

RBC 放生研ニュース NEWSLETTER

No. **160**
MAR
3, 2018

Contents

放生研シンポ開催記	1
ミニレビュー	8
遺伝子発現解析の基準となるデータを 快適に検索できるウェブツール「RefEx」	
放生研からのお知らせ	12
組織改編について	
転出された方/平成29年度 新人紹介	13
運営会議・協議委員会委員選挙結果	15
編集後記	15



放生研シンポ開催記

はじめに

平成29年12月4日～5日にホテルコープイン京都にて33rd International Symposium of Radiation Biology Center, Kyoto University (いわゆる放生研シンポ)を開催しました。Cutting Edge of Radiation and Cancer Biologyというメインテーマの下、この数年に興味深い論文を報告された先生方を世界からお迎えし、Oxford Institute for Radiation Oncology, Oxford Univの副所長Ruth Muschel教授によるPlenary Lectureや、招待講演者による4つのInvited Talk Sessionなどを実施しました。一般登録演題から数題を選出して実施したShort Talk Sessionや、優秀な一般演題に対する旅費支援、さらには情報交換会の参加費を

安価に設定するなど、若手研究者に参加して頂きやすくなるように勤めました。お陰様で108名の方々に参加して頂くことができ、主催者としてはホッとしております。各セッションの様子を、放生研所員から以下にレポートして貰います。次年度以降もみなさまのご参加をお待ちしております。

なお、本シンポジウムは日本学術振興会 (JSPS)、(公財)東京生化学研究会、新学術領域研究「宇宙に生きる」からの助成の下で実施いたしました。この場をお借りして厚く御礼申し上げます。

大会長 原田 浩
京都大学放射線生物研究センター

Session 1 : Radiation Biology and Oncology

最初の講演は、**Ester M HAMMOND**先生 (University of Oxford, UK) による「Understanding and exploiting the hypoxia-induce DNA damage response」で、低酸素環境、とりわけほぼ無酸素環境 ($O_2 < 0.1\%$) では、DNAダメージの蓄積が無いにも関わらずレプリケーションストレスが誘導され、DNA damage responseが引き起こされていることが明らかとなった。このレプリケーションストレスはヌクレオチド枯渇によるもので、NDPから酸素依存的にdNDPを作るRibonucleotide Reductase (RNR) のうち、酵素活性化が高いが酸素依存性が高いRRM1/RRM2複合体の活性が低酸素によって阻害され、代わりに多くのがんで過剰発現し予後不良と相関のあるRRM2Bが低酸素によって発現誘導されることによって、低酸素でも活性が維持されるRRM1/RRM2B 複合体が働くことを見出し、RRM2Bのknock down、knock outによって低酸素によるDNA damageやアポトーシスが增加すること、コロニー形成能力が低下することを示した。これらの結果から、RRM2Bが、がんの治療ターゲットとなることが期待されます。



続いて、**Geoffrey S Higgins**先生 (University of Oxford, UK) から「Altering oxygen consumption to alleviate tumor hypoxia」というタイトルで講演が行われた。これまで腫瘍内低酸素ががんの放射線治療抵抗性に関わることから、いくつかの腫瘍内低酸素を調節するための薬剤が開発されたが、あまり効果が得られていなかった。彼らは、腫瘍の酸素消費量を減らし、腫瘍内酸素量を維持することで、放射線感受性の増感ができると考え、酸素消費量を低下させる薬剤のスクリーニングを行った。その結果、抗マラリア薬として広く使用されているatovaquoneが、酸化リン酸化を抑制することで酸素消費量を下げる薬剤として見つかった。Atovaquoneによる酸化リン酸化の抑制は、電子伝達系のComplex IIIが阻害されることによって引き起こされる。atovaquone投与は腫瘍細胞のスフェロイドやマウスの皮下移植腫瘍の低酸素領域を速



やかに減少させて、両方の系で放射線感受性を亢進させることができた。現在、非小細胞性肺がん低酸素領域を減らすことができるかどうかの臨床試験が進行中であることが発表された。新しい放射線併用療法の開発につながる研究として、良い結果が待望される研究でした。

このセッション最後の講演は、**David FERNANDEZ-ANTORAN**先生 (Wellcome Trust Sanger Institute, UK) による「Low-doses of gamma-radiation alter epithelial cell behavior and promote mutant clone expansion」でした。Cell lineage tracingモデルを用いたマウスのin vivo実験にて、放射線による食道上皮への影響を調べた。100mGy以上の放射線では増殖細胞の割合が低下するのに対して、50mGyという低線量の照射でも γ H2AXのfociが優位に増加するが、照射24時間後に分化した細胞の割合が増加、48時間後にはEdU陽性の増殖細胞が増加することを示した。そのメカニズムを調べた結果、50mGyの放射線でミトコンドリアROSが上昇することによって、照射後1時間で分化に関わる遺伝子、24時間で増殖に関わる遺伝子の発現が上昇していることが分かった。さらなる研究の結果、たとえ低線量であっても、多分割照射がp53の変異を加速することが示された。低線量の放射線によって生体にどんな影響が及ぼされるのか、詳細なメカニズムが明らかになり、今後の放射線治療へのフィードバックが期待されます。



小林 稔
京都大学放射線生物研究センター

Session 2 : Cancer Biology

本学生命科学研究科の井垣達吏先生(京都大学)は、上皮組織中に生じた極性崩壊細胞が、その周囲を正常な細胞にかこまれると競合の敗者となり組織から排除される現象(細胞競合)の生じるメカニズムについてご講演された。まず、ショウジョウバエを用いた研究で、敗者となる極性崩壊細胞がEiger (TNF) -JNKシグナル伝達系を介した細胞死により組織から排除されることを説明された。次に、極性崩壊細胞と正常細胞の境界面で生じている現象を知るために、EMS(エチルメタンサルホン酸)をもちいてランダムに染色体に変異を導入することで、排除が起こらなくなる系統や、過剰に排除される系統を樹立し、正常細胞の表面に発現するSasと、極性崩壊細胞の表面に発現するSasの受容体であるPTP10Dが重要であることを解明され、2017年の*Nature*誌に報告された。PTP10DのヒトのホモログPTPRJは、腫瘍抑制因子として知られているとのことであった。その後の実験でPTP10Dシグナルは、JNKに直接影響を及ぼすわけではなく、EGFR-Rasシグナルを抑制することで、JNKシグナルが細胞死につながり、極性崩壊細胞の排除を引き起こす可能性を提示された。会場から、ヒトの癌でのPTPRJへの変異の集積は知られているかとの質問があったが、知られていないようであった。また、PTP10Dは極性崩壊細胞では文字通り極性を失っているので境界面に分布しているとのことであったが、どのように極性崩壊細胞表面に出現するように制御されているかが次に解明されるべき点と思われた。



