比較することで、対象動物の個体群動体、集合離散、歴史的変遷を遺伝情報から推定する。

医学域

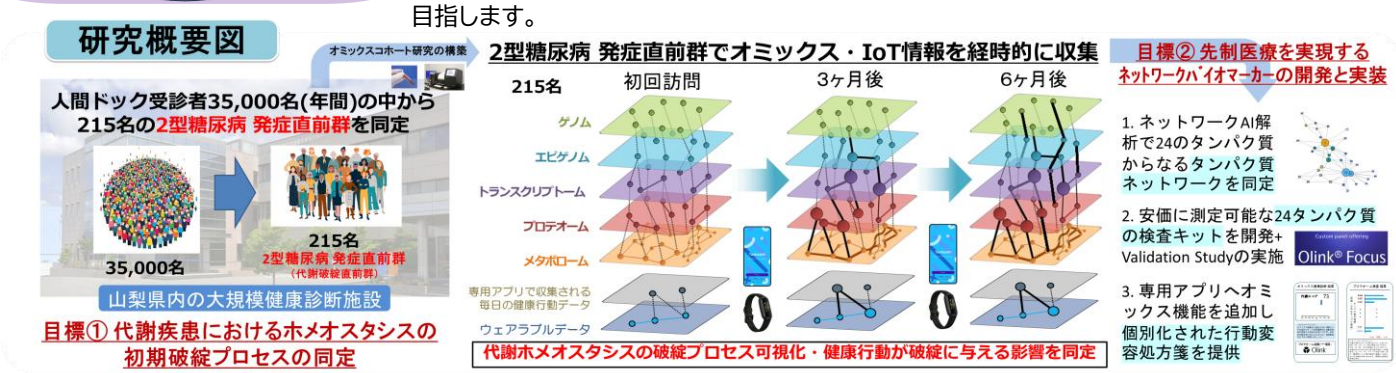
山梨大学
UNIVERSITY OF YAMANASHI

AIとオミックス情報の融合による先制医療の社会実装への挑戦

大岡　忠生

講師　社会医学講座（疫学・公衆衛生）

オミックス情報と呼ばれる、遺伝子やたんぱく質、代謝物といった人間の生体情報を血液から網羅的に収集し、人工知能を用いた統合的な解析を行う事で、がんや生活習慣病の発症をいち早く検知し、病気の発症自体を予防出来る可能性があります。本研究では、実際の健康診断施設を活用して健康な人々から網羅的にオミックス情報を収集し、統合解析することで様々な病気を発症前に制御する先制医療（先んじて病気を制する医療）の新たなフレームワークを開発し、それらを社会実装する事であらゆる病気を未然に防ぐ、未来の医療システムの実現を目指します。



SEEDS　医療・疫学分野におけるAI/機械学習の利用、オミクス解析

① 医療・疫学分野におけるAI・機械学習の利用

大岡は医学部卒業後、病院での初期研修医を経て、統計数理研究所においてAI/機械学習の疫学データ適用に関する共同研究（情報・システム研究機構 統計数理研究所　公募型研究　重点テーマ2; 2018-2020）のチームリーダーを務め、AI/機械学習を活用した疾患発症予測モデルの開発を実施してきました（博士号も同テーマで取得）。そのため、医師として医療・疫学分野における知見を踏まえながら、数理モデル・AI技術についての研究や開発を行うことが出来、それらの強みを活かして今まで医療・疫学分野とAI・数理モデル間のTranslational Researchを推進してきました。大規模健康診断データを用いた疾患発症・検査結果を予測するAI・機械学習モデルの開発[1]や解釈性の高いモデルの活用を得意とします。

② AI・機械学習を活用したマルチオミックス解析

大岡は上記研究を実施するなかで、「人間の健康状態を数理モデルやAIで表現することが出来ないか」という疑問が浮かびました。その中で、体内の生体分子の集合体であるオミックス情報とAI・機械学習を融合することでそれを実現できる可能性に気づき、Harvard大へ留学して（2021-2023年）オミックス情報とAIを融合させて病態解明に迫るSystems Epidemiologyの研究を実施しました。特に最近では、Microsoft社とも協力し多層のオミックス情報を画像化することで、Deep Learningや生成AIへの融合を容易にする技術[2]を確立しました。

③ 研究の社会実装・ビジネス展開

大岡は上記留学中に、「日本の健康診断の仕組みに、オミックス情報やIoT情報を収集するシステムを導入できれば、世界に先駆けてバイオデジタルツインを実現できる」という発想を得ました（バイオデジタルツインは右パネル参照）。大岡は留学前に、将来の健診結果を予測し健康行動を最適化する「**AI健診予測表**」[3]を開発し、留学と並行して健康診断施設への社会実装・ビジネス展開をしていました。現在は、これをアプリ化したうえで、オミックス検査やIoTデバイスとの連携機能を追加し、並行して健康診断施設が導入しやすい**安価なオミックスバイオマーカー**を開発しています（本創発事業）。日本の健康診断の仕組みを活用して、世界最大のオミックス・IoTコホートを構築することで、医療/創薬研究を飛躍させるバイオデジタルツインをここ日本から実現したいと考えています。

