

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 革新的先端研究開発支援事業ユニットタイプ「生体恒常性維持・変容・破綻機構のネットワーク的理解に基づく最適医療実現のための技術創出」研究領域

(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation

研究開発課題名： (日本語) 脳・腸連関を支える自律神経系の理解から恒常性維持機構の解明へ

(英語) Understanding the autonomic nervous system underlying the gut-brain axis: with a view of exploring higher-order homeostatic mechanisms

研究開発担当者 (日本語) 大学院理学研究科 教授 高橋淑子

所属 役職 氏名： (英語) Kyoto University, Graduate School of Science, Department of Zoology, Yoshiko Takahashi

実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 脳・腸連関を支える自律神経の成立と維持機構

開発課題名： (英語) Establishment of the autonomic nervous system underlying the gut-brain axis

研究開発分担者 (日本語) 大学院理学研究科 教授 高橋淑子

所属 役職 氏名： (英語) Kyoto University, Graduate School of Science, Department of Zoology, Yoshiko Takahashi

II. 成果の概要 (総括研究報告)

腸(胃、小腸、大腸を含む)は頑強な恒常性を発揮することで、外界の変化に影響されることなく食べ物の消化・吸収を行う。この恒常性がストレスや老化などによって破綻すると、さまざまな消化器系の病気が起こると考えられているが、その詳しい原因はよくわかっていない。そこで本研究では、腸恒常性に中心的な役割をもつ自律神経の成り立ちやその機能を明らかにして、自律神経が仲介する腸と中枢神経系とのつながり(脳-腸連関)のしくみ解明にむけた技術開発を行うことを目的としている。H28年度はこれらの課題の解決にむけて、①腸を制御する神経系成立機構の解明、②神経変性克服のための神経細胞分化人工操作法の基盤技術の開発、③血管リモデリングの数理シミュレーション構築法の開発について、研究を進めた。

①腸を制御する神経系成立機構

腸機能を制御する主な神経系として、自律神経系と腸神経系がある。自律神経は、互いにアクセルとブレーキのように働く交感神経と副交感神経により構成されるが、副交感神経の理解は特に遅れている。そこで榎本秀樹教授（神戸大学大学院医学研究科）らと共に、腸領域に形成される Remak 副交感神経節をモデル系として解析を進めたところ、神経節内の領域化とその前駆細胞である神経堤細胞（NC 細胞）の領域化との間に、正の相関があることを見出した。

次にこれらの知見に立脚して、Remak 神経節の遺伝子操作法の開発法に着手した。In ovo エレクトロポレーション法を用いて、仙髄領域 NC 細胞をターゲットとして EGFP 遺伝子を導入したところ、Remak 神経節に EGFP 陽性細胞が認められた。また、Remak 神経節による腸の恒常性調節の仕組みに迫るために、目的とする神経を人工的に活性化できる DREADD 法のトリ胚への導入を試みたところ、その有効性が確認された。

②神経変性克服のための神経細胞分化人工操作法の基盤技術の開発

腸神経の変性が腸恒常性の破綻にどのようなつながるのか、また変性した神経はどのような仕組みで修復されるのかについて、榎本和生教授（東京大学大学院理学研究科）、榎本秀樹教授（神戸大学大学院医学研究科）、太田訓正准教授（熊本大学大学院生命科学研究部）と共に解析を進めたところ、神経変性に関与する候補遺伝子のスクリーニングが進むとともに、腸神経の変性後に、腸外部から侵入するシュワン前駆細胞が腸神経細胞へと分化する様子が観察された。また新規の細胞初期化法を用いることで、哺乳類の繊維芽細胞を神経系の細胞へと人工的に分化させる方法が見出された。

③血管リモデリングの数理シミュレーション構築法

自律神経の機能発揮には、血管が密接に関与していることが知られている。血管形成や修復の過程では、ダイナミックなリモデリングが起こるが、その詳細な制御機構は不明である。そこで、領域アドバイザーである望月敦史主任研究員（理化学研究所）と共に、血管リモデリングの数理シミュレーションの構築を進めたところ、血流速度と血管リモデリング、及び血管内皮細胞の挙動変化を反映させたシミュレーションの有効性が示された。

The gut in our body digests food and absorbs nutrients regardless of external environmental changes. This is because of robust homeostasis exerted by this organ. A disruption of the gut homeostasis would cause diseases including irritable bowel syndrome (IBS), but how such diseases are caused remains unknown. We aim to understand the mechanisms underlying the gut homeostasis with a particular focus on the autonomic nervous system, which plays an essential role in connecting the gut and central nervous system (gut-brain axis). In the fiscal year of 2016, we pursued three major research projects. First, we studied the mechanisms underlying the development of nervous systems that innervate the gut. Second, we explored the technology that allows artificial cell programming, which is expected to be used to cure neural degeneration in the gut. Third, we continued to establish mathematical simulation that explains remodeling of blood vessels.

