

申請者向けメニュー

申請者向けメニュー

<注意事項>

- 交付内定された研究課題情報を表示します。交付申請書の作成を開始できる状態になると、「状況」欄に「交付申請情報入力」ボタンが表示されます。
- すでに作成した申請書等を修正・確認する場合は、該当する研究課題の「状況」欄の「課題状況の確認」ボタンをクリックしてください。
- 交付決定後に作成する様式（支払請求書や実施状況報告書など）については、該当する研究課題の「状況」欄の「課題状況の確認」ボタンをクリックした先の画面で手続きを行うことができます。

| 課題番号 | 区分 | 研究種目 | 研究課題名 | URL | 状況 |
|----------|-----|----------------|--|-----|---------|
| 15K08978 | 基金 | 平成27年度 基盤研究(C) | TRPA1チャネルを標的とした消化管狭窄治療薬のin vivoスクリーニング | | 課題状況の確認 |
| 22790677 | 補助金 | 平成24年度 若手研究(B) | 筋線維芽細胞を標的とした腸管狭窄薬物治療法の開発 | | 課題状況の確認 |
| 25860571 | 基金 | 平成25年度 若手研究(B) | 大腸癌微小環境構築における癌関連線維芽細胞TRPC6 の役割 | | 課題状況の確認 |

倉原 琳 KURAHARA Lin

 ORCID連携する *注記

...▼ 別表記

研究者番号

00341438

その他のID



所属 *注記

2010年度 – 2018年度：福岡大学, 医学部, 講師
2005年度 – 2006年度：福岡大学, 医学部, 助手

審査区分/研究分野

研究代表者
消化器内科学

研究代表者以外
神経・筋肉生理学

キーワード

研究代表者
カルシウム / TRPC6 / fibrosis / myofibroblast / コラーゲン / 線維芽細胞 / 組織線維化 / NF-κB / TGF-β1 / 線維化・癌化 ...▼ もっと見る

研究課題 (4件)

研究成果 (72件)

共同研究者 (4人)

「研究課題をさがす」で表示

テキスト(CSV)で出力

研究開始年:新しい順

📄 TRPA1チャネルを標的とした消化管狭窄治療薬のin vivoスクリーニング

研究代表者

継続中

研究代表者

倉原 琳

研究期間 (年度)

2015 – 2017

研究種目

基盤研究(C)

研究分野

消化器内科学

研究機関

福岡大学

📄 大腸癌微小環境構築における癌関連線維芽細胞TRPC6 の役割

研究代表者

研究代表者

倉原 琳(海琳)

研究期間 (年度)

2013 – 2014

研究種目

若手研究(B)

研究分野

消化器内科学

研究機関

福岡大学

📄 筋線維芽細胞を標的とした腸管狭窄薬物治療法の開発

研究代表者

研究代表者

倉原 琳

研究期間 (年度)

2010 – 2012

研究種目


若手研究(B)

研究分野

消化器内科学

研究機関

福岡大学

 心筋ギャップ結合コネキシン43のリモデリングにおけるPKC活性化の意義

研究代表者

今永 一成

研究期間 (年度)

2005 – 2006

研究種目

基盤研究(C)

研究分野

神経・筋肉生理学

研究機関

福岡大学

URL : <https://nrid.nii.ac.jp/nrid/1000000341438/>

推奨研究プロジェクト研究成果報告書

推奨研究プロジェクト「若手病態生理（課題番号：147104）」

研究課題名「イオンチャネルの分子メカニズムと病態生理」

研究期間「平成26年7月29日～平成29年3月31日」

研究代表者「倉原琳（医学部生理学）」

研究員「松末綾（医学部法医学）」

研究概略

背景と目的

TRPA1チャネルは、消化管粘膜固有層において高発現して、消化管生理機能/病態生理機能へのその寄与は不明である。本研究は消化管リモデリングにおける筋線維芽細胞TRPA1チャネルの機能を評価した。

方法

線維化を誘導するin-vitroモデルとして、トランスフォーミング増殖因子- β 1 (TGF- β 1) を用いて消化管筋線維芽細胞株 (InMyoFibs) を刺激した。CRISPR/Cas9システムを用いてTrpa1-CRISPRノックアウトマウスを作製した。週1回のトリニトロベンゼンスルホン酸 (TNBS) 投与を6週間行って、慢性炎症による消化管線維化モデルマウスを作成した。クローン病 (CD) 患者の消化管由来の組織 (非狭窄部位・狭窄部位) を用いて、mRNA定量・タンパク定量・病理組織染色を行った。

結果

InMyoFibs細胞では、TRPA1がTRPファミリーメンバーの中で最も高い発現を示した。TNBS慢性大腸炎モデルマウスでは、炎症および線維化の程度は、野生型マウスよりもTRPA1 - / - ノックアウトにおいて顕著であった。プレドニゾロンの1週間の浣腸投与は、野生型マウスにおいて線維化病変を有意に抑制したが、TRPA1ノックアウトマウスでは抑制効果が見られませんでした。InMyoFibs細胞において、ステロイドおよびピルフェニドンによる刺激は Ca^{2+} 流入を惹起した、その Ca^{2+} 流入は選択的TRPA1チャネル遮断薬HC-030031によって抑制された。ステロイドおよびピルフェニドンは、TGF- β 1誘発性HSP47、I型コラーゲン、および α -平滑筋アクチンの発現を抑制し、Smad-2リン酸化およびMyocardin発現を減少させた。CD患者の線維化狭窄部位において、TRPA1mRNA/タンパク発現は有意に増加した。CD患者およびTNBS処置腸炎モデルマウスの両方の線維化狭窄部位にTRPA1 / HSP47二重陽性細胞が増生した。

結論

TRPA1は、消化管炎症および線維化へ保護的に働き、難治性の消化管炎症/リモデリングの新規治療標的となる可能性がある。

序 論

筋線維芽細胞は、創傷治癒およびリモデリングにおいて重要な役割を果たす。主要な線維化誘導因子、トランスフォーミング増殖因子 (TGF) - β は、多くのタイプの細胞から分泌され、線維芽細胞の筋線維芽細胞への変化を促進することが知られている。活性化された筋線維芽細胞は、増殖、遊走、患部組織に侵入し、コラーゲンが豊富な細胞外マトリックスの形成を促進し、収縮能を付与する α 平滑筋アクチン (α -SMA) を発現する。我々は以前に、in-vitro線維化モデルとしてTGF- β 1によって刺激された培養消化管筋線維芽細胞

(InMyoFibs) が活発にコラーゲンを分泌することを報告した。TGF- β 1刺激によって、細胞のサイズが増大し、およびストレスファイバーの増生などのInMyoFibsの特徴的な形態変化を誘導した。活性化されたTGF- β 受容体は、転写因子Smad-2およびSmad-3をリン酸化し、同様にコラーゲン合成を促進することが報告されている。TGF- β は、消化管線維化に重要な役割を果たすコラーゲン特異的分子シャペロンである熱ショックタンパク質47 (HSP47) をアップレギュレートすることが報告されている。HSP47の活性をブロックすることは、コラーゲン産生を抑制するのみならず、線維化病変の進行を抑制できることが知られている。TGF- β シグナルは、消化管筋線維芽細胞分化の誘導中に血清応答因子およびその補因子であるMyocardin関連転写因子によって制御されることも知られている。TGF- β レベルは、クローン病 (CD) および潰瘍性大腸炎の患者の炎症部位において上昇する。しかしTGF- β 1は、抗炎症応答にも重要であることから、臨床的实施における抗線維化治療のためのTGF- β 1中和抗体の使用は、TGF- β 1の抗炎症作用を弱めることによってCDを悪化させる可能性がある。さらに、TGF- β シグナル伝達異常は、腸の免疫寛容および創傷治癒を妨げることが知られている。

組織リモデリングの病変における Transient Receptor Potential (TRP) チャネルの関与に関心が高まっている。我々は2015年に、筋線維芽細胞におけるTRPC4およびTRPC6活性が消化管線維性狭窄の進行と機能的に関連していることを報告した。別のTRPメンバーであるTRPA1は、腸の筋線維芽細胞においてmRNAレベルで豊富に発現されることを示した。TRPA1は、消化管の知覚神経および腸上皮細胞において発現することが知られており、その活性化は、小腸の微小循環に