北海道大学の藤田恭之先生(北海道大学)は、先の井垣教授のお話にもあったがショウジョウバエで知られている細胞競合という現象がゼブラフィッシュや哺乳類であるマウスのモデルでも確認されることをお話しされ、その分子メカニズムについてご講演された。腸管等の上皮で細胞競合が生じる際には、敗者である変異陽性細胞は細胞のZ軸方向、つまり管腔側へ押し出されるように排除される様子を大変わかりやすい動画で示されていたが(「モコモコモコ、ポ



ン!」)、その現象はapical extrusion と呼ばれる。今回の講演では、藤田教授らは、正常な上皮細胞にかこまれた変異陽性細胞にWarburg効果のごとく解糖系にシフトするグルコース代謝の変化が生じることがapical extrusionに必要で、その因子としてPDK4が重要であることを*in vitro*の系にとどまらずマウスモデルでも解析して解明され、2017年の*Nature Cell Biology*誌に報告された。会場から、PDK4を抑制することでapical extrusion が抑制されるだけでなくbasal 方向への移動がみられたのはなぜかという質問があったが、おそらくbasal方向に移動しようとするベクトルが元来備わっており、それを上回る作用でapical extrusionが生じているのだろう、という考察であった。またPDK4がどのようにapical extrusionを生じさせているのかを伺ったが、それ以上のメカニズムはまだ不明なようであった。

金沢大学の高橋智聡先生は、RBの欠失によって細胞内のエネルギー代謝が変化する現象について、その分子機構の解明についてご講演された。これまで、解糖系酵素群の大部分がHIF-1やMycによって制御されることは既知であったが、そのなかでphosphoglyceratemutase (PGAM)ファミリーについてはそれらの制御を受けないことが知られていた。そこでまずRBをノックダウンした際にPGAM2が抑制され、さらにミトコンドリア機能の指標である酸素消費速度(OCR)や、解糖系の指標である細胞外酸化速度(ECAR)の低下がみられることを示された。PGAM2はRBが欠失することによりMEF2A/Dを抑制できなくなり、その結果PGAM2の転写が抑制されていることも示され、結果として細胞分化に影響を及ぼすという展開であった。会場からは、PGAM1およびPGAM2の使い分けや生理的な役割について質問があった。これについてはcontext dependentであり、例えば胃癌細胞株ではRBのノックダウンでPGAM1の発現が下がったが、肉腫系では異なっていた、など癌腫やその他の細胞間でも一致せず、その制御については不明な点も多いとの返答であった。



子安 翔

京都大学放射線生物研究センター

Keynote Lecture

2017年現在、がん治療の3本柱は外科治療、放射線治療、薬物治療(抗がん剤治療)とされています。欧米では52%のがん患者が放射線治療を受けていますが(日本の27%と比較しても非常に高い。2005年統計)、放射線治療の利用が多い理由として外科治療と比較して体力的にも医療経済的にも患者への負担が少ない利点があげられます。放射線治療の基本は、がん細胞だけを標的として高い線量の放射線を照射することです。幸いなことに、がん細胞に比較して正常組織は放射線に対して耐性(抵抗性)であるため、放射線治療はがんの有効な治療法としてその地位を確立しています。

一方で、放射線治療の後に再発するがんが解決すべき問題として残っています。がんの再発における要因の一つとして考えられているのが免疫への放射線影響です。放射線には免疫を促進する効果と抑制する効果の両方があると報告されています。例えば、傷害関連分子パターン認識エレメントの解放、インターフェロンの誘導などが免疫促進に機能することが知られています。一方、活発に分裂するリンパ球が放射線照射により細胞死すること、被照射腫瘍領域にマクロファージが集積することが免疫抑制に機能すると考えられています。マクロファージはその表現型によりM1からM2まで区別され、特に免疫抑制に機能するマクロファージはM2に分類されています。近年、こうした放射線照射後の免疫抑制の効果を抑えることで放射線治療の効果を亢進できる可能性が期待されています。

Ruth J MUSCHEL先生(University of Oxford, UK)らは、血管新生因子FGF2を発現するマウスモデルにおいて被照射腫瘍内でマクロファージが増殖すること、また、マクロファージ

ジ内のFGF2発現量が増加することを見出されました。さらに、放射線治療へのFGF2機能の影響を明らかにするため、1)機能性低分子FGF2を欠失したマウス、2)抗FGF2抗体でFGF2の機能を阻害したマウスの表現型を観察されました。発現解析の結果、低分子FGF2を欠失したマウスではマクロファージ内のIL-6、IFN- α 、 γ の発現量が増加し、Ym1、2の発現量が減少することが分かりました。また、低分子FGF2を欠失したマウスでは正常なマウスと比較して腫瘍の増殖が遅延することが観察されました。さらに、FGF2の機能を阻害したマウスでは免疫抑制に機能するM2マクロファージの減少、炎症性のM1マクロファージの増加が観察されました。また、FGF2の機能を阻害したマウスでは正常なマウスと比較して放射線分割照射後の腫瘍増殖の遅延(治療効果の亢進)が認められました。

これらの結果から、放射線照射により発現誘導されたFGF2はマクロファージをM1からM2へ変換し、さらにM2マクロファージを被照射腫瘍内へ蓄積させることで、放射線治療後の腫瘍増殖を促進することが示されました。FGF2の機能を阻害することでがんの放射線治療の効果を亢進できる可能性が示唆され、今後のさらなる発展が期待されます。



齋藤 裕一郎
京都大学放射線生物研究センター

Session 3 : DNA Damage Response and Repair-1

セッション3は、**笹沼博之先生** (京都大学) の "The essential role of Mre11-Rad50-Nbs1 complex in the removal of abortive Top2-DNA complex" のご講演から始められた。DNA2重鎖切断のセンサーであるMRN複合体の1つであるMre11に着目して、損傷部位で、DNAの絡まりをほどくTop2と複合体を形成し、修復が行われることを示された。がん細胞では、Mre11の働きを阻害することで、治療効果が高まる可能性が示された。