1. Studies of the mechanisms underlying the development of nervous systems that innervate the gut.

We used Remak ganglion as a model system, which is a parasympathetic ganglion seen in avians. Remak ganglion is formed outside the gut, thus enabling detailed studies concerning how the parasympathetic ganglion forms. We clarified spatio-temporal distribution of precursors of the Remak ganglion. We also developed a method of transgenesis specifically applied to this tissue. This technique further enabled us to test the usefulness of DREADD system, which allows artificial activation of specific neurons reported for mice and *Drosophila*. We found that the DREADD system appears to work in chickens. Therefore, this technology is expected to allow us to understand the role of Remak parasympathetic neurons in the regulation of physiology of the gut.

2. Exploration of the technology that allows artificial cell reprogramming for the potential use to cure neural degeneration.

The finding by Dr. Ohta that lactic acid bacterial incorporation induces cell reprogramming was further explored with a particular focus on the role of ribosomes. We observed that ribosomes isolated from both prokaryotic and eukaryotic cells are potent. And fibroblast-originated cells reprogrammed by these methods were found to be potent to differentiate into neurons.

3. Establishment of mathematical simulation that explains remodeling of blood vessels.

The autonomic nervous system has intimate functional relationships between blood vessels. Blood vessels undergo dynamic morphogenetic changes called vasculature remodeling. However, how the vasculature remodeling is regulated remains poorly understood. We were engaged on establishment of mathematical simulation that explains the vasculature remodeling occurring *in vivo*, and a simulation model emerged that properly reflects behaviors of endothelial cells during vasculature remodeling.

Our study will provide the bases for a development of prevention and treatments of digestive homeostatic disorders.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 4件、国際誌 3件）

1. 高橋淑子、田所竜介：総説「メラニン色素が移動する過程を解明」化学、(株)化学同人、2017, Vol.7
2. *Nakanoh, S., Fuse, N., Tadokoro, R., Takahashi, Y. and *Agata, K.: Jak1/Stat3 signaling acts as a positive regulator of pluripotency in chicken pre-gastrula embryos. *Developmental Biology*, 2017, 421(1): 43-51
3. Tadokoro, R., Murai, H., Sakai, K., Okui, T., Yokota, Y. and *Takahashi, Y.: Melanosome transfer to keratinocyte in the chicken embryonic skin is mediated by vesicle release associated with Rho-regulated membrane blebbing. *Scientific Reports*, 2016, 6: 38277
4. 宮 正樹 (著) 斎藤 成也 (監修), 塚谷 裕一 (監修), 高橋淑子 (監修) : 「新たな魚類大系統」シリーズ・遺伝子から探る生物進化4, 慶應義塾大学出版会, 2016, 総ページ215
5. Atsuta, Y. and *Takahashi, Y.: Early formation of the Müllerian duct is regulated by sequential actions of BMP/Pax2- and FGF/Lim1 signaling. *Development*, 2016, 143:3549-3559
6. 榎原 恵子(著), 斎藤 成也 (監修), 塚谷 裕一 (監修), 高橋淑子 (監修) : 「植物の世代交代制御因子の発見」シリーズ・遺伝子から探る生物進化 3, 慶應義塾大学出版会, 2016, 総ページ 190
7. 入江 直樹 (著), 斎藤 成也 (監修), 塚谷 裕一 (監修), 高橋淑子 (監修) : 「胎児期に刻まれた進化の痕跡」シリーズ・遺伝子から探る生物進化 2, 慶應義塾大学出版会, 2016, 総ページ 152

