

生化学第二

1 構成員

	平成18年3月31日現在
教授	1人
助教授	1人
講師（うち病院籍）	0人（0人）
助手（うち病院籍）	2人（0人）
医員	0人
研修医	0人
特別研究員	0人
大学院学生（うち他講座から）	7人（1人）
研究生	1人
外国人客員研究員	0人
技術職員（教務職員を含む）	0人
その他（技術補佐員等）	1人
合 計	13人

2 教員の異動状況

- 三浦 直行（教授）（H11. 4. 1～現職）
 上里 忠良（助教授）（H4. 4. 1～現職）
 佐藤 英二（助手）（S62. 10. 1～現職）
 呉 一心（助手）（H8. 4. 1～現職）

3 研究業績

数字は小数2位まで。

	平成17年度
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	5編（0編）
そのインパクトファクターの合計	32.93
(2) 論文形式のプロシーディングズ数	0編
(3) 総説数（うち邦文のもの）	1編（1編）
そのインパクトファクターの合計	0.00
(4) 著書数（うち邦文のもの）	0編（0編）
(5) 症例報告数（うち邦文のもの）	0編（0編）
そのインパクトファクターの合計	0.00

(1) 原著論文（当該教室所属の者に下線）

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. Tamakoshi T, Itakura T, Chandra A, Uezato T, Yang Z, Xue X-D, Wang B, Hackett BP,

Yokoyama T, Miura N: Roles of the Foxj1 and Inv genes in the left-right determination of internal organs in mice. Biochem Biophys Res Commun 339: 932-938, 2006.

インパクトファクターの小計 [2.94]

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）

1. Yoshida K, Kanaoka S, Takai T, Uezato T, Miura N, Kajimura M, Hishida A: EGF rapidly translocates tight junction proteins from the cytoplasm to the cell-cell contact via protein kinase C activation in TMK-1 gastric cancer cells. Exp Cell Res 309: 397-409, 2005.

インパクトファクターの小計 [4.71]

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

1. Satoh S-i, Naoki T, Ishigure T, Osada S, Imagawa M, Miura N, Yamada K, Noguchi T: Nuclear factor 1 members interact with hepatocyte nuclear factor 1 to synergistically activate L-type pyruvate kinase gene transcription. J Biol Chem 280: 39827-39834, 2005.

2. Ormestad M, Astorga J, Landgren H, Wang T, Johansson BR, Miura N, Carlsson P: Foxf1 and Foxf2 control murine gut development by limiting mesenchymal Wnt signaling and promoting extracellular matrix production. Development 133: 977-987, 2006.

3. Takemoto M, He L, Norlin J, Patrakka J, Xiao Z, Petrova T, Bondjers C, Asp J, Wallgard E, Sun Y, Samuelsson T, Mostad P, Lundin S, Miura N, Sado Y, Alitalo K, Quaggin SE, Tryggvason K, Betsholtz C: Large-scale identification of genes implicated in kidney glomerulus development and function. EMBO J 25: 1160-1174, 2006.

インパクトファクターの小計 [25.28]

(3) 総 説

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. 三浦直行, 熊澤年泰: 疾患群の遺伝学的検査と遺伝子検査 3. 循環器疾患, 日本臨床 63巻増刊号「遺伝子診療学」 pp.196-206, 2005.

インパクトファクターの小計 [0.00]

4 特許等の出願状況

	平成17年度
特許取得数（出願中含む）	0件

5 医学研究費取得状況

	平成17年度
(1) 文部科学省科学研究費	5件 (1,390万円)
(2) 厚生科学研究費	0件 (0万円)
(3) 他政府機関による研究助成	0件 (0万円)
(4) 財団助成金	0件 (0万円)
(5) 受託研究または共同研究	0件 (0万円)
(6) 奨学寄附金その他(民間より)	0件 (0万円)

(1) 文部科学省科学研究費

三浦直行(代表者) 特定領域研究 フォークヘッド遺伝子Foxc2による乳癌細胞転移促進作用とその分子機構の解明 370万円(新規)