おけるアドレノメデュリンの増加を介して腸の血流を増加し、抗炎症作用を示す。また、TRPA1 アゴニストであるアリルイソチオシアネート (AITC) が肝星状細胞に抗線維化作用を及ぼし、別の TRPA1 アゴニスト: アリシンが口腔粘膜下組織および心臓における線維化を防止することも報告されている。さらに、TRPA1 チャネルの活性化はデキストラン硫酸ナトリウム誘発性慢性大腸炎に対する抗炎症作用があることも報告されている。TRPA1 チャネルが消化管の炎症・線維化における詳細な役割の解明のため、我々は本研究プロジェクトにて腸炎・線維化モデルマウスを作成し、野生型マウスと TRPA1 欠損マウスとの間の消化管炎症/線維症の重症度を比較した。福岡県生物食品研究所から提供された 103 種の食品成分の中から、TRPA1 活性化および抗線維化活性の両作用を有する 4 つの植物抽出成分が同定された。これらの 4 つの成分は、TGF- β 1 によって誘導される α -SMA およびコラーゲン産生を抑制した。そのうち、ステロイド様成分 (グリチルリチン・グリチルリチン酸) を含む「甘草」のエタノール抽出物は、最も強い TRPA1 活性化/抗線維化活性を示した。また、いくつかの抗線維化薬の中から、ピルフェニドンという薬が TRPA1 チャネルを活性化することが明らかになった。臨床では、ステロイドは、術後狭窄を含む多くの臓器を標的とする抗線維化薬として広く使用されている。これらの薬物は、CD などの炎症性腸疾患に頻繁に見られる合併症である線維狭窄および術後狭窄化を緩和することも知られている。ピルフェニドンは、動物モデルにおいて種々のタイプの線維症を抑制することが報告されており、特発性肺線維症の患者に対する臨床試験において有効であることが示されている。消化管において、ピルフェニドンは、コラーゲン特異的分子シャペロンとして作用し、CD の腸線維症に関与する HSP47 の発現を抑制することにより、抗線維効果を発揮することが報告されている。本研究では、筋線維芽細胞 TRPA1 が線維狭窄機構に関与しているかどうか、およびステロイドやピルフェニドンが筋線維芽細胞 TRPA1 チャネルを活性化することによって腸内で抗線維作用を発揮するかどうかについて検討を行った。我々は、TRPA1 ノックアウトマウスを作成し、マウスから得られた *in vivo* の結果と InMyoFibs 培養細胞を用いた *in vitro* 実験の結果

を比較した。さらに、CD 患者の腸の狭窄および非狭窄部位からの生検組織を用いて、TRPA1 チャネルの局在や発現量を確認した。これらの実験から、筋線維芽細胞における TRPA1 活性が TGF- β 1 誘導性 α -SMA およびコラーゲン産生を負に調節することが示唆され、腸管粘膜下組織に発現する TRPA1 チャネルは消化管線維化リモデリングを緩和するための有望な分子ターゲットである可能性がある。

実験結果

InMyoFibsにおけるTRPA1チャネルの機能的発現

InMyoFibsのマイクロアレイ定量の結果から、TRPA1のmRNAレベルがTRPファミリーメンバーの中で最も高いことを示した (図1A)。この結果と一致して、ホールセルパッチクランプ実験の結果から、消化管筋線維芽細胞InMyoFibsにおいて、TRPA1アゴニストAITC (10 μ M) が強く非選択的カチオン電流を強く活性化した (図1B)。AITCによって活性化される電流は、TRPA1チャネルの典型的な特徴: 外向き整流性を示し (図1C)、この電流はTRPA1選択的アンタゴニストHC-030031 (10 μ M) によって抑制された (図1D)。HC-030031 (10 μ M) は、AITCによって誘発された細胞内Ca²⁺濃度上昇 ([Ca²⁺]_i) をほぼ完全に抑制した (図1E)。AITCによって誘導された応答がTRPA1チャネル活性を介することをさらに確認するために、我々は、siRNAを用いてInMyoFibs中のTRPA1の発現を特異的抑制した。図1Fに示すように、InMyoFibsにおけるTRPA1 siRNA処理は、TRPA1タンパク質発現ならびにAITC誘導性[Ca²⁺]_i上昇を顕著に抑制した。これらの結果は、InMyoFib細胞においてTRPA1チャネルが機能的に発現していることを示す。

図 1

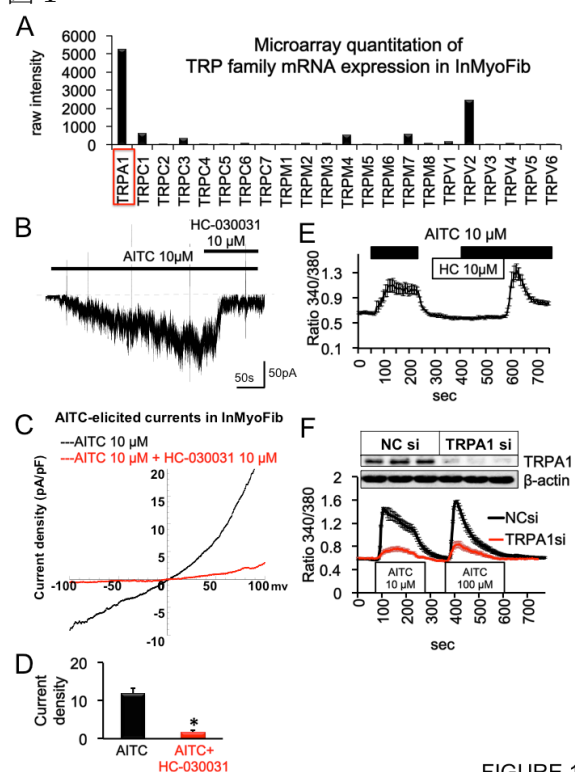


FIGURE 1

TRPA1チャネル活性化は、TGF-β1誘導ストレスファイバー形成・コラーゲン合成を抑制する

次に、TGF-β1刺激によって誘導された線維化に対するTRPA1の関与について検討を行った。5ng/mLのTGF-β1によるInMyoFibの24時間刺激は、TRPA1 mRNAおよびタンパク質の発現を増強した（図2A）。同時に、TGF-β1は、ストレスファイバー形成およびα-SMAのタンパク質発現を促進し、10 μMのTRPA1アゴニストAITCの添加によって顕著に抑制された（図2B）。TGF-β1シグナル伝達の下流カスケードについて検討を行うと、TGF-β1によるマスター転写調節因子MYOCDのmRNA発現やSmad-2のリン酸化の増加が、TRPA1ノックダウンによってさらに増強された（図2C、D）。TRPA1アゴニストAITCは、TGF-β1によるHSP47のアップレギュレーションを有意に抑制した（図2E）。TRPA1のsiRNA処理は、TGF-β1の存在下および非存在下の両方でACTA2およびCOL1A1の発現を増強した（図2F）。AITC添加によって、TGF-β1刺激下のα-SMA（ACTA2）および1A1型コラーゲン（COL1A1）のmRNA発現増加を抑制した（図2G）。これらの結果は、TRPA1活性が、InMyoFibにおけ

るTGF-β1線維化関連シグナリングを負に調節することを示唆している。

図 2

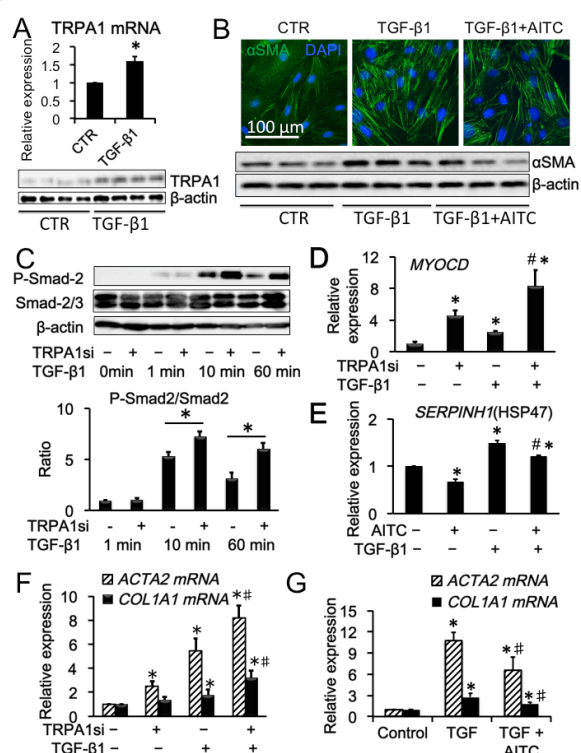


FIGURE 2

TRPA1-KOマウスのTNBS炎症・線維化モデル

6週間にわたるTNBSの反復投与によって慢性大腸炎モデルマウスを作成した（図3A）。TNBS腸炎モデルマウスは、炎症性腸疾患の線維化研究に適していることが知られている。野生型マウスと比較して、TNBSで処置したTRPA1-KOマウスは、粘膜および粘膜下層における顕著な炎症細胞浸潤および体重増加の遅延が見られ、炎症の程度がより顕著であった（図3B、D）。組織病理学的染色実験の結果から算出した線維化スコアは、TRPA1-KOマウスにおいて野生型マウスより有意に高く（図3BおよびCの両方についてP < 0.01）、コラーゲン線維の粘膜下層への浸潤が観察された（図3B）。最後のTNBS処置の後、我々は1週間のプレドニゾロン浣腸投与を行った。この処置の後、線維症スコアはWTマウスにおいて有意に改善されたが、TRPA1 KOマウスでは変化は観察されなかった（図3BおよびC）。