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. EMT and MET during formation. (招待講演) 高橋淑子, 第 39 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、2016.12.01、国内
2. 副交感神経系成立機構の理解に向けた特異抗体作成と神経ネットワークの可視化 (招待講演) Tadayoshi Watanabe, Takahiro Kiyomoto, Ryosuke Tadokoro, Etsuo A. Susaki, Hiroki R. Ueda, Yuta Takase, Yoshiko Takahashi, 第 39 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、2016.12.02、国内
3. Melanosome transfer from melanocytes to keratinocytes is mediated by plasma membrane vesicles. (招待講演) Yoshiko Takahashi and Ryosuke Tadokoro, The 27th CDB Meeting「Body surface tactics: cellular crosstalk for the generation of super-biointerfaces」理化学研究所多細胞システム形成研究センター、2016.11.14、国内
4. Cell-cell communications mediated by plasma membrane vesicles allow wide spread pigmentation in the skin. (招待講演) Takahashi, Y., MedUni Vienna, Austria, 2016.09.26, 国外
5. Cell-cell communications mediated by plasma membrane vesicles allow wide spread pigmentation in the skin. (招待講演) Takahashi, Y., European Molecular Biology Laboratory (EMBL), Germany, 2016.09.21, 国外
6. もう一つの神経形成 : Secondary Neurulation (招待講演) 高橋淑子, 第 59 回日本神経化学学会・第 38 回日本生物学的精神医学会合同年会 2016 FUKUOKA、2016.9.09, 国内

7. Tale of tails, (招待講演) 【Anne McLaren 賞受賞講演】 (ISD Award Lecture), Takahashi, Y., Society for Developmental Biology 75th Annual Meeting International Society of Differentiation 19th International Conference, USA, 2016.8.06、国外
8. Blood flow and vascular remodeling: analyses of individual endothelial cell behaviors by in vivo live-imaging and mathematical approach (ポスター発表) Takase, Y., Nakazato, K., Mochizuki, A. and Takahashi, Y., Society for Developmental Biology 75th Annual Meeting International Society of Differentiation 19th International Conference, USA, 2016.8.06、国外

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 「卵から体が出来る仕組み」(招待講義) 高橋淑子, NPO 法人大阪府高齢者大学校「宇宙と生命の神秘に遭遇する科」講義, 大阪国際会議場、2017/2/06、国内
2. ”My Science Career”(シンポジウム パネリスト) Takahashi, Y. シンポジウム The Nobel Prize Inspiration Initiative, 京都大学紫蘭会館、2016/11/09、国内
3. 「卵から形ができる不思議」(招待講義) 高橋淑子, グローバル講演会, 神戸国際中学校・高等学校 アルモニホール、2016/08/27、国内
4. 「卵から形ができる不思議」高橋淑子, 京都大学 ELCAS、2016/07/17、国内
5. 「細胞の声を聞く たった一つの卵から形ができてくる不思議」(招待講義) 高橋淑子, 京都大学 ELPs 講義、2016/07/09、国内

(4) 特許出願

なし

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 革新的先端研究開発支援事業ユニットタイプ「生体恒常性維持・変容・破綻機構のネットワーク的理解に基づく最適医療実現のための技術創出」研究領域

(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation

研究開発課題名：(日本語) 脳・腸連関を支える自律神経系の理解から恒常性維持機構の解明へ

(英語) Understanding the autonomic nervous system underlying the gut-brain axis: with a view of exploring higher-order homeostatic mechanisms

研究開発担当者 (日本語) 大学院理学研究科 教授 高橋淑子

所属 役職 氏名：(英語) Kyoto University, Graduate School of Science, Department of Zoology, Yoshiko Takahashi

実施期間：平成 28 年 4 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 腸管神経系の形成と維持における組織間相互作用

開発課題名：(英語) Tissue interactions in the development and maintenance of the enteric nervous system

研究開発分担者 (日本語) 大学院医学研究科 教授 榎本秀樹

所属 役職 氏名：(英語) Kobe University Graduate School of Medicine, Professor, Hideki Enomoto

II. 成果の概要 (総括研究報告)

・ 研究開発代表者による報告の場合

・ 研究開発分担者による報告の場合

研究開発代表者： 京都大学・大学院理学研究科・高橋 淑子 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0件、国際誌 2件）

