

# 生化学第二

## 1 構成員

	平成15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）	1人（0人）
研究生	0人
外国人客員研究員	0人
技官（教務職員を含む）	0人
その他（技術補佐員等）	1人
合 計	6人

## 2 教官の異動状況

- 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14年度
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	4編（0編）
そのインパクトファクターの合計	22.28
(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）	0編（0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）	1編（1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. Sato E, Shibata K, Wu Y-X, Uezato T, Kobayashi K, Miura N: Darkened *Xenopus* tadpoles

appeared with neurochemical agents. J Enviro Biol 24: 39-43, 2003.

インパクトファクターの小計 [0.15]

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）

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. Gronning LM, Cederberg A, Miura N, Enerback S, Tasken K: Insulin and TNF $\alpha$  induce expression of the forkhead transcription factor gene Foxc2 in 3T3-L1 adipocytes via PI3K and ERK1/2-dependent pathways. Mol Endocrinol 16: 873-883, 2002.
2. Dahle MK, Gronning LM, Cederberg A, Blomhoff HK, Miura N, Enerback S, Tasken KA, Tasken K: Mechanisms of FOXC2 and FOXD1-mediated regulation of the RI $\alpha$  subunit of PKA include release of transcriptional repression and activation by PKB $\alpha$  and cAMP. J Biol Chem 277: 22902-22908, 2002.
3. Kizhatil K, Wu Y-X, Sen A, Bennet V: Anew activity of doublecortin In recognition of the phospho-FIGQY tyrosine In the cytoplasmic domain of neurofascin. J Neurosci 22: 7948-7958, 2002.

インパクトファクターの小計 [22.13]

## (2) 論文形式のプロシーディングズ

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

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）

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

## (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

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）

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

## (4) 著 書

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

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）

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. 三浦直行他3,400名, 医学大辞典, 医学書院, 全3,062頁

#### (5) 症例報告

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

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）

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

### 4 特許等の出願状況

	平成14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14年度
(1) 文部科学省科学研究費	1件（190万円）
(2) 厚生科学研究費	0件（万円）
(3) 他政府機関による研究助成	0件（万円）
(4) 財団助成金	2件（220万円）
(5) 受託研究または共同研究	1件（95万円）
(6) 奨学寄附金その他（民間より）	1件（50万円）

(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 190万円（新規）

(4) 財団助成金

三浦直行（代表者）旭硝子財団研究助成金「Fox遺伝子ファミリーの分子進化と個体における役割」20万円（継続）

三浦直行（代表者）小野医学研究助成金「フォークヘッド遺伝子Foxc2 (MFH-1) の脂肪細胞内調節メカニズムの解析」200万円（新規）

(5) 受託研究または共同研究

三浦直行（分担者）循環器病研究委託費「心筋細胞の再生治療に関する研究」「心臓神経堤細胞の再生治療への基礎的研究」95万円（継続）代表者 千葉大学大学院医学研究科教授 小室一成

6 特定研究などの大型プロジェクトの代表，総括

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	1件
(2) シンポジウム発表数	0件	0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	2件
(6) 一般演題発表数	2件	

(1) 会議等開催・参加：

4) 一般発表

ポスター発表

1. Miura N, Kato N, Tamakoshi T, Yanagisawa M: Forkhead gene Foxc2 (MFH-1) and ETA act independently in the aortic arch formation, Keystone Symposia on "Development of the spinal cord and neural crest", March 2002, Keystone, CO.
2. Tamakoshi T, Kato N, Sugiyama T, Yanagisawa M, Miura N: Genetic interaction among the Foxc2 and other genes in the aortic arch formation, The 67th Cold Spring Harbor Laboratory Symposium on "The cardiovascular system", May 2002, Cold Spring Harbor, NY.

(2) 国内学会の開催・参加

1) 学会における特別講演・招待講演

三浦直行：ノックアウトマウスとゲノム情報を用いた先天性奇形の成因の解析，第42回日本先天異常学会，2001年7月，浜松

3) 座長をした学会名

三浦直行 第24回日本分子生物学会年回ワークショップ

5) 役職についている学会名とその役割

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

## 8 学術雑誌の編集への貢献

	国内	外国
学術雑誌編集数（レフリース数は入れない）	0件	0件

(3) 国内外の英文雑誌のレフリース

## 9 共同研究の実施状況

	平成14年度
(1) 国際共同研究	4件
(2) 国内共同研究	1件
(3) 学内共同研究	1件

### (1) 国際共同研究

Kjetil Tasken（オスロ大学）Foxc2の脂肪細胞における発現調節機構

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

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

Masashi Yanagisawa（テキサス大学）Foxc2とエンドセリン受容体Aの相互関係

### (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Foxf2の発生における役割

### (3) 学内共同研究

堀田喜裕（眼科学）色盲遺伝子の分子遺伝学的解析

## 10 産学共同研究

	平成14年度
産学共同研究	0件

## 11 受賞

## 12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

### 1. 心大動脈形成の分子機構に関する研究

我々は、フォークヘッド遺伝子Foxc2（MFH-1）のノックアウトマウスが心大動脈の形成異常を呈することから、MFH-1遺伝子は心大動脈の発生に重要な役割を果たしていることを明らかにした。一方、エンドセリン受容体A（ETA）のノックアウトマウスも似た心大動脈の形成異常を示すことが共同研究者の柳沢博士の研究室で明らかにされた。昨年度は、MFH-1/ETAダブルホモマウスを作製した。ダブルヘテロマウスは正常であったが、ダブルホモマウスはシングルホモマウスより重篤な症状を呈した。詳細な検討の結果、ダブルホモマウスはシングルホモマウスではおこらない総動脈幹開存が起こっていることが判明した。また、ダブルホモマウスは胎生11.5日で心不全のため死亡することが明らかになった。

