

革新的先端研究開発支援事業

「プロテオスタシスの理解と革新的医療の創出」

研究開発領域

令和2年度採択ユニットタイプ（AMED-CREST）研究開発課題

中間評価結果

革新的先端研究開発支援事業

「プロテオスタシスの理解と革新的医療の創出」

研究開発領域

課題評価委員会

※本報告書内の所属・役職は課題評価時

# 目次

## I. 概要

### 1 研究開発領域の概要

### 2 評価の概要

#### (1) 評価会の実施時期

#### (2) 評価委員一覧

#### (3) 評価項目

## II. 課題別評価結果

### 令和2年度採択研究開発課題 研究開発代表者

1 岩崎 信太郎 (理化学研究所 開拓研究本部)

2 遠藤 斗志也 (京都産業大学 生命科学部)

3 鈴木 匡 (理化学研究所 開拓研究本部)

4 松田 憲之 (東京医科歯科大学 難治疾患研究所)

5 森 和俊 (京都大学 大学院理学研究科)

## I. 概要

## 1. 研究開発領域の概要

本研究開発領域は、タンパク質が翻訳され生成してから、最終的に分解を受けるまでの分子基盤の理解に基づいて、タンパク質が最終的に不可逆的方向へ向かう変性・凝集・分解反応や、タンパク質の機能に不可逆的な影響を及ぼす翻訳後修飾について、生化学的・構造生物学的なアプローチで得られたエビデンスを駆使して構造・機能相関を明らかにし、様々な疾患を生じる分子背景を解明し、将来的に医療シーズや健康維持に資するシーズを創出することを目指します。対象となる疾患は、神経変性疾患や精神疾患、難治性がん、慢性炎症疾患、アミロイドーシス、線維症、希少疾患、感染症、動脈硬化や糖尿病等生活習慣病等が考えられますが、これらに限定されるものではなく、老化や健康状態からの逸脱も対象となります。また、タンパク質や糖鎖研究分野のみならず、構造生物学、免疫、代謝、神経系等の基礎・臨床研究者や、分析化学、バイオインフォマティクス等の異分野から参画いただき、互いの分野の強みを生かして切磋琢磨することで、世界的に独自性の高い研究開発を推進します。

## 2. 評価の概要

### (1) 評価の実施期間

研究開発予定期間が5年以上を有する課題について、研究開始後3年程度を目安として実施(5年未満の研究についても、研究開発総括及びAMEDの方針に基づき実施。)

### (2) 課題評価委員一覧

足立 健	防衛医科大学校 医学教育部医学科 教授
稲田 利文	東京大学 医科学研究所 教授
岩井 一宏	京都大学 プロボスト 理事・副学長
加藤 晃一	自然科学研究機構 生命創成探究センター 教授
◎木下 タロウ	大阪大学 感染症総合教育研究拠点 特任教授
清水 律子	東北大学 大学院医学系研究科 教授
鈴木 蘭美	モデルナジャパン株式会社 プレジデント 代表取締役
田中 啓二	東京都医学総合研究所 理事長
藤本 豊士	順天堂大学 大学院医学研究科 特任教授
三善 英知	大阪大学 大学院医学系研究科 教授
山田 尚文	中外製薬株式会社 取締役 上席執行役員

※◎委員長

### (3) 評価項目

本評価委員会においては、以下の評価項目に基づき総合的に評価が実施された。

#### ①研究開発進捗状況

- ・研究開発計画に対する進捗状況はどうか

#### ②研究開発成果

- ・成果が着実に得られているか
- ・当初計画では想定されていなかった新たな展開やそれによる成果が得られているか
- ・成果は、科学技術上のインパクト、国内外の類似研究と比較した際のレベルや重要度などの点で、質的に高いものであるか
- ・成果は医療分野の進展に資するものであるか
- ・成果は新技術の創出に資するものであるか
- ・成果は社会的ニーズに対応するものであるか
- ・成果は研究開発目標の達成に貢献し、社会的なインパクトを与えるものであるか
- ・必要な知的財産の確保がなされているか