GOAL　世界最大のオミックス・IoTコホート構築によるバイオデジタルツインの実現

バイオデジタルツインとは、人間の健康状態をクラウド上で再現することであり、その実現が医療や創薬の飛躍的促進に繋がることが期待されます。数百万人規模の経時的なオミックス・ウェアラブル情報を用いることでこれを実現できる可能性があります。世界でも有数の日本の健康診断・各地域のコホート研究・バイオバンクの仕組みにオミックス・IoT情報の収集システムを組み込み、アジア・欧米へ国際展開をしていくことで世界最大のオミックス・IoTコホートの構築、そしてそれらのデータを土台にしたバイオデジタルツインの実現を目指します。

NEEDS　AI・バイオ・創薬・代謝栄養

バイオデジタルツイン実現には、大規模コホート研究の構築のほか、経時的に変化する人間の健康状態を再現する数理モデル・AI技術の確立、それらのモデルを用いて疾患病態の理解や新薬の開発に繋げるバイオ・創薬技術の確立、未病段階の疾患を薬に頼らず適切な健康行動・行動変容により制御する代謝機構の解明や栄養戦略の検討が必要であり、これらの分野における気鋭の研究者との連携を熱望しています。

✔山梨マルチオミックスコホート（YMoC）の構築
✔コホート研究用 健康記録アプリ「Taohealth」の開発

Taohealthアプリ（AMED予防・健康づくりの社会実装に向けた研究開発基盤整備事業: 24le0110028h0002）は、健康診断やコホート研究において入手することが難しい、受診/訪問間での対象者の日常健康行動を無理なく記録することを可能にするスマホ用アプリケーション（iOS/Android）です。

KEYWORDS

- 糖尿病
- 内分泌
- インフルエンザ
- 小児の成長
- レセプト
- 健診

SEEDS

- 大規模データの解析と論文執筆
- 1型・2型糖尿病患者の研究

NEEDS

- 遺伝子データの解析技術
- 大規模データの貸与
- AIを用いた解析技術

医学域

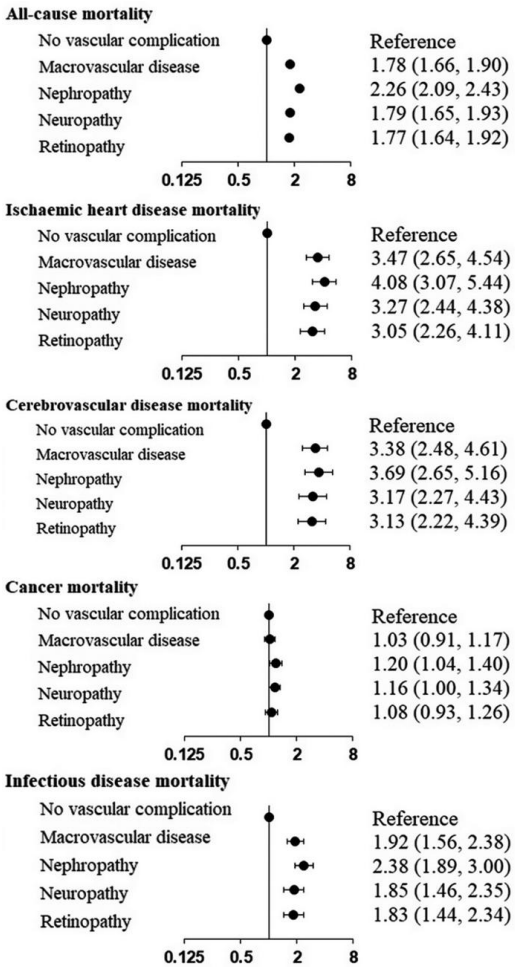
山梨大学 UNIVERSITY OF YAMANASHI

1型・2型糖尿病、小児の成長、肥満、ワクチン・インフルエンザの疫学

横道　洋司

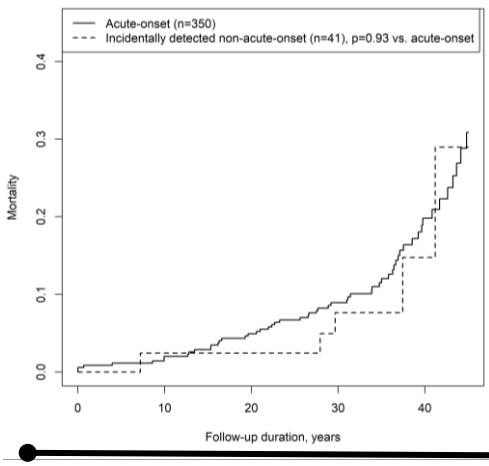
教授　疫学・環境医学講座（疫学・公衆衛生学）

- 規模・大規模なリアルワールドデータを解析し、様々な分野で論文を執筆しています。
- 様々な統計学的手法を用いて、データ内の変数間の関連を見出します。
- 発表した論文の一部は、日本の臨床医師が診療する際のガイドラインに引用されています。