図 3

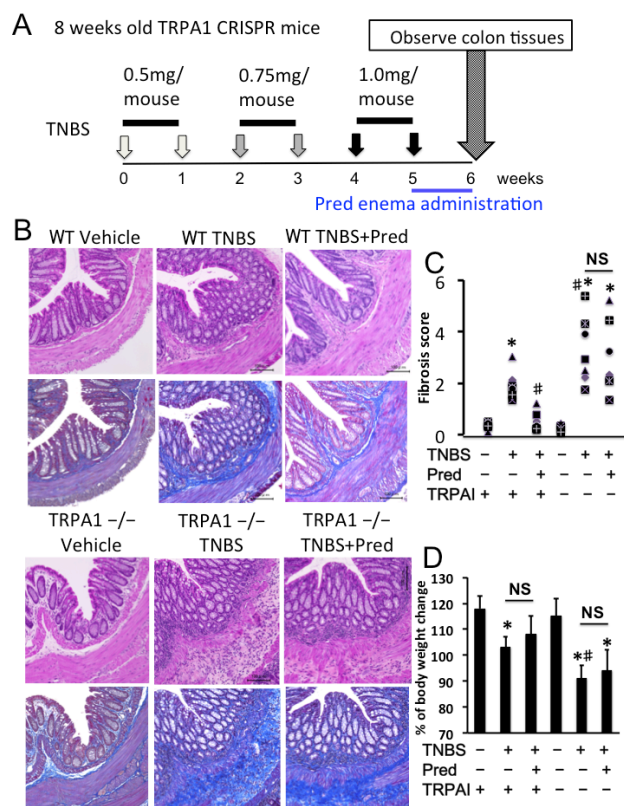


FIGURE 3

これらの所見は、TRPA1チャネル活性が慢性大腸炎における炎症性/線維化応答を制御する重要な分子あることを強く示唆している。二重免疫染色実験の結果から、TRPA1および正確なプロコラーゲンの折りたたみに必須の小胞体常在分子であるHSP47に対する免疫反応の同局在の割合が高いことを示した（図4AおよびB）。TNBS処理は、野生型マウス結腸におけるTRPA1 mRNAの発現レベルを有意に増加させた（TNBS対Vehicle群について $P < 0.05$ ）（図4C）。Vehicle群と比較して、単位面積当たりのTRPA1 / HSP47-二重陽性細胞の数は、TNBS処理群で大きく増加した（図4D）。TRPA1のタンパク質レベルは、TNBS処理によって有意にアップレギュレートされた（図4E）。

図 4

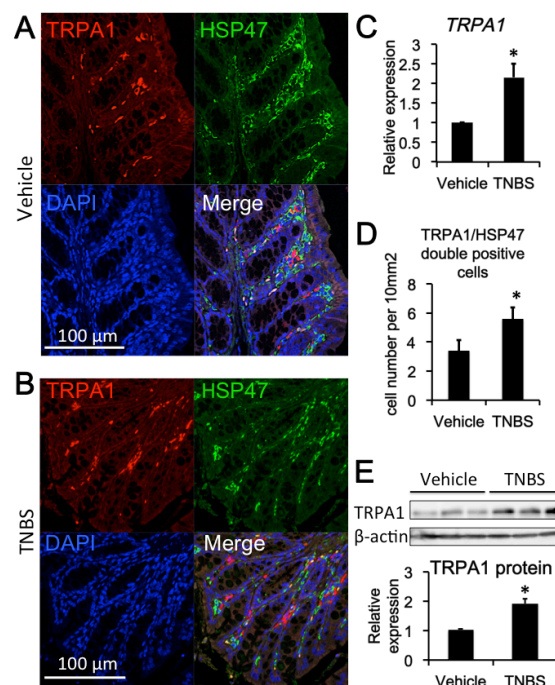


FIGURE 4

ステロイドとピルフェニドンは、TRPA1を介して Ca^{2+} 流入を誘導し、線維化シグナルを抑制する

序論に述べたように、ステロイドおよびピルフェニドンは、様々な線維性疾患のために広く使用されている抗線維性薬物である。さらに、我々は、甘草のステロイド様エタノール抽出物（グリチルリチン・グリチルレチン酸）が抗線維活性を有することを見出した。したがって、我々は、これらの化合物の抗線維化効果が、部分的にTRPA1チャネルの活性化に関わる可能性があるかと仮説を立てた。この仮説を検証するために、我々はまずInMyoFibs上のこれらの分子の Ca^{2+} 流入へ及ぼす効果を調べた。図5A、図5B、および図6Aに示すように、代表的なステロイドであるメチルプレドニゾロンおよびプレドニゾロン、ピルフェニドンはすべて、InMyoFibsの $[Ca^{2+}]_i$ の強い増加を惹起した。これらの $[Ca^{2+}]_i$ の増加は、 $10 \mu M$ ITIC（図1E）によって誘発されたものと同等の大きさであり、TRPA1選択的アンタゴニストHC-03001の前投与によって完全に阻害され（図5A、5Bおよび6A）、これらの化合物の Ca^{2+} 流入活性化効果は、TRPA1チャネルを介することを示唆している。TRPA1を

発現するHEK293細胞を用いたcell-attached パッチクランプ記録 ($V_m = -40\text{mV}$) の結果からメチルプレドニゾロン ($100\text{ }\mu\text{M}$) およびAITS ($5\text{ }\mu\text{M}$) の刺激はTRPA1チャネルを活性化した (図5C)。InMyoFibsのリアルタイムRT-PCR分析において、プレドニゾロン、ピルフェニドンは用量依存的に、TGF- β 1によって誘導されるACTA2およびCOL1A1のmRNA発現増強を抑制した (図5G、5H、6E)。さらに、プレドニゾロン、ピルフェニドおよびAITSは、TGF- β 1下流のSmad-2リン酸化およびHSP47・MYOCD発現をも抑制した (図2C-E、5D-F、6B-D)。しかし、TRPA1-siRNAで前処理したInMyoFibsでは、TGF- β 1によるI型コラーゲン (COL1A1) および α -SMA (ACTA2) のmRNA発現増強は、プレドニゾロンおよびピルフェニドによって抑制されなかった (図6G-H)。

