

最先端・次世代研究開発支援プログラム
事後評価書

研究課題名	先端的光技術によるインスリン開口放出機構の可視化と制御
研究機関・部局・職名	東京大学・大学院医学系研究科・講師
氏名	高橋 倫子

【研究目的】

神経伝達物質やペプチドホルモンは、分泌顆粒と細胞の膜が融合することによって、細胞外に放出される。このような分泌の最終過程は「開口放出」とよばれ、関与の推定される蛋白分子が旧来多数同定され、種々の生化学的な性質が報告された。特に、SNARE 蛋白質は開口放出を中心的に担うと考えられた。しかし、これらの分子の具体的な作用機序は未解明である。これは、開口放出に関係する SNARE 蛋白の細胞内での複合化過程を直接可視化する手法が従来不足していたことによる。

糖尿病の成因に深くかかわるインスリン分泌組織や神経伝達物質を放出する神経細胞において、SNARE の複合化を実時間で高い空間分解能で定量化する方法を新規に模索・開発し、分泌機能との関連を調査することを目的とした。さらに、ケイジド試薬や光遺伝学的な手法を取り込み、分泌や放出の光制御を行う方法論の確立を研究の目的とした。

【総合評価】

	特に優れた成果が得られている
	優れた成果が得られている
○	一定の成果が得られている
	十分な成果が得られていない

【所見】

① 総合所見

研究代表者らは開口放出に関する研究は以前から行ってきており、インスリンなどの分泌に必要な小胞体と形質膜融合による開口放出に関する基本的な可視化、およびそれに基づく開口放出事象の定量化、に関しては本研究を開始する前すでに確立していた。本研究課題では、膵島細胞のようなホルモン分泌細胞において、Syntaxin などに分子内 FRET を組み込み、それらの分子構造変化を捉えることによって、開口放出の律速段階ともなる SNARE complex 形成過程（単一分子内の構造変化や、複合体形成の順序や速度論等）に関する詳細な知見を得ることを目的としていた。しかし、この点に関する大きな進捗はなく、複合体形成量に関する定量がなされたのみである。この定量化はそれなりに重要な知見であるが、本来目的としているホルモン分泌細胞に

における SNARE complex 形成過程の分子実態の解明は明らかになっていない。

本研究申請段階では大きな目的の一つとして「光遺伝学の分泌研究への応用可能性を検討する」と述べていたが、この点も明になっていない。

挑戦的な研究は、計画どおり進まないのが当たり前である。しかし、その原因を分析し、新しい計画、新しい研究体制を構築することがブレークスルーにつながる。従来の研究を引き続き展開することも重要ではあるが、本プログラムはそれを期待したものではなかった。独自に作製した FRET プロブは評価できるが、その特性、有効性の詳細、他の方法に比較した優位性については明らかになっていないのは残念である。

② 目的の達成状況

・ 所期の目的が

(全て達成された ・ 一部達成された ・ 達成されなかった)

細胞の構造や機能を考慮すると、小胞の形質膜への融合過程やその結果としての開口放出は膵島細胞に比して神経細胞で研究しやすいことは、当初から予期されていた。にもかかわらず、分泌系での解析を行うという野心的な申請計画であった。ただし、研究代表者が当初計画の膵島細胞研究の他に、他の分泌臓器も研究対象に加えるようにとの助言を得て、脳神経細胞を新たな研究対象に選んでいた。研究の進捗は、この神経細胞の研究が膵島細胞に比較して優位に展開したと思われる。

当初目的では、分子間 FRET 法の確立と、SNARE 形成に由来する FRET と開口放出シグナルの同時計測が方法論として構想されていた。しかし、そのいずれも達成されていない。また、残念ながら達成できなかった理由や、実現へ向けた努力についても明確に示されていない。さらに、光遺伝学の応用も構想されていたが、着手した形跡がみられない。本研究課題は、従来研究の延長の中に留まり、何らかのブレークスルーが成し遂げられとは判断できない。野心的な当初目的が達成できないことは、科学研究の常である。しかし、その理由を明確にし、さまざまなアプローチを試みる努力が重要と思われる。

③ 研究の成果

・ これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が (ある ・ ない)

・ ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が (創出された ・ 創出されなかった)

・ 当初の目的の他に得られた成果が (ある ・ ない)

内分泌組織・細胞、シナプス前終末に 2 光子励起・蛍光寿命法を適用して開口放出の SNARE 機構を解析する先導的な研究である。SNARE 複合化の検出方法を確立し、安静時にインスリン分泌組織・細胞ではこれが低値であるのに対し、シナプス前終末ではこの値がはるかに高く、両細胞における開口放出機構に差異のあることを示唆した。また、新しく開発された 2 光子励起により活性化されるケイジドカルシウム試薬

の開口放出研究への応用に成功している。これらの進展には一定の成果は認められるが、大きな評価を与えることは難しい。一方、SNAP-25 の domain swapping そのものは、新しい概念ではない。本研究課題により、どのような新しい知見が加えられたのか、成果が論文として公表されていないので、客観的で正確な判断は難しい。

補助事業期間中に公表された有査読論文 6 件中、2 件は総説、4 件は本研究計画と無関係の他グループ研究の一部を担った成果である。したがって、特記すべき研究成果の有無について、客観的に評価することが困難である。研究の経緯をみると、従来研究の延長であり、ブレークスルーに対する努力が認められないのが残念である。

④ 研究成果の効果

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

開口放出機構は生命科学研究の重要な研究課題であり、本研究課題の成果は生命科学研究に対して大きなインパクトをもつ。平成 24 年度の研究において、経時的な蛍光寿命計測法を企業と共同で確立したことは、関連分野の発展に寄与することが期待される。しかし、その成果が論文として公表されておらず、また、特許の申請もなされていない。

Physiological Reviews (2012) は、共著ではあるが、神経細胞、非神経細胞を包括した優れた総説である。このことにより、関連分野の進展に寄与することが見込まれる。

本研究申請時の研究計画書では糖尿病の病態解明や治療への貢献が述べられており、この膝島研究が事業終了後にも計画どおりに進捗すれば、本研究課題の貢献は大きい。したがって、今後の展開に期待する。

⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが (行われた ・ 行われなかった)

当初研究計画において、新規の光計測技術と光操作技術の組合せが注目に値する。これらが課題遂行者の従来研究の延長にない場合、外部からのポストドクの雇用などにより、斬新な研究実施体制を構築する必要があった。しかし、人件費は実験補助員の雇用にとどまっており、斬新な発想・技術の展開に助成金が利活用されていない。指摘事項に対応して、神経細胞終末の研究を並行して行っており、膝島細胞との差異を見出しているという。したがって、適切な対応は認められる。

補助事業期間中に有査読論文にその成果を発表することには困難がつきものであり、時間を要する野心的な研究プロジェクトかも知れないが、今後の成果発表に一層努力することを期待したい。平成 25 年度、26 年度に論文発表の予定とあるので、それに見守りたい。一方、国民への情報発信に工夫があり、この点は評価できる。