次に、**Orlando D SCHARER先生** (UNIST, Korea) は、"Regulation of Dual Incision and Repair Synthesis in Human Nucleotide Excision Repair" について、ご講演をされた。UVによる損傷が起こると、莫大な数のエンドヌクレアーゼの中から、損傷部位において、DNAの特異的な構造を認識し、修復蛋白質が適時にリクルートされ、ヌクレアーゼと協調しながら修復が進んでいく。ここでは、ERCC1-XPFとXPGに着目し、UV-damageにおけるNERの損傷シグナルの分子メカニズムについてお話しされた。



最後に、**宮川清先生** (東京大学) が "Regulation of checkpoint strength in the DNA damage response" についてご講演された。

RAD54Bは、MDM2と複合体を形成し、MDM2によるポリユビキチン化を介して、p53を分解する。p53が正常な場合でも、その上流で制御するRAD54Bの発現量が増強していると、p53の分解が亢進することになり、細胞周期チェックポイント機構の不具合が生じ、染色体の不安定性が蓄積し、がん化に向かうと考えられる。"precision oncology"へとつながる、RAD54Bのバイオマーカーとしての新しい可能性を述べられ、大変興味深いご講演でした。



野村 正枝

京都大学放射線生物研究センター

Short Talk Session

Short talk sessionでは、5名の演者から最新の情報が提供され、注目を集めた。まず当研究所の**古谷寛治先生**（京都大学）から、DNA損傷応答チェックポイントのトレランスを司る分子機序について新たな知見が報告された。博士らは、CDKによるチェックポイント複合体9-1-1のサブユニットRAD9のThr292リン酸化が、RAD9とPLK1の相互作用を促進することを発見した。さらにPLK1によるRAD9のリン酸化部位Thr313を同定し、リン酸化シグナルがRAD9の損傷クロマチンからの解離を誘導することを示した。PLK1によるリン酸化部位の変異体発現株は、複製ストレス誘発剤hydroxyurea存在下で野生型に比べて増殖速度が低下しており、損傷トレランスに異常をきたしていた。CDK-PLK1によるチェックポイント複合体のリン酸化が、損傷トレランスのスイッチであることを明らかにした興味深い内容であった。

つづいて**西良太郎先生**（立命館大学）から、非相同末端結合修復因子Kuのクロマチン結合制御の解明に迫る報告がなされた。修復完了後Kuはユビキチン化され、クロマチンから除去されることが報告されている。博士らは、脱ユビキチン化酵素UCHL3がKuの除去を負に制御することを発見した。放射線照射後UCHL3はATM依存性にリン酸化され、Kuと直接結合して損傷部位に集積する。UCHL3はKuのクロマチン結合能に影響しないが、ノックダウンするとKuのDSB（DNA切断端）への集積が減少した。複数の実験結果から西博士は、DSB末端ではE3リガーゼが常に活性化しているが、UCHL3の働きによりKuはユビキチン化から免れ、修復後速やかにUCHL3が抑制されることでKuがクロマチンから除去されるという魅力的なモデルを提唱した。

戒田篤志先生（東京医科歯科大学）は、Fucciシステムによる蛍光イメージングで腫瘍内部の細胞周期を同定し、細胞動態と放射線応答性をリンクする方法を確立された。博士らがSAS-Fucci細胞で形成したスフェロイドは、低酸素状態の中心部は静止期(G0/G1)を示し、中心を囲む末梢領域は増殖期(S/G2)の細胞周期分布を示した。放射線照射直後と24時間後にソーティングし細胞生存率を調べると、単層培養条件に比べ、スフェロイドの増殖期細胞はcontact effectsによる放射線抵抗性を示した。一方静止期細胞は、照射直後感受性に変化はなかったが、24時間後PLDR（潜在的致死損傷修復）により抵抗性を獲得した。またマウスの異種移植片で、照射後増殖期にあった腫瘍末梢細胞に比べて、中心壊死部の静止

期細胞はより抵抗性であった。がん微小環境が腫瘍の放射線抵抗性に与える影響が明快に示された講演であった。

当センター**岡本裕介先生**（京都大学）による研究は、ファンコニ貧血原因遺伝子FANCD2がゲノム安定性に寄与するメカニズムの解明を進展させた。CFS(common fragile site)は低用量のAPH（アフィジコリン）等、弱い複製ストレス誘導剤によって染色体脆弱性を示すゲノム領域である。博士らはChIP-seqを用いて、FANCD2がCFS遺伝子群の転写領域中心に結合することを明らかにした。またAPH処理後に見られる、FANCD2の核内集積がRNaseH1の過剰発現や転写阻害薬によって抑制されること、FANCD2複合体がin vitroでDNA-RNAハイブリットに結合すること、FANCD2欠損によりRループ（転写鎖DNA-RNAハイブリットと非転写鎖の一本鎖DNAからなる構造）が増加すること等を示し、FANCD2は複製ストレスが生じた際CFSで形成されるRループを解消し、ゲノムの安定性を維持する働きをもつことが示された。

最後に**森英一朗先生**（奈良県立医科大学）は、LC(low complexity)ドメインポリマーの特性を明らかにされた。LCドメイン保有タンパクが形成する不安定なアミロイド様クロスβポリマーは、膜構造を持たない細胞オルガネラとして働くことが示唆されている。博士はいくつかの脂肪族アルコールを用いた結果、mCherryでラベルしたFUS（家族性筋委縮性側索硬化症遺伝子）のLCヒドロゲル小滴が1,6-ヘキサジオール（1,6-HD）に選択的に溶解することを見出した。ストレス顆粒や核顆粒、中間系フィラメント等1,6-HDによって溶解される他の構造体も、クロスβポリマーから形成されると考えられた。一方アミロイドβ線維の凝集体は1,6-HDに溶解せず、安定的構造であった。LCドメインからなるクロスβ構造により、多様な分子がフレキシブルに機能することが示唆される印象的な内容であった。