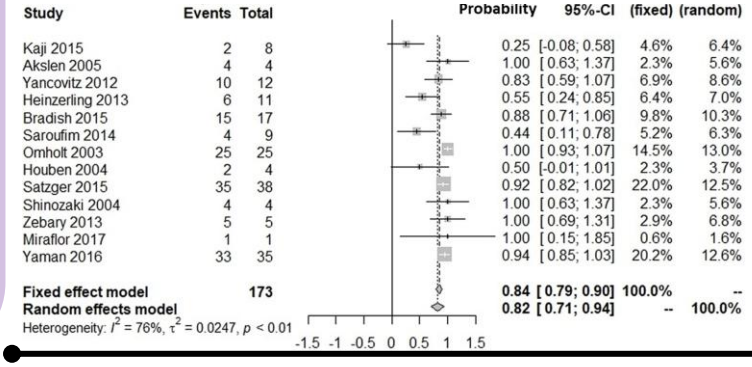
解析例1　Biobank Japanデータにおける2型糖尿患者の血管合併症ごとの死因別ハザード比．糖尿病性腎症患者で虚血性心疾患・脳血管疾患・感染症死亡のハザード比が高いが、がん死亡に関して血管合併症間に差はない。

Endocrinol Diabetes Metab 2020



解析例2　1型糖尿病患者の死亡率．急性発症型と緩徐進行型の死亡率はほぼ同等である。

Clin Pediatr Endocrinol 2025



解析例3　代表的な皮膚がんであるメラノーマで原発巣にBRAF変異がある場合に転移巣にもBRAF変異がある割合についてのメタアナリシス．82%の症例で転移巣にもBRAF変異がある。皮膚悪性腫瘍ガイドライン第3版メラノーマ診療ガイドライン2019に引用された。

JMA J 2020

先制医療の実現に向けたDOHaD分子メカニズムの解明

三宅　邦夫

准教授　疫学・環境医学講座（分子疫学）

DOHaD（Developmental Origins of Health and Diseases）とは、“胎児期や乳児期の環境要因が、成長後の健康や様々な疾病の発症リスクに影響を及ぼす”という概念