今年度は、大動脈弓の形成異常や副甲状腺の形成異常を示したTbx1およびCrkl遺伝子のノックアウトマウスの分与を受け、Foxc2とTbx1, Crkl遺伝子の相互関係を明らかにする第一歩として、Foxc2/Tbx1, Foxc2/Crklダブルヘテロマウスを作製した。特に症状を示さなかったため、今後Tbx1, CrklヌルマウスにおけるFoxc2の発現とFoxc2ヌルマウスにおけるTbx1, Crklの発現を検討する予定である。

(三浦直行, 玉越智樹, 王とう)

## 2. 軟骨分化におけるフォークヘッド遺伝子MFH-1の役割

MFH-1ノックアウトマウスが骨格形成異常を示したことから、発生中のマウス胎児の四肢および骨格系のMFH-1遺伝子の発現を詳細に検討した。胎生10.5日でMFH-1は将来の骨格になる間葉系組織に発現し始める。胎生11.5日では、凝集する骨格系原基細胞に発現し、胎生13.5日では、骨周囲膜に発現していた。また、BMP4/7を投与すると、MFH-1の発現は増加した。

BMPとMFH-1の関係を明らかにするため、マウス肢芽へのBMP蛋白移植実験を行った。その結果、BMPが生体において直接か間接かは不明だが、MFH-1発現を制御していることが明らかになった。

(三浦直行, 二藤彰<sup>1</sup>, 野田政樹<sup>1</sup>) <sup>1</sup>東京医科歯科大学難治疾患研究所

## 3. フォークヘッド遺伝子Foxf2 (LUN) の発生における役割

新しいフォークヘッド遺伝子Foxf2 (LUN) のノックアウトマウスを作製した。詳しい *in situ* hybridizationの結果、LUN遺伝子は肺間質や小腸間質そして上顎下顎周囲に発現している遺伝子であることが明らかになった。ノックアウトマウスの解析により、まずヘテロマウスは特に異常を示さなかった。ヘテロマウスどうしをかけ合わせてホモマウスを作製すると、ホモマウスは生後1日までに全部死亡することが判明した。各臓器における異常について検討したところ、口蓋裂が全ホモマウスに観察された。LUNノックアウトマウス胎児期の口腔形成部位について、口蓋裂に関係すると言われるMsx1, Msx2, Tbx1, MFH-1遺伝子発現の変化を詳細に検討したが、著明な発現の変化はなかった。ホモマウスと野生型マウスを経時的にFoxf2の発現とともに、口腔部を詳細に検討した結果、Foxf2の発現している舌の下方移動がホモマウスでは起こらないことを見出した。このことは、舌の下方移動が起こらないため、左右の口蓋棚が野生型ではおこる水平伸張が阻害され、口蓋棚が融合できず、口蓋裂がおこることが示唆された。

(王とう, 玉越智樹, 三浦直行)

## 4. 新しい遺伝子TU24の組織分布と細胞内局在

脳cDNAライブラリーをH, K-ATPaseのN末端側のペプチドを兔に免疫して得た抗ペプチド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TU24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、予想されるサイズの組み換え蛋白が産生され、精製組み換え蛋白をウサギに免役して抗体を作製中である。また、同遺伝子は脳やPC12細胞に発現しており、神経関連の機能をもつことが期待される。cDNAにHAタグを付加した遺伝子をPC12細胞に遺伝子

導入し永久株を得た。蛍光抗体法で観察したところ、TU24蛋白は細胞質に局在していた。神経分化誘導成長因子やいろいろのシグナルをPC12細胞に処理すると同蛋白の細胞内分布が変化するかどうかを検討中である。

(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

フォークヘッド遺伝子Foxc2の軟骨形成における分子機構について, 詳しく検討を行った結果, Foxc2が骨形成因子BMPにより生体でも制御されていることが明らかになり, 骨分化過程の重要な分子として関わっているという発見は骨の分子生物学的見地からも重要である。また, ヒトの先天性リンパ水腫-睫毛重生症候群の原因遺伝子がFOXC2であることがわかり, Foxc2遺伝子のリンパ管形成における役割について, Glover博士やAlitalo博士と共同研究を開始した。

さらに, フォークヘッド遺伝子Foxf2 (LUN) のノックアウトマウスを詳しく解析した。ホモマウスは出生後すぐに死ぬことが判明し, 主な症状は口蓋裂と腸内ガス充満であった。ヒトFOXF2遺伝子は6p25に位置しており, ヒト口蓋裂の原因遺伝子があるとされる部位と一致しており, ヒトの口蓋裂原因遺伝子である可能性もある。

### 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, 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一部にFOXC2遺伝子の突然変異が発見されたことから, この遺伝子のリンパ血管形成における役割が注目されている。当講座の研究内容は心臓, 大動脈, リンパ管, 骨格系, 口蓋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。

### 15 新聞, 雑誌等による報道