図 5

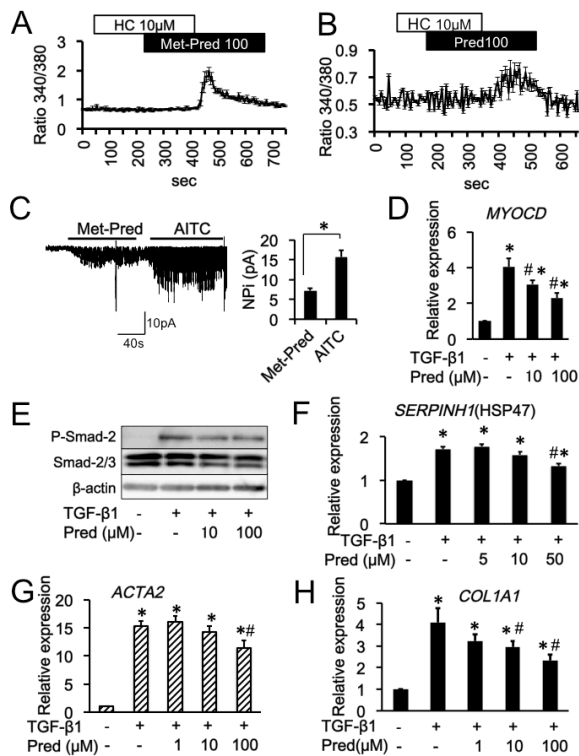


FIGURE 5

図 6

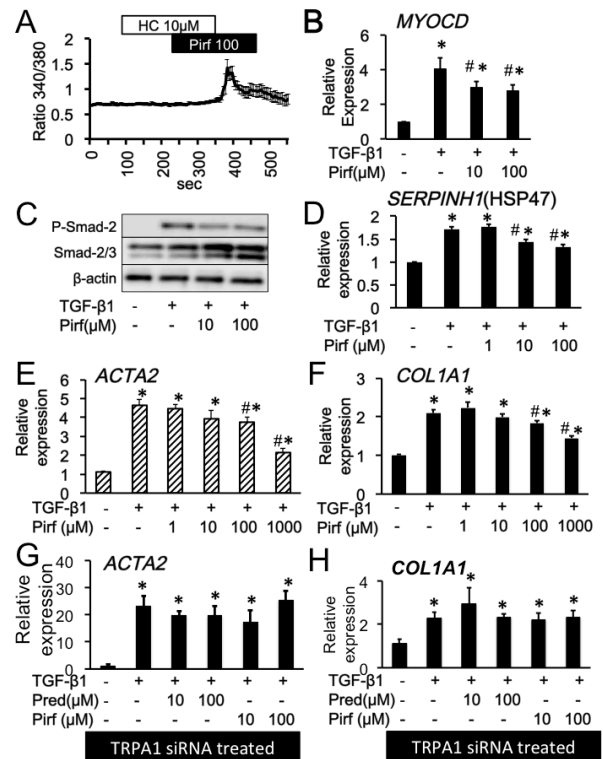


FIGURE 6

CD患者の狭窄組織におけるTRPA1発現の増強

CDの消化管組織のリモデリング形成は筋線維芽細胞の局所的な過剰蓄積によって引き起こされることが知られているので、TRPA1がヒトCD患者の線維化狭窄部位でアップレギュレートされているかどうかを検討した。

実験に用いたCD患者のプロファイルの要約：年齢、性別、診断、狭窄領域、狭窄の重症度、病歴、主な治療薬、およびサンプリング方法を表1に示す。

表1

| Patient number | Age | Gender | Diagnosis | Stenosis area | Severity of stenosis | Clinical history | Past treatment | Sampling |
|----------------|-----|--------|------------------------------------|-----------------------|----------------------|------------------|-------------------------|-----------|
| 01 | 22 | M | CD, small and large intestine type | S. colon | moderate | 10 | Anti-TNF α + AZA | Endoscopy |
| 02 | 29 | M | CD, small and large intestine type | anastomosis | moderate-severe | 8 | Anti-TNF α | Endoscopy |
| 03 | 43 | F | CD, small and large intestine type | T. colon | moderate-severe | 3 | Anti-TNF α + AZA | Endoscopy |
| 04 | 33 | M | CD, large intestine type | A. colon | moderate | 8 | Anti-TNF α | Endoscopy |
| 05 | 51 | M | CD, large intestine type | D. colon | moderate | 5 | Anti-TNF α | Endoscopy |
| 06 | 40 | M | CD, small and large intestine type | S. colon | moderate-severe | 15 | Anti-TNF α | Endoscopy |
| 07 | 49 | M | CD, small and large intestine type | S. colon, anastomosis | severe | 26 | Anti-TNF α | Operation |
| 08 | 51 | M | CD, small and large intestine type | A. colon | severe | 24 | TPN, Mesalazine | Operation |

AZA: Azathioprine
TPN: Total Parenteral Nutrition

8名のCD患者の腸から採取した生検サンプルを、病理組織学免疫染色、リアルタイムRT-PCR法で線維化関連分子の定量・発現パターンの検討を行った。HEおよびMT染色を用いた組織学的染色の結果から、非狭窄領域と比較して線維化狭窄領域の粘膜

層におけるコラーゲン線維のより高密度の沈着を明らかにした(図7A)。さらに、生検組織の二重免疫染色により、狭窄領域の粘膜層におけるTRPA1 / HSP47-二重陽性細胞の数が、非狭窄領域の粘膜層よりも多く見られた(図7B)。図7Cに示すように、TRPA1およびHSP47のmRNA発現は、非狭窄領域と比較して狭窄領域において有意に増強された。これと一致して、線維化関連遺伝子ACTA2、CDH2、COL1A1、COL3A1、MMP1(マトリックスメタロプロテイナーゼ1)、MMP2、TIMP1(マトリックスメタロプロテイナーゼ1の組織阻害剤)およびTIMP2のmRNAレベルは、狭窄部位において非狭窄部位よりもずっと高かった(図7C、D)。狭窄部位におけるTRPA1およびSERPINH1(HSP47)のmRNAおよびタンパク質発現の増加が観察された(図7D)。

図 7

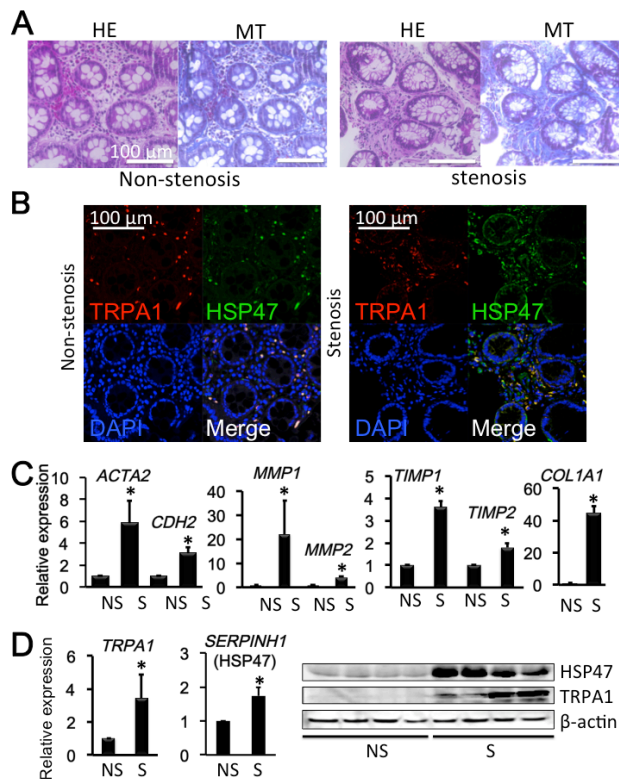


FIGURE 7

総括

TGF- β シグナル伝達経路の活性化は、CD患者の線維化狭窄合併症の根底にある。しかしながら、このシグナル伝達を標的とする単純な中和療法は有益ではなく、炎症応答をさらに悪化する可能性

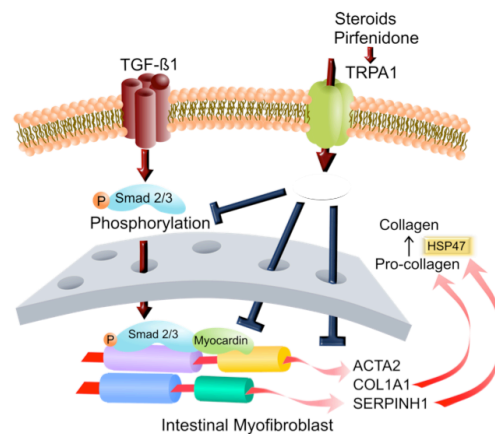
さえある。この点に関して、本研究は2つの新規かつ臨床的に重要な洞察を提供する。第1に、in vitroおよびin vivo実験ならびにヒト生検組織実験から得られた証拠は、筋線維芽細胞におけるTRPA1チャンネルの活性の増加が腸の線維形成を防御することを示唆した。第2に、我々は、TRPA1チャンネルの活性化が、ステロイド、ピルフェニドンの抗線維化作用に関わることを見出した。これらの結論は、以下の結果によって支持されている：

(1) TRPA1 mRNAは、筋線維芽細胞において高度に発現され、ヒトCD患者の腸の狭窄領域において顕著にアップレギュレートされた。(2) TNBS腸炎モデルマウスのデータからTRPA1-KOマウスの方がより重篤な炎症や線維化が観察され、炎症性細胞浸潤を伴う結腸の粘膜および粘膜下層に間質線維化を示した。野生型マウスにプレドニゾロンで1週間処置したマウスでは線維化が抑制されたのに対し、TRPA1-KOマウスでは治療効果を示さなかった。(3) ピルフェニドンおよびステロイドは、TRPA1選択的アゴニストAITCと同様に、TRPA1チャンネル活性化を介してCa²⁺流入を惹起した。これらの化合物はまた、TGF- β 誘発線維化を抑制し、InMyoFibsにおけるHSP47発現を抑制した。