KEYWORDS

- DOHaD
- エピジェネティクス
- 腸内細菌叢
- 遺伝子多型
- 出生コホート

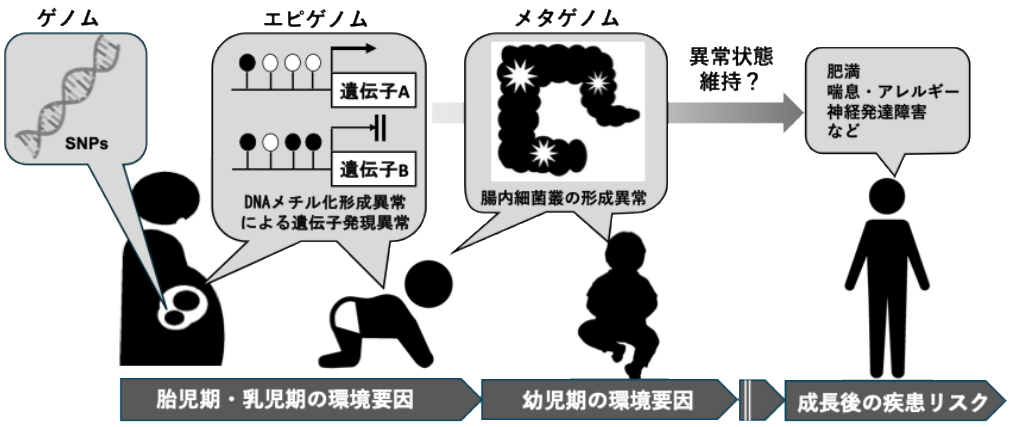
SEEDS

- DNAメチル化解析
- X染色体不活化解析
- SNPs解析
- 腸内細菌叢解析
- 統計解析　など

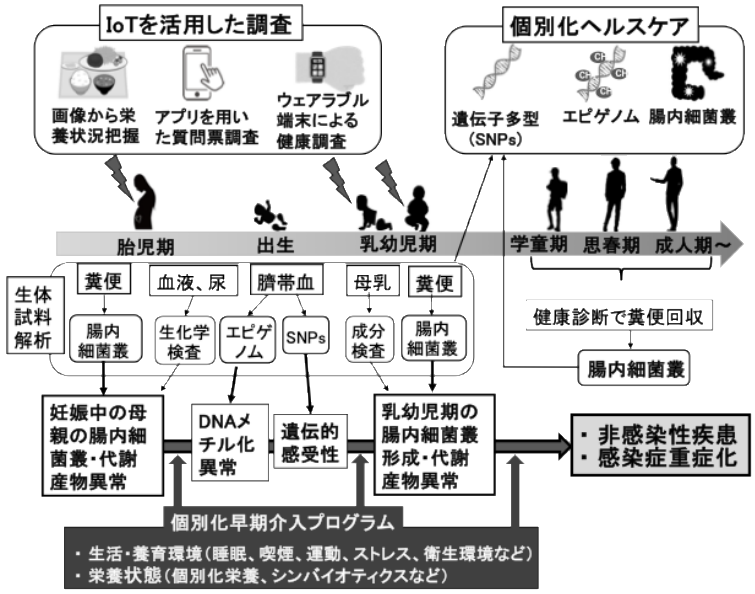
NEEDS

- 母子保健
- 栄養分野
- 食品開発
- IoTデバイス
- アプリ開発など

DOHaD仮説に基づいた遺伝・環境要因と疾患リスク分子メカニズムの解明



将来展望：DOHaD概念に基づいた次世代出生コホート研究と先制医療の実現



医学域

山梨大学 UNIVERSITY OF YAMANASHI

下野　寿之

助教　疫学・環境医学講座

KEYWORDS

- 数理モデル
- 統計学
- ビッグデータ
- データサイエンス

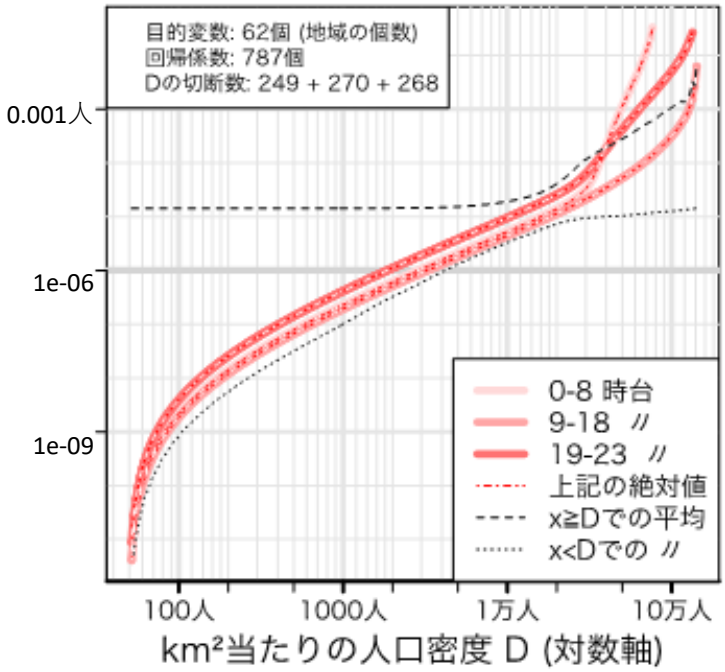
SEEDS

- 統計学
- 数式処理
- プログラミング
- 数理モデル
- セキュリティを考慮したビッグデータの処理・可視化

NEEDS

- 高度な数理的背景を要するデータ分析に基づく社会で最も難しい問題の解決

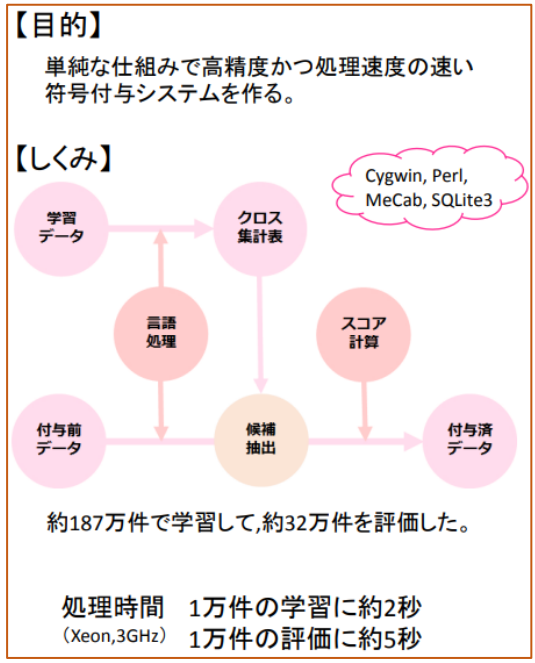
1時間で1000人中何人が感染するか



2020年5月24日～6月13日の感染者数を5月17日～6月6日の人流より推測。

第1波が収まった直後のある3週間を、1週間前にずらした3週間のデータから推測した。

[別研究（途上）] ↓



多数のReLu関数の線形結合によるリッジ回帰(L2正則化)により、2020年のある時期、東京都の62個の自治体の住民が、3個の時間帯別に、どれだけの人で密集した場所に出向いたか(500㍍メッシュ)に基づいて、新型コロナの感染者数を予測した。

その結果、深夜過ぎの時間(0時以降)に、3万人/km²を超える人が集まった場所に足を踏み入れたのべ時間(殆どの人はその地域に足を踏み入れてはいない)が、他の場合の条件に比べても、感染者数の予測に桁違いに強く効くことが分かった。

https://www.nstac.go.jp/sys/files/static/services/society_paper/27_11_01.pdf
欧州連合での政府統計の会議NTTS2017でポスター発表。