#### ③実施体制

- ・研究開発代表者を中心とした研究開発体制が適切に組織されているか
- ・ユニットタイプについては、研究開発分担者を置いている場合は、十分な連携体制が構築されているか
- ・国内外の研究者や臨床医、産業界等との連携によるネットワーク形成がなされているか
- ・研究開発費は効率的・効果的に使用されているか  
(研究開発費に見合う研究成果が得られているか、今後得られることが見込まれるか)

#### ④今後の見通し

- ・今後研究を進めていく上で問題点はないか
- ・問題点がある場合は、研究内容等の変更が必要か
- ・その際にはどのように変更又は修正すべきか
- ・今後の研究開発計画は具体的で、明確な目標が設定されているか

#### ⑤事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目

- ・生命倫理、安全対策に対する法令等を遵守しているか (※)
- ・ユニットタイプについては、若手研究者のキャリアパス支援が図られているか
- ・専門学術雑誌への発表並びに学会での講演及び発表など科学技術コミュニケーション活動（アウトリーチ活動）が図られているか
- ・計画の見直しが必要か
- ・中断・中止等の措置が必要か (※)

#### ⑥総合評価

- ①～⑤を勘案しつつこれらと別に評点を付し、総合評価を行う。

## II. 課題別評価結果

## ユニットタイプ研究開発課題別中間評価結果

### 1. 研究開発課題名：

神経変性疾患におけるアグリゲーションと翻訳の陰陽

### 2. 研究開発代表者名及び研究開発分担者名：

研究開発代表者

岩崎 信太郎 (理化学研究所 開拓研究本部 主任研究員)

研究開発分担者

池内 与志穂 (東京大学 生産技術研究所 准教授)

伊藤 拓宏 (理化学研究所 生命機能科学研究センター チームリーダー)

築地 仁美 (愛知学院大学 薬学部 教授)

### 3. 中間評価結果

本研究開発において、神経変性疾患では統合ストレス応答(ISR)と呼ばれる反応が慢性的に生じ、翻訳異常が誘導されることに注目し、ISRを阻害する低分子化合物ISRIBの作用機序について、生化学的解析および構造解析により明らかにした。ISRIBよりさらにISR阻害効果の高いウイルス由来タンパク質NSsについても生化学的解析、構造解析、リボソームプロファイリング法、神経細胞を用いた解析等を駆使し、NSsが翻訳開始因子eIF2Bに結合することで、ISRを抑制するという作用機序を明らかにした。さらに神経変性疾患の病態モデルマウスを用いて、NSsのin vivoでの効果を検証した。また、神経軸索局所でのリボソームプロファイリングを行うための微量化、多検体化の独自技術を確立した。

リボソームプロファイリング法の改良など基盤技術の整備と応用が順調に進展しており、現時点で、十分な成果発表や知財の確保がなされている。適切な研究分担者を追加するとともに、国内外の多くの研究者(領域内研究者や企業、臨床医を含む)と強力な連携体制を構築しており、臨床展開を視野に入れている点も評価できる。若手研究者のキャリアパスやアウトリーチ活動にも十分な取り組みがなされている。神経軸索局所でのリボソームプロファイリングを行うための微量化、多検体化の独自技術の確立、ISRを抑制するISRIB及びNSsの作用機序の解明などの成果が挙げられている。

一方で、医療分野への応用面ではドラッグデリバリーなどを含めて未解決の部分がある。クライオトモグラフィーによるin situ観察の進展にも期待したい。神経軸索局所で生じる翻訳とその脱制御のメカニズムを解明し、神経変性疾患との関連を明らかにするという中心的な課題については、新たに開発した高感度測定法による今後の進展に期待したい。

以上より、当初計画に照らして優れた成果が得られていると言える。

## ユニットタイプ研究開発課題別中間評価結果

### 1. 研究開発課題名：

タンパク質の交通が制御するミトコンドリアプロテオスタシスの解明

### 2. 研究開発代表者名及び研究開発分担者名：

研究開発代表者

遠藤 斗志也 (京都産業大学 生命科学部 教授)

研究開発分担者

岡 敏彦 (立教大学 理学部 教授)

田村 康 (山形大学 理学部 教授)