勝木 陽子

京都大学放射線生物研究センター

Session 4 : DNA Damage Response and Repair-2

Session4では3名の先生方より、DNA損傷応答と修復に関する最新の知見をきく機会となった。Kyungjae MYUNG先生 (UNIST, Korea)のお話では、治療耐性の癌細胞に有効な新しい小分子baicaleinの発見について知ることができた。DNAミスマッチ修復(MMR)機構は、DNA修復中やDNA損傷として生じた塩基対不対合や挿入/欠失を取り除くことによってゲノム安定性を維持する仕組みであり、この機構



に障害のある癌細胞は多くの化学療法に耐性であることが知られている。また、MMR経路のgermline mutationによって、遺伝性非ポリープ性大腸癌であるLynch症候群が引き起こされることが知られている。肝保護作用や抗腫瘍作用があることが知られていた小分子baicaleinが、ミスマッチDNAと結合し、MutS α (MSH2/MSH6のヘテロダイマー)欠損の癌細胞を選択的に障害することを見出したという内容の発表であった。彼らはATAD5ルシフェラーゼアッセイを用いて、DNA複製ストレスやDNA障害で働く分子の候補をスクリーニングした。最終的に289候補まで絞り込み、MSH2遺伝子異常のある細胞を選択的に障害する分子baicaleinを拾いあげた。HEC59細胞を用いてMutS α 欠損細胞はbaicaleinに感受性があり、またbaicalein+HU処理したHEC59細胞はCHK2調節によるS期チェックポイントがかからないこと、baicaleinがMutS α 欠損細胞のDNA複製を障害しないことを示した。さらには、MutS α 欠損細胞では、baicaleinによってMutS α とCHK2/ATMの結合が阻害され、その結合はDNAではなく、MutS α によって介されていることを明らかにした。BaicaleinがミスマッチDNAに結合しやすくなっており、MMRの欠損した細胞ではそれによってDSBが引き起こされる。マウスでMutS α 欠損大腸癌の細胞にbaicaleinを投与すると腫瘍サイズが有意に縮小することがわかった。創薬、臨床応用への期待が高まる内容であった。

千葉奈津子先生(東北大学)のお話はBRCA1とその関連分子の機能解析についてであった。BRCA1とRINGドメインで結合するBARD1は、DNA修復、中心体の制御や転写に関わる蛋白質であることが知られている。BRCA1/BARD1複合体の機能を探るため、マスペクトロメトリーで解析を行い、BARD1のC末端に結合するObg-like ATPase1 (OLA1)

を同定した。OLA1は間期に中心体に、M期には紡錘体極に局在し、OLA1のノックダウンによって中心体数が増幅することが知られている。著者らはBARD1のdeletion mutantを用いて免疫沈降を行い、BRCA1のN末端を介して、BARD1のN末端に結合することを示した。さらに、BRCA1のノックダウンで、OLA1の中心体と γ -tubulinとの局在が障害されることを示した。またOLA1の2種類の変異体E168QとI42Vについて、変異の機能的意義を検討し、E168QはBRCA1への結合ができなくなり、OLA1ノックアウトによる中心体の増幅を抑制することがわかった。またI42VもBRCA1への結合ができなくなり、BRCA1とOLA1との結合も障害することがわかった。OLA1、BARD1、BRCA1、 γ -tubulinとの相互関係を明らかにし、OLA1の2つの変異体の機能的意義の解析によりOLA1とBRCA1との関係を突き詰めた内容であった。



さらに安井明先生(東北大学)からは、ARID1AのようなSWI/SNF因子の欠損した腫瘍細胞では、DNA修復が起こらず、DNA障害に対する有害性が高まり、そのことにより細胞死や腫瘍の発生が起こりやすくなることを示された。とりわけSWI/SNFファミリーのARID1A、BRG1-associated factor(BAF)に着目し、ライブセル解析と遺伝子抑制実験を行い、それらの発現の抑制によって、DSBに対するNHEJの活性が低下し、損傷部位へのKU70/80の集積を低下させ、電離放射線、シスプラチンや紫外線への感受性が低くなることを示した。ARID1AやBAFは、DSBにSWI/SNF複合体のATPaseを速やかにリクルートする必要があることもわかった。抗癌剤への応用が期待される。



平 明日香
京都大学放射線生物研究センター

ミニレビュー

遺伝子発現解析の基準となるデータを 快適に検索できるウェブツール「RefEx」

「RefEx」(<http://refex.dbcls.jp>) は、遺伝子発現解析の基準となる各遺伝子の遺伝子発現量を簡単に検索、閲覧できるウェブツールである。複数の遺伝子発現計測手法によって得られた哺乳類の正常組織、細胞等における遺伝子発現データを収集し並列に表現することによって、各組織における遺伝子発現状況を計測手法間の差異とともに直感的に比較することができる。とくに、遺伝子発現解析の過程でしばしば比較対象とされる組織特異的遺伝子を瞬時に検索できるほか、リスト機能を用いて遺伝子の詳細データにおける差分を比較することが容易であり、遺伝子発現解析で見出された遺伝子群の関係性を知るためのツールとして有用である。本稿では、RefExの概要を解説するとともに、RefExの具体的な活用方法を紹介する。RefExが提供するすべてのデータは、生命科学データの共有および再利用の活用例のひとつであり、データ駆動型研究のためのツールとしてだれでも無償で自由に使うことができる。

はじめに

DNAマイクロアレイの発明によってゲノム規模の測定が可能となって以来、遺伝子発現データはさまざまな研究グループによって異なる測定手法を用いて産生されており、公共データベース上に蓄積し続けている。これらのデータは、仮説の構築や研究計画の立案、実験データの解釈などさまざまな状況で幅広い分野の研究者に利用される汎用的なデータであるが、主にその膨大さや多様さによって、それらを研究者自らの研究に利用することが困難な状況がある。そこで、筆者らは、大量の遺伝子発現データの中から、まずどれを選び、調べればよいのかの指針になりうる代表的な遺伝子発現量データセットを選び出して整理し、それらを並べて閲覧できるウェブツールを構築したいと考え、RefEx (Reference Expression dataset: <http://refex.dbcls.jp>) を開発した。