三浦直行(代表者) 特定領域研究 会話言語遺伝子FOXP2の高次脳機能における役割の解明 260万円(新規)

三浦直行(代表者) 基盤研究(B) 劇症肝炎抵抗性モデル動物を用いた肝発癌と肝細胞死の分子標的の探索 360万円(継続)

三浦直行(代表者) 萌芽研究 分子標的発見による肝臓強化新療法の基礎的研究 190万円(新規)

板倉達郎(代表者) 若手研究(B) 乳癌細胞の転移能を亢進させるFOXC2遺伝子とその臨床的意義に関する研究 210万円(新規)

7 学会活動

	国際学会	国内学会
(1) 特別講演・招待講演回数	0件	0件
(2) シンポジウム発表数	0件	2件
(3) 学会座長回数	0件	1件
(4) 学会開催回数	0件	0件
(5) 学会役員等回数	0件	3件
(6) 一般演題発表数	1件	

(1) 国際学会等開催・参加

5) 一般発表

ポスター発表

- Ohtsubo M, Moriwaki S, Wang C, Hotta Y, Horisawa T, Daicho K, Kawaguchi K, Miura N, Mori N, Sato K, Shimizu N, Terao T and Minoshima S: SYMPHONIE: A knowledge-base for postgenome symptomatics to trailblaze from symptoms to gene diseases. American Meeting on Human Molecular Genetics, October 2005, Salt Lake City, UT.

(2) 国内学会の開催・参加

3) シンポジウム発表

1. 三浦直行：フォークヘッド遺伝子FOXC2と先天性リンパ水腫，第28回日本分子生物学会年会，12月，福岡
2. 板倉達郎，Chandra Abhishek，楊志，玉越智樹，三浦直行：メダカFoxP2遺伝子の単離とその解析，第28回日本分子生物学会年会，12月，福岡

4) 座長をした学会名

三浦直行 第28回日本分子生物学会年会ワークショップ

(3) 役職についている国際・国内学会名とその役割

三浦直行 日本生化学会評議員

三浦直行 日本細胞生物学会評議員

三浦直行 心臓血管発生研究会幹事

8 学術雑誌の編集への貢献

	国内	外国
学術雑誌編集数（レフリー数は除く）	0件	0件

(3) 国内外の英文雑誌のレフリー

三浦直行 1回 Dev Dyn (IF=3.80)