### 3. 中間評価結果

本研究開発において、ミトコンドリアタンパク質の搬入口TOM複合体に続いて、 $\beta$ -バレル型膜タンパク質の外膜への組み込みを担うSAM複合体および基質との反応中間体の構造をクライオ電子顕微鏡解析により決定し、組み込み機構の詳細を解明した。ミトコンドリア外膜タンパク質の正しい配送と品質管理が、外膜のATPアーゼMsp1だけでなく、細胞質や小胞体のGETシステム、さらに小胞体膜のATPアーゼSpf1によって制御されていることを示し、細胞全体での交通制御が関与することを明らかにした。さらにミトコンドリアの品質管理センサーPINK1（パーキンソン病の原因遺伝子産物）のTOM複合体上における安定性が、内膜プロテアーゼOMA1による分解とトランスロケータTIM23による保護で調整されていることを明らかにした。

クライオ電子顕微鏡による構造生物学研究で目覚ましい成果をあげている。細胞内におけるタンパク質交通に関しても革新的な成果が得られている。蛍光顕微鏡を用いたリアルタイム追跡で、酵母ミトコンドリアにおいて誤配送TAタンパク質の小胞体への移動にGETシステムが関与していること、また、それ以外のシステムも関与している可能性を見出したことは評価できる。一方で、ヒトにおいてはGETとは異なるシステムにより制御されていることは大変興味深い。今後の研究も緻密に立案、準備されており、計画の大きな進展が期待できる。

他方で、応用面での研究成果がなく、医療応用への道筋が不明である。医療につながる研究体制の構築や知財取得、アウトリーチ活動の充実などが今後の課題である。以上より、当初計画に照らして優れた成果が得られていると言える。



## ユニットタイプ研究開発課題別中間評価結果

### 1. 研究開発課題名：

細胞質における糖鎖生物学-細胞恒常性維持の包括的理解を目指して

### 2. 研究開発代表者名及び研究開発分担者名：

研究開発代表者

鈴木 匡 (理化学研究所 開拓研究本部 主任研究員)

研究開発分担者

吉田 雪子 (東京都医学総合研究所 基礎医科学研究分野 主席研究員)

松尾 一郎 (群馬大学 大学院理工学府 教授)

佐藤 匡史 (名古屋市立大学 医薬学総合研究院 (薬学) 研究員)

藤平 陽彦 (理化学研究所 開拓研究本部 研究員)

堀本 義哉 (順天堂大学 医学部 准教授)

### 3. 中間評価結果

本研究開発において、Ngly1-KOマウスの胚性致死性を抑制する因子としてENGaseおよびFBS2を同定し、その病態発現の分子機構について研究を行い、ENGaseの作用によって生じるN-アセチルグルコサミン(N-GlcNAc)残基がアクセプターとなり、Nfe2L1 (Nrf1) に異常なユビキチン化が起こることを明らかにした。このことからNGLY1欠損症の病態発現の本質は、異常なユビキチン化を受けた糖タンパク質の蓄積(プロテオスタシスの破綻)にあることが示唆された。またFBS2阻害剤の開発については、FBS2-SKP1タンパク質およびピオチン化糖鎖を用いたTR-FRETによるFBS2の糖鎖結合阻害剤のアッセイ法を確立するなど、各参画グループが専門性を活かしながら研究開発を遂行した。現在、FBS2阻害剤創出に向けてのスクリーニングを行っている。

ENGaseの作用で生じるタンパク質のN-GlcNAc残基へのユビキチン化を発見し、Ngly1ノックアウトマウスの致死性の分子メカニズムが解明されつつあることは評価できる。総合的に計画通りに進捗しており、さらにNrf1のユビキチン化における新たな機構の発見など、当初想定していなかった展開もあった。NGLY1欠損症の病態解明に向けての基礎研究が進み、また、社会実装に向けての道筋も明確である。さらに若手研究者育成の努力が認められる。

一方で、分担者の異動のため途中中止した項目があるが、本研究の遂行に影響がないよう、チーム全体の研究管理をおこなってほしい。

以上より、当初計画に照らして優れた成果が得られていると言える。

## ユニットタイプ研究開発課題別中間評価結果

### 1. 研究開発課題名：

翻訳後修飾によるオルガネラ・ホメオスタシスの分子機構と生理作用の解明

### 2. 研究開発代表者名及び研究開発分担者名：

研究開発代表者

松田 憲之 (東京医科歯科大学 難治疾患研究所 教授)