[その他] Perl言語で作成したコマンドラインによるプログラムで公式サイト(MetaCPAN)に公開した個数が、世界3番目に多い。データの整理や加工において、データクレンジング(データ前処理とも言う)は非常に時間のかかりがちだが、極めて迅速に加工するための様々な便利で巧みな機能を多数提供することで、この状況を打破する。

医学域

山梨大学 UNIVERSITY OF YAMANASHI

資源の限られた国での新生児ケア質改善

堀内　清華

助教　疫学・環境医学講座（国際保健、母子保健）

KEYWORDS

- 医療の質
- 新生児ケア
- 介入研究

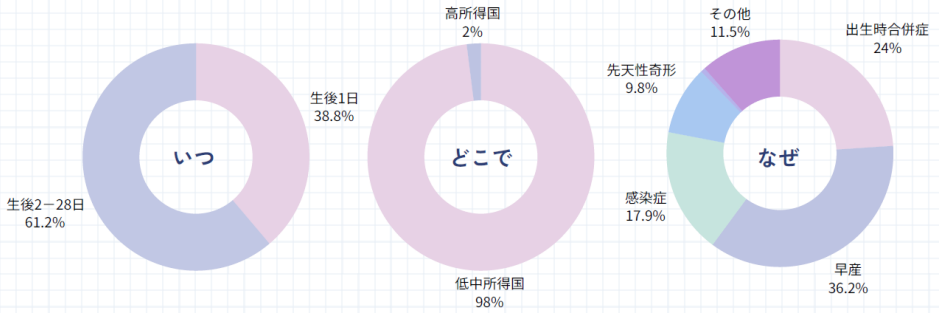
SEEDS

- 疫学

NEEDS

- 質的研究
- 臨床統計
- 医療経済学

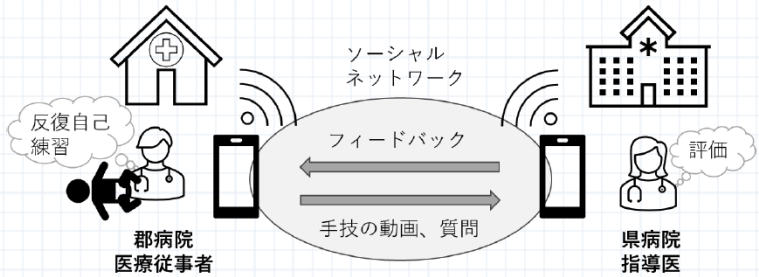
世界で毎日6500人の新生児が亡くなっている



新生児死亡は適切な医療ケアによって予防することができる。

Perin J, et al, Lancet Child Adolesc Health, 2022

モバイル遠隔モニタリング指導によって継続的に新生児ケアの訓練を行う



ラオス国の関係機関と協力することで実践的なモデル構築が可能に

ラオス国の郡病院においては、新生児ケアの質を維持することが課題となっている。本研究では、新生児ケアの質を継続的に向上させるための反復自己練習とモバイル遠隔モニタリングという新たな仕組みが、医療従事者の知識・スキル、および新生児の健康アウトカムに与える効果を、クラスター無作為化比較試験によって検証する。