1. Ito, K., and Enomoto, H. Retrograde transport of neurotrophic factor signaling: implications in neural development and pathogenesis. *J Biochem* 2016, 160(2), 1433-1441.
2. Uesaka, T., Young, H. M., Pachnis, V., and Enomoto, H. Development of the intrinsic and extrinsic innervation of the gut. *Dev Biol* 417(2), 2016, 158-167.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 腸管神経の発生と病理の分子機構. 口頭発表、榎本秀樹. 脳・肝インターフェースメディスン研究センターセミナー、2017,01、国内
2. The impact of RET gain-of-function mutation on development of the enteric nervous system. 口頭発表、Hideki Enomoto. The Australasian Neuroscience Society 36th Annual Scientific Meeting 2016. Australia・Hobort、2016,12、国外
3. Molecular and Cellular Mechanisms underlying the Development and Pathology of the Enteric Nervous System. 口頭発表、Hideki Enomoto. Developing Brains, The Nobel Forum. Stockholm、2016,08、国外
4. Development and pathology of the enteric nervous system. 口頭発表（基調）Hideki Enomoto. The 5th BRC・MARC Mouse Resource Workshop、2016,07、国内
5. 腸管神経系の発生と病理における神経前駆細胞の意外な振舞い. 榎本秀樹. 第15回生体機能研究会、2016,07、国内
6. 内臓神経系の発生と病理. 口頭発表、榎本秀樹. 第22回東北生活習慣病研究会、2016,05、国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 腸管神経の発生と病理の分子機構. 榎本秀樹. 徳島大学大学院、公開講演、(2017,03)、国内

(4) 特許出願

なし

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 革新的先端研究開発支援事業ユニットタイプ「生体恒常性維持・変容・破綻機構のネットワーク的理解に基づく最適医療実現のための技術創出」研究領域

(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation

研究開発課題名：(日本語) 脳・腸連関を支える自律神経系の理解から恒常性維持機構の解明へ

(英語) Understanding the autonomic nervous system underlying the gut-brain axis: with a view of exploring higher-order homeostatic mechanisms

研究開発担当者 (日本語) 大学院理学研究科 教授 高橋淑子

所属 役職 氏名：(英語) Kyoto University, Graduate School of Science, Department of Zoology, Yoshiko Takahashi

実施期間：平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 末梢神経変性を担う分子細胞基盤

開発課題名：(英語) Molecular and cellular basis for neural degeneration in the peripheral nervous system

研究開発分担者 (日本語) 大学院理学系研究科 教授 榎本和生

所属 役職 氏名：(英語) University of Tokyo, Graduate School of Science, Professor, Kazuo EMOTO

II. 成果の概要 (総括研究報告)

- ・ 研究開発代表者による報告の場合
- ・ 研究開発分担者による報告の場合

研究開発代表者： 京都大学・大学院理学研究科・高橋 淑子 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 2 件）

1. Togashi K, Koizumi H, Kanamori T and Emoto K. Molecular control of dendrite remodeling. Dendrites: development and disease (edit by Emoto K, Wong R, Huang E and Hoogenraad C), Springer Press. 2016, 273-294.
2. Koizumi H, Fujioka H, Togashi K, Thompson J, Yates JR, Gleeson JG and Emoto K. DCLK1 phosphorylates the microtubule-associate protein MAP7D1 to promote axonal elongation in cortical neurons. Developmental Neurobiology 2017, 77, 493-510.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. How do neurons take unique dendritic fields? 口頭、榎本和生、Temasek Life Science Institute Symposium、2016/4/18、国外
2. Calcium signaling in dendrite remodeling. 口頭、榎本和生、EMBO meeting “Mechanisms of Neural Remodeling”, 2016/6/8、国外.
3. DCLK1 phosphorylates the microtubule-associated protein MAP7D1 to promote axon elongation in cortical neurons. ポスター、古泉博之、藤岡洋美、富樫和也、Joseph Gleeson、榎本和生、第 39 回日本神経科学大会、2016/7/21、国内
4. Neural remodeling in Drosophila. 口頭、榎本和生、Chili-Tokyo Forum、2016/11/8、国外
5. DCLK1 phosphorylates the microtubule-associated protein MAP7D1 to promote axon elongation in cortical neurons. ポスター、古泉博之、富樫和也、Joseph Gleeson、榎本和生、北米神経科学学会、2016/11/15、国外
6. Dendrite remodeling in the developing olfactory circuits. ポスター、富樫和也、竹内俊介、古泉博之、榎本和生、北米神経科学学会、2016/11/16、国外
7. 脳神経回路の再編メカニズム、口頭、榎本和生、科学技術フォーラム、2017/2/17、国内
8. Molecular and cellular basis for neural circuit refinement in Drosophila. 口頭、榎本和生、Joint Meeting of the German and Japanese Societies of Developmental Biologists、2017/3/18、国外