(4) CD患者およびTNBSマウスの線維化部位粘膜下層にTRPA1 / HSP47-二重陽性細胞が増生した。CD患者の狭窄領域では、多数の細胞が粘膜下層のTRPA1およびHSP47に対して免疫陽性であり、多数のコラーゲン線維が染色され、線維化マーカーが有意にアップレギュレートされていた。特に、TRPA1およびHSP47の両分子は、温度刺激だけでなく、多くの他の物理化学的刺激によっても活性化されることが知られている。これらの知見は、腸筋線維芽細胞におけるステロイド、ピルフェニドンの抗線維化作用をサポートし、CD関連腸管狭窄を治療できる可能性を示す。

狭窄部位および非狭窄部位の生検組織からの所見は、InMyoFibを用いたin vitro実験と同じメカニズムは、CD患者の腸の狭窄病変において作用する可能性があるということを示唆する。本研究で検討した狭窄病変を有する8人のCD患者のうち、7人はすでにTNF α 抗体療法を受けていた。予後不良因子を伴う合併症または消化管損傷を有するCD患者にとって抗TNF α 抗体療法が第一選択であると考えられている。しかしながら、TNF α 抗体

によって誘発される急速な粘膜治癒が過剰な線維化を促進し得るので、抗TNF α 抗体療法は線維化狭窄を悪化させる可能性がある。ステロイドの局所投与は、CDの初期治療として使用されている。ステロイドによって活性化される筋線維芽細胞TRPA1が消化管炎症・線維化に寄与するという知見は、治療上の大きな意義を有し、TRPA1を含むいくつかのTRPチャンネルが高度に発現される皮膚、肺、肝臓の同様の領域でも認められる可能性がある。さらに、本研究においてTRPA1と同時発現されたコラーゲン特異的分子シャペロンHSP47は、熱、せん断応力、酸化および他の刺激によって上方調節されるストレス誘導性タンパク質であり、したがって、CDによる消化管リモデリングに関連する重要な候補因子である。これは、これらの分子がどのようにして機能的に相互作用して炎症性腸疾患の線維症の合併症の病因に寄与するかどうか、およびこれらの分子が将来どのように研究されるべきかというもう一つの興味深い問題を提起する。要約すると、本研究は、腸線維症における筋線維芽細胞TRPA1チャンネルの新しい役割を明らかにし、ステロイドおよびピルフェニドンがこのチャンネルを活性化してその抗線維化効果を発揮することを明らかにした。この新しい抗線維化分子標的TRPA1の同定は、ステロイドおよびピルフェニドンの薬理学的作用のさらなる研究につながるだけでなく、異なる抗線維性薬物の相加的/相乗的效果および副作用の解釈に繋がる可能性がある。我々の知見は、炎症性腸疾患の抗線維化治療のための新規分子標的を示すだけでなく、腸内の炎症および線維症のメカニズムを再解釈するための可能性を提示した。



概略図：InMyoFibs細胞におけるTGF- β 1の下流の仮説的なTRPA1を介するシグナル伝達経路。TRPA1チャンネルは、HSP47、COL1A1、およびACTA2発現ならびにSmad-2リン酸化およびMYOCD発現を負に調節する。ステロイドおよびピルフェニドンは、TRPA1チャンネルを活性化することによって抗線維症効果を示す。

謝辞

福岡大学推奨研究プロジェクトによるサポートで本研究を遂行することができました。患者組織を提供してくださった消化器内科竹田津先生、消化器外科小島先生に御礼申し上げます。103のスクリーニング用ハーブライブラリーを提供してくださった、福岡生物食品研究所に感謝します。

研究業績

1. 土居二人、土居麻友美、倉原琳*、井上隆司 / 月刊「臨床栄養」臨時増刊号 経腸栄養の基礎「経腸栄養と消化管免疫」2017年Monthly "Clinical Nutrition" Special Supplement : Basic Intestinal Nutrition "Enteral Nutrition and Gastrointestinal Immunity" 2017 in press 総説 *責任著者
2. Hu Y, Duan Y, Takeuchi A, Kurahara HL, et al. "Uncovering the arrhythmogenic potential of TRPM4 activation in atrial-derived HL-1 cells using novel recording and numerical approaches" Cardiovascular Research 2017 in press
3. Oshima Y, Yamamoto T, Ishikawa T, Mishima H, Matsusue A, Umehara T, Murase T, Abe Y, Kubo SI, Yoshiura KI, Makita N, Ikematsu K. Postmortem genetic analysis of sudden unexpected death in infancy: neonatal genetic screening may enable the prevention of sudden infant death. J Hum Genet. in press
4. Matsusue A, Ishikawa T, Michiue T, Waters B, Hara K, Kashiwagi M, Takayama M, Ikematsu N, Kubo SI. Association between cerebrospinal fluid dopamine concentrations and catechol-O-methyltransferase gene polymorphisms in forensic autopsy cases of methamphetamine abusers. Forensic Sci Int. 270:159-164, 2017
5. Matsusue A, Yuasa I, Umetsu K, Nakayashiki N, Dewa K, Nishimukai H, Kashiwagi M, Hara K, Waters B, Takayama M, Ikematsu N, Kubo SI. The global distribution of the p.R1193Q polymorphism in the SCN5A gene. Leg Med. 19:72-76, 2016.
6. Nakagawa M, Matsusue A, Umetsu K, Iino M, Ishikawa T, Yuasa I. Genotyping of the c.1423C>T (p.P475S) polymorphism in the ADAMTS13 gene by APLP and HRM assays: Northeastern Asian origin of the mutant. Leg Med. 21:1-4, 2016
7. Kurahara HL*, Hiraishi K, Aoyagi K, et al.; Chapter8 : " Intestinal Fibroblast / myofibroblast TRP Channels. " in "New Insights into Inflammatory Bowel Disease", October 26, 2016 著書(査読あり) *責任著者
8. Kurahara LH*, Hiraishi K, Sumiyoshi M, Doi M, Hu Y, Aoyagi K, Jian Y, Inoue R, "Significant contribution of TRPC6 channel mediated Ca²⁺ influx to the pathogenesis of Crohn's disease fibrotic stenosis." J. Smooth Muscle Res., 2016; 52(0):78-92. 総説 *責任著者
9. Jana Radosinska, Lin H. Kurahara, Keizo Hiraishi, et al. / Modulation of cardiac connexin-43 by omega-3 fatty acid ethyl-ester supplementation demonstrated in spontaneously diabetic rats (Physiol Res. In press)
10. Lin H. Kurahara*, Miho Sumiyoshi, Kunihiro Aoyagi, et al. / Intestinal Myofibroblast TRPC6 Channel may Contribute to Stenotic Fibrosis in Crohn's Disease (Inflammatory Bowel Diseases 21(3):496-506, 2015) *責任著者

| | |
|------|--------|
| 整理番号 | 151045 |
|------|--------|

平成 27 年度 総合科学研究チーム研究計画書

〔 I ・ II ・ III ・ IV (女性研究者チーム) 〕 * いずれかを○で囲んでください。

| | | | | | | | | | | |
|------------------------------|---|--------|------------------------|-----|-----|-----|-----|------|-----|------|
| 代表者氏名 <small>ふりがな</small> | <small>くらはら りん</small> 倉原 琳 ⑨ | | 学部・資格： 医学部生理学・講師 | | | | | | | |
| 内 線 | 3 2 3 6 | E-mail | hailin@fukuoka-u.ac.jp | | | | | | | |
| 研究チーム名 | 線維化病変の病態生理研究チーム | | | | | | | | | |
| 研究課題名 | 筋線維芽細胞 TRP チャネルを標的とした腸管狭窄薬物治療法の開発 | | | | | | | | | |
| 欧文課題名 | Investigation of intestinal myofibroblast TRP channel as therapeutic target of colonic stenosis | | | | | | | | | |
| 研究期間 | 平成 27 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日 (2 年間) | | 単位：千円 | | | | | | | |
| 研究経費 | 人件費 | 旅 費 | 消耗品 | 通信費 | 印刷費 | 図書費 | 謝 金 | 設備備品 | その他 | 合計額 |
| 平成 27 年度 | 0 | 300 | 1000 | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 | 100 | 1500 |
| 平成 28 年度 | 0 | 300 | 1000 | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 | 100 | 1500 |

| | 氏 名 | 年 齢◆ | 資 格 | 学部・学科*** | 役 割 分 担 (課題) |
|------------------|--------|------|-----|-------------------|---------------------------|
| 研 究 組 織 | 倉原 琳 | 36 | 講師 | 医学部・生理学 | 立案・動物実験・チャネル機能評価・データ解析・総括 |
| | 塩井 成留実 | 33 | 助教 | 理学部・化学科 | タンパク質調製・蛋白相互作用・構造解析 |
| | 張 影 | 35 | 助教 | 山口大学医学部・生体機能分子制御学 | TRP チャネル機能修飾タンパク質の同定 |