医学域

山梨大学
UNIVERSITY OF YAMANASHI

リゾホスファチジン酸（LPA）シグナルと各種疾患

兼平　雅彦

准教授　総合分析実験センター
（腫瘍生物学、実験動物学、疾患モデル学）

KEYWORDS

- リゾホスファチジン酸（LPA）
- 間葉系幹細胞
- 細胞老化
- がん

SEEDS

- 間葉系幹細胞の樹立・培養
- 細胞老化の評価
- 各種疾患モデルの樹立・解析

NEEDS

- 各種疾患の動物モデルの樹立・解析のための臨床検体の提供

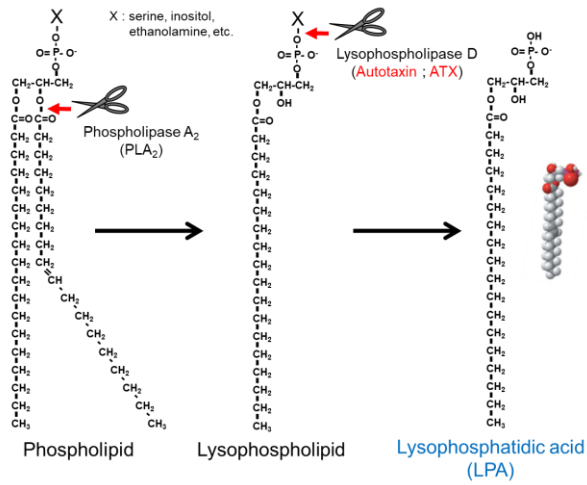


図1 リゾホスファチジン酸（LPA）は細胞膜の脂質二重層を構成するリン脂質から合成される脂質メディエーターである。

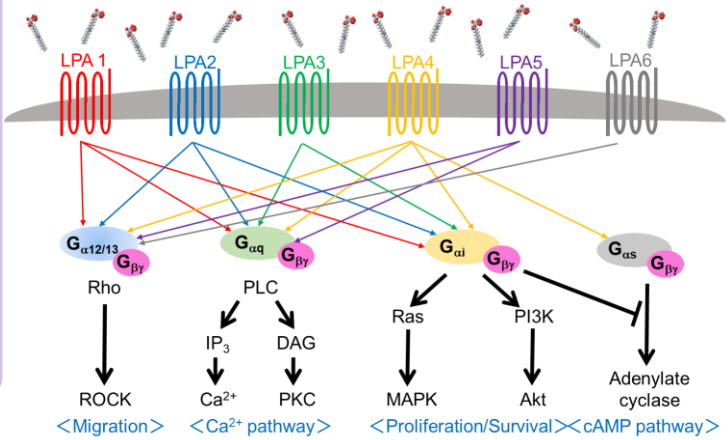
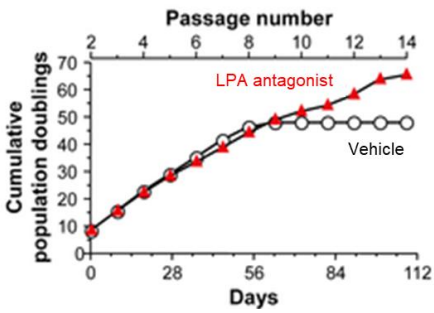


図2 LPA受容体は、Gタンパク共役型受容体であり、これまでに6種類同定されている（LPA1-6）。



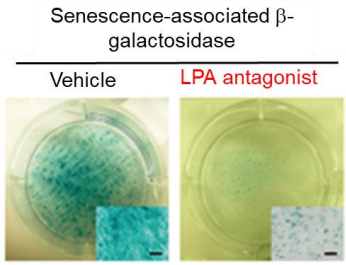
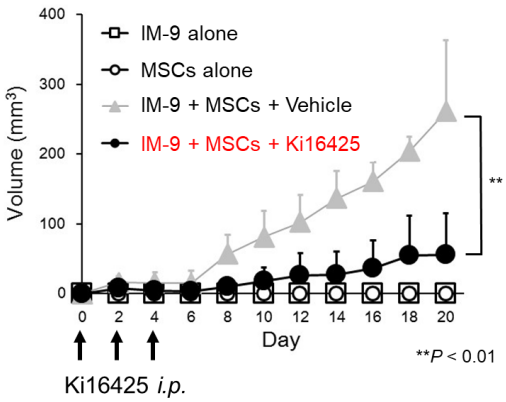


図3 骨髄由来間葉系幹細胞（BMMSCs）において、LPAシグナルを阻害することで、細胞分裂回数の延長（左図）、およびSA-b-gal活性の低下（右図）が認められた。

LPAシグナルを阻害することで、細胞老化の進行を抑制することができる！



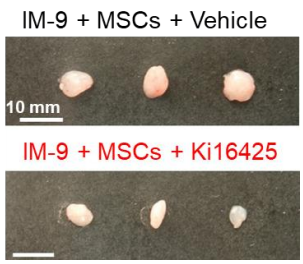


図4 BMMSCsと骨髄腫細胞を混和してヌードマウスの皮下へ接種することで、多発性骨髄腫のマウスモデルを作出した。LPAシグナルの阻害により、多発性骨髄腫の進展が有意に抑制された。

多発性骨髄腫は加齢とともに発症率が増加する疾患である。

LPAシグナルの阻害は、加齢に伴う各種疾患の予防に繋がる可能性！

有用資源活用のための新しい個体産生技術の開発

長友　啓明

講師　総合分析実験センター　資源開発分野
（発生工学、繁殖学）

KEYWORDS

- 初期胚発生
- 体細胞クローン
- ゲノム編集

SEEDS

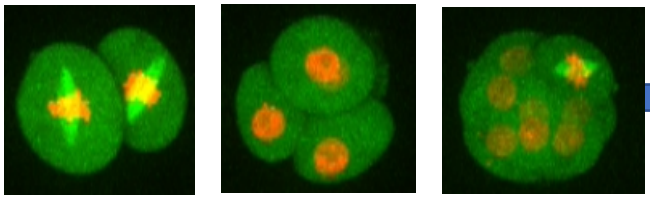
- 体細胞クローン作製
- ゲノム編集マウス作製
- ES細胞の樹立

NEEDS

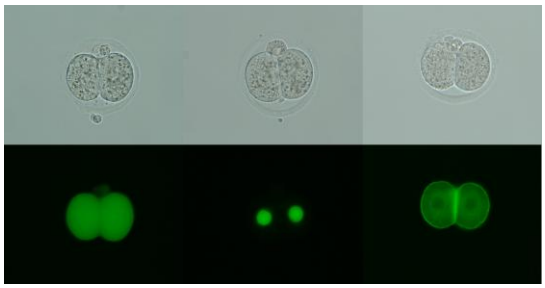
- バイオインフォマティクス的解析技術
- 一細胞の硬さなどを計測する技術

【研究目的】
個体産生技術は現在の基礎研究において必須であり、遺伝子改変動物の作製や異種間キメラ動物など様々な応用が試みられている。また、家畜の安定的な生産や、不妊治療の現場においても不可欠な技術であり、今後より発展していくものと考えられる。また、絶滅動物の復活や、貴重な遺伝資源の保存のためにもさらなる新しい技術が必要とされているため、ゲノム編集技術なども含めて、新しい個体産生技術の開発に取り組んでいる。