1. RefEx ウェブサイトの概要

RefExは、トップページ(検索フォーム)、検索結果一覧、個別の遺伝子の詳細情報、の3つを柱として構成されている。ヒト、マウス、ラットの3種の生物種に対応しており、その切り替えは、トップページ左上部のアイコンをクリックして行う。もっとも基本的なキーワード・遺伝子名検索では文字を入力する度に検索語の候補が提示されるので、それらから選択することで容易にキーワード入力を行うことができる。また、「転写因子」や「Gタンパク質共役受容体」、「2番染色体」などのように、ある分類に属する遺伝子群についてまとめて

検索・比較できるよう整理されている。さらに、おもに遺伝子発現解析における比較対照としてしばしば用いられる『組織特異的遺伝子』を測定データから独自に算出しており、これらはトップページに用意された組織・臓器のアイコンをクリックするだけで簡単に一覧することができる。Advanced searchでは、複雑な検索条件を一度に指定することが可能であり、あらかじめID情報などが手元にある場合には、目的とするデータに簡単に行き着くことができる。

検索結果一覧ページでは、項目別ソートおよび絞り込み検索が可能で、検索条件を柔軟に入れ替えながら検索結果を閲覧・比較することができる。検索結果一覧および個別の遺伝子の詳細情報ページでは、組織・臓器間の比較と測定手法間(EST^{1,2}、GeneChip³、CAGE⁴、RNA-seq⁵)の比較を両立させた相対発現量が棒グラフで示されるとともに人体の3Dモデル(Bodyparts3D⁶)に発現量を反映させたヒートマップが表示される。またリスト機能を使えば、検索結果に表示された個々の遺伝子について一時的に保存しておくことができる。リストに追加した遺伝子は、最大でその3つについて、40分類の組織・臓器における発現データを比較しながら、遺伝子に付与された機能に関する注釈情報(Gene Ontology⁷他)の差分を見比べることができる。これらの機能は、新たな知識発見あるいは仮説の構築をサポートする。詳細情報ページに記載された種々のIDには、それぞれRefExの内部リンクやオリジナルのデータベースサイトへの外部リンクが貼られており、同じ分類に属する遺伝子を再検索したり、RefEx自体を遺伝子検索の起点とすることもできる。

さらに最近、理化学研究所のFANTOM プロジェクト5 (FANTOM5)^{8,9}によって大量の遺伝子発現データが公開され、これらもRefExに収録されている。これらのFANTOM5データは、ゲノムにコードされているプロモーターと転写因子制御ネットワークを明らかにすることを目的として得られ、それらを閲覧できるウェブサイトも公開されているが、多くの生命科学研究者にとってはその規模の大きさと複雑さから再利用が難しいものであった。RefExを通じて、これら的高精度かつ広範囲な組織や臓器（ヒトで556種）における遺伝子発現データについても可視化および比較を簡単に行えるようになった。

なお、使い方を解説した動画をライフサイエンス統合データベースセンターが提供する統合TV¹⁰から公開しているので、そちらも参考にされたい。

2. RefExの活用事例

RefExを利用することで、研究者は研究対象とする遺伝子が平常時にどの組織、細胞でどの程度発現しているのかについて、自ら実験をすることなく確認することができる。また、研究者がしばしば遭遇する馴染みのない遺伝子について、一般的には個別の研究論文における実験データや記述などからそれらの生物学的特徴を類推するが、RefExでは実験デザインに左右されない大規模かつ網羅的な測定データから研究者自身の目でそれらを簡単に確認することができる。さらに、研究者の用意した複数の遺伝子IDについて一括で検索できる機能を備えているほか、リスト機能を用いて遺伝子の詳細データを並列に比較することができるため、遺伝子発現解析などで見出された遺伝子群の関係性を知るためのツールとしても有用である。このような活用法によって、RefExは遺伝子発現解析のための強力なウェブツールとして生命科学および医学研究に幅広く貢献することが期待される。

一般社会においても、新聞の見出しなどで“やせる遺伝子、発見”のような表現が見かけられるようになり、一つ一つの遺伝子がどのような働きをもつのかについて、科学研究に裏打ちされた正確な情報源が求められている。将来的には、研究者だけでなく、一般の人でも遺伝子について検索することが日常的になったときに、その第一選択肢として使われることを目指している。

3. データ出力機能とデータレポジトリ

RefExが提供するすべてのデータは、クリエイティブ・コ

モンズライセンスのもとで、オープンデータとして自由にダウンロードおよび再利用することができる。検索結果一覧や詳細情報ページのデータはいずれもダウンロードすることが可能で、研究者自身のデータと参照することも、それらを使った再解析も自由に行うことができる。

また、外部の研究データレポジトリ「figshare」にも全てのデータがDOI付きで公開されている (<https://doi.org/10.6084/m9.figshare.c.3812815>)。さらに、ソフトウェア開発プロジェクトのための共有ウェブサービス「GitHub」上にも、公開データの再解析に用いたプログラムやドキュメントを整理しており、RefExで提供する再解析データについてある一定の評価品質および再現性を担保している (<https://github.com/dbcls/RefEx>)。RefExは生命科学データの共有および再利用の活用例のひとつであり、データ駆動型研究のためのデータセット、ウェブツールとしてだれでも自由に使うことができる。

おわりに

RefExは、DBCLSにおけるミッションの一つである「公共データベースの再利用促進」の実例の一つである。各種の遺伝子発現データを並列に整理し、それらを簡単に検索できる現在のインターフェースは2011年から始まっている。RefExという名称はReference Expression datasetの略称であるが、米国NCBIが提供する高品質な遺伝子配列データベースRefSeq: NCBI Reference Sequence Database (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/>)のように、誰もが参照し使われる遺伝子発現データベースを構築したいという開発当初の目標に由来している。

ウェブサイト公開時にすぐ論文化するよりもサービスとして使いやすさを向上させることを優先し開発を進めた。統合データベース講習会AJACS (http://togotv.dbcls.jp/ajacs_text.html) や各種学会等で積極的に紹介するうちに利用されるようになり、論文でもURLを引用される機会が増えてきた。RefExを活用した解析事例として初めて記載された論文は、京都大学放射線生物研究センター 原田 浩 教授らのグループの論文 (<http://doi.org/10.1038/onc.2014.411>) である。この事例では、がんに関する発現解析で見出した数十の治療標的候補遺伝子に対して、それらの発現状況をRefExで調べた。正常組織で発現量が非常に低い遺伝子を優先的に追加実験の対象にすれば、それらを治療標的とした場合に正常組織への影響が小さくなり有用だろうという仮説のもと絞込みを行った。その結果、選ばれた数個の遺伝子に対