*希望の何れかを○で囲んでください。

◆平成 27 年 4 月 1 日現在の満年齢を記入して下さい。

**研究チーム名は 15 字以内でまとめてください。
***医学部・病院所属者は、講座名まで記入してください。

【総合】様式 1－2

| | |
|--------------------------------|--|
| 研究目的 (1 頁以内にまとめて下さい) | <div>1) 背景と目的：研究の背景とこの研究費の交付を希望する期間内に何をどこまで明らかにするのか。</div> <div>2) 学術的特色・独創的な点：当該分野における学術的特色・独創的な点と予想される結果と意義。</div> <div>3) 各種研究事業（科研費など）との関係：すでに助成を受けている各種研究事業との関係があれば、その中でこの研究の力点をどこにおくのか、などを記入して下さい。</div> |
|--------------------------------|--|

1) 背景と目的：

クローン病や潰瘍性大腸炎などの炎症性腸疾患 (IBD) は、自己免疫異常に起因する難治性疾患である。IBD は、若年で発症し頑固な下痢や便秘を繰り返す経過を辿ることから、長年に亘って生活の質を劣化させる難治性の疾患として問題になっている。抗 TNF α 抗体療法は現在最も注目されている IBD の治療法であり、炎症の抑制に顕著な効果を示すが、線維化による腸狭窄が大きな問題として残る。IBD 急性期の治療は潰瘍治癒を目指す、慢性期には狭窄（線維化）に対する治療が必要となり、患者の生活の質を低下させる大きな要因となっている。現在は外科切除か内視鏡的バルーン拡張術が主な治療法である。したがって、この線維化に対する薬物治療法の開発は重要な課題と考えられる。

本研究は炎症部位へ分化・遊走する筋線維芽細胞に発現するストレスファイバーおよびそれより産生されるサイトカイン、extracellular matrix を標的として、腸管組織の線維化に関わる筋線維芽細胞内シグナル伝達および転写因子制御機構の解明とともに、腸狭窄の内科的治療法開発を目的とする。倉原のグループは、ヒト結腸から樹立された筋線維芽細胞 InMyoFib において、様々な物理化学刺激に応答する TRP チャネルが線維化シグナルに深く関与することを報告してきた。また、張影のグループは平滑筋細胞において、Fyn チロシンキナーゼおよびその下流にあるパキシリンがストレスファイバーの構築に重要であることを報告してきた。

2) 学術的特色・独創的な点：

本研究では、IBD 線維化進行過程における重要性が注目されている筋線維芽細胞のストレスファイバー構築と筋線維芽細胞からの線維化調節因子の放出に焦点をあて、TRP チャネル機能制御が腸管組織線維化の進行や改善にどのように関わっているのか、分子生物学・免疫組織化学・生理学的手法を用いて探索する。既に、予備的な実験データを取得しており設定目標は達成できる見込みである。この実験系の確立は、筋線維芽細胞がもたらす腸管炎症の増悪や治癒の両方向におけるシグナル伝達経路の解明に繋がり、将来 IBD 時の線維化治療に用いる新しい薬物のスクリーニングを行うにあたって重要なステップとなる。従って本研究の提案は、独創的なプロジェクトであり、本研究の成果から極めて大きな社会的な波及効果が期待される。また、福岡県生物食品研究所より、TRP チャネルに作用する可能性を持つ生物食品を 103 種提供して頂き、現在筋線維芽細胞に対する作用をスクリーニング中である。消化管線維化を予防・緩和できる食品成分の発見ができれば、機能性食品の開発による地域経済の活性化に繋がり、科学技術の成果の社会への還元効果が期待される。

3) 各種研究事業（科研費など）との関係：

我々は現在、科研費・若手 (B) (平成 25～26 年度、課題番号：25860571) 「大腸癌微小環境構築における筋線維芽細胞 TRPC6 の役割」を取得しており、本申請課題に関わる線維化と癌化の関連性を検討中である。去年まで 3 年間の間に、臨床研究奨励基金「大腸癌微小循環構築における筋線維芽細胞 TRPC6 の役割」；科研費・若手 (B) (課題番号：22790677) 「筋線維芽細胞を標的とした腸管狭窄薬物治療法の開発」；貝原守一医学振興財団「筋線維芽細胞をターゲットとした腸管狭窄治療法の開発」の 3 つの研究費を取得してきた。本申請内容の基礎作りとなる多くのデータを取得することが出来た。現在論文投稿中である。

平成 27 年度以降に関しては、本研究内容のための確定済み外部資金はない。

【総合】様式 1－3

研究計画・方法

- 1) 初年度と 2 年目に区分して、研究計画・方法を具体的に記入して下さい。
- 2) 研究代表者と研究分担者の相互関係（役割分担状況など）も具体的に記入して下さい。

1) 初年度

2014 年度現在 CRISPR/Cas システムを用いた TRPA1 チャネルストレート KO マウスを作製中である。もし成功できれば、作成した TRPA1 ノックアウトマウスを用いて、腸管組織線維化抑制効果への関与が示唆された TRPA1 による細胞機能制御を in vivo で評価する。(倉原)

リポポリサッカライドを用いて腸炎モデルマウスを作成して、TRPA1-KO マウスと WT マウスの間で炎症の進行と狭窄形成度合を比較検討する。腸炎動物の正常部位、腸炎動物の炎症発症びらん部位、腸炎動物の狭窄部位の四種類の組織から単離した筋線維芽細胞の一次培養系を確立する。筋線維芽細胞におけるストレスファイバーの形成、EGF, TGF, PDGF, VEGF, FGF などの増殖因子、サイトカイン・ケモカイン放出；コラーゲン・MMP・TIMP、TRP の発現の変化をデジタルリアルタイム PCR や免疫ブロットで評価する。更に、モデル動物において消化管狭窄が進行した際の組織内筋線維芽細胞の形態・局在の変化をレーザー共焦点顕微鏡による組織免疫染色法で精査する。組織から単離した筋線維芽細胞の Ca^{2+} 動態や膜電流の変化について、デジタル Ca^{2+} イメージング法やパッチクランプ法による比較検討を行い、炎症・狭窄との関係性の病態生理学的意義を探る。(倉原・塩井・張)

様々な増殖因子の刺激によりストレスファイバーが構築されるシステムの一環として、TRP チャネル機能を Fyn チロシンキナーゼおよび Rho キナーゼが制御している可能性が大きいと予想される。また、TRPA1 チャネルタンパク質の N 末端にあるアンキリンリピートが細胞内にあるパキシリンというタンパク質と相互作用していることが知られている。これらの TRPA1 機能制御の可能性を検証するために、TRPA1-KO マウスと WT マウスからの一次単離細胞におけるタンパク相互作用やストレスファイバーの発現パターンの変化も含めて精査する。(張・塩井)

2) 2 年目

福岡県生物食品研究所から、TRPA1 活性化物質に類似性を持つ食品成分エタノール抽出物 103 種類の提供を受け、現在細胞レベルで、これら食品成分が癌関連線維芽細胞 TRPA1 チャネルへの影響、線維化・癌化シグナルへの作用について盲試験でスクリーニング中である。(2014 年度内にスクリーニング完了予定) もし有望な候補が見つければ、上述の動物実験で効果を確かめる。※見つからなかった場合は継続して他の食品成分を提供してもらい、スクリーニングを続ける。(倉原)