9 共同研究の実施状況

	平成17年度
(1) 国際共同研究	3件
(2) 国内共同研究	2件
(3) 学内共同研究	2件

(1) 国際共同研究

Kari Alitalo（ヘルシンキ大学）Foxc2遺伝子のリンパ管形成における役割

Christer Betsholtz（カロリンスカ研究所）腎臓形成におけるFoxc2遺伝子の役割の研究

Peter Carlsson（エーテボリ大学）Foxf2の腸管形成における役割の研究

(2) 国内共同研究

杉山俊博（秋田大学医学部）フォークヘッド遺伝子Foxc2の発生における役割

野口民夫（名古屋大院農）L-type pyruvate kinase 遺伝子の転写制御におけるHNF1 α の役割

(3) 学内共同研究

金岡 繁（内科学第一）腸管の癌に関する研究

鈴木昌八（外科学第二）ヒト肝細胞の増殖分化と発癌の研究

10 産学共同研究

	平成17年度
産学共同研究	0件

12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

1. リンパ管形成におけるフォークヘッド遺伝子FOXC2の役割

先天性リンパ水腫-睫毛重生 (Lymphedema-Distichiasis; LD) 症候群の原因遺伝子がFOXC2遺伝子であることが2000年末に明らかになった。そこで、Foxc2ヘテロマウスを詳細に調べてみると、2列睫毛とリンパ管の異常を示し、Foxc2ヘテロマウスがヒトLD症候群のよいモデルになることを昨年明らかにした。今回、Foxc2ホモマウス皮膚のリンパ管を詳細に検討した結果、Foxc2ホモマウスおよびヒトLD患者の毛際リンパ管内皮細胞は蛇行し、通常基底膜や周皮細胞に被われていないが、ホモマウスおよびLD患者の皮膚の毛細リンパ管内皮細胞は厚い基底膜と周皮細胞に囲まれている異常を呈することが判明した。また、リンパの逆流を防ぐためのリンパ管内の弁がホモマウスやLD患者では欠損していることも明らかになった。これらのことから、LD患者皮膚では間質から毛細リンパ管への体液の流入が障害され、また弁が欠損しているためリンパ液の逆流がおこり、リンパ浮腫を呈すると考えられた。

(玉越智樹, 三浦直行, ¹Tatiana Petrova, ¹Kari Alitalo) ¹Biomedicum Helsinki and University of Helsinki

2. フォークヘッド遺伝子Foxp2の器官形成における役割

家族性に重度の会話と言語に障害のある患者の原因遺伝子はFOXP2であった。そこで、言語遺伝子FOXP2の進化的な側面を明らかにするため、メダカの相同遺伝子を単離した。FOXP2遺伝子はヒト、チンパンジー、マウス、ソングバードは比較的似ているが、メダカ遺伝子とはかなり構造上異なっていることが明らかになった。現在、構造上の違いによる機能的な差異を検討している。

(板倉達郎, Chandra Abhisheek, 楊志, 薛曉東, 三浦直行)

3. Tbx10遺伝子の器官形成における役割

T-box 遺伝子ファミリーは器官形成に重要な役割を果たす遺伝子である。新しいT-box 遺伝子を探索するために、Tbx1のT-box ドメインをプローブにスクリーニングしたところ、約10個のクローンを得た。そのうちの一つ、Tbx10遺伝子に注目して現在ノックアウトマウスを作製中である。

(薛曉東, 三浦直行)

4. Rbトランスジェニックマウスの劇症肝炎、肝癌抵抗性に関する研究

ヒトRb 遺伝子をラットHNF-1 α の遺伝子プロモーター支配下に置いたコンストラクトを用いてトランスジェニックマウスを2系統得た。肝臓の大きさや組織構築はコントロールマウスと差異を認めなかった。劇症肝炎を誘導する抗Fas 抗体を投与すると、コントロールマウスでは血清GOT,

GPT値の上昇や、肝組織像で出血や肝細胞変性像が観察されるのに対して、Rb トランスジェニックマウスでは、GOT、GPT値の上昇はほとんど見られず、肝組織像でも出血や肝細胞変性像も観察されなかった。また、ジエチルニトロサミン腹腔内注射後フェノバルビタール飲水により肝癌を誘導すると、コントロールマウスでは肝細胞癌と多数の結節が出現するが、Rb トランスジェニックマウスでは肝細胞癌は出現せず、結節数も有意に減少していた。トランスジェニックマウスとコントロールマウスの肝臓抽出液のアポトーシス関連蛋白をウエスタンブロット法で比較検討した。その結果、p53蛋白、E2F蛋白などは変化せず、Bclファミリー蛋白のうちでも、Bax 蛋白のみがトランスジェニックマウスで著明に減少していることが判明した。

(王博, 上里忠良, 三浦直行)

5. ヒト肝細胞キメラ肝臓をもつマウスの作製とその応用

Alb-uPAトランスジェニックマウスは外来性肝細胞を移植するのに適当なマウスである。このトランスジェニックマウスに免疫不全マウス scid を交配し、Alb-uPAトランスジーンをもつ免疫不全マウスを17年度1年間をかけて作製した。このマウスに、マウス肝細胞やヒト肝細胞を移植し、多様な研究をする準備が整った。

(福本和彦, 三浦直行)