研究開発分担者

小松 雅明 (順天堂大学 医学研究科 教授)

中戸川 仁 (東京工業大学 生命理工学院 教授)

### 3. 中間評価結果

本研究開発において、Parkinによってユビキチンが付加された損傷ミトコンドリアがマイトファジーに導かれる分子メカニズムを解明した。また、オートファジーを介した核の分解（ヌクレオファジー）の分子機構に関する顕著な成果をあげた。さらに、哺乳類における新規オートファジー関連因子としてBCAS3-C16orf70複合体を同定した。BCAS3はリン脂質結合部位を介して隔離膜上に集積してオートファジーを制御するが、神経発達障害を呈する疾患HEMARSの原因遺伝子であり、BCAS3の隔離膜局在の異常によるオートファジー不全によりHEMARSが発症することが示唆された。

翻訳後修飾が媒介するオルガネラの品質管理に関して多角的に研究を展開し、目覚ましい成果をあげている。成果発信は順調であり、アウトリーチ活動にも力を注いでいる。特に、オートファジーの機能障害が遺伝的神経発達障害の原因となることを見出し、関連分野の先端を担っていることは特筆に値する。研究開発代表者、2名の研究開発分担者の全ての研究グループで着実に成果が得られている。新たな技術を駆使し、疾患遺伝子の機能解析の視点を踏まえたオルガネラホメオスタシスの研究が推進されており高く評価できる。

一方で、知財取得なども含めて医療応用に向けての展開が今後の課題である。研究開発代表者、研究開発分担者それぞれで成果が上がっているが、3者が連携する必然性が分かりにくく、今後、チーム内の相補的共同研究を推進してほしい。以上より、当初計画に照らして優れた成果が得られていると言える。

## ユニットタイプ研究開発課題別中間評価結果

### 1. 研究開発課題名：

組織特異的小胞体ストレス応答の分子機構に基づくヒト慢性疾患治療戦略の創出を目指した研究

### 2. 研究開発代表者名及び研究開発分担者名：

研究開発代表者

森 和俊 (京都大学 大学院理学研究科 教授)

研究開発分担者

堀 修 (金沢大学 医薬保健研究域 教授)

親泊 政一 (徳島大学 先端酵素学研究所 教授)

稲城 玲子 (東京大学 医学部附属病院 特任教授)

### 3. 中間評価結果

本研究開発において、小胞体内のATP濃度を低下させるように遺伝子改変したAXER-KOメダカで生じる心不全は、ATF6ではなくXBP1の構成的活性化により有意にレスキューされることを見出した。これは、ATF6及びXBP1がともに小胞体内のATPを必要とする小胞体シャペロンを転写誘導する一方で、小胞体内のATPを必要としない小胞体関連分解の構成因子はXBP1によって転写誘導されるためであり、表現型レスキューの要因が構造異常タンパク質の分解促進であることを分子レベルで明らかにしている。また、構造異常タンパク質が小胞体に蓄積する運動神経変性疾患Seipinopathyでは、原因となる無糖鎖型Seipinが小胞体膜上のカルシウムポンプSERCA2を不活性化し、その結果、小胞体内カルシウム濃度が低下して、小胞体ストレスと細胞死が誘導されることを見出した。

予定通り研究が進められ、種々の成果が得られている。メダカを用いた解析は一定の成果を挙げている一方、マウスを用いた解析では当初の想定とは異なる結果が得られている。マウスにおけるメカニズムの解析から、FGF21等の新たな臨床応用の機転も見出しつつあり、想定外の展開を踏まえた研究計画も練られている。臓器のみならず、細胞種特異的な小胞体ストレス応答とその不全による病態形成メカニズム解析をさらに発展させていただきたい。

一方で、出口戦略に関する具体的な計画が分かりにくい。小胞体ストレス阻害剤については国際的に多くの研究が進んでいる現状であり、新機軸の阻害剤創出に向けての工夫が必要である。また、Seipinopathyで見られる神経変性の原因を解明するためには、内在性にSeipin変異体を発現させた実験動物を用いたさらなる研究が必要である。

以上より、当初計画に照らして妥当な結果が得られていると言える。