以上のパイロット実験で見つかった有効食品成分を用いて、消化管狭窄への抑制作用を評価する。WT マウスと KO マウスの腸炎モデルを作成して、有効食品成分を投与する。炎症進行度合いの違い・狭窄の重篤さの比較、腸管の組織レベルでの応答の変化(腸管収縮および細胞の遊走性)につい、KO マウスと WT マウス間で比較検討する。上皮間葉転換・筋線維芽細胞浸潤・線維芽細胞形質転換などの現象におけるストレスファイバー形成における TRP チャネル・Fyn・パキシリンの役割について検討する。TRPA1 チャネルを介する Ca^{2+} 流入によって活性化される転写因子(calcieneurin-NFAT、NF- κ B など)、線維化関連転写因子(SRF など)の制御についても検討を行う。(張・塩井)

| 科 目 | 金 額 (円) | | 内 容 |
|-------|-----------|-----------|--|
| | 平成27年度 | 平成28年度 | |
| 消耗品費 | 1,000,000 | 1,000,000 | 品名、金額 <平成27年度> 細胞・培養用血清・培地等 200,000 (InMyoFib細胞, K0マウス一次培養細胞) 遺伝子導入試薬 100,000 一般試薬 150,000 遺伝子改変動物 作成・飼育 550,000 <平成28年度> 細胞・培養用血清・培地等 200,000 (InMyoFib細胞, K0マウス一次培養細胞) 抗体・タンパク相互作用解析実験 500,000 一般試薬 50,000 遺伝子改変動物 維持・飼育 250,000 |
| 通信運搬費 | 0 | 0 | 摘要、金額 なし |
| 印刷費 | 100,000 | 100,000 | 摘要、金額 <平成27年度>データ共有・研究成果報告書冊子作成費 (100,000) <平成28年度>データ共有・研究成果報告書冊子作成費 (100,000) |
| 小 計 | 1,100,000 | 1,100,000 | |

* 単年度毎に資金計画を記入してください。

【総合】様式2-3

総合科学研究チーム資金計画書

| 科 目 | 金 額 (円) | | 内 容 |
|------------|-----------|-----------|---|
| | 平成27年度 | 平成28年度 | |
| 謝 金 | 0 | 0 | 人数、回数、金額 |
| 設備備品費（機器類） | 0 | 0 | 品名、規格、数量、金額、使途 （ソフトウェアは消耗品扱い） |
| 図書費 | 0 | 0 | 種別（和・洋）、出版社、金額 |
| その他（雑費） | 100,000 | 100,000 | 摘要、金額 ＜平成27年度＞論文校閲費(50,000×2回分) ＜平成28年度＞論文校閲費(50,000×2回分) |
| 小 計 | 100,000 | 100,000 | |
| 総 計 | 1,500,000 | 1,500,000 | |

* 単年度毎に資金計画を記入してください。

| <p>研究業績 (1)</p> | <p>1) 様式3(2)の記入例にならって、最近5年間に於いて発表した学術論文・著書について、研究者別に現在から過去の順に記入して下さい。ただし、投稿中や印刷中の論文は記入しないで下さい。</p> <p>2) 種別欄：論文(理系では原著)、著書、総説、報告書などを明記して下さい。</p> <p>3) 発表論文・著者名欄：著者名が多数に及ぶ場合、当該研究者の氏名より後ろの著者名は、“et al.”や“ら”で省略して下さい。雑誌の場合、著者名：論文名・雑誌名、巻(号)：最初と最後の頁、発表年を記入して下さい。また、著書、報告書などの場合、著者名：論文名・書名(編者)、出版社(所在地)、最初と最後の頁、発表年を記入して下さい。いずれも当該著者名に下線を付して下さい。</p> | |
|---------------------|--|--|
| 氏 名 | 種別 | 発 表 論 文 ・ 著 者 名 |
| 倉原 琳 | 原著 | Kawarabayashi Y★, Hai L★, Honda A, Horiuchi S, Tsujioka H, Ichikawa J, Inoue R. / Critical Role of TRPC1-Mediated Ca ²⁺ Entry in Decidualization of Human Endometrial Stromal Cells. (★ contributed equally) (Mol Endocrinol. 2012 May;26(5):846-58) |
| | 原著 | Hai L, Kawarabayashi Y, Imai Y, Honda A, Inoue R. / Counteracting effect of TRPC1-associated Ca ²⁺ influx on TNF α -induced COX-2-dependent prostaglandin E ₂ production in human colonic myofibroblasts. (Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2011 301(2): G356-67) |
| | 原著 | Inoue R, Jensen LJ, Jian Z, Shi J, Hai L, Lurie AI, Henriksen FH, Salomonsson M, Morita H, Kawarabayashi Y, Mori M, Mori Y, Ito Y. / Synergistic activation of vascular TRPC6 channel by receptor and mechanical stimulation via phospholipase C / diacylglycerol and phospholipase A ₂ / omega-hydroxylase / 20-HETE pathways. (Circ Res. 104(12): 1399-409, 2009) |
| | 原著 | Hatae J, Takami N, Lin H, Honda A, Inoue R. / 17beta-Estradiol-induced enhancement of estrogen receptor biosynthesis via MAPK pathway in mouse skeletal muscle myoblasts. (J Physiol Sci. 59(3):181-90, 2009) |
| | 原著 | Mitasikova M, Lin H, Soukup T, Imanaga I, Tribulova N. / Diabetes and thyroid hormones affect connexin-43 and PKC-epsilon expression in rat heart atria. (Physiol Res. 58(2) :211-7, 2009) |
| | 総説 | 血圧調節と TRP チャネル / 井上隆司、海 琳、波多江純真 (自律神経, 46,198-204, 2009) |
| 塩井成留実 | 原著 | Narumi Shioi, Masanobu Deshimaru, and Shigeyuki Terada / Structural analysis and characterization of new small serum proteins from the serum of a venomous snake (Gloydus blomhoffi). (Biosci. Biotechnol. Biochem., 78(3):410-419, 2014) |
| | 原著 | S. Shioi*, N. Shioi(Aoki)*, Y. Okabe, S. Ando, Y. Karube / Preparation of a radiolabeled cationic peptide using an improved SUMO protein expression system. (* contributed equally) (Peptide Science 2013 (ISBN 978-4-931541-14-6), 169-172, 2014) |
| | 報告書 | 半田祥哲、田中亜衣、塩井成留実、寺田成之 / Trimeresurus flavoviridis 由来新規金属プロテアーゼ flavorase の性質とその阻害蛋白質について。(毒素シンポジウムの予稿集 ISSN 1344-9346:60-63, 2013) |

| 研 究 業 績 (2) | 記入要領については様式3 (1) を参照して下さい。 | |
|----------------|----------------------------|--|
| 氏 名 | 種別 | 発 表 論 文 ・ 著 者 名 |
| 塩井成留実 (続き) | 原著 | Narumi Shioi , Eiki Ogawa, Yuki Mizukami, Shuhei Abe, Rieko Hayashi, and Shigeyuki Terada / Small serum protein-1 changes the susceptibility of an apoptosis-inducing metalloproteinase HV1 to a metalloproteinase inhibitor in habu snake (<i>Trimeresurus flavoviridis</i>). (J. Biochem., 153(1):121-129, 2013) |
| | 原著 | Yasuyoshi Tanaka, Sachiko Oyama, Shin-ichi Hori, Koya Ushio, Narumi Shioi , Shigeyuki Terada, and Masanobu Deshimal / Accelerated evolution of fetuin family proteins in <i>Protobothrops flavoviridis</i> (Habu snake) serum and discovery of an L1-like genomic element in the intronic sequence of a fetuin-encoding gene. (Biosci. Biotechnol. Biochem., 77(3):582-590, 2013) |
| | 原著 | S. Shioi, N. Shioi(Aoki) , Y. Karube / Biosynthesis of cationic peptide labeled with radioisotope. (Peptide Science 2012 (ISSN 1344-7661), 151-154, 2013) |
| | 報告書 | 塩井成留実 , 寺田成之 / 毒ヘビの生体防御物質に関する研究. (毒素シンポジウムの予稿集 ISSN 1344-9346:41-44, 2012) |
| | 原著 | Narumi Shioi , Masaaki Narazaki, and Shigeyuki Terada / Novel function of antihemorrhagic factor HSF as an SSP-binding protein in Habu (<i>Trimeresurus flavoviridis</i>) serum. (Fukuoka Univ. Sci. Rep., 41(2):177-184, 2011) |
| | 原著 | Narumi Shioi and Shigeyuki Terada / Isolation and characterization of a novel subunit of phospholipase A ₂ inhibitor in the serum of <i>Trimeresurus flavoviridis</i> . (Fukuoka Univ. Sci. Rep., 41(2):185-193, 2011) |
| | 原著 | Yuki Mizoe, Narumi Shioi (Aoki) , Shigeyuki Terada, Yoshiki Uchida, Masahide Kuroki, and Sannamu Lee / Characteristic difference of biological activity, between, Arg-containing and Lys-containing peptides. (Peptide Science 2009 (ISBN 978-4-931541-10-8), 213-216, 2010) |
| | 原著 | Narumi Aoki , Masanobu Deshimaru, Kenji Kihara, Shigeyuki Terada / Snake fetuin: Isolation and structural analysis of new fetuin family proteins from the sera of venomous snakes. (Toxicon, 54(4):481-490, 2009) |