発生メカニズムの調査



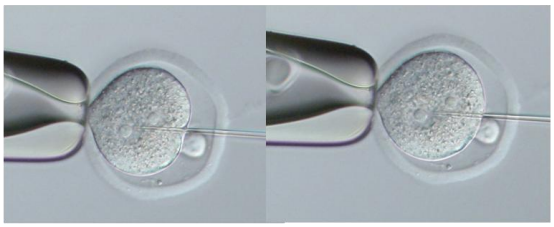
蛍光タンパクと目的タンパクを融合させ、mRNA注入後に、経時的観察により初期胚発生における細胞内メカニズムを調査



外来より導入した遺伝子を発現させて、凍結耐性能を高めた2細胞期胚

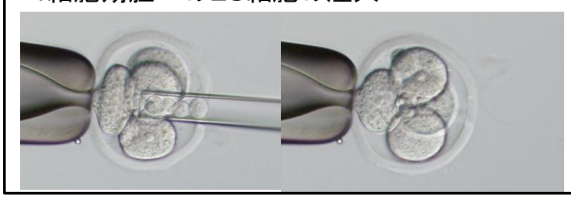
マイクロマニピュレータを用いた種々の胚操作

DNA前核注入操作（遺伝子組み換え動物の作製）



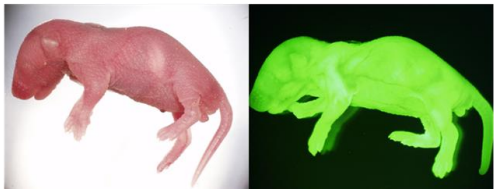
顕微授精操作（精子の生死は問わない）

4細胞期胚へのES細胞の注入



胚移植

遺伝子組み換え技術で作製した光るマウス



樹立したES細胞由来のキメラマウス

遺伝子組換マウスの異なる遺伝子背景の違いに起因する免疫反応の解析

伊藤　禎洋

助教　総合分析実験センター
（実験動物学、分子生化学）

ES細胞を用いて作成されたSapノックアウトマウスは、背景になる系統によって免疫反応が異なる。取り込んだSap遺伝子近傍の遺伝子が、異なった系統でどのような働きをするか解析する。

KEYWORDS

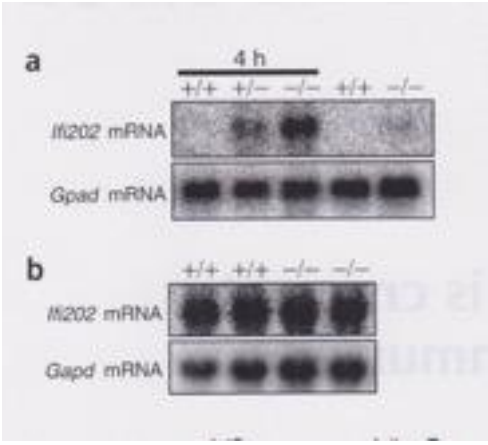
- マウス系統差
- 抗核抗体値
- Sap -KOマウス

SEEDS

- マウス胚・精子凍結・融解
- マウス人工授精
- クリーニング

NEEDS

- ゲノム解析
- 自然免疫の解析



SAP-KOマウス（C57BL/6背景）をLPS刺激すると、4時間後の脾臓においてIfi202のmRNAが、ノックアウト領域に依存して増大した。しかし、SAP-KOマウスに別系統C3H/Heを掛け合わせで導入すると、ノックアウト領域依存性は消失した。