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
特になし

(4) 特許出願
特になし

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 革新的先端研究開発支援事業ユニットタイプ「生体恒常性維持・変容・破綻機構のネットワーク的理解に基づく最適医療実現のための技術創出」研究領域

(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation

研究開発課題名：(日本語) 脳・腸連関を支える自律神経系の理解から恒常性維持機構の解明へ

(英語) Understanding the autonomic nervous system underlying the gut-brain axis: with a view of exploring higher-order homeostatic mechanisms

研究開発担当者 (日本語) 大学院理学研究科 教授 高橋淑子

所属 役職 氏名：(英語) Kyoto University, Graduate School of Science, Department of Zoology, Yoshiko Takahashi

実施期間：平成 28 年 4 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 乳酸菌性因子を用いた細胞のリプログラミング機構

開発課題名：(英語) Re-programming mechanism of the cell using the lactic acid bacterium-related factor

研究開発分担者 (日本語) 大学院生命科学研究部 准教授 太田 訓正

所属 役職 氏名：(英語) Kumamoto University, Graduate School of Life Sciences, Department of Developmental Neurobiology, Associate Professor, Kunimasa Ohta.

II. 成果の概要 (総括研究報告)

・ 研究開発代表者による報告の場合

・ 研究開発分担者による報告の場合

研究開発代表者：京都大学・大学院理学研究科・高橋 淑子 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 1 件、国際誌 0 件）

1. 太田訓正. 発酵菌による細胞リプログラミング機構の解明. RESEARCH COMMUNICATIONS. 2016, 30, 39-45.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Ribosome incorporation into somatic cells promotes reprogramming towards multipotency without activating cell proliferation. 招待講演, 太田訓正, Joint Meeting of the German and Japanese Societies of Developmental Biologists. University of Kiel, Germany, 2017/3/15～2017/3/18, 国外
2. リボゾームによる細胞の多能性獲得機能, 口頭発表, 太田訓正, 第16回日本再生医療学会総会, 仙台国際センター, 2017/3/7～3/9, 国内
3. Bacterial ribosome incorporation into somatic cells promotes reprogramming towards multipotency without activating cell proliferation. 口頭発表, 伊藤尚文, 太田訓正, 第6回オルソオレガノジェネシス検討会, 沖縄科学技術大学院大学OIST, 2016/12/6～12/9, 国内
4. Ribosome Incorporation into Somatic Cells Promotes Reprogramming towards Multipotency without Activating Cell Proliferation. ポスター発表, 伊藤尚文, 太田訓正, 第39回日本分子生物学, パシフィコ横浜, 2016/11/30～12/1, 国内
5. Ribosome Incorporation into Somatic Cells Promotes Reprogramming towards Multipotency without Activating Cell Proliferation. 口頭発表, 伊藤尚文, 太田訓正, The 4th Ribosome Meeting, 大阪医科大学, 2016/9/17～9/18, 国内
6. Ribosome Incorporation into Somatic Cells Impedes Proliferation in Conjunction with Conferring Differentiability into All Three Germ-Layer Lineages. 招待講演, 太田訓正, RNA JAPAN 2016, 国立京都国際会館, 2016/6/28～7/2, 国内
7. 発酵菌による細胞リプログラミング機構の解明, 招待講演, 太田訓正, 発酵研究所第10回助成研究報告会, 千里ライフサイエンスセンター, 2016/6/10, 国内
8. Ribosomes covert human fibroblasts into mutipotent cells. 口頭発表, 太田訓正, JSDB Special Symposium, 東京大学, 2016/6/1～6/2, 国内
9. Ribosomes convert human fibroblasts into multipotent cells. 口頭発表, 太田訓正, 第14回幹細胞シンポジウム, 淡路夢舞台国際会議場, 2016/5/20～5/21, 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. スーパーサイエンスハイスクール(SSH)事業における研究指導(熊本県立宇土高校)

日程:平成28年4月7日～平成29年3月2日 合計13日間

内容:課題研究の実験指導(熊本県立宇土高校生 5名)

2. 熊本県立宇土高校生による研究成果発表指導

Cell cluster formation by ribosome is reproducible with medaka cells. Airi Hirayama, Riho Shigaki, Kunimasa Ohta, and Yuichi Goto. JSDB Special Symposium, 東京大学, 2016/06/1, 国内

(4) 特許出願

無し