| 研究業績 (3) | 記入要領については様式 3 (1) を参照して下さい。 | |
|----------------|-----------------------------|--|
| 氏 名 | 種別 | 発 表 論 文 ・ 著 者 名 |
| 張 影 | 原著 | <u>Zhang Ying</u> , Zhang Houli, Tang Zeyao, Kohama Kazuhiro, Lin Yuan. Inverse interaction between tropomyosin and phosphorylated myosin in the presence or absence of caldesmon. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai). 45(7): 601-606, 2013. |
| | 原著 | <u>Zhang Y</u> , Kawamichi Hi, Tanaka H, Yoshiyama S, Kohama K, Nakamura A. Calcium-Dependent Regulation of the Motor Activity of Recombinant Full-length <i>Physarum</i> Myosin. J Biochem. 152(2):185-190, 2012. |
| | 原著 | <u>Zhang Y</u> , Tang ZY, Kohama K, Lin Y. Interaction between Myosin and a Trace Amount of Caldesmon. J Biochem. 150(3):267-270, 2011. |
| | 原著 | Thatcher SE, Fultz ME, Tanaka H, Hagiwara H, Zhang HL, <u>Zhang Y</u> , Hayakawa K, Yoshiyama S, Nakamura A, Wang HH, Katayama T, Watanabe M, Lin Y, Wright GL, Kohama K. Myosin light chain kinase/actin interaction in phorbol dibutyrate-stimulated smooth muscle cells. J Pharmacol Sci. 116(1):116-27, 2011._ |
| | 原著 | <u>Zhang Y</u> , Nakamura A, Kawamichi H, Shinji Yoshiyama, Takeshi Katayama, Kohama K. Calcium regulation of the ATPase activity of <i>Physarum</i> and scallop myosins using hybrid smooth muscle myosin: the role of the essential light chain. FEBS Lett. 584(15):3486-3491, 2010. |
| | 原著 | 加治屋勝子、岸博子、高田雄一、 <u>張影</u> 、木村友彦、宮成健司、萩原弘、小林誠. 食品成分による血管病予防の新展開. FFI Journal 217: 284-289, 2012. |
| (記入例) 七隈 太郎 | 論文 著書 | <u>Nanakuma, T.</u> et al. : How to get a research fund from the Central Research Institute of Fukuoka University. J. Res. Funds, 11(2) : 33-44, 2001. <u>七隈 太郎</u> , 他 : 補助金獲得法. 補助金のいろいろ (福岡花子他, 編), 九州書院 (福岡), pp55-66, 2001. |

| 補助金等の受入状況 | | 1) 過去 5 年間に学外から補助を受けた実績について、研究者別に記入して下さい。 2) 研究費種別欄には、科学研究費、受託研究費、研究助成寄附金、共同研究費、寄付研究経費など、具体的に記入して下さい。 3) 代表分担欄には、各研究者がその研究課題で研究代表者か研究分担者かを明記して下さい。 4) 交付年が複数年にわたる場合は、交付年欄にその期間を記入して下さい。 | | | |
|-----------|-------|--|----------|------------|---------------|
| 氏 名 | 研究費種別 | 研 究 課 題 名 | 代表 分担 | 金額 (万円) | 交付年 (西暦) |
| 倉原 琳 | 科研費 | 文部科学省科学研究費補助金・若手(B) (課題番号: 25860571) 「大腸癌微小環境構築における筋線維芽細胞 TRPC6 の役割」 | 代表 | 377 万 | 2013 ～ 2014 年 |
| | 助成金 | 臨床研究奨励基金「大腸癌微小循環構築における筋線維芽細胞 TRPC6 の役割」 | 代表 | 50 万 | 2012～ 2013 年 |
| | 助成金 | 貝原守一医学振興財団 「筋線維芽細胞をターゲットとした腸管狭窄治療法の開発」 | 代表 | 200 万 | 2012～ 2013 年 |
| | 科研費 | 文部科学省科学研究費補助金・若手 (B) (課題番号: 22790677) 「筋線維芽細胞を標的とした腸管狭窄薬物治療法の開発」 | 代表 | 364 万 | 2010～ 2012 年 |
| 塩井成留実 | 助成金 | 公益財団法人 国際科学技術財団「毒ヘビが獲得してきた自己の毒に対する生体防御機能の解明」 | 代表 | 100 万 | 2014 年 |
| | 科研費 | 文部科学省科学研究費補助金・若手(B) (課題番号: 22770134) 「蛇毒酵素蛋白質に対する抗毒素蛋白質 SSP の分子認識機構の解明」 | 代表 | 330 万 | 2010 ～ 2011 年 |
| 張 影 | 科研費 | 文部科学省科学研究費補助金・基盤 (C) (課題番号: 25460290) 「細胞骨格制御の観点から難病疾患群に共通する病的シグナル伝達系を解明する」 | 分担 | 390 万 | 2013～ 2015 年 |
| | 科研費 | 文部科学省科学研究費補助金・研究活動スタート支援 (課題番号: 25893150) 「血管攣縮分子機構に関する新規シグナル分子の探索」 | 代表 | 273 万 | 2013 ～ 2014 年 |
| | 科研費 | 文部科学省科学研究費補助金・基盤 (B) (課題番号: 23380077) 「血管異常収縮を選択的に阻害する食品成分の同定と作用機序の解明」 | 分担 | 1460 万 | 2011 ～ 2013 年 |

平成 年 月 日

福岡大学総合科学研究チーム
研究分担者承諾書

■ 研究代表者所属・資格・氏名

殿

(研究課題名)

標記研究課題の研究分担者となることを承諾します。

■ 研究分担者所属・資格・氏名(ふりがな)

印

(平成 27 年 4 月 1 日現在 満 歳)

当機関に所属する上記の者が、標記の研究課題の研究分担者となることを承諾します。

■ 研究分担者所属機関長の資格・氏名・職印

印

《 総合科学研究チーム設置申請書の記入上の注意 》

◆申請の制限及び条件

- ① 研究分担者については、本学以外の研究者 1 人以上を構成員としなければなりません。
- ② 同一研究者は 2 つ以上の総合科学研究チーム及び領域別研究チームに加入・申請することはできません。既に継続中の研究チームに所属している場合は、総合科学研究チームの研究活動開始前に脱退していただきます。
- ③ 研究代表者の入れ替え、研究課題名を多少変更しても実質的に同じと見なされる場合も申請は認められません。
- ④ 研究チームⅣの若手研究者(全員)については、平成 27 年 4 月 1 日現在、満 42 才以下であることが条件となります。(科研費に準ずる。)

◆研究分担者

- ① 学外の研究者が研究分担者となる場合には、申請時に所属機関長の承諾書が必要です。
- ② 大学院生・研究生は研究分担者にはなれませんが、研究協力者として参加できます。

◆研究経費の使用計画

- ① 研究経費は年度毎、費目別に可能な限り具体的に記入してください。
- ② 審査では研究計画と経費使用計画の適合度も判定対象となります。したがって、使用計画を限度額に合わせた方が有利とは限りません。

なお、研究協力者の研究経費の使用計画については、研究推進課(総合科学研究チーム担当者)にお問い合わせください。

◆研究経費の使用制限

- ① 設備備品費(機器類)は、申請額の 10%以内に限ります。
- ② 印刷費は、研究成果報告に関連した著書や刊行物等の発行には使用できません。
- ③ 研究の推進上、申請時の資金計画変更の必要が生じた場合、すみやかに変更使用願いに理由書を添えて、研究推進部長に提出してください。
- ④ 研究推進部委員会において相当と認められた場合に限り、研究経費総額の 20%を限度として費目の変更が認められることがあります。ただし、残金は翌年度以降に繰越すことはできません。

◆研究業績

- ① 過去 5 年間に発行・発表された著書・総説・論文を記入してください。
申請者(※1)の研究業績については、「**研究者情報**」より、申請様式に沿ったダウンロードが可能です。その方法は次のとおりです。
- ② 「Fu ポータル」または「本学公式 HP の研究者情報の学内ログイン(画面の左上)」→「研究者用メニュー」の「4.申請書出力」→「申請書出力」画面の「対象年月」を「2009 年 4 月から 2014 年 6 月」とし下の申請書種類の中より「福岡大学」の「1.総合科学研究部研究」の研究業績を「出力」→「申請書出力」Microsoft-word 形式「総合科学研究チーム様式 3」→「保存」→「校正(※2)の上印刷」(※1)研究代表者及び「本学」の研究分担者に限る。
(※2)ダウンロード後の校正は研究者情報に反映されません。

◆補助金の受入状況

過去 5 年間に学外から補助を受けた実績を記入してください。