6. 新しい遺伝子BP53の単離とその解析

H, K-ATPase のN末端側のペプチドを合成し、これを兔に免疫して抗ペプチド抗体を得た。この抗体を用いて、ラット脳細胞抽出液に対してウエスタンブロットしたところ、1本のバンドが検出された。本来の蛋白は脳では発現しない蛋白であるので、この蛋白は、未知の新しいファミリー遺伝子であると考え、脳 cDNAライブラリーをこの抗体でイムノスクリーニングしたところ、陽性のクローンを1個得た。塩基配列を決定したところ、この遺伝子はヒトRap2 Interacting Protein と構造上ホモロジーがあることが判明した。組み換え蛋白を大腸菌で産出したところ、SDS-PAGE 上分子量53kDa であった。DsRed2-BP53融合蛋白のPC12細胞内局在を見てみると、GFP-tubulin と共局在を示した。また、BP53蛋白はGTP依存性にPC12細胞やマウス脳からの抽出液のB2分画中の小胞と結合することを見出した。

(上里忠良, 三浦直行)

13 この期間中の特筆すべき業績、新技術の開発

1. FOXC2遺伝子が先天性リンパ水腫-睫毛重生症候群(以後、LD症候群)の原因遺伝子であることが判明し、そのモデル動物にあたるFoxc2ノックアウトマウスにおいて、LD症候群のリンパ管異常を詳細に検討した。その結果、リンパ浮腫がおこる原因として、毛細リンパ管内皮細胞が蛇行し厚い基底膜や周皮細胞に取り囲まれており、またリンパ管弁を欠損しているなどの異常のためであることを明らかにできた。

2. Foxf2遺伝子については、腸管に形成異常がおこっていることが判明した。Foxf2遺伝子はBmp4を介してWnt5a を抑制しているが、Foxf2ノックアウトマウスではBmp4を介したWnt 系の抑制

が起こらないため、小腸上皮細胞が間質との結合が疎になり、小腸上皮組織が異常になっている。

3. FoxP2遺伝子がメダカにも存在することが判明した。ヒト、マウス、メダカのFoxP2遺伝子を比較検討することで新しい分子進化の概念が創出されると思われる。

4. Foxj1遺伝子は左右軸の決定がランダムになるので、約半数は正常な内蔵配置を示すが、約半数は逆位の内蔵配置を示す。一方、Inv 遺伝子は欠失すると左右軸が逆転する。今回、Foxj1/Inv 二重変異体マウスを作製することにより、Foxj1遺伝子とInv 遺伝子の関係を明らかにしようとした。Inv 変異体では肺は正常パターンか逆位パターンのいずれかを示した。驚いたことに、異なる遺伝的背景ではFoxj1 ノルマウスは肺の右側相同を示し、さらにFoxJ1/Inv 二重変異体でも肺の右側相同を示した。以上の事実から、Foxj1遺伝子の欠失の方がInv 遺伝子欠失よりも優位であることが判明した。

14 研究の独創性、国際性、継続性、応用性

フォークヘッド遺伝子ファミリーについて研究しているのは、日本では当教室と筑波大学（FoxOについて研究している）だけである。外国では、アメリカに数研究室、ヨーロッパに2研究室がファミリーの他の遺伝子について研究を行っている。また、これらの研究室どうしでは、ある場合は競争が、ある場合は共同研究がなされているが、当教室はフィンランド、スウェーデン、アメリカの研究室と共同研究を行っている。フォークヘッド遺伝子ファミリーはいろいろな器官の形成に関わる遺伝子ファミリーで、そのノックアウトマウスは発現している器官の形成異常を引き起こす。ヒト先天性リンパ水腫患者の原因としてFOXC2遺伝子の突然変異が発見され、この患者のリンパ血管の形成異常の分子メカニズムを明らかにしたことは注目されている。今年度も、当講座の研究内容は心臓大動脈、リンパ管、腎臓、脳、左右決定などの器官形成の分子機構の解明と疾患との関連という発展性の高いものであり、国際的にも大きく評価されている。