

生化学第二

1 構成員

	平成19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）	6人（1人）
研究生	2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18年度
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	1編（0編）
そのインパクトファクターの合計	3.00
(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
(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

(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. Chandra A, Itakura T, Yang Z, Tamakoshi T, Xue X-D, Wang B, Ueki T, Sato K, Uezato T,

Miura N: Neurogenesis-1 differentially inhibits the osteoblastic differentiation by bone morphogenetic proteins in C2C12 cells. Biochem Biophys Res Commun 344: 786-791, 2006.

インパクトファクターの小計 [3.00]

(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:フォークヘッド遺伝子FOXC2と先天性リンパ水腫, 実験医学 24: 2839-2843, 2006.

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18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18年度
(1) 文部科学省科学研究費	3件 (490万円)
(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	1件 (100万円)
(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) 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 140万円 (継続)

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 140万円 (継続)

Chandra, Abhisheck (代表者) 若手研究 (B) 乳癌細胞の肺転移を亢進させる遺伝子FOXC2とその臨床細胞病理学的研究 210万円 (新規)

(4) 財団助成金

三浦直行 (代表者) 武田科学振興財団 会話言語異常とフォークヘッド遺伝子FOXP2 100万円 (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	0件
(3) 学会座長回数	0件	2件

(4) 学会開催回数	0件	1件
(5) 学会役員等回数	0件	3件
(6) 一般演題発表数	5件	

(1) 国際学会等開催・参加

5) 一般発表

ポスター発表

1. Uezato T, Ohno K, Sato E, Wu Y-X, Fujie M, Miura N: Localization and characterization of 53kD protein expressed mainly in brain, 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, June 2006, Kyoto.
2. Chandra A, Itakura T, Yang Z, Tamakoshi T, Ueki T, Sato K, Uezato T, Miura N: Neurogenesis-1 inhibits differentially the osteoblastic differentiation by bone morphogenetic proteins in C2C12 cells, 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, June 2006, Kyoto.
3. Tamakoshi T, Itakura T, Chandra A, Xue X-D, Yang Z, Uezato T, Miura N: Roles of the Foxj1 and Inv genes in the left-right determination of internal organs in mice, 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, June 2006, Kyoto.
4. Sato E, Shibata K, Fujie M, Wu Y-X, Uezato T, Miura N: A reinvestigation of double axis formation in *Xenopus laevis* embryo, 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, June 2006, Kyoto.
5. Tamakoshi T, Itakura T, Chandra A, Yang Z, Hackett BP, Miura N: Roles of the Foxj1 and Inv genes in the left-right determination of internal organs in mice. Keystone Symposia on "Molecular pathways in cardiac development and Disease", January 2007, Breckenridge, CO.

(2) 国内学会の開催・参加

1) 主催した学会名

1. 三浦直行 第5回心臓血管発生研究会 7月15日, 名古屋

4) 座長をした学会名

1. 三浦直行 第5回心臓血管発生研究会 7月, 名古屋
2. 三浦直行 日本分子生物学会2006フォーラム 12月, 名古屋

(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
Dev Dyn 1回

9 共同研究の実施状況

	平成18年度
(1) 国際共同研究	3件
(2) 国内共同研究	1件
(3) 学内共同研究	2件

(1) 国際共同研究

Tatiana Petrova（ヘルシンキ大学）Foxc2遺伝子のリンパ管形成における役割
Tom Glover（ミシガン大学）先天性リンパ水腫患者におけるFOXC2遺伝子の突然変異
Robert Weinberg（マサチューセッツ工科大学）FOXC2と癌細胞転移

(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

(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）肝臓癌に関する研究

10 産学共同研究

	平成18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。メダカFoxP2はマウスFoxp2に比しCC10遺伝子プロモーターに対する転写抑制活性が弱いことが明らかになり、また活性の違いはフォークヘッドドメインN末部の3アミノ酸の違いに依っていることが明らかになった。

(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Tbx10遺伝子座位にLaxZを挿入する形でノックアウトマウスを作成した。ホモマウスはメンデル法則通りに生まれてくることが判明した。現在、行動学的テストを計画中である。

(薛曉東, 三浦直行)

4. 変異Rbトランスジェニックマウスの肝臓発生に関する研究

ヒト変異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。現在、化学発癌を含めた肝臓発生率への影響を検討している。

(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に、マウス肝細胞やヒト肝細胞を移植する基本的手技が確立された。化学発癌を含めた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. Neurogenesis-1 (NG1) はBMPアンタゴニストとして働いていることがその蛋白構造上わかってきた。我々は、NG1が発生中の骨組織にも発現していることから、シャーレ内骨分化系-筋芽細胞C2C12細胞にBMP2,7を加えると骨芽細胞に分化する系-に組換えNG1を作用させて見た。興味深いことに、NG1はBMP2による骨分化は抑制しないが、BMP7による骨分化を抑制することを見出した。

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。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。

フォークヘッド遺伝子以外にも、肝臓癌の発生や心臓形成に関わる遺伝子の探索を進めており、

これらの研究成果がまもなく明らかになると思われる。