象に追加実験を行い、新たな知見を見出した。この解析方法は「RefEx analysis」として記述され、図の作成にも貢献した。

このような活用法によって、遺伝子発現解析に資するサービスとしてある一定の完成度に達したことで論文としてまとめることになり、投稿先を探した。Scientific Data誌でFANTOM5 collection (<http://www.nature.com/collections/fantom5>) という特集が組まれることになり、FANTOM5データがRefExに収録されたことで、これに組み込んでいただけることになった。Scientific Data誌は、価値

のある研究データセットを掲載することを目的に2014年に創刊されたオープンアクセスジャーナルである。当初、論文として受け付ける対象は、「Data descriptor」(データ収集の目的・対象・取得方法などの記述と、機械可読な情報を含み、公開されたデータの有用性を示し、かつデータが発見されやすく、理解されやすく、再利用されやすいように構成される)という形式のみであり、RefExのようにそれらから有用なデータを収集し構築したウェブツール部分は取り上げられない方針だった。Technical Validationを記述することや、

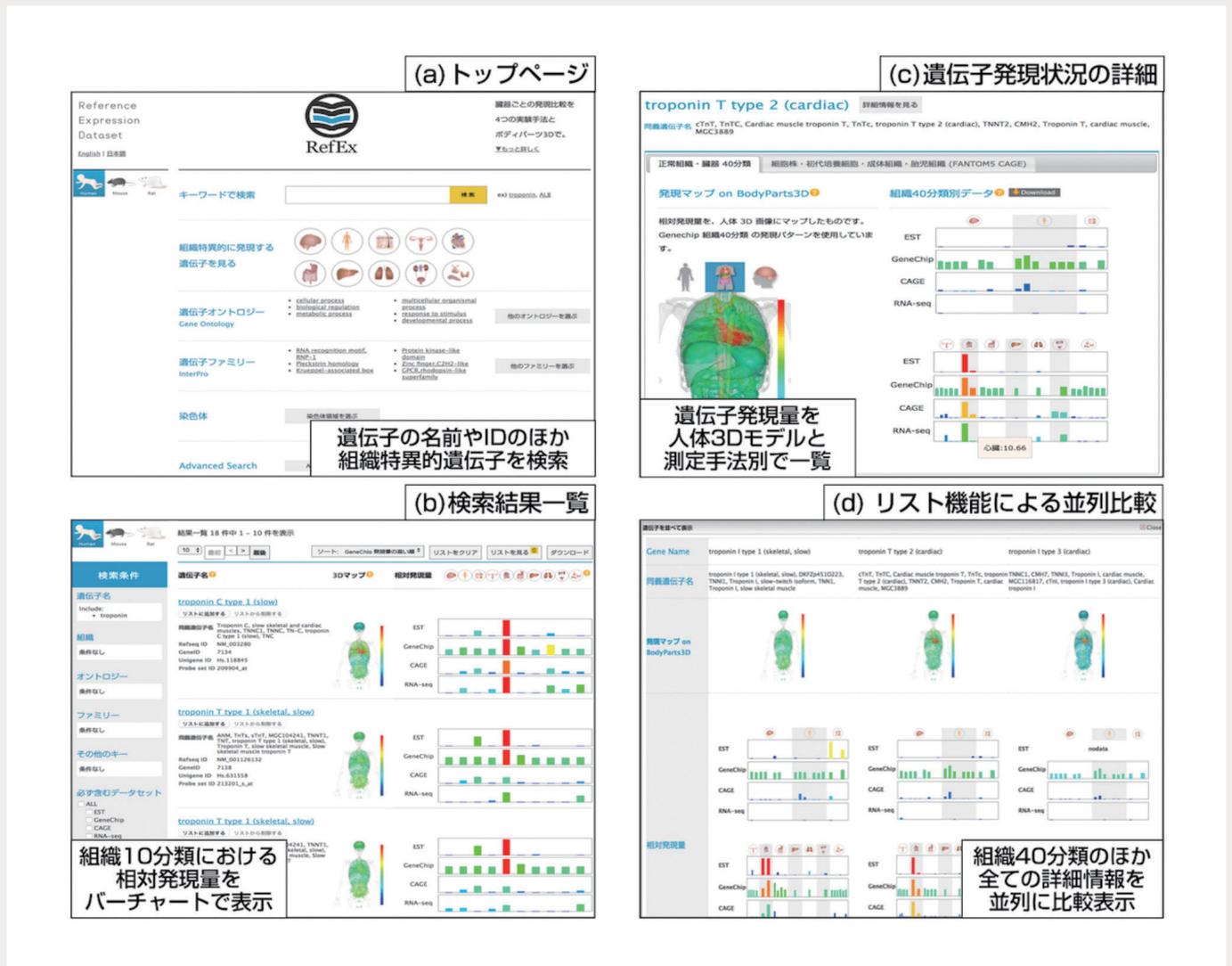


図1 遺伝子発現解析の基準となるデータを快適に検索可能なウェブツール「RefEx」

- (a) RefExのトップページ。検索窓にキーワードを入力する。他の項目はクリック操作で簡単に選択できる。
- (b) 検索結果一覧ページ。組織10分類の相対発現量がバーチャートで表示される。バー上にマウスを置くと臓器名が表示される。検索条件の追加が容易な絞り込み機能がある。
- (c) 個別の遺伝子の詳細情報ページ。人体の3Dモデルを利用したヒートマップは体幹部にフォーカスしたり回転させることができる。40分類の相対発現量と各種IDの情報が表示される。
- (d) リスト機能による並列比較。詳細情報ページに記載されているデータが1つの画面で並列に比較できる。

再解析したデータのすべてを公共アーカイブサイトに公開 (<https://doi.org/10.6084/m9.figshare.c.3812815>) するなど、Data descriptorの論文と変わらない要素を満たすことで、新設された「Article」(データの再利用を決定的に促進するシステムや技術について記述する)形式の論文として公表となった。

今後は、世界各地で進められている遺伝子発現に関する大規模研究プロジェクト (FANTOM、GTE^x¹¹など) を中心に、高精度かつ広範囲な遺伝子発現データを収集し、統合することによって、より有用性の高い参照データを作成する予定である。また、それらの参照データを簡単に検索したり、発現データ同士を詳細に比較したりすることを可能にする直感的なウェブインターフェースの開発を進めていきたいと考えている。