図1 Ifi202mRNAはSAP-KOマウス系統に影響される

表1. Sap遺伝子近傍の免疫、造血、働きが不明な遺伝子

Chromosom	Start	End	cM	strand GRCm3	MGI	Feature Type	Symbc	Name
1	147249520	169211344			MGI:2387104	QTL	Nidd3k	Nidd3 on KK-A<y>
1	147249520	189251027			MGI:2687238	QTL	Hbnr4	Heligmosomoides bakeri nematode resistance 4
1	150317922	188627115			MGI:3042880	QTL	Splq5	spleen weight QTL 5
1	152919071	186706423			MGI:5644314	QTL	Nba10	New Zealand Black autoimmunity 10
1	156774467	189571420	67.71		MGI:2656541	QTL	Lmr8	leishmaniasis resistance 8
1	164315658	190802075			MGI:2669988	QTL	Berr1	berghei resistance locus 1
1	168358674	171804689	76.25		MGI:2681136	QTL	Nktcn1	natural killer T cell numbers 1
1	168358674	170239759	74.86		MGI:1931842	QTL	Sle1a	systematic lupus erythematosus susceptibility 1a
1	169211172	169211344	76.73		MGI:105971	QTL	Lbw7	lupus NZB x NZW 7
1	169211172	169211344	76.73		MGI:2151890	QTL	Cgnz1	chronic glomerulonephritis in NZM 1
1	169211172	177550021	76.73		MGI:3531330	QTL	Sle16	systematic lupus erythematosus susceptibility 16
1	169655501	169695813	76.84	+	MGI:1098434	protein coding gene	Rgs5	regulator of G-protein signaling 5
1	169741477	169747642	76.84	-	MGI:108409	protein coding gene	Rgs4	regulator of G-protein signaling 4
1	170232749	170253608	76.84	+	MGI:3622649	protein coding gene	Sh2d1b2	SH2 domain containing 1B2
1	170277320	170286769	76.84	+	MGI:1349420	protein coding gene	Sh2d1b1	SH2 domain containing 1B1
1	170907273	170912941	77.56	-	MGI:3576487	protein coding gene	Fcrlb	Fc receptor-like B
1	170917576	170927583	77.65	-	MGI:2138647	protein coding gene	Fcrla	Fc receptor-like A
1	170958617	170976547	78.02	-	MGI:95499	protein coding gene	Fcgr2b	Fc receptor, IgG, low affinity IIb
1	170958617	170976547			MGI:1890622	QTL	Cia9	collagen induced arthritis QTL 9
1	171018920	171029761	78.53	+	MGI:2179523	protein coding gene	Fcgr4	Fc receptor, IgG, low affinity IV
1	171051174	171064935	78.8	-	MGI:95500	protein coding gene	Fcgr3	Fc receptor, IgG, low affinity III
1	171150711	171161130	79.05	+	MGI:103177	protein coding gene	Mpz	myelin protein zero
1	171229572	171234365	79.23	-	MGI:95496	protein coding gene	Fcer1g	Fc receptor, IgE, high affinity I, gamma polypeptide
1	171281945	171287991	79.3	-	MGI:1353665	protein coding gene	Usp21	ubiquitin specific peptidase 21
1	171329145	171342331	79.34	+	MGI:1333874	protein coding gene	Dedd	death effector domain-containing
1	171437535	171464603	79.43	+	MGI:1321398	protein coding gene	F11r	F11 receptor
1	171559193	171609746	79.52	+	MGI:109294	protein coding gene	Cd244	CD244 natural killer cell receptor 2B4
1	171588624	171607410	79.54	-	MGI:96885	protein coding gene	Ly9	lymphocyte antigen 9
1	171632403	171653035	79.54	-	MGI:1922595	protein coding gene	Slamf7	SLAM family member 7
1	171682009	171705258	79.54	+	MGI:88339	protein coding gene	Cd48	CD48 antigen
1	171767127	171801184	79.54	+	MGI:1351314	protein coding gene	Slamf1	signaling lymphocytic activation molecule family member 1
1	171839697	171890718	79.54	+	MGI:1336885	protein coding gene	Cd84	CD84 antigen
1	171917515	171953170	79.54	+	MGI:1353620	protein coding gene	Slamf6	SLAM family member 6
1	172066013	172082795	79.54	-	MGI:1891700	protein coding gene	Ncstn	nicastrin
1	172209894	172219868	79.54	-	MGI:1309468	protein coding gene	Casq1	calsequestrin 1
1	172581758	172590568	79.99	-	MGI:1921998	protein coding gene	Slamf8	SLAM family member 8
1	172698055	172833031	80.13	+	MGI:88512	protein coding gene	Crp	C-reactive protein, pentraxin-related
1	172893961	172895041	80.33	-	MGI:98229	protein coding gene	Apcs	serum amyloid P-component
1	173004198	173004325	80.33		MGI:2661242	QTL	Cd8mts1	CD8 T memory cell subset 1
1	173221284	173227214	80.33	-	MGI:95494	protein coding gene	Fcer1a	Fc receptor, IgE, high affinity I, alpha polypeptide
1	173331886	173333750	80.33	-	MGI:1097689	protein coding gene	Ackr1	atypical chemokine receptor 1 (Duffy blood group)
1	173350879	173466040	80.33	+	MGI:2686159	protein coding gene	Aim2	absent in melanoma 2
1	173747293	173766943	80.63	-	MGI:96429	protein coding gene	Ifi204	interferon activated gene 204
1	174172776	174248450	80.97	+	MGI:98385	protein coding gene	Spta1	spectrin alpha, erythrocytic 1
1	174628733	174628870	81.08		MGI:1346066	QTL	Gvhd1	graft-versus-host disease 1
1	174833785	174921819	81.08	-	MGI:1344367	protein coding gene	Grem2	gremlin 2, DAN family BMP antagonist
1	175641251	175641372	81.63		MGI:2148991	QTL	Yaa4	Y-linked autoimmune acceleration QTL 4
1	175641251	175641372	81.63		MGI:2149094	QTL	Sle9	systematic lupus erythematosus susceptibility 9
1	175880581	175913489	81.9	+	MGI:1349427	protein coding gene	Exo1	exonuclease 1
1	177020073	177258203	82.66	-	MGI:1345147	protein coding gene	Akt3	thymoma viral proto-oncogene 3