あとがき

原著論文 (<http://doi.org/10.1038/sdata.2017.105>) の内容を、ライフサイエンス新着論文レビュー <http://first.lifesciencedb.jp/from_dbcls/e0002> より許可を得て転載するとともに一部加筆した。

本稿で紹介したRefEx以外に、DBCLSでは研究者の研究サイクルを加速させることを目的として、多岐にわたるサービスを提供している。<<http://dbcls.rois.ac.jp/services>> これらはいずれも無償で、かつ登録等不要で、誰でも自由に使うことができる。DBCLSの活動は、どのくらい活用されたかについて主に引用数などで評価されており、利用者の方の積極的なサポートが必要不可欠である。もし、読者の皆さまの研究に役立ったのならば、その際には忘れずに引用してほしい。

● 引用文献

1. Okubo, K. et al. Large scale cDNA sequencing for analysis of quantitative and qualitative aspects of gene expression. *Nat Genet.* 2, 173–179 (1992).
2. Ogasawara, O. et al. BodyMap-Xs: anatomical breakdown of 17 million animal ESTs for cross-species comparison of gene expression. *Nucleic Acids Res.* 34, D628–D631 (2006).
3. Wu, C., Jin, X., Tsueng, G., Afrasiabi, C. & Su, A. I. BioGPS: building your own mash-up of gene annotations and expression profiles. *Nucleic Acids Res.* 44, D313–D316 (2016).
4. Shiraki, T. et al. Cap analysis gene expression for high-throughput analysis of transcriptional starting point and identification of promoter usage. *Proc Natl Acad Sci USA* 100, 15776–15781 (2003).
5. Sudmant, P. H., Alexis, M. S. & Burge, C. B. Meta-analysis of RNA-seq expression data across species, tissues and studies. *Genome Biol.* 16, 287 (2015).
6. Mitsuhashi, N. et al. BodyParts3D: 3D structure database for anatomical concepts. *Nucleic acids research*, 37(suppl 1), D782–D785 (2009)..
7. Ashburner, M. et al. Gene ontology: tool for the unification of biology. *Nat Genet.* 25, 25–29 (2000).
8. The FANTOM Consortium and the RIKEN PMI and CLST (DGT). A promoter-level mammalian expression atlas. *Nature* 507, 462–470 (2014).
9. Lizio, M. et al. Gateways to the FANTOM5 promoter level mammalian expression atlas. *Genome Biol.* 16, 22 (2015).
10. Kawano, S., Ono, H., Takagi, T. et al.: Tutorial videos of bioinformatics resources: online distribution trial in Japan named TogoTV. *Brief. Bioinform.*, 13, 258–268 (2012)
11. GTE^x Consortium. Human genomics. The Genotype-Tissue Expression (GTE^x) pilot analysis: multitissue gene regulation in humans. *Science* 348, 648–660 (2015).



小野 浩雅

ライフサイエンス統合データベースセンター (DBCLS)

放生研からのお知らせ

組織改編について

今年4月をもって、放射線生物研究センターは、京都大学の附置研ではなくなり、大学院研究科である「京都大学生命科学研究科」の附属センターとして、新たなスタートを切ることになりました。すでにご存じの方も多いと思いますが、統合を目前に控えたこの時点で、皆様にご報告いたします。

統合への動きは？

数年前からの京大内の人事制度・機構改革で、教員は全員「学系」というバーチャル組織に本籍を移しそこで人事を行うとされ、H26年度より放生研は生命科学研究科、iCEMS（の一部）とともに、「生命科学系」を構成することになりました。教員人事を行う場合、従来の協議委員会ではなく、「生命科学系」学系会議での投票で決めることになっています。同時に、放生研教員はほぼ全員が生命科学研究科の協力講座にも加わることになりました。この状況下で、統合の方向性が提案され、ほどなく決定にいたった次第です。今年4月からは、教員全員が生命科学研究科の「ゲノム生物学」基幹講座に所属し、教育・研究活動を行うこととなります。

では共同利用・共同研究拠点としての放生研はどうなるのか？

今回の統合において、この点がかつとも問題でありました。我々放生研メンバーは、拠点でなくなるなら、統合に踏み込むべきでないと考えておりました。幸い、文科省学術機関課に変更届提出をもって拠点としての継続が認められたので、今後も放生研は拠点として継続します。ということは、研究科附属センターでありながら、拠点でもあるという、希有な、おそらく最初の例となります。従来の協議委員会は廃止ですが、外部委員半分以上で構成される運営委員会はそのままです。運営委員の先生がたには拠点運営のアドバイザーとして、今後も放生研の拠点活動における意思決定にご参画、ご助力いただけますよう、お願いいたします。今後の拠点中間評価、期末評価においては、優れた拠点活動を行って拠点としての的確性に問題はないという評価を是非獲得していきたいと考えています。

生命科学研究科との統合によって、どのようなメリットがあるのか？

放生研は現在、基本4部門ですが、4月からは、生命科学研究科から二つの部門「放射線ストレス応答」(石川冬木教授)、および「染色体継承機能」(Peter Carlton准教授)に加わっていただけることになりました。この両部門に加えて「生命」の各部門との密接な相互作用をもってすれば、研究課題、共同利用者のリクルートなどにおいて有利になりますし、「生命」の共通機器を共同利用に供するなど、より幅広く深く研究を発展させていけると考えています。またこれまで、放生研は極小部局ですので、学内の委員会の負担や予算執行上小さいがゆえの余裕のなさ等が問題でした。「生命」との統合でこれらは解決されます。

ともあれ、基本、放生研は本質的にはなにも変わりません。「生命」との統合を機会に、拠点としてのミッションをさらに力強く推進していきたいと考えています。皆様のサポートをよろしくお願いいたします。

京都大学放射線生物研究センター
センター長 高田 穰

転出された方々

H29年12月 転出

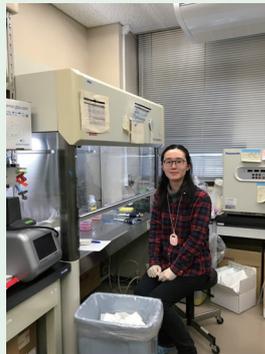


石合 正道さん

晩発効果研究部門
准教授

平成 29 年 12 月 31 日をもちまして京都大学を退職し、平成 30 年 1 月 1 日より東京築地の国立がん研究センター研究所 RI 実験施設長として赴任しております。放生研には平成 20 年 1 月に着任しましたので、ちょうど丸 10 年間在籍したことになりますが、本当にあっという間でした。この間、高田センター長をはじめ皆様方にはたいへんお世話になりました。心より感謝申し上げます。今後とも変わらぬご指導のほどよろしくお願い申し上げます。

H30年3月 転出



渡邊 明子さん

晩発効果研究部門
研究支援推進員

この度3月末で退職することとなりました。早いもので、放生研でお世話になって約5年経ちました。当初は実験に不慣れで迷惑をかけるのではないかと不安でしたが、高田先生をはじめ、研究室の皆さまにお力添えいただき、何とか勤めてこられました。大変感謝しております。また、様々な実験を経験させていただいたことは、私の大きな財産になりました。この貴重な経験を活かして、新天地でも頑張りたいと思います。最後に、他の研究室や事務の皆さまにも大変お世話になりました。ありがとうございました。

H29年9月 転出

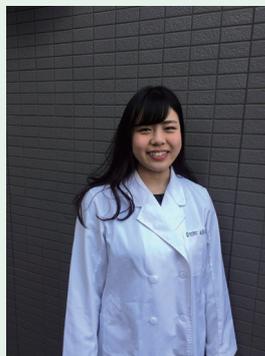


周 慧さん

ゲノム動態研究部門
大学院生（博士）

私は平成 24 年 4 月から平成 29 年 9 月まで 5 年半の間、放生研で研究させていただきました。小松先生、小林先生、斎藤さんをはじめ、卒業生を含めた小松研の皆様には本当にお世話になりました。また放生研の先生方、先輩方、事務の皆様には大変お世話になりました。この場を借りて御礼申し上げます。卒業後、平成 29 年 10 月に京都大学理学研究科出身の日本人と結婚しました。今後も日本で生活していくつもりで、放生研で学んだことをこれからに活かして頑張っていきたいと思っております。最後になりますが、皆様のご活躍を願っております。

H30年3月 転出



有澤 彩也香さん

晩発効果研究部門
大学院生（修士）

私は大学院修士課程の2年間、晩発効果研究部門に在籍しておりました。高田先生をはじめ、勝木先生、高田研の皆様には、懇切丁寧にご指導くださいましたこと、深く感謝しております。また、放生研の先生方、先輩方、事務の皆様には大変お世話になりました。心より御礼申し上げます。今後は、放生研で学んだことを生かし、精進してまいります。末筆ながら皆様の益々のご活躍を祈念しております。

H30年3月 転出



香取 就美さん

晩発効果研究部門
大学院生（修士）

晩発部門で2年間お世話になりました香取就美です。あっという間の2年間でしたが、高田先生、勝木先生をはじめ皆様のご指導の甲斐あって無事修士号を取得することができました。ありがとうございました。卒業後は科学研究をサポートする仕事に就きます。自分で研究をすることは無くなりますが、放生研での経験を活かして励んでいきたいと思えます。これからの皆様のより一層のご活躍を心よりお祈り申し上げます。

平成29年度 新人紹介



**孟 慶梅さん
(モン チンメイさん)**

ゲノム動態研究部門
研究生

今年の10月から、人間・環境学研究科に研究生としてお世話になっております、孟慶梅（モンチンメイ）と申します。中国天津出身、平成28に大連海事大学で修士を卒業した。新たな環境でわからないことが一杯あるので、ご迷惑をおかけしますが、頑張っていきたいと思っておりますので、ご指導のほど何卒よろしくお願いたします。

放射線生物研究センター各種委員会委員候補者選挙結果をお知らせします

標記の件、郵送投票にて実施しました。ご協力いただきありがとうございました。

平成29年11月17日時点の登録会員総数が250、投票数は109、投票率は43.6 %でした。

投票締め切り日 平成29年12月15日 開票日 平成29年12月19日 開票立会人 藤堂 剛、石合正道、小林純也

1. 放射線生物研究センター運営委員候補について (敬称略、五十音順)

島田義也 (放医研) 田内 広 (茨城大) (次) 倉岡 功 (福岡大)
田代 聡 (広島大) 立花 章 (茨城大) 藤堂 剛 (大阪大)

これら4名の方々は連絡会議よりセンター長宛に推薦されました。

2. 放射線生物研究センター共同利用・共同研究専門委員候補について (敬称略、五十音順)

大塚健介 (電中研) 児玉靖司 (大阪府大) (次) 藤原智子 (大阪大)
立花 章 (茨城大) 志村 勉 (国立医療科学院)

これら3名の方々は連絡会議よりセンター長宛に推薦されました。

3. 放射線生物研究センター将来計画専門委員候補について (敬称略)

松本義久 (東工大) (次) 三谷啓志 (東京大)

松本義久氏は連絡会議よりセンター長宛に推薦されました。

4. 放射線生物研究連絡会議幹事について (敬称略、五十音順)

笹谷めぐみ (広島大) 田内 広 (茨城大) (次) 田代 聡 (広島大)
細谷紀子 (東京大) 松本義久 (東工大)

互選により代表幹事として田内広氏が選出されました。なお、所内幹事は古谷寛治氏です。

(藤堂、石合 記)

編集後記

放生研ニュース160号 (2018年3月号) をお届けします。

今年の冬は全国的に記録的な寒さに見舞われました。「観測史上最低の気温を…」、「〇〇年ぶりの積雪量を…」等々の言葉を良く耳にしました。雪山を愛する方々の間に「夏から秋にかけてカメムシが大量発生する年は雪が多くなる」との言い伝えがありますが、振り返ってみますと昨年はカメムシを良く見かけたような…。その因果関係や科学的根拠は全くもって不明。科学者らしからぬ話題で恐縮ですが。。

表紙の写真は、平成29年12月に開催された放生研シンポジウムの様子 (全体集合写真と情報交流会) です。多くの方々にご参加頂き感謝に堪えません。平成30年度のシンポジウムは高田センター長を中心に準備が進められています。次号、次々号で概要をご案内できればと思っています。

(原田 浩)

